Plant Prod., 2026, 49(1), 85- 101
https://plantproduction.scu.ac.ir/
ISSN (P): 2588-543X; **ISSN (E):** 2588-5979
Doi: 10.22055/ppd.2025.49829.2278
Received: 08 June 2025
Accepted: 18 September 2025

Plant Productions

Research Article

Identification and functional prediction of long non-coding RNAs in the expression profile of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under salt stress conditions

Setareh Mirzavand [1], Ahmad Ismaili [1*], Seyed Sajad Sohrabi [1]

1. Department of Plant Production and Genetic Engineering, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorramabad, Iran

Citation: Mirzavand, S., Ismaili, A., Sohrabi, S.S. (2026). Identification and functional prediction of long non-coding RNAs in the expression profile of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under salt stress conditions. *Plant Productions,* 49(1), 85 - 101.

Abstract

Introduction

Common bean (*Phaseolus vulgaris*) is one of the most essential legumes crops worldwide due to its high nutritional value and significant contribution to food security. It is a primary source of plant-based proteins, as well as essential micronutrients such as iron, zinc, thiamine, and folic acid. Despite these advantages, the productivity of common bean is severely affected by environmental stressors, especially salinity. Soil salinization, an increasingly prevalent issue driven by climate change, poor irrigation practices, and improper drainage, hampers plant growth by disrupting water uptake, causing ion toxicity, and inducing oxidative stress. Plants respond to salt stress through complex molecular and physiological mechanisms, including hormonal signaling, transcriptional regulation, and metabolic reprogramming. In recent years, long non-coding RNAs (lncRNAs) have emerged as important regulators of gene expression involved in diverse biological processes, yet their specific roles under salt stress in *Phaseolus vulgaris* remain largely unexplored.

Materials and Methods

This study was conducted in 2023 at the Faculty of Agriculture, Lorestan University, with the aim of identifying and characterizing lncRNAs involved in salinity stress responses in the roots of common bean**.** For this purpose, the sequenced RNA data from previous studies were used in this study, and then, high-quality reads were mapped to the *Phaseolus vulgaris* reference genome. Candidate lncRNAs were identified based on transcript length, coding potential, and filtering out known protein-coding RNAs, rRNAs, and tRNAs. Differential expression analysis was conducted using DESeq2. Functional annotation of target genes was performed using KEGG and GO enrichment analysis, and subcellular localization of lncRNAs was predicted. For validation the relative expression levels of selected lncRNAs, real-time PCR was performed. For this, the experiment was conducted under controlled greenhouse conditions and seedlings were subjected

* **Corresponding Author:** Ahmad Ismaili
E-mail: ismaili.a@lu.ac.ir

© 2026 The Author(s). Published by Shahid Chamran University of Ahvaz. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

to 150 mM NaCl salinity. Root samples from control and treatment were collected (72 hours after final salt application) and after RNA extraction, finally were used for evaluation of relative gene expression of lncRNAs.

Results and Discussion

In this study, a total of 2,031 high-confidence lncRNA sequences were identified from the root tissues of common bean, some of which are reported for the first time in this species. Comparison of these sequences with the GreeNC, PLncDB, and CANTATA databases revealed that 620 lncRNAs showed significant similarity to previously reported data, while the others are likely specific to common bean and represent novel discoveries. Bioinformatic analyses indicated that these lncRNAs are involved in diverse biological pathways, including secondary metabolite biosynthesis, MAPK signaling, ABA response, terpenoid synthesis, and linoleic acid metabolism. Among the identified transcripts, three lncRNAs R_lncRNA1, R_lncRNA2, and R_lncRNA3 displayed significant differential expression under salt stress conditions. qRT-PCR analysis validated the RNA-Seq results and confirmed that the expression of these lncRNAs changed significantly in response to salinity. Subcellular localization analysis showed that R_lncRNA2 was localized in the nucleus, whereas the other two were found in the cytoplasm, suggesting clear differences in their potential regulatory roles. Moreover, GO enrichment analysis demonstrated that these lncRNAs are associated with processes such as transcriptional regulation, protein folding, terpenoid metabolism, and responses to reactive oxygen species. Overall, these findings highlight the importance of lncRNAs in the molecular networks that govern salt stress responses in common bean.

Conclusion

This study provides the first comprehensive identification and functional prediction of lncRNAs involved in salt stress response in *Phaseolus vulgaris*. The findings demonstrate that lncRNAs play essential roles in regulating complex stress response networks, mainly by modulating metabolic and signaling pathways. These insights contribute to a deeper understanding of molecular mechanisms underlying salt tolerance and open new avenues for the development of salt-resilient legume cultivars.

Keywords: Differential expression, Oxidative stress, Secondary metabolism, Signal transduction pathways, Subcellular localization

تولیدات گیاهی، ۱۴۰۵، ۴۹(۱)، ۸۵ – ۱۰۱
https://plantproduction.scu.ac.ir/
ISSN (P): 2588-543X; **ISSN (E):** 2588-5979
Doi: 10.22055/ppd.2025.49829.2278
تاریخ دریافت: ۱۸ /۰۳/ ۱۴۰۴
تاریخ پذیرش:۲۷ /۰۶/ ۱۴۰۴

تولیدات گیاهی
مقاله پژوهشی

شناسایی و پیش‌بینی عملکرد RNAهای طویل غیرکدکننده در پروفایل بیانی ریشه گیاه لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.) تحت تنش شوری

ستاره میرزاوند [۱]، احمد اسماعیلی [۱*]، سید سجاد سهرابی [۱]

۱- گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران

چکیده

لوبیای معمولی یکی از مهم‌ترین گیاهان زراعی خانواده لگوم‌ها است که به‌دلیل ارزش غذایی بالا و توانایی تثبیت نیتروژن، نقش کلیدی در تأمین امنیت غذایی ایفا می‌کند. این گیاه منبعی غنی از پروتئین، آهن، روی و سایر ریزمغذی‌هاست، اما عملکرد آن به‌شدت تحت تأثیر تنش‌های محیطی، به‌ویژه شوری قرار دارد. شوری خاک با ایجاد اختلال در جذب آب و عناصر غذایی، تجمع یون‌های سمی و القای تنش اکسیداتیو، رشد و نمو گیاه را مختل می‌کند. در سال‌های اخیر، RNAهای طویل غیرکدکننده (lncRNAها) به‌عنوان تنظیم‌کننده‌های مهم در واکنش گیاهان به انواع تنش‌ها شناخته شده‌اند، اما عملکرد آن‌ها در لوبیای معمولی تحت شرایط شوری هنوز به‌طور کامل مورد بررسی قرار نگرفته است. این پژوهش در سال ۱۴۰۲ در دانشکدهٔ کشاورزی دانشگاه لرستان با هدف شناسایی و تحلیل lncRNAهای مرتبط با تنش شوری در ریشه لوبیای معمولی انجام شد. برای این منظور، از داده‌های RNA-Seq مطالعات پیشین استفاده گردید. خوانش‌های پردازش‌شده با ژنوم مرجع لوبیا هم‌تراز شده و توالی‌های فاقد ظرفیت کدکنندگی با استفاده از ابزارهای CPC2، PLncPRO و BLAST تحلیل و پالایش شدند. سپس، ژن‌های هدف lncRNAها با ابزار LncTar شناسایی و بیان افتراقی آن‌ها با نرم‌افزار DESeq2 تحلیل شد. علاوه بر این، موقعیت زیرسلولی این توالی‌ها و مسیرهای زیستی مرتبط با آن‌ها با بهره‌گیری از ابزارهای تخصصی پیش‌بینی گردید. برای اعتبارسنجی نتایج، از روش real-time PCR استفاده شد. برای این منظور، گیاهان لوبیا در شرایط گلخانه‌ای تحت تیمار شوری (۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) قرار گرفتند. پس از استخراج RNA از بافت ریشه گیاهان شاهد و تیمارشده، بیان نسبی ژن‌های منتخب lncRNA مورد ارزیابی قرار گرفت. در مجموع، ۲۰۳۱ توالی lncRNA با اطمینان بالا از بافت ریشه شناسایی شد که بخشی از آن‌ها برای نخستین بار در این گونه گزارش می‌شوند. مقایسه این توالی‌ها با پایگاه‌های GreeNC، PLncDB و CANTATA نشان داد که ۶۲۰ توالی دارای شباهت معنی دار با داده‌های پیشین هستند، در حالی که مابقی احتمالاً اختصاصی لوبیا محسوب می‌شوند. نتایج تحلیل‌های بیوانفورماتیکی نشان داد که این lncRNAها در مسیرهای زیستی متنوعی از جمله بیوسنتز ترکیبات ثانویه، مسیر سیگنال‌دهی MAPK، واکنش به هورمون ABA، سنتز ترپنوئیدها و متابولیسم اسید لینولئیک نقش دارند. از میان توالی‌های شناسایی‌شده، سه lncRNA شامل R_lncRNA1، R_lncRNA2 و R_lncRNA3 تغییرات معنی‌دار بیانی در واکنش به شوری نشان دادند. نتایج

نویسنده مسئول: احمد اسماعیلی
رایانامه: ismaili.a@lu.ac.ir

qRT-PCR این یافته‌ها را تأیید کرد. بررسی مکان‌یابی زیرسلولی نیز نشان داد که R_lncRNA2 در هسته و دو توالی دیگر در سیتوپلاسم حضور دارند؛ و این تفاوت می‌تواند بیانگر نقش‌های تنظیمی متفاوت آن‌ها باشد. همچنین، تحلیل غنی‌سازی GO نشان داد که این lncRNAها در فرآیندهایی مانند تنظیم رونویسی، تاخوردگی پروتئین، متابولیسم ترپن‌ها و واکنش به گونه‌های اکسیژن واکنش‌گر دخیل هستند. یافته‌های این پژوهش نقش کلیدی lncRNAها را در واکنش لوبیای معمولی به تنش شوری نشان می‌دهد. این مولکول‌ها از طریق تنظیم مسیرهای سیگنال‌دهی، تولید متابولیت‌های دفاعی و برهمکنش با ژن‌های عملکردی، به افزایش تحمل گیاه در برابر شوری کمک می‌کنند. بنابراین، lncRNAها می‌توانند به‌عنوان اهداف بالقوه برای اصلاح ژنتیکی و کاربردهای زیست‌فناوری به‌منظور توسعهٔ ارقام متحمل به تنش‌های محیطی مورد توجه قرار گیرند. این پژوهش گامی مؤثر در جهت درک عمیق‌تر شبکه‌های تنظیمی lncRNA در گیاهان زراعی تحت تنش شوری به‌شمار می‌آید.

کلیدواژه‌ها: بیان افتراقی، تنش اکسیداتیو، متابولیسم ثانویه، مسیرهای سیگنال‌دهی، مکان‌یابی زیرسلولی

مقدمه

تنش‌های محیطی از مهم‌ترین عوامل کاهش عملکرد محصولات کشاورزی در جهان به شمار می‌آیند و در مناطق با شرایط جغرافیایی نامساعد باعث افزایش هزینه‌ها و کاهش بازده می‌شوند (Ataei Nasab *et al.*, 2023). شوری خاک یکی از چالش‌های مهم بهره‌وری کشاورزی است، به‌ویژه برای گیاهان خانواده بقولات مانند لوبیای معمولی (*Phaseolus vulgaris* L.) که نقش کلیدی در امنیت غذایی جهانی ایفا می‌کنند (Karimi *et al.*, 2025). شوری خاک، به‌عنوان یک مسئله جهانی، رشد گیاهان را تهدید کرده و مانع پیشرفت کشاورزی پایدار می‌شود. تغییرات شدید اقلیمی، سیستم‌های نامناسب زهکشی و آبیاری و عوامل دیگر، موجب افزایش شوری زمین‌های زیر کشت شده و امنیت غذایی را به‌طور جدی به خطر می‌اندازد (Peng *et al.*, 2025). شوری خاک با ایجاد تغییر در ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی، موجب فشردگی خاک، کاهش نفوذپذیری، اختلال در دسترسی به مواد مغذی و در نهایت کاهش چشمگیر عملکرد محصولات کشاورزی می‌شود (Jaiswal *et al.*, 2022).

تجمع یون‌های سدیم و کلر در سلول‌های گیاهی سمیت ایجاد کرده و جذب عناصر غذایی را مختل می‌کند. همچنین شوری ناشی از کلرید سدیم به‌طور همزمان تنش اسمزی و یونی را در گیاهان به وجود می‌آورد (Munns and Tester, 2008). تنش اسمزی باعث کاهش پتانسیل آبی محلول خاک شده و جذب آب و مواد مغذی توسط ریشه را محدود می‌کند. تجمع بیش از حد یون های Na^+، Cl^-، HCO^{3-}، CO^{-2}_3 و سایر یون‌ها، موجب عدم تعادل متابولیکی و حتی سمیت برای گیاه می‌شود (Volkov and Beilby, 2017). علاوه بر این، سطوح بالای کربنات‌ها و بی‌کربنات‌ها در خاک منجر به کاهش حلالیت عناصر ضروری برای رشد گیاه مانند آهن، فسفر و عناصر کمیاب مانند روی و منگنز از طریق فرآیند بارش می‌شود (Wekesa and Asudi, 2022). همچنین، اسید آبسیزیک که در واکنش به تنش شوری سنتز می‌شود، باعث بسته شدن روزنه‌ها از طریق مهار بازشدن سلول‌های محافظ شده و در نتیجه کاهش سرعت فتوسنتز و افزایش تنش اکسیداتیو را به همراه دارد. سدیم اثر بازدارندهٔ قوی بر جذب پتاسیم توسط ریشه دارد؛ بنابراین، گیاهانی که در خاک‌های شور با غلظت بالای یون سدیم رشد می‌کنند، معمولاً با کمبود پتاسیم مواجه هستند (Alavi Matin *et al.*,

2016). پتاسیم برای حفظ آماس سلولی، پتانسیل غشایی و فعالیت‌های آنزیمی مختلف حیاتی است (Pandey and Mahiwal, 2020). تحمل گیاهان به تنش شوری در مراحل مختلف رشد متفاوت است (Guan *et al.*, 2023)، ا این حال، به‌طور کلی، گیاهان با بهره‌گیری از سازوکارهای متنوع بقا تلاش می‌کنند تا آسیب‌های ناشی از شوری را کاهش دهند (Raza *et al.*, 2023).

به‌طور کلی، توسعهٔ ژنوتیپ‌های متحمل به شوری برای حفظ و افزایش تولید محصول در مناطق شور ضروری است (Gobade *et al.*, 2025). تحقق این هدف مستلزم شناسایی عوامل دخیل در واکنش گیاهان به تنش‌های محیطی و روشن‌سازی سازوکارهای مولکولی آن‌ها است (Ma *et al.*, 2023). تحمل شوری در گیاهان یک ویژگی چندوجهی است که تحت تأثیر عوامل ژنتیکی، شرایط فیزیولوژیک و عوامل محیطی قرار دارد. درک سازوکارهای تحمل شوری در گیاهان، گامی کلیدی برای بهبود اصلاح ارقام متحمل به خاک‌های شور و قلیایی محسوب می‌شود (Wang and Wu, 2025).

RNAهای غیرکدکننده (ncRNA) شامل RNAهای خانه‌دار (tRNA و rRNA) و RNAهای تنظیمی هستند (Yang *et al.*, 2023). ncRNAهای تنظیمی به RNAهای کوچک غیرکدکننده شامل miRNAها، siRNAها، RNAهای طولانی غیرکدکننده (lncRNA) و RNAهای حلقوی غیرکدکننده (circRNAها) طبقه‌بندی می‌شوند (Chand Jha *et al.*, 2021). RNAهای طویل غیرکدکننده (lncRNAها) دسته مهمی از مولکول‌های RNA در موجودات یوکاریوتی هستند که با طول نسبتاً زیاد (معمولاً بیش از ۲۰۰ نوکلئوتید) مشخص می‌شوند. این مولکول‌ها پتانسیل واضحی برای کدکردن پروتئین ندارند و این ویژگی آن‌ها را از نظر عملکرد سلولی متمایز می‌کند (Yu *et al.*, 2019). براساس موقعیت، lncRNAها به چهار دسته سنس، آنتی سنس، اینترونی و اینترژنیک تقسیم می‌شوند (Zhu *et al.*, 2016). در ابتدا تصور می‌شد که lncRNAها اهمیت عملکردی کمی در ژنوم‌های یوکاریوتی دارند؛ بنابراین به‌عنوان "نویز رونویسی[1]" نامیده می‌شدند (Samarfard *et al.*, 2022). با این وجود، در فرآیندهای زیستی اساسی دخیل هستند و فعالیت‌های آن ها پیچیده و متنوع است (Di Marsico *et al.*, 2022). در گیاهان، lncRNAها به‌عنوان عوامل تنظیمی حیاتی در رشد زایشی، فوتومورفوژنز، گلدهی و واکنش گیاه به تنش‌های زیستی و غیرزیستی شناخته شده‌اند (Ye *et al.*, 2022). اگرچه نقش lncRNAها در گیاهان به‌طور محدود بررسی شده و تنها تعداد اندکی از آن‌ها به‌صورت کامل شناسایی و تحلیل شده‌اند، اما مطالعات اخیر نشان داده‌اند که این مولکول‌ها می‌توانند در واکنش به تنش‌های مختلف از جمله شوری نقش داشته باشند (Wang and Wu, 2025). به‌عنوان مثال، گزارش‌هایی در مورد اسفناج (Mehralizade *et al.*, 2024)، برنج (Jiang *et al.*, 2024)، یونجه (Yu *et al.*, 2023) و پسته (Jannesar *et al.*, 2024) منتشر شده است؛ اما شناسایی lncRNAها و بررسی نقش آن‌ها در لوبیا تاکنون مورد بررسی قرار نگرفته است.

لوبیای معمولی (*Phaseolus vulgaris* L.) یکی از مهم‌ترین گیاهان زراعی خانواده لگوم‌ها است که به‌دلیل ارزش غذایی بالا و توانایی تثبیت نیتروژن، نقش کلیدی در تأمین امنیت غذایی ایفا می‌کند. این گیاه نه‌تنها منبع اصلی پروتئین است، بلکه ریزمغذی‌های ضروری همچون آهن، روی، تیامین و اسید فولیک را نیز تأمین می‌کند (Celmeli *et al.*, 2018). لوبیا از دیدگاه متخصصان تغذیه به‌عنوان یک غذای تقریباً کامل طبقه‌بندی می‌شود. یکی از

1- Junk Regions

چالش‌های اساسی در کشت لوبیا، حساسیت بالای آن به شوری است (El-Beltagi and Al-Otaibi, 2023) و گزارش‌ها نشان می‌دهد که در خاک‌هایی با شوری بیش از ۲ دسی زیمنس بر متر کاهش معنی‌دار عملکرد این گیاه رخ می‌دهد (Wekesa and Asudi, 2022). نتایج مطالعات پیشین حاکی از آن است که تعداد برگ، ارتفاع بوته، وزن ریشه و اندام‌های هوایی، تعرق، سرعت فتوسنتز و هدایت روزنه‌ای در تمامی ارقام لوبیا تحت تنش شوری به‌طور قابل توجهی کاهش می‌یابد (Gama *et al.*, 2007).

با توجه به مطالب یادشده، پژوهش حاضر با هدف شناسایی و بررسی الگوهای بیان lncRNAها در گیاه لوبیا تحت تنش شوری طراحی و اجرا گردید. امید است یافته‌های این مطالعه بینش‌های ارزشمندی در زمینه نقش lncRNAها در تحمل شوری فراهم آورد و درک ما را از عملکرد این عوامل تنظیمی در واکنش گیاه به تنش‌های محیطی ارتقا بخشد.

مواد و روش‌ها

به منظور تجزیه و تحلیل پروفایل بیانی و شناسایی lncRNA، داده‌های حاصل از توالی‌یابی RNA بافت ریشهٔ لوبیا تحت تنش شوری از پایگاه داده NCBI بخش SRA دریافت شدند (جدول ۱). در مرحلهٔ پردازش، کیفیت خوانش‌های خام با استفاده از نرم‌افزار CLC Genomics Workbench (v20.0) مورد ارزیابی قرار گرفت. در این مرحله، توالی‌های آداپتور و خوانش‌های با کیفیت پایین حذف شدند. خوانش‌های پردازش‌شده سپس با ژنوم مرجع لوبیا نسخه PhaVulg1_0 و فایل annotation (GFF3) دریافت‌شده از پایگاه Ensembl Plants (https://plants.ensembl.org) با پارامترهای نقشه‌یابی پیش‌فرض هم‌تراز شدند. از خوانش‌های نقشه‌یابی نشده برای سرهم‌گذاری و ایجاد منبعی برای شناسایی lncRNAها استفاده شد. به‌منظور شناسایی lncRNAها در گام نخست، از معیارهای CPM>1 (تعداد خوانش به ازای یک میلیون) و طول رونوشت بزرگتر از ۲۰۰ نوکلئوتید به‌عنوان معیارهای انتخاب اولیه رونوشت‌ها استفاده شد. توالی‌های مورد نظر با ابزار CPC2 (http://cpc2.cbi.pku.edu.cn) از نظر ظرفیت کدکنندگی غربال‌گری شدند (Kang *et al.*, 2017). همچنین توالی‌های دیگر از جمله tRNA/rRNA با استفاده از ابزار tRNAscan-SE و Barrnap حذف شدند (Lowe and Chan, 2016). در نهایت توالی‌های فیلتر شده با استفاده از نرم‌افزار PLncPRO و کاربرد مدل گیاهان دولپه مورد ارزیابی قرار گرفتند (Singh *et al.*, 2017).

برای شناسایی ژن‌های هدف lncRNA از ابزار LncTar استفاده شد (Li *et al.*, 2015). در این مرحله، ژن‌ها و lncRNA به‌عنوان ورودی به LncTar معرفی شدند و با استفاده از پارامترهای پیش‌فرض ژن‌های هدف ترانس شناسایی شدند. علاوه بر این تجزیه و تحلیل بیان افتراقی ژن‌ها با استفاده از نرم‌افزار DESeq2 در محیط R انجام شد (Love *et al.*, 2014). معیارهای شناسایی ژن‌ها (DEGs) و lncRNAهای با بیان افتراقی (DE-lncRNAs) شامل FDR< 0.01 و |log2FC| ≥ 1 بود. همچنین به‌منظور تعیین گروه‌های عملکردی و تعیین مسیرهای متابولیکی (KEGG) که ژن‌های هدف در آن درگیر می‌باشند از ابزار تحت وب g:Profiler (https://biit.cs.ut.ee/gprofiler) استفاده شد.

موقعیت درون‌سلولی lncRNAهای شناسایی شده در لوبیا با استفاده از ابزار تحت وب lightGBM (http://www.biolscience.cn/LightGBM_LncLoc/) انجام شد.

جدول ۱- نمای کلی نمونه‌های RNA-Seq و شاخص‌های پالایش کیفی

Table 1. Overview of the RNA-Seq samples and quality filtering metrics

Sample ID	Experiment Accession Number	Sample Accession Number	Tissue	Treatment	Raw Reads	Trimmed Reads	Percentage of Removed Reads	Processed Reads
1	SRX8933809	SRS7190127	Root	Control	16785039	1582829	9.4	15202210
2	SRX8933810	SRS7190128	Root	Control	16071186	1169982	7.3	14901204
3	SRX8933811	SRS7190129	Root	Control	17580377	1967244	11.2	15613133
4	SRX8933821	SRS7190139	Root	Control	16568257	1805940	10.9	14762317
5	SRX8933822	SRS7190140	Root	Control	21419143	2927997	13.7	18491146
6	SRX8933823	SRS7190141	Root	Control	18369868	2975919	16.2	15393949
7	SRX8933812	SRS7190130	Root	Salt stress	15321044	2298157	15.0	13022887
8	SRX8933813	SRS7190131	Root	Salt stress	17583190	1904259	10.8	15678931
9	SRX8933814	SRS7190132	Root	Salt stress	16769839	1640090	9.8	15129749
10	SRX8933824	SRS7190142	Root	Salt stress	19070557	2383820	12.5	16686737
11	SRX8933825	SRS7190143	Root	Salt stress	33517634	6495047	19.4	27022587
12	SRX8933826	SRS7190144	Root	Salt stress	28824052	5058621	17.6	23765431

بذور لوبیا با شماره دستیابی IBRC P1012285 از مرکز ملی ذخایر ژنتیکی ایران، تهیه شدند. بذور مستقیماً در گلدان‌های پلاستیکی به ابعاد ۱۴ × ۱۲ سانتی‌متر و حاوی بستر کشت استریل شده از مخلوط ماسه و پرلیت (نسبت ۱:۱ حجمی) کشت گردیدند. عملیات کشت در گلخانهٔ تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه لرستان (خرم‌آباد، مختصات جغرافیایی: ′۲۹ °۳۳ شمالی، ′۲۱ °۴۸ شرقی) انجام شد. گیاهان در شرایط کنترل‌شده گلخانه با دمای روزانه ۲±۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۷۰ درصد و دورهٔ نوری ۱۲ ساعت روشنایی / ۱۲ ساعت تاریکی پرورش یافتند. پس از جوانه‌زنی (۴ روز پس از کشت)، گیاهچه‌ها با محلول غذایی هوگلند (۶/۵-PH= ۵/۵) به میزان ۴۰ میلی‌لیتر روزانه آبیاری شدند. در مرحله سه‌برگی (۱۰ روز پس از جوانه‌زنی)، گیاهان به دو گروه شاهد و تیمار شوری (هر گروه شامل سه تکرار و هر تکرار دارای پنج گلدان بود) تقسیم شدند. برای جلوگیری از شوک اسمزی، غلظت کلرید سدیم به تدریج و روزانه ۵۰ میلی‌مولار افزایش یافت تا به غلظت نهایی ۱۵۰ میلی‌مولار رسید. ۷۲ ساعت پس از اعمال تیمار نهایی، نمونه‌برداری از ریشه‌های گیاهان شاهد و تیمار انجام شد. نمونه‌ها بلافاصله در نیتروژن مایع منجمد و در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان استخراج RNA نگهداری شدند.

به منظور استخراج RNA کل از بافت ریشه، از کیت استخراج RNA (شرکت دنا زیست آسیا –ایران) و طبق شیوه‌نامه ارائه شده توسط شرکت سازنده استفاده شد. پس از فرآیند استخراج، مقدار و کیفیت RNA با استفاده از دستگاه نانودراپ (Eppendorf BioPhotometer D30, Eppendorf, Germany) مورد ارزیابی قرار گرفت. همچنین یکپارچگی RNA استخراجی با استفاده از الکتروفورز ژل آگارز ۱ درصد تأیید شد. سپس نمونه‌های RNA با آنزیم *DNase* I جهت حذف آلودگی DNA ژنومی تیمار گردیدند. برای یکسان سازی غلظت RNA نمونه‌های مختلف در سنتز cDNA، ابتدا نمونه با کمترین غلظت RNA انتخاب و به عنوان مبنا برای محاسبات هم‌غلظت‌سازی در نظر گرفته شد. پس از آن غلظت مورد نیاز RNA از هرنمونه با توجه به محدوده مجاز غلظت RNA تعیین‌شده در شیوه‌نامه کیت سنتز cDNA (۱-۵ ng/µl) و همچنین رعایت تناسب با غلظت مبنا مشخص گردید. سنتز cDNA با استفاده از کیت Easy cDNA Synthesis Kit (شرکت پارس توس زیست فناور) و مطابق با شیوه‌نامه شرکت سازنده انجام شد. در این فرآیند، از آغازگرهای ترکیبی Oligo(dT) و Random Hexamer استفاده گردید. به‌منظور بررسی

صحت سنتز cDNA، محصول واکنش PCR با استفاده از ژن کنترل داخلی (که به‌صورت اتصال اگزون-اگزون طراحی شده بود) با الگو قرار دادن cDNA سنتز شده کنترل گردید.

برای اعتبارسنجی بیان توالی‌های شناسایی‌شده، واکنش‌های qRT-PCR با استفاده از دستگاه Rotor-Gene Q (Qiagen, Germany) و روتور ۷۲ چاهکی انجام شد. آغازگرهای اختصاصی برای توالی‌های هدف و ژن مرجع (*ACT11*) با نرم‌افزار AlleleID (6.0) طراحی گردیدند (جدول ۲). سه lncRNA هدف بر اساس بیان افتراقی معنی‌دار انتخاب شدند. هر واکنش در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر شامل ۱۰ میکرولیتر مسترمیکس SYBR Green (2x) (شرکت پارس توس)، ۱/۵ میکرولیتر از هر آغازگر (۱۰ میکرومولار)، ۲ میکرولیتر cDNA الگو (cDNA رقیق شده با نسبت ۱:۵) و ۵ میکرولیتر آب آماده شد. برنامه دمایی شامل مرحلهٔ اولیه دناتوراسیون در ۹۵°C به‌مدت ۱۵ دقیقه، سپس ۳۵ چرخه از دناتوراسیون (۹۵°C، ۱۵ ثانیه)، اتصال (دمای اتصال هر جفت آغازگر، ۳۰ ثانیه) و طویل‌سازی (۷۲°C، ۳۰ ثانیه) بود. انجام واکنش برای هر نمونه با سه تکرار زیستی و دو تکرار فنی اجرا شد. کنترل‌های منفی (بدون الگو) نیز در هر RUN لحاظ گردید. برای اطمینان از صحت و اختصاصی بودن تکثیر، در پایان هر واکنش، منحنی ذوب[1] اعمال و تک قله بودن منحنی بررسی شد. علاوه بر این، کنترل‌های منفی (فاقد cDNA الگو و بدون سایبرگرین) برای بررسی آلودگی و تکثیر غیر اختصاصی لحاظ شدند. در برخی نمونه‌ها نیز محصولات PCR به‌صورت تصادفی روی ژل آگارز مورد بررسی قرار گرفتند تا تک باند بودن و اندازه محصول با مقدار پیش‌بینی‌شده تطبیق داشته شود. تحلیل داده‌ها با روش $2^{-\Delta\Delta Ct}$ و نرمال‌سازی نسبت به ژن اکتین (*ACT11*) انجام شد (Livak and Schmittgen, 2001).

نتایج و بحث

پس از انجام پالایش اولیه، از مجموع ۲۳۷۸۸۰۱۸۶ خوانش خام، تعداد ۲۰۵۶۷۰۲۸۰ خوانش پردازش شده باقی ماند. نتایج نشان داد که به طور متوسط ۱۳ درصد از خوانش‌ها در هر نمونه در فرآیند پردازش حذف شده‌اند. پس از نقشه‌یابی خوانش‌های پردازش شده با ژنوم مرجع لوبیا از خوانش‌های نقشه‌یابی نشده به منظور سرهم‌گذاری رونوشت‌ها استفاده شد. در مجموع پس از سرهم‌گذاری خوانش‌های نقشه‌یابی نشده و بررسی رونوشت‌های حاصل تعداد ۳۹۰۰۰ رونوشت به عنوان رونوشت‌های بدون ORF شناخته شدند. از این تعداد، ۲۱۹۴۷ توالی به عنوان lncRNAهای بالقوه شناسایی شدند. به منظور شناسایی، این توالی‌ها با بهره‌گیری از نرم‌افزار PLncPRO و ابزار BLASTx در برابر پایگاه‌های داده NR، UniProt، Pfam و Rfam مورد تحلیل قرار گرفتند. این فرآیند منجر به کاهش تعداد lncRNAهای معتبر به ۲۰۳۱ مورد گردید.

برای تأیید بیشتر، توالی‌های پیش‌بینی‌شده با داده‌های سه پایگاه تخصصی lncRNA گیاهی (GreeNC، PLncDB و CANTATA) مقایسه شدند، که نتایج نشان داد ۶۲۰ توالی حداقل در یکی از این پایگاه‌ها سابقه‌ای مشابه دارند. از میان ۶۲۰ توالی مذکور ۱۰۲ توالی در هر سه پایگاه داده مشترک بودند، در حالی که سایر توالی‌ها برای اولین‌بار در لوبیا شناسایی شده بودند. حداقل و حداکثر طول این lncRNAها به‌ترتیب ۲۰۰ و ۸۵۲ نوکلئوتید محاسبه شد. همچنین، نتایج BLASTتطابق بالایی میان این توالی‌ها و گیاهان خانواده حبوبات نشان داد که تأکیدی بر ارتباط ژنتیکی نزدیک میان این گونه‌ها محسوب می‌شود. این یافته‌ها نه تنها درک بهتری از شبکه‌های RNA غیرکدکننده در لوبیا ارائه می‌دهند، بلکه می‌توانند به مطالعات آتی در زمینه تحمل تنش و تنظیم ژنومی در این گیاه کمک کنند.

1- Melting Curve

جدول ۲- آغازگرهای مورد استفاده در واکنشqRT-PCR

Table 2. Primers used for the qRT-PCR reaction

Sequence ID	Forward primer sequence (5`-3`)	Reverse primer sequence (5`-3`)	Annealing temperature (°C)	Product size (bp)
R_LncRNA1	TCCTTCTTTCCGTATCCCTTC	AAGACGATGATGACCACAAG	52.2	148
R_LncRNA2	CCCACAACCCTCCCTTTC	CTCTTCCGCTCCACTACG	54.6	168
R_LncRNA3	GCTAATCTTCTCAAGGCATAG	CGACAAACGGCATATTTCC	50	160
PHAVU_008G011000g: ACT11	TGCATACGTTGGTGATGAGG	AGCCTTGGGGTTAAGAGGAG	53.5	190

شناسایی ژن‌ها و lncRNAهای با بیان افتراقی

برای بررسی تغییرات بیان ژن‌های افتراقی (DEGs) و تحلیل میزان بیان توالی‌های lncRNA، نمونه‌های تحت تنش شوری با نمونه‌های شاهد مقایسه شدند. یافته‌ها نشان دادند که ۱۱۶۸ ژن تحت تأثیر شوری دچار تغییرات معنی‌دار در سطح بیان شده‌اند، که از این میان ۶۶۸ ژن افزایش بیان و ۵۰۰ ژن کاهش بیان نشان دادند. تحلیل بیان lncRNAهای شناسایی‌شده نیز نشان داد که تنها سه توالی دارای تغییرات معنی‌دار در سطح بیان خود بودند. R_lncRNA2 نسبت به دیگر lncRNAها افزایش بیان معنی‌داری داشته (Log_2FC=۳/۴۳)، پس از آن R_lncRNA1 (Log_2FC= ۱/۰۵) و در نهایت در میان این توالی‌های منتخب توالی R_lncRNA3 کاهش بیان معنی‌داری (Log_2FC= -۱۲/۰۳) نشان داد. همچنین نتایج حاکی از وجود ۵۴ ژن هدف برای این سه توالی منتخب بود. تعداد ژن هدف برای توالی‌های R_lncRNA1، R_lncRNA2 و R_lncRNA3 به‌ترتیب ۱۴، ۱۲ و ۲۸ ژن بود.

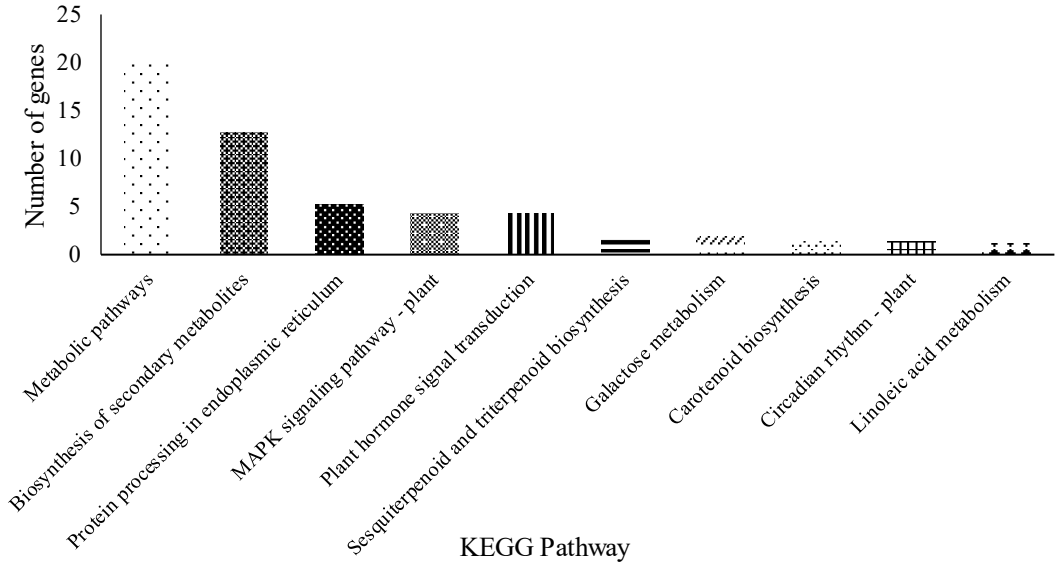
مسیرهای متابولیکی غنی‌شده توسط ژن‌های هدف lncRNAهای شناسایی شده

بررسی مسیرهای متابولیکی مرتبط با این ژن‌ها نشان داد که این مجموعه به‌طور معنی‌داری در مسیرهای متابولیکی، بیوسنتز ترکیبات ثانویه، پردازش پروتئین در شبکهٔ آندوپلاسمی، مسیر سیگنال‌دهی MAPK در گیاه، انتقال سیگنال هورمون‌های گیاهی، بیوسنتز سسکوئی‌ترپن‌ها و تری‌ترپن‌ها، متابولیسم گالاکتوز، بیوسنتز کاروتنوئیدها، ریتم شبانه‌روزی در گیاه و متابولیسم اسید لینولئیک نقش دارند (شکل ۱).

تحلیل هستی شناسی ژن‌های هدف

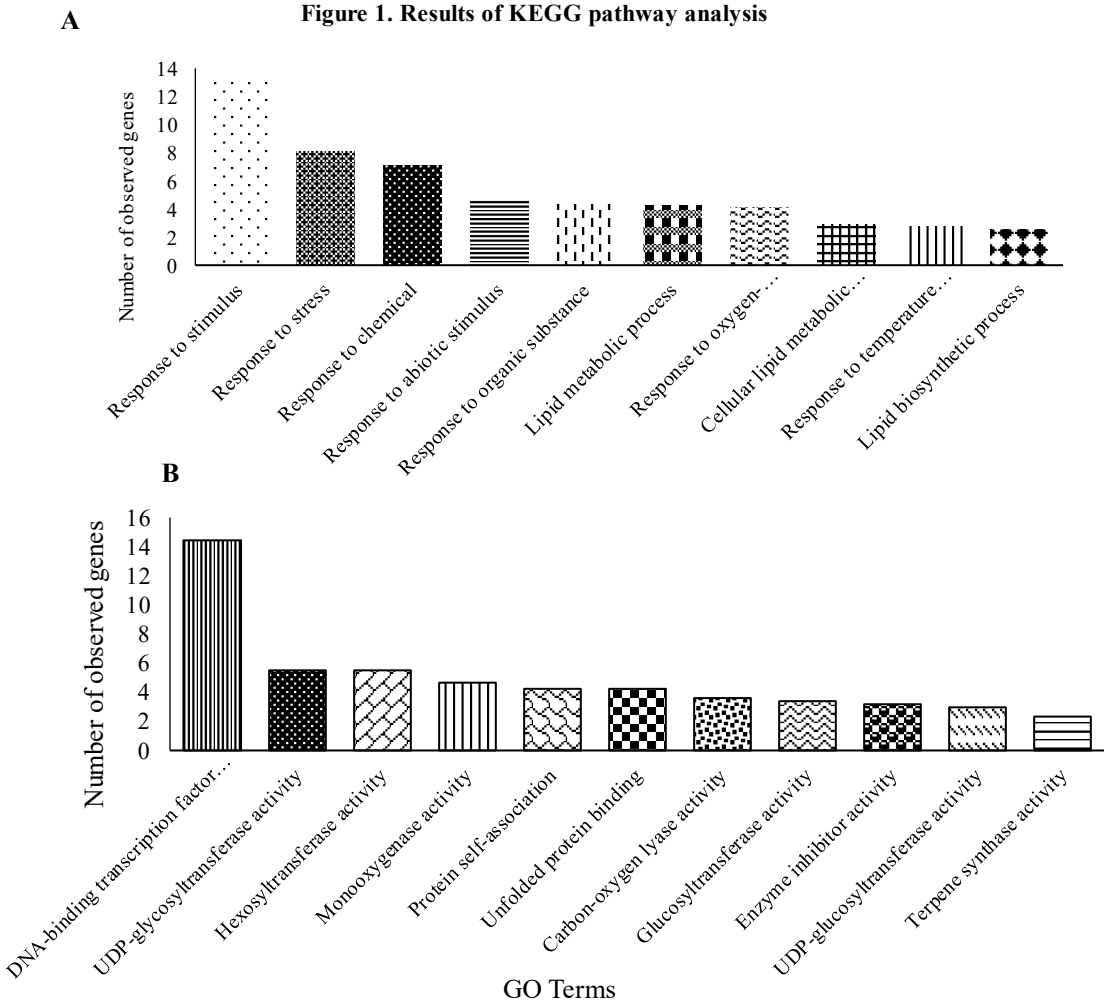
نتایج به‌دست‌آمده از تجزیه و تحلیل هستی‌شناسی ژن[1] نشان داد که در حوزه فرآیندهای زیستی تعداد قابل توجهی از ژن‌های هدف، در فرآیندهای بیولوژیکی که به تولید واکنش‌های دفاعی گیاه میزبان در برابر تنش‌ها مربوط می‌شوند، نقش دارند. این فرآیندها شامل واکنش به محرک‌ها، واکنش به تنش اسمزی، واکنش به مواد غیرآلی، فرآیند متابولیسم ایزوپرنوئید، واکنش به تنش اکسیداتیو، فرآیند متابولیسم ترپنویید، فرآیند بیوسنتز ایزوپرنوئید، واکنش به تنش شوری، واکنش به اسید آبسیزیک، فرآیند بیوسنتز ترپنویید، اولیگومریزه شدن کمپلکس پروتئینی، فرآیند بیوسنتز دی‌ترپنویید، واکنش به گونه‌های اکسیژن واکنش‌گر و واکنش به پراکسید هیدروژن می‌باشند (شکل ۲ الف). علاوه بر این، نتایج در حوزهٔ عملکرد مولکولی نشان داد که ژن‌های هدف در فرآیندهایی همچون فعالیت عوامل رونویسی متصل شونده به DNA، فعالیت UDP-گلیکوزیل‌ترانسفراز، فعالیت هگزوسیل ترانسفراز، فعالیت مونوکسیژناز، خود جمع شوندگی پروتئین، اتصال به پروتئین‌های ناتوان، فعالیت کربن-اکسیژن لیاز، فعالیت گلوکوزیل‌ترانسفراز، فعالیت مهارکننده آنزیم، فعالیت UDP-گلوکوزیل‌ترانسفراز، فعالیت ترپن ستتاز ایفای نقش می‌کنند (شکل ۲ ب).

1- Gene Ontology



شکل ۱- نتایج آنالیز مسیرهای زیستیKEGG

Figure 1. Results of KEGG pathway analysis



شکل ۲- تحلیل هستی‌شناسی ژنی فرآیندهای زیستی (A) و عملکردهای مولکولی(B)

Figure 2. Gene ontology analysis of biological processes (A) and molecular function (B)

شناسایی موقعیت درون‌سلولی lncRNAها

شناسایی موقعیت درون‌سلولی[1] lncRNAها یک رویکرد مهم برای درک عملکرد بیولوژیکی آن‌ها است (Martin and Ephrussi, 2009). به‌طور کلی، بر خلاف mRNAها، که باید به پروتئین‌هایی ترجمه شوند که عملکردهای سلولی خاصی را انجام دهند، lncRNAها خود واحد عملکردی هستند. بنابراین، مانند پروتئین‌ها، عملکردهای lncRNAها در بخش‌های مختلف درون‌سلولی توسط فعل و انفعالات مولکولی درون‌سلولی هدایت می‌شوند که باید برای حفظ هموستازی سلولی به خوبی تنظیم شوند.

اولین lncRNAهای مشخص شده در درجهٔ اول تنظیم کننده‌های کروماتین بودند و این تصور را القا کردند که lncRNAها عموماً هسته‌ای هستند. درحالی که مطالعات اخیر نشان می‌دهد تعداد lncRNAهای سیتوپلاسمی بیش از آنچه قبلاً تصور می‌شد، هستند. اگرچه lncRNAهای هسته‌ای به‌طورکلی فراوان‌تر هستند، اما پایداری کمتری نسبت به همتایان سیتوپلاسمی خود دارند. از آنجایی که تعاملات lncRNAها بر عملکرد آن‌ها تأثیر می‌گذارد، انتظار می‌رود نقش lncRNAها در هسته متفاوت از سیتوپلاسم باشد (Bridges *et al.*, 2021). lncRNAهای هسته‌ای وضعیت اپی‌ژنتیکی ژن‌های خاصی را کنترل می‌کنند، در تنظیم رونویسی شرکت می‌کنند، در پیوند جایگزین درگیر می‌شوند و بخش‌های زیر هسته‌ای را تشکیل می‌دهند. اگرچه برای اکثر lncRNAها، هسته محل بیوژنز و پردازش است اما سیتوپلاسم محل نهایی و عمل برخی از lncRNAها است (Davati and Ghorbani, 2023).

در سیتوپلاسم، lncRNAها به عنوان واسطه مسیرهای انتقال سیگنال، برنامه‌های ترجمه و کنترل پس از رونویسی عمل می‌کنند. به عنوان مثال، lncRNAها می‌توانند miRNAها و پروتئین‌ها را جداسازی کنند تا فعالیت آن‌ها را تنظیم کنند و سطوح آن‌ها بر تغییرات پس از ترجمه پروتئین تأثیر بگذارد یا واسطه ترجمه و پایداری mRNA باشد (Bridges, Daulagala and Kourtidis, 2021). در مطالعه حاضر از سه DE-lncRNA انتخاب شده در بافت ریشه R_lncRNA2 در هسته و R_lncRNA1 و R_lncRNA3 در سیتوپلاسم مکان‌یابی گردیدند (جدول ۳).

اعتبارسنجی بیان lncRNAهای شناسایی شده

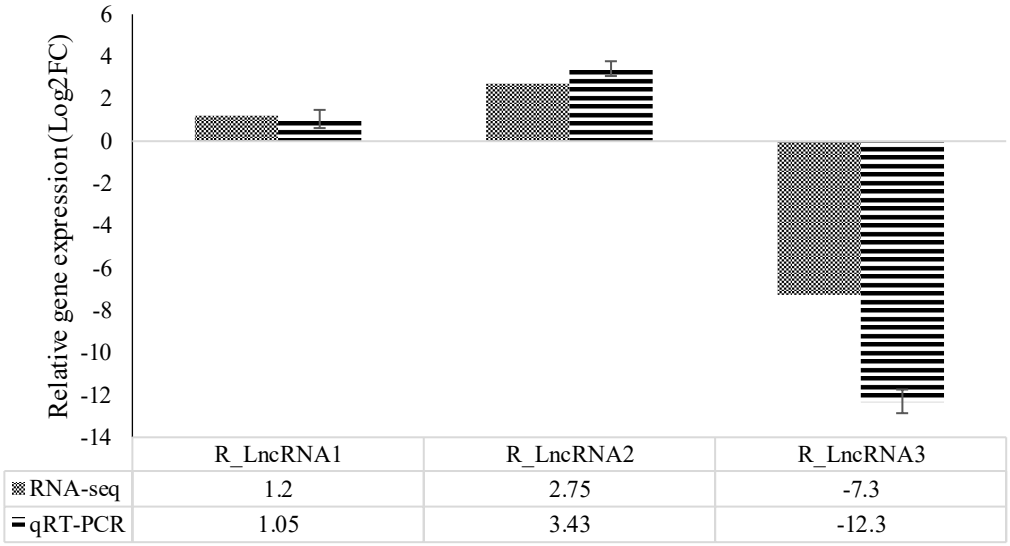
با استفاده از داده‌های حاصل از توالی‌یابی RNA میزان بیان نسبی توالی‌های سه lncRNA در بافت ریشه (R_lncRNA1، R_lncRNA2 و R_lncRNA3) با استفاده از روش qRT-PCR، ارزیابی شد. نتایج نشان داد که R_lncRNA3 بالاترین میزان تغییر در سطح بیان را داشت، به طوری که بیان این توالی در حالت تنش نسبت به حالت شاهد معادل Log2FC= -12.3 کاهش یافته است که با تغییر بیان این توالی در آنالیز RNA-seq نیز همخوانی داشت. توالی R_lncRNA2 بیشترین میزان بیان را نشان داد (Log2FC= 3.43). این افزایش بیان توالی R_lncRNA2 در واکنش qRT-PCR با میزان تغییرات بیان نسبی این توالی در حالت RNA-seq نیز همخوانی داشت. علاوه بر این، مقایسه‌ای بین داده‌های حاصل از qRT-PCR و RNA-seq انجام شد که همبستگی بسیار بالایی (۰/۹۹) در روند تغییرات بیان این توالی‌ها بین دو روش مشاهده گردید. این تطابق قوی، صحت و اعتبار بیان نسبی این توالی‌ها را تأیید می‌کند (شکل ۳).

1- Localization

جدول ۳- توزیع زیرسلولی lncRNA ها در *Phaseolus vulgaris* در شرایط تنش

Table 3. Subcellular localization of lncRNAs in *Phaseolus vulgaris* under stress conditions

ID	Result	Cytoplasm	Nucleus
R_lncRNA1	Cytoplasm	0.977	0.023
R_lncRNA2	Nucleus	0.156	0.844
R_lncRNA3	Cytoplasm	0.801	0.199



شکل ۳- مقایسه میزان بیان نسبی lncRNA های شناسایی‌شده در ریشه گیاه لوبیا (*Phaseolus vulgaris*) در شرایط تنش شوری با بهره‌گیری از روش‌های RNA-seq وqRT-PCR

Figure 3. Comparison of the relative expression of identified lncRNAs in bean roots under salt stress using RNA-seq and qRT-PCR methods

در حال حاضر، RNAهای غیرکدکنندهٔ بلند (lncRNA) به‌طور فزاینده‌ای به‌عنوان مولکول‌های تنظیم‌کننده حیاتی شناخته شده‌اند. در مقایسه با ژن‌های کدکننده پروتئین، lncRNAها به‌طور کلی طول کوتاه‌تری دارند و اگزون‌های کمتری در ساختارشان وجود دارد. lncRNAها به عنوان تنظیم‌کننده‌های رونویسی، می توانند به‌طور مستقیم یا غیرمستقیم بر بیان ژن‌های عملکردی تأثیر بگذارند (Liu *et al.*, 2022). در حوزهٔ گیاه‌شناسی، تحقیقات متعددی نشان داده‌اند که lncRNAها در فرآیندهای زیستی متعددی نقش اساسی ایفا می‌کنند. شواهد فزاینده‌ای از نقش مهم lncRNAها در واکنش به تنش‌ها حمایت می‌کنند (Zhang *et al.*, 2019). با این حال، تنها تعداد محدودی از lncRNAها در واکنش به تنش شوری نقش دارند و نقش بالقوهٔ lncRNA تحت تنش شوری در گیاه لوبیا مورد مطالعه قرار نگرفته است. این مطالعه به شناسایی ۲۰۳۱ توالی lncRNA در گیاه لوبیا انجامید. از این تعداد، ۶۲۰ توالی قبلاً در سایر گیاهان شناسایی شده بودند، در حالی که بقیه توالی‌ها برای نخستین بار در لوبیا شناسایی شدند. همچنین، در این تحقیق سه توالی از lncRNAها با

نام‌های R_lncRNA1، R_lncRNA2 و R_lncRNA3 به عنوان lncRNAهای دارای بیان افتراقی شناسایی گردیدند.

مطالعه ما نشان داد که lncRNA از طریق سازوکارهای مستقیم، نقش کلیدی در تحمل شوری گیاه لوبیا ایفا می‌کند. برای درک بهتر عملکرد این DElncRNAها تحت تنش شوری، ما تحلیل غنی‌سازی هستی شناسی ژن را بر روی رونوشت‌های هدف آن‌ها انجام دادیم. نتایج نشان داد که بیشتر رونوشت‌های هدف به‌طور معنی‌داری در فرآیندهایی مانند فعالیت بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه، مسیرهای سیگنال‌دهی MAPK نقش دارند.

گیاهان در واکنش به تحریکات محیطی و به‌عنوان یک عامل دفاعی متابولیت‌های ثانویه تولید می‌کنند. متابولیت‌های ثانویه نمایانگر مجموعه‌ای متنوع از ترکیبات سنتز شده توسط گیاهان هستند که هرچند برای رشد و توسعه ضروری نیستند، اما نقش‌های حیاتی در دفاع گیاهان در برابر تنش‌های زیستی و غیرزیستی ایفا می‌کنند. این ترکیبات از متابولیت‌های اولیه مشتق شده‌اند و بیوسنتز آن‌ها، از جمله آلکالوئیدها، ترپن‌ها، فنول‌ها و فلاونوئیدها، از طریق چندین مسیر به‌طور دقیق تنظیم می‌شود، به ویژه تحت شرایط تنش که به گیاه اجازه می‌دهد تا محیط‌های تنش‌زا را تحمل کند (Chiocchio *et al.*, 2021). ترپنوئیدها از واحدهای ایزوپرن مشتق شده‌اند، ترکیباتی با تنوع ساختاری هستند که شامل استروئیدها، کاروتنوئیدها و اسید جیبرلیک می‌شوند (Yazaki *et al.*, 2017). فنولیک‌ها، یکی از بزرگ‌ترین و متنوع‌ترین گروه‌های متابولیت‌های ثانویه، شامل فنول‌های ساده، فلاونوئیدها، اسیدهای فنولیک، تانن‌ها، استیلبن‌ها و لیگنان‌ها می‌شوند. آلکالوئیدها، با حلقه‌های هتروسیکلیک نیتروژنی مشخص می‌شوند، یک گروه بسیار متنوع از متابولیت‌های ثانویه را تشکیل می‌دهند (Dai and Mumper, 2010). تنظیم بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه در گیاهان، از جمله فلاونوئیدها، ترپن‌ها و آلکالوئیدهای ایندول ترپن، نقش مهمی در سازگاری گیاهان و تحمل به تنش‌های مختلف محیطی ایفا می‌کنند. بیوسنتز فلاونوئیدها به‌طور پیچیده‌ای توسط عوامل رونویسی مانند MYB، bHLH و WRKY کنترل می‌شود که به تنش‌های غیرزیستی مانند شوری، خشکی، نور و دما و همچنین چالش‌های زیستی واکنش می‌دهند (Gaude and Jalmi, 2025). متابولیت‌های ثانویه از طریق سازوکارهای مختلف ازجمله به‌عنوان آنتی‌اکسیدان برای خنثی کردن گونه‌های اکسیژن واکنش گر، به‌عنوان ترکیبات سمی در برابر آفات و عوامل بیماری‌زا و به‌عنوان مولکول‌های سیگنال‌دهنده برای فعال‌سازی ژن‌های مرتبط با دفاع در تحمل گیاه به تنش نقش دارند (Wu *et al.*, 2023). درک جامع مسیرهای بیوسنتزی و سازوکارهای تنظیمی حاکم بر تولید متابولیت‌های ثانویه برای بهبود تحمل تنش گیاهی، افزایش تولید ترکیبات ارزشمند تجاری و همچنین فرصت‌هایی را برای توسعه محصولات زراعی متحمل به تنش فراهم می‌آورد.

تحلیل‌های KEGG مسیرهای سیگنال‌دهی MAPK را شناسایی کرده است که برای واکنش لوبیا به شوری حیاتی هستند. شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد مولکول‌های MAPK تحت تنش فعال می‌شوند. تحت شرایط تنش، وظیفه مهم مسیرهای MAPK این است که تحریکات خارجی را برای سلول‌ها قابل درک کرده و در نتیجه واکنش مناسبی از سوی گیاه ایجاد کنند. این نوع واکنش‌های سلولی شامل بیان ژن‌های مختلف، فعال‌سازی آنزیم‌ها و پروتئین‌های کانالی می‌شود (Morris, 2010). در مجموع، حدود ۱۲۰ کیناز وجود دارد که البته تنها تعداد کمی از آن‌ها تا کنون شناسایی شده‌اند. مولکول‌های اصلی MAPK که در زمان تنش فعال می‌شوند، MPK3، MPK4 و MPK6 هستند (Miransari and Rangbar, 2013). فسفریلاسیون پروتئین، که توسط پروتئین کینازها انجام می‌شود، یک سازوکار معمول است که در موجودات

مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرد. در یک سلول یوکاریوتی، تقریباً ۳۰ درصد از پروتئین‌ها فسفریله شده‌اند. به همین ترتیب، ۵ درصد از ژنوم گیاه به فعال‌سازی پروتئین کینازها مربوط می‌شود. شواهدی وجود دارد که مولکول‌های MAPK می‌توانند بر سیگنال‌دهی ABA تأثیر بگذارند. به عنوان مثال، استفاده از مهارکننده MAP2K موجب کاهش فعالیت ABA در حین بسته‌شدن روزنه‌ها می‌شود (Mehlmer *et al.*, 2010). تحت تنش‌های مختلف مانند شوری، گرما و سرما ، فعال‌سازی مولکول‌های MAPK منجر به بازسازی میکروتوبول‌ها می‌شود. تنظیم رفتار گیاه، به‌ویژه غلظت سلولی Na^+ در شرایط تنش شوری، یک مسئله کلیدی برای کمک به بقا گیاه در برابر تنش است. سیگنال‌دهی MAPK می‌تواند بر این پدیده تأثیر مهمی گذاشته و فعالیت پمپ‌های پروتونی، انباشت Na^+ در واکوئل‌ها و تنظیم آرایش میکروتوبول‌ها (چرخهٔ سلولی) را تحت تأثیر قرار دهد (Miransari and Rangbar, 2013). برای این که گیاهان بتوانند به‌طور مؤثرتری در شرایط تنش شوری زنده بمانند، لازم است که مسیرهای سیگنال‌دهی MAPK به‌طور دقیق‌تری شناسایی شوند و به‌طور مناسب گیاهان متحمل توسعه یابند. به‌طور کلی ژن‌های هدف lncRNA می‌توانند گزینه‌های مناسبی برای برنامه‌های اصلاحی مولکولی به‌منظور تولید ارقام متحمل به تنش شوری محسوب شوند.

نتیجه‌گیری

در این مطالعه مشخص شد که lncRNAها و mRNAها در ریشه‌های لوبیا به‌طور قابل توجهی فعال شده و نقش مهمی در واکنش به تنش شوری ایفا می‌کنند. lncRNAها عمدتاً با تقویت مسیرهای متابولیکی، تحمل به تنش شوری را تنظیم می‌کنند. با شناسایی و درک عملکرد این lncRNAها، می‌توان به پیشرفت‌های قابل‌توجهی در زمینهٔ بهبود رقم‌های متحمل به تنش‌های محیطی، به‌ویژه تنش شوری دست یافت. این دانش نوین می‌تواند به بهبود بهروری کشاورزی و تأمین غذای پایدار در شرایط نامساعد محیطی کمک کند. به‌روز کردن داده‌های موجود در این حوزه می‌تواند به شناخت بهتر تحولات زیستی و ژنتیکی در گیاهان یاری رساند. با توجه به عملکردهای متنوع lncRNAها، این تحقیق پایه‌گذار مطالعات آینده‌ای در زمینه بررسی ساختار، عملکرد و تعاملات این مولکول‌ها خواهد بود و همچنین ارتباط آن‌ها را با پیشرفت‌های کشاورزی و زیست‌فناوری روشن‌تر می‌سازد.

سپاس‌گزاری

از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه لرستان که ما را در اجرای هرچه بهتر پژوهش حاضر یاری کردند سپاسگزاری می‌نماییم.

References

Alavi Matin, S., Rahnama, A., & Meskarbashee, M. (2016). Effect of potassium supply on the activity of some antioxidant enzymes of two durum wheat cultivars under salt stress. *Plant Productions,* 38(4), 1-12. https://doi.org/10.22055/ppd.2016.11828 [In Persian].

Ataei Nasab, T., Balouchi, H., Moradi, A., & Movahhedi Dehnavi, M. (2023). Evaluation of seed germination of Salicornia persica under iso osmotic conditions using hydrotime and halotime models. *Plant Productions*, 1(46), 80-90. https://doi.org/10.22055/ppd.2023.41253.2045 [In Persian].

Bridges, M. C., Daulagala, A. C., & Kourtidis, A. (2021). LNCcation: lncRNA localization and function. *Journal of Cell Biology*, 220(2), e202009045. https://doi.org/10.1083/jcb.202009045

Celmeli, T., Sari, H., Canci, H., Sari, D., Adak, A., Eker, T., & Toker, C. (2018). The nutritional content of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) landraces in comparison to modern varieties. *Agronomy*, 8(9), 166. https://doi.org/10.3390/agronomy8090166

Chand Jha, U., Nayyar, H., Mantri, N., & Siddique, K. H. (2021). Non-coding RNAs in legumes: their emerging roles in regulating biotic/abiotic stress responses and plant growth and development. *Cells*, 10(7), 1674. https://doi.org/10.3390/cells10071674

Chiocchio, I., Mandrone, M., Tomasi, P., Marincich, L., & Poli, F. (2021). Plant secondary metabolites: An opportunity for circular economy. *Molecules*, 26(2), 495. https://doi.org/10.3390/molecules26020495

Dai, J., & Mumper, R. J. (2010). Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, 15(10), 7313–7352. https://doi.org/10.3390/molecules15107313

Davati, N., & Ghorbani, A. (2023). Discovery of long non-coding RNAs in Aspergillus flavus response to water activity, CO2 concentration, and temperature changes. *Scientific Reports*, 13, 1–13. https://doi.org/10.1038/s41598-023-37236-4

Di Marsico, M., Paytuvi Gallart, A., Sanseverino, W., & Aiese Cigliano, R. (2022). GreeNC 2.0: a comprehensive database of plant long non-coding RNAs. *Nucleic Acids Research*, 50(D1), D1442–D1447. https://doi.org/10.1093/nar/gkab1103

El-Beltagi, H. S., & Al-Otaibi, H. H. (2023) .Application of potassium humate and salicylic acid to mitigate salinity stress of common bean. *Life*, 13(2), 448. https://doi.org/10.3390/life13020448

Gama, P., Inanaga, S., Tanaka, K., & Nakazawa, R. (2007). Physiological response of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seedlings to salinity stress. *African Journal of Biotechnology*, 6(2), 79–88. https://doi.org/10.5897/AJB2007.000-2276

Gaude, A. A., & Jalmi, S. K. (2025). Environmental Stress Induced Biosynthesis of Plant Secondary Metabolites-Transcriptional Regulation as a key. *Crop Design*, 4(2), 100100. https://doi.org/10.1016/j.cdpdt.2025.100100

Gobade, A., Arathi, S., Gijare, S., Pawar, D., & Patil, A. S. (2025). Evaluating salt tolerance in soybean core collection: germination response under salinity stress. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 72(2), 2059–2076. https://doi.org/10.1007/s10722-024-02081-5

Guan, R. X., Guo, X. Y., Qu, Y., Zhang, Z. W., Bao, L. G., Ye, R. Y., Chang, R. Z., & Qiu, L. J. (2023). Salt tolerance in soybeans: focus on screening methods and genetics. *Plants*, 13(1), 97. https://doi.org/10.3390/plants13010097

Jaiswal, B., Singh, S., Agrawal, S. B., Lokupitiya, E., & Agrawal, M. (2022). Improvements in soil physical, chemical and biological properties at natural saline and non-saline sites under different management practices. *Environmental Management*, 69(5), 1005–1019. https://doi.org/10.1007/s00267-022-01612-z

Jannesar, M., Seyedi, S. M., & Botanga, C. (2024). Crosstalk between long non-coding RNAs and miRNAs regulates transferase activities in response to salt stress in Pistachio (*Pistacia vera* L.). *Plant Stress*, 12, 100474. https://doi.org/10.1016/j.stress.2024.100474

Jiang, C., Wang, Y., He, Y., Peng, Y., Xie, L., Li, Y., Sun, W., Zhou, J., Zheng, C., & Xie, X. (2024). Identification and Characterization of miRNAs and lncRNAs Associated with Salinity Stress in Rice Panicles. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(15), 8247. https://doi.org/10.3390/ijms25158247

Kang, Y. J., Yang, D. C., Kong, L., Hou, M., Meng, Y. Q.,Wei, L., & Gao, G. (2017). CPC2: a fast and accurate coding potential calculator based on sequence intrinsic features. *Nucleic Acids Research*, 45(W1), W12–W16. https://doi.org/10.1093/nar/gkx398

Karimi, M. R., Sabokdast, M., Korang Beheshti, H., Abbasi, A. R., & Bihamta, M. R. (2025) .Seed priming with salicylic acid enhances salt stress tolerance by boosting antioxidant defense in *Phaseolus vulgaris* genotypes. *BMC Plant Biology*, 25(1), 489. https://doi.org/10.1186/s12870-025-06376-2

Li, J., Ma, W., Zeng, P., Wang, J., Geng, B., Yang, J., & Cui, Q. (2015). LncTar: a tool for predicting the RNA targets of long noncoding RNAs. *Briefings in bioinformatics*, 16 (5), 806–812. https://doi.org/10.1093/bib/bbu048

Liu, P., Zhang, Y., Zou, C., Yang, C., Pan, G., Ma, L., & Shen, Y. (2022). Integrated analysis of long non-coding RNAs and mRNAs reveals the regulatory network of maize seedling root responding to salt stress. *BMC Genomics*, 23, 1-16. https://doi.org/10.1186/s12864-021-08286-7

Livak, K. J., & Schmittgen, T. D. (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta Ct}$ method. *Methods*, 25 (4), 402–408. https://doi.org/10.1006/meth.2001.1262

Love ,M. I., Huber, W., & Anders, S. (2014). Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. *Genome Biology*, 15, 1–21. https://doi.org/10.1186/s13059-014-0550-8

Lowe, T. M., & Chan, P. P. (2016). tRNAscan-SE On-line: integrating search and context for analysis of transfer RNA genes. *Nucleic Acids Research*, 44 (W1), W54–W57 . https://doi.org/10.1093/nar/gkw413

Ma, L., Han, R., Yang, Y., Liu, X., Li, H., Zhao, X., Li, J., Fu, H., Huo, Y., & Sun, L. (2023). Phytochromes enhance SOS2-mediated PIF1 and PIF3 phosphorylation and degradation to promote Arabidopsis salt tolerance. *The Plant Cell*, 35(8), 2997–3020. https://doi.org/10.1093/plcell/koad117

Martin, K. C., & Ephrussi, A. (2009). mRNA localization: gene expression in the spatial dimension. *Cell*, 136 (4), 719–730. https://doi.org/10.1016/j.cell.2009.01.044

Mehlmer, N., Wurzinger, B., Stael, S., Hofmann-Rodrigues, D., Csaszar, E., Pfister, B., Bayer, R., & Teige, M. (2010). The Ca^{2+}-dependent protein kinase CPK3 is required for MAPK-independent salt-stress acclimation in Arabidopsis. *The Plant Journal*, 63(3), 484–498. https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2010.04257.x

Mehralizade, Z., Soorni, A., & Meratian Esfahani, S. (2024). Regulatory Network of Spinach Under Salt Stress: An Integrated Study of Long Non-coding RNAs and mRNAs. *Journal of Plant Growth Regulation*, 44(5), 2298–2314. https://doi.org/10.1007/s00344-024–11546-x

Miransari, M., & Rangbar, B. (2013). Salt Stress and MAPK Signaling in Plants. In: Hossain, A., M. Burritt, & Ahmad, A. P. (Eds.), Salt Stress in Plants: Signalling, Omics and Adaptations. Springer, NY, USA, pp. 157–173. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-6108-1_7

Morris, P. C. (2010). Integrating lipid signalling, mitogen-activated protein kinase cascades and salt tolerance. *The New Phytologist*, 188(3), 640–643. https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2010.03507.x

Munns, R., & Tester, M. (2008). Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology,* 59, 651-81. https://doi.org/ 10.1146/annurev.arplant.59.032607.092911

Pandey, G. K., & Mahiwal, S. (2020). Role of Potassium in Plants. Cham, Switzerland. Springer. Switzerland. https://doi.org/10.1007/978-3-030-45953-6

Peng, Y., Zhu, H., Wang, Y., Kang, J., Hu, L., Li, L., Zhu, K., Yan, J., Bu, X., & Wang, X. (2025). Revisiting the role of light signaling in plant responses to salt stress. *Horticulture Research*, 12(1), uhae262. https://doi.org/10.1093/hr/uhae262

Raza, A., Tabassum, J., Fakhar, A. Z., Sharif, R., Chen, H., Zhang, C., Ju, L., Fotopoulos, V., Siddique, K. H., & Singh, R. K. (2023). Smart reprograming of plants against salinity stress using modern biotechnological tools. *Critical Reviews in Biotechnology*, 43(7), 1035–1062. https://doi.org/10.1080/07388551.2022.2093695

Samarfard, S., Ghorbani, A., Karbanowicz, T. P., Lim, Z. X., Saedi, M., Fariborzi, N., McTaggart, A. R., & Izadpanah, K. (2022). Regulatory non-coding RNA: The core defense mechanism against plant pathogens. *Journal of Biotechnology*, 359, 82–94. https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2022.09.014

Singh, U., Khemka, N., Rajkumar, M. S., Garg, R., & Jain, M. (2017). PLncPRO for prediction of long non-coding RNAs (lncRNAs) in plants and its application for discovery of abiotic stress-responsive lncRNAs in rice and chickpea. *Nucleic Acids Research*, 45(22), e183. https://doi.org/10.1093/nar/gkx866

Volkov, V., & Beilby, M. J. (2017). Salinity tolerance in plants: Mechanisms and regulation of ion transport, *Frontiers in Plant Science*, 8, 1795. https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01795

Wang, D., & Wu, H. (2025) .Identification and functional characterization of lncRNAs and mRNAs in response to salt stress in mulberry. *Forestry Research*, 5(1), 5. https://doi.org/10.1186/s40663-025-00475-6

Wekesa, C., & Asudi, G. O. (2022). Rhizobia contribute to salinity tolerance in Common Beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Cells*, 11(22), 3628. https://doi.org/10.3390/cells11223628

Wu, J., Lv, S., Zhao, L., Gao, T., Yu, C., Hu, J., & Ma, F. (2023). Advances in the study of the function and mechanism of the action of flavonoids in plants under environmental stresses. *Planta*, 257(6), 108. https://doi.org/10.1007/s00425-023-04162-1

Yang, H ,.Cui, Y., Feng, Y., Hu, Y., Liu, L., & Duan, L. (2023). Long non-coding RNAs of Plants in response to abiotic stresses and their regulating roles in promoting environmental adaption. *Cells*, 12(5), 729. https://doi.org/10.3390/cells12050729

Yazaki, K., Arimura, G. I., & Ohnishi, T. (2017). Hidden'terpenoids in plants: their biosynthesis, localization and ecological roles. *Plant and Cell Physiology*, 58(10), 1615–1621. https://doi.org/10.1093/pcp/pcx107

Ye, X., Wang, S., Zhao, X., Gao, N., Wang, Y., Yang, Y., Wu, E., Jiang, C., Cheng, Y., & Wu, W. (2022). Role of lncRNAs in cis-and trans-regulatory responses to salt in *Populus trichocarpa*. *The Plant Journal*, 110(4), 978–993. https://doi.org/10.1111/tpj.15724

Yu, R., Li, Z., Rong, M., Yang, G., Xu, X., Wang, G., Xu, Z., Du, X., & Zhang, Q. (2023). Comparative physiology and transcriptome analysis to identify the important coding and non-coding RNAs imparting tolerance to salinity stress in alfalfa (*Medicago sativa* L). *Research Square*, 16, e18236. https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-2937347/v1

Yu, Y., Zhang, Y., Chen, X., & Chen, Y. (2019). Plant noncoding RNAs: Hidden players in development and stress responses. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 35, 407–431. https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-100818-125218

Zhang, X., Dong, J., Deng, F., Wang, W., Cheng, Y., Song, L., Hu, M., Shen, J., Xu, Q., & Shen, F. (2019). The long non-coding RNA lncRNA973 is involved in cotton response to salt stress. *BMC Plant Biology*, 19, 16. https://doi.org/10.1186/s12870-019-1607-4

Zhu, P., Wang, Y., Qin, N., Wang, F., Wang, J., Deng, X. W., & Zhu, D. (2016). Arabidopsis small nucleolar RNA monitors the efficient pre-rRNA processing during ribosome biogenesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113(44), 12861–12866. https://doi.org/10.1073/pnas.1613686113