بررسی برخی خصوصیات این‌همانی سیب‌زمینی تراریخت مقاوم به شوری

سمیرا کریمی[۱]، مقصود پژوهنده[۲،*] و کامبیز عزیزپور[۳]

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز
۲- دانشیار، گروه بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز
۳- استادیار، گروه زراعت و گیاهان داروئی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۳/۱۸ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۶/۰۱)

چکیده

گیاهان تراریخت و محصولات آن‌ها با توجه به ویژگی‌های بهبودیافته، روز به روز در حال توسعه هستند و ارزیابی ایمنی این گیاهان قبل از ورود به سبد غذایی مردم الزامی می‌باشد. از این‌رو اهمیت موضوع ایمنی زیستی گیاهان تراریخت و استفاده از محصولات آن‌ها، سازمان‌های نظارتی را وادار به ایجاد قوانینی کرده است که از آن تحت عنوان ارزیابی این‌همانی یاد می‌شود. در پروتکل اجرایی آن ترکیبات مغذی مهم و ضروری گیاهان تراریخت بررسی و با شاهد مقایسه می‌شود. هدف پژوهش حاضر ارزیابی زیستی سیب‌زمینی تراریخت لاین F (مقاوم به شوری) با رقم اصلی و غیرتراریخت آن (آگریا) می‌باشد که این لاین تراریخت مقاوم به شوری با انتقال ژن *SOS3* آرابیدوپسیس به سیب‌زمینی رقم آگریا تولید و مقاومت آن به شوری اثبات شده است. ابتدا حضور ژن *AtSOS3* در گیاهان لاین F تأیید شد و آزمایش‌های این‌همانی در قالب مقایسه میزان تولید پرولین، قندهای محلول، کاروتنوئید و کلروفیل‌های a و b، میزان بیان نسبی ژن *Catalase 1* و *AtSOS3* بین لاین F و گیاه شاهد غیرتراریخت انجام گرفت. بر اساس ارزیابی‌های صورت گرفته در صفات فیزیولوژیک و برخی متابولیت‌ها (میزان پرولین، قندهای محلول، کاروتنوئید و کلروفیل‌های a و b) و صفات مورفولوژیک (ارتفاع بوته، وزن خشک و تر گیاه) بین لاین F و WT هیچ تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. در بررسی کلنی‌های میکروبیوم اطراف ریشه در لاین تراریخت و شاهد غیرتراریخت تفاوت غیرمعنی‌دار بود که حاکی از آن است که لاین تراریخت هیچ اثر تهدیدآمیزی برای کاهش یا افزایش میکروارگانیسم‌ها در محیط زیست ندارد. میزان بیان نسبی ژن‌های *AtSOS3* و *Catalase1* در لاین F نسبت به WT دارای مقادیر بیشتری بود. دلیل افزایش بیان *Catalase1*، فعال شدن مکانیسم‌های دفاعی گیاه در برابر تنش می‌باشد. درنهایت نتایج هر یک از ارزیابی‌های صورت گرفته برابری لاین F و WT در صفات ارزیابی شده را اثبات کرد.

واژگان کلیدی: این‌همانی، تراریخت، سیب‌زمینی، شوری، مقاومت

* نویسنده مسئول، آدرس پست الکترونیکی: **pazhouhandeh@azaruniv.edu**

مقدمه

سیب‌زمینی (*Solanum tuberosum* L.) متعلق به خانواده *Solanaceae* می‌باشد. گونه رایج سیب‌زمینی اتوتتراپلوئید ($2n = 4x = 48$) و دارای ۱۲ کروموزوم پایه است (Sevestre *et al.*, 2020). سیب‌زمینی در بیش از ۱۰۰ کشور تحت شرایط معتدل، نیمه‌گرمسیری و گرمسیری کشت می‌شود و اساساً محصول آب و هوای معتدل است (Mosavi *et al.*, 2018; Nowroz *et al.*, 2021). غده‌های سیب‌زمینی سرشار از ویتامین C، نیاسین و ویتامین B6 می‌باشند و بسیاری از کشورهای در حال توسعه از نظر اقتصادی و غذایی وابسته به تولید آن هستند (Maroušek *et al.*, 2020; Scott *et al.*, 2019). تغییر الگوهای آب و هوایی منجر به ایجاد تنش‌های خشکی، شوری، گرما و غیره در سراسر جهان شده است که در نهایت باعث کاهش عملکرد محصول می‌شوند. در این بین سیب‌زمینی نیز به‌عنوان یک محصول استراتژیک نسبت به خاک‌های شور حساس بوده و همین حساسیت منجر به کاهش عملکرد و بهره‌وری محصول آن می‌گردد (Mahmoud *et al.*, 2020; Rahimian and Zabihi, 2021; Yang *et al.*, 2016).

مکانیسم‌های متعددی برای مقابله و تحمل به تنش شوری در گیاهان هدف شناسایی شده است که با بهره گرفتن از این مکانیسم‌ها با کمک مهندسی ژنتیک می‌توان تا حدود زیادی اثرات منفی تنش شوری را کاهش داد. در زیست‌شناسی گیاهی، یکی از اهداف ایجاد گیاه تراریخت، انطباق و مقاوم کردن گیاه هدف با شرایط محیطی است که به‌طور دائم در حال تغییر می‌باشد (Ahanger *et al.*, 2017; Anirudh *et al.*, 2020). تنش شوری با هدف قرار دادن بیان پروتئین‌های گیاه بر رشد و عملکرد آن تأثیر منفی می‌گذارد. از این رو بررسی ژن‌ها و پروتئین‌های درگیر در تنش، جهت انجام اقدامات لازم برای افزایش عملکرد گیاه در برابر تنش شوری مهم می‌باشد (Salami *et al.*, 2016; Shabani *et al.*, 2016).

امروزه بیوتکنولوژی زمینه ترقی کشاورزی را در بخش‌های مهندسی ژنتیک و تولید گیاه تراریخت فراهم کرده است. با شناسایی DNA نوترکیب در سال ۱۹۷۵ بحث‌های عمومی در مورد مزایا و خطرات بالقوه حوزه نوظهور بیوتکنولوژی مولکولی آغاز شد (Bedair and Glenn, 2020; Ghazizadeh *et al.*, 2015). مفهوم مقایسه‌ای برای اولین بار در سال ۱۹۹۰ توسط سازمان همکاری اقتصادی و توسعه، سازمان غذا و دارو، سازمان بهداشت جهانی و کدکس بیان شد و به‌صورت کلی با عنوان اصل این‌همانی (Substantial equivalent) نام‌گذاری شد. اصل برابری ذاتی با هدف ایجاد یک رویکرد علمی کاملاً منطبق با پذیرش جهانی مطرح شده است و صرفاً برای شناسایی تفاوت‌ها و بخشی از رویکرد ارزیابی ایمنی مقایسه‌ای می‌باشد. مواردی که در این اصل بررسی و مطالعه می‌شود عبارت‌اند از: ۱) مطالعه خصوصیات ژنتیکی (پروتئین، متابولیت‌ها و محل درج ژن خارجی و...)؛ ۲) آنالیز ترکیبات اصلی و مواد مغذی؛ ۳) پتانسیل انتقال ژن خارجی به میکروارگانیسم‌های روده انسان و سایر حیوانات؛ ٤) بررسی سایر عوارض جانبی محصول تراریخت؛ ۵) مطالعه اثرات گیاه تراریخت روی میکروارگانیسم‌های اطراف آن (Kok and Kuiper, 2003).

دستورالعمل‌های کدکس جهت ارزیابی کیفیت و ایمنی محصولات تراریخت بدین دلیل است که هیچ ماده غذایی ایمنی مطلق ندارد، بنابراین در این مطالعات روند ارزیابی ترکیب محصول تراریخت با غیرتراریخت به‌صورت فرایند مقایسه‌ای انجام می‌شود (Prado *et al.*, 2014). ارزیابی مقایسه‌ای محصولات تراریخت متکی بر اصل این‌همانی می‌باشد که بر طبق این اصل محصولات تراریخت با نوع غیرتراریخت بایستی کمترین تفاوت طبیعی و قابل‌قبول را داشته باشند. داده‌های مرجع مربوط به انواع گیاهان غیرتراریخته تجاری برای ارزیابی این‌که تفاوت‌های موجود بین محصول تراریخت و غیرتراریخت در محدوده طبیعی هستند مهم می‌باشند که یکی از روش‌های به‌دست آوردن مقادیر مرجع، کاشت ارقام غیرتراریخت در آزمایش‌های مزرعه‌ای می‌باشد (Jiang *et al.*, 2021; Kim *et al.*, 2020).

مفهوم این‌همانی به‌عنوان راهکاری برای تجزیه و تحلیل ریسک برای تعیین اینکه آیا و تا چه اندازه ارزیابی ایمنی مورد نیاز است، ارائه شد (Giraldo *et al.*, 2019; Sreekar, 2020). ارزش غذایی و ایمنی محصولات تراریخت درنهایت از روی ترکیب شیمیایی آن‌ها مشخص می‌گردد (Hilbeck *et al.*, 2020). به‌طور کلی هدف از مطالعات این‌همانی به‌دست آوردن نتیجه‌ای در مورد وضعیت ایمنی گیاه تراریخت نیست، زیرا این کار نیازمند بررسی همه ترکیبات گیاه تراریخت می‌باشد که به‌سادگی امکان‌پذیر نیست. در عوض این‌همانی با بررسی مجموعه‌ای از صفات، ارزیابی‌هایی را در اندازه و ماهیت تغییرات ایجاد شده ارائه می‌دهد که این اطلاعات زمینه‌ای برای بررسی بیشتر تغییرات مشکل‌ساز و نقطه شروع تحقیقات بیشتر می‌باشد (Hong *et al.*, 2014; Kim *et al.*, 2013).

مقالات منتشر شده اخیر به بررسی متابولیت‌های گیاهان تراریخت جهت ارزیابی ایمنی تأکید دارند. سه هدف مهم از مطالعه متابولیت‌ها عبارت‌اند از: ۱) تشخیص گیاهانی که در آن‌ها ویرایش ژن صورت گرفته است؛ ۲) بررسی تغییرات غیرمنتظره مرتبط با ایمنی در گیاهان تراریخت؛ ۳) لازم بودن بررسی‌ها در مقررات دولتی در پذیرش محصولات GMO (Fedorova and Herman, 2020). بدین منظور امروزه مطالعات زیادی در زمینه این‌همانی گیاهان تراریخت با شاهد معمولی با توجه به مقایسه بین متابولیت‌های مهم صورت می‌گیرد. مثلاً در مطالعه برنج تراریخت حاوی ژن‌های cry و مقاوم به علف‌کش گلایفوسیت با برنج غیرتراریخت تفاوت‌هایی از لحاظ متابولیتی در هر دو مرحله رشد دانه برنج مشاهده نشد. یافته‌ها نشان می‌دهد که بررسی متابولیت می‌تواند نقش مهمی در ارزیابی ریسک داشته باشد (Peng *et al.*,2019). در پژوهش دیگری موش‌های صحرایی به‌مدت ۹۰ روز از سویای تراریخت مقاوم به علف‌کش DAS-68416-4 تغذیه شده و به‌صورت مرتب موش‌ها از نظر رفتار عمومی، افزایش وزن بدن، مصرف غذا، کارایی و غیره مورد ارزیابی قرار گرفتند و این رژیم غذایی درنهایت هیچ تفاوتی در موش صحرایی ایجاد نکرد (Zhang *et al.*, 2021). در بررسی صورت گرفته روی پوست و گوشت لیمو تراریخت دارای ژن *chit42* که منجر به مقاومت در برابر قارچ‌های بیماری‌زا می‌شود، لیمو تراریخت با نوع غیرتراریخت هیچ تفاوتی از لحاظ متابولیت‌ها نشان نداد. مجموعه مقایسات صورت گرفته در مطالعات فوق نقش مهمی در روشن‌سازی ریسک استفاده از محصولات تراریخت دارند (Mukerji *et al.*, 2020).

با در نظر گرفتن نگرش مردم به گیاهان تراریخت در دنیای واقعی و مزایای آن‌ها برای بهبود و تأمین نیازهای جامعه بشری، این‌همانی یکی از الزامات اساسی در معرفی و استفاده از آن‌ها می‌باشد. ریشه این نوع نگرش منفی در جامعه به کمبود نسبی اطلاعات از گیاهان تراریخت برمی‌گردد، بنابراین هدف از مطالعات این‌همانی بررسی و ارزیابی این مشکلات و هراس‌ها در خصوص GMOها می‌باشد (Gong *et al.*, 2004; Ye *et al.*, 2013).

در این مطالعه بررسی این‌همانی برای شناسایی و بررسی برخی تفاوت‌ها و شباهت‌های مهم موجود بین سیب‌زمینی تراریخت مقاوم به شوری با غیرتراریخت آگریا صورت می‌گیرد. در این راستا برخی از مهم‌ترین متابولیت‌های سیب‌زمینی مورد مطالعه و بیان ژن‌های *Catalase 1* و *AtSOS3* مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

گیاهان مورد مطالعه در این پژوهش شامل سیب‌زمینی لاین F (سیب‌زمینی تراریخت آگریا مقاوم به شوری) و رقم غیرتراریخت آگریا می‌باشد. سیب‌زمینی تراریخت مقاوم به شوری در سال‌های ۱۳۹۵ و ۱۳۹۶ در آزمایشگاه بیوتکنولوژی دانشگاه شهید مدنی آذربایجان تولید و تراریخت بودن آن اثبات شد. این لاین تراریخت در جریان دو مطالعه جداگانه به‌عنوان مقاوم‌ترین لاین از بین ۱۰ لاین تراریخت انتخاب و در ادامه مطالعات به‌عنوان گیاه تراریخت انتخاب شد. در این گیاه ژن *SOS3* متعلق به آرابیدوپسیس (AT5g24270) تحت پیشبر CaMV 35S قرار گرفته است (Moatamed, 2016; Valikhanlou, 2018). جهت شروع مقدمات کار ابتدا لاین F و رقم غیرتراریخت یا WT در

محیط MS مایع در شرایط استریل زیر هود با کشت‌بافت از نمونه‌های قبلی موجود در آزمایشگاه واکشت و تکثیر شدند و پس از رشد و آماده‌سازی نمونه‌ها بررسی‌های لازم روی نمونه‌های هدف انجام شد.

مطالعه ثبات ژن *SOS3*: از گیاهچه‌های سیب‌زمینی مقاوم به شوری و رقم آگریا معمولی به روش CTAB استخراج DNA انجام شد. در ادامه با آغازگر اختصاصی ژن *SOS3* (آغازگر مستقیم: 5´-ATGGGCTGCTCTGTATCGAA-3´) و (آغازگر معکوس: 5´-TTAGGAAGATACGTTTTGCAA-3´) واکنش PCR روی نمونه‌های DNA در شرایط دمایی و زمانی به‌مدت ۳۰ ثانیه با دمای ۹۲ ،°C ۵۶ °C به‌مدت ۳۰ ثانیه و ٤٥ ثانیه با ۷۲ °C در طی ۳۵ چرخه PCR انجام گرفت و ژن *SOS3* محصول PCR بر روی ژل آگارز دو درصد الکتروفورز مشاهده شد. در این مرحله پس از تأیید گیاهچه‌های لاین F و شاهد چند نمونه از آن‌ها انتخاب و مطالعات بعدی روی آن‌ها انجام شد؛ این مرحله صرفاً به‌خاطر این انجام شد که اگر احتمالا در جریان کشت، نمونه‌های تراریخت و شاهد معمولی باهم مخلوط شده باشند مشخص گردد.

استخراج RNA و بررسی بیان نسبی ژن‌های *SOS3* و کاتالاز (*CAT1*): پس از استخراج RNA از نمونه‌های گیاهی تراریخت و WT، تیمار DNase روی نمونه‌ها انجام شد و سپس کمیت و کیفیت RNA استخراج شده با اسپکتروفتومتر و الکتروفورز مورد بررسی قرار گرفت. از روی نمونه‌های RNA تأیید شده، سنتز cDNA انجام و صحت و درستی سنتز cDNA از طریق PCR با آغازگرهای اختصاصی ژن اکتین (ژن خانه‌دار) (آغازگر مستقیم: 5´-AGGAGCATCCTGTCCTCCTAA-3´) و (آغازگر معکوس: 5´-CACCATCACCAGAGTCCAACA-3´) طی واکنش semi-quantitative PCR بررسی شده و در ادامه cDNAهای تأیید شده به‌عنوان رشته الگو در واکنش qPCR استفاده شد. واکنش qPCR با آغازگرهای اختصاصی ژن *SOS3* (آغازگر مستقیم: 5´-GTCACGCCATTCACGGTAG-3´) و (آغازگر معکوس: 5´-CACTCCATTTCGCTTCACATC-3´) و آغازگرهای اختصاصی ژن کاتالاز (*CAT1*) (آغازگر مستقیم: 5´-GCGACCAAGGATCTTTACGA-3´) و (آغازگر معکوس: 5´-CAACACCAATCGACCAACTG-3´) روی نمونه‌های cDNA (لاین F و WT) در شرایط دمایی و زمانی به‌مدت ۱۰ ثانیه با دمای ۹۵ ،°C ۵۸ °C به‌مدت ۱۰ ثانیه و ۲۰ ثانیه با ۷۲ °C به تعداد ٤٥ چرخه انجام گرفت. برای ردیابی میزان تکثیر از رنگ فلورسانس SYBR Green I (میکس qPCR شرکت یکتا تجهیز آزما) استفاده و منحنی‌های ذوب و چرخه حد آستانه ژن‌ها یا Ct (Cycle threshold) توسط دستگاه Rotor-Gene Q ثبت و با اندازه¬گیری کارایی توسط سریال رقیق‌سازی cDNA، نتایج به روش فرمول $2^{-\Delta\Delta Ct}$ مورد بررسی قرار گرفت.

اندازه‌گیری میزان کلروفیل‌ها و کاروتنوئید: مقدار ۰/۵ گرم از بافت برگی با ۵ میلی‌لیتر از محلول دی‌متیل‌سولفواکساید (DMSO) مخلوط و سپس نمونه‌ها به‌مدت ٤ ساعت در دمای ٦٥ °C قرار داده شدند. میزان جذب نوری در طول‌موج‌های ٦٤٥، ٦٦٥ و ٤٧٠ نانومتر به‌ترتیب میزان کلروفیل a، کلروفیل b و مقدار کاروتنوئید را مشخص کرد (Prochazkova *et al*., 2001).

اندازه‌گیری مقدار قندهای محلول: مقدار ۰/۲ گرم نمونه برگی همراه با ۱ میلی‌لیتر آب به‌مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ٦۰۰۰ دور در دقیقه در سانتریفیوژ عصاره‌گیری شد. ۰/۰۵ میلی‌لیتر از این عصاره در لوله آزمایش ریخته شده و حجم آن با آب مقطر به ۱ میلی‌لیتر افزایش و در نهایت به محلول فوق ٤ میلی‌لیتر معرف آنترون اضافه شد. نمونه‌ها به‌مدت ۸ دقیقه به دمای ۱۰۰ °C منتقل و بلافاصله نمونه‌ها در حمام یخ قرار گرفتند. میزان جذب نوری نمونه‌ها در طول‌موج ٦۳۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد (Sairam *et al*., 2002).

بررسی میزان پرولین: ۰/۵ گرم از بافت برگی با ۵ میلی‌لیتر از سولفوسالیسیلیک‌اسید ۳ درصد همگن شدند. ۲ میلی‌لیتر از محصول حاصل برداشته شد و روی آن ۲ میلی‌لیتر اسیداستیک گلاسیال و ۲ میلی‌لیتر معرف نین‌هدرین اضافه شد و در ادامه این مخلوط

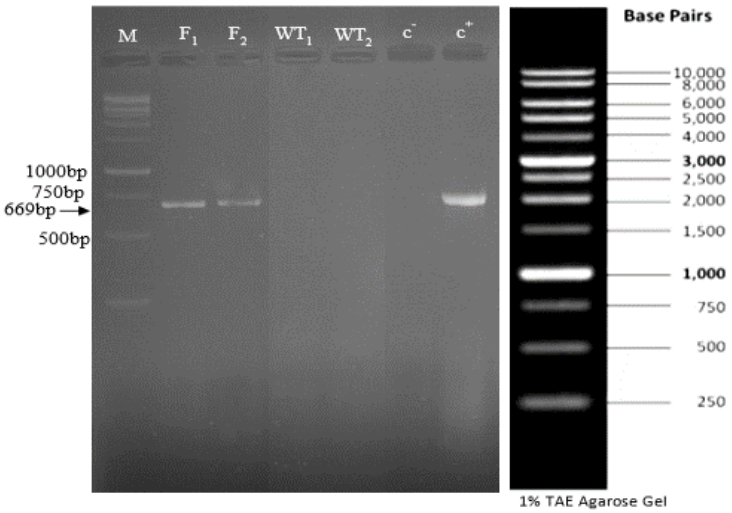
به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۱۰۰ °C قرار گرفت و پس از سرد شدن در حمام یخ و افزودن ٦ میلی‌لیتر تولوئن به‌شدت هم زده شد و میزان جذب فاز بالایی در طول‌موج ۵۲۰ نانومتر قرائت شد (Fedina *et al.*, 2006).

بررسی متغیرهای مورفولوژیک: در این بررسی، گیاهچه‌های درون‌شیشه‌ای تراریخت و WT به‌آرامی بدون هیچ‌گونه آسیبی از محیط درون‌شیشه‌ای بیرون آورده شدند و پارامترهایی همچون وزن تر و خشک، ارتفاع گیاهچه‌ها در سه تکرار جداگانه از هر دو گیاه لاین F و WT اندازه‌گیری و داده‌های مربوطه جهت مقایسه با نرم‌افزار MSTAT-C بررسی شدند.

شمارش تعداد کلنی ریزوسفر: برای این کار ابتدا گیاهچه‌های تراریخت از شرایط استریل درون‌شیشه‌ای به گلدان (خاک هوموس‌دار همگن و استریل شده) منتقل شدند و سازگاری آن‌ها با محیط بیرون انجام شد. سپس، بعد از گذشت ۲ ماه و هم‌زمان با رشد گیاهان، ریشه این گیاهان به‌آرامی از خاک درآورده شد و همراه ۱۰ گرم از خاک اطراف ریشه‌ها در ارلن حاوی ۹۰ میلی‌لیتر پپتون یک درصد به‌مدت ۳۰ دقیقه در شیکر قرار گرفتند. محلول رویی ارلن برداشته شد و در مرحله بعد رقت‌های سریالی در لوله‌های آزمایش حاوی ۹ میلی‌لیتر پپتون ۱ درصد و ۱ میلی‌لیتر از محلول رقت قبلی تهیه شدند و پس از آن ۱۰۰ میلی‌لیتر از هر رقت در۳ پتری جداگانه حاوی محیط کشت مناسب پخش و در دمای ۲۷ °C به‌مدت ٤٨ ساعت جهت رشد میکروارگانیسم‌های موجود در خاک قرار گرفتند و سپس تعداد کلنی‌های رشد کرده شمارش شدند.

نتایج و بحث

تأیید گیاهان سیب‌زمینی تراریخت حامل ژن *AtSOS3*: جهت اثبات تراریخت بودن گیاهان لاین F استخراج DNA از گیاهان این لاین صورت گرفت و با آغازگرهای اختصاصی ژن *SOS3* (AT5g24270) روی نمونه‌ها PCR انجام شد. علاوه‌بر نمونه‌های لاین F به‌طور هم‌زمان واکنش PCR روی نمونه‌های DNA از گیاهان WT نیز صورت گرفت. آغازگرهای اختصاصی بدون DNA و پلاسمید pBin61-*SOS3* به‌ترتیب به‌عنوان کنترل منفی و کنترل مثبت جهت بررسی درستی انجام PCR در این واکنش استفاده شدند. بعد از الکتروفورز وجود باند ٦٦٩ جفت‌بازی در نمونه‌های لاین F و نمونه مربوط به pBin61-*SOS3* تراریخت بودن و حضور ژن *SOS3* در گیاهان لاین F را تأیید کرد و عدم وجود باند در کنترل منفی صحت واکنش‌های انجام شده را نشان داد (شکل ۱).



شکل ۱- تصویر الکتروفورز ژل آگارز دو درصد محصول PCR نمونه‌های گیاه تراریخت و شاهد با آغازگرهای اختصاصی ژن *SOS3*. F) لاین مقاوم به شوری؛ WT) گیاهان غیرتراریخت؛ -C) نمونه دارای آغازگرها ولی بدون DNA الگو؛ +C) پلاسمید حامل ژن؛ M) نمودار نشانگر اندازه (ران شده روی ژل یک درصد).

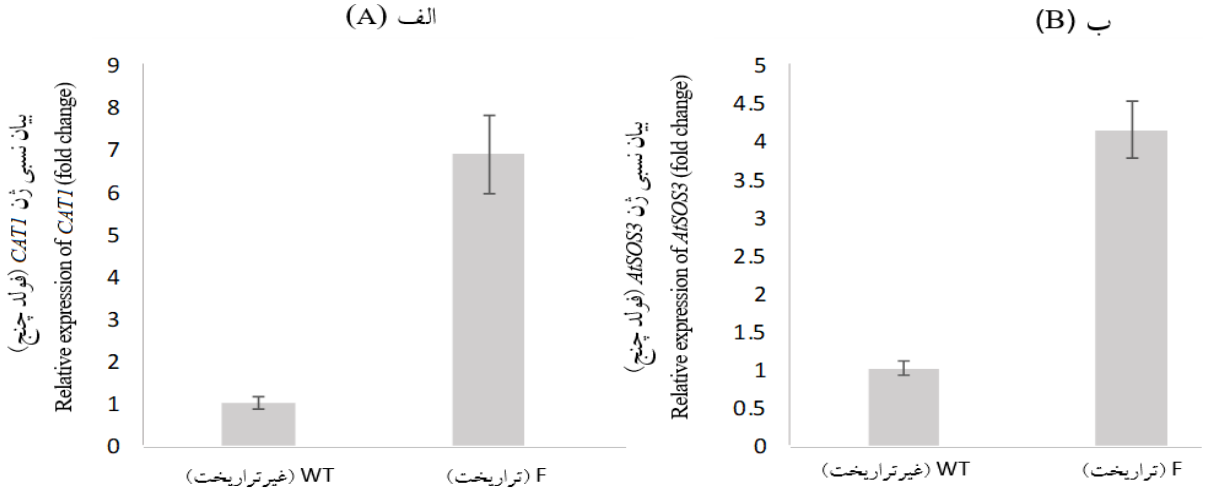
Figure 1. Agarose gel (2%) electrophoresis image of PCR products of transgenic and control plant samples with *SOS3* specific primers. F) Salinity resistant line; WT) non-transgenic plants; C-) Sample has primers but without DNA; C+) *SOS3* gene in pbin61 plasmid; M) Marker diagram (separated on 1% agarose gel).

بررسی میزان بیان ژن‌های *SOS3* و کاتالاز با qPCR: پس از آماده‌سازی RNAهای استخراجی از نمونه‌های لاین F و WT واکنش qPCR جهت بررسی بیان ژن‌های *SOS3* و کاتالاز انجام شد. این بررسی در سه تکرار مجزا انجام و در هر تکرار نمونه‌های قابل‌قبول از طریق منحنی ذوب تشخیص و داده‌های مربوط به این نمونه‌ها از روی Ct آنالیز شد و درنهایت میزان بیان نسبی ژن‌های مورد مطالعه پس از نرمال‌سازی با بیان ژن خانه‌دار اکتین بر مبنای گیاه تراریخت محاسبه گردید (شکل ۳).

پراکسیدهیدروژن (H_2O_2) به‌عنوان مهم‌ترین گونه فعال اکسیژن و از اجزای کلیدی مسیرهای پیام‌رسانی مولکولی می‌باشد که در غلظت‌های پایین نقش مهمی در فرآیندهای فیزیولوژیک و بیولوژیک گیاهان (رشد و نمو، پاسخ‌های گیاه به تنش‌های زیستی و غیرزیستی) دارد. تنش شوری باعث افزایش تولید و تجمع بیشتر H_2O_2 در گیاهان می‌گردد که در نهایت منجر به آسیب به بیوملکول‌های مهم گیاه می‌شود. در این شرایط گیاهانی که دارای آنزیم‌های کاتالاز (CAT) و آسکوربات پراکسیداز (APX) باشند به‌راحتی می‌توانند پراکسید هیدروژن را متابولیزه کنند. پراکسی‌زوم‌ها محل اصلی تولید پراکسیدهیدروژن و همچنین محل اصلی فعالیت آنزیم کاتالاز می‌باشند (Azooz *et al.*, 2009; Sofo *et al.*, 2015).

این دلایل، بیانگر اهمیت بررسی میزان بیان ژن کاتالاز در این مطالعه بود. بیان نسبی ژن‌های مورد مطالعه نشان داد که در لاین F میزان بیان ژن *CAT1* و*SOS3* به‌ترتیب ۷ و ٤ برابر بیشتر از میزان بیان آن در گیاهان WT می‌باشد (شکل ۲). بیان بیشتر ژن *SOS3* منجر به فعال‌سازی مکانیسم‌های دفاعی گیاه علیه تنش شوری می‌گردد. کاتالاز جزو آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی فعال و درگیر در تنش شوری می‌باشد که بیان بیشتر آن در لاین F ارتباط مستقیم با بیان ژن *SOS3* و فعال‌سازی مسیرهای دفاعی علیه تنش شوری دارد. سیب‌زمینی حاوی مقادیر زیادی آنزیم کاتالاز است که در شرایط تنش، پراکسید هیدروژن را به اکسیژن و آب تبدیل می‌کند و در نتیجه از آسیب سلولی جلوگیری می‌کند و به‌عنوان آنزیم آنتی‌اکسیدان، یک استراتژی سازگاری در برابر تنش‌ها در گیاهان ایجاد می‌کند و نقش مهمی در فرایندهای بیولوژیکی دارد (Gupta and Gupta, 2019; Koubaa *et al.*, 2022).

مطالعه این‌همانی صفات فیزیولوژیک: کلروفیل، کاروتنوئید، قندهای محلول و پرولین در سه تکرار جداگانه از لاین F و WT استخراج شدند و پس از اندازه‌گیری میزان جذب نمونه‌ها در اسپکتروفتومتر (شکل ۱)، داده‌های مربوطه در نرم‌افزار MSTAT-C آنالیز شدند (جدول ۱).



شکل ۲- الف) مقایسه میزان بیان نسبی ژن *CAT1* در لاین تراریخت F و WT؛ ب) مقایسه میزان بیان نسبی ژن *SOS3* در لاین F و WT به‌وسیله RT-qPCR. خطوط روی نمودار نشان دهنده خطای معیار است.

Figure 3. A) Comparison of relative expression of *CAT1* gene in transgenic F line and WT; B) Comparison of relative expression of *SOS3* gene in transgenic F line and WT by RT-qPCR. Bars represent standard Errors of means.

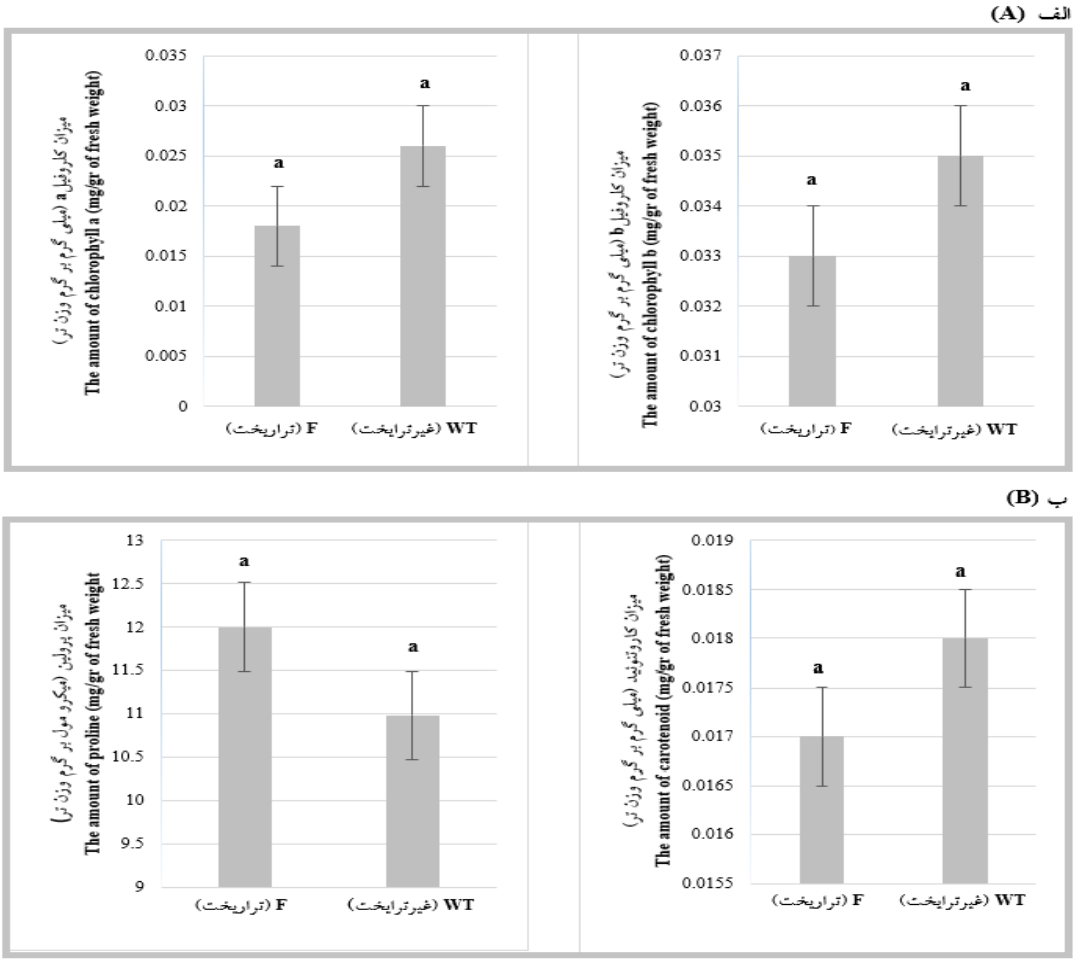
جدول ۱- آزمون t متغیرهای مورد اندازه‌گیری در لاین تراریخت F (گروه ۱) و WT (گروه ۲)

Table 1. T-test of variables measured in transgenic F line (group 1) and WT (group 2)

متغیر Variable	درجه آزادی Degrees of freedom	مقدار t t value	سطح معنی‌داری P-value	اختلاف میانگین گروه‌ها The mean difference of the two groups	میانگین گروه WT Mean of group WT	میانگین گروه F Mean of group F
میزان کلروفیل a Chlorophyll a content	2	- 2.1131	0.1689	- 0.008	0.018 a	0.026 a
میزان کلروفیل b Chlorophyll b content	2	- 0.4035	0.7256	- 0.002	0.033 a	0.035 a
میزان کاروتنوئید Carotenoid content	2	- 0.3468	0.7618	- 0.001	0.017 a	0.018 a
میزان پرولین Proline content	2	1.3668	0.3050	1.02	12 a	10.98 a
میزان قندهای محلول Soluble sugar content	2	- 1.3628	0.3061	- 0.01	0.62 a	0.63 a
ارتفاع بوته Plant height	2	- 0.0769	0.9457	- 0.16	15.17 a	15.33 a
وزن تر Fresh weight	2	- 1.95	0.1905	- 0.06	0.71 a	0.77 a
وزن خشک Dry weight	2	- 0.3282	0.7739	- 0.004	0.067 a	0.071 a
تعداد کلنی باکتریایی Colony forming unit	2	- 1.0030	0.4215	- 3 × 107	150 × 107 a	153×107 a

مقایسه گروه‌ها در قالب آزمونt در سطح احتمال ۵ درصد بررسی شد. مقایسه متغیرهای فیزیولوژیکی هیچ تفاوت معنی‌داری در میزان کلروفیل، قندهای محلول، کاروتنوئید و پرولین نشان نداد و به‌صورت کلی شباهت WT و لاین F در پارامترهای مورد بررسی اثبات شد (شکل ۳ و ٤). نتایج حاصله از بررسی متابولیت‌های مهم فوق، توانستند شباهت بین سیب‌زمینی لاین F و WT را نشان دهند.

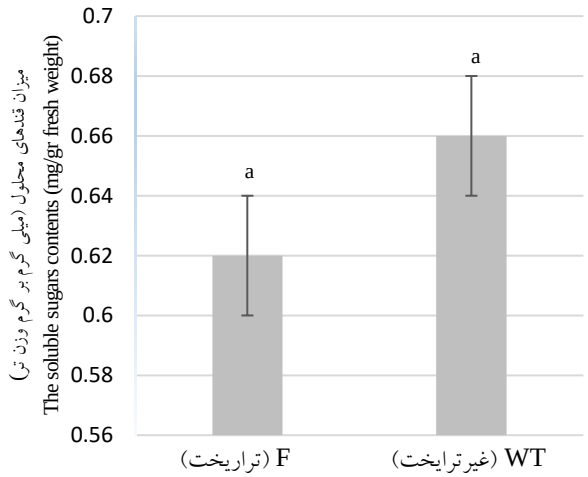
در مطالعه این‌همانی صورت گرفته توسط خلف و همکاران (Khalf *et al.*, 2010) ترکیب غده‌های سیب‌زمینی تراریخت بیان‌کننده پروتئازهای Ser، Asp و مهارکننده کاتپسین (آنزیم پروتئازی) با غده شاهد صورت گرفت. در این مطالعه پس از بررسی محتوای مواد مغذی و کلیدی غده‌ها و تعدادی از مواد شیمیایی سمی در غده‌های مورد مطالعه نشان داد که از نظر مقادیر اندازه‌گیری شده غده‌های تراریخت و شاهد تفاوت معنی‌داری ندارند.



شکل ۳- مقایسه متغیرهای فیزیولوژیک بین لاین F و WT (گیاه غیرتراریخت)

الف) میزان کلروفیل a و کلروفیل b؛ ب) میزان کاروتنوئید و پرولین. خطوط روی نمودار نشان دهنده خطای معیار است.

Figure 4. Comparison of physiological parameters between transgenic F line and WT (non-transgenic plant)
A) The amount of chlorophyll a and chlorophyll b; B) The carotenoids and proline contents.
Bars represent standard Errors of means.



شکل ٤- مقایسه میزان قندهای محلول بین لاین F و WT (غیرتراریخت)

خطوط روی نمودار نشان دهنده خطای معیار است.

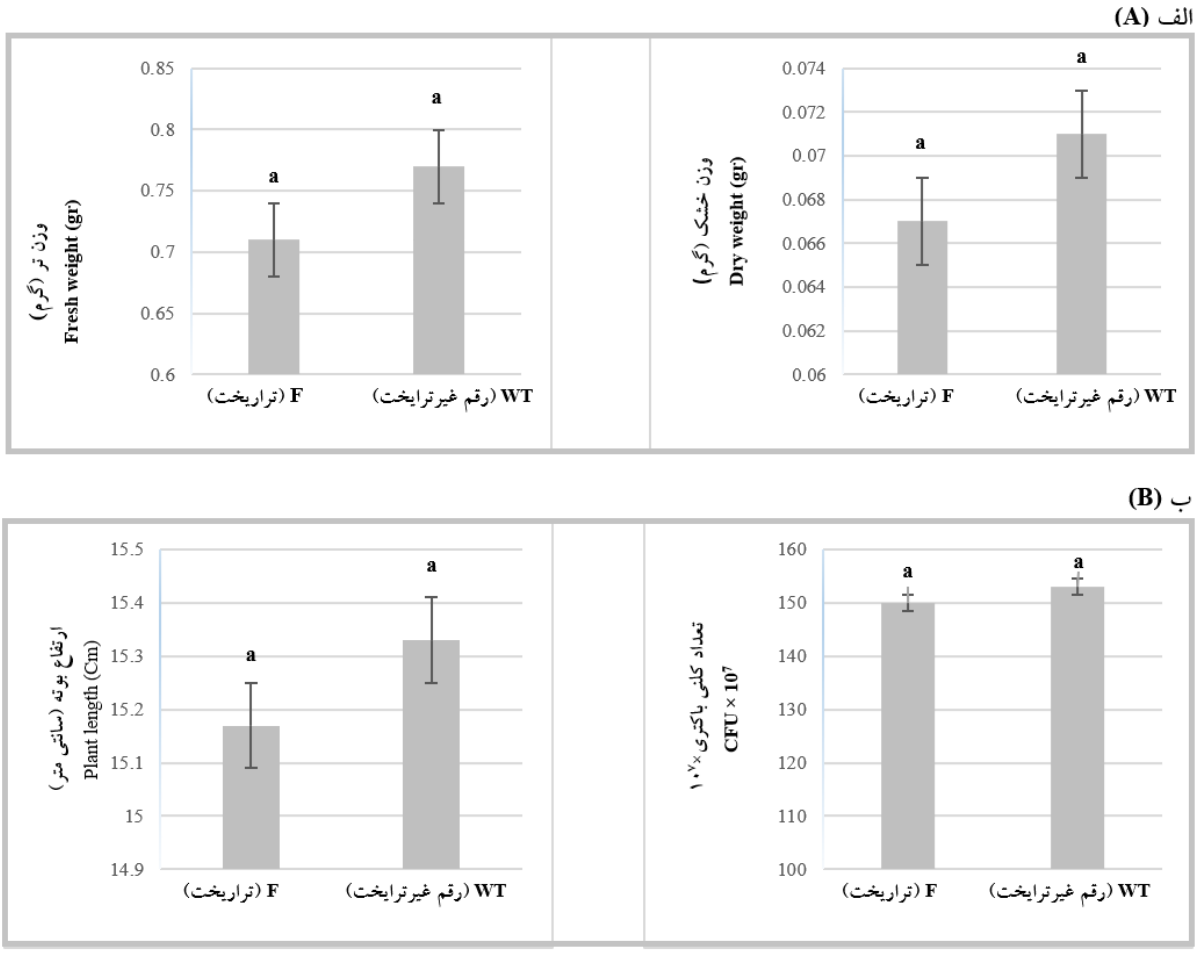
Figure 5. Comparison of soluble sugars contents between transgenic F line and WT (non-transgenic plant)
Bars represent standard Errors of means.

در پژوهشی مشابه روی ترکیبات مغذی غده‌های سیب‌زمینی تراریخت لاین ۲-۱ با تولید فیتاز بالا با نوع غیرتراریخت (لاین CK) مقایسه شد و در نهایت نتایج آن مصارف خوراکی غده تراریخت را مجاز و برابری ذاتی دو لاین را اثبات کرد (Chen *et al.*, 2020). در تحقیقی دیگر اثرات تغذیه‌ای سیب‌زمینی‌های تراریخت E12، W8، X17، Y9 و سیب‌زمینی معمولی به‌مدت ۹۰ روز روی موش‌ها بررسی شد. سیب‌زمینی E12 مقاوم به بیماری لکه‌سیاه و همچنین میزان آکریل‌آمید در آن کاهش داده شده است. در سیب‌زمینی‌های W8، X17 و Y9 هم میزان آکریل‌آمید کاهش یافته و هم مقاومت در برابر بیماری سوختگی دیررس ایجاد شده است. پس از بررسی‌های بالینی و دیگر پارامترهای سلامتی طی ۹۰ روز هیچ تفاوتی بین موش‌های تغذیه شده با سیب‌زمینی‌های تراریخت فوق و موش‌های تغذیه شده با سیب‌زمینی معمولی مشاهده نشد (Mukerji *et al.*, 2020). رهنما و همکاران (Rahnama *et al.*, 2018) نشان دادند بررسی و مقایسه ترکیبات مغذی سیب‌زمینی تراریخت مقاوم به آفت پروانه غده سیب‌زمینی با همتایان غیرتراریخت هیچ تفاوتی در میزان و نوع مواد مغذی ندارد. در پژوهش میرکنی و همکاران (Mirrokni *et al.*, 2014) با هدف ارزیابی قند کل و قندهای محلول بین سیب‌زمینی تراریخت مقاوم به بید سیب‌زمینی با شاهد معمولی نه‌تنها هیچ تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد بلکه زمینه معرفی و استفاده از این سیب‌زمینی نیز فراهم شد.

مطالعه این‌همانی صفات مورفولوژیک: هرگونه تغییر در شکل ظاهری گیاه بهره‌وری آن را تغییر می‌دهد در این بخش از پژوهش پارامترهایی مثل طول ساقه، وزن خشک و تر در سه تکرار جداگانه از لاین F و WT اندازه‌گیری شد و داده‌ها در نرم‌افزار MSTAT-C در قالب آزمون t در سطح احتمال ۵ درصد مقایسه شدند (جدول ۱). طبق تجزیه و تحلیل صورت گرفته مقادیر متغیرهای مورفولوژیک در لاینF نسبت به شاهد تراریخت اندکی کمتر بود که این تفاوت اندک احتمالاً به‌خاطر فعال شدن مکانیسم‌های دفاعی گیاه علیه شوری می‌باشد. همان‌طور که در شکل ٤ آورده شده این تفاوت در محدوده قابل‌قبول و غیرمعنی‌دار بود که بر این اساس گیاه تراریخت مقاوم به شوری از لحاظ صفات مورفولوژیکی تفاوتی با گیاه شاهد معمولی ندارد و بیان ژن *SOS3* هیچ اثر مطلوبی روی گیاهان لاین F نگذاشته بود. در پژوهشی این‌همانی گندم تراریخت فیتاز با قابلیت دسترسی بیشتر گیاه به آهن و روی با هدف غنی‌سازی دانه‌های گندم با نوع غیرتراریخت از لحاظ بررسی کربوهیدرات، پروتئین، محتوای نشاسته و صفات مورفولوژیک تفاوتی نشان نداد (Akhtar *et al.*, 2020).

بررسی این‌همانی میکروبیوم ریزوسفر: پس از شمارش تعداد کلنی‌های موجود در پتری‌ها، بررسی مقادیر با نرم‌افزار MSTAT-C در قالب آزمون t در سطح احتمال ۵ درصد صورت گرفت (جدول ۱). با توجه به ویژگی‌های ریزوسفر و تأثیرات تنوع گیاهی بر پویایی میکروبی، سلامتی گیاه و انسان و پایداری اکوسیستم، لزوم مطالعه میکروبیوم ریزوسفر ریشه در لاین F را فراهم کرد و ارزیابی این پارامتر بین لاین F و WT صورت گرفت. بررسی فوق تفاوت معنی‌داری بین تعداد میکروارگانیسم‌های ریشه گیاهان لاین تراریخت با شاهد معمولی نشان نداد (شکل ۵).

ریزوسفر به قسمت کوچکی از خاک که اطراف ریشه را در برمی‌گیرد، اطلاق می‌شود و به‌عنوان مناسب‌ترین مکان برای رشد میکروارگانیسم‌ها شناخته شده است (Kour *et al.*, 2020). میکروارگانیسم‌های ریزوسفر با تأثیر بر فیزیولوژی گیاه، نقش اساسی در رشد و عملکرد و جذب ماده غذایی توسط گیاه دارند. ریزوسفر به‌دلیل حساسیت به تغییرات جزئی ازجمله تنش یا آشفتگی محیطی به‌عنوان شاخص زیستی کیفیت خاک در نظر گرفته می‌شود. هرگونه تغییر منفی در جمعیت میکروبی ریزوسفر و تأثیر آن بر بافت گیاه می‌تواند بیانگر تغییرات مولکولی مهم باشد (Mendes *et al.*, 2013). ترشحات ریشه گیاه نیز در جمعیت و نوع میکروارگانیسم‌های موجود در ریزوسفر تأثیر مهمی دارد.



شکل ۵- مقایسه صفات مورفولوژیک و تعداد کلنی باکتری در ریزوسفر ریشه گیاهان لاین F و WT (گیاه غیرتراریخت) .
خطوط روی نمودار نشان دهنده خطای معیار است. الف) وزن تر و وزن خشک؛ ب) ارتفاع بوته و تعداد کلنی باکتری.

Figure 6. Comparison of morphological traits and colony forming unit in rhizosphere of plant roots between line F and WT (non-transgenic plant) A) Fresh weight and Dry weight; B) Plant height and Colony forming unit. Bars represent standard Errors of means.

میکروبیوم‌های گیاهی و انسانی ارتباط نزدیکی باهم دارند یکی از دلایل وجود این ارتباط، شباهت بین باکتری‌های روده و خاک می‌باشد. از طرفی به‌دلیل ورود باکتری‌های ریزوسفر خاک به روده انسان از طریق میوه‌ها و سبزیجات، نقش پررنگ‌تری در حفظ سلامتی انسان دارند (Hirt, 2020).

در پژوهش حاضر بر اساس دستورالعمل‌های پذیرفته شده دولتی، مقایسه‌ای بین لاین تراریخت مقاوم به شوری با رقم معمولی از لحاظ برخی ترکیبات مهم غذایی، متابولیت‌ها، برخی خصوصیات مورفولوژیک و تعداد کلنی ریزوسفر ریشه صورت گرفت. طبق این مطالعات پایداری ژن *AtSOS3* در لاین تراریخت و برابری گیاهان لاین تراریخت با گیاهان شاهد معمولی اثبات شد. ماحصل مطالعه و مقایسه لاین F و رقم غیرتراریخت و با توجه به کارایی بالای این لاین در خاک شور و از طرف دیگر اهمیت و ارزش غذایی ویژه سیب‌زمینی به‌خصوص در کشورهای در حال توسعه، لاین سیب‌زمینی تراریخت مقاوم به شوری (لاین F) را درخور بررسی‌های نهایی و تکمیلی سلامتی برای دریافت تأییدیه‌های دولتی برای استفاده و کشت در حوزه کشاورزی می‌کند.

سپاسگزاری

نویسندگان از حمایت مالی و معنوی دانشگاه شهید مدنی آذربایجان تشکر و قدردانی می‌نمایند.

References

Ahanger, M.A., Akram, N.A., Ashraf, M., Alyemeni, M.N., Wijaya, L. and Ahmad, P. (2017). Plant responses to environmental stresses-from gene to biotechnology. *AoB Plants*, **9(4):** plx025.

Akhtar, A., Rizvi, Z., Irfan, M., Maqbool, A., Bashir, A. and Malik, K.A. (2020). Biochemical and morphological risk assessment of transgenic wheat with enhanced iron and zinc bioaccessibility. *Journal of Cereal Science*, **91:** 102881.

Anirudh, K.V.S., Chakraborty, T., Srivastava, R.K. and Akhtar, N. (2020). Effect of Drought and Salt Stress On Cereal Crop Plants and Their Proteomic and Physiological Studies. *Journal of Biotechnology and Biomedical Science*, **2:** 43.

Azooz, M., Ismail, A. and Elhamd, M.A. (2009). Growth, lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities as a selection criterion for the salt tolerance of maize cultivars grown under salinity stress. *International Journal of Agriculture and Biology*, **11:** 21-26.

Bedair, M. and Glenn, K.C. (2020). Evaluation of the use of untargeted metabolomics in the safety assessment of genetically modified crops. *Metabolomics*, **16:** 1-15.

Chen, B.C., Lin, H.Y., Chen, J.T., Chao, M.L., Lin, H.T. and Chu, W.S. (2020). Compositional Analysis of the Transgenic Potato with High-level Phytase Expression. *Journal of Food and Nutrition Research*, **8:** 231-237.

Fedina, I., Georgieva, K., Velitchkova, M. and Grigorova, I. (2006). Effect of pretreatment of barley seedlings with different salts on the level of UV-B induced and UV-B absorbing compounds. *Environmental and Experimental Botany*, **56:** 225-230.

Fedorova, M. and Herman, R.A. (2020). Obligatory metabolomic profiling of gene-edited crops is risk disproportionate. *The Plant Journal*, **103:** 1985-1988.

Ghazizadeh, E., Mousavi, A. and Hadi, F. (2015). Quantitative detection of transgenic roundup ready soybean seeds using real-time PCR method. *Plant Genetic Researches*, **1:** 71-78 (In Persian).

Giraldo, P.A., Shinozuka, H., Spangenberg, G.C., Cogan, N.O. and Smith, K.F. (2019). Safety assessment of genetically modified feed: is there any difference from food? *Frontiers in Plant Science*, **10:** 1592.

Gong, D., Guo, Y., Schumaker, K.S. and Zhu, J.K. (2004). The SOS3 family of calcium sensors and SOS2 family of protein kinases in Arabidopsis. *Plant Physiology*, **134:** 919-926.

Gupta, U.C. and Gupta, S.C. (2019). The important role of potatoes, an underrated vegetable food crop in human health and nutrition. *Current Nutrition & Food Science*, **15:** 11-19.

Hilbeck, A., Meyer, H., Wynne, B. and Millstone, E. (2020). GMO regulations and their interpretation: how EFSA's guidance on risk assessments of GMOs is bound to fail. *Environmental Sciences Europe*, **32:** 1-15.

Hirt, H. (2020). Healthy soils for healthy plants for healthy humans: How beneficial microbes in the soil, food and gut are interconnected and how agriculture can contribute to human health. *EMBO Reports*, **21:** e51069.

Hong, B., Fisher, T.L., Sult, T.S., Maxwell, C.A., Mickelson, J.A., Kishino, H. and Locke, M.E. (2014). Model-based tolerance intervals derived from cumulative historical composition data: application for substantial equivalence assessment of a genetically modified crop. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **62:** 9916-9926.

Jiang, C., Meng, C., Schapaugh, A.W. and Jin, H. (2021). Comparative Analysis of Genetically-Modified Crops: Conditional Equivalence Criteria. *bioRxiv*, https://doi.org/10.1101/2021.02.19.431950.

Khalf, M., Goulet, C., Vorster, J., Brunelle, F., Anguenot, R., Fliss, I. and Michaud, D. (2010). Tubers from potato lines expressing a tomato Kunitz protease inhibitor are substantially equivalent to parental and transgenic controls. *Plant Biotechnology Journal*, **8:** 155-169.

Kim, E.H., Oh, S.W., Lee, S.Y., Park, H.Y., Kang, Y.Y., Lee, K.M., Baek, D.Y., Kang, H.J., Park, S.Y. and Ryu, T.H. (2020) .Comparison of the Seed Nutritional Composition between Conventional Varieties and Transgenic Soybean Overexpressing Physaria FAD3-1. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. **101:** 2601-2613.

Kim, J.K., Park, S.Y., Lee, S.M., Lim, S.H., Kim, H.J., Oh, S.D., Yeo ,Y., Cho, H.S. and Ha, S.H. (2013). Unintended polar metabolite profiling of carotenoid-biofortified transgenic rice reveals substantial equivalence to its non-transgenic counterpart. *Plant Biotechnology Reports*, **7:** 121-128.

Kok, E.J. and Kuiper, H.A. (2003). Comparative safety assessment for biotech crops. *TRENDS in Biotechnology*, **21:** 439-444.

Koubaa, R.J., Ayadi, M., Saidi, M.N., Charfeddine, S., Bouzid, R.G. and Nouri-Ellouz, O. (2022). Comprehensive Genome-Wide Analysis of The Catalase Enzyme Toolbox In Potato (*Solanum Tuberosum* L.). *Potato Research*, doi.org/10.1007/s11540-022-09554-z

Kour, D., Kaur, T., Devi, R., Rana, K.L., Yadav, N., Rastegari, A.A. and Yadav, A.N. (2020) Biotechnological applications of beneficial microbiomes for evergreen agriculture and human health. In: Rastegari, A.A., Yadav, A.N. and Yadav, N., Eds., *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering*, pp. 255-279, Elsevier, Amsterdam, NL.

Mahmoud, A.W.M., Abdeldaym, E.A., Abdelaziz, S.M., El-Sawy, M.B. and Mottaleb, S.A. (2020). Synergetic effects of zinc, boron, silicon, and zeolite nanoparticles on confer tolerance in potato plants subjected to salinity. *Agronomy*, **10(1):** 19.

Maroušek, J., Rowland, Z., Valášková, K. and Král, P. (2020). Techno-economic assessment of potato waste management in developing economies. *Clean Technologies and Environmental Policy*, **22:** 1-8.

Mendes, R., Garbeva, P. and Raaijmakers, J.M. (2013). The rhizosphere microbiome: significance of plant beneficial, plant pathogenic, and human pathogenic microorganisms. *FEMS Microbiology Reviews*, **37:** 634-663.

Mirrokni, H., Rahnama, H. and Zeinali, H. (2014). Evaluation of total carbohydrate and soluble sugars in transgenic potato resistant to potato tuber moth. *Genetic Engineering and Biosafety Journal*, **3:** 67-75.

Moatamed, E. (2016). The study on transformation of potato with *AtSOS3* gene in order to establish resistance to salinity. M.Sc Thesis, Azarbaijan Shahid Madani University, Iran (In Persian).

Mosavi, M., Khorshidi, M., Masoudian, N. and Hokmabadi, H. (2018). Study of some physiological characteristics of potato tissue under salinity stress. *International Journal of Farming and Allied Sciences*, **7:** 1-5.

Mukerji, P., Rudgers, G.W., Gibson, C. and Roper, J.M. (2020). Safety evaluation of E12, W8, X17, and Y9 potatoes: Nutritional evaluation and 90-day subchronic feeding study in rats. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, **115:** 104712.

Nowroz, F., Roy, T.S., Haque, M.T., Ferdous, J., Noor, R. and Mondal, G.C. (2021). Yield and grading of potato (*Solanum tuberosum* L.) as influenced by different mulch materials. *Agrotechniques in Industrial Crops*, **1:** 1-10.

Peng, C., Ding, L., Hu, C., Chen, X., Wang, X., Xu, X., Li, Y. and Xu, J. (2019). Effect on metabolome of the grains of transgenic rice containing insecticidal cry and glyphosate tolerance epsps genes. *Plant Growth Regulation*, **88:** 1-7.

Prado, J.R., Segers, G., Voelker, T., Carson, D., Dobert, R., Phillips, J., Cook, K., Cornejo, C., Monken, J. and Grapes, L. (2014). Genetically engineered crops: from idea to product. *Annual Review of Plant Biology*, **65:** 769-790.

Prochazkova, D., Sairam, R., Srivastava, G. and Singh, D. (2001). Oxidative stress and antioxidant activity as the basis of senescence in maize leaves. *Plant Science*, **161:** 765-771.

Rahimian, M.H. and Zabihi, H.R. (2021). Investigation of the Reaction of Potato Plant to Magnetized Saline Water. *Agrotechniques in Industrial Crops*, **1:** 149-153.

Rahnama, H., Moradi, A.B., Mirrokni, S.H., Moradi, F., Shams, M.R. and Fotokian, M.H. (2018). Comparative compositional analysis of transgenic potato resistant to potato tuber moth (PTM) and its non-transformed counterpart. *Transgenic Research*, **27:** 301-313.

Sairam, R.K., Rao, K.V. and Srivastava, G. (2002). Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. *Plant Science*, **163:** 1037-1046.

Salami, R., Mohammadi, S.A., Ghafarian, S. and Moghaddam, M. (2016). Expression analysis of Hv TIP2; 3 and Hv TIP4; 1 in sensitive and tolerant barley genotypes under salinity stress. *Plant Genetic Researches*, **2(2):** 1-14 (In Persian).

Scott, G.J., Petsakos, A. and Juarez, H. (2019). Climate change, food security, and future scenarios for potato production in India to 2030. *Food Security*, **11:** 43-56.

Sevestre, F., Facon, M., Wattebled, F. and Szydlowski, N. (2020). Facilitating gene editing in potato: a Single-Nucleotide Polymorphism (SNP) map of the *Solanum tuberosum* L. cv. Desiree genome. *Scientific Reports*, **10:** 1-8.

Shabani, A., Zebarjadi, A., Mostafaei, A., Mohsen, S. and Poordad, S.S. (2016). Identification of drought stress responsive proteins in susceptible genotype of chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Plant Genetic Researches*, **3(1):** 1-12 (In Persian).

Sofo, A., Scopa, A., Nuzzaci, M. and Vitti, A. (2015). Ascorbate peroxidase and catalase activities and their genetic regulation in plants subjected to drought and salinity stresses. *International Journal of Molecular Sciences*, **16:** 13561-13578.

Sreekar, K. (2020). Biotechnology and its implications in brinjal improvement: A review. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, **9:** 1096-1102.

Valikhanlou, N. (2018). The Assessment of Resistance to Salinity in Transgenic Potato lines with *AtSOS3* gene. M.Sc Thesis, Azarbaijan Shahid Madani University, Iran (In Persian).

Yang, A., Akhtar, S.S., Iqbal, S., Amjad, M., Naveed, M., Zahir, Z.A. and Jacobsen, S.E. (2016). Enhancing salt tolerance in quinoa by halotolerant bacterial inoculation. *Functional Plant Biology*, **43:** 632-642.

Ye, J., Zhang, W. and Guo, Y. (2013). Arabidopsis SOS3 plays an important role in salt tolerance by mediating calcium-dependent microfilament reorganization. *Plant Cell Reports*, **32:** 139-148.

Zhang, L., Li, S.F., Zhou, Q.H., Liu, Y.H., Zhang, J. and Qian, Z.Y. (2021). Subchronic toxicity study in rats evaluating herbicide-tolerant soybean DAS-68416-4. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, **119:** 104833.

Evaluation of Some Characteristics of Substantial Equivalence of a Salinity-Resistant Transgenic Potato

Samira Karimi[1], Maghsoud Pazhouhandeh[2,*] and Kambiz Azizpour[3]

1- Former M.Sc. Student, Department of Biotechnology, Faculty of Agriculture, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz, Iran
2- Associate Professor, Department of Biotechnology, Faculty of Agriculture, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz, Iran
3- Assistant Professor, Department of Agronomy and Medicinal Plants, Faculty of Agriculture, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz, Iran

(Received: June 8, 2022 – Accepted: August 23, 2022)

Abstract

Transgenic plants and their products are being developed day by day due to their improved characteristics, and it is necessary to evaluate the safety of these plants before releasing them. Hence, the importance of the issue of biosafety of transgenic plants and the use of their products has led the regulatory agencies to create some laws called substantial equivalence. based on that, the essential nutrients of transgenic plants are examined and compared with the control. The present study aimed to compare the transgenic potato line F (salinity-resistant) with non-transgenic Agria cultivar plants. The salt resistant potato line was produced by transferring Arabidopsis *SOS3* gene to potato (Agria variety) and its resistance was confirmed. First, the presence of *AtSOS3* gene in F-line plants was confirmed and then the substantial equivalent experiments were performed by comparing the production of proline, soluble sugars, carotenoids and chlorophylls a and b, the relative expression of *Catalase1* (*CAT1*) and *AtSOS3* gene between F and non-transgenic WT Agria plants. Based on evaluations of physiological traits and some metabolites (proline content, soluble sugars, carotenoids and chlorophylls a and b) and morphological traits (plant height, dry and fresh weight of plant) between line F and WT, no significant difference was observed. The number of microbiome colonies around the root in the transgenic F and non-transgenic WT plants was a non-significant difference, which indicates that the transgenic line has no threatening effects on the environment and human pathogenicity. The relative expression of *AtSOS3* and *Catalase1* genes in line F had higher values than WT. The reason for such increase in the expression of *Catalase1* is the activation of plant defense mechanisms against stress. Finally, the results of the evaluations proved the equality of line F and WT.

Keywords: Substantial equivalence, Transgenic, Potato, Salinity, Resistance

* **Corresponding Author, E-mail: pazhouhandeh@azaruniv.edu**