

مقایسه الگوی بیان ژن های منتخب القاء شونده با تنش شوری در گندم نان (*Triticum aestivum* L.)

مسعود گماریان*، دانش آموخته دکتری اصلاح نباتات دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران
محمد علی ملبویی، دانشیار، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری، گروه بیوتکنولوژی گیاهی
فرخ درویش، استاد دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران
سید ابوالقاسم محمدی، استاد گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز

چکیده

به منظور بررسی تنوع درون گونه ای تحمل به تنش شوری در دو رقم گندم متحمل و حساس در شرایط کنترل و تنش گندم الگوی بیان ۶۰ ژن منتخب القاء شونده با تنش شوری در سطح رونوشت برداری مورد مقایسه قرار گرفت. در این آزمایش از روش نورترن بلات معکوس جهت بررسی الگوی بیان ژن ها استفاده گردید. جهت سادگی ۱۶ الگوی بیان ممکن برای ارقام متحمل و حساس در شرایط کنترل و تنش در نظر گرفته شد. الگوی بیان ژن های مورد بررسی در ۱۰ الگو از ۱۶ الگوی بیان قرار گرفت. الگو های بیان شماره ۲، ۶، ۸ و ۱۲ در این آزمایش نسبت به سایر الگوها با اهمیت تر در نظر گرفته شدند. الگوی بیان شماره ۲ نسبت به سایر الگو های بیان بیشترین تعداد ژن را در خود جای داد. الگوی بیان اکثر عوامل رونویسی مورد مطالعه در چهار الگوی فوق قرار گرفتند. با اعمال تنش شوری ۷ ژن در هر دو رقم متحمل و حساس افزایش بیان معنی دار نشان دادند. در این تحقیق ۴ ژن شامل ژن LEA از الگوی بیان شماره ۲، ژن CBEFP از الگوی بیان شماره ۶، ژن bZIP5 از الگوی شماره ۸ و ژن wsr3 از الگوی بیان شماره ۱۲ به عنوان ژن های منتخب برای تحمل به تنش شدید و طولانی مدت در رقم ماهوتی در نظر گرفته شدند. نتایج نشان دهنده آن بود که با اعمال تنش شوری بیان ژن ها در رقم متحمل بیشتر دستخوش تغییر قرار می گیرد. این نتایج نشان می دهد که تفاوت در الگوی بیان ژن ها در وارپته های درون یک گونه ممکن است منشاء ایجاد وارپته های متحمل و حساس به تنش شوری باشد.

واژه های کلیدی: گندم، تنش شوری بلند مدت، حساسیت، تحمل، بیان ژن، رونوشت برداری

* نویسنده مسئول: E-mail:msgomarian@yahoo.com

مقدمه

هم اکنون تنش شوری به خصوص در نواحی خشک و نیمه خشک یک مساله جدی برای تولید محصولات زراعی می باشد (۲۰). تقریباً ۲۰٪ از زمین های آبی (۴۵ میلیون هکتار از ۲۳۰ میلیون هکتار) و ۲/۱٪ از زمین های دیم (۳۲ میلیون هکتار از ۱۵۰۰ میلیون هکتار) تحت تاثیر شوری هستند (۲). گندم نان یکی از محصولات اصلی کشاورزی در کشور می باشد با این وجود حداقل ۸٪ از زمین های زیر کشت گندم در ایران تحت تاثیر شوری می باشند (۵). روش های مختلفی به عنوان راهکارهای اصلاحی تحمل به تنش شوری مانند استفاده از تنوع موجود در بین گیاهان زراعی و خویشاوندان وحشی آنها ارائه شده است (۷ و ۳). گیاهان زراعی نه فقط در سطح جنس و گونه بلکه در داخل یک گونه نیز ممکن است درجات مختلفی از تحمل به تنش شوری را نشان دهند (۷). وجود تفاوت بین واریته های درون یک گونه از نظر تحمل به تنش شوری بسیار حائز اهمیت است، زیرا تفاوت بین آنها مربوط به عوامل جزئی می باشد که تحمل به تنش شوری را تحت تاثیر قرار می دهند (۳۱). بنابراین با مقایسه آنها ممکن است به این عوامل جزئی و در نتیجه عوامل موثر در تحمل به تنش شوری پی برد و از آنها برای اصلاح گیاهان زراعی استفاده کرد. ژو (۲۰۰۱) این فرضیه را مطرح نمود که راهکارهای تحمل به تنش شوری در گیاهان هالوفیت اساساً مشابه راهکارهایی هستند که گیاهان گلیکوفیت به کار می برند و تنها تفاوت های جزئی و دقیق در تنظیم بیان ژن ها می باشد که منجر به ایجاد تنوع بسیار بزرگ از کاملاً متحمل تا کاملاً حساس می گردد. بنابراین همین تفاوت های جزئی و دقیق در بیان ژن ها ممکن است در واریته های درون یک گونه نیز منشاء ایجاد واریته های متحمل و حساس به تنش شوری باشد.

از طرف دیگر، در اغلب مطالعات بیان ژن در پاسخ به تنش های غیر زنده گزارش شده است که ژن های دخیل در تحمل به تنش در هر دو ژنوتیپ متحمل و حساس بیان می شوند، اما تفاوت در زمان و میزان بیان آنها می باشد هرچند که تعداد این مطالعات محدود می باشد (۱۱، ۱۵، ۲۶ و ۲۷). والیا و همکاران (۲۰۰۵) بیان ژن ها را تحت تنش شوری در دو ژنوتیپ برنج متحمل و حساس مورد مقایسه قرار دادند. رودریگز و همکاران (۲۰۰۹) با استفاده از روش درشت آرایه^۱ الگوی بیان ژن ها را در دو رقم متحمل و حساس نیشکر مورد مقایسه قرار دادند. نتایج آنها نشان دهنده آن بود که ژن های بیشتری در ژنوتیپ حساس تغییر بیان نشان می دهند. گو و همکاران (۲۰۰۹) الگوی بیان ژن ها را تحت تنش خشکی در دو ژنوتیپ متحمل و حساس جو مورد مقایسه قرار دادند. آنها موفق به شناسایی ۱۷ ژن شدند که هم در شرایط کنترل و هم در شرایط تنش در رقم متحمل نسبت به رقم حساس دارای بیان بالا بودند.

یکی از محدودیت هایی که در اکثر مطالعات بیان ژن به ویژه در گندم دیده می شود آن است که در اغلب آنها الگوی بیان ژن ها در یک ژنوتیپ متحمل تحت شرایط کنترل و تنش مورد بررسی قرار گرفته

(۱۲، ۲۱، ۲۵ و ۳۲) و مقایسه همزمان بیان این ژن ها در گیاه حساس انجام نشده است که این امر شناسایی ژن های پاسخ دهنده به تنش را از ژن های دخیل در تحمل به تنش، غیر ممکن می سازد. به علاوه، در بیشتر این آزمایش ها (۱۱، ۲۵ و ۲۷) از تنش های کوتاه مدت آن هم به صورت اعمال ناگهانی تنش شوری استفاده گردیده است. هر چند که اطلاعات با ارزشی از این آزمایش ها حاصل شده است اما در کشاورزی اطلاعات حاصل از تنش های طولانی مدت با ارزشترین اطلاعات می باشند (۲۳). با توجه به آنچه ذکر شد، هدف از این مطالعه مقایسه و شناسایی الگوی بیان ژن های منتخب در تنش شوری طولانی مدت در خلال دوره رویشی در گندم های متحمل و حساس بود تا بدین وسیله ژن های پاسخ دهنده و دخیل در تحمل به تنش در این گیاه از هم مشخص و مورد شناسایی قرار گیرند.

مواد و روش ها

کشت گیاهان و اعمال تیمار تنش شوری

این مطالعه در آزمایشگاه ها و اطاق های کشت پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری طی سال های ۱۳۸۵ الی ۱۳۸۸ انجام شده است. در این مطالعه از رقم ماهوتی به عنوان رقم متحمل و از رقم چینی بهاره به عنوان رقم حساس به تنش شوری مطابق با گزارش های موجود استفاده گردید (۱۶ و ۲۳). ارقام گندم ماهوتی و چینی بهاره در دو محیط هیدروپونیک حاوی صفر و ۲۵۰ میلی مولار کلرید سدیم در چهار تکرار و در هر تکرار ۱۰ بوته کشت گردیدند. برای این کار، ابتدا بذور گیاهان به مدت ده دقیقه در هیپوکلرید سدیم ۵٪ ضدعفونی گشته و سپس ۵ بار با آب مقطر شستشو داده شدند. سپس در ظروف استریل اتوکلاو شده بر روی کاغذ صافی استریل قرار داده شدند. به هر ظرف پتری سه میلی لیتر آب مقطر استریل اضافه گردید. پس از پنج روز گیاهچه ها به محیط کشت هوگلند (۹) با رقت ۰/۵ منتقل گردیدند. در روز بعد غلظت کامل مواد محیط کشت هوگلند استفاده شد. به محلول غذایی هوگلند مقدار مناسبی CaCl_2 اضافه گردید تا نسبت مولی سدیم به کلسیم در محلول ۱۵ به ۱ بماند. گیاهچه ها به مدت هفت روز در همین شرایط باقی ماندند و از روز هفتم به طور تدریجی به نیمی از گیاهچه ها تنش شوری اعمال گردید. بدین صورت که به مدت پنج روز و هر روز ۵۰ میلی مولار کلرید سدیم به محلول هوگلند اضافه گردید تا پس از پنج روز به غلظت نهایی ۲۵۰ میلی مولار کلرید سدیم رسید. از این زمان به بعد، گیاهچه ها به مدت ۱۲ روز به حال خود گذاشته شدند. در خلال ۱۲ روز، هر سه روز یکبار محیط کشت تعویض گردید. پس از ۱۲ روز قسمت های هوایی برداشت شدند و در فریزر مخصوص دمای 70°C - ذخیره گردیدند. همچنین از هر رقم در شرایط کنترل و تنش سه بوته بطور تصادفی از هر تکرار انتخاب گردید و وزن تر و خشک قسمت های هوایی بوته و غلظت سدیم و پتاسیم برگ چهارم در آنها مطابق با روش مانس و همکاران (۲۰۰۰) اندازه گیری شد. تجزیه واریانس داده های حاصل به صورت آزمایش

فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و مقایسه میانگین های مربوطه با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ با استفاده از نرم افزار SAS انجام شد.

انتخاب ژن ها و تکثیر آنها

در این تحقیق، در مجموع از ۶۰ ژن منتخب القاء شونده با تنش شوری استفاده گردید (جدول ۴). بر اساس مرور منابع ۳۰ ژن پاسخ دهنده به تنش شوری انتخاب گردیدند. در مرحله بعد با استفاده از توالی های گرفته شده جستجوی BLAST در پایگاه اطلاعاتی GenBank صورت گرفت و توالی هایی که دارای کمترین E-value و همچنین بالاترین امتیاز بودند از این پایگاه دریافت شدند و در نرم افزار EditSeq توالی های پروتئینی و cDNA هر ژن جداگانه ذخیره گردیدند. جهت بدست آوردن توالی های کامل هر ژن و توالی mRNA آنها از پایگاه های اطلاعاتی MapViewer و TIGR و نرم افزار BLAST استفاده شد. در مرحله بعد توالی های ذخیره شده در نرم افزار MegAlign از مجموعه نرم افزار های DNASTAR (شرکت Lasergene) همردیف گردیدند. بدین صورت که ابتدا توالی های پروتئینی مربوط به هر ژن همردیف شدند و مناطق حفاظت شده در سطح پروتئین شناسایی شد. جهت مشخص نمودن توالی حفاظت شده پروتئینی در روی توالی DNA هر ژن بدین صورت عمل شد که اگر چنانچه قبلاً توالی ژن مورد نظر در گندم تحت شرایط تنش شوری شناسایی گردیده بود از آن استفاده گردید و اگر توالی DNA ژن مورد نظر در گیاه گندم شناسایی نشده بود توالی بدست آمده از جستجوی BLAST در پایگاه اطلاعاتی TIGR در بخش Gene Index و زیر بخش Wheat که دارای کمترین شاخص E-value و بیشترین امتیاز بود، به عنوان توالی DNA آن ژن در گندم در نظر گرفته شد. در مرحله بعد، توالی های DNA به نرم افزار Oligo5 انتقال داده شد تا آغازگرهای اختصاصی برای مناطق حفاظت شده هر ژن طراحی شوند پس از سنتز آغازگرهای اختصاصی برای هر ژن شرایط PCR برای هر یک از جفت آغازگرهای اختصاصی بهینه گشت. برای انجام PCR از الگوی cDNA استفاده گردید. بدین ترتیب که ابتدا RNA از گیاهان تحت تیمار استخراج گردید و سپس با استفاده از آنزیم ترنسکرپتاز معکوس به cDNA تبدیل گشت تا به عنوان الگو در تهیه محصول PCR هر ژن بکار رود. در این بررسی همچنین از ۱۱ ژن *wsr* که قبلاً توسط روش DD-PCR از گندم ماهوتی و ۱۰ ژن *asr* که توسط روش cDNA-AFLP از گیاه هالوفیت آلثوروپوس لگپوئیده جداسازی و در باکتری *E.coli* ذخیره گشته بودند، محصول PCR ۶ ژن مربوط به فاکتورهای رونویسی (شامل ژن های *DREB1* تا *DREB6*) و ۴ ژن پروتئین کیناز (شامل ژن های *SnRK1* تا *SnRK4*) استفاده گردید که در مطالعه ای دیگر از طریق روش پروتئومیکس به دست آمده بودند.

تهیه درشت آرایه cDNA و بررسی بیان ژن ها

استخراج RNA کل از بافت هوایی با استفاده از کیت RNXplus (سیناژن، ایران) و مطابق با دستورالعمل های مربوطه انجام گرفت. تهیه cDNA با استفاده از آغازگرهای Oligo dT و آنزیم AMV Reverse Transcriptase (فرمنتاز، ایران)، مطابق با روش توصیه شده در کاتالوگ آنزیم انجام گرفت. نورترن بلات معکوس بر اساس پروتکل بهینه شده در پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و فناوری زیستی انجام شد. از ژن آلفاتوبولین به عنوان کنترل داخلی استفاده گردید.

امتیازدهی به لکه ها با استفاده از نرم افزار TotalLab صورت گرفت. برای این کار میانگین تیرگی زمینه بلات از میزان تیرگی مربوط به هر لکه کسر گردید. پس از آن تمامی لکه ها بر اساس لکه α -توبولین توسط نرم افزار استاندارد شدند. برای آنالیز بیان ژن ها تجزیه واریانس به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با ۴ تکرار با استفاده از نرم افزار SAS انجام گرفت. عامل اول ژنوتیپ با دو سطح و عامل دوم محیط با دو سطح در نظر گرفته شد و میانگین های مربوطه با استفاده از روش دانکن در سطح احتمال ۵٪ مورد مقایسه قرار گرفتند.

نتایج و بحث

جهت بررسی تحمل به تنش شوری در گیاهان زراعی مانند گندم از نسبت پتاسیم به سدیم و وزن خشک به عنوان معیارهای اصلی تحمل به تنش شوری استفاده شده است (۱۸ و ۲۴). بنابراین در این مطالعه نیز از معیارهای فوق به منظور ارزیابی تحمل به تنش شوری دو رقم انتخابی استفاده شد. خلاصه نتایج تجزیه واریانس صفات اندازه گیری شده در جدول ۱ آمده است.

جدول ۱: تجزیه واریانس صفات اندازه گیری شده در بررسی مقایسه الگوی بیان ژن های منتخب القاء شونده با تنش

شوری در گندم نان

میانگین مربعات					درجه آزادی	منابع تغییرات
پتاسیم اسدیم	پتاسیم	سدیم	وزن خشک	وزن تر		
۶۰/۸۳۹۹**	۰/۰۳۰۸ ^{ns}	۳۹/۹۵۲۲**	۰/۶۵۴۳**	۰/۹۳۴۱**	۱	ژنوتیپ
۹/۷۸۹۴**	۰/۰۲۸۳ ^{ns}	۳/۹۵۳۶*	۰/۱۹۵۶**	۰/۱۲۵۴*	۱	محیط
۴/۱۶۳۹**	۰/۴۳۷۲**	۳/۰۸۹۰*	۰/۰۰۸۶ ^{ns}	۰/۰۰۹۱ ^{ns}	۱	ژنوتیپ × محیط
۰/۳۸۲۹	۰/۰۱۲۰	۰/۲۹۸۹	۰/۰۱۲۳	۰/۰۲۱۴	۱۲	اشتباه

**، * و ns: به ترتیب اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۱٪، ۵٪ و غیر معنی دار

نتایج نشان دهنده آن بود که تیمار شوری اثر معنی داری بر صفات اندازه گیری شده به غیر از غلظت پتاسیم داشته است. نتایج مقایسه میانگین صفات با روش دانکن در جدول ۲ آمده است. بر اساس این نتایج رقم ماهوتی با تولید وزن خشک بیشتر از لحاظ آماری در سطح ۵٪ با رقم چینی بهاره اختلاف

معنی دار دارد. نتایج جدول مقایسه میانگین نشان می دهد که در شرایط تنش شوری غلظت سدیم برگ در رقم ماهوتی کمتر از رقم چینی بهاره می باشد و همین امر باعث شده است که نسبت پتاسیم به سدیم در رقم ماهوتی بالاتر از رقم چینی بهاره باشد. به نظر می رسد که رقم ماهوتی با داشتن نسبت پتاسیم به سدیم پایین تر توانسته است ماده خشک بیشتری تولید نماید. در گندم های دوروم گزارش شده است که همبستگی منفی قوی بین ماده خشک تولیدی و غلظت سدیم وجود دارد (۱۹).

جدول ۲: خلاصه مقایسه میانگین صفات اندازه گیری شده در بررسی مقایسه الگوی بیان ژن های منتخب القاء شونده با

تنش شوری در گندم نان

تیمار	وزن تر (گرم)	وزن خشک (گرم)	غلظت سدیم (میلی مولار در هر گرم وزن خشک)	غلظت پتاسیم (میلی مولار در هر گرم وزن خشک)	نسبت پتاسیم به سدیم
ژنوتیپ ماهوتی	۱/۷۳a	۱/۱۷۷a	۳/۸۷۶۹a	۱/۰۱۶۳a	۳/۴۴۱۲b
چینی بهاره	۱/۱۵ b	۰/۱۱۸b	۸/۷۳۲۴b	۱/۱۷۰۷a	۵/۴۵۵۲a
محیط					
کنترل	۲/۲۸a	۰/۲۱۳a	۰/۳۱۳۷b	۱/۲۷۰۱a	۸/۷۲۴۸a
تنش	۰/۶b	۰/۰۸۲b	۱۲/۳۰۵۶ a	۰/۹۱۶۹a	۰/۱۷۱۶b
ژنوتیپ x محیط					
ماهوتی در شرایط کنترل	۱/۲۸ a	۰/۱۱۶a	۰/۱۷۳c	۰/۵۹۳۲a	۳/۳۲۶۹a
ماهوتی در شرایط تنش	۰/۴۵ c	۰/۰۶۱c	۳/۶۹۸۶b	۰/۴۳۳۱a	۰/۱۱۴۳b
چینی بهاره در شرایط کنترل	۱/۰۰b	۰/۰۹۷ b	۰/۱۲۵۴c	۰/۶۷۶۹a	۵/۳۹۷۹a
چینی بهاره در شرایط تنش	۰/۱۵d	۰/۰۲۱d	۸/۶۰۷۰a	۰/۴۹۳۸a	۰/۰۵۷۳c

ارقام دارای حداقل یک حرف مشابه در هر ستون از لحاظ آماری در سطح ۵٪ غیر معنی دار می باشند.

برخلاف سدیم، غلظت پتاسیم در دو رقم به مقدار جزئی تحت تاثیر تیمار شوری قرار گرفت به طوری که این تفاوت هم در اثر اصلی و هم در اثر متقابل معنی دار نبود. به طور کلی این نتایج نشان دهنده آن است که دو رقم مورد بررسی از نظر ماده خشک تولیدی و نسبت پتاسیم به سدیم از لحاظ آماری در سطح ۵٪ دارای اختلاف معنی دار می باشند و بنابراین مواد گیاهی مناسبی برای این مطالعه می باشند. تجزیه واریانس و مقایسه میانگین بیان ژن های مورد بررسی به ترتیب در جدول های ۳ و ۴ آمده است. به طور کلی ۱۶ الگوی ممکن بیان ژن در ارقام متحمل و حساس در شرایط کنترل و تنش در نظر گرفته شد و بر اساس مقایسه میانگین انجام شده، الگوی بیان هر ژن مورد بررسی به یکی از این ۱۶ الگوی بیان اختصاص داده شد (جدول ۵). در این جدول علامت - به معنی بیان پایه پایین و یا کاهش بیان و علامت + به معنی بیان پایه بالا یا افزایش بیان می باشد.

در بین ۱۶ الگوی ممکن بیان ژن، مورد توجه ترین الگوها، الگوهای شماره ۲، ۶، ۸ و ۱۲ در نظر گرفته شدند. الگوی بیان شماره ۲ که نسبت به سایر الگوهای بیان بیشترین تعداد ژن را در خود جای داد

(۴۰٪) شامل ژن هایی می باشد که با اعمال تنش در رقم متحمل افزایش بیان نشان می دهند اما هیچ گونه تغییر بیانی از آنها در رقم حساس مشاهده نمی شود. بنابراین ممکن است این ژن ها در تحمل به تنش شوری در گندم دخیل باشند. گو و همکاران (۲۰۰۹) نیز با مقایسه الگوی بیان ژن ها در ژنوتیپ های متحمل و حساس گیاه جو ۳۴ ژن را شناسایی نمودند که تنها در ژنوتیپ های متحمل افزایش بیان نشان می دادند. در این الگو بیشترین افزایش بیان ژن، مربوط به ژن *LEA* بود. پروتئین های *LEA* که بیان آنها وابسته به مسیر *ABA* می باشد (۲۹) مانند چاپرون ها نقش محافظتی از ساختار پروتئین ها در زمان مواجه سلول با تنش شوری بر عهده دارند (۱۷).

شواهد حاکی از آن هستند که افزایش بیان این پروتئین ها در پاسخ به تنش اسمزی حاصل از تنش شوری و نه تنش یونی ایجاد شده می باشد (۳۱). زو و همکاران (۱۹۹۶) با انتقال ژن *LEA* از گیاه جو به برنج گزارش نمودند که تحمل به تنش شوری در برنج های تراریخت افزایش پیدا کرد. در مطالعه حاضر افزایش بیان این ژن در رقم ماهوتی به بیش از ۷ برابر رسید در حالی که در رقم چینی بهاره کاهش نامحسوسی در بیان آن دیده شد.

الگوی بیان شماره ۶ ژن هایی را شامل می شد که در ارقام متحمل دارای بیان بالایی تحت شرایط کنترل و تنش شوری نسبت به ارقام حساس هستند ولی در اثر اعمال تنش افزایش یا کاهش معنی داری در بیان آنها در هر دو رقم متحمل و حساس دیده نمی شد. بنابراین این گروه شامل ژن هایی می شود که به طور پیوسته هم در شرایط کنترل و هم در شرایط تنش در ارقام متحمل بیان می شوند. در این گروه جالب توجه ترین الگوی بیان مربوط به ژن *CBEFP* بود. بیان این ژن هم در شرایط کنترل (۸/۵ برابر) و هم در شرایط تنش شوری (۷/۵ برابر)، در رقم ماهوتی نسبت به رقم چینی بهاره در بالاترین مقدار قرار داشت. این ژن پروتئینی را رمز می کند که به واسطه *EF-hand* خود سریعاً تغییر غلظت کلسیم محیط را درک نموده و به آن متصل می شود و در اثر این اتصال ساختار پروتئین تغییر می یابد و این تغییر را به پروتئین های پایین دست خود انتقال می دهد (۴). گزارش شده است که با انتقال این ژن از *Entamoeba histolytica* به تنباکو تحمل این گیاه به شوری افزایش پیدا کرده است (۲۲). بنابراین بالاتر بودن بیان این ژن در شرایط کنترل در رقم ماهوتی ممکن است قابلیت درک سریع تر تغییرات محیط را به آن بدهد.

الگوی بیان شماره ۸ شامل ژن هایی است که با اعمال تنش شوری در ارقام حساس کاهش بیان و در ارقام متحمل افزایش بیان می یابند که ۴ ژن دارای چنین الگوی بیانی بودند. ژن های واقع در این الگو مانند ژن های الگوی بیان شماره ۲ به صورت القایی (افزایش بیان) در رقم متحمل، در تحمل به تنش شوری دخیل می باشند. با اعمال تنش شوری ژن *bZIP5* بیشترین افزایش بیان را در رقم ماهوتی و بیشترین کاهش بیان را در رقم چینی بهاره از خود نشان داد. عوامل رونویسی *bZIP* دارای یک ناحیه

تشکیل شده از اسید آمینه های بازی می باشند که به دنبال آن یک ناحیه غنی از اسید آمینه های لوسین قرار گرفته است (۱۰).

در گیاهان اسید آسزیک در اثر اعمال تنش هایی مانند خشکی سنتز می شود. افزایش ABA منجر به فعال شدن یک سری عوامل رونویسی می گردد که از جمله آنها عوامل رونویسی bZIP می باشند. این عوامل رونویسی به نوبه خود ژن های پایین دستی که در ناحیه پیشبری خود دارای مناطق ویژه ای به نام عناصر 'ABRE' می باشند را فعال می نمایند (۱). عوامل رونویسی bZIP در انتقال پیام تنش هایی مانند شوری، خشکی و نور UV نقش دارند (۳۳). این نتایج نشان می دهند که با اعمال تنش های طولانی مدت بیان برخی از عوامل رونویسی افزایش می یابد و در خلال دوره تنش همچنان بالا باقی می ماند. جدول ۳: خلاصه تجزیه واریانس بیان ژن های مورد بررسی در مقایسه الگوی بیان ژن های پاسخ دهنده به تنش شوری در

گندم نان

میانگین مربعات												درجه آزادی	منابع تغییر
SAMDC	ASN	BADH	G6DH	APX	NHX	P5CS	WCP	TVP	SOS3	SOS2	SOS1		
۰/۵۲۸**	۰/۰۲۷ ^{ns}	۰/۰۰۱*	۰/۰۲۵**	۰/۰۰۳**	۰/۰۱۴ ^{ns}	۰/۰۱۰۹**	۰/۰۱۴ ^{ns}	۰/۸**	۰/۱۶۱**	۰/۲۰۱**	۰/۰۰۱ ^{ns}	۱	رقم
۰/۰۴۳**	۰/۰۳۹**	۰/۰۳۷**	۰/۰۳۱۷**	۰/۰۱۰۶**	۱/۰۰۴**	۰/۰۰۵۳**	۰/۰۹۱**	۱/۵۱۱**	۰/۶۸۵**	۰/۶۵۳**	۰/۱۳**	۱	شوری
۰/۰۰۶**	۰/۰۰۷۲ ^{ns}	۰/۰۰۳**	۰/۰۰۴۸**	۰/۰۱۳۶**	۰/۰۱۹ ^{ns}	۰/۰۱۳۶**	۰/۰۲۱ ^{ns}	۰/۲۷۷**	۰/۳۷۴**	۰/۲۳۸**	۰/۰۰۶**	۱	رقم شوری
۰/۰۰۰۵	۰/۰۰۲۳	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۰۵	۰/۰۰۲۵	۰/۰۰۱	۰/۰۰۳	۰/۰۰۳	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۱۲	اشتباه
میانگین مربعات													منابع تغییر
WRKY1	bHLH3	bHLH2	bZIP5	bZIP3	bZIP2	bZIP1	CBEFP	AHA	HKT1	GSK	LEA		
۰/۱۱۶**	۰/۱۲۹**	۰/۰۸۷*	۰/۰۶۵**	۰/۰۳۳**	۰/۲۹۷**	۰/۶۳۸**	۱/۶۹۹**	۰/۰۰۲ ^{ns}	۰/۲۸۲**	۰/۱۵۹**	۰/۰۱۷*	۱	رقم
۰/۰۲۷**	۰/۰۳۲**	۰/۰۰۷۴*	۰/۰۰۱ ^{ns}	۰/۰۰۶ ^{ns}	۰/۰۰۱ ^{ns}	۰/۰۰۱ ^{ns}	۰/۰۰۹ ^{ns}	۰/۱۵۵**	۰/۰۰۶**	۰/۰۰۹ ^{ns}	۰/۲۸۴**	۱	شوری
۰/۰۱۹**	۰/۰۰۵**	۰/۰۳۸ ^{ns}	۰/۰۲۰۲**	۰/۰۰۲ ^{ns}	۰/۰۰۵ ^{ns}	۰/۰۳۱**	۰/۰۰۲ ^{ns}	۰/۲۲۴**	۰/۰۰۹**	۰/۰۳۵**	۰/۴۷۶**	۱	رقم شوری
۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۸	۰/۰۰۰۵	۰/۰۰۲	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۱	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۱۲	اشتباه
میانگین مربعات													منابع تغییر
wsr7	wsr6	wsr5	wsr4	wsr3	wsr2	wsr1	NAC67	NAC	MYB3	MYB2	WRKY2		
۰/۵۳۹**	۰/۰۲۶**	۰/۴**	۰/۰۰۵ ^{ns}	۰/۲۳۷**	۰/۲۸۳**	۰/۰۴۷**	۰/۱۱۵ ^{ns}	۰/۲۵۸ ^{ns}	۰/۰۳۴**	۰/۰۰۱ ^{ns}	۰/۳۱۳ ^{ns}	۱	رقم
۰/۱۰۴ ^{ns}	۰/۱۶۹**	۰/۰۰۶ ^{ns}	۰/۰۱۴**	۰/۰۲۴ ^{ns}	۰/۰۰۳ ^{ns}	۰/۰۰۸*	۰/۰۰۲ ^{ns}	۰/۰۶۴ ^{ns}	۰/۰۷۶**	۰/۰۱۵**	۰/۰۲۴ ^{ns}	۱	شوری
۰/۰۶۸ ^{ns}	۰/۰۰۸ ^{ns}	۰/۰۲۳ ^{ns}	۰/۰۷۳**	۰/۰۲۹*	۰/۰۰۱ ^{ns}	۰/۰۰۳ ^{ns}	۰/۰۱۷ ^{ns}	۰/۰۰۱ ^{ns}	۰/۰۳**	۰/۰۰۵ ^{ns}	۰/۰۰۴ ^{ns}	۱	رقم شوری
۰/۰۰۲۶	۰/۰۰۷	۰/۰۱۹	۰/۰۰۱	۰/۰۰۴	۰/۰۰۲	۰/۰۰۱	۰/۰۰۷	۰/۰۰۱	۰/۰۰۲	۰/۰۰۱	۰/۰۰۲	۱۲	اشتباه
میانگین مربعات													منابع تغییر
asr10	asr9	asr8	asr6	asr5	asr4	asr2	asr1	wsr11	wsr10	wsr9	wsr8		
۰/۰۷۵**	۰/۰۱۱ ^{ns}	۰/۰۰۵*	۰/۰۷۵**	۰/۰۲۱**	۰/۰۰۷ ^{ns}	۰/۰۰۱ ^{ns}	۰/۰۱۳ ^{ns}	۰/۶۸**	۰/۳۷۸**	۰/۲۲۹**	۰/۲۹۵**	۱	رقم
۰/۰۰۱ ^{ns}	۰/۰۴۹**	۰/۰۰۱**	۰/۰۰۱ ^{ns}	۰/۰۲۹**	۰/۰۴۸**	۰/۰۰۴ ^{ns}	۰/۰۴۶ ^{ns}	۰/۰۸۳*	۰/۰۴۸**	۰/۰۰۱ ^{ns}	۰/۰۴۸ ^{ns}	۱	شوری
۰/۰۱۷**	۰/۰۱۶*	۰/۰۰۴*	۰/۰۱۷**	۰/۰۱۳**	۰/۰۰۱ ^{ns}	۰/۰۱۴*	۰/۰۱۵ ^{ns}	۰/۰۸۱**	۰/۱۰۵**	۰/۰۰۳ ^{ns}	۰/۰۲۴ ^{ns}	۱	رقم شوری
۰/۰۰۱	۰/۰۰۲	۰/۰۰۰۵	۰/۰۰۱	۰/۰۰۰۵	۰/۰۰۲	۰/۰۰۶	۰/۰۰۷	۰/۰۰۲	۰/۰۰۱	۰/۰۱۷	۰/۰۰۹	۱۲	اشتباه
میانگین مربعات													منابع تغییر
SnRK4	SnRK3	SnRK2	SnRK1	DREB6	DREB5	DREB4	DREB3	DREB2	DREB1	asr12	asr11		
۰/۱۱**	۰/۲۱۲**	۰/۶۱۳**	۰/۰۸**	۰/۵۰۵**	۰/۱۳۲**	۰/۳۰۶**	۰/۰۶۸**	۰/۰۶۶**	۰/۰۰۱ ^{ns}	۰/۰۰۸*	۰/۰۰۹ ^{ns}	۱	رقم
۰/۰۱**	۰/۰۱۲*	۰/۰۰۸ ^{ns}	۰/۰۰۲ ^{ns}	۰/۰۰۱ ^{ns}	۰/۰۰۱**	۰/۰۰۷*	۰/۳۵۱**	۰/۱۴۵**	۰/۰۴۸**	۰/۰۱۱**	۰/۰۲۴*	۱	شوری
۰/۰۲۸**	۰/۰۲۹**	۰/۰۰۹**	۰/۰۰۵**	۰/۰۰۶**	۰/۰۰۶**	۰/۰۰۱ ^{ns}	۰/۲۷۹**	۰/۱۶۷**	۰/۱۷۹**	۰/۰۰۱ ^{ns}	۰/۰۰۴ ^{ns}	۱	رقم شوری
۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۲	۰/۰۰۳	۰/۰۰۰۵	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۲	۰/۰۰۳	۰/۰۰۱	۰/۰۰۳	۱۲	اشتباه

**، *، ns: به ترتیب اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۱٪، ۵٪ و غیر معنی دار

الگوی بیان شماره ۱۲ شامل ژن هایی بود که در رقم حساس با اعمال تنش افزایش بیان پیدا می کردند اما در ارقام متحمل هم در شرایط کنترل و هم در شرایط تنش شوری دارای بیان بالایی بودند. این الگو

شباهت بیشتری به الگوی شماره ۶ دارد، چرا که در این الگو نیز در شرایط کنترل و تنش بیان ژن ها در رقم متحمل بالا می باشد و به عبارت دیگر بیان آنها در رقم متحمل القایی نیست. در این تحقیق ۲ ژن در این الگو شناسایی شدند. در این الگو بیشترین میزان بیان در شرایط کنترل و تنش شوری در رقم ماهوتی مربوط به ژن *wst3* بود. توالی ژن *wst3* شباهت بالایی با ژن رمز کننده پروتئین آنزیمی به نام 9-cis-epoxycartenoid dioxygenase یا NCED دارد که در ساخت ABA در گیاهان نقش دارد.

گزارش هایی مبنی بر افزایش بیان این ژن در تنش های کوتاه مدت خشکی و شوری در گیاهان موجود می باشد (۱۴ و ۲۸). در مطالعه تاجی و همکاران (۲۰۰۴) نیز بسیاری از ژن های مورد مطالعه مانند NCED در شرایط کنترل در گیاه هالوفیت Salt cress بیان بالاتری نسبت به گیاه گلیکوفیت آراییدوپسیس داشتند. در مطالعه حاضر نیز بیان این ژن در رقم ماهوتی در شرایط کنترل بیشتر از رقم چینی بهاره بود (جدول ۴).

یکی از مزیت های استفاده از رقم حساس در این آزمایش در ارتباط با الگوی شماره ۷ بود. در این الگو ژن های عمومی پاسخ دهنده به تنش قرار می گیرند. در این مطالعه ۷ ژن در این الگو دسته بندی شدند. در واقع با اعمال تنش شوری این ژن ها افزایش بیان بالایی در هر دو رقم متحمل و حساس از خود نشان می دهند.

در اکثر مطالعات بیان ژن افزایش بیان آنها با اعمال تنش گزارش شده است (۲۱، ۲۵ و ۳۲). با این وجود در این تحقیق میزان افزایش بیان ژن های واقع در این الگو به غیر از ژن *ast4* در رقم متحمل ماهوتی بیشتر از چینی بهاره بود. نکته جالب توجه در بین الگوهای بیان مورد توجه ۲، ۶، ۸ و ۱۲ آن بود که اکثر عوامل رونویسی (۹۴٪) مطالعه شده در این تحقیق در آنها جای گرفتند (۱۷ عامل از ۱۸ عامل رونویسی). به نظر می رسد بیان بالای این ژن ها در شرایط کنترل و یا افزایش بیان آنها با اعمال تنش در رقم ماهوتی سبب می گردد این رقم تغییر شرایط محیطی را سریعتر از رقم چینی بهاره درک و انتقال دهد. کاواساکی و همکاران (۲۰۰۱) در بررسی الگوی بیان ژن ها در پاسخ به تنش شوری در دو رقم برنج متحمل و حساس مشاهده نمودند که تغییر بیان ژن ها در رقم متحمل چند ساعت زودتر از رقم حساس اتفاق می افتد. این تفاوت در زمان پاسخ ژن ها به تنش شوری در دو رقم متحمل و حساس برنج سبب گردید که رقم حساس ۲۴ ساعت بعد از اعمال تنش از بین برود، در حالی که رقم متحمل همچنان بعد از گذشت ۷ روز از اعمال تنش شوری به رشد خود ادامه داد. از طرف دیگر در مطالعه حاضر بیان بالای این ژن ها در رقم ماهوتی احتمالاً سبب می گردد ژن های بیشتری در پایین دست آنها القاء گردند. لیو و همکاران (۲۰۰۸) با استفاده از روش ریزآرایه cDNA، الگوی بیان ژن ها را تحت تنش شوری در گیاه آراییدوپسیس تراریخت با ژن *DREB1A* تحت پیشبر دائمی CaMV با گیاه غیر تراریخت مورد مقایسه قرار دادند.

جدول ۴: فهرست ژن ها، عملکرد احتمالی و مقایسه میانگین بیان آنها تحت شرایط تنش و کنترل در رقم چینی بهاره و

ماهوئی

شماره	نام ژن	شماره دسترسی TC یا GenBank	عملکرد احتمالی	منبع		شماره
				چینی بهاره ^۱	ماهوئی ^۱	
ژن های عملکردی						
۱	SOS1	TC۱۱۷۱۳	انتقال سدیم به بیرون از غشاء پلاسمایی	۱۱	۱۹۵/۳۰ ^a	۱
۲	NHX	AY۲۶۹۹۱۰	انتقال سدیم به داخل واکوئل	۱۱	۷۷/۹۶ ^a	۲
۳	WCP	TC۲۹۱۲۴۰	انتقال و جریان آب به درون گیاه	۱۱	۴۳/۲۰ ^a	۳
۴	HKT1	DQ۰۰۹۰۰۳	انتقال پتاسیم به داخل گیاه در شرایط کمبود آن	۱۱	۵۲۸/۴۰ ^a	۴
۵	TVP	AY۲۹۶۹۱۱	انتقال H ⁺ به داخل واکوئل	۲۱	۱۷/۵۹ ^b	۵
۶	AHA	AY۸۲۹۰۰۲	انتقال H ⁺ به بیرون از غشاء پلاسمایی	۲۱	۲۲۳/۴۷ ^a	۶
۷	P5CS	EU۱۳۳۵۸۸	تنظیم نورسانس، پاکسازی رادیکال های آزاد اکسیژن، ذخیره نیترژن و کربوهیدرات	۱۲	۴۹/۹۳ ^b	۷
۸	BADH	TC۲۸۳۳۴۰	تنظیم نورسانس، پاکسازی رادیکال های آزاد اکسیژن	۱۲	۱۷۴/۹۰ ^a	۸
۹	G6DH	AB۰۱۱۴۴۱	انتقال پیام و پاک سازی رادیکال های آزاد اکسیژن	۲۵	۲۵۳/۴۶ ^a	۹
۱۰	APX	AF۳۸۷۳۳۹	پاک سازی رادیکال های آزاد اکسیژن	۲۵	۱۸۴/۴۷ ^a	۱۰
۱۱	ASN	AY۶۲۱۵۳۹	تبدیل آسپاراتات به آسپارازین، انتقال و ذخیره سازی نیترژن، سمیت زدایی مواد	۲۵	۴۴/۵۹ ^a	۱۱
۱۲	SAMDC	TC۲۷۸۵۶۰	سنتز پلی آمین ها	۱۱	۵۵۲/۴۴ ^b	۱۲
۱۳	LEA	TC۲۹۵۲۳	کنترل از ساختار پروتئین ها، مرطوب نگه داشتن داخل سلول و سطح غشاء، بازیابی	۱۱	۵۴۴/۲۴ ^a	۱۳
۱۴	wsr1	CK۱۳۶۷۴	پروتئین شبیه سوکسینات دهیدروژناز، نقل انتقال الکترون در کمپلکس II میتوکندری	-	۶۷/۹۵ ^a	۱۴
۱۵	wsr2	CK۱۳۶۷۵	پروتئین شبیه پروفوبیلینوزن دی آمیناز، سنتز تتراپیرول ها	-	۳۵/۹۱ ^a	۱۵
۱۶	wsr5	CK۱۳۶۷۸	پروتئین سرین هیدروکسی متیل ترانسفراز	-	۸۵/۴۰ ^{ab}	۱۶
۱۷	wsr7	CK۱۳۶۸۰	پروتئین بنا آمیرین سنتتاز، ساخت تری ترین ها	-	۱۸۳/۰۴ ^a	۱۷
۱۸	asr4	CX۷۷۹۳۲۱	پروتئین شبیه به بتائین آلدهید دهیدروژناز کندم	-	۱۹۱/۲۹ ^a	۱۸
۱۹	asr8	CX۷۷۹۳۴	پروتئین غشایی	-	۱۵۴/۲۳ ^a	۱۹
ژن های تنظیمی						
۲۰	SOS2	TC۳۱۸۰۴۴	سرین سرتوتین کیناز، فعال کننده انواع پروتئین های عملکردی مانند SOS1	۱۱	۱۹۵/۳۰ ^a	۲۰
۲۱	SOS3	TC۲۰۴۹۸۰	پروتئین متصل شونده به کلسیم	۱۱	۷۳/۴۷ ^a	۲۱
۲۲	GSK	AF۵۲۵۰۸۶	پروتئین شبیه گلیکوژن سنتاز کیناز، انتقال پیام	۲۵	۵۷۰/۴۴ ^a	۲۲
۲۳	CBEPF	TC۲۷۸۷۹	حسگر افزایش کلسیم	۳۰	۱۹۷/۲۲ ^a	۲۳
۲۴	bZIP1	CN۰۱۱۸۲۹	فاکتور رونویسی	۳۰	۱۰۸۷/۰۸ ^b	۲۴
۲۵	bZIP2	CAV۴۴۵۷۲,۱	فاکتور رونویسی	۱۰	۴۸۳/۰۹ ^a	۲۵
۲۶	bZIP3	CK۱۳۶۶۶,۱	فاکتور رونویسی	۱۰	۴۸۰/۸۴ ^a	۲۶
۲۷	bZIP5	CV۶۷۵۸۴,۱	فاکتور رونویسی	۱۰	۶۷۳/۰۸ ^a	۲۷
۲۸	bHLH2	CA۵۹۹۶۱۸,۱	فاکتور رونویسی	۱۰	۳۴۷/۵۹ ^a	۲۸
۲۹	bHLH3	CK۷۵۶۲۵,۱	فاکتور رونویسی	۱۰	۶۸۸/۴۷ ^a	۲۹
۳۰	WRKY1	CN۰۰۴۳۲,۱	فاکتور رونویسی	۱۰	۵۵۱/۴۳ ^a	۳۰
۳۱	WRKY2	CJ۸۷۳۱۴,۱	فاکتور رونویسی	۱۰	۷۷۱/۵۶ ^a	۳۱
۳۲	MYB2	ABC۸۶۵۶۹,۱	فاکتور رونویسی	۱۰	۴۸۵/۵۱ ^a	۳۲
۳۳	MYB3-1	AB۱۹۱۴۵۹	فاکتور رونویسی	۱۰	۳۷۸/۲۵ ^a	۳۳
۳۴	MYB3-2	AB۱۹۱۴۶۰	فاکتور رونویسی	۱۰	۴۰۹/۷۲ ^a	۳۴
۳۵	NAC67	BU۷۲۲۲۹	فاکتور رونویسی	۱۰	۶۸۸/۴۷ ^a	۳۵
۳۶	wsr3	CK۱۳۶۹۶	پروتئین شبیه 9-cis-epoxycartenoid dioxygenase (NCE) ساخت اسید آسزیک	-	۴۸۵/۷۸ ^a	۳۶
۳۷	wsr9	CK۱۳۶۹۸۲	پروتئین چسبیده به اسید نوکلئیک	-	۵۰/۷۲ ^a	۳۷
۳۸	asr1	CX۷۷۹۷۱۶	هیستیدین کیناز	-	۳۱۸/۳۲ ^a	۳۸
۳۹	asr2	CX۷۷۹۷۱۹	پروتئین متصل شونده به DNA	-	۲۳۰/۰۸ ^a	۳۹
۴۰	asr6	CX۷۷۹۷۳۳	پروتئین متصل شونده به RNA	-	۱۶۵/۷۲ ^a	۴۰
۴۱	asr9	CX۷۷۹۷۱۷	پروتئین رتروترانسپوزون	-	۴۸۵/۷۸ ^a	۴۱
۴۲	asr11	CX۷۷۹۷۱۴	پلی پروتئین Copia-type	-	۵۵۱/۴۳ ^a	۴۲
۴۳	asr12	CX۷۷۹۷۱۳	پروتئین شبیه NBS-LRR	-	۷۷۱/۵۶ ^a	۴۳
۴۴	DREB1	AY۷۸۱۲۵۹	فاکتور رونویسی	۱	۱۷۲/۳۴ ^a	۴۴
۴۵	DREB2	AY۷۸۱۳۵۸	فاکتور رونویسی	۱	۱۷۲/۳۴ ^a	۴۵
۴۶	DREB3	AY۷۸۱۲۵۷	فاکتور رونویسی	۱	۱۴۷/۶۳ ^a	۴۶
۴۷	DREB4	AY۷۸۱۲۵۶	فاکتور رونویسی	۱	۱۴۷/۶۳ ^a	۴۷
۴۸	DREB5	AY۷۸۱۳۵۵	فاکتور رونویسی	۱	۳۴۵/۸۲ ^a	۴۸
۴۹	DREB6	AY۷۸۱۲۵۴	فاکتور رونویسی	۱	۵۰/۱۴ ^a	۴۹
۵۰	SnRK1	BT۰۰۹۰۰۴	پروتئین کیناز	-	۳۴۲/۰۶ ^a	۵۰
۵۱	SnRK2	X۶۵۰۰۴,۱	پروتئین کیناز	-	۴۲۱/۸۵ ^a	۵۱
۵۲	SnRK3	X۶۵۰۰۴,۲	پروتئین کیناز	-	۴۳/۲۹ ^a	۵۲
۵۳	SnRK4	X۶۵۰۰۴,۳	پروتئین کیناز	-	۴۲۱/۸۵ ^a	۵۳
ژن های با عملکرد نامشخص						
۵۴	wsr4	CK۱۳۶۹۷۷	عملکرد نامشخص	-	۴۲/۸۵ ^c	۵۴
۵۵	wsr6	CK۱۳۶۹۷۹	عملکرد نامشخص	-	۹۷/۷۹ ^a	۵۵
۵۶	wsr8	CK۱۳۶۹۸۱	عملکرد نامشخص	-	۱۳۷/۷۲ ^b	۵۶
۵۷	wsr10	CK۱۳۶۹۸۳	عملکرد نامشخص	-	۱۴۷/۶۳ ^a	۵۷
۵۸	wsr11	CK۱۳۶۹۸۴	عملکرد نامشخص	-	۱۴۷/۶۳ ^a	۵۸
۵۹	asr5	CX۷۷۹۷۲۲	عملکرد نامشخص	-	۱۶۰/۶۵ ^a	۵۹
۶۰	asr10	CX۷۷۹۷۱۵	عملکرد نامشخص	-	۱۴۷/۶۳ ^a	۶۰

میانگین هایی که در هر ردیف دارای حروف مشترک هستند از لحاظ آماری اختلاف معنی داری در آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ ندارند.

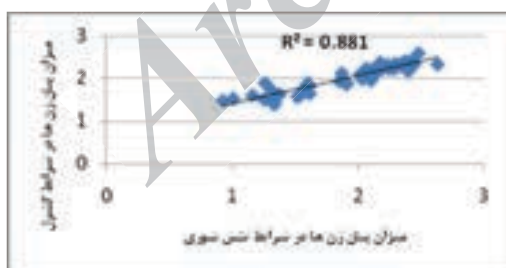
بر اساس نتایج آنها علاوه بر ژن هایی که در هر دو گیاهان تراریخت و غیر تراریخت افزایش بیان نشان داده بودند، در گیاه تراریخت بیان ۱۲ ژن دیگر به میزان دو برابر افزایش یافته بود. این مفهوم که در شکل

۱ و ۲ در قالب ضریب تبیین کمتر در رقم ماهوتی نسبت به چینی بهاره ظاهر می شود، نشان می دهد که با اعمال تنش میزان بیان ژن ها در رقم ماهوتی بیشتر دستخوش تغییر قرار می گیرد که یکی از عوامل آن ممکن است بیان بالا یا القای بیشتر عوامل رونویسی در این رقم باشد.

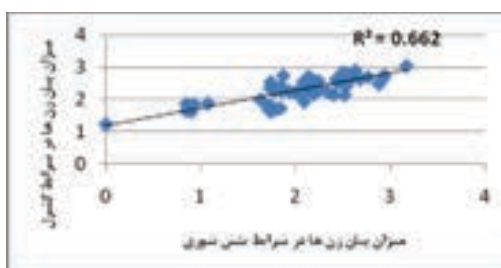
جدول ۵: الگوی بیان ژن ها تحت شرایط کنترل و تنش طولانی مدت شوری ۲۵۰ میلی مولار کلرید سدیم در دو رقم گندم نان

نام ژن	چینی بهاره		ماهوتی		شماره الگوی بیان
	تنش	کنترل	تنش	کنترل	
None	-	-	-	-	۱
<i>SOS1, APX, BADH, ASN, LEA, GSK, AHA, bHLH3, WRKY1, MYB3-2, MYB3-1, bHLH2, WRKY2, wsr1, wsr6, asr1, DREB1, DREB2, DREB3, DREB5, SnRK3, SnRK4</i>	+	-	-	-	۲
<i>wsr8, wsr10, wsr11, asr6, SnRK2</i>	-	+	-	-	۳
None	-	-	+	-	۴
None	-	-	-	+	۵
<i>CBEFP, bZIP2, bZIP3, NAC67, wsr2, wsr5, wsr7, wsr9, DREB4</i>	+	+	-	-	۶
<i>SOS2, SOS3, TVP, WCP, NHX, G6DH, asr4</i>	+	-	+	-	۷
<i>HKT1, bZIP5, MYB2, DREB6</i>	+	-	-	+	۸
<i>P5CS, bZIP1, wsr4</i>	-	+	+	-	۹
<i>SAMDC</i>	-	+	-	+	۱۰
None	-	-	+	+	۱۱
<i>wsr3, SnRK1</i>	+	+	+	-	۱۲
None	+	+	-	+	۱۳
<i>asr11, asr2, asr9, asr5, asr8, asr12</i>	+	-	+	+	۱۴
None	-	+	+	+	۱۵
<i>asr10</i>	+	+	+	+	۱۶

علامت مثبت به معنی افزایش بیان و یا بیان پایه بالا و علامت منفی به معنی کاهش بیان ژن و یا بیان پایه پایین ژن می باشد



چینی بهاره



ماهوتی

شکل ۱ و ۲- میزان بیان ژن ها در شرایط کنترل و تنش در رقم چینی بهاره (نمودار سمت چپ) و رقم ماهوتی (نمودار سمت راست) در مقابل هم ترسیم گردیده اند.

شناسایی ژن های دخیل در تحمل به تنش شوری و تعیین الگوی بیان آنها موجب تسهیل در شناخت راهکارهای مولکولی تحمل به تنش شوری در گندم و همچنین اصلاح ژنتیکی از طریق انتخاب به کمک

نشانگر یا انتقال ژن خواهد شد. با توجه به نتایج یاد شده در فوق ژن *LEA* از الگوی بیان شماره ۲، ژن *CBEFP* از الگوی بیان شماره ۶، ژن *bZIP5* از الگوی شماره ۸ و ژن *wst3* از الگوی بیان شماره ۱۲ جزء ژن های منتخب برای تحمل به تنش شدید و طولانی مدت در رقم ماهوتی و آنالیز عملکرد بیشتر در آینده در نظر گرفته شدند.

سپاسگزاری

بدین وسیله از پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری و مجتمع آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران به دلیل فراهم نمودن امکانات اجرای این تحقیق تشکر و قدردانی می گردد.

منابع

- 1- Agarwal, P. K., Agarwal, P., Reddy, M. and Sopory, S. 2006. Role of DREB transcription factors in abiotic and biotic stress tolerance in plants. *Plant Cell Report*, 25: 1263-1274.
- 2- Ashraf, M., Oztork, M. and Athar, H. R. 2009. Salinity and water stress. Springer science + Business media B.V.
- 3- Bohnert, H. and Jensen, R. 1996. Metabolic engineering for increased salt tolerance- The next step. *Australian Journal of Plant Physiology*, 23: 661-667.
- 4- Capozzi, F., Casadei, F. and Luchinat, C. 2006. EF-hand protein dynamics and evolution of calcium signal transduction: an NMR view. *Journal of Biological Inorganic Chemistry*, 11: 949-962.
- 5- Colmer, T., Munns, R. and Flowers, T. 2006. Improving salt tolerance of wheat and barley: future prospects. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 45: 1425-1443.
- 6- Flowers, T. 2004. Improving crop salt tolerance. *Journal of Experimental Botany*, 55: 307-319.
- 7- Flowers, T. and Yeo, A. 1995. Breeding for salinity resistance in crop plants: where next? *Australian Journal of Plant Physiology*, 22: 875-884.
- 8- Guo, P., Baum, M., Grando, S., Ceccarelli, S., Bai, G., Li, R., Korff, M., Varshney, R., Graner, A. and Valkoun, J. 2009. differentially expressed genes between drought tolerant and drought sensitive barely genotypes in response to drought stress during the reproductive stage. *Journal of Experimental Botany*, 60: 3531-3544.
- 9- Hoagland, D. and Arnon, D. 1950. The water culture method of growing plants without soil. California Agricultural Experiment Station, University of California, USA.
- 10- Jacoby, M., Weisshaar, B., Droge-Laser, W., Vicente-Carbajosa, J., Tiedemann, J., Kroj, T. and Parcy, F. 2002. bZIP transcription factors in Arabidopsis. *TRENDS in Plant Science*, 7: 106-111.
- 11- Kawasaki S., Borchert, C., Deyholos, M., Wang, H., Brazhile, S., Kawai, K., Galbraith, D. and Bohnert, H. 2001. Gene expression profile during the initial phase of salt stress in Rice, *The Plant Cell*, 13: 889-905.
- 12- Kawaura, K., Mochida, K., Yamazaki, Y. and Ogihara, Y. 2006. Transcriptome analysis of salinity stress responses in common wheat using a 22k oligo-DNA microarray. *Funct Integr Genomics*, 6: 132-142.
- 13- Liu, Q., Kasuga, M., Sakuma, Y., Abe, H., Miura, S., Yamaguchi-Shinozaki, K. and Shinozaki, K. 1998. Two transcription factors, DREB1 and DERB2, with an EREBP/AP2 DNA binding domain separate two cellular signal transduction pathways in drought and low temperature responsive gene expression, respectively, in Arabidopsis. *Plant Cell*, 10: 1391-1406.
- 14- Milborrow, B. 2001. The pathway of biosynthesis of abscisic acid in vascular plants: a review of present state of knowledge of ABA biosynthesis. *Journal of Experimental Botany*, 52: 1145-1164.
- 15- Micheletto, S., Rodriguez-Urbe, L., Hernandez, R., Richins, R. D., Curry, J. and O'Connell, M. A. 2007. Comparative transcript profiling in roots of *Phaseolus acutifolius* and *P. vulgaris* under water deficit stress. *Plant Science*, 173: 510-520.
- 16- Mott, I. and Wang, R. 2007. Comparative transcriptome analysis of salt tolerant wheat germplasm lines using wheat genome arrays. *Plant Science*, 173: 327-339.
- 17- Munns, R. 2005. Genes and salt tolerance: bringing them together. *New Physiologist*, 167: 645-663.

- 18- Munns, R., Hare, R., James, R. and Rebetzke, G. 2000. Genetic variation for improving the salt tolerance of durum wheat. *Australian Journal of Agricultural Research*, 51: 69-74.
- 19- Munns, R., James, R. and Lauchli, A. 2006. Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals. *Journal of Experimental Botany*, 1-19.
- 20- Munns, R. and Tester, M. 2008. Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology*, 59: 651-658.
- 21- Ozturk, Z., Talame, V., Deyholos, M., Michalowski, C., Galbraith, D., Gozukirmizi, N., Tuberosa, R. and Bohnert, H. 2002. Monitoring large scale changes abundance in drought and salt stress barley. *Plant Molecular Biology*, 48: 551-573.
- 22- Pandey, G., Reddy, V., Reddy, M., Deswal, R., Bhattacharya, A. and Sopory, S. 2002. transgenic tobacco expressing *Entamoeba histolytica* calcium binding protein exhibits enhanced growth and tolerance to salt stress. *Plant Sciences*, 163: 41-47.
- 23- Perez-Torres, E., Paredes, M. and Polanco, V. 2009. gene expression analysis: a way to study tolerance to abiotic stresses in crops species. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 69: 260-269.
- 24- Poustini, K. and Siosemardeh, A. 2004. Ion distribution in wheat cultivars in response to salinity stress. *Field Crops Research*, 85: 125-133.
- 25- Rabbani, M., Maruyama, K., Abe, H., Khan, M., Katsura, K., Ito, Y., Yoshiwara, K., Seki, M., Shinozaki, K. and Yamaguchi-Shinozaki, K. 2003. Monitoring expression profiles of rice genes under cold, drought, and high-salinity stresses and abscisic acid application using cDNA microarray and RNA gel-blot analyses. *Plant Physiology*, 133: 1755-1767.
- 26- Rampino, P., Pataleo, S., Gerardi, C., Mita, G. and Perrotta, C. 2006. Drought stress response in wheat: physiological and molecular analysis of resistant and sensitive genotypes. *Plant Cell and Environment*, 29: 2143-2152.
- 27- Rodrigues, F. A., Laia, M. L. and Zingaretti, S. M. 2009. Analysis of gene expression profiles under water stress in tolerant and sensitive sugarcane plants. *Plant Science*, 176: 286-302.
- 28- Qin, Z. and Zeevaart, J. 1999. The 9-cis-epoxycartenoid cleavage reaction is the key regulatory step of abscisic acid biosynthesis in water stressed bean. *Proceedings of the National Academy of Science of the USA*, 96: 15354-15361.
- 29- Sairam, R. and Tyagi, A. 2004. Physiology and molecular biology of salinity stress tolerance in plants. *Current Science*, 86: 3-10.
- 30- Taji, T., Seki, M., Satou, M., Sakurai, T., Kobayashi, M., Ishiyama, M., Narusaka, M., Zhu, J. and Shinozaki, K. 2004. Comparative genomics in salt tolerance between Arabidopsis and Arabidopsis related halophyte *Salt Cress* using Arabidopsis microarray. *Plant Physiology*, 135: 1697-1709.
- 31- Tester, M. and Davenport, R. 2003. Na⁺ tolerance and Na⁺ transport in higher plants. *Annals of Botany*, 91: 503-527.
- 32- Udea, A., Kathiresan, A., Inada, M., Narita, Y., Nakamura, I., Shi, W., Takabe, T. and Bennett, J. 2004. Osmotic stress in barley regulates expression of a different set of genes than salt stress dose. *Journal of Experimental Botany*, 55: 2213-2218.
- 33- Uno, Y., Furihata, T., Abe, H., Yoshida, R., Shinozaki, K. and Yamaguchi-Shinozaki, K. 2000. Arabidopsis basic leucine zipper transcription factors involve in abscisic acid dependent signal transduction pathway under drought and high salinity conditions. *Proceedings of the National Academy of Science of the USA*, 97: 11632- 11637.
- 34- Walia, H., Wilson, C., Condamine, P., Liu, X., Ismail, A. M., Zeng, L., Wanamaker, S. I., Mandal, J., Xu, J., Cui, X. and Close, T. J. 2005. Comparative transcriptional profiling of two contrasting rice genotypes under salinity stress during the vegetative growth. *Plant physiology*, 139: 822-835.