Archive of SID

مجله علمی ـ پژوهشی زیست‌فناوری گیاهان زراعی
سال ششم، شماره پانزدهم، پائیز ۱۳۹۵ (۱۱-۱)

Crop Biotech.
Autumn (2016) 15: 1-11.

# تجزیه بیان دو ژن گیرنده شبه‌کینازی در گیاهچه‌های جو تحت تیمار سالیسیلیک‌اسید و شوری

**خدیجه نوروزی[۱]، رضا فتوت[۲*]، فرید شکاری[۳]، احسان محسنی‌فرد[۲]**

۱. دانشجوی سابق کارشناسی‌ارشد بیوتکنولوژی، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان
۲. استادیاران، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان
۳. دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۶/۳ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۵/۹/۲۱)

# Expression analysis of Two Receptor-Like Kinase Genes in barley seedling under salt and salicylic acid treatment

**Khadijeh Noroozi[1], Reza Fotovat[2*], Farid Shekari[3], Ehsan Mohsenifard[2]**

1. Former Student of Plant Biotechnology, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Iran
2. Assistant Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Iran.
3. Associate Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Iran.

(Received: Aug. 25, 2016 -Accepted: Dec. 12, 2016)

**چکیده**

شوری‌خاک از مهمترین تنش‌های غیرزیستی است که شدیداً تولید محصول را کاهش می‌دهد. مطالعات اخیر نشان داده است که کاربرد بیرونی سالیسیلیک‌اسید به‌عنوان یک ملکول مهم در مسیر ترارسانی در انتقال پیام‌های تنش‌های غیرزیستی نقش دارد. با وجود این نقش آن در ترارسانی تنش شوری روشن نیست. در این تحقیق اثر غلظت‌های مختلف سالیسیلیک‌اسید، در بیان ژن‌های گیرنده‌ی شبه‌کینازی دو رقم جو (ریحان و نصرت) متفاوت از لحاظ مقاومت به شوری مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که شوری و سالیسیلیک‌اسید تأثیر معنی‌داری بر صفات گیاهچه‌ای جو داشته‌اند و موجب افزایش بیان نسبی ژن‌های *Hv3ARK* و IdiRLK2 در رقم نصرت شدند. ولی در رقم ریحان بیان نسبی ژن‌ها متفاوت بود. به‌نظر می‌رسد سالیسیلیک‌اسید با فعال کردن گیرنده‌های شبه‌کینازی در مسیر انتقال پیام شوری قرار دارد. این نتایج نشان می‌دهد که برخی از گیرنده‌های شبه‌کینازی، ممکن است در پاسخ‌های بواسطه سالیسیلیک‌اسید در گیاهان تحت تنش‌های غیرزیستی نقش داشته باشند.

**واژه‌های کلیدی:** *Hordeum vulgare*، پروتئین‌های غشائی، کینازهای پروتئینی، ترارسانی.

**Abstract**

Soil salinity is one of the major abiotic stresses that dramatically reducing crop productivity in the world. Recent studies indicate that the application of exogenous salicylic acid (SA) as a key molecule in the signal transduction pathway participates in the signaling of abiotic stresses. The role of salicylic acid in salinity signalling is, however, unclear. In the present study, two barley (*Hordeum vulgare* L.) varieties (Reyhan and Nosrat) contrasting in their salinity tolerance were used to assess the role of various SA concentrations on the expression of Receptor-like kinases *(RLKs)* genes. The results demonstrated that that salinity and salicylic have a significant effect on seedling traits of barley cultivars. Salinity stress and salicylic acid increased the expression of *Hv3ARK*, *IdiRLK2* genes in the cultivar Nosrat but in the other cultivar the relative expression of the genes were different. These results suggest the involvement of a number of *RLKs* in SA-mediated abiotic stress responses.

**Keywords:** *Hordeum vulgare*, membrane protein, protein kinase, signal transduction.

* نویسنده مسئول: رضا فتوت

E-mail: r_fotovat@znu.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID



## مقدمه

جمعیت کره زمین پیوسته در حال افزایش است و پیش‌بینی می‌شود که اگر رشد جمعیت با این سرعت ادامه یابد، در سال ۲۰۵۰ میلادی به ۹/۳ میلیارد نفر برسد (Gerland *et al.*, 2014). به علت افزایش جمعیت، امنیت غذایی در سطح جهان یکی از مسائل مهم در کلیه کشورهای جهان خواهد بود (Alexandratos and Bruinsma, 2012). تنش‌های زیستی و غیرزیستی مانند شوری از عوامل عمده محدودکننده در تولید پایدار محصولات کشاورزی به‌شمار می‌روند. بهبود ژنتیکی گیاهان برای مقاومت در برابر تنش‌های غیرزیستی یکی از راهکارهای مهم برای افزایش ثبات در تولید محصولات کشاورزی است (Flowers, 2004). غلات به‌طور مستقیم و غیرمستقیم در تغذیه انسان اهمیت دارند. از نظر میزان تولید جو بعد از گندم ذرت و برنج چهارمین غله مهم در دنیا به‌شمار می‌رود. اگرچه جو به‌عنوان گیاهی متحمل به شوری محسوب می‌شود و مقاومت نسبی آن به شوری سبب شده است که به‌عنوان یک گیاه مدل جهت بررسی مکانیسم‌های مقاومت به شوری در غلات به‌کار رود (Shelden *et al.*, 2013). ولی این تحمل نسبت به سایر غلات حساس سنجیده شده و مطالعات زیادی نشان داده است که عملکرد و تولید محصول در جو نیز تحت تنش شوری کاهش چشمگیری می‌یابد (Xue *et al.*, 2009).

اخیراً کاربرد ترکیبات تنظیم‌کننده رشد، جهت افزایش عملکرد گیاهان، تحت تنش‌های مختلف رواج یافته است. سالیسیلیک‌اسید یکی از محرک‌های زیستی است که به‌عنوان یک جزء پیام‌رسان کلیدی در فعال‌سازی پاسخ‌های اختصاصی در دفاع گیاهان در برابر تنش‌های محیطی شناخته می‌شود (Horváth *et al.*, 2007). نقش سالیسیلیک‌اسید در افزایش مقاومت گیاهان به تنش‌های غیر زیستی از جمله شوری به اثبات رسیده است (Jung *et al.*, 2007; Pirasteh-Anosheh *et al.*, 2015; Song *et al.*, 2011). اثر سالیسیلیک‌اسید بر افزایش مقاومت جو به تنش شوری نیز مورد بررسی قرار گرفته است و مشخص شد که پیش‌تیمار بذر با سالیسیلیک‌اسید در افزایش مقاومت جو به شوری مؤثر است (El-Tayeb, 2005).

پاسخ مولکولی گیاهان به تنش‌های غیرزیستی شامل تعامل و تداخل بین بسیاری از مسیرهای مولکولی است (Zhao *et al.*, 2013). گیاهان به دلیل فشارهای محیطی، به‌طور مداوم در حال پاسخگویی سریع و دقیق به تغییر شرایط زیست‌محیطی و توسعه‌ای می‌باشند. از این‌رو گیاهان، نیازمند به ترجمه پیام‌های خارج سلولی جهت پاسخ مناسب در محیط داخل سلولی می‌باشند. مسیرهای فسفوریلاسیون در گیاهان یک عامل کلیدی در پاسخ به تنش های محیطی می‌باشد (Marshall *et al.*, 2012). گیرنده‌های شبه‌کیناز سطح سلولی[1] (RLKs) در مسیر فسفوریلاسیون یکی از اجزای اصلی در دریافت پیام‌های خارج سلولی می‌باشند که در درک و احساس طیف گسترده‌ای از پیام‌ها و محرک‌های زیستی و غیر زیستی نقش دارند. این گیرنده‌ها با حضور یک توالی سیگنالی، یک دومین انتهای آمینه‌ای با یک منطقه درون غشایی و یک دومین کینازی انتهای کربوکسیلی تعریف می‌شوند (Walker, 1994). اولین گیرنده‌ی شبه‌کینازی در ذرت کشف شد (Walker *et al.*, 1990). بررسی‌های انجام شده در گیاهانی مثل آرابیدوپسیس و برنج منجر به شناسائی خانواده‌های ژنی با عضویت بیش از صدها گیرنده‌ی شبه‌کینازی شده است که در فعالیت‌های گوناگونی از قبیل رشد و نمو و پاسخ به تنش‌های گوناگون نقش حیاتی دارند (Shiu *et al.*, 2004). گیرنده‌های شبه‌کینازی از نظر نقش زیستی در گیاهان به دو گروه عمده تقسیم‌بندی می‌شوند.

1. Receptor like kinase

www.SID.ir

Archive of SID



اولین گروه در رشد و نمو نقش داشته و گروه دوم بیشتر در پاسخ به تنش‌های زیستی و غیر زیستی فعال هستند (Wu *et al.*, 2015). نقش این گیرنده‌ها در تنش فلزات سنگین در جو (Ouelhadj *et al.*, 2007)، سرما در سویا (Yang *et al.*, 2014)، خشکی در برنج (Ramegowda *et al.*, 2014) نشان داده شده است. اهمیت گیرنده‌های شبه‌کینازی در مقاومت به شوری در سویا (Sun *et al.*, 2013) و برنج (Li *et al.*, 2014) به اثبات رسیده است. بیان ژن *OsSIK1* در گیاهچه برنج در پاسخ به تنش‌های مختلف غیر زیستی از جمله شوری، خشکی، $H_2O_2$ و ABA القاء شده و ثابت شده که ژن *OsSIK1* در بهبود تحمل به تنش خشکی و شوری نقش دارد (Ouyang *et al.*, 2010). بررسی‌های چندی نیز در مورد نقش سالیسیلیک‌اسید در القای بیان ژن‌های گیرنده شبه‌کینازی انجام شده است که منجر به القای بیان ژن‌های گیرنده شبه‌کینازی در گیاه آرابیدوپسیس شده است (Du and Chen, 2000).

به‌طورکلی افزایش شوری در خاک باعث کاهش رشد و میزان محصول می‌گردد. شوری بر تمام فرایندهای اصلی مانند رشد، فتوسنتز، سنتز پروتئین، متابولیسم لیپید و انرژی مؤثر بوده، درنتیجه تمام مراحل زندگی گیاه از جوانه‌زنی تا تولید بیوماس و تولید دانه را تحت تأثیر قرار می‌دهد. گیاه جو در مراحل جوانه‌زنی و رشد اولیه حساسیت بیشتری به تنش شوری دارد (Agami, 2014; Ahmad *et al.*, 2006; Ahmadi-Ochtapeh *et al.*, 2015). نظر به اینکه در مورد نقش سالیسیلیک‌اسید در افزایش مقاومت به تنش‌های مختلف زیستی و غیرزیستی از جمله شوری مطالعات فراوانی صورت گرفته است با اینحال در مورد نحوه عمل آن و چگونگی تأثیر بر پاسخ گیاه به تنش شوری اطلاعات چندانی در دسترس نیست. با توجه به اهمیت گیرنده شبه‌کینازی در درک و احساس تنش‌های غیر زیستی و ترارسانی پیام‌های حاصل در گیاهان، در این پژوهش تأثیر نقش سالیسیلیک‌اسید به‌عنوان یک ملکول پیام‌رسان بر میزان بیان ژن‌های گیرنده شبه‌کینازی در گیاهچه جو تحت تنش شوری مورد بررسی قرار گرفت.

## مواد و روش‌ها

### کشت گیاه و اعمال تیمار خشکی

این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در آزمایشگاه ژنتیک دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان انجام شد. مقادیر سالیسیلیک‌اسید و انتخاب ارقام ریحان و نصرت جو بر اساس میزان مقاومت آنها به تنش شوری و از نتایج آزمایشات قبلی به‌دست آمد (منتشر نشده است). بذور دو ژنوتیپ بعد از پیش تیمار با سالیسیلیک‌اسید (بدون پیش تیمار، ۶۰۰ میکرومولار) داخل پتری‌دیش بین دو کاغذ صافی استریل کشت گردید و بعد از جوانه‌زنی به گلدان‌های حاوی پرلیت انتقال یافت. تنش شوری در مرحله گیاهچه‌ای (شاهد، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار NaCl) که بر اساس توصیه Rahnama *et al.* (2011) اعمال گردید. در پایان مرحله رشد گیاهچه‌ای (۱۰ روز پس از کشت) دو سری نمونه‌برداری صورت گرفت، سری اول طول و وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه اندازه‌گیری شد و سری دوم با ازت مایع فریز و در ۸۰- درجه سانتی-گراد نگهداری گردید. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS آنالیز و مقایسه میانگین بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد صورت گرفت. نمودارها نیز با نرم‌افزار Excel 2010 رسم گردید.

### استخراج RNA

از نمونه‌های منجمد شده گیاهچه‌های جو برای استخراج RNA با استفاده از بافر استخراج RNAX-Plus ساخت شرکت سیناکلون استفاده شد. کمیت و

www.SID.ir

Archive of SID



کیفیت RNA استخراج شده براساس جذب نوری با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر ارزیابی گردید. باندهای مربوطه در ژل الکتروفورز نیز مورد بررسی قرار گرفت. پس از همسان‌سازی غلظت نمونه‌های مختلف RNA، cDNA با استفاده از کیت 2-step RT-PCR Kit (شرکت GeneAll) ساخته شد.

**بررسی بیان ژن**

توالی نوکلئوتیدی ژن‌های مورد نظر (*IdiRLK2* و *Hv3ARK*) و ژن Actin به‌عنوان کنترل از پایگاه داده نوکلئوتید مربوط به NCBI تهیه شد. آغازگرهای اختصاصی با استفاده از نرم‌افزار Primer premier (ver 5) طراحی شدند (جدول ۱). الگوی بیان ژن‌ها با روش Real-time PCR (Rotor Gene Q) با استفاده از کیت AccuPower® 2X GreenStarTM qPCR Master Mix مورد بررسی قرار گرفت.

جدول ۱. مشخصات آغازگرهای ژن‌های مرجع و هدف

| آغازگر | شماره دسترسی | | توالی آغازگر | TM (°C) | GC % |
|---|---|---|---|---|---|
| *IdiRLK2* | AB910927.1 | پیش‌رو | 5'- GGCAAACACGAGCAAAGCATA-3' | ۶۳/۹ | ۴۷/۶ |
| | | پس‌رو | 5'- GGATGCACCATAGTCCAACGA-3' | ۶۴ | ۵۲/۴ |
| *Hv3ARK* | AF100771.1 | پیش‌رو | 5'- GCCATCAAAATGTTGGTCAGC-3' | ۵۸/۳ | ۴۷/۶ |
| | | پس‌رو | 5'- CGTGGGGCATGTACTCGTAG -3' | ۶۲ | ۶۰ |
| *GHPDH* | AK359500.1 | پیش‌رو | 5'-GTTGGCAAGGTGCTCCCAGA-3' | ۶۲/۵ | ۶۰ |
| | | پس‌رو | 5'-GCTCATAGGTGGCTGGCTTG-3 | ۶۲/۵ | ۶۰ |
| *Actin* | AY145451.1 | پیش‌رو | 5'-TCCATCCTAGCCTCACTCAG -3 | ۵۷/۹۲ | ۵۵ |
| | | پس‌رو | 5'-AGATGATAACAGCAGTGGAGC-3 | ۵۷/۸۱ | ۴۷/۶ |

میزان بیان ژن‌ها با روش ΔΔCT محاسبه و میزان تغییرات بیان ژن تحت تنش شوری و پرایم سالیسیلیک‌اسید در هر رقم (نصرت و ریحان) نسبت به شاهد خود (بدون تنش و بدون پیش تیمار سالیسیلیک‌اسید) سنجیده شد.

## نتایج و بحث

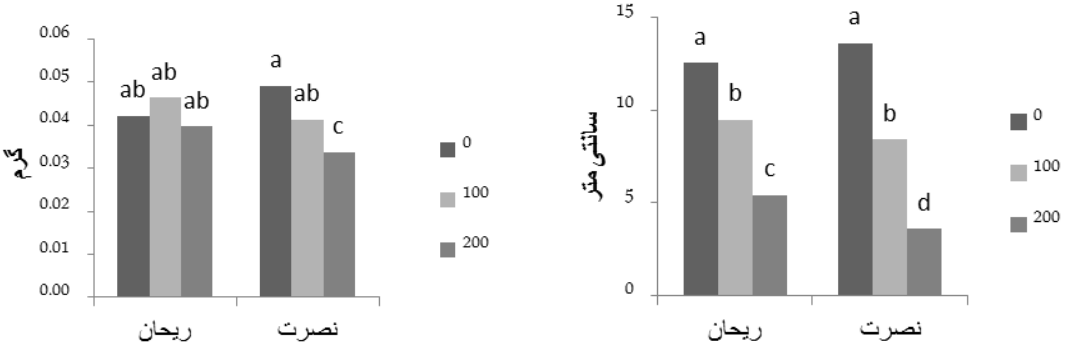
با افزایش سطح شوری میانگین طول و وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه در گیاهچه‌های جو کاهش یافت که این کاهش در رقم نصرت بیشتر از ریحان بود (شکل۱). این نتایج مشابه مطالعات قبلی است که نشان داده است که سطوح بالای شوری موجب کاهش پارامترهای رشدی مانند وزن تر و خشک و طول ریشه‌چه و ساقه‌چه درجو شده است (Shelden *et al.*, 2013). در گندم نیز افزایش ۱۵۰میکرومولار نمک به محیط کشت موجب کاهش چشمگیر صفات ریشه‌ای شده و تفاوت مقاومت به شوری را در بین ارقام نشان داده است (Rahnama *et al.*, 2011). پاسخ گیاهان در مقابل تنش شوری در دو فاز اسمزی و یونی صورت می‌گیرد (Munns and Gilliham, 2015; Setter *et al.*, 2016; Shabala and Munns, 2012). کاهش سریعی که در اثر شوری در جوانه گیاهان دیده می‌شود بیشتر در اثر تنش اسمزی ناشی از شوری است و کمتر تحت تأثیر تنش مسمومیت تجمع یون‌های سدیم می‌باشد. مطالعات زیادی نشان داده است که از لحاظ این دو مرحله بین ژنوتیپ‌های غلات اختلافات معنی‌داری وجود دارد. علاوه بر این نتایج بررسی‌های قبلی نشان داده است که غلظت‌های بالای یون سدیم در ژنوتیپ‌های حساس جو موجب کاهش جذب یون‌های کلسیم و

www.SID.ir

Archive of SID

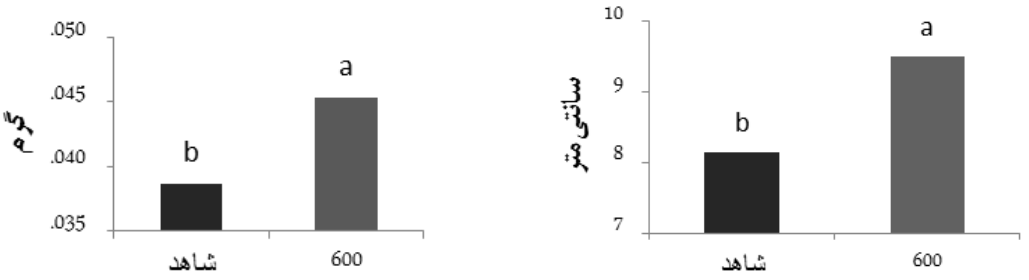


پتاسیم می‌شود و با اختلال در تعادل یونی گیاه موجب کاهش فعالیت متابولیسمی می‌گردد و در نتیجه رشد گیاه کاهش می‌یابد (Munns and Tester, 2008). مکانیسم‌های ممانعت از جذب یون‌های $Na^+$ بین ژنوتیپ‌های جو متفاوت است (Tavakkoli *et al.*, 2011). بنابراین اختلاف در میزان رشد دو رقم حساس و مقاوم را می‌توان به هر دو عامل تنش اسمزی ناشی از شوری و برهم خوردن تعادل یونی گیاه ناشی از تجمع یون‌های سدیم نسبت داد؛ اگرچه برای اثبات این مطلب اندازه گیری یون سدیم نیز بایستی صورت گیرد. پیش‌تیمار با سالیسیلیک‌اسید در سطح ۶۰۰ میکرومولار در لیتر بر افزایش میانگین طول ساقه‌چه و وزن خشک ساقه‌چه تأثیر معنی‌داری داشت (شکل ۲). نتایج مشابهی در سایر گیاهان به‌دست آمده است. به‌عنوان مثال پیش تیمار بذرهای گندم با سالیسیلیک‌اسید منجر به افزایش وزن خشک و طول ریشه و بخش هوایی گردید. تیمار بذرهای گندم با سالیسیلیک‌اسید موجب افزایش طول ریشه‌چه و ساقه‌چه در شرایط طبیعی گردید. کاربرد سالیسیلیک‌اسید باعث افزایش طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه، وزن خشک ریشه‌چه و وزن خشک ساقه‌چه در ذرت و سویا گردید (Khan *et al.*, 2015).




(الف) (ب)

شکل ۱. اثر متقابل سه سطح شوری (۰، ۱۰۰و ۲۰۰ میکرومولار کلرور سدیم) و دو رقم جو در صفات (الف) طول ساقه‌چه (ب) وزن خشک ساقه‌چه




SAL(µM) SAL(µM)

(الف) (ب)

شکل ۲. اثر پیش‌تیمار با سالیسیلیک‌اسید (SAL) در دو سطح صفر و ۶۰۰ میکرومولار در لیتر بر (الف) میانگین طول ساقه‌چه و (ب) وزن خشک ساقه‌چه

www.SID.ir

Archive of SID



سالیسیلیک‌اسید بر کاهش نشت الکترولیت‌ها و نیز افزایش میزان آنتی‌اکسیدان‌ها در جوانه‌های جو تأثیر دارد (El-Tayeb, 2005). تأثیر سالیسیلیک‌اسید بر رشد می‌تواند مربوط به شاخص پایداری غشا، مقدار کلروفیل، کاروتنوئید و رشد به دلیل افزایش بیوماس کل و فضای برگی باشد (Agarwal *et al.*, 2005). سالیسیلیک‌اسید در تنش‌های غیرزیستی مانند شوری و خشکی با حفاظت از ساختارهای سلولی و افزایش میزان آنتی‌اکسیدان‌ها موجب افزایش مقاومت می‌شود (Nimir *et al.*, 2015; Rahmani *et al.*, 2015; Singh *et al.*, 2015; Tari *et al.*, 2015). با توجه به مشاهدات Shakirova *et al.* (2003)، تیمار گیاهچه‌های گندم با محلول ۰/۰۵ میلی‌مولار سالیسیلیک‌اسید در شرایط تنش شوری موجب افزایش رشد در ریشه شد و میزان هورمون‌های آبسزیک‌اسید و ایندول‌استیک اسید نیز در گیاهچه‌ها افزایش یافت.

**تأثیر تنش شوری و تیمار سالیسیلیک بر بیان نسبی ژن‌های گیرنده شبه‌کینازی**

به‌طور کلی، با اعمال پیش‌تیمار بذور با سالیسیلیک‌اسید اثر تنش شوری در بیان نسبی ژن *IdiRLK2* در ریشه گیاهچه‌های جو رقم نصرت با ریحان متفاوت بود. میزان بیان نسبی این ژن در رقم نصرت در هر دو حالت پیش‌تیمار و بدون پیش‌تیمار بذر با سالیسیلیک در تنش ۱۰۰ میلی مولار نمک بیشترین بود؛ اگرچه پیش‌تیمار بذر این رقم با ۶۰۰ میکرومولار سالیسیلیک‌اسید در تنش ۱۰۰میلی‌مولار نمک بیان نسبی ژن *IdiRLK2* را بنحو چشمگیری افزایش داد (شکل ۳). بیشترین بیان ژن *IdiRLK2* در رقم ریحان در حالت تنش شوری ۲۰۰ میلی‌مولار و بدون پیش تیمار با سالیسیلیک‌اسید دیده شد و سالیسیلیک‌اسید در ریحان نقش کمتری نسبت به رقم نصرت داشت. می‌توان گفت که پیش‌تیمار بذور رقم حساس نصرت با سالیسیلیک‌اسید در بیان ژن *IdiRLK2* تأثیر بیشتری در تنش شوری ملایم داشته است. مقدار بیان نسبی ژن *Hv3ARK* کاملاً متفاوت بود درحالیکه تیمار شوری در هر دو سطح ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار در رقم نصرت سبب افزایش چشمگیر بیان این ژن شد، پیش تیمار با سالیسیلیک‌اسید به‌طور کلی باعث کاهش بیان شده و این کاهش در رقم ریحان بسیار مشخص بود (شکل۴). از آنجایی‌که سالیسیلیک‌اسید به‌طور طبیعی نیز در گیاه ساخته می‌شود، بنابراین تفاوت در واکنش ارقام به تیمار مصنوعی با سالسیلیک‌اسید که به کاربرد بیرونی سالسیلیک‌اسید[1] نیز معروف است ممکن است در اثر تفاوت در میزان تولید طبیعی این ماده در ژنوتیپ‌های جو باشد (Sahu, 2013). گیرنده شبه‌کینازی که در سطح سلول قرار گرفته‌اند یک کاندید ایده‌آل برای احساس تنش و آغاز مسیرهای پیام‌رسانی در سلول هستند (Osakabe *et al.*, 2013). نقش این گیرنده‌ها در پاسخ به تنش های غیر زیستی مانند خشکی (Ramegowda *et al.*, 2014)، سرما (Yang *et al.*, 2014) و فلزات سنگین به اثبات رسیده است (Yang *et al.*, 2010). گیرنده‌های شبه‌کینازی در احساس و انتقال پیام‌های ترارسانی تنش شوری نیز نقش عمده‌ای برعهده دارند (Anwar *et al.*, 2011; Shakirova *et al.*, 2003; Tari *et al.*, 2002; Vaid *et al.*, 2015; Zhao *et al.*, 2013). افزایش بیان ژن گیرنده شبه‌کینازی *GsLRPK* موجب تأثیر در ترارسانی پیام‌های تنش در گیاهان شده و سبب القای ژن‌های درگیر در تنش می‌گردد (Yang *et al.*, 2014).

استفاده از لاین‌های جهش یافته برای ژن گیرنده شبه‌کینازی سیتوپلاسمی در برنج (*RLCK*) نیز نشان داده است که پروتئین حاصله (GUDK) نقش بسیار مهمی در عملکرد دانه تحت تنش خشکی دارد.

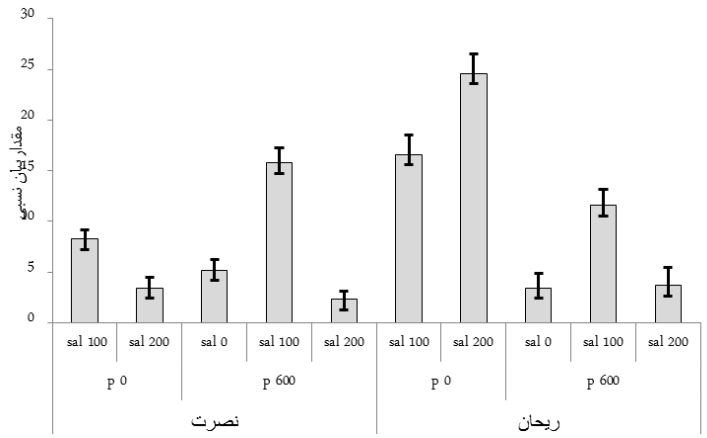
1. Exogenous Salicylic Acid Application

www.SID.ir

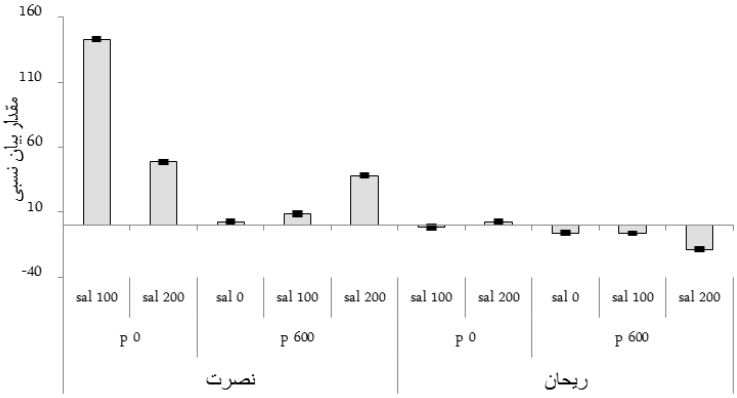
Archive of SID



برنج‌های جهش یافته در مرحله گیاهچه‌ای به تنش‌های شوری، اسمزی، تیمار با آبسیزیک‌اسید نیز حساس بوده و کاهش زیادی در میزان فتوسنتز نشان دادند (Ramegowda *et al.*, 2014). در آزمایشی مشابه که در یونجه یکساله ترانکاتولا صورت گرفت بیان ژن گیرنده‌ی شبه‌کینازی (*Srlk*) در ریشه تحت تنش شوری افزایش یافته و رشد ریشه گیاهان تراریخته با تکنیک RNAi در محیط شور کاهش شدیدی یافت. محققان در این آزمایش نشان دادند که بیان چهار ژن مهم در مقاومت به شوری در ریشه یونجه تراریخت کاهش یافته است. این نتایج نشان می‌دهد که ژن‌های گیرنده شبه‌کینازی تحت تنش شوری القا شده و از طریق القای مسیرهای ترارسانی و نیز تأثیر بر بیان ژن‌های درگیر در مقاومت به تنش‌های زیستی مقاومت گیاهان را در برابر تنش‌های غیرزیستی افزایش می‌دهند. فسفوریلاسیون و دفسفوریلاسیون پروتئین‌ها نقش مهمی در ترارسانی و پاسخ گیاهان به تنش‌های محیطی دارد. اولین مرحله در ترارسانی، پذیرش و دریافت یک پیام فیزیکی یا شیمیائی مثل تغییر در دما، نور و یا پتانسیل اسمزی است که گیرنده‌های شبه‌کینازی نقش مهمی در آن دارند (Horváth *et al.*, 2007).




شکل ۳. اثر مقادیر مختلف پیش‌تیمار بذور با غلظت‌های مختلف سالیسیلیک‌اسید (P: صفر ۶۰۰ میکرومولار) و مقادیر نمک (sal: صفر، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار NaCl) بر مقدار بیان نسبی ژن گیرنده شبه‌کینازی *IdiRLK2* در ریشه‌چه دو رقم جو ریحان و نصرت.




شکل ۴. اثر مقادیر مختلف پیش‌تیمار بذور با غلظت‌های مختلف سالیسیلیک‌اسید (P: صفر و ۶۰۰ میکرومولار) و مقادیر نمک (sal: صفر، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار NaCl) بر مقدار بیان نسبی ژن گیرنده شبه‌کینازی *Hv3ARK* در ریشه‌چه دو رقم جو ریحان و نصرت.

www.SID.ir

Archive of SID



مطالعات قبلی نشان داده است که سالیسیلیک‌اسید بعد از فرآیند چوبی شدن، در القای بیان ژن‌های گیرنده کینازی گیاه هلو نقش دارد (Bassett *et al.*, 2005). افزایش بیان ژن‌های رمز کننده گیرنده‌های شبه‌کینازی توسط سالیسیلیک‌اسید در آرابیدوپسیس نیز گزارش شده است (Ohtake *et al.*, 2000). بنابراین افزایش بیان پروتئین‌کینازهای القاء شده توسط سالیسیلیک‌اسید می‌توانند نقش کلیدی در ترارسانی تحت تنش داشته باشند (Horváth *et al.*, 2007; Jonak *et al.*, 2002). نقش تنظیمی زیرخانواده لکتینی گیرنده‌های شبه‌کینازی (LecRLK) به‌عنوان گیرنده پیام هورمون آبسزیک اسید در آرابیدوپسیس به اثبات رسیده است (Vaid *et al.*, 2013). بنابراین احتمال این وجود دارد که گیرنده‌های شبه‌کینازی در مقابل سالیسیلیک‌اسید نیز رفتار مشابهی نشان دهند و عنوان گیرنده این ملکول مهم در ترارسانی تحت تنش در سلول عمل کنند. از طرف دیگر بر اساس مشاهدات Du and Chen (2000) مشخص شده است که ارتباط بین سالیسیلیک‌اسید و بیان ژن‌های گیرنده‌های شبه‌کینازی به‌خاطر وجود عناصر W-box در نواحی راه‌انداز ژن‌های گیرنده‌های شبه‌کینازی است که به عوامل رونویسی WRKY القاشده توسط سالیسیلیک‌اسید پاسخ می‌دهند. بر اساس این فرضیه سالیسیلیک‌اسید از طریق تحریک عوامل رونویسی WRKY نیز می‌تواند موجب القای بیان ژن‌های گیرنده‌های شبه‌کینازی شود (Kim *et al.*, 2009).

بررسی واکنش‌های فیزیولوژیکی و روابط آن‌ها با مکانیسم‌های داخلی گیاه در مقابله با تنش می‌تواند منجر به شناخت مسیرهای ترارسانی شود. بدین‌وسیله می‌توان ژن‌های درگیر در این مسیرهای ترارسانی را شناسایی کرد و با تنظیم بیان آن‌ها به تحمل گیاه در مقابله با تنش کمک کرد. با توجه به نتایج به دست آمده در این پژوهش ارقام متحمل و حساس به تنش شوری و نیز پیش‌تیمار سالیسیلیک‌اسید پاسخ بیانی متفاوتی را نشان دادند. با توجه به بررسی‌های به‌عمل آمده تاکنون در مورد نقش سالیسیلیک‌اسید در تغییر بیان ژن‌های گیرنده شبه‌کینازی در غلات گزارشی منتشر نشده است. گستردگی گیرنده‌های درگیر مسیرهای ترارسانی در دریافت محرک‌های تنش‌های غیر زیستی و تأثیر ملکول‌هائی مانند سالیسیلیک‌اسید اهمیت مطالعات مربوطه را نشان می‌دهد. بر اساس نتایج به‌دست آمده در این تحقیق القای گیرنده‌های شبه‌کینازی توسط سالیسیلیک‌اسید را می‌توان به عنوان یکی مسیرهای کاندید پاسخ جو به شوری درنظر گرفت گرچه برای اثبات آن نیز به مطالعات بیشتری می‌باشد.

## REFERENCES


Agami RA (2014) Applications of ascorbic acid or proline increase resistance to salt stress in barley seedlings. Biol. Plant. 58(2): 341-347.

Agarwal S, Sairam RK, Srivastava GC, Meena RC (2005) Changes in antioxidant enzymes activity and oxidative stress by abscisic acid and salicylic acid in wheat genotypes. Biol. Plant. 49(4): 541-550.

Ahmad MSA, Ali Q, Bashir R, Javed F, Alvi AK (2006) Time course changes in ionic composition and total soluble carbohydrates in two barley cultivars at seedling stage under salt stress. Pak. J. Bot. 38(5): 1457-1466.

Ahmadi-Ochtapeh H, Soltanloo H, Ramezanpour SS, Naghavi MR, Nikkhah HR, Rad SY (2015) QTL mapping for salt tolerance in barley at seedling growth stage. Biol. Plant. 59(2): 283-229.

Alexandratos N, Bruinsma J. (2012). World agriculture towards 2030/2050: the 2012 revision. ESA Working paper Rome, FAO.


www.SID.ir

Archive of SID



Anwar S, Shafi M, Bakht J, Jan MT, Hayat Y (2011) Effect of salinity and seed priming on growth and biochemical parameters of different barely genotypes. Afr. J. Biotechnol. 10(68): 15278-15286.

Bassett CL, Nickerson ML, Farrell RE, Artlip TS, El Ghaouth A, Wilson CL, Wisniewski ME (2005) Characterization of an S-locus receptor protein kinase-like gene from peach. Tree Physiol. 25(4): 403-11.

Du L, Chen Z (2000) Identification of genes encoding receptor-like protein kinases as possible targets of pathogen-and salicylic acid-induced WRKY DNA-binding proteins in Arabidopsis. Plant J.24(6): 837-847.

El-Tayeb MA (2005) Response of barley grains to the interactive effect of salinity and salicylic acid. J. Plant Growth Regul. 45(3): 215-224.

Flowers TJ (2004) Improving crop salt tolerance. J. Exp. Bot. 55(396): 307-319.

Gerland P, Raftery AE, Ševčíková H, Li N, Gu D ,Spoorenberg T, Alkema L, Fosdick BK, Chunn J, Lalic N and others (2014) World population stabilization unlikely this century. Science 346(6206): 234-237.

Horváth E, Szalai G, Janda T (2007) Induction of Abiotic Stress Tolerance by Salicylic Acid Signaling. J. Plant Growth Regul. 26(3): 290-300.

Jonak C, Ökrész L, Bögre L, Hirt H (2002) Complexity, Cross Talk and Integration of Plant MAP Kinase Signalling. Curr. Opin. Plant Biol. 5(5): 415-424.

Jung J, Won SY, Suh SC, Kim H, Wing R, Jeong Y, Hwang I, Kim M (2007) The barley ERF-type transcription factor HvRAF confers enhanced pathogen resistance and salt tolerance in Arabidopsis. Planta 225(3): 575-588.

Khan MIR, Fatma M, Per TS, Anjum NA, Khan NA (2015) Salicylic acid-induced abiotic stress tolerance and underlying mechanisms in plants. Front. Plant Sci. 6(462).

Kim HS, Jung MS, Lee SM, Kim KE, Byun H, Choi MS, Park HC, Cho MJ, Chung WS (2009) An S-locus receptor-like kinase plays a role as a negative regulator in plant defense responses. Biochem. Biophys. Res. Commun. 381(3): 424-428.

Li C-H, Wang G, Zhao J-L, Zhang L-Q, Ai L-F, Han Y-F, Sun D-Y, Zhang S-W, Sun Y (2014) The receptor-like kinase SIT1 mediates salt sensitivity by activating MAPK3/6 and regulating ethylene homeostasis in rice. Plant Cell 26(6): 2538-2553.

Marshall A, Aalen RB, Audenaert D, Beeckman T, Broadley MR, Butenko MA, Cano-Delgado AI, de Vries S, Dresselhaus T, Felix G and others (2012) Tackling Drought Stress: Receptor-Like Kinases Present New Approaches. Plant Cell 24(6): 2262-2278.

Munns R, Gilliham M (2015) Salinity tolerance of crops - what is the cost? New Phytol. 208(3): 668-673.

Munns R, Tester M (2008) Mechanisms of salinity tolerance. Annu. Rev. Plant Biol. 59: 651-681.

Nimir NEA, Lu SY, Zhou GS, Guo WS, Ma BL, Wang YH (2015) Comparative effects of gibberellic acid, kinetin and salicylic acid on emergence, seedling growth and the antioxidant defence system of sweet sorghum (*Sorghum bicolor*) under salinity and temperature stresses. Crop Pasture Sci. 66(2): 145-157.

Ohtake Y, Takahashi T, Komeda Y (2000) Salicylic acid induces the expression of a number of receptor-like kinase genes in Arabidopsis thaliana. Plant Cell Physiol. 41(9): 1038-1044.

Osakabe Y, Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K, Tran L-SP (2013) Sensing the environment: key roles of

www.SID.ir

Archive of SID



membrane-localized kinases in plant perception and response to abiotic stress. J. Exp. Bot. 64(2): 445-458.

Ouelhadj A, Kaminski M, Mittag M, Humbeck K (2007) Receptor-like protein kinase HvLysMR1 of barley (*Hordeum vulgare* L.) is induced during leaf senescence and heavy metal stress. J. Exp. Bot. 58(6): 1381-1396.

Ouyang SQ, Liu YF, Liu P, Lei G, He SJ, Ma B, Zhang WK, Zhang JS, Chen SY (2010) Receptor-like kinase OsSIK1 improves drought and salt stress tolerance in rice (*Oryza sativa*) plants. Plant J. 62(2): 316-329.

Pirasteh-Anosheh H, Emam Y, Sepaskhah AR (2015) Improving barley performance by proper foliar applied salicylic-acid under saline conditions. INT. J. Plant Prod. 9(3): 467-486.

Rahmani I, Ahmadi N, Ghanati F, Sadeghi M (2015) Effects of salicylic acid applied pre- or post-transport on post-harvest characteristics and antioxidant enzyme activity of gladiolus cut flower spikes. N. Z. J. Crop Hortic. Sci. 43(4): 294-305.

Rahnama A, Munns R, Poustini K, Watt M (2011) A screening method to identify genetic variation in root growth response to a salinity gradient. J. Exp. Bot. 62(1): 69-77.

Ramegowda V, Basu S, Krishnan A, Pereira A (2014) The rice receptor-like cytoplasmic kinase GUDK is required for drought tolerance, and grain yield under normal and drought stress conditions. Plant Physiol. 114. 248203.

Sahu GK (2013) Salicylic Acid: Role in Plant Physiology and Stress Tolerance. In: Rout GR, Das AB (ed) Molecular Stress Physiology of Plants. India: Springer India. p 217-239.

Setter TL, Waters I, Stefanova K, Munns R, Barrett-Lennard EG (2016) Salt tolerance, date of flowering and rain affect the productivity of wheat and barley on rainfed saline land. Field Crops Res. 194: 31-42.

Shabala S, Munns R (2012) Salinity stress: physiological constraints and adaptive mechanisms. Plant Stress Physiology CAB International, Oxford: 59-93.

Shakirova FM, Sakhabutdinova AR, Bezrukova MV, Fatkhutdinova RA, Fatkhutdinova DR (2003) Changes in the hormonal status of wheat seedlings induced by salicylic acid and salinity. Plant Sci. 64(3): 317-322.

Shelden MC, Roessner U, Sharp RE, Tester M, Bacic A (2013) Genetic variation in the root growth response of barley genotypes to salinity stress. Funct. Plant Biol. 40(5): 516-530.

Shiu S-H, Karlowski WM, Pan R, Tzeng Y-H, Mayer KF, Li W-H (2004) Comparative analysis of the receptor-like kinase family in Arabidopsis and rice. Plant Cell 16(5): 1220-1234.

Singh R, Hemantaranjan A, Patel PK (2015) Salicylic acid improves salinity tolerance in field pea (*Pisum sativum* L.) by intensifying antioxidant defense system and preventing salt-induced nitrate reductase (NR) activity loss. Legume Res. 38(2): 202-208.

Song H, Xu X, Wang H, Tao Y (2011) Protein Carbonylation in Barley Seedling Roots Caused by Aluminum and Proton Toxicity Is Suppressed by Salicylic Acid. Russ. J. Plant Physiol. 58(4): 653-659.

Sun XL ,Yu QY, Tang LL, Ji W, Bai X, Cai H, Liu XF, Ding XD, Zhu YM (2013) GsSRK, a G-type lectin S-receptor-like serine/threonine protein kinase, is a positive regulator of plant tolerance to salt stress. J. Plant Physiol. 170(5): 505-515.

Tari I, Csiszár J, Horváth E, Poór P, Takács Z, Szepesi Á. (2015) The Alleviation of the Adverse Effects of Salt Stress in the Tomato Plant by Salicylic Acid Shows A Time and

www.SID.ir

Archive of SID



Organ Specific Antioxidant Response. Acta Biol. Cracov. Ser. Bot. (1):21-30.

Tari I, Csiszár J, Szalai G, Horváth F, Pécsváradi A, Kiss G, Szepesi A, Szabó M, Erdei L (2002) Acclimation of tomato plants to salinity stress after a salicylic acid pre-treatment. Acta biol. Szeged. 46(3-4): 55-56.

Tavakkoli E, Fatehi F, Coventry S, Rengasamy P, McDonald GK (2011) Additive effects of Na+ and Cl- ions on barley growth under salinity stress. J. Exp. Bot. 62(6): 2189-2203.

Vaid N, Macovei A, Tuteja N (2013) Knights in action: lectin receptor-like kinases in plant development and stress responses. Mol. Plant 6(5):1405-1418.

Vaid N, Pandey P, Srivastava VK, Tuteja N (2015) Pea lectin receptor-like kinase functions in salinity adaptation without yield penalty, by alleviating osmotic and ionic stresses and upregulating stress-responsive genes. Plant Mol. Biol. 88(1-2): 193-206.

Walker JC, Zhang, R. (1990). Relationship of a putative receptor protein kinase from maize to the S-locus glycoproteins of Brassica. Nature. 345: 743-746.

Walker JC (1994) Structure and function of the receptor-like protein kinases of higher plants. Plant Mol. Biol. 26(5): 1599-1609.

Wu F, Sheng P, Tan J, Chen X, Lu G, Ma W, Heng Y, Lin Q, Zhu S, Wang J and others (2015) Plasma membrane receptor-like kinase leaf panicle 2 acts downstream of the Drought and salt tolerance transcription factor to regulate drought sensitivity in rice. J. Exp. Bot. 66(1): 271-281.

Xue D, Huang Y, Zhang X, Wei K, Westcott S, Li C, Chen M, Zhang G, Lance R (2009) Identification of QTLs associated with salinity tolerance at late growth stage in barley. Euphytica 169(2): 187-196.

Yang L, Wu KC, Gao P, Liu XJ, Li GP, Wu ZJ (2014) GsLRPK, a novel cold-activated leucine-rich repeat receptor-like protein kinase from Glycine soja, is a positive regulator to cold stress tolerance. Plant Sci. 215: 19-28.

Yang TB, Chaudhuri S, Yang LH, Du LQ, Poovaiah BW (2010) A Calcium/ Calmodulin-regulated Member of the Receptor-like Kinase Family Confers Cold Tolerance in Plants. J. Biol. Chem. 285(10): 7119-7126.

Zhao J, Gao Y, Zhang Z, Chen T, Guo W, Zhang T (2013) A receptor-like kinase gene (*GbRLK*) from *Gossypium barbadense* enhances salinity and drought-stress tolerance in Arabidopsis. BMC Plant Biol. 13(1): 110.

www.SID.ir