

بررسی بیان ژن‌های قابل القاء توسط تنش شوری طولانی مدت در دو

رقم حساس و متحمل گندم

مسعود گماریان^۱، محمدعلی ملبوبی^۲، فرخ درویش^۳، سیدابوالقاسم محمدی^۴، خدیجه رضوی^۵، مهدی رهایی^۶، هوشنگ علیزاده^۷

- ۱- دانشجوی دوره دکتری اصلاح نباتات دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران
- ۲- دانشیار، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و فناوری زیستی، پژوهشکده بیوتکنولوژی گیاهی
- ۳- استاد دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران
- ۴- دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز
- ۵- استادیار، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و فناوری زیستی، پژوهشکده بیوتکنولوژی گیاهی
- ۶- دانشجوی دوره دکتری اصلاح نباتات گرایش ژنتیک مولکولی و مهندسی ژنتیک دانشگاه تهران
- ۷- استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

*نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: Malboobi@nigeb.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۸۸/۲/۵ - تاریخ پذیرش: ۸۸/۶/۱۴)

چکیده

در این تحقیق بیان ۶۱ ژن منتخب القاء شونده با تنش شوری در دو رقم گندم متحمل و حساس به ترتیب به نام‌های ماهوتی و چینی بهاره تحت شرایط تنش شوری صفر و ۲۵۰ میلی مولار با استفاده از روش نورترن بلات معکوس مورد بررسی و مقایسه قرار گرفت. پس از لکه‌گذاری قطعات DNA مربوط به هر ژن، دورگ سازی cDNA نشاندار تهیه شده از گیاهان در شرایط بدون تنش و تنش شوری انجام گرفت و میزان تیرگی لکه‌ها بعنوان شاخصی از بیان ژن‌ها مورد بررسی قرار گرفت. از ۶۱ ژن منتخب مطالعه شده ۲۱ ژن منتخب (۳۴ درصد) در رقم ماهوتی و ۴ ژن (۶ درصد) در رقم چینی بهاره در شرایط تنش نسبت به شرایط بدون تنش شوری دارای افزایش بیان معنی‌دار بودند. تحت شرایط تنش ۵۲ درصد و تحت شرایط بدون تنش ۲۷ درصد از ژن‌های مطالعه شده در این آزمایش در رقم ماهوتی نسبت به رقم چینی بهاره در همین شرایط دارای بیان بالاتر معنی‌دار بودند. تحت شرایط تنش شوری نسبت به شرایط بدون تنش شوری بیشترین نسبت افزایش بیان (۱۷/۵ برابر) در ژن منتخب TVP در رقم ماهوتی مشاهده گردید. بیان ژن منتخب HKT1 در رقم ماهوتی با اعمال تنش افزایش بیان و در رقم چینی بهاره دارای بیشترین کاهش بیان بود. این نتایج نشان می‌دهد تحمل به شوری در رقم ماهوتی می‌تواند با الگوی متفاوتی از بیان ژن‌ها مرتبط باشد.

واژه‌های کلیدی

گندم،
شوری،
بیان ژن،
نورترن بلات معکوس

مقدمه

شوری خاک یکی از مهمترین عوامل محیطی محدود کننده تولیدات کشاورزی در بسیاری از مناطق جهان می باشد زیرا اغلب گونه های گیاهان زراعی جزء گیاهان گلکوفیت و در نتیجه حساس به شوری می باشند (۴۵). گندم گیاهی گلکوفیت است و به عنوان یک محصول استراتژیک سهم عمده ای از تولیدات کشاورزی کشور را به خود اختصاص می دهد و این در حالی است که بخشی از این محصول در اراضی شور کشت می شود. طبق گزارش سیمیت ۸ الی ۱۰ درصد از مناطق تحت کشت گندم در کشورهای ایران، هند، پاکستان، لیبی و مکزیک تحت تاثیر شوری می باشند (۱۰).

پاسخ گیاهان به تنش های غیر زنده همانند شوری یکی از موضوعات مهم در مطالعات فیزیولوژی بوده است و هم اکنون این مطالعات در سطح ژنتیک معکوس و مولکولی تمرکز بیشتری پیدا کرده است (۴۸، ۱۵). شناسایی ژن های جدید و تعیین الگوی بیان آنها در پاسخ به انواع تنش ها موجب خواهد شد تا درک بهتری از عملکرد آنها در سازگار نمودن گیاهان به انواع تنش ها حاصل گردد و راهکارهای موثری در اصلاح گیاهان جهت بهبود تحمل به تنش ایجاد گردد (۱۱).

جهت بررسی الگوی بیان ژن ها در سطح mRNA روش های مختلفی وجود دارد که به طور کلی می توان آنها را به دو دسته روش های مبتنی بر PCR همانند Real-time PCR و تکنیک های مبتنی بر دورگ سازی همانند نورتن بلات، درشت آرایه و ریز آرایه تقسیم بندی نمود (۲۶). اخیرا مطالعه الگوی رونوشت برداری و بیان ژن ها با استفاده از روش ریز آرایه غالب ترین روش در ژنومیک عملکردی شده است. با این وجود، از روش درشت آرایه نیز به عنوان یک ابزار قدرتمند در بررسی الگوی بیان ژن ها استفاده می شود (۱۸، ۲۰).

در سال های اخیر با در اختیار داشتن روش های فوق، توجه برخی از محققین به مقایسه الگوی بیان ژن ها در گیاهان متحمل و حساس به تنش های محیطی و یا بین شرایط محیطی مختلف جلب شده است. کاواساکی و همکاران (۲۰۰۱) الگوی بیان ۱۷۲۸ ژن را در پاسخ به تنش شوری در گیاه برنج با روش ریز آرایه

مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان دهنده آن بود که رقم متحمل نسبت به رقم حساس به سرعت به تنش شوری واکنش نشان می دهد و بیان ژن ها دستخوش تغییر می گردد، در حالی که در رقم حساس این پاسخ با فاصله زمانی بیشتری اتفاق می افتد. آنها همچنین نشان دادند در رقم متحمل خیلی زود الگوی کلی بیان ژن ها به حالت مشابه حالت بدون تنش برمی گردد به طوری که در مدت طولانی تنش را به خوبی تحمل می کنند. اوزتورک و همکاران (۲۰۰۲) الگوی بیان ۱۴۶۳ ژن را تحت تنش خشکی و شوری در گیاه جو بررسی کردند. در حدود ۳۸ درصد از رونوشت ها عملکرد مشخصی نداشتند، حدود ۱۵ درصد از رونوشت ها بیان متفاوتی را در شرایط تنش خشکی نشان دادند در صورتی که تنش شوری منجر به تغییر بیان حدود ۵ درصد از رونوشت ها شد. سکی و همکاران (۲۰۰۲) الگوی بیان ۷۰۰۰ ژن را در پاسخ به تنش خشکی، سرما و شوری شدید در گیاه آرابیدوپسیس مورد بررسی قرار دادند. در این بررسی آنها موفق به شناسایی ۲۷۷ ژن القاء شونده با تنش خشکی، ۵۳ ژن القاء شونده با تنش سرما و ۱۹۴ ژن القاء شونده با تنش شوری شدند که بیان آنها تحت شرایط تنش بیشتر از ۵ برابر شده بود. ربانی و همکاران (۲۰۰۳) الگوی بیان ۱۷۰۰ ژن را در پاسخ به تنش سرما، خشکی، شوری شدید و اسید آسبزیک در گیاه برنج در زمان های ۵، ۱۰ و ۲۴ ساعت بعد از اعمال تنش مورد بررسی قرار دادند. ژنگ و همکاران (۲۰۰۴) با استفاده از روش درشت آرایه بیان ۱۹۰ EST را تحت تنش خشکی طبیعی و خشکی حاصل از تیمار با پلی اتیلن گلیکول (PEG) در گیاهچه های ذرت مورد مطالعه قرار دادند. نتایج نشان دهنده آن بود که تحت تنش خشکی طبیعی بیان ۱۶۳ ژن افزایش معنی داری داشتند. کاوورا و همکاران (۲۰۰۸) الگوی بیان ۳۲۰۰۰ ژن را در پاسخ به تنش شوری در گیاه گندم بررسی نمودند. به طور کلی ۳۴۱۶ ژن افزایش و ۲۵۸۰ ژن کاهش بیان نشان دادند.

بررسی هایی که در سطح رونوشت برداری با استفاده از فناوری ریز آرایه انجام شده است نشانگر آن است که ژن هایی که در اثر تنش در گیاه القاء می گردند را می توان براساس عملکرد محصولات آنها

به دو گروه عمده تقسیم بندی نمود. گروه اول شامل پروتئین های عملکردی می باشد که از آن جمله می توان به پروتئین های غشایی (که در حرکت و انتقال آب و یون ها دخیل می باشند)، آنزیم های کلیدی برای سنتز اسمولایت ها (همانند پرولین، بتائین و قندها)، آنزیم های سم زدا (همانند آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز) و پروتئین های حفاظت کننده از درشت مولکول ها (همانند پروتئین های LEA، اسموتین) اشاره نمود. گروه دوم شامل پروتئین های تنظیم کننده مانند عوامل رونویسی (شامل bZIP, bHLH, WRKY, MYB و DREB) و عناصر دخیل در انتقال سیگنال (مانند MAP کیناز ها، پروتئین کیناز های وابسته به کلسیم) می باشند (۶، ۵۱).

در این تحقیق سعی گردید تا ژن های منتخب از داخل هر یک از گروه های فوق با توجه به اهمیت نقش آنها در تنش شوری و دخالت آنها در مکانیزم های تحمل به تنش شوری انتخاب شوند. هدف از این مطالعه بررسی و مقایسه الگوی بیان ژن های منتخب القاء شونده با تنش شوری در گیاه گندم بود تا بدین وسیله ژن های موثر در تحمل به تنش شوری در ارقام متحمل این گیاه شناسایی گردند و در مطالعات آینده برای گزینش به کمک نشانگرهای مولکولی مورد استفاده قرار گیرند. در این مطالعه از تنش شوری طولانی مدت در دو رقم گندم متحمل و حساس استفاده گردید تا بتوان ژن هایی که موجب بقای گیاه در مواجه طولانی مدت با این تنش می شود را شناسایی کرد. در واقع این پژوهش هم از جنبه مقایسه الگوی بیان ژن ها در ارقام متحمل و حساس گندم در سطح رونوشت برداری و هم از جنبه مطالعه در تنش شدید و طولانی مدت شوری جدید می باشد.

مواد و روش ها

مواد گیاهی

در این مطالعه بر اساس اطلاعات حاصل از پژوهش قوامی و همکاران (۱۳۸۳) از رقم ماهوتی به عنوان رقم متحمل و از رقم چینی بهاره به عنوان رقم حساس به تنش شوری استفاده گردید.

کشت گیاهان و اعمال تیمار تنش شوری

ارقام گندم ماهوتی و چینی بهاره در دو محیط هیدروپونیک

حاوی صفر و ۲۵۰ میلی مولار کلرید سدیم کشت گردیدند. برای این کار، ابتدا بذور گیاهان به مدت ده دقیقه در محلول هیپوکلرید سدیم ۵ درصد ضد عفونی گشته و سپس ۵ بار با آب مقطر استریل شستشو داده شدند. سپس در ظروف پتری 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 (۱۶) با رقت ۰/۵ منتقل گردیدند. در روز بعد، از غلظت کامل محلول 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 (۲۸). 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 گردیدند و در دمای 70°C - ذخیره گردیدند. همچنین از هر رقم در شرایط تنش سه بوته بطور تصادفی انتخاب گردید و وزن تر و خشک قسمت های هوایی بوته و غلظت سدیم و پتاسیم برگ چهارم در آنها مطابق با روش قوامی و همکاران (۱۳۸۳) اندازه گیری شد و میانگین های مربوطه با استفاده از آزمون t-استیودنت مورد مقایسه قرار گرفتند.

انتخاب ژن ها و تکثیر آنها

در این تحقیق، در مجموع از ۶۱ ژن منتخب القاء شونده با تنش شوری استفاده گردید (جدول ۴). بر اساس مرور منابع ۳۰ ژن دخیل در پاسخ 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

استخراج RNA و تهیه cDNA

پس از پودر کردن بافت های اندام هوایی گیاه در ازلت مایع با استفاده از هاون چینی، استخراج RNA کل توسط کیت RNXplus شرکت سیناژن مطابق دستورالعمل موجود انجام شد. ابتدا ۵ میکروگرم RNA کل با مقدار ۱/۵ میکرولیتر آغازگر Oligo-(dt)₁₈ مخلوط گشت. پس از واسرشته نمودن در دمای ۷۰°C به مدت ۲۰ دقیقه، واکنش رونویسی معکوس در حضور RNase inhibitor و AMV Reverse Transcriptase به مدت ۲ ساعت در دمای ۴۲°C انجام شد.

تهیه درشت آرایه cDNA و بررسی بیان ژن ها

محصول PCR ژن های انتخابی با استفاده از NaOH و NaCl ۰/۲۵ مولار واسرشته گردیدند و در دستگاه بلاتر ۹۶ چاهکی بر روی غشاء لکه گذاری گردیدند. پس از خشک شدن غشاء در دمای اتاق، غشاء حاصل به مدت ۱ ساعت در دمای ۱۰۰°C قرار داده شد تا مولکول های cDNA بر روی آن ثابت شوند. از cDNA آلفا توبولین گندم به عنوان کنترل داخلی و از آب مقطر و محلول واکنش PCR به عنوان کنترل منفی استفاده شد (۴۹).

از RNA کل استخراج شده از رقم ماهوتی و چینی بهاره تحت شرایط بدون تنش و تنش شوری جهت تهیه نشانگر برای بررسی الگوی بیان ژن ها استفاده گردید. تهیه cDNA نشاندار به حجم ۵۰ میکرولیتر به صورت زیر انجام گرفت. ۵ میکرولیتر آغازگر Oligo(dT)₁₈ و ۵ میکروگرم RNA کل مخلوط گشت. پس از واسرشته نمودن در دمای ۷۰°C به مدت ۲۰ دقیقه مخلوط حاصل ۵ دقیقه بر روی یخ گذاشته شد. به مخلوط حاصل جهت رونوشت برداری معکوس ۱۰ میکرولیتر بافر ۵X، ۱ میکرولیتر از dNTP (A,C,G) ۲۵ میلی مولار، ۱ میکرولیتر از dTTP ۶/۵ میلی مولار، ۳/۵ میکرولیتر از DIG-dUTP ۱ میلی مولار، ۱/۵ میکرولیتر RNasin (40unit/μl) و ۰/۸ میکرولیتر AMV Reverse Transcriptase (200unit/μl) اضافه شد و مخلوط حاصل به مدت ۴ ساعت در دمای ۴۲°C قرار داده شد. جهت واسرشته نمودن، نشانگرهای تهیه شده به مدت ۵ دقیقه در آب جوش و به دنبال آن ۵ دقیقه دیگر بر روی یخ قرار داده شدند. پیش دورگ

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 افزارهای 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 قبلا 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 ترنسکریپتاز 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 قبلا توسط روش DD-PCR از گندم ماهوتی (۲) و ۱۰ ژن *asr* که توسط روش cDNA-AFLP از گیاه هالوفیت *Aeluropus lagopoides* (۱) 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 *SNFK1* تا *SNFK4*) استفاده گردید که در مطالعه ای دیگر از طریق روش پروتئومیکس در گیاه گندم بدست آمده بودند.

نتایج و بحث

در بسیاری از مطالعات از شاخص وزن و نسبت پتاسیم به سدیم به عنوان شاخص اصلی تحمل به تنش شوری استفاده گردیده است (۲۸، ۲۹، ۴۰). تحت تنش ۲۵۰ میلی مولار وزن تر و خشک، غلظت یون های سدیم و پتاسیم و نسبت پتاسیم به سدیم در دو رقم ماهوتی و چینی بهاره اندازه گیری شد (جدول ۱). آزمون t برای صفت وزن تر و خشک و نسبت پتاسیم به سدیم نشان داد که دو رقم دارای اختلاف آماری معنی دار می باشند به طوری که برای هر سه صفت رقم ماهوتی در صدر قرار گرفت. این نتایج نشان می دهد که در رقم ماهوتی تحت تنش شوری، فستق به طور موثرتری نسبت به رقم چینی بهاره در همین شرایط انجام می گیرد زیرا وزن تر یا خشک آن از رقم چینی بهاره بالاتر می باشد.

تستر و داوینپورت (۲۰۰۳) گزارش نمودند سمیت ناشی از غلظت بالای سدیم در سیتوپلاسم بیشتر مربوط به جانشین شدن آن به جای یون پتاسیم می باشد زیرا بیشتر از ۵۰ نوع آنزیم شناسایی گردیده است که برای فعالیت خود احتیاج به یون پتاسیم دارند و یون سدیم نمی تواند نقش یون پتاسیم را در این آنزیم ها ایفا کند. بنابراین با افزایش یون سدیم در سیتوپلاسم و برتری این یون در رقابت با یون پتاسیم جهت اتصال به آنزیم های مورد نظر، فعالیت های متابولیسمی گیاه دچار اختلال می گردد. نسبت بالاتر پتاسیم به سدیم تحت تنش شوری در رقم ماهوتی به دلیل کمتر بودن مقدار سدیم داخل بافتی آن است. بدین لحاظ، بالا بودن نسبت فوق اجازه می دهد فعالیت های متابولیسمی این رقم در شرایط بهینه تری نسبت به رقم چینی بهاره انجام گیرد.

سازی غشاء با ۵۰ میلی لیتر از محلول پیش دورگ سازی با اسیدپته ۷/۲ (۳۵ میلی لیتر SDS ۷ درصد، ۱۰۰ میکرولیتر EDTA ۱ میلی مولار و ۱۲/۵ میلی لیتر بافر فسفات ۰/۲۵ مولار) در دمای ۶۵ °C به مدت ۱/۵ ساعت انجام شد. در مرحله بعد ۵۰ میکرولیتر نشانگر واسرشته به ۵ میلی لیتر محلول پیش هیبریداسیون اضافه گردید و دورگ سازی در طول شب در دمای ۶۵ °C انجام گردید. بعد از دورگ سازی، شستشوی غشاء با SSC X۲ و SDS ۰/۱ درصد ۱۵ دقیقه دو بار در دمای اتاق، با SSC X۲ و SDS ۰/۱ درصد ۱۵ دقیقه در دمای ۶۵ °C و در نهایت با SSC X۲/۲ به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق انجام شد. در مرحله آخر ۱۰ میکرولیتر سوسترای CDP-Star به غشاء اضافه گردید. سپس غشاء به تاریک خانه برده و در معرض فیلم رادیولوژی (X-ray) گذاشته شد و بعد از ۳۰ دقیقه فیلم ظاهر 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. در این تحقیق مطابق با روش ژنگ و همکاران (۲۰۰۴) بر روی ژن های منتخبی که میزان بیان آنها تحت شرایط تنش به بدون تنش شوری ۲ برابر (معادل لگاریتم ۰/۳) افزایش پیدا کرده بود تجزیه واریانس در قالب طرح کاملاً تصادفی با تیمارهای فاکتوریل در چهار تکرار 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 درصد مورد مقایسه قرار گرفتند.

جدول (۱) مقایسه میانگین برخی صفات در دو رقم ماهوتی و چینی بهاره با استفاده از آزمون t تحت تنش ۲۵۰ میلی مولار کلرید سدیم.

رقم	وزن تر بوته (گرم)	وزن خشک بوته	سدیم (میلی مول بر گرم)	پتاسیم (میلی مول بر گرم وزن)	نسبت پتاسیم به سدیم
ماهوتی	^a /۰/۴۵	^a /۰/۰۶۱	^b ۳/۶۹۸۶	^b ۰/۴۲۳۱	^a ۰/۱۱۴۳
چینی بهاره	^b ۰/۱۵	^b ۰/۰۲۱	^a ۸/۶۰۷۰	^a ۰/۴۹۳۸	^b ۰/۰۵۷۳

در هر ستون علامت a و b نشان دهنده تفاوت معنی دار در آزمون t-استیودنت در سطح معنی دار ۵ درصد می باشد.

در این بررسی ۶۱ ژن از گروه های انتقال پیام، عامل رونویسی، ترانسپورتر، پمپ پروتون، اسمولایت، آنتی اکسیدانت، سم زدا و چاپرونی انتخاب شدند (شکل ۱). از این تعداد ژن، ۲۱ ژن (۳۴ درصد) به ترتیب شامل ژن های *TVP*, *SOS3*, *SOS2*, *LEA*, *APX*, *G6DH*, *DREB2*, *WCP*, *DREB3*, *ASN*, *NHX*, *DREB1*, *MYB3-2*, *SOS1*, *wsr7*, *wsr6*, *bZIP5*, *bHLH2*, *MYB3-1* و *BADH* در رقم ماهوتی در شرایط تنش نسبت به شرایط بدون تنش شوری دارای افزایش بیان معنی داری بودند، در حالی که در رقم چینی بهاره تنها ۴ ژن (۶ درصد) به ترتیب شامل ژن های *NHX*, *WCP*, *TVP* و *P5CS* افزایش بیان معنی داری نشان دادند. خلاصه تجزیه واریانس برای ژن هایی که در شرایط تنش نسبت به شرایط بدون تنش بیان آنها ۲ برابر شده در جدول ۲ و مقایسه میانگین آنها با استفاده از روش دانکن در سطح احتمال ۵ درصد در جدول ۳ آمده است. ژن هایی که به طور مشترک در هر دو رقم ماهوتی و چینی بهاره تحت شرایط تنش نسبت به شرایط بدون تنش افزایش بیان معنی دار داشتند شامل ژن های *NHX*, *WCP* و *TVP* بودند (جدول ۳). ژن *P5CS* در رقم چینی بهاره دارای بیان بالای معنی دار بود، اما در رقم ماهوتی کاهش بیان نشان داد.

تحت شرایط تنش ۵۲ درصد و تحت شرایط بدون تنش ۲۷ درصد از ژن های منتخب مطالعه شده در این آزمایش در رقم ماهوتی نسبت به رقم چینی بهاره در همین شرایط دارای بیان بالاتر معنی دار بودند (جدول ۴). در رقم ماهوتی در شرایط تنش نسبت به شرایط بدون تنش شوری بیشترین افزایش بیان مربوط به ژن *TVP* بود (جدول ۴) که انرژی لازم برای فعالیت سایر ژن ها مانند ترانسپورترها را فراهم می آورد. محصول این ژن یک تک پلی پپتید می باشد که در غشاء واکوئل قرار می گیرد و از جمله پمپ های H^+ می باشد (۲۷). در آزمایش حاضر این ژن تحت تنش شوری در هر دو رقم متحمل و حساس گندم در قسمت های هوایی گیاه دارای افزایش بیان بود.

ژن های *SOS2* و *SOS3* پس از ژن *TVP* در رقم ماهوتی دارای بیشترین افزایش بیان بودند (جدول ۴). پروتئین *SOS2* از خانواده سرین- ترونین کینازها و پروتئین *SOS3* از جمله پروتئین های

حسگر Ca^{2+} می باشد. با افزایش سدیم داخل سلول کلسیم سیتوزولی نیز افزایش پیدا می کند و با اتصال به پروتئین *SOS3* موجب فعال شدن این پروتئین می گردد. پروتئین *SOS3* فعال شده با *SOS2* یک کمپلکس فعال را تشکیل می دهند که سبب فسفریله کردن و در نتیجه فعال سازی پروتئین های متفاوتی می گردند که از آن جمله می توان به *SOS1* اشاره نمود که سبب انتقال سدیم به خارج سلول می گردد (۹). تحت شرایط تنش میزان بیان این دو ژن در رقم ماهوتی و چینی بهاره افزایش نشان داد، به طوری که این افزایش نسبت بیان در رقم ماهوتی بسیار بالاتر از رقم چینی بهاره بود (جدول ۴).

زمانی که گیاه به بلوغ می رسد و به طور طبیعی آب خود را از دست می دهد، درون دانه ها نوعی از پروتئین ها به نام پروتئین های تجمع یافته در مراحل نهایی نمو جنین (*LEA*) تجمع می یابند (۳۶). نقش این ژن ها در تنش، حفاظت از ساختار پروتئین ها، مرطوب نگه داشتن داخل سلول و سطح غشاء، خارج سازی یون های افزایش یافته در درون سلول از طریق محفظه هایی که خود آنها را تشکیل می دهند و بازیابی گیاه بعد از رفع تنش می باشد (۳۸). ژن منتخب *LEA* نیز از جمله ژن هایی بود که در رقم ماهوتی تحت شرایط تنش افزایش بیان بالایی از خود نشان داد در حالی که در رقم چینی بهاره تغییر بیان در آن مشاهده نشد. با اعمال تنش شوری بیان ژن *NHX* رمز کننده آنتی ترانسپورتر واکوئلی، در رقم ماهوتی نسبت به شرایط بدون تنش ۶/۴ برابر افزایش بیان نشان داد. محصول این ژن با انتقال سدیم به داخل واکوئل سبب تجمع سدیم در داخل سلول می گردد و از یک سو در تنش شوری از سمیت ناشی از تجمع سدیم در سلول جلوگیری می نماید و از سوی دیگر در تنش شوری و خشکی پتانسیل اسمزی داخل سلول را تنظیم می کند (۵).

1- Late Embryogenesis Abundant proteins

جدول (۲) خلاصه تجزیه واریانس بیان ژن های مورد بررسی در مقایسه الگوی بیان ژن های پاسخ دهنده به تنش شوری در گندم ماهوتی و چینی بهاره.

منابع تغییر	درجه	SOS1	SOS2	SOS3	TVP	WCP	P5CS	NHX	APX	G6DH	BADH	ASN	LEA
میانگین مربعات													
رقم	۱	۰/۰۱ ^{ns}	۰/۰۱ ^{**}	۰/۰۱ ^{**}	۰/۰۸ ^{**}	۰/۰۱۴ ^{ns}	۰/۰۹ ^{**}	۰/۰۱۴ ^{ns}	۰/۰۳ ^{**}	۰/۰۳۵ ^{xx}	۰/۰۰۱ [*]	۰/۰۲۷ ^{ns}	۰/۰۱۷ [*]
شوری	۱	۰/۱۳ ^{**}	۰/۶۵ ^{**}	۰/۶۸۵ ^{**}	۰/۵۱۱ ^{**}	۰/۷۹۱ ^{**}	۰/۰۵۳ ^{**}	۰/۰۰۴ ^{**}	۰/۱۰۶ ^{**}	۰/۳۱۷ ^{**}	۰/۰۳۷ ^{**}	۰/۷۳۹ ^{**}	۰/۲۸۴ ^{**}
رقم×شور	۱	۰/۰۶ ^{**}	۰/۲۶۸ ^{**}	۰/۳۷۲ ^{**}	۰/۲۷۷ ^{**}	۰/۰۲۱ ^{ns}	۰/۱۳۶ ^{**}	۰/۰۱۹ ^{ns}	۰/۱۳۶ ^{**}	۰/۰۴۸ ^{**}	۰/۰۰۶ ^{**}	۰/۰۷۳ ^{ns}	۰/۴۷۶ ^{**}
اشتباه	۱۲	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۳	۰/۰۰۳	۰/۰۰۱	۰/۰۲۵	۰/۰۰۵	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۲۳	۰/۰۰۲
منابع تغییر	درجه	HKT1	AHA	CBEF	bZIP5	bHLH	MYB3-	MYB3-	wsr6	DREB	DREB	DREB	DREB
میانگین مربعات													
رقم	۱	۰/۲۸۲ ^{**}	۰/۰۰۲ ^x	۰/۶۶۹ ^{**}	۰/۰۶۵ ^{**}	۰/۰۸۷ [*]	۰/۰۳۴ ^{**}	۰/۰۰۴ ^{**}	۰/۰۲۰ ^{**}	۰/۵۳۹ ^{**}	۰/۰۰۱ ^{ns}	۰/۰۶۶ ^{**}	۰/۰۶۸ ^{**}
شوری	۱	۰/۰۰۶ ^{**}	۰/۱۵۵ ^{**}	۰/۰۰۹ ^{ns}	۰/۰۰۱ ^{ns}	۰/۰۰۷ [*]	۰/۰۷۶ ^{**}	۰/۰۹۶ ^{**}	۰/۱۶۹ ^{**}	۰/۱۰۴ [*]	۰/۰۴۸ ^{**}	۰/۱۴۵ ^{**}	۰/۳۵۱ ^{**}
رقم×شور	۱	۰/۰۵۹ ^{**}	۰/۲۴۴ ^{**}	۰/۰۰۲ ^{ns}	۰/۰۰۲ ^{**}	۰/۰۳۸ ^{ns}	۰/۰۰۳ ^{**}	۰/۰۹۳ ^{**}	۰/۰۰۸ ^{ns}	۰/۰۶۸ ^{ns}	۰/۱۷۹ ^{**}	۰/۱۶۷ ^{**}	۰/۲۷۹ ^{**}
اشتباه	۱۲	۰/۰۰۱	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۵	۰/۰۰۸	۰/۰۰۳	۰/۰۰۱	۰/۰۰۷	۰/۰۲۶	۰/۰۰۳	۰/۰۰۲	۰/۰۰۱

x، xx و ns: به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد، ادرصد و غیر معنی دار

جدول (۳) مقایسه میانگین بیان ژن های مورد مطالعه در ارقام گندم ماهوتی و چینی بهاره در شرایط بدون تنش و تنش شوری.

شماره	نام ژن	چینی بهاره	ماهوتی
		بدون تنش شوری	تنش شوری
۱	SOS1	۱۰۵/۳۴ ^b	۱۹۵/۳ ^a
۲	SOS2	۴۱/۱۱ ^b	۷۳/۷۴ ^a
۳	SOS3	۳۶/۷۳ ^c	۷۳/۴۷ ^a
۴	TVP	۱۰/۱۱ ^c	۱۷/۵۹ ^b
۵	WCP	۸/۴۱ ^c	۴۳/۲۰ ^a
۶	P5CS	۲۰/۱۱ ^c	۴۹/۹۳ ^b
۷	NHX	۲۰/۱۳ ^b	۷۶/۹۶ ^a
۸	APX	۸۱/۸۷ ^b	۱۸۴/۴۷ ^a
۹	G6DH	۷۴/۶۱ ^c	۲۵۳/۴۶ ^a
۱۰	BADH	۱۲۱/۸۶ ^b	۱۷۴/۹ ^a
۱۱	ASN	۱۵/۲۴ ^{bc}	۴۴/۵۹ ^a
۱۲	LEA	۲۸۴/۱۸ ^b	۵۴۴/۲۴ ^a
۱۳	HKT1	۲۵۲/۷۸ ^c	۵۲۸/۴۰ ^a
۱۴	AHA	۱۰۸/۷۴ ^b	۲۲۳/۴۷ ^a
۱۵	CBEFP	۲۰/۹۰ ^b	۱۹۷/۲۲ ^a
۱۶	bZIP5	۴۳۲/۲۴ ^b	۶۷۳/۰۸ ^a
۱۷	bHLH2	۱۴۰/۳۸ ^b	۳۴۷/۵۹ ^a
۱۸	MYB3-	۱۷۴/۲۵ ^b	۳۶۸/۲۵ ^a
۱۹	MYB3-	۲۲۳/۵۸ ^b	۴۰۹/۷۳ ^a
۲۰	wsr6	۲۴/۱۳ ^c	۹۶/۷۹ ^a
۲۱	wsr7	۳۵/۸۶ ^b	۱۸۳/۷۴ ^a
۲۲	DREB1	۲۴۰/۸۸ ^b	۳۴۵/۸۲ ^a
۲۳	DREB2	۱۷۷/۸۶ ^b	۵۰۱/۴۰ ^a
۲۴	DREB3	۱۹۹/۱۸ ^b	۳۴۲/۰۶ ^a

در هر ردیف a، b، c و d نشان دهنده تفاوت های معنی دار در دسته بندی دانکن در سطح معنی دار ۵ درصد می باشد.

با توجه به الگوهای بدست آمده برای ژن‌های *NHX* و *TVP* در ارقام ماهوتی و چینی بهاره محتمل است که ژن *NHX* در رقم ماهوتی سدیم را بطور موثرتری در داخل واکوئل ذخیره نماید زیرا همان طور که پیشتر ذکر گردید ژن *TVP* انرژی لازم برای فعالیت ژن *NHX* را فراهم می‌نماید و در رقم ماهوتی ژن *TVP* دارای بیشترین افزایش بیان بود (جدول ۴). سقیب و همکاران (۲۰۰۵) با بررسی تنش شوری طولانی مدت بر روی ژنوتیپ‌های متحمل و حساس گندم میزان بیان ژن *NHX* را در این گندم‌ها اندازه‌گیری نمودند. طبق این گزارش میزان بیان این ژن در گندم‌های متحمل و حساس افزایش یافته بود اما میزان این افزایش در گندم‌های متحمل بیشتر بود که با نتایج حاصل از این مطالعه همخوانی دارد.

ژن *ASN* رمز کننده آسپاراژین سنتتاز نیز از جمله ژن‌هایی بود که با اعمال تنش شوری در رقم ماهوتی افزایش بیان نشان داد (جدول ۴). زمانی که تنش در گیاه موجب تجمع مواد آمونیومی می‌شود، آنزیم آسپاراژین سنتتاز سبب سمیت زدایی این مواد می‌شود (۴۴). تحت شرایط تنش شوری افزایش بیان این ژن در گیاهان جو، سویا و ذرت گزارش شده است (۱۴). نتایج این تحقیق نیز نشان دهنده آن بود که این ژن در رقم ماهوتی تحت شرایط تنش افزایش بیان معنی‌داری از خود نشان می‌دهد که در رقم چینی بهاره این چنین نبود (جدول ۳).

پروتئین‌های کانال آبی (Aquaporins) دسته‌ای از پروتئین‌ها می‌باشند که در انتقال و جریان آب به درون گیاه نقش داشته و اهمیت این پروتئین‌ها در تحمل گیاهان به تنش‌های محیطی از این حقیقت ناشی می‌شود که تحت تنش‌های محیطی مختلف همانند خشکی، شوری و سرما در گونه‌های گیاهی مختلف بیان این ژن‌ها دستخوش تغییر می‌گردد (۱۷، ۵۳). نتایج نورترن بلات معکوس در این آزمایش نشان دهنده آن بود که این ژن تحت تنش شوری در هر دو رقم متحمل و حساس دارای افزایش بیان می‌باشد و این افزایش در رقم ماهوتی بیشتر از رقم چینی بهاره بود.

ژن *AHA* پروتئینی را رمز می‌کند که در غشاء پلاسمایی قرار گرفته و با مصرف ATP پروتون (H^+) را به خارج از سلول

می‌فرستد. با رها شدن H^+ به بیرون، غلظت پروتون در بیرون سلول افزایش پیدا می‌کند و شیبی از غلظت H^+ در سرتاسر غشاء پلاسمایی به وجود می‌آید. این شیب غلظت انرژی لازم برای فعالیت ترانسپورتهایی همانند ترانسپورتر *SOS1*^۱ را فراهم می‌کند (۳۰). یانگ و همکاران (۲۰۰۴) در بررسی دو رقم گندم که دارای درجات متفاوتی از حساسیت نسبت به تنش شوری بودند، دریافتند که با اعمال تنش شوری میزان بیان این ژن در گندم متحمل افزایش و در گندم حساس کاهش نشان می‌دهد که با الگوی بیان بدست آمده برای این ژن در مطالعه حاضر همخوانی دارد.

ژن‌های *DREB* دسته‌ای از فاکتورهای رونویسی می‌باشند که بیان آنها مستقل از ABA^۲ می‌باشد (۴). با اعمال تنش شوری بیان ژن‌های *DREB1*، *DREB2* و *DREB3* در رقم ماهوتی دو برابر افزایش بیان نشان داد، درحالی که در رقم چینی بهاره هیچ گونه افزایش بیانی در آنها دیده نشد. الگوی بیان مشاهده شده برای ژن‌های مذکور نشان دهنده آن است که در رقم ماهوتی پتانسیل بالاتری برای بیان ژن‌های دخیل در تحمل به تنش شوری نسبت به رقم چینی بهاره وجود دارد. همان طور که پیشتر نیز ذکر گردید در شرایط انجام این تحقیق بر اثر اعمال تنش شوری در رقم ماهوتی ۳۴ درصد و در رقم چینی بهاره تنها ۶ درصد از ژن‌های مورد مطالعه دارای افزایش بیان بودند. لیو و همکاران (۱۹۹۸) با استفاده از روش ریز آرایه الگوی بیان ژن‌ها را در گیاه آرابیدوپسیس تراریخته با ژن *DREB1A* تحت پیشبر دائمی -35S CaMV با گیاه غیر تراریخته مورد مقایسه قرار دادند. طبق نتایج آنها بیان ۱۲ ژن دیگر در گیاه تراریخته نسبت به گیاه غیر تراریخته دو برابر شده بود.

1- Salt Overly Sensitive
2- ABA-independent

جدول (۴) فهرست ژن ها، عملکرد احتمالی و لگاریتم پایه ۱۰ نسبت بیان آنها تحت تنش و بدون تنش شوری در رقم چینی بهاره و ماهوتی

شماره	نام ژن	شماره	عملکرد احتمالی	مرجع	چینی	ماهوتی ^۲	بدون تنش ^۴	تنش ^۳
ژن های عملکردی								
۱	SOS1	TC۳۱۱۷۱۳	انتقال سدیم به بیرون از غشاء پلاسمایی	-	۰/۰۸	۰/۴۲	-۰/۱۵	۰/۱۸
۲	NHX	AY۲۶۹۹۱۰	انتقال سدیم به داخل واکوئل	(۷)	۰/۵۷	۰/۸۰	-۰/۲۲	۰/۰۰۸
۳	WCP	TC۲۹۱۲۴۰	انتقال و جریان آب به درون گیاه	-	۰/۵۲	۰/۷۳	-۰/۰۲	۰/۱۸
۴	HKT1	DQ۰۰۹۰۰۳	انتقال پتاسیم به داخل گیاه در شرایط کمبود آن	-	-۰/۲۲	۰/۱۱	۰/۲۰	۰/۵۴
۵	TVP	AY۲۹۶۹۱۱	انتقال H ⁺ به داخل واکوئل	(۷)	۰/۴۹	۱/۲۴	-۱/۰۰	-۰/۲۵
۶	AHA	AY۸۲۹۰۰۲	انتقال H ⁺ به بیرون از غشاء پلاسمایی	(۲۴)	-۰/۰۵	۰/۶۱	-۰/۲۹	۰/۳۶
۷	P5CS	EU۱۶۳۵۸۸	تنظیم تورژسانس، پاکسازی رادیکال های آزاد	-	۰/۴۲	۰/۰۹	۰/۴۹	-۰/۰۲
۸	BADH	TC۲۸۳۳۴۰	تنظیم تورژسانس، پاکسازی رادیکال های آزاد	-	-۰/۰۳	۰/۳۰	-۰/۱۵	۰/۱۹
۹	G6DH	AB۰۱۱۴۴۱	انتقال پیام و پاک سازی رادیکال های آزاد اکسیژن	(۳۳)	۰/۲۴	۰/۵۵	-۰/۰۲	۰/۲۸
۱۰	APX	AF۳۸۷۷۳۹	پاک سازی رادیکال های آزاد اکسیژن	-	-۰/۰۳	۰/۴۹	-۰/۱۳	۰/۳۸
۱۱	ASN	AY۶۲۱۵۳۹	تبدیل آسپاراتات به آسپاراژین، انتقال و ذخیره	(۴۳)	۰/۴۱	۰/۷۹	-۰/۳۳	۰/۰۴
۱۲	SAMDC	TC۲۷۸۵۶۰	سنتز پلی آمین ها	-	-۰/۰۹	-۰/۱۹	۰/۵۶	۰/۴۶
۱۳	LEA	TC۲۸۹۵۳۲	حفاظت از ساختار پروتئین ها، مرطوب نگه داشتن	-	-۰/۱۱	۰/۸۶	-۰/۵۸	۰/۳۹
۱۴	wsr1	CK۱۳۶۹۷۴	پروتئین شبیه سوکسینات دهیدروژناز، نقل انتقال	(۳)	۰/۰۲	۰/۱۰	۰/۱۱	۰/۱۹
۱۵	wsr2	CK۱۳۶۹۷۵	پروتئین شبیه پروفوبیلینوژن دی آمیناز، سنتز	(۳)	۰/۰۳	-۰/۱۱	۰/۵۱	۰/۳۶
۱۶	wsr5	CK۱۳۶۹۷۸	پروتئین سرین هیدروکسی متیل ترانسفراز	(۳)	۰/۰۳	-۰/۱۶	۰/۵۲	۰/۳۲
۱۷	wsr7	CK۱۳۶۹۸۰	پروتئین بتا آمیرین سنتتاز، ساخت تری ترپن ها	(۳)	۰/۰۲	۰/۴۱	۰/۲۹	۰/۶۸
۱۸	asr4	CX۷۷۹۷۲۱	پروتئین شبیه به بتائین آلدهید دهیدروژناز گندم	(۱)	۰/۱۶	۰/۱۴	۰/۰۶	۰/۰۴
۱۹	asr8	CX۷۷۹۷۲۴	پروتئین غشایی	(۱)	۰/۰۳	۰/۱۱	-۰/۰۹	-۰/۰۰۹
ژن های تنظیمی و عملکرد								
۲۰	SOS2	TC۳۱۸۰۴۴	سرین-ترئونین کیناز، فعال کننده انواع پروتئین های	-	۰/۲۰	۰/۹۳	-۰/۶۸	۰/۰۴
۲۱	SOS3	TC۳۰۴۹۸۰	پروتئین متصل شونده به کلسیم	-	۰/۱۵	۱/۰۱	-۰/۷۱	۰/۱۴
۲۲	GSK	AF۵۲۵۰۸۶	پروتئین شبیه گلیکوژن سنتاز کیناز، انتقال پیام	(۸)	-۰/۰۶	۰/۱۹	۰/۱۴	۰/۴۱
۲۳	CBEFP	TC۲۷۸۷۹۷	حسگر افزایش کلسیم	-	۰/۰۸	۰/۰۳	۰/۹۳	۰/۸۸
۲۴	bZIP1	CN۰۱۱۸۳۹	فاکتور رونویسی	-	۰/۱۰	-۰/۱۴	۰/۶۸	۰/۴۳
۲۵	bZIP2	CAV۴۴۷۵۲.۱	فاکتور رونویسی	-	-۰/۰۳	۰/۰۷	۰/۳۳	۰/۴۳
۲۶	bZIP3	CK۱۶۳۶۶۶.۱	فاکتور رونویسی	-	-۰/۰۲	-۰/۰۸	۰/۴۳	۰/۳۷
۲۷	bZIP5	CV۷۶۵۸۱۴.۱	فاکتور رونویسی	-	-۰/۳۰	۰/۳۳	-۰/۱۳	۰/۴۹
۲۸	bHLH2	CA۵۹۹۶۱۸.۱	فاکتور رونویسی	-	۰/۰۵	۰/۳۲	۰/۰۶	۰/۳۳
۲۹	bHLH3	CJ۶۸۵۶۲۵.۱	فاکتور رونویسی	-	-۰/۰۲	۰/۲۸	۰/۰۹	۰/۴۱
۳۰	WRKY1	CN۰۰۹۳۲۰.۱	فاکتور رونویسی	-	۰/۰۱	۰/۲۱	۰/۱۴	۰/۳۳
۳۱	WRKY2	CJ۸۷۳۱۴۶.۱	فاکتور رونویسی	-	-۰/۰۳	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۵۳
۳۲	MYB2	ABC۸۶۵۶۹.۱	فاکتور رونویسی	-	-۰/۰۹	۰/۰۸	۰/۱۷	۰/۳۴
۳۳	MYB3-1	AB۱۹۱۴۵۹	فاکتور رونویسی	-	۰/۰۷	۰/۳۱	۰/۰۰۶	۰/۲۵
۳۴	MYB3-2	AB۱۹۱۴۶۰	فاکتور رونویسی	-	-	۰/۰۰۴	۰/۴۳	-۰/۱۷
۳۵	NAC	CK۲۰۸۰۱۲.۱	فاکتور رونویسی	-	-	-۰/۱۹	-۰/۱۶	۰/۳۷
۳۶	NAC67	BU۶۷۲۲۲۹	فاکتور رونویسی	-	-	-۰/۰۷	۰/۱۲	۰/۳۳
۳۷	wsr3	CK۱۳۶۹۷۶	پروتئین شبیه 9-cis-epoxycartenoid (NCED)	(۳)	۰/۲۳	۰/۰۱	۰/۴۶	۰/۲۱
۳۸	wsr4	CK۱۳۶۹۷۷	عملکرد نامشخص	(۳)	۰/۲۷	-۰/۱۰	۰/۱۳	-۰/۲۴
۳۹	wsr6	CK۱۳۶۹۷۹	عملکرد نامشخص	(۳)	۰/۲۲	۰/۳۴	۰/۲۵	۰/۳۸
۴۰	wsr8	CK۱۳۶۹۸۱	عملکرد نامشخص	(۳)	-۰/۰۴	-۰/۲۶	۰/۴۸	۰/۲۶

۰/۳۶	۰/۲۷	۰/۰۵	-۰/۰۲	(۳)	پروتئین چسبنده به اسید نوکلئیک	CK۱۳۶۹۸۲	<i>wsr9</i>	۴۱
۰/۲۰	۰/۶۶	-۰/۳۸	۰/۰۷	(۳)	عملکرد نامشخص	CK۱۳۶۹۸۳	<i>wsr10</i>	۴۲
۰/۳۸	۰/۷۸	-۰/۴۰	-۰/۰۰۳	(۳)	عملکرد نامشخص	CK۱۳۶۹۸۴	<i>wsr11</i>	۴۳
۰/۱۵	-۰/۰۱	۰/۲۳	۰/۰۶	(۱)	هیستیدین کیناز	CX۷۷۹۷۱۶	<i>asr1</i>	۴۴
۰/۰۵	-۰/۱۱	۰/۲۲	۰/۰۵	(۱)	پروتئین متصل شونده به DNA	CX۷۷۹۷۱۹	<i>asr2</i>	۴۵
-۰/۰۲	-۰/۱۸	۰/۲۰	۰/۰۳	(۱)	عملکرد نامشخص	CX۷۷۹۷۲۲	<i>asr5</i>	۴۶
۰/۰۹	۰/۲۸	-۰/۱۰	۰/۰۸	(۱)	پروتئین متصل شونده به RNA	CX۷۷۹۷۲۳	<i>asr6</i>	۴۷
۰/۰۱	-۰/۱۶	۰/۲۴	۰/۰۷	(۱)	پروتئین رتروترانسپوزون	CX۷۷۹۷۱۷	<i>asr9</i>	۴۸
-۰/۰۸	-۰/۰۰۷	-۰/۰۲	۰/۰۴	(۱)	عملکرد نامشخص	CX۷۷۹۷۱۵	<i>asr10</i>	۴۹
۰/۰۱	-۰/۱۵	۰/۱۹	۰/۰۲	(۱)	پلی پروتئین Copia-type	CX۷۷۹۷۱۴	<i>asr11</i>	۵۰
-۰/۰۴	-۰/۰۷	۰/۰۹	۰/۰۵	(۱)	پروتئین شبیه NBS-LRR	CX۷۷۹۷۱۳	<i>asr12</i>	۵۱
۰/۳۰	-۰/۲۹	۰/۴۵	-۰/۱۴	-	فاکتور رونویسی	AY۷۸۱۳۵۹	<i>DREB1</i>	۵۲
۰/۴۶	-۱/۰	۰/۵۵	-۰/۰۱	-	فاکتور رونویسی	AY۷۸۱۳۵۸	<i>DREB2</i>	۵۳
۰/۱۸	-۰/۵۵	۰/۷۹	۰/۰۴	-	فاکتور رونویسی	AY۷۸۱۳۵۷	<i>DREB3</i>	۵۴
۰/۳۹	۰/۳۹	-۰/۰۵	-۰/۰۵	-	فاکتور رونویسی	AY۷۸۱۳۵۶	<i>DREB4</i>	۵۵
۰/۳۱	۰/۲۰	۰/۰۷	-۰/۰۳	-	فاکتور رونویسی	AY۷۸۱۳۵۵	<i>DREB5</i>	۵۶
۰/۶۷	۰/۳۲	۰/۱۹	-۰/۱۵	-	فاکتور رونویسی	AY۷۸۱۳۵۴	<i>DREB6</i>	۵۷
۰/۰۳	۰/۳۵	-۰/۱۲	۰/۱۸	-	پروتئین کیناز	BT۰۰۹۰۰۴	<i>SnRK1</i>	۵۸
۰/۳۴	۰/۷۶	-۰/۲۷	۰/۱۴	-	پروتئین کیناز	X۶۵۶۰۴.۱	<i>SnRK2</i>	۵۹
۰/۴۴	۰/۲۰	۰/۱۹	-۰/۰۴	-	پروتئین کیناز	X۶۵۶۰۴.۲	<i>SnRK3</i>	۶۰
۰/۳۵	۰/۱۱	۰/۱۸	-۰/۰۴	-	پروتئین کیناز	X۶۵۶۰۴.۳	<i>SnRK4</i>	۶۱

(۱) لگاریتم نسبت بیان ژن ها تحت شرایط تنش به شرایط بدون تنش شوری در رقم چینی بهاره

(۲) لگاریتم نسبت بیان ژن ها تحت شرایط تنش به شرایط بدون تنش شوری در رقم ماهوتی

(۳) لگاریتم نسبت بیان ژن ها تحت شرایط تنش در رقم ماهوتی نسبت به رقم چینی بهاره

(۴) لگاریتم نسبت بیان ژن ها تحت شرایط تنش شوری در رقم ماهوتی نسبت به رقم چینی بهاره

زودرس گیاه جلوگیری می نمایند (۳۰). در این تحقیق در رقم ماهوتی تحت شرایط تنش شوری افزایش بیان ژن منتخب *APX*^۱ مشاهده گردید (۳ برابر) در صورتی که در رقم چینی بهاره هیچ گونه افزایش بیان معنی داری در بیان آن مشاهده نگشت. سایر ام و همکاران (۲۰۰۱) نیز افزایش بیان این آنزیم را در گندم های متحمل به تنش شوری قبلا گزارش کرده بودند.

ژن *P5CS* آنزیم کلیدی در مسیر سنتز پرولین می باشد. پرولین در تنش هایی همانند شوری در پاک سازی رادیکال های آزاد اکسیژن، تنظیم پتانسیل اسمزی و پایداری ساختمان پروتئین های غشاء نقش دارد و هنگام بازبازی^۲ گیاه منبع نیتروژن، کربوهیدرات و انرژی می باشد (۲۲). با اعمال تنش شوری میزان بیان ژن *P5CS*

ژن *G6DH* آنزیم گلوکوز-۶-فسفات دهیدروژناز را رمز می کند که یکی از آنزیم های کلیدی در چرخه پنتوز فسفات می باشد. ونگ و همکاران (۲۰۰۸) گزارش نمودند که آنزیم *G6DH* نقش کلیدی در تحمل گیاه به تنش اکسیداتیو حاصل از تنش شوری دارد. در مطالعه حاضر نسبت بیان این ژن تحت شرایط تنش به بدون تنش شوری در رقم ماهوتی و چینی بهاره به ترتیب ۳/۵ و ۱/۷ برابر بود. بنابراین به نظر می رسد که پاک سازی رادیکال های آزاد در رقم متحمل ماهوتی به طور موثرتری نسبت به رقم حساس چینی بهاره اتفاق می افتد.

آنزیم های آنتی اکسیدانتی همانند آسکوربیک پراکسیداز در تنش های طولانی مدت در سلول هایی که غلظت نمک در آنها بالا می رود با فراهم نمودن شرایط نرمال برای فعالیت های متابولیکی گیاه سبب حفاظت از این واکنش ها می گردند و در نتیجه از پیری

1- Ascorbate Peroxidase
2- Recovery

در رقم ماهوتی کاهش و در رقم چینی بهاره افزایش بیان نشان داد. گزارش شده است که تنظیم بیان این ژن تحت کنترل منفی می باشد، بدین معنی که افزایش پرولین در گیاه اثر منفی بر تولید آن دارد (۳۰). در این آزمایش که در آن از تنش طولانی مدت استفاده شده است ممکن است ابتدا این ژن در رقم متحمل ماهوتی افزایش بیان داشته و سپس با افزایش و تجمع پرولین در داخل گیاه به واسطه کنترل منفی این اسید آمینه بر روی ژن هایی که در مسیر سنتز پرولین دخیل می باشند، بیان این ژن کاهش یافته باشد. البته برخی افزایش بیان ژن *P5CS* و تجمع پرولین را معلول می دانند. یعنی زمانی که گیاه سازوکاری برای مقابله با شوری ندارد و دچار تنش می شود، سنتز پرولین صورت می گیرد (۲۲). دلیل دیگر می تواند استفاده رقم متحمل ماهوتی از اسمولایت های دیگر همانند گلیسین بتائین باشد، چنانکه در گیاهان هالوفیت، نظیر *Aeluropus lagopoides* در دراز مدت تجمع پرولین قابل توجه نیست و بجای آن تجمع گلیسین بتائین زیاد می شود (۱). لازم به ذکر است که در شرایط بدون تنش بیان ژن *P5CS* در رقم ماهوتی بسیار بالاتر از بیان آن در رقم چینی بهاره تحت تنش می باشد و در شرایط تنش شوری بیان این ژن در رقم ماهوتی در حدود بیان آن در رقم چینی بهاره تحت تنش شوری می باشد. با توجه به اینکه برای تمامی ژن های مطالعه شده در این آزمایش با استفاده از روش درشت آرایه افزایش و یا کاهش بیان در هر دو رقم ماهوتی و چینی بهاره مشاهده گردید، بنابراین به نظر می رسد که تفاوت در تحمل و حساسیت این دو رقم به تنش شوری مربوط به تفاوت در نوع تنظیم بیان ژن ها باشد. ژو (۲۰۰۱) این فرضیه را مطرح نمود که مکانیزم های تحمل به تنش شوری در گیاهان هالوفیت اساسا همان مکانیزم هایی هستند که گیاهان گلیکوفیت بکار می برند و فقط تفاوت های جزئی در تنظیم بیان ژن ها می باشد که منجر به ایجاد تنوع بسیار بزرگ از کاملاً متحمل تا کاملاً حساس می گردد. در این مطالعه نیز با توجه به نتایج کسب شده شاید بتوان اظهار نظر نمود که تفاوت در تحمل و حساسیت گیاهان گلیکوفیت در پاسخ به تنش شوری نیز از این قاعده مستثنی نمی باشد.

تاجی و همکاران (۲۰۰۴) در بررسی و مقایسه الگوی بیان ۷۰۰ ژن در یک گیاه گلیکوفیت (آرابیدوپسیس) و یک گیاه هالوفیت (*Salt cress*) که در سطح ژنومی بیشتر از ۹۰ درصد شباهت داشتند، تحت تنش شوری گزارش نمودند که بسیاری از ژن هایی که در تنش های زنده و غیر زنده در گیاه گلیکوفیت القاء می گردند (دارای افزایش بیان هستند) تحت شرایط بدون تنش در گیاه هالوفیت دارای بیان بالایی می باشند که از جمله این ژن ها می توان به ژن های *P5CS*، *NCED* و *SOS1* اشاره نمود. در مطالعه حاضر نیز ژن های *P5CS* و *NCED (wsr3)* از جمله ژن هایی بودند که در رقم ماهوتی در شرایط بدون تنش نسبت به رقم چینی بهاره بیان بالایی داشتند. بیان ژن *CBEFP* در رقم ماهوتی نسبت به رقم چینی بهاره تحت شرایط بدون تنش شوری بیشترین مقدار بود (جدول ۴). در این مطالعه در مقایسه با گزارش تاجی و همکاران (۲۰۰۴) ژن *SOS1* از جمله ژن هایی بود که تحت شرایط بدون تنش شوری در رقم ماهوتی دارای بیان پایین تری نسبت به رقم چینی بهاره بود، اما ژن *HKT1* برخلاف ژن *SOS1* در همین شرایط دارای بیان بالایی بود. گزارش شده است که ژن های *HKT1* و *SOS1* در اندام های هوایی گیاه در بازیافت سدیم از آوند چوبی و انتقال آن به شیره آوند آبکش جهت انتقال آن به ریشه و خروج آن از گیاه (هر کدام به طور مستقل) نقش ایفا می کنند (۳۱). همان طور که در جدول ۱ نیز مشخص است میزان یون سدیم در اندام های هوایی رقم چینی بهاره نسبت به رقم ماهوتی بسیار بیشتر می باشد. بنابراین به نظر می رسد در گیاه گندم (حداقل در مورد رقم ماهوتی) ژن *HKT1* در بازیافت سدیم از قسمت های هوایی گیاه از اهمیت بالاتری نسبت به ژن *SOS1* برخوردار باشد.

نتیجه گیری

نتایج تحقیق حاضر نشان دهنده آن بود که با اعمال تنش شوری در رقم ماهوتی ژن های بیشتری نسبت به رقم چینی بهاره القاء می گردند. با آنالیز عملکرد ژن های منتخب فوق می توان درک بهتری از مکانیزم های تحمل به تنش شوری در گیاه گندم داشت. همچنین با مقایسه توالی ژن های منتخب فوق در گندم های ماهوتی و چینی بهاره ممکن است، توالی های خاصی را در ناحیه

9-Chinnusamy V, Jagendorf A, and Zhu J (2005) Understanding and improving salt tolerance in plants. *Crop Science*. 45: 437-448.

10-Colmer T, Flowers T and Munns R (2006) Use of wild relatives to improve salt tolerance in wheat. *Journal of Experimental Botany*. 57: 1-20.

11-Cushman J and Bohnert H (2000) Genomic approaches to plant stress tolerance. *Current Opinion in Plant Biology*. 3: 117-124.

12-Fukuda A, Nakamura A and Tanaka Y (1999) Molecular cloning and expression of the Na^+/H^+ exchanger gene in *Oryza sativa*. *Biochemica et Biophysica Acta*. 1446: 149-155.

13-Fukuda A, Yazaki Y, Ishikawa T, Koike S and Tanaka Y (1998) Na^+/H^+ antiporter in tonoplast vesicles from rice roots. *Plant and Cell Physiology*. 39: 196-201.

14-Gilbert G, Gadush M, Wilson C and Madore M (1998) Amino acid accumulation in sink and source tissues of *Coleus blumei* Benth. during the salinity stress. *Journal of Experimental Botany*. 49: 107-114.

15-Hasegawa P, Bressan R, Zhu J and Bohnert H (2000) Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annual Reviews of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*. 51: 463-499.

16-Hoagland D R, Arnon D I (1950) The water culture method for growing plants without soil. *California Experiment Station Circular* 347. The College of Agriculture, University of California, Berkeley, CA.

17-Jang J, Kim D, Kim Y, Kim J and Kang H (2004) An expression analysis of a gene family encoding plasma membrane aquaporins in response to abiotic stresses in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Molecular Biology*. 54: 713-725.

18-Ji S, Lu Y, Feng J, Wei G, Li J, Shi Y, Fu Q, Liu D, Luo J and Zhu Y (2003) Isolation and analysis of genes preferentially expressed during early cotton fiber development by subtractive PCR and cDNA array. *Nucleic Acids Research*. 31: 2534-2543.

19-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.

20-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. *Functional Integrated Genomics*. 6: 132-142.

21-Kawaura K, Mochida K, Yamazaki Y and Ogihara Y (2008) Genome-wide analysis for identification of salt-responsive in common wheat. *Functional Integrated Genomics*. 8: 277-286.

22-Kishor P, Sangam S, Amrutha R, et al (2005) Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: Its implications in plant growth and abiotic stress tolerance. *Current Science*. 88: 424-438.

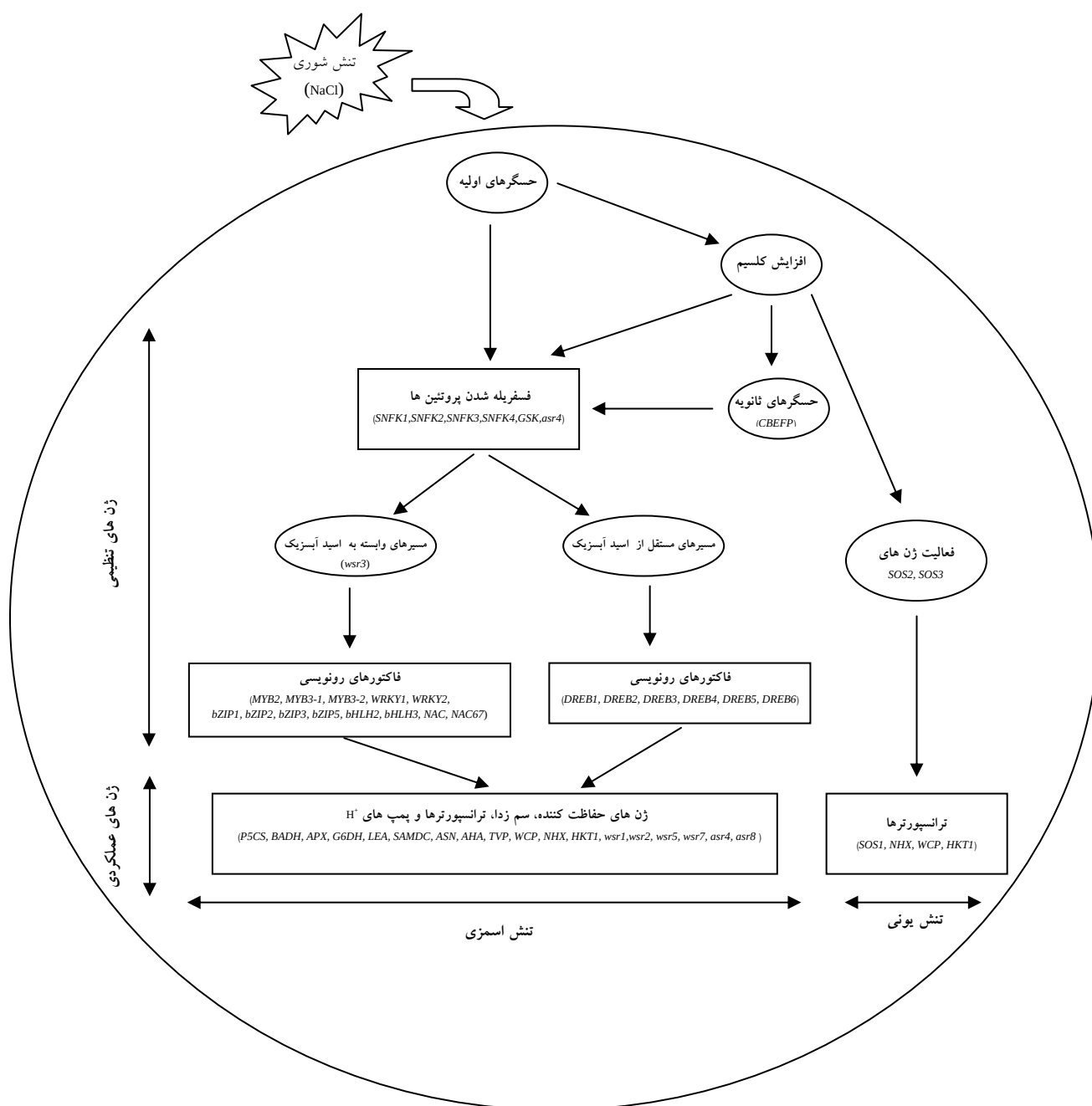
23-Laurie S, Feeney K, Maathuis F, Heard P, Brown S and Leigh R (2002) A role for *HKT1* in sodium uptake by wheat roots. *The Plant Journal*. 32: 139-149.

رمز کننده و یا پیشبری این ژن ها مورد شناسایی قرار داد که براساس آنها بتوان نشانگرهای مبتنی بر ژن طراحی نمود. همچنین برخی از ژن های فوق مانند ژن *TVP* به صورت تک پلی پیتیدی در سلول فعال هستند. این گونه ژن ها، کاندیدای مناسبی برای ایجاد تحمل به شوری از طریق انتقال ژن هستند. علاوه بر آن در برنامه های اصلاحی با استفاده از روش تلاقی برگشتی می توان این ژن ها را به ژنوتیپ ها و یا ارقام مورد نظر انتقال داد.

منابع

- ۱- رضوی خ، ملبویی م ع، فرهی آشتیانی ص، و قناتی ف (۱۳۸۴) بررسی برخی از پاسخ های فیزیولوژیکی و مولکولی یکی از خویشاوندان گندم نسبت به تنش شوری. پایان نامه دکتری، دانشکده علوم، دانشگاه تربیت مدرس، ایران.
- ۲- قوامی ف، ملبویی م ع، قناد ها م ر، یزدی صمدی ب، مظفری ج، و جعفر آقایی م (۱۳۸۲) بررسی واکنش ارقام متحمل گندم ایرانی به تنش شوری در مرحله جوانه زنی و گیاهچه. مجله علوم کشاورزی ایران. ج ۳۵، ش ۲، ص ۴۶۴-۴۵۳.
- ۳- قوامی ف، ملبویی م ع، قناد ها م ر، یزدی صمدی ب، مظفری ج، و جعفر آقایی م (۱۳۸۳). جداسازی ژن های قابل القاء توسط تنش شوری از گندم. پایان نامه دکتری، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران، ایران.
- 4-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.
- 5-Blumwald E, Aharon G and Apse M (2000) Sodium transport in plants. *Biochemica et Biophysica Acta*. 1465: 140-151.
- 6-Bohnert H J, Ayoubi P, Borchert C, Bressan R A, Burnap R L, Cushman J C, Cushman M A, Deyholos M, Galbraith D W, Hasegawa P M, Jenks M, Kawasaki S, Koiwa H, Kore-eda S, Lee B H, Michalowski C B, Misawa E, Nomura M, Ozturk M, Postier B, Prade R, Song C P, Tanaka Y, Wang H and Zhu J K (2001) A genomics approach towards salt stress tolerance, *Plant Physiology and Biochemistry*. 39: 1-17.
- 7-Brini F, Gaxiola R, Berkowitz G and Masmoudi K (2005) Cloning and characterization of a wheat vacuolar cation/proton antiporter and pyrophosphates proton pump. *Plant Physiology and Biochemistry*. 43: 347-354.
- 8-Chen G, Ma W, Hung Z, Xu T, Xue Y and Shen Y (2003) Isolation and characterization of *TaGSK1* involved in wheat salt tolerance. *Plant Science*. 165: 1369-1375.

- 24-Liu H, Liu Y, Yu B, Liu Z and Zhang W (2004) Increased polyamines conjugated to tonoplast vesicles correlate with maintenance of the H⁺-ATPase and H⁺-PPase activities and enhanced osmotic stress tolerance in wheat. *Journal of Plant Growth Regulation*. 23: 156-165.
- 25-Liu Q, Kasuga M, Sakuma Y, Abe H, Miura S, Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K (1998) Two transcription factors, DREB1 and DREB2, 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.
- 26-Lorkowski S and Cullen P (2003) Analysing gene expression. A hand book of methods possibilities and pitfalls. WILEY-VCH. Printed in Germany. 163-594.
- 27-Maeshima M (2000) Vacuolar H⁺-pyrophosphatase. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1465: 37-51.
- 28-Munns R, Hare R A, James R A and Rebetzke G J (2000) Genetic variation for improving the salt tolerance of durum wheat. *Australian journal of Agricultural Research*, 51:69-74.
- 29-Munns R (2002) Comparative physiology of salt and water stress. *Plant, Cell and Environment*. 25: 239-250.
- 30-Munns R (2005) Genes and salt tolerance: bringing them together. *New Phytologist*. 167: 645-663.
- 31-Munns R and Tester M (2008) Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology*. 59: 651-658.
- 32-Nakona Y and Asada K (1981) Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiology*. 22: 867-880.
- 33-Nemoto Y, Kawakami N and Sasakuma T (1999) Isolation of novel salt responding genes from wheat by differential display. *Theoretical and Applied Genetics*. 98: 673-678.
- 34-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.
- 35-Rabbani M, Maruyama K, Abe H, et al (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.
- 36-Rodriguez M, Canales E and Borrás-Hidalgo O (2005) Molecular aspects of abiotic stress in plants. *Biotechnologia Aplicada*. 22: 1-10.
- 37-Sairam R and Tyagi A (2004) Physiology and molecular biology of salinity stress tolerance in plants. *Current Science*. 86: 3-10.
- 38-Sairam R, Chandrasekhar V and Sirivastava G (2001) Comparison of hexaploid and tetraploid wheat cultivars in their response to water stress. *Biologia Plantarum*. 44: 89-94.
- 39-Saqib M, Zorb C, Rengel Z and Schubert S (2005) The expression of the endogenous vacuolar Na⁺/H⁺ antiporters in roots and shoots correlates positively with the salt and ABA. *Journal of Experimental Botany*. 56: 2971-2981.
- resistance of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Science*. 169: 959-965.
- 40-Schatchman D P, Munns R and Whitecross M I (1991) Variation in sodium exclusion and salt tolerance in *Triticum tauschii*. *Crop Science*. 31: 992-997.
- 41-Seki M, Narusaka M, Ishida J, Nanjo T, Fujita M, Oono Y, Kamiya A, Nakajima M, Enju A, Sakurai T, Satou M, Akiyama K, Taji T, Yamaguchi-Shinozaki K, Carninci P, Kawai J, Hayashizaki Y and Shinozaki K (2002) Monitoring the expression profiles of 7000 *Arabidopsis* genes under drought, cold and high-salinity using a full-length cDNA microarray. *The Plant Journal*. 31: 279-292.
- 42-Taji T, Seki M, Satou M, Sakurai T, Kobayashi M, Ishiyama K, 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.
- 43-Tester M and Davenport R (2003) Na⁺ tolerance and Na⁺ transport in higher plants. *Annals of Botany*. 91: 503-527.
- 44-Wang H, Liu D, Sun J and Zhang A (2005) Asparagine synthetase gene *TaASN1* from wheat is up-regulated by salt stress, osmotic stress and ABA. *Journal of Plant Physiology*. 162: 81-89.
- 45-Xue Z, Zhi D, Xue G, Zhang H, Zhao Y and Xia G (2004) Enhanced salt tolerance of transgenic wheat (*Triticum aestivum* L.) expressing a vacuolar Na⁺/H⁺ antiporter gene with improved grain yields in saline soils in the field and a reduced level of leaf Na⁺. *Plant Science*. 167: 849-859.
- 46- Yang Y, Guo J, Zhang F, Zhao L and Zhang L (2004) NaCl induced changes of the H⁺-ATPase in root plasma membrane of two wheat cultivars. *Plant Science*. 166: 913-918.
- 47-Yu L, Lan W, Chen C and Yang Y (2004) Glutathione levels control glucose-6-phosphate dehydrogenase activity during elicitor-induced oxidative stress in cell suspension cultures of *Taxus chinensis*. *Plant Science*. 167: 329-335.
- 48-Zhang J, Klueva N, Wang Z, Wu R, Ho T, Nguyen H and Ho T H D (2000) Genetic engineering for abiotic stress resistance in crop plants. In *Vitro Cell Development Biological Plant*. 36: 108-114.
- 49-Zheng J, Zhao J, Tao Y, Wang J, Liu Y, Fu J, Jin Y, Gao P, Zhang J, Bai Y and Wang G (2004) Isolation and analysis of water stress induced genes in maize seedlings by subtractive PCR and cDNA macroarray. *Plant Molecular Biology*. 55: 807-823.
- 50-Zhu C, Schraut D, Hartung W and Schaffner A (2005) Differential responses of maize MIP genes to salt stress and ABA. *Journal of Experimental Botany*. 56: 2971-2981.
- 51-Zhu J (2001) Plant salt tolerance. *Trends in Plant Sciences* 6: 66-71.
- 52-Zhu J (2003) Regulation of ion homeostasis under salt stress. *Current Opinion in Plant Biology*. 6: 441-445.
- 53-Zhu C, Schraut D, Hartung W and Schaffner A (2005) Differential responses of maize MIP genes to salt stress



شکل (۱) مدل پیشنهادی برای نشان دادن ارتباط بین ژن های موثر در پاسخ به تنش شوری.