ژنتیک نوین
دوره نهم، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۳
صفحه ۳۷۹- ۳۷۳

# بررسی الگوی بیان ژن *BI-85* در ارقام حساس و متحمل گندم نان و خویشاوند وحشی *Aegilops crassa* تحت تنش شوری

# Study of expression pattern analysis of *BI-85* gene in tolerant and sensitive bread wheat cultivars and wild relative *Aegilops crassa* under salt stress

زهرا زینتی[۱]، عباس عالم‌زاده*[۱]، اسماعیل ابراهیمی[۱]، علی نیازی[۱]

۱- به ترتیب دانشجوی دکترای، استادیاران و دانشیار، دانشگاه شیراز، ایران

**Zinati Z[1], Alemzadeh A[*1], Ebrahimie E[1], Niazi A[1]**

1. PhD student, Assistant Professors, Associated Professor, Shiraz University, Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: alemzadeh@shirazu.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۹۲/۸/۱- تاریخ پذیرش: ۹۲/۱۲/۱۱)

## چکیده

**این پژوهش با هدف شناسایی ژن‌های موثر در تحمل به شوری در گندم از طریق بررسی توالی‌های EST و بررسی نقش ژن رمز کننده BAX Inhibitor 1-like protein (*BI-85*) در پاسخ به تنش شوری اجرا شد. تجزیه و تحلیل اطلاعات EST نشان داد که ژن *BI-85* در پاسخ به تنش شوری افزایش بیان داشت. به همین دلیل این ژن جهت بررسی بیشتر و تایید نقش آن در پاسخ به تنش شوری در ژنوتیپ‌های زراعی متحمل و حساس گندم و خویشاوند وحشی *Aegilops crassa* انتخاب شد. بررسی بیان این ژن در بافت ریشه با استفاده از Real-time PCR در زمان-های صفر، ۱۲ ساعت و ۳ هفته پس از اعمال تنش شوری نشان داد که میزان بیان این ژن تحت تنش شوری به طور معنی‌داری در *Aegilops crassa* (دارنده ژنوم DD) بیشتر از ژنوتیپ‌های زراعی متحمل و حساس افزایش می‌یابد اگرچه در شرایط بدون تنش میزان بیان آن در سه ژنوتیپ مورد آزمایش تفاوت معنی‌داری نداشت. میزان بیان ژن *BI-85*، ۱۲ساعت بعد از اعمال تنش به طور معنی‌داری نسبت به زمان قبل از تنش در *Aegilops crassa* افزایش یافت و سه هفته بعد از اعمال تنش به شدت کاهش یافت در حالی‌که میزان بیان این ژن در ارقام گندم در زمان‌های قبل و بعد از تنش تفاوت معنی‌داری نداشت. به نظر می‌رسد که محصول ژن *BI-85* در مسیرهای انتقال علائم خاصی که تنها در ژنوتیپ‌های متحمل وحشی وجود دارند و باعث افزایش تحمل نسبت به تنش شوری می‌شوند نقش دارد و همچنین محصول ژن *BI-85* به صورت بازخورد منفی سبب کنترل بیان این ژن می‌شود.**

**واژه‌های کلیدی**

بیان ژن
تنش شوری
ژنوم
Real-time PCR
DNA

[ Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-26 ]

[ DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.3.12.5 ]

## مقدمه

شوری خاک یکی از عوامل مهم محیطی است که توزیع و بهره وری گیاهان زراعی را محدود می‌کند. تقریبا ۲۰ درصد زمین‌های زراعی دنیا تحت تاثیر شوری می‌باشد (Sahi et al. 2006). پژوهش‌هایی در رابطه با تحمل به شوری در گیاهان زراعی انجام شده اما ماهیت پیچیده و پلی‌ژنی تحمل به تنش شوری باعث مشکلاتی در اصلاح گیاهان متحمل به شوری می‌شود (Zhu 2000). تحقیقات بیانگر تغییر در بیان ژن در گیاهان تحت تنش شوری هستند (Apse et al. 1999). همچنین مطالعه گیاهان تراریخته این نظریه را که تغییر بیان ژن‌ها می‌تواند منجر به افزایش تحمل گیاهان به تنش‌ها شود، حمایت می‌کند (Van Camp et al. 1996; Shikanai et al. 1998; Apse et al. 1999). در آرابیدوپسیس مشخص شده که در اثر افزایش بیان ژن رمز کننده $Na^+/H^+$ آنتی‌پورتر تحت تنش شوری، میزان تحمل این گیاه به تنش افزایش یافته است (Apse et al. 1999). همچنین تحقیقات نشان می‌دهند که با افزایش بیان ژن رمز کننده گلوتامین سینتتاز کلروپلاستی در برنج تحت شرایط تنش میزان تحمل این گیاه به شوری افزایش یافته است (Hoshida et al. 2000). هم اکنون روش‌های جدیدی برای درک بیشتر اصول ژنتیکی تحمل به تنش‌های غیرزیستی در دسترس هستند و به ما این امکان را می‌دهد که پیچیدگی‌های پاسخ به تنش را در مقیاس وسیع از طریق پروفایل بیان در سطح کل ژنوم مورد توجه قرار دهیم - (Richmond and Somerville 2000; Reymond et al. 2000). در این زمینه تجزیه EST یک روش موثر در نقشه‌یابی بسیاری از ژن‌ها و کشف ژن‌های جدید و بررسی بیان ژن‌ها در اندام‌ها و بافت‌های مختلف است و روشی برای شناسایی ژن‌های موثر در کارکردهای بیولوژی خاص است (Gueguen et al. 2003). طی تحقیق که توسط (Houde et al. 2006) انجام شد، با ایجاد ۷۳۵۲۱ توالی EST از گندم نان در مراحل مختلف نموی و در معرض تنش‌های سرما، شوری و خشکی و ترکیب آن‌ها با ۱۹۶۰۴۱ توالی EST موجود در بانک‌های اطلاعاتی و دسته‌بندی تمام توالی‌های ترکیب شده، به ۷۵۴۸۸ توالی شامل ۳۱۵۸۰ کانتیگ و ۴۳۹۰۸ سینگل تون دست یافتند. بیش از ۴۳ درصد از این مجموعه‌ها تجزیه کارکردی شده و گروه‌های کارکردی مربوط به آن‌ها تعیین شد (Houde et al. 2006). روش EST در کشف ژن‌های جدید و تعیین الگوهای بیان در گیاهان *Suaeda salsa* (Zhang et al. 2001)، *Thellungiella halophila* (Wang et al. 2004)، *Avicennia* (Mehta et al. 2005) و *Mesembryanthemum crystallinum* (Kore-eda et al. 2004) در پاسخ به تنش شوری مورد استفاده قرار گرفته است. طی تحقیقی روی گیاه شورپسند *Aeluropus littoralis*، به عنوان گیاهی که می‌تواند منبع ژنتیکی ارزشمندی برای ژن‌های مقاومت به شوری و خشکی باشد، سه کتابخانه cDNA از بافت‌های ریشه و برگ در شرایط مختلف تیمار شوری ایجاد شد و نهایتا ۱۲۶۸ توالی EST توالی‌یابی شد. پس از مقایسه با پایگاه‌های داده پروتئینی، ۶۸ درصد از توالی‌ها در گروه پروتئین‌های با کارکرد مشخص، ۱۲ درصد در گروه توالی‌های مشابه ناشناس و ۲۰ درصد در هیچ گروهی قرار نگرفت که می‌تواند دلیلی بر جدید بودن آن‌ها باشد (Zouari et al. 2007). به طور حتم شناسایی و بررسی کارکرد ژن‌های پاسخ‌دهنده به تنش شوری می‌تواند به درک مکانیسم‌های کلیدی تنش شوری کمک کند (Grover et al. 2001).

در این پژوهش سعی شده تا با بررسی توالی‌های EST موجود در کتابخانه‌های کنترل و تنش شوری گندم، ژن‌های پاسخ دهنده به تنش شوری و ژن‌های مهم شناسایی شوند. سپس در میان ژن‌های پاسخ دهنده به تنش شوری، بیان ژن *BI-85* در پاسخ به تنش شوری در ریشه دو ژنوتیپ متحمل و حساس گندم نان و یک خویشاوند وحشی آن *Aegilops crassa* با استفاده از Real-time PCR مورد بررسی و مطالعه قرار گرفت.

## مواد و روش‌ها

جمع آوری اطلاعات EST

اعمال تنش شوری، نمونه‌برداری و تهیه cDNA

به منظور بررسی بیان ژن *BI-85* تحت شرایط تنش شوری و غیر تنش، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز انجام شد. فاکتورهای آزمایشی شامل شوری در دو سطح (بدون تنش و تنش ۱۵۰ mM کلرید سدیم)، ژنوتیپ شامل ارقام



[ Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-26 ]

[ DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.3.12.5 ]

گندم ارگ (متحمل به شوری) و الموت (حساس به شوری) و یک خویشاوند وحشی (*A. crassa*) و زمان نمونه‌برداری در سه سطح (زمان تنش، ۱۲ ساعت پس از تنش و ۳ هفته پس از تنش) بودند. در این پژوهش از محیط کشت مایع هوگلند با غلظت عناصر غذایی نصف شده (Kerepesi and Galiba 2000) استفاده شد (جدول۱). گیاهچه‌های ۲۱ روزه تحت تنش شوری قرار گرفتند و نمونه‌برداری از بافت ریشه انجام شد. در ادامه استخراج RNA و سنتز cDNA و واکنش Real-time PCR به ترتیب توسط کیت column RNA isolation kit (دنازیست، S-1020-1)، First Strand cDNA Synthesis Kit (فرمنتاز، EP0441) و SYBR PCR kit PrimeScript RT- (تاکارا، RR820W) طبق دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد.

طراحی آغازگر و واکنش Real-time PCR

آغازگرها برای تکثیر ژن *BI-85* و ژن اکتین به عنوان کنترل داخلی با استفاده از نرم‌افزار AlleleID طراحی شدند (جدول۲). برای بررسی بیان ژن مورد نظر با روش Real-time PCR عمل تکثیر با استفاده از آغازگرهای طراحی شده در حجم ۲۰ میکرولیتر انجام شد. مواد مورد استفاده در واکنش Real-Time PCR شامل ۱۰ میکرولیتر از مخلوط SYBR Green PCR Master Mix، µM ۰/۵ از هر آغازگر، یک میکرولیتر از cDNA به عنوان رشته الگو و ۸ میکرولیتر آب مقطر بود. برنامه واکنش شامل $94^{\circ}C$ به مدت دو دقیقه و سپس۴۰ چرخه با $94^{\circ}C$ برای ۱۰ ثانیه، $51/3^{\circ}C$ برای ۱۵ ثانیه و $72^{\circ}C$ برای ۳۰ ثانیه بود. پس از پایان واکنش جهت بررسی اختصاصی بودن واکنش از منحنی ذوب با برنامه دمایی ۰/۵ درجه برای هر چرخه و دمای $95^{\circ}C$–۵۰ استفاده شد. لازم به ذکر است که واکنش Real-time PCR با دستگاه Bioer ساخت کشور چین انجام شد.

تجزیه داده‌های Real-time PCR

با استفاده از نرم‌افزار LineGene، ابتدا Ct (Cycle threshold) هر نمونه برای ژن اصلی و مرجع اکتین، با تعیین base line محاسبه شد. بدین صورت که محل تقاطع base line با ابتدای فاز نمایی نمودار تکثیر واکنش Real-time PCR، به عنوان Ct در نظر گرفته شد. تجزیه Ctهای حاصل با استفاده از روش کمی سنجی نسبی انجام شد. در این روش پس از تصحیح بیان ژن اصلی با استفاده از ژن مرجع با استفاده از فرمول $2^{-\Delta\Delta Ct}$ میزان بیان نسبی، میزان تغییر بیان ژن اصلی نسبت به شاهد، محاسبه شد (Pfaffl 2001). با استفاده از نرم افزار SAS اختلاف معنی‌دار بیان ژن *BI-85* در ژنوتیپ‌های متحمل، حساس و خویشاوند وحشی گندم مورد مقایسه قرار گرفت.

تکثیر ژن *BI-85*، همسانه‌سازی و توالی‌یابی آن

جهت تکثیر قطعه‌ای از ژن *BI-85* یک میکرولیتر از cDNA به عنوان رشته الگو توسط آغازگرهای اختصاصی (در حجم ۲۰ میکرولیتر) واکنش زنجیره‌ای پلیمراز شامل mM ۱۰ تریس، mM ۵۰ کلرید پتاسیم، mM ۱/۵ کلرید منیزیم، µM ۲۰۰ از هر یک از نوکلئوتید تری فسفات‌ها، µM ۰/۵ از هر یک از آغازگرها و یک واحد آنزیم دی‌انا پلیمراز تحت چرخه حرارتی $94^{\circ}C$ به مدت ۳۰ ثانیه، $51/3^{\circ}C$ به مدت ۲۰ ثانیه و $72^{\circ}C$ به مدت ۳۰ ثانیه تکثیر شد. این چرخه ۳۰ بار تکرار شد و سپس قطعات برای تکثیر نهایی به مدت ۱۵ دقیقه در دمای $72^{\circ}C$ قرار داده شدند. برای همسانه سازی محصول PCR از TA clone PCR Cloning (k1213)Ins ساخت شرکت فرمنتاز استفاده شد. قطعه تکثیر شده درون ناقل pTZ57R/T الحاق شده، سپس طبق دستورالعمل کیت همسانه‌سازی به سلول‌های باکتری DH5α انتقال یافت و روی محیط LB جامد حاوی آنتی‌بیوتیک آمپی‌سیلین (۵۰ µg/ml)، IPTG[1] (۲۰µg/ml)، X-gal[2] (۲۰ µg/ml) کشت داده شدند. از کلنی‌های آبی و سفید تشکیل شده، کلنی‌های سفید که حاوی پلاسمید نوترکیب بودند روی محیط کشت انتخابی LB شناسایی شدند. حدود ۱۰۰ نانوگرم از پلاسمیدهای نوترکیب توسط GeneJET Plasmid Miniprep Kit (فرمنتاز، K0502) استخراج شد و جهت توالی‌یابی به شرکت تکاپو زیست ارسال شد. پس از توالی‌یابی، توالی مربوط به ناقل توسط نرم افزار vector حذف شد و توالی نوکلئوتیدی باقی‌مانده با استفاده از برنامه‌های blastx و blastn با توالی‌های موجود در سایت NCBI مقایسه شد.

## نتایج و بحث

تجزیه داده‌های EST در دو کتابخانه تحت تنش شوری و غیرتنش

[1] Isopropyl β-D-1-thiogalactopyranoside
[2] Bromo-chloro-indolyl-galactopyranoside



[ Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-26 ]
[ DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.3.12.5 ]

جدول۱- عناصر غذایی محیط کشت هوگلند با غلظت عناصر غذایی نصف شده.

| غلظت مواد | نوع ماده |
|---|---|
| ۵ mM | KNO3 |
| ۵ mM | $Ca(NO_3)_24H_2O$ |
| ۲ mM | $MgSO_47H_2O$ |
| ۱ mM | $KH_2PO_4$ |
| ۰/۱ mM | NaFe-EDTA |
| ۱۱/۵ mM | $H_3BO_3$ |
| ۴/۶ mM | $MnCl_2.4H_2O$ |
| ۰/۲ mM | $ZnSO_47H2O$ |
| ۰/۱۲ mM | $NaMO_4\ 7H_2O$ |
| ۰/۰۸ mM | $CuSO_4\ 5H_2O$ |

جدول۲- اسامی و توالی آغازگرهای مورد استفاده در این پژوهش.

| طول قطعه تکثیر شده (bp) | دمای ذوب (°C) | توالی آغازگر (5′-3′) | نام آغازگر | ژن رمز کننده |
|---|---|---|---|---|
| ۳۵۱ | ۵۷ | TATGCCAGCGGGCGAACAAC | ActinF | Actin |
| | | GGAACAGCACCTCAGGGCAC | ActinR | |
| ۱۱۱ | ۵۱/۳ | GAGGAGAGGAAGAGGTTTGG | BAXF | BAX Inhibitor like-1 protein |
| | | TGTCACGAGGATGCTTGG | BAXR | |

نشان داد که ژن رمزکننده پروتئین BAX Inhibitor 1-like protein (*BI-85*) تنها در شرایط تنش بیان می‌شود. BAX Inhibitor، عامل بازدارنده مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده می‌باشد (Isbat et al. 2009). گزارش شده که مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده در سلول-های مریستم نوک ریشه که تحت تنش شوری بودند، القا شده است (Huh et al. 2002). تحقیقات در همولوگ‌های این ژن در گیاهان مختلف نشان داده که بیان این ژن در تنش‌های مختلف افزایش می‌یابد. با بررسی بیان ارتولوگ این ژن در آرابیدوپسیس مشخص شده که بیان *AtBI-1* تحت حمله باکتریایی و زخم افزایش می‌یابد (Sanchez et al. 2000). این افزایش بیان هم در برهمکنش‌های سازگار و هم غیرسازگار بین گیاه و باکتری *Pseudomonas syringae* و هم در تلقیح با پاتوژن غیر بیماری‌زای *Escherichia coli* مشاهده شده است (Sanchez et al. 2000). در تحقیق دیگر کاهش بیان ژن *BI-1* در سلول‌های کشت شده برنج در معرض بلاست برنج، با افزایش مرگ سلولی همراه بوده و افزایش بیان *BI-1* توانست بقای سلول را در برابر بلاست برنج بهبود دهد (Matsumura et al. 2003). تحقیقات نشان داده‌اند که بیان ژن *BaxI* در جو بعد از تلقیح توسط سفیدک پودری *Blumeria graminis* هم در برهمکنش‌های سازگار و هم ناسازگار القا می‌شود (Eichmann et al. 2004; Huckelhoven 2004; Babaeizad et al. 2009).

با وجود تمامی این تحقیقات تاکنون گزارشی از الگوی بیان این ژن در ژنوتیپ‌های مقاوم و حساس گندم و خویشاوندان وحشی آن تحت تنش شوری ارایه نشده است. به همین دلیل پژوهش حاضر به منظور مقایسه میزان و الگوی بیان ژن *BI-85* در ژنوتیپ‌های زراعی و خویشاوندان وحشی گندم با استفاده از Real-time PCR انجام شد. اجداد گندم به ویژه گونه‌های *Aegilops* منابع با ارزشی از ژن‌های مقاومت به تنش‌های زیستی و غیرزیستی می‌باشند (Leonva and Chikida 2011). گزارش شده که گونه‌های *Aegilops* با داشتن ژنوم D یکی از متحمل‌ترین خویشاوندان وحشی گندم به شوری می‌باشند (Munns and James 2003). پس از انجام PCR جهت تایید توالی تکثیر شده، محصول واکنش PCR همسانه‌سازی و توالی‌یابی شد. تجزیه توالی مذکور توسط blastn نشان داد توالی قطعه تکثیر شده از ژنوتیپ وحشی *Aegilops crassa* ، همولوژی صد درصد و E-value=0 با ژن *BI-85* داشت. بیان ژن *BI-85* در زمان‌های مختلف پس از اعمال تنش شوری در ژنوتیپ وحشی *A. crassa*



[ Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-26 ]

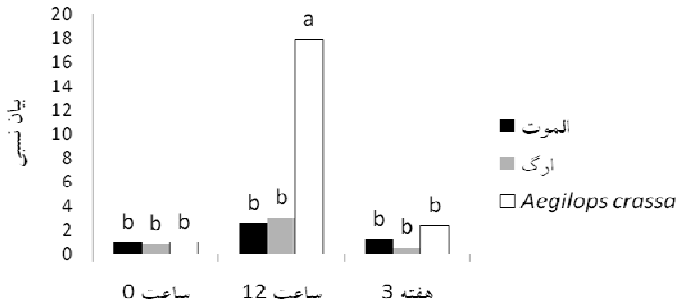
[ DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.3.12.5 ]

بیشتر از ژنوتیپ‌های زراعی گندم حساس (الموت) و متحمل (ارگ) القا شده بود که این افزایش بیان در ۱۲ ساعت بعد از اعمال تنش معنی‌دار بود در حالیکه میزان بیان این ژن تحت تاثیر تنش در رقم حساس و مقاوم گندم به طور معنی داری تغییر نکرد (شکل۱). این افزایش بیان در *A.crassa*، در ۱۲ ساعت و ۳ هفته پس از تنش، در گیاهان تحت تنش به ترتیب نزدیک به ۱۸ و ۲/۵ برابر بود (شکل۱). این نتایج می‌تواند بیانگر نقش مهم ژن *BI-85* در *A. crassa* در تحمل به تنش باشد. همچنین ۱۲ ساعت پس از اعمال تنش شوری بیان ژن *BI-85* در ژنوتیپ‌های متحمل و حساس گندم مورد بررسی نیز نسبت به کنترل افزایش یافت اگر چه این افزایش معنی‌دار نبود (شکل۱) که با نتایج تحقیقات Wang et al. (2012) مطابقت داشت. این محققین نشان دادند که میزان بیان ژن رمز کننده *BAX Inhibitor*-1 در تیمارهای تنش خشکی و شوری در گندم افزایش می‌یابد. بیان این ژن یک ساعت پس از تنش خشکی و ۴۸ ساعت پس از تنش شوری به ترتیب حدود دو و چهار برابر افزایش یافته است (Wang et al. 2012). در فلفل نیز میزان بیان *CaBI-1*، در پاسخ به دمای بالا و پائین، تنش خشکی، تنش شوری، سیل، تنش فلزات سنگین و آبسزیک اسید افزایش یافته و میزان تحمل گیاهان تراریخته حاوی این ژن به دمای بالا، کمبود آب و شوری در مقایسه با گیاهان کنترل، به طور قابل توجهی افزایش یافته است (Isbat et al. 2009).

مقایسه میانگین‌ها نشان داد که در ژنوتیپ متحمل ارگ و خویشاوند وحشی *A. crassa*، میزان بیان نسبی ژن *BI-85*، ۱۲ ساعت بعد از اعمال تنش، در مقایسه با زمان صفر و سه هفته بعد از اعمال تنش، افزایش یافته است به گونه‌ای که بعد از ۱۲ ساعت میزان بیان نسبی در آن‌ها به ترتیب ۳ و ۱۸ برابر شده بود، درحالی‌که میزان افزایش در بیان نسبی این ژن در ژنوتیپ حساس الموت در زمان‌های مختلف پس از اعمال تنش و بدون تنش شوری کمتر بود (شکل۱). این یافته می‌تواند بیانگر نقش محصول این ژن در تحمل به شوری در رقم ارگ و *A. crassa* باشد. این نتایج نشان می‌دهند که احتمالا مسیر(های) انتقال علائم خاصی در ژنوتیپ مقاوم ارگ و *A. crassa* وجود دارد که در هنگام تنش شوری فعال شده و سبب افزایش بیان ژن *BI-85* در گیاه می‌شوند در حالی‌که ژنوتیپ حساس به شوری، الموت، فاقد این مسیر(ها) می‌باشد. نکته قابل توجه دیگری که از نتایج این تحقیق استنباط می‌شود آن است که اولا محصول ژن *BI-85* در این مسیر(ها) نقش مهمی ایفا می‌کند و ثانیا به عنوان بازخورد منفی روی مسیر اثر می‌گذارد که همین امر سبب کاهش بیان ژن *BI-85* پس از سه هفته در ژنوتیپ مقاوم ارگ و *A. crassa* می‌شود. احتمالا چون ژنوتیپ حساس الموت فاقد این مسیر انتقال علائم می‌باشد میزان بیان ژن *BI-85* در آن قبل و بعد از تنش کمتر تغییر کرده است (شکل ۱). چنین تنظیمی برای ژن‌های مختلف به اثبات رسیده است (Sheen 1994; Martin et al. 1996) اگرچه تا کنون هیچ گزارشی در رابطه با کنترل بیان ژن *BI-85* به صورت بازخورد منفی یا مثبت گزارش نشده است. از سوی دیگر نتایج نشان دادند که هرچه میزان بیان نسبی این ژن در ۱۲ ساعت پس از تنش بیشتر بوده سرعت کاهش آن نیز پس از سه هفته با شیب بیشتری همراه بوده است (شکل ۱). به طوری که میزان بیان نسبی ژن *BI-85* از ۱۲ ساعت پس از اعمال تنش تا سه هفته پس از اعمال تنش در ژنوتیپ‌های *A. crassa* و ارگ به ترتیب ۷/۵ و ۵/۵ برابر کاهش یافته است. دلیل این امر ممکن است همان بازخورد منفی محصول ژن *BI-85* روی مسیر انتقال علائمی باشد که باعث القا بیان ژن می‌شود. بدین صورت که در اثر بیان بیشتر ژن در *A. crassa* نسبت به ارگ در ۱۲ ساعت پس از تنش میزان محصول بیشتری از این ژن در گیاه تولید می‌شود که همین امر باعث انسداد بیشتر مسیر انتقال علائم مذکور در *A. crassa* نسبت به ارگ می‌شود و در نتیجه بیان ژن مذکور با شیب بیشتری در *A. crassa* کاهش می‌یابد. در مجموع می‌توان بیان داشت که اطلاعات حاصل از بررسی ژن‌های مرتبط با تحمل به شوری که از تجزیه و تحلیل ترانسکریپتوم بدست آمدند یک منبع اطلاعاتی بسیار مفید برای شناسایی ژن‌های ناشناخته موثر در پاسخ به تنش هستند و می‌توان با انتقال آنها به گیاهان مدل، کارکرد خاص این ژن‌ها را در تحمل به شوری بررسی کرد و در نهایت از آن‌ها به عنوان ژن‌های هدف در مهندسی ژنتیک گیاهان زراعی استفاده کرد که در صورت موفقیت، به تولید ارقامی با تحمل به شوری بالا خواهد انجامید. همچنین بررسی بیان ژن‌های پاسخ‌دهنده به شوری در خویشاوندان وحشی جهت یافتن همولوگ‌های برتر و



[ Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-26 ]
[ DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.3.12.5 ]




شکل ۱- بیان نسبی ژن *BI-85* در زمان‌های مختلف پس از اعمال تنش شوری در رقم حساس الموت، رقم مقاوم ارگ و خویشاوند وحشی *Aegilops crassa* داده‌های مورد استفاده در ترسیم نمودار میانگین سه تکرار می‌باشند. در هر نمودار میانگین‌هایی که دارای حروف مشابه می‌باشند با استفاده از آزمون دانکن و در سطح ۵ درصد اختلاف آماری معنی‌دار با یکدیگر ندارند.

استفاده از آن‌ها در برنامه‌های اصلاحی می‌تواند راهکار موثری در ایجاد متحمل به تنش باشد. بر اساس نتایج این تحقیق می‌توان انتظار داشت با انتقال کاست ژنی حاوی ژن *BI-85* گرفته شده از *A. crassa* همراه با نواحی تنظیمی بالا دست و پایین دست آن به ژنوتیپ‌های گندم میزان تحمل به شوری را در آنها افزایش داد.

## منابع


Apse MP, Aharon GS, Snedden WA, Blumwald E (1999) Salt tolerance conferred by overexpression of a vacuolar $Na^+/H^+$ antiport in Arabidopsis. Science 285: 1256-1258.

Babaeizad V, Imani J, Kogel KH, Eichmann R, Huckelhoven R (2009) Over-expression of the cell death regulator BAX inhibitor-1 in barley confers reduced or enhanced susceptibility to distinct fungal pathogens. Theoretical and Applied Genetics 118: 455-463.

Eichmann R, Schultheiss H, Kogel KH, Huckelhoven R (2004) The barley apoptosis suppressor homologue BAX inhibitor-1 compromises nonhost penetration resistance of barley to the inappropriate pathogen Blumeria graminis f. sp. tritici. Molecular Plant-Microbe Interactions 17: 484-490.

Grover A, Kapoor A, Satya Lakshmi O, Agarwal S, Sahi C, Katiyar-Agarwal S, Agarwal M, Dubey H (2001) Understanding molecular alphabets of the plant abiotic stress responses. Current Science 80: 206-216.

Gueguen Y, Cadoret JP, Flament D, Barreau-Roumiguiere C, Girardot AL, Garnier J, Hoareau A, Bachere E, Escoubas JM (2003) Immune gene discovery by expressed sequence tags generated from hemocytes of the bacteria-challenged oyster, Crassostrea gigas. Gene 303: 139-145.

Hoshida H, Tanaka Y, Hibino T, Hayashi Y, Tanaka A, Takabe T (2000) Enhanced tolerance to salt stress in transgenic rice that overexpresses chloroplast glutamine synthetase. Plant Molecular Biology 43: 103-111.

Houde M, Belcaid M, Ouellet F, Danyluk J, Monroy AF, Dryanova A, Gulick P, Bergeron A, Laroche A, Links MG, MacCarthy L, Crosby WL, Sarhan F (2006) Wheat EST resources for functional genomics of abiotic stress. BMC Genomics 7: 149.

Huckelhoven R (2004) BAX Inhibitor-1, an ancient cell death suppressor in animals and plants with prokaryotic relatives. Apoptosis 9: 299-307.

Huh GH, Damsz B, Matsumoto TK, Reddy MP, Rus AM, Ibeas JI, Narasimhan ML, Bressan RA, Hasegawa PM (2002) Salt causes ion disequilibrium-induced programmed cell death in yeast and plants. Plant Journal 29: 649-659.

Isbat M, Zeba N, Kim SR, Hong CB (2009) A BAX inhibitor-1 gene in Capsicum annuum is induced under various abiotic stresses and endows multi-tolerance in transgenic tobacco. Journal of Plant Physiology 166: 1685-1693.

Kerepesi I, Galiba G (2000) Osmotic and Salt Stress-Induced Alteration in Soluble Carbohydrate Content in Wheat Seedlings. Crop Science 40: 482-487.

Kore-eda S, Cushman MA, Akselrod I, Bufford D, Fredrickson M, Clark E, Cushman JC (2004) Transcript profiling of salinity stress responses by large-scale expressed sequence tag analysis in Mesembryanthemum crystallinum. Gene 341: 83-92.

Leonova TG, Chikida NN (2011) Assessment of salt tolerance of *Aegilops* L. from the VIR collection. Russian Agricultural Sciences 37: 283-285.

Martin DN, Proebsting WM, Parks TD, Dougherty WG, Lange T, Lewis MJ, Gaskin P, Hedden P (1996) Feed-back regulation of gibberellin biosynthesis and gene expression in *Pisum sativum* L. Planta 200: 159-166.

Matsumura H, Nirasawa S, Kiba A, Urasaki N, Saitoh H, Ito M, Kawai-Yamada M, Uchimiya H, Terauchi R (2003) Overexpression of Bax inhibitor suppresses the fungal elicitor-induced cell death in rice (*Oryza sativa* L) cells. Plant Journal 33: 425-434.

Mehta PA, Sivaprakash K, Parani M, Venkataraman G, Parida AK (2005) Generation and analysis of expressed sequence tags from the salt-tolerant mangrove species Avicennia marina (Forsk) Vierh. Theoretical and Applied Genetics 110: 416-424.




[ Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-26 ]
[ DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.3.12.5 ]

Munns R, Richards RA (2007) Recent Advances in Breeding Wheat for Drought and Salt Stresses. In: Jenks M, Hasegawa P, Jain SM (eds) Advances in Molecular Breeding Toward Drought and Salt Tolerant Crops. Springer Netherlands, pp 565-585

Pfaffl MW (2001) A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. Nucleic Acids Research 29

Reymond P, Weber H, Damond M, Farmer EE (2000) Differential gene expression in response to mechanical wounding and insect feeding in Arabidopsis. Plant Cell 12: 707-720.

Richmond T, Somerville S (2000) Chasing the dream: plant EST microarrays. Current Opinion in Plant Biology 3: 108-116.

Sahi C, Singh A, Blumwald E, Grover A (2006) Beyond osmolytes and transporters: novel plant salt-stress tolerance-related genes from transcriptional profiling data. Physiologia Plantarum 127: 1-9.

Sanchez P, de Torres Zabala M, Grant M (2000) AtBI-1, a plant homologue of Bax inhibitor-1, suppresses Bax-induced cell death in yeast and is rapidly upregulated during wounding and pathogen challenge. Plant Journal 21: 393-399.

Sheen J (1994) Feedback control of gene expression. Photosynthesis Research 39: 427-438.

Shikanai T, Takeda T, Yamauchi H, Sano S, Tomizawa KI, Yokota A, Shigeoka S (1998) Inhibition of ascorbate peroxidase under oxidative stress in tobacco having bacterial catalase in chloroplasts. FEBS Letters 428: 47-51.

Van Camp W, Capiau K, Van Montagu M, Inze D, Slooten L (1996) Enhancement of oxidative stress tolerance in transgenic tobacco plants overproducing Fe-superoxide dismutase in chloroplasts. Plant Physiology 112: 1703-1714.

Wang X, Tang C, Huang X, Li F, Chen X, Zhang G, Sun Y, Han D, Kang Z (2012) Wheat BAX inhibitor-1 contributes to wheat resistance to Puccinia striiformis. Journal of Experimental Botany 63: 4571-4584.

Wang Z-l, Li P-h, Fredricksen M, Gong Z-z, Kim CS, Zhang C, Bohnert HJ, Zhu J-K, Bressan RA, Hasegawa PM, Zhao Y-x, Zhang H (2004) Expressed sequence tags from Thellungiella halophila, a new model to study plant salt-tolerance. Plant Science 166: 609-616.

Zhang L, Ma XL, Zhang Q, Ma CL, Wang PP, Sun YF, Zhao YX, Zhang H (2001) Expressed sequence tags from a NaCl-treated Suaeda salsa cDNA library. Gene 267: 193-200.

Zhu JK (2000) Genetic analysis of plant salt tolerance using Arabidopsis. Plant Physiology 124: 941-948.

Zouari N, Ben Saad R, Legavre T, Azaza J, Sabau X, Jaoua M, Masmoudi K, Hassairi A (2007) Identification and sequencing of ESTs from the halophyte grass Aeluropus littoralis. Gene 404: 61-69.

[ Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-26 ]
[ DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.3.12.5 ]