

ارزیابی میزان سیلیکون و بیان ژن‌های رمزده ناقلین آن در گندم تحت تنش خشکی

Assessment of silicon content and expression of its transporters encoding genes in wheat under drought stress

امین‌اله چلوی^{۱*}، رضا فتوت^۱، افشین توکلی^۱، زهرا سادات شبر^۲

۱- به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد، استادیاران، دانشگاه زنجان

۲- استادیار، پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران

Chalavi A^{*1}, Fotovat R¹, Tavakoli A¹, Shobbar ZS²

1.MSc Student, Assistant Professors, Zanzan University

2. Assistant Professor, Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: chalaviamin@yahoo.com

(تاریخ دریافت: ۹۲/۱۰/۱۷- تاریخ پذیرش: ۹۳/۹/۱۸)

چکیده

خشکی یکی از تنش‌های مهم محیطی می‌باشد که گیاهان را از جهات مختلف تحت تاثیر قرار می‌دهد و وقوع گسترده آن منجر به خسارات اقتصادی در بخش کشاورزی می‌شود. به منظور تعیین غلظت عنصر سیلیکون، ردیابی و مطالعه الگوی بیان ژن‌های درگیر در جذب عنصر سیلیکون در گندم، ارقام یاواروس، نوید، هامون و N-80-19 در گلخانه در شرایط طبیعی و تنش خشکی در قالب آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی کشت شد. در مرحله چهار برگی با قطع آبیاری تیمار خشکی اعمال شد. چهار روز بعد از قطع آبیاری نمونه‌گیری از بافت ریشه برای استخراج RNA و از بافت برگ جهت تعیین میزان غلظت سیلیس صورت گرفت. نتایج تجزیه واریانس غلظت عنصر سیلیس در ارقام مورد آزمایش نشان داد که بین تیمار خشکی و کنترل در رقم نوید اختلاف معنی‌داری وجود دارد و در سایر ارقام اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. در شرایط خشکی بین ارقام تفاوت معنی‌داری وجود نداشت در حالی که در شرایط کنترل ارقام تفاوت معنی‌داری را نشان دادند. بیان ژن *Tasi1* در واریته نوید تحت تیمارهای کنترل و خشکی اختلاف معنی‌داری نشان داد که بیانگر تاثیر تنش خشکی بر افزایش بیان این ژن بود. بیان این ژن در سایر واریته‌ها تحت تیمارهای مورد مطالعه اختلاف معنی‌داری نداشت. بیان ژن ردیابی شده *Tasi2* نیز در سایر واریته‌ها تحت تیمارهای کنترل و خشکی تفاوت معنی‌داری نداشت.

واژه‌های کلیدی

خشکی
سیلیکون
گندم
RNA
Transporter

مقدمه

خشکی یکی از مهمترین تنش‌های محیطی است که منجر به کاهش ۵۰ درصد عملکرد می‌شود (Bray et al. 2000). تنش خشکی جذب CO_2 به وسیله برگ را با بسته شدن روزنه کاهش می‌دهد و موجب اختلال فعالیت آنزیم‌های مختلف به ویژه آنزیم تثبیت CO_2 و سنتز ATP می‌شود (Farooq et al. 2008). در شرایط نامناسب دفاع‌های آنتی‌اکسیدانی در غشای سلول و اندامک‌ها برای حفاظت حیاتی گیاهان افزایش می‌یابد (Kocsy et al. 1996; Ghamdi 2009). گیاهان به یک سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدان پیچیده و بسیار کارآمد مجهز هستند که می‌تواند به تنش خشکی پاسخ و سازش یابد، این سیستم متشکل از محافظ‌های غیرآنزیمی و مکانیسم‌های آنزیمی برای قطع آبشارهای اکسیداتیو کنترل نشده در برخی اندام‌ها می‌باشد (Al-Ghamdi 2009). سیلیکون بعد از اکسیژن فراوانترین عنصر موجود در پوسته زمین به شمار می‌رود. از آنجا که دی اکسید سیلیکون شامل ۷۰-۵۰ درصد جرم خاک است، همه گیاهانی که در خاک رشد می‌کنند دارای مقداری سیلیکون در بافت‌هایشان هستند (Epstein 2003). سیلیس یک عنصر ضروری برای گیاهان عالی است، زیرا کمبود سیلیس باعث ایجاد حالت‌های غیرعادی مختلفی در گیاهان می‌شود (Ma and Takahashi 2002). غلظت سیلیس در اندام‌های هوایی گیاهان بسیار متفاوت بوده و حدود ۰/۱ تا ۱۰ درصد وزن ماده خشک می‌باشد. تفاوت زیاد غلظت سیلیس در بافت‌های گیاهی عمدتاً به تفاوت در ویژگی‌های جذب و انتقال سیلیس در گیاهان نسبت داده شده است (Jones 1994; Handreck 1967; Jarvis 1987; Epstein 1994). عملکرد سیلیکون حفاظت گیاهان در برابر تنش‌های زنده و غیرزنده مختلف بوده (Ma et al. 2002) بنابراین اثر سیلیکون روی رشد گیاه تحت وضعیت تنش آشکار می‌شود. سیلیکون می‌تواند از طریق کاهش تعرق، تنش آبی را تخفیف دهد. تعرق عمدتاً در برگ‌ها از طریق روزنه‌های هوایی و به صورت جزیی از کوتیکول صورت می‌گیرد. چنانکه سیلیکون در زیر کوتیکول برگ رسوب کند یک لایه مضاعف کوتیکول-سیلیکون تشکیل می‌شود که تعرق از طریق کوتیکول احتمالاً به وسیله رسوب این عنصر کاهش می‌یابد (Ma et al. 2001a). تیمار خشکی-سیلیکون در

دو وارته وریناک و پیش‌تاز گندم در بافت برگ باعث افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های ضد اکسند (SOD, CAT, APX و POD) در هر دو رقم در مقایسه با تیمار خشکی شد (Taale 2010). نتایج آزمایش (ahmad et al. 2001a). نشان داد سیلیکون میزان تعرق در برنج را که کوتیکول نازک دارد تا ۳۰ درصد کاهش می‌دهد. (Agarie et al. 1998). زمانی که بوته‌های برنج را در معرض محلول حاوی پلی‌اتیلن‌گلیکول (PEG) قرار دادند ملاحظه کردند که نشأت الکترولیت (EI) (شاخص خسارت غشا) بافت برگ با افزایش در سطح سیلیکون برگ‌ها کاهش می‌یابد. سطح پلی‌ساکاریدها در دیواره سلول در برگ‌های حاوی سیلیکون از برگ‌های فاقد این عنصر بالاتر بود. این نتایج نشان می‌دهد که سیلیکون در برگ‌های برنج با نسبت‌های آب سلول به-عنوان مثال خواص مکانیکی و تراوایی آب درگیر است. در میان مولفه‌های عملکرد، درصد دانه‌های رسیده در دو گیاه زراعی برنج و جو تحت‌تأثیر جذب سیلیکون بوده است (Ma and Takahashi 2002). این فعالیت سیلیکون احتمالاً به اثر تخفیف سیلیکون روی تنش آبی نسبت داده شده چرا که یک فاکتور مهم برای نمو طبیعی سنبلیچه‌ها، نگهداری شرایط رطوبت بالا داخل پوشینه است (Seo and Ohta 1982). جذب سیلیکون در گندم از طریق کنترل متابولیسی است و میزان جذب به وسیله دی نیترو فنل (DNP) و سیانید پتاسیم (KCN) به شدت محدود می‌شود (et al 2006). ناقلین مسئول جذب سیلیکون در ریشه در چندین گیاه شامل گندم، برنج، جو، ذرت و کدو شناسایی شده است (Ma et al. 2011). فعالیت مشترک *lsi1* و *lsi2* برای جذب موثر سیلیکون در برنج لازم است (Ma and Yamaji 2008). با توجه به ژن‌های شناخته شده در برنج و جو انتظار می‌رود مکانیسم مشابهی در گندم فعالیت داشته باشد که هدف از این تحقیق ردیابی و بیان ژن‌های ناقل سیلیکون در گندم تحت تنش خشکی است. سنجش میزان اثر عوامل مختلف در تحمل به تنش‌های غیرزنده از روش‌های متعددی از جمله اندازه‌گیری سطوح رونویسی ژن‌ها و روش‌های فیزیولوژیکی انجام می‌گیرد. بنابراین یافتن رابطه بین پاسخ‌های مختلف گیاه در سطوح ژنتیکی و فیزیولوژیکی حائز اهمیت بوده و به ارزیابی بهتر گیاه و همچنین

درک بعضی از سازوکارهای تحت تاثیر تنش و تغییرات متابولیسم گیاه کمک می‌کند.

مواد و روش‌ها

طرح آماری و شرایط آزمایش

این پژوهش در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان انجام شد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. از ارقام کاشته شده در شرایط مزرعه دو رقم نوید و یاواروس دارای بیشترین میزان غلظت سیلیس برگ و دو رقم هامون و N-80-19 دارای کمترین میزان غلظت این عنصر در مرحله گلدهی تحت تنش خشکی گزینش شدند و در گلخانه مورد ارزیابی قرار گرفتند. فاکتورهای آزمایشی شامل دو سطح خشکی و کنترل به عنوان تیمار و چهار رقم گندم شامل نوید، یاواروس، هامون، N-80-19 بودند. کشت در گلدان‌های پلاستیکی به حجم یک و نیم کیلوگرم خاک انجام شد. در هر گلدان سه بذر به فاصله دو سانتی‌متر کاشته شد. کلیه مراقبت‌های لازم در خلال رشد انجام شد. در مرحله چهار برگی با قطع آبیاری تیمار خشکی اعمال شد. چهار روز بعد از قطع آبیاری نمونه‌گیری از ریشه و برگ بوته‌ها صورت گرفت. نمونه‌های ریشه بعد از شستشو بلافاصله با پوشش فویل با درج مشخصات هر نمونه در ازلت مایع قرار گرفت و سپس نمونه‌ها در آزمایشگاه در دمای -70°C درجه سانتی‌گراد فریز شد. نمونه‌های برگ بعد از تمیز شدن با دستمال در پوشش فویل قرار گرفتند و با درج مشخصات آماده خشک شدن در آون شد و در دمای 70°C درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت خشک شد.

اندازه‌گیری غلظت سیلیس در بافت برگ

اندازه‌گیری غلظت سیلیس به روش هضم تر شامل سولفوریک اسید، سالیسیک اسید و آب اکسیژنه بود که در این روش از عصاره بدست آمده می‌توان غلظت سیلیس و سایر عناصر سنگین را اندازه‌گیری کرد (Ehyai et al. 1993) در بالن‌های ۵۰ میلی‌لیتری به نسبت برابر (ده میلی‌لیتر) آمونیوم مولیبدات ۸ درصد و سولفوریک اسید یک مولار، ۵ میلی‌لیتر استن و ۵ میلی‌لیتر عصاره نمونه ریخته شد و با آب مقطر به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسید. پس از چند دقیقه محلول زرد رنگی به‌دست آمد. غلظت سیلیس نمونه‌ها

در طول موج ۴۰۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل CECIL SERIES2) قرائت شد. برای تجزیه داده‌ها از نرم افزارهای SPSS و MSTATC استفاده شد.

استخراج RNA و سنتز cDNA

استخراج RNA کل توسط کیت Rnx-plus از نمونه‌های ریشه انجام گرفت. برای از بین بردن آلودگی DNA از کیت DNase set RNAse - free (کیازن) استفاده شد. غلظت RNA پس از هر استخراج با استفاده از دستگاه نانودراپ و در طول موج ۲۶۰ نانومتر تعیین شد. میزان کل RNA برحسب میکروگرم در میکرولیتر محاسبه شد و در تمام نمونه‌ها به یک اندازه رقیق شد. همچنین جهت تعیین کیفیت RNA نیز مقدار ۵ میکروگرم از هر نمونه بر روی ژل یک درصد آگارز الکتروفورز انجام شد تا نسبت به کیفیت بالای آن اطمینان حاصل شود. جهت ساخت cDNA، از روش پیشنهادی شرکت فرمنتاز استفاده شد. اولین رشته cDNA با کمک آغازگر الیگو دی تی (۲۰-۱۸ نوکلئوتید) ساخته شد. مقدار ۷ میکروگرم از RNA کل همراه با یک میکرولیتر الیگو دی تی و یک میکرولیتر از ترکیب دی اکسی نوکلئوتید تری فسفات با غلظت ۱۰ میلی مولار و ۱۰ میکرولیتر آب عاری از نوکلئاز به مدت ۵ دقیقه در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد در حمام آب انکوبه قرار گرفته و سپس بلافاصله دو دقیقه بر روی یخ قرار گرفت. ده میکرولیتر از ترکیب سنتز cDNA شامل یک میکرولیتر از بافر M-Mulve 10X و ۰/۵ میکرولیتر از آنزیم transcriptas 100 unit و ۷/۵ میکرولیتر آب عاری از نوکلئاز به هر میکروتیوب اضافه شد و سپس سنتز cDNA در دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد در ۶۰ دقیقه صورت گرفت. جهت غیرفعال‌سازی واکنش تیوب‌ها به مدت ۵ دقیقه در دمای ۸۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و برای تایید سنتز cDNA از روش PCR و الکتروفورز روی ژل یک درصد استفاده شد.

طراحی آغازگر و ژن مورد نظر

در این پژوهش جهت بررسی بیان ژن (*Tasi1*) از آغازگر طراحی شده این ژن در گندم و برای بیان ژن (*Tasi2*) از آغازگر طراحی شده بر اساس ژن *lasi2* و *Hvlsi2* در گیاهان برنج و جو استفاده شد. همچنین به عنوان کنترل داخلی و حذف خطاهای احتمالی در اندازه‌گیری بیان ژن از ژن خانه‌دار *GAPDH* استفاده شد (جدول ۱).

جدول شماره ۱- مشخصات آغازگرهای مورد استفاده در این پژوهش.

ژن رمز کننده	نام آغازگر	توالی آغازگر (۵'-۳')	دمای ذوب (°C)
<i>Tasi1</i>	Tasi1F	CATTACCTCCATCTTCGCAG	۵۷
	Tasi1R	GATGTAGGTGTAGGTCCAGG	
<i>Tasi2</i>	Tasi2F	TCGCTGCTCGTCTTCTTCTC	۵۶
	Tasi2R	GAGAGGAGGAGGATGATGAC	
<i>Gapdh</i>	TagapdhF	CTAACTGCCTTGCTCCTCTT	۵۵
	TagapdhR	CTTGAATGATGTTGAAGCTGG	

تصادفی در شرایط گلخانه در جدول (۲) و (۳) درج شده است. غلظت عنصر سیلیس در رقم نوید در تیمار خشکی در مقایسه با شرایط کنترل افزایش نشان داد (در سطح احتمال ۵ درصد آزمون LSD معنی‌دار بود) که بیانگر القای شدید تنش در این رقم می‌باشد (شکل ۱). در شرایط کنترل رقم N-80-19 با بیشترین میانگین با سایر ارقام تفاوت معنی‌داری داشت. ارقام یاواروس و هامون تفاوت معنی‌داری را با رقم نوید داشتند که نشان‌دهنده تنوع ژنتیکی ارقام در جذب و انبار سیلیس در مرحله چهار برگی در شرایط کنترل می‌باشد. افزایش بالای سرعت جذب سیلیس در

تکثیر cDNA و مراحل انجام RT-PCR

برای انجام واکنش‌های Real Time PCR از دستگاه Rotor-Gene برای ارزیابی کمی استفاده شد. ۲۵ میکرولیتر مخلوط واکنش شامل ۱۲/۵ میکرولیتر SYBER Green PCR Master Mix، یک میکرولیتر از هر یک از آغازگرهای پیشرو و پسرو، ۵/۵ میکرولیتر نمونه cDNA و پنج میکرولیتر آب عاری از نوکلئاز برای تکثیر در هر میکروتیوب استفاده شد. برای هر واکنش سه تکرار در نظر گرفته شد و با شرایط زیر واکنش زنجیره‌ای پلیمرز انجام شد. ۱۰ ثانیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد، ۳۵ ثانیه در دمای (Tasi1) ۵۷ و (Tasi2) ۵۶ درجه سانتی‌گراد (دمای Tm آغازگرها) و ۲۰ ثانیه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد. به منظور نرمال‌سازی داده‌ها از ژن خانه‌دار GAPDH که دارای بیان یکسانی در تمام تیمارها می‌باشد استفاده شد. برای بررسی بیان ژن‌های مورد مطالعه از روش ارزیابی نسبی استفاده شد. در این روش میزان افزایش یا کاهش بیان ژن در هر تیمار نسبت به تیمار کنترل به صورت نسبت بیان می‌شود که در این حالت امکان اندازه‌گیری بیان ژن در تیمار کنترل وجود ندارد و به عبارتی یک در نظر گرفته می‌شود. بنابراین بیان نسبی ژن‌ها با روش $2^{-\Delta\Delta CT}$ محاسبه شد. به این صورت که هر تیمار با گیاهان کنترل مربوط به خود مقایسه شد. جهت تجزیه داده‌ها از نرم‌افزارهای Linreg و Rest 2009 استفاده شد.

نتایج و بحث

خلاصه تجزیه واریانس داده‌ها برای میزان غلظت عنصر سیلیس ارقام مورد مطالعه در قالب آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً

جدول ۲- تجزیه واریانس غلظت عنصر سیلیس در شرایط گلخانه

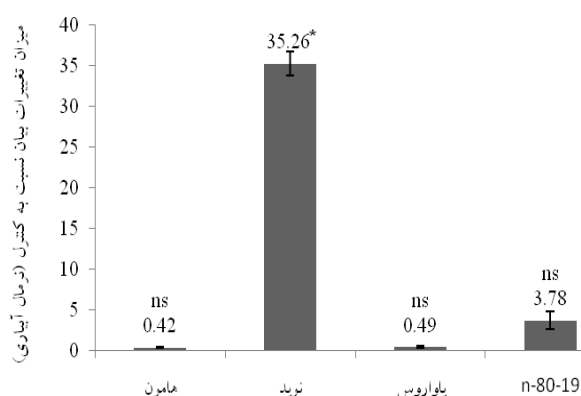
منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات
ژنوتیپ	۳	۸۸۲/۵۳۶*
تیمار	۱	۱۲۶۲/۵۱۵*
ژنوتیپ×تیمار	۳	۱۲۶۰/۶۴۵*
خطا	۱۶	۱۷۲/۸۰۰

جدول ۳- تفکیک جدول تجزیه واریانس (۲) به اثر هر عامل

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات
ژنوتیپ × خشکی	۳	۱۶۹/۶۲
ژنوتیپ × کنترل	۳	۱۹۷۳/۰۶۵**
هامون × تیمار	۱	۱۳/۳۲
نوید × تیمار	۱	۴۳۵۵/۱۲**
یاواروس × تیمار	۱	۳۷۸/۲۶۱۶
N-80-19 × تیمار	۱	۳۱۱/۴۷
خطا	۱۶	۱۷۲/۸۰

**معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد

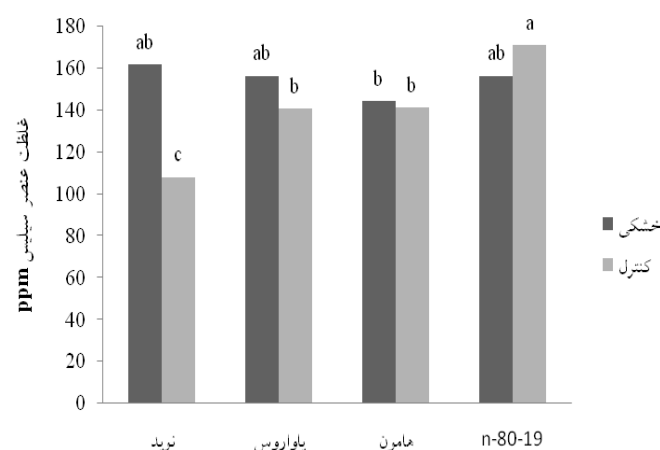
نشان‌دهنده عدم‌تأثیر تیمار خشکی در القای بیان این ژن در این واریته‌ها می‌باشد. در واریته نوید که واکنش متفاوتی نسبت به بقیه ارقام در میزان سیلیس در شرایط خشکی داشت بیان ژن *Tasi1* نیز تحت تیمارهای خشکی و کنترل اختلاف معنی‌داری نشان داد که بیانگر همبستگی تنظیم بالای این ژن و جذب میزان سیلیس در شرایط خشکی در رقم نوید بود. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیان ژن *Tasi1* در شرایط کنترل در ارقام مختلف متفاوت بوده و رقم نوید در مقایسه با سایر ارقام تفاوت معنی‌داری نشان داد. بیان این ژن در ارقام مختلف تحت تنش خشکی نمایانگر تنوع میزان بیان بوده که در واریته نوید و n-80-19 در مقایسه با سایر ارقام تفاوت معنی‌داری نشان دادند (شکل ۳). در بررسی ناقل نفوذ سیلیس *Hvlsi1* در جو مشخص شد که سطح بیان این ژن در ریشه واریته‌های جو متفاوت بوده و همبستگی ضعیفی بین جذب سیلیس و بیان ژن *Hvlsi1* مشاهده می‌شود. به نظر می‌رسد که مکانیسم تنظیم ژن‌های ناقل نفوذ سیلیس بین جو و برنج متفاوت است. (Chiba et al. 2009).



شکل ۲- میزان تغییرات بیان ژن *Tasi1* در ارقام هامون، نوید، یاواروس و n-80-19 پس از اعمال تنش خشکی در مقایسه با شرایط کنترل، خطای حاشیه‌ای بیانگر انحراف معیار سیکل آستانه. ns و * به ترتیب عدم معنی‌داری و معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد را نشان می‌دهد.

نتایج آنالیز داده‌های بیان ژن *Tasi2* تحت تیمارهای کنترل و خشکی در ارقام نشان داد که بیان این ژن در سایر ارقام، بین تیمارها اختلاف معنی‌داری وجود ندارد (شکل ۴).

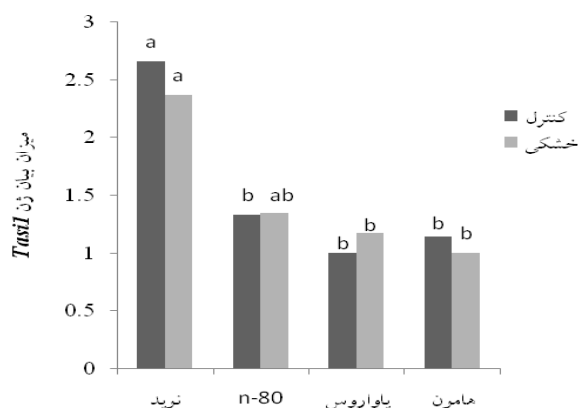
گندم در بین مرحله دو برگگی و ۷-۸ برگگی بوده و بالاترین سرعت جذب در مرحله ۷-۸ برگگی می‌باشد که مقدار آن ۲/۴۰ میکرومول در گرم وزن خشک ریشه است که بعد از مقدار کمی کاهش تغییرات جذب اختلاف معنی‌داری نداشت. مقدار جذب به حد زیادی در مرحله دو برگگی پایین می‌باشد (Epstine et al. 1999). در مطالعه واریته‌های جو غلظت سیلیس دانه جو تنوع زیادی از ۱/۲۴ تا ۳/۸۰ میلی‌گرم در گرم دانه جو نشان داد (Ma et al. 2003).



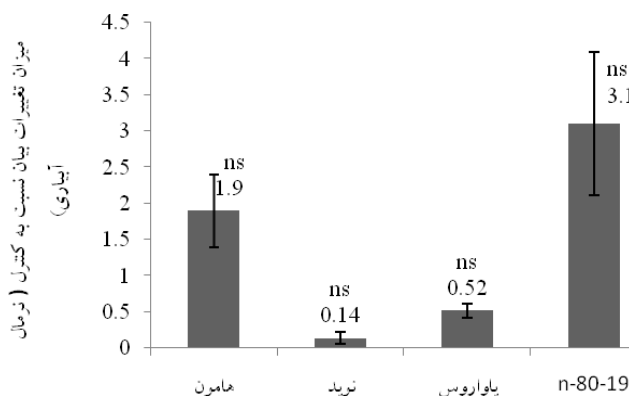
شکل ۱- مقایسه میانگین غلظت عنصر سیلیس ارقام تحت تیمار کنترل و خشکی LSD

به منظور بررسی بیان ژن *Tasi1* بین دو نمونه خشکی و کنترل مقایسه انجام گرفت. نتایج نشان داد که بیان این ژن نسبت به شرایط کنترل در بین ارقام بعد از اعمال تنش خشکی متفاوت بود (شکل ۲). نتایج بیان این ژن در رقم نوید بین تیمارها اختلاف معنی‌داری نشان داد که در این واریته بیان ژن *Tasi1* در شرایط تنش خشکی با میانگین بیان ۳۵ برابری نسبت به شرایط کنترل افزایش داشت که نشان‌دهنده تنظیم بالای این ژن در رقم نوید در شرایط تنش خشکی می‌باشد. بیان این ژن در سایر ارقام بین تیمارها اختلاف معنی‌داری نداشت. با توجه به عدم اختلاف معنی‌دار بین میانگین غلظت سیلیس واریته‌های هامون، یاواروس و n-80-19 در بین تیمارهای کنترل و خشکی و همچنین نتایج بیان ژن *Tasi1* (ژن کد کننده ناقل نفوذ سیلیس) در این واریته‌ها تحت تیمارهای کنترل و خشکی که اختلاف معنی‌داری نداشتند

زیر خانواده آکوپورین‌ها پروتئین‌های غده‌ای مانند غشا¹ (NIPs) است که طیف وسیعی از جایگاه درون سلولی را نشان می‌دهد. ناقل نفوذ سیلیکون در برنج (*Lsi1*, also named *OsNIP2*, 1) است. تنظیم رونویسی ژن‌های آکوپورین² به وسیله هورمون‌ها به عنوان مثال آبسیزیک اسید (*ABA*) یا جیبرلین (*GA3*)، تحریکات محیطی مختلف رطوبت کم، خشکی، شوری، نور و کمبود یا تامین غذایی اغلب گزارش شده است. دو تا *OsNIPs* که فعالیت انتقال سیلیسک اسید را در برنج انجام می‌دهند، تحت تنش‌های گوناگون بیان پایین دارند (Qingpo Liu et al. 2009) در جو و ذرت *si* به صورت سیلیسیک اسید⁺ *Si(OH)* از محلول خارجی به وسیله ناقلین نفوذ (*Hv Lsi1/ZmLsi1*) که در لایه‌های اپیدرم و پوست مکان‌یابی شده بارگیری می‌شود و به آندودرم منتقل می‌شود در آندودرم *si* به وسیله فعالیت ناقلین پخش به استوانه آوندی وارد می‌شود (Mitani M et al. 2009). اتصال فاکتورهای رونویسی به جایگاه‌های اتصال فاکتور بالادست ژن‌های مورد نظر و خصوصیات عناصر *cis-acting* ممکن است اطلاعاتی در مکانیسم بیان ژن باشد. چهار نوع از عناصر سیس با فراوانی زیاد در ناحیه پروموتور ژن‌های *NIP* گیاهان یافت شده‌اند. یکی از این عناصر توسط هورمون‌های گیاهی کنترل می‌شود. عنصر *ABRE* از طریق هورمون گیاهی تنظیم شده و به نظر می‌رسد که بیشترین فراوانی عناصر سیس مربوط به هورمون را در برنج دارد. Lescot (et al. 2002) عنصر *MBS* که به وسیله تنش خشکی تنظیم می‌شود اغلب در ناحیه پروموتور غنی هستند. *osNIPs* حاوی دو کپی یا بیشتر از این عناصر می‌باشند (Yamaguchi K. et al. 1993). بیان ژن *lsi1* (ناقل نفوذ سیلیکون در برنج) تحت تنش خشکی کاهش یافت. اسید آبسیزیک در پاسخ به تنش آبی در گیاه انباشته می‌شود بنابراین این امکان وجود دارد که کاهش بیان ژن *lsi1* در تنش آبی به وسیله افزایش *ABA* صورت بگیرد. بیان ژن *lsi1* به طور قابل توجهی در پاسخ به *ABA* متوقف می‌شود. در واقع در ناحیه پروموتور ژن *lsi1* دامنه پاسخ دهنده به *ABA* وجود دارد (Yamaji et al. 2007).



شکل ۳- نمودار بیان نسبی (نسبت بیان هر رقم به کمترین میزان بیان در بین ارقام در شرایط کنترل و خشکی) ژن *Tasi1* در ارقام گندم در شرایط کنترل و خشکی. داده‌های مورد استفاده در ترسیم نمودار میانگین سه تکرار می‌باشد. تیمارهای خشکی و کنترل به صورت جداگانه مقایسه شد. در هر نمودار میانگین‌هایی که دارای حروف مشابه می‌باشند با استفاده از آزمون دانکن و در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

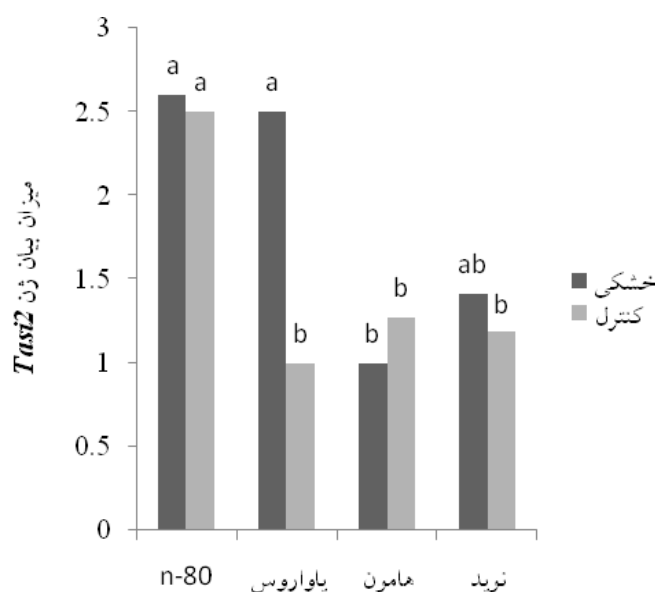


شکل ۴- میزان تغییرات بیان ژن *Tasi2* در ارقام هامون، نوید، یاواروس و n-80-19 پس از اعمال تنش خشکی در مقایسه با شرایط کنترل. خطای حاشیه‌ای بیانگر انحراف معیار سیکل آستانه. ns عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد را نشان می‌دهد.

بیان ژن *Tasi2* در شرایط کنترل در ارقام مختلف متفاوت بوده و رقم n-80-19 در مقایسه با سایر ارقام تفاوت معنی‌داری نشان داد (شکل ۵). بیان این ژن در ارقام مختلف تحت تنش خشکی نمایانگر تنوع میزان بیان بوده که واریته‌های یاواروس، n-80-19 و نوید دارای بیان بیشتر نسبت به واریته هامون می‌باشند. سومین

¹ Nodulin-26-like intrinsic protein

² Aquaporin



شکل ۵- میزان بیان نسبی ژن *Tasi2* در ارقام گندم تحت شرایط کنترل و خشکی داده‌های مورد استفاده در ترسیم نمودار میانگین سه تکرار می‌باشد. تیمارهای خشکی و کنترل به صورت جداگانه مقایسه شد در هر نمودار میانگین‌هایی که دارای حروف مشابه می‌باشند با استفاده از آزمون دانکن و در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

منابع

- Agarie S, Hanaoka N, Ueno O, Miyazaki K., Kubota F, Agata W, Kaufman PB (1998) Effect of silicon on tolerance to water deficit and heat stress in rice plants (*oryza sativa* L.) monitored by electrolyte leakage. Plant Production Science 1: 96-103.
- Al-Ghamdi A (2009) Evaluation of oxidative stress tolerance in two wheat (*Triticum aestivum*) cultivars in response to drought. International Journal of Agriculture and Biology 1: 7-12.
- Bray EA (2002) Classification of genes differentially expressed during water-deficit stress in *Arabidopsis thaliana*: an analysis using microarray and differential expression data. Annals of Botany 7: 803-811.
- Ehyai A, Behbahani zadeh A (1993) Describe methods of soil analysis. Technical Bulletin 893:1-26 (In Farsi)
- Epstein E, Bloom AJ (2003) Mineral Nutrition of Plants Principles and Perspectives, nd edn, John Wiley and Sons, New York 227-231.
- Epstein E (1994) The anomaly of silicon in plant biology. Proceedings of the National Academy of Sciences USA 32:11-17.
- Epstein E (1999) Silicon. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology 50: 641-664.
- Farooq M, Wahid A, Kobayashi D, Basra SMA (2008) Plant drought stress effects, mechanisms and management. Agronomy Sustainable Development 29: 185-212.

نتیجه‌گیری کلی

در گندم در مرحله چهار برگی با توجه به نتایج بیان ژن کدکننده ناقل نفوذ سیلیکون *Tasi1*، تنظیم بیان این ژن در واکنش به شرایط خشکی در واریته نوید در سطح رونویسی صورت می‌گیرد ولی در سایر واریته‌های مورد مطالعه تیمار خشکی بر تنظیم بیان ژن *Tasi1* تاثیر ندارد. تنظیم بیان ژن *Tasi2* که به عنوان ناقل پخش ردیابی شده، تحت تاثیر تیمار خشکی قرار نداشت. در مرحله چهار برگی بین میزان سیلیس ارقام تحت شرایط کنترل تفاوت معنی‌داری وجود دارد که نشان‌دهنده تنوع ژنتیکی ارقام در جذب سیلیس بوده و احتمالاً به دلیل تفاوت در تعداد ناقلین سیلیکون می‌باشد.

Kocsy G, Brunner M, Ruegsegger A, Stamp P, Brunold C (1996) Glutathione synthesis in maize genotypes with different sensitivities to chilling. *Planta* 198: 365-370.

Lescot M, Déhais P, Thijs G, Marchal K, Moreau Y, Peer Y Van de, Rouzé P (2002) Rombauts S: PlantCARE, a database of plant cis-acting regulatory elements and a portal to tools for *in silico* analysis of promoter sequences. *Nucleic Acids Research* 30:325-327.

Liu Q, Wang H, Zhang Z, Wu J, Feng Y, Zhu Z (2009) Divergence in function and expression of the NOD26-like intrinsic proteins in plants. *Biomed Central Genomics* 51: 313-323.

Ma JF, Yamaji N, Mitani-Ueno N (2011) Transport of silicon from roots to plant tissues in plants. *Physical and Biological Science* 87: 377-385.

Ma JF, Takahashi E (2002) Soil Fertilizer and Plant Silicon Research in Japan. Elsevier Science 1-3.

Ma JF, Yamaji N (2008) Functions and transport of silicon in plants. *Cellular and Molecular Life Sciences* 65:3049-3057.

Ma JF, Higashitani A, Sato K, Tateda K (2003) Genotypic variation in Si content of barley grain. *Plant and Soil* 249: 383-387.

Ma JF, Miyake Y, Takahashi E (2001a) Silicon as a

beneficial element for crop plants. In: Datnoff L, Snyder G, Korndorfer G (Eds.) *Silicon in Agriculture*. Elsevier Science 17-39.

Mitani M, Chiba Y, Yamaji N, Ma JF (2009) Identification and characterization of maize and barley Lsi2-Like silicon efflux transporters reveals a distinct silicon uptake system from that in rice. *Plant Cell* 21: 2133-2142.

Mitani M, Chiba Y, Yamaji N, Ma JF (2009) HvLsi1 is a silicon influx transporter in barley. *Plant Journal* 57: 810-818.

Seo SW, Ohta (1982) Role of the hull in the ripening of rice plant. *Crop Sciences* 51: 529-534.

Taale Ahmad S, Hadad R (2010) Effect of silicon on antioxidant enzymes activities and osmotic adjustment contents in two bread wheat genotypes under drought stress conditions. *Seed and Plant Journal* 26: 225-207 (In Farsi)

Yamaji N, Ma JF (2007) Spatial distribution and temporal variation of the rice silicon transporter Lsi1. *Plant Physiology* 143: 1306-1313.

Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K (1993) Arabidopsis DNA encoding (72) two desiccation-responsive rd29 genes. *Plant Physiol* 101:1119-1120