

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، افشنین 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, Zanjan 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، نوبد، هامون و ۱۹-N-80 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 نوبد 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 نوبد 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

دو واریته وریناک و پیشناک گندم در بافت برگ باعث افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های ضد اکسیده (CAT، SOD، APX) در هر دو رقم در مقایسه با تیمار خشکی شد (Taale et al. 2001a). نتایج آزمایش (ahmad et al. 2010) 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 نشت الکتروولیت (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 (Ma and Takahashi 2002) این فعالیت سیلیکون احتمالاً به اثر تخفیف سیلیکون روی نتش آبی نسبت داده شده چرا که یک فاکتور مهم برای نمو طبیعی سنبلاچه‌ها، نگهداری شرایط رطوبت بالا داخل پوشینه است (Seo and Ohta 1982). جذب سیلیکون در گندم از طریق کنترل متابولیکی است و میزان جذب به وسیله دی‌نیترو فنل (DNP) و سیانید پتاسیم (KCN) به شدت محدود می‌شود (Rainsand et al. 2006). ناقلين مسئول جذب سیلیکون در ریشه در چندین گیاه شامل گندم، برنج، جو، ذرت و کدو شناسایی شده است (Ma et al. 2011). فعالیت مشترک *lsl1* و *lsl2* 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 نتش خشکی است. سنجش میزان اثر عوامل مختلف در تحمل به نتش‌های 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

خشکی یکی از مهمترین نتش‌های محیطی است که منجر به کاهش ۵۰ درصد عملکرد می‌شود (Bray et al. 2000). نتش خشکی جذب CO₂ به وسیله برگ را با بسته شدن روزنه کاهش می‌دهد و موجب اختلال فعالیت آنزیم‌های مختلف به ویژه آنزیم تثبیت ATP و سنتز CO₂ می‌شود (Farooq et al. 2008). در شرایط نامناسب دفاع‌های آنتی‌اکسیدانی در غشاء سلول و Kocsy et al. (1996; Ghamdi 2009) گیاهان به یک سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدان پیچیده و بسیار کارآمد مجهر هستند که می‌تواند به نتش خشکی پاسخ و سازش یابد، این سیستم متشکل از محافظه‌های غیرآنژیمی و مکانیسم‌های آنزیمی برای قطع آبشاره‌های 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 دی‌اکسید سیلیکون شامل ۵۰-۷۰ درصد جرم خاک است، همه گیاهانی که در خاک رشد می‌کنند and Bloom (Epstein 2003) مداری سیلیکون در بافت‌های اندام‌ها می‌باشد. سیلیکون در گیاهان می‌شود (Ma and Takahashi 2002) سیلیس یک عنصر ضروری برای گیاهان عالی است، زیرا کمبود سیلیس باعث ایجاد حالت‌های غیرعادی مختلفی در گیاهان می‌شود (Jones and Handreck 1967; Jarvis 1987; Epstein 1994). سیلیکون حفاظت گیاهان در برابر نتش‌های زنده و غیرزنده مختلف بوده (Ma et al. 2002) بنابراین اثر سیلیکون روی رشد گیاه تحت وضعیت نتش آشکار می‌شود. سیلیکون می‌تواند از طریق کاهش تعرق، نتش آبی را تخفیف دهد. تعرق عمدتاً در برگ‌ها از طریق روزنوهای هوایی و به صورت جزئی 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

در طول موج ۴۰۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفوتومتر (مدل CECIL SPSS) قرائت شد. برای تجزیه داده‌ها از نرم افزارهای MSTATC 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 - free (RNase کیاژن) استفاده شد. غلظت RNA پس از هر 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 فرمتاژ استفاده شد. اولین رشته cDNA با کمک آغازگر الیگو دی تی (۱۸-۲۰ 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 بلافصله دو دقیقه بر روی بخ قرار گرفت. ده میکرولیتر از ترکیب سنتز cDNA شامل یک میکرولیتر از بافر M-Mulv Rever transcriptas ۱۰۰ unit و ۰/۵ میکرولیتر از آنزیم Mulv ۱۰X مشخصات هر نمونه در ازت مایع قرارگرفت و سپس نمونه‌ها در آزمایشگاه در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد فریز شد. نمونه‌های برگ بعد از تمیز شدن با دستمال در پوشش فویل قرار گرفتند و با درج مشخصات آمده خشک شدن در آون شد و در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت خشک شد.

اندازه‌گیری غلظت سیلیس در بافت برگ اندازه‌گیری غلظت سیلیس به روش هضم تر شامل سولفوریک اسید، سالسیلیک اسید و آب اکسیژن 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 میلی- لیتری 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 به دست آمد. غلظت سیلیس نمونه‌ها (جدول ۱).

درک بعضی از سازوکارهای تحت تاثیر تنش و تغییرات متابولیکی 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 یاوروس دارای بیشترین میزان غلظت سیلیس برگ و دو رقم هامون و N-80 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، یاوروس، هامون، N-80 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. چهار روز بعد از قطع آبیاری نمونه‌گیری از ریشه و برگ بوته‌ها صورت گرفت. نمونه‌های ریشه بعد از شستشو بلافصله با پوشش فویل با درج مشخصات هر نمونه در ازت مایع قرارگرفت و سپس نمونه‌ها در آزمایشگاه در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد فریز شد. نمونه‌های برگ بعد از تمیز شدن با دستمال در پوشش فویل قرار گرفتند و با درج مشخصات آمده خشک شدن در آون شد و در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت خشک شد.

اندازه‌گیری غلظت سیلیس در بافت برگ اندازه‌گیری غلظت سیلیس به روش هضم تر شامل سولفوریک اسید، سالسیلیک اسید و آب اکسیژن 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 میلی- لیتری 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 به دست آمد. غلظت سیلیس نمونه‌ها

نام آغازگر	تولای آغازگر (°C)	دماي ذوب (°C)
ژن رمز کننده	آغازگر	
Tasi1	Tasi1F CATTACCTCCATCTTCGAG	۵۷
	Tasi1R GATGTAGGTAGGTCCAGG	
Tasi2	Tasi2F TCGCTGCTCGTCTTCTC	۵۶
	Tasi2R GAGAGGAGGAGGATGAC	
Gapdh	TagapdhF CTAACTGCCTGCTCCTCTT	۵۵
	TagapdhR CTTGGAATGATGTTGAAGCTGG	

تصادفي در شرياط گلخانه در جدول (۲) و (۳) درج شده است. غلطت عنصر سيليس در رقم نويid در تيمار خشکي در مقاييسه با شرياط كتrol افزايش نشان داد (در سطح احتمال ۵ درصد آزمون LSD معني دار بود) كه بيانگر القاي شدید تنش در اين رقم می باشد (شكل ۱). در شرياط كتrol رقم N-80-19 با بيشترین ميانگين با ساير ارقام تفاوت معني داري داشت. ارقام ياوروس و هامون تفاوت معني داري را با رقم نويid داشتند كه نشان دهنده تنوع ژنتيكي ارقام در جذب و انباره سيليس در مرحله چهار برجي در شرياط كتrol می باشد. افزايش بالاي سرعت جذب سيليس در

جدول-۲- تجزيه واريانس غلطت عنصر سيليس در شرياط گلخانه

منابع تغييرات	درجه آزادی	ميانگين مربعات
ژنوتيب	۳	۸۸۲/۵۳۶*
تيمار	۱	۱۲۶۲/۵۱۵*
ژنوتيب×تيمار	۳	۱۲۶۰/۶۴۵*
خطا	۱۶	۱۷۲/۸۰۰

جدول-۳- تفكيک جدول تجزيه واريانس (۲) به اثر هر عامل

منابع تغييرات	درجه آزادی	ميانگين مربعات
ژنوتيب × خشکي	۳	۱۶۹/۶۲
ژنوتيب × كتrol	۳	۱۹۷۳/۰۶۵**
هامون × تيمار	۱	۱۳/۳۲
نويid × تيمار	۱	۴۳۵۵/۱۲**
ياوروس × تيمار	۱	۳۷۸/۲۶۱۶
N-80-19 × تيمار	۱	۳۱۱/۴۷
خطا	۱۶	۱۷۲/۸۰

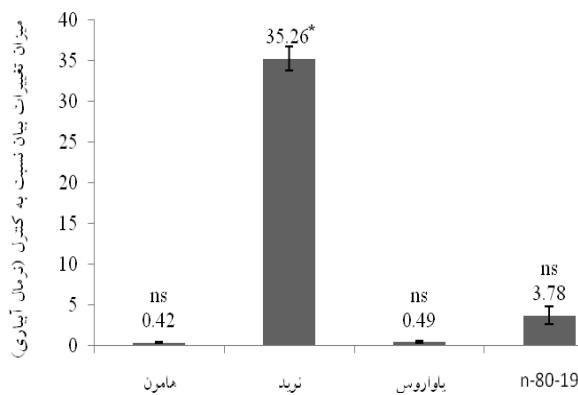
*معني داري در سطح احتمال يك درصد

تكثير RT-PCR و مراحل انجام RT-PCR برای انجام واکنش‌های Rotor-Gene از دستگاه Real Tim PCR برای ارزیابی کمی استفاده شد. ۲۵ میکرولیتر محلول واکنش شامل ۱۲/۵ میکرولیتر SYBER Grean PCR Master Mix میکرولیتر از هر يك از آغازگرهای پيشرو و پسرو، ۵/۵ میکرولیتر نمونه cDNA و پنج میکرولیتر آب عاري از نوكلئاز برای تكثير در هر ميكروتيلوب استفاده شد. برای هر واکنش سه تكرار در نظر گرفته شد و با شرياط زير واکنش زنجيره‌اي پليمراز انجام شد. ۱۰ ثانية در دماي ۹۵ درجه سانتي‌گراد، ۳۵ ثانية در دماي ۵۷ درجه سانتي‌گراد (Tasi1)، ۲۰ ثانية در دماي ۵۶ درجه سانتي‌گراد (Tasi2) و ۷۲ درجه سانتي‌گراد. به منظور نرمال‌سازی داده‌ها از ژن خانه‌دار GAPDH که دارای بيان يكسانی در تمام تيمارها می‌باشد استفاده شد. برای بررسی بيان ژن‌های مورد مطالعه از روش ارزیابی نسبی استفاده شد. در اين روش ميزان افزايش يا کاهش بيان ژن در هر تيمار نسبت به تيمار كتrol به صورت نسبت بيان می‌شود که در اين حالت امكان اندازه‌گيري بيان ژن در تيمار كتrol وجود ندارد و به عبارتی يك در نظر گرفته می‌شود. بنابراین بيان نسبی ژن‌ها با روش $\Delta\Delta CT$ محاسبه شد. به اين صورت که هر تيمار با گياهان كتrol مربوط به خود مقاييسه شد. جهت تجزيه داده‌ها از نرمافزارهای Linreg و Rest 2009 استفاده شد.

نتایج و بحث

خلاصه تجزيه واريانس داده‌ها برای ميزان غلطت عنصر سيليس ارقام مورد مطالعه در قالب آزمایش فاكتوريل بر پایه طرح كاملا

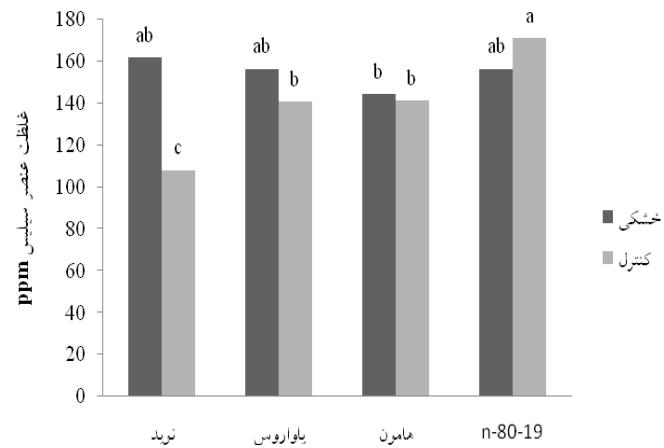
نشان‌دهنده عدم تاثیر تیمار خشکی در القای بیان این ژن در این واریته‌ها می‌باشد. در واریته نوید که واکنش متفاوتی نسبت به بقیه ارقام در میزان سیلیس در شرایط خشکی داشت بیان ژن *Tasi1* نیز تحت تیمارهای خشکی و کنترل اختلاف معنی‌داری نشان داد که بیان‌گر همبستگی تنظیم بالای این ژن و جذب میزان سیلیس در شرایط 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، یاوروس 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).

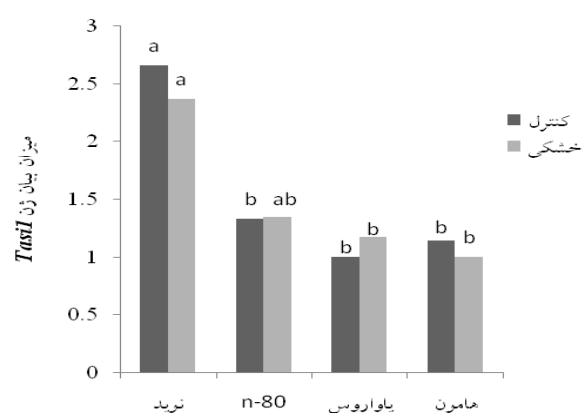
گندم در بین مرحله دو برگی و ۷-۸ برگی بوده و بالاترین سرعت جذب در مرحله ۷-۸ برگی می‌باشد که مقدار آن ۲/۴۰ میکرومول در گرم وزن خشک ریشه است که بعد از مقدار کمی کاهش تغییرات جذب اختلاف معنی‌داری نداشت. مقدار جذب به حد زیادی در مرحله دو برگی پایین می‌باشد (Epstine et al. 1999) در مطالعه واریته‌های جو غلط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



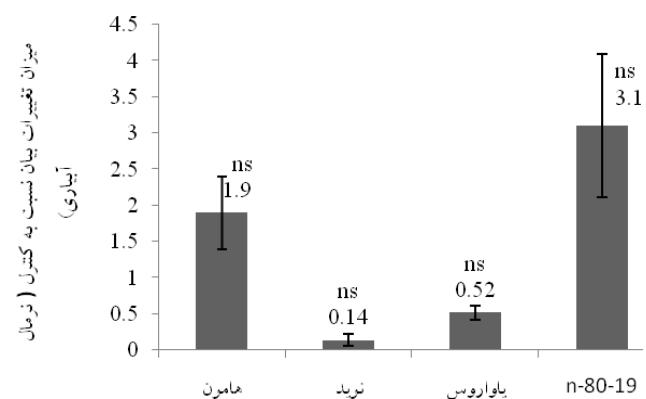
شکل ۱- مقایسه میانگین غلط سیلیس ارقام تحت تیمار کنترل و خشکی LSD

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 غلط سیلیس واریته‌های هامون، یاوروس 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 غشا^۱ (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 آکوپورین^۲ به وسیله هورمون‌ها به عنوان مثال آبسیزیک اسید (ABA) یا جیرلین (GA3)، تحریکات محیطی مختلف رطوبت کم، خشکی، شوری، نور و کمبود یا تامین غذایی اغلب گزارش شده است. دو تا OsNIPs که فعالیت انتقال سیلیسیک 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^۴ Si(OH)₄ 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 بالا دست 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 دو کمی 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 انباسته 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.

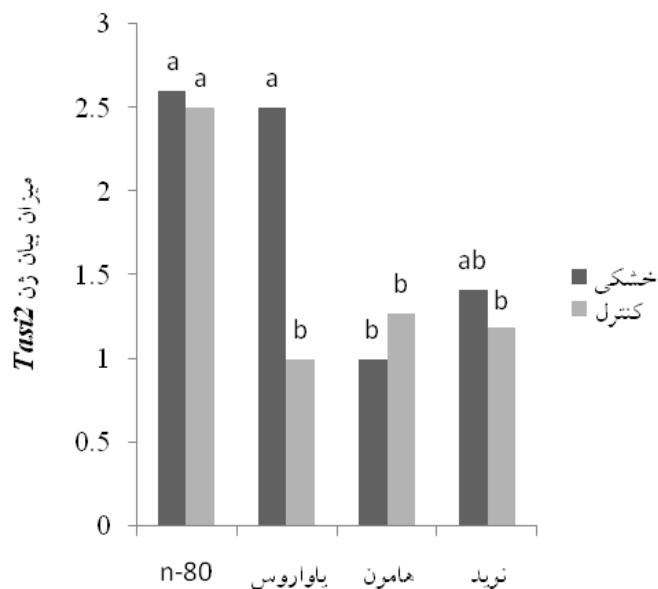


شکل ۴- میزان تغییرات بیان ژن *Tasi2* در ارقام هامون، نرید، بیاوروس و n-80-19 پس از اعمال تنش خشکی در مقایسه با شرایط کنترل. خطای حاشیه‌ای بیانگر انحراف معیار سیکل آستانه. ns عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد را نشان می‌دهد.

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 بیاوروس، n-80-19 و نرید دارای بیان بیشتر نسبت به واریته هامون می‌باشند. سومین

¹Nodulin-26-like intrinsicprotein

²Aquaporin



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 ژن در واکنش به شرایط خشکی در واریتهای نوید در سطح رونویسی صورت می‌گیرد ولی در سایر واریتهای 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 ناقلين 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 intrinsincproteinsin plants. *Biomed Central Genomics* 51: 313-323.
- Ma JF, Yamaji N, Mitani-Ueno N (2011) Transport of silicon from roots to panicles in plants. *Physical and Biologica 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