

شناسایی ژن‌های کلیدی دخیل در تحمل به تنش شوری در گندم با استفاده از آنالیز داده‌های ریز آرایه

نازنین امیربختیار^۱، زهرا سادات شوبر^{۲*}، احمد اسماعیلی^۳، فرهاد نظریان فیروزآبادی^۴، محمدرضا غفاری^۲

۱. دانشجوی دکتری بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران

۲. استادیار گروه زیست‌شناسی سیستم‌ها، پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی ایران، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

۳. دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران

۴. استاد گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۱/۲ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۷/۳/۲۸)

Identification of the key salt tolerance involved genes in wheat using microarray data analysis

Nazanin Amirbakhthiar¹, Zahra-Sadat Shobbar^{2*}, Ahmad Ismaili³, Farhad Nazarin Firouzabadi⁴,
Mohammad Raza Ghaffari²

1. Ph.D. Student, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorramabad, Iran

2. Assistant Professor, Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran, Department of Systems Biology, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran

3. Associate Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorramabad, Iran

4. Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorramabad, Iran

(Received: Jan. 22, 2018 - Accepted: Jun. 18, 2018)

Abstract

Salt stress is considered as one of the most important constraints in wheat production worldwide, thus for, research toward development of tolerant varieties is of great importance. Discovering genes and molecular mechanisms involved in salt tolerance are the primary steps in molecular breeding for salinity. In this study, taking advantage of the data deposited in NCBI Gene Bank, two salinity-related microarray data sets of bread wheat were analyzed to identify salt responsive genes. Bioinformatics' analyses indicated that 3096 and 2060 genes were salt responsive genes in root and shoot, respectively. Gene ontology analysis of salt responsive genes showed that these genes were enriched for response to chemical stimulus, response to oxidative stress, transport, regulation of transcription and carbohydrate metabolic process in biological process category in both tissues. Furthermore, the differentially expressed genes in metabolic process category were enriched for catalytic activity, binding and oxidoreductase activity in both tissues. In order to determine the key genes involved in salt tolerance, hub analysis was performed on the salt responsive genes identified in the root. Based on the achieved results, the role of regulatory genes including protein kinases, protein phosphatases and transcription factors such as MYB and WRKY, was highlighted in inducing salt tolerance.

Keywords: *Triticum aestivum*, Salt stress, Microarray data, Hub analysis.

چکیده

تنش شوری یکی از مهمترین عوامل محدودکننده محیطی در تولید گندم می‌باشد و تحقیقات در راستای ایجاد ارقام متحمل به تنش شوری از اهمیت فوق‌العاده‌ای برخوردار است. شناسایی ژن‌ها و سازوکارهای دخیل در تحمل به شوری در راستای اصلاح مولکولی این گیاه برای تحمل به شوری ضروری است. در این تحقیق به منظور شناسایی ژن‌های پاسخ‌دهنده به تنش شوری در گندم، دو سری داده ریزآرایه مرتبط با تنش شوری گندم از پایگاه داده NCBI مورد آنالیز قرار گرفتند. نتیجه این تجزیه و تحلیل، شناسایی ۳۰۹۶ و ۲۰۶۰ ژن پاسخ‌دهنده به تنش شوری به ترتیب در ریشه و اندام هوایی بود. نتایج هستی‌شناسی (Ontology) ژن‌های افتراقی در هر دو بافت نشان داد که این ژن‌ها در بخش فرایندهای زیستی برای پاسخ به محرک‌های شیمیایی، پاسخ به تنش اکسیداتیو، انتقال، تنظیم رونویسی و پردازش متابولیکی کربوهیدرات‌ها و در بخش عملکرد مولکولی برای فعالیت کاتالیتیکی، فعالیت اتصال و فعالیت اکسیدوردوکنازی دارای فراوانی بالای معنی‌داری بودند. همچنین، به منظور تعیین ژن‌های کلیدی در ایجاد تحمل به شوری، ژن‌های پاسخ‌دهنده در ریشه تحت آنالیز هاب قرار گرفتند. بر اساس نتایج به‌دست آمده، نقش ژن‌های تنظیم‌کننده‌ای مانند پروتئین کینازها، پروتئین فسفاتازها و عوامل رونویسی همانند MYB و WRKY در ایجاد تحمل به تنش شوری مورد تأکید قرار گرفت.

واژه‌های کلیدی: گندم نان، تنش شوری، داده‌های ریزآرایه، آنالیز هاب.

مقدمه

گندم یکی از گیاهان مهم زراعی دنیا از حیث سطح زیر کشت، تولید و تغذیه می‌باشد، به طوری که ۱۹ درصد کالری و ۲۱ درصد پروتئین جمعیت جهان را تامین می‌نماید (FAO, 2011). با وجودی که گندم دارای دامنه سازگاری گسترده‌ای به شرایط آب و هوایی است ولی عوامل زیستی و غیرزیستی متعددی رشد و نمو و در نهایت عملکرد گندم را کاهش می‌دهند. تنش شوری یکی از مهمترین عوامل محدودکننده محیطی در تولید گندم است. گندم از نظر تحمل به شوری، گیاهی نیمه‌متحمل است به طوری که حد آستانه تحمل به شوری در گندم ۱۰۰ میلی مولار است به این معنا که در غلظت‌های شوری بالاتر از این مقدار، افت عملکرد مشاهده می‌گردد (Munns et al., 2006). براساس اطلاعات موجود، حدود ۶ درصد از زمین‌های دنیا (Munns and Tester, 2008) و ۲۰ درصد از زمین‌های ایران (Amini et al., 1394) با مشکل شوری مواجه هستند.

در دهه گذشته مطالعات مولکولی در پاسخ به تنش‌های محیطی مختلف و فرآیند تحمل گیاهان به تنش‌های محیطی مورد توجه محققان قرار گرفته است. نتایج این مطالعات حاکی از آن است که سیستم‌های منظم و پیچیده‌ای در پاسخ به تنش شوری در گیاهان درگیر هستند. در مواجهه با تنش‌ها، الگوی ترانسکریپتوم گیاه تغییر می‌یابد. این تغییر الگوی بیان ژن‌ها، برآیند سیگنال‌های مختلفی است که توسط محیط بیرون سلول به داخل آن انتقال می‌یابد (Moore et al., 2011). ملکول‌های مختلفی همچون سیتوکینین‌ها، اکسین‌ها، اتیلن، اسیدجیبرلیک، اسید سالیسیلیک و غیره می‌توانند در امر ایجاد سیگنال، تغییر الگوی رونوشت ژن‌ها و به دنبال آن، بروز واکنش‌های مختلف سلول گیاهی

نقش داشته باشند (Achuo et al., 2004; To & Kieber, 2008). صرف‌نظر از این که چه ریزفاکتورهایی (شامل هورمون‌های گیاهی، کلسیم و غیره) در انتقال محرک‌های محیطی نقش واسطه‌ایی ایفا می‌کنند، این ژن‌ها هستند که با تغییر الگوی بیان، سرنوشت گیاه را در برابر تنش‌ها تعیین می‌کنند. اگر چه در پاسخ به یک تنش، الگوی بیان تعداد بیشماری از ژن‌ها تغییر می‌کند ولی برخی از این ژن‌ها در پاسخ به تنش و ایجاد گیاه متحمل یا حساس نقشی کلیدی‌تری ایفا می‌کنند. پیدا کردن این ژن‌های کلیدی می‌تواند به درک محققان از مکانیسم‌های تحمل و نیز انتقال ژن و ایجاد گیاهان تراریخت متحمل کمک شایانی کند. محققان با انتقال این ژن‌ها به گیاهان حساس به تنش‌های محیطی توانسته‌اند گیاهان متحمل تولید نمایند (Jung et al., 2008; Li et al., 2011). با ادامه این روند شاید فرآیند طولانی تولید لاین‌های متحمل، کاهش یافته و دستیابی به ارقام و لاین‌ها با پتانسیل عملکرد مطلوب راحت‌تر باشد.

فن‌آوری‌های امیکس علاوه بر ایجاد تصویری کامل و واضح از نحوه پاسخ گیاه به تنش، راه را برای دست‌ورزی ژنتیکی و مهندسی گیاهان به منظور بهبود تحمل به تنش هموارتر می‌سازند (Urano et al., 2010). برای مثال تولید و تجزیه تحلیل توالی‌های EST، تکنولوژی ریزآرایه و توالی‌یابی RNA امکان شناسایی، ارزیابی بیان و مطالعه ژن‌های دخیل در شبکه‌های پاسخ به تنش را فراهم آورده‌اند (Moreno-Risueno et al., 2010). چندین مطالعه برای شناسایی ژن‌های پاسخ‌دهنده به تنش شوری در گندم انجام شده است. در پژوهش انجام شده توسط Goyal و همکاران (۲۰۱۶) به

در این تحقیق، دو سری داده ریزآرایه گندم موجود در NCBI با شماره‌های GSE8060 و GSE8064 مورد بررسی قرار گرفتند. این نتایج از دو آزمایش جداگانه به دست آمده بودند. در هر دو آزمایش، گیاهچه‌های دو هفته‌ای وارته‌ای از گندم نان با نام Chinese spring تحت تنش شوری ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم قرار گرفته بودند و نمونه‌گیری در زمان‌های ۱ ساعت، ۶ ساعت و ۲۴ ساعت پس از اعمال تنش شوری از بافت‌های ریشه و اندام هوایی به صورت جداگانه انجام شده بود. در هر دو آزمایش از تکنولوژی Agilent استفاده شده بود. آزمایش GSE8060 شامل ۲۱۹۳۹ کاوشگر (پروب) و آزمایش GSE8064 شامل ۱۰۲۶۳ کاوشگر بود و هیچ کاوشگر مشترکی بین این دو آزمایش وجود نداشت. هر دو آزمایش دوکاناله بوده و یک کانال به نمونه کنترل و کانال دیگر به نمونه تیمار تنش تعلق داشت. در هر دو سری آزمایش، جهت از بین بردن اریبی که نوع رنگ ایجاد می‌کند، برای هر بافت در هر تیمار زمانی دو آزمایش انجام شده بود به طوری که در یک آزمایش، برای کنترل رنگ CY3 و برای تنش رنگ CY5 به کار برده شده بود و در آزمایش دیگر، شرایط بالعکس بود.

نحوه تعیین ژن‌های دارای بیان افتراقی

کاوشگرهایی که به‌طور متوسط در هر دو آزمایش، Pvalue کمتر از ۰/۰۱ و تغییر بیان بیش از دو برابر داشتند، به عنوان ژن‌های دخیل در پاسخ به شوری انتخاب شدند. کاوشگرهای مذکور فاقد Annotation بودند، لذا برای کاوشگرهای دارای تفاوت بیان معنی‌دار در مقابل بانک پروتئینی گندم در Ensembl plants، Blast انجام شد تا مشخص شود که این کاوشگرها به چه ژن‌هایی در گندم مربوط می‌شوند.

منظور تعیین شبکه‌های ژنی پاسخ‌دهنده به شوری در رقم گندم متحمل به شوری کارچیا، ترانسکریپتوم ریشه این رقم تحت شرایط نرمال و تنش شوری توالی‌یابی شد. هم‌ردیفی رونوشت‌های مربوط به کتابخانه نرمال و تنش با ژنوم و مقایسه فراوانی‌ها نشان داد که ۲۴۹۵ ژن دارای تفاوت بیان معنی‌دار بودند. آنالیز هستی‌شناسی ژن‌های دارای تفاوت بیان معنی‌دار آشکار کرد که این ژن‌ها عمدتاً دارای فعالیت اکسیدوردوکتازی، فعالیت هیدرولازی، فعالیت اتصال به کاتیون‌ها و یون‌ها، فعالیت فسفاتازی و فعالیت تنظیم رشد بودند. در تحقیق دیگری نیز برای تعیین ژن‌های پاسخ‌دهنده به شوری در گندم از یک ریزآرایه شامل ۳۲۰۰۰ ژن منحصر به فرد گندم استفاده شد که ۵۹۹۶ ژن، تغییرات بیش از ۲ برابر در بیان در پاسخ به تنش شوری نشان دادند. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که مسیرهای انتقال سیگنال چندگانه در پاسخ به شوری در گندم وجود دارد (Kawaura *et al.*, 2008). با وجود پیشرفت‌های حاصل شده در تعیین ژن‌ها و مکانیزم‌های دخیل در تحمل به تنش شوری، پیچیدگی برهم‌کنش‌های درگیر در مکانیزم‌های تحمل به تنش شوری در گیاهان، آنالیزهای عمیق‌تر و گسترده‌تر را ضروری می‌سازد (Goyal *et al.*, 2016). این مطالعه با هدف شناسایی ژن‌های پاسخ‌دهنده به تنش شوری با استفاده از آنالیز داده‌های ریزآرایه مربوطه موجود در پایگاه داده NCBI و تعیین ژن‌های کلیدی دخیل در تحمل به تنش شوری با استفاده از آنالیز هاب انجام شد.

مواد و روش

مشخصات داده‌های ریزآرایه مورد بررسی

فایل‌های FASTA مربوط به توالی‌ها با استفاده از نرم‌افزار CLC MainWorkbench و با در نظر گرفتن *evaluate* کمتر و مساوی 10^{-30} به صورت موضعی در مقابل بانک توالی‌های پروتئینی گیاه برنج (ftp://ftp.plantbiology.msu.edu/pub/data/Eukaryotic_Projects/o_sativa/annotation_dbs/pseudomolecules/version_7.0/all.dir/all.pep) و پایگاه داده فاکتورهای رونویسی برنج (plantfdb.cbi.pku.edu.cn/download/seq/Osj_pep.fas.gz) Blast شدند. (LOC_Os ID) MSU‌های حاصل از Blast جهت ترسیم شبکه برهم‌کنش پروتئینی با استفاده از نرم‌افزار آنلاین String (<http://string-db.org>) مورد استفاده قرار گرفتند. برای ریشه در هر زمان، میان‌کنش‌های پروتئینی حاصل از String به نرم‌افزار CYTOSCAPE 2.8.0 وارد شده و با استفاده از ۴ الگوریتم محاسباتی (MNC، MCC؛ Degree، Closeness) (Chin *et al.*, 2014) ژن‌های با بیشترین برهم‌کنش به‌عنوان ژن‌های هاب انتخاب شدند.

نتایج و بحث

شناسایی ژن‌های پاسخ‌دهنده به شوری و تعیین هستی‌شناسی آنها

در بافت ریشه در زمان‌های نمونه‌گیری ۱، ۶ و ۲۴ ساعت پس از اعمال تنش به ترتیب ۱۳۰۹، ۱۵۸۴ و ۲۴۹۷ کاوشگر تفاوت بیان معنی‌دار نشان دادند و وقتی که توالی کاوشگرهای مذکور با بانک پروتئینی گندم در Ensembl plants با آستانه 10^{-3} برای *evaluate*، Blast شد، به‌ترتیب ۱۰۹۸، ۱۳۴۰ و ۲۲۳۷ ژن گندم دارای تفاوت بیان معنی‌دار برای زمان‌های

تعیین هستی‌شناسی ژن‌های دارای بیان افتراقی آنالیز هستی‌شناسی ژن‌های پاسخ‌دهنده در ریشه و اندام هوایی با استفاده از نرم‌افزار تحت وب Agri GO (<http://systemsbiology.cau.edu.cn/agriGOv2/>) انجام شد. برای شناسایی گروه‌های عملکردی مربوط به ژن‌های دارای بیان افتراقی از روش SEA^۱ استفاده شد. محاسبه *p*-value با استفاده از Fisher exact test و برای محاسبه *adjusted p*-value از Yekutieli (FDR under dependency) (Du *et al.*, 2010). ژن‌های افتراقی بر اساس هر سه گروه اصلی فرایندهای زیستی، اجزای سلولی و عملکرد مولکولی گروه‌بندی شدند.

تعیین ژن‌های هاب در پاسخ به تنش شوری

با توجه به این که ریشه اولین اندامی است که با تنش شوری در محیط مواجه می‌شود، آنالیز هاب بر روی ژن‌های پاسخ‌دهنده به تنش شوری در ریشه انجام شد. چون هدف از این تحقیق، شناسایی ژن‌های هاب دخیل در تحمل به شوری در گندم می‌باشد و از طرفی نرم‌افزارهایی همچون String که برای این منظور و نیز فراهم نمودن برهم‌کنش‌های پروتئینی در دسترس هستند، قادر به شناسایی ژن‌های گندم نمی‌باشند، بنابراین به سبب وجود قرابت بالا، از ژن‌های گیاه برنج به عنوان مدل استفاده شد. به این منظور، ابتدا کاوشگرهای دارای تفاوت معنی‌دار در بیان برای ریشه در هر زمان نمونه‌گیری خاص در دو سری آزمایش GSE8060 و GSE8064 به صورت جداگانه تعیین و سپس نتایج دو سری آزمایش ادغام شد. فایل‌های حاوی توالی کاوشگرهای افتراقی در هر زمان نمونه‌گیری خاص با استفاده از نرم‌افزار R از فرمت CSV به فرمت FASTA تبدیل شدند.

^۲Local

^۳Mathews Correlation Coefficient

^۴Maximum Neighborhood Component

^۱Singular enrichment analysis

و DNA توسط آنها مربوط می‌شود. تحت چنین شرایطی، ماشین دفاع آنتی‌اکسیدانی که دارای فعالیت اکسیدوردوکتازی می‌باشد، گیاه را در مقابل تخریب حاصل از تنش اکسیداتیو حفظ می‌نماید (Gill & Tuteja, 2010).

در پژوهش حاضر، در اندام هوایی به ترتیب، ۱۳۸۱، ۱۱۰۰ و ۶۲۰ کاوشگر در زمان‌های نمونه‌گیری ۱، ۶ و ۲۴ ساعت پس از اعمال تنش کاهش یا افزایش بیان معنی‌دار نشان دادند و پس از Blast توالی کاوشگرهای مذکور با بانک پروتئینی گندم در Ensembl plants با آستانه 10^{-3} برای evaluate به ترتیب، ۱۱۴۹، ۹۴۱ و ۵۲۷ ژن گندم دارای تفاوت بیان معنی‌دار برای زمان‌های ۱، ۶ و ۲۴ ساعت پس از نمونه‌گیری شناسایی شد. ۱۰ ژن دارای بیشترین افزایش بیان در هر زمان نمونه‌گیری در اندام هوایی در جدول ۲ ذکر شدند. در اندام هوایی در مجموع سه زمان نمونه‌گیری مورد بررسی، ۲۰۶۰ ژن پاسخ‌دهنده به شوری شناسایی شد. آنالیز هستی‌شناسی مربوط به این ژن‌ها نشان داد که در بخش فرایندهای زیستی، ۱۱۸ دسته ژنی دارای فراوانی بالای معنی‌داری بودند. از میان مهم‌ترین گروه‌های دارای فراوانی بالای معنی‌دار در بخش فرایندهای زیستی می‌توان به پرازش متابولیکی کربوهیدرات‌ها ($9.4E-15$)، پرازش متابولیکی لیپیدها ($2.1E-08$)، پاسخ به محرک‌های شیمیایی ($3.5E-06$)، انتقال ($3.5E-05$) و مکان‌یابی ($3.5E-05$) اشاره نمود (شکل ۲). آشکار است که تغییر در بیان چندین ژن که در فرایندهای زیستی مختلف نقش دارند، پاسخ گیاه به تنش شوری را تنظیم می‌کنند. در پژوهشی که ترانسکریپتوم برگ یک وارپته گندم موتانت متحمل به شوری را تحت

۱، ۶ و ۲۴ ساعت پس از نمونه‌گیری شناسایی شد. ۱۰ ژن دارای بیشترین افزایش بیان در هر زمان نمونه‌گیری در ریشه در جدول ۱ ذکر شدند. در مجموع سه زمان نمونه‌گیری مورد بررسی در ریشه، ۳۰۹۶ ژن پاسخ‌دهنده به شوری شناسایی شد. آنالیز هستی‌شناسی مربوط به این ژن‌ها نشان داد که در بخش فرایندهای زیستی، گروه‌های مهمی چون پاسخ به محرک‌های شیمیایی ($2.3E-14$)، پاسخ به تنش اکسیداتیو ($1E-12$)، پرازش متابولیکی کربوهیدرات‌ها ($2.4E-9$)، انتقال ($5.4E-9$) و تنظیم رونویسی ($1.4E-7$) دارای فراوانی بالای معنی‌دار بودند. در بخش اجزای سلولی، غشا ($7.4E-09$)، ناحیه خارج سلولی ($2.9E-05$) و هسته ($2.9E-05$) دارای فراوانی بالای معنی‌دار بودند. وجود فراوانی بالای معنی‌دار برای ژن‌های کدکننده پروتئین‌های عمل‌کننده در هسته و غشا به ترتیب به وجود عوامل رونویسی (Singh et al., 2002) و ترانسپورترها (Assaha et al., 2017) و نقش مهم آنها در پاسخ به تنش شوری مربوط می‌شود. از میان گروه‌های مهم غنی‌شده در بخش عملکرد مولکولی می‌توان به فعالیت کاتالیتیکی ($1.2E-46$)، اتصال ($1.8E-28$) و فعالیت اکسیدوردوکتازی ($1E-25$) اشاره نمود (شکل ۱). در یک پژوهش که ترانسکریپتوم پاسخ‌دهنده به تنش شوری در ریشه یک رقم گندم نان با استفاده از تکنیک توالی‌یابی RNA مورد بررسی قرار گرفته بود در بخش عملکرد مولکولی، فعالیت اکسیدوردوکتازی، فعالیت هیدرولازی و اتصال به یون آهن جز مهم‌ترین گروه‌های غنی‌شده برای ژن‌های دارای تفاوت بیان معنی‌دار بودند (Goyal et al., 2016). وجود فراوانی بالای معنی‌دار برای ژن‌های دخیل در فعالیت اکسیدوردوکتازی به افزایش تولید انواع اکسیژن فعال (ROS) تحت تنش‌های غیرزنده و تخریب پروتئین‌ها، لیپیدها، کربوهیدرات‌ها

زمان قرار گرفتن در معرض تنش، تعداد ژن‌های پاسخ‌دهنده در ریشه افزایش می‌یابد، در حالی که در اندام هوایی با افزایش مدت زمان قرار گرفتن در معرض تنش، تعداد این ژن‌ها کاهش می‌یابد. تحت تنش شوری، ریشه درک‌کننده شرایط محیطی و تولید کننده سیگنال‌های متناسب با انواع تغییرات محیطی است و از آنجا که شرایط محیطی ریشه با گذشت زمان دچار تغییرات می‌شود به‌نظر می‌رسد که ریشه مرتباً بایستی با مدیریت بیان ژن‌های مختلف و متعدد و ارسال سیگنال‌های مناسب، اندام‌های هوایی را از وضعیت حادث شده در ریشه مطلع سازد (Ko & Helariutta, 2017). شاید این دلیلی بر افزایش تعداد ژن‌های پاسخ‌دهنده در ریشه در مقایسه با برگ با افزایش مدت زمان قرار گرفتن در معرض تنش شوری باشد.

شرایط تنش شوری و نرمال مقایسه کرده بودند، پاسخ به محرک‌های غیر زنده، پاسخ به محرک‌های شیمیایی، فرایند متابولیسمی ساکارز و فرایند بیوسنتز لیپیدها در بخش فرایندهای زیستی واجد فراوانی معنی‌دار بالاتری در بین سایر اجزای دخیل در فرایندهای زیستی بودند (Xiong et al., 2017). در بخش اجزای سلولی نیز غشا (4.4E-11) و نوکلئوزوم (0.0099) فراوانی معنی‌دار بالاتری نسبت به سایر اجزای سلولی نشان دادند. آنالیز هستی‌شناسی انجام شده برای ژن‌های پاسخ‌دهنده در اندام هوایی در بخش عملکرد مولکولی، فعالیت کاتالیتیکی (-6.4E-45)، فعالیت اکسیدوردوکتازی (3.8E-20) و اتصال به یون آهن (7E-11) را به عنوان مهم‌ترین گروه‌های غنی‌شده تعیین نمود (شکل ۲). مقایسه تعداد ژن‌های پاسخ‌دهنده به تنش شوری در ریشه و اندام هوایی نشان داد که با افزایش مدت

جدول ۱. ژن‌های با بیشترین افزایش بیان در زمان‌های ۱، ۶ و ۲۴ ساعت پس از اعمال تنش شوری در ریشه

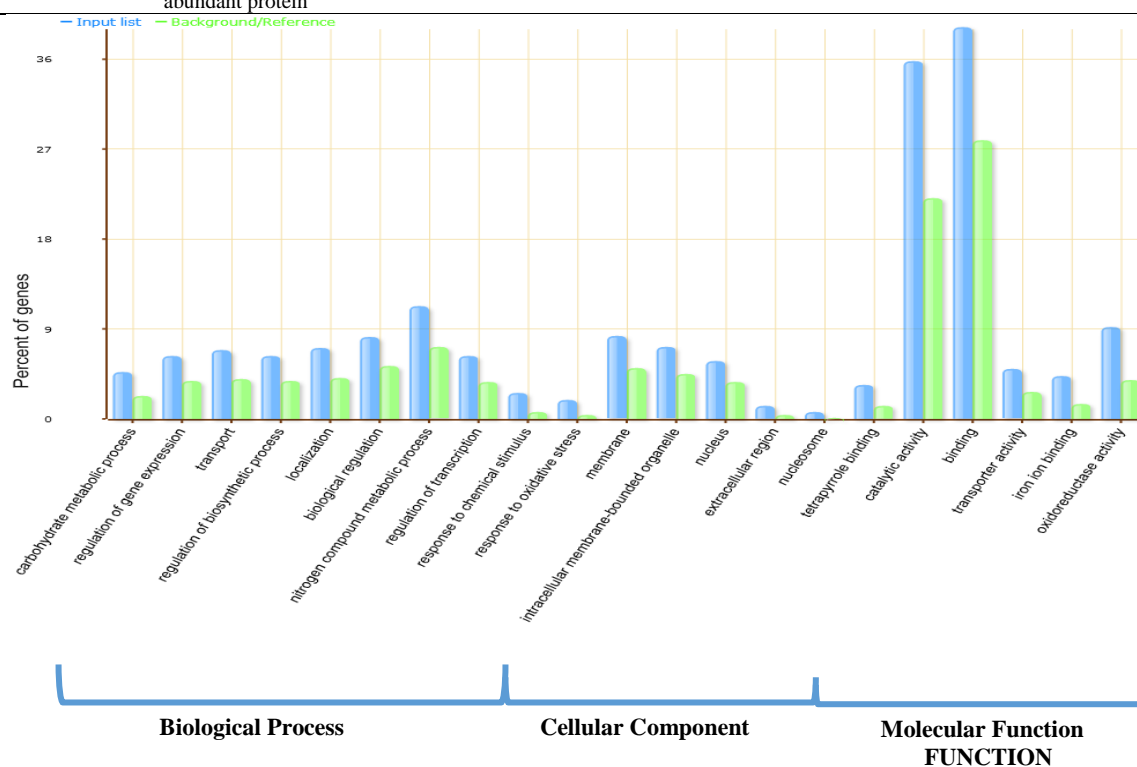
Tissue & Time point	Log ₁₀ (Fold Change)	Annotation	Wheat ensembl Id	Wheat probe Id	ردیف
Root 1h	1.6	Oxidoreductase	TRIAE_CS42_3AL_TGACv1_194953_AA0642620	MUGEST2003_23lib_Contig16206	1
Root 1h	1.4	Kinase	TRIAE_CS42_U_TGACv1_645082_AA2142930	MUGEST2003_23lib_Contig4286	2
Root 1h	1.36	Oxidoreductase	TRIAE_CS42_2AL_TGACv1_093272_AA0276390	MUGEST2003_23lib_Contig15680	3
Root 1h	1.3	Sugar transporter	TRIAE_CS42_4AS_TGACv1_307652_AA1022380	wheat0130Contig2532	4
Root 1h	1.3	late	TRIAE_CS42_3DS_TGACv1_274198_AA0935020	wheat0130Contig10613	5
Root 1h	1.2	embryogenesis abundant protein sulfotransferase activity	TRIAE_CS42_2DL_TGACv1_158329_AA0515810	MUGEST2003_23lib_Contig18223	6
Root 1h	1.2	metal ion binding, metal ion transport	TRIAE_CS42_U_TGACv1_642201_AA2113250	wheat0130Contig906	7
Root 1h	1.2	Glutathione S-transferase	TRIAE_CS42_3DL_TGACv1_249532_AA0850990	whsh_allContig109	8
Root 1h	1.2	calcium ion binding	TRIAE_CS42_2BL_TGACv1_130527_AA0412950	MUGEST2003_23lib_Contig18120	9
Root 1h	1.2	Glycosidase, Hydrolase	TRIAE_CS42_1DL_TGACv1_062162_AA0209730	MUGEST2003_23lib_Contig3959	10
Root 6h	1.7	protein dimerization activity	TRIAE_CS42_2BL_TGACv1_129640_AA0391310	MUGEST2003_23lib_Contig11950	11
Root 6h	1.7	Dehydrin	TRIAE_CS42_3DL_TGACv1_252938_AA0892670	wheat0130Contig3543	12
Root 6h	1.5	DNA binding	TRIAE_CS42_1AS_TGACv1_019507_AA0067450	rwhca6120	13
Root 6h	1.5	structural constituent of ribosome	TRIAE_CS42_2BL_TGACv1_129886_AA0398750	wheat0130Contig12965	14
Root 6h	1.5	Dehydrin	TRIAE_CS42_5DL_TGACv1_432941_AA1395460	wheat0130Contig2730	15
Root 6h	1.4	Dehydrin	TRIAE_CS42_U_TGACv1_641024_AA2082530	wheat0130Contig2499	16
Root 6h	1.4	Sugar transporter	TRIAE_CS42_4AS_TGACv1_307652_AA1022380	wheat0130Contig2532	17
Root 6h	1.3	chitin binding	TRIAE_CS42_2DL_TGACv1_159104_AA0532470	wheat0130Contig10552	18
Root 6h	1.3	catalytic activity	TRIAE_CS42_5BS_TGACv1_424783_AA1391730	wheat0130Contig10453	19
Root 6h	1.3	Sugar transporter	TRIAE_CS42_4AS_TGACv1_307652_AA1022380	wheat0130Contig2532	20

Root 24h	1.9	Oxidoreductase	TRIAE_CS42_5DS_TGACv1_457426_AA1486400.1	MUGEST2003_23lib_Contig9860	21
Root 24h	1.8	protein dimerization activity	TRIAE_CS42_2BL_TGACv1_129640_AA0391310.7	MUGEST2003_23lib_Contig11950	22
Root 24h	1.8	Glycosidase,Hydrolase	TRIAE_CS42_U_TGACv1_640781_AA2073960.1	MUGEST2003_23lib_Contig16264	23
Root 24h	1.78	ABC transporter	TRIAE_CS42_3B_TGACv1_222340_AA0762490.2	rwe1o16	24
Root 24h	1.7	ABC transporter	TRIAE_CS42_3DL_TGACv1_250315_AA0866010.1	ncbi_gi_19032274	25
Root 24h	1.6	ATP binding	TRIAE_CS42_1DL_TGACv1_061644_AA0200730.1	wheat0130Contig4997	26
Root 24h	1.6	metal ion binding	TRIAE_CS42_2AL_TGACv1_092986_AA0268690.1	wheat0130Contig7563	27
Root 24h	1.6	regulation of transcription	TRIAE_CS42_3B_TGACv1_223174_AA0777390.1	wheat0130Contig5896	28
Root 24h	1.6	Sugar transporter	TRIAE_CS42_4AS_TGACv1_307652_AA1022380.1	wheat0130Contig2532	29
Root 24h	1.3	structural constituent of ribosome	TRIAE_CS42_5AL_TGACv1_374481_AA1201270.1	wheat0130Contig3770	30

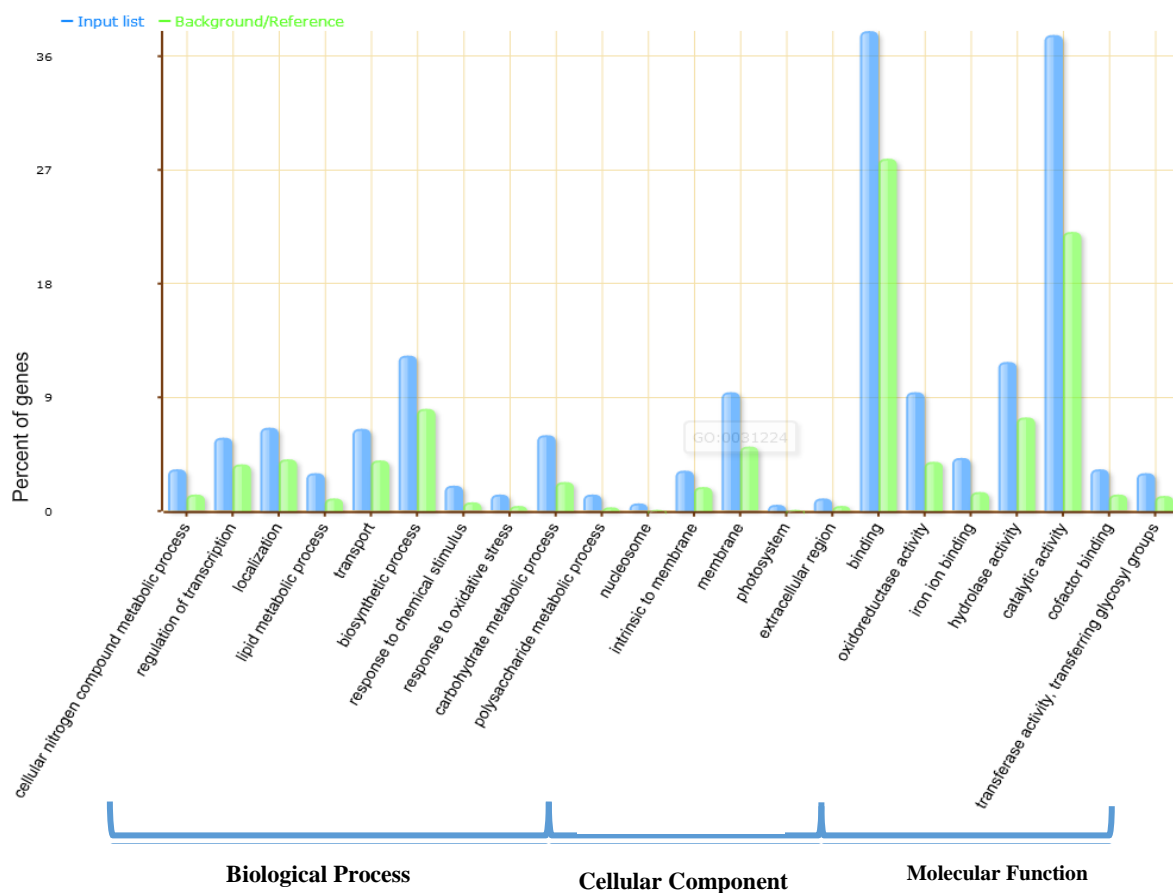
جدول ۲. ژن‌های با بیشترین افزایش بیان در زمان‌های ۱، ۶ و ۲۴ ساعت پس از اعمال تنش شوری در اندام هوایی

Tissue & Time point	Log ₁₀ (Fold Change)	Annotation	Wheat ensembl Id	Wheat probe Id	ردیف
Shoot 1h	1.4	Oxidoreductase	TRIAE_CS42_3AL_TGACv1_194953_AA0642620	MUGEST2003_23lib_Contig16206	1
Shoot 1h	1.2	Transcription factor activity	TRIAE_CS42_6DL_TGACv1_526953_AA1695920	rwhsd8b24	2
Shoot 1h	1.2	Oxidoreductase	TRIAE_CS42_5DS_TGACv1_457426_AA1486400	MUGEST2003_23lib_Contig9860	3
Shoot 1h	1.2	Oxidoreductase	TRIAE_CS42_2AL_TGACv1_093272_AA0276390	MUGEST2003_23lib_Contig15680	4
Shoot 1h	1.2	magnesium ion binding, terpene synthase activity	TRIAE_CS42_5BS_TGACv1_423547_AA1379240	rwhf24h06	5
Shoot 1h	1.1	cellulose synthase activity	TRIAE_CS42_2DS_TGACv1_177641_AA0581710	rwhr9b21	6
Shoot 1h	1.0	cellulose synthase activity	TRIAE_CS42_2DS_TGACv1_178985_AA0603230	MUGEST2003_23lib_Contig3082	7
Shoot 1h	1.0	Monooxygenase, Oxidoreductase	TRIAE_CS42_3DS_TGACv1_271997_AA0912700	MUGEST2003_23lib_Contig11979	8
Shoot 1h	1.0	serine/threonine phosphatase activity	TRIAE_CS42_4DL_TGACv1_343127_AA1130270	MUGEST2003_23lib_Contig20238	9
Shoot 1h	1.0	Glutathione S-transferase	TRIAE_CS42_7DL_TGACv1_603080_AA1975400	ncbi_gi_32128768	10
Shoot 6h	1.5	Senescence-associated protein	TRIAE_CS42_7DL_TGACv1_604017_AA1992400	MUGEST2003_23lib_Contig2476	11
Shoot 6h	1.4	Auxin-repressed protein	TRIAE_CS42_4AL_TGACv1_289420_AA0970770	whsh_allContig1196	12
Shoot 6h	1.3	Auxin-repressed protein	TRIAE_CS42_4DS_TGACv1_361072_AA1160380	whsh_allContig1110	13
Shoot 6h	1.2	Serine/threonine-protein phosphatase	TRIAE_CS42_3B_TGACv1_221851_AA0751720	whsh_allContig1108	14
Shoot 6h	1.0	regulation of transcription	TRIAE_CS42_7BL_TGACv1_577264_AA1870500	MUGEST2003_23lib_Contig4076_p	15
Shoot 6h	0.9	protein serine/threonine phosphatase activity	TRIAE_CS42_4DL_TGACv1_343127_AA1130270	MUGEST2003_23lib_Contig20238	16
Shoot 6h	0.9	ATP binding, protein kinase activity	TRIAE_CS42_5BL_TGACv1_406590_AA1347490	MUGEST2003_23lib_Contig5261	17
Shoot 6h	0.9	Late embryogenesis abundant protein	TRIAE_CS42_3DS_TGACv1_272166_AA0915970	wheat0130Contig6318	18
Shoot 6h	0.9	protein kinase activity	TRIAE_CS42_5AL_TGACv1_374184_AA1192720	MUGEST2003_23lib_Contig8276	19
Shoot 6h	0.9	Beta-glucanase	TRIAE_CS42_1BL_TGACv1_032476_AA0130290	whsh_allContig1059	20
Shoot 24h	1.2	regulation of transcription	TRIAE_CS42_7BL_TGACv1_577264_AA1870500	MUGEST2003_23lib_Contig4076_p	21
Shoot	1.2	sodium ion	TRIAE_CS42_3AS_TGACv1_211011_AA0683000	ncbi_gi_32128974	22

24h		transporter				
Shoot 24h	1.1	Monoxygenase, Oxidoreductase	TRIAE_CS42_2DS_TGACv1_177333_AA0573920	MUGEST2003_23lib_Contig12181		23
Shoot 24h	1.0	Monoxygenase, Oxidoreductase	TRIAE_CS42_3DS_TGACv1_271997_AA0912700	MUGEST2003_23lib_Contig11979		24
Shoot 24h	0.9	Transcription regulation	TRIAE_CS42_2DS_TGACv1_180216_AA0610470	MUGEST2003_23lib_Contig9230		25
Shoot 24h	0.9	serine/threonine phosphatase activity	TRIAE_CS42_4DL_TGACv1_343127_AA1130270	MUGEST2003_23lib_Contig20238		26
Shoot 24h	0.9	Glutamate dehydrogenase	TRIAE_CS42_2BL_TGACv1_129728_AA0393950	wheat0130Contig10646		27
Shoot 24h	0.8	ABC transporter	TRIAE_CS42_7DL_TGACv1_603165_AA1977410	MUGEST2003_23lib_Contig4051		28
Shoot 24h	0.8	Glutathione S-transferase,	TRIAE_CS42_1AL_TGACv1_000725_AA0017970	MUGEST2003_23lib_Contig5075		29
Shoot 24h	0.7	Late embryogenesis abundant protein	TRIAE_CS42_3DS_TGACv1_272166_AA0915970	wheat0130Contig6318		30



شکل ۱. نتایج هستی‌شناسی ژن‌های دارای بیان افتراقی در ریشه گندم در پاسخ به تنش شوری



شکل ۲. نتایج هستی‌شناسی ژن‌های دارای بیان افتراقی در اندام هوایی گندم در پاسخ به تنش شوری

تعیین ژن‌های هاب در پاسخ به تنش شوری

با توجه به این که ریشه اولین اندامی است که با تنش شوری مواجه می‌شود، آنالیز هاب بر روی ژن‌های پاسخ‌دهنده به تنش شوری در ریشه انجام شد. پس از انجام Blastx در مقابل بانک پروتئینی برنج و پایگاه داده فاکتورهای رونویسی برنج با `evaluate` کوچک‌تر یا مساوی 10^{-3} به ترتیب ۷۸۹، ۱۱۲۸ و ۱۷۵۵ ژن برنج در زمان‌های ۱، ۶ و ۲۴ ساعت پس از اعمال تنش شوری شناسایی شد که این ژن‌ها به‌عنوان ورودی به نرم‌افزار `String` داده شدند. نرم‌افزار `String` از میان این ژن‌های برنج (به صورت `MSU ID`) در زمان‌های ۱، ۶ و ۲۴ ساعت به ترتیب ۷۶۹، ۱۰۹۷ و ۱۷۲۰ ژن را شناسایی نمود. خروجی نرم‌افزار `string` (میان‌کنش‌های پروتئینی مربوطه) وارد فضای نرم‌افزاری `Cytoscape 2.8.0` گردید. در نهایت، در مجموع سه زمان مورد بررسی در ریشه، ژن‌های هاب در پاسخ به تنش شوری در ریشه شناسایی و ۱۰ ژن مهم انتخاب شدند (جدول ۳).

گیاهان از طریق القای ژن‌های پاسخ‌دهنده به تنش با شرایط نامساعد محیطی سازگار می‌شوند که این فرایند با حضور و راهبری عوامل رونویسی اتفاق می‌افتد. عوامل رونویسی از طریق تنظیم بیان ژن‌های درگیر در مسیرهای انتقال سیگنال تنش و پاسخ‌های

فیزیولوژیک گیاه، در پاسخ‌های تحملی گیاه ایفای نقش می‌نمایند (Budak *et al.*, 2013; Chen & Zhu, 2004; Shinozaki & Dennis, 2003; Yamaguchi-Shinozaki & Shinozaki, 2005). در این مطالعه نیز دو عامل رونویسی از خانواده‌های `MYB` و `WRKY` به‌عنوان ژن هاب شناسایی شدند. پروتئین‌های دارای دومین `MYB`، یک دسته بزرگ از فعال‌کننده‌ها و بازدارنده‌های رونویسی را شامل می‌شوند که چرخه سلولی، متابولیسم و پاسخ به تنش‌های زنده و غیر زنده را تنظیم می‌کنند (Deluc *et al.*, 2008; Nilsson *et al.*, 2007; Stracke *et al.*, 2001; Yoo *et al.*, 2005). عامل رونویسی `MYB` شناسایی شده در این پژوهش به‌عنوان ژن هاب یک شبکه ژنی پیچیده را که در تحمل به تنش و نمو خوشه نقش دارد در برنج فعال می‌کند (PARK *et al.*, 2010). انتقال این ژن به آرابیدوپسیس، تنباکو، سیب و مریم‌گلی و بیان آن، از طریق بیوستتزر اسمولیت‌های سازگاری مانند پرولین، ساکارز و گلوکز، افزایش بیوستتزر فیل‌پروپانویدها و فلاونوئیدهای آنتی‌اکسیدان سبب افزایش تحمل به تنش‌های خشکی و سرما شده است (Docimo *et al.*, 2008; Mattana *et al.*, 2005; Pasquali *et al.*, 2008; Vannini *et al.*, 2004).

جدول ۳. ژن‌های هاب دخیل در پاسخ به تنش شوری در بافت ریشه گندم

Algorithm	Annotation	Description	Rice MSU Id	Wheat ensembl Id	Wheat probe Id	ردیف
Mcc	Transcriptional regulator	OsMyb4	LOC_Os04g43680.1	TRIAE_CS42_2DL_TGA Cv1_159712_AA0541890	wheat0130Contig10425	1
Mcc	Transcriptional regulator	OsWRKY71	LOC_Os02g08440.1	TRIAE_CS42_6BS_TGA Cv1_513502_AA1643690	wheat0130Contig10100	2
closeness	kinase	receptor-like protein kinase 5 precursor	LOC_Os01g53920.1	TRIAE_CS42_3B_TGAC v1_226158_AA0814320	wheat0130Contig12908	3
closeness	kinase	receptor-like protein kinase precursor	LOC_Os06g38340.1	TRIAE_CS42_5BL_TGA Cv1_405586_AA1330960	rwh28o12	4
degree&mcc	Phenylpropanoid metabolism	4-coumarate--CoA ligase 5	LOC_Os08g34790.1	TRIAE_CS42_2DS_TGA Cv1_178855_AA0601830	MUGEST2003_23lib_Contig18545	5
degree&mnc	Protein phosphatase	protein phosphatase 2C 32	LOC_Os03g18150.1	TRIAE_CS42_4AS_TGA Cv1_307328_AA1019520	wheat0130Contig10227	6
degree&mnc	Protein phosphatase	protein phosphatase 2C 38	LOC_Os04g25570.1	TRIAE_CS42_2AL_TGA Cv1_093400_AA0279320	wheat0130Contig11575	7
degree&mnc	Protein phosphatase	protein phosphatase 2C 30	LOC_Os03g16170.2	TRIAE_CS42_4DL_TGA Cv1_343127_AA1130270	MUGEST2003_23lib_Contig20238	8

degree&mnc	Protein phosphatase	protein phosphatase 2C 50	LOC_Os05g46040.1	TRIAE_CS42_IDL_TGA Cv1_061434_AA0195270	MUGEST2003_23lib_Contig16336	9
Mnc	Protein phosphatase	protein phosphatase 2C 6	LOC_Os01g40094.1	TRIAE_CS42_U_TGACv1_641350_AA2092650	MUG018B08R990527	10

افزایش تحمل به تنش شوری می‌شود (Vaid *et al.*, 2015). در پژوهش حاضر دو ژن *RLK* به عنوان ژن‌های کلیدی دخیل در پاسخ گندم به تنش شوری شناسایی شدند.

فنیل پروپانویدها و فلاونوئیدها دو دسته مهم از متابولیت‌های فنلی گیاهی هستند. این ترکیبات در حفاظت گیاهان در مقابل تنش‌های زنده و غیرزنده نقش بسیار کلیدی ایفا می‌کنند و این وظیفه اغلب از طریق جلوگیری از تشکیل انواع اکسیژن فعال انجام می‌گیرد (Mierziak *et al.*, 2014). ژن *4CL5* (*4-coumarate-CoA ligase 5*) که نقش مهمی در متابولیسم فنیل پروپانویدها دارد در مطالعه حاضر به عنوان ژن کلیدی دخیل در پاسخ گندم به تنش شوری شناسایی شد.

در پژوهش حاضر، ۵ ژن کدکننده پروتئین فسفاتاز 2C به‌عنوان ژن‌های کلیدی در تحمل به تنش شوری در گندم شناسایی شدند. فسفوریلاسیون برگشت‌پذیر پروتئین‌ها به عنوان یکی از وقایع کلیدی در شبکه‌های انتقال سیگنال شناخته شده است که فرایندهای زیستی متعددی را در یوکاریوت‌ها تنظیم می‌کند (Uhrig *et al.*, 2013) و پروتئین کینازها و فسفاتازها ایفا کننده نقش اصلی در این فرایند می‌باشند (Singh and Pandey, 2012). فسفاتازهای 2C در گیاهان مدلی مانند آرابیدوپسیس و برنج بین ۶۰ تا ۶۵ درصد کل فسفاتازها را تشکیل می‌دهند. (Kerk *et al.*, 2010; Singh *et al.*, 2008). نسبت بالای پروتئین فسفاتازهای 2C، نشان‌دهنده اهمیت و دخالت آنها در فرایندهای مختلف سلولی است. پروتئین فسفاتازهای 2C به‌عنوان تنظیم‌گرهای مهم در مسیر سیگنال‌دهی ABA شناخته شده‌اند. به دنبال درک محرک‌های نموی یا تنش، در داخل

عوامل رونویسی WRKY در تنظیم رشد و نمو گیاه و پاسخ گیاه به تنش‌های زنده و غیر زنده نقش بسیار مهمی ایفا می‌کنند (Mingyu *et al.*, 2012). انتقال ژن *GmWRKY54* سویا به آرابیدوپسیس از طریق تنظیم بیان ژن‌های پاسخ‌دهنده به تنش *RD29B*، *DREB2A* و *STZ* سبب افزایش تحمل به خشکی و شوری شده است (Zhou *et al.*, 2008). گیاهان تراریخت *Nicotiana benthamiana* که در آنها ژن *GhWRKY17* پنبه افزایش بیان (*overexpress*) داده شده است به علت کاهش بیان ژن‌های از بین برنده ROS، کاهش تحمل به خشکی و شوری نشان می‌دهند (Yan *et al.*, 2014). در مطالعه دیگری نیز نشان داده شد که افزایش بیان ژن *AtWRKY25* از طریق افزایش بیان ژن‌های القا شونده با گرما، سبب افزایش تحمل به گرما در آرابیدوپسیس می‌شود (Li *et al.*, 2009). در پژوهش حاضر نیز یک عامل رونویسی WRKY به عنوان ژن هاب شناسایی شد که افزایش بیان این ژن تحت تنش‌های سرما، خشکی و شوری در برنج نیز گزارش شده است (Rabbani *et al.*, 2003).

نتایج حاصل از مطالعات نشان داده است که Receptor-like protein kinases (RLKs) علاوه بر تنظیم فرایندهای نموی گیاه، شبکه‌های سیگنال‌دهی و مقاومت به بیماری در پاسخ به تنش‌های غیر زنده شامل پاسخ به آبسزیک اسید، سیگنال‌دهی کلسیم و دفاع آنتی‌اکسیدان نیز دخالت دارند (Ye *et al.*, 2017). انتقال ژن *LecRLK* نخود فرنگی به تنباکو از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های از بین‌برنده انواع اکسیژن فعال (ROS) و در نتیجه کاهش تجمع انواع اکسیژن فعال و افزایش جذب آب به علت فعال کردن کانال‌های آبی سبب

جایگاه این ژن‌ها در شبکه‌های پاسخ به تنش در بالادست سایر ژن‌ها بوده و بیان ژن‌های پایین‌دست را تنظیم می‌نمایند و بنابراین از اهمیت به‌سزایی در ایجاد تحمل به تنش برخوردار می‌باشند. نتایج حاصل از این پژوهش در خصوص شناسایی ژن‌های کلیدی دخیل در تحمل گیاه گندم می‌توانند در برنامه‌های اصلاح برای تحمل به تنش شوری در گندم مورد استفاده قرار گیرند. به این منظور طراحی نشانگرهای مبتنی بر حضور و یا بیان ژن‌های کلیدی، اولین گام برای کاربردی شدن نتایج این پژوهش می‌باشد.

سپاسگزاری

این پژوهش بخشی از پروژه تحقیقاتی مصوب صندوق حمایت از پژوهشگران به شماره ۶۹۰۰۰۰۹۵ می‌باشد و در پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی ایران انجام شده است که بدین‌وسیله مورد تشکر و قدردانی قرار می‌گیرند.

REFERENCES

- Achuo E, Audenaert K, Meziane H, Höfte M (2004) The salicylic acid-dependent defence pathway is effective against different pathogens in tomato and tobacco. *Plant Pathol.* 53: 65-72.
- Budak H, Kantar M, Yucebilgili Kurtoglu K (2013) Drought tolerance in modern and wild wheat. *TSWJ.* 16.
- Chen WJ, Zhu T (2004) Networks of transcription factors with roles in environmental stress response. *Trends Plant Sci.* 9:591-596.
- Deluc L, Bogs J, Walker AR, Ferrier T, Decendit A, Merillon J-M, Robinson SP, Barrieu F (2008) The transcription factor *VvMYB5b* contributes to the regulation of anthocyanin and proanthocyanidin biosynthesis in developing grape berries. *Plant Physiol.* 147:2041-2053.
- Docimo T, Coraggio I, De Tommasi N, Leone A (2008) Enhancing phenylpropanoid secondary metabolites in *Nicotiana tabacum* and *Salvia sclarea* by overexpression of a rice *Myb4* transcription factor. *Planta Med.* 74:PG87.
- Goyal E, Amit SK, Singh RS, Mahato AK, Chand S, Kanika K (2016) Transcriptome profiling of the salt-stress response in *Triticum aestivum* cv. Kharchia Local. *Sci. Rep.* 6:27752.
- Kerk D, Templeton G, Moorhead GB (2008) Evolutionary radiation pattern of novel protein phosphatases revealed by analysis of protein data from the completely sequenced genomes of humans, green algae, and higher plants. *Plant Physiol.* 146:351-367.
- Ko D, Helariutta, Y. (2017) Shoot-root communication in flowering plants.

سلول ABA تولید می‌شود و به گیرنده ABA (ABAR) متصل و آن را فعال می‌کند. ABAR فعال شده با پروتئین فسفاتاز 2C میان‌کنش می‌دهد. به دنبال این میان‌کنش، اثر بازدارندگی پروتئین فسفاتاز 2C بر روی پروتئین SnRk2 (Sucrose nonfermenting related kinase2) برداشته شده و منجر به فعال شدن SnRk2 می‌شود. این کیناز فعال شده نیز به نوبه خود اجزا پایین دست مانند فاکتورهای رونویسی ABF/AREB/ABI5 را فعال کرده و بیان ژن‌های پاسخ‌دهنده به ABA را القا می‌کند. این وقایع در نهایت به پاسخ‌های فیزیولوژیکی سازگاری شامل تنظیم رشد و نمو و تحمل به تنش منجر می‌شوند (Singh et al., 2016).

بر اساس نتایج به‌دست آمده در تحقیق حاضر، بسیاری از ژن‌های کلیدی دخیل در تحمل به تنش شوری، ژن‌های تنظیمی مانند پروتئین کینازها، پروتئین فسفاتازها و عوامل رونویسی می‌باشند که

- Curr. Biol. 27(17): R973-R978.
- Li S, Fu Q, Huang W, Yu D (2009) Functional analysis of an Arabidopsis transcription factor *WRKY25* in heat stress. *Plant Cell Rep.* 28:683-693.
- Mattana M, Biazzi E, Consonni R, Locatelli F, Vannini C, Provera S, Coraggio I (2005) Overexpression of *Osmyb4* enhances compatible solute accumulation and increases stress tolerance of *Arabidopsis thaliana*. *Physiol. Plant.* 125:212-223.
- Mierziak J, Kostyn K, Kulma A (2014) Flavonoids as important molecules of plant interactions with the environment. *Molecules.* 19:16240-16265.
- Mingyu Z, Zhengbin Z, Shouyi C, Jinsong Z, Hongbo S (2012) WRKY transcription factor superfamily: structure, origin and functions. *AJB.* 11: 8051-8059.
- Moore JW, Loake GJ, Spoel SH (2011) Transcription dynamics in plant immunity. *Plant Cell.* 23: 2809-2820.
- Moreno-Risueno MA, Busch W, Benfey PN (2010) Omics meet networks—using systems approaches to infer regulatory networks in plants. *Curr. Opin. Plant Biol.* 13:126-131.
- Munns R, James RA, Läuchli A (2006) Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals. *J. Exp. Bot.* 57:1025-1043.
- Munns R, Tester M (2008) Mechanisms of salinity tolerance. *Annu. Rev. Plant Biol.* 59:651-681
- Nilsson L, Müller R, Nielsen TH (2007) Increased expression of the MYB-related transcription factor, *PHR1*, leads to enhanced phosphate uptake in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Environ.* 30:1499-1512.
- PARK MR, YUN KY, Mohanty B, Herath V, Xu F, Wijaya E, Bajic VB, YUN SJ, De Los Reyes BG (2010) Supra-optimal expression of the cold-regulated *OsMyb4* transcription factor in transgenic rice changes the complexity of transcriptional network with major effects on stress tolerance and panicle development. *Plant Cell Environ.* 33:2209-2230.
- Pasquali G, Biricolti S, Locatelli F, Baldoni E, Mattana M (2008) *Osmyb4* expression improves adaptive responses to drought and cold stress in transgenic apples. *Plant Cell Rep.* 27:1677-1686.
- Shinozaki K, Dennis ES (2003) Cell signalling and gene regulation: global analyses of signal transduction and gene expression profiles. *Curr. Opin. Plant Biol.* 6: 405-409.
- Singh A, Giri J, Kapoor S, Tyagi AK, Pandey GK (2010) Protein phosphatase complement in rice: genome-wide identification and transcriptional analysis under abiotic stress conditions and reproductive development. *BMC Genom.* 11:435.
- Singh A, Pandey A, Srivastava AK, Tran L-SP, Pandey GK (2016) Plant protein phosphatases 2C: from genomic diversity to functional multiplicity and importance in stress management. *Crit. Rev. Biotechnol.* 36:1023-1035.
- Singh A, Pandey GK (2012) Protein phosphatases: a genomic outlook to understand their function in plants. *J. Plant Biochem Biotechnol.* 21:100-107.
- Stracke R, Werber M, Weisshaar B (2001) The R2R3-MYB gene family in *Arabidopsis thaliana*. *Curr. Opin. Plant Biol.* 4:447-456.
- To JP, Kieber JJ (2008) Cytokinin signaling: two-components and more. *Trends Plant Sci.* 13: 85-92.
- Uhrig RG, Labandera A-M, Moorhead GB (2013) Arabidopsis PPP family of serine/threonine protein phosphatases: many targets but few engines. *Trends Plant Sci.* 18: 505-513.
- Urano K, Kurihara Y, Seki M, Shinozaki

- K (2010) 'Omics' analyses of regulatory networks in plant abiotic stress responses. *Curr. Opin. Plant Biol.* 13:132-138.
- Vannini C, Locatelli F, Bracale M, Magnani E, Marsoni M, Osnato M, Mattana M, Baldoni E, Coraggio I (2004) Overexpression of the rice *Osmyb4* gene increases chilling and freezing tolerance of *Arabidopsis thaliana* plants. *Plant J.* 37:115-127.
- Xiong H, Guo H, Xie Y, Zhao L, Gu J, Zhao S, Li J, Liu L (2017) RNAseq analysis reveals pathways and candidate genes associated with salinity tolerance in a spaceflight-induced wheat mutant. *Sci. Rep.* 7:2731.
- Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K (2005) Organization of cis-acting regulatory elements in osmotic- and cold-stress-responsive promoters. *Trends Plant Sci.* 10: 88-94.
- Yan H, Jia H, Chen X, Hao L, An H, Guo X (2014) The cotton WRKY transcription factor *GhWRKY17* functions in drought and salt stress in transgenic *Nicotiana benthamiana* through ABA signaling and the modulation of reactive oxygen species production. *Plant Cell Physiol.* 55:2060-2076.
- Ye Y, Ding Y, Jiang Q, Wang F, Sun J, Zhu C (2017) The role of receptor-like protein kinases (RLKs) in abiotic stress response in plants. *Plant Cell Rep.* 36:235-242.
- Yoo JH, Park CY, Kim JC, Do Heo W, Cheong MS, Park HC, Kim MC, Moon BC, Choi MS, Kang YH (2005) Direct interaction of a divergent CaM isoform and the transcription factor, *MYB2*, enhances salt tolerance in *Arabidopsis*. *J. Biol. Chem.* 280:3697-3706.
- Zhou QY, Tian AG, Zou HF, Xie ZM, Lei G, Huang J, Wang CM, Wang HW, Zhang JS, Chen SY (2008) Soybean WRKY-type transcription factor genes, *GmWRKY13*, *GmWRKY21*, and *GmWRKY54*, confer differential tolerance to abiotic stresses in transgenic *Arabidopsis* plants. *Plant Biotechnol. J.* 6:486-503.