"نشریه علوم زراعی ایران"
جلد بیست و چهارم، شماره ۱، بهار ۱۴۰۱

مقاله پژوهشی

DOR: 20.1001.1.15625540.1401.24.1.3.4

اثر تنش شوری و مصرف اسید سالیسیلیک بر بیان ژن‌های *TaNIP* و *TaSC* در دو رقم گندم نان (*Triticum aestivum* L.)

Effect of salinity stress and application of salisylic acid on expression of *TaSC* and *TaNIP* genes in two bread wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars

سعید احدی[۱]، اسعد معروفی[۲]، بهمن بهرام نژاد[۳] و عادل سی و سه مرده[۴]

چکیده

احدی، س.، ا. معروفی، ب. بهرام نژاد و ع. سی و سه مرده. ۱۴۰۱. اثر تنش شوری و مصرف اسید سالیسیلیک بر بیان ژن‌های *TaNIP* و *TaSC* در دو رقم گندم نان (*Triticum aestivum* L.). **نشریه علوم زراعی ایران. ۲۴ (۱):۶۳-۵۰.**

شوری یکی از تنش‌های محیطی موثر در کاهش عملکرد گندم در بیشتر مناطق دنیا محسوب می‌شود. یکی از راهکارهای اساسی برای مقابله با تنش‌های غیرزیستی مانند شوری، به‌نژادی است. شناسایی ژن‌های تحمل به شوری پیش نیاز به‌نژادی در گندم است. در این رابطه نقش تعدادی از ژن‌های خانواده آکواپورین‌ها و ژن‌های مرتبط با پروتئین کینازهای وابسته به کلسیم (Calcium-dependent protein kinase; CDPK) در پاسخ به تنش‌های محیطی شناخته شده است، بنابراین تجزیه و تحلیل پروفایل بیان این ژن‌ها در پاسخ به تنش، امکان تولید گیاهان تحمل به شوری را فراهم می‌کند. در تحقیق حاضر نحوه بیان دو ژن *TaNIP* و *TaSC* در شرایط تنش شوری در دو رقم گندم نان: بم (متحمل) و تجن (حساس) به شوری در تیمارهای ۱۷۰ میلی‌مولار کلرید سدیم (تنش شوری) و شاهد (بدون تنش) در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار در سال ۱۳۹۳ در دانشکده کشاورزی دانشگاه کردستان مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که بیان ژن *TaNIP* در رقم بم (متحمل) در بافت‌های برگ و ریشه در شرایط تنش به طور معنی‌داری افزایش داشت، اما در رقم تجن (حساس) میزان بیان *TaNIP*، به‌ویژه در بافت برگ، کمتر بود و روند کاهشی داشت. ژن TaSC در رقم بم در بافت‌های برگ و ریشه پس از گذشت ۲۴ ساعت از شروع تنش شوری، افزایش بیان معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد (بدون تنش) داشت. در رقم تجن نیز به طور کلی میزان بیان در بافت برگ پایین‌تر بود و پس از ۲۴ ساعت، بیان ژن نسبت به شاهد (بدون تنش) کاهش معنی‌داری نشان داد. نتایج بررسی بیان ژن‌ها در تیمارهای همزمان اسید سالیسیلیک (۰/۱ میلی‌مولار) و کلرید سدیم (۱۷۰ میلی‌مولار) نشان داد که هر دو ژن در هر دو رقم گندم افزایش بیان معنی‌داری در برگ‌ها داشتند و روند بیان آنها به صورت افزایشی بود. نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که دو ژن *TaNIP* و *TaSC* در شرایط تنش شوری در ارقام حساس و متحمل گندم دارای بیان متفاوتی بوده و مصرف اسید سالیسیلیک نیز به‌عنوان محرک (الیستور) باعث فعال کردن شبکه پیام رسانی هورمونی شده و باعث القای بیان هر دو ژن گردید. نتایج این تحقیق نشان دهنده نقش این ژن‌ها در تحمل به تنش شوری در رقم متحمل گندم نان "بم" است.

واژه‌های کلیدی: آکواپورین، بیان ژن، به‌نژادی، تنش شوری و گندم نان

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۶/۳۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۹/۱۰ این مقاله مستخرج پایان نامه کارشناسی ارشد نگارنده اول می‌باشد

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد دانشکده کشاورزی دانشگاه کردستان
۲- دانشیار دانشکده کشاورزی دانشگاه کردستان (مکاتبه کننده) (پست الکترونیک: a.maroufi@uok.ac.ir)
۳- دانشیار دانشکده کشاورزی دانشگاه کردستان
۴- دانشیار دانشکده کشاورزی دانشگاه کردستان

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-05-20]
[DOR: 20.1001.1.15625540.1401.24.1.3.4]

مقدمه

گندم نان (*Triticum aestivum*) یکی از گیاهان زراعی مهم در جهان است که از نظر سطح زیر کشت و میزان تولید در رتبه اول قرار داشته و بیش از ۲۰ درصد از نیاز روزانه پروتئین مردم جهان را تامین می‌کند (Arzani and Ashraf, 2016). با توجه به افزایش جمعیت جهان و افزایش نیاز به گندم، تولید آن روز به روز مورد توجه بیشتری قرار می‌گیرد. به‌طور کلی در دنیا و به ویژه در ایران، گیاه گندم در طول دوره رشد با انواع تنش‌های زنده و غیر زنده مواجه می‌شود که عملکرد آن را محدود می‌سازد. تنش شوری یکی از عوامل تأثیرگذار در کاهش عملکرد گندم در جهان است. شوری در محیط ریشه گیاهان، تغییرات اسمزی ایجاد کرده و جذب و انتقال آب را کاهش می‌دهد. به‌علاوه افزایش شوری خاک و آب باعث تجمع نمک‌ها در گیاه و باعث سمیت یونی در گیاه می‌شود (Gupta and Huang, 2014). تنش شوری بر بیشتر فرایندهای اصلی گیاه مانند رشد، فتوسنتز، سنتز پروتئین‌ها و متابولیسم لیپیدها اثر منفی داشته و تمام مراحل زندگی گیاه از جوانه‌زنی تا تولید زیست توده و عملکرد دانه را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Parida and Das, 2004). اثرات مخرب شوری ناشی از اختلال در بهره‌وری گیاه الف- با کمبود آب که باعث کاهش پتانسیل آب در سلول‌های گیاهی می‌شود، ب- سمیت یون‌های خاص (عمدتا مربوط به افزایش جذب سدیم و کلر) که باعث اختلال در عملکرد متابولیک و همچنین اختلال در یکپارچگی و عملکرد غشاهای سلولی می‌شوند، ج- اختلال در تغذیه گیاه در اثر تجمع بیش از حد یون‌های سدیم و کلر در خاک که باعث کاهش جذب مواد مغذی ضروری معدنی توسط گیاه می‌شوند و د- تنش اکسیداتیو (Arzani 2008; Arzani and Ashraf, 2016; Munns and Tester, 2008) همراه است. دو مورد اول به عنوان اثرات اولیه تنش شناخته می‌شوند و بقیه آثار ثانویه هستند. در شرایط تنش گیاهان به‌نحو ممکن و با استفاده از راهکارهای متنوعی برای مقابله با تنش، مراحل رشد خود را طی می‌کنند. به عنوان مثال گیاهان در مقابله با تنش شوری راهبردهایی دارند که شامل تجمع انتخابی یا خروج یون‌ها ،کنترل جذب یون‌ها توسط ریشه و انتقال آنها به برگ، کده بندی یون‌ها در سلول و یا در همه بخش‌های گیاه، افزایش نشت و ترشح مواد از غشای پلاسمایی، سنتز ترکیبات سازگار، القای آنزیم‌های آنتی‌اکسیداتیو، القای هورمون‌های گیاهی، حذف نمک‌ها با غدد نمکی، ترشح و برون تراوی نمک‌ها از طریق غدد نمکی و رقیق‌سازی نمک با آبدار شدگی می‌باشند (Prasad, 1996). بسیاری از این واکنش‌های گیاهی در سطح مولکولی کنترل می شوند وگیاهان با تغییر الگوی بیان ژن‌های مرتبط با تنش شوری برای کاهش آسیب و نیز هموستازی دوباره یون و آب، پاسخ می‌دهند (Apel and Hirt, 2004) که دارای اهمیت زیادی برای ایجاد تحمل گیاه نسبت به تنش شوری می‌باشد. با توجه به وسعت بالای اراضی تحت تأثیر شوری در جهان، ضرورت شناخت کامل سازوکارهای ژنتیکی تحمل به شوری در گیاه کاملا احساس می‌شود. استفاده از ارقام متحمل به شوری یکی از مهم‌ترین روش‌ها در بهره‌برداری و افزایش عملکرد گیاهان در زمین‌های شور و نسبتاً شور محسوب می‌شود. با توجه به وجود تنش شوری در مناطق وسیعی از ایران شناسایی، جداسازی، ارزیابی تغییرات بیان و انتقال ژن‌های عامل تحمل به تنش شوری در گندم، امکان افزایش سطح زیر کشت و افزایش تولید آن را فراهم خواهد ساخت.

به طور کلی، ژن‌هایی را که در اثر تنش در گیاهان القا می‌شوند می‌توان بر اساس عملکرد محصولات آنها به دو گروه عمده تقسیم‌بندی کرد . گروه اول شامل ژن‌های کد کننده پروتئین‌های عملکردی هستند که از آن جمله می‌توان به پروتئین‌های غشایی که در حرکت و انتقال آب و یون‌ها دخیل هستند، آنزیم‌های کلیدی برای سنتز ترکیبات موثر بر اسمز (پرولین، بتائین و

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-05-20]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1401.24.1.3.4]

قندها)، آنزیم‌های سم‌زدا (آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز) و پروتئین‌های حفاظت کننده از درشت مولکول‌ها (پروتئین‌های LEA و اسموتین) اشاره کرد (Xinwei *et al*., 2020). گروه دوم شامل پروتئین‌های تنظیم‌کننده مانند عوامل رونویسی شامل bZIP، bHLH، WRKY، MYB، DREB و عناصر دخیل در انتقال پیام مانند MAP کینازها (پروتئین کینازهای وابسته به کلسیم) هستند که میزان بیان بسیاری از پروتئین‌های عملکردی را تنظیم می‌کنند (Xinwei *et al*., 2020). بسیاری از خانواده‌های عوامل رونویسی در پاسخ به تنش‌های محیطی نقش دارند و می‌توانند به گیاهان در غلبه به تنش کمک کنند (Rahaie *et al*., 2011). امروزه مطالعه ژن‌هایی که در اثر تنش شوری در گیاهان القا می‌شوند، یکی از ابزارهای مولکولی جهت دسترسی به سطوح پاسخ گیاهان به شرایط تنش می‌باشد. مطالعه این گونه ژن‌ها در گیاه برنج نقش آنها را به خوبی روشن کرده است (Nakashima *et al*., 2009). بنابراین یکی از روش‌های درک توانایی گندم در تحمل تنش شوری، مطالعه بیان ژن‌های مؤثر در مقابله با تنش، مانند عوامل رونویسی و ژن‌های موثر در تنظیم اسمزی می‌باشد.

شناسایی ژن‌های مؤثر در ایجاد تحمل به شوری و تثبیت آنها در ژنوم، یکی از ابزارهای اساسی به‌نژادگران گیاهی جهت تولید ارقام متحمل می‌باشد. ارزیابی و شناسایی ژن‌های مؤثر در تحمل به تنش شوری در گندم، سازوکارهای مولکولی پاسخ و تحمل به تنش را روشن می‌سازد که این موضوع در نهایت می‌تواند منجر به اصلاح تحمل به شوری در گندم شود. به‌دلیل پیچیده بودن و موثر بودن تعداد زیادی ژن در فرایند تحمل به تنش شوری، پژوهشگران سعی می‌کنند بیشتر از ژن‌هایی استفاده کنند که نقش تنظیمی و یا کلیدی در مسیرهای منجر به ایجاد تحمل دارند و در شرایط تنش بیان می‌شوند. پروتئین‌های انتقال آب یا آکواپورین‌ها از مهم‌ترین پروتئین‌های غشای سلولی هستند که جریان آب را در طول رشد و توسعه فرایندهایی مانند جوانه‌زنی، باروری، رشد سلول، بارگیری و تخلیه آوند آبکش و پاسخ به تنش‌ها تنظیم می‌کنند (Eisenbarth and Weig, 2005). آکواپورین‌های گیاهی با توجه به توالی اسیدهای آمینه و جایگاه درون سلولی‌شان به چهار خانواده بزرگ تقسیم می‌شوند: PIPs (Plasma membrane intrinsic proteins) در غشای پلاسمایی، TIPs (Tonoplast membrane intrinsic proteins) در غشای تونوپلاست، NIPs (nodulin 26-like intrinsic Proteins) در غشای پلاسمایی و غشای شبکه آندوپلاسمی و SIPs (Small basic intrinsic protein) در غشای شبکه آندوپلاسمی (Chaumont *et al*., 2001). ژن‌های خانواده آکواپورین نقش مهم و قابل توجهی در پاسخ به تنش‌های محیطی ایفا می‌کنند. افزایش یا کاهش سطح رونوشت این ژن‌ها در اثر تنش شوری در بافت‌های ریشه و برگ گیاهان مختلف از جمله درآرابیدوپسیس به خوبی مطالعه و گزارش شده است (Jang *et al*., 2004). در بین آکواپورین‌های گندم TIPها (Jahn *et al*., 2004) ارتباط نزدیکی با آمونیاک داشته و توسط آن القاء می‌شوند، در حالی که ژن‌های PIP و برخی از NIPها در پاسخ به تنش‌های محیطی از جمله شوری و خشکی مؤثر هستند (Gao *et al*., 2010). *TaSC* (Salt-tolerant related gene) یک ژن دیگر است که در گندم شناسایی شده و نقش آن در تنظیم اسمزی و تحمل به تنش شوری مشخص شده است (Huang *et al*., 2012). بیان این ژن توسط هورمون ABA و NaCl افزایش می‌یابد که در ادامه مسیر CDPK (Calcium-dependent protein kinase) را فعال کرده و باعث افزایش بیان ژن‌های پایین دست تحمل به شوری مرتبط با مسیر CDPK می‌شود (Huang *et al*., 2012; Shi *et al*., 2018). ازکارکردهای مهم دیگر ژن *TaSC*، افزایش تجمع پرولین و نیز افزایش نسبت K^+/Na^+ است که تمامی این پاسخ‌ها برای رشد گیاه و بهبود تحمل به نمک مهم هستند (Huang *et al*., 2012).

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-05-20]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1401.24.1.3.4]

کاهش تنش اکسیداتیو و افزایش تحمل به تنش‌های محیطی اغلب با یک سیستم دفاع آنتی اکسیدانی قوی مرتبط است. اسید سالیسیلیک نقش مهمی در جذب و انتقال یون‌ها، میزان فتوسنتز و هدایت روزنه‌ای در گیاه ایفا می‌کند. اسید سالیسیلیک یک هورمون درون‌زا (اندوژن) است که سنتز ترکیبات آنتی‌اکسیدانی را طی تنش‌های زنده و غیر زنده تنظیم می‌کند (Horvath *et al*., 2007; Senaratna *et al*., 2000) و احتمال دارد که مصرف برون‌زای آن نیز بتواند در کاهش تنش‌های زنده و محیطی نقش داشته باشد. با توجه به اینکه امروزه مطالعه بیان ژن‌های مهم و موثر در تحمل به شوری یکی از ابزارهای مولکولی جهت شناسایی واکنش گیاهان به شرایط تنش است و بررسی این گونه ژن‌ها در سایر گونه‌های گیاهی نقش آنها را به خوبی نشان داده است، در این پژوهش جهت درک توانایی ارقام گندم در تحمل به تنش شوری به کمک ژن‌های موثر، بیان دو ژن مهم *TaNIP* و *TaSC* به همراه مصرف بیرونی اسید سالیسیلیک بعنوان الیسیتور و ارتباط آنها با تحمل به شوری در دو رقم گندم متحمل و حساس گندم مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج به دست آمده می‌تواند به استفاده از این ژن‌ها در به‌نژادی گندم و پیشرفت برنامه‌های به نژادی شوری در گندم کمک کند.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی مورد استفاده در این آزمایش شامل دو رقم گندم بم (متحمل) و تجن (حساس) به شوری بودند که بذرهای آنها از موسسه تحقیقات و اصلاح نهال و تهیه نهال و بذر- کرج تهیه شدند. بذرها بعد از ضدعفونی با هیپوکلریت سدیم پنج درصد و شستشو با آب مقطر در گلدان‌های پلاستیکی بزرگ به ظرفیت ۲۵ لیتر در سال ۱۳۹۳ در گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه کردستان کشت شدند. خاک گلدان‌ها شامل خاک مزرعه، ماسه و خاکبرگ به نسبت مساوی بود. بعد از سبز شدن گیاهچه‌ها، پنج بوته سالم در هر گلدان نگهداری شد. گیاهان در دمای ۲±۲۵ درجه سانتی‌گراد در شرایط ۱۶ ساعت روشنایی و هشت ساعت تاریکی پرورش داده شدند. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد. آبیاری تا زمان اعمال تنش بر اساس ظرفیت زراعی خاک برای همه گلدان‌ها به صورت یکسان انجام شد. جهت مطالعه بیان ژن‌ها در یک آزمایش، بوته‌های گندم در مرحله ۳ تا ۴ برگی با غلظت ۱۷۰ میلی‌مولار کلرید سدیم (تنش شوری) و با آب بدون کلرید سدیم (بدون تنش؛ شاهد) آبیاری شدند در آزمایش دیگر، بوته‌های گندم در مرحله ۳ تا ۴ برگی با غلظت ۱۷۰ میلی‌مولار کلرید سدیم (تنش شوری) آبیاری و همزمان با غلظت ۰/۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک نیز محلول‌پاشی شدند. در تیمار بدون تنش (شاهد) از آب بدون کلرید سدیم استفاده شد. از بوته‌های تیمار شده و شاهد در هر دو آزمایش به صورت مجزا در زمان‌های ۱۲، ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد از اعمال تیمار، نمونه‌های برگ و ریشه جمع‌آوری و تا زمان استخراج RNA در دمای منفی ۸۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

استخراج RNA کل از برگ و ریشه با استفاده از محلول RNAX-PLUS شرکت سیناژن انجام شد. ابتدا حدود ۱۰۰ میلی‌گرم از بافت نمونه‌های مورد نظر در هاون با استفاده از نیتروژن مایع پودر شده و سپس به میکروتیوب‌های ۱/۵ میلی‌لیتری انتقال داده شده و یک میلی‌لیتر محلول RNAX-PLUS به هر میکروتیوب اضافه شد. میکروتیوب‌ها به مدت ۱۵ ثانیه ورتکس شده و به مدت پنج دقیقه در دمای اتاق قرار داده شدند. سپس ۲۰۰ میکرولیتر کلروفرم به هر نمونه اضافه شده و نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در دمای چهار درجه سانتی‌گراد در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. محلول روشناور بدست آمده از میکروتیوب‌ها به میکروتیوب‌های جدیدی منتقل شده و ۶۰۰ میکرولیتر محلول ایزوپروپانول سرد به آنها اضافه شد.

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-05-20]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1401.24.1.3.4]

میکروتیوب‌ها به آرامی تکان داده شدند تا مخلوط به خوبی همگن شود و مجدداً میکروتیوب‌ها در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه در دمای چهار درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند. سپس محلول روشناور دور ریخته شد و به هر میکروتیوب یک میلی‌لیتر اتانول ۷۵ درصد اضافه و ورتکس شده و مجدداً در درمای چهار درجه سانتی‌گراد با ۷۵۰۰ دور در دقیقه به مدت هشت دقیقه سانتریفیوژ شد. مجددا محلول روشناور دور ریخته شد و میکروتیوب‌ها در زیر هود لامینار به مدت پنج دقیقه خشک شدند. به هر میکروتیوب ۵۰ میکرولیتر آب DEPC اضافه شد و به مدت ۱۰ دقیقه در بن‌ماری در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. در نهایت RNA بدست آمده روی ژل آگارز ۱/۵ درصد مورد ارزیابی قرار گرفت. حذف DNA های احتمالی از RNA توسط آنزیم DNase I ساخت شرکت Frementas طبق دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد. پس از آن اولین رشته cDNA با استفاده از کیت شرکت Vivantis طبق دستورالعمل مربوطه به شرح زیر سنتز شد. ابتدا شش میکرولیتر RNA با غلظت ۰/۶ میکروگرم بر میکرولیتر به میکروتیوب‌های ۰/۲ میلی‌لیتری اضافه شد. سپس یک میکرولیتر Oligo dt با غلظت ۴۰ میلی مولار و یک میکرولیتر dNTP ۱۰ میلی‌مولار به هر میکروتیوب اضافه شده و با استفاده از آب عاری از نوکلئاز، حجم آن به ۱۰ میکرولیترسانده شد و نمونه‌ها در دمای ۶۵ درجه سانتیگراد به مدت پنج دقیقه قرار داده شدند. پس از این مرحله نمونه‌ها به مدت دو دقیقه روی یخ قرار داده شده و سپس دو میکرولیتر بافر X ۱۰، ۰/۵ میکرولیتر آنزیم رونوشت‌بردار معکوس با غلظت ۲۰۰ واحد در میکرولیتر و ۷/۵ میکرولیتر آب عاری از نوکلئاز به هر نمونه اضافه شده و در دمای ۴۲ درجه سانتیگراد به مدت ۶۰ دقیقه نگهداری شدند. سپس نمونه‌ها در دمای ۸۵ درجه سانتیگراد به مدت پنج دقیقه قرار داده شده و پس از آن بلافاصله دمای چهار درجه سانتی‌گراد برای نمونه‌ها فراهم شد. در انتها نمونه‌های cDNA سنتز شده در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

آغازگرهای اختصاصی مستقیم و معکوس برای ژن اکتین گندم *TaActin* به عنوان ژن مرجع با شماره دسترسی AB181991.1 در پایگاه داده NCBI، ژن *TaNIP* با شماره دسترسی DQ530420.1 و ژن *TaSC* با شماره دسترسی AY956330.1 با استفاده از نرم‌افزار تحت وب Primer3 (Untergasser *et al*., 2012) طراحی شدند. از نرم‌افزار تحت وب Oligo calc (Kibbe, 2007) جهت بررسی آنالیزهای ترمودینامیکی مانند دمای اتصال و دایمر استفاده شد. توالی‌ها و مشخصات آغازگرهای طراحی شده در جدول ۱ ارائه شده است. مطالعه بیان ژن‌ها به روش نیمه‌کمی مورد بررسی قرار گرفت. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در دستگاه ترموسایکلر BioRad انجام شد. اجزای مخلوط در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر شامل یک میکرولیتر cDNA، ۱۰ میکرولیتر Mastermix (سینا ژن)، یک میکرولیتر آغازگرهای اختصاصی مستقیم و معکوس هر ژن و هفت میکرولیتر آب فاقد نوکلئاز بود. چرخه‌های حرارتی مربوط به هر کدام از ژن‌ها در جدول ۲ ارائه شده است. برای اندازه‌گیری بیان ژن‌ها ابتدا آزمایش‌های مقدماتی جهت به دست آوردن تعداد مناسب چرخه‌ها و دمای بهینه اتصال پرایمرها انجام شد. بهترین شرایط تکثیر تعداد ۳۰ چرخه تعیین شد که بر اساس نرسیدن به وضعیت ثابت در تکثیر محصولات واکنش زنجیره‌ای پلیمراز بود. فراورده‌های حاصل از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز روی ژل آگارز ۱/۲ درصد الکتروفورز شدند. سپس ژل‌ها در ظرف حاوی اتیدیوم بروماید با غلظت ۰/۵ میکروگرم در میلی‌لیتر رقیق شده در آب مقطر به مدت ۱۵ دقیقه قرار داده شدند. بعد از شستشوی ژل‌ها در آب مقطر، عکس‌برداری از آنها با استفاده از دستگاه ژل داکیومنت انجام شد.

بعد از انجام واکنش‌های RT-PCR نیمه‌کمی برای

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-05-20]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1401.24.1.3.4]

ژن‌ها در دو آزمایش و تهیه عکس از ژل‌ها با استفاده از نرم‌افزار GelQuantNET (biochemlabsolutions.com)، شدت باندهای به دست آمده برای هر ژن به داده‌های کمی تبدیل شدند. ژن اکتین (*TaActin*) به عنوان ژن مرجع جهت نرمال‌سازی بیان ژن‌ها انتخاب شد و بیان هر دو ژن *TaSC* و *TaNIP* در هر دو آزمایش به دست آمد . تجزیه واریانس میزان بیان ژن‌ها بر اساس طرح کاملا تصادفی با سه تکرار با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام شد. مقایسه میانگین داده‌ها هم به روش حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال پنج درصد انجام شد. شکل‌های مناسب جهت نمایش بیان ژن‌ها و تفسیر آنها با استفاده از نرم‌افزار Microsoft Excel 2013 رسم شدند.

جدول ۱- مشخصات آغازگرهای طراحی شده و ژن‌های تحمل به تنش شوری در ارقام گندم

Table 1. Specifications of primers and the studied genes

نام ژن Gene name	شماره دسترسی Accession No.	توالی آغازگر (۳'→۵') Primer sequence (5'→3')	دمای اتصال Tm (ºC)	اندازه محصول Product size (bp)
TaActin	AB181991.1	F-GCTTCCTCATGCTATCCTTC R-CCAGGAACTTCCATACCAAC	56.5 ºC 56.9 ºC	300bp
TaNIP	DQ530420.1	F-GAAGGTGATATCGGAGATGG R-TTGAAGGAGGAGAGCTTCTG	56.98 ºC 57.33 ºC	700bp
TaSC	AY956330.1	F-GGTCTCCTTCATCCACTACC R-ACACGGACACCAAGTAATCC	56 ºC 57.3 ºC	450bp

Tm: Melting temperature, F: Forward, R: Reverse

جدول ۲- چرخه‌های حرارتی واکنش زنجیره‌ای پلیمراز

Table 2. RT-PCR thermal cycling

دما Temperature (ºC)	مدت Time	Phase	مرحله	تعداد چرخه‌ها No. of cycles
94	5 m	Initial denaturation	واسرشته‌شدن اولیه	1
94	45 s	Denaturation	واسرشته شدن	
(Depending on gene) * بسته به نوع ژن	45 s	Annealing	اتصال	30
72	55 s	Extension	بسط	
72	5 m	Final extension	بسط نهایی	1

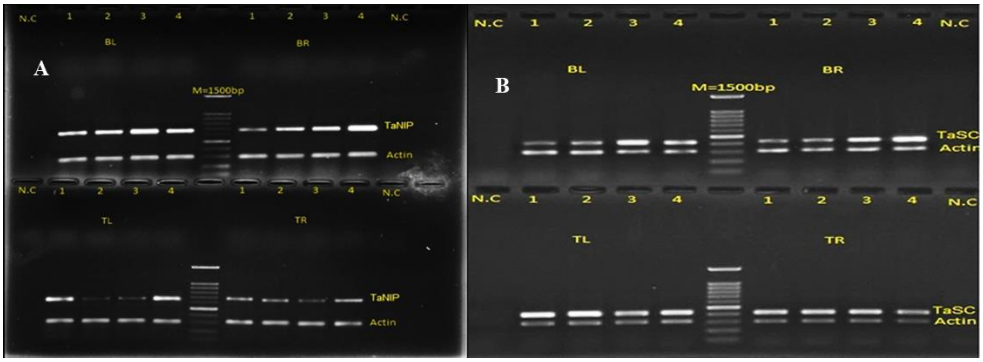
نتایج و بحث

پس از استخراج RNA کل از بافت‌های برگ و ریشه گندم و حذف DNA احتمالی با استفاده از آنزیم DNase I (Frementas)، نسبت طول موج ۲۶۰ به ۲۸۰ برای کلیه نمونه‌ها بین ۱/۷ تا ۱/۹ بود که نشان دهنده کیفیت مناسب RNA بوده و cDNA نیز با موفقیت برای کلیه نمونه‌ها سنتز شد. واکنش RT-PCR نیمه‌کمی با استفاده از آغازگرهای اختصاصی ژن‌های *TaNIP*، *TaSC* و ژن اکتین به عنوان مرجع انجام شد (شکل ۱). نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل داده‌های به دست آمده نشان داد که میزان بیان ژن *TaNIP* بعد از اعمال تنش شوری در گندم رقم بم (متحمل)، در هر دو بافت برگ و ریشه نسبت به تیمار شاهد (بدون تنش) به طور معنی‌داری (سطح احتمال پنج درصد) افزایش داشت (شکل 2A). بیشترین میزان بیان در برگ بعد از ۲۴ ساعت (۳/۴۸ برابر نسبت به شاهد) و در ریشه نیز بعد از ۴۸ ساعت (۷ برابر نسبت به شاهد) پس از اعمال تیمار مشاهده شد (شکل 2A). در ریشه روند بیان ژن تا ۴۸ ساعت کاملا افزایشی بود (شکل 2A). در رقم تجن (حساس) نیز میزان بیان در بافت برگ پایین بود و به

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-05-20]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1401.24.1.3.4]

صورت معنی‌داری روند کاهشی داشت، ولی پس از ۴۸ ساعت میزان بیان به سطح شاهد رسید (شکل ۲B). در بافت ریشه میزان بیان پایین بود وتغییرات افزایشی یا کاهشی معنی‌داری در بیان ژن *TaNIP* مشاهده نشد (شکل ۲B). نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل داده‌های به دست آمده برای ژن *TaSC* در رقم بم (متحمل) در هر دو بافت برگ و ریشه پس از گذشت ۲۴ ساعت افزایش بیان معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد داشت (شکل ۲C). بیشترین میزان بیان در برگ بعد از ۲۴ ساعت پس از اعمال تیمار (۳/۱۲ برابر نسبت به شاهد) و در ریشه بعد از ۴۸ ساعت پس از اعمال تیمار (۲/۶۱ برابر نسبت به شاهد) مشاهده شد (شکل ۲C). در رقم تجن (حساس) به طور کلی میزان بیان در بافت برگ پایین بود و پس از ۲۴ ساعت بیان ژن نسبت به شاهد کاهش معنی‌داری داشت (شکل ۲D). در بافت ریشه بیان ژن پایین بود و تغییرات معنی‌داری در بیان ژن مذکور در زمان‌های مختلف مشاهده نگردید و پس از اعمال تیمار میزان بیان ژن یکسان بود (شکل ۲D).



شکل ۱- محصولات واکنش زنجیره‌ای پلیمراز نیمه‌کمی (RT-PCR) با استفاده از آغازگرهای اختصاصی ژن *TaNIP*، *TaSC* و ژن اکتین (*Actin*) در بافت برگ و ریشه ارقام گندم بم (متحمل) و تجن (حساس) پس از تیمار با ۱۷۰ میلی‌مولار سدیم کلرید. BL: بافت برگ رقم بم، BR: بافت ریشه رقم بم، TL: بافت برگ رقم تجن، TR: بافت ریشه رقم تجن، ۱ تا ۴: به‌ترتیب C: شاهد ، ۱۲، ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از اعمال تیمار و N.C: کنترل منفی، M: نشانگر DNA

Fig. 1. Semi-quantitative RT-PCR reactions using specific primers of *TaNIP*, *TaSC* and *TaActin* genes in leaf and root tissue of wheat cultivarsy; Bam (tolerant) and Tajan (susceptible), after treatment with 170 mM sodium chloride. BL: leaf tissue of Bam cultivar, BR: root tissue of Bam cultivar, TL: leaf tissue of Tajan cultivar, TR: root tissue of Tajan cultivar, 1 to 4; C: control, 12, 24 and 48 hours after NaCl treatment, respectively, N.C: negative control and M: DNA marker

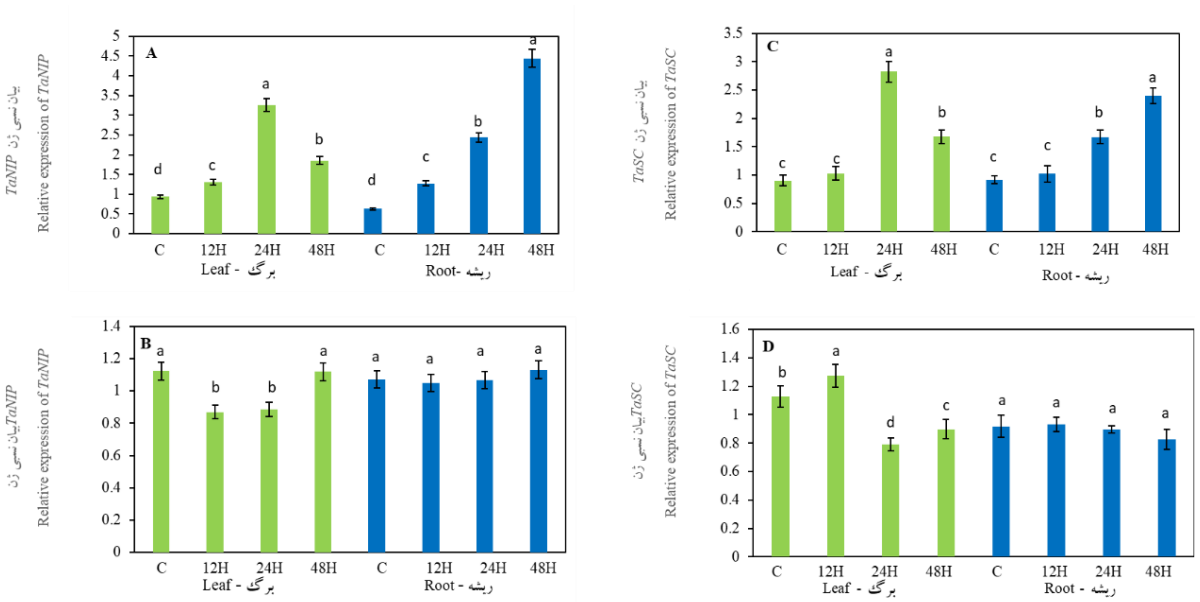
نتایج نشان داد که تیمار همزمان اسید سالیسیلیک و کلرید سدیم در رقم بم (متحمل) باعث افزایش بیان ژن *TaNIP* در زمان‌های پس از اعمال تیمار شد (شکل ۳A) و روند میزان بیان کاملا افزایشی بود. بیشترین مقدار بیان بعد از ۴۸ ساعت (۲/۶۵ برابر نسبت به شاهد) پس از اعمال تیمار مشاهده شد. در رقم تجن (حساس) تیمار همزمان اسید سالیسیلیک و کلرید سدیم افزایش معنی‌دار و قابل توجهی در بیان ژن *TaNIP* نداشت و روند میزان بیان ژن در هر دو شرایط تیمار همزمان و کلرید سدیم به تنهایی ثابت بود (شکل ۳B). به نظر می‌رسد که در هر دو رقم گندم در تیمار همزمان اسید سالیسیلیک و کلرید سدیم سطح بیان ژن *TaNIP* بیشتر از حالت تیمار با کلرید سدیم به تنهایی است (شکل ۳A و ۳B). نتایج مربوط به بیان ژن *TaSC* در تیمار همزمان

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-05-20]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1401.24.1.3.4]

اسید سالیسیلیک و کلرید سدیم نیز نشان داد که این ژن در هر دو رقم گندم افزایش بیان معنی‌داری را در زمان‌های پس از اعمال تیمار در برگها داشته و روند بیان ژن تا حدود زیادی افزایشی بود (شکل ۳C و ۳D). در رقم بم (متحمل) بیشترین میزان بیان بعد از ۲۴ ساعت (۳/۱۱ برابر نسبت به شاهد) و در رقم تجن (حساس) بعد از ۴۸ ساعت (۱/۵ برابر نسبت به شاهد) پس از اعمال تیمار همزمان اسید سالیسیلیک و کلرید سدیم مشاهده شد (شکل ۳C و ۳D). در هر دو رقم گندم بم و تجن میزان بیان ژن *TaSC* در تیمار همزمان کاملا بیشتر از شرایط تیمار با کلرید سدیم به تنهایی بود (شکل ۳C و ۳D).

شوری یکی از عوامل تنش‌زای غیر زنده است که بر رشد و تولید گیاهان تأثیر منفی زیادی دارد. در تنش شوری کلیه فرایندهای مهم گیاه از جمله فتوسنتز، سنتز پروتئین و متابولیسم مواد دچار اختلال می‌شوند (Parida and Das, 2004). گیاهان سازوکارهای مختلفی را برای رهایی از این اثرات منفی توسعه داده و با توجه به اینکه این پدیده ها تحت کنترل ژن‌ها هستند، شناسایی ژن‌های کنترل کننده این سازوکارها و تعیین الگوی بیان آنها در پاسخ به تنش شوری در گندم باعث می‌شود تا بتوان راهکارهای مؤثری در به‌نژادی این گیاه مهم زراعی جهت بهبود تحمل به تنش شوری شناسایی کرد. در سال‌های اخیر با مطالعه بیان ژن‌ها توجه بسیاری از محققین به مقایسه الگوی بیان ژن‌ها در گیاهان متحمل وحساس به تنش‌های زنده و یا غیر زنده جلب شده است. نتایج مطالعات چن و همکاران (Chen *et al*., 2007) در گندم نشان داد که تنش شوری



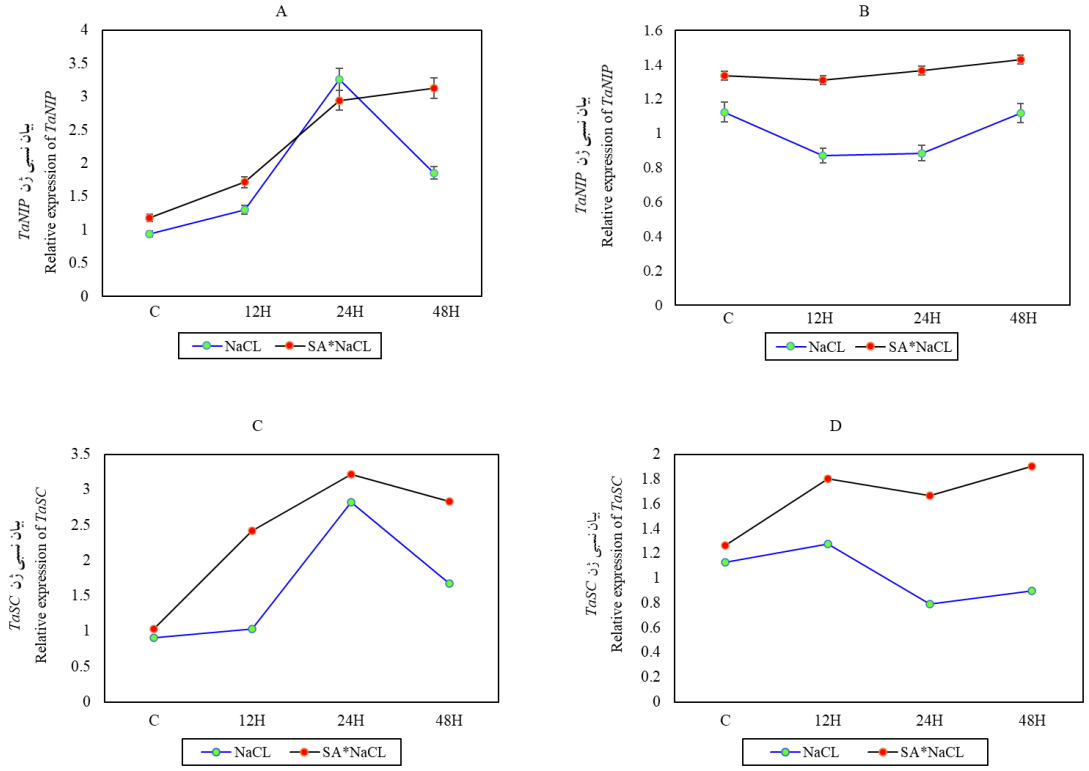
شکل ۲- میزان بیان ژن‌های *TaNIP* و *TaSC* در بافت برگ و ریشه ارقام گندم بم (متحمل) و تجن (حساس) در ۱۲، ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از اعمال تیمار ۱۷۰ میلی‌مولار سدیم کلرید، A: *TaNIP* در رقم بم، B: *TaNIP* در رقم تجن، C: *TaSC* در رقم بم، D: *TaSC* در رقم تجن. مقادیر میانگین سه تکرار هستند. C: شاهد، اعمال تیمار پس از ۱۲، ۲۴ و ۴۸ ساعت به ترتیب 12H ، 24H و 48H. حروف غیرمشترک نشان دهنده معنی‌دار بودن اختلاف در سطح احتمال پنج درصد هستند

Fig. 2. Expression of *TaNIP* and *TaSC* genes in leaf and root tissue of wheat cultivarsy; Bam (tolerant) and Tajan (susceptible), at 12, 24 and 48 hours after application of 170 mM sodium chloride, A: *TaNIP* in Bam cultivar, B: *TaNIP* inTajan cultivar, C: *TaSC* in Bam cultivar, D: *TaSC* in Tajan cultivar. The values are means of 3 replications. C: control, 12H, 24H and 48H are 12, 24 and 48 hours after NaCl treatment, respectively.

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-05-20]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1401.24.1.3.4]

Different letters represent significant difference at 5% probability level



شکل۳- تغییرات میزان بیان ژن *TaNIP* و *TaSC* در بافت برگ ارقام گندم بم (متحمل) و تجن (حساس) در شرایط غیر تنش و ۱۲، ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از اعمال تیمار همزمان ۰/۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک و ۱۷۰ میلی‌مولار کلرید سدیم

A و C: رقم بم، B و D: رقم تجن

Fig. 3. Changes of *TaNIP* and *TaSC* genes expression in leaf tissue of wheat cultivars; Bam (tolerant) and Tajan (susceptible) at control condition and 12, 24 and 48 hours after simultaneous treatment of 0.1 mM salicylic acid and 170 mM NaCl. A and C: Bam cultivar, B and D: Tajan cultivar

باعث افزایش قابل توجهی در میزان بیان ژن ژن *TaSGK* گردید. همچنین بیش بیان ژن *TaSIP* در برنج و آرابیدوپسیس باعث افزایش تحمل به شوری و خشکی در این گیاهان شد (Du *et al.*, 2013). مطالعه بیان ژن‌های موثر در تحمل به شوری اطلاعات با ارزشی را در اختیار محققان قرار می‌دهد که یا می‌توان از آنها در برنامه‌های به‌نژادی و یا در درک بهتر سازوکارهای فیزیولوژیکی و ژنتیکی استفاده کرد. کیانی و همکاران نشان دادند که در بررسی چند ژن موثر در تحمل به تنش شوری، ژن *NHX1* در گیاه *Aegilops cylindrica* و آمفی دیپلوییدهای حاصل از تلاقی با گندم نان، دارای بیان چشمگیری بوده و نقش مهمی در بهبود تحمل به شوری ایفا می‌کند (Kiani *et al.*, 2021). نتایج مطالعات پیشین نشان داده است که بیان *TaNIP* در حضور نمک‌ها القا می‌شود و این ژن می‌تواند با مسیر تحمل به نمک در گیاه گندم مرتبط باشد. *TaNIP* یکی از ژن‌های تحمل به نمک است که مسئول القای تحمل در گیاه از طریق تنظیم نقل و انتقال غشایی است که غلظت یون سلولی را تنظیم می‌کند (Al-Mashhadani *et al.*, 2016). ژن *TaSC* در گندم نیز که در تنظیم اسمزی نقش دارد، برای تحمل به شوری معرفی شده است (Huang *et al.*, 2012).

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-05-20]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1401.24.1.3.4]

نتایج تحقیق حاضر در مورد الگوی بیان ژن *TaNIP* در دو رقم گندم، نشان دهنده افزایش معنی‌دار میزان بیان این ژن در تیمار کلرید سدیم در هر دو بافت ریشه و برگ، به ویژه در رقم متحمل بم است. این نتیجه با یافته‌های گائو و همکاران در گندم مطابقت دارد (Gao *et al*., 2010). *TaNIP* متعلق به خانواده ژنی آکواپورین‌ها است که در غشای پلاسمایی سلول قرار دارد. مطالعات فیزیولوژیکی و ژنتیکی نقش مستقیم آکواپورین‌ها را در بهبود رابطه آب درگیاه تحت تنش شوری تایید کرده است (Siefritz *et al*., 2004). هوری و همکاران (Horie *et al*., 2011) نیز گزارش دادند که ژن *HvPIP2* جدا شده از گیاه جو در انتقال آب در سلول‌های تحت تنش شوری دخیل است. به‌علاوه گزارش شد که یک آکواپورین دیگر جدا شده از گندم (*TaTIP2;2*) تحمل به تنش‌های غیر زیستی از جمله شوری را در گیاه تراریخته توتون افزایش داد (Xu *et al*., 2013). نتایج تحقیقات انجام شده نشان داده است که آکواپورین‌ها در شرایط تنش‌های مختلف محیطی از جمله شوری، خشکی و سرما، باعث افزایش تحمل گیاه گندم می‌شوند. بنابراین در آزمایش حاضر بیشتر بودن میزان بیان ژن *TaNIP* در گندم رقم بم (متحمل) نسبت به رقم تجن (حساس) می‌تواند تا حدودی دلیلی بر تأثیر این ژن در ایجاد تحمل به شوری باشد.

در این تحقیق ژن *TaSC* (از ژن‌های مسیر CDPK) نیز مورد ارزیابی قرار گرفت. مسیر CDPK از جمله شبکه‌های انتقال پیام در گیاهان است که وابسته به کلسیم بوده و در شرایط تنش‌های مختلف از جمله شوری، خشکی و سرما فعال شده و باعث القای تحمل به تنش می‌شود (Huang *et al*., 2012). مسیر CDPK بیان فاکتورهای رونویسی پایین دست را تنظیم می‌کند (Ludwig *et al*., 2004) که در نتیجه باعث القای بیان ژن‌هایی می‌شود که می‌توانند در تحمل به تنش نقش داشته باشند. ژن *TaSC* در مسیر و در بالا دست مسیر CDPK*2* قرار دارد. نتایج حاصل از بررسی بیان ژن *TaSC* در دو رقم گندم نشان داد که در اثر تیمار با کلرید سدیم در رقم بم (متحمل) در هر دو بافت برگ و ریشه میزان بیان این ژن نسبت به تیمار شاهد به طور معنی‌داری افزایش یافت. این نتیجه با یافته‌های هوانگ و همکاران (Huang *et al*., 2012) مطابقت دارد. آنها در تحقیقات خود نشان دادند که بیان ژن *TaSC* در گندم در اثر تیمارهای شوری و اسید آبسیزیک افزایش بیان داشت. آنها این ژن را به گیاه آرابیدوپسیس تالیانا منتقل کرده و گزارش کردند که ویژگی تحمل به شوری در این گیاه نیز القا شد. در یک تحقیق دیگر اهمیت ژن *TaSC* و نقش آن در سازوکار تحمل به شوری در گندم بررسی و اثبات شد (Fang-Fang *et al*., 2013). بنابراین بخشی از تحمل گندم رقم بم نسبت به رقم تجن می‌تواند ناشی از بیان بیشتر ژن *TaSC* در شرایط تنش شوری باشد. در آزمایش حاضر تغییرات عمده‌ای در بیان ژن مشاهده نشد، این موضوع می‌تواند به دلیل کوتاهی طول دوره تنش باشد که تنها باعث القای تنش اسمزی شده و تنش سمیت یونی ناشی از تجمع یون‌های سدیم درون سیتوپلاسم رخ نداد (Arzani, 2008; Munns and Tester, 2008)، در نتیجه پیام‌رسانی ژنتیکی کاملا فعال نشد.

یکی از هورمون‌های مهم گیاهی که در ایجاد تحمل به تنش‌های زیستی و غیرزیستی اسید سالیسیلیک است. اسید سالیسیلیک (اورتو هیدروکسی بنزوئیک اسید) یک تنظیم کننده رشد گیاهی و از گروه ترکیبات فنلی است که در تنظیم فرآیندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاهان نقش دارد (Hayat *et al*., 2010). یکی از اثرات تنش‌های محیطی از جمله شوری، افزایش گونه‌های فعال اکسیژن و القای تنش اکسیداتیو است (Hoekstra *et al*., 2001) که در غیاب سازوکارهای محافظتی به گیاه آسیب می‌زنند (El-Tayeb, 2005). بنابراین اسید سالیسیلیک در هنگام رویارویی گیاه با تنش‌های محیطی، باعث فعال

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-05-20]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1401.24.1.3.4]

شدن سیستم آنتی‌اکسیداسیونی در گیاه شده و باعث تقویت غشای سلولی و خنثی کردن خطر افزایش گونه‌های اکسیژن فعال می‌شود (Hayat *et al*., 2010). در این پژوهش سطح بیان ژن‌های انتخاب شده که باعث القای تحمل گیاه به شوری می‌شوند، در بوته‌های گندم تیمار شده با اسید سالیسیلیک در شرایط تنش شوری افزایش یافت، که نشان می‌دهد اسید سالیسیلیک اسید باعث تنظیم بیان چنین ژن‌هایی می‌شود که باعث افزایش تحمل گندم به تنش شوری می‌شوند. در یک تحمل القا شده نسبت به تنش شوری در گیاهچه‌های گندم حاصل از بذرهای خیسانده شده در اسید سالیسیلیک گزارش شده است (Hamada and Al-Hakimi, 2001). به نظر می‌رسد که مصرف اسید سالیسیلیک با تاثیر بر ژن‌های موثر در تحمل به شوری احتمالا در افزایش سازگاری گیاهان به تنش شوری نقش دارد.

نتیجه گیری

به طور کلی هنگامی که گیاهان با تنش‌های محیطی مواجه می‌شوند محدوده وسیعی از عکس‌العمل‌های مولکولی از جمله تغییر در بیان ژنها اتفاق می‌افتد که باعث تغییرات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی در آنها شده که در نهایت رشد گیاه و تولید محصول را تحت تأثیر قرار می‌دهند. جهت تنظیم اسمزی، افزایش بیان ژن‌های مسئول ایجاد تحمل در مقابل تنش مانند *TaSC* و *TaNIP* و فعال کردن مسیرهای دفاعی گیاه از طریق مولکول‌های تنظیم کننده مانند اسید سالیسیلیک از سازوکارهایی هستند که باعث افزایش تحمل و بهبود رشد گیاه و در نهایت افزایش آن می‌شوند. یافته‌های این پژوهش نشان می‌دهد که ژن‌های *TaSC* و *TaNIP* در ارقام گندم در شرایط تنش شوری دارای بیان متفاوتی هستند و در گیاهان متحمل باعث می‌شوند در مواجه با تنش سازگاری بیشتری پیدا کنند. استفاده از اسید سالیسیلیک می‌تواند به افزایش بیان ژن‌های *TaSC* و *TaNIP* منجر شده و با اثرات نامطلوب تنش شوری بر رشد و نمو گیاه گندم مقابله کند. با توجه به وجود انواع تنش‌های محیطی از جمله شوری برای گیاهان نیاز به مطالعه و درک سازوکار تحمل به تنش‌ها افزایش یافته است. نتایج تحقیقات تکمیلی راهکارهای مناسبی جهت به‌نژادی گیاهان با ارزش زراعی از جمله گندم را فراهم خواهد ساخت.

سپاسگزاری

از دانشگاه کردستان جهت تامین مالی پایان نامه سپاسگزاری می‌شود.

منابع مورد استفاده

References

Al-Mashhadani, I. I. D., M. Majeed, E. N. Ismail and M. S. Kadhim. 2016. Detection of salt tolerant gene (*TaNIP*) and its expression in three selected wheat genotypes through plant breeding programs under salinity conditions. Int. J. Appl. Agric. Sci. 2: 12-16.

Apel, K. and H. Hirt. 2004. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress and signal transduction. Plant Biol. 55: 373-399.

Arzani, A. 2008. Improving salinity tolerance in crop plants: a biotechnological view. In Vitro Cell Dev. Biol. Plant. 44: 373-383.

Arzani, A. and M. Ashraf. 2016. Smart engineering of genetic resources for enhanced salinity tolerance in crop plants. Critical Rev. Plant Sci. 35(3): 146-189.

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-05-20]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1401.24.1.3.4]

Chaumont, F., F. Barrieu, E. Wojcik and M. J. Chrispeels. 2001. Aquaporins constitute a large and highly divergent protein family in maize. Plant Physiol. 125: 1206-1215.

Chen, H., R. An, J.H. Tang, X. H. Cui, F.S. Hao, J. Chen and X. C. Wang. 2007. Over-expression of a vacuolar Na^+/H^+ antiporter gene improves salt tolerance in an upland rice. Mol. Breed. 19: 215-225.

Du, H. Y., Y. Z. Shen and Z. J. Huang. 2013. Function of the wheat *TaSIP* gene in enhancing drought and salt tolerance in transgenic *Arabidopsis* and rice. Plant Mol. Biol. 81: 417-429.

Eisenbarth, D. A. and A. R. Weig. 2005. Sucrose carrier RcSCR1 is involved in sucrose retrieval, but not in sucrose unloading in growing hypocotyls of *Ricinus communis* L. Plant Biol.. 7: 98-103.

El-Tayeb, M. A. 2005. Response of barley grain to the interactive effect of salinity and salicylic acid. Plant Growth Regul. 42: 215-224.

Fang-Fang, L., Y. Xu, W. Xiao-Cui, L. Xiao-Mei, G. E. Rong-Chao and Z. Bao-Cun. 2013. Fishing *TaSC* interacting protein in wheat using split ubiquitin yeast two hybrid system. Acta Agronomica Sinica. 39(3): 423-430.

Gao, Z., X. He, B. Zhao and C. Zhou. 2010. Overexpressing a putative aquaporin gene from wheat, *TaNIP* enhances salt tolerance in transgenic *Arabidopsis*. Plant Cell Physiol. 51: 767-775.

Gupta, B. B. Huang. 2014. Mechanism of salinity tolerance in plants: Physiological, biochemical, and molecular characterization. Int. J. Genomics. 10: 1155-1169.

Hamada, A. M. and A.M. A. Al-Hakimi. 2001. Salicylic acid versus salinity-drought induced stress on wheat seedlings. Rostlinna Vyroba. 47: 444-450.

Hayat, Q., S. Hayat, M. Irfan and A. Ahmad. 2010. Effect of exogenous salicylic acid under changing environment: A review. Environ. Exp. Bot. 68(1): 14-25.

Hoekstra, F. A., E. A. Golovina and J. Buitink. 2001. Mechanisms of plant desiccation tolerance. Plant Sci. 6: 431-438.

Horie, T., T. Kaneko, G. Sugimoto and S. Sasano. 2011. Mechanisms of water transport mediated by PIP aquaporins and their regulation via phosphorylation events under salinity stress in barley roots. Plant Cell Physiol. 52: 663-675.

Horvath, E., G. Szalai and T. Janda. 2007. Induction of abiotic stress tolerance by salicylic acid signaling. J. Plant Growth Regul. 26(3): 290-300.

Huang, X., Y. Zhang, B. Jiao, G. Chen, S. Huang, F. Guo, Y. Shen, Z. Huang and B. Zhao. 2012. Overexpression of the wheat salt tolerance-related gene *TaSC* enhances salt tolerance in Arabidopsis. J. Exp. Bot. 63(15): 5463-5473.

Jahn, T. P., A.L. Møller, T. Zeuthen, L. M. Holm and D. A. Klaerke. 2004. Aquaporin homologues in plants and mammals transport ammonia. FEBS Letters. 574: 31-36.

Jang, J. Y., D.G. Kim, Y. O. Kimand J. S. Kim. 2004. An expression analysis of a gene family encoding

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-05-20]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1401.24.1.3.4]

plasma membrane aquaporins in response to abiotic stresses in *Arabidopsis thaliana*. Plant Mol. Biol. 54: 713-725.

Kiani, R., A. Arzani, S. A. M. Mirmohammady Maibody, M. Rahimmalek and K. Razavi. 2021. Morpho-physiological and gene expression responses of wheat by *Aegilops cylindrica* amphidiploids to salt stress. Plant Cell Tissue Organ Culture. 144: 619-639.

Kibbe, W. A. 2007. OligoCalc: an online oligonucleotide properties calculator. Nucleic Acids Res. 35 (Web Server issue): W43-46.

Ludwig, A. A., T. Romeis and J. D. Jones. 2004. CDPK-mediated signaling pathways: specificity and cross-talk. J. Exp. Bot. 55: 181-188.

Munns, R. and M. Tester. 2008. Mechanisms of salinity tolerance. Ann. Rev. Plant Biol. 59: 651-681.

Nakashima, K., Y. Ito and K. Yamaguchi. 2009. Transcriptional regulatory networks in response to abiotic stresses in *Arabidopsis* and grasses. Plant Physiol. 149: 88-95.

Prasad, M. V. 1996. Plant Ecophysiology. John Wiley and Sons Inc. New York, USA.

Parida, A. K., A. B. Das and P. Mohanty. 2004. Defense potentials to NaCl in a mangrove, *Bruguiera parviflora*: differential changes of isoforms of some antioxidative enzymes. J. Plant Physiol. 161: 531-542.

Rahaie, M., M. Gomarian, H. Alizadeh, M. A. Malboobi and M. R. Naghavi. 2011. The expression analysis of transcription factors under long term salt stress in tolerant and susceptible wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes using Reverse Northern Blot. Iran. J. Crop Sci. 29: 835-844. (In Persian with English abstract).

Senaratna, T., D. Touchell, E. Bunn and K. Dixon. 2000. Acetyl salicylic acid (Aspirin) and salicylic acid induce multiple stress tolerance in bean and tomato plants. Plant Growth Regul. 30: 157-161.

Shi, S., S. Li, M. Asim, J. Mao, D. Xu, Z. Ullah, G. Liu, Q. Wang and H. Liu. 2018. The *Arabidopsis* Calcium-Dependent Protein Kinases (CDPKs) and their roles in plant growth regulation and abiotic stress responses. Int. J. Mol. Sci. 19(7): 1900.

Siefritz, F., B. Otto, G. P. Bienert, A. Krol and R. Kaldenhoff. 2004. The plasma membrane aquaporin *NtAQP1* is a key component of the leaf unfolding mechanism in tobacco. Plant J. 37: 147-155.

Untergasser, A., I. Cutcutache, T. Koressaar, J. Ye, B. C. Faircloth, M. Remm and S. G. Rozen. 2012. Primer3--new capabilities and interfaces. Nucleic Acids Res. 40(15): e115.

Xinwei, Ma., Su. Zhao and Ma. Hong. 2020. Molecular genetic analyses of abiotic stress responses during plant reproductive development, J. Exp. Bot. 71: 2870–2885.

Xu, C., M. Wang, L. Zhou, T. Quan and G. Xia. 2013. Heterologous expression of the wheat aquaporin gene *TaTIP2;2* compromises the abiotic stress tolerance of *Arabidopsis thaliana*. PLoS One. 8(11): e79618.

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-05-20]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1401.24.1.3.4]

Effect of salinity stress and application of salisylic acid on expression of *TaSC* and *TaNIP* genes in two bread wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars

Ahadi, S.[1], A. Maroufi[2], B. Bahramnejad[3] and A. Siosemardeh[4]

ABSTRACT

Ahadi, S., A. Maroufi, B. Bahramnejad and A. Siosemardeh. 2022. Effect of salinity stress and application of salisylic acid on expression of *TaSC* and *TaNIP* genes in two bread wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. **Iranian Journal of Crop Sciences. 24(1): 50-63. (In Persian).**

Salinity is one of the environmental stresses that affects bread wheat grain yield in most parts of the world. One of the basic strategies to mitgiate the effect of non-biological stresses such as salinity is genetic improvement of crop plants. Identification of stress-associated genes is a prerequisite for genetic improvement. In the present study, the role of a number of genes in the aquaporin family and genes associated with the CDPK pathway in response to environmental stresses was identified as their expression profile analysis in response to salinity stress would facilitate breeding for salinity tolerance. In 2014, the expression of two genes *TaNIP* and *TaSC* was studied in two bread wheat cultivars "Bam" tolerant to salinity and "Tajan" sensitive to salinity under salinity stress (170 mM NaCl) and Non-saline conditions. The results showed that *TaNIP* expression in salt-tolerant cultivar (Bam) significantly increaseed in both leaf and root tissues under salinity stress conditions, but in sensitive cultivar (Tajan) the level of *TaNIP* expression, especially in leaf tissues, was lower and showed a decreasing trend. In cv. Bam in both leaf and root tissues, after 24 hours, *TaSC* expression increased in comparion to control. In cv. Tajan, the expression in leaf tissue was generally lower and after 24 hours, the expression level significantly decreased in comparion to control (non-saline). Moreover, expression analysis under the simultaneousapplication of salicylic acid andsodium chloride showed that the expression of both genes in leaf tissues of both bread wheat cultivars significantly increased and the gene expression showed an increasing trend. In conclusion, the results of this experiment indicated that the *TaNIP* and *TaSC* genes had different expression trends in tolerant and sensitive bread wheat cultivars under salinity stress conditions. Using salicylic acid as an elicitor also activated the hormonal transduction pathway, which induced the expression of both genes. These findings highlights the role of these genes in salinity tolerance of tolerant bread wheat cv. “Bam”.

Key Words: Aquapurine, Bread wheat, Gene expression, Genetic improvement and Salinity stress

Received: September, 2021 Accepted: December, 2021

1. MSc Graduated student, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran
2. Associate Prof., University of Kurdistan, Sanandaj, Iran (Corresponding author) (Email: a.maroufi@uok.ac.ir)
3. Associate Prof., University of Kurdistan, Sanandaj, Iran
4. Associate Prof., University of Kurdistan, Sanandaj, Iran

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-05-20]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1401.24.1.3.4]