مقاله علمی پژوهشی
مجله دوفصل نامه
مهندسی ژنتیک و ایمنی زیستی
ISSN 2588-5073 چاپی
ISSN 2588-5081 الکترونیکی
دوره ۱۱، شماره ۱، بهار و تابستان ۱۴۰۱
صفحه ۱۲-۱

https://dorl.net/dor/20.1001.1.25885073.1401.11.1.1.8

DOR: 20.1001.1.25885073.1401.11.1.1.8

Genetic Engineering and Biosafety Journal
Volume 11, Number 1
2022

http://gebsj.ir/

https://ecc.isc.ac/showJournal/23064

همسانه‌سازی و بررسی بیوانفورماتیکی cDNA کد کننده فاکتور رونویسی MYB44 آفتابگردان تحت تنش شوری

Cloning and Bioinformatics Analysis of the cDNA Encoding MYB44 Transcription Factor of Sunflower under Salt Stress Conditions

معصومه شریفی علیشاه[۱]، رضا درویش زاده[۲*]، محمد احمدآبادی[۳]، کریم حسن پور[۴]، مهدی ایمانی[۵]

Masoumeh Sharifi Alishah[1], Reza Darvishzadeh[2*], Mohammad Ahmadabadi[3], Karim Hasanpur[4], Mehdi Imani[5]

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی کشاورزی، ۲- استاد، گروه تولید و ژنتیک گیاهی دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ایران
۳- دانشیار گروه بیوتکنولوژی کشاورزی دانشگاه شهیدمدنی آذربایجان، تبریز.
٤- استادیار گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز، تبریز.
۵- دانشیار، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه.

1. Former M.Sc. Student in Agricultural Biotechnology, 2. Professor, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia. Iran.
3. Associate Professor, Department of Agricultural Biotechnology, Faculty of Agriculture, Shahid Madani University, Tabriz.
4. Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Tabriz University, Tabriz, Iran.
5. Associate Professor, Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran

*Corresponding Author, Email:
* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: r.darvishzadeh@urmia.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۱/۱۰ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۱/۲۵)

چکیده

آفتابگردان دانه روغنی (*Helianthus annuus* L.) به‌طور گسترده در سراسر جهان کشت می‌شود. شوری خاک بر بسیاری از صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک آفتابگردان تاثیر منفی می‌گذارد. ژن‌های MYB بخشی از یک خانواده ژنی بزرگ از فاکتورهای رونویسی هستند که پروتئین‌های هسته‌ای را رمزگذاری می‌کنند و در مقاومت به شوری دخالت دارند. آفتابگردان روغنیِ متحمل به تنشِ شوری (AS5305)، در محیط کنترل شده در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو تکرار زیستی در شرایط نرمال و تنش شوری کشت شد. تنش شوری هشت دسی زیمنس بر متر در مرحله هشت برگی از منبع NaCl اعمال گردید. حدود ۲٤ ساعت پس از اعمال تنش شوری نمونه‌برداری از برگ‌ها انجام گرفت. ژن *MYB44*، به‌عنوان یکی از ژن‌های دخیل در مقاومت به تنش شوری، در ناقل‌های بیانی p35s-N و p35s-G همسانه‌سازی شده و تجزیه بیوانفورماتیکی بر روی آن انجام گرفت. تجزیه و تحلیل توالی *MYB44* کلون شده به ترتیب بیش از ۹۵٪ و ۹۸٪ شباهت DNA و پروتئین را بین ژن کلون شده با توالی *MYB44* در NCBI نشان داد که نشان‌دهنده حفظ شدگی توالی بالای این ژن در بین ژنوتیپ‌های مختلف آفتابگردان است. به طور کلی، نتایج مطالعهٔ حاضر بالقوه راه را برای به‌نژادی مولکولی آفتابگردان برای مقاومت به شوری هموار می‌نماید.

واژه‌های کلیدی

آفتابگردان روغنی،
مقاومت به شوری،
فاکتور رونویسی MYB44،
همسانه‌سازی

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-18]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1401.11.1.1.8]

Genetic Engineering and Biosafety Journal
Volume 11, Number 1, 2022

Abstract

Sunflower oilseed (*Helianthus annuus* L.) is widely planted around the world. Soil salinity negatively affects many morphological and physiological traits of sunflowers. MYB genes are a large gene family of transcription factors that encode nuclear proteins and involved in salinity resistance. Oil seed sunflower line tolerant to salinity stress (AS5305) was planted in normal and salinity stress conditions in a completely randomized design with two biological replications in a controlled environment. Salinity stress of 8 $ds.m^{-1}$ was applied in 8-leaf stage from NaCl source. About 24 hours after salinity stress, leaves were sampled. The MYB44 gene, as one of the genes involved in salinity stress resistance, was cloned in expression vectors p35s-N and p35s-G, and bioinformatics analysis was performed about it. Analysis of cloned *MYB44* sequence revealed more than 95% and 98% DNA and protein similarity respectively, between cloned gene with the *MYB44* sequence in the NCBI, indicating high sequence conservation of this gene among different sunflower genotypes. Overall, the results of present study potentially pave the way for molecular breeding of sunflower for salinity resistance.

Keywords: Cloning, MYB44 transcription factor, Salinity, Sunflower oil, Transcriptome analysis

مقدمه

آفتابگردان (*Helianthus annuus* L.) به عنوان یکی از مهمترین دانه‌های روغنی در سراسر جهان (Khan *et al*., 2014; Howard and Kinney, 2008) از نظر اهمیت تغذیه‌ای مقام سوم را بعد از غلات و حبوبات به خود اختصاص داده است و یک سیستم مدل برای انجام مطالعات ژنومی در گیاهان خانواده Asteraceae می‌باشد (Darvishzadeh *et al*., 2010; Khan *et al*., 2014; Mirpoor and Porta, 2021). در دسترس بودن ژرم‌پلاسمی با تنوع گسترده برای عملکرد دانه، تعداد دانه، ارتفاع بوته، زودرسی و حساسیت به تنش‌های زیستی و غیر زیستی در جنس هلیانتوس، یک منبع ژنیِ غنی و متنوع از آلل‌ها را برای به‌نژادگران گیاهی فراهم می‌نماید (Darvishzadeh *et al*., 2010; Paniego *et al*., 1999).

شوری آب و خاک آبیاری سبب بروز تغییرات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی متعددی در گیاهان می‌شود. گیاهان برای رشد در شرایط شور باید وضعیت آب را در مواجه با کمبود آب خاک و سمیت یونی در حد بالایی نگه دارند. از طرف دیگر، در نتیجهٔ تنش شوری، تنش‌های ثانویه نظیر تنش اکسیداتیو نیز ممکن است بروز کنند که در این حالت، تولید و تجمع رادیکال-های فعال به اکسید شدن پروتئین‌ها و لیپیدها و در نتیجه مرگ سلول و گیاه منجر می‌شود. در فرآیند نقل و انتقال یون‌ها، دو مکانیسم مهم برای تحمل به شوری وجود دارد: ۱) کنترل ورود و خروج یون‌های سدیم، پتاسیم و کلسیم به داخل گیاه، توسط غشاهای سلولی در ریشه‌ها به منظور حفظ تعادلات یونی سلول و کاهش اثر تنش اسمزی ۲) جابه‌جایی، نقل و انتقال و ذخیره یون‌ها در داخل بافت گیاه به ویژه در درون سلول‌ها توسط پمپ‌های یونی غشایی و تونوپلاستی به منظور حذف اثرات سمیت یون‌ها (Molassiotis *et al*., 2006; Vaidyanathan *et al*., 2003). اگر گیاهی بتواند هم آب جذب کرده و هم بخش عظیمی از نمک‌ها را دفع کند، می‌تواند تحت شرایط شوری خاک رشد کرده و بقا داشته باشد. با توجه به افزایش روزافزون زمین‌های شور به نظر می‌رسد بررسی راهکارهای افزایش تحمل گیاهان به تنش شوری ضروری است (Khan *et al*., 2014).

در سال‌های اخیر تجزیه ترنسکریپتوم از طریق توالی‌یابی RNA (RNA sequencing; RNA-seq)، یک رویکرد مناسب برای شناسایی مکانیسم‌ها و ژن‌های دخیل در مقاومت به تنش شوری در موجودات غیر مدل شامل آفتابگردان مطرح شده است (Liu *et al*., 2016). توالی‌یابی RNA که به توالی‌یابی شاتگانی کل ترانسکریپتوم

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-18]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1401.11.1.1.8]

نیز معروف است؛ تکنولوژی است که از توانایی‌های توالی یابی نسل بعد (Next generation sequencing; NGS) برای بدست آوردن تصویری کلی از حضور و مقدار RNA در یک بازه زمانی خاص استفاده می‌کند. به کمک تکنیک توالی‌یابی RNA اکثر ژن-های بیان شونده در مرحله‌ای خاص شناسایی شده، ایزوفرم‌های مختلف از هم تفکیک و میزان بیان رونوشت‌ها اندازه‌گیری می‌شود (Zhao *et al*., 2011).

شناسایی ژن‌های با تفرق بیانی متفاوت در برگ و ریشه آفتابگردان (*Helianthus annuus* L.) تحت تنش خشکی به کمک تکنیک RNA-seq، توسط لیانگ و همکاران انجام شد. نتایج حاصل نشان داد که به ترتیب ۸۰۵ و ۱۹۸ ژن در برگ و ریشه آفتابگردان و ۷۱ ژن در هر دو اندام بیان متفاوت داشتند (Liang *et al*., 2017). آنالیز ترانسکریپتوم ریشه در چمن برمودا (*Cynodon dactylon*) تحت تنش شوری به روش توالی‌یابی RNA انجام شد. نتایج نشان داد که تنظیم رشد ریشه‌ها، تحت تنش شوری شامل تغییر در بسیاری از جنبه‌های مختلف متابولیسم سلولی، سیگنالینگ و جابجایی مواد می‌باشد (Hu *et al*., 2015). با توجه به نتایج سو و همکاران (۲۰۱۲)، افزایش بیان ژن فاکتور رونویسی MYB44 گیاه آرابیدوپسیس در گیاه سویا، باعث افزایش مقاومت گیاهچه‌های حاصل به تش‌های خشکی و شوری گردید (Seo *et al*., 2012). در این مطالعه، ژن *MYB44* آفتابگردان به عنوان یکی از ژن‌های کلیدی دخیل در مقاومت به تنش شوری بر اساس مطالعات توالی‌یابی RNA انتخاب گردید و در ناقل‌های بیانی p35s-N و p35s-G همسانه‌سازی شد. در نهایت نتایج حاصل از توالی‌یابی ژن *MYB44* مورد تجزیه و تحلیل بیوانفورماتیکی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی نمونه‌های گیاهی: لاین متحمل به شوری آفتابگردان روغنی (AS5305) بر اساس نتایج مطالعات پیشین انتخاب شد (Ahmadpour *et al*., 2017). بذرها به مدت یک شب در آب مقطر خیس شده و سپس در گلدان‌های ۲۰×۲۵ سانتیمتری حاوی پرلیت و پیت ماس با نسبت ۲ به ۳ کشت شدند. گیاهان در شرایط کنترل شده اتاق رشد، با دمای ۱±۲۵°C، رطوبت نسبی ٪۶۵ و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و با شدت روشنایی بالای ۱۰۰۰۰ لوکس رشد یافتند. آبیاری با ۲۵۰ml از محلول هوگلند و به صورت یک روز در میان انجام شد. وقتی گیاهان به مرحله ۸ برگی رسیدند، گیاهان به دو دسته تقسیم شدند؛ آبیاری یک گروه با محلول هوگلند با هدایت الکتریکی (Electrical conductivity; EC) ۲/۷ $ds.m^{-1}$ (شرایط نرمال) به منظور مقایسه چند برابر شدنِ (Fold-change) بیانِ ژن‌ها ادامه یافت، اما گروه دیگر محلول هوگلند با هدایت الکتریکی (EC) ۸/۰ $ds.m^{-1}$ دریافت نمودند (تنش شوری). تنش شوری ۸ $ds.m^{-1}$ از طریق حل کردن نمک NaCl در محلول هوگلند حاصل شد. نمونه‌برداری از برگ‌های هفتم و هشتم گیاهان شاهد و تیمار شده (تحت تنش شوری)، ۲۴ ساعت بعد از اعمال تنش انجام گرفت (Ahmadpour *et al*., 2017) و پس از فریز شدن در نیتروژن مایع، تا زمان استخراج RNA به یخچال ۸۰- درجه سانتی‌گراد انتقال یافتند. آزمایش در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با دو تکرار زیستی اجرا شد.

استخراج RNA: استخراج RNA از نمونه‌های برگی با استفاده از محلول استخراج RNX-Plus ™ (سیناکلون، ایران) مطابق دستورالعمل پیشنهادی شرکت سازنده انجام شد. کمیت و کیفیت RNAاستخراج شده با استفاده از ژل الکتروفورز، دستگاه‌های نانودراپ و بیوآنالایزر Agilent 2100 ارزیابی شد.

همسانه‌سازی ژن *MYB44* در ناقل‌های بیانی p35s-N و p35s-G: به منظور تکثیر cDNA ژن *MYB44* (MYB-transcription factor 44)، از کیت Revert Aid First strand cDNA synthesis (فرمنتاز، آلمان) استفاده گردید و واکنش زنجیره‌ای پلیمراز به‌وسیله جفت آغازگرهای اختصاصی طراحی شده، شامل توالی 5'-ACCCGGGATGGATCGGATCAAAGGCC-3' و 5'-TTGAGCTCTAATCCATCCGATTCACCAC-3' که به ترتیب آغازگر رو به جلو (Forward) و رو به عقب (Reverse) بودند، در حجم واکنش ۲۰ میکرولیتر انجام شد.

تفاوت این دو ناقل در این است که در یکی از آنها ژن پپتیدِ نشانهٔ انتقال به هسته (N) تعبیه شده است که محصول آن باعثِ انتقالِ

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-18]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1401.11.1.1.8]

فاکتور رونویسی به هسته می‌شود. با توجه به اینکه محصول ژن همسانه‌سازی شده یک فاکتور رونویسی بوده و محل فعالیت آن در هسته است، در تحقیقات بعدی بیان بیشینه با استفاده از دو نوع ناقل بررسی خواهد شد. هدف از این تحقیق بررسی محصول نهایی ژن است و از آنجا که احتمال دارد ویرایش‌هایی از نوع "پس از رونویسی" روی RNA اتفاق افتاده باشد که در پروتئین نهایی تاثیرگذار باشد، بنابراین همسانه‌سازی cDNA بهتر خواهد بود.

در طراحی آغازگرهای ژن، سایت‌های برشی دو آنزیم *Sma*I و *Sac*I تعبیه شد. مقادیر حجمی به کار رفته در مخلوط واکنش PCR شامل H_2O ۱۳ µl، PCR Buffer (10X) ۲/۵ µl، dNTP (10 mM) ۱ µl، از هر کدام از آغازگرها (10 µM) ۱ µl، cDNA library ۱/۳ (µg/µl) و Phusion Enzyme ۰/۲ µl (5U/µl) بود. تکثیر ژن *MYB44* توسط PCR با برنامه حرارتی شامل فعال‌سازی اولیه آنزیم در دمای ۹۸°C به مدت زمان ۱۰ دقیقه در یک چرخه انجام گردید و سپس ٤٠ چرخه شامل مراحل واشرست‌سازی در دمای ۹۵°C به مدت زمان ۱۵ ثانیه، اتصال آغازگرها به ژن به مدت ۳۵ ثانیه، بسط در دمای ۷۲°C به مدت ٤٠ ثانیه و بسط نهایی در دمای ۷۲°C به مدت ۱۰ دقیقه استفاده شد. محصول واکنش، قطعه DNA به طول ۷٦۱ bp بود که بر روی ژل آگارز LMP ۱٪ الکتروفورز شد. باند مورد نظر از روی ژل آگارز LMP، زیر اشعه UV دستگاه ژل داک جداسازی و خالص‌سازی آن به روش فنول/کلروفرم (Sharghi *et al*., 2015; Darabi *et al*., 2017) انجام شد. DNA تخلیص شده، به روش اتانول رسوب داده شد (Sharghi *et al*., 2015). به منظور برش آنزیمی ناقل‌های همسانه-سازی، از پایگاه اطلاعاتی Fermentas، بافر مناسب و شرایط واکنش آنزیم‌های برشی سریع (Fast Digest Enzyme) *Sma*I و *Sac*I انتخاب شد. دمای مناسب برای فعالیت آنزیم سریع *Sma*I ، ۲۵°C به مدت ۳۰ دقیقه و دمای مناسب برای فعالیت آنزیم *Sac*I ، ۳۷°C به مدت ٤٠ دقیقه می‌باشد. واکنش برش آنزیمی در حجم ۲۰ میکرولیتر شامل H_2O ۱۵/۵ µl، Digest Buffer ۲ µl، وکتور (۳۰۰–۱۰۰ نانوگرم)، ۰/۵ µl از آنزیم‌ها در واکنش‌های جداگانه انجام شد. واکنش اتصال ناقل‌های برش‌یافته با آنزیم‌های برشی و قطعه موردنظر تکثیر شده به وسیله واکنش PCR، به مدت ۱٦ ساعت در دمای ۲۰°C در حجم ۲۰ میکرولیتر شامل H_2O ۱۳/۵، Ligation buffer (10x) ۲ µl، Vector ۲ µl (۱۰۰–۳۰۰ نانوگرم)، Insert ۲ µl (با نسبت ۱ به ۳ برابر DNA ناقل) و Ligation enzyme (T_4) ۰/۵ µl انجام شد. به منظور تکثیر ناقل‌های نوترکیب در داخل باکتری و گزینش، از سویه Top10 باکتری *E. coli* برای تهیه سلول‌های مستعد استفاده شد. تهیه سلول‌های مستعد به روش کلسیم کلرید ($CaCl_2$) (۱۰۰ میلی‌مولار) انجام شد. ناقل‌های نوترکیب به روش شوک حرارتی (روش ذوب و انجماد) به درون باکتری‌های مستعد انتقال یافتند. سوسپانسیون تهیه شده در محیط LB جامد حاوی آنتی‌بیوتیک آمپی‌سیلین با غلظت ۱۰۰mg/ml کشت و به مدت ۱۵ ساعت در دمای ۳۷°C نگهداری شدند.

تأیید نوترکیبی پلاسمیدها با استفاده از PCR: برای تایید حضور پلاسمید نوترکیب حاوی ژن *MYB44* در کلونی‌های رشد یافته بر روی محیط LB جامد حاوی آنتی‌بیوتیک، از تکنیک غربالگری توسط PCR (PCR Screening) با استفاده از آغازگرهای اختصاصی طراحی شده و بر اساس شرایط دمایی بهینه شده برای ژن *MYB44*، استفاده شد.

استخراج و تایید پلاسمیدهای نوترکیب با استفاده از هضم آنزیمی: برای تایید دوباره نوترکیب بودن پلاسمیدها، از کلونی‌هایی که حضور ژن در آن‌ها به وسیله غربالگری با PCR به صورت ابتدایی تایید شده بود، به روش Mini-Prep (فرمنتاز، آلمان) استخراج پلاسمید انجام گرفت (Moradi *et al*., 2018). سپس مقدار دو میکرولیتر از محصول واکنش هضم آنزیمی پلاسمیدهای استخراج شده، بر روی ژل آگارز ۱٪ الکتروفورز شد.

تایید پلاسمیدهای نوترکیب با استفاده تعیین توالی قطعات نوترکیب همسانه‌سازی شده: به منظور تایید نهایی نوترکیب بودن پلاسمیدها، توالی‌یابی در دو جهت و توسط آغازگرهای اختصاصی طراحی شده برای ژن *MYB44* انجام گرفت (Seo *et al*., 2012).

مقایسه توالی MYB44 کلون شده و دومین‌های پروتئین با توالی‌های پایگاه داده: توالی‌های DNA و پروتئین با استفاده از برنامه BLAST (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ Blast) با سایر ژن‌های موجود در بانک ژن مقایسه و همردیف شدند. همچنین از

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-18]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1401.11.1.1.8]

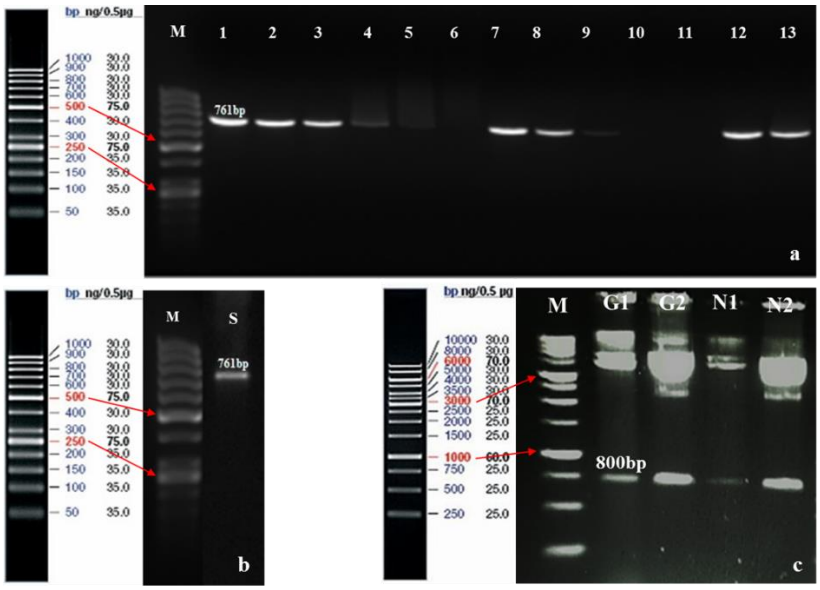
ExPASy InterPro (http://www.ebi.ac.uk/interpro/) و سرویس تجزیه و تحلیل SMART (http://smart.embl-heidelberg.de/) برای شناسایی و مقایسه دومین‌های پروتئینی استفاده شد.

نتایج و بحث

MYB44 یک عامل رونویسی متعلق به خانواده MYB می‌باشد که در مقاومت به تنش‌های شوری و خشکی دخیل می‌باشند. تحت تنش شوری تجمع ROS (Reactive Oxygen Species) در سلول، علاوه بر تنش اکسیداتیو باعث فعال شدن مسیرهای سیگنال‌دهی اختصاصی می‌شود. جریان سیگنال باعث تنظیم بیان ژن، فعالیت عوامل رونویسی و تغییر در سنتز و فعالیت پروتئین‌ها می‌گردد که در نهایت سلول را برای سازگاری با شرایط جدید آماده می‌کند. تقریباً تمامی فرآیندهای بیولوژیک یا به طور مستقیم به وسیله فاکتورهای رونویسی تنظیم می‌شوند؛ یا اینکه به وسیله آنها تحت تاثیر قرار می‌گیرند. همچنین فرآیندهای توسعه‌ای به شدت تحت کنترل وجود و عدم وجود فاکتورهای رونویسی هستند (Chandra *et al.*, 2015; Hwang, 2013).

تکثیر cDNA ژن *MYB44* با استفاده از PCR: بر اساس توالی ژن *MYB44* به کار برده شده برای طراحی آغازگر (شماره دسترسی: XM_022159869) انتظار می‌رفت قطعه‌ای به اندازه ۷۶۱ bp طی واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز تکثیر شود. پس از تکثیر قطعه مورد نظر طی واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز، الکتروفورز محصولات واکنش بر روی ژل آگارز LMP یک درصد انجام شد. نتیجه حاصل از الکتروفورز، حاکی از تکثیر قطعه با اندازه مورد انتظار می‌باشد (شکل ۱-a).

قطعه با وزن ۷۶۱ جفت باز از روی ژل آگارز LMP خالص‌سازی شد. به منظور تائید پروسه خالص‌سازی، مقدار ۲ میکرولیتر از محصول حاصل از تلخیص، بر روی ژل آگارز ۱ درصد ران گردید. نتیجه الکتروفورز، نشان‌دهنده تخلیص قطعه ۷۶۱ جفت بازی بوده است (شکل ۱-b).

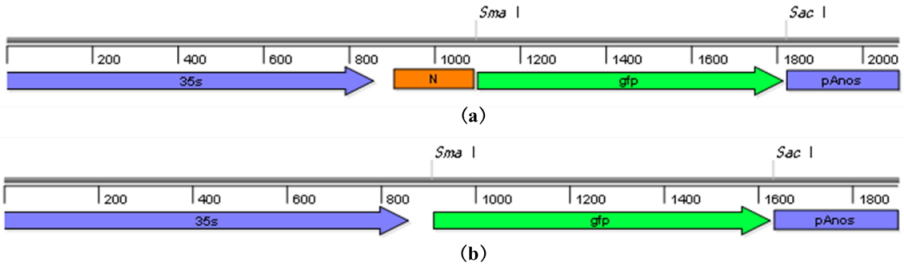


شکل ۱- a. الکتروفورز محصول PCR مربوط به cDNAی ژن *MYB44* (۷۶۱bp) با استفاده از جفت آغازگرهای اختصاصی b. الکتروفورز قطعه DNAی تخلیص شده مربوط به ژن *MYB44* (۷۶۱bp) از ژل آگارز LMP c. الکتروفورز محصول واکنش برش آنزیمی ناقل‌های بیانی P35s-N و P35s-G بر روی ژل آگارز ۱٪

Fig 1. a. PCR product electrophoresis of *MYB44* gene cDNA (bp761) using specific primer pairs b. Electrophoresis of a purified DNA fragment of the *MYB44* gene (bp761) from LMP agarose gel c. The result of enzymatic digestion of P35s-N and P35s-G expressive vectors on 1% agarose gel

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-18]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1401.11.1.1.8]

واکنش برش آنزیمی ناقل‌ها: واکنش برش آنزیمی ناقل‌های همسانه‌سازی، توسط آنزیم‌های برشی *Sma*I و *Sac*I، انجام شد. نتیجه حاصل از برش این ناقل‌ها بر روی ژل آگارز، دو قطعه به اندازه‌های ۳۰۰۰bp و ۸۰۰bp می‌باشد (شکل ۱-c). نقشه ناقل‌های بیانی استفاده شده در این مطالعه در شکل ۲ قابل مشاهده است.



شکل ۲- نقشه کاست‌های بیانی. a) نقشه کاست بیانی 35S-N-gfp b) نقشه کاست بیانی 35S-G-gfp

Fig 2. Expression Cassettes map. a) Expression Cassette map of 35S-N-gfp b) Expression Cassette map of 35S-G-gfp

انتقال محصول واکنش اتصال به درون سلول‌های مستعد: پس از تخلیصِ قطعه مورد نظر ناقل و قطعه DNA مربوط به ژن *MYB44*، واکنش اتصال بین آن‌ها انجام گرفت. ناقل‌های نوترکیب حاصل به درون سلول‌هایِ مستعدِ تهیه شده، انتقال داده شدند. از آنجا که ناقل نوترکیب بیانی حاوی ژن مقاومت به آنتی بیوتیک آمپی‌سیلین بود، به کمک محیط کشت حاوی آمپی‌سیلین امکان جداسازی کلونی‌های حاوی ناقل امکان‌پذیر شد.

تأیید پلاسمید نوترکیب با استفاده از واکنش کلونی-PCR: به منظور انتخاب کلونی‌های حاوی ناقل نوترکیب بیانی، به طور تصادفی چندین کلونی انتخاب شد و از روی آن‌ها واکنش کلونی-PCR انجام شد. نتیجه حاصل از تصویربرداری از ژل محصولات PCR، حاکی از وجود قطعه DNA موردنظر در درون ناقل‌های بیانی است (شکل ۳-a).

تایید پلاسمیدهای نوترکیب با استفاده از واکنش PCR از ناقل و واکنش هضم آنزیمی پلاسمیدهای نوترکیب: پس از استخراج پلاسمیدهای نوترکیب از کلونی‌های تائید شده به وسیله واکنش کلونی-PCR، مقدار دو میکرولیتر از پلاسمیدهای استخراج شده بر روی ژل آگارز یک درصد الکتروفورز شدند. شکل ۳-b نشان دهندهٔ غلظت بالا و صحت استخراج پلاسمیدها می‌باشد.

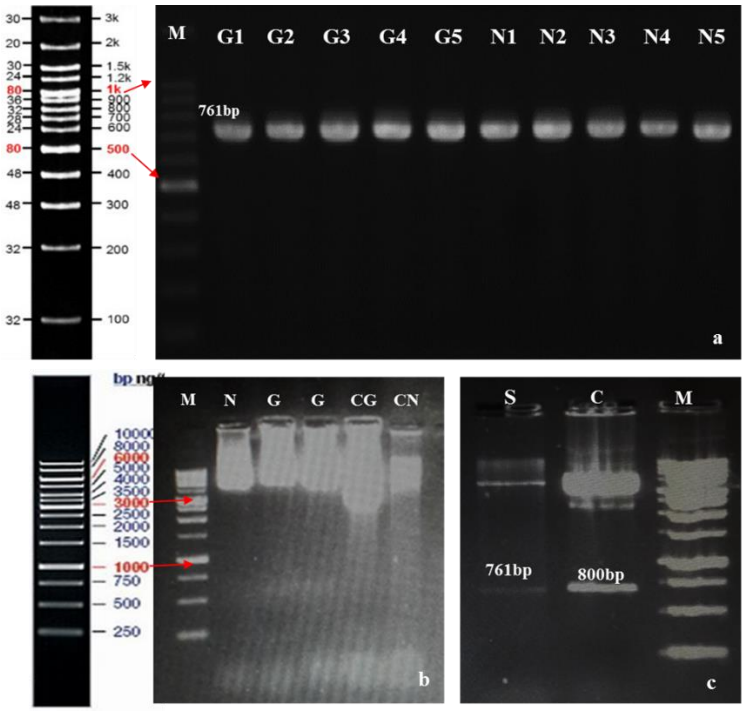
هضم آنزیمی پلاسمیدهای استخراج شده: واکنش هضم آنزیمی توسط آنزیم‌های برشی به کار رفته در فرآیند همسانه‌سازی، انجام شد. نتیجه حاصل از بررسی قطعات بدست آمده از این واکنش بر روی ژل آگارز، تائیدی دیگر بر نوترکیب بودن ناقل‌های بیانی تخلیص شده می‌باشد (شکل ۳-c).

تایید پلاسمیدهای نوترکیب با استفاده تعیین توالی قطعات نوترکیب همسانه‌سازی شده: به منظور تائید نهایی نوترکیب بودن ناقل‌ها، توالی‌یابی قطعه کلون شده با استفاده از آغازگرهای رفت و برگشت ژن *MYB44* که توالی آن‌ها در داخل ناقل همسانه‌سازی حضور دارد، صورت گرفت. برای ایجاد یک توالی منفرد، توالی-های رفت و برگشت به منظور شناسایی نواحی همپوشان، BLAST شدند. به این ترتیب نوکلئوتیدهای دارای پیک مشخص و مجزا به عنوان نوکلئوتیدهای درست انتخاب شدند. در نهایت با اضافه کردن ابتدا و انتهای رشته‌ها به یکدیگر، توالی کامل قطعه توالی‌یابی شده، بدست آمد. توالی کامل همچنین دوباره در سایت NCBI، BLAST شد. مشاهده تطابق بیشتر از ۹۵ درصد آن با توالی *MYB44* موجود در NCBI، توالی‌یابی صحیح قطعه مورد نظر را تائید کرد (شکل ٤).

تجزیه و تحلیل توالی پروتئین نشان داد که ژن کلون شده بیش از ۹۸ درصد مشابه توالی گزارش شده در پایگاه داده است (شکل ۵). همچنین بررسی دومین‌های پروتئینی نشان داد که حوزه‌های عملکردی در این دو توالی به شدت حفظ شده است. این داده‌ها نشان می‌دهد که ژن *MYB44* نقش بسیار مهمی در مقاومت در برابر تنش‌های محیطی، به ویژه شوری و خشکی ایفا می‌کند و بنابراین،

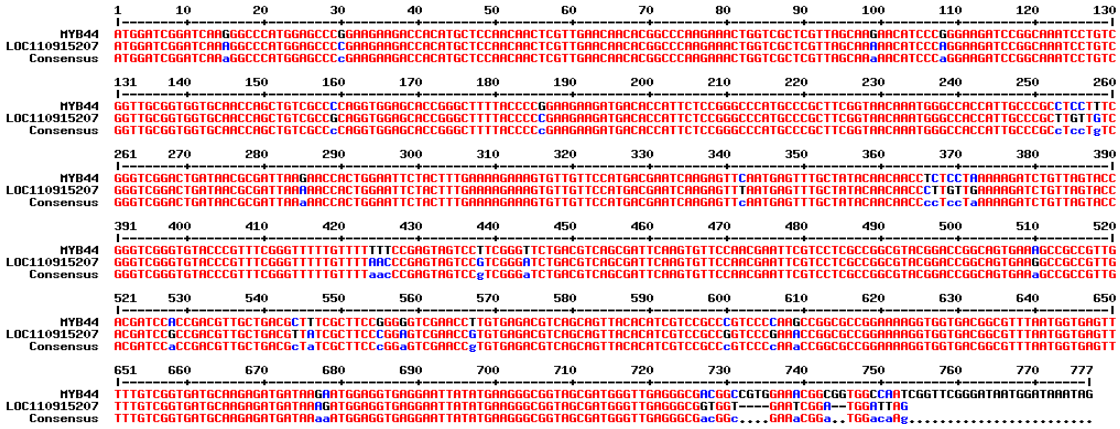
[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-18]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1401.11.1.1.8]

به شدت حفاظت می‌شود. نتایج تجزیه و تحلیل ژن *MYB44* با سرویس نرم‌افزارSMART در جدول ۱ قابل مشاهده است. همچنین تجزیه و تحلیل فیلوژنتیکی ژن *MYB44* بر اساس توالی‌های نوکلئوتیدی و اسید آمینه از گیاهان مختلف در پایگاه داده NCBI انجام شد (شکل ٦) که نشان‌دهنده حفظ توالی بالای این ژن در بین ژنوتیپ‌های مختلف آفتابگردان است.



شکل ۳- a. الکتروفورز محصول واکنش کلونی-PCR از DNAی ژن *MYB44* (۷٦۱bp) با استفاده از جفت آغازگرهای اختصاصی b. الکتروفورز محصول استخراج پلاسمید از کلونی‌های تائید شده به وسیله واکنش کلونی–PCR c. الکتروفورز محصول واکنش هضم آنزیمی ناقل‌های نوترکیب 35S-N-gfp و 35S-G-gfp با استفاده از آنزیم‌های برشی *Sma*I و *Sac*I

Fig 3. a. Electrophoresis of Colony-PCR product from the MYB44 gene (bp761) using specific primer pairs b. Electrophoresis of plasmid extraction product from colonies confirmed by colony-PCR reaction c. Electrophoresis of the enzymatic digestion product of recombinant vectors using *Sma*I and *Sac*I enzymes



شکل ٤- همردیفی توالی ناحیه کدکننده mRNA ژن MYB44 توالی‌یابی شده با توالی موجود در NCBI (LOC110915207)

Fig 4. Sequence alignment of mRNA coding of sequenced *MYB44* gene with available sequence in NCBI

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-18]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1401.11.1.1.8]

```
Query  1    MDRIKGPWSPEEDHMLQQLVEQHGPRNWSLVSKNIPGRSGKSCRLRWCNQLSPQVEHRAF  60
            MDRIKGPWSPEEDHMLQQLVEQHGPRNWSLVSKNIPGRSGKSCRLRWCNQLSPQVEHRAF
Sbjct  1    MDRIKGPWSPEEDHMLQQLVEQHGPRNWSLVSKNIPGRSGKSCRLRWCNQLSPQVEHRAF  60

Query  61   TPEEDDTILRAHARFGNKWATIARLLSGRTDNAIKNHWNSTLKRKCCSMTNQEFNEFAIQ  120
            TPEEDDTILRAHARFGNKWATIARLLSGRTDNAIKNHWNSTLKRKCCSMTNQEFNEFAIQ
Sbjct  61   TPEEDDTILRAHARFGNKWATIARLLSGRTDNAIKNHWNSTLKRKCCSMTNQEFNEFAIQ  120

Query  121  QPLLKRSVSTGSGVPVSGFCFFPSSPSGSDVSDSSVPTNSSSPAYGPAVKAAVDDPPTLL  180
            QPLLKRSVSTGSGVPVSGFCF PSSPSGSDVSDSSVPTNSSSPAYGPAVKAAVDDPPTLL
Sbjct  121  QPLLKRSVSTGSGVPVSGFCFNPSSPSGSDVSDSSVPTNSSSPAYGPAVKAAVDDPPTLL  180

Query  181  TLSLPGVEPCETSAVTHRPPVPKPAPEKVVTAFNGEFLSVMQEMIRMEVRNYMKGGSDGL  240
            TLSLPGVEPCETSAVTHRPPVPKPAPEKVVTAFNGEFLSVMQEMI+MEVRNYMKGGSDGL
Sbjct  181  TLSLPGVEPCETSAVTHRPPVPKPAPEKVVTAFNGEFLSVMQEMIKMEVRNYMKGGSDGL  240

Query  241  RATA  244
            RA
Sbjct  241  RAVV  244
```

شکل ۵- مقایسه توالی اسیدآمینه ژن MYB44 توالی‌یابی شده با توالی اسیدآمینه موجود در NCBI (LOC110915207)

Fig 5. Comparing amino acid sequence of gene encoding MYB44 with amino acid sequence in NCBI (LOC110915207)

جدول ۱- نتایج تجزیه و تحلیل با سرویس نرم افزارSMART a) MYB44 ثبت شده در پایگاه داده b) MYB44 کلون شده

Table 1. Analysis results with SMART software service. a) MYB44 registered in in the database b) Cloned MYB44

(a)

Confidently predicted domains, repeats, motifs and features:

Name	Start	End	E-value
SANT	4	53	2.76e-16
SANT	56	104	2.5e-14
low complexity	127	138	N/A
low complexity	143	163	N/A
low complexity	176	185	N/A
low complexity	199	210	N/A

Click on a row to highlight the feature in the diagram above. Click the feature name for more information.

Features NOT shown in the diagram:

Name	Start	End	E-value	Reason
Pfam:Myb_DNA-binding	5	51	1.4e-20	overlap
Pfam:Myb_DNA-bind_6	8	66	8.3e-18	overlap
internal repeat 1	8	51	0.0000459	overlap
Pfam:Myb_DNA-binding	57	102	4.7e-16	overlap
Pfam:Myb_DNA-bind_6	60	121	4.8e-11	overlap
internal repeat 1	60	102	0.0000459	overlap

Click on a row to highlight the feature in the diagram above. Click the feature name for more information.

Outlier homologues and homologues of known structure:

Name	Sequence	Start	End	E-value
SCOP:d1h8ac1	d1h8ac1	2	55	9e-23
Blast:SANT	M0UB23_MUSAM 16-92	4	104	1e-29
PDB:1MSF|C	1msf	4	106	2e-40

Click on a row to highlight the feature in the diagram above. Click the feature name for more information.

(b)

Confidently predicted domains, repeats, motifs and features:

Name	Start	End	E-value
SANT	4	53	2.76e-16
SANT	56	104	2.5e-14
low complexity	127	163	N/A
low complexity	176	185	N/A
low complexity	199	210	N/A

Click on a row to highlight the feature in the diagram above. Click the feature name for more information.

Features NOT shown in the diagram:

Name	Start	End	E-value	Reason
Pfam:SLIDE	2	48	1.5	overlap
Pfam:Myb_DNA-bind_7	2	56	130	overlap
Pfam:Myb_DNA-binding	5	51	4e-19	overlap
Pfam:Myb_DNA-bind_6	8	66	4.5e-16	overlap
internal repeat 1	8	51	0.0000306	overlap
Pfam:SLIDE	41	117	2.7	overlap
Pfam:Myb_DNA-bind_7	52	121	0.43	overlap
Pfam:Myb_DNA-binding	57	102	1.3e-14	overlap
Pfam:Myb_DNA-bind_6	60	121	2.6e-9	overlap
internal repeat 1	60	102	0.0000306	overlap

Click on a row to highlight the feature in the diagram above. Click the feature name for more information.

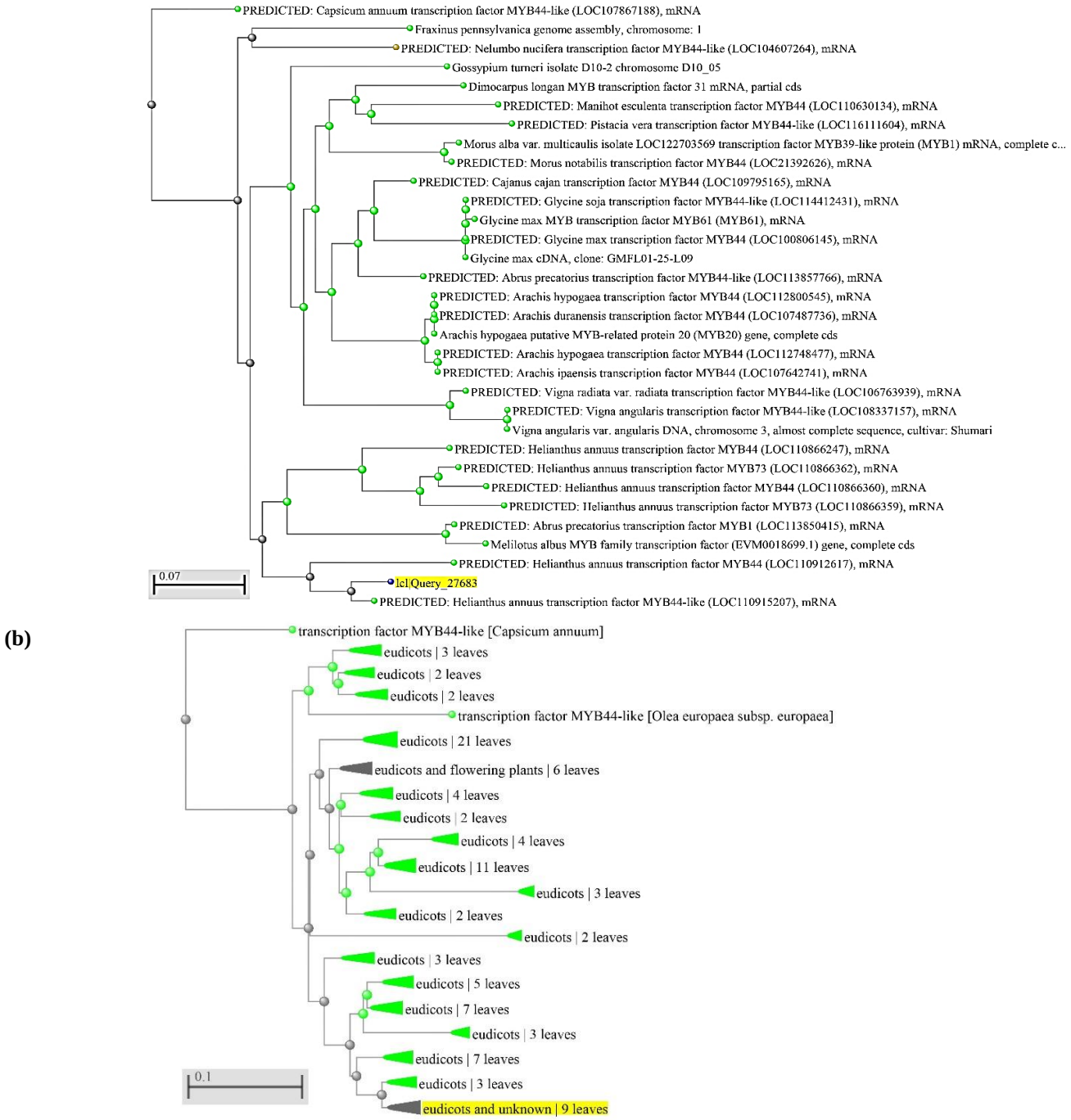
Outlier homologues and homologues of known structure:

Name	Sequence	Start	End	E-value
SCOP:d1h8ac1	d1h8ac1	2	55	6e-23
Blast:SANT	M0UB23_MUSAM 16-92	4	104	1e-29
PDB:1MSF|C	1msf	4	106	3e-40

Click on a row to highlight the feature in the diagram above. Click the feature name for more information.

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-18]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1401.11.1.1.8]



شکل ٦- تجزیه و تحلیل فیلوژنتیک ژن MYB44 بر اساس توالی‌های نوکلئوتیدی و اسید آمینه از گیاهان مختلف (a) درخت فیلوژنتیک بر اساس توالی‌های نوکلئوتیدی ژن MYB44 در گیاهان مختلف. (b) درخت فیلوژنتیک بر اساس توالی پروتئین MYB44 از گیاهان مختلف.

Fig 6. Phylogenetic analysis of MYB44 gene based on nucleotide and amino acid sequences from different plants (a) Phylogenetic tree based on nucleotide sequences of MYB44 gene in different plants. (b) Phylogenetic tree based on protein sequence of MYB44 from different plants.

He و همکاران (۲۰۲۲) در مطالعه خود دریافتند فاکتور رونویسی R2R3-MYB MYB44 بیوسنتز کاروتنوئید را در *Ulva prolifera* تعدیل می‌کند. آنها در این مطالعه، گزارش کردند که فاکتور رونویسی R2R3-MYB UpMYB44 یک تنظیم کننده مثبت بیوسنتز کاروتنوئید در *U. prolifera* است. پروتئین UpMYB44دارای فعالیت رونویسی است و می‌تواند تجمع کاروتنوئید را با تعامل مستقیم با ژن اصلی سنتز کاروتنوئید *UpPDS* تنظیم نموده و مقاومت در برابر برخی

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-18]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1401.11.1.1.8]

تنش‌های محیطی، از جمله تنش‌های دما، نور و شوری را افزایش دهد. نتایج نشان داده است که سطح بیان ژن کلیدی درگیر در بیوسنتز کاروتنوئیدها بر بیوسنتز کاروتنوئیدها در *U. prolifera* در سطح مولکولی تأثیر می‌گذارد و توسط UpMYB44 تنظیم می‌شود. داده‌های ارائه شده در مطالعهٔ اخیر نشان دهندهٔ نقش UpMYB44 در متابولیسم کاروتنوئید است که با فعال‌سازی رونویسی ژن‌های مسیر بیوسنتزی کاروتنوئید اعمال می‌شود.

در مطالعات Li و همکاران (۲۰۲۱) بیان XsMYB44 به شدت توسط تنش ترکیبی القا شد. سرکوب بیان XsMYB44 از طریق خاموش کردن ژن ناشی از ویروس، تحملِ *Xanthoceras sorbifolium* را به تنش خشکی و گرما به تنهایی و به صورت ترکیبی تضعیف کرد و افزایش حساسیت با کاهش ارتفاع گیاه، وزن تر و محتوای نسبی آب و مهار بسته شدن روزنه همراه شد. علاوه بر این، در مقایسه با تنش‌های فردی، تنش ترکیبی باعث افزایش سطح گونه‌های اکسیژن فعال و کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی و محتوای پرولین در گیاهان خاموش شده (سرکوب بیان شده) با XsMYB44 شد. علاوه بر این، سطح بیان چندین ژن مرتبط با دفاع در گیاهان خاموش شده (سرکوب بیان شده) با XsMYB44 کاهش یافت. نتایج مطالعه آنها نشان داد که XsMYB44به عنوان یک تنظیم‌کننده مثبت در پاسخ *Xanthoceras sorbifolium* به تنش ترکیبی با تحریک بسته شدن روزنه برای حفظ سطح آب و با تعدیل هموستازی ROS عمل می‌کند.

در مطالعه دیگری اثر تنش شوری بر الگوی بیان ژن فاکتور رونویسی MYB در یونجه توسط شوشی و کلانتر (Shoushi Dezfuli and Kalantar, 2018) مورد بررسی قرار گرفت. در مطالعه آنها به منظور شناسایی الگوی بیان ژن فاکتور رونویسی MYBدر سه ژنوتیپ یکساله یونجه تحت تنش شوری، آنالیز qRT-PCR انجام شد و مشخص شد که فاکتور رونویسی MYB بیان بالاتری در ژنوتیپ متحمل به شوری دارد. به عبارت دیگر بیان بیشتر این ژن منجر به تحمل بیشتر تنش شوری می‌شود. در مطالعه دیگری فاکتور رونویسی MYB44 که در جلوگیری از آسیب اکسیداتیو به گیاهان تحت تنش‌های غیرزیستی نقش دارد، مورد بررسی قرار گرفت. در این تحقیق، انتقال ژن فاکتور رونویسی *MYB44* به آرابیدوپسیس نشان داد که افزایش بیان واریانت‌های مختلف این ژن با استفاده از روش‌های مهندسی ژنتیک می‌تواند ابزار مناسبی برای افزایش مقاومت به تنش در گیاهان زراعی باشد (Persak and Pitzschke, 2014).

در مطالعهٔ شاملو دشت پاگردی (Shamloo Dasht Pagardi et al., 2015)، بر اساس شبکه ژنی به دست آمده سه ژن به نام‌های ABI1، MYB44 وVIP1 انتخاب و توالی ناحیه رمزشونده آنها از گیاه کلزا جداسازی و همسانه‌سازی شد. نتایج نشان داد که این ژن‌ها هم در سطح نوکلئوتیدی و هم در سطح پروتئینی شباهت زیادی با هومولوگ‌های خود در گونه‌های گیاهی *Brassica rapa* و آرابیدوپسیس دارند. به نظر می‌رسد این ژن‌ها با همکاری هم و دیگر ژن‌های شبکه ژنی نقش مهمی در ایجاد هم ایستایی یونی در سلول و تحمل تنش شوری ایفا می‌نمایند.

مهندسی ژنتیک از طریق جداسازی و انتقال ژن‌های مؤثر نقش مهمی در افزایش تحمل گیاهان به تنش‌های زیستی دارد (Dana *et al.*, 2017). از آنجا که ژنتیک تحمل به اکثر تنش‌های زیستی، کمّی است و تعداد زیادی ژن در کنترل آنها دخیل هستند، انتقال و بیان یک ژن عملکردی قادر به ایجاد تغییرات کامل در پاسخ گیاه به تنش‌ها و ایجاد تحمل در سطح مطلوب در گیاه نیست (Dang *et al.*, 2014). عوامل رونویسی که در تنظیم مسیرهای انتقال پیام و بیان ژن‌ها دخیل هستند، در گروه ژن‌های تنظیمی طبقه‌بندی می‌شوند و کاندیدهای مطلوب برای انتقال و افزایش تحمل گیاهان می‌باشند. این عوامل با عناصر تنظمی سیس موجود در ناحیه راه‌انداز ژن‌های زیادی که در پاسخ به تنش‌ها اثر بخش‌اند، برهمکنش نشان داده و سبب تنظیم آنها می‌شوند (Ambawat *et al.*, 2013).

نتیجه گیری کلی

به طور کلی می‌توان گفت که گام اول در بهبود مقاومت موجودات زنده به انواع تنش‌ها و افزایش میزان بیان ژن‌های درگیر در مسیرهای بیوسنتزی ترکیبات آلی، نقشه‌یابی رونوشت‌ها در شرایط فیزیولوژیکی خاص خواهد بود. تجزیه و تحلیل الگوهای بیان ژن بین شوری و شرایط نرمال ژن‌های کاندیدی را

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-18]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1401.11.1.1.8]

معرفی می‌کند که ممکن است به طور مستقیم یا غیرمستقیم در صفت تحمل دخیل باشند. نقش این ژن‌ها در تحمل به نمک در ژنوتیپ‌های آفتابگردان را می‌توان با تجزیه و تحلیل ژنتیکی بیشتر تایید کرد. با استفاده از تکنیک توالی‌یابی RNA کلیه اطلاعات مربوط به ژنوم و عملکردهای زیستی ژن‌ها، شناسایی شده و پس از انجام آزمایش‌های تکمیلی در انواع دست‌ورزی‌های ژنتیکی مورد هدف قرار می‌گیرند. در این مطالعه به دنبال بررسی های ترنسکریپتومیک انجام یافته در مطالعات قبلی، همسانه‌سازی ژن *MYB44* انجام گرفت. تجزیه و تحلیل توالی *MYB44* کلون شده به ترتیب بیش از ۹۵٪ و ۹۸٪ شباهت DNA و پروتئین را بین ژن کلون شده با توالی *MYB44* در NCBI نشان داد که نشان‌دهندهٔ حفظ شدگی بالای توالی این ژن در بین ژنوتیپ‌های مختلف آفتابگردان است.

منابع

Ahmadpour S, Sofalian O, Darvishzadeh R. 2017. Genetic diversity of oily sunflower lines under normal and salt stress conditions using multivariate statistical analysis methods. Iranian Journal of Field Crop Science. 48(2): 399-411. In Farsi with English abstract.

Ambawat S, Sharma P, Yadav NR, Yadav RC. 2013. MYB transcription factor genes as regulators for plant responses: an overview. Physiol Mol Biol Plants. 19(3): 307-21. doi: 10.1007/s12298-013-0179-1.

Bolger AM, Lohse M, Usadel B. 2014. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. Bioinformatics. 30(15): 2114-20.

Chandra K, Salman AS, Mohd A, Sweety R, Ali KN. 2015. Protection against FCA induced oxidative stress induced DNA damage as a model of arthritis and in vitro anti-arthritic potential of costus speciosus rhizome extract. Inter J Pharma Phyto Res. 7(2): 383-389.

Dana H, Mahmoodi Chalbatani G, Mahmoodzadeh H, Karimloo R, Rezaiean O, Moradzadeh A, Mehmandoost N, Moazzen F, Mazraeh A, Marmari V, Ebrahimi M, Menati Rashno M, Jan Abadi S, Gharagouzlo E. 2017. Molecular Mechanisms and Biological Functions of siRNA. Int J Biomed Sci. 13(2): 48-57.

Dang ZH, Qi Q, Zhang HR, Li HY, Wu SB and Wang YC. 2014. Identification of Salt-Stress-Induced Genes from the RNA-Seq Data of *Reaumuria trigyna* Using Differential-Display Reverse Transcription PCR. International Journal of Genomics. 381501. doi.org/10.1155/2014/381501.

Darabi S, Ramezani S, Ahmadabadi M. 2017. Cloning of human insulin-like growth factor gene in plant expression vectors. Journal of Agricultural Biotechnology. 9 (1): 15-30. doi: 10.22103 / jab.2017.1666.

Darvishzadeh R, Azizi M, Hatami-Maleki H, Bernousi I, Abdollahi Mandoulakani B, Jafari M, Sarrafi A. 2010. Molecular characterization and similarity relationships among sunflower (Helianthus annuus L.) inbred lines using some mapped simple sequence repeats. African Journal of Biotechnology. 9(43): 7280-7288.

He Y, Li M, Wang Y, Shen S. 2022. The R2R3-MYB transcription factor MYB44 modulates carotenoid biosynthesis in Ulva prolifera. Algal Research. 62: 102578.

Howard G, Kinney J. 2008. Enhancing plant seed oils for human nutrition. *Plant Physiol*. 147: 962-968.

Hu L, Li H, Chen L, Lou Y, Amombo E, Fu J. 2015. RNA-seq for gene identification and transcript profiling in relation to root growth of bermudagrass (*Cynodon dactylon*) under salinity stress. BMC Genomics. 16: 575.

Hwang O. 2013. Role of Oxidative Stress in Parkinson's Disease. Exp Neurobiol. 22: 11–7. doi:10.5607/en.2013.22.1.11. PMC 3620453. PMID 23585717.

Khan et al. 2014. Role of proline to induce salinity tolerance in sunflower (*Helianthus annuus* L.). Sci. Tech. and Dev. 33 (2): 88-93.

Li J, Zhao S, Yu X, Du W, Li H, Sun Y, ... & Ruan C. 2021. Role of Xanthoceras sorbifolium MYB44 in tolerance to combined drought and heat stress via modulation of stomatal closure and ROS homeostasis. Plant Physiology and Biochemistry. 162, 410-420.

Liang C, Wang W, Wang J, Ma J, Li C, Zhou F, Zhang S, Yu Y, Zhang L, Li W, Huang X. 2017. Identification of differentially expressed genes in sunflower (Helianthus annuus) leaves and roots under drought stress by RNA sequencing. springr. Bot Stud. 58:42.

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-18]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1401.11.1.1.8]

Liu J, Zhou Y, Luo C, Xiang Y, An L. 2016. De Novo Transcriptome Sequencing of Desert Herbaceous Achnatherum splendens (Achnatherum) Seedlings and Identification of Salt Tolerance Genes. Genes. 7(4): 12; doi :10.3390/genes7040012.

Mirpoor S F, Giosafatto C V L, and Porta R. 2021. Biorefining of seed oil cakes as industrial co-streams for production of innovative bioplastics. A review. Trends in Food Science & Technology. 109: 259-270.

Molassiotis A, Sotiropoulos T, Tanou G, Diamantidis G, Therios I. 2006. Boron-induced oxidative damage and antioxidant and nucleolytic responses in shoot tips culture of the apple rootstock EM9 (*Malus domestica* Borkh). Environmental and Experimental Botany. 56: 54–62.

Moradi M, Atarodi K, Mohammadipour M, Mousavi Hosseini K. 2018. Gene cloning and expression of soluble thrombopoietin functional domain by harnessing Rosetta-gami expression system. Tehran Univ Med J. 76 (6): 388-395.

Paniego N, Muñoz M, Echaide M, Fernandez L, Faccio P, Zandomeni R, Suarez E, Hopp E. 1999. Microsatellite development for sunflower. International Plant & Animal Genome VII Conference: Abstracts, 464:17-21.

Persak H, Pitzschke A. 2014. Dominant repression by Arabidopsis Transcription factor MYB44 causes oxidative damage and hypersensitivity to abiotic stress. International Journal of Molecular Sciences. 15: 2517-2537. doi:10.3390/ijms15022517.

Seo J, Sohn H, Noh K, Jung CAJ, Donovan C, Somers D, Kim D, Jeong S-C, Kim C-G, et al. 2012. Expression of the Arabidopsis AtMYB44 gene confers drought/salt-stress tolerance in transgenic soybean. Mol Breed. 29: 601-608.

Shamloo Dasht Pagardi R, Ebrahimi I, Razi H, Alemzadeh A, Niyazi A. 2015. Molecular identification and evaluation of genes related to drought and salinity tolerance in rapeseed (*Brassica Napus*), Thesis of the Ministry of Science, Research and Technology. Shiraz University. Faculty of Agriculture.

Sharghi L, Mahmoudi F, Ahmadabadi M. 2015. Improving salt tolerance in Arabidopsis thaliana via overexpression of a calcium sensor gene. Cellular and Molecular Research (Iranian Journal of Biology). 28 (4): 551-559.

Shoushi Dezfuli AA, Kalantar Ahmadi A. 2018. Gene expression patterns of some transcription factors (MYB and WRKY) under salt stress in the seedling stage of alfalfa using qPCR. Crop Biotechnology. 8(23): 27-41.

Vaidyanathan H, Sivakumar P, Chakrabarty R, Thomas G. 2003. Scavenging of reactive oxygen species in NaCl-stressed rice (*Oryza sativa* L.) differential response in salt-tolerant and sensitive varieties. Plant Science. 165: 1411-1418.

Zhao QY, Wang Y, Kong YM, Luo D, Li X, Hao P. 2011. Optimizing de novo transcriptome assembly from short-read RNA-Seq data: a comparative study. BMC Bioinformatics. 12: S2.

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-18]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1401.11.1.1.8]