مهندسی ژنتیک و ایمنی زیستی
دوره سوم، شماره ۱، بهار و تابستان ۱۳۹۳
صفحه ۴۰-۳۱

تجزیه بیوانفورماتیکی ESTهای جداسازی شده از گیاه *Aeluropus littoralis* تحت تنش شوری

Bioinformatical analysis of Isolated ESTs from *Aeluropus littoralis* under salinity stress

امین ابراهیمی[۱]، رضا معالی‌امیری[۱*]، قربانعلی نعمت‌زاده[۲] و هوشنگ علیزاده[۱]
Amin Ebrahimi[1], Reza Maali-Amiri[1], Ghorban Ali Nematzadeh[2] and Hoshang Alizadeh[1]

۱- به ترتیب دانشجوی دکتری، دانشیار و استادیار پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران
۲- استاد، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری کشاورزی طبرستان، ساری

1- PhD Student, Associate Professor and Assistant Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, University College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran.
2- Professor, Sari University of Agriculture science and Natural Resources, Genetics and Agricultural Biotechnology Institute of Tabarestan (GABIT), Sari, Iran.

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: rmamiri@ut.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۹۳/٤/۲۳ - تاریخ پذیرش: ۹۳/۹/۱۵)

چکیده

کاربرد بیوتکنولوژی در اصلاح گیاهان زراعی نیاز به منابع ژنتیکی برای تحمل به شوری و پایداری عملکرد دارد. گیاه آلوروپوس لیتورالیس (*Aeluropus littoralis*) مدل مناسبی برای پژوهش‌های ژنتیکی و درک ملکولی ساز و کارهای تحمل به شوری در تک لپه‌ای‌ها است. به خصوص این‌که درصد بالای همولوژی با ژن‌های برنج دارد. در این بررسی ۱۵۰ EST که تحت تنش شوری از گیاه آلوروپوس لیتورالیس جداسازی شده بود را از بانک‌های اطلاعاتی دریافت و بعد از حذف توالی‌های تکراری، عملکرد احتمالی و شباهت آن‌ها با داده‌های موجود در بانک داده‌ها بررسی شد. نتایج نشان داد که ۷۱ EST با توالی‌های پروتئینی موجود در بانک داده‌ها شباهت داشت و عملکرد آن‌ها نیز مشخص شد درحالی‌که ١٤ EST با داده‌های موجود در بانک داده‌ها شباهت داشت اما عملکرد آن‌ها در بانک داده‌ها مشخص نبود و همچنین ۷ EST نیز با هیچکدام از پروتئین‌های موجود در بانک داده‌ها شباهت نداشته و عملکرد آن‌ها ناشناخته باقی ماند. نتایج هم‌ردیفی ESTهای بررسی شده از نظر عملکردی نشان داد که ESTهای ایزوله شده، در ۱۹ گروه مختلف قرارگرفتند. ١٦ EST در انتقال مواد (از گروه ژن‌های ترانسپورتر) در گیاه فعالیت داشته، ۱۳ ESTها در گروه پروتئین‌های ریبوزومی بوده که در ساختار ریبوزوم و عمل ترجمه دخالت دارند. سایر ESTها نیز در فعالیت‌هایی از قبیل تنظیم فعالیت کانال‌های سلولی، ویرایش آر.ان.اِ و تقسیم سلولی دخیل هستند. در مجموع نتایج پژوهش نشان داد که با توجه به درصد بالای همولوژی آلوروپوس لیتورالیس با ژن‌های برنج در مقایسه با سایر گیاهان، مهندسی ژنتیک در این گیاه می‌تواند به تعیین تفاوت تحمل به شوری بین گیاهان گلایکوفیت و هالوفیت کمک کند.

واژه‌های کلیدی

آلوروپوس‌لیتورالیس
بانک داده‌ها
بیوانفورماتیک
تنش شوری
EST

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1393.3.1.4.5]

مقدمه

تنش‌های محیطی علت اصلی کاهش محصول‌های زراعی در جهان بوده تا جایی‌که میزان عملکرد را تا بیش از ۵۰ درصد کاهش می‌دهند. تنش شوری از چالش‌های اساسی در کشاورزی محسوب شده و گیاه را از رسیدن به پتانسیل ژنتیک تولید، باز داشته و بهره‌وری زراعی را محدود می‌سازد (Chinnusamy *et al*., 2004; Mahajan and Tejaei, 2005). پیش‌بینی می‌شود که افزایش شوری در زمین‌های زیر کشت در جهان، سبب از بین رفتن ۲۰ درصد از این نواحی تا ۲۵ سال آینده و تا ۳۰ درصد تا میانه قرن ۲۱ شود (Wang *et al*., 2003).

به منظور سازگاری (Acclimation) و پاسخ‌های دفاعی، گیاهان (به‌عنوان موجودات غیرمتحرک) نمی‌توانند موقعیت مکانی خود را مانند دیگر موجودات زنده تغییر دهند اما فرآیند تکامل در آن‌ها ساز و کارهایی تعبیه کرده که به آن‌ها در حفظ و پایداری عملکرد کمک می‌کند (Rahaei *et al*., 2009). از این جمله می‌توان به ساز و کارهای مقاومت (Resistance) ، تحمل (Tolerance) و اجتناب (Avoidance) اشاره کرد که سبب تغییرهای مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و تغییر در وضعیت تظاهر ژن شده که به طور بالقوه می‌توانند توارثی نیز هستند. یعنی محیط به طور دایم در حال تغییر بوده و گیاهان نیز خود را با این تغییرات تنظیم می‌کنند. بنابراین امروزه سازگاری گیاهان به عوامل محیطی مانند شوری تمرکز مهم پژوهش‌های زیستی بوده زیرا تحت شرایط حاد، ساز و کارهای دخیل در سازگاری و ادامه حیات گیاه اطلاعات مهمی عرضه می‌کند. جالب این که ساز و کارهای توارثی پاسخ به تنش در یک گیاه ممکن است با ساز و کارهای گیاه دیگر متفاوت باشد (Abarsaji, 1998; Rahaei *et a*., 2009).

پژوهشگران اصلاح نباتات در بهره‌برداری از خاک‌های زراعی شور، سعی در معرفی گیاهان شورزی یا هالوفیت (Halophyte) به‌عنوان جایگزین گیاهان زراعی (استفاده از گیاهان بومی مناطق شور) دارند، زیرا ایجاد نوعی رابطه هم‌زیستی با شرایط خاص اکوسیستم‌های مناطق شور ضروری بوده و با کمترین دخالت در محیط می‌توان به حداکثر استفاده از این مناطق دست یافت (Ren et *al*., 1992; Hasegawa *et al*., 2000).

تلاش‌های گسترده‌ای در دهه‌های گذشته در رابطه با اصلاح ژنوتیپ‌های بومی متحمل به شوری، ژنوتیپ‌های علوفه‌ای و زراعی به‌عمل آمده است (Noe and Zedler, 2000) و در راستای چنین اهدفی، انتخاب گونه‌های مناسب که بتواند عوامل تنش‌زای اقلیمی و خاکی مناطق مختلف را به خوبی تحمل کرده و علاوه بر ایجاد پوشش سبز مناسب در حاشیه کویرها و مناطق مختلف، علوفه کافی جهت تعلیف احشام را فراهم کند و از همه مهمتر جهت حفظ آب و خاک مناطق حساس به فرسایش مؤثر واقع شوند، بسیار دارای اهمیت بوده است (Mahmoudi *et al*., 1983). آلوروپوس (*Aeluropus littoralis*) گیاهی هالوفیت با فرمول کروموزومی ۲n=۱٤ است. مقدار دی.ان.اِ هسته‌ای این گیاه در حدود ۰/۷ پیکوگرم که به طور تقریبی معادل ۳٤۲Mb در ژنوم هاپلوئید است. سیستم فتوسنتز در این گیاه از نوع C4 بوده و در نتیجه سبب انعطاف‌پذیری بیشتر آن در مواجه با تنش‌های خشکی و شوری می‌شود. این گیاه دارای خصوصیات فیزیولوژیکی و مولکولی برجسته‌ای بوده که از نظر کاربرد در مرتع‌داری و کشاورزی بسیار مهم است (Zouari *et al*., 2007). گیاه آلوروپوس از گونه‌های شورزی بومی ایران، می‌تواند در خاک‌های شور با هدایت الکتریکی ۱۷/۵ تا ٦۲ میلی‌موس بر سانتی‌متر (دسی‌زیمنس بر متر) رشد کند. این گیاه نمک خاک را جذب کرده و به سمت بالا انتقال داده و سرانجام از طریق برگ‌ها، که دارای تارهای نمکی هستند، به بیرون از گیاه هدایت می‌کند (Abarsaji, 1998).

اصلاح گیاهان زراعی، نیازمند منابع ژنتیکی برای تحمل به شوری و پایداری عملکرد بوده، بنابراین شناسایی عوامل مؤثر در تحمل به شوری و عوامل تنظیم کننده آن‌ها در سطح مولکولی بسیار دارای اهمیت است. به همین دلیل گیاهانی نظیر آلوروپوس می‌توانند مدل‌های طبیعی الهام‌بخش به‌نژادی مولکولی در سایر گیاهان استراتژیک باشند (Nassiri *et al*., 2011). از mRNAهای بیان شده (ESTها) در بافت‌های مختلف و در شرایط گوناگون، می‌توان اقدام به تشکیل کتابخانه‌های cDNA کرد و به بررسی ژن‌های دخیل در تحمل به شوری پرداخت به طوری‌که امروزه ESTها به‌عنوان منبع مهم در شناسایی ژن‌های جدید استفاده می‌شود، اما با این وجود ژن‌هایی وجود دارند که در بافت‌های خاص یا مرحله خاصی از رشد گیاه بیان نشده و ممکن است در

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1393.3.1.4.5]

کتابخانه cDNA نیز یافت نشوند (Rahaei *et al*., 2009; Naghavi *et al*., 2011). امروزه از پایگاه‌های داده EST (Expression sequence tag) به‌عنوان منابع غنی، برای شناسایی ژن‌ها و مقایسه توالی در بین گونه ها استفاده می‌شود و از آن‌ها به‌عنوان نشانگرهایی در تهیه نقشه های ژنتیکی، فیزیکی و نیز بررسی بیان ژن‌ها نیز استفاده می‌شود. از داده های مربوط به توالی ESTها می‌توان برای همسانه‌سازی سریع ژن هدف به‌وسیله RT-PCR (Reverse-transcription PCR) و تشکیل کتابخانه cDNA استفاده کرد (Jin, 2006) یا به کمک پایگاه‌های داده و نرم‌افزارها به ژن‌های خاص دست یافت (Naghavi *et al*., 2011). هدف از این پژوهش، تجزیه و تحلیل ESTهای جدا شده از گیاه *A. littoralis* ایزوله شده تحت تنش شوری با استفاده از پایگاه‌های داده، شناسایی عملکرد احتمالی و بررسی میزان شباهت آن‌ها با داده‌های موجود در بانک‌های داده بود.

مواد و روش‌ها

در این آزمایش از ۱۵۰ EST گیاه آلوروپوس *A. littoralis* موجود در بانک‌های اطلاعاتی استفاده شد که تحت تنش شوری و به‌وسیله روش cDNA-AFLP در پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری طبرستان جداسازی شده بود. برای جلوگیری از تکراری بودن آن‌ها، این ESTها طی دو مرحله غربال شدند. در مرحله اول برای حذف توالی‌هایی با طول کمتر از ۲۰۰ جفت باز به‌صورت دستی اقدام شد و در مرحله دوم به منظور حذف ESTهای مشابه یا دارای نواحی همپوشان از برنامه CAP3 (Huang & Madan., 1999) استفاده شد، به‌طوری‌که در مجموع فقط ۹۲ EST برای تجزیه و تحلیل انتخاب شدند (جدول ۱). سپس توالی‌های انتخاب شده در پایگاه داده‌های NCBI با استفاده از برنامه‌های BlastX و BlasN (http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi) بررسی شدند.

همچنین به کمک نرم‌افزار ORF Finder NCBI، چارچوب قرائت بازها (Open reading frame (ORF)) در تعدای از توالی‌ها (بلندترین ESTها) مشخص شده و در بین آن‌ها بلندترین ORFها (bp) (به منظور ترجمه) انتخاب شدند. ORFهایی با طول کوتاه‌تر که نمی‌توان آن‌ها را به‌عنوان‌یک پروتئین فعال ترجمه کرد حذف شدند. سپس آن دسته از توالی‌های پروتئینی در برنامه BLASTX که با ESTهای مورد نظر ما (بلندترین ESTها) شباهت بالا و معنی‌داری داشتند (EValue>۱۰ -۱۰) انتخاب شدند و این توالی‌ها با استفاده از نرم‌افزار Clustal W (www.ebi.ac.uk/Tools/clustalw2/index.html) با یکدیگر هم‌ردیف و توالی‌های هم‌ردیف شده با کمک برنامه MEGA5 براساس الگوریتم NJ خوشه‌بندی و درخت تکاملی آن‌ها ترسیم شد.

نتایج و بحث

نتایج هم‌ردیفی نشان داد که ۷۱ EST (۷۷ درصد) ایزوله شده از گیاه آلوروپوس با پروتئین‌های موجود در بانک داده‌ها شباهت داشته و عملکرد آن‌ها نیز مشخص شد با این وجود ۱۴ EST (۱۵ درصد) با داده‌های موجود در بانک داده‌ها شباهت داشته اما عملکرد آن‌ها در بانک داده‌ها مشخص نشده بود. همچنین ۷ EST (هشت درصد) نیز با هیچکدام از ESTهای موجود در بانک داده‌ها شباهت نداشته و عملکرد آن‌ها هم ناشناخته باقی ماند (شکل ۱).

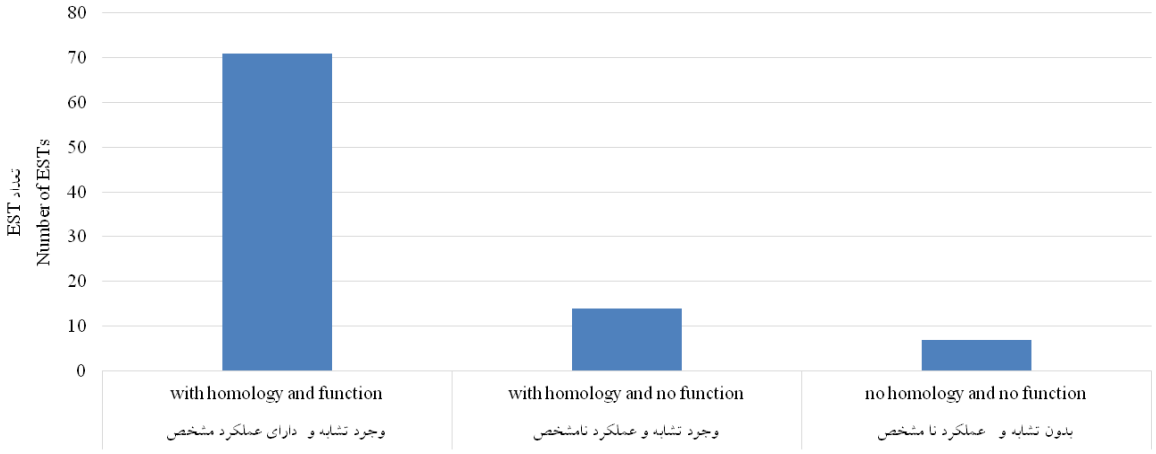
(Zouari *et al*; 2007) با جداسازی و توالی‌یابی ESTهای گیاه آلوروپوس تحت تنش شوری گزارش کردند که ۶۸ درصد از ESTهای مورد بررسی با پروتئین‌های موجود در بانک داده‌ها همانندی داشته و دارای کارکرد مشخصی بودند درحالی‌که دیگر ESTها عدم همانندی یا عملکرد ناشناخته‌ای داشتند. گروه‌بندی ESTها نشان داد که بیشترین همانندی آن‌ها با ESTهای گیاه برنج موجود در بانک داده‌ها بوده (۲۶ EST یا ۲۹ درصد) درحالی‌که کمترین میزان همانندی با *Aegilops tauschhi* مشاهده شد (تنها با یکEST یا یک درصد). درصد بالای ESTهای برابر با توالی‌های برنج (نسبت به سایر گیاهان) می‌تواند علاوه بر نزدیکی ژنوم گیاه برنج در اثر وجود تعداد زیاد ESTهای برنج در پایگاه داده‌ها نیز باشد (Wang, 2007). علاوه بر این ۷۰ درصد از ESTهای بررسی شده با ESTهای گیاهان تک لپه‌ای شباهت نشان داد.

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1393.3.1.4.5]

جدول ۱- شماره دسترسی ESTهای ثبت شده در بانک اطلاعاتی NCBI و طول آن‌ها (bp)

Table 1- Accession number of registered ESTs in NCBI database and their length (bp).

طول Length	شماره دسترسی Accession number	طول Length	شماره دسترسی Accession number	طول Length	شماره دسترسی Accession number	طول Length	شماره دسترسی Accession number
458	JZ19105.1	512	JK671259.1	230	JK671254.1	261	JK671242.1
403	JZ191060.1	284	JZ191048.1	360	JK671261.1	312	JZ191047.1
500	JZ191072.1	200	JK671234.1	292	JK671262.1	211	JK671209.1
265	JZ191069.1	663	JK671260.1	214	JK671201.1	213	JK671255.1
292	JZ191076.1	353	JZ191077.1	244	JK671195.1	213	JK671266.1
353	JZ191080.1	212	JZ191088.1	240	JK671190.1	391	JK671253.1
384	JZ191086.1	237	JZ191090.1	225	JK671216.1	349	JK671176.1
255	JK671244.1	260	JZ191082.1	354	JK671212.1	200	JK671258.1
350	JZ191043.1	302	JK671192.1	204	JK671218.1	260	JZ191052.1
352	JZ191074.1	236	JZ191093.1	309	JZ191045.1	207	JZ191089.1
200	JK671200.1	352	JK671251.1	261	JZ191050.1	208	JK671187.1
200	JK671182.1	706	JK671248.1	269	JZ191053.1	247	JK671236.1
576	JK671250.1	277	JZ191085.1	235	JZ191081.1	230	JK671267.1
331	JK671246.1	612	JK671263.1	353	JZ191087.1	266	JK671232.1
432	JK671264.1	322	JZ191044.1	392	JZ191067.1	232	JK671257.1
363	JK671249.1	259	JZ191056.1	361	JZ191064.1	201	JK671211.1
344	JK671222.1	323	JZ191075.1	260	JZ191051.1	203	JK671215.1
239	JK671226.1	435	JZ191061.1	247	JZ191055.1	496	JK671231.1
510	JK671238.1	391	JZ191062.1	386	JZ191068.1	365	JZ191042.1
512	JK671245.1	363	JZ191063.1	289	JK671223.1	306	JZ191046.1
344	JK671256.1	307	JZ191079.1	523	JZ191071.1	566	JZ191047.1
306	JK671217.1	307	JZ191078.1	607	JZ191070.1	357	JZ191065.1
663	JK671260.1	649	JK671233.1	225	JK671216.1	350	JZ191066.1



شکل ۱- گروه‌بندی ESTهای ایزوله شده از گیاه آلوروپوس براساس وجود یا عدم وجود تشابه و عملکرد آن‌ها در مقایسه پروتئین‌های موجود در بانک داده‌ها.

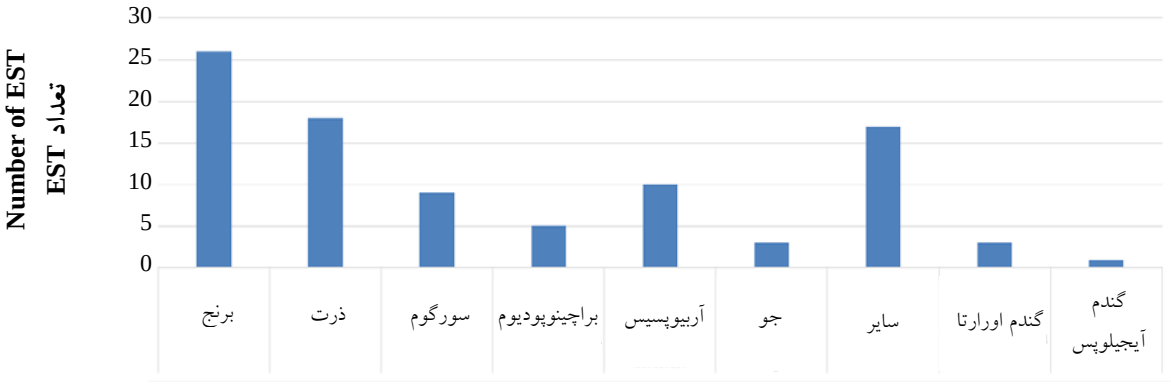
Figure 1- Characterized ESTs isolated from *Aeluropus* based on existence or absence of similarity and function compared to proteins in data bank.

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1393.3.1.4.5]

پـژوهش‌هـای گذشـته نیـز شـباهت ESTهـای گیـاه آلوروپـوس (بیشترین میزان شباهت در بین سایر موجودات) را با پروتئین‌های برنج گزارش کرده بودند (Zouari *et al.*, 2007). چنین نتایجی در گیاهان دیگر نیز به اثبات رسیده به‌طوری‌که (Wang *et al.*, 2007) نشان دادند که ESTهای گیاه *Puccinellia tnuiflora* (گیاهی تـک لپه از خانواده گرامینه) با توالی‌هـای پروتئینـی در تـک لپـه‌ای‌هـا به‌ویژه گیاه برنج شباهت دارد.

نتایج عملکرد هم‌ردیفـی ESTهـای بررسـی شـده نشـان داد کـه ESTهای ایزوله شده، در ۱۹ گروه مختلف قـرار گرفتنـد (شـکل دو) در حالی‌که ۲۱ EST (۲۲ درصد) نیز فاقد عملکـرد مشـخص بودند. اگرچه نتایج اولیـه نشـان داد کـه چنـین تـوالی‌هـای ژنـی می‌توانند در تحمل به تنش‌های شوری و خشکی گیاه نقش داشته باشند، اما نیاز به تجزیه و تحلیل دقیق‌تری بود. نتایج نشان داد که ۱۶ EST (۱۷ درصد) در انتقال مواد (به‌عنوان ژن ترانسـپورتر) در گیـاه فعالیـت داشـته درحـالی‌کـه ۱۳ درصـد ESTهـا در دسـته پروتئین‌های ریبـوزومی و در سـاختار ریبـوزوم و عمـل ترجمـه دخالت دارند. سایر ESTها نیـز در فعالیـت‌هـایی از قبیـل تنظـیم فعالیـت کانـال‌هـای سـلولی (JZ191087.1)، ویـرایش آر.ان.اِ (JZ191093.1) و تقسیم سلولی دخیل بودند (شکل سه).



شکل ۲- مقایسه تطبیقی ESTهای مورد بررسی با پروتئین‌های موجود در بانک داده‌ها با استفاده از قواعد هم‌ردیفی.

Figure 2- Comparison of investigated ESTs with proteins in database using blast rules of alignment.

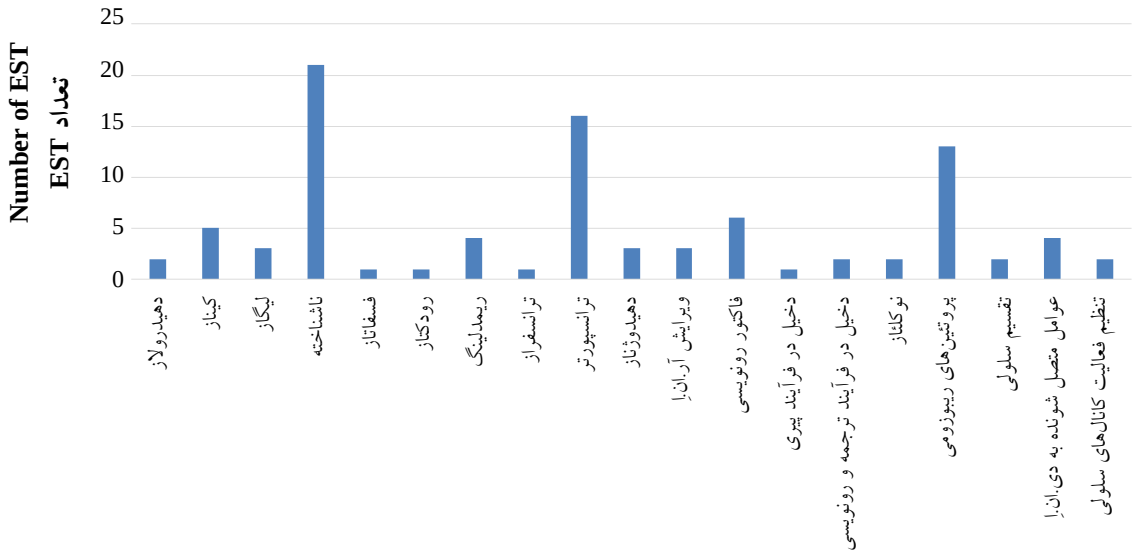
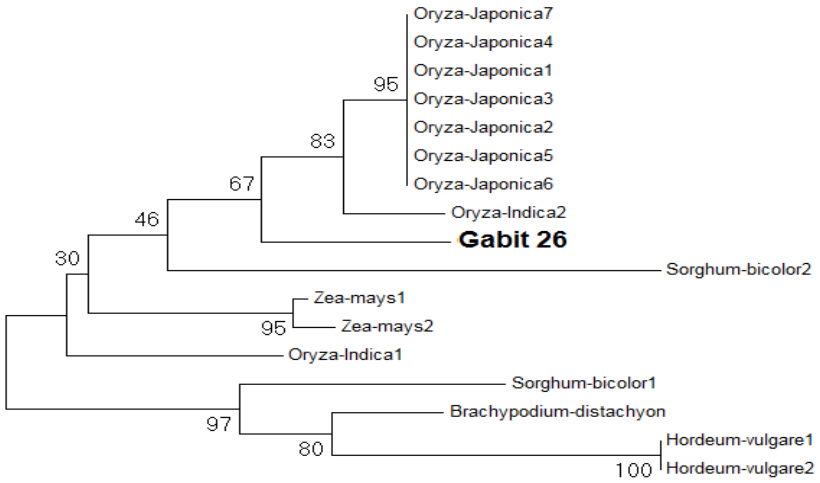


Figure 3- Putative function of investigated ESTs after blast with proteins in data bank.

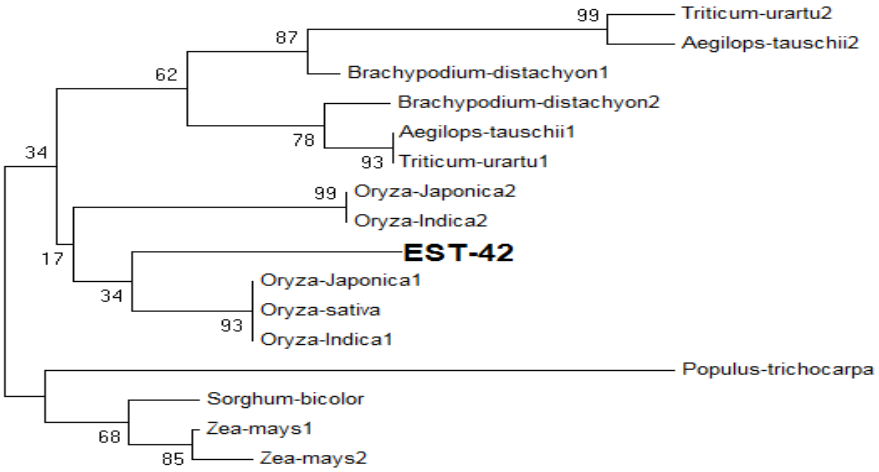
شکل ۳- کارکرد پیشنهادی ESTهای مورد بررسی بعد از انجام آزمون هم‌ردیفی با پروتئین‌های موجود در بانک داده‌ها

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1393.3.1.4.5]



شکل ٤- نمایش درخت فیلوژنتیکی پروتئین‌های موجود در پایگاه داده‌ها (نتایج حاصل از BlastX) به همراه (JZ191067.1) GABIT26 با استفاده از برنامه Clustal W، MEGA 5 و الگوریتم NJ.

Figure 4- Phylogenetic tree of proteins in database (BlastX results) with GABIT26 (JZ191067.1) using Clustal W, MEGA 5 and Algorithm NJ.



شکل ٥- نمایش درخت فیلوژنتیکی پروتئین‌های موجود در پایگاه داده‌ها (نتایج حاصل از BlastX) به همراه EST42 (JK671250.1) با استفاده از برنامه Clustal W، MEGA 5 و الگوریتم NJ.

Figure 5- Phylogenetic tree of proteins in database (BlastX results) with EST42 (JK671250.1) using Clustal W, MEGA 5 and Algorithm NJ.

در گزارش (Zouari *et al;* 2007) مشخص شده که برخی از ESTها در سوخت و ساز اولیه، سنتز پروتئین، رونویسی، سرنوشت پروتئین، تسهیل انتقال، جایابی زیرسلولی، ارتباطات سلول بر ساز و کار پیام رسانی، انتقال انرژی، محافظت سلول و پروتئین‌های نیازمند کوفاکتور نقش داشتند. نتایج مقایسه تطبیقی و هم‌ردیفی تعدادی از ESTهای بررسی شده در این پژوهش نشان می‌دهد که برخی از ترانسکریپت‌ها، کد کننده پروتئین‌هایی با نقش احتمالی پیام‌رسانی مثل فسفاتازها (JK671236.1)، پروتئین کینازها (JK671176.1 و JK671258.1)، پروتئین‌های متصل شونده به GTP (JK671226.1) شناسایی شدند. مولکول‌های پیام‌رسان ذکر شده به طور معمول با عوامل رونویسی هسته بر هم کنش داشته و سبب بیان دسته خاصی از ژن‌ها می‌شوند به همین دلیل درک پیام تنش و تبدیل آن‌ها به پاسخ‌های مناسب برای سازگاری و بقا گیاهان حیاتی خواهد بود. کینازها نقش بسیار قابل

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1393.3.1.4.5]

توجهی در دریافت پیام گیاه در مواجه با انواع تنش‌های زنده و غیرزنده دارند (Vinocur & Altman, 2005). پروتئین کینازها و فسفاتازها اصلی‌ترین نقش‌های تنظیم فسفر در محیط‌های طبیعی و تغییرهای لازم در شرایط نامطلوب را برای سلول برعهده دارند. تجزیه توالی ESTها با نگاه تکاملی نشان می‌دهد که کلاس‌های مختلف فسفاتازها در گیاهان وجود دارند (Chinnusamy *et al.*, 2005; Brock *et al.*, 2010).

حفاظت فعال پلی‌ریبوزوم‌ها در طول پس آبش (Dessication) از شاخص‌های سطوح تحمل در گیاه است. به نظر می‌رسد که آن‌ها در بازسازی دستگاه سنتز پروتئین‌ها تحت تنش نقش دارند. در مجموع مشخص شد که ۱۳ درصد از ESTها (از جمله JZ191056.1 و JZ191087.1) در دسته پروتئین‌های ریبوزومی بودند (Wood *et al.*, 2000).

یکی از راهبرهای مهم در تحمل به تنش‌های محیطی، برگشت مجدد هموستازی یونی و اسمزی در شرایط تنش است (Wang, 2003). ژن‌های بسیاری از ناقل‌های یونی همانند ناقل‌های پتاسیم HAK2 (JK671222.1)، ناقلین ABC (JK671238.1) در نمونه‌های بررسی شده دیده شدند.

آلوروپوس به‌عنوان یک گیاه شورزی در مواجه با تنش شوری قادر است با حفظ نسبت مطلوب Na^+/K^+ در سیتوپلاسم، ماشین متابولیکی سلول را تا حد ممکن از اثرهای سو یون‌های سدیم و کلر محافظت کند. جلوگیری از ورود یون و کده‌بندی کردن یون در واکوئل، توانایی انباشت عناصر ضروری به‌ویژه پتاسیم در حضور غلظت‌های بالای یون سدیم و تنظیم دقیق میزان تعرق، تنفس، فتوسنتز ساز و کارهایی هستند که در مدیریت نسبت مطلوب Na^+/K^+ در سیتوپلاسم سلول‌های این گیاه اثرگذار هستند (Ueda *et al.*, 2002).

در این میان کده‌بندی و انباشت یون سدیم در واکوئل از اهمیت خاصی برخوردار بوده و به‌واسطه فعالیت مجموعه‌ای از کانال‌های یونی و ترانسپورترها انجام می‌شود (Munns & Tester, 2008).

در تنش شوری، گیاه هموستازی اسمزی خود را با تجمع اسمولیت‌هایی مانند قندها، قند الکل‌ها و قندهای پیچیده مانند تری‌هالوز-٦- فسفات سینتاز، ساکارز سینتاز، دلتا پیرولین-٥-کربوکسیلاز سینتاز و پروتئین‌های غشای پلاسمایی MIP (از جمله ESTهای این پژوهش JZ191077.1) برقرار می‌کند. بیان ساکارز سینتاز در تنش‌های خشکی در گندم افزایش می‌یابد. این ژن نقش تعیین کننده در پر شدن دانه نیز دارد (Way, 2005). براساس نتایج آزمایشگاهی، انتشار ساکارز به ساقه سبب بهبود دانه‌بندی ذرت تحت تنش خشکی می‌شود.

بنابراین کمبود منبع قند عامل بسیار مهمی است که دانه‌بندی و از بین رفتن تخمدان را در تحت تنش کنترل می‌کند. کمبود آسمیلات‌ها و در برخی از موارد دسترسی به نیتروژن اصلی‌ترین دلیل کم شدن نمو دانه است.

اگر سرعت پر شدن دانه تنظیم نشود، در نهایت وزن دانه کاهش می‌یابد. منبع جایگزین آسمیلات‌ها، ذخایر ساقه پس از گرده‌افشانی هستند که به شکل قند، نشاسته و فروکتان به‌صورت یک بافر در شرایطی که سنتز قندهای فتوسنتزی به دلیل تنش خشکی و القا پیری کاهش یافته شرکت می‌کنند.

این گیاه قادر است میزان زیادی بذر تحت تنش شوری و خشکی تولید کند بنابراین به نظر می‌رسد مدل مهمی در کشف و بررسی ژن‌های مؤثر در پر شدن دانه تحت شرایط شوری و خشکی باشد (Sreenivasulu *et al.*, 2007).

دسته‌های مختلف چاپرون (Chaperones)، پروتئاز (Protease)، جلوگیری کننده‌های پروتئاز موجود در کتابخانه‌های تنش آبی و شوری، نشان دهنده تنظیم تخریب و تاخوردگی پروتئین‌هایی است که در تنظیم پاسخ گیاه به تنش نقش دارند (Sahi *et al.*, 2006). از جمله این دسته‌ها که در ESTهای این پژوهش نیز دیده شده، می‌توان به آنزیم‌های Ubiquitin-conjugation (JK671253.1)، HSP70 (JK671211.1) و WD40 (JK671231.1) اشاره کرد.

عملکرد تعدادی از ESTها به علت عدم همانندی با پروتئین‌های موجود در بانک‌های اطلاعاتی (یا عدم همانندی معنی‌دار) ناشناخته باقی ماند.

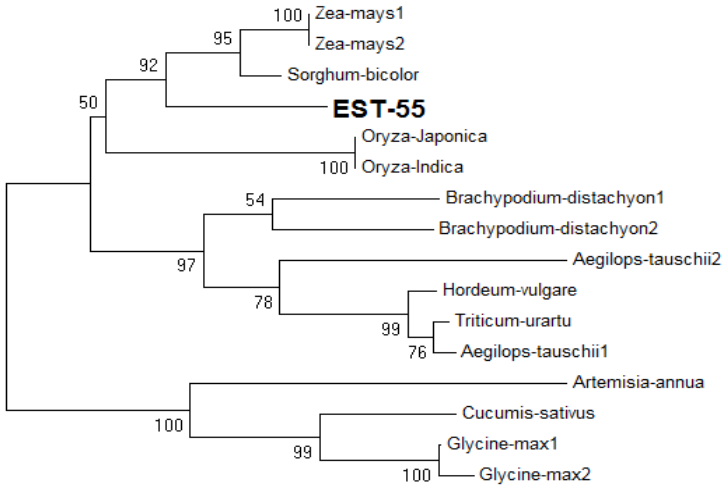
شناسایی نقش این دسته از ESTها در ایجاد تحمل به شوری در آلوروپوس نیاز به پژوهش های بیشتری دارد. در حقیقت این دسته از ESTها ممکن است در برگیرنده منابع جدید ژنتیکی تحمل به تنش شوری باشند (Zouari *et al.*, 2007).

نتایج حاصل از رسم درخت فیلوژنتیکی نشان داد که در اغلب

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1393.3.1.4.5]

موارد ESTهای مورد بررسی با گیاه برنج و در مواردی (به نسبت کمتر) نیز با گیاه ذرت در یک گروه قرار گرفتند. چنین نتایجی می‌تواند تأییدی بر نتایج قبلی مبنی بر همانندی بالای ژنوم برنج و گیاه آلوروپوس باشد (شکل‌های ٤-٦).

در واقع توالی‌هایی با طول بیشتر، می‌توانند به طور بالقوه به‌عنوان ژن‌های منتخب در جداسازی کامل و انتقال به سایر گیاهان به‌کار گرفته شوند (Rahaei *et al.*, 2009; Naghavi *et al.*, 2011).



شکل ٦- نمایش درخت فیلوژنتیکی پروتئین‌های موجود در پایگاه داده‌ها (نتایج حاصل از BlastX) به همراه EST55 (JK671263.1) با استفاده از برنامه Clustal W، MEGA 5 و الگوریتم NJ.

Figure 6- Phylogenetic tree of proteins in database (BlastX results) with EST55 (JK671263.1) using Clustal W, MEGA 5 and Algorithm NJ.

در مجموع، ESTهای مورد بررسی در این پژوهش دارای همانندی‌هایی با ترانسکریپت‌های شناخته شده مرتبط با تحمل به تنش‌های شوری، خشکی، دما (با شماره دسترسی JK671211) و تنش‌های زیستی (با شماره دسترسی JZ191075 در این مقاله بحث نشد) بوده و از سویی دیگر بیان ژن‌های دریافت پیام تنش منجر به پاسخ‌های سازگاری کل گیاه از نظر ملکولی، بیوشیمیایی، سلولی فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی می‌شود. عملکرد و پایداری گیاهان همیشه به‌واسطه تنش‌های مختلف محیطی در معرض تهدید است و به همین علت پژوهش‌های زیادی در ارتباط با بررسی پاسخ گیاهان از نقطه نظر ژنتیک و فیزیولوژیکی جهت شناسایی ساز و کارهای تحمل به تنش انجام شده است. اما این مهم، هنوز نیازمند فهم عمیق‌تر از ساز و کارهای سلولی و مولکولی پاسخ به تنش و تحمل آن در گیاه است (Rahaei *et al.*, 2009; Mohsenzdeh *et al.*, 2006).

داده‌های خام EST حاوی اطلاعات زیستی ناچیزی هستند. تجزیه و تحلیل این داده‌ها با استفاده از ابزارهای محاسباتی ویژه سبب رفع این کاستی شده به طوری‌که نتایج حاصل از بررسی صحیح این توالی‌ها می‌تواند در نهایت منجر به شناسایی ترانسکریپتوم موجود مورد بررسی شود (Nagaraj et al., 2006).

تجزیه و تحلیل EST در شناسایی ژن، تشخیص ساختار و تفسیر ژنوم و شناسایی چند شکلی‌های تک نوکلئوتیدی مؤثر است. همچنین این‌گونه تجزیه‌ها در بررسی ترانسکریپتوم و پروتئوم مفید هستند، هر چند که کشف ژن‌های فعال براساس توالی‌های EST نیازمند پژوهش‌های متعددی است (Lee et al., 2005).

اولین مرحله برای شناخت و گروه‌بندی پاسخ‌های پیچیده ژنتیک تنش در گیاهان، کشف سریع ژن‌ها با استفاده از توالی‌یابی ناقص کلون‌های cDNA غربال شده یا همان ESTها در سطح وسیع است. شناسایی ژن‌های دخیل در تحمل تنش با هدف استفاده از آن‌ها در تولید ارقام متحمل به تنش، نیازمند ژنوتیپ‌هایی است که پایه ژنتیک مشابهی داشته اما از تحمل مختلفی برخوردار هستند. توسعه چنین لاین‌های تقریباً ایزوژنی نیازمند چندین سال تلاقی برگشتی همراه با انتخاب است. راه جایگزین برای رسیدن به این

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1393.3.1.4.5]

هدف، شناسایی ژن‌هایی است که در ژنوتیپ‌های متحمل به تنش (ژنوتیپ‌های متحمل با زمینه‌های متفاوت ژنتیک) و تحت شرایط تنش بیان می‌شوند اما در ژنوتیپ‌های حساس به تنش تظاهر نمی‌یابند (Rahaei et al., 2009).

گیاه آلوروپوس به‌عنوان مدلی مناسب برای بررسی‌ها در مقیاس وسیع با استفاده از ابزارهای نوین ملکولی به منظور فهم بهتر سازوکارهای تحمل به تنش شوری و خشکی در تک لپه‌ای‌ها است. با توجه به‌این‌که درصد بالای همولوژی با ژن‌های برنج دارد، مهندسی ژنتیک در این گیاه می‌تواند به تعیین تفاوت تحمل به شوری بین گیاهان گلایکوفیت (***Glycophyte***) و هالوفیت کمک کند (Zouari et al., 2007).

منابع

Abarsaji Gh .1998. Identify and evaluate some of the ecophysiological characteristics of saline and alkaline Aeluropus pastures north of Gorgan. Research and development journal 21:25-46. (In Farsi with English abstract).

Brock AK, Willmann R, Kolb D, Grefen L, Lajunen HM. 2010. The Arabidopsis mitogen-activated protein kinase phosphatase PP2C5 affects seed germination, stomatal aperture, and abscisic acid-inducible gene expression. Plant Physiology 153:1098–1111.

Chen X, Kanokporn T, Zeng Q, Wilkins TA, Wood AJ. 2002. Characterization of the V-H+ ATPase in the resurrection plant Tortola ruralis: accumulation and polysomal. Journal of Experimental Botany 53:367-372.

Chinnusamy V, Jagendorf A, Zhu J.K. 2005. Understanding and improving salt tolerance in plants. Crop Science 45:437–448.

Chinnusamy V, Schumaker K, Zhu Y.K. 2004. Molecular genetics perspectives on cross-talk and specificity in abiotic stress signaling in plant. Journal of Experimental Botany 55: 225-236.

Hasegawa P.M, Bressan R.A, Zhu J.K, Bohnert H.J .2000. Plant cellular and molecular responses to high salinity. Plant Molecular Biology 51: 463–499.

Hong-bo S, Li C, Z Chang-Xing, Xian-an L, Jean-Marcel R. 2006. Plant gene regulatory network system under abiotic stress. Acta Biologica 50:1-9

Huang X, Madan A. 1999. CAP3: a DNA sequence assembly program. Genome Research 9: 868–877.

Jin H. 2006. Comparative EST profiles of leaf and root of Leymus chinensis, a xerophilous grass adapted to high pH sodic soil. Plant Science 170:1081–1086.

Lee Y, Tsai J, Sunkara S, Karamycheva S, Pertea G, Sultana R, Antonescu V, Chan A, Cheung F, Quackenbush J. 2005. The TIGR Gene Indices: clustering and assembling EST and known genes and integration with eukaryotic genomes. Nucleic Acids Research 33:D71-4.

Mahajan S, Tejaei N. 2005. Cold, Salinity and drought Stress: An overview. Archives of Biochem. Biophy. 444: 139-158.

Mahmoudi A, Ei Sheikh, Abdulbaset S. 1983. Germination of two Halophytes: Halopeplis Perfoliata and Limonium axillare from Saudi Arabia Journal of Arid environment. 6: 87-98.

Modarresi M, Nematzadeh G.A, Moradian F, Alavi SM. 2011. Identification and Cloning of the Cu/Zn Superoxide Dismutase Gene from Halophyte Plant Aeluropus littoralis Russian Journal of Genetic 48:118-122.(In Farsi with English abstract).

Mohsenzdeh S, Malbobi M.A, Rzavi K, Farrahi S .2006. Physiological and molecular responses of Aeloropus lagopoides to water deficit.Environmental and Experimental Botany. 56:412.322. (In Farsi with English abstract).

Munns, R, Tester M. 2008. Mechanisms of salinity tolerance. Plant Biology 59: 651-681.

Nagaraj HS, Gasser RB, Ranganathan S. 2006. A hitchhiker's guide to expressed sequence tag (EST) analysis. Briefings in Bioinformatics 8: 6-21.

Naghavi M.R, Malbobi M.A, Rashidi Momfared S . 2011. Bioinformatics. Tehran University (In Farsi with English abstract).

Nassiri N, Shokeri A, Nematzadeh GH.A. 2011. Cloning and characterization of enzyme H +-ATPase C subunit of gene vacuoles halophyte Aeluropus Littoralis. New Cell Biotechnology Molecular 5:15-23.

Noe G.B, Zedler JB. 2000. Differential effects of four abiotic factors on the germination of salt marsh annuals. American Journal Botany. 87: 1679-1692

Rahaei M, Naghavi M.R, Abdmishani S. 2009. Identification and expression pattern of genes involved in drought stress in wheat using RT-PCR methods and electronic Nanobarcode. Tehran University. Iran.

Ren J, Xing Z, Shunguo Y. 1992. The ecological role of Puccinella chinampoensis on saline in arid inland regions of Chin. In: G.P.Chapman(Ed),Desertified Grasalands, Their Biology and Management.Linnean Society Symposium Series, Academic Press, New York. 111-127.

Sahi C.H, Singh A, Blumwaldb E, Grover A. 2006. Beyond Osmolytes and transporters: novel plant salt-stress tolerance-related genes from transcriptional profiling data. Physiologia Plantarum. 127: 1–9.

Sreenivasulu N, Sopory S.K, Kishor PB. 2007. Deciphering the regulatory mechanisms of abiotic stress tolerance in plants by genomic approaches. Gene. 388:

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1393.3.1.4.5]

1–13.

Ueda A, Shi W, Nakamura T, Takabe T. 2002. Analysis of salt-inducible genes in barley roots by differential display. Journal Plant Research 115:119–130.

Vinocur B, Altman A. 2005. Recent advances in engineering plant tolerance to abiotic stress: achievements and limitations. Current Opinion in Biotechnology. 16: 123–132.

Wang W, Vinocur B, Altman A. 2003. Plant response to drought Salinity and extreme Temperatures: towards genetic engineering For Stress tolerance: Planata. 34: 218- 234.

Wang Y.2007. Identification of expressed sequence tags in an alkali grass Puccinellia tenuiflora. cDNA library. Plant Physiology. 164: 78–89.

Way H. 2005. Identification of differentially expressed genes in wheat undergoing gradual water deficit stress using a subtractive hybridization approach. Plant Science 168: 661–670.

Wood A.J, Duff R.J, Olivier M.J. 2000. The translation apparatus of Tortula ruralis: polysomal retention of transcripts encoding the ribosomal proteins RPS14, RPS16 and RPL23 in desiccated and rehydrated gametophytes. Journal of Experimental Botany 51:1655–1662.

Zhu JK. 2003. Regulation of ion homeostasis under salt stress. Current Opinion Plant Biology 6: 441–445.

Zouari N, Rania S, Thierry L, Jalel A, Xavier S, Mohamed J, Khaled M, Afif H. 2007. Identification and sequencing of ESTs from the halophyte grass Aeluropus littoralis.Gene 404: 61-69.

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1393.3.1.4.5]