ژنتیک نوین
دوره نهم، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۳
صفحه ۲۳۸-۲۲۹

اثر شوری بر بیان ژن‌های کلیدی متابولیسم فروکتان در گندم در مرحله گلدهی

Effect of salt stress on expression of key genes in fructan metabolism in wheat at anthesis

ماهرخ شربتخواری[۱]، زهرا سادات شبر[*۲]، راضیه سرابادانی[۳]، صغری علوی[۲]

۱- دانشجوی دکتری، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
۲- به ترتیب استادیار و کارشناس‌ارشد پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران، کرج
۳- دانشجوی دکتری، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران

Sharbatkhari M[1], Shobbar ZS[*2], Sarabadani R[3], Alavi S[2]

1. PhD Student , Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.
2. Assistant Professor, MSc Student, Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran(ABRII), Karaj
3. PhD Student, University of Tehran, Karaj, Iran.

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: shobbar@abrii.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۹۲/۳/۱۲- تاریخ پذیرش: ۹۲/۱۲/۱۱)

چکیده

تجمع فروکتان‌ها که از ذخایر اصلی ساقه گندم هستند در دوره شوری افزایش می‌یابد. انتقال مجدد این ذخایر به دانه می‌تواند در ممانعت از افت شدید عملکرد نقش مهمی ایفا کند. به‌منظور مطالعه اثر شوری بر الگوی بیان ژن‌های کلیدی مسیر متابولیسم فروکتان گندم، بیان ژن‌های ساکارز-ساکارزفروکتوزیل‌ترانسفراز (*1-SST*) و ساکارز-فروکتان فروکتوزیل‌ترانسفراز (*6-SFT*) دخیل در بیوسنتز فروکتان، فروکتوزیل اگزوهیدرولاز (*1-FEH*) و اینورتاز واکوئلی (*IVR*) به‌ترتیب دخیل در تجزیه فروکتان و ساکارز و ژن مربوط به ناقل ساکارز (*SUT1*) در ارقام متحمل بم و حساس قدس بررسی شد. تیمارهای شاهد و شوری از طریق آب آبیاری به‌ترتیب با هدایت الکتریکی ۰/۵ و ۱۲ دسی زیمنس بر متر از مرحله گیاهچه‌ای، به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اعمال و بیان ژن‌های نامبرده در بافت‌های برگ و ساقه در گلدهی به روش Real time PCR و مقدار فروکتان ساقه طی پر شدن دانه در پنج نوبت به فاصله یک هفته اندازه‌گیری شد. طی شوری بیان ژن *1-SST* و *6-SFT* ساقه رقم متحمل بم افزایش معنی‌داری یافت که با افزایش فروکتان همراه بود در صورتی‌که بیان این دو ژن در ساقه رقم حساس قدس کاهش یافت و افت فروکتان ساقه را به‌دنبال داشت. بیان ژن‌های *1-SST*، *1-FEH* و *SUT1* برگ نیز در هر دو رقم طی شوری افزایش معنی‌دار داشت. نتایج این مطالعه نشان داد که بارزترین تفاوت ارقام بم و قدس از نظر تاثیر شوری بر بیان ژن‌های کلیدی متابولیسم فروکتان در گلدهی مربوط به ژن *6-SFT* ساقه بود. بیان بالاتر *6-SFT* همراه با تولید بالاتر فروکتان و افزایش ظرفیت ذخایر ساقه در رقم بم با عملکرد بالاتر این رقم در شوری همبستگی دارد.

واژه‌های کلیدی

تنش شوری
گندم
فروکتان
بیان ژن
Real time PCR

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.2.12.3]

مقدمه

تنش شوری از جمله مهم‌ترین عوامل کاهش عملکرد گیاهان زراعی می‌باشد که ابتدا با محدود کردن پتانسیل اسمزی آب خاک منجر به محدود شدن آب قابل دسترس و در مراحل بعدی به دلیل تجمع یون سدیم در گیاه منجر به القای تنش یونی می‌شود. از مهم‌ترین راهکارهای تحمل به شوری در ارقام متحمل، تجمع اسمولیت‌ها و کربوهیدرات‌های محلول غیر ساختاری برای مقابله با تنش اسمزی و محصور سازی یون سدیم در واکوئل برای مقابله با تنش یونی می‌باشد (Botella et al. 2007).

از مهم‌ترین کربوهیدرات‌های محلول ساقه غلات که در تنظیم اسمزی دخالت دارد فروکتان می‌باشد. شروع سنتز فروکتان در گندم، به کمک آنزیم‌های ساکارز–ساکارز فروکتوزیل ترانسفراز[1] (*1-SST*) و فروکتان– فروکتان فروکتوزیل ترانسفراز[2] (*6-SFT*) با اتصال دو ساکارز به یکدیگر و آزادسازی یک فروکتوز و در نهایت تشکیل ۱- کستوز صورت می‌گیرد و توسعه زنجیره فروکتان با پیوند β(۶-۲) به کمک آنزیم ساکارز–فروکتان فروکتوزیل ترانسفراز[3] ادامه می‌یابد و منجر به تولید اینولین می‌شود (Blum. 1998). ژن‌های *1-SST* و *6-SFT* از ژن‌های کلیدی مسیر بیوسنتز فروکتان هستند که افزایش بیان آنها در شروع گلدهی تحت تنش خشکی مطالعه شده است (Xue et al. 2008) ولی تاثیر شوری بر بیان آنها تاکنون بررسی نشده است. نقش مهم دیگری که فروکتان به عهده دارد و به ویژه در تنش خشکی بسیار مطالعه شده که شرکت در فرایند انتقال مجدد می‌باشد. تجزیه‌پذیری بالای این قند به ساکارز و فروکتوز طی هیدرولیز توسط فروکتوزیل اگزوهیدرولاز[4] (*1-FEH*) و اینورتاز واکوئلی(*IVR*) و انتقال به دانه‌های در حال پر شدن از طریق ناقلین غشایی مانند ناقل ساکارز (*SUT1*) نقش کلیدی در تولید عملکرد در شرایط تنش و محدودیت منبع ایفا می‌کند. این فرایندها مستلزم دخالت ژن‌های متعددی است. ژن *1-FEH* در بیوسنتز آنزیم فروکتان اگزوهیدرولاز دخالت دارد و افزایش بیان آن طی خشکی انتهای فصل در ساقه با افزایش انتقال مجدد ذخایر کربوهیدرات همراه می‌باشد (Zhang et al. 2009). ژن *IVR* نیز در بیوسنتز اینورتاز واکوئلی[5] نقش دارد که منجر به هیدرولیز ساکارز به گلوکز و فروکتوز می‌شود و بیان آن در پاسخ به تنش‌های غیرزیستی در انتهای دوره پر شدن دانه افزایش می‌یابد (Koch 1996). تحت تنش خشکی انتهای فصل کاهش بیان اینورتاز واکوئلی و کاهش سرعت هیدرولیز ساکارز در شروع گلدهی با افزایش تجمع قند محلول ساقه گندم در این مرحله ارتباط مستقیم دارد (Xue et al. 2008).

محل اصلی ذخیره ساکارز در سلول، واکوئل است و انتقال و ذخیره سازی آن در واکوئل توسط ساکارز ترانسپرتر[6] واقع در تونوپلاست صورت می‌گیرد (Endler et al. 2006). در زمان بارگذاری آوند آبکش، جابجایی ساکارز در عرض غشا از طریق حاملین ساکارز صورت می‌گیرد. بیان ژن مربوط به پروتئین ساکارز ترانسپورتر (*SUT1*) محدود به سلول‌های همراه آوند آبکش در برگ پرچم و غلاف آن بوده ولی محصول آن هم در آوند و هم سلول همراه وجود دارد (Scofield et al. 2007). فعالیت ساکارز ترانسپرتر تابعی از تغییرات غلظت قند در اندام منبع بوده و سیگنال قندی تسهیم آسیمیلات‌ها را در سطح انتقال به آوند آبکش کنترل می‌کند (Daniels et al. 1982).

در رابطه با تاثیر شوری بر چگونگی تغییر الگوی تظاهر ژن‌های دخیل در متابولیسم فروکتان و روند تغییرات این قند طی دوره پر شدن دانه در شرایط تنش شوری مطالعات بسیار محدودی صورت گرفته است. لذا در این بررسی محتوای فروکتان ساقه با نحوه پاسخ‌دهی ژن‌های کلیدی مسیر متابولیسم فروکتان به تنش شوری در مرحله گلدهی دو رقم حساس و متحمل گندم مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

کشت گیاه و اعمال تنش

دو رقم گندم بم (متحمل به شوری) (Ranjbar et al. 2010) و قدس (حساس به شوری) (Poustini and Siosemardeh 2004) در گلخانه تحقیقاتی پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران، در

[1] Sucrose:sucrose 1-fructosyltransferase (1-SST)
[2] Fructan:fructan 1-fructosyltransferase (1-FFT)
[3] Sucrose:fructan 6-fructosyltransferase (6-SFT)
[4] Fructan 1-exohydrolase (1-FEH)
[5] Vacuolar invertase (IVR)
[6] Sucrose transporter (SUT)

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.2.12.3]

گلدان‌های حاوی سه کیلوگرم خاک با بافت لومی-رسی در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در سال ۱۳۹۰ کشت شدند. اعمال شوری از طریق انحلال کلرید سدیم در آب آبیاری با هدایت الکتریکی ۱۲ دسی زیمنس بر متر (معادل تقریباً ۱۲۰ میلی مولار) از مرحله گیاهچه‌ای تا پایان رشد انجام شد. میزان شوری خاک از طریق اندازه‌گیری هدایت الکتریکی آب زهکش گلدان به طور هفتگی کنترل شد. نمونه‌برداری برای بررسی بیان ژن در زمان گلدهی از بافت ساقه و برگ گیاهان مورد کشت در تیمارهای شاهد و شوری (با سه مشاهده در هر تکرار) صورت گرفت و پس از انجماد با نیتروژن مایع به فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد منتقل شد. در زمان رسیدگی فیزیولوژیک، سنبله‌ها برداشت و عملکرد دانه با محتوای رطوبتی ۱۳ درصد بر حسب گرم در بوته محاسبه شد.

اندازه‌گیری قند

برای تعیین محتوای قند، نمونه‌برداری از ساقه از زمان گلدهی به فاصله هفت روز طی پنج نوبت انجام شد. محتوای قندهای هگزوز (گلوکز +فروکتوز) و فروکتان نمونه‌ها پس از استخراج به روش Xue et al. (2008) با استفاده از HPLC (Kenawer, Germany) ، دتکتور RI و ستون Eurokat H اندازه گیری (Ehdaie et al. 2006) و بر حسب میلی‌گرم بر گرم ماده خشک گزارش شد.

اندازه‌گیری محتوای سدیم و پتاسیم

هشت هفته پس از اعمال تنش، محتوای سدیم و پتاسیم برگ پرچم به روش فلیم فوتومتری اندازه‌گیری شد (Munns et al. 2010).

اندازه‌گیری بیان ژن

به منظور بررسی الگوی بیان پنج ژن دخیل در انتقال مجدد فروکتان ساقه در گندم شامل *1-SST*، *6-SFT*، *1-FEH*، *IVR* و *SUT1* با روش Real time PCR، طراحی آغازگرها با نرم افزار[1] OLIGO ver 5 بر اساس توالی ژن های مربوطه که از سایت NCBI صورت گرفت (جدول۱). در این تحقیق ژن خانه دار *PHG*[2] به عنوان کنترل داخلی(Paolacci et al. 2009) برای نرمال سازی داده‌ها استفاده شد.

استخراج RNA کل از ۱۰۰ میلی‌گرم بافت تر گیاه با استفاده از محلول ترایزول (Invitrogen, life technology) انجام شد (Chomczynski 1987). اطمینان از کیفیت مطلوب و تعیین غلظت RNA طی اسپکترفوتومتری و الکتروفورز روی ژل آگارز حاصل شد. آلودگی احتمالی DNA ژنومی با کیت DNase1(RQ1 RNase-free DNase) از شرکت Promega حذف شد. جهت اطمینان از حذف DNA، RNA تیمار شده با آنزیم DNase1 به عنوان الگو به همراه آغازگر ژن *PHG* در واکنش PCR قرار گرفت.

واکنش سنتز cDNA با استفاده از کیت BIO-RAD, iScript cDNA synthesis kit و واکنش Real time PCR با استفاده از کیت Supermix BIO-RAD (BIO-RAD, iQ Syber Green) انجام شد. تعیین کارایی (E) هر جفت آغازگر در واکنش Real time PCR با تهیه ۵ سری رقت با دو تکرار از مخلوط cDNA و رسم منحنی استاندارد و تعیین شیب خط با فرمول زیر محاسبه شد:

$$E = (1 - 10^{-1/\text{شیب خط}}) \times 100$$

میزان بیان ژن با روش Efficiency adjusted ΔΔCt (Pfaffl 2001) محاسبه شد. همه داده‌ها با ژن خانه‌دار *PHG* به عنوان کنترل داخلی نرمال و تغییرات بیان ژن نسبت به شاهد (حالت نرمال رقم متحمل بم) سنجیده شد.

تجزیه آماری

تحقیق حاضر به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار انجام شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با نرم افزار SAS (SAS Institute 2003) و رویه GLM و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون حداقل اختلافات معنی‌دار[3] (LSD) در سطح معنی دار ۰/۰۵ صورت گرفت.

[1] http://www.oligo.net/

[2] Similar to phosphogluconate dehydrogenase
[3] Least significant difference (LSD)

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.2.12.3]

جدول۱- فهرست جفت آغازگرهای مورد استفاده در بررسی الگوی بیان ژن‌های دخیل در متابولیسم و انتقال مجدد فروکتان

نام ژن	شماره دسترسی	آغازگر رو به جلو (۵′⟶۳′)	آغازگر برگشتی (۵′⟶۳′)	طول محصول (bp)	دمای اتصال (°C)
1-SST	AB029888.1	GCGACTCTGCCTATCACTTC	CATAGCCCTGTCATCAACAC	۸۸	۶۲
6-SFT	AB029887.1	CGATCACTCGTATGTTCAATG	CACGGATAGATGTTTCTGTTC	۱۱۸	۶۱
1-FEH	AJ508387.1	AATGTGGAGAAGGGTTGGAG	GGCTATTTTCTTTCCTGCTG	۱۲۵	۶۱
IVR	AF069309.1	ACGATGCCTCAGCCGCCTTG	GAGGGAGGAAGTCGCCGATC	۱۲۲	۶۲
*SUT1*D	AF408842.1	TATTCCTGCTGCCCAAGATC	CTGCTCTACGGAGTCCTTAG	۱۵۹	۶۰
PHG	AK333249.1	ACTGGTGGTTCAGGCTAAAG	TGGGTTGGACGAACTACAAG	۹۲	۶۲

جدول۲- تجزیه واریانس عملکرد دانه در تک بوته (گرم)، مقدار سدیم (Na^+) (میلی گرم بر گرم)، پتاسیم (K^+) (میلی گرم بر گرم)، Na^+/K^+، محتوای هگزوزها و فروکتان (میلی‌گرم بر گرم) در ارقام بم و قدس تحت تنش شوری

		مجموع مربعات				
	درجه آزادی	عملکرد	Na^+	K^+	Na^+/K^+	هگزوزها	فروکتان
ژنوتیپ	۱	۰/۰۰۱^{ns}	۴/۸^{ns}	۳۸^{ns}	۰/۰۰۰۱^{ns}	۱۵۵**	۲۱۳**
شوری	۱	۱/۳۰۲**	۵۰۴۳**	۲۸۱*	۲/۳۱۴**	۲۱۳**	۲۹۶**
ژنوتیپ×شوری	۱	۰/۱۱۷**	۱/۱^{ns}	۱۲۱^{ns}	۰/۰۱۰^{ns}	۱/۷ ^{ns}	۱۱۶۰**
خطا	۸	۰/۰۰۷	۹۱/۱	۲۱۷	۰/۰۱۹	۸/۹	۴۸

ns، * و** به‌ترتیب عدم اختلاف معنی‌دار و اختلاف معنی دار در سطوح پنج و یک درصد می‌باشد.

نتایج و بحث

بر اساس نتایج تجزیه واریانس بین دو ژنوتیپ برای هگزوز و فروکتان در سطح آماری یک درصد اختلاف معنی‌دار وجود داشت ولی برای بقیه صفات تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد. همچنین اثر شوری بر عملکرد، سدیم، پتاسیم و نسبت سدیم به پتاسیم برگ و حداکثر محتوای هگزوزها و فروکتان ساقه معنی‌دار بود ولی اثر متقابل تنها برای عملکرد و حداکثر فروکتان ساقه معنی‌دار شد که حاکی از پاسخ متفاوت دو رقم به تنش شوری برای این صفات بود (جدول۲).

برش‌دهی اثر متقابل برای صفت عملکرد دانه نشان داد تنش شوری باعث کاهش عملکرد دانه در هر دو رقم مورد بررسی شد ولی تولید عملکرد در رقم حساس قدس تحت تیمار شوری به طور معنی‌داری پایین‌تر از عملکرد در رقم بم بود (شکل۱).

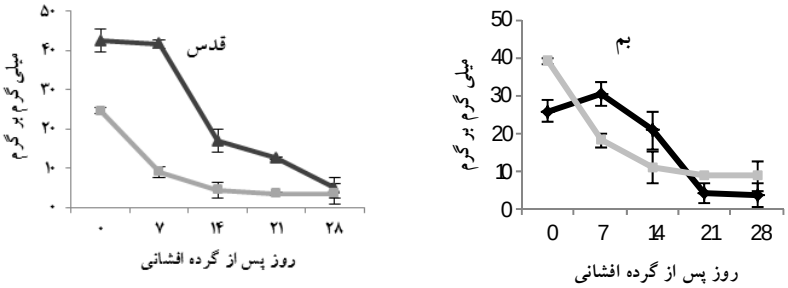
بررسی تغییرات فروکتان در طول دوره پر شدن دانه نشان داد حداکثر محتوای فروکتان در هر دو رقم تحت تنش شوری در شروع گلدهی به دست آمد و سپس روند تغییرات نزولی بود (شکل۲). باتوجه به معنی دار شدن اثر متقابل حداکثر محتوای فروکتان (جدول۲)، دو رقم در مواجهه با شوری در شروع گلدهی به طور کاملاً متفاوتی پاسخ دادند به طوری که میزان فروکتان در شروع گلدهی در رقم بم به طور قابل توجهی نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت در صورتی که شوری محتوای فروکتان رقم قدس را در شروع گلدهی به طور معنی‌داری کاهش داد (شکل۲). افزایش قابل توجه قندهای محلول ساقه در ارقام متحمل گندم طی شوری به جهت تنظیم اسمزی در تحقیقات دیگر گزارش شده است (Kerepesi and Galiba 2000).

نتایج تجزیه واریانس نشان داد میزان بیان ژن‌های مورد بررسی در شروع گلدهی به صورت معنی‌داری تحت‌تاثیر تنش شوری و یا اثر متقابل شوری با ژنوتیپ قرار گرفت (جدول۳).

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.2.12.3]



شکل۱- مقایسه میانگین عملکرد دانه در بوته (گرم) بین سطوح شاهد و شوری برای هر رقم به طور جداگانه. حروف متفاوت بین سطوح شوری در هر رقم نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ می‌باشد.



شکل۲- روند تغییرات فروکتان ساقه در ارقام بم و قدس از شروع گلدهی

جدول۳-تجزیه واریانس بیان ژن‌های مورد بررسی در زمان گلدهی در برگ و ساقه ارقام بم و قدس در تیمارهای شاهد و شوری

		مجموع مربعات									
		ساقه				برگ					
منبع تغییرات	درجه آزادی	*1-SST*	*6-SFT*	*1-FEH*	*IVR*	*SUT1*	*1-SST*	*6-SFT*	*1-FEH*	*IVR*	*SUT1*
ژنوتیپ	۱	۱۳۵۰۱**	۴۵۱*	۰/۳۷**	۰/۲۱**	۰/۰۰^{ns}	۷۱۷۳۶۳**	۸۳۳۱۸۷**	۰/۱۶^{ns}	۰/۴**	۰/۰۰۸^{ns}
شوری	۱	۱۱۷۸**	۱۱۴۱**	۰/۰۰۸^{ns}	۳/۲**	۰/۳۳**	۱۸۲۰۴۰**	۷۴۰۰^{ns}	۵/۸۸**	۰/۱۲**	۰/۷*
شوری×ژنوتیپ	۱	۵۸۳۹**	۲۳۷۹۹**	۰/۰۷*	۰/۲۷**	۰/۰۸^{ns}	۵۳۳۳۳**	۵۳۸۶۸*	۰/۵۶*	۰/۰۰۳^{ns}	۰/۰۴۱^{ns}
خطا	۸	۵۲۹	۶۰۱	۰/۰۶	۰/۱	۰/۱۹	۱۰۳۵۵	۵۲۹۵۹	۰/۶۶	۰/۰۸	۰/۵

ns، * و** به‌ترتیب عدم اختلاف معنی‌دار و اختلاف معنی دار در سطوح پنج و یک درصد می‌باشد.

بر اساس نتایج به دست آمده میزان بیان *1-SST* در ساقه و برگ در ابتدای گلدهی تیمار شاهد در رقم قدس بیشتر از بم بود که با توجه به یکسان بودن شرایط این تفاوت احتمالاً ناشی از ویژگی های ذاتی و ژنتیکی خود ارقام می‌باشد. مقدار فروکتان ساقه نیز در تیمار شاهد رقم قدس به طور معنی‌داری بالاتر از بم بود. در تحقیق Joudi et al. (2012) نیز رقم حساس CHF در مرحله گلدهی در هر دو تیمار شاهد و تنش به طور معنی‌داری فروکتان بیشتری از رقم متحمل شعله داشت. مطالعه بیان این ژن تحت شرایط تنش شوری در ساقه نشان داد که تنش شوری اعمال شده از ابتدای فصل رشد، منجر به القای بیان این ژن در رقم متحمل بم شد که با افزایش معنی‌دار فروکتان و تجمع کربوهیدرات قابل انتقال در این رقم همراه بود ولی شوری بیان این ژن و همچنین محتوای فروکتان را در رقم حساس قدس کاهش داد (شکل۳- الف و شکل۴- ب). بر اساس نتایج سایر محققین نیز افزایش بیان *1-SST* در شروع گلدهی در ساقه با افزایش بیوسنتز فروکتان همراه بوده است (Yang et al. 2004). بیان این ژن در برگ نیز

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.2.12.3]

تحت تنش شوری اعمال شده از ابتدای فصل در هر دو رقم افزایش یافت ولی میزان افزایش بیان در برگ رقم بم (حدود ۱۴ برابر) به طور معنی‌داری بیشتر از قدس (حدود ۳ برابر) بود(شکل۳-ب). به نظر می‌رسد افزایش بیان این ژن در برگ، افزایش تولید فروکتان و در نتیجه القای تنظیم اسمزی را در رقم بم تحت تنش شوری به دنبال داشته باشد.

بر اساس نتایج به دست آمده در تیمار شوری، میزان بیان ژن *6-SFT* ساقه در رقم متحمل بم در مرحله گلدهی، به طور معنی‌داری افزایش یافت ولی در رقم حساس قدس کاهش یافت (شکل ۴- الف). در تیمار شاهد قدس همانند ژن *1-SST*، بیان ژن *6-SFT* به طور معنی داری بالاتر از بم بود. رقم بم با افزایش بیان ژن‌های *1-SST* و *6-SFT* طی شرایط تنش، ذخیره بالاتری از فروکتان در ساقه داشت (شکل۴-ب) لذا به‌منظور افزایش پتانسیل اسمزی جهت تحمل تنش، محتوای ذخایر کربوهیدرات محلول ساقه را در تنش شوری افزایش داد. بین میزان بیان این ژن با مقدار فروکتان در شروع گلدهی به میزان ۰/۹۱ درسطح احتمال ۰/۰۵ همبستگی مثبت و معنی‌دار وجود داشت.

بر اساس نتایج Xue et al. (2008) در شرایط تنش خشکی در شروع گلدهی افزایش بیان *6-SFT* همراه با *1-SST* در ساقه با افزایش بیوسنتز فروکتان همراه بود ولی میزان بیان ژن‌های *1-SST* و *6-SFT* و غلظت‌های مختلف قند محلول ساقه در مرحله گلدهی در ژنوتیپ‌های مختلف گندم متفاوت بود. طی تجمع قندهای محلول در ساقه گندم، میزان فروکتان‌های با درجه پلیمریزاسیون بیشتر از ۵ افزایش می‌یابد در حالی‌که میزان فروکتان با درجه پلیمریزاسیون ۳ تا ۵ پس از رسیدن به حداکثر خود ثابت باقی می‌ماند (Zhang et al. 2009). افزایش درجه پلیمریزاسیون در قندهای کستوتریوز مانند ۶-کستوز با فعالیت آنزیم‌های 6-SFT و 1-FFT مرتبط می‌باشد (Xue et al. 2008). تحت تنش خشکی قند ۶-کستوز که بیوسنتز آن توسط آنزیم 6-SFT کنترل می‌شود بیشترین غلظت را در ساقه ارقام گندم شعله و CHF داشته است (Joudi et al. 2012).

میزان بیان *6-SFT* در برگ تحت شرایط تنش شوری اعمال شده از ابتدای فصل رشد در رقم بم به طور معنی‌داری افزایش ولی در قدس کاهش یافت (شکل۵). مقدار پایه بیان این ژن نیز مانند *1-SST* در تیمار شاهد رقم قدس بالاتر از بم بود. بیان *6-SFT* در برگ و افزایش بیان آن در پاسخ به تنش سرما و خشکی در گندم همراه با افزایش تجمع فروکتان برگ برای تنظیم اسمزی و افزایش توانایی گیاه برای جذب آب توسط محققین دیگر گزارش شده است (Kawakami and Yoshida 2005).

تغییرات بیان ژن *1-FEH* در زمان گلدهی طی تنش شوری در هیچ‌یک از دو رقم بم و قدس برای ساقه معنی‌دار نبود. بر اساس مطالعات انجام شده در تنش خشکی، بیان ژن مربوط به این آنزیم در زمان گلدهی ارتباط مشخصی با کربوهیدرات‌های محلول ساقه ندارد (Xue et al. 2008).

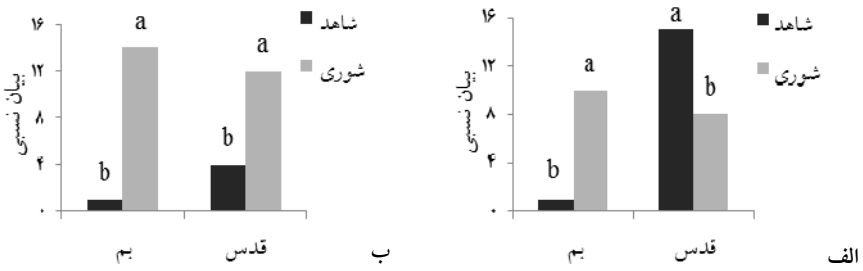
بررسی بیان در برگ نشان داد در مرحله گلدهی، تنش شوری منجر به القای بیان در هر دو رقم شد (شکل۶) ولی افزایش بیان در رقم قدس بیشتر بود. فعالیت این آنزیم در شروع گرده‌افشانی و طول دوره بیوسنتز و ذخیره‌سازی فروکتان، با شکستن انتخابی پیوندهای بتا ۱،۲ در فروکتان امکان تشکیل پیوندهای (۶-۲)β را به وجود می‌آورد (Van den Ende et al. 2003). القای بیان این ژن در برگ در شوری می‌تواند از طریق تجزیه فروکتان و افزایش تجمع هگزوزها در برگ، در تنظیم اسمزی دخالت داشته و پاسخی به شوری باشد (Garcia et al. 2011).

بر اساس نتایج به‌دست آمده میزان بیان این ژن در شروع گلدهی در ساقه رقم بم طی تنش کاهش یافت ولی تغییرات مشاهده شده در قدس معنی‌دار نبود (شکل۷). در مطالعه انجام شده بر روی تأثیر تنش شوری بر گیاه متحمل کرفس نیز میزان بیان *SUT1* در تمام اندام‌ها از جمله ساقه کاهش یافت (Noiraud and Lemoine 2000).

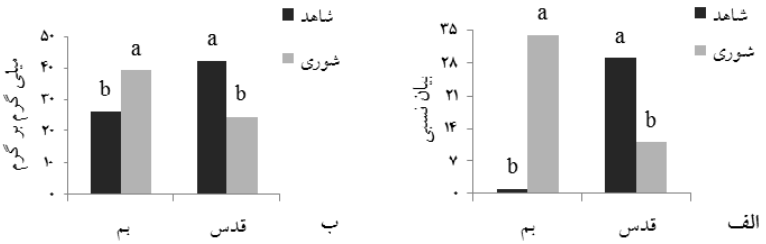
فعالیت ساکارز ترانسپرتر تابعی از تغییرات غلظت قند در برگ بوده و تسهیم آسیمیلات‌ها را در سطح انتقال به آوند آبکش کنترل می‌کند (Aoki et al. 2007). افزایش بیان ژن‌های دخیل در تجمع کربوهیدرات محلول ساقه برای تنظیم اسمزی در رقم بم در شرایط شوری می‌تواند اثر کنترلی منفی بر روی میزان بیان *SUT1* در ساقه داشته باشد در صورتی که در رقم قدس طی تنش شوری اختلاف معنی‌داری در بیان ژن‌های دخیل در بیوستز و تجمع قندهای محلول نسبت به شاهد مشاهده نشد.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

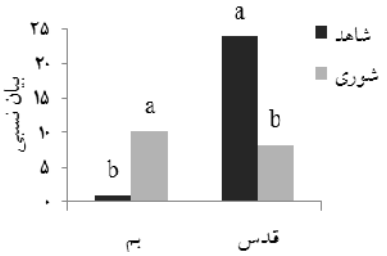
[DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.2.12.3]



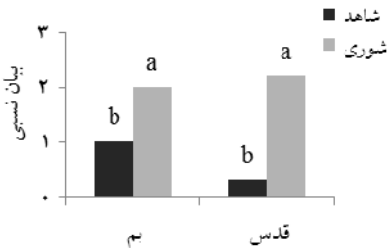
شکل۳- نمودار مقایسه میانگین الف) بیان ژن *1-SST* در ساقه و ب) در برگ در مرحله گلدهی بین سطوح شاهد و شوری برای هر رقم به طور جداگانه. حروف متفاوت بین سطوح شوری در هر رقم بیانگر تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ می‌باشد.



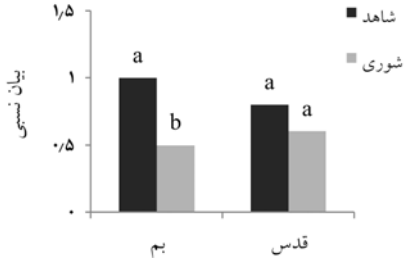
شکل۴- الف) نمودار مقایسه بیان ژن*6-SFT* ساقه و ب) محتوای فروکتان ساقه در شروع گلدهی بین سطوح شاهد و شوری برای هر رقم به طور جداگانه (ستون تیره: شاهد، ستون روشن: شوری). حروف متفاوت بین سطوح شوری در هر رقم نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ می‌باشد.



شکل۵- نمودار مقایسه بیان ژن *6-SFT* برگ در زمان گلدهی بین سطوح شاهد و شوری برای هر رقم به طور جداگانه (ستون تیره: شاهد، ستون روشن: شوری) حروف متفاوت بین سطوح شوری در هر رقم بیانگر تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است.



شکل۶- نمودار مقایسه بیان ژن *1-FEH* برگ در زمان گلدهی بین سطوح شاهد و شوری در هر رقم به‌طور جداگانه (ستون تیره: شاهد، ستون روشن: شوری) حروف متفاوت بین سطوح شوری در هر رقم بیانگر تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است.

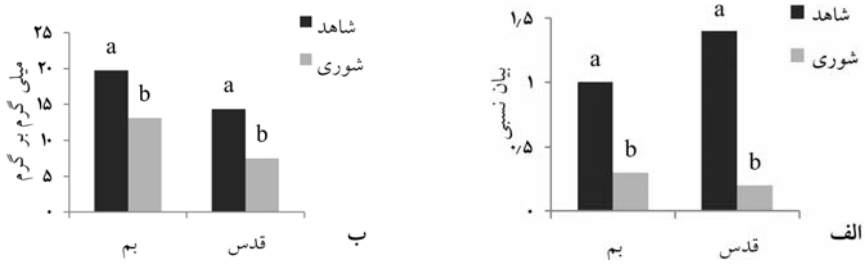


شکل۷- نمودار مقایسه بیان ژن*SUT1* ساقه در شروع گلدهی بین سطوح شاهد و شوری برای هر رقم به طور جداگانه (ستون تیره: شاهد، ستون روشن: شوری) حروف متفاوت بین سطوح شوری در هر رقم بیانگر تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است.

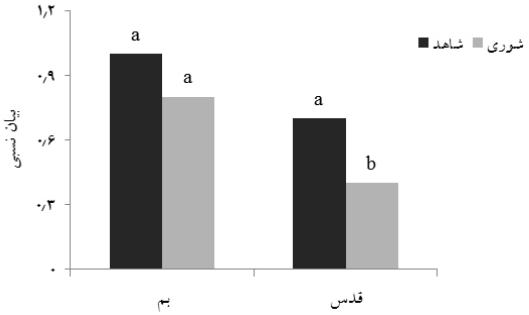
[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.2.12.3]

میزان بیان *SUT1* در برگ طی تنش در هیچ‌یک از دو رقم تغییر معنی‌داری نشان نداد. در مطالعه انجام شده طی خشکی انتهای فصل نیز میزان بیان ساکارز ترانسپرتر در برگ گندم طی گلدهی اختلاف معنی‌داری با شاهد نداشت (Xue et al. 2008).

بر اساس نتایج به دست آمده در هر دو رقم بم و قدس، در شروع گلدهی میزان بیان اینورتاز در ساقه طی شوری به ترتیب به میزان ۳/۳ و ۷ برابر کاهش‌یافت که این کاهش در قدس به طور قابل توجهی شدیدتر بود (شکل۸- الف). کاهش بیان این ژن در شرایط شوری در هر دو رقم نشان می‌دهد گیاه در واکنش به تنش سعی در صرفه‌جویی مصرف ساکارز دارد. اندازه‌گیری همزمان قندهای گلوکز و فروکتوز نیز حاکی از کاهش قندهای هگزوز بود (شکل۸- ب) که به نظر می‌رسد به دنبال کاهش بیان ژن *IVR* رخ داده باشد. بر اساس نتایج Xue et al. (2008) کاهش بیان این ژن در مرحله گلدهی در تیمار خشکی انتهای فصل نیز اتفاق افتاد. طبق نظر این محققین کاهش فعالیت هیدرولازی اینورتاز روی ساکارز، در تجمع قندهای محلول ساکارز و فروکتان در ساقه اهمیت دارد.



شکل۸- الف) نمودار بیان ژن *IVR* در ساقه (نسبت به شاهد رقم متحمل در شروع گلدهی) و ب) مقدار قندهای هگزوز (گلوکز+ فروکتوز) بین سطوح شاهد و شوری برای هر رقم به طور جداگانه (ستون تیره: شاهد، ستون روشن: شوری). حروف متفاوت بین سطوح شوری در هر رقم نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ می‌باشد.



شکل۹- نمودار مقایسه بیان ژن *IVR* برگ نسبت به شاهد رقم متحمل در شروع گلدهی بین سطوح شاهد و شوری برای هر رقم به طور جداگانه (ستون تیره: شاهد، ستون روشن: شوری) حروف متفاوت بین سطوح شوری در هر رقم نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ می‌باشد.

بیان اینورتاز در بافت برگ هر دو رقم نیز کاهش یافت ولی این کاهش در رقم بم معنی‌دار نبود (شکل۹). در برگ‌ها به ویژه در گیاهان تک‌لپه به‌طور معمول فعالیت اینورتازهای اسیدی بالاست ولی در تنش خشکی انتهای فصل کاهش فعالیت اینورتاز برگ در ارقام مورد مطالعه مشاهده شده است (Joudi et al. 2012). به نظر می‌رسد افزایش معنی‌دار نسبت سدیم به پتاسیم برگ پرچم در رقم حساس قدس در مواجهه با شوری همراه با کاهش شدید بیان اینورتاز واکوئلی در برگ، باعث تجمع ساکارز و ایجاد علامتی برای ورود برگ به فرآیند پیری شده در حالی که در رقم متحمل بم حفظ بیان اینورتاز در مرحله گلدهی به تداوم فتوسنتز برگ کمک می‌کند. در مطالعه انجام شده روی ذرت، میزان اینورتاز محلول واکوئلی برگ در تیمار شاهد در شروع گلدهی و اوایل تشکیل دانه رو به افزایش رفت ولی در اثر تنش آبی این افزایش در اندام‌های منبع متوقف شد که با کاهش قندهای احیا و

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.2.12.3]

افزایش ساکارز همراه بود (Zinselmeier et al. 1995). به طورکلی تنظیم بیان ژن‌هایی که به طور مستقیم با تولید یا مصرف هگزوزها در ارتباط هستند یکی از مکانیزم‌های سلولی در مدیریت تجمع هگزوزها طی تنش اسمزی در برگ گندم معرفی شده است (Xue et al. 2008).

نتیجه‌گیری کلی

افزایش بیان ژن‌های *1-SST* و *6-SFT* ساقه رقم متحمل بم و محتوای فروکتان ساقه در این رقم تحت تنش شوری بیانگر این است که رقم متحمل بم از پتانسیل بالایی در غنی‌سازی ساقه از ذخایر کربوهیدرات محلول فروکتان تحت شرایط تنش شوری برخوردار است و روند نزولی تغییرات این قند در ساقه هر دو رقم مورد بررسی نشان می‌دهد استفاده از این ذخیره قندی در شرایط محدودیت منبع نقش کلیدی در تولید عملکرد ایفا می‌کند. همچنین به نظر می‌رسد کاهش همزمان بیان *SUT1* و *IVR* در شروع گلدهی در ساقه رقم بم، به ترتیب با محدود کردن انتقال ساکارز و کاهش تجزیه آن طی شوری، در فراهم آوردن ذخایر ساکارز برای بیوسنتز فروکتان و در نتیجه تنظیم اسمزی دخالت دارد. برای روشن شدن توانمندی ارقام مورد بررسی در تجزیه و انتقال فروکتان نیاز است تا تغییرات بیان ژن‌های مورد بررسی در زمان‌های بیشتری مورد مطالعه قرار گیرند.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله نویسندگان مراتب تشکر خود را از پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران به دلیل فراهم آوردن امکانات مالی و اجرایی این پروژه ابراز می‌دارند.

منابع

Aoki N, Scofield GN, Hirose T, Furbank RT (2007) Involvement of the sucrose transporter, OsSUT1, in the long-distance pathway for assimilate transport in rice. Journal of Experimental Botany 58: 3155-3169.

Blum A (1998) Improving wheat grain filling under stress by stem reserve mobilization. Euphytica 100: 77-83.

Botella MA, Rosado A, Bressan A, Hasegawa PM (2007) plant adaptive responses in to salinity stress. In: aHPM Jenk AM (Editor), Plant abiotic stress. Blackwell USA, pp. 37-70.

Chomczynski P (1987) Single step method of RNA isolation by acid guanidinum thiocyanat phenol-chloroform extraction. Analls of Biochemistry 163: 156-159.

Daniels RW, Alcock WB, Scarisbrick DH (1982) A reappraisal of stem reserve contribution to grain yield in spring barley (*Hordeum vulgare* L.). Journal of Agricultural Sciences 98: 347-355.

Ehdaie B, Alloush GA, Madore MA, Waines JG (2006) Genotypic variation for stem reserves and mobilization in wheat: II. Postanthesis changes in internode water-soluble carbohydrates. Crop Science 46: 2093-2103.

Endler A, Meyer S, Schelbert S, Schneider T, Weschke W, Peters S W, Keller F, Baginsky S, Martinoia E, Schmidt U G (2006) Identification of a vacuolar sucrose transporter in barley and Arabidopsis mesophyll cells by a tonoplast proteomic approach. Plant Physiology 141: 196-207.

Garcia PM, Asega AF, Silva EA, Carvalho MA (2011) Effect of drought and re-watering on fructan metabolism in *Vernonia herbacea* (Vell.) Rusby. Plant Physiology and Biochemistry 49: 664-70.

Joudi MA, Mohamadi A, Abbasi V, Vergauwen A, Mohammadi R, Van den Ende W (2012) Comparison of fructan dynamics in two wheat cultivars with different capacities of accumulation and remobilization under drought stress. Physiologia Plantarum 144: 1-12.

Kawakami A, Yoshida M (2005) Fructan:fructan 1-fructosyltransferase, a key enzyme for biosynthesis of graminan oligomers in hardened wheat. Planta 223: 90-104.

Kerepesi I, Galiba G (2000) Osmotic and Salt Stress-Induced Alteration in Soluble Carbohydrate Content in Wheat Seedlings. Crop Science 40: 482-487.

Koch KE (1996) Carbohydrate-Modulated Gene Expression in Plants. Annual Review Plant Physiology and Plant Molecular Biology 47: 540- 549.

Munns R, Wallace PA, Teakle NL (2010) Measuring soluble ion concentrations (Na(+), K(+), Cl(-)) in salt-treated plants. Methods in Molecular Biology 639: 371-82.

Noiraud ND, Lemoine R (2000) The sucrose transporter of celery. Identification and expression during salt stress. Plant Physiology 122: 1447-1455.

Paolacci AR, Tanzarella OA, Porceddu E, Ciaffi M (2009) Identification and validation of reference genes for quantitative RT-PCR normalization in wheat. BMC Molecular Biology 10: 11.

Pfaffl MW (2001) A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. Nucleic Acids Research 29: e45.

Poustini K, Siosemardeh A (2004) Ion distribution in wheat cultivars in response to salinity stress. Field Crops Research 85: 125-133.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.2.12.3]

Ranjbar G, Cheraghi S, Qadir M (2010) Yield response of different wheat genotypes in saline areas of lower Karkheh river basin of Iran. American-Eurasian Journal of Agriculture and Environmental Sciences 8: 50-54.

SAS Institute. 2003. The SAS system for Windows. Release 9.1. SAS Institute Inc, Cary NC USA.

Scofield GN, Hirose,T, Aoki N, Furbank RT (2007) Involvement of the sucrose transporter, OsSUT1, in the long-distance pathway for assimilate transport in rice. Journal of Experimental Botany 58: 3155-69.

Van den Ende WDC, Clerens B, Vergauwen S, Van Laere A (2003) Unexpected presence of fructan 6-exohydrolases (6-FEHs) in non-fructan plants: characterization, cloning, mass mapping and functional analysis of a novel "cell-wall invertase-like" specific 6-FEH from sugar beet (*Beta vulgaris* L.). Plant Journal 36: 697-710.

Xue GPM, Jenkins CL, Glassop CL, Herwaarden AF,Shorter R (2008) Molecular dissection of variation in carbohydrate metabolism related to water-soluble carbohydrate accumulation in stems of wheat. Plant Physiology 146: 441-54.

Yang J, Zhang J, Wang Z, Zhu Q, Liu L (2004) Activities of fructan- and sucrose-metabolizing enzymes in wheat stems subjected to water stress during grain filling. Planta 220: 331-43.

Zhang J, Dell B, Conocono E, Waters I, Setter T, Appels R (2009) Water deficits in wheat: fructan exohydrolase (1-FEH) mRNA expression and relationship to soluble carbohydrate concentrations in two varieties. New Phytologist 181: 843-850.

Zinselmeier C, Schussler JR, Jone RJ Westgat ME (1995) Low water potential disrupts carbohydrate metabolism (*Zea mays* L.) ovaries. Plant Physiology 107: 385-391.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.2.12.3]