



"مقاله پژوهشی"

ژن‌های کلیدی دخیل در پاسخ گندم به تنش شوری و ترسیم شبکه ژنی آنها

شبنم کامیاب^۱، خلیل عالمی سعید^{۱،۲}، محمد رضا اصلاحی^{۱،۳} و محمد مرادی^۴

- ۱- گروه ژنتیک و به‌نژادی گیاهی، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران
 - ۲- گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، اهواز، ایران، (نویسنده مسوول: kh_alamisaeid@asnrukh.ac.ir)
 - ۳- گروه گیاهپزشکی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، سازمان تحقیقات، ترویج و آموزش کشاورزی، اهواز، ایران
 - ۴- گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، واحد شوشتر، دانشگاه آزاد اسلامی، شوشتر، ایران
- تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۰/۱۹ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۲/۲۷
صفحه: ۲۰۱ تا ۲۰۷

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: با توجه به اهمیت شوری در گندم و ماهیت چندژنی این صفت، پژوهش حاضر با هدف بررسی بیان ژن‌های کلیدی دخیل در پاسخ گندم به تنش شوری و بازسازی شبکه ژنی آنها انجام شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه، بیان ژن‌های کلیدی (*WARKY* و *NAC*، *bZIP*، *DREB*، *HKT*) دخیل در پاسخ سه رقم گندم (افلاک، ارگ و سیروان) در دو سطح شوری (۱۴ و ۲۱ دسی‌زیمنس بر متر) به‌صورت آزمایش فاکتوریل با طرح پایه کاملاً تصادفی در سه تکرار بررسی شدند. در نهایت، شبکه ژنی آنها به‌وسیله نرم‌افزار Pathway Studio 9.0 ترسیم شد.

یافته‌ها: آنالیز بیان ژن‌های *WARKY*، *NAC*، *bZIP*، *DREB*، *HKT* حاکی از سطح افتراقی آنها تحت شرایط شوری در ارقام گندم بود بطوری‌که اغلب بیان آنها در ارقام مقاوم افلاک و نیمه‌مقاوم ارگ افزایش درحالی‌که در رقم حساس سیروان کاهش یافتند. شبکه ژنی نیز آشکار ساخت که این ژن‌ها به‌عنوان اجزاء درگیر در فرایندهای تنظیمی و انتقالی از طریق میان‌کنش با پروتئین کینازها و پروتئین فسفاتازها نقش مهمی در پاسخ گندم به تنش شوری ایفا می‌کنند.

نتیجه‌گیری: بر اساس یافته‌های حاصل از این مطالعه می‌توان نتیجه گرفت که پاسخ گندم به تنش شوری به‌وسیله شبکه پیچیده‌ای از ژن‌های تنظیمی مانند فاکتورهای رونویسی، ترانسپوترها، پروتئین کینازها، پروتئین فسفاتازها، و غیره کنترل می‌شود که از آنها می‌توان در تحقیقات آینده به‌نژادی گندم استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: تنظیم رونویسی، شبکه ژنی، شوری، گندم

مقدمه

گندم یکی از محصولات گیاهی استراتژیک کشور است و سیاست‌های اقتصادی به سمت خودکفایی آن گام برداشته‌اند (۱۳). با اینحال، بخش قابل توجهی از گندم در اراضی شور کشت و تولید می‌شود بطوری‌که نزدیک به ۵۰ درصد از سطح زیرکشت گندم با درجات متفاوتی با چالش شوری و قلیایی رو به رو هستند (۲). غلظت بالای نمک‌ها سبب پاسخ‌های مورفولوژیک، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی در گیاهان می‌شود که میزان این تغییرات وابسته به‌مدت زمان و سطح شوری است (۱). اثر مهم شوری، مهار رشد گیاه است که می‌تواند دلایل متعددی داشته باشد اما این مهار عمدتاً در رابطه با غلظت بالا Na^+ ، Cl^- و کمبود K^+ رخ می‌دهد. افزایش یون سدیم منجر به کاهش سایر کاتیون‌ها در گیاهان و برهم‌زدن تعادل آنها شده که این امر باعث افت میزان پتاسیم، منیزیم و کلسیم می‌شود (۱۴). در سطح بالای غلظت نمک‌ها، محتوی یون‌های پتاسیم به علت جایگزینی با یون سدیم کاهش می‌یابد که این امر علاوه بر بهم‌زدن تعادل یون‌ها سبب اختلالات در سوخت‌وساز سلولی خواهد شد (۱۴).

یکی از آثار شوری، تولید گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) است که منجر به تخریب سلول‌های گیاهی می‌شوند. گونه‌های اکسیژن فعال به‌شدت سمی‌اند و با نوکلئیک اسیدها، لیپیدها، و پروتئین‌ها واکنش داده و سبب تخریب DNA، دنا‌توراسیون پروتئین و پراکسیداسیون لیپید می‌شوند (۱۹). گیاه برای مواجه با این آثار سوء، از مجموعه‌ای از مکانیسم‌ها استفاده می‌کند که در تحمل شوری دخالت دارند. این

مکانیسم‌ها عبارتند از: الف) جذب ناچیز یا عدم جذب نمک به داخل گیاهان، ب) تحمل یا مقاومت بافت، پ) تجمع نمک‌ها در واکوئل، ت) تفکیک یون‌های K^+ ، Cl^- و Na^+ به هنگام جذب ریشه‌ای و انتقال آنها به اندام هوایی گیاه، ث) فرآیندهای فیزیوبیوشیمیایی مثل بیان آنتی‌اکسیدان‌ها، هورمون‌ها، آنزیم‌های خاص، و غیره (۱). در راستای القاء و تنظیم این مکانیسم‌ها، طیف گسترده‌ای از پروتئین‌ها تنظیمی و فاکتورهای رونویسی مثل *WARKY*، *NAC*، *bZIP*، *DREB*، *HKT* ایفای نقش می‌کنند (۲۱). ترسیم شبکه‌های ژنی این امکان را فراهم می‌کند تا با استفاده از مدل‌سازی شبکه ژن‌های پاسخ‌دهنده به تنش به‌توان پاسخ گیاه به تنش را در سطح مولکولی تشریح کرد (۸).

با توجه به آنچه گفته شد، پژوهش حاضر با هدف بررسی بیان ژن‌های کلیدی دخیل در پاسخ گندم به تنش شوری و بازسازی شبکه ژنی آنها انجام شد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و تیمار آزمایشی

در این پژوهش، سه رقم مختلف گندم به نام‌های افلاک (مقاوم به شوری)، ارگ (نسبتاً مقاوم به شوری) و سیروان (حساس به شوری) از موسسه تحقیقات نهال و بذر تهیه شده و در آزمایش فاکتوریل با طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در اتاقک رشد دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اهواز در آبان سال ۱۳۹۶ کشت شدند. گلدان‌هایی ۵ کیلوئی با خاک لوم-شنی (۴۵٪ رس، ۲۰٪ سیلت و ۲۰٪ ماسه) پر شدند. ۱۰ بذر از

مقاوم ارگ پیشنهاد می‌کند که این ژن‌ها احتمالا در انتقال پتاسیم و تحمل شوری نقش دارند. کاهش بیان این ژن تحت هر دو سطح شوری در رقم حساس سیروان نیز گویای این مطلب است مقاومت به شوری با سطح HKT رابطه مستقیم و معنی‌داری دارد. در مطالعه ما، القاء ترانسپورتر HAK تحت شوری در گندم نشان داد که ممکن است HAK عملکرد مهمی در حفظ نسبت بهینه K^+ و Na^+ در سیستوسول سلولی و حفظ هموستاز یونی در گندم داشته باشد (شکل ۱). این امر بدان دلیل است که ترانسپورترهای K^+ -uptake (HKT) از اجزاء مهم شبکه ژنی پاسخ به شوری هستند و جذب پتاسیم را تسهیل و بدین ترتیب هموستازی یونی را در گیاه حفظ می‌کنند. در واقع، نقش مهم و اساسی HKT، مهار رقابتی یون‌های سدیم توسط فرایند به اشتراک گذاری مسیر انتقال مابین دو کاتیون پتاسیم و سدیم می‌باشد (۱۰). آنچنان که شبکه ژنی پاسخ به شوری در گندم نشان می‌دهد، ترانسپورتر HKT8 به واسطه فاکتورهای رونویسی مربوطه و تحت غلظت‌های بالای نمک در گیاهان گندم القاء می‌شود. این موضوع به نوبه خود نشان می‌دهد که این ترانسپورتر می‌تواند عملکرد مهمی در حفظ نسبت بهینه K^+ و Na^+ در محیط درون سلولی و حفظ هموستاز یونی در گندم داشته باشد (۱۰).

فاکتورهای رونویسی

فاکتورهای رونویسی WRKY، NAC، bZIP و DREB به‌عنوان اجزاء کلیدی شبکه ژنی پاسخ به شوری عمل می‌کنند بطوری‌که بیان طیف وسیعی از ژن‌های تنظیمی و ساختاری تحت تاثیر آنها قرار می‌گیرد. بیان WARKY در رقم نسبتا مقاوم ارگ در هر دو سطح شوری افزایش یافت. بیان WARKY در رقم مقاوم افلاک تنها تحت سطح شوری $14 dS^{-1}$ افزایش یافت درحالی‌که در سطح شوری $21 dS^{-1}$ کاهش یافت. همچنین، بیان این ژن در رقم حساس سیروان با اعمال تنش یا ثابت ماند ($14 dS^{-1}$) و یا با کاهش معنی‌داری ($21 dS^{-1}$) همراه بود. بیان NAC در رقم نسبتا مقاوم ارگ در هر دو سطح شوری افزایش یافت. بیان NAC در رقم مقاوم افلاک تنها تحت سطح شوری $21 dS^{-1}$ افزایش یافت درحالی‌که در سطح شوری $14 dS^{-1}$ کاهش یافت. همچنین، بیان این ژن در رقم حساس سیروان با اعمال تنش، با کاهش معنی‌داری همراه بود. بیان bZIP در رقم مقاوم افلاک و نسبتا مقاوم ارگ در هر دو سطح شوری افزایش یافت. بیان bZIP در رقم حساس سیروان با اعمال تنش، با کاهش معنی‌داری همراه بود. بیان DREB در رقم نسبتا مقاوم ارگ در هر دو سطح شوری افزایش یافت. بیان DREB در رقم مقاوم افلاک تنها تحت سطح شوری $14 dS^{-1}$ افزایش یافت. همچنین، بیان این ژن در رقم حساس سیروان با اعمال تنش یا ثابت ماند ($14 dS^{-1}$) و یا با کاهش معنی‌داری ($21 dS^{-1}$) همراه بود (شکل ۱). همراهی با نتایج ما، بیان افتراقی فاکتورهای رونویسی WRKY، NAC، bZIP و DREB تحت تنش شوری در گیاهانی از جمله *Populus simonii* (۱۷) و *Chrysanthemum lavandulifolium* (۶)، گزارش شده است. این موضوع حاکی از پتانسیل فاکتورهای رونویسی WRKY، NAC،

هر نمونه در عمق ۳ سانتی‌متر کشت شده و بعد از هفت روز از کشت، تعداد آنها به ۷ گیاهچه کاهش یافت. حدود ۵۰ روز بعد از کاشت، تعداد ۲۷ گلدان به دو دسته تقسیم شدند: یک گروه با آب شور (140 و 300 گرم کلرید سدیم به‌ترتیب معادل با 14 و $21 dS^{-1}$) و گروه دیگر با آب معمول آبیاری شدند. گلدان‌ها تحت شرایط 22 درجه سانتی‌گراد، 70 درصد رطوبت، و فتوپریود 12 الی 14 ساعت در اتاقک‌های رشد نگهداری شدند. نمونه‌برداری در مرحله پرشدن دانه و 70 روز بعد از تنش از برگ سبز گندم صورت گرفت.

استخراج RNA و سنتز cDNA

RNA نمونه‌های برگی گندم توسط معرف ترايزول و بر مبنای پروتکل شرکت Gene all استخراج شد. برای دستیابی به این هدف، 1 میلی‌لیتر معرف ترايزول به 100 میلی‌گرم از پودر برگی توسط نیتروژن مایع اضافه شد. بعد از ورتکس و سانتریفیوژ، فاز روایی جدا شده و به آن کلروفرم اضافه شد. جهت بررسی کیفیت و کمیت RNA به‌ترتیب از ژل آگارز 1 درصد و نانودراپ استفاده گردید. mRNA توسط کیت Oligotex mRNA Mini Kit و بر مبنای پروتکل شرکت QIAGEN استخراج شد. از نانودراپ برای تعیین کمیت mRNA استفاده شد. دو میکروگرم mRNA برای سنتز رشته اول cDNA، میزان 7 میکرولیتر از RNA که در مرحله قبل با DNase I تیمار شده بود به‌همراه 1 میکرولیتر پرایمر الیگو dT، 1 میکرولیتر آنزیم Ribolock RNase inhibitor، 1 میکرولیتر dNTP، 1 میکرولیتر آنزیم ریورس ترانسکریپتاز، 5 میکرولیتر 5X Reaction buffer و آب با هم مخلوط شده و به‌مدت 1 ساعت در دمای 42 درجه سانتی‌گراد و بعد 5 دقیقه در دمای 75 درجه قرار گرفتند. در ادامه، از کیت SuperScript Double-Stranded cDNA Synthesis Kit جهت سنتز رشته دوم cDNA استفاده گردید.

بیان ژن با Real-time PCR

واکنش Real-time PCR به 100 میکرولیتر رقیق شده و بعد از 2 میکرولیتر به‌عنوان الگو جهت اجرای واکنش با SYBR Green (شرکت Invitrogen) استفاده گردید. آستانه CT توسط فرمول $2^{-\Delta\Delta CT}$ محاسبه گردید. به‌عنوان ژن مرجع، از ژن Tubulin در این پژوهش استفاده شد.

ترسیم شبکه ژنی

شبکه ژنی ژن‌های کلیدی دخیل در پاسخ گندم به شوری (HKT، DREB، bZIP، NAC و WARKY) به‌وسیله نرم‌افزار Pathway Studio 9.0 ترسیم شد.

آنالیز آماری

این پژوهش به شکل آزمایش فاکتوریل با طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در اتاقک رشد انجام شد. آنالیز آماری توسط ANOVA و آزمون چند دامنه‌ای دانکن و با نرم‌افزار SPSS V 20 انجام شد.

نتایج و بحث

بیان ژن‌های پاسخگو به تنش شوری ترانسپورترهای HKT

افزایش ترانسکریپت این ترانسپورتر تحت هر دو سطح شوری در PCR زمان واقعی در ارقام مقاوم افلاک و نسبتا

bZIP و DREB در پاسخ گیاهان گندم به غلظت‌های بالای نمک و موادمعدنی می‌باشد. همانگونه که از شبکه ژنی در این مطالعه استنباط می‌شود، فاکتورهای رونویسی WARK اغلب به‌عنوان تنظیم‌کننده مکانیسم‌های پاسخ گیاه به شوری عمل می‌کنند. پروتئین‌های WRKY به جعبه W موجود در راه‌انداز ژن‌های پاسخگو به غلظت بالای نمک‌ها در سلول‌های گیاهی متصل شده و بدین‌ترتیب رونویسی آنها را کنترل می‌کنند (۳). علاوه بر شوری، گزارشات مختلفی از نقش این پروتئین‌ها در پاسخ گیاهان به سایر تنش‌های محیطی منتشر شده است که اهمیت آنها را در دفاع از گیاه در برابر حمله عوامل بیماری‌زا و همچنین تنش‌های خشکی، سرما و گرما نشان می‌دهد (۵). فاکتورهای رونویسی NAC از دیگر پروتئین‌های تنظیم‌کننده ژن‌های پاسخگو به غلظت بالای نمک‌ها هستند که از طریق مسیر وابسته به آبسزیک اسید موجب تنظیم رونویسی ژن‌های کلیدی، فعالسازی مسیر انتقال پیام فیتوهورمون‌ها و حفظ هموستازی یونی و در نتیجه ایجاد مکانیسم تحمل گیاه به تنش می‌شوند (۱۱). فاکتورهای رونویسی bZIP غنی از اسیدهای آمینه بازی و لوسین هستند که با افزایش آبسزیک اسید، ژن‌های پایین دست را فعال کرده و موجب انتقال پیام در پاسخ به تنش‌های شوری و خشکی مانند بسته شدن روزنه‌ها و تنظیم رونویسی ژن‌های کلیدی می‌شوند (۷). فاکتورهای رونویسی DREB نیز با تنظیم بیان تعداد زیادی از ژن‌های القاء شونده با تنش شوری، سازگاری فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه به غلظت بالای عناصر و موادمعدنی را افزایش داده و بدین‌ترتیب موجب بالابردن سطح تحمل گیاه به شوری می‌شود (۹).

شبکه ژنی ژن‌های پاسخگو به شوری

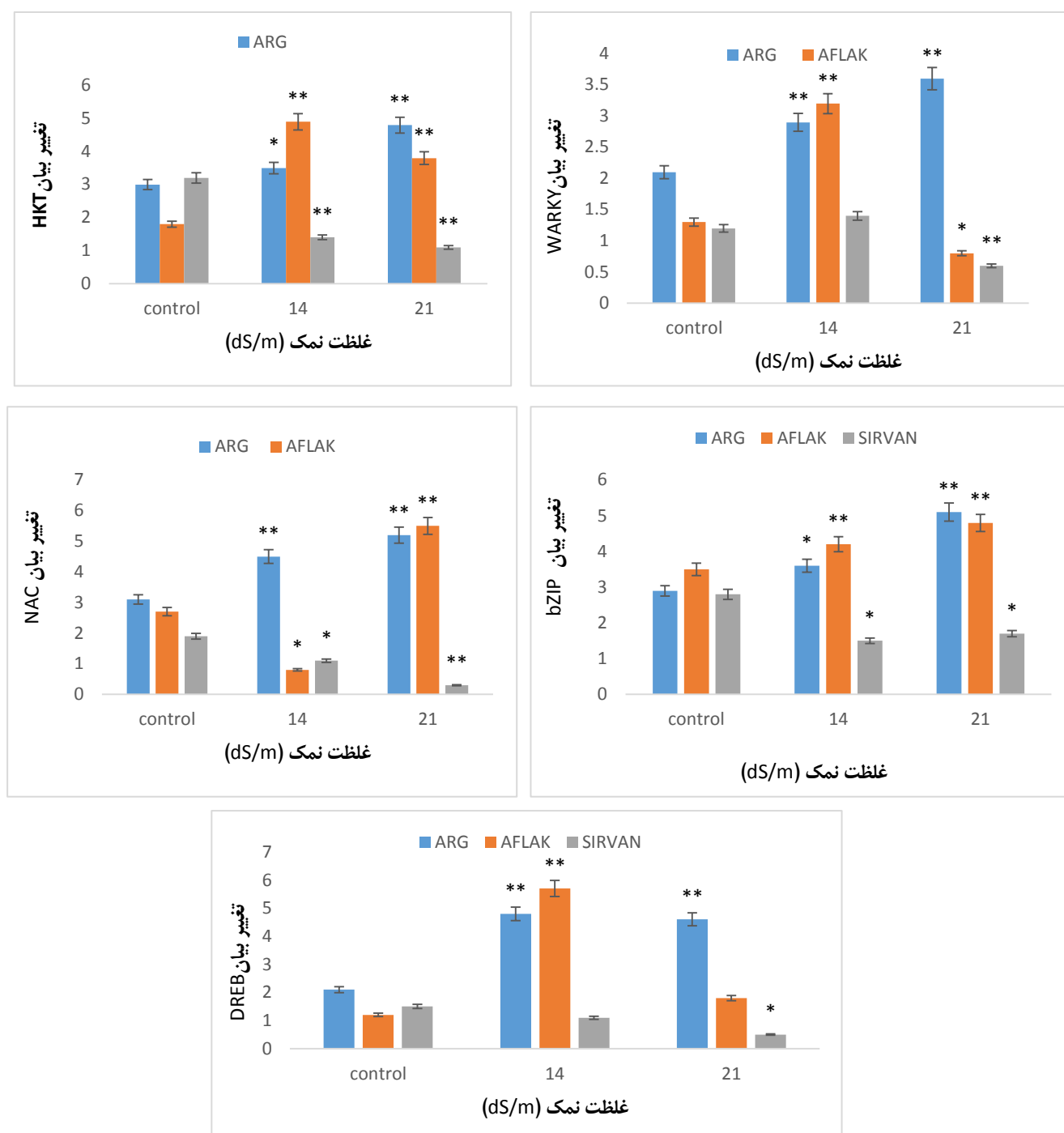
مطالعه پاسخ گندم به تنش شوری بوسیله شبکه ژنی نشان داد فاکتورهای رونویسی NAC، WRKY، bZIP و DREB نقش مهمی در بیان ژن‌های موثر در پاسخ به شوری دارند و هر فاکتور می‌تواند چندین مسیر متابولیکی را فعال کند. همراستا با نتایج ما، یونسی ملردی و همکاران (۲۰)، تغییرات بیان ژن‌های مرتبط با شبکه تنظیمی و پیام‌رسان پاسخ‌دهنده به تنش شوری را در گیاه هالوفیت *Aeluropus littoralis* ارزیابی کردند. یافته‌های آنها نشان داد که الگوی بیان ژن‌های رمزگردان فاکتورهای رونویسی تحت غلظت بالای نمک‌ها منجر به ایجاد شبکه‌ای از میانکنش‌های پروتئین-پروتئین برای پاسخ گیاه به شوری می‌شود. بر اساس یافته‌های ما، فاکتور رونویسی DREB3 در بیان ژن‌های رمزگردان پروتئین‌های مختلف ازجمله پروتئین کینازها و پروتئین فسفاتازها و پاسخ به تنش از طریق برقراری ارتباط بین سیگنال‌های اولیه تنش شوری و پاسخ‌های سلولی ایفا نقش می‌کند. پروتئین کینازها در متابولیسم کربن و نیتروژن، انتقال یون‌ها و تنظیم نفوذپذیری غشا، باز و بسته شدن روزنه‌ها نقش داشته (۱۵) و در هنگام مواجهه گیاه با شرایط تنش شوری با حذف گونه‌های فعال اکسیژن از تجزیه دیواره‌های سلولی گیاه جلوگیری می‌کنند و در نتیجه موجب افزایش تحمل گیاه به تنش شوری می‌شوند (۴). پروتئین فسفاتازهای نوع سی نیز گروهی از سرین/ترئونین فسفاتازها

هستند که در پیام‌رسانی تنش ایفای نقش می‌کنند (۱۸). پروتئین فسفاتازهای ABI1 و ABI2 در آراییداپسیس به عنوان جزئی از مسیر پیام‌رسانی اسیدآبسزیک در پاسخ گیاهان به غلظت بالای نمک‌ها شناخته شده‌اند (۱۸). در مطالعه‌ای، تیناز و همکاران (۱۶) مشاهده کردند که پروتئین فسفاتاز *OsP2C5* به شدت تحت تأثیر تنش و هورمون آبسزیک اسید افزایش می‌یابد. نویسندگان پیشنهاد کردند که احتمالاً تنش با القاء پروتئین متصل‌شونده به عنصر پاسخ به خشکی (DREB) منجر به فعالسازی *OsP2C5* و متعاقباً پاسخ گیاه به تنش می‌شود. همچنین، جوادی و همکاران (۸) در مطالعه خود بر روی بازسازی شبکه ژنی و ژن‌های کلیدی درگیر در پاسخ جو به تنش خشکی نشان دادند که ژن‌های رمزگردان فسفاتاز (ABF3) و عوامل رونویسی DREB1A و DREB2A (نوعی فاکتور رونویسی DREB) و HY5 (نوعی فاکتور رونویسی bZIP) از طریق تنظیم فرایندهای متابولیسمی، فتوسنتز و زمان گلدهی بر روی تحمل گیاه به شوری تأثیرگذار هستند. در پژوهشی دیگر، پورعابد و شبار (۱۲) با بازسازی شبکه‌های ژنی و برهمکنش پروتئین‌های درگیر در پاسخ برنج به تنش شوری نشان دادند که در میان فاکتورهای رونویسی می‌توان به عوامل پاسخگو به تنش همچون خانواده‌های ژنی MYB، WRKY، bZIP، AP2 و فاکتورهای اتصال به عناصر پاسخگو به ABA، اشاره داشت. نویسندگان پیشنهاد دادند که از این اطلاعات می‌توان به منظور طراحی برنامه‌های به‌نژادی مولکولی در غلات استفاده کرد. با مقایسه یافته‌های ما با سایر محققان می‌توان اینگونه استنباط کرد که فاکتورهای تنظیمی و انتقالی درگیر در پاسخ گندم به شوری را می‌توان به منظور اصلاح گندم و سایر غلات و نهایتاً تولید ارقام مقاوم به غلظت‌های بالا نمک‌ها در نواحی خشک و نیم‌خشک استفاده کرد.

بر اساس شبکه‌ژنی برهم‌کنش ژن‌های پاسخگو گندم به تنش شوری، ژن‌های احتمالی دخیل در پاسخ گندم به تنش شوری شناسایی شدند (شکل ۲). یافته‌های حاصل از ترسیم شبکه ژنی و شناسایی ژن‌های کلیدی دخیل در پاسخ گندم به تنش شوری نشان داد که ژن‌های متعددی ازجمله *HKT*، *DREB*، *bZIP*، *NAC* و *WARKY* و غیره نقش مهمی را در فرایندهای تنظیم رونویسی و انتقال (ترانسپورت) طی پاسخ گندم به تنش شوری ایفا می‌کنند.

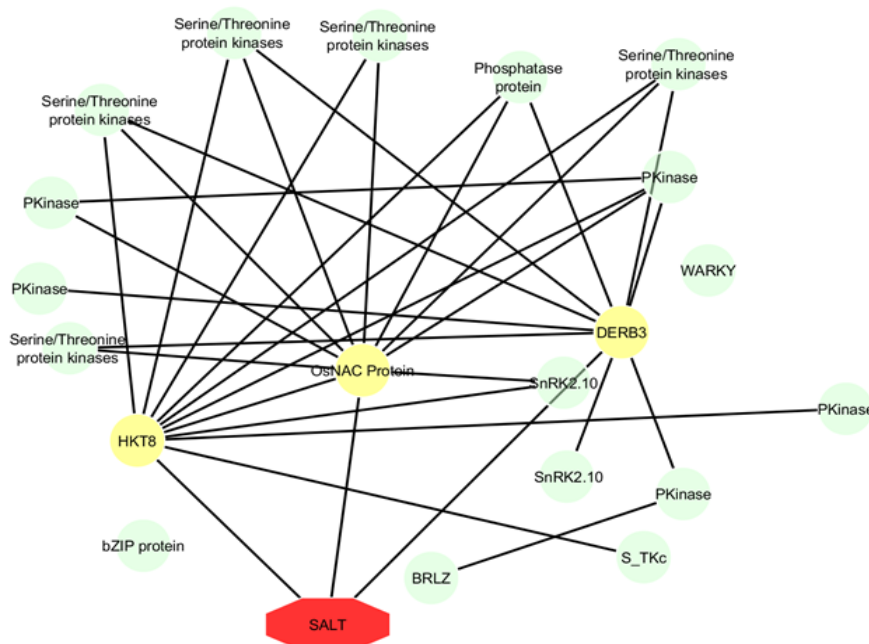
نتیجه‌گیری کلی

شبکه ژنی بدست‌آمده در این مطالعه منجر به شناسایی مکانیسم‌ها و مسیرهای پاسخ گندم به تنش شوری شد. یافته‌ها نشان داد که پاسخ گندم به غلظت‌های بالای نمک به وسیله شبکه پیچیده‌ای از ژن‌های تنظیمی مانند فاکتورهای رونویسی، ترانسپورترها، پروتئین کینازها، پروتئین فسفاتازها، و غیره کنترل می‌شود. در این راستا، تحقیقات بیشتری برای درک عمیق‌تر مکانیسم‌های پاسخ گندم به غلظت‌های بالای نمک نیاز هست تا بتوان از یافته‌های آنها به منظور اصلاح تحمل گندم به شوری استفاده کرد.



شکل ۱- الگو بیان ژن‌های گندم *HKT8*, *WRKY*, *NAC*, *bZIP* و *DREB* تحت تنش شوری. علامت دو ستاره حاکی از معنی‌داری در سطح ۰/۰۱ است.

Figure 1. The expression pattern of *HKT8*, *WRKY*, *NAC*, *bZIP*, and *DREB* genes of salt-stressed wheat
**: significant difference at $p < 0.01$



شکل ۲- شبکه ژنی مربوط به ژن‌های پاسخ‌دهنده به تنش شوری در گندم
Figure 2. Gene network related to genes responding to salinity stress in wheat

این پروژه مؤثر بودند، قدردانی نمایند. همچنین، از جناب آقای دکتر محمد سبزه‌زاری که ما را در تهیه این مقاله یاری نمودند، کمال تشکر و قدردانی را داریم.

تقدیر و تشکر
نویسندگان این مقاله بر خود لازم می‌دانند به این وسیله از کارکنان دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اهواز که در پیشبرد

منابع

1. Acosta Motos, J.R., M.F. Ortuno, A.B. Vicente, P.D. Vivacos, M.J. Blanco and J.A. Hernandez. 2017. Plant Responses to salt stress: Adaptive mechanisms. *Agronomy*, 2: 1-38.
2. Bartles, D. and R. Sunkar. 2015. Drought and salt tolerance in plants. *Plant Science*, 24: 23-58.
3. Berri, S., P. Abbruscato, F.R. Odile, A.C.M. Brasileiro, I. Fumasoni, K. Satoh, S. Kikuchi, L. Mizzi, P. Morandini, M.E. Pè1 and P. Piffanelli. 2019. Characterization of WRKY co-regulatory networks in rice and Arabidopsis. *BMC Plant Biology*, 9: 120.
4. Camps, M., A. Nicholas and J.F. Arkinstall. 2012. A gene family for control protein kinase function, *FASEB Journal*, 14: 6-16.
5. Chen, L., Y. Song, D. Kang, H. Gu and G. Qin. 2011. The role of WARKY transcription factors in plant abiotic stresses. *Biophysica Acta Journal*, 9(2): 1-8.
6. He, H., N. Yajing, C. Huawen, T. Xingjiao, X. Xinli, Y. Weilun and D. Silan. 2012. cDNA-AFLP analysis of salt-inducible genes expression in *Chrysanthemum lavandulifolium* under salt treatment. *Journal of Plant Physiology*, 169: 410-420.
7. Jakoby, M., B. Weisshaar, W. Droge-laser and C.J. Viecent. 2012. bZip transcription factors in Arabidopsis. *Trends in Plant Science*, 7(3): 106-111.
8. Javadi, S., Z. Shobbar, A. Ebrahimi and M. Shahbazi. 2018. Reconstruction of Gene Networks Involved in Response to Drought stress In Barley. *New Cellular & Molecular Biotechnology Journal*, 8(29): 39-48.
9. Lata, C. and M. Prasad. 2011. Role of DREBs in regulations of abiotic stress responses in plants. *Journal of Experimental botany*, 62: 4731-4748.
10. Mian, A.A., P. Senadheera and F.J.M. Maathuis. 2009. Improving crop salt tolerance: anion and cation transporters as genetic engineering targets. *Plant Stress*, 5: 64-72.
11. Nakshima, K., D. Tran and M. Van Nguyen. 2012. Functional analysis of a NAC type transcription factor involved in biotic and abiotic stress responses. *Biochemical Biophysical Acta Journal*, 1819: 97-103.
12. Pourabed, E. and Z. Shobbar. 2017. Reconstruction of drought responsive gene and protein interaction networks in rice. *Crop Biotechnology*, 7(18): 73-92.
13. Riahi, M., A. Mostajeran and M. Miroliaei. 2020. Investigation of salinity stress effect on germination of 18 strains wheat (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Iranian Plant Ecophysiological Research*, 15(58): 1-10 (In Persian).

14. Shabala, S. and T.A. Cinu. 2017. Potassium transport and plant salt tolerance. *Physiologia Plantarum*, 133(4): 651-669.
15. Shukla, V. and A.K. Mattoo. 2008. Protein kinases involved in hyperosmotic stress signaling. *Physiology Molecular Biology in plants*, 14: 91-100.
16. Tirmaz, S., Z. Shabbar, Q. Mohammadi Nezhad and G. Shahidi-Banjar. 2010. Gene expression analysis of OsPP2C5, a candidate protein phosphatase involved in ABA signal transduction, under salt, drought and cold stress in rice. *Agricultural Biotechnology Journal*, 1(2): 67-78.
17. Wang, L., B. Zhou, L. Wu, B. Guo and T. Jiang. 2011. Differentially expressed genes in *Populus simonii* × *Populus nigra* in response to NaCl stress using cDNA-AFLP. *Plant Science*, 180: 796-801.
18. Wera, S. 2015. Serine/threonine protein phosphates. *Biochemical Journal*, 17-31.
19. You, J. and Z. Chan. 2015. Protein kinases and ROS regulation during abiotic stress response in crop plant. *Plant Science*, 176(5): 669-677.
20. Younesi-Melerdi, E., G. Nematzadeh and A. Pakdin-Parizi. 2020. Expression analysis of some genes involved in signaling networks of *Aeluropus littoralis* (Gouan) Parl. under salinity stress. *Environmental Stresses in Crop Sciences*, 13(4): 1259-1270.
21. Zhou, Q.Y., A.G. Tina, H.F. Zho and Z.M. Xie. 2008. WARKY-type transcription factor genes to abiotic stress in plants. *Plant Biothechnology Journal*, 6(5): 486-503.

Key Genes Involved in Wheat Response to Salinity Stress and Mapping their Gene Network

Shabnam Kamyab¹, Khalil Alami-Saeid^{1,2}, Mohammad Reza Eslahi^{1,3} and Mohammad Moradi⁴

1- Department of Genetics and Plant Breeding, Ahvaz Branch, Islamic Azad University, Ahvaz, Iran

2- Department of Plant Production and Genetics, Khuzestan Agricultural Sciences and Natural Resources University, Ahvaz, Iran, (Corresponding author: kh-alamisaeid@asnrukh.ac.ir)

3- Department of Plant Production and Genetics, Khuzestan Agricultural and Natural Resource Research and education Center, Areeo, Ahvaz, Iran

4- Department of Plant Production and Genetics, Shoushtar Branch, Islamic Azad University, Shoushtar, Iran

Received: 9 January, 2022 Accepted: 17 May, 2022

Extended Abstract

Introduction and Objective: Considering the importance of salinity in wheat and the multigene nature of this trait, the present study was conducted to investigate the expression of key genes involved in the response of wheat to this stress and to create their network.

Material and Methods: In this study, the expression of key genes (*HKT*, *DREB*, *bZIP*, *NAC*, and *WARKY*) involved in wheat (*ARG*, *AFLAK*, and *SIRVAN*) response to two salinity levels (14 and 21 dS/m) as a factorial experiment with completely random design were examined in three replications. Finally, their gene network was mapped using Pathway Studio 9.0 software.

Results: The analysis of *HKT*, *DREB*, *bZIP*, *NAC*, and *WARKY* gene expression showed their differential levels under salinity in wheat cultivars. So that most of their expression increased in the resistant cultivar *AFLAK* and semi-resistant cultivar *ARG*, while decreased in the sensitive cultivar *SIRVAN*. The gene network also revealed that these genes play an important role in the response of wheat to salinity stress as components involved in regulatory and transfer processes through interaction with protein kinases and protein phosphatases.

Conclusion: Based on the findings of this study, it can be concluded that the response of wheat to salinity is controlled by a complex network of regulatory genes such as transcription factors, transporters, protein kinases, protein phosphatases, etc. They can be used in future wheat breeding research.

Keywords: Gene network, Salinity, Transcription regulation, Wheat