

## «مقاله پژوهشی»

تأثیر تنش شوری بر الگوی بیان ژن‌های *SOS1* و *NHX1* در ارقام حساس و متحمل گندم زراعیرسول خداویردی‌وندکشتیبان<sup>۱</sup>، حسن سلطانلو<sup>۲\*</sup>، سیده ساناز رمضانپور<sup>۳</sup>، وحید شریعتی<sup>۴</sup>

۱. دانش‌آموخته دکتری اصلاح نباتات، دانشکده تولید گیاهی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.

۲. دانشیار گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده تولید گیاهی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.

۳. دانشیار گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده تولید گیاهی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.

۴. استادیار گروه زیست‌فناوری مولکولی گیاهی، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست‌فناوری، کرج، ایران.

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۳/۲۶ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۶/۱۲)

The effect of salinity stress on the expression pattern of *SOS1* and *NHX1* genes in susceptible and tolerant cultivars of wheat cropRasoul Khodavirdvand Keshtiban<sup>1</sup>, Hassan Soltanloo<sup>2\*</sup>, Seyedeh Sanaz Ramadanpour<sup>3</sup>, Vahid Shariati<sup>4</sup>

1. Ph.D of Plant Breeding, Faculty of Plant Production, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Grogan, Iran.

2. Associate Prof., Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Plant Production, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.

3. Associate Prof., Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Plant Production, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.

4- Assistant Prof., Department of Plant Molecular Biotechnology, National Research Institute of Genetic Engineering and Biotechnology, Karaj, Iran.

(Received: Jun. 26, 2022 - Accepted: Sep. 3, 2022)

## Abstract

Surveying the response and evaluating the salinity tolerance of wheat crop at the molecular level can be considered an important strategy in perception and comparing the defense mechanisms of wheat cultivars. For this purpose, a factorial experiment was conducted at Gorgan university of agricultural sciences and natural resources based on a completely randomized design with three replications in which the experimental factors were included wheat crop cultivars (Sarc 6 as tolerant cultivar and Chinese spring as susceptible cultivar) and sampling time series (control or 0, 24, 48, 72, 96 h after stress). In this experiment, salinity stress with a concentration of 250 mM of sodium chloride was applied to uniform 10-day seedlings in the two-leaf stage, and sampling of root and shoot tissues was performed. Then the amount of sodium and potassium ions and the relative expression of *SOS1* and *NHX1* genes were measured by the qPCR method in the following. The obtained results indicated that after applying salinity stress, the amount of  $\text{Na}^+$  in the shoot and root of both cultivars had raised trend with increasing sampling time. But about in the amount of  $\text{K}^+$ , depending on the plant organ, the response of the two cultivars and the trend of variations were different. Also the results showed that the expression pattern of *SOS1* and *NHX1* genes in the shoot and root of both cultivars, did not have a regular trend. In general, it can be concluded that in the root of the Sarc 6 cultivar, faster and more accumulation of genes transcript was evident. This issue indicates that the essential role of these genes in the root for reducing sodium ion absorption and establishing ionic homeostasis.

## چکیده

در سطح مولکولی، بررسی پاسخ و ارزیابی تحمل به شوری گندم زراعی، می‌تواند راهبرد مهمی در درک و مقایسه مکانیسم‌های دفاعی ارقام گندم محسوب گردد. بدین منظور، تحقیقی در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با ۳ تکرار صورت گرفت که فاکتورهای آزمایش شامل ارقام گندم زراعی (رقم متحمل سارک ۶ و رقم حساس بهاره‌چینی) و سری‌های زمانی نمونه‌برداری (صفر یا کنترل، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت پس از تنش) بودند. تنش شوری با غلظت ۲۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم بر روی گیاهچه‌های ۱۰ روزه یکنواخت در مرحله دو برگگی اعمال شده و نمونه‌برداری از بافت ریشه و اندام هوایی صورت گرفت. سپس میزان یون‌های سدیم و پتاسیم و در ادامه بیان نسبی ژن‌های *SOS1* و *NHX1* توسط روش qPCR اندازه‌گیری شد. نتایج حاکی از این بود که پس از اعمال تنش شوری، با افزایش زمان نمونه‌برداری، مقدار  $\text{Na}^+$  در اندام هوایی و ریشه رقم متحمل نسبت به رقم حساس کاهش یافته، اما در ارتباط با مقدار  $\text{K}^+$ ، پاسخ دو رقم و روند تغییرات، بسته به اندام گیاهی، متفاوت بود. همچنین نتایج نشان داد که الگوی بیان ژن‌های *SOS1* و *NHX1* در ریشه و اندام هوایی هر دو رقم، دارای روند منظمی نبود، اما در ریشه رقم سارک ۶، تجمع سریع‌تر و بیشتر رونوشت ژن‌ها مشهود بود که بیانگر نقش مهم این ژن‌ها در ریشه برای کاهش جذب یون سدیم و برقراری هموستازی یونی بود.

Keywords: *NHX1*, Potassium, Salinity, Sodium, *SOS1*واژه‌های کلیدی: پتاسیم، سدیم، شوری، *SOS1*، *NHX1*

### مقدمه

گندم نان (*Triticum aestivum* L.) مهم‌ترین، سازگارترین و گسترده‌ترین گیاه زراعی جهان به‌شمار می‌آید (Zand & Laalinia, 2019; Nazari et al., 2016) که عملکرد آن تحت تأثیر تنش‌های محیطی کاهش می‌یابد (Hosseini Salekdeh et al., 2009). تنش شوری از جمله تنش‌هایی است که به‌طور قابل توجهی باعث کاهش عملکرد گندم می‌شود (Shiran Tafti et al., 2019). اگرچه تخمین‌ها نشان می‌دهد که در مناطق شور، امکان دارد میانگین کاهش عملکرد گیاهان زراعی به بیشتر از ۵۰ درصد برسد (Qureshi et al., 2007)، اما در گندم، تحت تنش‌های غیر زیستی، ممکن است عملکرد تا ۸۰ درصد نیز کاهش یابد (Rahaie et al., 2012). این در حالی است که ایران پس از کشورهای هند و پاکستان بیشترین زمین‌های شور کشاورزی جهان را داراست (Vashev et al., 2010). لذا ضروری است با ایجاد ارقام به نسبت متحمل به شوری گندم از منابع ژنتیکی موجود، تولید گندم سازگار با شرایط تنش شوری را امکان‌پذیر ساخت (Jalal Kamali et al., 2012).

در این بین، واکنش ارقام گندم به تنش شوری بسیار متفاوت بوده و بدیهی است که بررسی سازوکارهای دفاعی و به‌ویژه تغییرات الگوی بیان ژن‌های مرتبط با تحمل به شوری دارای اهمیت بالایی می‌باشند. همچنین بررسی‌ها حاکی از این است که بیان ژن‌های دخیل در تحمل به شوری، در ژنوتیپ متحمل و حساس از نظر زمان و میزان بیان متفاوت هستند، اما عدم مقایسه و مطالعه همزمان این ژن‌ها در گیاهان حساس و متحمل، امکان تمایز و شناسایی بهتر ژن‌های دخیل در تنش را میسر می‌سازد (Rodrigues et al., 2009; Kawasaki et al., 2009).

(2001). از سوی دیگر، رقم متحمل سارک ۶ یکی از محتمل‌ترین ارقام گندم به تنش شوری می‌باشد که در مرکز تحقیقات پاکستان (SARC) تولید شده‌است اما اطلاعات زیادی در مورد سازوکارهای مولکولی تحمل به تنش شوری در این رقم وجود ندارد. بنابراین این تحقیق با هدف کسب اطلاعات مرتبط با تغییرات الگوی بیان ژن‌های آنتی‌پورتر سدیم پروتون مستقر در غشاء واکوئلی و پلاسمایی در اندام هوایی و ریشه رقم متحمل سارک ۶ و مقایسه آن با رقم حساس بهاره چینی صورت گرفت.

### پیشینه پژوهش

تنش شوری در گیاهان، نتیجه فرآیندهای زیان‌آوری چون غلظت بالای املاح و سمیت یون‌های  $Na^+$  و  $Cl^-$ ، تغییر وضعیت آب بافت‌های گیاهی و تنش‌های ثانویه نظیر تنش اکسیداتیو (Baji et al., 1998) و همچنین عدم تعادل یونی بین یون‌هایی همانند سدیم، کلسیم و پتاسیم (Gorham et al., 1987) و یا اختلال در جذب عناصر غذایی مورد نیاز (Boursier & Lauchli, 1990) همانند یون‌های پتاسیم و کلسیم می‌باشد. در حالت کلی، شوری با کاهش جذب عناصر غذایی ضروری مورد نیاز گیاه، موجبات تنش یونی را فراهم می‌سازد (Munns, 2002)، در حالیکه با کاهش جذب آب و تبادلات گازی، سبب ایجاد تنش اسمزی می‌گردد (Murillo-Amador et al., 2006). تحمل به تنش شوری در سطح مولکولی، دارای شبکه پیام‌رسان پیچیده‌ای است که حاوی چندین مسیر انتقال پیام بوده به‌طوری‌که این شبکه به گیاهان توانایی لازم جهت پاسخ سریع و مناسب را می‌دهد (Zhu 2001). پاسخ گیاهان به تنش شوری، در نتیجه تغییر الگوی بیانی ژن‌های پاسخ‌دهنده به تنش می‌باشد که این ژن‌ها در دو گروه عملکردی و تنظیمی قرار می‌گیرند (Hossein Yar et al., 2011).

Shi (2000) از طریق دفع یون  $\text{Na}^+$  به آپوپلاست (Shi *et al.*, 2000) و کارکرد آنتی‌پورتر *NHX1*، انتقال سدیم به داخل واکوئل‌ها و تنظیم اسمزی سلول (Blumwald *et al.*, 2000) از طریق پمپاژ سدیم سیتوزولی به واکوئل‌ها (Gaxiola *et al.*, 1999) می‌باشد. هر دوی این آنتی‌پورترها توسط نیروی پروتون حرکتی تولیدشده توسط  $\text{H}^+$ -ATPase فعال می‌شوند (Blumwald *et al.*, 2000). گزارش‌های متعددی در گیاهان مختلف، نقش ژن‌های *SOS1* و *NHX1* در تحمل به شوری را تایید می‌کند که در ارتباط با ژن *SOS1* می‌توان به گوجه‌فرنگی (Rao *et al.*, 2021)، گندم (Gomarian *et al.*, 2009)، ذرت (Ebrahimipour *et al.*, 2009) و گوجه‌فرنگی (Huertas *et al.*, 2012) و همچنین در ارتباط با ژن *NHX1* جو (Yousefi Rad *et al.*, 2019)، چغندرقد (Li *et al.*, 2022)، یونجه (Zahran *et al.*, 2007) و برنج (Solis *et al.*, 2002) اشاره داشت.

### مواد و روش‌ها

این تحقیق در سال ۱۳۹۸ در آزمایشگاه دانشکده تولید گیاهی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. فاکتورهای آزمایش شامل ارقام گندم زراعی به‌عنوان فاکتور اول با دو سطح؛ دربرگیرنده رقم بهاره چینی (حساس به شوری) و رقم سارک ۶ (متحمل به شوری) و سری‌های زمانی نمونه‌برداری به‌عنوان فاکتور دوم با هفت سطح؛ دربرگیرنده نمونه‌برداری در زمان‌های شاهد یا کنترل، ۶، ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ (ساعت) پس از اعمال تنش شوری بودند. جهت کاشت و اعمال تنش شوری در مرحله گیاهچه‌ای، ابتدا بذور با استفاده از محلول هیپوکلرید سدیم و اتانول ۷۰ درصد ضدعفونی شدند. سپس بذور جوانه‌زده یکنواخت به شرایط رشد هیدروپونیک با استفاده از محلول غذایی Hoagland

محصول ژن‌های عملکردی، شامل پروتئین‌های عملکردی چون آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (Bartels, 2001)، پروتئین‌های مرتبط با تنظیم‌کننده‌های اسمزی همانند اسید آمینه‌های پرولین و بتائین (Ahmed *et al.*, 2015; Tamura *et al.*, 2003) و همچنین ترانسپورترها (Klein *et al.*, 2004) و آنتی‌پورترها (Zulfiqar *et al.*, 2012) می‌باشند. آنتی‌پورترها گروه‌های مهمی از ژن‌ها هستند که نقش اصلی در هموستازی یونی گیاهان دارند. آنتی‌پورترهای  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  غلظت مناسب یون‌ها را در سیتوزول حفظ می‌کنند و در نتیجه سایت را به حداقل می‌رسانند (Fahmideh & Fooladvand, 2018). حفظ هموستازی نسبت پتاسیم به سدیم در گیاهان، به‌جهت تحمل به تنش شوری، دارای اهمیت بالایی می‌باشد (Shabala & Cuin, 2007). افزایش سدیم در محیط ریشه ضمن افزایش جذب و تجمع آن در گیاه، منجر به برهم زدن تعادل کاتیونی و کاهش یون پتاسیم در گیاه می‌گردد (Esfandiari *et al.*, 2013; Deinlein *et al.*, 2014). زمانی که گیاه در معرض غلظت‌های بالای یون سدیم قرار می‌گیرد و حجم وسیعی از این یون به‌سمت سیتوزول سرازیر می‌گردد، هموستازی پتاسیم-سدیم برهم می‌خورد (Fatemi *et al.*, 2015). بنابراین ارتباط شاخص نسبت پتاسیم به سدیم با میزان تحمل به نمک بافت‌ها به‌عنوان معیاری صحیح و کافی جهت اصلاح گیاهان شمرده شده است (Suhayda *et al.*, 1992). در این میان، گیاهان متحمل به شوری از طریق آنتی‌پورترهای واقع در غشای پلاسمایی *SOS1* و یا پروتئین *NHX1* واقع در غشای تونوپلاست واکوئل، یون سدیم در برگ‌ها را پایین نگه می‌دارند (Hasegawa, 2013). ژن‌های فعال‌کننده این آنتی‌پورترها، مسئول کنترل غلظت یون‌ها در سیتوزول بوده (Fahmideh & Fooladvand, 2018) به‌طوری‌که کارکرد مسیر پیام‌رسان *SOS*، کنترل هموستازی یونی (Sanders,

### روش اندازه‌گیری یون‌های سدیم و پتاسیم

برای تهیه عصاره یون‌های سدیم و پتاسیم، از روش رایان استفاده شد (Ryan *et al.*, 2001). برای سنجش کمی سدیم و پتاسیم از فلیم‌فتمتر (Model PFP7, UK) استفاده گردید. میزان یون‌های مربوطه بر حسب واحد میلی‌گرم بر گرم وزن خشک محاسبه گردید (نمونه‌ها شامل ۵ گیاه در ۳ تکرار بود). تجزیه آماری با استفاده از نرم‌افزار SAS صورت‌پذیرفته و مقایسه میانگین‌ها بر اساس روش LSD و اختلافات معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد بررسی شد. در انتها نمودارها با استفاده از نرم‌افزار اکسل ترسیم شدند.

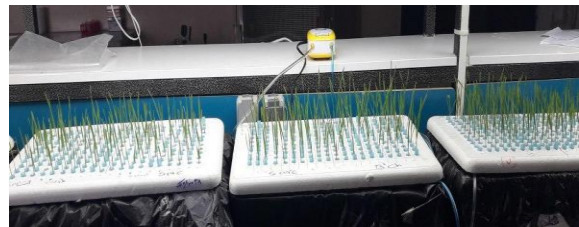
### استخراج RNA و ساخت cDNA

جهت استخراج RNA از نمونه‌های اندام هوایی و ریشه ارقام مربوطه، در مرحله دو برگی، از بافر پی‌بی‌وزول (p-Biozol Buffer) براساس دستورالعمل شرکت بیوفلکس (BioFlux, Japan) استفاده شد (Kiani *et al.*, 2017). جهت تعیین کیفیت، نمونه‌های RNA استخراج‌شده با استفاده از الکتروفورز ژل آگارز یک درصد الکتروفورز شدند. سپس از تیمار DNaseI به‌منظور حذف آلودگی‌های DNA ژنومی تمامی نمونه‌ها استفاده شد. بعد از حذف DNA ژنومی، برای متوقف کردن فعالیت آنزیم DNaseI به میزان یک میکرولیتر EDTA (با غلظت ۲۵ میلی‌مول) به تیوب اضافه شد و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. در نهایت، نمونه‌ها در فریزر منفی ۸۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

جهت سنتز cDNA بر مبنای پروتکل پیشنهادی شرکت فرمنتاز از آغازگرهای اولیگودی تی و آب دیس استفاده شد و این مواد در تیوب حاوی نمونه‌های RNA در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه قرار داده شدند. سپس جهت تهیه واکنش ترانسکریپتاز معکوس، مخلوط واکنش (شامل ۴

& Arnon (1950) منتقل شدند (شکل ۱). تست‌های کشت (هر رقم دارای ۳ واحد آزمایشی و هر واحد دارای ۲۰۰ گیاهچه) در محیط کنترل‌شده با شرایط ۱۶ ساعت روشنایی همراه با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و ۸ ساعت تاریکی همراه با دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. محلول غذایی هر سه روز یک‌بار تعویض و pH آن با استفاده از هیدروکسید سدیم (NaOH) بین ۵/۵ تا ۶/۵ تنظیم شد. بر پایه نتایج آزمون جوانه‌زنی، تنش شوری با غلظت ۲۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم انتخاب گردیده و بر روی گیاهچه‌های ۱۰ روزه یکنواخت در مرحله دو برگی اعمال شد.

کلرید کلسیم (CaCl<sub>2</sub>) برای حفظ نسبت ۱۰:۱ سدیم به کلسیم به محلول کلرید سدیم اضافه گردید. نمونه ریشه و اندام هوایی هر رقم در زمان صفر، قبل اعمال تنش شوری و زمان‌های ۶، ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت بعد از اعمال تنش، در سه تکرار برداشت شدند و جهت اندازه‌گیری صفات مورد استفاده قرار گرفتند.



شکل ۱. بذور جوانه‌زده جهت انتقال به محیط کشت هیدرو پونیک (الف) نمونه‌ای از گیاهچه‌های کشت شده در محیط کشت هیدرو پونیک جهت اعمال تنش شوری (ب).

(www.embnet.sk/cgi-bin/primer3\_www.cgi) براساس ناحیه 3'UTR صورت گرفت. کنترل اختصاصی بودن آغازگرها با استفاده از برنامه Primer-Blast سایت NCBI صورت پذیرفت. مشخصات و توالی آغازگرهای مورد استفاده در آزمایش واکنش زنجیره‌ای پلیمرز در زمان واقعی در جدول ۱ نشان داده شده است. آزمایش واکنش زنجیره‌ای پلیمرز از در زمان واقعی برای هر آغازگر توسط دستگاه IQ5 شرکت بایورد (ایالات متحده آمریکا) و با استفاده از تکنولوژی رنگ سایبرگرین به عنوان رنگ فلورسنس انجام شد. ۲۰ میکرولیتر مخلوط واکنش شامل ۳ میکرولیتر cDNA (با رقت ۱:۲۰)، ۰/۵ میکرولیتر از هر آغازگر اختصاصی (پسرو و پیشرو) با غلظت ۱۰ میکرو مولار، ۹/۹ میکرولیتر مخلوط سایبرگرین، ۰/۵ میکرولیتر دی‌متیل سولفو اکساید، ۲/۰ میکرولیتر آنزیم TaqDNA Polymerase بود که حجم محلول واکنش با استفاده از آب مقطر دوبار تقطیر عاری از RNase به ۲۰ میکرولیتر تنظیم و برای انجام واکنش مورد استفاده قرار گرفت. آزمون ارزیابی کمی با سه تکرار تکنیکی انجام شد تا صحت و دقت نتایج تایید گردد. جهت ارزیابی و محاسبه میزان بیان ژن از روش Ct مقایسه‌ای (Comparative C<sub>T</sub> (2<sup>-ΔΔCT</sup>)) استفاده شده است. داده‌های به دست آمده بین ژن‌های هدف و مرجع از دستگاه Real-time PCR، توسط نرم‌افزار REST2000 (pfafl 2001) تجزیه و تحلیل شده و نمودارها با نرم‌افزار اکسل رسم شدند.

میکرولیتر بافر (۵X)، ۲ میکرولیتر dNTP (۱۰ میکرومولار)، ۱ میکرولیتر آنزیم ترانس کریپتاز، ۰/۵ میکرولیتر RNase inhibitor و ۱/۵ میکرولیتر آب دیونیزه دوبار تقطیر) به تیوب اضافه گردید و به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۴۲ درجه انکوباتور قرار گرفتند. سپس جهت متوقف کردن فعالیت آنزیم رونوشت‌بردار معکوس، تیوب‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. در نهایت به میزان ۳۸۰ میکرولیتر آب دیونیزه (دوبار تقطیر شده) به تیوب‌ها اضافه گردید و در فریزر منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردیدند.

**بررسی کیفیت cDNA و آغازگرهای مورد مطالعه**  
برای بررسی اطمینان از صحت و کیفیت cDNAهای ساخته شده و همچنین به منظور به دست آوردن دمای بهینه آغازگرها برای واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز در زمان واقعی، از دستگاه ترموسایکلر مدل Bio-Rad استفاده شد. بدین منظور از آغازگرهای ژن خانه‌دار GAPDH و β-Actin استفاده شد. سپس محصول تکثیر واکنش با استفاده از الکتروفورز ژل آگارز یک درصد و همچنین رنگ آمیزی با سایبرگلد کنترل گردید.

### طراحی آغازگر و تجزیه کمی PCR Quantitative Real-Time

در این تحقیق از آغازگرهای اختصاصی ژن‌های متحمل به شوری *SOS1* و *NHX1* استفاده شد. بدین منظور، توالی ژن‌های *SOS1* و *NHX1* از سایت NCBI مشخص گردید و بر این اساس، طراحی آغازگر به کمک نرم‌افزار Primer3

جدول ۱. مشخصات آغازگرهای مورد استفاده در آزمایش واکنش زنجیره‌ای پلیمرز از در زمان واقعی

نام آغازگر	نام ژن	توالی آغازگر	دمای اتصال (C°)	شماره دسترسی	لینک دسترسی
<i>HvSOS1</i>	Forward Reverse	5'-TCAGAAGTCAGCCTGGTAGC-3' 5'-CTGGTTCGCTTCCACATGAG-3'	۵۴	XM_044498969.1	<a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/2123755962">https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/2123755962</a>
<i>HvNHX1</i>	Forward Reverse	5'-AACTACGGTCTTCTGCCTCC-3' 5'-GTCTGGATCGGTGGCTCTAT-3'	۵۴	XM_044592516.1	<a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/2123613221">https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/2123613221</a>

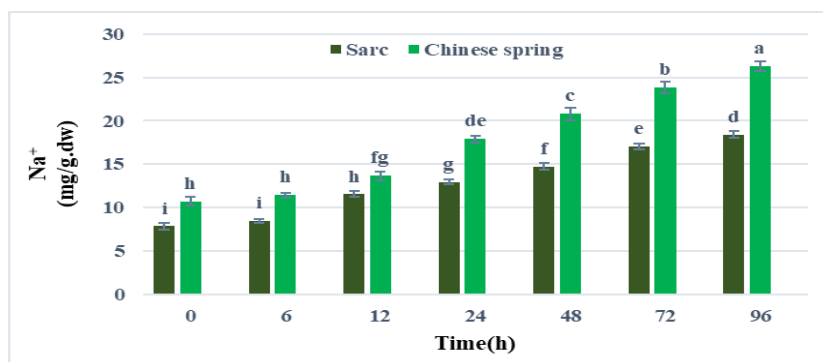
<i>β-Actin</i>	Forward	5'-GTCTGGATCGGTGGCTCTAT-3'	۵۴	XM_044594643.1	<a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/2123619174">https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/2123619174</a>
	Reverse	5'-GCAGCAAGTCCCTTTGTAA-3'			
<i>GAPDH</i>	Forward	5'-GTTGGCAAGGTGCTCCCAAGA-3'	۵۷	XM_045099798.1	<a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/2133634518">https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/2133634518</a>
	Reverse	5'-GCTCATAGGTGGCTGGCTTG-3'			

ساعت خود رقم سارک ۶ اختلاف معنی‌دار نداشتند. نتایج حاکی از این بود که پس از اعمال تنش شوری، با افزایش زمان نمونه‌برداری، مقدار  $Na^+$  در اندام هوایی و ریشه هر دو رقم روند افزایشی داشته‌است، اما مقدار آن در رقم حساس بهاره چینی نسبت به رقم متحمل سارک ۶ بیشتر بود. در نتایج مشابهی، Baghizadeh et al. (2019) در بررسی وضعیت یون‌های سدیم و پتاسیم در بافت‌های مختلف گندم گزارش نمودند با اعمال تنش شوری، ضمن افزایش معنی‌دار غلظت یون  $Na^+$  در کلیه اندام‌های گیاهی، غلظت این یون در اندام‌های ارقام متحمل کمتر از ارقام حساس بود.

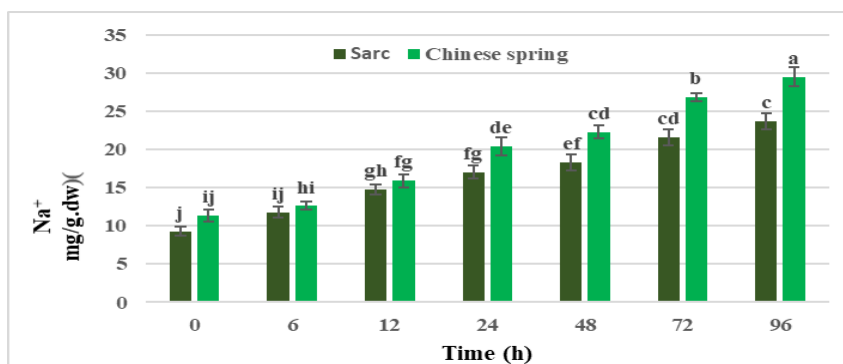
## نتایج و بحث

### تغییرات یون‌های سدیم و پتاسیم

نتایج مقایسه میانگین (اثرات متقابل) تأثیر زمان‌های مختلف نمونه‌برداری و رقم بر روی یون سدیم نشان داد (شکل ۲) بیشترین مقدار  $Na^+$  در اندام هوایی متعلق به رقم بهاره چینی در زمان ۹۶ ساعت پس از تنش بود، در حالیکه کمترین مقدار متعلق به رقم سارک ۶ در زمان صفر بود که با زمان ۶ ساعت خود این رقم اختلاف معنی‌دار نداشت. همچنین در ریشه، بیشترین مقدار  $Na^+$  متعلق به رقم بهاره چینی در زمان ۹۶ ساعت بود، در حالیکه کمترین مقدار متعلق به رقم سارک ۶ در زمان صفر بود که با زمان‌های صفر بهاره چینی و زمان ۶



(الف)



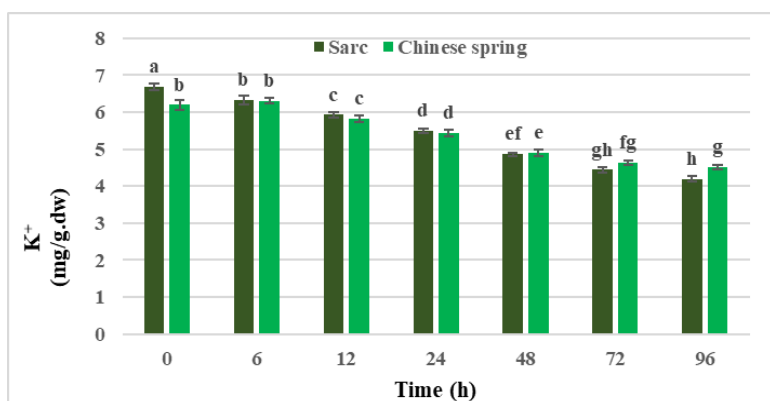
(ب)

شکل ۲. مقایسه میانگین اثرات متقابل صفت سدیم اندام هوایی (الف) و ریشه (ب) ارقام گندم تحت تنش شوری. (میانگین‌های دارای حروف مشترک، اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد ندارند).

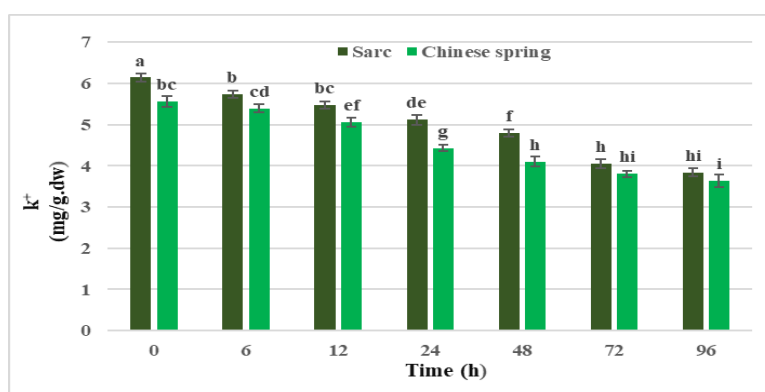
(*al.*, 2016). نتایج آزمایش‌ها حاکی از آن است که در ارقام متحمل گندم تنظیم یونی بهتر از ارقام حساس صورت می‌گیرد (Sharma, 1996). نتایج مقایسه میانگین (اثرات متقابل) تأثیر زمان‌های مختلف نمونه‌برداری و رقم بر روی یون پتاسیم نشان داد (شکل ۳) بیشترین مقدار  $K^+$  در اندام هوایی متعلق به رقم سارک ۶ در زمان ۶ در زمان صفر ساعت پس از تنش بود، در حالیکه کمترین مقدار نیز متعلق به رقم سارک ۶ در زمان ۹۶ ساعت بود که با زمان ۷۲ ساعت خود این رقم اختلاف معنی‌دار نداشت. همچنین در ریشه، بیشترین مقدار  $K^+$  متعلق به رقم سارک ۶ در زمان صفر ساعت بود، در حالیکه کمترین مقدار متعلق به رقم بهاره چینی در زمان ۹۶ ساعت بود که با زمان‌های ۹۶ ساعت سارک ۶ و زمان ۷۲ ساعت خود رقم بهاره چینی اختلاف معنی‌دار نداشتند.

Rajabi *et al.* Sadeghi & Emam (2005) نیز،

در مطالعه اثرات تنش شوری بر گندم، ضمن گزارش افزایش یون  $Na^+$  در اندام هوایی ارقام متحمل و حساس، مشاهده نمودند افزایش این یون در رقم متحمل کمتر بوده و نتیجه گرفتند ممکن است این مسئله با مکانیسم دفع سدیم در این رقم همراه باشد. (2005) اظهار داشتند گندم جزو گونه‌های گلیکوفیت بوده که مقاومت به شوری را از طریق سازوکار دفع یونی نشان می‌دهد به طوری که هر رقمی که توانایی کمتری از این طریق داشته باشد رقم حساس است. همچنین محققین گزارش نموده‌اند که افزایش میزان کلرید سدیم، ضمن برهم زدن تعادل کاتیونی، موجب جذب بیشتر یون  $Na^+$  توسط ریشه گندم شده و در ادامه، بلافاصله سدیم از طریق آوند چوبی به اندام‌های هوایی منتقل گردیده و در نتیجه تجمع یون  $Na^+$  در اندام هوایی افزایش می‌یابد (Attarzadeh *et*



(الف)



(ب)

شکل ۳. مقایسه میانگین اثرات متقابل صفت پتاسیم اندام هوایی (الف) و ریشه (ب) ارقام گندم تحت تنش شوری. (میانگین‌های دارای حروف مشترک، اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد ندارند.)

1998). محققین اظهار داشته‌اند به دلیل تشابه عنصری سدیم و پتاسیم و همچنین دسترسی بالای عنصر سدیم در محیط ریزوسفر در رقابت با یون پتاسیم، میزان جذب سدیم بر پتاسیم پیشی گرفته و کارکرد پتاسیم در گیاه با اختلال مواجه می‌شود (Vojodi Mehrabani *et al.*, 2017).

#### بررسی الگوی بیان ژن *SOS1* و *NHX1*

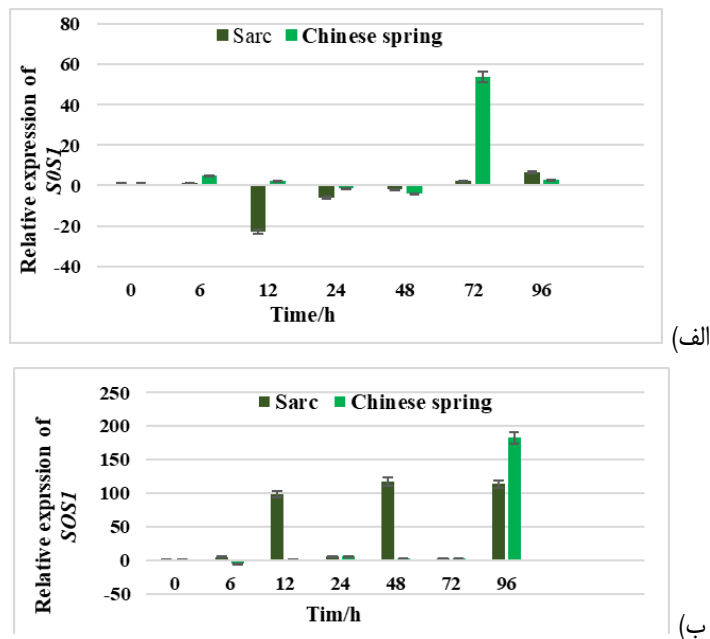
الگوی بیان ژن *SOS1* در ریشه و اندام هوایی ارقام متحمل و حساس (در ۳ تکرار) در مقایسه با کنترل (بدون اعمال تنش) در شکل ۴ نشان داده شده است. نتایج نشان داد در اندام هوایی، بیشترین و کمترین بیان ژن، به ترتیب به رقم بهاره چینی در ۷۲ ساعت و رقم سارک ۶ در زمان ۱۲ ساعت تعلق داشت در حالیکه در اندام ریشه، بیشترین و کمترین میزان بیان ژن متعلق به رقم بهاره چینی به ترتیب در زمان‌های ۹۶ و ۶ ساعت بود. به طور کلی نتایج حاکی از این بود که کاهش یا افزایش بیان این ژن در نمونه‌های ریشه و اندام هوایی هر دو رقم، دارای روند منظمی نبوده اما در زمان انتهایی نمونه‌برداری نسبت به زمان کنترل، در هر دو رقم بیان ژن *SOS1* افزایش یافت، ولی در ریشه با شدت بالاتری نسبت به شرایط کنترل بیان گردید، به طوری که در پایان زمان

نتایج حاکی از این بود که پس از اعمال تنش شوری، با افزایش زمان نمونه‌برداری، مقدار  $K^+$  در اندام هوایی و ریشه هر دو رقم روند کاهشی داشته‌است، اما بین دو رقم، رجحان خاصی به‌ویژه در ریشه وجود نداشت. تحقیقات حاکی از آن است که جذب یون  $Na^+$  با جذب یون  $K^+$  در شرایط رقابتی بوده و موجب کاهش جذب یون  $K^+$  توسط ریشه می‌گردد (Mittal & Dubey, 1991). این کاهش می‌تواند به علت رقابت یون  $Na^+$  بر سر مکان‌های اتصال به ناقل‌ها در غشاء پلاسمایی و همچنین نشت پتاسیم به دلیل عدم ثبات غشاء باشد (Ferreira-Silva *et al.*, 2008). در عین حال در نتایج مشابهی با این تحقیق، Farhoudi (2014) در بررسی اثر تنش شوری در گندم زراعی گزارش نمود با اعمال تنش شوری در کلیه ارقام مقدار یون  $K^+$  کاهش یافت. همچنین گزارش شده است با افزایش تنش شوری از تیمار شاهد به تیمار ۳۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم، در تمامی ارقام مورد مطالعه گندم، جذب یون  $K^+$  کاهش یافته‌است (Heidari & Mesri, 2010). در نتایج مشابهی دیگر بروی گیاهان گندم، سورگوم و ارزن نیز مشاهده شد مقدار یون  $K^+$  در اندام‌های گیاهی همه ارقام به‌ویژه در ریشه کاهش یافت (Konderative & Rybkina, 2010).



تنظیم یون سدیم است. همچنین در نتایج مشابه، Xu *et al.* (2008) در گندم مشاهده نمودند در اندام ریشه پس از ۴۸ ساعت از اعمال تنش شوری، میزان بیان ژن *SOS1* نسبت به شرایط کنترل دو برابر شد در حالیکه در برگ‌ها بیان ژن ضمن تأخیر نسبت به ریشه، تقریباً ثابت باقی‌ماند. در این تحقیق به نظر می‌رسد هر دو رقم از این سازوکار جهت تحمل به شوری بهره‌جسته‌اند که البته سرعت بیان و مقدار آن بسته به اندام گیاهی متفاوت بوده‌است. دلیل تنوع ژنتیکی اندام‌های مختلف گیاه گندم در ارتباط با تحمل به شوری هنوز ناشناخته‌است (Cherki *et al.*, 2002).

نمونه‌برداری مقدار بیان ژن در ریشه هر دو رقم بیش از ۱۰۰ برابر زمان کنترل بوده‌است. کارکرد ژن *SOS1* به‌عنوان آنتی‌پورتر سدیم/پروتون، بازیافت سدیم از آوندهای چوبی و انتقال آن به شیره آوند آبکش در اندام هوایی جهت تسهیل خروج آن از طریق ریشه‌ها می‌باشد (Munns & Tester, 2008). ریشه‌ها اولین اندام محسوب می‌گردند که با تنش شوری مواجه‌گشته و هموستازی یون‌های سدیم و کلر و خروج یون سدیم از ریشه، از مهم‌ترین مکانیسم‌های مقابله با تنش شوری در گیاهان عالی محسوب می‌گردد (Yousefi Rad *et al.*, 2019). بر این اساس از نتایج چنین استنباط می‌شود که در رقم متحمل سارک، بیان پایین‌تری از ژن در اندام هوایی را شاهد هستیم که دلیل آن مؤثر بودن سازوکار هموستازی یونی در اندام ریشه، جهت



شکل ۴. الگوی بیان ژن *SOS1* اندام هوایی (الف) و ریشه (ب) ارقام متحمل و حساس گندم

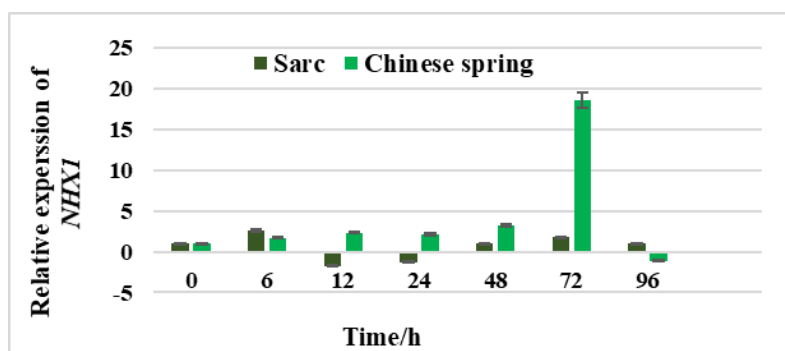
ژن در هر دو رقم در زمان انتهایی نمونه‌برداری به‌ویژه در ریشه (نسبت به زمان کنترل) مشاهده شد. الگوی بیان ژن *NHX1* در ریشه و اندام هوایی ارقام متحمل و حساس در مقایسه با زمان کنترل

اما اعتقاد کلی بر این است که طی تنش شوری در گیاهان میزان بیان ژن *SOS1* افزایش می‌یابد (Masmoudi-Allouche *et al.*, 2002). منطبق بر این دیدگاه در این تحقیق نیز افزایش بیان این

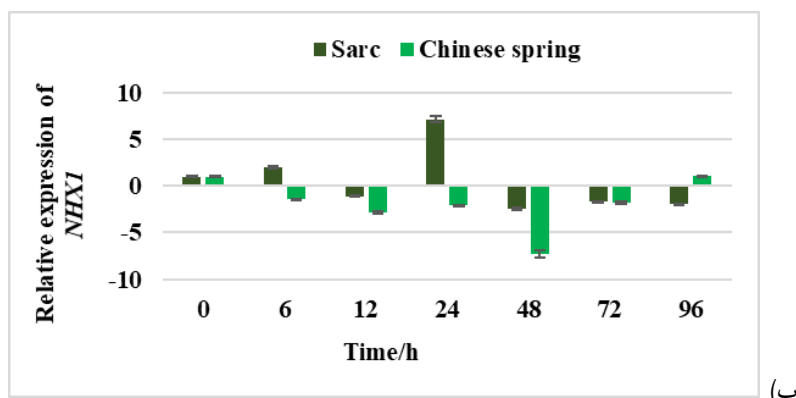
*NHX* کد نمودن آنتی‌پورتر  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  واکوئلی است که وظیفه انتقال و تجمع یون‌های سدیم در واکوئل‌ها را ایفا می‌کنند (Nass *et al.*, 1997). پمپ‌های *V-ATPase* به‌همراه پمپ‌های  $\text{H}^+$ -ATPase واقع در تونوپلاست واکوئل، نیرو و شیب الکتروشیمیایی پروتون لازم جهت فعالیت آنتی‌پورتر *NHX1* جهت تجمع یون سدیم در واکوئل‌ها را فراهم می‌کنند (Chinnusamy *et al.*, 2006). نتایج نشان می‌دهد رقم حساس بهاره چینی از این سازوکار در اندام هوایی با شدت بالاتری نسبت به ریشه جهت تحمل به تنش استفاده کرده‌است به‌طوری‌که از زمان کنترل تا زمان ۷۲ ساعت پس از تنش، بیان بالایی از این ژن مشاهده گردید در حالیکه رقم سارک ۶ در ریشه، در زمان‌های ابتدایی به‌ویژه زمان ۲۴ ساعت پس از تنش، از این سازوکار استفاده نموده‌است. همچنین در زمان ابتدایی پس از تنش (۶ ساعت) رقم متحمل سارک ۶ در هر دو اندام عکس‌العمل همگن و بالاتری در بیان ژن *NHX1* داشته‌است.

گزارش‌ها حاکی از آن است که در حالت کلی سازوکارهای اصلی تحمل به شوری در گیاهان در مرحله اول شامل انتقال مقادیر پایینی از یون سدیم از ریشه به اندام‌های هوایی و در مرحله

بدون اعمال تنش شوری) در شکل ۵ نشان داده شده‌است. نتایج نشان داد در اندام هوایی، بیشترین و کمترین بیان ژن، به‌ترتیب به رقم بهاره چینی در زمان ۷۲ ساعت (۱۷ برابر کنترل) و رقم سارک ۶ در ۱۲ ساعت تعلق داشت در حالیکه در اندام ریشه، بیشترین و کمترین میزان بیان ژن، به‌ترتیب متعلق به رقم سارک ۶ در زمان ۲۴ ساعت و رقم بهاره چینی در زمان ۴۸ ساعت بود. به‌طور کلی نتایج حاکی از این بود که کاهش یا افزایش بیان این ژن در نمونه‌های ریشه و اندام هوایی هر دو رقم فاقد روند منظم بود. همچنین در زمان انتهایی نمونه‌برداری نسبت به زمان کنترل، در اندام هوایی در رقم بهاره چینی، بیان ژن *NHX1* کاهش یافته و در رقم سارک ۶ تغییر محسوسی رخ نداد، برعکس در زمان انتهایی نمونه‌برداری نسبت به زمان کنترل، در اندام ریشه در رقم سارک ۶، بیان ژن *NHX1* کاهش و در رقم بهاره چینی افزایش محسوسی نداشت. تحمل به شوری در گندم با انتقال کمتر یون‌های سدیم به اندام هوایی و حفظ نسبت پایین سدیم به پتاسیم مرتبط است (Wei *et al.*, 2003). گزارش‌های مختلف در گیاهان نشان می‌دهد که ژن‌های *NHX* در تحمل به شوری و برقراری هموستازی یون سدیم و پتاسیم در گیاهان نقش دارند (Brett *et al.*, 2005). کارکرد ژن‌های



(الف)



شکل ۵. الگوی بیان ژن *NHX1* اندام هوایی (الف) و ریشه (ب) ارقام متحمل و حساس گندم

نسبی کمتر  $\text{Na}^+$  در ریشه، کنترل بهتری در زمینه سمیت یونی اعمال نماید. در تایید داده‌های تغییرات یون‌ها، اندازه‌گیری تجمع رونوشت ژن‌های *SOS1* و *NHX1* حاکی از این بود که در رقم متحمل، سازوکار تحمل به شوری از طریق خروج یون سدیم به فضای آپوپلاستی یا محدود کردن انتقال آن از ریشه به اندام هوایی می‌تواند در نهایت منجر به حفظ کارآمدتر هموستازی یونی در سلول‌ها شود. برای درک بهتر تمام سازوکارهای دخیل در تحمل به شوری در رقم متحمل سارک ۶ پیشنهاد می‌شود تحلیل جامع ترانسکریپتوم و پروتئوم همراه با مطالعات گسترده مورفوفیزیولوژیک در مراحل مختلف رشدی انجام گرفته تا تمام مسیرهای بیوشیمیایی و مولکولی بالقوه دخیل در تحمل به شوری هر چه بیشتر روشن گردد. بی‌تردید آنالیز ترانسکریپتوم و شناسایی ژن‌های متحمل شوری در گیاه گندم، ضمن فراهم نمودن تصویری بهتر از مکانیسم‌های کلیدی تنش شوری، اطلاعات مفیدی جهت شناسایی و انتقال ژن‌های کلیدی از طریق بیوتکنولوژی و تولید ارقام متحمل در گندم فراهم خواهد ساخت.

دوم شامل تحمل غلظت‌های زیاد یون سدیم در داخل واکوئل‌های سلول‌های گیاهان است (Molla Heydari Bafghi *et al.*, 2017; Gorham *et al.*, 1987). بنابراین به نظر می‌رسد رقم حساس بهاره چینی به دلیل بهره‌مندی کمتر از سازوکار مرحله اول نسبت به رقم متحمل، در مرحله دوم جهت تحمل غلظت یون سدیم در اندام هوایی، از افزایش بیان ژن *NHX1* و سایر مکانیسم‌ها استفاده نموده‌است، در حالیکه رقم متحمل سارک ۶ در هر دو مرحله عملکرد مناسب‌تری داشته‌است. در نتایج مشابهی، Gomarian *et al.* (2012) نیز در بررسی بیان ژن‌های قابل القاء توسط تنش شوری در ارقام حساس و متحمل گندم (ماهوتی و بهاره چینی) اعلام نمودند بیان ژن *NHX1* در هر دو رقم معنی‌دار بود. همچنین گزارش شده است تفاوت ژنتیکی در مقدار انتقال یون سدیم از ریشه‌ها منجر به تفاوت ژنتیکی در مقدار انتقال این یون به اندام هوایی می‌گردد (Davenport *et al.*, 2005).

نتایج کلی نشان دادند که ژنوتیپ متحمل سارک ۶ نسبت به ژنوتیپ حساس توانست با جذب

## REFERENCES

Ahmed, I. M., Nadira, U. A., Bibi, N., Zhang, G., & Wu, F. (2015). Tolerance to combined stress of drought and

salinity in barley. In *Combined Stresses in Plants* (pp. 93-121). Springer, Cham.

- Ali, Z., Zhang, D. Y., Xu, Z. L., Xu, L., Yi, J. X., He, X. L., ... & Ma, H. X. (2012). Uncovering the salt response of soybean by unraveling its wild and cultivated functional genomes using tag sequencing. *PLoS One*, 7(11).
- Attarzadeh, M., Movahhedi Dehnavi, M., & Ghaffarian Hedesh, M. (2016). Comparison of the effect of water deficit and salt stresses on the growth, sodium and potassium content of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Cereal Research*, 6(4), 465-476.
- Baghizadeh, A., Aram Kasmaie, M., Mohammadi Nejad, G., & Nakhoda, B. (2019) Evaluation of seed yield and accumulation status of sodium, potassium and magnesium ions in different tissues of sensitive and tolerant wheat (*Triticum aestivum* L.) Varieties. *Journal of Crop Breeding* 11(31): 174-184. (in persian)
- Bajji, M., Kinet, J. M., & Lutts, S. (1998). Salt stress effects on roots and leaves of *Atriplex halimus* L. and their corresponding callus cultures. *Plant science*, 137(2), 131-142.
- Bartels, D. (2001). Targeting detoxification pathways: an efficient approach to obtain plants with multiple stress tolerance?. *Trends in Plant Science*, 6(7), 284-286.
- Blumwald, E., Aharon, G. S., & Apse, M. P. (2000). Sodium transport in plant cells. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1465(1-2), 140-151.
- Boursier, P., & Läuchli, A. (1990). Growth responses and mineral nutrient relations of salt-stressed sorghum. *Crop Science*, 30(6), 1226-1233.
- Brett, C. L., Tukaye, D. N., Mukherjee, S., & Rao, R. (2005). The yeast endosomal Na<sup>+</sup> (K<sup>+</sup>)/H<sup>+</sup> exchanger Nhx1 regulates cellular pH to control vesicle trafficking. *Molecular biology of the cell*, 16(3), 1396-1405.
- Chinnusamy, V., Zhu, J., & Zhu, J. K. (2006). Salt stress signaling and mechanisms of plant salt tolerance. *Genetic engineering*, 141-177.
- Davenport, R., James, R. A., Zakrisson-Plogander, A., Tester, M., & Munns, R. (2005). Control of sodium transport in durum wheat. *Plant physiology*, 137(3), 807-818.
- Deinlein, U., Stephan, A. B., Horie, T., Luo, W., Xu, G., & Schroeder, J. I. (2014). Plant salt-tolerance mechanisms. *Trends in plant science*, 19(6), 371-379.
- Deinlein, U., Stephan, A. B., Horie, T., Luo, W., Xu, G., & Schroeder, J. I. (2014). Plant salt-tolerance mechanisms. *Trends in plant science*, 19(6), 371-379.
- Ebrahimipour, Z., Darvishzadeh, R., & Arzhang, S. (2020). Study the expression of *SOS1*, *P5CS1* and *PMP3-6* genes in maize under salt stress. *Crop Biotechnology*, 10(30), 1-14.
- Esfandiari, E., Javadi, A., & Shokrpour, M. (2013). Evaluation of some of biochemical and physiological traits in wheat cultivars in response to salinity stress at seedling stage. *Journal of Crops Improvement*, 15(1), 27-38.
- Fahmideh, L., & Fooladvand, Z. (2018). Isolation and semi quantitative PCR of Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> antiporter (*SOS1* and *NHX1*) genes under salinity stress in *Kochia scoparia*. *Biological procedures online*, 20(1), 1-9.
- Farhoudi, R. (2014). Investigation the salinity tension effect on growth and physiological characteristics of nine wheat cultivars at vegetative growth stage. *Crop physiology journal*, 5(20), 71-86.
- Fatemi, F., Nematzadeh, G., Askari, H., & Hashemi, S. (2015). Transcriptom

- Analysis of Induced Genes in Response to Salt Stress in the Halophyte *Aeluropus litoralis*. *Biotechnology in agriculture* 6 (1): 89-96. (in Persian)
- Ferreira-Silva, S. L., Silveira, J., Voigt, E., Soares, L. & Viegas, R. (2008). Changes in physiological indicators associated with salt tolerance in two contrasting cashew rootstocks. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 20: 51-59.
- Gaxiola, R. A., Rao, R., Sherman, A., Grisafi, P., Alper, S. L., & Fink, G. R. (1999). The *Arabidopsis thaliana* proton transporters, AtNhx1 and Avp1, can function in cation detoxification in yeast. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96(4), 1480-1485.
- Ghoulam, C., Foursy, A., & Fares, K. (2002). Effects of salt stress on growth, inorganic ions and proline accumulation in relation to osmotic adjustment in five sugar beet cultivars. *Environmental and experimental Botany*, 47(1), 39-50.
- Gomarian, M., Malboobi, M. A., Darvish, F., Mohammadi, S. A., Razavi, K. H., Rahaie, M., & Alizadeh, H. (2009). Evaluation Of Inducible Gene Expressions Under Long Term Salinity Stress In Tow Susceptible And Tolerant Cultivares Of Wheat. *Modern Genetics Journal* 4 (1): 27-40. (in persian)
- Gomarian, M., Malbooi, M. A., Darvish, F., & Mohammadi, S. A. (2012). Comparison inducible candidate gene expression patterns under salinity stress in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *New Finding in Agriculture*, 6(2 (winter 2012)), 151-163.
- Gorham, J., Hardy, C., Wyn Jones, R. G., Joppa, L. R., & Law, C. N. (1987). Chromosomal location of a K/Na discrimination character in the D genome of wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 74(5), 584-588.
- Gorham, J., Wyn Jones, R. G., & McDonnell, E. (1985). Some mechanisms of salt tolerance in crop plants. *Biosalinity in action: Bioproduction with saline water*, 89: 15-40.
- Hasegawa, P. M. (2013). Sodium (Na<sup>+</sup>) homeostasis and salt tolerance of plants. *Environmental and experimental botany*, 92, 19-31.
- Heidari, M., & Mesri, F. (2010). Studying the effects of different salinity levels on physiological reactions and sodium and potassium uptake in wheat. *Environmental Stresses in Crop Sciences*, 3(1), 83-94.
- Hoagland, D. R., & Arnon, D. I. (1950). The water-culture method for growing plants without soil. *Circular. California agricultural experiment station*, 347(2nd edit).
- Huertas, R., Olias, R., Eljakaoui, Z., Gálvez, F. J., Li, J. U. N., De Morales, P. A., ... & Rodríguez-Rosales, M. P. (2012). Overexpression of *SISOS2* (*SICIPK24*) confers salt tolerance to transgenic tomato. *Plant, cell & environment*, 35(8), 1467-1482.
- Jalal Kamali, MR., Najafi Mirak, T., & Asadi, H. (2012) Wheat research and development strategies in Iran. Tehran, Publication of agricultural education. (in persian)
- Kawasaki, S., Borchert, C., Deyholos, M., Wang, H., Brazille, S., Kawai, K., ... & Bohnert, H. J. (2001). Gene expression profiles during the initial phase of salt stress in rice. *The Plant Cell*, 13(4), 889-905.
- Kiani, D., Soltanloo, H., Ramezani, S. S., Nasrolahnezhad Qumi, A. A., Yamchi, A., Zaynali Nezhad, K., & Tavakol, E. (2017). A barley mutant with improved salt tolerance through ion homeostasis and ROS scavenging under salt stress. *Acta physiologiae plantarum*, 39(3), 1-14.
- Klein, M., Geisler, M., Suh, S. J.,

- Kolukisaoglu, H. Ü., Azevedo, L., Plaza, S., ... & Martinoia, E. (2004). Disruption of AtMRP4, a guard cell plasma membrane ABC-type ABC transporter, leads to deregulation of stomatal opening and increased drought susceptibility. *The Plant Journal*, 39(2), 219-236.
- Kondratjev, M. N., & Rybkina, T. A. (1998). Response and adaptation of wheat, millet and sorghum to chloride salinity. *Izvestiya Timiryazevskoi Sel'skokhozyaistvennoi Akademii*, (3), 123-139.
- Li, S. J., Wu, G. Q., & Lin, L. Y. (2022). *AKT1*, *HAK5*, *SKOR*, *HKT1*; 5, *SOS1* and *NHX1* synergistically control Na<sup>+</sup> and K<sup>+</sup> homeostasis in sugar beet (*Beta vulgaris* L.) seedlings under saline conditions. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology*, 31(1), 71-84.
- Masmoudi-Allouche, F., Châari-Rkhis, A., Kriaâ, W., Gargouri-Bouziid, R., Jain, S. M., & Drira, N. (2009). *In vitro* hermaphroditism induction in date palm female flower. *Plant cell reports*, 28(1), 1-10.
- Mehrabani, V., Hassanpour Aghdam, M. B., & Valizadeh Kamran, R. (2017). Growth and Some Physiological Characteristics of Savory (*Satureja hortensis* L.) as Affected by Salinity Stress. *Journal of Crop Eco-physiology*, 11(41 (1)), 99-110.
- Mittal, R., & Dubey, R. S. (1991). Behaviour of peroxidases in rice: changes in enzyme activity and isoforms in relation to salt tolerance. *Plant physiology and biochemistry (Paris)*, 29(1), 31-40.
- Moghimi, M., & Alaei Ardakani, M. (2011). Measuring good governance factors and e-government role in enhancing it. *Quarterly Journal of Information technology management*, 3(8), 171-188.
- Molla Heydari Bafghi, R., Baghizadeh, A., & Mohammadinezhad, G. (2017). Evaluation of Salinity and Drought Stresses Tolerance in Wheat Genotypes using Tolerance Indices. *Journal of Crop Breeding*, 9(23), 27-34.
- Munns R & Tester M (2008) Mechanisms of Salinity Tolerance. *Annual Review of Plant Biology* 59 (1): 651-681.
- Munns, R., & Tester, M. (2008). Mechanisms of salinity tolerance. *Annual review of plant biology*, 59, 651.
- Murillo-Amador, B., Jones, H. G., Kaya, C., Aguilar, R. L., García-Hernández, J. L., Troyo-Diéguez, E., ... & Rueda-Puente, E. (2006). Effects of foliar application of calcium nitrate on growth and physiological attributes of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.) grown under salt stress. *Environmental and Experimental Botany*, 58(1-3), 188-196.
- Nass, R., Cunningham, K. W., & Rao, R. (1997). Intracellular sequestration of sodium by a novel Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchanger in yeast is enhanced by mutations in the plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase: insights into mechanisms of sodium tolerance. *Journal of Biological Chemistry*, 272(42), 26145-26152.
- Nazari, M., Izanloo, A., Ghaderi, M. Gh & Alizade, Z. (2016). Evaluation of allelic diversity of *VRN1* and *Ppd1* genes in different bread wheat cultivars. *Agricultural Biotechnology Journal*, 8(11): 111-124. (in persian)
- Qureshi, A.S., Qadir, M., Heydari, N., Turrall, H., & Javadi, A. (2007). A review of management strategies for salt-prone land and water resources in Iran. International Water Management Institute. Colombo, Sri Lanka. 30p (IWMI Working Paper 125).
- Rahaie, M., Gomarian, M., Alizadeh, H., Malboobi, M. A., & Naghavi, M. R.

- (2011). The expression analysis of transcription factors under long term salt stress in tolerant and susceptible wheat genotypes using reverse northern blot technique. *Iranian Journal of Crop Sciences*, 13(3), 580-595.
- Rajabi, R., Poustini, K., Jahani, P. P., & Ahmadi, A. (2005). Effects of salinity on yield and some of physiological characteristics in 30 wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. *Journal of agricultural sciences* 11(2): 143-154. (in Persian).
- Rao, Y. R., Ansari, M. W., Sahoo, R. K., Wattal, R. K., Tuteja, N., & Kumar, V. R. (2021). Salicylic acid modulates ACS, NHX1, sos1 and HKT1; 2 expression to regulate ethylene overproduction and Na<sup>+</sup> ions toxicity that leads to improved physiological status and enhanced salinity stress tolerance in tomato plants cv. Pusa Ruby. *Plant Signaling & Behavior*, 16(11), 1950888.
- Rodrigues, F. A., de Laia, M. L., & Zingaretti, S. M. (2009). Analysis of gene expression profiles under water stress in tolerant and sensitive sugarcane plants. *Plant Science*, 176(2), 286-302.
- Ryan, J., Estefan, G., & Rashid, A. (2001). *Soil and Plant Analysis Laboratory Manual*. ICARDA., Scientific Publishers.
- Sadeghi, H., & Emam, Y. (2005) Effect of different sodium chloride levels on morphological characteristics, chemical composition and yield components of two bread wheat cultivars. *Desert*. 10 (2): 267-278. (in Persian).
- Salekdeh, G. H., Reynolds, M., Bennett, J., & Boyer, J. (2009). Conceptual framework for drought phenotyping during molecular breeding. *Trends in plant science*, 14(9), 488-496.
- Sanders, D. (2000). Plant biology: the salty tale of Arabidopsis. *Current Biology*, 10(13), R486-R488.
- Shabala, S., & Cuin, T. A. (2008). Potassium transport and plant salt tolerance. *Physiologia plantarum*, 133(4), 651-669.
- Sharma, S. K. (1996). Effects of salinity on uptake and distribution of Na<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup> and K<sup>+</sup> in two wheat cultivars. *Biologia plantarum*, 38(2), 261-267.
- Shi, H., Ishitani, M., Kim, C., & Zhu, J. K. (2000). The Arabidopsis thaliana salt tolerance gene SOS1 encodes a putative Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> antiporter. *Proceedings of the national academy of sciences*, 97(12), 6896-6901.
- Shiran Tafti, M., Pirasteh-Anosheh, H., & Amini, A. (2019). Determining threshold salinity tolerance of wheat promising lines under greenhouse and field conditions. *Cereal Research*, 9(3), 235-248.
- Solis, C. A., Yong, M. T., Zhou, M., Venkataraman, G., Shabala, L., Holford, P., ... & Chen, Z. H. (2022). Evolutionary Significance of NHX Family and NHX1 in Salinity Stress Adaptation in the Genus *Oryza*. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(4), 2092.
- Suhayda, C. G., Redmann, R. E., Harvey, B. L., & Cipywnyk, A. L. (1992). Comparative response of cultivated and wild barley species to salinity stress and calcium supply. *Crop Science*, 32(1), 154-163.
- Tamura, T., Hara, K., Yamaguchi, Y., Koizumi, N., & Sano, H. (2003). Osmotic stress tolerance of transgenic tobacco expressing a gene encoding a membrane-located receptor-like protein from tobacco plants. *Plant Physiology*, 131(2), 454-462.
- Vashev, B., Gaiser, T., Ghawana, T., de Vries, A., & Stahr, K. (2010). Biosafor Project Deliverable 9: Cropping Potentials for Saline Areas in India,

- Pakistan and Bangladesh. *University of Hohenheim, Hohenheim, Germany.*
- Wei, W., Bilsborrow, P. E., Hooley, P., Fincham, D. A., Lombi, E., & Forster, B. P. (2003). Salinity induced differences in growth, ion distribution and partitioning in barley between the cultivar Maythorpe and its derived mutant Golden Promise. *Plant and Soil*, 250(2), 183-191.
- Xu, H., Jiang, X., Zhan, K., Cheng, X., Chen, X., Pardo, J. M., & Cui, D. (2008). Functional characterization of a wheat plasma membrane Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> antiporter in yeast. *Archives of biochemistry and biophysics*, 473(1), 8-15.
- Yar Hussain, M., Heydariyan, Z., Nezaei, A., & Ramezani, L. (2011). Examined the expression levels of two genes encoding the transcription factors related-MYB family in two varieties of wheat under salt stress. In *National Biotechnology Congress of Islamic Republic of Iran, Tehran, Iran. (in Persian)*.
- Yousefi Rad, S., Soltanloo, H., Ramezanpour, S. S., & Zaynali Nezhad, K. (2019). The study of SOS genes expression in mutant barley root under salt stress. *Journal of Crop Breeding*, 11(29), 1-8.
- Zahran, H. H., Marín-Manzano, M. C., Sánchez-Raya, A. J., Bedmar, E. J., Venema, K., & Rodríguez-Rosales, M. P. (2007). Effect of salt stress on the expression of NHX-type ion transporters in *Medicago intertexta* and *Melilotus indicus* plants. *Physiologia Plantarum*, 131(1), 122-130.
- Zand, B. & Laalinia, A.A., (2019) Cereal cultivation. Tehran, Payam Noor University Publications. *(in persian)*
- Zhu, J. K. (2001). Plant salt tolerance. *Trends in Plant Science*, 6(2), 66-71.