ژن‌های مهم بیان شده به همراه شرح عمکرد آن‌ها درگیاه برنج تحت تنش خشکی با استفاده از تجزیه و تحلیل منابع EST

پیوند حیدری [*۱]، شادی حیدری۲

۱- فارغ التحصیل کارشناسی ارشد اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان، زنجان، ایران

۲- دانشجوی دکتری اصلاح نباتات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم وتحقیقات، تهران، ایران

tahghighat.olom@yahoo.com

چکیده

برنج یکی از مهم ترین غلات کاشته شده در یک سوم کل مناطق دارای غله در جهان است که فراهم کننده غذای اصلی افراد می باشد. تنش خشکی بعنوان علت اصلی بی ثباتی عملکرد برنج در مناطق گوناگون رشد این محصول در آسیا ذکر شده است و توسعه لاین های مقاوم به خشکی برنج بوسیله اصلاح این گیاه معمول ترین روش استفاده شده در نبرد با مشکل کاهش عملکرد ایجاد شده بوسیله تنش خشکی می باشد. به هر حال اصلاح برای تحمل به خشکی در برنج برای چنین صفت پیچیده ای بخاطر فقدان اطلاعات مولکولی و ژنتیکی دقیق و کامل از ژن های همراهی کننده و تنظیمات آنها نسبتاً کند است. ژنومیکس کارکردی گذرگاه جدیدی را برای تحقیق و استفاده از منابع ژنومی به کار گرفته شده در این تنش فراهم آورده است. کتابخانه برنج با شماره (# 9DK) در شاخص ژنی سایت هاروارد ثبت شده است. مواد گیاهی ای که برای ایجاد کتابخانه cDNA و به دنبال آن ساخت EST ها مورد استفاده قرار گرفت عبارتست از گیاه برنجی که تحت تنش خشکی قرار گرفته بود. این کتابخانه شامل ۵۵۰۴ توالی ESTپیش پردازش شده می باشد که همه توالی‌های EST با استفاده از نرم افزار EGassembler هم‌گذاری شدند. بعد از هم گذاری ۵۵۰۴EST در کل ۷۴۰ کانتیگ و ۲۲۸۸ سینگلتن در کتابخانه تحت تنش برنج با استفاده از نرم افزار EGassembler تشکیل شد. سپس همه کانتیگ‌ها به وسیله جستجوگر بلاست X توسط نرم افزارCLC protein workbench در مقابل پروتئین‌های غیر تکراری بانک ژن آنالیز شدند. برای طبقه بندی گروه‌های کارکردی، ابزار طبقه بندی کارکردی و مقایسه‌ای mapman[۱] موسسه ماکس پلانک[۲] به صورت آنلاین استفاده شد. خروجی‌های mapman برای توصیف کاتالوگ‌های کتابخانه‌که می‌تواند گروههای کارکردی را کشف کند مورد استفاده قرار گرفت. در این مطالعه رونوشت های مرتبط با سنتز دیواره سلولی و متابولیسم اسید آمینه بیشترین فراوانی را در برنج تحت تنش داشت و ژن های دارای بیان افزایشی در این کتابخانه به همراه نحوه عملکرد آنها آورده شد. این ژنها کاندیدای بسیار خوبی برای انتقال ژن به منظور افزایش تحمل تنش خشکی هستند و نقش کلیدی را در تمامی جنبه‌های بیوتکنولوژی از قبیل انتقال ژن، انتخاب درون شیشه، کشت بافت و نیز در تمامی روش‌های اصلاحی جهت دستیابی به واریته‌های متحمل در شرایط کم‌آبی و تمامی هزینه‌های دربرگیرنده آنها ایفا می‌کند.

کلمات کلیدی: برنج، تنش خشکی، ژن های مقاوم به تنش خشکی ،EST

مقدمه

برنج یکی از مهم ترین غلات کاشته شده در یک سوم کل مناطق دارای غله در جهان است که فراهم کننده غذای اصلی افراد و ۳۵-۶۰٪ کالری مصرف شده بوسیله بیشتر از ۲.۷ بیلیون نفر می باشد. حدود ۸۰ درصد از برنج جهان تحت شرایط

۱ http://mapman.mpimp-golm.mpg.de
Mapmen Max Planck Institute of Molecular Plant Physiology

15th National Rice Conferance , Sari, Iran
Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University
Genetics & Agricaltural Biotecnology Institute of Tabarestan
19 & 20 March 2013
www.rice15th.sanru.ac.ir

آبی(۵۵٪) و اراضی پست آبیاری شده (۲۵٪) کاشته می شود که هر دو این اراضی به منبع آب تازه بستگی دارد. محدودیت دسترسی آب بخاطر کافی نبودن و بارش نامنظم، حدود ۱۵٪ کاهش در تولید برنج در بعضی سال ها را به دنبال دارد. تنش خشکی بعنوان علت اصلی بی ثباتی عملکرد برنج در مناطق گوناگون رشد این محصول در آسیا ذکر شده است و توسعه لاین های مقاوم به خشکی برنج بوسیله اصلاح این گیاه معمول ترین روش استفاده شده در نبرد با مشکل کاهش عملکرد ایجاد شده بوسیله تنش خشکی می باشد. به هر حال اصلاح برای تحمل به خشکی در برنج برای چنین صفت پیچیده ای بخاطر فقدان اطلاعات مولکولی و ژنتیکی دقیق و کامل از ژن های همراهی کننده و تنظیمات آنها نسبتاً کند است. ژنومیکس کارکردی گذرگاه جدیدی را برای تحقیق و استفاده از منابع ژنومی به کار گرفته شده در این تنش فراهم آورده است. قدم اصلی بسمت فهم اساس ژنتیک مولکولی تحمل خشکی در برنج، شناسایی ژن های کلیدی و عملکرد آنها است که نیازمند بررسی دقیق منابع ژنتیکی این گیاه می باشد.

همچنین با تکمیل پروژه توالی یابی برنج، این گیاه بعنوان یک سیستم مدل برای فهم اساس صفات پیچیده مانند عملکرد، قدرت هیبرید، مقاومت به آفات و تحمل به تنش های غیر زیستی انتخاب شد. برنج به عنوان ابزار قدرتمندی برای آنالیز مقایسه ای ژنوم سایر غلات بخاطراندازه ژنوم کوچکش(۴۰۰-۴۳۰Mbp) ، نقشه ژنتیکی با وضوح زیاد و ارتباطات سینتنیک مطلوب ایجاد شده با دیگر گونه های غلات زراعی مهم به کار می رود. بنابراین فهم دقیق اساس ژنتیک مولکولی این گیاه کمک بسیار مهمی نیز به فهم منابع ژنتیکی سایرغلات نیز خواهد کرد.

با پیدایش تکنولوژی های ژنومی با توان عملیاتی بالا مقدار زیادی از اطلاعات توالی برنج در پایگاه داده های مختلف DNA (مانند ژن بانک، DDBJ،EMBL) قرار داه شد. سهم عمده این اطلاعات متعلق به EST های(توالی های بیان شده رمزیابی شده) ایجاد شده از طریق پروژه های توالی یابی بزرگ مقیاس کتابخانه های cDNA می باشد. منابع EST بطور گسترده برای آنالیز تغییرات در بیان ژن های کنترل کننده فرایند های فیزیولوژیکی ازقبیل پاسخ به تنش های زیستی و غیر زیستی به کار می رود. بررسی جنبه های ژنتیک مولکولی این گیاه به همراه اصلاح آن امکان پاسخ مناسب و سازگاری با این تنش را برای این گیاه فراهم می آورد.

مواد و روش ها

کتابخانه برنج با شماره (9DK #) در شاخص ژنی سایت هاروارد ثبت شده است مواد گیاهی ای که برای ایجاد کتابخانه cDNA و به دنبال آن ساخت EST ها مورد استفاده قرار گرفت عبارتست از گیاه برنجی که تحت تنش خشکی قرار گرفته بود. این کتابخانه شامل ۵۵۰۴ توالی ESTپیش پردازش شده می باشد که توسط دانشگاه حیدرآباد[1] تهیه شده دانلود گردید. اطلاعات اولیه کتابخانه برنج با ۵۵۰۴ EST مورد آنالیز قرار گرفت. اطلاعات از بانک اطلاعاتی دانشگاه هاروارد[2] جمع‌آوری شدند و توالی‌های EST در فرمت FASTA بود.

بیان ژن

[1] University of Hyderabad
[2] http://compbio.dfci.harvard.edu/tgi

همه توالی‌های EST با استفاده از نرم افزار EGassembler هم گذاری شدند. تشکیل همه کانتیگ‌ها به وسیله جستجوگر بلاست X توسط نرم افزارCLC protein workbench در مقابل پروتئین‌های غیر تکراری بانک ژن آنالیز شدند. (رومالدی و همکاران،۲۰۰۳).

آنالیز کارکردی

برای تعیین همردیفی و ادغام توالی های رونوشت ژن (EST)، نرم افزارEGassembler مورد استفاده قرار گرفت. این روش برای هم‌گذاری توالی‌های EST با ضریب درصد همپوشانی[۱] N≥95 و حذف دیگر گزینه‌ها از قبیل فرایندهای پوشاندن اندامک‌ها و روشن سازی توالی، پوشاندن تکرارها و پوشاندن ناقل‌ها استفاده شد. نرم افزارEGassembler یکسری EST را در فرمت FASTA می‌پذیرد. توالی‌های مربوط به فایل‌های کانتیگ و سینگلتون کتابخانه برنج به وسیله نرم افزار CLC protein workbenchو برنامه BLASTX (Evalue≤$1*10^{-5}$) در برابر پایگاه اطلاعاتی آرابیدوپسیس که از منبع اطلاعاتی آرابیدوپسیس TAIR[۲] دانلود شد مورد آنالیز قرار گرفت. برای طبقه بندی گروه‌های کارکردی، ابزار طبقه بندی کارکردی و مقایسه‌ای mapman[۳] موسسه ماکس پلانک[۴] به صورت آنلاین استفاده شد. خروجی‌های mapman برای توصیف کاتالوگ‌های کتابخانه‌که می‌تواند گروههای کارکردی را کشف کند مورد استفاده قرار گرفت.

نتیجه گیری و بحث

بعد از هم گذاری EST۵۵۰۴ در کل ۷۴۰ کانتیگ و ۲۲۸۸ سینگلتن در کتابخانه تحت تنش برنج با استفاده از نرم افزار EGassembler تشکیل شد. نتایج این آنالیز در جدول ۱ آمده است.

جدول۱: تعداد EST های موجود در کتابخانه برنج و تعداد کانتیگ و سینگلتن‌های آن بر اساس خروجی نرم افزار EGassembler

کتابخانه برنج تحت تنش خشکی	کتابخانه
5504	تعداد کل EST ها
740	تعداد کانتیگ ها
3216	تعداد EST درکانتیگ
2288	تعداد سینگلتن
197	کانتیگ‌هایی که hit مشخصی ندارند
1196	سینگلتن‌هایی که hit مشخصی ندارند

با استفاده از نرم افزار CLCBio، بلاست موضعی (بلاست در برابر بانک اطلاعاتی آرابیدوپسیس) کانتیگ‌ها و سینگلتن‌ها انجام شد و تبدیل رمزهای ژنتیکی کانتیگ‌ها و سینگلتن‌ها به رمزهای ژنتیکی گیاه آرابیدوپسیس صورت گرفت. گروههای کارکردی کتابخانه برنج توسط نرم افزار mapman به ۳۴ دسته طبقه بندی شد که از بین آنها ۵ گروه کارکردی سهم زیادی از توالی های EST را به خود اختصاص دادند. این ۵ گروه کارکردی در زیر آمده است:

۱۷.۶٪ دیواره سلولی،۱۴.۴٪ متابولیسم اسید آمینه،۱۲.۷٪ فتوسنتز،۴.۷٪ RNA،۳.۴٪ استرس

[۱] Overlap percent identity cutoff N≥95
[۲] Ftp://ftp.arabidopsis.org
[۳] http://mapman.mpimp-golm.mpg.de
[۴] Maxplanck Max Planck Institute of Molecular Plant Physiology

طبقه بندی عملکردی نشان دهنده وضعیت بیولوژیکی و فیزیولوژیکی بافت مطالعه شده تحت تنش خشکی است. در این مطالعه رونوشت های مرتبط با سنتز دیواره سلولی و متابولیسم اسید آمینه بیشترین فراوانی را در برنج تحت تنش داشت. تعداد زیادی از پروتئین‌های سنتز دیواره سلولی هستند که جز پروتئین‌های دخیل در شرایط استرس هم محسوب می‌شدند

این امر به این حقیقت بر می‌گردد که دیواره سلولی گیاهان به عنوان سپر دفاعی است که نقش مهمی را در مکانیسم تحمل به تنش خشکی ایفا می‌کند. رونوشت های مرتبط با سنتز پروتئین نیز فراوانی زیادی داشتند که نشان دهنده اهمیت پروتئین ها در مکانیسم تحمل به تنش خشکی است.

EST ۳۵۷۵ در کتابخانه برنج تحت تنش ، همولوژی بالا یا متوسطی را نشان دادند (10^{-5}> نمره بلاست) درحالی که بر پایه این نتایج توالی‌هایی که درنشان دادن همولوژی معنی‌دار برای هر پروتئین در پایگاه داده‌های عمومی شکست خوردند کاندیدای مناسبی برای ژنهای جدید هستند. ما تلاش کردیم که ژن‌هایی که در تحمل به تنش خشکی نقش دارند را در گیاه برنج شناسایی کنیم و بیان آنها را مورد مقایسه قرار دهیم. محصولات ژن‌های القا شده تحت تنش به طور وسیعی در دو گروه طبقه بندی می‌شوند. محصولات ژنهای گروه اول به طور مستقیم سلول را در برابر تنش حمایت می‌کنند مانند پروتئین‌های LEA [۱] ،پروتئین‌های حفاظت کننده در برابر تنش های اسمزی[۲]، آنزیم‌های دخیل در دفع مواد سمی از گیاه[۳]، حذف کننده‌های رادیکال‌های آزاد[۴] و پروتئازهای مختلف (لوچی و همکاران،۲۰۰۷)، گروه دوم شامل فاکتورهای رونویسی، پیغام‌برهای ثانویه و فسفاتازها و کینازها مانند کینازهای فعال کننده تقسیم سلول[۵] و پروتئین‌های وابسته به کلسیم[۶] و کینازهای وابسته به رشد و تمایز سلول[۷] که بیان ژن‌های دیگر در پاسخ به تنش خشکی را تنظیم می‌کنند(کوتان وهمکاران،۲۰۰۰). تمامی موجودات زنده از باکتری ها تا یوکاریوت ها، برخوردار از یک سری سنسورها، واسطه های انتقال دهنده سیگنال و تنظیم کننده هایی هستند که امکان پاسخ و سازگاری با تغییرات آب قابل دسترس را برای آنها فراهم ساخته است. دستگاه پاسخ سلولی شامل مواد انتقال دهنده محلول نظیر اکواپورین ها، فعال کننده های رونویسی، آنزیم های رمز کننده محلول های سازگار، عوامل تخریب کننده اکسیژن فعال و نیز پروتئین های محافظت کننده می باشد. بعضی موجودات از مکانیسم های بسیار موثری برای مقابله با این تنش در اکوسیستم های کم آب برخوردار می باشند. برای دفاع در مقابل صدمات ناشی از کم آبی، دو استراتژی عمده را می توان برشمرد: یکی سنتز مولکول های محافظت کننده در طی مرحله جذب مجدد آب برای اجتناب از این صدمات و دیگری مکانیزم جبرانی در طی جذب مجدد آب برای خنثی سازی صدمات وارده. در سلسله گیاهی، استراتژی اول ظاهراً توسط گیاهان عالی بر مکانیزم دوم ارجحیت دارد و استراتژی جبرانی فقط برای بریوفیت ها گزارش شده است(فیلیپس و همکاران،۲۰۰۲).واکنش در برابر این تنش مستلزم دخالت ترکیبات مولکولی زیادی می باشد. از آنجایی که این تنش ها بر عملکرد گیاه اثرات منفی زیادی بر جا می گذارند، به همین جهت امروزه هدف تحقیقات تعیین استراتژی های موثر برای بهبود عملکرد تحت شرایط تنش است. از جمله ژن های که در کتابخانه برنج افزایش بیان داشت ژن های کد کننده پروتئین های پیام رسان بودند، مطالعات بر روی اندام های گیاهی و نیز تحقیقات بر روی سلول های محافظ در آرابیدوپسیس ، اساس توسعه دانش ما در حوزه مولکول های عامل پیام رسانی تنش آبی می باشد. سلول های محافظ علاوه بر اینکه عهده

[۱] Late embryogenesis abundant proteins
[۲] Osmoprotectant
[۳] Detoxifying enzymes
[۴] Free radical scavengers
[۵] Mitogen-activated kinases (MAPKS)
[۶] Calcium-dependent protein kinases (CDPKs)
[۷] Sos kines

دار جذب گاز کربونیک لازم برای فتوسنتز می باشند، از طریق تنظیم بسته شدن روزنه ها از تلفات آب را کنترل می کنند زیرا سلول های محافظ ابزار شناسایی پیام دهنده های ویژه کلسیمی هستند. این پیام دهنده ها ، پیام دهنده های ثانویه ای هستند که میزان کلسیم، سیگنال های فسفریلاسیون، کانال های یونی ویژه و انتقال دهنده ها و نیز بسته شدن روزنه را تحت تاثیر آبسزیک اسید تنظیم می نمایند(آس مان و وانگ،۲۰۰۱). افزایش موقتی غلظت یون های کلسیم در واکنش به یک سری از محرک های زنده

و غیر زنده در گیاهان مشاهده شده است.(کیگل و همکاران،۲۰۰۰). تغییر در سیالیت غشای سلولی، سبب تغییر فعالیت کانال های یونی کلسیم می گردد و این منجر به تغییر غلظت یون های کلسیم در سیتوزول می شود.افزایش غلظت یون های کلسیم در سیتوزول در نتیجه نفوذ آن از منابع خارجی و یا ترشح از واکوئل به عنوان یکی از واکنش های اولیه به تنش کم آبی شناخته شده است(ساندرز و همکاران۱۹۹۹). با توجه به تعادل آب در سلول تغییر در غلظت یون کلسیم در سلول های محافظ ایجاد می شود که تناوب تشکیل یون های موقتی کلسیم در باز و بسته شدن روزنه ها نقش دارد. دسته ای از پروتئین های متصل شونده به یون کلسیم کینازهای شبه کلمودولین وابسته به یون کلسیم (CDPK)ها می باشند که نقش آنها ترکیب مولکول متصل شونده به کلسیم با یک حوزه کینازی می باشد(چنگ و همکاران،۲۰۰۲).که تحت تاثیر تنش کم آبی تحریک می شوند. بیان ژن CDPK برنج یعنی ژن OsCDPK7 تحمل به تنش را در برنج افزایش می دهدکه در این کتابخانه افزایش بیان داشت(سایجو و همکاران،۲۰۰۰). اهمیت آبسزیک اسید(ABA) در پاسخ به تنش های پیچیده از جمله کم آبی انکار ناپذیر است.کم آبی در گیاه منجر به افزایش میزان ABA می شود که خود سبب القای بیان ژن های چند گانه مسئول دفاع در مقابل اثرات سوء کم آبی می شود. ABA سبب بسته شدن روزنه ها و بنابراین کاهش تلفات آب در اثر تنفس می گردد. ژن های دخیل درمسیر بیوسنتز ABA نیز در این کتابخانه افزایش بیان داشت(کیوسو و همکاران،۱۹۹۴). شصت دقیقه پس از شروع کم آبی در گیاه آرابیدوپسیس، RNA ها و پروتئین هایی که وجود آنها نشانگر پاسخ به کم آبی است قابل تشخیص هستند، که این مسئله خود نشانگر سهم بالای رونوشت ها را در گروه کارکردی RNA توجیه می کند(بارتلز و همکاران،۱۹۹۰). از جمله ژن های دیگری که در کتابخانه برنج بیان افزایشی داشتند می توان به ژن های کد کننده کیناز ها و فسفاتاز ها اشاره کرد. گروهی از مولکول های سنسور که در پاسخ اولیه به تنش اسمزی نقش دارند هیستیدین کینازها می باشند. شواهد زیادی وجود دارد که نشان می دهد اولین مرحله انتقال سیگنال وجود تنش کم آبی در سلول های گیاهی با دخالت مسیرهای MAP کیناز صورت می گیرد.

علاوه بر کیناز ها فسفاتاز ها نیز جز عوامل تغییر دهنده ضروری در زنجیره های تنظیمی تنش می باشد.(کورنیف ۱۹۸۴).مقایسه نتایج حاصل از تحقیقات در این زمینه این فرضیه را پیشنهاد می کند که MAP کیناز ها و احتمالا سایر کینازها سیگنال هایی صادر می کنند که متابولیسم سلولی را در جهت سنتز ترکیبات تقلیل دهنده و رفع کننده اثر تنش کم آبی هدایت می کند و نقش فسفاتاز ها تقویت این واکنش است. یکی از نقش های زنجیره انتقال سیگنال کم آبی، فعال شدن یک سری فاکتورهای رونوشت برداری[1] است که هر کدام به نوبه خود یک سری ژن های هدف از جمله ژن های لازم برای سنتز مولکول های حفاظتی را فعال می نمایند. به نظر می رسد که واکنش به تنش کم آبی سبب درگیرشدن گروه های مختلفی از فاکتورهای رونویسی می گردد. تنش کم آبی سبب القای بیان بالای ژن های زیادی می شود که مهم ترین آنها ژن های موسوم به ژن های فراوان در اواخر جنین زایی است(نلسون ۱۹۹۴). پروتئین LEA نقش ویژه ای را در حفاظت سیتوپلاسم در برابر از دست دادن آب و حفاظت گیاهان بوسیله کاهش سمیت ایجاد شده بوسیله غلظت بالای یون ها دارد.

[1] transcription factors

پروتئین های LEA ژن های القا شده بوسیله ABA هستند(چی[1] ۱۹۹۰). بنابراین بنظر می رسد که عملکرد پروتئین های LEA برای حفاظت سلول در برابر خشکی است. پروتئین های LEA، پروتئین هایی هستند که از دیگر پروتئین ها در برابر استرس های خشکی و اسموتیک حمایت می کنند. مطالعات بیوانفورماتیکی اخیر پیشنهاد می کند که این پروتئین ها، رفتاری مانند چاپرون های[1] مولکولی دارند و به وسیله استرس های خشکی و اسموتیک القا می شوند و ساختارهای مولکولی و سلولی را از اثرات صدمات کاهش آب حفاظت می کنند(شیوتا و همکاران،۱۹۹۸). آخرین مرحله در زنجیره پیام دهی تنش کم آبی، فعال شدن ژن های مسئول سنتز ترکیباتی است که در حفظ ساختارهای سلولی در برابر اثرات مخرب تنش کم آبی دخیل می باشند. گیاهانی که قادر به بقا در شرایط کم آبی هستند استراتژی هایی را به این منظور اتخاذ می نمایند که به ایجاد مقاومت در گیاه در برابر کم آبی کمک می کند از جمله آنها می توان به تجمع محلول های سازگار[2] اشاره کرد. در بسیاری از گونه های گیاهی کم آبی منجر به تجمع برخی محلول های سازگار می شود. این مواد مولکول هایی محلول با وزن مولکولی پایین هستند که غیر سمی می باشند و موجب اختلال در متابولیسم سلول نمی شوند این مواد شامل بتائین ها (مثل گلایسین بتائین)، اسیدهای آمینه(بویژه پرولین)،پلی اول ها و قند هایی نظیر مانیتول، سوربیتول، سوکروز یا ترهالوز می باشد. این مواد از طریق افزایش تعداد ذرات در محلول به نگهداری فشار تورژسانس در طی کم آبی کمک می نمایند. همچنین این ترکیبات می توانند میزان سیالیت غشا را نیز کنترل نمایند و پروتئین ها را در حالت هیدراته نگه دارند و از اینرو سبب پایداری ساختمان آنها گردند و بیان بالایی از این ژن ها در این کتابخانه دیده شد (هوکسترا و همکاران،۲۰۰۱). البته در بیشتر موارد مقدار مواد محلول سنتز شده به حدی نیست که بتوان وجود آنها را در تحمل به فشار اسمزی موثر دانست، بنابراین احتمال وجود مکانیسم های دیگری نیز وجود دارد. این مواد محلول ممکن است خود به عنوان مولکول های پیام دهنده عمل کنند و سبب فعال شدن مسیر های حفاظتی گردند یا اینکه به عنوان تخریب کننده ها "انواع اکسیژن فعال(ROS) عمل کنند. از دیگر استراتژی ها می توان به واسطه های اکسیژن فعال اشاره کرد. یکی از نتایج تنش خصوصاً تنش کم آبی افزایش غلظت واسطه های اکسیژن فعال (ROS) است(میتلز،۲۰۰۲).وقتی که غلظت ROS به دلیل وقوع کم آبی افزایش می یابد دفاع در برابر خسارت آن برای بقای سلول ضروری است. انباشت ROS توسط آنتی اکسیدان های داخلی کنترل می شود که شامل عوامل پالاینده آنزیمی مانند سوپر اکسید دسموتازها، پراکسیدازها و کاتالاز ها می باشند(کرچ و همکاران،۲۰۰۱)، بیان بالایی از این ژن ها در کتابخانه برنج افزایش داشت. این ژنها کاندیدای بسیار خوبی برای انتقال ژن به منظور افزایش تحمل تنش خشکی هستند و نقش کلیدی را در تمامی جنبه‌های بیوتکنولوژی از قبیل انتقال ژن، انتخاب درون شیشه، کشت بافت و نیز در تمامی روش‌های اصلاحی جهت دستیابی به واریته‌های متحمل در شرایط کم‌آبی و تمامی هزینه‌های دربرگیرنده آنها ایفا می‌کند.

منابع

Assmann S.M., Wang X.Q.2001. From milliseconds to millions of year: guard cells and environmental responses. Curr Opin Plant Biol 4:421-428.

[1] Chaperones

[2] compatible solutes

Bartels D., Schneider K., Terstappen G., Piatkowski D., Sslamini F.1990. Molecular cloning of abscisic acid-modulated genes which are induced during desiccation of the resurrection plant *Craterostigma plantagineum*. Planta 181:27-34.

Browne J, Tunnacliff A, Burnell A.2002. Plant desiccation gene found in a nematode.Nature 416:36.

Cheng S.H, Willmann MR, Chen H-C, Sheen J.2002.Calcium signaling through protein kinases. The Arabidopsis calcium-dependent protein kinase gene family. Plant Physiol 129:469-485.

Chugh, A and Khurana, p. 2002 . Gene expression during drought stress recent advances, current sience; 83: 6- 25.

Hoekstra FA,Golovina EA, Buitink J.2001.Mechanisms of plant desiccation tolerance.Trends Plant Sci 6:431-438.

Kiegle E, Moor CA, Haseloff J, Tester MA, Knight MR.2000.Cell-type-specific calcium responses to drought, salt and cold in the Arabidopsis root.Plant J 23:267-278.

Kirch HH, Nair A, Bartels D.2001. Novel ABA and dehydration-inducible aldehyde dehydrogenase gene isolated from the resurrection plant *Craterostigma plantagineum* and Arabidopsis thaliana.Plant J 28:555-567.

Kiyosue T, Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K. 1994.Cloning of Cdna for genes that are early responsive to dehydration stress(ERDs) in Arabidopsis thaliana L: identification of three ERDs as HSP cognate genes.Plant Mol Biol 25:791-798.

Koornneef M.1984. The isolation and characterization of abscisic acid-insensitive mutants of Arabidopsis thaliana. Physiol Plant 61:377.

Mittler R.2002.Oxidative stress, antioxidant and stress tolerance. Trends Plant Sci 7:405-410.

Nelson D, Salamini F, Bartels D.1994.Abscisic acid promotes novel DNA-binding activity to a desiccation- related promoter of Craterostigma plantagineum.Plant J 5:451-458.

Philips JR, Oliver MJ, Bartels D.2002. Molecular genetics of desiccation and tolerant systems In:Black M, Pritchard HW Desiccation and survival in plants: Drying without dying CAB international

Romualdi C, Bortolzuzzi S, Dalessi G, Danieli GA (2003) IDEG6: a web tool for etection of differentially expressed genes in multiple tag sampling experiments. Physiology Genomics. 12:159-162.

Saijo Y, Hata S, Kyozuka J,Shimamoto K, Izui K.2000.Over-expression of a single Ca2+ dependent kinase confers both cold and salt/drought tolerance on rice plants. Plant J.23:319-327.

Sanders D, Brownlee C, Harper JF.1999. Communicating with calcium.Plant Cell 11:691-706.

Shiota, H., Satoh, R., Watabe, K., Harade., H and Kamada, H.1998.*C-ABI3*, the carrot homologue of the *Arabidopsis ABI3*, is expressed during both zygotic and somatic embryogenesis and function in the regulation of embryo –specific ABA-Inducible genes.plant cell physiology; 39:1184-1193.