ژنتیک نوین
دوره چهاردهم، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۸
صفحه ۱۲۳ - ۱۱۱

مکانیسم تحمل به تنش خشکی و بیان ژن‌های دخیل در تنظیم اسمزی در برخی گونه‌های زراعی و وحشی گندم

Drought stress tolerance mechanism and expression of genes involved in osmotic regulation in some wheat and wild crop species

معصومه کیخا[۱]، نفیسه مهدی‌نژاد[*۲]، براتعلی فاخری[۳]، رحمت محمدی[٤]

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، ایران
۲-استادیار، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، ایران
۳- استاد، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، ایران
٤-استادیار، موسسه تحقیقات کشاورزی دیم کشور، مراغه، ایران

Keikha M[1], Mahdi Nezhad N[*2], Fakheri B[3], Mohamadi R[4]

1- MSc Student, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Collage of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran
2- Assistant Professor, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Collage of Agriculture, University of Zabol, Iran
3- Professor, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Collage of Agriculture, University of Zabol, Iran
4- Dryland Agricultural Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Maragheh, Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: nmahdinezhad@uoz.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۹۶/۱۱/۲۳ - تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۳/۲٦)

چکیده

در این تحقیق به‌منظور بررسی برخی از صفات فیزیولوژیکی مرتبط با تحمل به خشکی و همچنین بیان ژن‌های دخیل در تنظیم اسمزی آزمایشی به‌صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار در دو شرایط تنش و بدون تنش خشکی بر روی سه گونه دیپلوئید، دو رقم تتراپلوئید و دو رقم هگزاپلوئید گندم اجرا شد. صفات فیزیولوژیکی مورد ارزیابی شامل پرولین، گلایسین بتائین، کربوهیدرات محلول در ساقه، پروتیین کل، RWC (میزان رطوبت نسبی) بود. هم‌چنین الگوی بیان نسبی دو ژن پرولین (*P5CS*) و گلایسین بتائین (*BADH*) به‌روش Real Time PCR سنجیده شد. تنش خشکی باعث افزایش صفات پروتئین کل، کربوهیدرات محلول در ساقه، پرولین، گلایسین بتائین و کاهش معنی‌دار محتوای آب نسبی شد، همچنین تنش خشکی سبب القاء بیان ژن *P5CS* و *BADH* در همه‌ی ارقام شد. بنابراین می‌توان از صفات تنظیم اسمزی و میزان بیان دو ژن *P5CS* و *BADH* تحت شرایط تنش به‌عنوان یک شاخص در برنامه‌های اصلاحی جهت انتخاب ارقام متحمل به خشکی استفاده شود.

واژه‌های کلیدی

بیان ژن
پرولین
گلایسین بتائین
Real Time PCR

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

[DOR: 20.1001.1.20084439.1398.14.2.3.9]

مقدمه

گونه‌های وحشی و اهلی گندم از لحاظ تعداد کروموزوم به سه سطح پلوئیدی شامل دیپلوئید، تتراپلوئید و هگزاپلوئید تقسیم می‌شوند. مجموعه گندم‌های دیپلوئید با تعداد کروموزوم (۲n=۲x=۱٤) از سه گونه *T.urarta*، *T.boeoticum* و *T.moncoccum* تشکیل شده‌است. گروه گندم‌های تتراپلوئید با تعداد کروموزوم (۲n =٤x=۲۸) از ۱۰ گونه تشکیل شده‌است که حاوی ژنوم‌های AB و AD بوده ونسبت به گونه‌های دیپلوئید در گستره‌ی محیطی وسیع‌تری رشد می‌نمایند. از جمله این گروه می‌توان به گندم امر وحشی *T.dicoccum* و گندم دوروم اشاره کرد که همگی دارای فرمول ژنومی AABB هستند. گندم هگزاپلوئید دارای گونه‌های بسیار زیادی شامل *T. aestivum*، *T. spelta*، *T. Petropa vlovskyi* می‌باشد. گندم نان با تعداد کروموزوم (۲n =٦x=٤۸)دارای ژنوم ABD می‌باشد که هر یک از ژنوم A، B و D آن از گونه‌های مختلفی گرفته شده‌است (Sishen et al. 2007).

یکی از نزدیک‌ترین خویشاوندان وحشی گندم آژیلوپس‌ها هستند. آژیلوپس‌ها نه تنها خویشاوند بلکه اجداد اولیه گندم نان بوده و گندم زراعی بسیاری از صفات مطلوب خود را از قبیل کیفیت نانوایی، تحمل به شوری و تحمل به برخی از آفات و بیماری‌ها را از آن به ارث برده است (Greenway and Munns 1980). گونه *Aegilops tauschii* نقش مهمی در تکامل ارقام گندم ایفا می‌کند. ژنوم DD گندم نان مربوط به این جنس می‌باشد (Lee et al. 1999). گرچه منشأ ژنوم B هنوز دقیقاً مشخص نیست ولی همه گونه‌های Sitopsis مخصوصاً گونه *Ae. Speltoides* (۲n=۲x=۱٤=SS) یک کاندیدای محتمل برای این ژنوم پیشنهاد شده‌است و احتمالا آژیلوپس اسپلتوئیدس با ژنوم S از اجداد وحشی ژنوم B می‌باشد (Ortega et al. 2013; Guzma´n and Alvarez 2012) خشکی یکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی محدودکننده تولید محصولات گیاهی در سراسر جهان محسوب شده و اثرات نامطلوبی بر رشد و نمو گیاه و سایر فرآیندهای متابولیکی دارد (Akram et al. 2013; Lum et al. 2014). به‌طور میانگین بیش از ۵۰ درصد عملکرد بسیاری از محصولات گیاهی در اثر تنش خشکی کاهش می‌یابد (Zlatev and Lidon 2012).

تنش خشکی موجب می‌شود که تعادل بین تولید گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) و دفاع ضد اکسنده در بخش‌های مختلف گیاه از بین برود (Bai and Sui 2006). گیاهان عموماً سازوکارهای مختلفی برای مقابله با تنش خشکی دارند و از طریق القای انواعی از پاسخ‌های فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و مورفولوژیکی به تنش خشکی سازگار می‌شوند (Mirzaee et al. 2013). تنظیم اسمزی به‌عنوان یکی از سازوکارهای سازگاری گیاه در برابر تنش خشکی در نظر گرفته شده‌است که از طریق تجمع مواد محلول مانند پروتئین، قندهای محلول و اسیدهای آمینه در اندام‌های هوایی و ریشه می‌تواند منجر به حفظ تورژسانس سلول‌ها و فرآیندهای وابسته به آن در پتانسیل پایین آب شود (Showler and Castro 2010; Rampino et al. 2006). تنش خشکی سطوح پروتئینی گیاهان را تحت تأثیر قرار داده و نتایج متفاوتی را به‌همراه داشته است به‌طوری که برخی کاهش و گروهی افزایش در سطوح پروتئینی را تحت تنش آبی گزارش کرده‌اند (Svensson et al. 2002; Mrian et al. 2003). کاهش پروتئین‌های محلول برگ به‌عنوان یکی از عوامل غیر روزنه‌ای محدود کننده فتوسنتز گیاه محسوب می‌شود که در این صورت تنش بر گیاه اثرگذار بوده و موجب ایجاد خسارت شده‌است (Huang et al. 2012). اما افزایش غلظت پروتئین‌های برگ ممکن است نشان‌دهنده فعال شدن مکانیسم‌های تحمل باشد (Kim et al. 2005). پرولین به‌عنوان منبع نیتروژن و کربن برای گیاهان تحت تنش شدید خشکی عمل می‌کند و تحمل گیاه در برابر تنش را افزایش می‌دهد (Amini et al. 2015). افزایش محتوای پرولین در شرایط تنش باعث محافظت غشای سلولی، پروتئین‌ها، آنزیم‌های سیتوپلاسمی و مهار گونه‌های فعال اکسیژن و حذف رادیکال‌های آزاد می‌شود (Liang et al. 2013; Ghorbanli et al. 2013). تجمع افزایشی پرولین در سلول به‌دلیل القاء فعالیت آنزیم‌های دلتا-۱-پرولین- ۵ کربوکسیلات سنتتاز (P5CS) و پرولین ۵- کربوکسیلات ردوکتاز (P5CR) در چرخه تولید این ماده و نیز ممانعت از فعالیت آنزیم‌های اکسیدکننده پرولین مانند پرولین دهیدروژناز (ProDH) و پرولین ۵- کربوکسیلات دهیدروژناز (P5CDH) در سلول است. در شرایط غیر تنش، پرولین از مسیر اورنتین در گیاه تولید می‌شود (Delauney et al.

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

[DOR: 20.1001.1.20084439.1398.14.2.3.9]

1993) ولی در گیاهان تحت شرایط خشکی و شوری، پرولین از L- گلوتامیک اسید توسط آنزیم دلتا- ۱- پرولین ۵- کربوکسیلات سنتتاز (P5CS) به L- پرولین تبدیل شود (Orcut and Nilsen. 2000). به عبارتی آنزیم کلیدی در مسیر بیوسنتز پرولین در گیاهان P5CS است (Orcut and Nilsen 2000). شکستن سریع پرولین بعد از پایان یافتن شرایط تنش، ممکن است خود تأمین کننده عوامل مورد نیاز فسفوریلاسیون اکسیداتیو میتوکندریایی و تولید ATP برای ترمیم صدمات ناشی از تنش باشد (Bates et al. 1973). Drossopoulos et al. (1985) در بررسی ارقام مختلف گندم در تنش رطوبتی، گزارش کردند که غلظت اسیدهای آمینه گلوتامیک اسید، آسپاراتیک اسید، سرین، گلوتامین، آلانین، لوسین، آلانین، آسپارژین، آلفا آمینوبوتریک اسید و پرولین به‌طور معنی‌داری در برگ و خوشه ارقام مختلف گندم افزایش می‌یابد. بررسی محتوای پرولین به‌عنوان یک ترکیب اسمولیت سازگار در شرایط کمبود در ژنوتیپ‌های مختلف گندم دوروم نشان داده است که ژنوتیپ‌های مختلف نسبت به کمبود آب دارای آستانه تحمل متفاوتی هستند و محتوای پرولین رابطه نزدیکی با آستانه تنش آب خاک و انباشت ترکیبات ضد تنش خشکی در گندم دارد (Navabpour et al. 2015). مطالعه متابولیسم پرولین در گندم به کمک ایجاد تنش‌های اسمزی نشان داده است که محتوای پرولین از طریق فراتنظیمی مراحل بیوسنتز آن افزایش می‌یابد (Lei et al. 2007).

در ارتباط با صفت گلایسین‌بتائین به‌طور عمده در کلروپلاست‌ها جای دارد و نقش‌های حیاتی در ایجاد سازگاری در کلروپلاست، حمایت از غشاهای تیلاکوئیدی و در نتیجه حفظ کارایی فتوسنتز و یکپارچگی غشاء پلاسمایی ایفا می‌کند (Yokoi et al. 2002). تحقیقات نشان داده است که احتمالاً نقش حمایتی گلایسین‌بتائین فقط به عملکرد اسمزی آن مربوط نیست بلکه گلایسین‌بتائین از طریق ثبات بخشیدن به پروتئین‌های خارجی فتوسیستم II، آن را محافظت کرده (Murata et al. 1992) و همچنین به‌عنوان یک جاروب کننده ROS نیز عمل می‌کند (Hussain et al. 2008). همچنین افزایش گلایسین بتائین در پاسخ به استرس در بسیاری از گیاهان نظیر اسفناج، جو، گوجه فرنگی، سیب‌زمینی، برنج، هویج، سورگوم گزارش شده‌است (Yang and Lu 2005).

کربوهیدرات‌های محلول یکی از مهم‌ترین اسمولیت‌های سازگار فیزیولوژیکی می‌باشند که در واکنش به تنش‌های غیر زنده شرکت می‌کنند (Ashraf and Heris 2004). این متابولیت‌ها هم به‌عنوان یک ترکیب اسمزی و هم به‌عنوان یک حفاظت کننده اسمزی عمل می‌کنند (Sanchez et al. 2004). در رابطه با صفت کربوهیدرات برخی گزارش‌ها نشان دادند که در شرایط تنش اسمزی مجموع پلی‌ساکارید و کربوهیدرات‌های محلول در اندام‌های رویشی گندم کاهش می‌یابد (Kafi et al. 2003) و درحالی که تحقیقات دیگری بر افزایش میزان کربوهیدرات‌های محلول در مرحله رویشی تاکید شده‌است (Xue et al. 2008). Blum (1998) گزارش کردند که در غلات قسمتی از مواد فتوسنتزی به‌طور موقت در ساقه‌ها ذخیره می‌شوند تا بتوانند به‌صورت کارایی در انتقال مجدد مورد استفاده قرار بگیرند، این مواد به‌صورت ساکارز وارد ساقه‌ها می‌شوند و به فرم ساکارز، گلوکز، فروکتوز و فروکتان (عمدتاً به فرم ساکارز و فروکتان) در ساقه‌ها ذخیره می‌شوند.

در شرایط تنش خشکی با کاهش مقدار آب قابل دسترس (RWC)، فتوسنتز کاهش یافته و متعاقب آن تولید ماده خشک گیاه نیز کاهش می‌یابد (Yang et al. 2007). RWC که جذب آب به‌وسیله بافت‌ها و سلول‌ها را نشان می‌دهد، به‌عنوان یک شاخص مفید در گزینش برای تحمل به خشکی ارزیابی شده‌است (Silva et al. 2007). همچنین کنترل فعالیت‌های فیزیولوژیکی به محتوای آب گیاه وابسته بوده و تغییرات RWC به‌طور مستقیم روی دستگاه فتوسنتزی تاثیر می‌گذارد (Graca et al. 2010). در تحقیقی مشاهده شد که افزایش تنش خشکی مقدار آب نسبی گیاه گندم را کاهش داده و به‌طور معمول ارقام متحمل به خشکی، محتوای آب نسبی بیش‌تری را نسبت به ارقام حساس در شرایط خشکی نشان دادند (Siddique et al. 2000). هدف از این تحقیق، بررسی مقایسه‌ای اثر تنش خشکی بر برخی صفات فیزیولوژیکی و بیان ژن‌های پرولین (delta 1-pyrroline-5-carboxylate synthetase) و گلایسین‌بتائین (Betaine aldehyde dehydrogenase) در برگ گونه‌های مختلف گندم با استفاده از تکنیک Real time PCR می‌باشد.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1398.14.2.3.9]

مواد و روش‌ها

این تحقیق به‌منظور بررسی تأثیر سطوح مختلف تنش خشکی بر برخی از صفات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی مرتبط با تحمل به خشکی و هم‌چنین بیان ژن‌های دخیل در تنظیم اسمزی آزمایشی در گونه‌های مختلف گندم در سال ۱۳۹۶-۱۳۹۵ در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه زابل اجرا شد، پژوهش به‌صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام گرفت. گونه‌های گندم به‌عنوان فاکتور اول و تنش خشکی به‌عنوان فاکتور دوم در چهار شرایط آبی شامل تیمار آبیاری ۹۰ درصد ظرفیت زراعی (شاهد)، تیمار آبیاری ۷۰ درصد ظرفیت آبیاری (تنش ملایم)، تیمار آبیاری ۵۰ درصد ظرفیت زراعی (تنش متوسط) و تیمار آبیاری ۳۰ درصد ظرفیت زراعی (تنش شدید) بود. بذرهای سه ژنوتیپ دیپلوئید (تائوشی، اسپلتوئیدز و اورارتو) از مرکز پژوهشی دانشگاه زابل و دو رقم تتراپلوئید (شبرنگ و بهرنگ) و دو رقم هگزاپلوئید (سیستان و ارگ) از مرکز تحقیقات کشاورزی سیستان تهیه شدند. کشت بذرها در گلدان‌های یک کیلویی حاوی مخلوطی متشکل از کوکوپیت و پرلیت (۱:۱) در عمق یک سانتی‌متری انجام شد. گلدان‌ها در شرایط یکسان حداقل دما ۹ و حداکثر دما ۳۵ درجه سلسیوس قرار گرفتند.آبیاری گلدان‌ها به‌صورت عادی و به‌میزان مساوی هر دو الی سه روز یک‌بار تا رسیدن گیاه به مرحله چهار برگی انجام شد سپس در حالی که آبیاری برای گیاهان شاهد به‌صورت عادی انجام می‌شد تنش از مرحله چهار تا شش برگی برای گیاهان مورد تنش به روش وزنی انجام گرفت. حدود سه هفته پس از شروع تیمارهای تنش (زمانی که ۵۰ درصد بوته‌ها به مرحله شش برگی رسیده بودند) جهت انجام بررسی‌های فیزیولوژیکی و مولکولی گلدان‌ها به پژوهشکده بیوتکنولوژی و مهندسی ژنتیک دانشگاه زابل منتقل شدند. در نهایت چند برگ بالایی جدا و در فریز منفی ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند میزان قندهای محلول به روش (Sheligl 1986) اندازه‌گیری شد. در این روش ۰/۲ گرم از بافت سبز برگ به‌همراه ۱۰ سی‌سی آب مقطر درصد در لوله آزمایش در بسته قرار داده و به مدت ۱۵ دقیقه در حمام بن ماری و در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شدند. پس از سرد شدن ۱ سی‌سی از این نمونه‌ها برداشته شد و به آن ۱ سی‌سی فنل ۵ درصد و ۵ سی‌سی اسید سولفوریک ۹۸ درصد اضافه شد. در نهایت پس از کالیبره کردن با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر، Uv-۱۶۰ میزان جذب نور در طول موج ۴۸۳ نانومتر قرائت شد. میزان کربوهیدرات استخراجی براساس میکروگرم گلوکز در گرم وزن تر از جدول استاندارد استخراج شد.

به‌منظور اندازه‌گیری آب نسبی برگ (RWC)[1] در مرحله گلدهی و قبل از زمان آبیاری نمونه‌برداری از برگ‌های پرچم انجام شد. از هر گلدان یک برگ برداشت و وزن تر آن‌ها با ترازوی دقیق دیجیتالی تعیین گردید. این نمونه‌ها به مدت ۸ ساعت در آب مقطر و شدت نور کم قرار داده شدند، سپس وزن نمونه‌های برگی در حالت تورژسانس تعیین شد. نهایتاً نمونه‌ها به‌مدت ۴۸ ساعت و در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد در آون خشک شدند و وزن خشک آن‌ها تعیین شد، سپس با استفاده از فرمول زیر میزان آب نسبی برگ برحسب درصد محاسبه شد. برای اندازه‌گیری محتوی نسبی آب برگ از معادله زیر استفاده شد (Ritchie and Nguyen 1990):

RWC= (FW-DW)/ (TW-DW)

که در آن RWC محتوای رطوبت نسبی برگ، FW وزن تر بافت، DW وزن خشک بافت و TW وزن بافت در شرایطی که به‌طور کامل آب جذب کرده باشد، هستند.

غلظت پرولین در برگ پرچم هرنمونه به روش Bates et al. (1973) اندازه‌گیری شد. در این روش ۰/۱ گرم بافت برگ پرچم پودر شده و با ۱۰میلی‌لیتر سولفوسالیسیک اسید ۳ درصد مخلوط و حدود ۱۰۰ ثانیه توسط ورتکس همگن شد و به مدت ۱۰ دقیقه در داخل یخ قرار گرفت. هر فالکون ۱۵ میلی‌لیتری حاوی نمونه به مدت ۱۱ دقیقه با دور ۱۳ هزار دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. از محلول روشناور داخل فالکون‌ها حاصل ۲ میلی‌لیتر در یک فالکون ۱۵ میلی‌لیتری دیگر ریخته و ۲ میلی‌لیتر اسیدناین هیدرین ۰/۲ مولار و ۲ میلی‌لیتر اسید اسیتیک گلایسیال به آن افزوده شد. سپس فالکون‌های مورد نظر به مدت یک ساعت در دمای ۱۰۰- ۹۶ درجه سانتی‌گراد در حمام آب قرار داده شدند. پس از این مدت، نمونه‌ها به سرعت در داخل ظرف یخ قرار گرفت و پس از

[1] Relative Water Content

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

[DOR: 20.1001.1.20084439.1398.14.2.3.9]

چند دقیقه سرد شدن نمونه به هر فالکون ۳ میلی‌لیتر تولوئن اضافه و ۱۵ تا ۲۰ ثانیه ورتکس شد. نمونه‌ها مدتی به حالت آرام رها شد تا محلول نهایی دو فازی شود و پرولین وارد فاز تولوئن (فاز بالایی) شود. سپس از فاز رویی که رنگ ارغوانی داشت به میزان ۲۰ میکرولیتر برداشته و میزان پرولین با استفاده از دستگاه پلیت ریدر (Coastaruv-plate) در طول موج ۵۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد.

میزان گلایسین‌بتائین در برگ پرچم به روش (Grattan and Grieve 1992) اندازه‌گیری شد. در این روش ابتدا ۰/۱ گرم از مواد گیاهی خشک شده در هاون کاملا پودر و با ٤ میلی‌لیتر آب دیونیزه به مدت ٤٨ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به‌صورت مکانیکی تکان داده شدند. سپس نمونه‌های برگی از کاغذ صافی عبور داده شده و محلول حاصل در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. برای اندازه‌گیری گلایسین بتائین نمونه‌های منجمد ذوب شده و با اسید سولفوریک (H_2SO_4) دو نرمال به نسبت ۱:۱ در تیوپ‌های ۱/۵ میلی‌لیتری رقیق شدند و سپس تیوپ‌ها در آب یخ به مدت ٦۰ دقیقه سرد شدند. سپس مقدار ۰/۲ میلی‌لیتر یدید پتاسیم- ید[1] ($KI-I_2$) سرد به محلول‌ها اضافه شد و محلول به آرامی ورتکس داده شد. بعد از این مراحل نمونه‌ها در دمای ٤-۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ ساعت قرار داده شدند. بعد از سپری شدن این مدت، نمونه‌ها با دور ۱۰۰۰۰ و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای صفر درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند. سپس با دقت سوپر ناتانت‌ها را دور ریخته و کریستال‌های پریداید در ۹ میلی‌لیتر دی‌کلرواتان[2] حل شدند. بعد از ۲/۵-۲ ساعت، که محلول‌ها را در دمای اتاق به حال خود رها کرده، میزان جذب در طول موج ۳٦۵ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد و از طریق معادله رگرسیون اعداد قرائت شده به غلظت گلایسین بتائین در نمونه‌ها تبدیل شدند.

ارزیابی میزان کل پروتئین قابل‌حل در عصاره شامل تهیه منحنی استاندارد با استفاده از پروتئین استاندارد (آلبومن سرم گاوی) مطابق با روش (Bradford 1976) انجام گرفت، به این منظور مقدار ۲۰ میکرولیتر عصاره هر نمونه با سه میلی‌لیتر معرف برادفورد در یک لوله آزمایش کوچک مخلوط و سپس میزان جذب نور در طول‌موج 595 nm با استفاده از اسپکتروفتومتر (مدل Unico UV- 2100) قرائت شد. برای هر نمونه سه تکرار در نظر گرفته شد و غلظت پروتئین میلی‌گرم بر گرم بافت تازه و با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه شد.

الگوی بیان ژن پرولین (P5CS) و ژن گلایسین بتائین (BADH) در مرحله رویشی در برگ‌های کاملاً توسعه یافته بررسی شد. ژن 18S به‌عنوان ژن خانه‌دار (House keeping) و ژن‌های P5CS و BADH به‌عنوان ژن‌های نامزد در تحمل به خشکی با مرور منابع انتخاب، توالی آن‌ها با جستجو در بانک‌های اطلاعاتی یافت شد. طراحی جفت آغازگرهای اختصاصی با بهره‌گیری از برنامه Pick primers(Primer3web version 4.0.0) صورت گرفت. RNA کل برگ‌ها (در تیمارهای مختلف) با استفاده از محلول ترایزول (شرکت Pishgam) استخراج شد. سپس برای اطمینان از حذف کامل DNA ژنومی، نمونه‌های RNA با آنزیم (RQl RNase- free DNase l (DNase, Promega تیمار شد و به‌عنوان الگوی واکنش PCR قرار گرفت. پس از همسان‌سازی غلظت RNAهای مختلف، واکنش سنتز cDNA با استفاده از کیت iScript cDNA synthesis kit (Geneall) انجام گرفت. الگوی بیان ژن‌ها با استفاده از Real time-PCR (Eva Green Master) بررسی شد. میزان بیان ژن با روش ΔΔCT fficiency adjusted (Yuan et al. 2006) محاسبه شد. در این روش، میزان بیان ژن‌های پرولین و گلایسین بتائین براساس ژن 18S (ژن خانه‌دار) با بیان ثابت نرمال شده، سپس میزان تغییرات بیان ژن در همه تیمارها نسبت به شاهد با آبیاری کافی سنجیده شد.

آنالیز واریانس داده‌ها و مقایسه میانگین صفات مختلف و نتایج به‌دست آمده از Real time-PCR با آزمون توکی در سطح خطای ۰/۰۵ و ۰/۰۱ با استفاده از نرم‌فزار SAS انجام شد.

نتایج

نتایج حاصل از تجزیه واریانس پروتئین‌های محلول کل نشان می‌دهد که منبع تغییر تنش خشکی و رقم و همچنین اثر متقابل تنش خشکی در رقم در سطح احتمال ۰/۰۱ و ۰/۰۵ تاثیر بسیار معنی‌داری داشتند (جدول ۲). مشخص شد ارقام مختلف در برابر

[1]. Potassium iodide-iodine (Potassium triiodide)
[2] 1,2-Dichloroethane

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1398.14.2.3.9]

تنش خشکی رفتارهای متفاوتی نشان دادند. معنی‌دار شدن اثر متقابل تنش و رقم و نتایج مقایسه میانگین توکی نشان داد عمل تنش‌های گوناگون در رقم‌های مختلف یکسان نبوده و بر حسب نوع و یا سطح تنش و رقم مورد نظر تغییرات متنوعی رخ داده است. مقایسه میانگین میزان پروتئین محلول کل نشان داد که مقدار پروتئین در اثر تنش خشکی به‌طور معنی‌داری از ٤/٣٨٥٠ میلی‌گرم برگرم در شرایط نرمال به٨/٧٦٨٦ میلی‌گرم بر گرم در شرایط تنش افزایش یافت. از نظر میزان پروتئین محلول کل رقم اورارتو بالاترین مقدار را (١١/٢٧٩٣) که تفاوت معنی‌داری با رقم سیستان با کمترین مقدار ٣/١٦٧٨ داشت. براساس اثر متقابل تنش در رقم نشان داد که در شرایط تنش ٥٠ درصد بیش‌ترین میزان پروتئین را رقم اورارتو با مقدار ١٢/٧٢٦٥ و رقم سیستان در این تنش کم‌ترین میزان پروتئین کل را ٣/٣٩٤٣ دارا بود و هم چنین در شرایط تنش ٣٠ درصد ظرفیت زراعی بیش‌ترین مقدار را رقم اورارتو با مقدار ١٣/٣٥٣ و کم‌ترین مقدار را رقم سیستان با مقدار ٣/٨٤٨٠ را به خود اختصاص داد (شکل ١).

در بین ارقام بیش‌ترین میزان صفت اندازه‌گیری شده مربوط به رقم اسپلتوئیدس با مقدار (٠/٢٧٦٤) که تفاوت معنی‌داری با رقم تائوشی با کم‌ترین مقدار (٠/٠٧٨١) داشت. با افزایش شدت تنش میزان پرولین افزایش یافت به‌طوری که میزان پرولین از ٠/٠٦٨١ میلی‌گرم بر گرم در شاهد (٩٠ درصد ظرفیت زراعی) به ٠/٣٠٥٦ میلی‌گرم برگرم در ٣٠ درصد تنش خشکی رسید که نشان دهنده‌ی افزایش میزان پرولین با اعمال تنش خشکی نسبت به شاهد می‌باشد. برهمکنش بین رقم و شدت تنش بر روی مقدار پرولین در سطح ٠/٠١ و٠/٠٥ بسیار معنی‌دار بود (جدول٢). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که با افزایش شدت تنش میزان پرولین در ارقام مختلف افزایش یافت. در تنش ٥٠ درصد ظرفیت زراعی بیش‌ترین مقدار پرولین در رقم اسپلتوئیدس مشاهده شد که مقدار پرولین از ٠/٠٦٤٧ میلی‌گرم بر گرم در شاهد به ٠/٢٥٤٩ میلی‌گرم در گرم تحت تنش ٥٠ درصد ظرفیت زراعی افزایش یافت. کم‌ترین میزان پرولین در این سطح تنش به گونه تائوشی اختصاص داشت که میزان پرولین آن به‌ترتیب ٠/٠٥٧٩ میلی‌گرم بر گرم در تنش ٥٠ درصد ظرفیت زراعی رسید. در تنش ٣٠ درصد ظرفیت زراعی بیش‌ترین میزان پرولین متعلق به اسپلتوئیدس با مقدار ٠/٥٢٣٠ میلی‌گرم بر گرم و کم‌ترین میزان مربوط به گونه تائوشی ٠/١٠٦٣ میلی‌گرم بر گرم اختصاص داشت (شکل ١).

نتایج حاصل از تجزیه واریانس گلایسین بتائین نشان می‌دهد که منبع تغییر تنش خشکی و گونه و همچنین اثر متقابل تنش خشکی در گونه در سطح احتمال ٠/٠١ و ٠/٠٥ تاثیر بسیار معنی‌داری داشتند (جدول٢). مقایسه میانگین میزان گلایسین بتائین نشان داد که مقدار گلایسین در اثر تنش خشکی به‌طور معنی‌داری از ٢٥/٣٥٣١ میلی‌گرم برگرم در شرایط نرمال به ٣٨/٨٣٤٠ میلی‌گرم بر گرم در شرایط تنش افزایش یافت. میزان گلایسین‌بتائین در گیاهان تحت تنش خشکی برای افزایش مقاومت گیاه در برابر شرایط تنش زا افزایش می‌یابد. از نظر میزان گلایسین‌بتائین گونه شبرنگ بالاترین مقدار (٣٢/٥٩٧٨) که تفاوت معنی‌داری با گونه اسپلتوئیدس با کم‌ترین مقدار ٢٥/٤٧٠٨ داشت. براساس اثر متقابل تنش در گونه نشان داد که در شرایط تنش ٥٠ درصد ظرفیت زراعی بیش‌ترین مقدار مربوط به گونه شبرنگ با مقدار ٣٢/٤٧٧ و کم‌ترین مقدار مربوط به گونه اسپلتوئیدس ٢٦/٠٠٠ و در شرایط تنش ٣٠ درصد ظرفیت زراعی بیش‌ترین میزان گلایسین‌بتائین را گونه سیستان با مقدار ٤٥/٢٤٧ و گونه تائوشی در این تنش کم‌ترین میزان گلایسین‌بتائین ٣٣/٢٢٧ را دارا بود (شکل ١).

جدول١- فهرست و توالی جفت آغازگرهای مورد استفاده در بررسی الگوی بیان ژن‌ها

Primer	Primer sequence	Tm (c)	GC (%)
Forward BADH	5- TAGCGAATGCTAAAAGTGAAGGTGTG-3	61.8	41.7
Reverse BADH	5-TTCGGTAGAAAATTCCTTCACACA-3	60.1	37.5
Forward P5CS	5-CATGAGGCTGGGTATGAGAGTG- 3	64	54.5
Reverse P5CS	5-ATAGAACACCCAAAGGGCAAGA-3	60.3	45.5
Forward 18S	5-GTGACGGGTGACGGAGAATT-3	60.5	55
Reverse18S	5-GACACTAATGCGCCCGGTAT-3	60.5	55

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

[DOR: 20.1001.1.20084439.1398.14.2.3.9]

نتایج حاصل از تجزیه واریانس کربوهیدرات‌های محلول نشان داد که بین ارقام و سطوح تنش اختلاف بسیار معنی‌داری در سطح آماری ۰/۰۱ و ۰/۰۵ وجود داشت (جدول۲). بیش‌ترین میزان صفت اندازه‌گیری شده را گونه شبرنگ با مقدار (۳/۷۰۳۲) که تفاوت معنی‌داری با گونه اسپلتوئیدس با کم‌ترین مقدار ۱/۹۳٦۱ داشت. با افزایش شدت تنش میزان کربوهیدرات محلول به طور بسیار معنی‌داری افزایش نشان می‌دهد به‌طوری که میزان کربوهیدرات از ۲/۰۸۲۰ میلی‌گرم بر گرم در شاهد به ۳/۸۲۵۷ میلی‌گرم بر گرم در تنش ۳۰ درصد ظرفیت زراعی رسید. نتایج حاصل از مقایسه میانگین برهمکنش سطح تنش و گونه نشان داد که در تیمار شاهد (۹۰ درصد ظرفیت زراعی) و سطوح تنش بین ارقام از نظر کربوهیدرات‌های کل تفاوت وجود داشت. در تنش ۵۰ درصد بیش‌ترین میزان کربوهیدرات در گونه شبرنگ با مقدار (٤/۷۰۰۰) و کم‌ترین میزان کربوهیدرات در گونه اسپلتوئیدس با مقدار ۲/۰٤٤٤ بود و در سطح شاهد گونه شبرنگ بیش‌ترین مقدار را به خود اختصاص داده است. با افزایش سطح تنش به ۳۰ درصد ظرفیت زراعی، گونه شبرنگ ٤/۷۱۱۱ همچنین بیش‌ترین میزان کربوهیدرات را به خود اختصاص داد و کم‌ترین میزان کربوهیدرات در گونه اسپلتوئیدس با مقدار ۲/۳۳۸۹ مشاهده شد. با افزایش میزان تنش میزان کربوهیدرات‌های محلول افزایش یافت و این افزایش در گونه‌های دوروم بیشتر از بقیه ارقام مشاهده شد، که با گونه وحشی تائوشی تفاوت معنی‌داری داشت (شکل ۱).

نتایج حاصل از تجزیه واریانس محتوای نسبی آب نشان می‌دهد که منبع تغییر تنش خشکی و گونه و همچنین اثر متقابل تنش خشکی در گونه در سطح احتمال ۰/۰۱ و ۰/۰۵ تاثیر بسیار معنی‌داری داشتند (جدول ۲). به‌طوری که در این آزمایش بیش‌ترین مقدار محتوای آب نسبی مربوط به شرایط شاهد یا ۹۰ درصد ظرفیت زراعی به میزان ۸۸/۰۲٤ درصد و کم‌ترین مقدار آن مربوط به سطح تنش ۳۰ درصد به‌میزان ۵۷/۸۸ درصد بود. نتایج حاصل از مقایسات میانگین انجام شده برای گونه‌ها نشان داد که بیش‌ترین میانگین مقدار محتوای آب نسبی مربوط به گونه شبرنگ با میانگین (۷۲/۹٤۸درصد) و کم‌ترین مقدار آن مربوط به گونه بهرنگ (٦۹/۱٦۸درصد) می‌باشد. در سطح تنش ۵۰ درصد بیش‌ترین و کم‌ترین مقدار محتوای آب نسبی به‌ترتیب مربوط به گونه اورارتو (٦۲/٤٦۵ درصد) و بهرنگ (۵۷/۸۷۷ درصد) بود. هم‌چنین در این آزمایش گونه شبرنگ در سطح تنش ۳۰ درصد ظرفیت زراعی در مقایسه با سایر ارقام به مقدار کمتری آب از دست داد و مقدار محتوای آب نسبی آن (٦۱/۲۰۸) بود. گونه اورارتو نیز با مقدار (۵۵/۸۸۷ درصد) کم‌ترین مقدار محتوای آب نسبی را به خود اختصاص داد (شکل ۱).

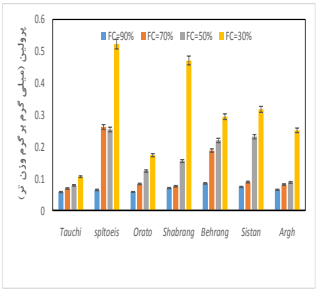
در مطالعه حاضر، تیمار تنش خشکی سبب تغییر در میزان بیان ژن *P5CS* شد. بیان ژن *P5CS* پس از قرارگیری در سطوح مختلف خشکی اختلاف معنی‌داری با تیمار کنترل در شرایط بدون تنش نشان داده است. نتایج حاصل از تجزیه واریانس حاکی از آن است که ارقام و سطوح تنش خشکی بر روی میزان بیان ژن *P5CS* در سطح احتمال ۰/۰۱ و ۰/۰۵ تفاوت بسیار معنی‌داری در شرایط تنش در مقایسه با کنترل نشان دادند. (جدول۳).

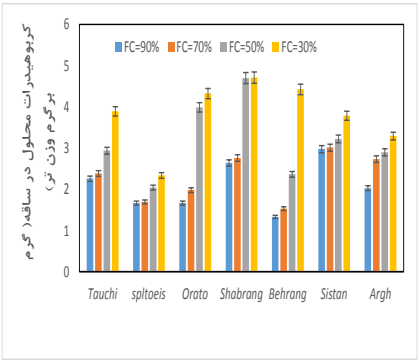
جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس صفات فیزیولوژیکی مورد بررسی در ارقام گندم مورد مطالعه در شرایط تنش و بدون تنش رطوبتی

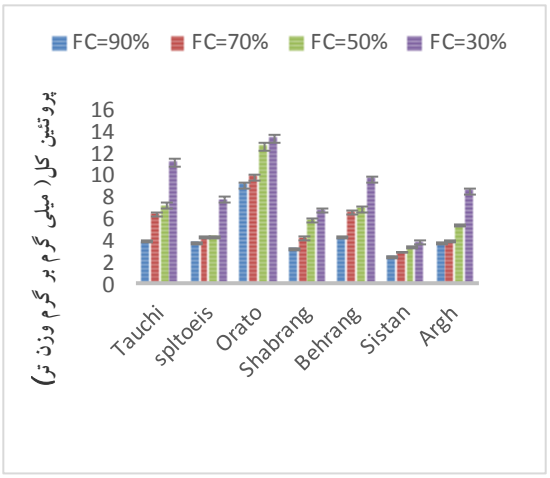
منابع تغییر	درجه آزادی	پرولین	کربوهیدرات	پروتئین کل	گلایسین بتائین	میزان رطوبت نسبی
گونه	٦	۰/۰۵۳۷**	۳/۸۹۰۱۸**	۷۹/٤۲۳۹**	۷۰/۱۱۸**	۲٤/۰۲۳**
تنش خشکی	۳	۰/۲۱۷۲**	۱۳/٦۰٤۷**	۷۳/۳۱۹۲**	۷۳۵/۰۳۱**	٤۲۰۱/٤۱۷**
اثرمتقابل تنش و گونه	۱۸	۰/۰۱۵۳**	۰/۸٦۵۰**	۲/٦٤٦۸**	۲۵/۰۹٦**	۷/۰٦۵۸**
خطا	۵٦	۰/۰۰۰۳	۰/۲۳۹۳	۱/۲۰۱	٤/۸۸٤	۲/۸۰
ضریب تغییرات	-	۱۰/۹۱	۱۷/۲۰	۱۷/۳۹	۷/۲۵	۲/۳٦
R-Square	-	۰/ ۹۸	۰/۸۵	۰/۹۱	۰/۹۱	۰/۹۸

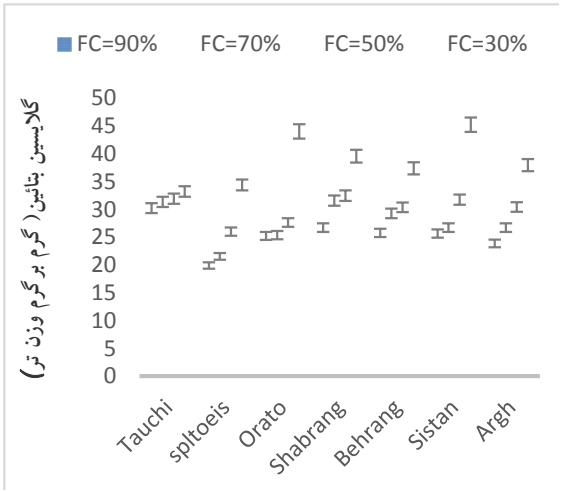
ns، * و **: به‌ترتیب بیانگر عدم اختلاف معنی‌داری و اختلاف معنی‌داری در سطوح احتمال پنج و یک درصد می‌باشند.

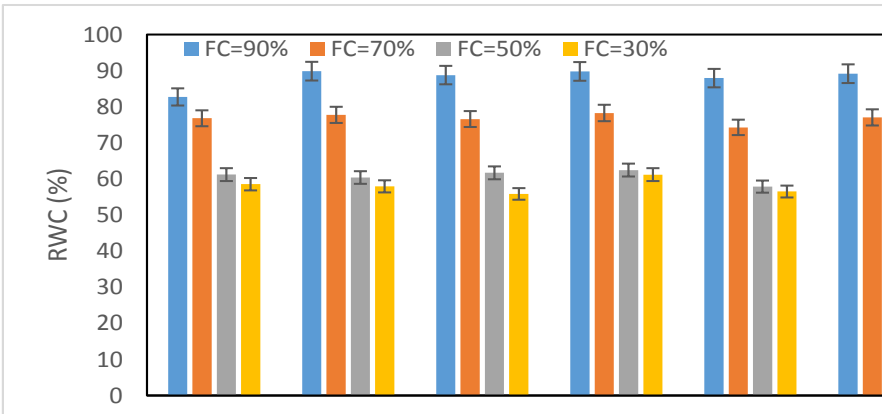
[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1398.14.2.3.9]











شکل ۱- اثر شرایط آبیاری نرمال و تنش خشکی بر صفات فیزیولوژیک در ارقام دیپلوئید، تتراپلوئید و هگزاپلوئید. حروف یکسان در هر نمودار بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون توکی در سطح ۵ درصد است.

در بین ارقام بیش‌ترین میزان بیان ژن مربوط به گونه اسپلتوئیدس با مقدار (۲۲/۰۶۴۵) که تفاوت معنی‌داری با بقیه ارقام داشت و کمترین مقدار را گونه تائوشی[1] با مقدار (۲/۹۶۴۷) به خود اختصاص داد. با افزایش شدت تنش میزان بیان ژن افزایش یافت به‌طوری که میزان بیان ژن *P5CS* از مقدار ۱/۰۰ در شاهد (۹۰ درصد ظرفیت زراعی) به مقدار ۲۵/۴۳۸۱ در ۳۰ درصد تنش خشکی رسید که نشان‌دهنده‌ی افزایش میزان بیان ژن *P5CS* با

[1] . Triticum *taushii*

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1398.14.2.3.9]

اعمال تنش خشکی نسبت به شاهد می‌باشد. برهمکنش بین گونه و شدت تنش بر روی مقدار بیان ژن در سطح ۰/۰۱ و۰/۰۵ بسیار معنی‌دار بود. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که با افزایش شدت تنش میزان بیان ژن در ارقام مختلف افزایش یافت. در تنش ۵۰ درصد ظرفیت زراعی بیش‌ترین مقدار بیان ژن در گونه اسپلتوئیدس، مشاهده شد که مقدار آن از۱/۰۰ در شاهد به ۳٤/٦۱۵ و گونه سیستان مقدار آن از ۱/۰۰ در شاهد به ۳۲/۹۸۵ تحت تنش ۵۰ درصد ظرفیت زراعی افزایش یافت. کمترین میزان بیان ژن در این سطح تنش به گونه تائوشی با مقدار ۱/۸۸۳ اختصاص داشت. در تنش ۳۰ درصد ظرفیت زراعی بیش‌ترین میزان بیان ژن متعلق به گونه‌های اسپلتوئیدس و شبرنگ به‌ترتیب با مقدارهای ٤۷/٦۱٤ و ۳٦/۰۰۵ وکم‌ترین میزان مربوط به گونه تائوشی با مقدار ۸/۹۵۹ اختصاص داشت(شکل ۲).

بیان ژن *BADH*

بیان *BADH* پس از قرارگیری در سطوح مختلف خشکی اختلاف معنی‌داری با تیمار کنترل در شرایط بدون تنش نشان داده است. با توجه به نتایج حاصل از تجزیه واریانس بین ارقام و سطوح تنش خشکی بر روی بیان *BADH* در سطح احتمال ۰/۰۱ و ۰/۰۵ تاثیر بسیار معنی‌داری وجود دارد (جدول ۳). در بین ارقام بیش‌ترین میزان بیان ژن مربوط به گونه شبرنگ با مقدار (۲۸/۷۷٦٦) که تفاوت معنی‌داری با بقیه ارقام داشت و کم‌ترین میزان متعلق به گونه ارگ با مقدار ۰/۵٤۸ بود. با افزایش شدت تنش میزان بیان ژن افزایش یافت به‌طوری که میزان بیان ژن *BADH* از مقدار ۱/۰۰ در شاهد (۹۰ درصد ظرفیت زراعی) به مقدار ۱٤/۲۹۹ در ۳۰ درصد تنش خشکی رسید که نشان دهنده‌ی افزایش میزان بیان ژن با اعمال تنش خشکی نسبت به شاهد می‌باشد هرچند دراین تنش مقدار آن از تنش ۵۰ درصد کمتر شده بود. برهمکنش بین گونه و شدت تنش بر روی مقدار بیان ژن در سطح ۰/۰۱ و ۰/۰۵ بسیار معنی‌دار بود. در تنش ۵۰ درصد ظرفیت زراعی بیش‌ترین مقدار بیان ژن در گونه شبرنگ، مشاهده گردید که مقدار آن از۱/۰۰ در شاهد به ۵۸/۳۵۰ برابر تحت تنش ۵۰ درصد ظرفیت زراعی افزایش یافت. کمترین میزان بیان ژن در این سطح تنش به گونه ارگ با مقدار ۰/۱۳۷ اختصاص داشت. در تنش ۳۰ درصد ظرفیت زراعی بیشترین میزان بیان ژن متعلق به بهرنگ (۵۷/۵٤٦) و کم‌ترین میزان مربوط به گونه ارگ با مقدار ۰/۱۵٦ اختصاص داشت (شکل ۲)

بحث

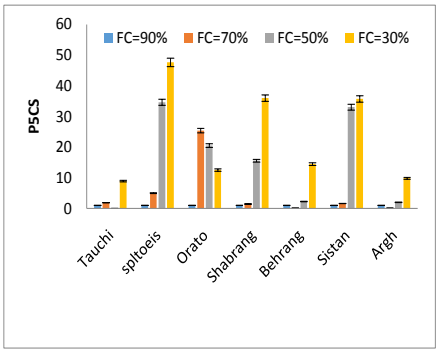
نتایج حاصل از تجزیه واریانس، برای بررسی پروتئین محلول کل، پرولین، گلایسین بتائین،کربوهیدرات محلول در ساقه، و محتوای نسبی آب برگ نشان داد که بین ارقام، تیمارها و اثر متقابل آن‌ها، از لحاظ مقدار هر پنج صفت یاد شده، تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال خطای پنج درصد و یک درصد وجود دارد (جدول ۲).

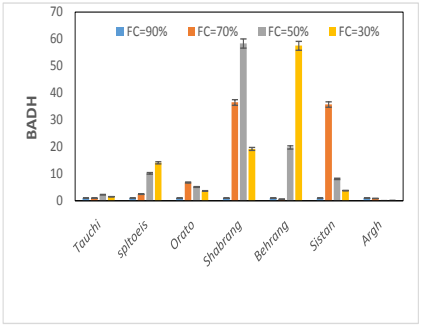
جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس بیان ژن‌های *P5CS* و *BADH* در ارقام گندم مورد مطالعه در شرایط تنش و بدون تنش

منابع تغییر	درجه آزادی	*P5CS*	*BADH*
رقم	٦	۷۱٤/۹٦۵**	۱۳۱۱/۱٤٤**
تنش خشکی	۳	۲۷٦۱/٤۳۳**	۸۸۲/۷۵۱**
اثر متقابل رقم و تنش	۱۸	۲۱۲/۹٦۲**	٦٦۰/۸۰۱**
خطا	۵٦	۰/۱۲	۰/۱۲
ضریب تغییرات	-	۳/۱۲	۳/۳۱
R-Square	-	۰/۹۹	۰/۹۹

ns، * و **: به‌ترتیب بیانگر عدم اختلاف معنی‌داری و اختلاف معنی‌داری در سطوح احتمال پنج و یک درصد می‌باشند.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1398.14.2.3.9]





شکل ۲- بیان نسبی ژن پرولین (*P5CS*) و گلایسین بتائین (*BADH*) در برگ پرچمی در مرحله رویشی در هفت رقم گندم (دیپلوئید، تتراپلوئید، هگزاپلوئید) در شرایط آبیاری عادی و چهار سطح تنش خشکی ارایه شده‌است. حروف یکسان در هر نمودار بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون توکی در سطح ۵ درصد است.

نتایج این تحقیق حاکی از این است که افزایش غلظت پروتئین‌های برگ ممکن است نشان‌دهنده فعال شدن مکانیسم‌های تحمل باشد، به‌طوری که روند تغییرات غلظت پروتئین‌های برگ با الگوی مشابهی در تمام تیمارها اتفاق افتاده است و حداقل غلظت برای رقم سیستان و حداکثر آن برای گونه اورارتو بوده است. Kim et al. (2005) و Huang et al. (2012) نیز افزایش غلظت پروتئین‌های کل را عنوان نمودند.

Vendruscolo et al. (2007) حضور پرولین در گیاه را یک راهکار اصلی برای جلوگیری از اثرات زیان‌آور تنش کمبود آب دانسته و افزایش معنی‌دار میزان آن بعد از وقوع تنش کمبود آب در گندم را گزارش کردند. Navabpour et al. (2015) نیز نشان دادند که ژنوتیپ‌های مختلف نسبت به کمبود آب آستانه تحمل متفاوتی دارند و این موضوع با نتایج این بررسی منطبق است. هم‌چنین این انطباق در مطالعه متابولیسم پرولین در گندم به کمک ایجاد تنش‌های اسمزی که Lei et al. (2007) انجام دادند نیز اثبات شده‌است.

گلایسین‌بتائین نیز از ترکیبات آلی است که اثرات محافظت‌کنندگی اسمزی نیز در سلول دارند. میزان آن در گیاهان تحت تنش خشکی برای افزایش مقاومت گیاه در برابر شرایط تنش‌زا افزایش می‌یابد، گلایسین‌بتائین در بسیاری از گیاهان زراعی از جمله اسفناج، جو، گندم و سورگوم در واکنش به تنش‌ها افزایش می‌یابد که با نتایج این آزمایش مطابقت دارند (Yang et al. 2003). هم‌چنین نتایج این آزمایش با بررسی‌های Tale Ahmad and Haddad (2011) و Carlos et al. (2009) انطباق دارد نتایج آن‌ها نشان داد که میزان گلایسین‌بتائین تحت تنش خشکی در گیاهان گندم و سیب‌زمینی از گیاهان شاهد بیشتر است.

در این تحقیق تنش خشکی باعث افزایش غلظت کربوهیدرات‌های برگ شد. احتمالاً انباشت این مواد به تحمل گیاهان تحت تنش کمک می‌کند و تغییر مقدار آن‌ها در پاسخ به تنش اسمزی تنوع قابل ملاحظه‌ی بافت‌ها و ژنوتیپ‌های مختلف گندم را نشان می‌دهد. چنین به‌نظر می‌رسد که افزایش درصد قندهای محلول در برگ و ساقه ارقام مورد مطالعه عمدتا ناشی از تبدیل پلی ساکاریدها به قندهای ساده‌تر (که از نظر اسمزی فعال‌تر هستند) و با هدف تنظیم اسمزی در جهت سازگاری بیشتر با تنش خشکی بوده و لذا افزایش قندهای محلول را می‌توان با کاهش پلی ساکاریدهای برگ و ساقه مرتبط نمود. در شرایط کم آبی، مقدار پروتئین‌هایی با وزن مولکولی بالا و نشاسته کاهش می‌یابد. در تنیجه فعالیت آمیلاز محتوای قندهای محلول بیش‌تر می‌گردد و ژنوتیپ‌های که دارای مخازن بزرگ‌تری از قندهای محلول باشند از مقاومت بیشتری در مقابل خشکی برخوردار خواهند بود (Farshadfar et al. 2008) مطالعات نشان داده است که افزایش سنتز کربوهیدرات‌ها در گندم سبب افزایش مقاومت به خشکی می‌شود (Erdei et al. 2002). نتایج بررسی‌های این تحقیق با یافته‌های (Farooq et al. 2009) انطباق ندارد زیرا نتایج

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1398.14.2.3.9]

وی نشان می‌دهد میزان سنتز ساکارز کاهش یافته و توزیع آن نیز دچار اختلال شده‌است.

تنظیم اسمزی یکی از مؤلفه‌های تحمل به خشکی است که ارتباط زیادی با میزان آب نسبی برگ دارد (Schonfeld et al. 1988). Blum et al. (1981) اظهار داشتند ژنوتیپ‌های که بدون بستن روزنه‌های خود توانایی حفظ آب بیشتری دارند، برای مناطق خشک مناسب‌ترند. در کل تنش خشکی باعث کاهش محتوای آب نسبی برگ‌ها می‌شود (Molnar et al. 2002). نتایج حاصل از این بررسی نیز کاهش محتوای آب نسبی برگ‌ها نشان می‌دهد این نتایج با بررسی‌های Mantte et al. (1988) و Silva et al. (2007) هم‌چنین Graca et al.(2010) انطباق داشت. آن‌ها نیز نشان دادند که با افزایش تنش رطوبتی، RWC برگ گندم کاهش پیدا می‌کند که علت کاهش آن، کاهش پتانسیل آب برگ، کاهش جذب آب از ریشه‌ها در شرایط خشکی است (Siddique et al. 2000).

هنگامی که گیاهان در معرض تنش خشکی قرار می‌گیرند، با تغییر در الگوی بیان ژن‌های خود، تلاش می‌کنند با شرایط محیطی جدید سازگاری پیدا کنند (Ozturk et al. 2002). بررسی بیان ژنی در این مطالعه اطلاعات مفیدی را در خصوص درک چگونگی پاسخ ژن‌های پرولین و گلایسین بتائین در گیاه گندم به تنش خشکی در مرحله رویشی ارایه می‌نماید و این اطلاعات به نوبه خود می‌تواند در توضیح مکانیسم سازگاری ژنوتیپ‌های متحمل در شرایط تنش خشکی حایز اهمیت باشد. نتایج حاصل از بررسی بیان ژن پرولین (*P5CS*) و ژن گلایسین بتائین (*BADH*) در برگ هفت ژنوتیپ گندم نشان داد که این ژن‌ها تحت شرایط تنش نیز در مقایسه با شرایط شاهد، افزایش بسیار معنی‌داری نشان دادند (شکل ۲). تنش خشکی سبب القاء بیان ژن *P5CS* و افزایش سطح پرولین در همه‌ی ارقام شد. داده‌های به‌دست آمده از سطح آنزیم پرولین منطبق بر داده‌های حاصل از بیان ژن بود که داده‌های مولکولی داده‌های فیزیولوژیک را تائید می‌کنند. بررسی‌های انجام شده با نتایج Vendruscolo et al.(2007) درگیاه گندم مطابقت دارد .با توجه به نتایج به‌دست آمده تمامی ارقام از انباشت پرولین به‌عنوان یک واکنش حفاظتی در برابر تشدید تنش خشکی استفاده کردند ولی سرعت واکنش و تجمع پرولین در هر رقم متفاوت و تعیین کننده سطح تحمل به خشکی آن رقم بود. در مطالعه حاضر، تیمار تنش خشکی سبب تغییر در میزان بیان ژن *BADH* شد. بیان *BADH* پس از قرارگیری در سطوح مختلف خشکی اختلاف معنی‌داری با تیمار کنترل در شرایط بدون تنش نشان داده است. با افزایش شدت تنش میزان بیان ژن گلایسین‌بتائین افزایش یافت. مطالعات نشان می‌دهد که تجمع گلایسین بتائین و فعالیت آنزیم BADH تحت شرایط تنش خشکی افزایش می‌یابد که با آزمایش انجام شده مطابقت دارد (He et al. 2011). داده‌های فیزیولوژیک و بیان ژن صفت گلایسین بتائین منطبق برهم نبودند که نشان می‌دهد ژن گلایسین بتائین در سطوح مختلفی کنترل می‌شود و احتمالاً تغییرات پس از رونویسی و پس از ترجمه در تنظیم فعالیت بیان ژن گلایسین بتائین نقش مهمی دارد، پیش از این Guerra et al. (2015) به نقش مهم تغییرات پس از رونویسی و پس از ترجمه در تنش‌های خشکی و گرما اشاره کرده‌اند.

بر اساس این پژوهش می‌توان اظهار داشت که محتوای پرولین و گلایسین بتائین و بیان ژن‌های کلیدی درگیر در بیوسنتز پرولین و گلایسین‌بتائین در شرایط تنش نسبت به شرایط کنترل تغییرات قابل توجهی را نشان دادند. تنش خشکی سبب القاء بیان ژن (*P5CS*) و افزایش سطح پرولین در همه ارقام و ژن گلایسین بتائین (*BADH*) در برخی ارقام شد. بنابراین، می‌توان از صفت تنظیم اسمزی و میزان بیان دو ژن *P5CS* و *BADH* تحت شرایط تنش به‌عنوان یک شاخص در برنامه‌های اصلاحی جهت انتخاب ارقام متحمل به خشکی استفاده شود و از این نتایج در اصلاح مولکولی گیاه گندم بهره بسیار برد.

منابع

Akram H M, Ali A, Sattar A, Rehman H SU and Bibi A (2013) Impact of water deficit stress on various physiological and agronomic traits of three Basmati rice (*Oryza sativa* L.) cultivars. Journal of Animal and Plant Sciences 23: 1415-1423.

Amini S, Ghobadi C and Yamchi A (2015) Proline accumulation and osmotic stress: an overview of P5CS

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1398.14.2.3.9]

gene in plants. Journal of Plant Molecular Breeding 3: 44-55.
Ashraf M, Harris J C (2004) Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. Plant Science 166: 3-16.
Bai L, and Sui F (2006) Effect of soil drought stress on leaf of maize. Pedosphere 16: 326-332.
Bates L S, Waldron R P and Teare I. D. (1973) Rapid determination of free prolin for water stress studies. Plant Soil 39: 205-217.
Blum A(1998) Improving wheat grain filling under stress by stem reserve mobilization. Euphytica 100: 77-83.
Bradford M M (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of dye binding .Analytical Biochemistry 72: 248-254.
Carlos A C C, Adriano L P, Leandro B L, Rogerio P S, Giuseppina P P L (2009) Effects of silicon and drought stress on tuber yield and leaf biochemical characteristics in potato. Crop Science 49: 949-954.
Delauney A, Hu C, Kishor P, Verma D (1993) Cloning of ornithine delta-aminotransferase cDNA from Vigna aconitifolia by trans-complementation in Escherichia coli and regulation of proline biosynthesis. Journal of Biological Chemistry 268:18673-18678.
Drossopoulos J B, Karamanos A J and Niavis C A (1985) Changes in free amino compounds during the development of two wheat cultivars subjected to different degrees of water stress. Annals of Botany 54: 291-305.
Erdei L, Tari I, Csiszár J, pécsváradi A, Horváth F, Szabó M, Ördög M, Cseuz L, Zhiponova M, Szilák L and Györgyey J (2002) Osmotic stress responses of wheat species and cultivars differing in drought tolerance: some interesting genes (advices for gene hunting) Acta biologica Szegediensis 46: 63-65.
Farooq M, Wahid A, Kobayashi N, Fujita D and Basra S M. A (2009) Plant drought stress: effects, mechanisms and management. Agron for Sustainable Development 29: 185-212.
Farshadfar E, Ghasempour H, Vaezi H (2008) Molecular aspects of drought tolerance in bread wheat (*T. aestivum)* Pakistan Journal of Biological Sciences 11: 118-122.
Ghorbanli M, Gafarabad M, Amirkian T and Allahverdi Mamaghani B (2013) Investigation of proline, total protein, chlorophyll, ascorbate and dehydro ascorbate changes under drought stress in Akria and Mobil tomato cultivars . Iranian Journal of Plant Physiology 3: 651-658.
Graça J P, Rodrigues F A, Farias J R B, Oliveira M C N, Hoffmann-Campo CB, Zingaretti SM (2010) Physiological parameters in sugarcane cultivars submitted to water stress. Brazilian Journal of Plant Physiology 22:1677-0420.
Grattan S R and Grieve C M (1992) Mineral element acquisition and growth response of plants grown in saline environments. Agriculture Ecological Environment 38: 275-300.
Greenway H, and Munns R (1980) Mecanisms of salt tolerance in non-halophytes. Plant Physiology 31:149-190.
Guerra D, Crosatti C, Khoshro H H, Mastrangelo A M, Mica E and Mazzucotelli E (2015)Post-transcriptional and post-translational regulations of drought and heat response in plants: a spider's web of mechanisms. Front. Plant Science 46- 57.
Guzma´n C and Alvarez J B(2012) Molecular characterization of a novel waxy allele (Wx -Au1a) from Triticum urartu Thum. exGandil. Genetics Resources and Crop Evolution 59: 971-979.
He C, Zhang W, Gao Q, Yang A, Hu X, Zhang J (2011) Enhancement of drought resistance and biomass by increasing the amount of glycine betaine in wheat seedlings. Euphytica 177:151-167.
Huang G T, Ma S L, Bai L P, Zhang L, Ma H, Jia P, Liu J, Zhong M and Guo ZF (2012) Signal transduction during cold, salt, and drought stresses in plants. Molecular Biology Reports 39:969-987.
Huang S, Sirikhachornkit A, Su X J, Faris J and Gill B (2002) Genes encoding plastid acetylCoaA carboxylase and 3-phosphoglycerate kinase of the *Triticum/Aegilops* complex and evolutionary history of polyploid wheat. Proceedings of the National Academy of Sciences 99: 8133-8138.
Hussain TM, Chandrasekhar T, Hazara M, Sultan Z, Saleh B K and Gopal G R (2008) Recent advances in salt stress biology-a review. Biotechnology and Molecular Biology Review 3: 8-13.
Kafi M, Styuart V C, Borland A M (2003) Carbohydrate and proline contentin leaves, roots and apexes of salt-tolerant and salt-sensitive wheats Plant Physiology 50: 174-182.
Kim SY, Lim JH, Parkm MR, Kimm YJ, Park TI, Seo YW, Choi KG, Yun SJ (2005) En-hanced antioxidant enzymes are associated with reduced hydrogen peroxide in barley roots under saline stress. Journal of Biochemistry and Molecular Biology 38: 218-224.
Lei Y, Yin C, Ren J, and Li C (2007) Effect of osmotic stress and sodium nitroprusside pretreatment on proline metabolism of wheat seedlings Biologia Plantarum 51: 386-390.
Liang X, Zhang L, Natarajan S K and Becker D F(2013) Proline Mechanisms of Stress Survival. Antioxid Redox Signal 19: 998-1011.
Lum MS, Hanafi MM, Rafii YM and Akmar ASN (2014) Effect of Drought Stress on Growth, Proline and Antioxidant Enzyme Activities of Upland Rice. Journal of Animal & Plant Sciences 24: 1487-1493.
Mantte AS, Richard CJ, Carre B, Morhinweg W (1988) Water relation in winter wheat as drought resistance indicators. Crop Science 28: 256-531.
Marian CO, Krebs SL and Arora R (2003) Dehydrin variability among rhododendron species: A 25- kDa dehydrin is conserved and associated with cold acclimation across diverse species. New Phytologist 161:773-780.
Mirzaee M, Moieni A and Ghanati F (2013) Effects of drought stress on the lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in two canola (Brassica napus L.) cultivar. Journal of Agricultural Science and Technology 15: 593-602.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1398.14.2.3.9]

Molnar S, Gaspar L, Stehi L, Dulai S, Sarvari E, Kiraly I, Galiba G, Molnar-Long M (2002) The effects of drought stress on the photosynthetic processes of wheat and of Aegilops biuncialis genotypes originating from various habitats. Acta Biologica Szegediensis 46: 115-116.

Murata N, Mohanty P S, Hayashi H and Papageorgiou G C (1992) Glycinbetaine stabilizes the association of extrinisic proteins with the photosynthetic oxygen envolving complex. FEBS Letters. 296: 187- 189.

Navabpour S, Ramazanpour S S, Soltanloo H, Vakili Bastam S (2015)"Drought stress changed expression profile of some genes in tillering and pollination stages of adult wheat" Applied Science Reports 9: 100-109.

Orcutt D M, and Nilsen ET (2000) The Physiology of Plants Under Stress, Soil and Biotic Factors. John Wiley New York.

Ozturk ZN, Talame V, Deyholos M, Michalowski B, Galbraith DW, Gozukirmizi N, Tuberosa R and Bohnert HJ (2002) Monitoring large-scale changes in transcript abundance in drought- and saltstressed barley. Plant Molecular Biology 48: 551-573.

Rampino P, Pataleo S, Gerardi C, Mita J and Perrotta C (2006) Drought stress response in wheat: physiological and molecular analysis of resistant and sensitive genotypes. Plant Cell and Environment 29: 2143-2152.

Ritchie S W, and Nguyen HT (1990) Leaf water content and gas exchange parameters of two wheat genotypes differing in drought resistance. Crop Science 30: 105-111.

Sanchez FJ, Ander EFD, Tenorio JL and Ayerbe L (2004) Growth of epicotyls turgor mainatenance and osmotic adjustment in pea plant (*Pisum sativum* L.) subjected to water stress. Field Crops Research 86: 81-90.

Schonfeld MA, Johnson RC, Carver BF, Mornhinweg DW (1988) Water relations in winter wheat as drought resistance indicators. Crop Science 28: 526-531.

Sheligl HQ (1986) Die verwertung orgngischer souren durch chlorella lincht. Planta Journal 47-51.

Showler AT and Castro BA (2010) Influence of drought stress on Mexican rice borer (Lepidoptera: Crambidae) oviposition preference in sugarcane. Crop Protection 28: 722-727.

Siddique MRB, Hamid A and Islam, MS (2000) Drought stress effects on water relation of wheat. Botanical Bulletin Academia Sinica 41: 35- 39.

Silva MA, Jifon JL, Da Silva JAG, Sharma V (2007) Use of physiological parameters as fast tools to screen for drought tolerance in sugarcane. Brazilian Journal of Plant Physiology 19:193-201.

Sishen L, Xianyun Wei JJ, Linzhi Li XZH, Chen H, Fan Y, Sun H, Zhao X, Yunfong Xu T, Jiang F, Wang H and Lihui L (2007) Aintervarietal genetic map and QTL analysis for yield traits in wheat. Molecular Breeding 20:167-178.

Svensson J, Ismail A M, Palva E T, Close T J (2002) Dehydrins. In: K. B. Storey and J. M. storey (Eds.), Sensing Signaling and Cell Adaptation. Elsevier Science BV pp.155-171.

Tale Ahmad S, and Haddad R (2011) Study of silicon effects on antioxidant enzyme activities and osmotic adjustment of wheat under drought stress. Journal of Genetics and Plant Breeding 47: 17-27.

Vendruscolo ACG, Schuster I, Pileggi M, Scapim CA, Molinari HBC, Marur CJ and Vieira LGC (2007) Stress-induced synthesis of proline confers tolerance to water transgenic wheat. Journal. Plant Physiology 164:1367-1376.

Vendruscolo ACG, Schuster I, Pileggi M, Scapim CA, Molinari HBC, Marur CJ and Vieira LGC (2007) Stress-induced synthesis of proline confers tolerance to water transgenic wheat. Journal. Plant Physiology 164:1367-1376.

Yang WJ, Rich PJ, Axtell JD, Wood KV, Bonham CC and Ejeta G (2003) Genotypic variation for glycine betaine in sorghum. Crop Science 43: 162-169.

Yang X and Lu C (2005) Photosynthesis is improved by exogenous glycinebetaine in salt- stressed maize plants. Physiology Plant 124: 343- 352.

Yang Y, Liu Q, Han C, Qiao YZ, Yao XQ and Yin HJ (2007) Influence of water stressand low irradiance on morphological and physiological characteristics of Picea asperata seedlings. Photosyntetica 45: 613- 619.

Yokoi S, Quintro FJ, Cubero B, Ruiz M T, Bressan R A, Hasegawa P M and Pardo JM (2002) Differential expression and function of Arabidopsis thaliana NHX Na^+/H^+ antiporter in salt stress response. Plant Journal 30:529- 539.

Yuan J, Reed A, Chen F and Stewart CN (2006) Statistical analysis of real-time PCR data. BMC Bioinformatics 7:85-97.

Zlatev Z, Lidon FC (2012) An overview on drought induced changes in plant growth, water relations and photosynthesis. Emirates Journal of Food and Agriculture 24: 57-72.

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

[DOR: 20.1001.1.20084439.1398.14.2.3.9]