ژنتیک نوین
دوره شانزدهم، شماره ٤، زمستان ١٤٠٠
صفحه ٣٨٥ - ٣٧٣

اثر همزیستی قارچ میکوریزا بر صفات مرفولوژی، پرولین و بیان ژن *UGT73C6* در پایه هیبرید GF677 تحت تنش خشکی

Effect of mycorrhiza symbiosis on morphology, proline and *UGT73C6* gene expression in GF677 hybrid rootstock under drought stress

علی هرتمنی[1]، بهروز شیران*[2]، رودابه راوش[2]، لیلا شبانی[3]

۱- دانشجوی دکتری بیوتکنولوژی کشاورزی، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد، ایران

۲- به‌ترتیب استاد، استادیار، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد، ایران

۳- دانشیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهرکرد، ایران

Hortamani A[1], Shiran B[*2], Ravash R[2], Shabani L[3]

1- PhD Student, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of agriculture, Shahrekord University, Iran
2- Professor, Assistant Professor, Department of Plant breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, Shahrekord University, Iran
3- Associated Professor, Department of Plant Science, Faculty of Science, Shahrekord University, Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: beshiran45@gmail.com

(تاریخ دریافت: ١٤٠٠/٠٤/٠٩ - تاریخ پذیرش: ١٤٠٠/٠٨/٠٦)

چکیده

تنش خشکی تهدیدی جدی برای کشاورزی است و یکی از گزینه‌های مناسب برای مقابله با این مشکل، همزیستی با قارچ مایکوریزا است که علاوه بر حفظ محتوای آب در بافت‌های گیاهی، قادر است میزان جذب عناصر را که در شرایط خشکی با کمبود مواجه می‌شود، بهبود بخشد. در اثر این همزیستی، تغییرات فیزیولوژیک و مولکولی گیاه در شرایط تنش، تعدیل می‌شود. در این تحقیق، اثر همزیستی قارچ میکوریزا بر صفات مرفولوژیک، میزان پرولین و بیان ژن *UGT73C6* در پایه هیبرید GF677 تحت تنش خشکی مورد بررسی قرار گرفت. در اثر افزایش تنش خشکی اغلب صفات مرفولوژی شامل تعداد برگ، طول برگ، حجم ریشه، وزن تر و خشک کاهش داشتند ولی با حضور قارچ مایکوریزا، طول و عرض برگ کاهش و همزمان با کاهش طول ریشه، حجم ریشه افزایش داشت. وزن تر و خشک هم نسبت به شاهد افزایش پیدا کردند. پرولین در شرایط تنش و همزیستی نسبت به عدم همزیستی کاهش داشت. کلیه عوامل تنش خشکی، مایکوریزا، زمان و عوامل این تلفیق آن‌ها در بافت ریشه اثر معنی‌دار و بسیار متغیر بر بیان ژن UGT73C6 داشت. تغییرات بیان در برگ شدت بسیار کمتری داشت، زیرا ریشه هم شرایط همزیستی و هم مواجهه ابتدایی با تنش خشکی را دارد. در کل، همزیستی با مایکوریزا تحمل گیاه نسبت به تنش خشکی را بهبود می‌بخشد.

واژه‌های کلیدی

پایه GF677
خشکی
ژن *UGT73C6*
مایکوریزا
مرفولوژی

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

[DOR: 20.1001.1.20084439.1400.16.4.3.7]

مقدمه

بادام با نام علمی [*Prunus dulcis* (Miller) D.A. Webb] متعلق به خانواده Rosaceae یکی از قدیمی‌ترین محصولات خشکباری به‌شمار می‌آید که امروزه بالاترین میزان تولید را در میان محصولات آجیلی به خود اختصاص داده است. در سال‌های اخیر به دلایل مختلف، از جمله برای یکنواخت سازی درختان، به جای پایه‌های بذری از پایه‌های رویشی استفاده می‌شود. پایهGF677 دورگ طبیعی بادام و هلو است و جزء اولین پایه‌هایی به شمار می‌رود که به روش رویشی تکثیر می‌شود (Moreno and Cambra 1994). این پایه برای تکثیر بادام و هلو به‌کار برده می‌شود. در میان پایه‌های مختلفی که برای تکثیر هلو در دسترس است، GF677 به‌خاطر سازگاری آن به انواع خاک و القای توان بیشتر درختان هلوی حاصل شده به‌خوبی شناخته شده است. به‌همین دلیل، GF677 هنوز پایه اصلی مورد استفاده برای تکثیر هلو می‌باشد به‌طوری که حداقل ۵۰ درصد گیاهان هلو بر روی GF677 پیوند شده‌اند. از مهم‌ترین ویژگی‌های این پایه تحمل خشکی است (Gullo et al. 2014).

طبق مدل‌های تغییر اقلیمی، خشکی بیشتر رخ داده و دمای میانگین و بیشینه افزایش یافته است. در گیاهان، پاسخ به خشکی شامل سیگنال‌های پیچیده بین سطوح تنظیمی مختلف است که شامل تنظیم متابولیسم و بیان ژن برای سازگاری‌های فیزیولوژیک و مرفولوژیک می‌شود (Shinozaki and Yamaguchi-Shinozaki 2007). به‌علاوه، سایر تنش‌های غیرزیستی هم می‌تواند به از دست رفتن آب گیاه منجر شود مانند یخ زدگی، بادهای گرم و خشک و تنش شوری. کاهش آب خاک در بسیاری از گیاهان به کاهش میزان فتوسنتز و تنفس منجر می‌شود. هرچند میزان اثر به شدت خشکی، پایداری آن و ژنوتیپ گونه بستگی دارد اما مطمئناً تغییراتی را در بیان ژن‌ها به‌همراه خواهد داشت.

در مطالعات قبلی نشان داده شده است که توالی‌یابی RNA پایه GF677 و پیوند هلو، تفرق بیانی ۵۰۰ ژن در ریشه و ۲۳۶ ژن در برگ را تحت شرایط تنش خشکی شناسایی شدند (Ksouri et al. 2016). بر اساس نتایج این تحقیق، ۱) ریشه، اولین اندامی است که تنش خشکی را درک کرده و تحت تأثیر خشکی قرار می‌گیرد و ۲) ریشه‌ها نسبت به برگ سریع‌تر پاسخ می‌دهند، که تنظیم ژنی پیچیده‌تری طی کاهش آب دارند. در ضمن این نتایج نشان می‌دهد که پایه، نقش کلیدی در تقلیل تنش دارد (Ksouri et. al. 2016).

حدود ۸۰ درصد از گیاهان عالی شامل گونه‌های زراعی و باغی، قادر به تثبیت همزیستی با قارچ‌های شاخه Glomeromycota هستند. از طریق این ارتباط سودمند دو طرفه، قارچ AM (*Arbuscular Mycorrhizae*) مواد فتوسنتزی را از گیاه میزبان جذب می‌کند تا دوره زندگی خود را تکمیل نماید و در مقابل به گیاهان در جذب آب و مواد معدنی کمک می‌کند. بنابراین، گیاهان همزیست با AM عموماً توانایی بهتری برای جذب مواد غذایی و تحمل تنش زیستی و غیر زیستی نشان می‌دهند (Ruiz-Lozano et al. 2015).

قارچ‌های مایکوریزا کربوهیدرات‌های مورد نیاز برای کامل کردن چرخه زندگی خود را از گیاه میزبان دریافت نموده و در مقابل، برای گیاه، مواد غذایی مانند نیتروژن و فسفر را فراهم می‌کنند که این کار از طریق ترانسپورترهای درگیر در انتقال کربن و مواد تغذیه‌ای مانند ترانسپورترهای ساکارز از گیاهان و ترانسپورترهای آمونیوم از قارچ صورت می‌گیرد (Pérez-Tienda et al. 2011). با اینکه مکانیزم بهبود روابط آبی گیاه میزبان هنوز مشخص نیست، ولی مشخص شده که قارچ میکوریزا جذب آب را با تنظیم هدایت روزنه‌ای افزایش می‌دهد (Auge et al. 2015). با جذب آب، علاوه بر فراهم کردن عناصر ماکرو و میکرو (Smith and Read 2008)، ارتباط با میکوریزا به گیاه کمک می‌کند تا تحت شرایط محدودیت آب هم به حیات ادامه دهد. در رابطه با تنش خشکی، میکوریزا گیاه را با حفظ محتوای آب در بافت‌های گیاهی محافظت می‌کند. در مطالعه Pourcel and Ruiz-Lozano (2004) مشخص شد که همزیستی AM تنظیم اسمزی را در ریشه‌ها بهبود بخشیده که شیب پتانسیل آب را برای ورود آب از خاک به ریشه‌ها حفظ می‌کند (Auge et al. 2015). حضور مایکوریزا باعث تغییرات مرفولوژیک، فیزیولوژیک و مولکولی در گیاه همزیست می‌گردد. این مطالعه به بررسی دوازده صفت مرفولوژیک، میزان پرولین و بیان ژن *UGT73C6* که محصول آن در فرایندهای مختلف فیزیولوژیکی مؤثر می‌باشد، پرداخته است. ژن UDP-گلیکوزیل ترانسفراز (*UGT*) با تشکیل پیوند

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

[DOR: 20.1001.1.20084439.1400.16.4.3.7]

گلیکوزیدی می‌تواند ویژگی‌های شیمیایی و فعالیت زیستی گیرنده را تغییر دهد، تنظیماتی که برای حفظ هموستازی سلولی لازم است. به‌علاوه، اتصال توسط گلیکوزیل ترانسفرازها به سلول‌های گیاهی اجازه می‌دهد تا ویژگی‌های بیوشیمیایی خودشان را ایجاد نموده و بنابراین، اثر قوی بر فعالیت زیستی و ذخیره سازی نشان دهند (Le Roy et al. 2016). از آنجا که گلیکوزیل ترانسفرازها از قند UDP به‌عنوان مولکول دهنده استفاده می‌کند، به آن UDP–گلیکوزیل ترانسفراز (*UGT*) گفته می‌شود. *UGT*ها یک توالی مشترک در ناحیه C با ٤٤ آمینواسید به شدت حفاظت شده دارند که جعبه گلیکوزیل ترانسفراز محصول ثانویه گیاهی نامیده می‌شوند (Offen et al. 2014 و Vogt and Jones 2000). گلیکوزیلاسیون که توسط UDP– گلیکوزیل ترانسفراز (*UGT*) انجام می‌شود آخرین مرحله بیوسنتز تری‌ترپنوئیدها برای بسیاری از ترکیبات دفاعی گیاه مانند فنولیک‌ها، گلوکوزینولات‌ها، سالیسیلات‌ها و آنتوسیانین‌ها است و منجر به تکمیل مولکول آنتوسیانین در آرابیدوپسیس می‌شود (Shi and Xie 2014). همه آنتوسیانین‌های شناسایی شده در آرابیدوپسیس حاوی حداقل یک گروه قند هستند. گروه‌های هیدروکسیل در موقعیت C3 و C5 سیانیدین بیشتر در اثر گلیکوزیلاسیون تغییر می‌کنند (Tohge et al. 2005 و Pourcel et al. 2010).

از آنجا که بیان هر کدام از ژن‌های *UGT* در گیاهان مختلف و در بافت‌های مختلف ریشه، برگ، کالوس، گل و غیره متفاوت است، امکان ارتباط الگوی بیان این ژن با گروه فیلوژنی به سختی ممکن است ولی در کل، بیان در مرحله خزان بیشتر دیده شده است. بیان *UGT73E1* در نمونه‌های برگی تیمار شده با ٥٠ میلی‌مولار ABA برای سه ساعت، و نمونه‌های سلولی تیمار شده با ٢٥ میکرومولار ABA بعد از سه ساعت و ٢٤ ساعت کاهش داشت. در نمونه‌های برگی آرابیدوپسیس بیان *UGT73B3*، *UGT73B5*، *UGT73C1*، *UGT74E2* و *UGT79B1* تحت تنش خشکی افزایش بیان داشتند. بین دو رقم متحمل و حساس به خشکی گلابی تفاوت معنی‌داری در بیان UDP–گلیکوزیل ترانسفراز مشاهده شده است (Wang et al. 2018). برای سازگاری با شرایط محیطی متغیر، گیاهان باید سطوح ABA را تنظیم کنند و اشکال مختلف ABA را به‌صورت متعادل حفظ نمایند (Mierziak et al. 2014). اتصال ABA با استر گلوکز ABA (ABA-GE) یک پدیده شناخته شده است که فعالیت زیستی ABA را تغییر می‌دهد. چند *UGT* مرتبط با ABA از نظر عملکردی شناخته شده‌اند که شامل *UGT71B6* (آرابیدوپسیس)، ABAGT (*V. angularis*) و *UGT71A35* (توت فرنگی) است (Zhang et al. 2018).

بیان بیش از حد *UGT74E2* در آرابیدوپسیس و *UGT85A5* در توتون، گیاهان تراریختی را تولید کرد که تحمل بیشتری به تنش شوری و خشکی نشان دادند (Sun et al. 2013 و Tognetti et al. 2010). نتایج مشابهی در *UGT85U1/2* و *UGT85V1* در آرابیدوپسیس مشاهده شده است که در تحمل تنش شوری و اکسیداتیو دخیل هستند.

هدف از انجام این تحقیق ارزیابی اثر همزیستی با مایکوریزا بر کاهش اثرات سو تنش خشکی بر نهال بادام است. تغییرات تنش و همزیستی با مایکوریزا در سطوح مختلف مرفولوژیکی، فیزیولوژیکی و مولکولی رخ می‌دهد که در این بین صفات مختلف مربوط به ریخت‌شناسی پایه GF677، تغییرات میزان ترشح پرولین در بافت گیاهی و بیان ژن *UGT73C6* در بافت ریشه و برگ بررسی شد.

مواد و روش‌ها

مطالعه به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با دو فاکتور شامل فاکتور تلقیح در دو سطح (گیاهان شاهد بدون قارچ میکوریزا و گیاهان تلقیح شده با قارچ مایکوریزا آربوسکولار) و فاکتور تنش خشکی در چهار سطح (شاهد، ٧٥ درصد FC، ٥٠ درصد FC و ٢٥ درصد FC) انجام شد. پنج تکرار برای هر تیمار در نظر گرفته شد که در مجموع ١٨٠ گلدان و در هر گلدان یک گیاه کشت شد. در این تحقیق از قارچ *Funneliformis mossea* به‌منظور ایجاد همزیستی استفاده شد. این گونه یکی از رایج‌ترین گونه‌های مورد استفاده جهت ایجاد همزیستی با گیاهان و بهبود ویژگی‌های گیاه هستند.

پایه‌های GF677 که از طریق قلمه ریشه‌دار شده تکثیر یافته‌اند، تهیه شدند و بافت خاک لومی‌شنی بود. خاک جمع‌آوری شده را از الک ٢ میلی‌متری عبور داده سپس برخی ویژگی‌های فیزیکی و

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1400.16.4.3.7]

شیمیایی آن با استفاده از روش‌های متداول آزمایشگاهی تعیین شد (Aghababaei et al. 2011).

گیاهان پایه GF677 سازگار شده با استفاده از مایه تلقیح قارچ، که از شرکت زیست فناور توران (سمنان) به‌دست آمد مایه‌زنی و در گلدان‌های به قطر ۱۰ سانتی‌متر کشت شدند. پس از اطمینان از همزیستی قارچ با ریشه گیاهان با روش Phillips and Hayman (1970)، به گلدان‌های ۱۰ کیلویی منتقل شدند. برای حذف کلیه اسپورها و پروپاگول‌های[1] قارچی در خاک مورد آزمایش و همچنین حذف بیمارگرهای احتمالی و سایر عوامل تلقیح کننده گیاه، خاک در اتوکلاو (دمای ۱۲۱ درجه، فشار دو اتمسفر به مدت یک ساعت) سترون شد و به گلدان‌های پلاستیکی یک کیلویی منتقل شد. کلیه گلدان‌ها با محلول هیپوکلریت سدیم پنج درصد ضدعفونی و با آب‌مقطر سترون شستشو شدند، در کف گلدان‌ها سوراخ‌های زهکشی ایجاد شد. سپس جهت انجام تلقیح، مقدار ۱۰ گرم از مایه تلقیح قارچ‌های حاوی ریسه، اسپور و پروپاگول قارچی در عمق سه تا پنج سانتی‌متری سطح گلدان ریخته شده و گیاهان در بالای این مایه تلقیح کاشته شدند. پس از استقرار گیاهان بر روی آن‌ها خاک ریخته و آبیاری شد.

آزمایش تحت شرایط گلخانه‌ای و دمای حدود ۲۵ درجه سانتی‌گراد با دوره ۱۶ ساعت روشنایی به هشت ساعت تاریکی با شدت ۸۰۰ میکرومول فوتون بر متر مربع در ثانیه و رطوبت نسبی ۵۰ درصد انجام شد. آبیاری به‌صورت روزانه جهت جلوگیری از هر گونه تنش و فراهم کردن شرایط تلقیح صورت گرفت. گیاهان بعد از تلقیح به مدت ۳۰ روز قبل از اعمال تنش در شرایط مذکور نگهداری شدند تا رشد کافی نموده و همزیستی صورت گیرد. سپس تیمارهای تنش به این صورت اعمال شد: هر سه روز یک بار با توجه به FC و نوع خاک، شاهد ۱۰۰ درصد FC و تیمارها به میزان ۷۵ درصد، ۵۰ درصد و ۲۵ درصد FC آبیاری شدند. در طول این مدت، هر هفته یکبار آبیاری با ۱۰ میلی‌لیتر از محلول هوگلند تغییر یافته که ۲۵ درصد فسفر داشت به ازای هر گلدان صورت گرفت. علت کاهش فسفر این است که فسفر بیش از حد مانع از کلونیزه شدن ریشه با قارچ AM می‌شود.

وزن تر و خشک ریشه و بخش هوایی سه ماه بعد از اعمال تیمار در هر گلدان به این صورت زیر اندازه‌گیری شد: ابتدا نمونه‌ها با آب‌مقطر شسته و رطوبت اضافی آن با کاغذ صافی گرفته، ریشه‌ها از محل طوقه قطع شده و وزن تر ریشه و اندام هوایی بر حسب گرم اندازه‌گیری شد. جهت محاسبه وزن خشک هر یک از نمونه‌ها در پاکت‌های کاغذی قرار گرفت و به مدت ٤٨ ساعت در آون ٦٥ درجه سانتی‌گراد خشک و سپس بر حسب گرم توزین شد.

برای محاسبه متوسط طول اندام هوایی، از محل طوقه تا نوک برگ‌ها و جهت محاسبه طول ریشه‌ها، از محل طوقه تا نوک ریشه در هر گلدان توسط خط کش بر حسب سانتی‌متر اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری پرولین از روش نین هیدرین استفاده شد که از این مواد استفاده شد: اسید سولفوسالسیلیک ۳ درصد؛ معرف نین هیدرین در ٤٥ میلی‌لیتر اسید استیک و ۳۰ میلی‌لیتر اسید فسفریک ٦ مولار توأم با گرم کردن تولید شد؛ اسید فسفریک ٦ مولار؛ تولوئن؛ پرولین خالص جهت تهیه استاندارد؛ برای تهیه استاندارد ppm ۱۰۰، ۰/۱ گرم پرولین خالص در ۱۰۰ سی سی آب‌مقطر حل شد، سپس از محلول مادری ppm ۱۰۰، استانداردهای ۱، ۲، ۵، ۱۰ و ۲۰ تهیه شد. ابتدا ۰/۵ گرم از هر نمونه گیاه را پس از خارج کردن از فریزر توزین و به آن‌ها ۱۰ میلی‌لیتر اسید سولفوسالسیلیک ۳ درصد اضافه شد و در هاون چینی خوب ساییده و هموژنیزه شد. سپس مخلوط حاصل در درون لوله آزمایش ریخته و ۱۰ دقیقه با سرعت ۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. ۲ میلی‌لیتر از عصاره صاف شده برداشته و در یک لوله آزمایش ریخته سپس به هر لوله ۲ میلی‌لیتر معرف نین هیدرین و ۲ میلی‌لیتر اسید استیک اضافه شد. لوله‌های آزمایش در بن ماری با دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت قرار داده و پس از یک ساعت لوله‌ها جهت خاتمه واکنش داخل حمام یخ گذاشته شدند. مدت زمان خاصی برای این مرحله ذکر نشده و به محض سرد شدن می‌توان وارد مرحله بعد شد. پس از سرد شدن لوله‌ها، به آن‌ها ٤ میلی‌لیتر تولوئن اضافه شد و ۳۰ ثانیه به‌هم زده شدند. پس از تشکیل دو فاز مجزا قسمت رنگی برداشته شد و توسط طیف سنج نوری میزان جذب آن‌ها در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت شد. آنگاه غلظت پرولین بر حسب میکرومول بر

[1] propagules

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

[DOR: 20.1001.1.20084439.1400.16.4.3.7]

گرم ماده تر با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد (Bates et al. 1973):

$$\text{پرولین} = \frac{115/5 \div \text{تولوئن مصرفی} \times \text{عدد دستگاه}}{5 \div (g) \text{ وزن نمونه}}$$

در این تحقیق، به‌منظور بررسی ژن‌های مرتبط با تنش خشکی که توسط قارچ مایکوریزا القا می‌شوند و در ایجاد مقاومت به تنش خشکی نقش دارند، ابتدا ژن‌های مشابهی که توسط قارچ مایکوریزا در سایر گیاهان القا می‌شوند و نیز ژن‌هایی که در ایجاد مقاومت به تنش خشکی نقش دارند با مطالعه در مقالات و بررسی داده‌های بیان ژن در دیتابیس‌های مرتبط شناسایی شدند. ژن‌های مرتبط با تحمل تنش خشکی و همزیستی با قارچ مایکوریزا، جداگانه در کتابخانه‌های ریزآرایه موجود در NCBI GEO (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/) بررسی شد. برای آنالیز کتابخانه‌ها از نرم‌افزارهای Expression Console v1.0.3 (http://www.affymetrix.com/)، R x64 4.0.1 (https://cran.r-project.org/)، FlexArray v.2.15.2، CLC Genworkbench v.8 (https://digitalinsights.qiagen.com/) و GEO2R (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/geo2r/) استفاده شد. در مرحله بعد، ژن‌های دارای تفرق بیان بر اساس Fold Change انتخاب شدند. ID ژن‌های شناسایی شده جهت بررسی یکسان تمام کتابخانه‌ها با هم با استفاده از سایت Ensemble Biomart (http://plants.ensemble.org/biomart/) به AGI (Arabidopsis genome identification number) تبدیل شد. از AGIهای مشترک برای رسم شبکه و مشخص کردن آنتولوژی و مشخصات ژن‌ها استفاده شد. آنتولوژی ژن‌های دارای تغییر بیان با استفاده از سایت AgriGO (http://bioinfo.cau.edu.cn/agriGO/) صورت گرفت. برای بررسی آنتولوژی، لیست ژن‌های انتخاب شده با لیست ژن‌های آرابیدوپسیس به‌عنوان مرجع مقایسه آماری شدند. برای رسم شبکه، سایت string (https://string-db.org) مورد استفاده قرار گرفت. در مرحله آخر توالی مربوط به ژن‌های شناسایی شده از ژنوم هلو در NCBI استخراج شدند. ژن *UGT73C6* یکی از ژن‌هایی است که هم در حضور مایکوریزا و هم تنش خشکی تغییر بیان نشان داده است (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/818251).

طراحی آغازگر توالی ژن *UGT73C6* با استفاده از نرم‌افزار primer3 صورت گرفت و با استفاده از primer-blast NCBI (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/) مورد بررسی قرار گرفت. محتوای GC حدود ۵۰ درصد، طول قطعه تکثیرشده ۱۰۰ تا ۲۰۰ نوکلئوتید و میزان دمای TM ۵۸ تا ٦٥ درجه سانتی‌گراد در نظر گرفته شد. پرایمرهای طراحی شده به این ترتیب هستند: آغازگر رفت AAGGAGCCTTCTGATTCGGG و آغازگر برگشت TTGGTCTGAAAACAGTGGCC.

RNA کل از ریشه و برگ گیاهان شاهد و تحت تنش خشکی که دارای قارچ و بدون قارچ میکوریزا هستند بر اساس روش روبینا Rubio-Pina, and Zapata-Perez (2011) استخراج شد. پس از پودر نمودن ۱۰۰ میلی‌گرم بافت منجمد شده به کمک نیتروژن مایع، حدود ۱۱۰۰ میکرولیتر بافر استخراج اضافه شد، و با توجه به روش مذکور، پس از اضافه کردن ترکیباتی مانند کلروفرم و کلروفرم:ایزوآمیل الکل (۱:۲٤) جهت جداسازی فازها و خالص‌سازی توسط الکل ۸۰ درصد و به‌منظور حذف آلودگی DNA از آنزیم DNaseI استفاده شد تا RNA با کیفیت مناسب به‌دست آمد. سنتز رشته اول cDNA با کیت سنتز cDNA شرکت تاکارا (PrimeScript™ RT reagent Kit Cat. #RR037A) انجام شد. واکنش PCR زمان واقعی با استفاده از مخلوط واکنش (Takara) حاوی SYBR Green و پرایمر اختصاصی صورت گرفت. این واکنش برای هر نمونه در دو تکرار بیولوژیک و هر تکرار بیولوژیک با دو مرتبه تکرار تکنیکی انجام شد. میزان رونویسی هر ژن در مقایسه با ژن اکتین با استفاده از روش Livak and Schmittgen (2001) و روش مقایسه کمی (quantitative) بررسی شد. بررسی کمی نتایج حاصل از روش Real-Time PCR با استفاده از نرم‌افزار Gene Expression Relative Quantitation ساخت شرکت بایورد (Biorad) در مقایسه با ژن اکتین، میزان افزایش یا کاهش بروز ژن مورد نظر را در شرایط تنش نسبت به شرایط کنترل نشان داد.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1400.16.4.3.7]

برای آنالیز داده‌های کمی به‌دست آمده از نرم‌افزار SAS 9.4 استفاده شد. با در نظر گرفتن عوامل خشکی، مایکوریزا و زمان به‌عنوان فاکتورهای مؤثر بر بیان ژن‌های مورد نظر طرح فاکتوریل در قالب LSD با دو تکرار بیولوژیک و دو تکرار فنی در نظر گرفته شد آنالیز صفات فیزیولوژیکی و مرفولوژیکی در قالب طرح بلوک کاملاً تصادفی انجام شد.

نتایج و بحث

صفات مرفولوژی

صفات مرفولوژیکی شامل تعداد برگ NL، طول برگ LL، عرض برگ WL، طول دمبرگ Petiol، طول ریشه اصلی LR، طول ساقه SL، قطر ساقه SD، حجم ریشه RV، وزن تر FW، وزن خشک DW، رطوبت نسبی RW و وزن خشک برگ LRW اندازه‌گیری شد.

با توجه به جدول ۱، اثر خشکی بر تعداد برگ، طول برگ، وزن تر، وزن خشک و رطوبت نسبی برگ و وزن خشک برگ در سطح یک درصد و بر عرض برگ در سطح پنج درصد معنی‌دار بود. اثر قارچ مایکوریزا بر صفات تعداد برگ، طول ساقه، حجم ریشه، وزن تر، وزن خشک در سطح یک درصد و بر صفات طول برگ، عرض برگ، طول ریشه اصلی، رطوبت نسبی برگ و وزن خشک برگ در سطح پنج درصد افزایش معنی‌دار داشت که در تحقیقی نتایج مشابهی از اثر قارچ مایکوریزا بر پایه فلاییینگ دراگون به‌دست آمد که همزیستی باعث افزایش معنی‌دار وزن تر و خشک ریشه و طول ساقه شد (Abedi and Esfandiari 2018). همچنین همزیستی با مایکوریزا در نهال‌های گلابی (پیرودوارف) باعث افزایش معنی‌دار سطح برگ کل، ارتفاع ساقه، وزن تر برگ و وزن خشک ریشه شد (Shirinzadeh et al. 2020). اثر متقابل خشکی و همزیستی با AM در مورد صفات حجم ریشه، رطوبت نسبی برگ، وزن خشک برگ در سطح یک درصد معنی‌دار بود، در مورد صفات طول برگ و وزن تر در سطح پنج درصد معنی‌دار بود.

همچنین طول ریشه اصلی در شرایط همزیستی با مایکوریزا در سطح پنج درصد معنی‌دار بود ولی در دو حالت دیگر معنی‌دار نبودند، شبیه به صفت طول ساقه که در شرایط تنش خشکی به تنهایی و در اثر متقابل با مایکوریزا معنی‌دار نشده است ولی در حضور مایکوریزا در سطح یک درصد معنی‌دار شد.

حجم ریشه هم در همزیستی و هم در شرایط خشکی در سطح یک درصد معنی‌دار شد و هم در اثر متقابل خشکی و مایکوریزا صفت قابل توجهی است. زیرا در مطالعات دیگر هم آمده است که هم در اثر همزیستی با قارچ مایکوریزا و هم تنش خشکی به‌علت رشد ریشه‌های مویین افزایش حجم ریشه امری طبیعی خواهد بود که دسترسی به آب را برای گیاه مساعدتر می‌کند (Ksouri et al. 2016) به آن اشاره شده هم در اثر همزیستی با قارچ مایکوریزا و هم تنش خشکی به‌علت رشد ریشه‌های مویین افزایش حجم ریشه امری طبیعی خواهد بود که دسترسی به آب را برای گیاه مساعدتر می‌کند.

وزن تر و خشک تحت تأثیر تنش خشکی و همزیستی با مایکوریزا در سطح یک درصد معنی‌دار بود ولی در اثر متقابل تنش و همزیستی، تنها در وزن تر در سطح یک درصد معنی‌دار شد و در وزن خشک معنی‌دار نشد. به‌عبارتی، حضور مایکوریزا توانسته است تا حدودی اثر خشکی را بپوشاند. قبلاً اشاره شده بود که کاربرد مایکوریزا به‌طور چشم‌گیری میزان وزن تر و خشک ساقه و ریشه را نسبت به شاهد افزایش داد، ولی با افزایش سطح تنش خشکی مقدار وزن خشک ریشه روند نزولی را طی نمود (Shirinzadeh et al. 2020).

برای بررسی تأثیر تنش خشکی بر صفات مختلف مرفولوژی به بررسی نتایج مقایسه میانگین صفات مرفولوژی پایه GF677 تحت اثر سطوح مختلف تنش خشکی شامل شاهد، تنش ۷۵ درصد FC، تنش ۵۰ درصد FC و تنش ۲۵ درصد FC پرداختیم (جدول ۲). همان‌طور که مشاهده می شود، در اثر افزایش تنش، اغلب صفات روند نزولی را نشان می‌دهند که شامل تعداد برگ، طول برگ، حجم ریشه، وزن تر و وزن خشک می‌شود. وقتی که آب در دسترس ریشه گیاه کاهش یافته است صفات مذکور نیز کاهش یافته و در نتیجه وزن تر و وزن خشک نیز بالطبع کاهش نشان داد، که همین اثر در نهال ریزازدیادی گلابی دیده شده که با مایکوریزا باعث افزایش حجم ریشه شده ولی با افزایش شدت تنش، از تأثیر مایکوریزا کاسته شده است (Shirinzadeh et al. 2020).

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

[DOR: 20.1001.1.20084439.1400.16.4.3.7]

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس صفات مرفولوژی پایه GF677 تحت تنش خشکی و تیمار مایکوریزا و اثر متقابل تیمارها

منابع تغییرات	درجه آزادی	تعداد برگ	طول برگ	عرض برگ	طول دمبرگ	طول ریشه اصلی	طول ساقه	قطر ساقه	حجم ریشه	وزن تر	وزن خشک	رطوبت نسبی	وزن خشک برگ
خشکی	۳	۲۵۵/۹۳**	٦٤٤/۳۲**	۲۵/٤۷*	۵/۱۵^{ns}	۸۳۷٦/۸٤^{ns}	۵۳۸۸/۱^{ns}	۰/۳۳^{ns}	٤/۵۵^{ns}	۲۳٦۸/۱**	۵۷٦/۷۳**	۰/۰۱٤**	۰/۰۱۱**
مایکوریزا	۲	٤۹۲/۱۱**	۱۱۸/۵۳*	۲٤/٤۵*	۸/۱۱^{ns}	۱۲۲٦۳/٤٤*	۳۳۷۵۰/۰۸**	۰/۸^{ns}	۲۳/۰۳**	۲۵۸/۲۵**	۸۸/۲٦**	۰/۰۱۲*	۰/۰۰۷*
خشکی * مایکوریزا	٦	۸۰/۱۵^{ns}	۹۳/۲٤*	۲/۵۹^{ns}	٤/۷۱^{ns}	۹٤۱/۷^{ns}	٤۵۳۰/۱٦^{ns}	۱/۰۳^{ns}	۱۰/۱**	۱۰٤/۸۸*	۲٤/۰۹^{ns}	۰/۰۱۳**	۰/۰۱۱**

جدول ۲- نتایج مقایسه میانگین صفات مرفولوژی پایه GF677 تحت تنش خشکی

صفت	شاهد	خشکی ۷۵٪	خشکی ۵۰٪	خشکی ۲۵٪
تعداد برگ	۵۲/۱۱^{A}	٤٦/٦۷^{AB}	٤۵/٦۷^{B}	۳۹/۱۱^{C}
طول برگ	۷۸/۹^{A}	۷۳/۲٤^{A}	٦۲/۱٦^{B}	٦۱/۷۹^{B}
عرض برگ	۱۷/۳٤^{B}	۱۷/٦۹^{B}	۲۰/۹۷^{A}	۱۹/٤٤^{AB}
طول دمبرگ	۹/۰۳^{A}	۱۰/۸۱^{A}	۱۰/۳۵^{A}	۹/۹۹^{A}
طول ریشه اصلی	٤۰۸/۸۹^{AB}	۳۸۰/٦۷^{B}	٤۵٤^{A}	٤۰۵/۸۹^{AB}
طول ساقه	٤۲٤/۲۲^{A}	٤۸۳^{A}	٤۵٦^{A}	٤٤۵/۱۱^{A}
قطر ساقه	٦/۸٤^{A}	٦/٤۹^{A}	٦/۷^{A}	٦/۹۲^{A}
حجم ریشه	٦/۸۹^{A}	٦^{B}	٦/۸۹^{B}	۵/٤٤^{C}
وزن تر	۵۷/۳۳^{A}	۳۱/۳۳^{B}	۲۷/۷۸^{B}	۱۹/۸۹^{C}
وزن خشک	۳۲/۸۲^{A}	۱۹/۵۹^{B}	۱۷/۳۲^{BC}	۱٤/۹۲^{C}
رطوبت نسبی	۰/۲۱^{B}	۰/۲۸^{A}	۰/۲۳^{B}	۰/۱۹^{B}
وزن خشک برگ	۰/۱٦^{B}	۰/۲۳^{A}	۰/۱۸^{B}	۰/۱٦^{B}

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حرف مشابه هستند، اختلاف معنی‌داری ندارند.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1400.16.4.3.7]

افزایش تنش هیچ تأثیری بر صفاتی مانند طول دمبرگ، طول و قطر ساقه نشان نداد. طول ریشه اصلی در سطح تنش ۵۰ درصد FC بیشتر از بقیه بود در حالی که بعد از آن نمونه شاهد قرار داشت.

بررسی تأثیر قارچ مایکوریزای مورد استفاده در این تحقیق نشان داد در حضور مایکوریزا تعداد برگ نسبت به شاهد به‌طور قابل توجهی افزایش داشته است ولی طول و عرض برگ در حضور قارچ نسبت به شاهد کاهش داشت. با حضور قارچ طول ریشه اصلی نسبت به شاهد کاهش ولی طول ساقه در حضور قارچ نسبت به شاهد افزایش داشته است و در مورد وزن تر و خشک همزیستی با AM افزایش قابل مشاهده‌ای نسبت به شاهد ایجاد کرده است (جدول ۳).

میزان پرولین در برگ

یکی از مهم‌ترین ترکیباتی که تغییر آن در گیاه نشان دهنده میزان تحمل گیاه به شرایط تنش به‌خصوص خشکی است میزان اسیدآمینه پرولین در گیاه است. میزان پرولین در حالت شاهد بدون تنش و بدون مایکوریزا ۰/٦۷ که نسبت به شاهد دارای مایکوریزا که ۰/۳۷ بود، بیشتر است. در حالت تنش که انتظار تولید بیشتر پرولین می‌رود، مقدار ۱/۳٦ است ولی با حضور مایکوریزا حتی کمتر از شاهد یعنی ۰/۱۹ تولید شده است. پرولین یک آمینواسید شاخص برای بررسی وضعیت تحمل گیاه به تنش است که اغلب با افزایش تنش میزان آن نیز در گیاه افزایش می‌یابد، اما حضور مایکوریزا باعث کاهش تولید پرولین در شرایط تنش شده است که می‌توان استنباط کرد، حضور مایکوریزا تا حدودی توانسته است اثر خشکی بر گیاه را کاهش دهد (Abedi and Esfandiari 2018 و Rahimi et al. 2020).

الگوی بیان ژن *UGT73C6* تحت تاثیر تنش خشکی و میکوریزآنالیز داده‌های RT-PCR با چهار سطح خشکی شاهد ۱۰۰ درصد (FC)، ۷۵ درصد FC، ۵۰ درصد FC و ۲۵ درصد FC، دو سطح مایکوریزا (حضور و عدم حضور گونه *F. mossea*) در دو بافت ریشه و برگ به‌صورت جداگانه و در دو زمان ۲٤ و ٤۸ ساعت با دو تکرار بیولوژیکی و دو تکرار تکنیکی بر روی ژن *UGT73C6* با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.4 صورت گرفت.

جدول ۳- نتایج مقایسه میانگین صفات مرفولوژی پایه GF677 تیمار شده با مایکوریزا

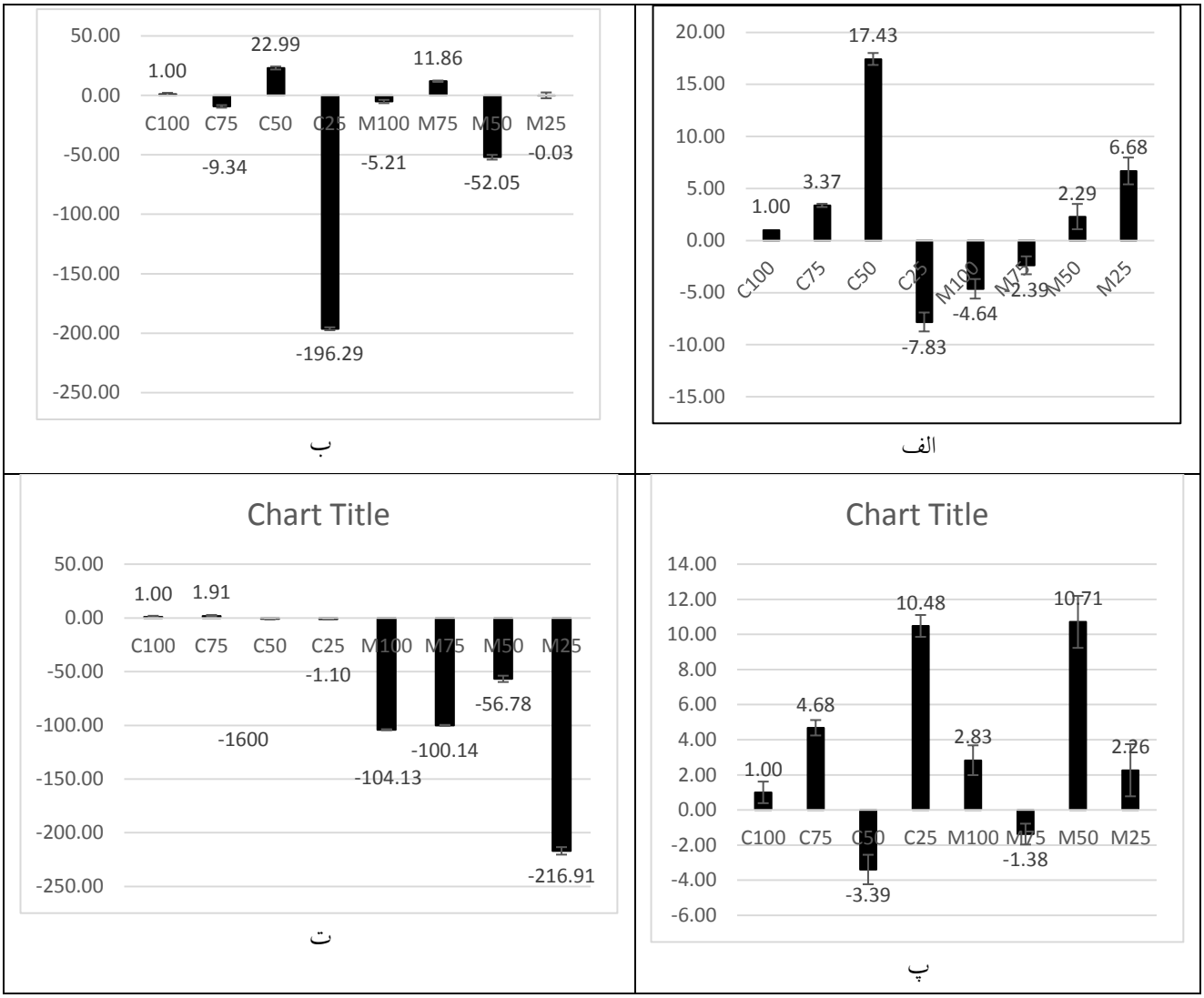
صفت	شاهد	*F. mossea*
تعداد برگ	$۳۸/۵^{B}$	$٤۹/۸^{A}$
طول برگ	$۷۲/۲۹^{A}$	$٦٦/۰۳^{B}$
عرض برگ	$۲۰/۲٦^{A}$	$۱۷/٤۲^{B}$
طول دمبرگ	$۱۰/۲۲^{A}$	$۹/۱۵^{A}$
طول ریشه اصلی	$٤۳۸/۵۸^{A}$	$٤۲۱/۷۵^{AB}$
طول ساقه	$٤۰۰/۷۵^{B}$	$۵۰٦/٦۷^{A}$
قطر ساقه	$٦/۷٤^{A}$	$٦/۹۹^{A}$
حجم ریشه	$٦/۵^{A}$	$٤/۸۳^{B}$
وزن تر	$۲۹/۲۵^{B}$	$۳٤/۵^{A}$
وزن خشک	$۱۸/۲۹^{B}$	$۲۱/۵۱^{AB}$
رطوبت نسبی	$۰/۲٦^{A}$	$۰/۱۹^{B}$
وزن خشک برگ	$۰/۲۱^{A}$	$۰/۱۹^{AB}$

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حرف مشابه هستند، اختلاف معنی‌داری ندارند.

با توجه به نمودار ۱، الف، داده‌های موجود نشان می‌دهد که در شرایط شاهد و تنش ۷۵ درصد FC، تفاوت بیان بین حضور و عدم حضور مایکوریزا معنی‌دار نشد ولی با تنش ۵۰ درصد FC تفاوت بیان کاملاً معنی‌دار شد، بنابراین، با توجه به اینکه این پایه نسبت به خشکی متحمل است، این انتظار وجود دارد که تفاوتی بین شاهد و ۷۵ درصد FC دیده نشود در حالی‌که تفاوت کاملاً معنی‌داری در سطح ۵۰ درصد FC رخ داده است. نکته قابل توجه اینکه این ژن در شرایط تنش خشکی افزایش بیان دارد زیرا این ژن در انتقال قند به مولکول‌های درگیر در پاسخ به تنش فعال می‌شود، ولی از آنجا که مایکوریزا توانسته اثر تنش را کاهش دهد بیان ژن کمتر از شرایط بدون مایکوریزا شده است که نتایج مشابهی را در مقاله که نتایج مشابهی را در مقاله اخیر شاهد هستیم (Shahvali et al. 2020) در نمودار ۱، ب نتیجه مشهود نمودار، یک تفاوت تقریباً معکوس بیان ژن *UGT73C6* در ریشه در حضور و عدم حضور مایکوریزا را نشان می‌دهد. زمانی‌که ریشه در معرض تنش خشکی قرار می‌گیرد فاکتورهای بسیار متفاوتی نسبت به برگ در بیان ژن‌ها دخیل هستند. در سطح ۷۵ درصد FC در حالت بدون مایکوریزا کاهش بیان و در حضور مایکوریزا دقیقاً معکوس و افزایش بیان مشاهده شد.

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

[DOR: 20.1001.1.20084439.1400.16.4.3.7]



نمودار ۱- بررسی بیان ژن *UGT73C6*؛ الف) در زمان ۲٤ ساعت بعد از اعمال تنش خشکی در بافت برگ. ب) در زمان ۲٤ ساعت بعد از اعمال تنش خشکی در بافت ریشه. پ) در زمان ٤٨ ساعت بعد از اعمال تنش خشکی در بافت برگ. ت) در زمان ٤٨ ساعت بعد از اعمال تنش خشکی در بافت ریشه. (C100: شاهد بدون مایکوریزا، C75: تنش ۷۵ درصد FC بدون مایکوریزا، C50: تنش ۵۰ درصد FC بدون مایکوریزا، C25: تنش ۲۵ درصد FC بدون مایکوریزا، M100: شاهد همزیست با مایکوریزا، M75: تنش ۷۵ درصد FC همزیست با مایکوریزا، M50: تنش ۵۰ درصد FC همزیست با مایکوریزا و M25: تنش ۲۵ درصد FC همزیست با مایکوریزا.

شاید در این میزان تنش، تحمل گیاه باعث این رخداد می‌شود در حالی‌که در همزیستی با مایکوریزا، نیاز به افزایش انتقال قند به قارچ همزیست افزایش بیان را نشان می‌دهد.

در زمان ٤٨ ساعت در بافت برگ (نمودار ۱، پ) و بعد از هدر رفتن آب از طریق تبخیر و تعرق و همچنین کاهش انتقال آب از ریشه به سمت برگ‌ها، تغییرات بیان ژن *UGT73C6* در برگ باز هم مشهود است. بیان در تنش ۷۵ درصد FC با حضور یا عدم حضور مایکوریزا افزایش یافته است ولی در ۵۰ درصد FC در عدم حضور مایکوریزا کاهش بیان شدید مشاهده می‌شود در حالی‌که در حضور مایکوریزا بیان افزایش یافته است. به‌نظر می‌رسد شرایط خشکی توانسته بر توان تحمل گیاه در برابر تنش غلبه نماید ولی حضور مایکوریزا باعث افزایش تولید قند در گیاه شده و همچنان مانع از اثر سوء تنش شده است، زیرا در شرایط FC حضور مایکوریزا باعث افزایش بیان شد.

با توجه به نمودار ۱ ت، مشخص می‌شود کاهش میزان آب در اطراف ریشه باعث شد که بیان ژن در هر دو حالت حضور یا عدم حضور مایکوریزا به شدت کاهش یابد. این کاهش در مورد حضور مایکوریزا بسیار کمتر از عدم حضور آن بود.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1400.16.4.3.7]

جدول ٤- نتایج تجزیه واریانس ژن‌های *UGT73C6* در بافت ریشه و برگ پایه GF677

منابع تغییرات	درجه آزادی	ریشه	برگ
خشکی	۳	۱۱۵/۷٦**	۲۵/۰۸**
مایکوریزا	۱	٦۲/٤۹**	۱۲/۳٦*
زمان	۱	۲۷۹/۰۷**	۱۱/۰۱*
خشکی * مایکوریزا	۳	۱۹٤/۳٤**	۲۳/۱۳**
خشکی * زمان	۳	۱۲٦/۰٤**	۱۷/۵٦**
مایکوریزا * زمان	۱	۲٦/۳**	^{ns}٤/۵٤
خشکی * مایکوریزا * زمان	۳	۲۲۹/٤٤**	۷٦/۹۹**

کلیه عوامل مورد بررسی به‌صورت جداگانه و در تلفیق با یکدیگر بر بیان ژن‌ها و تغییرات بیان ریشه اثر داشته است (جدول ٤). تفاوت بیان ژن در شرایط تنش و عدم تنش خشکی، حضور و عدم حضور مایکوریزا، زمان ۲٤ و ٤۸ ساعت بعد از اعمال تنش و تلفیق آن‌ها وجود دارد.

در گذر زمان از ۲٤ تا ٤۸ ساعت بیان ژن در ریشه به‌صورت معنی‌داری کاهش داشته است، البته بین زمان ۲٤ و ٤۸ ساعت نمی‌تواند به میزان کافی تغییرات بیان را نشان دهد.

جدول ۵- نتایج مقایسه میانگین اثر زمان ۲٤ و ٤۸ ساعت بر بیان ژن‌های *UGT73C6* در بافت ریشه و برگ پایه GF677

زمان	ریشه	برگ
۲٤	٦/٤۲^{A}	٤/۲۱^{A}
٤۸	۰/۵۱^{B}	۳/۰۳^{B}

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حرف مشابه هستند، اختلاف معنی‌داری ندارند.

البته همان‌طور که اشاره شده است اعمال تنش بعد از اثبات همزیستی و تقریباً یک ماه بعد از آن صورت گرفته است بنابراین نوسان بیان با حضور مایکوریزا تقریباً به ثبات رسیده است و این زمان بعد از اعمال تنش در نظر گرفته شده است. با این وجود نیاز به بررسی بیان طی زمان‌های بیشتر احساس می‌شود. یعنی هم قبل از اعمال همزیستی و هم بعد از بیان ۲٤ و ٤۸ ساعت بعد از اعمال تنش. در بافت برگ هم کاهش بیان معنی‌داری نسبت به زمان ۲٤ ساعت داشته است که مطابق با ریشه است (جدول ۵).

جدول ٦- اثر متقابل خشکی، مایکوریزا و زمان بر بیان ژن *UGT73C6* در بافت ریشه پایه GF677

خشکی	مایکوریزا- زمان	C24	M24	C48	M48
شاهد (FC)		۱^{CD}	۰/٤۱^{D}	۱^{CD}	۰/۰۱^{D}
۷۵ درصد FC		۰/۰۷^{D}	۱٤/۸۹^{B}	۲/۱۹^{C}	۰/۰۲^{D}
۵۰ درصد FC		۳۳/۸۲^{A}	۰/۱۷^{D}	۰/۰۰۱^{D}	۰/۰٦^{D}
۲۵ درصد FC		۰/۰۰۱^{D}	۰/۹۹^{CD}	۰/۸۲^{CD}	۰/۰۱^{D}

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حرف مشابه هستند، اختلاف معنی‌داری ندارند.

جدول ۷- اثر متقابل خشکی، مایکوریزا و زمان بر بیان ژن *UGT73C6* در بافت برگ پایه GF677

خشکی	مایکوریزا- زمان	C24	M24	C48	M48
شاهد (FC)		۱^{FG}	۰/۷۵^{FG}	۱^{FG}	۳/۲۸^{DEF}
۷۵ درصد FC		۵/۸۳^{CD}	۰/۲٦^{G}	٤/۷۸^{CDE}	۰/۷٤^{FG}
۵۰ درصد FC		۱۳/۹۷^{A}	۲/٤۷^{EFG}	۰/٤۱^{G}	۵/۰٦^{CDE}
۲۵ درصد FC		۰/۰۳^{G}	۹/۳٦^{B}	٦/۹٤^{BC}	۲/۰۸^{FG}

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حرف مشابه هستند، اختلاف معنی‌داری ندارند.

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

[DOR: 20.1001.1.20084439.1400.16.4.3.7]

تنش خشکی در ریشه و برگ با افزایش شدت تنش تا ۵۰ درصد باعث افزایش بیان نسبت به شاهد شده است (جدول ٦ و ۷). آنچه مسلم است حضور مایکوریزا بدون در نظر گرفتن تنش و زمان اعمال آن در بافت ریشه، باعث کاهش بیان نسبت به شاهد شده است. بنابراین در دید کلی می‌توان نتیجه گرفت که حضور مایکوریزا تأثیر معنی‌داری بر شرایط کلی گیاه دارد (جدول ٦ و ۷). در مورد ریشه، در سطح ۵۰ درصد تفاوت معنی داری در بیان ژن *UGT73C6* وجود دارد و با حضور مایکوریزا فقط سطح ۷۵ درصد تفاوت معنی‌داری را نشان می‌دهد. اما آنچه قابل توجه است حضور مایکوریزا باعث شده است که بیان ژن در سطح ۵۰ درصد FC با شاهد بدون مایکوریزا تقریباً یکسان باشد و بنابراین تغییر بیان محسوسی وجود ندارد. اما اینکه کدام فاکتور بر بیان ژن تأثیر بیشتری داشته‌اند با توجه به اینکه همزیستی قبلاً صورت گرفته است به‌نظر می‌رسد تنش نتوانسته است باعث تغییر چندانی در بیان این ژن شود. به‌عنوان نتیجه‌گیری کلی می‌توان عنوان کرد که اگر بخواهیم در مصرف آب آبیاری برای نهال صرفه‌جویی کنیم بهتر است حتماً قبل از کشت، نهال را با مایکوریزا همزیست نماییم (جدول ٦).

در برگ، در سه سطح شاهد، ۷۵ و ۵۰ درصد FC میزان بیان در حضور مایکوریزا نسبت به عدم حضور آن کمتر است ولی در سطح ۲۵ درصد افزایش بیان را شاهد هستیم. با اینکه در ریشه تفاوت معنی‌داری در سطح شاهد و ۲۵ درصد FC در حضور یا غیاب مایکوریزا مشاهده نمی‌شود ولی در برگ تفاوت تا حدودی معنی‌دار است (جدول ۷).

از آنجایی که *UDPGT73C6* به *UGT*های گیاهی تعلق دارد، آنزیم‌هایی که می‌توانند قند متصل به یوریدین دی فسفات (UDP) را به تعداد زیادی گیرنده مرتبط به ویژگی‌های بیوشیمیایی سلولی وصل کنند، که بر فعالیت زیستی سلول و ذخیره مواد اثر بگذارد (Le Roy et al. 2016)، و در نتیجه می‌تواند در پاسخ به تنش هم مؤثر باشد. اطلاعات کمی در مورد اثر گلیکوزیل ترانسفرازها در مورد تحمل تنش گیاهان وجود دارد (Rehman et al. 2018)، و نتایج ما تأیید کننده مطالعات قبل می‌باشد (Zhang et al. 2018).

نتیجه‌گیری کلی

در مطالعه حاضر مشخص شد که همزیستی با مایکوریزا بر صفات مرفولوژی مانند حجم ریشه تأثیر مستقیم دارد ولی با افزایش تعداد مویین باعث بهبود جذب آب می‌شود در ضمن نسبت به تنش خشکی اثر معکوس بر صفاتی مانند حجم ریشه، رطوبت نسبی برگ و وزن خشک برگ داشت. البته در صورتی‌که شدت تنش خشکی افزایش یابد تاثیر مایکوریزا هم کاهش یافته و بنابراین تا حدودی می‌تواند تحمل تنش را در پایه GF677 اعمال کند. میزان اسید آمینه پرولین در شرایط تنش معمولاً افزایش می‌یابد تا تحمل گیاه نسبت به تنش را افزایش دهد ولی از آنجایی که همزیستی با مایکوریزا توانسته است اثر تنش را کاهش دهد، میزان تولید آن در گیاه هم کاهش یافته است.

فعال‌سازی پروتئین بعد از تکمیل ساختار آن با فرایندهای مختلفی مانند گلیکوزیلاسیون صورت می‌گیرد. یکی از شرایطی که باعث فعال‌سازی یا عدم فعال شدن پروتئین در گیاه می‌شود، تنش محیطی مانند خشکی است. گلیکوزیلاسیون توسط ژن‌های گروه UGT انجام می‌شود. در این بررسی مشخص شد که ژن *UGT73C6* از این خانواده در شرایط تنش و همزیستی تغییر بیان نشان می‌دهد. روند کلی به این صورت است که میزان بیان با افزایش تنش، افزایش می‌یابد ولی با حضور مایکوریزا و تعدیل اثر تنش بیان آن کمتر از حالت تنش است.

سپاسگزاری

مرحله کاشت، همزیستی و برداشت نمونه این پژوهش در گلخانه آقای دکتر نوربخش واقع در منطقه شوراب انجام و برای اجرای Real time PCR از آزمایشگاه مرکزی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان استفاده شد و در همه مراحل از حمایت دانشگاه شهرکرد برخوردار بودیم که از همه عزیزان کمال قدردانی را داریم.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1400.16.4.3.7]

منابع

Abedi, B. and Esfandiari, B (2018) Effect of Mycorrhizal Fungi on Morphophysiologicaland Nutritional Factors of Flying Dragon Rootstock under Salt Stress. Journal of Horticultural Science 32:335-344.

Aghababaei F, Raeisi F and Nadian H (2011) Mycorhiza Symbiosis Effect On Element Absorbtion by Commercial Genotypes of Almond In A Sandy-Loam Soil. Soil Research (Water and Soil Sciences) 25:137-147.

Auge RM, Toler HD, Saxton AM (2015) Arbuscular mycorrhizal symbiosis alters stomatal conductance of host plants more under drought than under amply watered conditions: a meta-analysis. Mycorrhiza 25:3-24.

Bates LS, Waldren RP and Teare ID (1973) Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and soil 39:205-207.

Gullo G, Motisi A, Zappia R, Dattola A, Diamanti J and Mezzetti B (2014) Rootstock and fruit canopy position affect peach [Prunus persica (L.) Batsch] (cv. Rich May) plant productivity and fruit sensorial and nutritional quality. Food Chemistry 153:234-242.

Ksouri N, Jiménez S, Wells CE, Contreras-Moreira B and Gogorcena Y (2016) Transcriptional Responses in Root and Leaf of Prunus persica under Drought Stress Using RNA Sequencing. Frontiers in Plant Science 7:1-19.

Le Roy J; Huss B, Creach A, Hawkins S, Neutelings G (2016) Glycosylation is a major regulator of phenylpropanoid availability and biological activity in plants. Frontiers Plant Science 7:735.

Livak, K.J. and Schmittgen, T.D. (2001). Analysis of relative gene expression data using realtime quantitative PCR and the 2-ΔΔCt method. Methods. 25:402408.

Mierziak J, Kostyn Km, Kulma A, (2014) Flavonoids as important molecules of plant interactions with the environment. Molecules. 19:16240–16265.

Moreno MA and Cambra R (1994) Adarcias: an almond x peach hybrid rootstock. HortScience 29:925.

Offen W, Martinez-Fleites C, Yang M, Kiat-Lim E, Davis BG, Tarling CA, Ford CM, Bowles DJ, Davies GJ (2014) Structure of a flavonoid glucosyltransferase reveals the basis for plant natural product modification. Embo J 25:1396-1405.

Parvathy ST, Srinivasan R (2016) Functional analysis of a cryptic promoter from Arabidopsis thaliana reveals bidirectionality. Plant Biotechnology Report 10:241-255.

Pérez-Tienda J Testillano PS, Balestrini and R Fiorilli, V (2011) GintAMT2, a new member of the ammonium transporter family in the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices.* Fungal Genetics and Biology. 48:1044-1055.

Phillips JM and Hayman DS (1970) Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Transactions of the British Mycological Society 55:158-161.

Pourcel L, Irani NG, Lu Y, Riedl K, Schwartz S, Grotewold E (2010) The formation of Anthocyanic Vacuolar Inclusions in Arabidopsis thaliana and implications for the sequestration of anthocyanin pigments. Molecular Plant 3:78-90.

Rahimi A, Dovlati B, Amirnia R and Heydarzadeh S (2020) Effect of application of mycorrhizal fungus and Azotobacter on physiological characteristics of Trigonella foenum-graecum L. under water stress conditions. Iranian Journal of Plant Biology 11:1-18.

Rehman HM, Nawaz MA, Shah ZH, Ludwig-Müller J, Chung G, Ahmad MQ, Yang SH, and Lee SI (2018) Comparative genomic and transcriptomic analyses of Family-1 UDP glycosyltransferase in three Brassica species and Arabidopsis indicates stress-responsive regulation. Scientific Reports 8:1-18.

Rubio-Pina JA and Zapata-Perez O (2011) Isolation of total RNA from tissues rich in polyphenols and polysaccharides of mangrove plants. Electronic Journal of Biotechnology 14:11-18.

Ruiz-Lozano JM, Aroca R, Zamarreño AM, Molina S, Beatriz Andreo-Jiménez B, Porcel R, García-Mina JM, Ruyter-Spira C, and López-Ráez JA (2016) Arbuscular mycorrhizal symbiosis induces strigolactone biosynthesis under drought and improves drought tolerance in lettuce and tomato. Plant, Cell and Environment 39:441-452.

Shi MZ, Xie DY (2014) Biosynthesis and metabolic engineering of anthocyanins in Arabidopsis thaliana. Recent Plant Biotechnology 8:47-60.

Shahvali R, Shiran B, Ravash R, Fallahi H and Banovic Deri B (2020) Effect of symbiosis with *arbuscular mycorrhizal* fungi on salt stress tolerance in GF677 (peach×almond) rootstock. Scientia Horticulturae 272:1-11.

Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K (2007) Gene networks involved in drought stress response and tolerance. Journal of Exprimental Botany 58:221-227.

Shirinzadeh Kh, Sedaghati E, Mohammadi Mirik AA and Karimi HR (2020) Study of *arbuscular mycorrhizal* fungi performance on some growth indices improvement of micro-propagated pear rootstock (Pyrodwarf) under drought stress. Iranian Journal of Horticultural Science. 51:255-271.

Smith SE, Read DJ (2008) Mycorrhizal symbiosis, 3rd edn. Academic Press, London. New York Elsevier 11-145.

Sun YG, Wang B, Jin SH, Qu XX, Li YJ, Hou BK Ectopic expression of Arabidopsis glycosyltransferase *UGT*85A5 enhances salt stress tolerance in tobacco. PLoSONE 8:e59924.

Tognetti VB, Van Aken O, Morreel K, Vandenbroucke K,van de Cotte B, De Clercq I, Chiwocha S, Fenske R, Prinsen E, Boerjan W, Genty B, Stubbs KA, Inzé D, Van Breusegem F (2010) Perturbation of indole-3-butyric acid homeostasis by the UDP-glucosyltransferase *UGT74E2* modulates Arabidopsis architecture and water stress tolerance. Plant Cell 22:2660-2679.

Tohge T, Nishiyama Y, Hirai MY, Yano M, Nakajima J, Awazuhara M, Inoue E, Takahashi H, Goodenowe DB, Kitayama M, Noji M, Yamazaki M, Saito K (2005) Functional genomics by integrated analysis of metabolome

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

[DOR: 20.1001.1.20084439.1400.16.4.3.7]

and transcriptome of Arabidopsis plants over-expressing an MYB transcription factor. Plant Journal 42:218-235.
Vogt T, Jones P (2000) Glycosyltransferases in plant natural product synthesis: Characterization of a supergene family. Trends Plant SCIENCE 5:380-386.
Wang H, Wang Z, Zhang M, Jia B, Heng W, Ye Z, Zhu L, and Xu X (2018) Transcriptome sequencing analysis of two different genotypes of Asian pear reveals potential drought stress genes. Tree Genetics and Genomes 14:1-14.
Zhang Z, Zhuo X, Yan X and Zhang Q (2018) Comparative Genomic and Transcriptomic Analyses of Family-1 UDP Glycosyltransferase in *Prunus Mume*. International Journal of Molecular Science 19:1-16.

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

[DOR: 20.1001.1.20084439.1400.16.4.3.7]