Archive of SID

مجله علمی ـ پژوهشی زیست‌فناوری گیاهان زراعی
سال پنجم، شماره سیزدهم، بهار ۱۳۹۵ (۷۷-۶۹)

Crop Biotech.
Spring (2016) 13: 69-77.

بررسی بیان برخی ژن‌های کاندید دخیل در نرعقیمی گندم در شرایط تنش خشکی در مرحله میوز

سجاد زارع[۱]، زهرا سادات شبر[۲*]، رضا فتوت[۳]

۱. دانشجوی دکتری اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم آباد

۲. استادیار بخش زیست شناسی سیستم‌ها، پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج

۳. استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان

(تاریخ دریافت: ۱۳۹٤/۱۲/۲۰- تاریخ تصویب: ۱۳۹۵/۳/۳۰)

Expression analysis of genes involved in the male sterility of wheat under drought stress during meiosis

Sajjad Zare[1], Zahra Sadat Shobbar[2*], Reza Fotovat [3]

1. Ph.D Student of Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khoramabad, Iran.
2. Assistant Professor, Department of Systems Biology, Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran. (ABRII), Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran.
3. Assistant Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran.

(Received: Mar. 10, 2016-Accepted: Jun. 19, 2016)

چکیده

نقص در متابولیسم کربوهیدرات در دانه‌های گرده در حال نمو، نقش مهمی را در القای نرعقیمی در گیاه گندم تحت تنش خشکی ایفا می‌کند. در این راستا به منظور بررسی بیان چهار ژن دخیل در متابولیسم کربوهیدرات (*Inv1* و *Inv3* ،*Raftin a* و *AGP*) در شرایط تنش خشکی در دو رقم گندم متحمل به خشکی (دزفول ۱۰) و حساس (شیراز)، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در گلخانه انجام شد. اعمال تنش خشکی در مرحله میوز دانه گرده صورت گرفت. در شرایط تنش درصد گلچه‌های بارور کاهش یافت، این کاهش درصد گلچه‌ها در رقم متحمل دزفول ۱۰ کمتر دیده شد. پس از تهیه نمونه بساک در مرحله میوز، الگوی بیان ژن‌های مورد نظر با روش Real-time PCR مورد بررسی قرار گرفت. بیان ژن‌های *Inv1*، *Inv3*، *Raftin a* و *AGP* در رقم حساس شیراز در شرایط تنش خشکی نسبت به شاهد افزایش بیان معنی‌داری نداشت، در حالی که بیان این چهار ژن در رقم متحمل دزفول ۱۰ در شرایط تنش نسبت به رقم شیراز در شرایط آبیاری کافی به طور معنی‌داری (به ترتیب ۳۵، ۲۲، ٦۵ و ۹/۸ برابر) افزایش نشان داد. بر اساس نتایج بدست آمده به نظر می‌رسد که بخشی از تحمل به تنش خشکی در رقم دزفول ۱۰ می‌تواند به علت القای ژن‌های دخیل در تجمع نشاسته باشد. همچنین احتمال می‌رود با القای این ژن‌ها در سایر ارقام در شرایط تنش بتوان میزان تجمع نشاسته را در حالت نرمال نگاه داشته و از عقیمی دانه گرده کاست.

واژه‌های کلیدی: بیان ژن، تنش خشکی، دانه گرده، گندم، نر عقیمی.

Abstract

Defects in pollen carbohydrate metabolism plays an important role in inducing male sterility in wheat plants under drought stress. In order to examine the expression of four genes (*Inv*1, *Inv*3, *Raftin a* and *AGP*) involved in carbohydrate metabolism under drought condition in two contrasting cultivars, a factorial experiment was established via randomized complete block design. Cultivars (Dezful 10/ Shiraz) were selected as the first factor and drought at meiosis stage (control/stress) as the second factor. After preparation of anther samples at meiosis stage, expression of genes was analyzed through real-time PCR. Expression of Inv, Inv3 Raftin a and AGP genes under drought stress showed no significant change compared to well-watered (control) condition at drought sensitive cultivar (Shiraz) while they significantly increased at the tolerant one (Dezful 10), by 35, 22, 65 and 9.8 fold change respectively. On the other hand, the percentage of decrease in the fertile florets under drought stress in the tolerant cultivar was significantly less than the sensitive one. Based on the achieved results, the tolerance of Dezful 10 to drought stress can be partially due to the induction of starch accumulation related genes. Also, induction of these genes in sensitive cultivars may reduce their male sterility under drought stress, through compensating a normal level of starch accumulation at pollens.

Keywords: Gene Expression, Drought Stress, pollen, Wheat, Male Sterility.

* نویسنده مسئول: زهرا سادات شبر

E-mail: Shobbar@abrii.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

خشکی یکی از مهمترین عوامل محدود کننده کشت و توسعه محصولات کشاورزی از جمله گندم است، تنش خشکی موجب کاهش ۵۰ تا۹۰ درصدی محصول گندم نسبت به عملکرد تئوریک آن می‌شود (Ji *et al.*, 2010). تنش خشکی بسته به اینکه در چه مرحله از رشد گیاه رخ می‌دهد، تاثیرات متفاوتی بر عملکرد خواهد داشت. این تنش در مرحله گلدهی و بعد از گلدهی تاثیر بیشتری بر عملکرد نسبت به مرحله قبل از گلدهی دارد (Koonjul *et al.*, 2005). وقوع تنش خشکی در مرحله گلدهی موجب شکست در باروری می‌شود که علت آن نقص در عملکرد دانه گرده و تخمک می‌باشد (Dolferus *et al.*, 2011). مطالعات محققان نشان داده که وقوع تنش خشکی ۵ تا ۱۵ روز قبل از ظهور سنبله تعداد دانه را در گندم ۴۰ درصد کاهش می‌دهد (Dolferus *et al.*, 2013).

بساک گندم در حالت طبیعی به تجمع نشاسته در دیواره بساک طی میوز و در دانه گرده طی مرحله نمو می‌پردازد. نحوه توزیع و پخش این نشاسته تحت تنش، غیر نرمال می‌شود به نحوی که در اختیار بافت‌های مرتبط قرار نمی‌گیرد و دانه‌های گرده عقیم در مراحل بعدی با فقدان نشاسته روبرو می‌شوند (Ji *et al.*, 2010). این موضوع نشان می‌دهد که نقص در متابولیسم کربوهیدرات‌ها، نقش مهمی در القای نرعقیمی در گیاه گندم تحت تنش خشکی ایفا می‌کند. تنش خشکی در مرحله میوز موجب کاهش سریع آنزیم اینورتاز در دانه‌های گرده می‌شود که این اثر مقدم بر هر گونه آسیب نموی دیگری قابل مشاهده می‌باشد. به علاوه این فرآیند کاملاً تخصصی بوده و تنش خشکی بر آنزیم‌های دیگر که در مسیر ساخت نشاسته مهم هستند، تاثیر چندانی ندارد (Dorion *et al.*, 1996). کاهش فعالیت اینورتاز با تجمع ساکارز همراه است، از طرف دیگر بر کنش دیگر قندها تاثیر گذاشته و توزیع مجدد نشاسته را به همراه دارد. نتایج مشابهی که از تاثیر تنش خشکی در برنج به دست آمده نشان می‌دهد، اینورتاز آنزیم کلیدی درتجمع نشاسته دانه‌های گرده می‌باشد (Jin *et al.*, 2013). محققان دیگر با آنالیز پروتئوم دانه‌های گرده در برنج نشان دادند این آنزیم در فرآیند گامتوژنز اندام نر برنج تاثیر حیاتی دارد (Kerim *et al.*, 2003). توقف فعالیت اینورتاز و عدم تبدیل ساکارز به نشاسته مهمترین تاثیر تنش خشکی در مرحله زایشی و کاهش باروری دانه‌های گرده و در نتیجه کاهش تعداد دانه در سنبله برنج می‌باشد (Jin *et al.*, 2013). آنزیم AGP تشکیل ADP-glucose را از glucose-1-phosphate کاتالیز می‌کند و بطور گسترده‌ای در بیوسنتز نشاسته مورد توجه می‌باشد (Yang *et al.*, 2004). مطالعات نشان داده که در بساک‌های نرمال بیان AGP در دو مرحله بیوسنتز نشاسته طی میوز و مرحله رسیدگی دانه گرده مورد نیاز می‌باشد. بیان *AGP* برای دانه‌های گرده از لایه درونی بساک سرچشمه می‌گیرد و با حمایت و پشتیبانی بافت تاپتوم که لایه سلولی اسپورفیتی و فعال از نظر سوخت و سازی بوده و سلول‌های اسپورژنز را احاطه کرده است، نمو می‌کنند.

این حمایت اسپورفیتی تا زمان تجزیه و متلاشی شدن تاپتوم ادامه پیدا کرده و برای نمو دانه‌های گرده بسیار حیاتی است (Lalonde *et al.*, 1997). بیان *Raftin a* نه تنها در ساختار دانه گرده و نمو آن مهم است بلکه در برنامه‌ریزی و زمان‌بندی دقیق متلاشی شدن بافت تاپتوم نقش مهمی دارد (Wang *et al.*, 2003). به همین دلیل پرداختن به ساختار و تغییرات ساختاری اندام‌های جنسی تحت تنش خشکی به عنوان عامل اصلی کاهش دهنده باروری و در نتیجه عملکرد، دارای اهمیت می‌باشد. در این راستا در این تحقیق، ضمن بررسی بیان ژن‌های *Inv1*، *Inv3*، *Raftin a* و *AGP* در شرایط تنش خشکی و آبیاری کافی، مقایسه‌ای نیز بین دو رقم دزفول ۱۰ و شیراز به عنوان ارقام متحمل و حساس گندم از لحاظ بیان این ژن‌ها انجام شد.

www.SID.ir

Archive of SID

مواد و روش‌ها

کشت گیاه و اعمال تیمار خشکی

این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد، رقم به عنوان فاکتور اول (شیراز رقم حساس و دزفول ۱۰ رقم متحمل) و تنش خشکی در مرحله میوز دانه گرده به عنوان فاکتور دوم (شاهد، تنش) انتخاب شدند. بذور از بخش غلات موسسه اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج تهیه شدند. تعداد ۱۶ گلدان با قطر دهانه ۳۰ سانتی‌متر برای این منظور استفاده شد. اعمال تنش خشکی به صورت قطع آبیاری سه هفته قبل از مرحله میوز صورت گرفت و تیمار شاهد بر اساس نیاز آبی، آبیاری شد. شناسایی مرحله میوز بر اساس رنگ آمیزی با استوکارمین انجام گرفت (Arzani *et al*., 2000). در پایان دوره رشد نیز میزان باروری سنبله (درصد گلچه‌های بارور/ تعداد دانه) محاسبه شد. پس از تهیه نمونه بساک در مرحله میوز، نمونه‌ها در نیتروژن مایع به آزمایشگاه منتقل و در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. مقایسه میانگین نتایج با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح خطای ۵ درصد با استفاده از نرم‌افزار SAS انجام شد (SAS Institute, 1997).

استخراج RNA

RNA سلولی با استفاده از محلول ترایزول (Invitrogen, life technology) استخراج شد، کمیت و کیفیت آن براساس جذب نوری با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر ومشاهده باندهای مربوطه در ژل الکتروفورز مورد بررسی قرار گرفت. RNAهای استخراج شده با آنزیم DNA از (DNase) تیمار و پس از همسان‌سازی غلظت RNAهای مختلف، اولین رشته cDNA (با استفاده از کیت BIO-RAD,iScript cDNA synthesis kit) ساخته شد.

بررسی بیان ژن

توالی نوکلئوتیدی ژن‌های مورد نظر (*Inv1*، *Inv3*، *Raftin a* و *AGP*) و ژن *18S* به عنوان کنترل داخلی از بانک ژن NCBI تهیه (Tenea *et al*., 2011) و آغازگرهای اختصاصی با استفاده از نرم‌افزار OLIGO (ver 5) طراحی شدند (جدول ۱). الگوی بیان ژن‌ها با روش Real-time PCR (iCycler iQ real-time PCR, Bio-Rad) با استفاده از کیت BIO-RAD (BIO-RAD, iQ Syber Green) Supermix مورد بررسی قرار گرفتند. میزان بیان ژن‌ها با روش تصحیح کارایی محاسبه شد (Livak and Schmittgen, 2001). میزان بیان ژن‌های کاندید بر اساس ژن 18s با بیان ثابت، نرمال (هنجار) شده و سپس میزان تغییرات بیان ژن در شرایط تنش خشکی نسبت به شاهد (رقم شیراز با آبیاری کافی) سنجیده شد.

جدول ۱. ترادف آغازگرهای طراحی شده بر اساس توالی ژن‌های مورد مطالعه در این تحقیق

نام ژن	شماره دسترسی	آغازگرهای پیش رو	آغازگرهای پس رو
IVR1	AF030420.1	5 'TTCAACAATGGCGAGTCAGAC 3'	5' GGCTCTGTTGCTACTACTGC 3'
IVR3	AF030421.1	5' CCTTTTGATCCTTCCTGGCT 3'	5' CCTGTGACTTGTAGACTCTG 3'
RAFTIN1a	AJ575662.1	5' CGCCACCGATGAATACAAGG 3'	5' AAGCGGAATGGGAGCCTCT 3'
AGP	DQ839506.1	5'GTACGAGACCGAGGATGAG 3'	5' GATCTTTGTGTTCTCCCCGAC 3'

نتایج و بحث

درصد گلچه‌های بارور

درصد گلچه‌های بارور در شرایط تنش در هر دو رقم کاهش نشان داد، اما در رقم دزفول۱۰، درصد گلچه بارور بیشتری مشاهده شد (شکل ۱).

هنگامی که نشاسته دانه‌های گرده رسیده مبا استفاده از رنگ‌آمیزی مشخص شدند، مشاهدات تشکیل کمتر نشاسته در دانه‌های گرده را تحت تنش

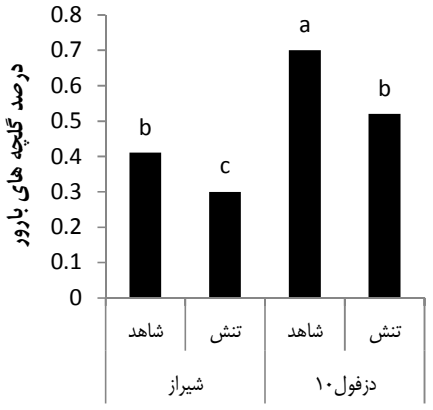
www.SID.ir

Archive of SID

خشکی نسبت به شاهد در هر دو رقم نشان داد. کمبود نشاسته در دانه‌های گرده رقم شیراز و در نتیجه تعداد دانه‌های گرده عقیم در این رقم به وضوح نسبت به دزفول ۱۰ بیشتر مشاهده شد (شکل ۲). در گیاهان، نمو اندام زایشی نر به شدت نسبت به شرایط محیطی حساس است و در مواجهه با تنش‌های غیرزیستی دچار تغییرات مورفولوژیکی، ساختاری و متابولیکی شده که منجر به ناهنجاری‌های میوزی و نر عقیمی می‌گردد (De Storme and Geelen, 2014).

بر اساس گزارش محققان دیگر آسیب ناشی از تنش خشکی در مرحله میوز ناشی از خشک شدن اندام‌های زایشی نیست بلکه به طور عمده توسط سازوکارهای مولکولی و ترارسانی از اندام‌های رویشی دیگر کنترل می‌شود. در گندم تنش خشکی طی میوز در سلول‌های مادر میکروسپور موجب به هم ریختگی مراحل بعدی خواهد شد که در نهایت عقیمی دانه گرده و کاهش تعداد دانه را به دنبال خواهد داشت (Saini and Aspinall, 1981;). در گندم، تنش در مرحله میوز و سپس برطرف شدن آن، روی فرآیند تقسیم سلول‌های مادر میکروسپور تاثیری ندارد، اما نمو دانه گرده مختل خواهد شد، بسته به ژنوتیپ این اختلال ۱ تا ۴ روز بعد از میوز اتفاق می‌افتد؛ که در دانه‌های گرده گندم تحت تنش خشکی در مرحله زایشی، مهمترین و آشکارترین اختلال متابولیکی ناتوانی این دانه‌ها در تجمع و ذخیره‌سازی نشاسته می‌باشد (Lalonde *et al.*, 1997).

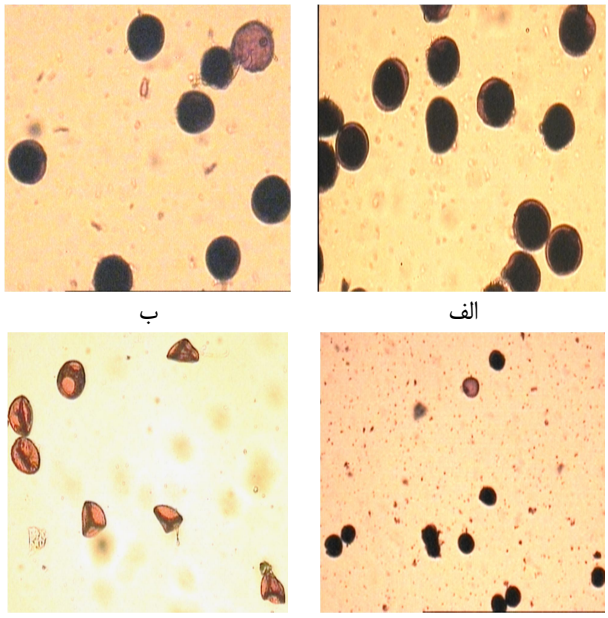
به بیان دیگر، از آنجایی که کاهش در ذخایر کربوهیدرات، اغلب با اشکال در نمو دانه گرده همراه است، کاهش در ذخایر قند بساک در اثر تنش، عامل اصلی نر عقیمی گیاه در نظر گرفته می شود (De Storme and Geelen, 2014). در گندم، نرعقیمی القا شده با تنش (۴ روز کم آبی در مرحله میوز) با کاهش شدید محتوی قند محلول اسپور و تغییراتی در توزیع نشاسته در لایه های مختلف بساک همراه است (Dorion, Lalonde & Saini 1996).



شکل ۱. درصد گلچه‌های بارور در دو رقم شیراز و دزفول ۱۰ در شرایط تنش خشکی و شاهد (دانکن ۵ درصد)

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۲. رنگ آمیزی نشاسته دانه‌های گرده رسیده: دانه های گرده حاوی نشاسته به رنگ سیاه در می‌آیند.
الف) رقم دزفول۱۰ در شرایط نرمال، ب) رقم دزفول۱۰ درشرایط تنش، ج) رقم شیراز در شرایط نرمال د) رقم شیراز در شرایط تنش.

بررسی بیان ژن‌ها

تجزیه واریانس نشان داد که رقم و تنش خشکی بر روی بیان تمامی ژن‌های مورد مطالعه تاثیر معنی‌داری در سطح یک درصد داشته است و اثر متقابل دو فاکتور مورد مطالعه نیز نشان داد که به استثنای *AGP* برای سه ژن دیگر این اثرات معنی‌دار می‌باشند (جدول۲).

جدول ۲. جدول تجزیه واریانس مربوط به بیان چهار ژن مورد بررسی در بساک دو رقم گندم تحت شرایط تنش خشکی در مرحله میوز

	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		Inv1	*Inv3*	*AGP*	*Raftin a*
رقم	۱	۸۸۷/۸**	۴۲۵/۰**	۵۸/۲۵**	۴۵۲۴/۸**
تنش	۱	۸۵۹/۵**	۲۶۹/۲۳**	۳۸/۰۲**	۱۴۹۲/۳**
اثر متقابل	۱	۹۳۵/۲**	۲۵۷/۹**	۲/۷۶۵	۸۸۵/۱۱**
خطا	۸	۱/۲۲۹	۴/۲۱۷	۲/۹۹۷	۳۹/۱۱

** معنی‌داری در سطح ۱ درصد

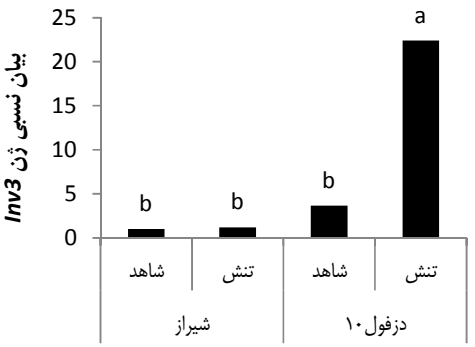
بیان ژن‌های *Inv1* و *Inv3*

مقایسه میانگین برای ژن *Inv1* نشان داد که رقم شیراز در شرایط تنش نسبت به شاهد از افزایش بیان معنی-داری برخوردار نمی‌باشد، اما در رقم دزفول ۱۰ در شرایط تنش میزان بیان بالاتری مشاهده شد، این رقم نسبت به رقم حساس (شیراز) در شرایط شاهد (آبیاری کافی) ۳۵ برابر افزایش بیان داشت در حالی که رقم دزفول ۱۰ در شرایط بدون تنش اختلاف معنی‌داری با رقم شیراز نشان نداد (شکل ۳). با بررسی ژن *Inv3* نیز مشخص شد که بیان این ژن در رقم شیراز در شرایط تنش نسبت به شاهد القا نمی‌شود، اما رقم متحمل از افزایش بیان ۲۲ برابری نسبت به رقم شیراز در شرایط آبیاری کافی برخوردار است. بالا بودن بیان این ژن در رقم دزفول ۱۰ در شرایط شاهد نسبت به رقم شیراز از

www.SID.ir

Archive of SID

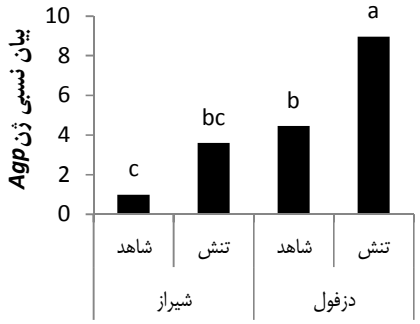
لحاظ آماری معنی‌دار نیست (شکل ۴). چنین الگوی مشابهی توسط محققان دیگر در برنج هم گزارش شده است (Sheoran and Saini, 1996). مطالعات دیگر نشان داده که در شرایط تنش خشکی، فعالیت آنزیم اینورتاز در گندم رقم متحمل (زاگرس) بیشتر از رقم حساس (مرودشت) می‌باشد (Saeedipour and Moradi, 2011). دانه‌های گرده در حال نمو از نظر فتوسنتزی غیرفعال بوده و تنها به عنوان مخزن برای ساکارز ارسالی از بخش‌های فتوسنتزی گیاه عمل می‌کنند. مولکول‌های ساکارز در بساک به عنوان منبع انرژی در نمو دانه‌های گرده و منشاء ساخت و ذخیره نشاسته در این دانه‌ها می‌باشند. اینورتاز با هیدرولیز کردن ساکارز منتقل شده از برگ‌ها آن را به دو مونوساکارید گلوکز و فروکتوز تبدیل می‌کند. در مرحله بعدی آنزیم فروکتوکیناز ۱ کاتالیزکننده واکنش غیرقابل برگشت فسفوریلاسیون فروکتوز است. سپس فروکتوز فسفوریله و گلوکز تبدیل به گلوکز ۶- فسفات و نشاسته از آن ساخته می‌شود. این دو واکنش بسیار مهم و حیاتی به منظور ساخت و ذخیره نشاسته، در بافت‌های مخزن اتفاق می‌افتد. از آنجایی که کاهش فعالیت اینورتاز با تجمع سوکروز همراه می‌باشد مشاهده شد که رقم متحمل با افزایش بیان ژن‌های اینورتاز از کاهش بیش از حد نشاسته جلوگیری به عمل آورده است (Sheoran and Saini, 1996).



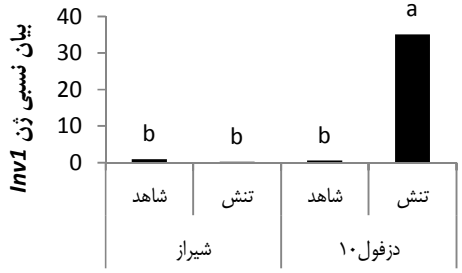
شکل ۴. مقایسه بیان نسبی ژن *Inv3* در دو رقم دزفول ۱۰ و شیراز در شرایط تنش و شاهد (دانکن ۵ درصد)

بیان ژن *AGP*

با بررسی بیان ژن *AGP* مشخص شد که رقم متحمل دزفول ۱۰ در شرایط تنش از افزایش بیان معنی‌داری در سطح ۵ درصد نسبت به رقم حساس شیراز در شرایط عدم تنش رطوبتی برخوردار است. نسبت بیان ژن در رقم دزفول در شرایط نرمال و تنش نسبت به رقم شیراز در شرایط نرمال به ترتیب ۴/۴ و ۹/۸ برابر مشاهده شد (شکل ۵). محققان دیگر نیز تاثیر تنش خشکی بر این ژن و نقش آن در باروری دانه گرده را گزارش نموده‌اند (Liang *et al*., 2001). در شرایط عدم تنش بیان این ژن در دو مرحله میوز و رسیدگی دانه‌گرده صورت می‌گیرد. اما در شرایط تنش خشکی بیان ژن کاهش می‌یابد، اولین دلیل عقیمی دانه گرده به کاهش بیان این ژن نسبت داده شده است (Lalonde *et al.,* 1997).



شکل ۵. مقایسه بیان نسبی ژن *AGP* در دو رقم دزفول ۱۰ و شیراز در شرایط تنش و شاهد (دانکن ۵ درصد)



شکل ۳. مقایسه بیان نسبی ژن *Inv1* در دو رقم دزفول ۱۰ و شیراز در شرایط تنش و شاهد (دانکن ۵ درصد)

www.SID.ir

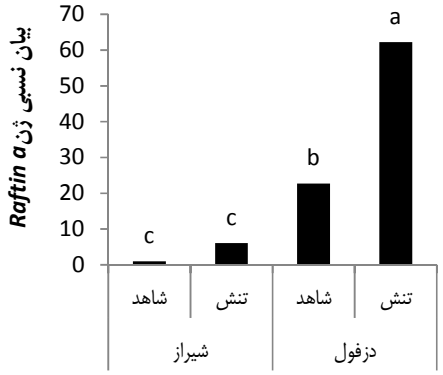
Archive of SID

بیان ژن *Raftin a*

اعمال تنش خشکی موجب افزایش بیان معنی‌دار ژن *Raftin a* در رقم دزفول ۱۰ نسبت به رقم شیراز شد. بطوریکه میزان نسبی بیان این ژن در رقم دزفول در شرایط تنش ۶۲/۱۴ مشاهده شد. بطور کلی میزان بیان این ژن در رقم دزفول در هر دو شرایط شاهد و تنش بالاتر از رقم شیراز بدست آمد. همچنین نسبت بیان این ژن در رقم شیراز در شرایط تنش و رقم دزفول ۱۰ در شرایط شاهد به ترتیب ۶/۱۲ و ۲۲/۶۶ مشاهده شد (شکل۶). افزایش بیان ژن‌های دخیل در امر سنتز و تجمع نشاسته تنها به *AGP* محدود نیست در این تحقیق بیان بالایی از ژن *Raftin a* در رقم دزفول ۱۰ مشاهده شد که در اگزین میکروسپورها جای گرفته و نقش مهمی در نمو دانه‌های گرده و برنامه‌ریزی و زمان‌بندی دقیق متلاشی شدن بافت تاپتوم ایفا می‌کند. اجسام یوبیچ در گندم و برنج ناقل یک پروتئین ساختاری تولید شده توسط تاپتوم به دانه‌های گرده به نام *Raftin a* می‌باشند. این پروتئین به طور بسیار اختصاصی در اگزین میکروسپورها جای گرفته و نقش مهمی در نمو دانه‌های گرده ایفا می‌کند (Wang *et al.*, 2003).

نتیجه‌گیری نهایی

بررسی واکنش‌های فیزیولوژیکی و روابط مفید داخلی گیاه در مقابله با تنش، شناسایی و انتقال ژن‌های دخیل در تحمل به ارقام پرمحصول و سایر مواردی که امکان توسعه هر چه بیشتر کشت گیاهان در مناطق خشک را فراهم می‌کند، در مبارزه با خشکی موثر و مطلوب است. با توجه به نتایج بدست آمده رقم دزفول ۱۰ به عنوان یک رقم متحمل به تنش خشکی، از بیان بالاتری برای ژن‌های *Inv1* و *Inv3*، *Raftin a* و *AGP* در دانه گرده برخوردار بود و بخشی از تحمل به تنش خشکی در این رقم می‌تواند به علت القای این ژن‌های دخیل در تجمع نشاسته باشد و می‌توان با القای این ژن در سایر ارقام در شرایط تنش میزان تجمع نشاسته را در حالت طبیعی نگاه داشته و از عقیمی دانه گرده کاست. شناسایی دقیق اثر تنش خشکی و سازوکارهای فیزیولوژی آن بر گیاه، راه را برای اصلاح تحمل به تنش خشکی باز خواهد نمود.



شکل ۶. مقایسه بیان نسبی ژن *Raftin a* در دو رقم دزفول ۱۰ و شیراز در شرایط تنش و شاهد (دانکن ۵ درصد)

REFERENCES

Arzani A, Poursiahbidi M, Mortazavi SE (2000) An Acetocarmine Staining Procedure for Chromosome Banding Studies of Immature Pollen in Triticeae. J. Agric. Sci. Tech. 2: 167-175

De Storme N, Geelen D (2014) The impact of environmental stress on male reproductive development in plants: biological processes and molecular mechanisms. Plant, Cell Environ. 37(1): 1-18.

Dolferus R, Ji X, Richards RA. (2011). Abiotic stress and control of grain number in cereals. Plant Sci. 181: 331-341.

Dolferus R, Powell N, JI X, Ravash R, Edlington J, Oliver S, Van Dongen J, Shiran B (2013). The Physiology of

www.SID.ir

Archive of SID

Reproductive-Stage Abiotic Stress Tolerance in Cereals. In: Rout RG, Das BA, editors. Molecular Stress Physiology of Plants. India: Springer India. p 193-216.

Dorion S, Lalonde S, Saini HS (1996) Induction of male sterility in wheat (*Triticum aestivum* L.) by meiotic-stage water deficit is preceded by a decline in invertase activity and changes in carbohydrate metabolism in anthers. Plant Physiol. 111: 137-145.

Ji X, Shiran B, Wan J, Lewis DC, Jenkins CLD, Condon AG, Richards RA, Dolferus R. (2010) Importance of pre-anthesis anther sink strength for maintenance of grain number during reproductive stage water stress in wheat. Plant Cell Enviro. 33:926-942.

Jin Y, Yang H, Wei Z, Ma H, Ge X. (2013) Rice Male Development under Drought Stress: Phenotypic Changes and Stage-Dependent Transcriptomic Reprogramming. Mol. Plant. 6:1630-1645.

Kerim T, Imin N, Weinman JJ, Rolfe BG (2003) Proteome analysis of male gametophyte development in rice anthers. Proteomics. 3: 738-751.

Koonjul PK, Minhas JS, Nunes C, Sheoran IS, Saini HS (2005) Selective transcriptional down-regulation of anther invertases precedes the failure of pollen development in water-stressed wheat. J. Exp. Bot. 56(409): 179-190.

Koonjul PK, Minhas JS, Nunes C, Sheoran IS, Saini HS. (2005) Selective transcriptional down-regulation of anther invertases precedes the failure of pollen development in water-stressed wheat. J. Exp. Bot. 56: 179-190.

Lalonde S, Beebe DU, Saini HS (1997) Early signs of disruption of wheat anther development, associated with the induction of male sterility by meiotic-stage water deficit. Sex Plant Reprod. 10: 40-48.

Liang J, Zhang J, Cao X (2001) Grain sink strength may be related to the poor grain filling of indica–japonica rice (*Oryza sativa*) hybrids. Physiol. Plant. 112: 470-477.

Livak KJ, Schmittgen TD (2001) Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2−Ct method. Methods Enzymol. 25: 402-408.

Saeedipour S, Moradi F (2011) Comparison of the Drought Stress Responses of Tolerant and Sensitive Wheat Cultivars during Grain Filling: Impact of Invertase Activity on Carbon Metabolism during Kernel Development. J. Agric. Sci. 3(2): 32-44.

Saini HS, Aspinall D (1981) Effect of water deficit on sporogenesis in wheat (*Triticum aestivum* L.). Ann. Bot. 48: 623-633.

SAS Institute (1997) SAS/STAT Software: Changes and Enhancements Through Release 6.12 . Cary, NC: SAS Institute.

Sheoran IS, Saini SH (1996) Drought-induced male sterility in race: change in carbohydrate levels and enzyme actvities assochiated whit the inhibition of starch accumulation in pollen, Sex. Plant Repord. 9: 161-169.

Tenea GN, Bota AP, Raposo FC, Maquet A (2011) Reference genes for gene expression studies in wheat flag leaves grown under different farming conditions. BMC Res. Notes. 4: 373.

Tuinstra MR, Grote EM, Goldsbrough PB, Ejeta G (1997) Genetic analysis of post-flowering drought tolerance and components of grain development in Sorghum bicolor (L.) Moench. Mol. Breed. 3: 439-348.

Wang A, Xia Q, Xie W, Datla R, Selvaraj G (2003) The classical Ubisch bodies carry a sporophytically produced structural protein (RAFTIN) that is essential for pollen development. Proc. Natl. Acad. Sci. 100(24): 14487-

www.SID.ir

Archive of SID

14492.

Yang J, Zhang J, Wang Z, Xu G, Zhu Q. 2004. Activities of Key Enzymes in Sucrose-to-Starch Conversion in Wheat Grains Subjected to Water Deficit during Grain Filling. Plant Physiol. 135: 1621-1629.

www.SID.ir