Nova Biologica Reperta 6(2): 217-228 (2019)
Print ISSN: 2423-6330/Online ISSN: 2476-7115
https://nbr.khu.ac.ir; Kharazmi University Press

یافته‌های نوین در علوم زیستی
جلد ۶، شماره ۲، صفحات ۲۱۷ الی ۲۲۸ (۱۳۹۸)
انتشارات دانشگاه خوارزمی

بررسی اثر تنش خشکی بر بیان نسبی ژن MYB و میزان تنظیم‌کننده‌های اسمزی پنج ژنوتیپ گندم دوروم

طاهره نعیمی، لیلا فهمیده و براتعلی فاخری
گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران
مسئول مکاتبات: لیلا فهمیده، l.fahmideh@uoz.ac.ir

چکیده. رشد گیاهان به شدت تحت تأثیر تنش‌های محیطی چون خشکی، شوری زیاد، درجه حرارت کم یا زیاد قرار می‌گیرد و بر این اساس شناسایی ژن‌هایی که در انطباق یا تحمل تنش نقش دارند و به‌خصوص ژنهای تنظیم‌گر، بسیار ضروری است. پروتئین‌های MYB یک خانواده بزرگ از عوامل رونویسی هستند که از اهمیت خاصی در تنظیم فرایندهای نموی و پاسخ‌های دفاعی در گیاهان برخوردارند. مشخصه اصلی اعضای این خانواده، وجود یک دامین اتصال به DNA (دامین MYB) است که از لحاظ ساختاری حفاظت شده است. از این‌رو آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در بررسی اثر سطوح مختلف تنش خشکی بر میزان بیان نسبی ژن فاکتور رونویسی TaMYB73 با استفاده از روش Real Time PCR انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل ژنوتیپ‌های گندم دوروم (شبرنگ، بهرنگ، کرخه، آریا و دنا) و سطوح خشکی در خاک (۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ درصد ظرفیت زراعی) بود. کشت ژنوتیپ‌ها در گلدان و تنش خشکی در مرحله گیاهچه‌ای (چهار تا پنج برگی) پس از ۴۵ روز اعمال شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از فرمول $Ratio= 2^{-\Delta\Delta CT}$ و نرم افزار SAS نسخه ۹/۱ انجام شد. نتایج تجزیه واریانس دو طرفه، اثر ژنوتیپ، تنش خشکی و اثرات متقابل تنش در خشکی را برای بیان نسبی ژن TaMYB73 و میزان تنظیم‌کننده‌های اسمزی (پرولین و کربوهیدرات) در سطوح تنش (۲۰، ۱۵ و ۵ درصد ظرفیت زراعی) نسبت به سطح نرمال (۲۵ درصد ظرفیت زراعی) در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار نشان داد. با افزایش سطوح تنش خشکی به ترتیب از ۵ تا ۲۰ درصد ظرفیت زراعی نسبت به سطح نرمال (۲۵ درصد ظرفیت زراعی)، میزان بیان نسبی ژن TaMYB73 و تنظیم‌کننده‌های اسمزی پرولین و کربوهیدرات در ژنوتیپ‌های بهرنگ، کرخه و دنا نسبت افزایش بیشتری نشان داد. با توجه به نتایج این مطالعه، در بین ۵ ژنوتیپ مورد بررسی گندم دوروم، به نظر می‌رسد که ژنوتیپ‌های بهرنگ، کرخه و دنا مقاومت بیشتری نسبت به تنش خشکی نشان دادند.

واژه‌های کلیدی. پرولین، روش ریل تایم پی سی آر، فاکتور رونویسی، کربوهیدرات، مرحله گیاهچه‌ای

The effect of drought stress on MYB gene expression and osmotic regulator levels of five durum wheat genotypes (*Triticum turgidum* L.)

Tahereh Naeemi, Leila Fahmideh & Barat Ali Fakheri
Department of Plant Breeding and Biotechnology, Agriculture Faculty, University of Zabol, Zabol, Iran
*Correspondent author: Leila Fahmideh, l.fahmideh@uoz.ac.ir

Abstract. Plant growth is greatly influenced by environmental stresses including water deficit, salinity and extreme temperatures. Therefore, the identification of genes, especially regulatory ones whose expression enables plants to adapt to or to tolerate these abiotic stresses, is very essential. MYB proteins, a superfamily of transcription factors, play regulatory roles in developmental processes and in defense responses in plants. Members are characterized by a structurally conserved DNA-binding domain, i.e., the MYB domain. Thus, a factorial experiment in a randomized complete block design with three replications was carried out to investigate the effect of different levels of drought stress on the relative expression of *TaMYB73* transcription factor gene using Real Time PCR method at Biotechnology Research Institute of Zabol University. The experimental treatments included durum wheat genotypes (Shabrang, Behrang, Karkheh, Aria and Dena) and drought levels (5, 10, 15, 20 and 25% of field capacity). Seedlings of genotypes

Received 16.12.2017/ Revised 24.11.2018/ Accepted 01.12.2018/ Published 01.08.2019
دریافت ۱۳۹۶/۰۹/۲۵/اصلاح ۱۳۹۷/۰۹/۳/پذیرش ۱۳۹۷/۰۹/۱۰/انتشار ۱۳۹۸/۰۵/۱۰

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-06]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1398.6.2.4.1]
[DOI: 10.29252/nbr.6.2.217]

were cultured in pots and drought stress was exerted after 45 days (four to five leaves). Data analysis was performed using Ratio =2 $^{-\Delta\Delta CT}$ and SAS software version 9.1. The results of the 2-way ANOVA for the effect of genotype, drought stress and cross-effects of drought stress on the relative expression of *TaMYB73* gene and the amount of osmotic regulators (Proline and Carbohydrate) at different stress levels (20, 15, and 5% of field capacity) were significant in comparison with the normal condition (25% of field capacity) at 1% probability level. With the increase of drought stress level from 5 to 20% of crop capacity, relative to the normal level (25% crop capacity), the relative expression of *TaMYB73* gene and osmotic regulators of proline and carbohydrates increased in Beharang, Karkheh and Dena genotypes. Therefore, Karkheh and Dena genotypes showed greater resistance to drought stress among the 5 genotypes studied.

Keywords. carbohydrate, drought stress, proline, Real Time PCR method, seedling stage, transcription factor

مقدمه

گیاه زراعی گندم از نظر سطح زیر کشت و تولید سالیانه نسبت به سایر غلات در درجه اول اهمیت قرار دارد و بخش وسیعی از زمین‌های زیر کشت محصولات عمده کشاورزی، مانند گندم در مناطق خشک و نیمه خشک ایران قرار گرفته است و این گیاهان در معرض شرایط نامطلوب محیطی مانند شوری و خشکی قرار دارند. در شرایط آب و هوایی متغیر مناطق نیمه‌خشک، تعداد محصولاتی که بتوان آن‌ها را بدون آبیاری کشت نمود، بسیار محدود است (Tajbakhsh & Pourmirza, 2003). زمان وقوع و مدت زمان دوام تنش، فراوانی وقوع خشکی، خصوصیات ذاتی خاک، تغییرات و نوسانات بارندگی همگی بر مقاومت به خشکی گیاه اثر دارند و این نشانگر عکس‌العمل متفاوت ژنوتیپ‌های مقاوم به خشکی از سالی به سال دیگر است (Sarmadnia, 1993; Boon Jung & Fukai, 1996). تنظیم اسمزی، یک نوع سازگاری به تنش کمبود آب است که از طریق تجمع مواد محلول درون سلول‌ها، می‌تواند منجر به حفظ تورژسانس سلول‌ها و فرایندهای وابسته به آن در پتانسیل‌های پایین آب شود (Vinocur & Altman, 2005). این تنظیم از طریق تولید بیشتر انواع مختلف مواد آلی مانند پرولین، پروتئین، بتائین و قندهای محلول در ریشه‌ها و اندام‌های هوایی صورت می‌گیرد (Mohammadkhani & Heidari, 2008; Johari-Pireivatlou, 2010).

درگیاهانی که در معرض کم‌آبی قرار می‌گیرند، تجمع پرولین تنها نتیجه تنش نیست، بلکه قسمتی از سیستم دفاعی متابولیک بر علیه تنش‌های غیرزنده است (Turkan, 2011). افزایش قندهای محلول می‌تواند سیالیت غشاها و حالت هیدراته پروتئین را حفظ کرده و از این رو ساختارهای آن را پایدار کند (Ghorbanali & Niakan, 2005). ممنوعی و سید شریفی (Mamnoei & Seyed Sharifi, 2010) افزایش میزان انباشت پرولین در گیاهان جو متحمل به کم‌آبی را نسبت به گیاهان حساس گزارش کردند. غشای سلولی اولین مکانی است که در تنش‌های محیطی آسیب می‌بینند. تنش موجب تغییراتی در پایداری غشا و تراوایی آن شده (Hoque & Arima, 2002) و آسیب غشا علاوه بر تأثیر مستقیم بر نفوذپذیری انتخابی آن، شیب الکتروشیمیایی لازم جهت سنتز ATP را در کلروپلاست و میتوکندری متأثر می‌سازد. در شرایط تنش خشکی برای ایجاد جریان آب از خاک به داخل ریشه‌ها، مکانیسم تنظیم اسمزی فعال می‌شود که با هدف حفظ تورژسانس سلولی، تداوم جذب از محیط ریشه و پایداری غشاها انجام می شود. در پدیده تنظیم اسمزی یکی از اسید آمینه‌های فعال پرولین است که در ایجاد و حفظ فشار اسمزی درون گیاه نقش به سزایی دارد (Zhu, 2002).

پاسخ و سازگاری گیاهان در برابر تغییر شرایط محیطی نیازمند تغییرات متعدد سیتولوژیکی، بیوشیمیایی، فیزیولوژیکی و مولکولی در گیاه است. به محض درک و تشخیص تغییرات درون سلولی، مسیرهای پیام‌رسانی مختلفی به منظور تبدیل تنش فیزیکی به یک پاسخ بیوشیمیایی مناسب شروع شده و هر یک از آن‌ها بیان گروه‌های خاصی از ژن‌های پاسخ‌دهنده به تنش را سبب می‌شود، که منجر به انطباق گیاه و در نتیجه تحمل تنش آن می‌شود (Galle *et al*., 2002). این تغییرات به وسیله ژن‌های تنظیمی متعددی کنترل می‌شوند (Nakashima *et al*., 2000). تنظیم بیان ژن‌ها در ارتباط با تغییر شرایط محیطی، در تمامی مراحل رشد گیاهان روی می‌دهد (Cushman & Bohnert, 2000). فرآورده این ژن‌ها بر اساس نوع عملکرد آن‌ها به دو گروه طبقه بندی می‌شود: گروه اول پروتئین‌هایی مرتبط با تنش غیر زیستی: چاپرون‌ها، پروتئین‌های کانال‌آبی، پروتئین‌های اواخر دوره جنین‌زایی، آنزیم‌های بیوسنتز اسمولیت‌ها، آنزیم‌های سم‌زدایی و آنزیم‌های

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-06]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1398.6.2.4.1]
[DOI: 10.29252/nbr.6.2.217]

تغییردهنده لیپیدهای غشایی و گروه دوم عوامل پروتئینی درگیر در پیام‌رسانی و تنظیم بیان ژن: پروتئین‌کینازها، آنزیم‌های درگیر در متابولیسم فسفو لیپیدها و عوامل‌رونویسی (TF_s) را شامل می‌شوند (Yamaguchi-Shinozaki & Shinozaki, 2005).

ژن‌های عوامل رونویسی بخش بزرگی از ژنوم همه یوکاریوت‌ها و از جمله گیاهان عالی را تشکیل داده است. در واقع عوامل رونویسی، پروتئین‌هایی هستند که بیان ژن را از طریق اتصال به توالی‌های خاص از DNA واقع در ناحیه پروموتورهای ژن‌های هدف تنظیم می‌کنند (Riechmann & Ratcliffe, 2000). یک نمونه آن، پروتئین‌های Myeloblastosis هستند که یک خانواده بزرگ از عوامل رونویسی بوده و از اهمیت خاصی در تنظیم فرایندهای نموی و پاسخ‌های گیاه در برابر عوامل غیرزنده برخوردار هستند (Rahaei *et al*., 2010).

پروتئین‌های MYB در واقع کلاس متنوعی از پروتئین‌های متصل شونده به DNA بوده که در تنظیم رونویسی ژن‌های گیاهی دخیل هستند. از مشخصه مهم این خانواده، داشتن یک دامین اتصال به DNA یعنی دامین MYB هستند که حفاظت شده است. یک دامین MYB معمولاً مرکب از یک تا سه تکرار ناقص است که هر تکرار حاوی ۵۲ آمینواسید است که یک کنفورماسیون Helix-Turn-Helix را به وجود می‌آورد که در شیار بزرگ DNA قرار می‌گیرد. به عنوان مثال، دامین MYB عامل رونویسی c-MYB پستانداران که به خوبی شناسایی شده است مرکب از سه تکرار R1، R2 و R3 است (Paz-Ares *et al*. 1987).

عوامل رونویسی bZIP, DREB1A, DREB2A, HSFA2 ABF3, MYB15 بیشترین تعداد ژن‌های کلیدی مربوط در پاسخ به تنش خشکی گیاه جو را در بین ژن‌های مؤثر دارا بودند که نشان‌دهنده اهمیت این عوامل رونویسی در مکانیسم تحمل به تنش خشکی است (Javadi *et al*., 2016). داده‌های ترانسکریپتومی در آرابیدوپسیس و بسیاری از گیاهان، مسیرهای مستقلی را برای پاسخ‌گویی به تنش‌های محیطی پیشنهاد می‌دهند. در مسیر وابسته به ABA و مسیر مستقل ازآن، تحمل یا حساسیت به تنش‌های محیطی در سطح رونویسی و با برهم کنش ژن‌های تنظیمی و فاکتورهای رونویسی در شبکه‌های تنظیمی کنترل می‌گردد (Fowler & Thomashow, 2002; Umezawa *et al*., 2006). MYB15 یکی از اعضاء خانواده R2R3- MYB است. مطالعات نشان داده است که این پروتئین هم در اندام‌های رویشی و هم در اندام‌های زایشی و بخصوص در سلول‌های نگهبان برگ گیاه آرابیدوپسیس تحت تنش خشکی و شوری افزایش بیان نشان داده است (Ding *et al*., 2009).

به منظور بررسی نقش عوامل تنظیمی و الگوی بیان آن‌ها در زمان تنش غیر زنده در گیاه گندم، تعدادی از قطعات ژنی MYB پس از آنالیز توالی، انتخاب و جهت آنالیز Real Time PCR مورد استفاده قرار گرفتند. نمونه‌های ۱۳ روزه گندم تحت دو شرایط تنش کوتاه مدت شوری قرار گرفتند و از ریشه‌ها و قسمت هوایی آن‌ها به طور جداگانه نمونه‌گیری شد. آنالیزRT-PCR کمی نشان داد که بیان اغلب ژن‌های انتخاب شده در پاسخ به تنش تغییر داشت (Rahaei *et al*., 2010). در مطالعه دیگری به منظور بررسی بیان ژن‌های متحمل به تنش غیرزنده، ژن TaMYB19 انتخاب و به گیاه آرابیدوپسیس منتقل شد (فاکتور رونویسی MYB در دمین متصل به DNA دارای سه توالی همولوگ A-TaMYB19، B-TaMYB19 و D-TaMYB19 است). الگوهای بیان این سه ژن در شرایط نرمال مشابه بود اما در شرایط تنش غیرزنده، در مرحله گیاهچه‌ای، بیان ژن B-TaMYB19 گیاهان تراریخت نسبت به دو توالی همولوگ خود متفاوت بود (Zhang *et al*., 2014). میزان تظاهر ژن عامل رونویسی TaMYB73 در برخی ارقام گندم نان (چمران ۲، کلک افغانی، سیستان، ارگ و افق) بعد از اعمال سطوح مختلف تنش خشکی با روش Real-time PCR بررسی شد. نتایج نشان داد که بیان ژن TaMYB73 بین سطوح مختلف تنش خشکی و بین ارقام مورد بررسی متفاوت بود (Tabaraki *et al*., 2017).

بر اساس نتایج مطالعات Briggle و Curtis (1987)، یکی از راهکارهای اساسی غلبه بر مشکلات ناشی از تنش، انتخاب ارقام مقاوم و اصلاح ژنوتیپ‌های سازگار است (Naghavi & Mardi, 2010). از آنجا که اغلب مطالعات بررسی و گروهبندی کردن ارقام نسبت به شرایط تنش، در شرایط مزرعه و یا گلخانه و براساس داده‌های حاصل از اندازه‌گیری صفات انجام می‌شود، در این مطالعه این ژنوتیپ‌های گندم دوروم (شبرنگ، بهرنگ، کرخه، دنا و آریا) برای اولین بار براساس میزان بیان نسبی ژن TaMYB73 و میزان تغییرات تنظیم‌کننده‌های اسمزی از نظر مقاومت در برابر سطوح تنش خشکی (۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ درصد ظرفیت زراعی

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-06]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1398.6.2.4.1]
[DOI: 10.29252/nbr.6.2.217]

مزرعه) مورد بررسی قرار گرفتند، تا امکان بررسی اولیه و دسته‌بندی ارقام یا ژنوتیپ‌ها از نظر عکس العمل به تنش‌ها و به‌خصوص تنش خشکی از طریق مطالعات آزمایشگاهی- مولکولی در زمان کمتری فراهم شود.

مواد و روش‌ها

این آزمایش بصورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۳ تکرار در پژوهشکده زیست‌فناوری دانشگاه زابل انجام شد. فاکتورهای مورد بررسی شامل پنج ژنوتیپ گندم دوروم (کرخه، آریا و دنا تهیه شده از موسسه اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج و شبرنگ و بهرنگ تهیه شده از مرکز تحقیقات کشاورزی زابل) و فاکتور دوم شامل سطوح تنش خشکی (۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ درصد ظرفیت زراعی) بود.

کشت بذرها و تهیه گیاهچه: بذور پنج ژنوتیپ گندم دوروم، با هیپوکلریت سدیم ضدعفونی و به مدت ۵ دقیقه با آب مقطر شستشو داده شدند. ژنوتیپ‌ها در مدت ۷۲ ساعت و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد جوانه زدند. از هر ژنوتیپ ۳ نمونه جوانه زده شده انتخاب و در عمق ۳ سانتی‌متری از خاک درون گلدان (شکل ۱) کشت شد (Maali *et al*., 2007). گلدان ها در شرایط نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و دمای ۲۱ ±۲۵ درجه سانتی-گراد نگهداری شدند (Esfandiari *et al*., 2011). آبیاری گلدان‌ها یک روز در میان با آب معمولی انجام شد و به منظور جلوگیری از خروج آب زهکش، از گلدان بدون روزنه استفاده شد (Gharbi *et al*., 2013).

با استفاده از محاسبات، مقدار آب در خاک خشک نسبت به ظرفیت مزرعه مشخص شد. برای تعیین تیمارها مقادیر آب در هر گلدان، ابتدا مقدار ۱۲۸۳ گرم خاک در داخل آون در درجه حرارت ۱۰۳ درجه سانتیگراد قرار داده شد و پس از ۴۸ ساعت، توزین و وزن خاک خشک ۱۰۲۰ گرم تعیین شد. سپس خاک خشک شده در گلدانی ریخته و به آرامی و تا حد اشباع آب به آن اضافه شد و پس از خارج شدن کامل آب ثقلی، گلدان توزین و پس از کسر وزن گلدان و خاک خشک مقدار آب نگهداری شده در ظرفیت زراعی با توجه به فرمول ظرفیت زراعی مزرعه، ۲۵ درصد تعیین شد و تیمارهای مختلف بر این اساس محاسبه شدند (فرمول زیر).

$$\text{درصد ظرفیت زراعی خاک} = \frac{\text{وزن خاک خشک در حالت ظرفیت زراعی} - \text{وزن خاک خشک}}{\text{وزن خاک خشک}} \times 100$$

$$FC = \frac{1283-1020}{1020} \times 100 = 25\%$$

هر گلدان حاوی ۳۰۰۰ گرم خاک در حالت معمولی بود. بنابراین آب مورد نیاز برای رسیدن خاک این گلدان ها به حد ظرفیت زراعی با استفاده از روش زیر برآورد شد. آب مورد نیاز برای رسیدن خاک گلدان به حد ظرفیت زراعی = درصد ظرفیت زراعی خاک × وزن خاک خشک هر گلدان بنابراین سطح نرمال (شاهد) ظرفیت زراعی خاک ۲۵ درصد تعیین شد. در مرحله چهار برگی عملیات تنک انجام شد و در پایان از هر ژنوتیپ یک گیاه در هر گلدان باقی ماند (Amiri Deh Ahmadi *et al*., 2010). اعمال تنش خشکی روی گیاهان ۴۵ روز پس از کشت صورت گرفت و ۲۰ روز پس از اعمال تنش نمونه برداری برگ و اندازه گیری صفات (پرولین، کربوهیدرات و بیان نسبی ژن ژن TaMYB73) انجام شد. نمونه برگی ژنوتیپ‌ها (شبرنگ، بهرنگ، کرخه، آریا و دنا) مورد بررسی تا زمان استخراج RNA در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

جداسازی RNA

RNA گیاه گندم دوروم با استفاده از کیت Total RNA isolation شرکت دنازیست آسیا، مطابق دستورالعمل کیت استخراج شد. کیفیت RNA استخراج شده با استفاده از ژل آگارز یک درصد تعیین شد. تشکیل دو باند RNA ریبوزومی 28srRNA و 18srRNA روی ژل نشان دهنده کیفیت بالای RNA تخلیص شده بود. جهت از بین بردن DNA ژنومی از DNase شرکت پیشگام استفاده شد.

طراحی آغازگرها

در این مطالعه از آغازگرهای اختصاصی TaMYB73 به همراه ژن 18srRNA استفاده شد. طراحی این آغازگرها بر اساس انتهای ۳′ به کمک داده‌های موجود در پایگاه اینترنتی National Center for Biotechnology Information (NCBI) و همچنین نرم افزار Primer 3 صورت گرفت. مشخصات آغازگرها در جدول ۱ آورده شده است.

سنتز cDNA و بررسی بیان نسبی ژن

پس از استخراج RNA، ساخت cDNA با استفاده از کیت Geneall، شرکت پیشگام انجام گرفت. بیان ژن‌ها با روش Real

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-06]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1398.6.2.4.1]
[DOI: 10.29252/nbr.6.2.217]



شکل ۱- تقسیم بندی گلدان‌های فاقد زهکش با توجه به تعداد ژنوتیپ‌های مورد بررسی گندم دوروم.

Fig. 1. The distribution of undrained pots with respect to the number of the investigated durum wheat genotypes.

جدول ۱- توالی آغازگرهای مورد استفاده در واکنش Real Time PCR ژن TaMYB73.

Table 1. The sequence of primers used in Real Time PCR reaction of TaMYB73 gene.

Gene	Forward primer	Reverse primer
TaMYB73	5-’GGTGTTTCTAAAGTCCCCAGTTAG-3’	5’-GGTATTGCGTGTAAGCGTCGTGCT-3’
18srRNA	5’-GACACTAATGCGCCCGGTAT-3’	5’-AGGGGTCGAAGCGGTAGAGG-3’

جدول ۲- میزان و مواد لازم جهت انجام Real Time PCR.

Table 2. The required amounts of materials in Real-time PCR.

مواد	مقدار
cDNA	1 µl
Eva Green Master	4 µl
Primer Forward	0.5 µl
Primer Rivers	0.5 µl
PCR-grade water	14 µl

Time PCR و با دستگاه Real Time PCR set Corbett (3000) با استفاده از کیت EvaGreen انجام شد. تمام cDNAهای ساخته شده از طریق دستگاه Real Time PCR مورد بررسی و مطالعه قرار گرفت. در این آزمایش از Hot taq Evagreen mix (no Rox) (شرکت دنازیست آسیا) استفاده شد. شرایط این تکثیر شامل: واسرشت اولیه ۱۵دقیقه، سپس ۴۰ چرخه به صورت واسرشت سازی ۱۵ ثانیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد، اتصال ۴۵ ثانیه در دمای اتصال (مناسب برای جفت آغازگر مورد نظر) و طویل‌سازی ۲۰ ثانیه در دمای ۶۰- ۶۵ درجه سانتی‌گراد و در نهایت طویل سازی نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۳ دقیقه در نظر گرفته شد (جدول۲). جهت تجزیه و تحلیل نسبت بیان ژن هدف (ژن TaMYB73) در مقایسه با ژن کنترل 18srRNA برای تمام تیمارها از روش $2^{-\Delta\Delta CT}$ استفاده شد. میزان بازده PCR برای هر ژن از فرمول $2^{-\Delta\Delta CT}$ =Ratio بدست آمد. همچنین جهت بررسی و تأیید عدم وجود آلودگی ژنومی از نمونه کنترل منفی (No RT Control) استفاده شد. پس از بررسی میزان تکثیر از طریق Real Time PCR، تجزیه توسط نرم‌افزار دستگاه (Corbettresearch – RG3000) محاسبه شد و پس از به‌دست‌آوردن چرخه آستانه و میزان دقیق غلظت، جهت مرتب کردن داده‌ها و رسم نمودار از نرم‌افزار اکسل

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-06]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1398.6.2.4.1]
[DOI: 10.29252/nbr.6.2.217]

استفاده شد. سپس تجزیه داده‌ها از طریق فرمول $Ratio= 2^{-\Delta\Delta CT}$ و با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۱ محاسبه شد.

اندازه‌گیری میزان محافظت‌کننده های اسمزی

کربوهیدرات بر اساس روش ایریگوین و همکاران (Irrigoyen *et al*., 1992) به شرح زیر اندازه‌گیری شد. مقدار ۰/۲ گرم بافت سبز گیاه به همراه ۱۰ میلی لیتر اتانول ۹۵ درصد در لوله‌های آزمایش در بسته قرار گرفت و به مدت ۱ ساعت در حمام بن‌ماری در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شد. پس از سرد شدن، ۱ میلی لیتر از نمونه‌ها به همراه ۱ میلی لیتر فنل ۰/۵ درصد و ۵ میلی لیتر اسید سولفوریک ۹۸ درصد ترکیب شد. در نهایت با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Unico USA UV-2100) در طول موج ۴۸۳ نانومتر مقدار جذب خوانده شدند. برای رسم منحنی استاندارد محلول‌هایی با غلظت‌های ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۸۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ پی پی‌ام تهیه شد و بعد از قرار دادن در دستگاه اسپکتروفتومتر اعداد حاصله وارد EXCEL شده و منحنی کالیبراسیون رسم شد. با استفاده از معادله خط به دست آمده از منحنی کالیبراسیون (فرمول زیر)، اعداد حاصل از میزان کربوهیدرات استخراج شده نمونه ها بر حسب میکرومول گلوکز بر گرم وزن تر به دست آمد. $Y = 0.0092X + 0.0123$

اندازه‌گیری میزان پرولین با استفاده از روش بیتز و همکاران (Bates *et al*., 1973) به شرح زیر انجام شد. ۰/۱ گرم از نمونه برگ به همراه ۵ میلی‌لیتر اسید سولفوسالسیلیک ۳ درصد در هاون کوبیده و از کاغذ صافی واتمن شماره ۲ عبور داده شد. به ۲ میلی‌لیتر از این محلول ، ۲ میلی‌لیتر اسید گلاسیال استیک و ۲ میلی‌لیتر معرف ناین‌هیدرین اضافه و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد قرار داده شد. ۶ سی‌سی تولوئن به نمونه ها اضافه و در نهایت میزان جذب در ۵۲۰ نانومتر در دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. برای رسم منحنی استاندارد محلول‌هایی با غلظت‌های ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵ و۳۰ پی پی‌ام پرولین خالص تهیه شد و بعد از قرار دادن در دستگاه اسپکتروفتومتر اعداد حاصله وارد EXCEL و منحنی کالیبراسیون رسم شد. سپس با استفاده از معادله خط بدست آمده از منحنی کالیبراسیون (فرمول زیر)، اعداد حاصله از میزان پرولین استخراجی بر اساس میکرومول گلوکز بر گرم وزن تر به دست آمد. $Y = 0.058X - 0.0288$

نتایج و بحث

همان‌طور که در شکل ۲ مشاهده می‌شود دو باند RNA ریبوزومی 18s و 28s روی ژل نشان دهنده کیفیت بالای RNA استخراج شده است.

نتایج شیب دمایی

به منظور تعیین یک دمای بهینه برای تکثیر ژن‌های هدف TaMYB73 ژن مرجع (18srRNA) توسط پرایمرها، شیب دمایی انجام شد و دمای بهینه ۵۹/۵ برای ژن مرجع و دمای ۶۲/۵ برای ژن MYB به دست آمد.

نتایج منحنی ذوب ژن TaMYB73

شدت نور فلورسانس برای ژن TaMYB73 و ژن 18srRNA به ترتیب ۸۷ (شکل ۳) و ۸۴ درجه سانتی‌گراد (شکل ۴) دیده می‌شود. وجود پیک در یک دما برای تمامی تیمارها نشان از اختصاصی بودن محصول واکنش است. پس از اتمام فرایند Real Time PCR با توجه به مشاهده منحنی‌های ذوب (شکل ۳ و ۴) می‌توان گفت آغازگرها بصورت اختصاصی عمل کرده‌اند و یک نمونه منفرد از cDNA را تکثیر نمودند.

نتایج تجزیه واریانس

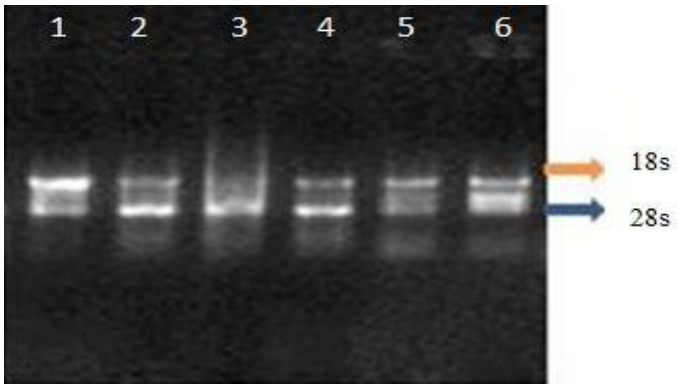
نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر تنش خشکی، ژنوتیپ و اثر متقابل تنش خشکی و ژنوتیپ بر بیان نسبی ژن TaMYB73 و میزان تجمع پرولین و کربوهیدرات در شرایط کنترل و تیمار تنش خشکی در سطح یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۳).

نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل تنش خشکی در ژنوتیپ بر بیان نسبی ژن TaMYB73

با توجه به نتایج حاصل از مقایسه میانگین اثر متقابل تنش خشکی در ژنوتیپ که در شکل ۵ آورده شده است، بیشترین میزان بیان نسبی ژن TaMYB73 در سطح ۵ درصد برای ژنوتیپ بهرنگ با میانگین (۱/۸۴۶) و ژنوتیپ دنا با میانگین (۱/۸۴۲) در سطح ۵ و ۱۰ درصد ظرفیت زراعی مشاهده شد. کم‌ترین میزان بیان ژن مذکور نیز در تمامی ژنوتیپ های مورد مطالعه در سطح ۲۵ درصد ظرفیت زراعی مزرعه (شاهد) مشاهده شد.

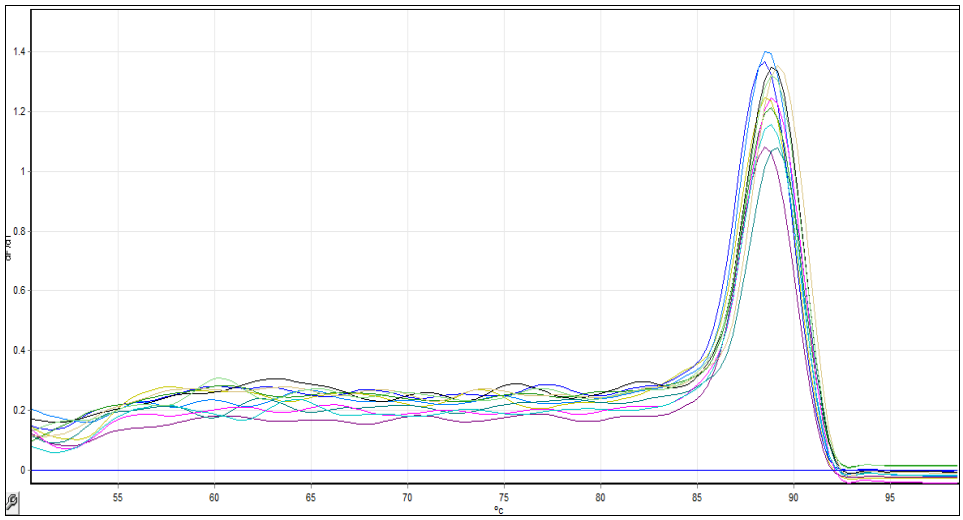
مطالعات اخیر در مورد گیاهان تراریخت نشان داده است که ژن‌های خانواده‌ی (TF_s) مانند: WRKY-MYB-NAC-Bzip-AP2/ERF هنگام ایجاد تنش‌های غیر زنده سبب ایجاد مکانیسم تحمل در گیاهان تراریخت می‌شوند (Wang *et al*., 2003; Vinocur & Altman, 2005). ژن R2R3-MYB نقش اساسی

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-06]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1398.6.2.4.1]
[DOI: 10.29252/nbr.6.2.217]



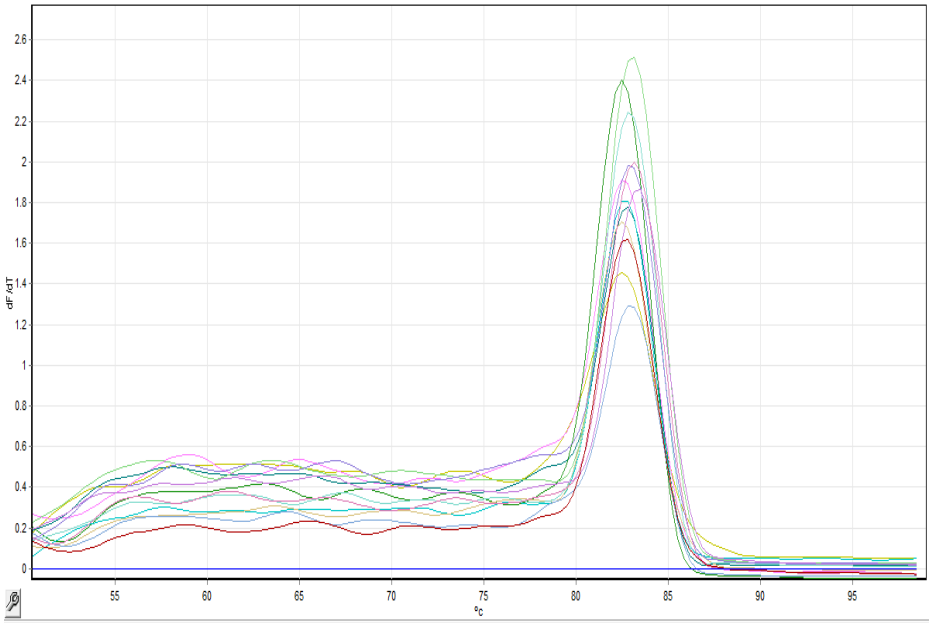
شکل ۲- RNA استخراج شده دارای دو باند ۱۸ S و ۲۸ S به ترتیب در ژنوتیپ‌های شبرنگ، بهرنگ، کرخه، آریا و دنا.

Fig. 2. The extracted RNA with 18 and 28s bands from Shabrang, Behrang, Karkheh, Aria and Dena genotypes, respectively.



شکل ۳- منحنی ذوب ژن TaMYB73. موقعیت پیک موجود نشان‌دهنده دمای ۸۷ درجه سانتی گراد.

Fig. 3. *TaMYB73* melting-curve. The available peak indicates 87℃ (Tm gene product *MYB*).



شکل ٤- منحنی ذوب ژن 18srRNA. موقعیت پیک موجود نشان‌دهندهٔ دمای ۸۴ درجه سانتی گراد.

Fig. 4. *18srRNA* melting-curve. The available peak indicates 84℃ (Tm gene product 18s).

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-06]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1398.6.2.4.1]
[DOI: 10.29252/nbr.6.2.217]

در کنترل پروسه‌های گیاهی خاص، از جمله سوخت و ساز اولیه و ثانویه، فرایندهای سلولی و پاسخ به تنش‌های زنده و غیر زنده دارد (Dubos *et al*., 2010). در گیاهان رونوشت ژن‌های کدکننده عوامل رونویسی از جمله خانواده MYB به هنگام بروز تنش‌های غیر زنده افزایش می‌یابد. اعضای این خانواده دارای نقش‌های متعددی هستند. به عنوان مثال AtMYB60 در آرابیدوپسیس در مقابله با تنش خشکی، منجر به بسته شدن روزنه‌ها می‌شود و یا OsMYB4 در برنج سبب افزایش ساخت اسمولیت‌ها همچون گلوکز، فروکتوز و پرولین می‌شود. برخی از عوامل رونویسی سریعاً پس از بروز تنش محیطی افزایش بیان نشان می‌دهند. برخی در مواجه با تنش طولانی مدت واکنش نشان می‌دهند و خانواده بزرگ MYBها در گندم برای سازگاری به تنش شوری نقش دارند. پژوهش بر روی موتانت‌ها در برنج بیان‌گر این بود که مقاومت به تنش سرما به شدت بسته به بیان ژن MYBs3 است. همچنین نتایج بیان ژن‌های عوامل رونویسی(NAC, MYB, WRKY, BHLH, BZIP) در دو ژنوتیپ گندم مقاوم و حساس به تنش شوری نشان داد که تغییر میزان بیان ژن‌ها در رقم مقاوم بیشتر از رقم حساس است (Rahaei *et al*., 2010). نتایج مطالعه‌ای که ژن TaMYB19 (از عوامل رونویسی MYB) را به گیاه آرابیدوپسیس منتقل کرده بودند، نشان داد که الگوهای بیان در شرایط نرمال مشابه، اما در شرایط تنش‌های غیرزنده (از قبیل: شوری، خشکی، گرما و ....) ژن B-TaMYB19 بیان متفاوتی را در تحمل به تنش نسبت به دو توالی همولوگ از خود نشان داد (Zhang *et al*., 2014). در این مطالعه نیز تغییرات بیان ژن در شرایط تنش خشکی در پنج رقم گندم دوروم مورد مطالعه نشان دهنده القای بیان ژن TaMYB73 در سطوح تنش بود که با پژوهش‌های انجام شده قبلی مطابقت دارد. نتایج حاصله با نتایج مطالعه‌ای که ۵ ژنوتیپ گندم نان را در شرایط تنش خشکی و براساس تغییر میزان بیان ژن TaMYB73 مورد بررسی قرار داده بودند (Tabaraki et al., 20117)، مطابقت دارد. در نتایج آنها میزان بیان ژن مذکور در سطح خشکی ۵ درصد بیشترین مقدار را داشت و در نتیجه با افزایش تنش، بیان ژن هم افزایش داشت و رقم ارگ به عنوان بهترین رقم تحت شرایط آزمایش معرفی شد. نتایج آنالیز RT-PCR کمی (Rahaei *et al*., 2010) نشان داد، بیان اغلب ژن‌های انتخاب شده مانند ژن MYB در ریشه‌ها و قسمت هوایی نمونه‌های ۱۳ روزه گندم، هنگام پاسخ به دو شرایط تنش کوتاه مدت شوری، افزایش می‌یابد که با نتایج حاصله از تحقیق حاضر که بیان ژن TaMYB73 مورد مطالعه در سطوح مختلف تنش خشکی متفاوت بود و با افزایش تنش، بیان ژن هم افزایش داشت، مطابقت دارد. نتایج مطالعات درگندم (Dai *et al*., 2007; Cai *et al*., 2015) نشان داد، پروتئین R2R3-MYB نقش اساسی در تنظیم چرخه سلولی داشته و همچنین ژن TaMYB2 که دارای سه توالی TaMYB2A- TaMYB2B- TaMYB2D است، نقش مؤثری در تحمل به تنش خشکی دارد که نتایج این مطالعه هم نقش و اهمیت ژن TaMYB73 را در شرایط تنش خشکی برای گندم دوروم تأیید نمود.

نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل تنش خشکی و رقم برای صفات تنظیم کننده های اسمزی

نتایج نشان داد که ژنوتیپ کرخه و شبرنگ به ترتیب با ۱/۵۶ و ۱/۰۹ میکرومول گلوکز بر گرم وزن تر بیشترین و کم‌ترین میزان کربوهیدرات اندازه‌گیری شده را دارا بودند. اثر متقابل تنش خشکی در رقم نشان داد، ژنوتیپ بهرنگ در سطح ۱۰ درصد ظرفیت زراعی بالاترین میزان کربوهیدرات (۱/۹۹) و ژنوتیپ کرخه در سطح ۱۵ درصد ظرفیت زراعی کم‌ترین میزان کربوهیدرات (۰/۶۶ میکرومول گلوکز بر گرم وزن تر) را داشته است (شکل ۶). به نظر می‌رسد که ژنوتیپ‌های مقاوم گندم توانایی افزایش میزان قندهای محلول را داشته و ژنوتیپ حساس مقدار کمتری از قند محلول را انباشت کرده است (Tavakoli Hassankalu *et al*., 2014). براساس نتایج مقایسه میانگین (شکل ۷)، ژنوتیپ دنا و کرخه در سطح ۵ درصد ظرفیت زراعی با مقدار ۰/۸۲ واحد میکرومول گلوکز بر گرم وزن تر بیشترین میزان پرولین و ژنوتیپ شبرنگ و کرخه در سطح ۲۵ درصد ظرفیت زراعی با میانگین ۰/۳۱ کمترین میزان پرولین را به خود اختصاص داد. تنظیم اسمزی مکانیزمی برای حفظ روابط آبی در شرایط تنش بوده و اسمولیت‌هایی با وزن ملکولی کم مانند پرولین، اسیدهای آلی،گلیسین بتائین و دیگر اسیدهای آمینه برای حفظ عمل‌کرد سلولی در خشکسالی حیاتی هستند. پرولین یکی از مهمترین اسمولیت‌های تجمع یافته در گیاهان قرار گرفته در معرض تنش خشکی است (Majidi Harvan, 1993). چهار دلیل برای افزایش تجمع پرولین در زمان تنش پیشنهاد شده است که عبارتند از:

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-06]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1398.6.2.4.1]
[DOI: 10.29252/nbr.6.2.217]

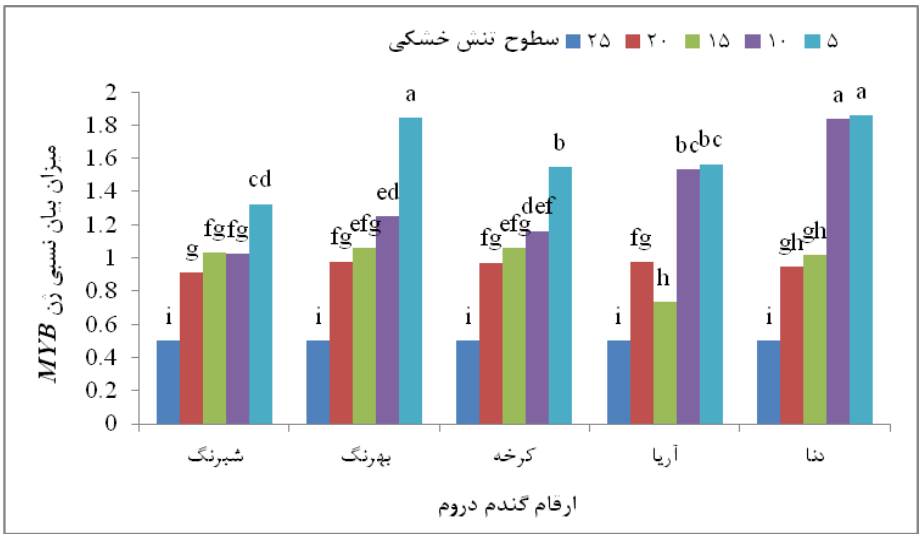
جدول۳- نتایج تجزیه واریانس بیان ژنTaMYB73 و میزان تجمع پرولین و کربوهیدرات گندم دروم تحت تنش خشکی و ژنوتیپ.

Table 3. The results of variance analysis of *TaMYB73* gene, and proline and carbohydrate contents of Durum wheat under drought stress and genotypes.

منابع تغییرات	درجه آزادی Df	ΔΔcT	کربوهیدرات carbohydrat	پرولین Proline
بلوکBlock	۲	۰/۰۰۵^{ns}	۰/۰۰۱۹**	۰/۰۰۴۸**
تنش خشکی Drought	۴	۴/۰۴۵۴**	۰/۳۸**	۰/۴۴**
ژنوتیپGenotype	۴	۰/۱۵۸۶**	۰/۴۵**	۰/۰۰۵۲**
اثر متقابلInteraction	۱۶	۰/۰۷۵۱**	۰/۲۶**	۰/۰۰۳۸**
خطاError	۴۸	۰/۰۱۸۷	۰/۰۰۰۰۴۲	۰/۰۰۰۷۷
ضریب تغییراتCV		۱۳/۳۹	۰/۴۷	۵/۵۹

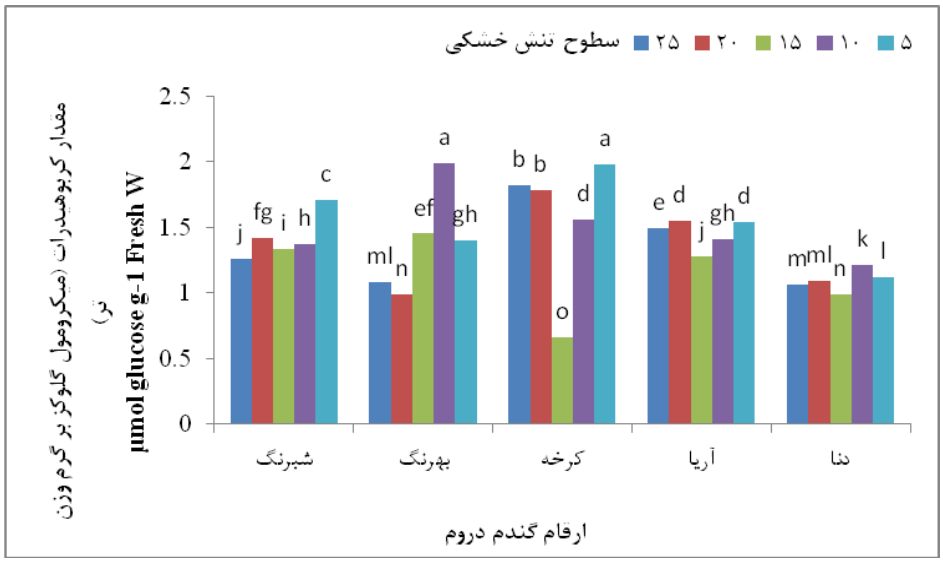
ns، * و **: به ترتیب عدم اختلاف معنی‌دار، اختلاف معنی‌دار درسطح ۰/۵ و ۱ درصد.

ns,* and ** indicate not significantly and significantly different at 0.5% and 1% , respectively.



شکل ۵ – نتایج مقایسه میانگین اثر تنش خشکی و ژنوتیپ بر میزان بیان نسبی ژن *TaMYB73*.

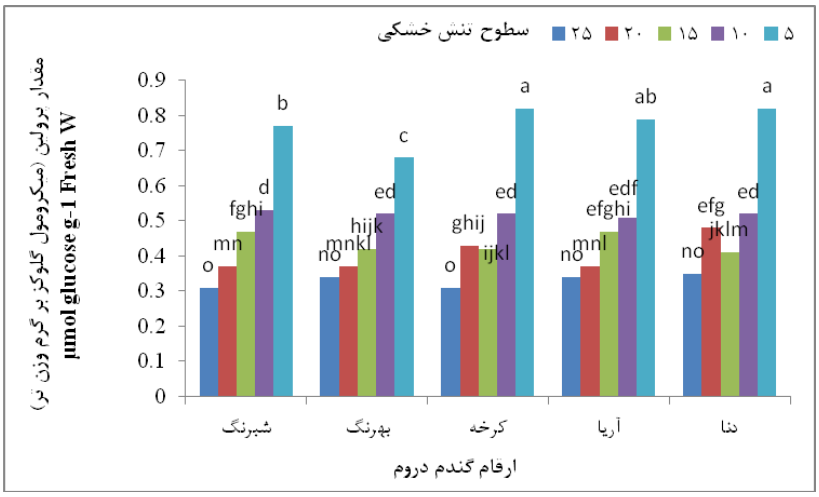
Fig. 5. Comparing the average of drought stress effects and genotypes on the relative expression of *TaMYB73* gene.



شکل ٦- نتایج مقایسه میانگین اثر تنش خشکی و ژنوتیپ بر میزان کربوهیدرات در گندم دروم.

Fig. 6. Comparing the average of drought stress effects and Durum wheat genotypes on the level of carbohydrates.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-06]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1398.6.2.4.1]
[DOI: 10.29252/nbr.6.2.217]



شکل ۷– نتایج مقایسه میانگین اثر تنش خشکی و ژنوتیپ بر میزان پرولین.

Fig. 7. Comparing the average of drought stress effects and Durum wheat genotypes on the level of proline.

الف) تحریک سنتز آن از اسید گلوتامیک. ب) کاهش انتقال آن از طریق آوند آبکش. ج) جلوگیری از اکسیداسیون آن در طول تنش. د) تخریب و اختلال در فرایند سنتز پروتئین‌ها (Lamas *et al*., 2000). طی نتایج به دست آمده (Zarei *et al*., 2015) در بررسی ارقام گندم نان به تنش خشکی، محتوی پرولین، و پایداری غشای سلولی، جزو مهمترین صفات برای انتخاب، ژنوتیپ های متحمل به خشکی، معرفی شد.

پرولین آزاد بسیاری از گیاهان در پاسخ به تنش کم‌آبی مثل خشکی و شوری به مقدار زیاد تجمع می‌یابد (Michalak, 2006). نتایج تحقیقات نشان داد گیاه برای مقابله سریع با تنش باید روزنه‌های خود را مسدود نماید تا فرصتی برای انباشت متابولیت‌های سازگاری نظیر پرولین و قندهای محلول برای تنظیم اسمزی فراهم شود. با سنتز اسمولیت‌ها غلظت شیرابه سلولی افزایش و در نتیجه یک مکش منفی به سمت سلول یا اندام ایجاد و این امر سبب انتقال آب به اندام یا سلول می‌شود. مسلماً بعد از موفقیت گیاه در تنظیم اسمزی که به حفظ پتانسیل آماس می‌انجامد، بتدریج به گشودن روزنه‌ها و کربن گیری اقدام می‌کند (Tavakoli Hassankalu *et al*., 2014).

نتیجه‌گیری

نتایج این آزمایش نشان داد با افزایش سطوح تنش خشکی به ترتیب با میزان ۲۰، ۱۵، ۱۰، ۵ درصد ظرفیت زراعی نسبت به سطح نرمال ۲۵ درصد ظرفیت زراعی، بر ۵ ژنوتیپ گندم دوروم، میزان بیان نسبی ژن مورد مطالعه TaMYB73 افزایش یافت. همگام با افزایش بیان نسبی ژن TaMYB73 در مرحله گیاهچه‌ای ژنوتیپ‌های گندم دوروم مورد بررسی، میزان تجمع پرولین در ژنوتیپ کرخه با افزایش میزان تنش خشکی در سطوح ۵ و ۱۰ درصد ظرفیت زراعی، افزایش چشمگیری در حدود ۱۶۴ درصد و همچنین ژنوتیپ بهرنگ در سطح ۱۰ درصد ظرفیت زراعی حدود ۶۶/۸ درصد در مقایسه با سطح نرمال (۲۵ درصد ظرفیت زراعی) نشان داد. با توجه به نتایج حاصل از بررسی بیان ژن و میزان تغییرات تنظیم‌کننده‌های اسمزی، در بین ژنوتیپ‌های مورد بررسی، ژنوتیپ‌های بهرنگ، کرخه و دنا نسبت به تنش خشکی مقاومت بیشتری نشان دادند. لذا پیشنهاد می‌شود در مطالعات بعدی سایر آزمایشات ملکولی تکمیلی نیز برای تأیید نتایج فوق انجام شود تا بتوان از طریق مطالعات آزمایشگاهی ارقام یا ژنوتیپ‌ها را از نظر تنش‌ها و به‌خصوص تنش خشکی در زمان کمتری دسته‌بندی نمود.

سپاسگزاری

نویسندگان بدین وسیله از مرکز تحقیقات کشاورزی شهرستان زابل به دلیل در اختیار قرار دادن بذر ارقام بهرنگ و شبرنگ و همچنین از پژوهشکده زیست‌فناوری دانشگاه زابل برای در اختیار قرار دادن امکانات آزمایشگاهی قدردانی می کنند.

REFERENCES

Amiri Deh Ahmadi, S.R., Parsa, M. and Ganjeali, A. 2010. Effects of drought stress on morphological characteristics and yield components in different phenological stages of chickpea (*Cicer arietinum* L.) greenhouse conditions. – JAR. 8: 166-157.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-06]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1398.6.2.4.1]
[DOI: 10.29252/nbr.6.2.217]

Bates, S., Waldern, R.P. and Teare, E.D. 1973. Rapide determination of free proline for water stress studies – Plant Soil 39: 205-207.

Boon Jung, H. and Fukai, S. 1996. Effects of soil water deficit at different growth stages on rice growth and yield under upland condition. – Field Crops Res. 48: 47- 55.

Briggle, L.W. and Curtis, B.C. 1987. A, SSSA, Madison, WI, USA. pp: 1-32.

Cai, H., Tian, S., Dong, H. and Guo, C. 2015. Pleiotropic effects of TaMYB3R1 on plant development and response to osmotic stress in transgenic *Arabidopsis.* – Gene 558: 227-234.

Cushman, J. C. and Bohnert, H. J. 2000. Genomic approaches to plant stress tolerance. – Curr. Opin. Plant Biol. 3: 117-124.

Dai, X., Xu, Y., Ma, Q., Xu, W., Wang, T., Xue, Y. and Chong, K. 2007. Overexpression of an *R1R2R3MYB* gene, OsMYB3R-2, increases tolerance to freezing, drought, and salt stress in ransgenic *Arabidopsis*. – J. Plant Physio. 143: 17391751.

Ding Zhenhua., Li Shiming., An Xueli., Liu Xin., Qin Huanju., Wang Daowen. 2009. Transgenic expression of MYB15 confers enhanced sensitivity to abscisic acid and improved drought tolerance in *Arabidopsis thaliana*. – J. Genet. Genomics 36: 17-29.

Dubos, C., Stracke, R., Grotewold, E., Weisshaar, B., Martin, C. and Lepiniec, L. 2010. MYB transcription factors in *Arabidopsis*. – J. Trend. Plant Sci. 15: 573-581.

Esfandiari, E., Javadi, A., Shokrpour, M. and Shekari, F. 2011**.** The effect of salt stress on the antioxidant defense mechanisms on wheat seedling. – Fresen. Environ. Bull. 20: 2021-2036.

Fowler, S. and Thomashow, M.F. 2002. *Arabidopsis* transcriptome profiling indicates that multiple regulatory pathways are activated during cold acclimation in addition to the CBF cold response pathway. – Plant Cell 14: 1675-1690.

Galle, A., Csiszár, J., Tari, I. and Erdei, L. 2002. Changes in water and chlorophyll fluorescence parameters under osmotic stress in wheat cultivars. – Acta Biol Szeged. 46: 85-86.

Gharbi, A., Rashidin, A.S. and Tarynzhad. Chlbyyany, Q. 2013. Salinity and drought tolerance of durum wheat lines under greenhouse conditions. – J. Crop Ecophysio 4: 393-410.

Ghorbanli, M. and Niakan, M. 2005. Studing the effect of drought stress on, protein, proline, phenolic compounds and nitrate reductase enzyme activity in Gorgan. – JSTE 5: 537-550.

Hoque, A. and Arima, S. 2002. Overcoming phenolic accumulation during callus induction and in vitro organogenesis in water chestnut (*Trapa japonica* Flerov). – In Vitro Cell Dev. Biol. Plant 38: 342-350.

Irrigoyen, J.H., Emerich, D.W. and Sanchez Diaz, M. 1992. Water stress induced changes in concentration of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa plant. – Physiol. Pant 84: 55-66.

Javadi, S.M., Shabr, Z.S., Pour Abed, A. and Ghadiri, Sh. 2016. Reconstruction and analysis of drought tolerance gene networks in *Hordeum vulgare* leaf. – The First International Conference and the 9th National Biotechnology Conference of the Islamic Republic of Iran. May 3rd to 5th. Tehran.

Johari-Pireivatlou, M. 2010. Effect of soil water stress on yield and proline content of four wheat lines. – Afr. J. Biotechnol. 9: 36-40.

Lamas, A., Ullrich, C.I. and Sanz, A. 2000. Cadmium effects on transmembrance electrical potential difference, respiration and membrane permeability of rice (*Oryza sativa*) roots. – Plant Soil 219: 21-28

Maali-Amiri, R.I.V., Goldenkova-Pavlova, V., Pchelkin, V.D., Tsydendambaev, A.G., Vereshchagin, A.N., Deryabin, T.I., Trunova, D.A. and Los. Nosov, A.M. 2007. Lipid fatty acid composition of potato plants transformed with the Δ12-desaturase gene from cyanobacterium. – Russ. J. Plant Physl. 54: 678-685.

Majidi Harvan, A. 1993. Physiological mechanisms of resistance to environmental constraints. – Congress abstracts Crop Iran, Tehran University, 6-9 Sep. pp: 133-134.

Mamnoei, E. and Seyed Sharifi, R. 2010. Study the effects of water deficit on chlorophyll fluorescence indices and the amount of proline in six barley genotypes and its relation with canopy temperature and yield. – J. Plant Biol. 2: 51-62.

Michalak, p. 2006. RNA world – the dark matter of evolutionary genomics. – ESEB. 19: 1768-1774.

Mohammadkhani, N. and Heidari, R. 2008. Drought-induced accumulation of soluble sugars and proline in two maize varieties. – WASJ 3: 448-453.

Naghavi, M.R. and Mardi, M. 2010. Characterization of genetic variation among accessions of *Aegilops tauschii*. – APJMBB 18: 93-96.

Nakashima, K. 2000. Organization and expression of two *Arabidopsis* DREB2 genes encoding DRE-binding proteins involved in dehydration-and high-salinity-responsive gene expression. – Plant Mol. Boil. 42: 657-665.

Paz-Ares J, Ghosal D, Wienand U, Peterson PA, Saedler H. 1987. The regulatory c1 locus of Zea mays encodes a protein with homology to myb proto-oncogene products and with structural similarities to transcriptional activators. – EMBO 6: 3553-3558

Rahaei, M. Xue, GP., Naghavi, MR., Alizadeh, H., Schenk, PM. 2010. A MYB gene from wheat (*Triticum aestivum* L.) is up-regulated during salt and drought stresses and differentially regulated between salt-tolerant and sensitive genotypes. – Plant Cell Rep. 29: 835-44.

.**Riechmann, J.L. and Ratcliffe, O.J.** 2000. A genomic perspective on plant transcription factors. – Curr. Opin. Plant Biol. 3: 423-434.

Sarmadnia, Gh. 1993. The Importance of environmental tensions in agriculture. – Key articles of the 1st Iranian Congress of Plant Breeding, University of Tehran. pp: 157-169.

Tabaraki, H., Fahmideh, L. and Fooladvan, Z. 2017. Study of MYB gene expression under drought stress in some bread wheat cultivars. – EJBGE 6: 95-104.

Tajbakhsh, D. and Pourmirza, A.S. 2003. Cultivation of crops. – Jihad Urmia University Publications 68 p.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-06]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1398.6.2.4.1]
[DOI: 10.29252/nbr.6.2.217]

Tavakoli Hassanluklo, H., Ebadi, A. and Jahanbakhsh, S. 2014. Investigation of some mechanisms of water stress tolerance in bread wheat genotypes. – J. Creal. Res. 4: .13-25.

Turkan, I. 2011. Plant responses to drought and salinity stress, development in a post-genomic era. – Adv. Bot. Res. 593 pp.

Umezawa, T. Fujita, M., Fujita, Y., Yamaguchi-Shinozaki, K. and Shinozaki, K. 2006. Engineering drought tolerance in plants: discovering and tailoring genes to unlock the future. – Curr. Opin. Plant Biol. 17: 113-122.

Vinocur, B. and Altman, A. 2005. Recent advances in engineering plant tolerance to abiotic stress: achievements and limitations. – J. Curr. Opin. Biotech. 16: 123-132.

Wang, W., Vinocur, B. and Altman, A. 2003. Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering fortress tolerance. – J. Planta 218: 1-14.

Yamaguchi-Shinozaki, K. and Shinozaki, K. 2005. Organization of cis-acting regulatory elements in osmotic- and cold-stress responsive promoters. – Trends Plant Sci. 10: 88-94.

Zarei, L., Farshadfar, E., Haghparast, R., Rajabi, R. and Mohammadi Sarab Badieh, M. 2015. Evaluation of physiological, phenological and morphological traits associated with drought tolerance in bread wheat. – J. Creal. Res. 5: 327-340.

Zhang, L., Liu, G., Zhao, G., Xia, C., Jia, J., Liu, X. and Kong, X. 2014. Characterization of a wheat R2R3-MYB transcription factor gene, TaMYB19, involved in enhanced abiotic stresses in *Arabidopsis*. – Plant Cell Physiol. 55: 1802-1812.

Zhu, J.K. 2002. Salt and drought stress signal transduction in plants. – Annu. Rev. Plant Biol. 53: 247-273.

*****

How to cite this article:

Naeemi, T., Fahmideh, L. and Fakheri, B. 2019. The effect of drought stress on MYB gene expression and osmotic regulator levels of five durum wheat genotypes (*Triticum turgidum* L.). – Nova Biol. Reperta 6: 217-228.

نعیمی، ط.، فهمیده، ل. و فاخری، ب. ۱۳۹۸. بررسی اثر تنش خشکی بر بیان نسبی ژن MYB و میزان تنظیم‌کننده‌های اسمزی پنج ژنوتیپ گندم دوروم. – یافته-های نوین در علوم زیستی ۶: ۲۲۸-۲۱۷.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-06]

[DOR: 20.1001.1.24236330.1398.6.2.4.1]

[DOI: 10.29252/nbr.6.2.217]