

القای ژن رمزکننده عامل رونویسی *OsVPI* توسط تنش خشکی و تیمار

آبسیزیک اسید در مرحله گلدهی برنج

زهره سادات شیر^{*}، محمد علی ملوبی^۲، مختار جلالی جواران^۳، قاسم کریم زاده^۴، جان بنت^۵

- ۱- استادیار پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران
- ۲- دانشیار پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و فناوری زیستی
- ۳ و ۴- دانشیاران دانشگاه تربیت مدرس
- ۵- استاد مؤسسه تحقیقات بین المللی برنج

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: shobbar@abrii.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۸۹/۵/۹ - تاریخ پذیرش: ۹۰/۹/۸)

چکیده

یکی از عوامل اصلی کاهش عملکرد برنج، تنش خشکی بیوژه در مرحله گلدهی است. ممانعت از رشد طولی دمگل از مهم‌ترین دلایل این اثر است که منجر به باقی ماندن خوش در درون غلاف برگ پرچم و عقیم ماندن سنبلاچه‌های خارج نشده می‌گردد. در این پژوهش، الگوی بیان ژن رمزکننده عامل رونویسی *OsVPI* طی توقف رشد القا شده توسط تنش خشکی و آبسیزیک اسید در دمگل برنج مطالعه شد. بیان این ژن به طور قابل توجهی طی تنش خشکی و تیمار آبسیزیک اسید افزایش یافت و با آبیاری مجدد گیاه یا حذف آبسیزیک اسید و از سرگیری رشد مجدد کاهش یافت. رونوشت‌های *OsVPI* بیشتر در نواحی در حال رشد مشاهده شدند به طوری که بیان این ژن به ترتیب از ناحیه تقسیم سلولی به سمت ناحیه تمایز دمگل رو به کاهش گذارد اما همواره توسط تنش خشکی القا شد. در بافت‌های جوان و تمایز نیافته مانند ناحیه تقسیم سلولی دمگل رونوشت‌های این ژن تقریباً در تمامی سلول‌ها مشاهده شده و بیشتر در هسته متتمرکز بودند. بنابراین بر اساس نتایج به دست آمده و از آنجا که این ژن رمزکننده یک عامل رونویسی است، این احتمال وجود دارد که به طور مستقیم یا غیر مستقیم تنظیم کننده بیان و در نتیجه فعالیت سایر ژن‌های دخیل در توقف رشد القا شده توسط تنش خشکی و آبسیزیک اسید باشد.

واژه‌های کلیدی

آبسیزیک اسید (ABA)،
برنج،
بیان ژن،
تنش خشکی،
OsVPI

مقدمه

تنش خشکی یکی از موانع اصلی دستیابی به عملکرد بالا در تولید برنج است (Dey and Upadhyaya 1996). گیاه برنج به کمبود آب بسیار حساس است و حساس‌ترین دوره، مرحله تولید مثلثی یعنی خروج خوش و گلدهی می‌باشد (Hsiao 1982). این بدان معنی است که حتی اگر با مقادیر کم خشکی مواجه گردد، عملکرد بهطور قابل توجهی کاهش می‌یابد. یکی از مهمترین دلایل اثرات خشکی، ممانعت از رشد طولی بالاترین میانگره یعنی دمگل است که منجر به باقی ماندن خوش درون غلاف برگ پرچم و از دست رفتن محصول می‌شود (O'Toole and Namuco 1983). به این ترتیب، اگر تنش خشکی طی دوره رشد دمگل به وقوع بپیوندد، بسته به شدت تنش، فرآیند خروج خوش کند شده یا متوقف می‌گردد. با آبیاری مجدد ممکن است دمگل رشد طولی خود را از سر بگیرد اما معمولاً به طول نهایی لازم نرسیده، بخش عمده‌ای از خوش درون غلاف برگ پرچم باقی می‌ماند.

گلخانه‌ای بدون نور اضافی یا کتترل دما کشت شدند (از دی تا فروردین، در گلخانه‌ای از موسسه تحقیقات بین المللی برنج واقع در فیلیپین). گلدان‌ها دوبار در روز آبیاری شدند تا حالت غرقابی خاک حفظ شود. برای مطالعه اثر خشکی، تنش خشکی سه روز پیش از ظهر خوشة با خالی کردن آب سطحی گلدان‌ها آغاز گردید و آبیاری برای مدت سه روز متوقف شد. وضعیت آب گیاهان با اندازه گیری محتوای آب نسبی برگ پرچم و دمگل بررسی گردید (Shobbar et al. 2008a). نمونه برداری از دمگل گیاهان در شرایط آبیاری کافی (محتوای آب نسبی برگ پرچم و دمگل به ترتیب در حدود ۹۰ درصد و ۷۵ درصد)، تنش خشکی (محتوای آب نسبی برگ پرچم و دمگل در آخرین روز تنش به ترتیب حدود ۴۰ درصد و ۵۰ درصد) و آبیاری مجدد (محتوای آب نسبی برگ پرچم و دمگل یک روز پس از آبیاری مجدد به ترتیب در حدود ۵۰ درصد و ۶۵ درصد) صورت گرفت. نمونه‌ها بالافاصله پس از برداشت در نیتروژن مایع منجمد شده و سپس تا زمان استخراج RNA در فریزر -80°C نگهداری شدند. برای بررسی اثر هورمون‌ها، تعداد پنجه کافی در مرحله خروج خوشه از رقم IR64 با آبیاری کافی برداشت شد و دمگل آنها از بالای بالاترین گره و زیر گره ماقبل آن قطع شد (شکل ۳-الف). نمونه دمگل بریده شده در زمان صفر به عنوان شاهد استفاده شد. پنج عدد از دمگل‌های جدا شده برای ۱۸ ساعت در ۳۰۰ میلی لیتر آب خالص بدون افزودنی (شاهد غوطه ور در آب) و یا حاوی ۱۰۰ میکرومولار از هورمون‌های مورد نظر (جیبریلیک اسید ((\pm)-Abscisic acid, Sigma A1049) و یا هر دو (ABA, ((\pm)-Abscisic acid, Sigma A1049) قرار داده شدند و طول آنها هر ۶ ساعت اندازگیری شد (Shobbar et al. 2008a). نمونه‌ها بالافاصله پس از برداشت در نیتروژن مایع منجمد شده و سپس تا زمان استخراج RNA در فریزر -80°C نگهداری شدند.

استخراج RNA - RT-PCR تام با استفاده از محلول ترازیول (Invitrogen, Carlsbad, CA) طبق دستورالعمل شرکت سازنده استخراج گردید. کمیت و کیفیت RNA براساس جذب نوری با دستگاه اسپکتروفوتومتر و بررسی باندهای مربوطه در ژل الکتروفورز تعیین و تأیید شد. RNA‌های استخراج شده با آنزیم

این سنبلاچه (Spikelet) های خارج نشده عقیم بوده و موجب افت عملکرد می‌گردد (Mackill et al. 1996). *ABI3/VPI* یکی از ژن‌های شناخته شده دخیل در پدیده‌های مشابه توقف رشد القا شده با آبسیزیک اسید در هنگام جوانه‌زنی است. *ABI3/VPI* یک عامل رونویسی با ناحیه (Domain) B3 است که بسته به توالی راه انداز می‌تواند به هر دو صورت فعال کننده و مهار کننده عمل کند (McCarty et al. 1991; Hattori et al. 1992; Hoecker et al. 1995; Nambara et al. 1995) ژن *Vp1* (Viviparous-1) در ذرت پاسخ‌های نموی متعددی را در مرحله بلوغ بذر تنظیم می‌کند و *Vp1* (Null) موجب بی خوابی بذر (Non-dormancy) یا زندگایی (Vivipary) در ذرت می‌شود (McCarty et al. 1989). جهش‌یافته‌های *abi3* آرابیدوپسیس در جنبه‌های متعددی از نمو و جوانه‌زنی بذر دچار تغییر می‌باشند که ناشی از کاهش حساسیت به ABA است (Giraudat et al. 1992). در یک مطالعه ریزآرایه در گیاهان آرابیدوپسیس تاریخته با *35S::VPI* در زمینه جهش‌یافته *abi3* ۳۵۳ ژن تنظیم شونده با *VP1/ABA* شناسایی شد. هفتاد و سه درصد از ژن‌ها تحت تأثیر هر دو عامل *VP1* و *ABA* واقع می‌شدند که دال بر ارتباط نزدیک میان پیام *VP1* و *ABA* و نقش *VPI* است. ارتولوگ ژن *VPI* ذرت در برنج به نام ژن *OsVPI* شناسایی و جداسازی شده که روی بازوی بلند کروموزوم ۱ برنج قرار دارد. *OsVPI* هر دو دارای چهار ناحیه حفاظت شده A1, B1, B2 و B3 می‌باشند (Hattori et al. 1994; Shobbar et al. 2008b).

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و اعمال تنش‌ها

بذور سه ژنتیپ برنج (*Oryza sativa eui-10* و *Moroberekan*) از موسسه تحقیقات بین المللی برنج L. cv. IR64, (International Rice Research Institute, IRRI) فراهم گردید. برای جوانه‌زنی، بذور به مدت سه روز در دمای 30°C روی کاغذ صافی مرتبط درون پتري ديش نگهداری شدند. بذور جوانه زده به خاک منتقل شده و به مدت ۲۱ روز در سینی‌های ۴ لیتری پرورش یافتند. سپس هر سه گیاه به یک گلدان حاوی ۷ کیلوگرم خاک منتقل شدند. گیاهان تا زمان رسیدگی در شرایط

نتایج و بحث

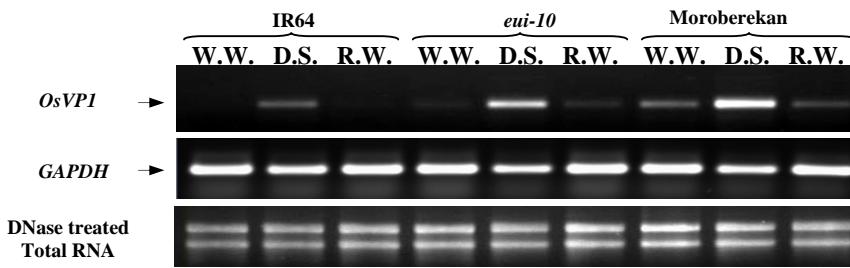
تنش خشکی و تیمار ABA، القاکنندگان ژن *OsVPI* در دمگل تأثیر تنش خشکی بر بیان *OsVPI* در دمگل سه ژنوتیپ برنج (موروبرکن به عنوان نماینده‌ای از ارقام جاپونیکا، IR64 به عنوان نماینده‌ای از ارقام ایندیکا و *eui-10* جهش یافته IR64 با دمگل طویل) مورد بررسی قرار گرفت. در هر سه ژنوتیپ مورد مطالعه، میزان بیان ژن *OsVPI* در شرایط آبیاری کافی بسیار ناچیز به نظر می‌رسید به طوری که در اغلب موارد توسط RT-PCR باند قابل تشخیصی حاصل نشد. افزایش بیان این ژن تحت تنش خشکی مشهود بود و با آبیاری مجدد به سرعت کاهش یافت (شکل ۱). برای مطالعه اثر مستقیم و مقابله هورمون‌های گیاهی بر رشد طولی دمگل و بیان ژن، دمگل‌ها از پنجه‌های (تحت آبیاری کافی) در حال خروج خوش (IR64) جدا شده و برای ۱۸ ساعت در آب به عنوان شاهد، محلول حاوی جیرلیک اسید، آبسیزیک اسید و هر دو قرار داده شدند. افزایش بیان ژن *OsVPI* در دمگل‌های جدا شده شناور در ABA قابل توجه بود و آنتاگونیسم بین هورمون‌های GA و ABA به وضوح در بیان این ژن دیده شد، به طوری که وجود GA به همراه ABA اثر القاکنندگی آن را به نحوی خنثی کرد که دیگر بیان این ژن قابل تشخیص نبود (شکل ۲).

الگوی بیان ژن *OsVPI* در نواحی مختلف دمگل دمگل، یعنی بالاترین میانگرۀ برنج را می‌توان متشکل از سه ناحیه تقسیم سلولی، رشد طولی و تمایز دانست (شکل ۳-الف). گرچه مرز مشخصی بین این نواحی وجود ندارد اما تشخیص حدودی آنها از روی اندازه و خصوصیات سلول‌ها امکان پذیر است. بیان ژن *OsVPI* توسط تنش خشکی القا گردید اما به ترتیب از ناحیه تقسیم سلولی به سمت ناحیه تمایز رو به کاهش گذارد (شکل ۳-ب).

شکل ۴ الگوی بیان ژن *OsVPI* را در مقطع عرضی ناحیه تقسیم سلولی دمگل‌های گیاهان برنج (IR64) تحت تنش خشکی نشان می‌دهد. رونوشت‌های *OsVPI* در دسته‌های آوندی اولیه Secondary vascular bundles (Primary vascular bundles) و ثانویه (bundles)، به ویژه در سلول‌های همراه آوند آبکشی (Phloem) و

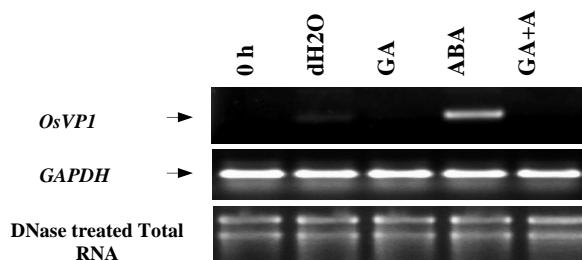
RNase-free DNase I (Promega Corporation, Madison, WI) تیمار شدند، عدم وجود DNA توسط PCR تأیید شد و همسان-28S & 18S rRNA سازی غلظت RNA‌های مختلف بر اساس صورت گرفت. جفت آغازگر اختصاصی مناسب برای ژن خانه‌دار *OsVPI* و ژن GAPDH (GAPDH) طراحی شد. شرایط بهینه RT-PCR تعداد چرخه مناسب برای مشاهده تفاوت بیان بین تیمارهای مختلف تعیین شد. الگوی بیان توسط RT-PCR (با استفاده از (Invitrogen, Carlsbad, CA) کیت یک مرحله‌ای اینویتروژن (In vitro hybridization) مطالعه گردید. سه تکرار زیستی مورد بررسی قرار گرفت و دو تکرار آزمایشی برای هر تکرار زیستی انجام شد.

دورگه‌سازی در محل (RNA in situ hybridization)- جفت آغازگر مناسب برای تکثیر کاوشگر اختصاصی طراحی شد. pGEM-T Easy vector (Promega) RT-PCR در ناقل Sense (Sense) همسانه‌سازی گردید. کاوشگرهای سنس و آنتی سنس (anti-sense riboprobes digoxigenin-11-UTP (and anti-sense riboprobes DIG RNA labelling mix (Roche Molecular استفاده از Systems, Pleasanton, CA) همسانه‌سازی شده در ناقل به وسیله توالی‌یابی مشخص شد (Macrogen, Seoul, Korea). بافتها تشییت، آب‌گیری، قالب‌گیری و برش‌گیری (۱۰–۲۰ μm) شدند. نواهای بافتی روی لام میکروسکوپی مناسب (Superfrost/Plus or ProbeOn Plus microscope slides) قرار داده شد. اسلایدها به منظور افزایش دورگه‌سازی اتصال بافتها به لام به مدت دو شباهه روز در ۴۵°C (Pre-hybridization) داده شدند. مراحل پیش دورگه‌سازی (Hybridization)، شستشو و تشخیص ایمونولوژیکی (Immunological detection) انجام گرفت (Shobbar et al., 2008b). اسلایدها با استفاده از میکروسکوپ نوری (bright field microscope, Zeiss, Axioplan 2) و نرم افزار مناسب (Image-Pro Plus 5.1 software) مشاهده و عکسبرداری شدند. دورگه‌سازی با بافر هیبریداسیون بدون کاوشگر و حاوی کاوشگرهای سنس به عنوان شاهد منفی در نظر گرفته شدند.



شکل ۱- تأثیر تنش خشکی بر بیان *OsVPI* در دمگل سه رقم برنج (IR64، eui-10 و Moroberekan). تصویر ژل الکتروفورز محصول RT-PCR این ژن حاکی از القای آن توسط تنش خشکی است. علامت پیکان نشان دهنده باند مورد انتظار (۵۹۰ جفت باز) است. تصویر RNA تام تیمار شده با آنزیم DNase و هم غلظت شده، نشان دهنده سلامت آن و شاهد یکسان بودن میزان RNA مورد استفاده در RT-PCR برای تیمارهای مختلف می‌باشد. *GAPDH* شاهد قابلیت تکثیر کارآمد RNA طی و عدم وجود DNA ژنومی است.

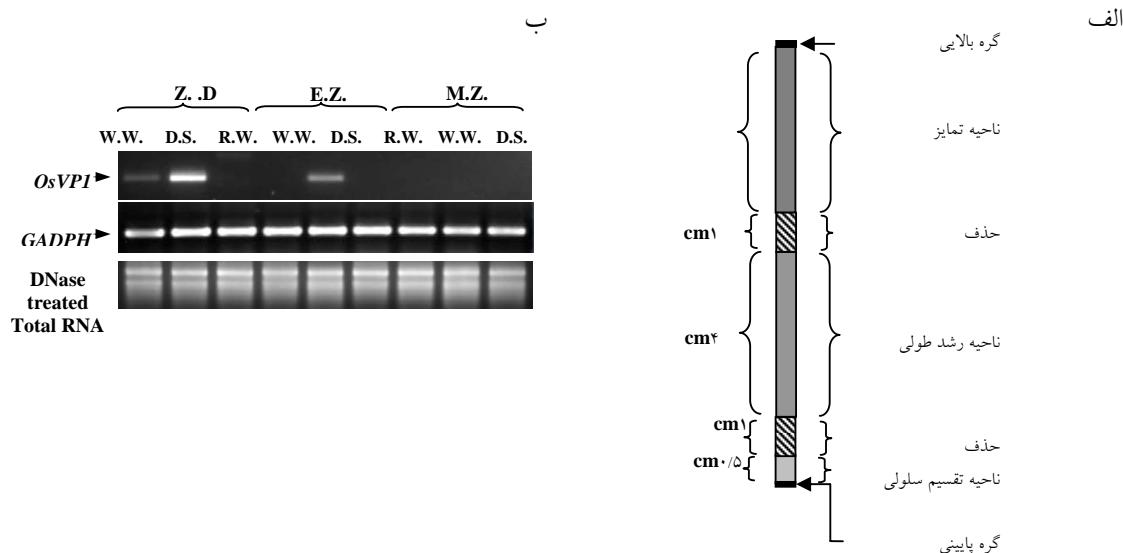
(آبیاری کافی) W.W.: Well Watered (آبیاری مجدد) D.S.: Drought Stressed (تنش خشکی) R.W.: Re-Watered



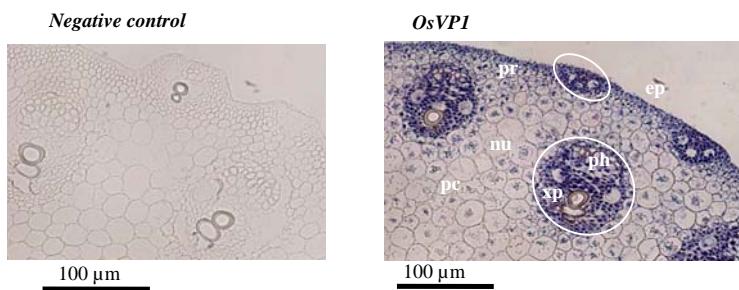
شکل ۲- تأثیر هورمون‌های گیاهی بر بیان *OsVPI* در دمگل برنج (IR64). دمگل‌ها از گیاهان تحت آبیاری کافی جدا شده (0 h) و برای ۱۸ ساعت در آب (dH₂O) محلول حاوی ۱۰۰ میکرومولاًر جیرلیک اسید (GA₃)، آبسیزیک اسید (ABA) و یا هر دو (GA+ABA) شناور شدند. تصویر ژل الکتروفورز محصول RT-PCR این ژن حاکی از القای آن توسط تیمار ABA است. علامت پیکان نشان دهنده باند مورد انتظار (۵۹۰ جفت باز) است. تصویر RNA تام تیمار شده با آنزیم DNase و هنجار شده، نشان دهنده سلامت آن و شاهد یکسان بودن میزان RNA مورد استفاده در RT-PCR برای تیمارهای مختلف می‌باشد. *GAPDH* شاهد قابلیت تکثیر کارآمد RNA طی و عدم وجود DNA ژنومی است.

خارج نشده عقیم بوده موجب افت عملکرد می‌گردد. رشد طولی دمگل *eui-10*، جهش یافته IR64 با دمگل طویل نیز با تنش خشکی متوقف می‌شود، اما از آنجا که نرخ رشد طولی دمگل آن بیش از IR64 است با آبیاری مجدد، تمامی خوشه از غلاف برگ پرچمی خارج می‌گردد (Shobbar et al. 2008a). اثر محرك جیرلیک اسید و بازدارنده آبسیزیک اسید بر رشد طولی دمگل‌های جدا شده در موروبرکن به عنوان نماینده‌ای از ارقام جاپونیکا، IR64 به عنوان نماینده‌ای از ارقام ایندیکا و eui-10 در سطح احتمال ۱٪ معنی دار بوده است (Shobbar et al. 2008a) که نشان دهنده نقش احتمالی تنظیم هورمونی رشد طولی دمگل در پاسخ به تنش خشکی می‌باشد. اثر محرك جیرلیک اسید (GA3) بر رشد طولی دمگل با افزایش غلظت آن افزایش می‌یابد (Shobbar et al. 2008a).

پارانشیم آوند چوبی (Xylem parenchyma)، سلول‌های اپیدرمی (Precursors; pr) و سلول‌های پیش ساز (Epidermal cells) اسکلرانشیم و کلرانشیم ناحیه تقسیم سلولی مشاهده شد. در بیشتر موارد به نظر می‌رسید که رونوشت‌های زیادی در هسته مرکز یافته‌اند. رشد طولی بالاترین میانگر، یعنی دمگل، چند روز پیش از خروج خوشه آغاز می‌شود، زمانی که خوشه به طول نهایی خود رسیده است. اثر بازدارنده‌گی تنش خشکی بر رشد طولی دمگل از زمان لوله شدن برگها مشاهده شده و تا زمان برطرف شدن تنش ادامه می‌یابد. با آبیاری مجدد، دمگل رشد طولی خود را از سر می‌گیرد. اما دوره رشد دمگل محدود بوده، مجالی برای جبران فرصت از دست رفته نیست و دمگل نمی‌تواند طول نهایی لازم را حاصل نماید. بنابراین بخش عمداتی از خوشه درون غلاف برگ پرچم باقی می‌ماند. این سنبلاچه (Spikelet)‌های



شکل ۳- (الف) تصویر نمادین سه ناحیه تقسیم سلولی، رشد طولی و تمایز دمگل برنج برای استخراج RNA و بررسی بیان ژن. (ب) تأثیر تنفس خشکی بر بیان *OsVPI* در نواحی مختلف دمگل، علامت پیکان نشان دهنده باند مورد انتظار (۵۹۵ مجفت باز) است. تصویر RNA تام تیمار شده با آنزیم DNase و هنجار شده، نشان دهنده سلامت آن و شاهد یکسان بودن میزان RNA مورد استفاده در RT-PCR برای تیمارهای مختلف می‌باشد. *GAPDH* شاهد قابلیت تکثیر کارآمد RNA طی RT-PCR و عدم وجود DNA ژنومی است. W.W.: Well Watered D.S.: Drought Stressed (تنفس خشکی) (آبیاری کافی)، R.W.: Re-Watered (آبیاری مجدد)، Z.D.: (ناحیه تقسیم سلولی)، E.Z.: Elongation Zone (ناحیه رشد طولی)، M.Z.: Maturation Zone (ناحیه تمایز)



شکل ۴- الگوی بیان ژن *OsVPI* و شاهد منفی (بدون کاوشگر) در ناحیه تقسیم سلولی دمگل گیاهان برنج (IR64) تحت تنفس خشکی به روش دورگه سازی در محل. (دسته جات آوندی اولیه) (pv; primary vascular bundles) (دسته جات آوندی ثانویه) (sv; secondary vascular bundles) (آوند آبکشی) (ph; phloem) (پارانشیم آوند چوبی) (xp; xylem parenchyma) (سلول‌های اپیدرمی) (ep; epidermal cells) (سلول‌های پیش ساز اسکلرانشیم و کلرانشیم) (pc; precursors) (هسته nu; nucleus) ارجنجا که شاهد منفی حاوی کاوشگر سنس نیز عیناً مثل شاهد منفی بدون کاوشگر قادر رنگ بود از نمایش آن صرف‌نظر شد.

(Lopez-Molina et al. 2001, 2002) در آراییدوپسیس (arrest checkpoint) و برنج (Shobbar et al. 2008b) گزارش شده که طی آن گیاهان وضعیت اسمزی محیط را بررسی می‌کنند. این کار با میانجی گری ABA صورت می‌گیرد که می‌تواند به صورت یک بازدارنده کارآمد برای رشد دانه‌رست‌های تازه جوانه زده عمل

همچنین، آنتاگونیسم ABA و GA به روشنی در رشد طولی دمگل‌های جدا شده قابل مشاهده بوده است چراکه افزودن آبسیزیک اسید، موجب خنثی نمودن اثر جیبرلیک اسید و توقف رشد دمگل‌ها می‌شود (Shobbar et al. 2008a). یک نقطه کنترل Postgermination developmental توافق نمود پس از جوانه‌زنی (

گیاه یا حذف آبسیزیک اسید و از سر گیری رشد، مجدداً کاهش یافت (شکل های ۱ و ۲). رونوشت های *OsVPI* بیشتر در نواحی در حال رشد مشاهده شدند به طوری که بیان این ژن به ترتیب از ناحیه تقسیم سلولی به سمت ناحیه تمایز دمگل رو به کاهش گذارد اما همواره توسط تنش خشکی القا گردید (شکل ۳). در بافت های جوان و تمایز نیافته مانند ناحیه تقسیم سلولی دمگل رونوشت های این ژن تقریباً در تمامی سلول ها مشاهده شده و بیشتر در هسته متمنکر بودند (شکل ۴). بنابراین براساس نتایج به دست آمده و از آنجایی که این ژن رمزکننده یک عامل رونویسی است، این احتمال وجود دارد که *OsVPI* به طور مستقیم یا غیر مستقیم تنظیم کننده سایر ژن های دخیل در توقف رشد القا شده توسط تنش خشکی و آبسیزیک اسید باشد و از طریق تنظیم آن بتوان این فرایند مهم را کنترل نمود.

کند. به محض اینکه ABA کاهش یابد، رشد نیز از سر گرفته می شود. به این ترتیب به نظر می رسد، یک سازوکار مشترک توقف رشد و نمو در پاسخ به تنش وجود دارد که با واسطه ABA و از طریق آنتاگونیسم آن با GA عمل می کند و توقف رشد القا شده با تنش یک پاسخ حفظ شده در گیاهان به تنش های غیر زیستی مثل خشکی باشد. بنابراین قابل تصور است که تغییرات ژنتیکی مناسب برای بهینه سازی این پاسخ بازده محصولات کشاورزی را افزایش دهد و در این راه درک بهتر سازوکار این پدیده و شناخت ژن های دخیل از اهمیت ویژه ای برخوردار است. در این پژوهش، الگوی بیان ژن رمزکننده عامل رونویسی *OsVPI* طی توقف رشد القا شده توسط تنش خشکی و آبسیزیک اسید در دمگل مطالعه گردید. بیان این ژن به طور قابل توجهی طی تنش خشکی و تیمار آبسیزیک اسید افزایش یافت و با آبیاری مجدد

منابع

- Dey MM Upadhyaya HK (1996) Yield loss due to drought, cold and submergence in Asia. In RE Evenson, RW Herdt, M Hossain, eds, Rice Research in Asia: Progress and Priorities. CAB International, Wallingford, UK, 291–303.
- Giraudat J, Hauge B M, Valon C, Smalle J, Parcy F and Goodman H M (1992) Isolation of the *Arabidopsis ABI3* gene by positional cloning. *Plant Cell*, 4: 1251-1261.
- Hattori T, Terada T and Hamasuna S (1994) Sequence and functional analyses of the rice gene homologous to the maize *Vp1*. *Plant Molecular Biology*, 24: 805-810.
- Hattori T, Vasil V, Rosenkrans L, Hannah LC, McCarty DR and Vasil IK (1992) The viviparous-1 gene and abscisic acid activate the C1 regulatory gene for anthocyanin biosynthesis during seed maturation in maize. *Genes Development*, 6: 609-618.
- Hoecker U, Vasil I K and McCarty D R (1995) Integrated control of seed maturation and germination programs by activator and repressor functions of Viviparousl of maize. *Genes Development*, 9: 2459-2469.
- Hsiao TC (1982) The soil plant atmosphere continuum in relation to drought and crop production. In: International Rice Research Institute (Los Baños, Filipinas). Drought resistance in crops with emphasis on rice. Los Baños., p.39-52.
- Mackill DJ, Coffman WR and Garrity DP (1996) Varietal improvement for rainfed lowland rice in south

- and southeast Asia: Results of a survey. In: Rainfed Lowland Rice Improvement. International Rice Research Institute, Manila, Philippines, pp. 242.
- McCarty DR, Carson CB, Lazar M and Simonds SC (1989) Transposable element induced mutations of the viviparous- 7 gene of maize. *Developmental Genetics*, 10: 473-481.
- McCarty DR, Hattori T, Carson CB, Vasil V, Lazar M and Vasil I K (1991) The Viviparous-1 developmental gene of maize encodes a novel transcriptional activator. *Cell*, 66: 895–905.
- Nambara E, Keith K, McCourt P and Naito S (1995) A regulatory role for the *ABI3* gene in the establishment of embryo maturation in *Arabidopsis thaliana*. *Development*, 121: 629–636.
- O'Toole JC and Namuco OS (1983) Role of panicle exsertion in water stress induced sterility. *Crop Science*, 23: 1093–1097.
- Shobbar ZS, Malboobi MA, Karimzadeh G, Jalali Javaran M, Mohammadi Negad G and Bennett J (2008a) Drought stress and plant hormonal impact on rice peduncle elongation. *Iranian Journal of Biology* 21(3): 411-420. In Farsi.
- Shobbar Z S, Oane R, Gamuyao R, de Palma J, Malboobi M A, Karimzadeh G, Jalali Javaran M and Bennett J (2008b) Abscisic acid regulates gene expression in cortical fiber cells and silica cells of rice shoots. *New phytologist* 178 (1): 68-79.