ژنتیک نوین
دوره دوازدهم، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۶
صفحه ٤٦١ - ٤٥١

ارزیابی بیان ژن‌های مسیر تولید پرولین در گندم موتانت T65-58-8 تحت تنش خشکی

Evaluating expression of genes involved in proline synthesis pathway in mutant wheat T65-58-8 under drought stress

سحرسادات حسینی[۱]، سیده ساناز رمضانپور*[۱]، حسن سلطانلو[۱]، شهربانو وکیلی بسطام[۲]

۱- به‌ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، دانشیاران، گروه اصلاح نباتات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
۲- دانش آموخته دکتری، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

Hosseini SS[1], Ramezanpour SS[*1], Soltanloo H[1], Vakili Bastam S[2]

1- Graduate MSc Student, Associate Professors, Department of Plant Breeding, Gorgan University of Agriculture and Natural Resources
2- Graduate PhD Student, Gorgan University of Agriculture and Natural Resources

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: ramezanpours@gau.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۹۵/۱۲/۲۱ - تاریخ پذیرش: ۹٦/۲/۳۱)

چکیده

تنش خشکی از عوامل مهم محدود کننده عملکرد در مناطق خشک و نیمه خشک می‌باشد. تحمل به خشکی صفتی چندژنی است و در مراحل مختلف رشد و نمو ظاهر می‌شود. از آنجایی‌که ایجاد جهش روشی سریع و بی‌خطر می‌باشد، استفاده از آن به‌منظور تنوع بخشیدن به محتویات ژنتیکی با هدف ارتقای صفات کمی و کیفی در گیاهان زراعی مورد توجه خاص قرار گرفته است. در این بررسی، الگوی بیان ژن‌های دخیل در مسیر سنتز پرولین، برخی ژن‌های دخیل در مسیر مستقل از آبسزیک اسید در رقم طبسی (حساس به خشکی) و لاین موتانت آن ۸-۵۸-T٦٥ (محتمل به خشکی) تیمار شده با اشعه گاما به‌میزان ۲۵۰ گری، در شرایط خشکی در مرحله گیاه بالغ مورد بررسی قرار گرفت. به‌منظور مطالعه بیان ژن‌های دخیل در تولید پرولین (*P5CS*، *P5CR* و *P5CDH*) و نیز اندازه‌گیری میزان پرولین در شرایط تنش خشکی و آبیاری مجدد، بذرهای دو ژنوتیپ در گلدان‌های ۲٤ سانتی‌متری کشت شدند. در هنگام خروج اولین بساک آبیاری قطع شد و در فواصل زمانی، سه، چهار، پنج و شش روز پس از خروج برگ پرچم نمونه‌گیری انجام شد. نمونه‌گیری ۱۲ ساعت پس از شروع آبیاری مجدد نیز در فواصل زمانی ۱۲ساعت، سه، چهار و پنج روز صورت گرفت. هم‌زمان، از تیمار شاهد نیز نمونه‌گیری به‌عمل آمد. آزمایش به‌صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملا تصادفی با دو تکرار بیولوژیکی انجام گرفت. نتایج نشان داد که با افزایش تنش خشکی، بیان ژن P5CS در رقم طبسی بیش از لاین موتانت افزایش یافت، در حالی‌که بیان ژن *P5CR* در لاین موتانت بیش‌تر بود. بیان ژن *P5CDH* در لاین موتانت و رقم طبسی به‌ترتیب کاهش و افزایش یافت. پس از آبیاری مجدد بیان ژن‌های P5CS و P5CR در هر دو ژنوتیپ نسبت به شاهد کاهش نشان داد ولی بیان ژن P5CDH در لاین موتانت کاهش و در رقم طبسی افزایش یافت. هم‌چنین نتایج حاکی از افزایش بیش‌تر پرولین در لاین موتانت نسبت به رقم طبسی تحت تنش خشکی و کاهش آن در هر دو ژنوتیپ در اثر آبیاری مجدد می‌باشد. در کل، لاین موتانت ۸-۵۸-T٦٥ نسبت به رقم طبسی تحت تنش خشکی پاسخ‌های سازشی مناسبی را برای بیان ژن‌های دخیل در تولید پرولین در پیش گرفته تا از صدمات ناشی از آن محفوظ بماند و احتمال می‌رود مسیر اسمولیت تا حدی توسط اشعه گاما دستخوش تغییر شده باشد.

واژه‌های کلیدی

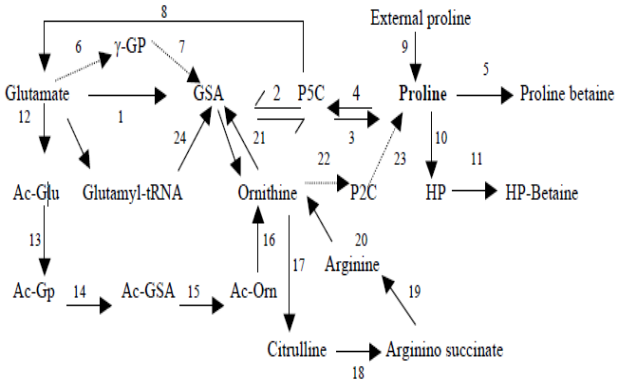
بیان ژن
پرولین
تنش خشکی
طبسی
لاین موتانت T65-58-8

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-28]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.3.13.7]

مقدمه

در میان عوامل محدودکننده عملکرد در حالت طبیعی، کمبود آب مهم‌ترین عاملی است که به‌ویژه در مناطق خشک و نیمه خشک جهان از جمله ایران، باعث محدودیت کاشت و کاهش تولید عملکرد گیاهان زراعی از جمله گندم می‌شود. اصلاح ارقام متحمل به خشکی مهم‌ترین راه حل برای مبارزه با مشکل خشکی است (Rebetzke et al. 2006). تاکنون تعداد زیادی از ژن‌های القا شده بر اثر تنش خشکی در گونه‌های مختلف گیاهی شناخته شده‌اند و بررسی‌های زیادی توسط پژوهشگران در زمینه اساس مولکولی تحمل گیاهان به تنش خشکی انجام شده‌است. یکی از معمول‌ترین پاسخ‌ها به تنش در گیاهان، تولید بیش از حد انواع مختلف محلول‌های آلی سازگار است. در اکثر گونه‌های گیاهی، پرولین به‌طور طبیعی به‌عنوان اسمولیت آلی هنگام قرار گرفتن گیاه در معرض تنش‌های غیرزنده مختلف تجمع می‌یابد (Rhodes and Hanson 1993). پرولین یک ترکیب منحصر به‌فرد در ساختمان پروتئین‌ها است، در واقع تجمع افزایشی پرولین در سلول به‌دلیل القای فعالیت آنزیم‌های دلتا-۱- پرولین۵-کربوکسیلات سنتتاز[1] و پرولین ۵- کربوکسیلات ردوکتاز[2] در چرخه تولید این ماده و نیز ممانعت از فعالیت آنزیم‌های اکسید کننده پرولین مانند پرولین دهیدروژناز[3] و پرولین ۵-کربوکسیلات دهیدروژناز[4] در سلول است. ساخت پرولین احتمالا در کلروپلاست شروع می‌شود. استخراج ماده پرولین اسید ۵ کربوکسیلاز[5] از کلروپلاست بر این موضوع دلالت دارد. ساخت زیستی پرولین با گلوتامیک اسید شروع می‌شود و سپس عمل احیا صورت می‌گیرد. الکترون لازم برای این کار از NADPH و NADH تامین شده و به‌صورت دی پرولین اسید ۵ کربوکسیلاز[6] در می‌آید و سپس در مرحله نهایی این ماده به پرولین تبدیل می‌شود که این تبدیل توسط *P5C* نشان‌دار و آنزیم *DP5C* ریداکتاز نشان داده شده‌است. در واقع، سنتز پرولین از دو مسیر گلوتامات (تنش خشکی) و اورنیتین (تنش شوری) انجام می‌شود که افزایش پرولین به‌دلیل القای فعالیت آنزیم‌های *P5CS* و *P5CR* و ممانعت از فعالیت آنزیم‌های اکسید کننده پرولین مانند *PRODH* و *P5CDH* می‌باشد (شکل ۱) (Tavakoli et al. 2016). آبسزیک اسید[7] باعث تحریک تجمع پرولین در برگ‌ها می‌شود، اما باعث تحریک تجمع سایر آمینواسیدها نمی‌شود. نقش مثبت پرولین در تعدیل فشار اسمزی نسبت به شوری و خشکی توسط محققین در گیاهان مختلف مانند ذرت (Rayapati et al. 1991)، یونجه (Ginzberg et al. 1998) و آرابیدوپسیس (Kiyosue et al. 1996) گزارش شده‌است و به‌طور معمول در مقیاس بزرگی در پاسخ به تنش‌های محیطی تجمع می‌یابد. به‌علاوه نقش آن به‌عنوان کاوشگر[8] رادیکال‌های آزاد و پتانسیل اکسایش- کاهش سلولی تحت شرایط تنش شناخته شده‌است. شرایط تنش باعث شکل‌گیری رادیکال سوپراکسید O_2 و پراکسید هیدروژن H_2O_2 و رادیکال (OH) هیدروکسیل می‌شوند (Türkan et al. 2005). فعالیت این گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) باعث بروز صدماتی مانند تغییر ساختار غشا و پروتئین‌ها، غیرفعال‌شدن آنزیم‌ها، بی‌رنگ شدن یا از بین رفتن رنگدانه‌هایی مانند کلروفیل، حمله به مولکول‌های آبی مانند DNA و اختلال در رشته‌های پروتئینی از جمله پرولین می‌شود (Mittler 2002).



شکل ۱- شبکه‌ای از مسیر بیوسنتز و تخریب پرولین در گیاهان و موجودات پست

[1] Delta-1- pyrroline 5-carboxylase synthetase (*P5CS*)
[2] Delta-1- pyrroline 5-carboxylase reductase (*P5CR*)
[3] Pyrroline Dehydrogeenase (*Pro DH*)
[4] Delta-1- pyrroline 5-carboxylase Dehydrogeenase (*P5CDH*)
[5] Pyrroline-5-Carboxylic Acid (*P5C*)
[6] DP5C
[7] Abscisic acid (ABA)
[8] Probe

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-28]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.3.13.7]

هدف از اجرای این پژوهش ارزیابی الگوی بیان ژن‌های دخیل در مسیر سنتز پرولین شامل *P5CS*، *P5CR* و *P5CDH* در لاین موتانت T٦٥-٥٨-٨ (نیمه‌متحمل به خشکی) نسبت به والد وحشی طبسی (حساس به خشکی) در شرایط تنش خشکی و در مرحله گیاه بالغ، میزان تجمع اسمولیت پرولین و مطالعه توان برگشت‌پذیری ژنوتیپ‌های مورد مطالعه پس از آبیاری مجدد می‌باشد.

مواد و روش‌ها

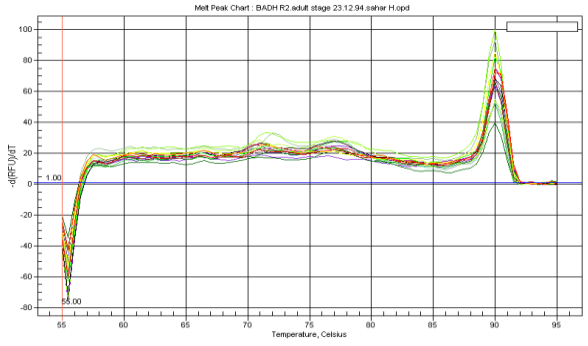
آزمایش به‌صورت فاکتوریل با طرح پایه کاملا تصادفی با دو تکرار بیولوژیکی در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شد. بذور دو ژنوتیپ طبسی (حساس به خشکی) و لاین موتانت (نیمه متحمل به خشکی) T٦٥-٥٨-٨ در گلدان‌های ٢٤ سانتی‌متری کشت شدند.

در هنگام خروج اولین بساک، آبیاری قطع شد. این قطعی تا زمان بروز علائم اولیهٔ پژمردگی ادامه داشت (Siddique et al. 2000). پس از این مرحله مجدداً آبیاری صورت گرفت. پس از قطع آبیاری تا شروع آبیاری مجدد، در فواصل زمانی، سه، چهار، پنج و شش روز از برگ پرچم نمونه‌گیری انجام شد. نمونه‌گیری ١٢ ساعت پس از شروع آبیاری مجدد در فواصل زمانی ١٢ساعت، سه، چهار و پنج روز نیز صورت گرفت. هم‌زمان از تیمار شاهد نیز نمونه‌گیری انجام شد. نمونه‌ها در ازت مایع منجمد شده و تا زمان استخراج RNA در دمای ٨٠- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

RNA کل از نمونه برگ گیاه بالغ با استفاده از بافر p-BIOZOL (Bioflux، ژاپن) طبق دستورالعمل سازنده استخراج شد. جهت حذف DNA باقی‌مانده در نمونه‌های RNA، از آنزیم *DNase I* (Fermantas) استفاده شد. واکنش نسخه‌برداری معکوس توسط آنزیم Mmulv (Fermentas) طبق دستورالعمل سازنده انجام شد. کیفیت و کمیت RNA استخراج شده با استفاده از الکتروفورز ژل آگارز و طیف‌سنجی مورد بررسی قرار گرفت. RT- PCR کمی، جهت تکثیر رونوشت‌های ژن‌های دخیل در مسیر بیوسنتز پرولین با بکارگیری آغازگرهای اختصاصی (جدول ١) با استفاده از روش کمیت سنجی توسط دستگاه آی سایکلر شرکت بایورد انجام شد. محلول واکنش با حجم ٢٠ میکرولیتر در تیوب‌های مخصوص تهیه شد. این محلول شامل سه میکرولیتر cDNA (با رقت ١:٢٠)، نیم میکرولیتر از هر آغازگر (١٠ میکرومولار)، ٩/٩ میکرولیتر 2X Real-Time PCR Master Mix سایبر گرین، نیم میکرولیتر DMSO، ٥ واحد در میکرولیتر آنزیم *Taq* DNA Polymerase و حجم محلول واکنش با استفاده از آب‌مقطر دوبار تقطیر عاری از RNase به ٢٠ میکرولیتر تنظیم و برای انجام واکنش مورد استفاده قرار گرفت. چرخه‌های حرارتی واکنش شامل ٩٥°C به مدت ٣ دقیقه و ٣٥ چرخه شامل ٩٥°C به مدت ١٠ ثانیه، دمای اتصال آغازگرها (جدول ١) به مدت ٢٠ ثانیه و ٧٢°C به مدت ٢٠ ثانیه تنظیم شد. TEF[1] به‌عنوان ژن مرجع و نمونه‌هایی که در معرض تنش نبودند به‌عنوان نمونه‌های شاهد جهت محاسبه سطح بیان نسبی ژن‌های دخیل در بیوسنتز پرولین استفاده شد.

غلظت آغازگر و دمای مرحله اتصال آغازگر از فاکتورهای اساسی در بهینه کردن واکنش PCR کمی محسوب می‌شود. شرایط بهینه طوری فراهم شد که بازدهی واکنش در بهترین حالت ممکن باشد و هیچ محصول غیراختصاصی در طول واکنش تولید نشود که این امر با استفاده از منحنی ذوب (مشاهده یک پیک ذوب منفرد برای هر تیمار) تایید شد (شکل٢). سطح نسبی بیان ژن‌های مورد نظر در مقایسه با ژن‌های کنترل مرجع، با استفاده از نرم‌افزار REST (Pfaffl 2002) بر اساس رابطه زیر تجزیه و تحلیل شدند و نمودارهای مربوط در محیط Excel رسم شد.

$$R = \frac{(E_{target})^{\Delta C\,Ptarget\,(Mean\,control-Mean\,sample)}}{(E_{ref})^{\Delta C\,Pref\,(Mean\,control-Mean\,sample)}}$$



شکل٢- تجزیه منحنی درجه حرارت ذوب فرآورده‌های تکثیر شده PCR مربوط به ژن TEF

[1] Translation Elongation Factor

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-28]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.3.13.7]

اندازه‌گیری میزان پرولین با استفاده از روش Bates et al. (1973) انجام شد. غلظت پرولین هر نمونه بر حسب میکرومول پرولین بر گرم وزن تازه گیاه با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه شد، سپس برای رسم منحنی استاندارد محلول‌هایی با غلظت صفر، چهار، هشت، ۱۲، ۱٦، ۲۰، ۲٤ و ۲۸ میلی‌گرم بر لیتر پرولین خالص تهیه شده و کلیه مراحل فوق بر روی هر کدام از نمونه‌ها انجام گرفت.

داده‌های مربوط به پرولین توسط نرم‌افزارهای آماری SAS و SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. جهت مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد اثر ژنوتیپ، تنش خشکی و اثر متقابل این دو بر بیان ژن‌های دخیل در تولید پرولین در مرحله خشکی معنی‌دار است (جدول ۲). با افزایش شدت تنش خشکی، بیان ژن *P5CS* در رقم طبسی و لاین موتانت ۸-۵۸-T٦٥ افزایش معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد نشان داد. بیشترین میزان بیان ژن مربوط به تیمارهای شش روز پس از تنش خشکی در رقم طبسی (۱۵۱۸/٤) و لاین موتانت ۸-۵۸-T٦٥ (۸۵/۳۳۱) بوده است. این افزایش بیان در رقم طبسی بیش از لاین موتانت ۸-۵۸-T٦٥ بود. در رتبه دوم، افزایش بیان ژن مربوط به تیمار پنج روز پس از تنش خشکی قرار داشت (جدول ۳؛ شکل۳). افزایش بیان بیش از حد (فرابیان)[1] رونوشت ژن *P5CS* برای بالا رفتن سطح پرولین در گیاه سیب‌زمینی تراریخته با افزایش روزهای تنش اسمزی گزارش شده‌است (Kishor 1995). Savouré et al. (1995) گزارش کردند که بیان ژن *P5CS* به محض قرار گرفتن در تنش سرما و تنش اسمزی افزایش یافته و حتی بیان این ژن با تیمار خارجی ABA نیز فعال می‌شود. در مطالعه‌ای توسط Yoshiba et al. (1997)، بیان ژن *P5CS* توسط تنش اسمزی و تیمار خارجی ABA در والد وحشی آرابیدوپسیس (حساس به ABA) و در موتانت آن (متحمل به ABA) تحریک شد. این مشاهدات نشان داد ژن *P5CS* می‌تواند از دو مسیر وابسته به ABA و مستقل از ABA بیان شود.

همانطورکه بیان ژن اول (*P5CS*) در مسیر ساخت پرولین با افزایش مدت زمان تنش بیشتر شد، انتظار می‌رود ژن دوم (*P5CR*) نیز در هر دو ژنوتیپ افزایش داشته باشد. این افزایش معنی‌دار در هر دو ژنوتیپ نسبت به تیمار شاهد و سایر تیمارها مشهود بوده، با این تفاوت که در رقم طبسی با افزایش روزهای تنش بیان ژن *P5CR* افزایش کمتری نسبت به لاین موتانت داشت. در واقع لاین موتانت به نسبتی که *P5CS* خود را بیان کرده، به میزان تقریبا برابر توانسته *P5CR* تولید کند که این امر در رقم طبسی مشاهده نمی‌شود. در لاین موتانت بیشترین میزان بیان ژن به‌ترتیب مربوط به روزهای ششم و پنجم پس از تنش خشکی بود (جدول ۳؛ شکل ٤). در واقع گیاه قادر بوده با شرایط تنش بوسیله افزایش ژن *P5CR* دخیل در ساخت پرولین، خود را از اثرات مخرب تنش حفظ کند. Szoke et al. (1992) به نتیجه‌ای مشابه برای سطح بیان کمتر *P5CR* نسبت به *P5CS* تحت تنش اسمزی در سویا دست یافتند. این محققین از مطالعه خود روی بذرهای سویا نتیجه گرفتند تحت تنش اسمزی سطح رونوشت *P5CR* افزایش می‌یابد، همچنین فعالیت *P5CR* نسبت به *P5CS* کمتر تاثیر می‌پذیرد که از نظر فیزیولوژیکی قابل توجه است و ممکن است به سازگاری گیاهان تحت شرایط تنش کمک کند. افزایش بیان ژن‌های *P5CS* و *P5CR* تحت تنش کم آبی در اواخر دوره تنش در آرابیدوپسیس و لوبیا نیز گزارش شده‌است (Yoshiba et al. 1997). Verbruggen et al. (1993) گزارش کردند که در آرابیدوپسیس، سطوح رونوشت *P5CR* تحت تنش شوری پنج برابر بیشتر در برگ‌ها و دو برابر بیشتر در ریشه نسبت به گیاهان شاهد بود. با این حال سطح بیان ژن *P5CR* در مقایسه با ژن *P5CS* در آرابیدوپسیس کم بود. این نتایج نشان می‌دهد که ژن *P5CS* ممکن است نقشی مهم‌تر از ژن *P5CR* در تجمع پرولین تحت تنش اسمزی ایفا کند. بیان ژن *P5CR* تحت تنش شوری و خشکی در جو، باکتری کلورلا و گل همیشه بهار افزایش پیدا کرد که منجر به تجمع پرولین شد (Szoke et al. 1992).

[1] Overexpression

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-28]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.3.13.7]

پرولین- ۵- کربوکسیلات دهیدروژناز *(P5CDH)* ژنی است که انتظار می‌رود در شرایط تنش بیان آن کاهش یابد. بر این اساس با طولانی‌تر شدن دوره تنش میزان بیان ژن *P5CDH* در رقم طبسی افزایش یافت. بیش‌ترین میزان بیان ژن نسبت به شاهد و سایر تیمارها مربوط به شش روز پس از تنش خشکی (۲٤/۷۰۹) بوده و این افزایش منجر به تخریب پرولین ساخته شده در رقم طبسی می‌شود (جدول ۳؛ شکل ۵) درحالی‌که در لاین موتانت همانطورکه انتظار می‌رود با افزایش روزهای سپری شده از تنش، بیان ژن به تدریج کاهش یافت و این نشان می‌دهد که گیاه به اندازه مورد نیاز پرولین را در بافت‌های ذخیره‌ای خود انباشته کرده و بیان بالای ژن *P5CS*، از ساخته شدن ژن *P5CDH* ممانعت می‌کند. در واقع می‌توان گفت که سطوح بیان رونوشت *P5CS* با *P5CDH* اثر متقابل دارند. در آرابیدوپسیس سطح پایین *P5CDH* یک ساعت پس از شروع تنش خشکی تشخیص داده شد و با افزایش تنش، سطح بیان نیز کاهش یافت (Yoshiba et al. 1997). نتایج این بررسی نشان داد که کاهش بیان برخی از ژن‌ها به سازگاری گیاه در طول شرایط تنش کمک می‌کند، به‌عنوان مثال بیان ژن *P5CDH* در شرایط تنش کاهش پیدا می‌کند که در نهایت منجر به تجمع پرولین می‌شود.

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد اثر ژنوتیپ، آبیاری مجدد و اثر متقابل این دو بر بیان ژن‌های دخیل در تولید پرولین در مرحله خشکی معنی‌دار است (جدول ٤). در رقم طبسی و لاین موتانت T٦٥-٥٨-٨ سطح بیان ژن‌های *P5CS* و *P5CR* به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد کاهش نشان داد (جدول ۵؛ شکل٦)، اما کاهش بیان ژن در لاین موتانت سریع‌تر از رقم طبسی بود (جدول ۵).

جدول۱- مشخصات توالی آغازگرهای مورد استفاده در آزمایش

نام آغازگر	شماره دسترسی	توالی (′۳→′۵)	TM (°C)	طول محصول (bp)
TEF	M90077	For: TGACATGAGGCAAACTGTGG Rev: CATATCACACGGCGCTAACA	٦۰	۱۸۷
P5CS	AY888045	For: GGGCTACCCAAAAGCAGAT Rev: GAGTCCAAAACGAGCACCAT	۵۹	۲۳۸
P5CR	AY880317	For: TCTTGCTCTTGGTCTTGCAG Rev: AGCTCTCGGCATCTTGTTGT	۵۹	۲۰٤
P5CDH	DQ154920	For: CCAGAAGCCATCAAACTCGT Rev: CATGTAGCCGCAGGAAGTG	٦۰	۹۵

جدول۲- تجزیه واریانس داده‌های بیان ژن‌های مسیر تولید پرولین تحت تنش خشکی

منبع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات		
		P5CS	*P5CR*	*P5CDH*
تنش خشکی	٤	۹۳۷۱۱۸/۱۱٤**	٦۵٦/۵٤۱**	۱٦۷/۵۸۷**
ژنوتیپ	۱	۵۱۲۳۰۰/۳۳**	٦۳۰/۸۱۷**	۵۹/۹۹۹**
تنش خشکی×ژنوتیپ	٤	٤۰۳۸٤۷/۸۳۹**	۲۷۲/۲۰۹**	۱۰۱/٦۸۰**
خطا	۱۰	۰/۲۸۷	۰/۰۳۵	۰/۰۸۹

**: معنی‌داری در سطح احتمال ۰/۰۱

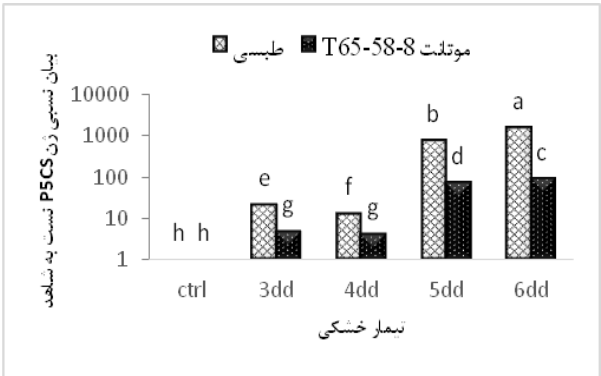
جدول ۳- مقایسه میانگین اثر متقابل تنش خشکی و ژنوتیپ برای بیان ژن‌های مسیر تولید پرولین تحت تنش خشکی با آزمون چند دامنه‌ای دانکن

تیمارها	*P5CS*		*P5CR*		*P5CDH*	
	میانگین رقم طبسی	میانگین لاین موتانت	میانگین رقم طبسی	میانگین لاین موتانت	میانگین رقم طبسی	میانگین لاین موتانت
شاهد	h ۱	h ۱	h ۱	h ۱	h ۱	h ۱
۳ روز تنش خشکی	e۲۱/٦۵	g ٤/٦۱	g۱/٦۹	e ۱۱/۷۹	g۱/۹۳	i ۰/۳۲
٤ روز تنش خشکی	f ۱۲/٤۸	g ٤	f ٤/۹۱	f ٤/۵۷	c ۱۰/۲۸	f ٤/۰۷
۵ روز تنش خشکی	b ۷۷۹/٦٤	d ۷۳/٦۰	c ۱۳/٦٤	b ۲۰/۳۹	d ۷/٦۳	b ۱٦/٦۷
٦ روز تنش خشکی	a۱۵۱۸/٤۰	c ۸۵/۳۳	d ۱۲/۹۳	a ۵۲/۵۸	a ۲٤/۷۰	e ٦/۱٦

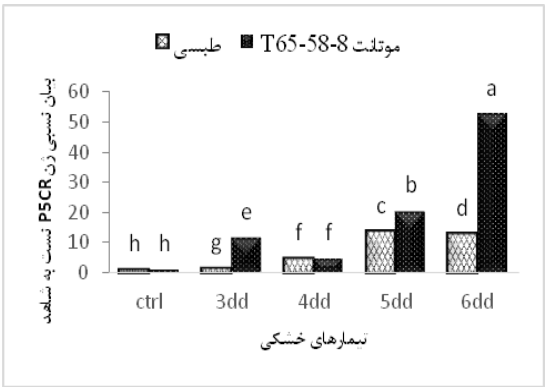
حروف مشابه بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح پنج درصد می‌باشد.

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-28]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.3.13.7]

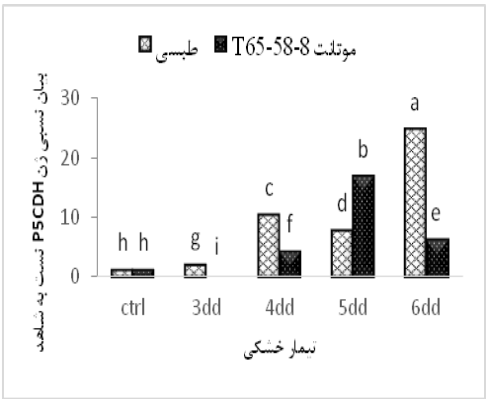
پس از جذب آب توسط گیاه و رفع شرایط تنش، ساخت پرولین متوقف شده در نتیجه بیان سطح رونوشت *P5CR* در گیاه کاهش می‌یابد. در بررسی‌های صورت گرفته توسط سایر محققین در مورد سطوح پرولین در آرابیدوپسیس تحت تنش کم آبی و آبیاری مجدد مشخص شد که سطح پرولین در طی دوره کم آبی افزایش و در طی آبیاری مجدد نسبت سطح رونوشت *P5CS* و *P5CR* کاهش یافته است (Yoshiba et al. 1997). نتایج بدست آمده نشان داد در تیمار ۱۲ ساعت پس از آبیاری بیان ژن *P5CDH* در هر دو ژنوتیپ افزایش داشته است. این در حالیست که لاین موتانت پس از سپری کردن شش روز تنش خشکی با جذب آب، آثار تنش را در خود کاهش داده و دیگر نیازی به رونوشت *P5CDH* در سلول نبوده، در نتیجه بیان ژن خود را کاهش داده است (شکل۷). در حالی که در رقم طبسی با افزایش روزهای آبیاری، بیان ژن *P5CDH* نسبت به لاین موتانت افزایش معنی‌دار نشان می‌دهد (جدول ۵). احتمال می‌رود رقم طبسی به‌علت حساس بودن نسبت به تنش خشکی دیرتر این پاسخ را درک کند. افزایش پرولین در سلول به‌دلیل القای فعالیت آنزیم‌های دلتا-۱-پرولین ۵- کربوکسیلات سنتتاز (*P5CS*) و پرولین ۵-کربوکسیلات ردوکتاز (*P5CR*) در چرخه تولید این ماده و نیز ممانعت از فعالیت آنزیم‌های اکسید کننده پرولین مانند پرولین دهیدروژناز (*ProDH*) و پرولین ۵- کربوکسیلات دهیدروژناز (*P5CDH*) در سلول است.



شکل۳- بیان نسبی ژن P5CS در نمونه گیاه برگ بالغ تیمارهای تحت تنش خشکی در دو ژنوتیپ (DD: مخفف روز تنش خشکی، ctrl مخفف شاهد). حروف مشابه بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد.



شکل٤- بیان نسبی ژن P5CR در نمونه گیاه برگ بالغ تیمارهای تحت تنش خشکی در دو ژنوتیپ (DD: مخفف روز تنش خشکی، ctrl مخفف شاهد). حروف مشابه بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد.



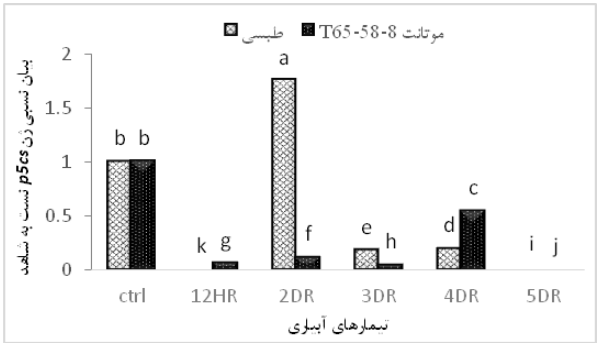
شکل۵- بیان نسبی ژن P5CDH در نمونه گیاه برگ بالغ تیمارهای تحت تنش خشکی در دو ژنوتیپ (DD: مخفف روز تنش خشکی، ctrl مخفف شاهد). حروف مشابه بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد.

زمانی‌که گیاه با تنش مواجه می‌شود، رونوشت *P5CS* افزایش یافته و از بیان *P5CDH* جلوگیری می‌شود، این واکنش در زمان رفع تنش به‌صورت عکس انجام می‌گیرد. کاهش فعالیت *P5CDH* در گیاهان حساس به تنش خشکی و شوری که تحت تنش خشکی بوده‌اند و افزایش آن در آبیاری مجدد، توسط Yoshiba et al. (1997) مشاهده شده‌است. به‌عنوان یک نتیجه از بیوسنتز پرولین می‌توان چنین برداشت کرد که بیان ژن *P5CDH* به علت سرکوب تنش در گیاهان متحمل افزایش نمی‌یابد. Peng et al. (1996) طی مطالعات گسترده‌ای مشاهده کردند هنگامی‌که تنش اسمزی رفع می‌شود، سطح رونوشت *P5CS* شروع به کاهش می‌کند در حالی‌که رونوشت *PDH* (پرولین دهیدروژناز) به‌طور قابل ملاحظه‌ای بیان می‌شود و در عرض چند

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-28]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.3.13.7]

ساعت به سطح بالایی از بیان ژن می‌رسد. این اتفاق باعث کاهش سطح پرولین آزاد می‌شود که شاید ناشی از این واقعیت باشد که سنتز *PDH* زمان‌بر بوده و این روند ممکن است با فعالیت متابولیکی سلول همراه باشد. در گیاه آرابیدوپسیس تحت تنش آبی به مدت ۱۰ ساعت، آبیاری مجدد انجام گرفت و سطح رونویسی *PDH* در حدود پنج ساعت کاهش یافت و به تدریج به سطح گیاهان شاهد رسید.

به‌طور کلی در مرحله آبیاری مجدد پس از اعمال تنش خشکی روند تغییرات در هر دو ژنوتیپ مطابق انتظار نزولی است، با این تفاوت که لاین موتانت کاهش بیشتری داشته است، چون در مرحله آبیاری دیگر گیاه نیازی به ساخت پرولین ندارد در نتیجه انتظار می‌رود بیان ژن *P5CS* که شروع کننده ساخت پرولین است، کمتر باشد. این کاهش بیان معنی‌دار در هر دو ژنوتیپ مشاهده می‌شود. افزایش بیان *P5CS* در رقم طبسی حتی پس از ٤٨ ساعت جذب آب حاکی از آن است که گیاه هم‌چنان تحت تنش است در نتیجه در رقم حساس (طبسی) مرگ گیاه را به دنبال دارد. اما در لاین موتانت این کاهش تدریجی صورت گرفته است که نشان‌دهنده این است که گیاه قدرت بازگشت و نزدیک شدن به حالت قبل از تنش را داشته است (شکل۸). Stewart et al. (1997) و Sarker et al. (1999) گزارش کردند که مقدار پایین پرولین در گیاهان آبیاری شده می‌تواند در نتیجه ترکیب اکسیژن با آن و تبدیل به گلوتامیک اسید و دیگر ترکیبات در شرایط بدون تنش حاصل شده باشد.



شکل ٦- بیان نسبی ژن‌های P5CS در نمونه گیاه برگ بالغ تیمارهای تحت آبیاری مجدد در دو ژنوتیپ (HR 12: ۱۲ ساعت پس از آبیاری، DR: روز پس از آبیاری وctrl مخفف شاهد). حروف مشابه بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد.

جدول٤- تجزیه واریانس داده‌های بیان ژن‌های مسیر تولید پرولین تحت آبیاری مجدد

منبع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات		
		P5CS	*P5CR*	*P5CDH*
آبیاری مجدد	۵	۰/۷۸۹**	۰/۷۲۲**	۰/۵۱۱**
ژنوتیپ	۱	۰/۳۱۵**	۰/۰۰۲*	۰/٤٥**
آبیاری مجدد×ژنوتیپ	۵	۰/٤۷۰**	۰/۱٦۷**	۰/۰۰۵**
خطا	۱۲	۰/۰۰۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۰۵
کل	۲۳	--	--	--

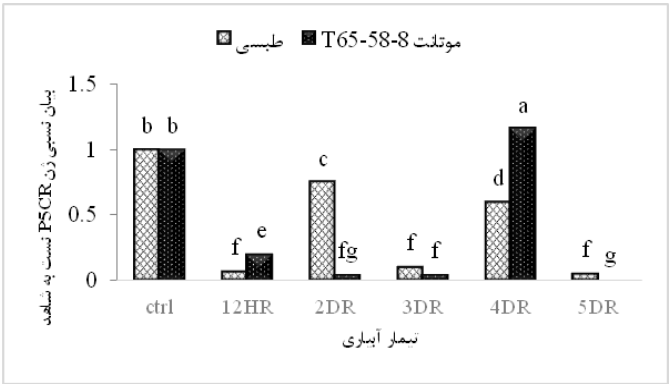
* و ** به‌ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال ۰/۰۵ و ۰/۰۱

جدول ۵- مقایسه میانگین اثر متقابل تنش خشکی و ژنوتیپ برای بیان ژن‌های مسیر تولید پرولین تحت آبیاری مجدد با آزمون چند دامنه‌ای دانکن

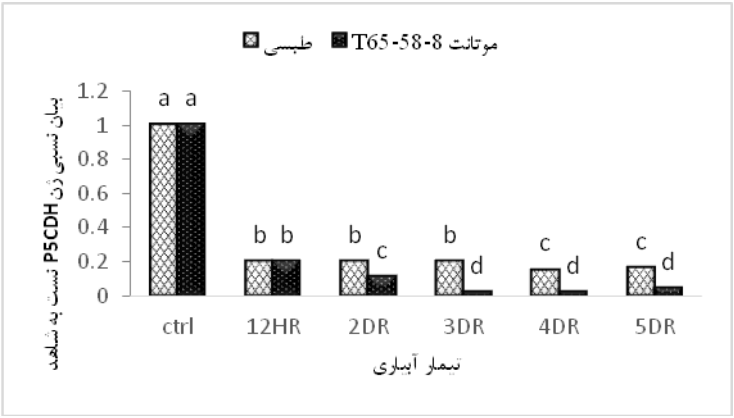
تیمارها	*P5CS*		*P5CR*		*P5CDH*	
	میانگین رقم طبسی	میانگین لاین موتانت	میانگین رقم طبسی	میانگین لاین موتانت	میانگین رقم طبسی	میانگین لاین موتانت
شاهد	۱b	۱b	۱b	۱b	۱a	۱a
۱۲ ساعت پس از آبیاری	۰/۰۰٤k	۰/۰۵۸g	۰/۰٦۸f	۰/۱۹۷e	۰/۲b	۰/۲b
۲ روز پس از آبیاری	۱/۷۵a	۰/۱۱۳f	۰/۷۵c	۰/۰٤۱fg	۰/۲b	۰/۱۱c
۳ روز پس از آبیاری	۰/۱۸e	۰/۰۳۹h	۰/۱۰۵f	۰/۰٤۲f	۰/۲b	۰/۰۲d
٤ روز پس از آبیاری	۰/۱۹۸d	۰/۵٤٤c	۰/۵۹۸d	۱/۱۵۹a	۰/۱۵c	۰/۰۲d
۵ روز پس از آبیاری	۰/۰۲۳i	۰/۰۰٦j	۰/۰۵f	۰/۰۰٦g	۰/۱٦c	۰/۰٤d

حروف مشابه بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح پنج درصد می‌باشد.

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-28]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.3.13.7]



شکل ۷- بیان نسبی ژن‌های *P5CR* در نمونه گیاه برگ بالغ تیمارهای تحت آبیاری مجدد در دو ژنوتیپ (HR 12 :۱۲ ساعت پس از آبیاری، DR: روز پس از آبیاری و ctrl مخفف شاهد). حروف مشابه بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد.



شکل ۸- بیان نسبی ژن‌های *P5CDH* در نمونه گیاه برگ بالغ تیمارهای تحت آبیاری مجدد در دو ژنوتیپ (HR 12 :۱۲ ساعت پس از آبیاری، DR: روز پس از آبیاری و ctrl مخفف شاهد). حروف مشابه بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد.

نتایج سنجش پرولین در جدول ٦ ارایه شده‌است. اثرات تیمار، رقم و اثر متقابل روی غلظت پرولین تحت تیمار خشکی معنی‌دار بودند. ضریب تغییرات (۱۳/۷۵) و ضریب تبیین (۹۷ درصد) برآورد شد. نتایج گروه‌بندی تیمارهای هر دو ژنوتیپ نسبت به هم با نتیجه حاصل از مقایسه میانگین‌ها با روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن تیمارها را در سه گروه مجزا قرار داد، که بیانگر افزایش معنی‌دار میزان پرولین طی روزهای تنش خشکی در لاین موتانت نسبت به رقم طبسی می‌باشد. همانطورکه در جدول ۷ ملاحظه می‌شود، تیمارهای دو، سه، چهار، پنج و شش روز پس از تنش هر دو ژنوتیپ دو به دو باهم مقایسه شد و تیمار ٦ روز پس از تنش خشکی بالاترین میانگین (۲٦/٥٦۳) را در هر دو ژنوتیپ به خود اختصاص داد. به‌دلیل معنی‌دار شدن اثر متقابل تیمار×رقم برش‌دهی اثر متقابل برای تیمارهای هر دو ژنوتیپ نیز انجام شد. طبق شکل (۹) و جدول (۵)، در تیمارهای دو، چهار و پنج روز پس از تنش خشکی هر دو ژنوتیپ تفاوت معنی‌داری در سطح یک درصد آماری نسبت به هم نشان می‌دهند، این در حالیست که تیمارهای سه و شش روز پس از تنش نسبت به هم تفاوت معنی‌داری ندارند.

در اندازه‌گیری پرولین در مرحله خشکی، هر دو ژنوتیپ نسبت به تیمار شاهد با افزایش روزهای تنش سعی بر انباشته کردن پرولین در بافت برگی خود و مقابله با تنش حاصله را داشته‌اند و این افزایش غلظت در هر دو ژنوتیپ مربوط به تیمار شش روز پس از تنش می‌باشد. همان‌طورکه انتظار می‌رود افزایش غلظت پرولین در لاین موتانت بیشتر و سریع‌تر از والد آن می‌باشد. لاین موتانت در تیمار چهار روز پس از تنش به میزان چشمگیری نسبت به والد خود (طبسی) پرولین را در بافت برگ انباشته کرده است و در پنج روز پس از تنش میزان آن کاهش یافته، این امر احتمالا به این دلیل است که تجمع بیش از حد پرولین در تیمار چهار روز پس از تنش خشکی برای گیاه سمیتی ایجاد نکند، بنابراین از انباشته کردن این اسمولیت جلوگیری می‌شود. به همین

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-28]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.3.13.7]

دلیل در تیمار پنج روز پس از تنش میزان پرولین نسبت به والد همان تیمار کمتر دیده می‌شود. در نهایت لاین موتانت در شش روز پس از تنش کمبود پرولین را احساس کرده و پرولین خود را نسبت به روز قبل افزایش داده است (شکل ۹). Kao (1981) گزارش کرد که در برگ‌های بالغ تحت تنش خشکی تجزیه پروتئین‌ها باعث کاهش غلظت آن‌ها و در نتیجه افزایش اسیدهای آمینه آزاد از جمله پرولین می‌شود. معمولا میزان پرولین آزاد در گیاهانی که در حد مطلوب آبیاری می‌شوند بسیار کم و در حدود ۰/۲-۰/۶ میلی‌گرم در گرم ماده خشک می‌باشد، اما مقدار این ماده پس از کاهش آب بافت‌ها تا ۴۰-۵۰ میلی‌گرم در هر گرم ماده خشک افزایش می‌یابد.

جدول ٦- تجزیه واریانس داده‌های حاصل از اندازه‌گیری پرولین تحت تنش خشکی

منبع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات
تیمار	٤	۳۱۰/۲۸**
رقم	۱	۲۰/۲٦*
تیمار×رقم	٤	۱٤۲/۷٦**
خطا	۱۰	۳/۹۸
کل	۱۹	--

* و ** به‌ترتیب معنی‌داری در سطح ۰/۰۵ و ۰/۰۱ آماری

جدول ۷- برش‌دهی اثر متقابل مرحله خشکی اندازه‌گیری پرولین برای تیمارهای هر دو ژنوتیپ

تیمارها	درجه آزادی	میانگین رقم طبسی	میانگین لاین موتانت
شاهد	۱	d ۹/۸۱	e ٤/۰۳
۳ روز تنش خشکی	۱	e ٥/۱٦	e ٤/۷۸
٤ روز تنش خشکی	۱	e ٤/٦٥	ab ۲٦/۷۸
٥ روز تنش خشکی	۱	b ۲۲/۳٦	c ۱٤/۳۹
٦ روز تنش خشکی	۱	a۲٥/٥۳	a ۲۷/٥۹

حروف مشابه بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح پنج درصد می‌باشد.

جدول ۸- تجزیه واریانس داده‌های حاصل از اندازه‌گیری پرولین تحت آبیاری مجدد

منبع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات
تیمار	٥	٦۹۱/۲٤**
رقم	۱	۱۰٤/٦۷ns
تیمار×رقم	٥	۱۰۳/۰۷ns
خطا	۱۰	٥٥/٥۲
کل	۲۳	--

ns و ** به‌ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌داری در سطح احتمال ۰/۰۱

در برخی از گیاهان در مراحل اولیه تنش کم آبی چندین اسید آمینه افزایش می‌یابد که با ادامه کم آبی فقط اسید آمینه پرولین بیشتر تجمع و ذخیره می‌شود. اگرچه پرولین در همه اندام‌های گیاه در طی تنش خشکی تجمع می‌یابد ولی سریع‌ترین انباشت را در برگ‌ها دارد (Heuer 1994). گزارش‌های متعددی مبنی بر وجود همبستگی مثبت بین انباشت پرولین و سازش به شرایط تنش اسمزی در گیاهان وجود دارد (Shinozaki and Yamaguchi-Shinozaki 1997). Lazcano-Ferrat and Lovatt (1999) با تحقیق روی گیاه سویا نیز سنتز پرولین در برگ‌ها و گرهک‌های این گیاه در اثر افزایش تنش را مشاهده نمودند. Bajji et al. (2001) افزایش غلظت پرولین را در اثر کمبود آب در سه رقم گندم دوروم گزارش کردند. به‌نظر می‌رسد که تجمع پرولین آزاد یک پاسخ متداول به تنش در گیاهان عالی باشد. البته اسیدهای آمینه دیگری نیز تحت تنش‌های خشکی و شوری انباشته می‌شوند، اما درجه تغییرات آنها با تجمع پرولین که ظرف مدت کوتاهی پس از اعمال تنش به سطوح خیلی بالا می‌رسد قابل مقایسه نیست (Gzik 1996). تجزیه و تحلیل وسترن بلات نشان داد، بعد از شروع تیمار خشکی سطوح *P5CS* افزایش پیدا کرد و این نسبت با تجمع سطوح رونوشت *P5CS* رابطه مستقیم دارد (Yoshiba et al. 1997).

تجزیه واریانس داده‌های حاصل از اندازه‌گیری پرولین تحت آبیاری مجدد نشان داد تیمارهای آبیاری مجدد دارای اختلاف معنی‌داری با هم می‌باشند در حالی‌که اثر رقم و اثر متقابل تیمار×رقم معنی‌دار نبود. ضریب تغییرات (۲۵/۱٦) و ضریب تبیین (۹۳ درصد) برآورد شد. نتایج گروه‌بندی تیمارهای هر دو ژنوتیپ نسبت به‌هم با نتیجه حاصله از مقایسه میانگین‌ها با روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن تیمارها را در سه گروه مجزا قرار داد. تیمار ۱۲ ساعت پس از آبیاری با میانگین ۳۹/۳۱٦ در یک گروه مجزا و بقیه تیمارها در دو گروه قرار گرفتند (جدول ۸).

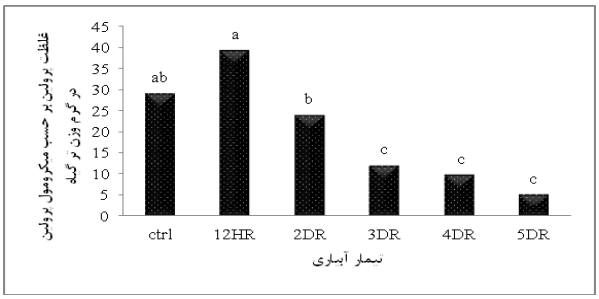
در این مرحله بالاترین غلظت پرولین در ۱۲ ساعت پس از آبیاری مشاهده می‌شود و با کم شدن شدت تنش و جذب آب توسط گیاه غلظت پرولین رو به کاهش است. بیش‌ترین تجمع پرولین مربوط به تیمار ۱۲ ساعت پس از آبیاری بود که دلیل آن تجمع بیش از حد پرولین بعد از شش روز تنش می‌باشد.

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-28]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.3.13.7]

جدول ۹- نتایج حاصل از مقایسه میانگین اثر ژنوتیپ بر غلظت پرولین با روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن

تیمار	میانگین
شاهد	۲۹/۰۶ ab
۱۲ ساعت پس از آبیاری	۳۹/۳۱۶ a
۲ روز پس از آبیاری	۲۳/۸۷۲ b
۳ روز پس از آبیاری	۱۱/۹٤٦ c
٤ روز پس از آبیاری	۹/۷۵۹ c
۵ روز پس از آبیاری	۵/۰۲۵ c

حروف مشابه بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح پنج درصد می‌باشد.



شکل ۱۰- میزان پرولین در برگ گیاه بالغ تحت تاثیر آبیاری مجدد در رقم طبسی و لاین موتانت ۸-۵۸-T٦۵. حروف مشابه بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح پنج درصد می‌باشد.

به‌تدریج در روزهای بعد غلظت پرولین کاهش یافته، طوری‌که در پنج روز پس از آبیاری به پایین‌ترین میزان خود رسید (جدول ۹؛ شکل ۱۰). تجمع پرولین در شرایط تنش اسمزی و کاهش پرولین آزاد بعد از شرایط تنش به خوبی در گیاهان شناخته شده‌است، اما مکانیسم تنظیمی آن به‌طور کامل شناخته نشده‌است. نتایج حاصل از Peng et al. (1996)، نشان داد حذف پرولین آزاد پس از رفع تنش خشکی و شوری باعث بیان ژن *P5CDH* می‌شود. در حالی‌که فعالیت *P5CS* کاهش می‌یابد. تنظیم مکانیسم *P5CS* و *P5CDH* به‌نظر می‌رسد یک مکانیسم کلیدی در کنترل سطح پرولین در طول تنش و بعد از آن باشد.

صفت تحمل به خشکی صفتی پیچیده بوده که علاوه بر صفات مورفولوژیک گیاه، ژن‌ها و پروتئین‌های متعددی در آن نقش دارند که اغلب آن‌ها در چهار گروه پروتئین‌های عملکردی، ترکیبات فعال اسمزی، عوامل رونویسی و عوامل سیگنالی می‌باشند. به‌طور کلی می‌توان گفت که تنش ایجاد شده در محیط، پیامی را ایجاد می‌کند که این پیام توسط گیرنده‌هایی که عمدتا در سلول‌های ریشه قرار دارند دریافت شده و به سلول‌های اندام هوایی فرستاده می‌شود. این پیام‌ها فاکتورهای رونویسی را فعال کرده که منجر به رونویسی از ژن‌های رمز کننده پروتئین‌های عملکردی و ترکیبات اسمزی می‌شوند و نهایتا با تولید این ترکیبات گیاه شرایط کم آبی را تحمل می‌کند. نتایج بدست آمده از بیان ژن‌های دخیل در مسیر ساخت پرولین با اندازه‌گیری آن مطابق دارد و نشان می‌دهد، در رقم طبسی و لاین موتانت تحت تنش خشکی هر دو ژنوتیپ سعی بر افزایش بیان ژن‌های دخیل در ساخت پرولین و در نتیجه تجمع آن در برگ گیاه بالغ داشته‌اند اما در لاین موتانت این تجمع بیش‌تر صورت گرفته است. در واقع لاین موتانت نسبت به والد توانسته است تحت تنش در مرحله خشکی و آبیاری پاسخ بهتری را از خود نشان دهد. افزایش در سطح پرولین معمولا کندتر از سرعت بیان ژن *P5CS* و *P5CR* بوده که شاید ناشی از این واقعیت باشد که سنتز پرولین زمان‌بر بوده و این روند ممکن است با فعالیت متابولیکی سلول همراه باشد که در طول تنش رو به افزایش و با برطرف شدن تنش به تدریج میزان آن کاهش می‌یابد.

منابع

Bajji M, Lutts S, Kinet JM (2001) Water deficit effects on solute contribution to osmotic adjustment as a function of leaf ageing in three durum wheat (*Triticum durum* Desf.) cultivars performing differently in arid conditions. Plant Science 160: 669-681.

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

Ginzberg I, Stein H, Kapulnik Y, Szabados L, Strizhov N, Schell J, Koncz C, Zilberstein A (1998) Isolation and characterization of two different cDNAs of Δ1-pyrroline-5-carboxylate synthase in alfalfa, transcriptionally induced upon salt stress. Plant Molecular Biology 38: 755-764.

Gzik A (1996) Accumulation of proline and pattern of α-amino acids in sugar beet plants in response to osmotic, water and salt stress. Environmental and Experimental Botany 36: 29-38.

Heuer B (1994) Osmoregulatory role of proline in water- and salt-stressed plants. Handbook of Plant and Crop Stress. CRC Press, Boca Raton, United States, 363-381.

Kao CH (1981) Senescence of rice leaves VI. Comparative study of the metabolic changes of senescing turgid and water-stressed excised leaves. Plant and Cell Physiology 22: 683-688.

Kishor PK, Hong Z, Miao GH, Hu CAA, Verma DPS (1995) Overexpression of [delta]-pyrroline-5-carboxylate synthetase increases proline production and confers

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-28]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.3.13.7]

osmotolerance in transgenic plants. Plant Physiology 108: 1387-1394.

Kiyosue T, Yoshiba Y, Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K (1996) A nuclear gene encoding mitochondrial proline dehydrogenase, an enzyme involved in proline metabolism, is upregulated by proline but downregulated by dehydration in Arabidopsis. The Plant Cell 8: 1323-1335.

Lazcano-Ferrat I, Lovatt CJ (1999) Relationship between relative water content, nitrogen pools, and growth of *Phaseolus vulgaris* L. and *P. acutifolius* A. Gray during water deficit. Crop Science 39: 467-475.

Mittler R (2002) Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. Trends in Plant Science 7: 405-410.

Peng Z, Lu Q, Verma DPS (1996) Reciprocal regulation of Δ 1-pyrroline-5-carboxylate synthetase and proline dehydrogenase genes controls proline levels during and after osmotic stress in plants. Molecular and General Genetics 253: 334-341.

Pfaffl MW, Horgan GW, Dempfle L (2002) Relative expression software tool (REST©) for group-wise comparison and statistical analysis of relative expression results in real-time PCR. Nucleic Acids Research 30: e36-e36.

Rayapati PJ, Stewart CR (1991) Solubilization of a proline dehydrogenase from maize (*Zea mays* L.) mitochondria. Plant Physiology 95: 787-791.

Rebetzke GJ, Richards RA, Condon AG, Farquhar, GD (2006) Inheritance of carbon isotope discrimination in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). Euphytica 150:97-106.

Rhodes D, Hanson AD (1993) Quaternary ammonium and tertiary sulfonium compounds in higher plants. Annual Review of Plant Biology 44: 357-384.

Sarker AM, Rahman MS, Paul NK (1999) Effect of soil moisture on relative leaf water content, chlorophyll, proline and sugar accumulation in wheat. Journal of Agronomy and Crop Science 183: 225-229.

Savouré A, Jaoua S, Hua XJ, Ardiles W, Van Montagu M, Verbruggen N (1995) Isolation, characterization, and chromosomal location of a gene encoding the Δ 1-pyrroline-5-carboxylate synthetase in *Arabidopsis thaliana*. FEBS letters 372: 13-19.

Shinozaki K, and Yamaguchi-Shinozaki K (1997) Gene expression and signal transduction in water-stress response. Plant Physiology 115: 327.

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

Stewart CR, Boggess SF, Aspinall D, Paleg LG (1977) Inhibition of proline oxidation by water stress. Plant Physiology 59: 930-932.

Szoke A, Miao GH, Hong Z, Verma DPS (1992) Subcellular location of δ1-pyrroline-5-carboxylate reductase in root/nodule and leaf of soybean. Plant Physiology 99: 1642-1649.

Tavakoli M, Poustini K, Alizadeh H (2016) Proline accumulation and related genes in wheat leaves under salinity stress. Journal of Agricultural Science and Technology 18: 707-716.

Türkan I, Bor M, Özdemir F, Koca H (2005) Differential responses of lipid peroxidation and antioxidants in the leaves of drought-tolerant P. *acutifolius* Gray and drought-sensitive *P. vulgaris* L. subjected to polyethylene glycol mediated water stress. Plant Science 168: 223-231.

Verbruggen N, Villarroel R, Van Montagu M (1993) Osmoregulation of a pyrroline-5-carboxylate reductase gene in *Arabidopsis thaliana*. Plant Physiology 103:771-781.

Yoshiba Y, Kiyosue T, Nakashima K, Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K (1997) Regulation of levels of proline as an osmolyte in plants under water stress. Plant and Cell Physiology 38: 1095-1102.

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-28]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.3.13.7]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.3.13.7] [Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-28]