مهندسی ژنتیک و ایمنی زیستی
ISSN 2588-5073 چاپی
ISSN 2588-5081 الکترونیکی
دوره ۹، شماره ۱، بهار و تابستان ۹۹
صفحه ۷۵-۶۷

Genetic Engineering and Biosafety Journal
Volume 9, Number 1

# بررسی بیان ژن *dehydrine-1* تحت تنش خشکی و متانول پاشی در گلرنگ

# Study on the effect of drought stress and methanol spraying on *dehydrine-1* gene expression in *Carthamus tinctorius* L.

علی خیری*[۱]، هانیه محجل شجاء[۱]، منصور سراجوقی[۲]

Ali Kheiri[1*], Hanieh Mohajjel Shoja[1], Mansour Sarajoughi[2]

۱- گروه زیست شناسی گیاهی، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، ایران
۲- گروه زراعت، دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج

1. Department of Plant Biology, Faculty of Natural Science, University of Tabriz, Iran
2. Department of Agronomy, Karaj Branch, Islamic Azad University, Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: alikheiri61@gmail.com

(تاریخ دریافت: ۹۸/۱۱/۱۸ - تاریخ پذیرش: ۹۹/۵/۲۰)

## چکیده

**خشکی یکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی گیاهان است و منجر به کاهش اساسی تولید محصولات کشاورزی می گردد. تحت تنش خشکی، گیاهان پاسخ های متنوعی در سطح فیزیولوژی و سلولی از خود نشان می‌دهند که تغییر بیان ژن‌ها از جمله دهیدرین‌ها یکی از آن‌ها است. دهیدرین‌ها در گروه دو پروتئین های**Late Embryogenesis Abundant (LEA) **قرار می‌گیرند و سنتز و انباشت آنها در بافت‌های مختلف گیاهی نه تنها در پاسخ به تنش، بلکه به عنوان بخشی از وقایع از پیش برنامه ریزی شده در طی مراحل نهایی تکوینی دانه در گیاهان روی می دهد. انواع دهیدرین‌ها با وزن مولکولی مختلف در دانه‌های آرابیدوپسیس، شبدر و دیگر گیاهان شناسایی شده است. با توجه به اقلیم خشک و نیمه خشک ایران و اهمیت اقتصادی بالای گیاه گلرنگ، در تحقیق حاضر، اعمال تنش خشکی در این گیاه توام با متانول پاشی به منظور کاهش احتمالی اثرات تنش در یک طرح کاملا تصادفی صورت پذیرفت. آزمایش به صورت کرت های خرد شده در قالب طرح آماری بلوک های کامل تصادفی با چهار تکرار انجام شد. کرت های اصلی شامل دو سطح آبیاری طبیعی و تنش کم آبی (قطع آبیاری با ظهور اولین گلها) بود و بر اساس٪۵۰ تبخیر از تشتک تبخیر انجام شد. اعمال تنش خشکی در مرحله شروع گلدهی بود. در کرت های فرعی محلول پاشی تیمار متانول در۵ سطح (٪۰، ٪۱۰، ٪۲۰، ٪۳۰ و٪۳۵) وزن حجمی اعمال شدند. بیان ژن دهیدرین یک در مرحله تشکیل دانه با استفاده از روش** qRT-PCR **بررسی و مقایسه میانگین ها به کمک نرم افزار** SPSS ver. 18 **انجام شد. نتایج نشان داد که در بالاترین سطح تنش خشکی (٪۵۰) که با متانول پاشی ٪۳۰ همراه بود، بیشترین میزان بیان ژن دهیدرین بطور معنی دار** ($P \leq 0/05$) **مشاهده میشود در حالیکه در موارد دیگر برهمکنش متانول و تنش خشکی اثر معنی داری در بیان دهیدرین نشان ندادند. پیشنهاد می شود استعمال خارجی متانول بصورت اسپری کردن و در غلظت مناسب می تواند بعنوان روشی مناسب برای مقابله گیاه در شرایط تنشی کم آبی مورد توجه قرار گیرد.**

**واژه‌های کلیدی**

تنش خشکی،
متانول پاشی،
دهیدرین یک،
گلرنگ،
qRT-PCR

[ Downloaded from gebsj.ir on 2026-08-30 ]

[ DOR: 20.1001.1.25885073.1399.9.1.4.7 ]

## مقدمه

خشکی یکی از عوامل اصلی تنش محیطی برای محصولات کشاورزی است که منجر به کاهش اساسی در تولید محصولات کشاورزی می‌گردد (Wiese *et al.*, 2010). تحت تنش خشکی، گیاهان پاسخ‌های متنوعی نشان می‌دهند که از آن جمله می‌توان به تولید بیش از حد بافت‌های تولید مثلی در لوبیا (Acosta *et al.*, 2003) تغییرات فیزیولوژیک از قبیل کاهش هدایت روزنه‌ای و سرعت فتوسنتز (Miyashita *et al.*, 2005) و افزایش تنفس در آرابیدوپسیس (Shinozaki *et al.*, 2007). کاهش قند در آرابیدوپسیس و گندم (Xue *et al.*, 2008) و کاهش در اکثر صفات مرتبط با عملکرد و اجزای عملکرد در گلرنگ (Mohsennia *et al.*, 2012) اشاره کرد. در سطح سلولی، می‌توان به تغییرات تغییرات بیان ژن از جمله سنتز چاپرون‌ها، دهیدرین‌ها و آکواپورین‌ها که مستقیما در تحمل به خشکی موثرند و سنتز پروتئین‌های تنظیمی از قبیل فاکتورهای رونویسی مثل کینازها و آنزیم‌های متابولیسم فسفولیپیدها اشاره کرد (Shinozaki *et al.*, 2007). دهیدرین‌ها در گروه دو پروتئین‌های LEA قرار می‌گیرند. برخی از آن‌ها در بافت های مختلف گیاهان در پاسخ به تنش‌های محیطی گوناگون از جمله خشکی، یخ زدگی، شوری و حتی فلزات سنگین همراه با افزایش سنتز ابسیزیک اسید سنتز می‌شوند (Hanin *et al.*, 2011). برخی از انواع پروتئین‌های دهیدرین نقش حفاظتی مهمی در پاسخ گیاهان به تنش خشکی دارند (Tripepi *et al.*, 2011). این پروتئین‌ها ضمن محافظت سلول در برابر تنش خشکی، مانع واسرشت شدن ماکرومولکول‌ها شده و سبب حفظ ساختار غشای سلولی می شوند (Sun *et al.*, 2009). در آرابیدوپسیس ، بیان بیش از حد دهیدرین پنج باعث تقویت تحمل به تنش اسمزی و حفظ فعالیت‌های آنزیمی می‌شود که گیاه را از تاثیرات تنش در امان نگه می‌دارد (Brini *et al.*, 2010). سنتز و انباشت دهیدرین‌ها نه تنها در پاسخ به تنش، بلکه به عنوان بخشی از وقایع از پیش برنامه ریزی شده در طی مراحل نهایی تکوینی دانه در گیاهان روی می‌دهد (Jiménez-Bremont *et al.*, 2013). انواع دهیدرین با وزن مولکولی مختلف در دانه‌های آرابیدوپسیس و شبدر (Chatelain *et al.*, 2012)، لوبیا، پنبه، گوجه فرنگی، کدو و دیگر گیاهان شناسایی شده است (Close, 1996). علاوه بر این بیان دهیدرین‌ها به صورت مستمر و در شرایط طبیعی رشد، در اندام‌های رویشی مثل برگ ها نیز انجام می‌شود (Rorat, 2006). در مطالعاتی که بر روی دهیدرین‌ها انجام شده است ارتباط بین مقاومت به تنش خشکی و تجمع پروتئین-های دهیدرین در لوبیا مشخص شده است (Pelah *et al*,. 1997) به گونه‌ای که تجمع رونوشت های متعددی از انواع دهیدرین سه و چهار در بافت‌های مختلف گیاهی در پاسخ به تنش خشکی مشاهده شده است (Park *et al.*, 2006). به نظر می‌رسد دهیدرین‌ها به عنوان چاپرون‌ها در پایداری وزیکول‌ها، پروتئین‌ها و ساختار غشا، تنظیم اسمزی و سم زدایی در گیاهان تحت تنش نقش مهمی دارند (Wise and Tunnacliffe, 2004).

تلاش‌های بسیاری برای شناسایی مکانیسم‌های تحمل به خشکی در گیاهان از طریق رویکردهای مولکولی در حال انجام است و برخی ژن‌های پاسخ دهنده به تنش خشکی در سطح رونویسی گزارش شده‌اند (Du *et al.*, 2011). برخی از این محصولات ژنی در محافظت از گیاهان در برابر تنش از طریق دریافت تنش، انتقال سیگنال، شبکه تنظیم رونویسی و نیز در تحمل در برابر پسابیدگی (Dehydration) نقش دارند (Allagulova *et al.* 2003). پس از شناسایی ژن‌های تحمل به تنش خشکی، می توان آن‌ها را از طریق مهندسی ژنتیک به گیاهان مورد نظر منتقل کرد (Abebe *et al.*, 2003). در حال حاضر یکی از راهکارهای مطرح شده جهت کاهش آثار تنش خشکی در گیاهان محلول پاشی غلظت‌های مختلف متانول در مراحل مختلف رویشی گیاه است. در اوایل دهه ۱۹۹۰ میلادی گزارش شد که کاربرد محلول‌های متانول روی قسمت های هوایی گیاهان زراعی باعث افزایش عملکرد، تسریع در رسیدگی، کاهش اثر تنش خشکی و کاهش نیاز آبی آنها می‌شود (Nemecek-Marshall *et al.*, 1995). بررسی‌های انجام شده در مناطق خشک پاکستان نیز نشان داد که محلول پاشی متانول در گیاه پنبه (Gossypium) تا ۳۰ درصد موجب افزایش ارتفاع و محصول دانه پنبه می شود (Makhdum *et al.*, 2002). همچنین مطالعات بر روی گیاهان گوجه فرنگی (*lycopersicum Solanum*)، لوبیا (*Phaseolous vulgaris*)، چغندر قند (*Beta vulgaris*) و کلزا



[ Downloaded from gebsj.ir on 2026-08-30 ]

[ DOR: 20.1001.1.25885073.1399.9.1.4.7 ]

(*Brassica napus*) نشان داد که گیاهانی که با محلول متانول با غلظت ۳۰ درصد محلول پاشی شدند ۱۲ تا ۱۳ درصد نسبت به گیاهان شاهد تولید محصول بیشتری داشتند (Vyshkahi *et al.*, 2008). به طور کلی بررسی ها نشان می‌دهد که مصرف متانول در اغلب گیاهان زراعی موجب افزایش راندمان مصرف آب، کاهش تنفس نوری، افزایش سطح و دوام برگ و در نهایت افزایش عملکرد می‌شود (Richner *et al.*, 1996; Bagheri *et al.*, 2001). بررسی منابع مختلف نشان داد که مطالعات انجام شده بر روی گیاهان مختلف بیشتر معطوف به بررسی تاثیر متانول پاشی بر صفات مورفولوژیک گیاه در پاسخ به تنش بوده اند و این مطالعات نتایج ضد و نقیضی ارایه کرده اند. به طور مثال نشان داده شده است سطوح مختلف متانول نتوانست اثرات منفی ناشی از تنش خشکی شدید را در لوبیا کاهش دهد (Armand *et al.*, 2016) اما محلول پاشی ۲۰ درصد متانول باعث افزایش عملکرد دانه، وزن ۱۰۰ دانه و مقدار پروتئین دانه در بادام زمینی شد (Van *et al.*, 1995).

با توجه به نقش ژن‌های خانواده دهیدرین در مقابله بهتر گیاهان در شرایط تنش خشکی هم چنین تاثیر مثبت متانول پاشی در جلوگیری از بروز اثرات تنش خشکی و افزایش مقاومت گیاهان به در این شرایط، این تحقیق با هدف بررسی تأثیر تنش خشکی بر بیان ژن دهیدرین یک (dehydrin-1) و استفاده از محلول پاشی غلظت های مختلف متانول بر بهبود تحمل نسبت به تنش خشکی در گیاه گلرنگ صورت پذیرفت.

## مواد و روش‌ها

**تیمار آبیاری و تنش خشکی:** تحقیق حاضر در بهار ۱۳۹۵ در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج (عرض جغرافیایی ۳۵ درجه و ٤۳ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی ۵۰ درجه و ٤۹ دقیقه شرقی) به ارتفاع ۱۱۷٤/۰۸ متر بالاتر از سطح دریا با متوسط بارندگی سالیانه ۲۵۱/۲ میلی‌متر، اجرا شد. خاک محل آزمایش دارای بافت لوم رسی با هدایت الکتریکی (EC) برابر ۳/۳۳ دسی زیمنس، اسیدیته (pH) معادل ۷/٤ و درصد رطوبت اشباع ۳٦٪ بود. آزمایش به صورت کرت‌های خرد شده در قالب طرح آماری بلوک های کامل تصادفی با چهار تکرار انجام شد. کرت‌های اصلی شامل دو سطح آبیاری طبیعی و تنش کم آبی (قطع آبیاری با ظهور اولین گل‌ها) بود و بر اساس ٪۵۰ تبخیر از تشتک تبخیر انجام شد. اعمال تنش خشکی در مرحله شروع گلدهی انجام شد. در کرت‌های فرعی محلول پاشی تیمار متانول در ۵ سطح (٪۰، ٪۱۰، ٪۲۰، ٪۳۰ و ٪۳۵) وزن حجمی اعمال شدند. طول و عرض هر کرت اصلی به ترتیب ۵ و۲ متر، عرض هر پشته ۵۰ سانتی متر، فاصله خطوط کاشت ۵۰ سانتی متر بود. فاصله بذور روی خطوط ۵ سانتی متر و بذور در عمق ٤-۳ سانتی متر کاشته شدند. لازم به ذکر است نقشه آزمایش از طریق توزیع تصادفی تیمارها در هر بلوک با قرعه کشی بدست آمد.

**بررسی الگوی بیان ژن:** الگوی بیان ژن دهیدرین یک در مرحله تولید دانه تحت تنش‌های مختلف خشکی بررسی شد. ژن 18srRNA به عنوان ژن خانه‌دار (house keeping gene) با مرور منابع مختلف انتخاب شد و توالی آن ها با جستجو در www.ncbi.nlm.nih.gov یافت شد. طراحی جفت پرایمر اختصاصی توسط برنامه Oligo 3 صورت پذیرفت و توالی پرایمرهای طراحی شده با استفاده از نرم افزار BLAST بررسی شد تا از ویژگی توالی و یکتا بودن محل اتصال آن‌ها اطمینان حاصل شود (جدول ۱).

پس از دریافت پرایمرهای ساخته شده از شرکت Shinegene چین به صورت پودر لیوفیلیزه، محلول پرایمر با غلظت ۱۰۰ پیکومول در میکرولیتر با افزودن آب مقطر اتوکلاو شده به پودر تهیه شد و این محلول تا زمان استفاده در دمای ۲۰- درجه نگه-داری گردید. برای استفاده نهائی از پرایمر این محلول رقیق‌سازی و با غلظت ۱۰ پیکومول در میکرولیتر وارد واکنش نهائی شد. RNA کل بذرهای حاصل از تیمارهای مختلف با استفاده از محلول ترایزول استخراج شد و به عنوان الگوی واکنش PCR مورد استفاده قرار گرفت. پس از استخراج RNA، کیفیت و کمیت آن با روش‌های اسپکتروفتومتری با استفاده از دستگاه Nanodrop (دستگاه مدل 2000 شرکت Thermoscientific آمریکا) و



[ Downloaded from gebsj.ir on 2026-08-30 ]
[ DOR: 20.1001.1.25885073.1399.9.1.4.7 ]

الکتروفورز روی ژل آگارز بررسی‌گردید. یک میکرولیتر از RNA مستقیماً روی پروب دستگاه نانودراپ بارگزاری شد و غلظت نمونه با تعیین جذب در طول موج ۲۶۰ محاسبه شد. نتایج نشان داد که OD 260/280 تمام نمونه ها ی استخراج شده در حدود۱/۸۱ تا ۱/۹۳ بودند که نشان از کیفیت خوب استخراج بود. به منظور بررسی کیفی RNA، مقدار ۱ میکروگرم از نمونه توسط الکتروفورز افقی روی ژل آگارز ۱٪ مورد بررسی قرار گرفت. باندهای 18s و 28s مرتبط با RNA ریبوزومی قرار گرفته به عنوان شاخص کیفیت RNA استخراج شده مد نظر قرار گرفت. برای اطمینان از عدم آلودگی احتمالی با DNA ژنومی، از آنزیم DNase I (Takara) استفاده شد. پس از همسان سازی غلظت RNAهای مختلف، واکنش سنتز cDNA با استفاده از کیت شرکت vivantis مالزی انجام شد. پس از سنتز cDNA واکنش RT-PCR انجام پذیرفت. به منظور آنالیز سنتز cDNA واکنش تکثیر ژن مورد نظر برای تعدادی از نمونه ها در ۳۵ چرخه انجام گرفت. پس از پایان واکنش تکثیر، مقدار 5 µl از نمونه بر روی ژل آگاروز ۱ درصد برده شد تا کیفیت قطعات ژنی پس از تکثیر مورد ارزیابی قرار گیرد. باند مورد انتظار ژن های Dehydrin و 18sRNA در شکل ۱ مشاهده می‌گردد. پس از محاسبه کارائی تکثیر آغازگرهای واکنش که به منظور استفاده از روش $2^{-\Delta\Delta Ct}$ انجام شد، آنالیز داده‌های حاصل از Real-time PCR بر اساس چرخه آستانه بدست آمده برای ژن‌های هدف و مرجع با روش Efficiency adjusted ΔΔCt (Yuan *et al.*, 2008) محاسبه گردید.

**مطالعات آماری:** تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از آمار توصیفی (بررسی میانگین‌ها و رسم نمودار ستونی) و آمار استنباطی به روش تحلیل واریانس یک طرفه (ANOVA) انجام شد. داده‌ها با کمک نرم افزار SPSS ver. 23 تجزیه و تحلیل گردید. سطح معنی‌داری در پژوهش حاضر $P \leq 0.05$ در نظر گرفته شد.

**جدول ۱**- توالی آغازگرهای اختصاصی طراحی شده در گلرنگ برای استفاده در آزمایش پی سی آر کمّی (Real time - PCR).

**Table 1.** Specific primers designed in Carthamus for Real time-PCR

| Primers | Sequence | Tm °C |
|---|---|---|
| Dehydrin- F | 5- AGGTGATCGATGACAACGGTG -3 | 61.72 |
| Dehydrin - R | 5- ACCCTCGGTGTCCTTGTGG -3 | 61.76 |
| F -18s | 5- GGACACGGAAAGGATTGACAG -3 | 60.32 |
| R-18s | 5- GTTCGTTATCGGAATTAACCAGAC -3 | 60.06 |

**جدول۲**- تجزیه و تحلیل واریانس یک راهه در رابطه با مقایسه میانگین ها در شرایط تنش خشکی و آبیاری طبیعی

**Table 2.** The one-way ANOVA analysis of variance in relation to comparing means under drought stress and natural condition

| متغیر | منابع (SOV) تغییر | مجموع (SS) مجذورها | درجه (df) آزادی | (MS) میانگین مجذورها | سطح معنی (Fs) داری |
|---|---|---|---|---|---|
| $2^{-\Delta\Delta ct}$ | بین گروهی | 15.283 | 4 | 3.821 | 0.041* |
| | درون گروهی | 4.810 | 5 | 0.962 | |
| | کل | 20.093 | 9 | - | |

## نتایج و بحث

بررسی مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون کمترین اختلاف معنی دار (LSD) نشان داد که در سطح ۵ درصد (۰/۰۴۱) بین نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌های درون گروهی و بین گروهی تفاوت معنی‌دار وجود دارد (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها بین تنش خشکی و آبیاری طبیعی اثر معنی‌داری از نظر آماری در بیان ژن دهیدرین نداشته است. در صورتی که بررسی اثر متقابل متانول و تنش خشکی نشان داد که کاربرد سطوح مختلف متانول تفاوت معنی‌داری بر میزان بیان این ژن داشته است به طوری که سطح ۳۰ درصد حجمی در سطح $P \leq 0/05$ ، باعث



[ Downloaded from gebsj.ir on 2026-08-30 ]

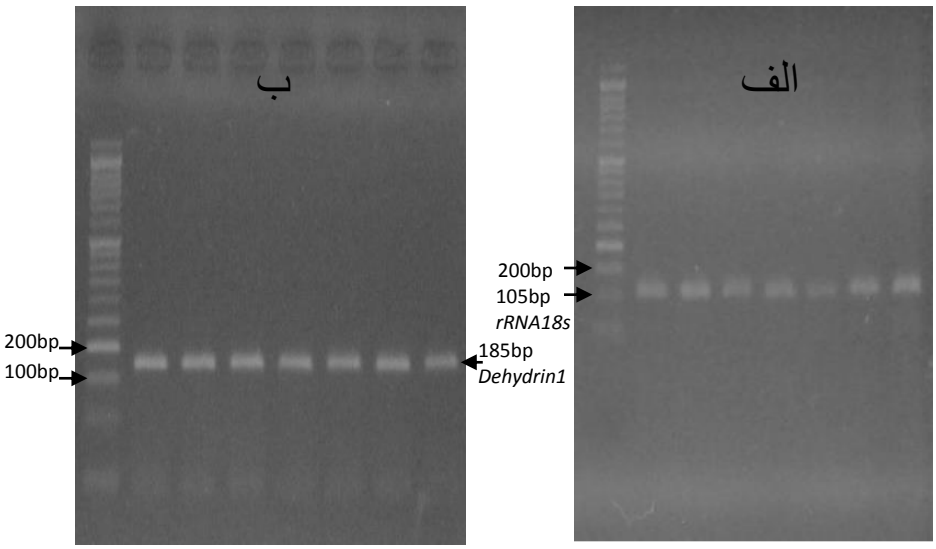
[ DOR: 20.1001.1.25885073.1399.9.1.4.7 ]

افزایش بیان آن گردیده است ولی در موارد دیگر برهمکنش متانول و تنش خشکی از نظر آماری اثر معنی داری در بیان ژن دهیدرین نشان نداد. در این شرایط، مقایسه سطح شاهد (تنش خشکی بدون متانول پاشی) و سطح ۳۰ درصد حجمی متانول اختلاف بیان معنی داری در سطح ۵ درصد نشان دادند (جدول ۳).

**جدول ۳-** مقایسه میانگین میزان نسبی بیان ژن دهیدرین در شرایط مختلف تنش خشکی تحت تیمارهای مختلف شاهد۰، ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۳۵ درصد متانول پاشی با استفاده از روش $2^{-\Delta\Delta ct}$ در سطح معنی داری $P \leq 0/05$. *: معنی دار در سطح $P \leq 0/05$ و ns: غیر معنی دار.

**Table 3.** Comparison of relative rate of dehydrin gene expression under different drought stress conditions under different treatments of methanol spraying with $2^{-\Delta\Delta ct}$ in $P \leq 0/05$ *:significant, ns: non-significant

| Group | Experiment groups | Mean difference | Significance level |
|---|---|---|---|
| Methanol %0 | Methanol %10 | -0/35 | 0/732ns |
| | Methanol %20 | -0/34 | 0/743ns |
| | Methanol %30 | -3/35 | *0/019* |
| | Methanol %35 | -1/59 | 0/166ns |
| Methanol %10 | Control %0 methanol | -0/35 | 0/732ns |
| | Methanol %20 | 0/01 | 0/988ns |
| | Methanol %30 | -2/99 | *0/028* |
| | Methanol %35 | -1/23 | 0/264ns |
| Methanol %20 | Control %0 methanol | 0/34 | 0/743ns |
| | Methanol %10 | -0/01 | 0/988ns |
| | Methanol %30 | -3/01 | *0/028* |
| | Methanol %35 | -1/25 | 0/259ns |
| Methanol %30 | Control %0 methanol | 3/35 | *0/019* |
| | Methanol %10 | 2/99 | *0/028* |
| | Methanol %20 | 3/01 | *0/028* |
| | Methanol %35 | 1/76 | 0/133ns |
| Methanol %35 | Control %0 methanol | 1/59 | 0/166ns |
| | Methanol %10 | 1/23 | 0/264ns |
| | Methanol %20 | 1/25 | 0/259ns |
| | Methanol %30 | -1/76 | 0/133ns |




**شکل ۱**- ارزیابی تعدادی از نمونه های cDNA سنتز شده قبل از انجام واکنش ریل تایم بر روی ژل آگارز. الف) ژن rRNA18s. ب) ژن دهیدرین۱.

**Fig 1**. Evaluation of some cDNA simples on electrophoresis gel after PCR. A) *rRNA18s*, B) *dehydrin1* gene.



[ Downloaded from gebsj.ir on 2026-08-30 ]
[ DOR: 20.1001.1.25885073.1399.9.1.4.7 ]

مطالعات مختلف نشان داده‌اند زمانی که گیاهان در معرض تنش خشکی قرار می‌گیرند، با تغییر در الگوی بیان ژن‌های خود، تلاش می‌کنند با شرایط محیطی جدید سازگار شوند (Ozturk *et al.*, 2002). در این مطالعه بیان ژن دهیدرین در شرایط تنش خشکی شدید در اثر برهمکنش متانول و تنش خشکی، نسبت به آبیاری طبیعی افزایش نشان داد. گیاهان در طول چرخه زندگی خود با تنش‌های محیطی متنوعی روبرو هستند. یکی از مولفه‌های مشترک در پاسخ گیاهان به بسیاری از تنش‌های محیطی پسابیدگی سلولی است. عدم رطوبت کافی خاک، کاهش رطوبت نسبی، دمای بالا و پایین از جمله شرایطی هستند که می‌توانند پتانسیل آب را در گیاهان تحت تاثیر قرار داده و موجب بروز علایم کمبود آب شوند (Wise *et al.*, 2004). در این پژوهش نیز مشخص شد که گیاه برای مقابله با تنش بیان ترجیحی ژن دهیدرین را در شرایط کم آبیاری افزایش داد. مطالعات انجام شده تا کنون نشان می‌دهند که مکانیسم عمل پروتئین دهیدرین در ایجاد تحمل به تنش چندان روشن نیست هرچند تصور اصلی در این زمینه این است که دهیدرین‌ها در پایداری غشای سلولی و پروتئین‌های غشایی در طی شرایط پسابیدگی نقش حفاظتی دارند. افزایش بیان دهیدرین۱ همراه با دیگر اعضای این خانواده از جمله دهیدرین-های ۲، ۳ ، ٤، ۷ و ۱۰ در شرایط تنش کم آبی گزارش شده است (Tommasini *et al.*, 2008) که این مسئله بیانگر اهمیت این ژن‌ها در ایجاد تحمل به خشکی است. به نظر می‌رسد ژن‌هایی که بیان آن‌ها تحت شرایط خشکی تغییر می‌کند، در مسیرهای حفاظتی و تحمل گیاه به خشکی دخالت دارند و افزایش بیان ژن دهیدرین در این پژوهش را نیز را می‌توان به عنوان یکی از پاسخ-های گیاه در پاسخ به تنش در نظر گرفت (Gout *et al.*, 2000). بررسی بیان ژنی در این مطالعه اطلاعات ارزشمندی را در رابطه با درک چگونگی پاسخهای ژنی در گیاه گلرنگ در شرایط تنش خشکی در مرحله تولید دانه ارایه می‌نماید و این اطلاعات می-تواند در توضیح مکانیسم سازگاری گیاهان به تنش خشکی حائز اهمیت باشد. در مطالعه حاضر افزایش بیان ژن دهیدرین در مرحله تشکیل دانه می تواند بیانگر بیان ترجیحی و افزایش یافته آن در اواخر تشکیل جنین در دانه باشد. در دهه های اخیر، کاربرد خارجی متانول به عنوان منبع کربن برای گیاهان زراعی رواج چشمگیری پیدا کرده است (Hosseinzadeh *et al.*, 2015) چرا که گیاهان می‌توانند متانول محلول پاشی شده بر روی برگ‌ها را براحتی جذب کرده و به عنوان منبع کربن مورد استفاده قرار دهند. در پژوهش‌های انجام شده مشخص شده است که محتوای کلروفیل با افزایش غلظت متانول تا ۳۰ درصد حجمی همبستگی مثبت دارد و بیشترین مقدار کلروفیل در این غلظت متانول مشاهده شد ولی بعد از آن با افزایش مقدار درصد حجمی متانول میزان غلظت کلروفیل کاهش می‌یابد. کاربرد محلول پاشی متانول همچنین می‌تواند باعث افزایش رشد و عملکرد محصولات گیاهی مختلف گردد که در گیاهان C3 اثرات مثبت این کاربرد در غلظت های ۱۰ تا ۵۰ ٪ متانول گزارش شده است (Nonomura *et al.*, 1992).

متانول در مقایسه با کربن دی اکسید مولکول نسبتا کوچکتری است که به راحتی توسط گیاه جذب شده و مورد استفاده قرار می گیرد (Gout *et al.*, 2000; Nemecek-Marshall *et al.*, 1995). در این مطالعه نیز مشخص شد که متانول پاشی گیاه پس از فصل رویشی و در مرحله گلدهی تا تشکیل دانه منجر به افزایش معنی دار بیان ژن دهیدرین ۱ در سطح معنی‌داری $P \leq 0/05$ شد. در نهایت باید اشاره شود که بیان افزایش یافته برخی ژن‌ها از جمله ژن دهیدرین ۱، به ویژه پس از استفاده از روش متانول پاشی در برابرتنش خشکی، می‌تواند به عنوان راهکاری مناسب در افزایش تحمل گیاهان حساس به تنش خشکی در نظر گرفته شود.

سپاسگزاری: در پایان نویسندگان بر خود واجب می دانند از زحمات دکتر عرب زاده عضو هیئت علمی دانشکده روانشناسی دانشگاه خوارزمی کرج که در انجام محاسبات آماری کمک شایانی نمودند کمال تشکر و قدردانی را داشته باشند. همچنین از زحمات بی دریغ پرسنل محترم مزرعه کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج تشکر و قدردانی می‌نمایند.



[ Downloaded from gebsj.ir on 2026-08-30 ]

[ DOR: 20.1001.1.25885073.1399.9.1.4.7 ]

## منابع

**Abebe T, Guenzi A.C, Martin B, and Cushman J. 2003**. Tolerance of mannitol accumulating transgenic wheat to water stress and salinity.Plant Physiology 13:1748-1755.

**Acosta D, Amador G. 2003.** Abscisión de estructuras reproductoras en frijol común bajo condiciones de secano, Agricultura Técnica en México 29: 155-168.

**Allagulova Ch, Gimalov F, Shakirova F, and Vakhitov V. 2003**. The plant dehydrins: structure and putative functions. Biochemistry (Mascow) 68: 945-951.

**Armand N, Amiri H, and Esmaeili A. 2016.** The effect of methanol spray on morphological properties of Phaseolus vulgaris L. under drought stress, Special Issue Journal of Agricultural Sciences 14: 854-863 (In Farsi with English abstract).

**Bagheri A, Mahmoudi A, and Ghezeli F. 2001**. Common Bean: Research for Crop Improvement, Jahad daneshgahi press 556 – 596 (In Farsi).

**Brini F, Saibi I, Amara A, Gargouri K, and Hanin M. 2010**. The wheat dehydrin DHN-5 exerts; a heat-protective effect on beta-glucosidase and glucose oxidase activities, Bios-cience Biotechnology and Biochemistry 74: 1050-1054.

**Chatelain E, Hundertmark O, Leprince S, Gall P, Satour S, Deligny-Penninck H, and Buitinik J. 2012**. Temporal profiling of the heat-stable proteome during late maturation of *Medicago truncatula* seeds identifies a restricted subset of late embryogenesis abundant proteins associated with longevity, Plant Cell and Environment 35:1440-1445.

**Close T.J. 1996.** Dehydrins: emergence of biochemical role of a family of plant dehydration proteins, Physiologia Plantarum 97: 795-803.

**Du J, Yuan S, Chen Y, Sun X, Zhang Z, and Xu F. 2011.** wild barley and Tibetan hull-less barley associated with different stress resistance, Acta Physiologiae Plantarum 33: 567-574.

**Gout E, Aubert S, Bligny R, Rebeille F, Nonomura A, Benson A, and Douce R. 2000**. Metabolism of methanol in plant cells. Carbon-13 nuclear magnetic resonance studies, Plant Physiology 123: 287-296.

**Hanin M, Brini F, Ebel Ch, Toda Y, Takeda S, and Masmoudi k. 2011.** Plant dehydrins and stress tolerance;Versatile proteins for complex mechanisms, Plant Signaling and Behavior 6:1503- 1509.

**Hosseinzadeh S.R, Amiri H, and Ismaili A. 2015**. Effect of vermicompost fertilizer on photosynthetic characteristics of chickpea (*Cicer arietinum* L.) under drought stress, Photosynthetica, doi 54: 107-115.

**Jiménez-Bremont J, Maruri-López A, Ochoa-Alfaro P, Delgado-Sánchez J, and Rodríguez-Kessler M. 2013**. LEA Gene Introns: is the intron of dehydrin genes a chacaterístic of the serine-segment?, Plant Molecular Biology Reporter 31: 128- 140.

**Makhdum I, Nawaz A, Shabab M, Ahmad F, and Illahi F. 2002**. Physiological response of cotton to methanol foliar application, Journal of Research Zakariya University, Multan, Pakistan 13, 37-43.

**Miyashita K, Tanakamaru T, and Kimura K. 2005**. Recovery responses of photosynthesis, transpiration, and stomatal conductance in kidney bean following drought stress, Environmental and Experimental Botany 53: 205-214.

**Mohsennia A. and Jalilian J. 2012.** Effect of drought stress and fertilizer resources on yield and yield components of safflower. Journal of Agricultural Ecology 3: 235-245 .( In Farsi with English abstract).

**Nemecek-Marshall M, MacDonald R, Franzen C, Wojciechowski J, and Fall R. 1995**. Methanol emission from leaves: enzymatic detection of gas-phase methanol and relation of methanol fluxes to stomatal conductance and leaf development, Plant Physiology 108: 1359-1368.

**Nonomura A, and Benson A. 1992**, The path of carbon in photosynthesis: improved crop yields with methanol. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A 89: 9794–97

**Ozturk Z, Talame V, Deyholos B, Michalowski D, Galbraith W, Gozukirmizi N, Tuberosa R, and Bohnert H.J. 2002.** Monitoring large-scale changes in transcript abundance in drought- and salt stressed barley, Plant Molecular Biology 48:551-573.

**Park S.Y, Noh K.J, Yoo JH, Yu JW, Lee B.W, Kim J.G, *et al.* 2006**. Rapid upregulation of dehydrin3 and dehydrin4 in response to dehydration is a characteristic of droughttolerant genotypes in barley. J Plant Biol 2006; 49:455- 62; http://dx.doi.org/10.1007/BF03031126.

**Pelah D, Wang W, Altman A, Shoseyov O, Bartels D. 1997**. Differential accumulation of water stressrelated proteins, sucrose synthase and soluble sugars in Populus species that differ in their water stress response. Physiol Plan; 99:153-9; http://dx.doi. org/10.1111/j.1399-3054.1997. tb03443.x.

**Richner W, Soidati A,, and Stamp P. 1996.** Shoot to root relation in field grown maize seedlings, Agronomy Journal 88: 56-61.

**Rorat T. 2006**. Plant dehydrin-tissue location, structure and function, Cellular and Molecular Biology Letters 11:536-556.

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

**Sun X, Feng Lei, J.H, and Lin H. 2009**. The dual effects of salicylic acid on dehydrin accumulation in water-stressed barley seedlings, Russian Journal of Plant Physiology 56: 3488-3594.



[ Downloaded from gebsj.ir on 2026-08-30 ]
[ DOR: 20.1001.1.25885073.1399.9.1.4.7 ]

**Tommasini L, Svensson S, Rodriguez J, Wahid E, Malatrasi M, Kato K, Wanamaker S, Resnik J, and Close T. 2008**. Dehydrin gene expression provides an indicator of low temperature and drought stress: transcriptome-based analysis of Barley (*Hordeum vulgare* L.). Functional and Integrative Genomics 8: 387-405.

**Tripepi M,. Pöhlschroder M, and Bitonti M. 2011**. Diversity of dehydrins in Oleae europaea plants exposed to stress, The Open Plant Science Journal 5:9-13.

**Tunnacliffe A, and Wise M.J. 2007**.The continiuing condundrum of the LEA protein. Naturwisenschften, 94: 791-812; PMID:17479232; http://dx.doi.org/10.1007/s00114-007-0254-y.

**Van I,. Heitholt M, Wells J, and Oosterhuis D. 1995**. Foliar methanol applications to cotton in the Southeastern United States, leaf physiology, growth and yield components, Agronomy Journal 87: 1157-1160.

**Vyshkahi M, Noormohammadi Gh, Majidi A, and Rabii B. 2008**. Effect of methanol on the growth function Peanuts, Special Issue Journal of Agricultural Sciences 1: 87-102. (In Farsi with English abstract).

**Wiese S., and Gebeyehu S. 2010.** Effects of drought stress on seed sink strength and leaf protein patterns of common bean genotypes. African Crop Science Journal 18: 75-88.

**Wise M, and Tunnacliffe A. 2004**. POPP the question: what do LEA proteins do? Trends in Plant Science.9: 13-17.

**Xue G, McIntyre D, and Shorter R. 2008**. Use of expression analysis to dissect alteration in carbohydrate metabolism in wheat leaves during drought stress, Plant Molecular Biology 67: 197-214.

[ Downloaded from gebsj.ir on 2026-08-30 ]

[ DOR: 20.1001.1.25885073.1399.9.1.4.7 ]

**Genetic Engineering and Biosafety Journal**
**Volume 9, Number 1**

# Study on the effect of drought stress and methanol spraying on *dehydrin-1* gene expression in *Carthamus tinctorius* L.

Ali Kheiri[1*], Hanieh Mohajjel Shoja[1], Mansour Sarajoughi[2]

1. Department of Plant Biology, Faculty of Natural Science, University of Tabriz, Iran
2. Department of Agronomy, Karaj Branch, Islamic Azad University, Iran
*Corresponding Author, Email: alikheiri61@gmail.com

**Abstract**

Drought is one of the most important environmental stresses for plants, which leads to a significant reduction in agricultural production. In drought stress conditions, plants exhibit a variety of responses at the physiology and sub-cellular levels such as increased expression of some genes like dehydrines. They are categorized in Group 2 proteins Late Embryogenesis Abundant proteins (LEA) that are synthesized and accumulated in different plant tissues not only in response to stress, but also as part of a pre-planned phenomenon during the final stages of development of the seed. Different types of Dehydrine proteins have been identified in Arabidopsis, clover and other plants. Due to the dry and semi-arid climate of Iran and the high economic importance of safflower, in this study, drought stress was applied to this plant with use of methanol spraying in a completely randomized design. The expression of *dehydrine 1* in the seed formation stage using the RT-qPCR method was evaluated and the means were compared using SPSS ver. 18. The results showed that the highest level of drought stress (50%) associated with methanol spraying (30%), had significantly the highest level of *dehydrine 1* gene expression whereas in other cases the interaction of methanol and drought stress did not have a statistically significant effect on *dehydrine 1* expression. It is suggested that methanol spraying can be used as a suitable method for the plant to deal with the effects of stress in low rainfall environments.

**Key words:** *dehydrine1*, drought stress, methanol spraying, RT-qPCR, safflower

[ Downloaded from gebsj.ir on 2026-08-30 ]

[ DOR: 20.1001.1.25885073.1399.9.1.4.7 ]