

The effect of drought stress on morphological and physiological traits and the relative expression of important antioxidant genes in Canola

Maryam Pasandideh Arjmand 

PhD, Department of Plant Biotechnology, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran.

Researcher, BioGenTAC Inc., Technology Incubator of Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran-North Branch (ABRII), Rasht, Iran, E-mail address: Pasandide.m92@gmail.com

Mohammad Mohsenzadeh Golfazani 

*Corresponding author. Associate Professor, Department of Plant Biotechnology, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran. E-mail address: mohsenzadeh.mohamad@guilan.ac.ir

Habibollah Samizadeh Lahiji 

Professor, Department of Plant Biotechnology, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran. E-mail address: hsamizadeh@guilan.ac.ir

Abstract

Objective

This study was conducted for investigating the effect of drought different levels on morphological and physiological traits of Canola and investigating relative expression of antioxidant genes to identify the antioxidant response of tolerant genotype at drought different levels.

Materials and methods

The factorial experiment based on unbalanced completely random design was conducted at the end of the 5-leaf stage of Canola in 3 replications in the greenhouse of Agricultural Sciences Faculty of Gilan University on the year 2022. The effect of different drought levels, including non-stress (100%), low (75%), medium (50%), severe (25%) and very severe stress (20%FC) on morphological and physiological traits in SLM046 and Licord Canola genotypes, as well as the relative expression of important antioxidant genes of Ferredoxin-NADP⁺ oxidoreductase (*FNR*) and NADPH-thioredoxin reductase (*NTR*) in the tolerant genotype were investigated using Real-time PCR based on Livak method.

Results

The interaction effect of stress on genotype for root length, shoot and root dry weight, allometric coefficient, root water weight, chlorophyll a and b, total chlorophyll, carotenoid and anthocyanin was significant at 1% probability level. The allometric coefficient at 20%FC, and root dry weight at all levels were higher in SLM046 than Licord under drought stress. Drought stress caused a decrease in RWC at 75% FC in both genotypes. Also, the drought treatment at the level of 20% FC caused a decrease in the leaf area and the treatment of all stress levels caused a decrease in the amount of anthocyanin in both genotypes. The stress treatment at 20%FC increased the amount of chlorophyll b and total chlorophyll in SLM046 genotype. The treatment at all stress levels decreased the chlorophyll a and b, total chlorophyll and carotenoid in Licord genotype. The results showed that the expression of *FNR* and *NTR* genes increased in SLM046 genotype at higher stress levels.

Conclusions

It seems that the SLM046 is tolerant under severe and very severe drought. The increase in *FNR* expression, which leads to the production of NADPH, is regulated by the *NTR* expression, and by regulating the expression of genes involved in oxidative stress, it can cause drought tolerance and plant survival in tolerant genotype

Keywords: Anthocyanin, Carotenoid, Real-time PCR, Root length, SLM046

Paper Type: Research Paper.

Citation: Pasandideh Arjmand M, Mohsenzadeh Golfazani M, Samizadeh Lahiji H (2024) The effect of drought stress on morphological and physiological traits and the relative expression of important antioxidant genes in Canola. *Agricultural Biotechnology Journal* 16 (2), 153-176.

Agricultural Biotechnology Journal 16 (2), 153-176. DOI: 10.22103/jab.2024.22869.1548

Received: February 14, 2024.

Received in revised form: April 08, 2024.

Accepted: April 09, 2024.

Published online: May 31, 2024.


Publisher: Faculty of Agriculture and Technology Institute of Plant




Production, Shahid Bahonar University of Kerman-Iranian Biotechnology Society.

© the authors


اثر تنش خشکی بر صفات مورفولوژی، فیزیولوژی و میزان بیان نسبی ژن های مهم آنتی اکسیدانی در کلزا

مریم پسندیده ارجمند 

دانش آموخته دکتری، گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران. پژوهشگر، واحد فناوری زیست رادان ژن کاسپین (بیوژن تک)، مرکز رشد واحدهای فناور، پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی منطقه شمال کشور، رشت، ایران. رایانامه: Pasandide.m92@gmail.com

محمد محسن زاده گلفزانی 

*نویسنده مسئول: دانشیار، گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران. رایانامه: mohsenzadeh.mohamad@guilan.ac.ir

حبیب اله سمیع زاده لاهیجی 

استاد، گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران. رایانامه: hsamizadeh@guilan.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۱/۲۵ تاریخ دریافت فایل اصلاح شده نهایی: ۱۴۰۳/۰۱/۲۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۱/۲۱

چکیده

هدف: این مطالعه با هدف بررسی اثر سطوح مختلف تنش خشکی بر صفات مورفولوژی و فیزیولوژی گیاه کلزا و بررسی بیان نسبی ژن های آنتی اکسیدانی به منظور شناسایی نحوه پاسخ آنتی اکسیدانی ژنوتیپ متحمل در سطوح مختلف تنش خشکی انجام شد.

مواد و روش ها: آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی نامتعادل در انتهای مرحله ۵ برگی گیاه کلزا در ۳ تکرار در سال ۱۴۰۱ در گلخانه دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان انجام شد. اثر سطوح مختلف تنش خشکی شامل سطوح بدون تنش (۱۰۰ درصد)، تنش کم (۷۵ درصد)، تنش متوسط (۵۰ درصد)، تنش شدید (۲۵ درصد) و تنش بسیار شدید (۲۰ درصد ظرفیت زراعی) بر صفات مورفولوژی و فیزیولوژی در ژنوتیپ های پاییزه SLM046 و Licord کلزا انجام شد. همچنین بررسی میزان بیان نسبی ژن های مهم آنتی اکسیدانی فردوکسین $NADP^+$ اکسیدوردوکتاز (*FNR*) و $NADPH$ تیوردوکسن ردوکتاز (*NTR*) در ژنوتیپ متحمل با استفاده از Real-time PCR براساس روش لیواک انجام شد.

نتایج: اثر متقابل تنش در ژنوتیپ برای صفات طول ریشه، وزن خشک اندام هوایی، وزن خشک ریشه، ضریب آلومتریک، وزن آب ریشه، کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، کاروتنوئید و آنتوسیانین در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار بود. در سطح ۲۰ درصد FC ضریب آلومتریک و در تمامی سطوح تنش وزن خشک ریشه در ژنوتیپ SLM046 بیش تر از Licord بود. اعمال تنش خشکی در سطح ۷۵ درصد FC سبب کاهش محتوای نسبی آب برگ در ژنوتیپها شد. همچنین اعمال تنش در سطح ۲۰ درصد FC سبب کاهش سطح برگ و اعمال همه سطوح تنش سبب کاهش میزان آنتوسیانین در هر دو ژنوتیپ شد. اعمال تنش در سطح ۲۰ درصد FC سبب افزایش میزان کلروفیل b و کلروفیل کل در ژنوتیپ SLM046 شد. اعمال تنش خشکی در سطوح مختلف سبب کاهش کلروفیل a و b، کلروفیل کل و کاروتنوئید در ژنوتیپ Licord شد. نتایج نشان داد که در سطوح بالاتر تنش در ژنوتیپ SLM046 بیان ژن های *FNR* و *NTR* افزایش یافت.

نتیجه گیری: به نظر می رسد که در شرایط تنش خشکی شدید و بسیار شدید ژنوتیپ SLM046 تحمل بیش تری نسبت به تنش خشکی دارد. احتمالاً افزایش بیان *FNR* که تولید *NADPH* را به دنبال دارد، به وسیله افزایش بیان ژن *NTR* تعدیل می شود و از این طریق با تنظیم بیان ژن های درگیر در استرس اکسیداتیو می تواند سبب تحمل به تنش خشکی و بقای گیاه در ژنوتیپ متحمل شود.

کلیدواژه ها: آنتوسیانین، طول ریشه، کاروتنوئید، Real-time PCR، SLM046

نوع مقاله: پژوهشی.

استناد: پسندیده ارجمند مریم، محسن زاده گلفزانی محمد، سمیع زاده لاهیجی حبیب ا... (۱۴۰۳) اثر تنش خشکی بر صفات مورفولوژی، فیزیولوژی و میزان بیان نسبی ژن های مهم آنتی اکسیدانی در کلزا. *مجله بیوتکنولوژی کشاورزی*، ۱۶(۲)، ۱۵۳-۱۷۶.

Publisher: Faculty of Agriculture and Technology Institute of Plant

Production, Shahid Bahonar University of Kerman-Iranian

Biotechnology Society.



© the authors

مقدمه

خشکی یکی از مهم ترین تنش های محیطی است که سالانه باعث کاهش چشمگیر عملکرد گیاهان زراعی می شود (Ahmad et al. 2021). فرآیندهای مختلف مولکولی، بیوشیمیایی، فیزیولوژیکی، مورفولوژیکی و اکولوژیکی گیاهان تحت شرایط تنش خشکی مختل می شوند (Battaglia et al. 2018). کلزا یکی از گیاهان دانه روغنی بسیار مهم است که تنش خشکی سالانه سبب کاهش شدید عملکرد آن در سراسر جهان می شود (Ahmar et al. 2019). روش های مختلفی برای شناسایی ارقام متحمل و حساس به خشکی کلزا گزارش شده است که در این میان بررسی خصوصیات مورفولوژی و فیزیولوژی در

شرایط تنش خشکی می‌تواند بسیار کمک کننده باشد (Wang & Peng 2021). خشکی بر صفات مورفولوژی و فیزیولوژی گیاه کلزا مانند طول ریشه و اندام هوایی، وزن تر و خشک اندام هوایی، محتوای نسبی آب^۱، میزان محتوای کلروفیل و غیره اثر می‌گذارد (Ahmar et al. 2019). قطر ساقه گیاهان یکی دیگر از خصوصیات مورفولوژی گیاهان است که به شدت تحت تاثیر وضعیت آب موجود در محیط رشد گیاه قرار می‌گیرد (Ohashi et al. 2006). همچنین تنش خشکی در مراحل رشد رویشی کلزا، منجر به ظهور کند برگ‌ها و کاهش سطح برگ سبز می‌شود که به طور جدی بر عملکرد و کیفیت بذر تأثیر می‌گذارد (Wang & Peng 2021). مکانیسم‌های مقاومت به تنش خشکی به نوبه خود در بین گونه‌های گیاهی متفاوت است (Bielach et al. 2017). برای سازگاری با شرایط خشکی، گیاهان مکانیسم‌هایی دارند تا جذب آب را تسهیل کرده و از دست دادن آب را محدود کنند (An et al. 2020). تغییر محتوای نسبی آب به عنوان یک واکنش کوتاه مدت به تنش در نظر گرفته می‌شود و معیاری از میزان توانایی گیاه در مواجهه با شرایط خشکی است (Sharif et al. 2018). در شرایط تنش خشکی خصوصیات مورفولوژی ریشه و اندام هوایی نیز تحت تاثیر قرار می‌گیرد (An et al. 2020). مطالعات نشان داده است که عملکرد کلزا رابطه مستقیمی با طول ریشه آن دارد (Rahman & McClean 2013; Zaman & Rahman 2017). علاوه بر تغییرات مورفولوژیکی، تنش خشکی بر ترکیب رنگدانه‌های گیاهی از جمله کلروفیل‌ها و کاروتنوئیدها و همچنین ترکیباتی مانند آنتوسیانین‌ها تأثیر می‌گذارد (An et al. 2020). مطالعات نشان داده است که خشکی بر فعالیت فتوسنتزی برگ موثر است و سبب کاهش محتوای کلروفیل می‌شود (Rustioni & Bianchi 2021; Zemaitis et al. 2021). روش‌های مختلفی برای اندازه‌گیری کلروفیل برگ وجود دارد. استفاده از روش‌های اسپکتروفتومتری می‌تواند در اندازه‌گیری کلروفیل a، b، کلروفیل کل و کاروتنوئید بسیار دقیق و موثر باشد (Arnon 1949; Dong et al. 2019). کلروفیل b و کاروتنوئیدها به عنوان رنگدانه‌های کمکی و محافظ کلروفیل a در فتوسیستم‌های کلروپلاست عمل می‌کنند و نقش مهمی در جذب و انتقال انرژی نور به کلروفیل a دارند (Khodabin et al. 2020). آنتوسیانین‌ها نیز ترکیبات آنتی‌اکسیدانی هستند که در شرایط تنش خشکی تحت تاثیر قرار می‌گیرند. آنتوسیانین‌ها از گیاهان در برابر نور بیش از حد محافظت می‌کنند و سبب کاهش تخریب در گیاهان می‌شوند. از این رو اندازه‌گیری میزان آنتوسیانین‌ها به عنوان یکی از عوامل موثر در تنش خشکی بسیار حائز اهمیت است (Cirillo et al. 2021). همچنین بررسی آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی مهم در سطح مولکولی مانند فردوکسین NADP اکسیدوردوکتاز (FNR) و NADPH تیوردوکسن ردوکتاز (NTR) نیز می‌تواند اطلاعات مهمی را در مورد مکانیسم یا سخ آنتی‌اکسیدانی گیاهان به تنش خشکی ایجاد کند. فردوکسین NADP ردوکتاز آنزیمی است که سبب احیای NADP⁺ در واکنش نهایی فتوسیستم I می‌شود (Karplus et al. 1991). آن‌ها یک خانواده وابسته به اکسیدوردوکتاز می‌باشند که انتقال الکترون بین فردوکسین و NADP⁺/NADPH را کاتالیز می‌کنند (Correll et al. 1993). آنزیم NTR از آنزیم‌های کلیدی تنظیم کننده حالت احیا در سیستم thioredoxin (TRX) است که

^۱ Relative water content (RWC)

قدرت احیاکنندگی برای پراکسیداز و اکسیدوردوکتاز را فراهم می‌کند (Cha et al. 2014). نقش حیاتی *NTRC* کلروپلاست در مهار ROS با دیدن فنوتیپ رنگ سبز پریده در برگ‌های آرابیدوپسیس‌های جهش یافته در ژن *ntrc* دیده می‌شود (Lepistö et al. 2009). در پژوهشی Serrato et al. (2004) نیز عنوان کردند که بین *NTR* با تنش‌های محیطی فیزیولوژی، پاسخ به خشکی، شوری، گرما و استرس اکسیداتیو ارتباط وجود دارد. تنش خشکی در کلزا سالانه باعث کاهش چشمگیر عملکرد می‌شود. به‌علاوه، مطالعات و بررسی‌های به عمل آمده در اواخر دهه ۸۰ میلادی روشن نمود که مکانیسم‌های مولکولی در زمره مهم‌ترین فرایندهای ژنتیکی (مشمول بر همانندسازی DNA، رونویسی، ترجمه و حتی نحوه تنظیم ژن‌ها) هستند (Barazandeh et al. 2016a; Safaei et al. 2022). ماده ژنتیکی^۲ یک سلول از تعداد زیادی ژن تشکیل شده است که هیچ‌گاه همه به طور همزمان بیان نمی‌شوند و در هر لحظه فقط تعداد کمی از آنها بیان شده و پروتئین یا آنزیم مورد نیاز سلول را تولید می‌نمایند (Barazandeh et al. 2016b; Mohammadabadi et al. 2023). محیطی که موجود در آن رشد می‌کند مشخص می‌کند که آیا ژن بیان شود و یا این که نیازی به فرآورده آن نیست و باید غیرفعال و یا خاموش شود (Bordbar et al. 2022; Jafari et al. 2023). ساز و کار بیان ژن اولین بار در باکتری *E. coli* کشف شد (Mohamadipoor et al. 2021; Masoudzadeh et al. 2020). ژن‌های یوکاریوتی بیان‌شان تحت کنترل موقت و چندبعدی است. در هر یک از انواع بافت‌ها تنها یک مجموعه نسبتاً کوچک از تمام ژنوم بیان می‌شود و نیز بیان ژن‌ها به مرحله نمو بستگی دارد (Masoudzadeh et al. 2020). بنابراین، بیان ژن در یوکاریوت‌ها برای هر بافت اختصاصی است. همچنین مقدار محصولات ژن که در همان بافت و نیز در سایر بافت‌هایی که آن محصول را می‌سازند، ساخته شده سبب تنظیم بیان آن ژن می‌شود (Mohammadabadi et al. 2023; Shokri et al. 2021). یکی از اقدامات اساسی در به‌نژادی ملکولی مطالعه ژن‌ها و پروتئین‌های مرتبط با صفات مهم و مطالعه آن‌ها در سطح سلولی یا کروموزومی است (Mohammadinejad et al. 2022; Shamsavari et al. 2022). بنابراین در دسترس بودن ابزارهای ژنومی می‌تواند اصلاح موجودات را در زمان کوتاه‌تر تا حد زیادی افزایش دهد. این ابزارها از جمله آنالیز بیان ژن برای تسهیل شناسایی ژن‌های مقاوم در حال توسعه هستند و بررسی الگوی بیان ژن‌ها و مشخص کردن ژن‌های مقاوم به تنش‌های محیطی در این راستا انجام می‌گیرد (Mohammadabadi et al. 2023). بررسی بیان ژن می‌تواند بررسی یک ژن خاص با استفاده از روش‌هایی مثل Real-time PCR و یا بررسی تعداد زیادی از ژن‌ها باشد (Mohammadabadi et al. 2023). بنابراین، در این مطالعه برخی از صفات مهم مورفولوژی و فیزیولوژی دو ژنوتیپ پاییزه کلزا در سطوح مختلف تنش خشکی مورد بررسی قرار گرفت. پس از آن میزان بیان نسبی برخی از ژن‌های مهم پاسخ دهنده به تنش خشکی در ژنوتیپ متحمل کلزا به منظور بررسی نحوه پاسخ آنتی‌اکسیدانی گیاه متحمل به تنش خشکی انجام شد.

^۲ DNA

مواد و روش‌ها

شرایط رشد و اعمال تنش: بذره‌های دو ژنوتیپ پاییزه کلزا شامل SLM046 و Licord از موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج تهیه شدند. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی نامتعادل در سال ۱۴۰۱ در گلخانه دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان در ۳ تکرار انجام شد. فاکتورهای مورد مطالعه شامل ژنوتیپ (SLM046 و Licord) و سطوح تنش خشکی (۷۵، ۵۰، ۲۵ و ۲۰ درصد FC) بود. ابتدا بذرها در هیپوکلیت سدیم یک در صد به مدت ۱ دقیقه قرار داده شدند و پس از آن چهار بار با آب مقطر استریل شستشو داده شدند و در پتری دیش استریل بر روی کاغذ صافی مرطوب به مدت ۴ روز قرار داده شدند. بذره‌های جوانه زده و سالم به گلدان‌های حاوی خاک با بافت لومی شنی منتقل شدند. گلدان‌ها در گلخانه با نور $1000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ، دمای ۲۳ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۵۰ تا ۶۰ درصد انتقال یافتند. همه گیاهان به طور منظم در حد ظرفیت زراعی (FC) تا مرحله ۵ برگه آبیاری شدند. آبیاری گیاهان شاهد در حد ظرفیت زراعی (۱۰۰ درصد FC) تا زمان نمونه‌برداری انجام شد. اعمال تنش خشکی در ابتدای مرحله ۵ برگه آغاز شد. برای اعمال سطوح تنش خشکی ۷۵، ۵۰، ۲۵ و ۲۰ درصد FC به ترتیب گیاهان به مدت ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت تحت تنش خشکی قرار گرفتند. نمونه‌برداری در انتهای مرحله پنج برگه (در ۳۹ روز پس از کشت) در ۳ تکرار انجام شد. علاوه بر آن به منظور انجام آزمایشات مولکولی، نمونه‌برداری از برگ گیاهان در انتهای مرحله پنج برگه انجام شد و سریعاً نمونه‌ها در ازت مایع قرار گرفت و تا انجام آزمایشات در فریزر ۸۰- نگهداری شد.

بررسی صفات مورفولوژی و فیزیولوژی کلزا در سطوح مختلف تنش خشکی: قطر ساقه گیاهان شاهد و

تحت تنش خشکی ژنوتیپ‌های SLM046 و Licord کلزا توسط کولیس دیجیتال اندازه‌گیری و یادداشت شد. طول اندام هوایی و ریشه گیاهان آبیاری شده و تحت تنش خشکی توسط خط کش و بر اساس سانتی‌متر اندازه‌گیری شد. وزن تر اندام هوایی و ریشه در نمونه‌ها توسط ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۰۱ و بر اساس گرم اندازه‌گیری شد. وزن خشک اندام هوایی و ریشه در نمونه‌های مورد بررسی پس از قرار دادن نمونه‌ها در آون با دمای ۷۰ درجه سانتیگراد به مدت ۷۲ ساعت، توسط ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۰۱ و بر اساس گرم اندازه‌گیری شد. پس از اندازه‌گیری وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی بر حسب گرم، وزن آب موجود در نمونه‌ها با تفریق وزن خشک از وزن تر ریشه و اندام هوایی محاسبه شد. جهت اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ، ابتدا برگ سبز و میانی نمونه‌ها برش داده شد. سپس تعداد ۱۰ قطعه از برگ به یک اندازه برش داده شد و وزن تر (Wfl) آن‌ها توسط ترازوی دیجیتال اندازه‌گیری شد. به منظور به‌دست آوردن وزن آماس (Wtl)، قطعات حاصل از نمونه‌های برگه در پتری‌دیش حاوی آب مقطر در دمای اتاق و در تاریکی قرار گرفتند و پس از ۲۴ ساعت توزین شدند. سپس وزن خشک (Wdl) نمونه‌های برگه با قرار دادن آن‌ها در آون دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت بدست آمد. در نهایت مقدار محتوای نسبی آب از طریق رابطه ۱ محاسبه و بر اساس درصد گزارش شد (Turner 1981).

$$\text{RWC} = \left(\frac{W_{fl} - W_{dl}}{W_{tl} - W_{dl}} \right) \times 100 \quad \text{رابطه ۱}$$

برای اندازه‌گیری سطح برگ برای هر نمونه ابتدا برگ‌ها با دقت توسط تیغ تیز بریده شد و بر روی مقوا قرار گرفت. همچنین یک خط کش جهت تخمین اندازه برگ در کنار نمونه‌ها قرار گرفت. سپس سطح برگ نمونه‌های شاهد و تحت تنش خشکی از طریق نرم افزار J IMAGE اندازه‌گیری و بر حسب میلی متر مربع ثبت گردید. نسبت وزن خشک ریشه به وزن خشک ساقه از طریق تقسیم وزن خشک ریشه به وزن خشک ساقه محاسبه شد. ضریب آلومتریک نمونه‌های شاهد و تحت تیمار تنش خشکی در دو ژنوتیپ SLM046 و Licord از طریق محاسبه نسبت طول ریشه به طول ساقه محاسبه شد. اندازه‌گیری کلروفیل a، b، کلروفیل کل و کاروتنوئید با استفاده از روش آرنون انجام و بر حسب میلی گرم در یک گرم بافت تر گزارش گردید (Arnon 1949). اندازه‌گیری آنتوسیانین با استفاده از روش واگنر و بر اساس میکروگرم آنتوسیانین در یک گرم برگ انجام شد (Wagner 1979). تجزیه واریانس توسط نرم افزار آماری SAS نسخه ۹/۴ انجام شد و میانگین داده‌ها توسط آزمون توکی در سطح احتمال $0.01 <$ p-value مقایسه شدند.

بررسی بیان نسبی ژن‌ها در سطوح مختلف تنش خشکی: در این پژوهش پس از بررسی صفات مورفولوژی و

فیزیولوژی مرتبط با تنش خشکی و شناسایی ژنوتیپ متحمل‌تر، بیان نسبی ژن‌های آنتی اکسیدانی در ژنوتیپ متحمل به منظور بررسی نحوه پاسخ گیاه متحمل در سطوح مختلف تنش خشکی بررسی شد. برای این منظور از نمونه‌های برگ بدست آمده در انتهای مرحله ۵ برگ که در فریزر -80°C قرار گرفته بودند، استفاده شد. استخراج RNA با استفاده از کیت RNX-plus TM سیناژن انجام شد. برای سنجش کمیت، پس از تیمار DNase، نمونه‌ها با اسپکتروفتومتر (BioTek EpochTM 2, USA)، غلظت‌سنجی شدند. سنتز cDNA با استفاده از Fermentas kit انجام شد. برای تایید سنتز cDNA از ژن رفرنس اکتین استفاده شد. در این مطالعه میزان بیان ژن‌های *FNR* و *NTR* با استفاده از روش Real-time PCR با سه تکرار مورد بررسی قرار گرفت. توالی ژن‌های مورد نظر با جستجو در بانک اطلاعاتی NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) و طراحی آغازگرهای اختصاصی با استفاده از برنامه primer3 (<http://primer3.ut.ee>) صورت گرفت (پیوست ۱). واکنش Real-time PCR با استفاده از دستگاه Bio-Rad (CFX ManagerTM) و در حجم ۱۲/۵ میکرولیتر انجام شد. برای واکنش کنترل منفی همه مواد ذکر شده بدون cDNA به کار رفت و به منظور حفظ حجم نهایی واکنش، به همان میزان از آب مقطر استریل استفاده شد. چرخه حرارتی مورد استفاده شامل ۳ دقیقه واسرشته‌سازی اولیه در 95°C ، سپس ۴۰ سیکل بصورت ۱۰ ثانیه واسرشته‌سازی در 95°C ، ۲۰ ثانیه مرحله اتصال آغازگر در دمای اتصال، ۱۵ ثانیه مرحله بسط در دمای 72°C بود. در این آزمایش از روش $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ جهت نرمال‌سازی داده‌ها استفاده شد. معنی‌داری بیان نسبی ژن‌های مورد مطالعه براساس حداقل دو برابر بیان محاسبه شد (Livak & Schmittgen 2001).

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر متقابل تنش در ژنوتیپ برای صفات طول ریشه، وزن خشک اندام هوایی، وزن خشک ریشه، ضریب آلومتریک، وزن آب ریشه، کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، کاروتنوئید و آنتوسیانین در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود. همچنین اثر ساده ژنوتیپ برای صفات طول اندام هوایی، وزن تر ریشه، وزن خشک ریشه نسبت به ساقه در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود. اثر ساده تیمار برای صفات طول اندام هوایی، وزن تر اندام هوایی، وزن تر ریشه، RWC، وزن آب ساقه و سطح برگ در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). مقایسه میانگین‌ها نشان داد در هر سطح تنش تفاوت معنی‌داری بین قطر ساقه ژنوتیپ‌ها وجود نداشت. در ژنوتیپ SLM046 با افزایش سطح تنش به ۲۰ درصد FC در سطح احتمال ۱ درصد کاهش معنی‌داری در قطر ساقه ایجاد شد. تغییر معنی‌داری در قطر ساقه ژنوتیپ Licord با افزایش سطح تنش وجود نداشت (شکل A۱). افزایش سطح تنش نسبت به شرایط بدون تنش، تفاوت معنی‌داری در طول اندام هوایی ژنوتیپ‌ها ایجاد نکرد. در هر سطح تنش تفاوت معنی‌داری در طول اندام هوایی ژنوتیپ‌ها وجود نداشت. افزایش سطح تنش از ۵۰ درصد به ۲۰ درصد FC سبب کاهش معنی‌دار طول اندام هوایی در ژنوتیپ SLM046 شد، به طوری که از ۳۴/۸۵ به ۲۸/۵ سانتی‌متر رسید (شکل B۱). بیش‌ترین طول ریشه مربوط به ژنوتیپ SLM046 در سطوح تنش ۲۵ و ۲۰ درصد FC بود. طول ریشه SLM046 در سطح ۱۰۰ درصد FC تفاوتی با سطوح ۷۵ و ۵۰ درصد FC نداشت و با افزایش سطح تنش به ۲۵ و ۲۰ درصد FC طول ریشه افزایش معنی‌داری نشان داد. طول ریشه در ژنوتیپ Licord در سطوح مختلف تنش خشکی نسبت به شرایط بدون تنش تغییر معنی‌داری نداشت. افزایش سطح تنش از ۵۰ به ۲۵ و ۲۰ درصد FC سبب کاهش معنی‌دار طول ریشه ژنوتیپ Licord شد (شکل C۱). وزن تر اندام هوایی در سطوح مختلف تنش در بین دو ژنوتیپ مشابه بود. بیش‌ترین وزن تر اندام هوایی در هر دو ژنوتیپ مربوط به سطح ۱۰۰ درصد FC بود. با افزایش سطح تنش در هر دو ژنوتیپ وزن تر اندام هوایی نسبت به شرایط بدون تنش کاهش معنی‌داری نشان داد. به طوری که کم‌ترین میزان وزن تر اندام هوایی مربوط به سطوح ۲۵ و ۲۰ درصد FC بود (شکل D۱). وزن تر ریشه در سطح ۱۰۰ درصد FC در دو ژنوتیپ تفاوت معنی‌داری نداشت. در سطوح تنش ۷۵، ۵۰، ۲۵ و ۲۰ درصد FC میزان وزن تر ریشه در ژنوتیپ SLM046 بیش‌تر از Licord بود. وزن تر ریشه ژنوتیپ SLM046 در سطوح ۷۵، ۵۰ و ۲۵ درصد FC تفاوت معنی‌داری با ۱۰۰ درصد FC نداشت. ولی در ۲۰ درصد FC وزن تر ریشه ژنوتیپ SLM046 کاهش معنی‌داری یافت. همچنین وزن تر ریشه در ژنوتیپ Licord در سطح ۲۰ درصد FC به طور معنی‌داری کاهش یافت. به عبارت دیگر وزن تر ریشه در هر دو ژنوتیپ در سطح ۲۰ درصد FC به طور معنی‌داری کاهش یافت (شکل E۱). در شرایط ۱۰۰ درصد FC وزن خشک اندام هوایی Licord به طور معنی‌داری بیش‌تر از SLM046 بود. افزایش سطح تنش نسبت به شرایط بدون تنش سبب کاهش وزن خشک اندام هوایی در هر دو ژنوتیپ شد. وزن خشک اندام هوایی در سطوح ۷۵، ۵۰ و ۲۰ درصد FC

در ژنوتیپ Licord کم‌تر از SLM046 بود. وزن خشک اندام هوایی در دو ژنوتیپ در سطح ۲۵ درصد FC تفاوت معنی‌داری نشان نداد (شکل F۱). در شرایط ۱۰۰ درصد FC تفاوت معنی‌داری بین وزن خشک ریشه دو ژنوتیپ وجود نداشت. افزایش سطح تنش نسبت به شرایط بدون تنش، تغییر معنی‌داری در وزن خشک ریشه SLM046 ایجاد نکرد، در حالی که وزن خشک ریشه در ژنوتیپ Licord با افزایش سطح تنش به ۷۵ درصد FC کاهش معنی‌داری نشان داد. وزن خشک ریشه Licord در سطوح ۷۵، ۵۰، ۲۵ و ۲۰ درصد FC مشابه بود و در تمامی سطوح ۷۵، ۵۰، ۲۵ و ۲۰ درصد FC وزن خشک ریشه در ژنوتیپ SLM046 بیش‌تر از Licord بود (شکل G۱). میزان RWC در هر دو ژنوتیپ در سطوح مختلف تقریباً مشابه بود و گیاهانی که در حد ظرفیت زراعی آبیاری شدند، بیش‌ترین RWC را داشتند.

جدول ۱. تجزیه واریانس صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی ژنوتیپ‌های کلزا

Table 1. Analysis of variance for morphological and physiological traits of Canola

منابع تغییرات Source of variance	قطر ساقه (cm)stem Diameter	طول اندام هوایی Shoot length (cm)	طول ریشه Root length (cm)	وزن آب اندام هوایی Shoot fresh weight (g)	وزن آب ریشه Root fresh weight (g)
	درجه آزادی df	میانگین مربعات MS	درجه آزادی df	میانگین مربعات MS	درجه آزادی df
ژنوتیپ Genotype	1	0.07 ^{n.s}	1	20.80 ^{**}	1
تیمار Treatment	4	0.76 ^{**}	4	16.01 ^{**}	4
ژنوتیپ در تیمار Genotype* Treatment	4	0.35 [*]	4	3.87 ^{n.s}	4
خطا Error	22	-	19	-	20
ضریب تغییرات Coefficient of variation(CV)	-	6.49	-	3.76	-

منابع تغییرات Source of variance	وزن خشک اندام هوایی Shoot dry weight (g)	وزن خشک ریشه Root dry weight (g)	محتوای نسبی آب برگ RWC (%)	ضریب آلومتریکی Allometric coefficient
	درجه آزادی df	میانگین مربعات MS	درجه آزادی df	میانگین مربعات MS
ژنوتیپ Genotype	1	*0.0012	1	**0.048
تیمار Treatment	4	**0.13	4	**0.006
ژنوتیپ در تیمار Genotype* Treatment	4	**0.08	4	**0.001
خطا Error	23	-	22	-

ضریب تغییرات Coefficient of variation (CV)	-	1.19	-	10.78	-	4.30	-	3.38
--------------------------------------------------	---	------	---	-------	---	------	---	------

Table 1. Continued

ادامه جدول ۱

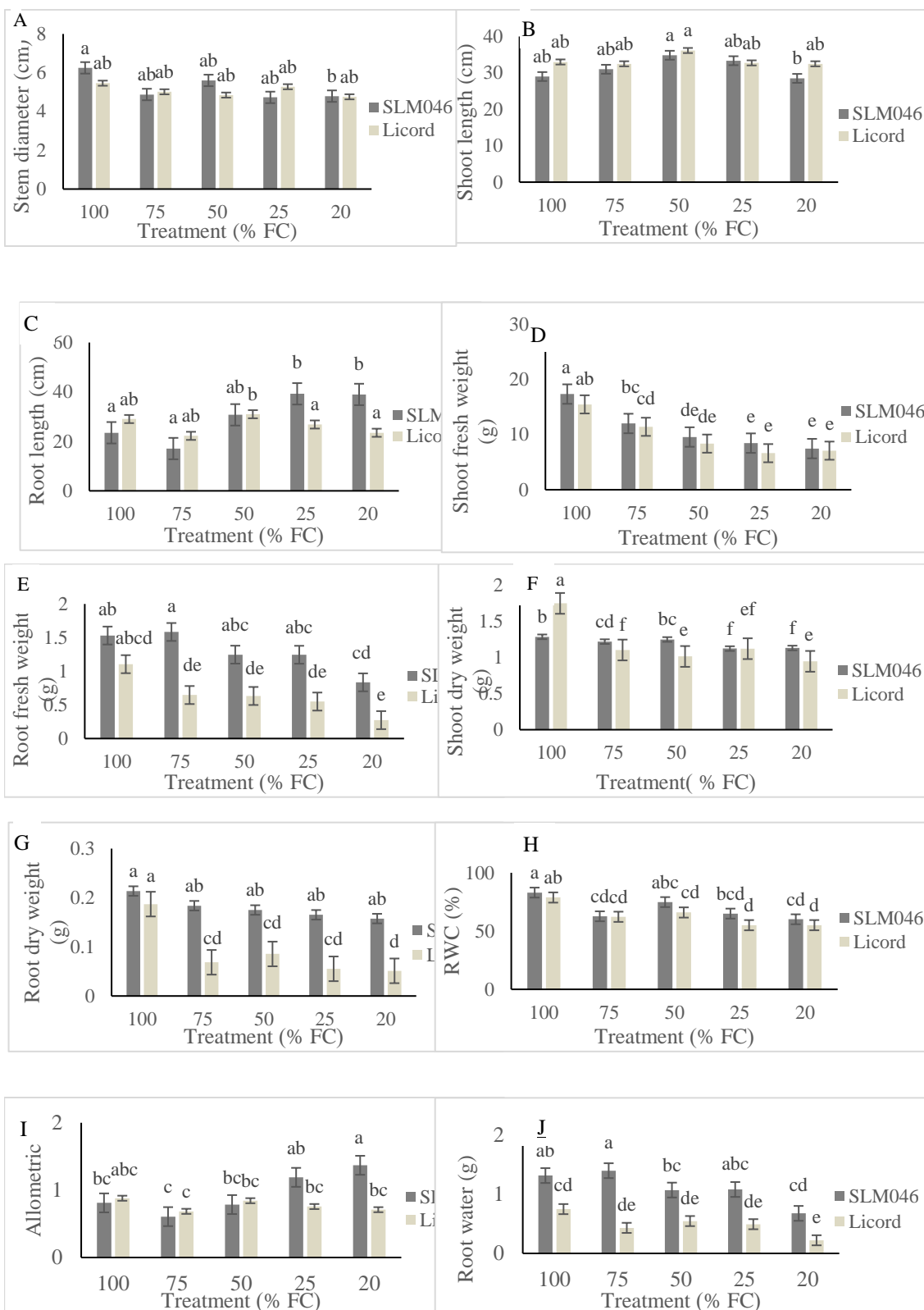
منابع تغییرات Source of variance	وزن آب ریشه Root water (g)	وزن آب اندام هوایی Shoot water (g)	سطح برگ Leaf Area (mm ²)	نسبت وزن خشک ریشه به ساقه Root to shoot dry weight ratio
	درجه آزادی df	میانگین مربعات df	درجه آزادی df	میانگین مربعات df
	df	MS	df	MS
ژنوتیپ Genotype	1	**2.14	1	3.22 ^{n.s}
تیمار Treatment	4	**0.19	4	36.45**
ژنوتیپ در تیمار Genotype* Treatment	4	**0.03	4	0.40 ^{n.s}
خطا Error	18	-	20	-
ضریب تغییرات Coefficient of variation (CV)	-	6.91	-	10.24
				5.98
				13.20

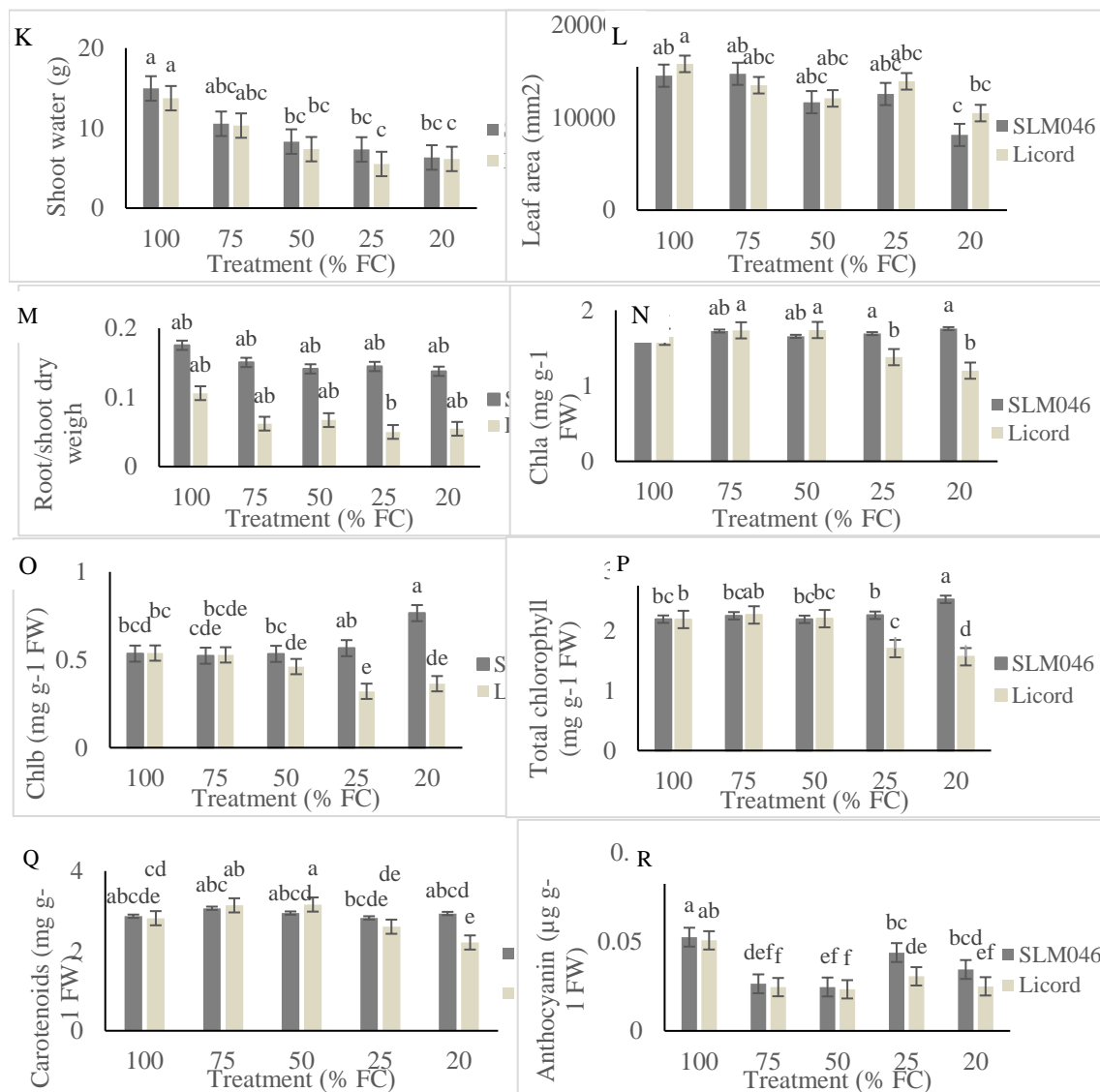
منابع تغییرات Source of variance	کلروفیل a Chlorophyll a (mg g ⁻¹ FW)	کلروفیل b Chlorophyll b (mg g ⁻¹ FW)	کلروفیل کل Total Chlorophyll (mg g ⁻¹ FW)	کاروتنوئید Carotenoids (mg g ⁻¹ FW)	آنتوسیانین Anthocyanin (μg g ⁻¹ FW)
	درجه آزادی df			میانگین مربعات MS	
	df			MS	
ژنوتیپ Genotype	1	**0.18	**0.15	**0.67	0.15**
تیمار Treatment	4	**0.06	**0.01	**0.08	0.30**
ژنوتیپ در تیمار Genotype* Treatment	4	**0.10	**0.04	**0.29	0.19**
خطا Error	29	-	-	-	-
ضریب تغییرات Coefficient of variation (CV)	-	2.22	2.08	1.36	2.46
					4.81

ns, * and **: Non significant, significant at 1 and 5% probability level, respectively.

با اعمال ۷۵ درصد FC میزان RWC در هر دو ژنوتیپ کاهش یافت. با افزایش سطح تنش به ۵۰ درصد FC میزان RWC در ژنوتیپ SLM046 به حالت اولیه بازگشت، اما با افزایش سطح تنش به ۲۵ و ۲۰ درصد FC میزان RWC مجدداً کاهش یافت. اعمال تنش در تمامی سطوح ۷۵، ۵۰، ۲۵ و ۲۰ درصد FC نسبت به شرایط بدون تنش سبب کاهش معنی‌دار میزان RWC در ژنوتیپ Licord شد (شکل H۱). ضریب آلومتریک در دو ژنوتیپ در سطح ۱۰۰، ۷۵، ۵۰ درصد FC تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشت. در سطح ۲۰ درصد FC ضریب آلومتریک در ژنوتیپ SLM046 نسبت به شرایط بدون تنش افزایش یافت. همچنین در این سطح ضریب آلومتریک در ژنوتیپ SLM046 بیش‌تر از Licord بود (شکل I۱). وزن آب ریشه در هر دو ژنوتیپ با افزایش سطح تنش به ۲۰ درصد FC در سطح احتمال ۱ درصد کاهش معنی‌داری نسبت به شرایط بدون تنش نشان داد. در همه سطوح میزان وزن آب ریشه در ژنوتیپ SLM046 بیش‌تر از Licord بود (شکل J۱). وزن آب اندام هوایی در همه سطوح بین دو ژنوتیپ مشابه بود. در هر دو ژنوتیپ وزن آب اندام هوایی در سطح ۷۵ درصد FC تفاوت معنی‌داری با سطح ۱۰۰ درصد FC نداشت. با افزایش سطح تنش به ۲۵ و ۲۰ درصد FC وزن آب اندام هوایی در هر دو ژنوتیپ به طور معنی‌داری کاهش یافت (شکل K۱). سطح برگ در هر دو ژنوتیپ در سطوح ۷۵، ۵۰ و ۲۵ درصد FC تفاوت معنی‌داری با ۱۰۰ درصد FC نداشت و سطح برگ در هر دو ژنوتیپ در سطح ۲۰ درصد FC نسبت به شرایط بدون تنش به طور معنی‌داری کاهش یافت. سطح برگ در دو ژنوتیپ در سطوح مختلف تنش با یکدیگر مشابه بود (شکل L۱). افزایش سطح تنش تغییر معنی‌داری در نسبت وزن خشک ریشه به ساقه در هر دو ژنوتیپ ایجاد نکرد (شکل M۱). میزان کلروفیل a در سطوح مختلف تنش در ژنوتیپ SLM046 تغییر معنی‌داری نشان نداد. در ژنوتیپ Licord در سطوح ۷۵ و ۵۰ درصد FC میزان کلروفیل a تفاوت معنی‌داری با ۱۰۰ درصد FC نشان نداد. با افزایش سطح تنش به ۲۵ و ۲۰ درصد FC میزان کلروفیل a در ژنوتیپ Licord به طور معنی‌داری کاهش یافت. در سطوح ۱۰۰، ۷۵ و ۵۰ درصد FC میزان کلروفیل a در دو ژنوتیپ مشابه بود. در سطوح ۲۵ و ۲۰ درصد FC میزان کلروفیل a در ژنوتیپ SLM046 به طور معنی‌داری بیش‌تر از Licord بود (شکل N۱). اعمال تنش خشکی در سطوح ۷۵، ۵۰ و ۲۵ درصد FC تفاوت معنی‌داری در میزان کلروفیل b در ژنوتیپ SLM046 ایجاد نکرد. با افزایش سطح تنش به ۲۰ درصد FC نسبت به شرایط بدون تنش میزان کلروفیل b در SLM046 به طور معنی‌داری افزایش یافت. در ژنوتیپ Licord میزان کلروفیل b در سطح ۷۵ درصد FC تفاوت معنی‌داری با ۱۰۰ درصد FC نشان نداد. با افزایش سطح تنش به ۲۵ و ۲۰ درصد FC میزان کلروفیل b در Licord به طور معنی‌داری کاهش یافت. میزان کلروفیل b در سطوح ۱۰۰ و ۷۵ درصد FC در دو ژنوتیپ تفاوت معنی‌داری نداشت. در سطوح ۵۰، ۲۵ و ۲۰ درصد FC مقدار کلروفیل

b در ژنوتیپ SLM046 به طور معنی‌داری بیش‌تر از Licord بود (شکل O۱). محتوای کلروفیل کل در سطوح ۷۵، ۵۰ و ۲۵ درصد FC در ژنوتیپ SLM046 مشابه سطح ۱۰۰ درصد FC بود. با افزایش سطح تنش به ۲۰ درصد FC محتوای کلروفیل کل در SLM046 به طور معنی‌داری افزایش یافت. محتوای کلروفیل کل در سطوح ۷۵ و ۵۰ درصد FC در ژنوتیپ Licord مشابه سطح ۱۰۰ درصد FC بود و با افزایش سطح تنش به ۲۵ و ۲۰ درصد FC محتوای کلروفیل کل در ژنوتیپ Licord نسبت به شرایط بدون تنش به طور معنی‌داری کاهش یافت. در سطوح ۱۰۰، ۷۵ و ۵۰ درصد FC محتوای کلروفیل کل در ژنوتیپ‌ها مشابه بود. در سطوح ۲۵ و ۲۰ درصد FC محتوای کلروفیل کل در ژنوتیپ SLM046 به طور معنی‌داری بیش‌تر از Licord بود (شکل P۱). میزان کاروتنوئید در سطح ۲۰ درصد FC در ژنوتیپ SLM046 بیش‌تر از Licord بود. میزان کاروتنوئید در SLM046 در همه سطوح تنش تغییری نکرد، اما میزان کاروتنوئید در ژنوتیپ Licord در سطوح ۷۵ و ۵۰ افزایش یافت و در سطح ۲۰ درصد FC کاهش معنی‌داری یافت. کم‌ترین میزان کاروتنوئید مربوط به ژنوتیپ Licord در سطح ۲۰ درصد FC بود و در این سطح تنش میزان کاروتنوئید در ژنوتیپ SLM046 به طور معنی‌داری بیش‌تر از Licord بود (شکل Q۱). در شرایط ۱۰۰، ۷۵ و ۵۰ درصد FC میزان آنتوسیانین در دو ژنوتیپ مشابه بود. در سطوح ۲۵ و ۲۰ درصد FC میزان آنتوسیانین در ژنوتیپ SLM046 بیش‌تر از Licord بود. میزان آنتوسیانین در سطوح مختلف تنش خشکی نسبت به شرایط بدون تنش در هر دو ژنوتیپ به طور معنی‌داری کاهش یافت (شکل R۱). خشکی در سطوح ۲۵ و ۲۰ درصد FC سبب افزایش طول ریشه در SLM046 شد. اما تغییر معنی‌داری در طول ریشه ژنوتیپ Licord ایجاد نکرد. در مطالعه‌ای طول ریشه در کلزا در شرایط خشکی به طور معنی‌داری افزایش یافت (Rezayian et al. 2018). بالعکس در مطالعه دیگری اعمال تنش خشکی در کلزا سبب کاهش طول ریشه شد (Seyedahmadi et al. 2012; Khodabin et al. 2020). طول ریشه یکی از خصوصیات مورفولوژی گیاهان است که که شدیداً تحت تاثیر تنش خشکی قرار می‌گیرد و در ژنوتیپ‌های مختلف ممکن است عکس‌العمل در شرایط تنش خشکی متفاوت باشد (Ahmar et al. 2019). افزایش طول ریشه در ژنوتیپ SLM046 می‌تواند در جذب آب بیش‌تر از خاک در شرایط تنش خشکی بسیار موثر باشد و سبب افزایش مقاومت گیاه به تنش خشکی شود. از طرفی عدم تغییر طول ریشه در شرایط تنش خشکی در ژنوتیپ Licord می‌تواند سبب کاهش توانایی گیاه برای جذب آب در شرایط تنش خشکی بویژه در شرایط خشکی شدید و بسیار شدید شود. طول اندام هوایی در هر ژنوتیپ با افزایش سطح تنش تغییر معنی‌داری نکرد. در واقع اعمال تنش خشکی بر طول ریشه ژنوتیپ SLM046 بسیار موثر بود اما تغییر معنی‌داری در طول اندام هوایی آن ایجاد نکرد. این می‌تواند نشان‌دهنده اثر بیش‌تر تنش خشکی بر ریشه نسبت به اندام هوایی باشد. اعمال سطوح تنش خشکی شدیدتر سبب کاهش قطر ساقه در ژنوتیپ SLM046 شد و تغییری در قطر ساقه Licord ایجاد نکرد. احتمالاً بیش‌ترین انرژی گیاه صرف افزایش طول ریشه ژنوتیپ SLM046 شده و قطر ساقه در تنش کاهش یافته است.





شکل ۱. تأثیر سطوح تنش خشکی ۱۰۰ (شاهد)، ۷۵، ۵۰، ۲۵ و ۲۰ درصد FC بر صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی ژنوتیپ‌های SLM046 و Licord. (A) قطر ساقه، (B) طول اندام هوایی، (C) طول ریشه، (D) وزن آب اندام هوایی، (E) وزن آب ریشه، (F) وزن خشک اندام هوایی، (G) وزن خشک ریشه، (H) محتوای نسبی آب، (I) ضریب آلومتریکی، (J) وزن آب ریشه، (K) وزن آب اندام هوایی، (L) سطح برگ، (M) نسبت وزن خشک ریشه به ساقه، (N) کلروفیل a، (O) کلروفیل b، (P) کلروفیل کل، (Q) کاروتنوئید، (R) آنتوسیانین

Figure 1. Effect of drought stress levels of 100 (control), 75, 50, 25 and 20% FC on morphological and physiological traits of SLM046 and Licord genotypes of Canola. A) Stem Diameter, B) Shoot length, C) Root length, D) Shoot fresh weight, E) Root fresh weight, F) Shoot dry weight, G) Root dry weight, H) RWC, I) Allometric coefficient, J) Root water, K) Shoot water, L) Leaf Area, M) Root to shoot dry weight ratio, N) Chlorophyll a, O) Chlorophyll b, P) Total Chlorophyll, Q) Carotenoids, R) Anthocyanin

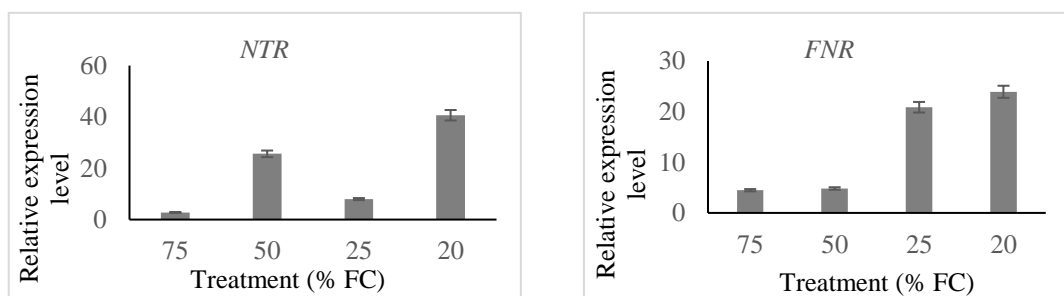
در مطالعه‌ای اعمال تنش خشکی و گرما سبب کاهش قطر ساقه در کلزا شد (Wu et al. 2017). نتایج نشان داد اعمال تنش خشکی سبب کاهش وزن تر اندام هوایی و ریشه در هر دو ژنوتیپ شد. اثر تنش خشکی بر وزن تر اندام هوایی در هر دو ژنوتیپ تقریباً مشابه بود. کم‌ترین وزن تر اندام هوایی و ریشه در هر دو ژنوتیپ در سطوح تنش شدید و بسیار شدید بود. این نشان‌دهنده اثر سطوح تنش خشکی شدید و بسیار شدید بر کاهش وزن تر ریشه و اندام هوایی در ژنوتیپ‌های مورد بررسی است. اعمال تنش خشکی می‌تواند سبب کاهش وزن تر اندام هوایی شود (Khodabin et al. 2020; Rezayian et al. 2018). اعمال سطح تنش بسیار شدید سبب کاهش وزن آب ریشه در هر دو ژنوتیپ شد. با این حال در همه سطوح تنش میزان وزن آب ریشه در ژنوتیپ SLM046 بیش‌تر از Licord بود. با افزایش سطح تنش به ۵۰، ۲۵ و ۲۰ درصد FC وزن آب اندام هوایی در هر دو ژنوتیپ کاهش یافت که این می‌تواند نشان‌دهنده اثر شدیدتر خشکی بر وزن آب اندام هوایی باشد و بیانگر این موضوع باشد که اندام هوایی قبل از ریشه آب خود را از دست می‌دهد. در مطالعه‌ای مشخص شد که کلزای پاییزه در تمام فصل رشد به میزان زیادی به آب نیاز داشت و سازگاری کمی با تنش خشکی داشت. تنش خشکی بر رشد ریشه و رشد گیاه تأثیر می‌گذارد و در نهایت منجر به کاهش قابل توجه عملکرد و اجزای عملکرد می‌شود. وارپته‌ای که سازگاری بیش‌تری با محیط خشک دارد می‌تواند تعرق آب را به میزان قابل توجهی کاهش دهد و از اثرات ناشی از تنش جلوگیری کند (Wang & Peng 2021). در شرایطی که آبیاری در سطح ۱۰۰ درصد FC انجام شد، وزن خشک اندام هوایی در ژنوتیپ Licord بیش‌تر از SLM046 و وزن خشک ریشه مشابه بود. اما اعمال تنش در سطح ۷۵ درصد FC سبب کاهش وزن خشک اندام هوایی در هر دو ژنوتیپ شد. اکثر سطوح تنش مورد بررسی سبب شد وزن خشک اندام هوایی در ژنوتیپ Licord کم‌تر از SLM046 باشد. اعمال تنش خشکی سبب کاهش وزن خشک ریشه در هر دو ژنوتیپ شد. در مطالعه‌ای مشخص شد که در شرایط خشکی وزن خشک اندام هوایی، وزن خشک ریشه و وزن خشک کل کاهش می‌یابد (Li et al. 2018). در تمامی سطوح تنش وزن خشک ریشه در ژنوتیپ SLM046 بیش‌تر از Licord بود. کم‌تر بودن وزن خشک ریشه در شرایط تنش خشکی در ژنوتیپ Licord می‌تواند سبب افزایش حساسیت این ژنوتیپ به تنش خشکی شود. اعمال تنش خشکی سبب کاهش میزان RWC در هر دو ژنوتیپ شد. این نشان‌دهنده اثر تنش خشکی بر کاهش محتوای نسبی آب برگ در هر دو ژنوتیپ است. در مطالعه‌ای مشخص شد که تنش خشکی منجر به کاهش RWC می‌شود. هنگامی که گیاهان تحت تنش خشکی قرار دارند، پتانسیل آب در برگ‌ها کاهش می‌یابد. کمبود آب در گیاهان می‌تواند با کاهش باز شدن روزنه‌های برگ اتفاق بیفتد (Sharif et al. 2018). همچنین در مطالعه دیگری در کلزا مشخص شد که اعمال تنش‌های محیطی مانند خشکی و شوری سبب کاهش محتوای نسبی آب برگ می‌شود (Yousefi et al. 2016). سطح برگ در شرایط آبیاری مناسب و سطوح مختلف تنش در هر دو ژنوتیپ مشابه بود. در سطح تنش ۲۰ درصد FC سطح برگ در هر دو ژنوتیپ کاهش یافت. این نشان‌دهنده این است که ژنوتیپ‌ها عکس‌العمل مشابه‌ای از نظر سطح برگ در شرایط مختلف داشتند. در مطالعات مختلف اعمال تنش خشکی سبب تغییرات ظاهری گیاهچه‌ها و کاهش سطح برگ در ارقام مختلف کلزا شد

(Rezayian et al. 2018; Pasandideh Arjmand et al. 2023) در مطالعه دیگری نیز تنش خشکی سبب کاهش سطح برگ شد (Li et al., 2018). گیاهان از استراتژی‌های مختلف همچون کاهش سطح برگ، بسته شدن روزنه‌ها و افزایش طول ریشه برای اجتناب از خشکی استفاده می‌کنند (Wu et al. 2018). در شرایط خشکی بسیار شدید سطح برگ در هر دو ژنوتیپ کاهش یافت تا سبب کاهش تعریق و جلوگیری از هدررفت آب در شرایط خشکی شود. در سطوح تنش شدید و بسیار شدید نسبت طول ریشه به اندام هوایی در ژنوتیپ SLM046 بیش‌تر از Licord بود. بیش‌تر بودن نسبت طول ریشه به طول اندام هوایی و همچنین افزایش نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی می‌تواند در افزایش مقاومت گیاه در برابر تنش خشکی بسیار مهم باشد. در مطالعه‌ای اعمال تنش خشکی در کلزا سبب کاهش نسبت طول ریشه به اندام هوایی شد (Li et al. 2018). در مطالعه دیگری اعمال تنش خشکی سبب افزایش معنی‌دار نسبت طول ریشه به اندام هوایی در ژنوتیپ متحمل شد (Pasandideh Arjmand et al. 2018). کاهش نسبت طول ریشه به اندام هوایی و نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی در شرایط تنش خشکی می‌تواند سبب حساسیت گیاه به تنش خشکی شود. در واقع هنگامی که گیاهان تحت تنش خشکی قرار می‌گیرند، روند رشد مختل شده و طول اندام هوایی و ریشه گیاهچه و وزن آن کاهش می‌یابد (Li et al. 2018). نتایج نشان داد اعمال تنش خشکی تغییری در میزان کلروفیل a در SLM046 ایجاد نکرد، اما در سطح بسیار شدید تنش سبب افزایش کلروفیل b و کلروفیل کل در این ژنوتیپ شد. در ژنوتیپ Licord افزایش سطح تنش سبب کاهش کلروفیل a، b و کلروفیل کل شد. در مطالعه‌ای تنش خشکی طولانی مدت باعث کاهش محتوای کلروفیل کل شد که در ارقام > ساس به طور معنی‌داری بیش‌تر از ارقام مقاوم به خشکی بود (Sharifi & Mohammadkhani 2016). محتوای کلروفیل برگ می‌تواند اطلاعات مهمی را برای درک تنش گیاهی، وضعیت فیزیولوژیکی و پتانسیل فتوسنتز ارائه دهد (Cui et al. 2019). زیرا تنش خشکی بر کلروپلاست‌ها و رنگدانه‌های آن‌ها تأثیر گذاشته و باعث تغییر میزان کلروفیل a و b می‌شود (Khodabin et al. 2020). بررسی محتوای کلروفیل برگ نشان داد که در شرایط تنش شدید و بسیار شدید ژنوتیپ SLM046 از نظر محتوای کلروفیل عکس‌العمل متفاوتی نسبت به ژنوتیپ Licord دارد و در این شرایط میزان کلروفیل b و کلروفیل کل در ژنوتیپ SLM046 افزایش می‌یابد که این می‌تواند در افزایش توانایی گیاه برای فتوسنتز در شرایط تنش موثر باشد. اعمال تنش خشکی در سطوح کم‌تر سبب افزایش میزان کاروتنوئید در ژنوتیپ Licord شد. اما میزان کاروتنوئید در سطوح مختلف تنش در SLM046 تغییری نکرد. با این حال در اکثر شرایط تنش، میزان کاروتنوئید در SLM046 بیش‌تر از Licord بود. افزایش مقادیر کاروتنوئیدها در شرایط تنش خشکی به دلیل نقش آن‌ها در سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی که از کلروفیل‌ها محافظت می‌کند، پیش‌بینی می‌شود. افزایش قابل توجه مقادیر کاروتنوئیدها در تنش خشکی نشان‌دهنده نقش آن‌ها در تنظیم میزان رادیکال‌های فعال اکسیژن است (Navabpour et al., 2015; Khodabin et al., 2020). میزان کاروتنوئید ژنوتیپ Licord در سطوح شدید و بسیار شدید تنش خشکی کاهش یافت. در مطالعه‌ای مشخص شد که اعمال تنش خشکی در کلزا سبب کاهش محتوای کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید می‌شود (Khodabin et al. 2020). کاهش میزان کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید تحت شرایط خشکی در

بسیاری از گیاهان گزارش شده است (Keyvan, 2010; Singh and Reddy, 2011; Taibi et al., 2016; Mathobo et al., 2017; Khodabin et al., 2020). میزان آنتوسیانین در سطوح شدید و بسیار شدید خشکی در هر دو ژنوتیپ کاهش یافت. در این سطوح میزان آنتوسیانین در SLM046 بیش تر از Licord بود. در مطالعه‌ای اعمال تنش خشکی در کلزا سب کاهش معنی‌دار محتوای آنتوسیانین شد (Rezayian et al. 2018). آنتوسیانین‌ها ترکیباتی هستند که در شرایط تنش به عنوان آنتی‌اکسیدان عمل می‌کنند (Kim et al., 2017). بنابراین میزان بیش تر آنتوسیانین در ژنوتیپ SLM046 در سطوح شدید و بسیار شدید تنش می‌تواند در کاهش آسیب‌های ناشی از تنش بسیار موثر باشد.

بررسی بیان نسبی ژن‌های *FNR* و *NTR*: نتایج نشان داد بیان ژن *FNR* در ژنوتیپ متحمل به خشکی

SLM046 با افزایش سطح تنش به تدریج بصورت صعودی افزایش پیدا کرد و در سطح ۲۰ درصد FC به بالاترین میزان خود رسید (شکل ۲). نتایج حاصل از بررسی بیان ژن *NTR* در ژنوتیپ SLM046 تحت شرایط بدون تنش و تنش خشکی نشان داد که بیان این ژن در ژنوتیپ SLM046 با افزایش سطح تنش خشکی به شدت افزایش پیدا کرد، به طوری که در سطح ۲۰ درصد FC به بالاترین میزان خود رسید (شکل ۲).



شکل ۲. الگوی بیان ژن‌های *FNR* و *NTR* در SLM046 با تکنیک Real-time PCR تحت تنش خشکی
 Figure 2. Expression pattern of *FNR* and *NTR* genes in SLM046 by Real-time PCR technique under drought stress

در شرایط تنش خشکی، روزنه‌ها بسته می‌شوند و متعاقب آن غلظت CO_2 در بافت مزوفیل کاهش می‌یابد و به دنبال این وضعیت واکنش‌های تاریکی فتوسنتز (کالوین) مختل شده و محصولات حاصل از واکنش‌های روشنایی، که شامل ATP و NAD(P)H است، مصرف نمی‌شوند. در چنین شرایطی میزان مولکول NAD(P)H افزایش یافته و با انتقال الکترون به مولکول اکسیژن در مسیر زنجیره انتقال الکترون رادیکال سوپر اکسید (O_2^-)، پراکسید هیدروژن (H_2O_2) و رادیکال هیدروکسیل (OH^\cdot) تشکیل می‌شود (Sairam & Saxena 2000; Türkan et al. 2005). رادیکال‌های آزاد ایجاد شده با آسیب‌های مولکولی و

سلولی به گیاه در نهایت باعث مرگ گیاه می شوند. اگر افزایش NADPH از طریق مسیرهای دیگر کاهش پیدا نکند گیاه آسیب خواهد دید و فعالیت این ژن در گیاه در روشنایی سبب افزایش تولید NADPH می شود و در اثر بسته شدن روزنه‌ها در هنگام تنش خشکی، به دلیل عدم مصرف NADPH نسبت به NADP⁺ جهت تثبیت دی اکسید کربن در چرخه کالوین افزایش می‌یابد. افزایش این نسبت باعث تولید NADPH بیش‌تر در کلروپلاست شده و متعاقب آن تولید فرم‌های فعال اکسیژن افزایش می‌یابد (Mittler et al. 2004) و در نهایت گیاه با تنش اکسیداتیو مواجه می‌شود. این افزایش بیان ژن *FNR* در سطوح کم‌تر تنش که با تولید NADPH مواجه است اگر از طریق مسیرهای دیگر مصرف نشود برای گیاه خطرناک خواهد بود. اگر میزان NADPH تولید شده در کلروپلاست توسط سایر عوامل آنتی اکسیدان کنترل نشود خطرات آسیب اکسیداتیو افزایش خواهد یافت (Palatnik et al. 1997). بنابراین تولید NADPH در زمان تنش باید کنترل شود. کاهش بیان ژن *FNR* در سطوح کم‌تر تنش باعث کاهش تولید NAD(P)H و در نهایت ROS خواهد شد. به نظر می‌رسد گیاه با کاهش میزان بیان ژن مذکور در سطوح پایین‌تر می‌تواند تنش اکسیداتیو ناشی از تنش خشکی را کاهش دهد. بیان ژن *FNR* در ژنوتیپ SLM046 در سطوح ۷۵ و ۵۰ درصد FC کم بود و گیاه با کاهش بیان این ژن در سطوح کم‌تر، میزان تولید NADPH را کاهش می‌دهد. زیرا همانطور که گفته شد این آنزیم با اکسید کردن فردوکسین سبب تبدیل NADP⁺ به NADPH می‌شود و NADPH بدلیل بسته شدن روزنه مصرف نمی‌شود. گیاه برای جلوگیری از تولید رادیکال‌های آزاد با کاهش بیان این آنزیم مسیر تولید NADPH را متوقف می‌کند و از این طریق نسبت NADPH به NADP⁺ را کاهش می‌دهد و با کاهش این نسبت، تولید گونه‌های فعال نیز کاهش می‌یابد. بنابراین گیاه توانسته با سرکوب این ژن در سطوح کم، تنش خشکی را مدیریت کند. در سطوح ۲۵ و ۲۰ درصد FC میزان بیان ژن *FNR* افزایش یافت، که نشان می‌دهد گیاه با افزایش بیان ژن مذکور و سپس راه اندازی مسیر مصرف آن بتواند تنش خشکی را تحمل کند و سعی دارد که چرخه انتقال الکترون غیر خطی را راه اندازی کند و NADPH تولید شده را توسط چرخه کالوین به مصرف برساند. این افزایش بیان ژن *FNR* در مطالعه Lehtimäki et al. (2010) نیز دیده شده بود. با افزایش تدریجی بیان ژن *NTR* در ژنوتیپ SLM046 می‌توان آن را به عنوان یکی از مسیرهای ایجاد مقاومت در تنش اکسیداتیو دانست که گیاه با افزایش بیان آن در برابر تنش اکسیداتیو القا شده توسط تنش ا سمزی مقابله می‌کند. نتایج حاصل از بیان ژن *NTR* در ژنوتیپ متحمل نشان داد که در مجموع میزان بیان ژن *NTR* پایین بوده و با افزایش سطح تنش میزان بیان ژن مذکور به مراتب بیش‌تر شده است. فعال شدن این ژن در سطوح شدیدتر تنش خشکی در ژنوتیپ مقاوم کلزا می‌تواند با مصرف NADPH از تشکیل انواع اکسیژن فعال پیشگیری کند. در نتیجه آسیب‌های ناشی از تنش اکسیداتیو متوقف شده و به جای انتقال تک تک الکترون بر روی اکسیژن، چهار الکترون به طور یک باره به اکسیژن منتقل شده و آن را به مولکول آب تبدیل می‌کند. در تنش خشکی، به دلیل بسته شدن روزنه و عدم مصرف NAD(P)H میزان آن در سلول افزایش می‌یابد و گیاه تدابیر مختلفی برای حذف NAD(P)H به کار می‌برد تا از تولید گونه‌های فعال اکسیژن فعال و تنش اکسیداتیو ناشی از افزایش NAD(P)H جلوگیری کند. افزایش بیان ژن *NTR* با توجه به نقش مهم آن در تنش خشکی لازم است و نقش آن‌ها به منظور تنظیم حالت احیا

پروتئین‌های هدف و حفظ نسبت ROS در سلول حیاتی است. زیرا در این سیستم، *NTR* باعث احیا *TRX* در یک واکنش وابسته به *NADPH* می‌شود (Cha et al. 2014)، بنابراین *NADPH* اضافی در کلروپلاست را طی واکنش احیا مصرف می‌کند. نقش افزایش بیان *NTR* کلروپلاستی در رشد و پاسخ تنش‌های محیطی در آرابیدوپسیس در مطالعات مختلف اثبات شده است (Reichheld et al. 2007; Serrato et al. 2004). با توجه به نقش و اهمیت ژن‌های *FNR* و *NTR* در تنظیم میزان ROS حاصل از متابولیسم طبیعی گیاه و تنش خشکی، همکاری ژن‌های مذکور در مدیریت تنش اکسیداتیو در گیاه اهمیت بسزایی دارد. با افزایش سطح تنش خشکی واکنش نوری بر خلاف چرخه کالوین ادامه پیدا می‌کند، در نتیجه *FNR* باعث افزایش *NADPH* می‌شود. برای کاهش مقدار *NADPH*، به نظر می‌رسد ژنوتیپ *SLM046*، ژن *NTR* و مسیرهای دیگر را فعال می‌کند تا با کاهش *NADPH* بتواند نسبت *NADPH* به $NADP^+$ را کاهش دهد و از تنش اکسیداتیو جلوگیری کند. افزایش میزان بیان ژن‌های تحمل در کلزا در مطالعات قبلی نیز گزارش شده بود (Mohsenzadeh Golfazani et al., 2022; Taghvimi et al., 2024; Taghvaei et al., 2022; Ramezanzadeh Bishegahi et al., 2021).

نتیجه گیری: نتایج این پژوهش نشان داد سطوح مختلف تنش خشکی اثرات مختلفی بر صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی مورد بررسی در ژنوتیپ‌ها داشت. به نظر می‌رسد در سطوح کم‌تر تنش خشکی، عکس‌العمل ژنوتیپ *SLM046* و *Licord* در سطح مورفولوژی و فیزیولوژی تقریباً مشابه بود. اما در شرایط خشکی شدید و بسیار شدید ژنوتیپ *SLM046* تحمل بیشتری نسبت به تنش خشکی نشان داد. بررسی بیان نسبی ژن‌های مهم آنتی‌اکسیدانی در سطوح مختلف تنش خشکی در ژنوتیپ متحمل نیز تاییدکننده این نتایج بود. نتایج نشان داد در شرایطی که گیاهچه با خشکی شدید و بسیار شدید خاک مواجه می‌شود، کشت ژنوتیپ *SLM046* کلزا نسبت به *Licord* می‌تواند ارجحیت داشته باشد. در سطوح بالاتر تنش در ژنوتیپ *SLM046* افزایش بیان ژن *FNR* که تولید *NADPH* را به دنبال دارد احتمالاً به وسیله افزایش بیان ژن *NTR* تعدیل می‌شود و از این طریق با تنظیم بیان ژن‌های درگیر در استرس اکسیداتیو می‌تواند باعث تحمل به تنش خشکی و بقای گیاه شود.

سپاسگزاری: نگارندگان بر خود لازم می‌دانند از زحمات هیات محترم تحریریه مجله بیوتکنولوژی کشاورزی و همچنین دقت نظر داوران ارجمند به خاطر مطالعه متن پژوهش حاضر و ارائه نظرهای ارزشمند سپاسگزاری نمایند.

منابع

پسندیده ارجمند مریم، سمیع زاده لاهیجی حبیب اله، محسن زاده گلفزانی محمد (۱۳۹۷) اثر تنش خشکی بر برخی از خصوصیات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاهچه‌ای در کلزا (*Brassica napus*). علوم و تحقیقات بذر ایران، ۵(۲)، ۹۵-۱۰۸.

جعفری احمدآبادی سید علی اصغر، عسکری‌همت حشمت‌اله، محمدآبادی محمدرضا (۱۴۰۲) تاثیر شاهدانه بر بیان ژن *DLKI* در بافت قلب بره‌های کرمانی. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی، ۱۵(۱)، ۲۱۷-۲۳۴.

- رمضان زاده بیشه گاهی سحر، محسن زاده گلزانی محمد، سمیع زاده لاهیجی حبیب ا... (۱۴۰۰) تاثیر محلول پاشی متانول بر بیان برخی از ژن های میتوکندریایی در گیاه کلزا تحت تنش خشکی. علوم گیاهان زراعی ایران، ۵۲(۳)، ۱۱۳-۱۲۸.
- سید احمدی عبدالرضا، قرینه محمد حسین، بخشنده عبدالمهدی، فتحی قدرت الله، نادری احمد (۱۳۹۰) مطالعه اثر تنش خشکی انتهایی (پایان فصل رشد) بر روی عملکرد دانه، اجزای عملکرد، درصد روغن، درصد پروتئین و خصوصیات رشد ریشه کلزا (*Brassica napus*) در شرایط آب و هوایی اهواز. مجله تولیدات گیاهی ۳۴(۲)، ۶۶-۵۳.
- شکری سمیرا، خضری امین، محمدآبادی محمدرضا، خیرالدین حمید (۱۴۰۲) بررسی بیان ژن *MYH7* در بافت های ران، دست و راسته بره های پرواری نژاد کرمانی. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی، ۱۵(۲)، ۲۱۷-۲۳۶.
- محمدآبادی محمدرضا، گلکار افروز، عسکری حسنی مجید (۱۴۰۲) اثر رازیانه (*Foeniculum vulgare*) بر بیان ژن فاکتور ۱ رشد شبه انسولین در بافت شکمبه گوسفند کرمانی. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی، ۱۵(۴)، ۲۳۹-۲۵۶.

References

- Ahmad Z, Anjum S, Skalicky M, et al. (2021) Selenium alleviates the adverse effect of drought in oilseed crops Camelina (*Camelina sativa* L.) and Canola (*Brassica napus* L.). *Molecules* J 26, e1699.
- Ahmar S, Liaqat N, Hussain M, Salim MA, Shabbir MA, et al. (2019) Effect of abiotic stresses on Brassica species and role of transgenic breeding for adaptation. *Asian J Res Crop Sci* 3, 1-10.
- An JP, Zhang XW, Bi SQ, You CX, Wang XF, et al. (2020) The ERF transcription factor MdERF38 promotes drought stress-induced anthocyanin biosynthesis in apple. *The Plant J* 101, 573-89.
- Arnon DI. (1949) Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant physiol J* 24, e1.
- Barazandeh A, Mohammadabadi MR, Ghaderi-Zefrehei M, Nezamabadipour H (2016a) Predicting CpG Islands and Their Relationship with Genomic Feature in Cattle by Hidden Markov Model Algorithm. *Iran J Appl Anim Sci* 6 (3), 571-579 .
- Barazandeh A, Mohammadabadi MR, Ghaderi-Zefrehei M, Nezamabadipour H (2016b) Genome-wide analysis of CpG islands in some livestock genomes and their relationship with genomic features. *Czech J Anim Sci* 61, 487.
- Battaglia ML, Lee C, Thomason W (2018) Corn yield components and yield responses to defoliation at different row widths. *Agron J* 110, 210-25.
- Bielach A, Hrtyan M, Tognetti VB (2017) Plants under stress: involvement of auxin and cytokinin. *Int J Mol Sci* 18, e1427.
- Bordbar F, Mohammadabadi M, Jensen J, et al. (2022) Identification of candidate genes regulating carcass depth and hind leg circumference in simmental beef cattle using Illumina Bovine Beadchip and next-generation sequencing. *Animals* 12 (9), e1103.
- Cha J-Y, Barman DN, Kim MG, Kim W-Y (2015). Stress defense mechanisms of NADPH-dependent thioredoxin reductases (NTRs) in plants. *Plant Signal Behav J* 10, e1017698.

- Cha J-Y, Kim JY, Jung IJ, Kim MR, Melencion A, et al. (2014) NADPH-dependent thioredoxin reductase A (NTRA) confers elevated tolerance to oxidative stress and drought. *Plant Physiol Biochem J* 80, 184-91.
- Cirillo V, D'Amelia V, Esposito M, Amitrano C, Carillo P, et al. (2021) Anthocyanins are key regulators of drought stress tolerance in tobacco. *Biol J* 10, 139.
- Correll CC, Ludwig ML, Bruns CM, Karplus PA (1993) Structural prototypes for an extended family of flavoprotein reductases: comparison of phthalate dioxygenase reductase with ferredoxin reductase and ferredoxin. *Protein Sci J* 2, 2112-2133.
- Cui B, Zhao Q, Huang W, Song X, Ye H, et al. (2019) A new integrated vegetation index for the estimation of winter wheat leaf chlorophyll content. *Remote Sens J* 11, e974.
- Dong T, Shang J, Chen JM, Liu J, Qian B, et al. (2019) Assessment of portable chlorophyll meters for measuring crop leaf chlorophyll concentration. *Remote Sens J* 11, e2706.
- Hoagland DR, Arnon DI (1950) The water-culture method for growing plants without soil. *Circ Calif Agric Exp Stn* 347, 1-32.
- Jafari Ahmadabadi SAA, Askari-Hemmat H, Mohammadabadi M, et al. (2023) The effect of Cannabis seed on DLK1 gene expression in heart tissue of Kermani lambs. *Agric Biotechnol J* 15 (1), 217-234.
- Karplus PA, Daniels MJ, Herriott JR (1991) Atomic structure of ferredoxin-NADP⁺ reductase: prototype for a structurally novel flavoenzyme family. *Science* 251, 60-66.
- Khodabin G, Tahmasebi-Sarvestani Z, Rad AHS, Modarres-Sanavy SAM (2020) Effect of drought stress on certain morphological and physiological characteristics of a resistant and a sensitive Canola cultivar. *Chem Biodivers J* 17, e1900399.
- Lehtimäki N, Lintala M, Allahverdiyeva Y, Aro E-M, Mulo P (2010) Drought stress-induced upregulation of components involved in ferredoxin-dependent cyclic electron transfer. *Plant Physiol J* 167, 1018-22.
- Lepistö A, Kangasjärvi S, Luomala E-M, Brader G, Sipari N, et al. (2009) Chloroplast NADPH-thioredoxin reductase interacts with photoperiodic development in Arabidopsis. *Plant Physiol J* 149, 1261-76.
- Li J, Zeng L, Cheng Y, Lu G, Fu G, et al. (2018) Exogenous melatonin alleviates damage from drought stress in Brassica napus L.(rapeseed) seedlings. *Acta Physiol Plant* 40, 1-11.
- Livak KJ, Schmittgen TD (2001) Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method. *Methods J* 25, 402-08.
- Masoudzadeh, S.H., Mohammadabadi, M.R., Khezri, A., et al. (2020) Dlk1 gene expression in different Tissues of lamb. *Iran J Appl Anim Sci* 10, 669-677.
- Michel BE, Kaufmann MR (1973) The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. *Plant physiol J* 51, 914-16.
- Mittler R, Vanderauwera S, Gollery M, Van Breusegem F (2004) Reactive oxygen gene network of plants. *Trends Plant Sci J* 9, 490-98.
- Mohamadipoor L, Mohammadabadi M, Amiri Z, et al. (2021) Signature selection analysis reveals candidate genes associated with production traits in Iranian sheep breeds. *BMC Vet Res* 17 (1), 1-9.
- Mohammadabadi M, Golkar A, Askari Hesni M (2023) The effect of fennel (*Foeniculum vulgare*) on insulin-like growth factor 1 gene expression in the rumen tissue of Kermani sheep. *Agric Biotechnol J* 15 (4), 239-256 (In Persian).

- Mohammadabadi M, Masoudzadeh SH, Khezri A, et al. (2021) Fennel (*Foeniculum vulgare*) seed powder increases Delta-Like Non-Canonical Notch Ligand 1 gene expression in testis, liver, and humeral muscle tissues of growing lambs. *Heliyon* 7 (12), e08542.
- Mohammadinejad F, Mohammadabadi M, Roudbari Z, Sadkowski T (2022) Identification of Key Genes and Biological Pathways Associated with Skeletal Muscle Maturation and Hypertrophy in *Bos taurus*, *Ovis aries*, and *Sus scrofa*. *Animals* 12 (24), 3471.
- Mohsenzadeh Golfazani M, Taghvaei M M, Samizadeh Lahiji H, Ashery S, Raza A (2022). Investigation of proteins' interaction network and the expression pattern of genes involved in the ABA biogenesis and antioxidant system under methanol spray in drought-stressed rapeseed. *3 Biotech* 12, 1-18.
- Ohashi Y, Nakayama N, Saneoka H, Fujita K (2006) Effects of drought stress on photosynthetic gas exchange, chlorophyll fluorescence and stem diameter of soybean plants. *Biol Plant J* 50, 138-41.
- Palatnik JF, Valle EM, Carrillo N (1997) Oxidative stress causes ferredoxin-NADP⁺ reductase solubilization from the thylakoid membranes in methyl viologen-treated plants. *Plant Physiol J* 115, 1721-1727.
- Pasandideh Arjmand M, Samizadeh Lahiji H, Mohsenzadeh Golfazani M (2018) The effect of drought stress on some morphological and physiological characters in Canola seedling (*Brassica napus*). *Seed Res J* 5, 95-108. (In Persian).
- Pasandideh Arjmand M, Samizadeh Lahiji H, Mohsenzadeh Golfazani M, Biglouei MH (2023) Evaluation of protein's interaction and the regulatory network of some drought-responsive genes in Canola under drought and re-watering conditions. *Physiol Mol Biol Plants J* 29(8), 1085-1102.
- Rahman M, McClean P (2013) Genetic analysis on flowering time and root system in *Brassica napus* L. *Crop Sci J* 53, 141-47.
- Ramezanzadeh Bishegahi S, Mohsenzadeh M, Samizadeh Lahiji, H (2021). Effect of methanol foliar application on expression changes of some mitochondrial genes in canola under drought stress. *Iran J Field Crop Sci* 52, 113-128 (In Persian).
- Reichheld J-P, Khafif M, Riondet C, Droux M, Bonnard G, et al. (2007) Inactivation of thioredoxin reductases reveals a complex interplay between thioredoxin and glutathione pathways in *Arabidopsis* development. *Plant Cell J* 19,1851-65.
- Rezayian M, Niknam V, Ebrahimzadeh H (2018) Effects of drought stress on the seedling growth, development, and metabolic activity in different cultivars of Canola. *Soil Sci Plant Nut J* 64, 360-69.
- Rustioni L, Bianchi D (2021) Drought increases chlorophyll content in stems of *Vitis* interspecific hybrids. *Theor Exp Plant Physiol J* 33, 69-78.
- Safaei SMH, Dadpasand M, Mohammadabadi M, et al. (2022) An *Origanum majorana* Leaf Diet Influences Myogenin Gene Expression, Performance, and Carcass Characteristics in Lambs. *Animals* 13 (1), e14.
- Sairam R, Saxena D (2000) Oxidative stress and antioxidants in wheat genotypes: possible mechanism of water stress tolerance. *Agron Crop Sci J* 184, 55-61.
- Serrato AJ, Pérez-Ruiz JM, Spínola MC, Cejudo FJ (2004) A novel NADPH thioredoxin reductase, localized in the chloroplast, which deficiency causes hypersensitivity to abiotic stress in *Arabidopsis thaliana*. *Biol Chem J* 279, 43821-27.

- Shahsavari M, Mohammadabadi M, Khezri A, et al. (2022) Effect of Fennel (*Foeniculum Vulgare*) Seed Powder Consumption on Insulin-like Growth Factor 1 Gene Expression in the Liver Tissue of Growing Lambs. *Gene Express* 21 (2), 21-26.
- Sharif P, Seyedsalehi M, Paladino O, Van Damme P, Sillanpää M, et al. (2018) Effect of drought and salinity stresses on morphological and physiological characteristics of Canola. *IJEST* 15, 1859-66
- Sharifi P, Mohammadkhani N (2016) Effects of drought stress on photosynthesis factors in wheat genotypes during anthesis. *Cereal Res Commun J* 44, 229-39.
- Shokri S, Khezri A, Mohammadabadi M, Kheyrodin H (2023). The expression of *MYH7* gene in femur, humeral muscle and back muscle tissues of fattening lambs of the Kermani breed. *Agric Biotechnol J* 15 (2), 217-236 (In Persian).
- Taghvaei M M, Samizadeh Lahiji H, Mohsenzadeh Golfazani M (2022). Evaluation of expression changes, proteins interaction network, and microRNAs targeting catalase and superoxide dismutase genes under cold stress in rapeseed (*Brassica napus* L.). *OCL* 29 (3), 1-18.
- Taghvimi P, Mohsenzadeh Golfazani M, Taghvaei M M, Samizadeh Lahiji H (2024). Investigating the effect of drought stress and methanol spraying on the influential genes in the Calvin cycle and photorespiration in rapeseed. *Funct Plant Biol* 51 (3): 1-17.
- Türkan İ, 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 Sci J* 168, 223-31.
- Turner NC (1981) Techniques and experimental approaches for the measurement of plant water status. *Plant and soil J* 58, 339-66.
- Wagner GJ (1979) Content and vacuole/extravacuole distribution of neutral sugars, free amino acids, and anthocyanin in protoplasts. *Plant physiol J* 64, 88-93.
- Wang R, Peng W (2021) Principal component analysis and comprehensive evaluation on drought tolerance difference of canola cultivars at germination and emergence stages. *Chil J Agric Res* 81, 557-67.
- Wu W, Duncan RW, Ma B-L (2017) Quantification of canola root morphological traits under heat and drought stresses with electrical measurements. *Plant and Soil J* 415, 229-44.
- Wu W, Ma BL, Whalen JK (2018) Enhancing rapeseed tolerance to heat and drought stresses in a changing climate: perspectives for stress adaptation from root system architecture. *Adv Agron J* 151, 87-157.
- Yousefi F, Hassibi P, Roshanfekar H, Meskarbashee M (2016) Study of drought and salinity stress effect on some physiological characters of two canola (*Brassica napus* L.) varieties in Ahvaz. *Plant Product J* 38(4), 25-34 (In Persian)
- Zaman MAU, Rahman M (2017) A comparative study on root traits of spring and winter canola (*Brassica napus* L.) under controlled and water stressed conditions. *Agric Sci J* 9, e58.
- Zemaitis KJ, Ye H, Nguyen HT, Wood TD (2021) Direct Infusion Metabolomics of the Photosystem and Chlorophyll Related Metabolites within a Drought Tolerant Plant Introduction of *Glycine max*. *Metabolites J* 11, e843.