

ارزیابی مولکولی و مورفوفیزیولوژیک ارقام گندم در واکنش به تنش

خشکی

Evaluation of drought stress on molecular and morpho-physiological traits of wheat cultivar

سید مجتبی ملائی^۱، سعید نواب پور^{۲*}، منیره نظری^۳

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع

طبیعی گرگان

۲- دانشیار، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع

طبیعی گرگان

۳- دانشجوی دکتری، ژنتیک و به‌نژادی گیاهی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع

طبیعی گرگان

Mollaie SM¹, Navabpour S^{2*}, Nazari M³

1- MSc Graduate of Biotechnology, Faculty of Plant Production, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

2- Associate Professor, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Plant Production, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

3- PhD Student in Plant Genetics and Breeding, Faculty of Plant Production, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

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

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۵/۰۳ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۳/۲۹)

چکیده

در این مطالعه به منظور بررسی صفات مورفوفیزیولوژیک گندم و ارزیابی بیان برخی ژن‌ها در مسیر تحمل به خشکی شامل TaMYB73 و TaNAC67، آزمایشی در مزرعه تحقیقاتی مرکز تحقیقات شهرستان کردکوی به صورت کرت‌های خرد شده با طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی در چهار تکرار انجام شد. تیمار خشکی شامل سطوح خشکی ۰/۳- بار (ظرفیت زراعی به‌عنوان تیمار شاهد)، ۲- بار و ۴- بار به‌عنوان فاکتور اصلی و ارقام گندم نان شامل بهاران، احسان، کلاته و مروارید به‌عنوان فاکتور فرعی در نظر گرفته شد. به‌منظور کنترل بارندگی سقف متحرک تعبیه شد. صفاتی از قبیل طول سنبله، ارتفاع بوته، وزن هزار دانه، عملکرد دانه و نیز صفات سطح برگ (LA)، ماده خشک، سرعت رشد محصول (CGR) و سرعت رشد نسبی (RGR) اندازه‌گیری شدند. جهت ارزیابی بیان ژن‌های TaMYB73 و TaNAC67، استخراج RNA از برگ و به‌وسیله تکنیک Real time PCR صورت گرفت. نتایج تجزیه واریانس صفات نشان داد که اثر تنش، رقم و اثر متقابل تنش در رقم بر روی صفات ارتفاع بوته، طول سنبله، وزن هزار دانه و عملکرد دانه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود و اثر بلوک برای هیچ‌یک از صفات معنی‌دار نبود. مقایسه میانگین اثر تنش خشکی بر صفات ارتفاع بوته، طول سنبله، وزن هزار دانه و عملکرد دانه ارقام نشان داد که با افزایش شدت تنش خشکی این صفات کاهش یافتند. مقایسه میانگین اثر رقم و اثر متقابل تنش در رقم بر صفات ارتفاع بوته، طول سنبله و وزن هزار دانه نشان داد که رقم احسان بیشترین مقدار این صفات را دارا بود و اختلاف آن با سه رقم دیگر معنی‌دار بود. مقایسه میانگین اثر رقم و اثر متقابل رقم و تنش بر صفت عملکرد دانه نشان داد که رقم بهاران بیشترین مقدار را دارا بود و اختلاف آن با سایر ارقام معنی‌دار شد. نتایج ارزیابی سطح برگ و ماده خشک بیانگر این بود که رقم بهاران بیشترین حساسیت را نسبت به بروز تنش خشکی از خود نشان داد و این حساسیت در مرحله گرده افشانی بیشتر از سایر مراحل بود. میزان تغییرات سرعت رشد نسبی نشان می‌دهد میزان کاهش این شاخص در رقم کلاته به‌طور نسبی کمتر از سایر ارقام بود. نتایج ارزیابی سرعت رشد محصول تحت شرایط تنش خشکی نشان داد که ارقام واکنش متفاوتی را نشان می‌دهند. نتایج بیان ژن TaMYB73 و TaNAC67 در شرایط تنش خشکی ۲- بار نسبت به شاهد در تمام ارقام مورد مطالعه افزایش بیان نشان داد اما با افزایش شدت تنش از ۲- بار به ۴- بار ارقام مختلف سطح بیان متفاوتی برای بیان این ژن نشان دادند. در شرایط تنش خشکی ۴- تنها رقم احسان افزایش بیان ژن TaMYB73 را نسبت به شاهد و تنش ۲- بار نشان داد و اختلاف معنی‌داری با سایر ارقام داشت. همچنین بیشترین بیان ژن TaNAC67 در شرایط خشکی ۴- بار مربوط به رقم کلاته بود.

واژه‌های کلیدی

اجزای عملکرد

بیان ژن

تنش خشکی

شاخص‌های رشد

گندم نان

Golabadi et al. (2011) تفاوت معنی داری در عملکرد و اجزای عملکرد بین لاین های F3 و F4 در شرایط تنش و بون تنش گزارش کردند. (Azimi et al. 2019) نیز به کاهش عملکرد دانه برای همه ژنوتیپ های مورد آزمایش در گذر از شرایط عادی به تنش رطوبتی اشاره کردند.

میزان ماده خشک کل، نتیجه کارآیی جامعه گیاهی از نظر استفاده از تابش نور خورشید در طول فصل رویشی است، در این ارتباط جامعه گیاهی نیاز به سطح برگ کافی دارد که با پوشش یکنواخت و کامل حداکثر جذب نوری را فراهم آورد (Ozuni Doji et al. 2008).

سرعت رشد محصول (Crop Growth Rate) میزان ماده خشک تولید شده در واحد سطح زمین در واحد زمان را مشخص ساخته و اثر متقابل تنفس و فتوسنتز را نشان می دهد. میزان رشد نسبی (Relative Growth Rate) بیان کننده مقدار ماده خشک تجمع یافته در گیاه در واحد زمان است. سرعت رشد نسبی در گیاهان زراعی در دوره زندگی گیاه روند کاهشی دارد (Karimi and Siddique 1991).

واکنش زنجیره پلیمرز در زمان واقعی (Real Time PCR) ابزار قدرتمندی برای تجزیه و تحلیل سازوکارهای تحمل به تنش های غیرزیستی در گیاهان است. واکنش زنجیره ای پلیمرز در زمان واقعی روش است که برای اندازه گیری غلظت های بسیار اندک mRNA که از مقادیر کمی نمونه بافتی استخراج می شود، به کار می رود (Bustin 2000). پروتئین های MYB یک خانواده بزرگ از عوامل رونویسی هستند که از اهمیت خاصی در تنظیم فرایندهای نموی و واکنش های دفاعی در گیاهان برخوردارند (Katiyar et al. 2012). پروتئین های NAC از عوامل رونویسی در گیاهان خاص می باشند که عملکردشان در رابطه با توسعه گیاه و همچنین در پاسخ به تنش های زیستی و غیرزیستی است (Nakashima et al. 2012; Puranik et al. 2012).

با توجه به مطالب ذکر شده، این تحقیق به منظور مطالعه صفات مورفوفیزیولوژیک، شاخص های رشد و همچنین ارزیابی بیان ژن های تحمل به خشکی شامل *TaMYB73* و *TaNAC67* در چهار رقم گندم نان احسان، بهاران، مروارید و کلاته در واکنش به تنش خشکی انجام شد.

گندم نان با نام علمی (*Triticum aestivum* L.) از مهم ترین گیاهان زراعی در ایران و تأمین کننده بخش قابل توجه پروتئین و انرژی مردم دنیاست (Arzani and Ashraf 2017). سطح زیر کشت گندم در عرصه جهانی حدود ۲۱۷ میلیون هکتار است که محصول آن سالانه ۷۶۵ میلیون تن محصول دانه است. با این حال، تقاضا برای گندم به دلیل افزایش سریع جمعیت همچنان در حال افزایش است. بر اساس پیش بینی های سازمان غذا و کشاورزی ملل متحد (FAO)، تا سال ۲۰۵۰ سالانه حدود ۸۴۰ میلیون تن گندم مورد نیاز خواهد بود. با این حال، تولید گندم با افزایش تغییرات آب و هوای جهانی در سال های اخیر با چالش های جدی مواجه شده است (Ma J et al. 2022).

خشکی به شرایطی اطلاق می شود که در نتیجه آن رطوبت موجود در خاک به نقطه ای می رسد که گیاه قادر به جذب آب با سرعت کافی برای جبران تعرق نباشد. بنابراین برخی از فرایندهای رشد و نمو به شدت تحت تأثیر این نوع تنش قرار می گیرد (Maazou et al. 2016). بیشترین اراضی زراعی ایران در نواحی خشک و نیمه خشک مستقر شده است که همین امر موجب ایجاد تنش خشکی در مرحله پس از گلدهی می باشد (Nouri Ghanbalani et al. 2009; Sorkhi 2015). از این رو شناسایی ارقام متحمل و نیز مطالعه سازوکارهای افزایش دهنده تحمل به تنش خشکی آخر فصل، از جمله راهکارهای مناسب ممانعت از کاهش عملکرد گندم است (Haji Barat et al. 2020).

سطح برگ یک از عوامل تعیین کننده قدرت فتوسنتزی گیاه محسوب می شود و پتانسیل فتوسنتزی و توان رشدی همبستگی بالایی با میزان سطح برگ دارد (Navabpour et al. 2011). تنش خشکی از طریق کاهش سطح برگ و کاهش سرعت فتوسنتز مقدار تولید و عملکرد را تحت تأثیر قرار می دهد (Praba et al. 2009). گزارش های موجود نشان می دهد که حساس ترین مرحله نمو گندم به تنش خشکی مرحله گلدهی است. اعمال تنش خشکی، در مراحل بعدی نمو موجب کاهش دوره پر شدن دانه می شود و عملکرد دانه را به شدت کاهش می دهد (Ghods et al. 2004).

مواد و روش‌ها

این مطالعه در سال زراعی ۱۴۰۰-۱۳۹۹ در مزرعه تحقیقاتی کردکوی به صورت کرت های خرد شده با طرح پایه بلوک کامل تصادفی با چهار تکرار در سال اجرا شد. تیمار خشکی شامل سطوح خشکی ۰/۳- بار (ظرفیت زراعی به عنوان تیمار شاهد)، ۲- بار و ۴- بار (که در شرایط مزرعه با کمک تانسومتر و به طور مستمر از ابتدای کشت تا پایان فصل مستقر بود) به عنوان فاکتور اصلی، اعمال شد. به منظور کنترل بارندگی سقف متحرک تعبیه شد. ارقام گندم نان (بهاران، احسان، کلاته و مروارید) به عنوان فاکتور فرعی در نظر گرفته شد. بذور ارقام مورد بررسی پس از ضدعفونی با قارچکش کاربندازیم ۶۰٪ کشت شدند. به منظور اندازه‌گیری صفات مورفوفیزیولوژیک پس از رسیدن گیاهان به مراحل رشدی (آبستنی، ظهور سنبله، گرده افشانی، خمیری سخت و رسیدگی فیزیولوژیک)، از هر کرت به صورت تصادفی ۲۰ بوته با حذف اثر حاشیه‌ای برداشت شد. به منظور اندازه‌گیری سطح برگ (LA) از دستگاه سطح‌سنج مدل دلتا T از مرحله آبستنی تا خمیری سخت استفاده شد. برای اندازه‌گیری ماده خشک، نمونه‌ها به صورت کف بر درو شد و در داخل پاکت به مدت ۴۸ ساعت در آون در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و اندازه‌گیری از مرحله آبستنی تا خمیری سخت انجام شد. سرعت رشد محصول (CGR) و سرعت رشد نسبی (RGR) با استفاده از روابط (۱) و (۲) به ترتیب از مرحله ظهور سنبله تا خمیری سخت محاسبه شد (Javadi et al. 2007).

$$(۱) \text{CGR} = (W_2 - W_1) / (T_2 - T_1)$$

$$(۲) \text{RGR} = (\ln W_2 - \ln W_1) / (T_2 - T_1)$$

در روابط بالا W وزن خشک گیاه (برحسب گرم) و T بازه زمانی نمونه‌برداری است.

در مرحله رسیدگی فیزیولوژیک دانه صفات طول سنبله، وزن هزار دانه، ارتفاع بوته و عملکرد دانه مورد بررسی قرار گرفت. طول سنبله (از قاعده سنبله تا انتهای سنبله بر حسب سانتی‌متر در بوته‌های انتخابی)، وزن هزار دانه (از هر واحد آزمایشی وزن تعداد هزار دانه شمارش و بر حسب گرم یادداشت شد). ارتفاع بوته (بوته از هر کرت به صورت تصادفی انتخاب و حد فاصل بین محل طوقه در سطح خاک تا یقه سنبله بر حسب سانتی‌متر در

بوته‌ها اندازه‌گیری شد). عملکرد دانه (پس از برداشت کامل کرت‌های آزمایشی و بوجاری، کل دانه‌های حاصل وزن شده و بر حسب گرم بر مترمربع یادداشت شد). داده‌های به دست آمده از صفات مورفوفیزیولوژیک، توسط نرم‌افزار آماری SAS 9.1 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و نمودارها توسط نرم‌افزار Excel 2019 رسم شد.

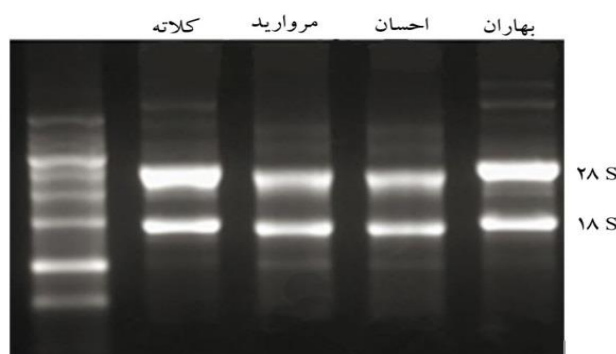
نمونه‌برداری از برگ‌ها، جهت ارزیابی بیان ژن‌ها در مرحله خمیری سخت صورت گرفت. حدود پنج گرم نمونه برگ در تیمارهای مختلف برای اندازه‌گیری میزان بیان ژن‌ها برداشت و در نیتروژن مایع منجمد و تا مرحله استخراج RNA در فریزر منفی ۸۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. استخراج RNA توسط کیت بایوزول از نمونه‌های برگ منجمد، صورت گرفت. کیفیت RNA استخراج شده، توسط الکتروفورز روی ژل آگارز ۱/۵ درصد تعیین شد. تشکیل دو بانده RNA ریبوزومی 28S و 18S در روی ژل نشان‌دهنده کیفیت بالای RNA تخلیص شده بود (شکل ۱). برای بررسی کمی میزان استخراج، از اسپکتروفتومتر استفاده شد. مقدار جذب نوری در طول موج‌های ۲۶۰، ۲۸۰ و ۳۲۰ نانومتر توسط دستگاه خوانده شد و درصد خلوص آن محاسبه شد. برای ساخت cDNA، از روش پیشنهادی شرکت فرمتاز استفاده شد. برای تایید سنتز cDNA از روش PCR و الکتروفورز روی ژل دو درصد آگارز استفاده شد. جهت ارزیابی الگوی بیان ژن‌های مورد مطالعه که شامل *TaMYB73* و *TaNAC67* از دستگاه iQ5 شرکت Bio Rad و کیت سایبر بیوپارس، که قادر است ارزیابی را در زمان واقعی انجام دهد، استفاده شد. به منظور نرمال‌سازی داده‌ها از ژن خانه‌دار اکتین که دارای بیان یکسانی در تمام تیمارها می‌باشد، استفاده شد. در بیان فعالیت ژن‌های مورد مطالعه از روش ارزیابی نسبی استفاده شد. در این روش میزان افزایش یا کاهش بیان ژن در هر تیمار نسبت به تیمار کنترل به صورت نسبت بیان می‌شود که در این حالت امکان اندازه‌گیری میزان بیان ژن در تیمار کنترل وجود ندارد و به عبارتی یک در نظر گرفته می‌شود. بنابراین بیان نسبی ژن‌ها با روش $2^{-\Delta\Delta CT}$ محاسبه شد. به این صورت که هر تیمار با گیاهان کنترل مربوط به زمان خود مقایسه می‌شود. آغازگرهای موردنیاز بر اساس اطلاعات موجود در سایت NCBI و با استفاده از نرم‌افزار Primer3 و در نظر گرفتن خصوصیات مطلوب برای

بود و اثر بلوک برای هیچ یک از صفات معنی دار نبود. اثر متقابل تنش در رقم برای عملکرد دانه و ارتفاع بوته در سطح یک درصد و برای صفت طول سنبله و وزن هزار دانه در سطح احتمال پنج درصد معنی دار شد. معنی داری اثر متقابل رقم در تنش خشکی مبین تفاوت روند تغییرات ارقام در سطوح خشکی از نظر صفات مورد مطالعه بود. کوچک بودن مقادیر ضریب تغییرات نشان دهنده دقت قابل قبول آزمایش بود (جدول ۲).

استفاده در روش QRT-PCR طراحی شدند. اطلاعات مربوط به آغازگرها در جدول ۱ آورده شده است. در پایان واکنش و پس از دریافت نمودار منحنی ذوب (شکل ۲)، جهت تجزیه داده‌ها از نرم‌افزار REST استفاده شد.

نتایج و بحث

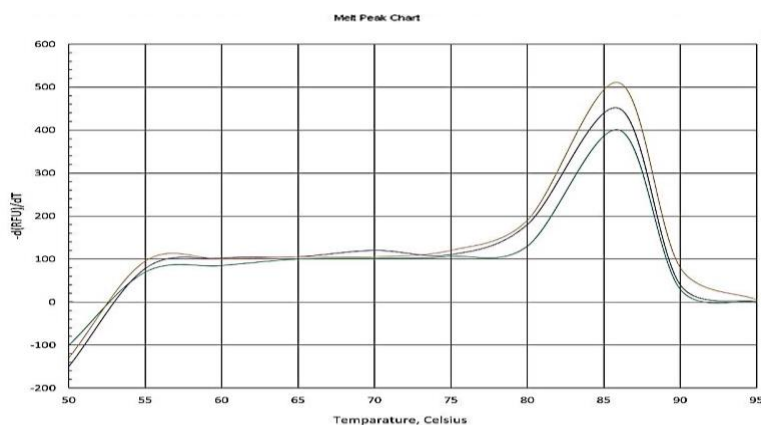
نتایج تجزیه واریانس صفات نشان داد که اثر تنش و رقم بر روی تمامی صفات مورد مطالعه در سطح احتمال یک درصد معنی دار



شکل ۱- تعیین کیفیت RNA استخراج شده بر روی ژل آگارز

جدول ۱- مشخصات آغازگرهای مورد استفاده

نام آغازگر	توالی آغازگر	طول محصول واکنش	دمای ذوب (°C)
<i>TaNAC67</i>	F: 5' ATCGGCAGCGGAGCGATT 3'	۱۴۱	۶۰
	R: 3' AGGGGTCTGAAAGCGGTAGAGG 5'		۶۰
<i>TaMYB73</i>	F: 5' AGGGAAGCATACGCATGACGTGC 3'	۱۳۲	۵۸
	R: 3' TCTAAATCTGCGACAAACTCTGTATG 5'		۵۸
<i>ACTIN</i>	F: 5' GTTCCAATCTATGAGGGATACACGC 3'	۱۱۰	۶۰
	R: 3' GAACCTCCACTGAGAACAACATTACC 5'		۶۰



شکل ۲- منحنی ذوب

جدول ۲- تجزیه واریانس صفات بصورت کرت های خرد شده در قالب بلوک کامل تصادفی

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات		
		ارتفاع بوته	طول سنبله	وزن هزار دانه
بلوک	۳	۸۸/۶ ^{ns}	۱/۲۳ ^{ns}	۱۵/۵ ^{ns}
تنش	۲	۲۷۵ ^{**}	۹/۲۱ ^{**}	۳۵۸ ^{**}
خطای اصلی	۶	۱۷/۳	۱/۲۲	۶/۲
رقم	۳	۳۲۱ ^{**}	۶/۶۵ ^{**}	۲۱۸ ^{**}
تنش × رقم	۶	۱۷۵ ^{**}	۲/۰۵ [*]	۱۰/۳ ^{ns}
خطای فرعی	۲۷	۱۱/۲	۰/۹۶	۵/۷۵
ضریب تغییرات	-	۱۰/۶	۳/۲	۲/۸

ns، * و ** به ترتیب غیر معنی داری و معنی داری در سطح احتمال پنج و یک درصد

جدول ۳- مقایسه میانگین اثرات ساده رقم و تنش خشکی بر صفات مورفولوژیک

صفات	ارتفاع بوته (سانتی متر)	طول سنبله (سانتی متر)	وزن هزار دانه (گرم)	عملکرد دانه (گرم بر مترمربع)
شاهد	۸۹/۵ ^a	۱۰/۶ ^a	۴۵/۷ ^a	۷۵۳ ^a
تنش خشکی				
۲- بار	۸۵/۷ ^b	۹/۷ ^b	۳۸/۲ ^b	۶۲۲ ^b
۴- بار	۷۲/۱ ^c	۹/۰ ^c	۳۱/۱ ^c	۵۱۰ ^c
رقم				
کلاته	۷۵/۹ ^b	۹/۶۶ ^b	۳۴/۰ ^c	۶۲۰ ^b
مروارید	۷۴/۸ ^{bc}	۹/۶۰ ^b	۳۴/۸ ^{bc}	۶۱۴ ^b
احسان	۷۸/۱ ^a	۱۰/۹ ^a	۴۹/۱ ^a	۶۲۷ ^b
بهاران	۷۴/۲ ^c	۹/۲۶ ^c	۳۵/۳ ^b	۶۵۳ ^a

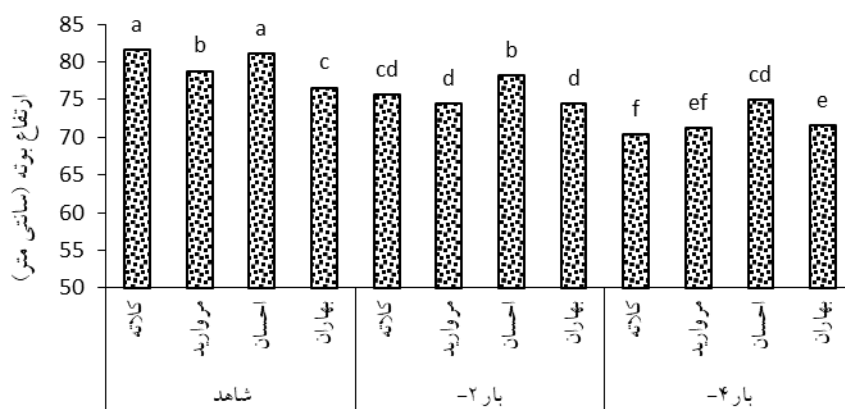
برای هر صفت، در هر ستون اعدادی که با حروف یکسان نمایش داده شده اند اختلاف معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد آزمون LSD ندارند.

ارتفاع بوته

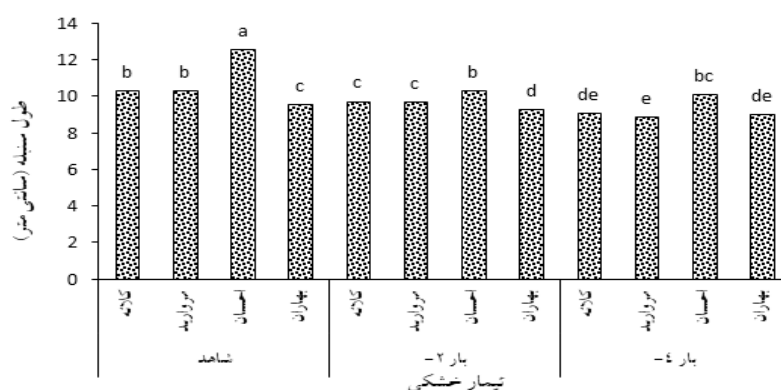
مقایسه میانگین اثر تنش خشکی بر ارتفاع بوته ارقام نشان داد که با افزایش شدت تنش خشکی ارتفاع بوته ارقام کاهش یافت. مقایسه میانگین میزان ارتفاع بوته ارقام نشان داد که رقم احسان بیشترین مقدار ارتفاع بوته را دارا بود و اختلاف آن با سه رقم دیگر معنی دار بود و رقم بهاران کمترین ارتفاع بوته را داشت (جدول ۳).

مقایسه میانگین اثر متقابل رقم و تنش نشان داد که رقم کلاته در تیمار شاهد بالاترین مقدار ارتفاع بوته را دارا بود و اختلاف آن به جز با رقم احسان، با سایر ارقام معنی دار بود. کمترین مقدار ارتفاع بوته در شرایط تنش خشکی ۴- بار مشاهده شد که رقم

کلاته کمترین مقدار را دارا بود و اختلاف آن به جز با ارتفاع بوته رقم مروارید با سایر ارقام معنی دار بود (شکل ۳). Mousavi et al. (2013) بیان داشتند که کاهش ارتفاع بوته ناشی از تنش خشکی است و نقش این تنش در کاهش طول دوره رشد و تسریع نمو را مرتبط دانستند. Zamaniyan et al (2004) بیان کردند که رشد طولی ساقه در شرایط تنش خشکی کاهش می یابد و شرایط کم آبی و پتانسیل منفی بر روی جذب آب سلولها اثر گذاشته و در نتیجه فشار تورژسانس لازم جهت بزرگ شدن سلولها کاهش یافته که سبب کند شدن رشد یا توقف آن می شود.



شکل ۳- اثر متقابل تنش خشکی و رقم بر ارتفاع بوته ارقام گندم نان



شکل ۴- اثر متقابل تنش خشکی و رقم بر طول سنبله ارقام گندم نان

طول سنبله

مقایسه میانگین نشان داد که طول سنبله با افزایش شدت تنش خشکی کاهش یافت و اختلاف بین تیمارها معنی‌دار بود. همچنین مقایسه میانگین طول سنبله ارقام نشان داد که رقم احسان بیشترین مقدار را برای این صفت داشت و اختلاف آن با سایر ارقام معنی‌دار بود. رقم بهاران کمترین مقدار را برای این صفت داشت و اختلاف آن با سه رقم دیگر معنی‌دار بود (جدول ۳).

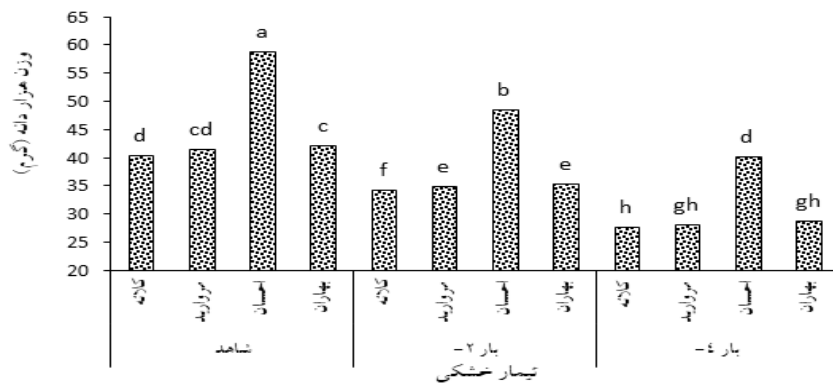
مقایسه میانگین اثر متقابل رقم در تنش نشان داد که رقم احسان در تیمار شاهد بالاترین مقدار طول سنبله را داشت و اختلاف آن با سایر ارقام در شرایط مشابه نیز در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود. با افزایش تنش خشکی طول سنبله در تمامی ارقام کاهش یافت و در تیمار تنش خشکی ۴- بار ارقام کمترین مقدار طول سنبله را داشتند (شکل ۴).

کاهش طول سنبله و محدود شدن دوره رشد مریستم زایشی در ایجاد سنبله به دلیل تنش خشکی در مطالعات پیشین گزارش شده است (Mousavi et al. 2013).

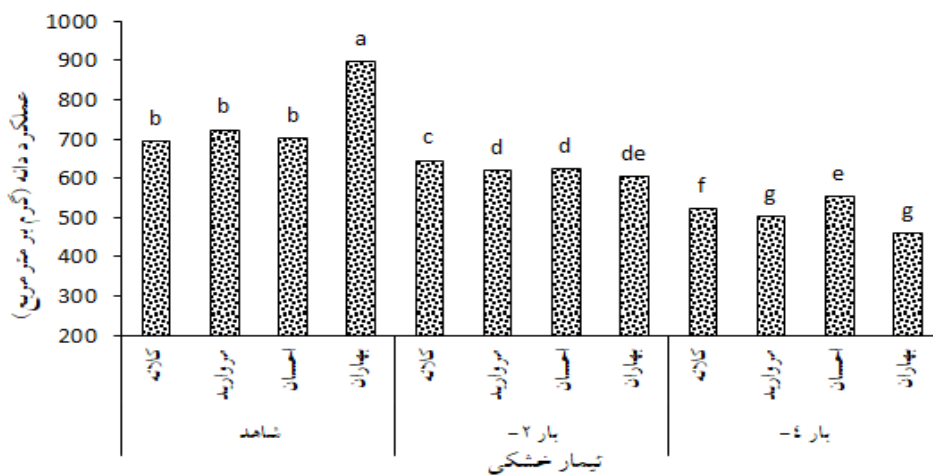
وزن هزار دانه

مقایسه میانگین اثر تنش خشکی نشان داد که مقدار وزن هزار دانه ارقام با افزایش شدت تنش خشکی کاهش یافت. برای این صفت رقم احسان بیشترین مقدار وزن هزار دانه را دارا بود و اختلاف آن با سایر ارقام LSD معنی‌دار بود. رقم کلاته کمترین مقدار وزن هزار دانه را را داشت و اختلاف آن به جز با رقم مروارید با دو رقم دیگر معنی‌دار شد (جدول ۳).

نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل رقم در تنش نشان داد رقم احسان در تیمار شاهد بالاترین وزن هزار دانه را دارا بود و اختلاف آن با سایر ارقام در تیمار شاهد معنی‌دار شد (شکل ۵). گزارش Khayat et al. (2014) روی ارقام مختلف گندم نیز نشان داد که اثر اصلی رقم بر تعداد وزن هزار دانه معنی‌دار بوده و بین ارقام مختلف گندم از نظر وزن هزار دانه تفاوت وجود دارد.



شکل ۵- اثر متقابل تنش خشکی و رقم بر میزان وزن هزار دانه ارقام گندم



شکل ۶- مقایسه میانگین اثر متقابل تنش در رقم بر روی عملکرد دانه

عملکرد دانه

Farahani et al. (2017) بیان داشتند که علت کاهش عملکرد دانه گندم، کاهش تولید و انتقال مواد فتوسنتزی به دانه بوده که در نتیجه موجب کاهش وزن هزارانه می‌شود. (Rezaei et al (2013) در رابطه با مقدار عملکرد، بین ژنوتیپ‌های مختلف گندم از جهت عملکرد دانه در وضعیت آبیاری و تنش اختلاف معنی‌دار مشاهده کردند و تحت تنش خشکی شدید عملکرد دانه کاهش معنی‌داری پیدا کرد.

سطح برگ (LA)

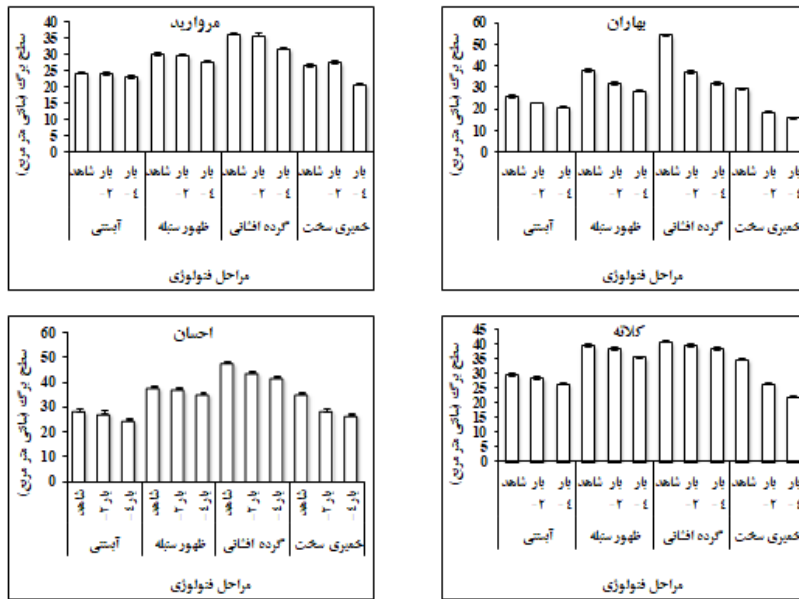
مقدار سطح برگ در تمامی ارقام تا مرحله گرده‌افشانی رو به افزایش بود و بالاترین مقدار سطح برگ ارقام در مرحله گرده‌افشانی مشاهده شد. همچنین در شرایط عدم تنش خشکی (شاهد) ارقام بالاترین مقدار سطح برگ را در تمام مراحل دارا بودند. مقدار کاهش سطح برگ رقم بهاران در مراحل آبستنی و

مقایسه میانگین‌ها نشان داد که مقدار عملکرد و با افزایش شدت تنش خشکی کاهش یافت و بیشترین و کمترین مقدار عملکرد به- ترتیب در تیمار شاهد و تیمار تنش خشکی ۴- بار مشاهده شد و اختلاف بین تیمارها معنی‌دار شد. مقایسه میانگین اثر رقم نشان داد که رقم بهاران بیشترین مقدار را دارا بود و اختلاف آن با سایر ارقام معنی‌دار شد. رقم مروارید کمترین مقدار را داشت (جدول ۳).

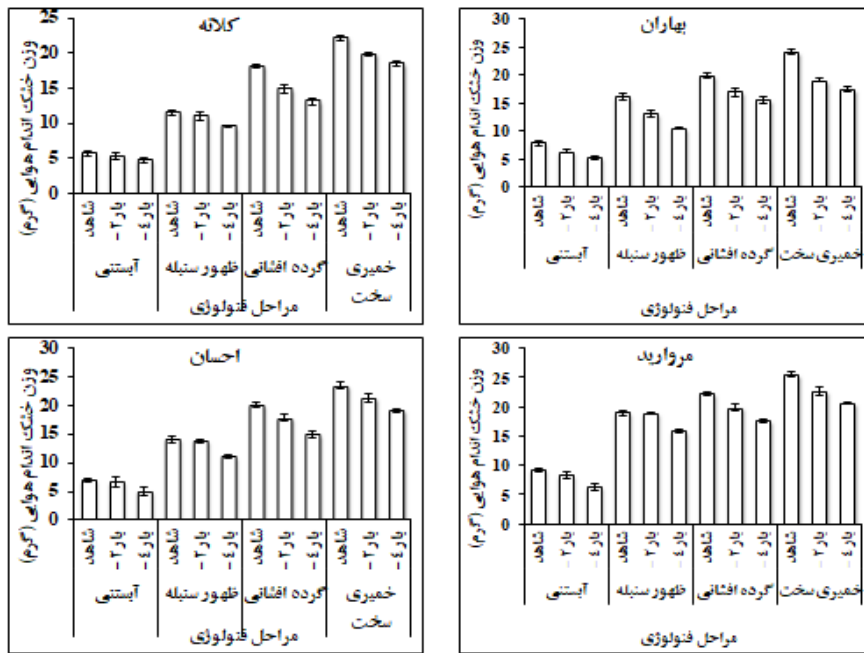
اثر متقابل رقم و تنش نشان داد که رقم بهاران در شرایط تیمار شاهد بیشترین مقدار عملکرد را دارا بود و اختلاف آن با سایر ارقام معنی‌دار شد. کمترین مقدار عملکرد مربوط به رقم بهاران در تیمار تنش خشکی ۴- بار بود و اختلاف آن به جز با رقم مروارید با ارقام کلاته و احسان معنی‌دار شد (شکل ۶).

توسعه و گسترش سطح برگ در گیاهان زراعی به عوامل مختلفی مانند دما، تراکم بوته در واحد سطح، میزان مواد غذایی در دسترس و خصوصیات مورفولوژیکی ژنوتیپها بستگی دارد که این عوامل باعث به وجود آمدن تفاوت‌هایی در شاخص سطح برگ می‌شود (Ozuni Doji et al. 2008).

ظهور سنبله و در شرایط تنش خشکی ۲- بار نسبت به شاهد معنی دار نبود. در ارقام مروارید و کلاته این شرایط در مرحله گرده افشانی نیز قابل مشاهده بود. نتایج بیانگر این بود که رقم بهاران بیشترین حساسیت را نسبت به بروز تنش خشکی از خود نشان داد و این حساسیت در مرحله گرده افشانی بیشتر از سایر مراحل بود (شکل ۷).



شکل ۷- ارزیابی میزان سطح برگ ارقام گندم نان در مراحل مختلف فنولوژیک و شرایط تنش خشکی



شکل ۸- ارزیابی مقدار ماده خشک اندام هوایی ارقام گندم نان در مراحل مختلف فنولوژیک و شرایط تنش خشکی

ماده خشک

نتایج نشان داد با افزایش سن گیاه از مرحله آبستنی تا خمیری سخت مقدار ماده خشک اندام هوایی افزایش یافته است که علت آن افزایش وزن دانه بود (شکل ۸). با اعمال تنش خشکی در تمامی مراحل فنولوژیک مقدار ماده خشک در تمامی ارقام کاهش یافت و این کاهش با افزایش شدت تنش بیشتر بود. این الگوی کاهشی در تمامی ارقام مشاهده شد. کاهش مقدار ماده خشک اندام هوایی در رقم بهاران در تمام مراحل فنولوژی مورد بررسی هم در شرایط تنش ۲- بار و هم در شرایط تنش ۴- بار قابل ملاحظه بود. در ارقام کلاته، مروارید و احسان در مراحل آبستنی و ظهور سنبله و در شرایط تنش ۲- بار کاهش معنی داری نسبت به شاهد برای مقدار ماده خشک اندام هوایی مشاهده نشد ولی در مراحل گرده افشانی و خمیری سخت این اختلاف در هر سه رقم معنی دار بود که حاکی از اهمیت و حساسیت این مراحل نسبت به تنش می باشد.

بر اساس مطالعات (Pereira et al. 2016; Ren et al. 2016) با افزایش تنش خشکی از توان فتوسنتزی گیاه کاسته می شود و این امر موجب کاهش تولیدات فتوسنتزی و در نهایت کاهش ماده خشک کل می گردد. کاهش پتانسیل اسمزی می تواند جذب آب و مواد غذایی توسط ریشه را مختل کرده، فتوسنتز را کاهش دهد و موجب کاهش ماده خشک اندام هوایی و به دنبال آن کاهش زیست توده را در پی داشته باشد (Tahmasb Ali et al. 2017).

سرعت رشد نسبی (RGR)

با افزایش رشد گیاه در مراحل پایانی و همچنین به دلیل کاهش نسبت اندام های فتوسنتزکننده به اندام های غیر فتوسنتز کننده و با سایه اندازی اندام های بالایی بر روی اندام پایینی و کاهش توان فتوسنتزی در واحد سطح، میزان RGR ارقام با افزایش سن و ورود به مراحل فنولوژی پایانی کاهش یافته است (شکل ۹). ارقام تحت تنش خشکی عکس العمل متفاوتی برای این شاخص از خود نشان دادند. در ارقام کلاته، احسان و بهاران در مرحله ظهور سنبله اختلاف سرعت رشد نسبی تحت شرایط رطوبتی متفاوت معنی دار نبود اما در رقم مروارید بیشترین سرعت رشد نسبی محصول در مرحله ظهور سنبله در شرایط تنش خشکی ۴- بار مشاهده شد. در مرحله گرده افشانی در ارقام کلاته، مروارید و

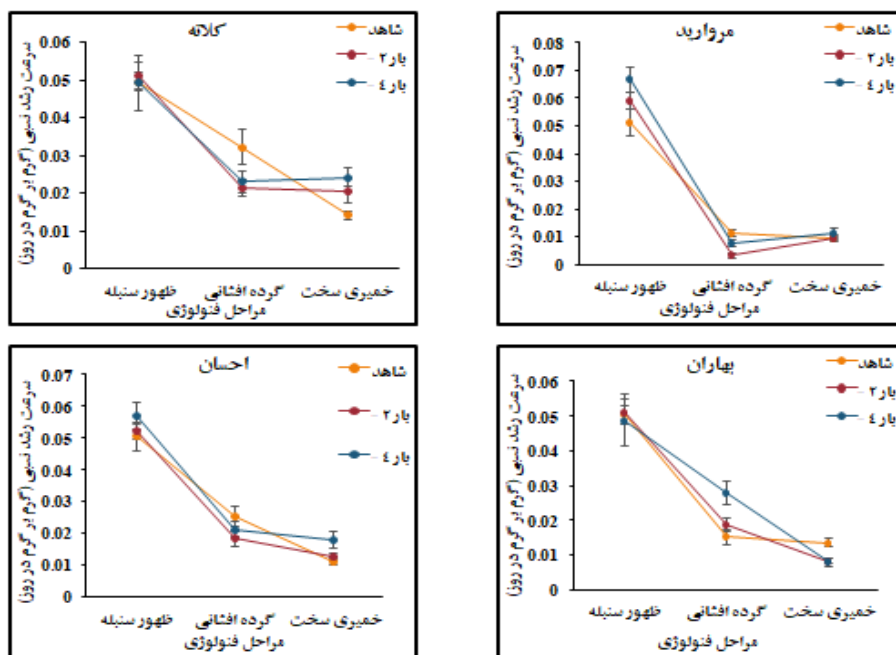
احسان به ترتیب در تیمار شاهد، خشکی ۴- بار و خشکی ۲- بار بیشترین سرعت رشد نسبی مشاهده شد. در رقم بهاران بیشترین مقدار سرعت رشد نسبی در تیمار خشکی ۴- بار مشاهده شد. در مرحله خمیری شدن سخت ارقام کلاته و احسان در تیمار خشکی ۴- بار بیشترین و در تیمار شاهد کمترین سرعت رشد نسبی را دارا بودند. در رقم مروارید اختلاف بین سرعت رشد نسبی بوته ها در مرحله خمیری شدن سخت و در شرایط تیماری مختلف معنی دار نبود و در رقم بهاران در شرایط تیمار شاهد بیشترین سرعت رشد نسبی در مرحله خمیری شدن سخت مشاهده شد. میزان تغییرات سرعت رشد نسبی نشان می دهد میزان کاهش این شاخص در رقم کلاته به طور نسبی کمتر از سایر ارقام بود. همچنین روند کلی این شاخص کاهشی بود. سرعت رشد نسبی نشان دهنده نسبت بافت های در حال رشد به بافت های بالغ است. در نتیجه با افزایش سن گیاه این نسبت همواره روند کاهشی خواهد داشت (Javadi et al. 2007).

سرعت رشد محصول (CGR)

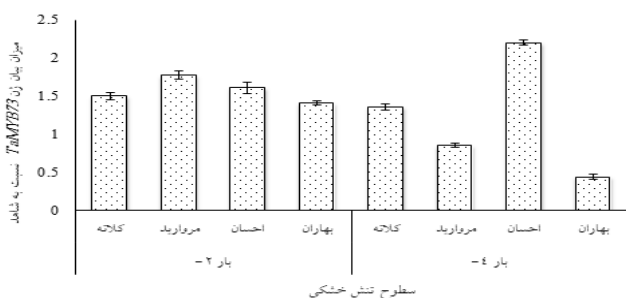
نتایج ارزیابی سرعت رشد محصول تحت شرایط تنش خشکی و در مراحل فنولوژی متفاوت در شکل ۱۰ نشان داده شده است. رقم کلاته در شرایط تیمار شاهد از مرحله ظهور سنبله تا گرده افشانی رشد افزایشی داشته و سپس سرعت رشد آن در مرحله خمیری شدن سخت کاهش یافته است. در رقم مروارید سرعت رشد محصول در مراحل مختلف برای تیمار شاهد کاهشی و برای تیمارهای خشکی ۲- و ۴- بار کاهشی افزایشی بود.

در رقم بهاران در تیمار شاهد سرعت رشد محصول کاهشی و افزایشی و در تیمارهای خشکی ۲- و ۴- بار کاهشی بود. در رقم احسان روند کاهشی سرعت رشد محصول در تیمار شاهد و خشکی ۲- بار مشاهده شد و در تیمار خشکی ۴- بار سرعت رشد محصول روند کاهشی و بعد افزایشی از خود نشان داد.

سرعت رشد محصول در مراحل اولیه به دلیل کامل نبودن پوشش گیاهی و درصد کم جذب نور خورشید توسط گیاه کم می باشد اما با نمو گیاهان میزان آن افزایش می یابد.



شکل ۹- ارزیابی سرعت رشد نسبی ارقام گندم تان در مراحل فنولوژیک و شرایط تنش خشکی



شکل ۱۰- میزان بیان ژن *TaMYB73* در ارقام گندم نسبت به شاهد

تحت تنش خشکی

بیان ژن *TaNAC67*

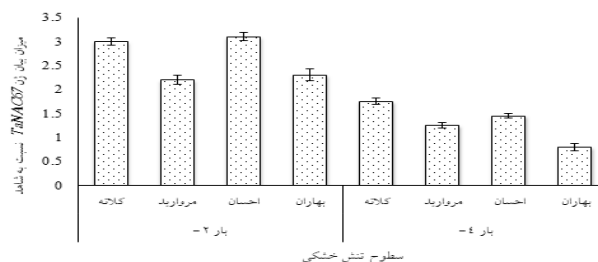
نتایج میزان بیان نسبی ژن *TaNAC67* نسبت به شاهد در شکل ۱۱ آورده شده است. همانطور که ملاحظه می‌شود، در شرایط تنش رطوبتی ۲- بار بیان این ژن در تمامی ارقام نسبت به شاهد افزایش بیان داشته است. همچنین در شرایط تنش خشکی ۴- بار این افزایش بیان نسبت به شاهد در ارقام کلاته، مروارید و احسان مشاهده شد ولی در رقم بهاران کاهش بیان این ژن را نسبت به شاهد داشتیم. بیشترین بیان این ژن مربوط به رقم احسان و در شرایط تنش رطوبتی ۲- بار بود که با مقدار بیان این ژن در رقم کلاته در همین شرایط رطوبتی معنی‌دار نگردید. با افزایش شدت تنش در شرایط خشکی ۴- بار رقم کلاته بالاترین مقدار بیان را برای این ژن نشان داد که اختلاف معنی‌داری با سایر ارقام

بیان ژن *TaMYB73*

همان‌طور که در شکل ۱۰ مشاهده می‌شود، نتایج بیان ژن *TaMYB73* در شرایط تنش خشکی ۲- بار نسبت به شاهد در تمام ارقام مورد مطالعه افزایش بیان نشان داد اما با افزایش شدت تنش از ۲- بار به ۴- بار ارقام مختلف سطح بیان متفاوتی برای بیان این ژن نشان دادند. در شرایط تنش خشکی ۲- بار بیشترین بیان این ژن در رقم مروارید مشاهده شد ولی اختلاف معنی‌داری با رقم احسان نداشت. با افزایش شدت تنش در شرایط تنش خشکی ۴- تنها رقم احسان افزایش بیان هم نسبت به شاهد و هم نسبت به تنش ۲- بار نشان داد و اختلاف معنی‌داری با سایر ارقام داشت. در رقم کلاته نیز در شرایط تنش ۴- بار نسبت به شاهد مشاهده گردید ولی مقدار آن کمتر از تنش ۲- بار بود. ارقام مروارید و بهاران در شرایط تنش ۴- بار کاهش بیان نسبت به شاهد نشان دادند و رقم بهاران کمترین بیان را برای این ژن از خود نشان داد. افزایش بیان این ژن در سطوح پایین تنش خشکی و همچنین کاهش بیان آن تحت تنش‌های شدیدتر در نتایج سایر محققین نیز گزارش شده است (Tabaraki et al. 2017; Naeemi et al. 2019).

برگ را به خصوص در مرحله گلدهی دارا بود. ارقام کلاته و مروارید با وجود سطح برگ پایین تر با حفظ بیشتر سطح برگ در شرایط تنش عملکرد بهتری نسبت به رقم بهاران داشتند که این مورد در رابطه با رقم احسان نیز صادق بود. نتایج اندازه گیری وزن خشک اندام هوایی نیز نشان داد با بروز تنش خشکی رقم بهاران در تمام مراحل، بیشترین کاهش وزن خشک اندام هوایی را داشت و ارقام کلاته، احسان و مروارید شرایط بهتری داشتند این امر در بروز تحمل بیشتر نسبت به خشکی تاثیرگذار بود به طوریکه که در خشکی ۲- بار کاهش معنی داری تا مرحله گرده افشانی نشان ندادند. سرعت رشد نسبی مطابق انتظار با افزایش سن گیاه کاهش یافت، ولی مقدار افزایش در مرحله انتهایی به خصوص تحت شرایط تنش و در ارقام کلاته، مروارید و احسان افزایش مشاهده شد که این موضوع می تواند بیانگر توانایی بالاتر این ارقام در تولید دانه باشد. برای سرعت رشد محصول، شرایط متفاوتی را در ارقام مختلف شاهد بودیم. کاهش سرعت رشد محصول در زمان گرده افشانی و در شرایط تنش که در تمامی ارقام مشاهده شد به دلیل حساسیت بالای این مرحله به تنش خشکی بود. در رابطه با بیان ژن های *TaMYB73* و *TaNAC67* نیز نتایج نشان داد در تمامی ارقام بیان این ژن ها در تنش خشکی ۲- بار نسبت به شاهد افزایش بیان داشت و با افزایش تنش به ۴- بار تنها ارقام احسان و کلاته بیان بیشتری نسبت به شاهد داشتند. با توجه به نقش بیان شده برای این ژن ها می توان گفت ارقام داری بیان بالاتر تحمل بیشتری نسبت به خشکی خواهند داشت. به طور کلی و با توجه به نتایج می توان رقم احسان را به عنوان رقمی با تحمل بالا نسبت به خشکی معرفی نمود.

داشت. در همین راستا (Delarampoor et al. 2019) نیز بیان داشتند میزان بیان ژن *TaNAC67* در سطوح پایین تر تنش رطوبتی افزایش بیان بیشتری نشان داد که هم راستا با نتایج این مطالعه بود. گروه های ژنی NAC از عوامل رونویسی در گیاهان می باشند که عملکرد آن ها در رابطه با توسعه گیاه و در پاسخ به تنش های زنده و غیرزنده است (Javadi et al. 2016).



شکل ۱۱- میزان بیان ژن *TaNAC67* در ارقام گندم نسبت به شاهد تحت تنش خشکی

نتیجه گیری کلی

به طور کلی نتایج نشان داد که صفات ارتفاع بوته، طول سنبله و وزن هزار دانه به دلیل کاهش میزان رشد سلولی و کمبود منابع برای رشد و تقسیم سلولی تحت تاثیر تنش خشکی کاهش یافتند. در بین ارقام مورد مطالعه در شرایط عدم تنش، رقم بهاران بیشترین عملکرد دانه و اختلاف معنی داری با سایر ارقام داشت ولی در شرایط تنش بیشترین کاهش عملکرد را در این رقم شاهد بودیم. رقم احسان با وجود داشتن بالاترین میزان وزن هزار دانه و طول سنبله، در تیمار شاهد عملکرد دانه بالایی نداشت ولی توانست با حفظ بهینه این وضعیت در شرایط تنش ۴- بار بیشترین عملکرد دانه را نشان داد. بررسی میزان سطح برگ نیز نشان داد رقم بهاران در شرایط عدم تنش بیشترین مقدار سطح

منابع

Arzani A, Ashraf M (2017) Cultivated Ancient Wheats (*Triticum* spp.): A Potential Source of Health-Beneficial Food Products. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 16: 477-488.
Azimi M, Khodarahmi M, and Jalal Kamali MR (2012) Factor Analysis and Cluster Analysis for Grain Yield and Some Important Agronomic Characteristics in Spring Bread Wheat Genotypes Under Terminal Drought Stress and Non-Stress Conditions. *Iranian Journal of Agronomy and Plant Breeding* 8:175-193.

Bustin SA (2000) Absolute quantification of mRNA using real-time reverse transcription polymerase chain reaction assays. *Molecular Endocrinology* 91: 172-123.
Delarampoor MA, Fahmideh L, and Fooladvand Z (2019) Effect of drought stress on NAC gene expression in some bread wheat cultivars of Sistan region. *Environmental Stresses in Crop Sciences* 12: 649-662.
Emam Y (2007) *Cereal Crops Agronomy*. Shiraz University Press 190p. (In Farsi).
Farahani M, Mirzakhani M, and Sajedi NA (2017) Effect of water absorbent materials on some agronomic traits and

- seed protein of wheat under water deficit stress. *Plant Production Technology* 7: 27-37. (In farsi).
- Ghods M, Chai Chi M, and Kamali J (2004). Determining the sensitivity of bread wheat development stages to moisture stress and its effect on yield and yield components. *Seedlings and Seeds* 20: 489-509. (In Farsi).
- Golabadi M, Arzani A, and Mirmohammadi Maibody SM (2006) Assessment of drought tolerance in segregation population in durum wheat. *African Journal of Agricultural Research* 1: 162-171.
- Haji B, Saeedi Z, Musapour Gorji A, and Mehrshad A (2020). Evaluation of drought tolerance indices of potato plant in response to irrigation stress. *Journal of Crop Breeding*, 12: 102-112. (In Farsi)
- Javadi H, Rashed Mohasel MH, Zamani GhR, Azari Nasr Abadi E, and Musavi GhR (2007) Effect of plant density on growth indices in four grain sorghum cultivars. *Iranian Journal Field Crops Research* 4: 265 – 253. (In farsi).
- Javadi SM, Shabr ZS, Pour Abed A, Ghadiri, Sh (2016) Reconstruction and Analysis of Drought Tolerance Gene Networks in *Hordeum Vulgare* Leaf. The First International Conference and the 9th National Biotechnology Conference of the Islamic Republic of Iran. 3-5 May. International Center of Shahid Beheshti University. (In farsi).
- Karimi MM, Siddique KHM (1991) Crop growth and relative growth rates of old and modern wheat cultivars. *Australian Journal of Agricultural Research* 42:13-20.
- Katiyar A, Smita S, Lenka SK, Rajwanshi R, Chinnusamy V, and Bansal KC (2012) Genome-wide classification and expression analysis of MYB transcription factor families in rice and Arabidopsis. *BMC Genomics* 13: 544-14.
- Khayat SH, Mujaddam M, Alavi Fazel M (2014) Effect of Nitrogen Amounts on Grain Yield and Nitrogen Consumption Efficiency of Durum Wheat Genotypes in Khuzestan. *Journal of Crop Physiology* 6: 103-113. (In Farsi).
- Lebaschi MH, Sharifi Ashurabadi E (2005) Application of physiological growth indices for proper harvesting of *Hypericum perforatum*. *Journal of Research and Construction*. 65: 65-70. (In Farsi).
- Ma J, Zhao D, Tang X, Yuan M, Zhang D, Xu M, Duan Y, Ren H, Zeng Q, Wu J, and Han D (2022) Genome-Wide Association Study on Root System Architecture and Identification of Candidate Genes in Wheat (*Triticum aestivum* L.). *International Journal of Molecular Sciences* 23:777- 790.
- Maazou ARS, Tu J, Qiu J, and Liu Z (2016) Breeding for drought tolerance in maize (*Zea mays* L.). *American Journal of Plant Sciences* 7: 1858.
- Mousavi MN, Hejazi P, Mostafavi Kh, Fotovat F (2013) Investigation of drought stress on morphological traits in some bread wheat cultivars. *Advances in Environmental Biology* 7: 131-135.
- Naeemi T, Fahmideh L, and Fakheri B (2019) The effect of drought stress on MYB gene expression and osmotic regulator levels of five durum wheat genotypes (*Triticum turgidum* L.). *Nova Biologica Reperta* 6: 217-228. (In Farsi).
- Nakashima K, Takasaki H, Mizoi J, Shinozaki K, and Yamaguchi-shinozaki K (2012) NACtranscription factors in plant abiotic stress responses. *Biochimica et Biophysica Acta* 1819: 97-103.
- Navabpour S, Latifi,N, Hosseini S H, and Kazemi G (2011) Evaluation of grain yield in relation to yield components and growth indices in wheat. *Journal of crop production* 4:157-173 (In Farsi).
- Nouri Ghanbalani A, Nouri Ghanbalani G, and Hassanpanah D (2009) Effects of drought stresscondition on the yield and yield components of advanced wheat genotypes in Ardabil, Iran. *Journal Food Agriculture and Environment* 7: 228-234.
- Ozuni Doji A, Isfahani M, Samizadeh Lahijani H, and Rabi'i M (2008) The effect of planting arrangement and plant density on growth indices and radiation use efficiency of two canola cultivars without petals and with petals. *Iranian Journal of Crop Sciences* 9: 382-400. (In Farsi).
- Pereira S I A, Moreira H, Argyras K, and Castro P M L (2016) Promotion of sunflower growth under saline water irrigation by the inoculation of beneficial microorganisms. *Applied Soil Ecology* 105: 36-47
- Praba M L, Cairns J E, Babu R C, Lafitte H R, (2009) Identification of physiological traits underlying cultivar differences in drought tolerance in rice and wheat. *Journal of Agronomy and Crop Science* 195: 30-46.
- Puranik S, Sahu P P, Srivastava P S, and Prasad M (2021) NAC proteins: regulation and role in stress tolerance. *Trends in Plant Science* 17: 369-381.
- Ren D, Xu X, Hao Y, and Huang G (2016) Modeling and assessing field irrigation water use in a canal system of Hetao, upper Yellow River basin: application to maize, sunflower and watermelon. *Journal of Hydrology* 532: 122-139.
- Rezaei M A M, Eivazi A R, Mohammadi S, and SHIR A S (2013). Effect of drought stress on dry matter remobilization and grain yield of winter bread wheat genotypes. (In Farsi).
- Sorkhi F (2015) Effect of irrigation and nitrogen fertilizer levels on physiological characteristics of four varieties of barley (*Hordeum vulgare* L.). *Journal of Crop Ecophysiology* 9: 401- 416. (In Farsi).
- Tabaraki H, Fahmideh L, and Fooladvan Z (2017) Study of MYB gene expression under drought stress in some bread wheat cultivars. *-EJBGE* 6: 95-104.
- Tahmasb Ali M, Asghari A, Sefalian O, Mohammad Doost Chamanabad H R, Rasoulzadeh A (2017). Investigation of some wheat cultivars in terms of morphological traits and drought tolerance indices. *Journal of Crop Breeding* 9: 55-44. (In Farsi).
- Zamaniyan M S, Vakil R, and Mirzapour M H (2004) The comparison of the yields of five alfalfa cultivars in saline soil. *Seed and Plant Production Journal* 18: 80-88.