مقاله علمی پژوهشی
مجله دوفصل نامه
مهندسی ژنتیک و ایمنی زیستی
ISSN 2588-5073 چاپی
ISSN 2588-5081 الکترونیکی
دوره ۱۰، شماره ۲، پاییز وزمستان ۱۴۰۰
صفحه ۲۰۵-۱۹۰

https://dorl.net/dor/20.1001.1.25885073.1400.10.2.4.6

DOR: 20.1001.1.25885073.1400.10.2.4.6

Genetic Engineering and Biosafety Journal
Volume 10, Number 2
2022

http://gebsj.ir/

https://ecc.isc.ac/showJournal/23064

بررسی پارامترهای فیزیولوژیک و مولکولی پروتئین‌های ۲۰ لاین پیشرفته گندم دوروم در شرایط تنش آبی

Investigation of physiological and molecular parameters of durum wheat proteins in 20 Advanced lines under water stress

مریم صمدی خوشخو[۱]، امید سفالیان*[۲]، علی اصغری[۲]، علی رسولزاده[۳]، سارا دژستان[۲]

Maryam Samadi Khoshkhoo[1], Omid Sofalian[2*], Ali Asghari[2], Ali Rasoulzadeh[3], Sara dezhsetan[2]

۱-کارشناس ارشد اصلاح نباتات دانشگاه محقق اردبیلی
۲- گروه اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی
۳- گروه علوم و مهندسی آب، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی

1. MSc graduated of Plant breeding, University of Mohaghegh Ardabili, Iran
2. Plant breeding Dept., Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Iran
3- Water Engineering Sciences Dept., Faculty of Agriculture and Natural resources University of Mohaghegh Ardabili

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: *Corresponding Author, Email:
sofalian@gmail.com
(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۵/۱ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۹/۵)

چکیده

به منظور بررسی لاین‌های مختلف گندم دوروم در خصوص تحمل به تنش آبی، آزمایشی درگلخانه با استفاده از ۲۰ لاین گندم دوروم در دو سطح تنش آبی (تنش۰/٤ و تنش ۰/۷ به ترتیب تنش با تخلیه رطوبتی در سطح ٤۰٪ و ۷۰٪) و یک سطح شاهد (آبیاری کامل) به صورت طرح کرت‌های خردشده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار اجرا شد. همچنین با استفاده از تکنیک SDS-PAGE و الکتروفورز پروتئین‌ها، پروتئین محلول در آب و نمک در آزمایشگاه استخراج شد. صفات اندازه‌گیری شده شامل رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیلa، کلروفیلb، کلروفیل a/b، کلروفیل کل و کاروتنوئید)، قند محلول و میزان پرولین بود. نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که بین لاین‌های مورد مطالعه در سطوح مختلف تنش اختلاف معنی‌دار وجود دارد. مقایسه میانگین صفات نشان داد که در مجموع لاین‌های ١٦ و ٥ در اکثریت صفات بیشترین مقدار را دارا بوده و همچنین لاین‌های ۱۰ و ۱۸ در بیشتر صفات کمترین مقدار را دارند. همچنین اطلاعات به دست آمده از تجزیه خوشه‌ای بیانگر این مسئله بود که هم در شرایط بدون تنش و هم در شرایط تنش لاین‌های ١٦ و ٥ , (Mra-1/4/Aus1/3/Scar/GdoVZ579//BitI TRN//21563/AA/3/BD2080/4/BD2339/5/RASCON_37/TARRO_2//) با توجه به بالا بودن مقادیر میانگین نسبت به بقیه لاین‌ها دارای ثبات عملکرد بیشتری در شرایط محیطی مختلف هستند. نتایج تجزیه مولکولی پروتئین‌های مورد بررسی هم بیانگر این بود که در پروتئین محلول در آب و نمک بر اساس ماتریس شباهت و فاصله ژنتیکی نی، کمترین فاصله ژنتیکی بین ژنوتیپ‌های ۱۸ و ۱۹ (۰/۳۲) و بیشترین فاصله ژنتیکی بین ژنوتیپ‌های ١٦ و ۸ (۰/۹۸) بود. در نهایت می‌توان نتیجه گرفت تنوع ژنتیکی قابل توجهی بین ارقام مورد مطالعه وجود دارد و از این تنوع میتوان در اصلاح نباتات بهره‌برداری کرد.

واژه‌های کلیدی

گندم دوروم،
تنش آبی،
الکتروفورز پروتئین،
تجزیه مولکولی

[DOR: 20.1001.1.25885073.1400.10.2.15.7]

Genetic Engineering and Biosafety Journal
Volume 10, Number 2, 2022

Abstract

In order to investigate different lines of durum wheat for water stress tolerance, an experiment was carried out in the greenhouse in the form of a split plot design in a Randomized complete block design with three replications using 20 lines of durum wheat at two levels of water stress (40% and 70% of the amount of available water was completely drained in 0.4 and 0.7 levels of stress, respectively and re-irrigation was performed) and a control level (complete irrigation). Also, water-soluble and salt-soluble proteins were extracted and SDS-PAGE was done. Measured traits were photosynthetic pigments (chlorophyll a, chlorophyll b, chlorophyll a/b, total chlorophyll and carotenoids), soluble sugar and prolin content. The results of the analysis of variance showed that there was a significant difference between the studied lines at different levels of stress. The results of comparing the mean of the studied traits showed that in total, lines 16 and 5 have the highest value in most of the traits and lines 10 and 18 have the lowest value in most of the traits. Also, the results obtained from the cluster analysis indicated that due to the higher mean values compared to the other lines both in stress-free and stress conditions, lines 16 and 5 (Mra-1/4/Aus1/3/Scar/GdoVZ579//BitI, TRN//21563/AA/3/BD2080/4/BD2339/5/RASCON_37/TARRO_2//) have a higher performance stability in the different environmental conditions. Furthermore, the results of molecular analysis of the studied proteins showed that in water and salt soluble proteins based on matrix similarity and genetic distance of straw, the lowest genetic distance was between genotypes 18 and 19 (0.32) and the highest genetic distance was between genotypes 16 and 8 (0.98). Finally, it can be concluded that there is a significant genetic diversity between the studied cultivars and this diversity can be used in plant breeding.

Keywords: Durum wheat, Water stress, Protein electrophoresis, Molecular analysis

مقدمه

بیش از یک چهارم سطح زمین در مناطق خشک و نیمه خشک قرار دارد (Moghaddasi *et al*. 2009) و تنش آبی حدود ٤٠ تا ٦٠ درصد از اراضی کشاورزی جهان را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Shahriyari *et al*. 2008). این تنش یکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی محدود کننده تولید محصولات گیاهی در سراسر جهان محسوب شده و اثرات نامطلوبی بر رشد و نمو گیاه و سایر فرآیندهای متابولیکی دارد (Akram *et al*. 2013; Lum *et al*. 2014). ایران که حدود دو سوم مساحت آن را اقلیم خشک و نیمه خشک تشکیل داده، خطر تنش آبی برای آن جدی‌تر است. توجه به اقتصاد و مدیریت منابع آب نه تنها در مناطق خشک و نیمه خشک، بلکه در مناطق با بارندگی مناسب هم می‌تواند از راه تاثیر بر هزینه‌های تولید مهم بوده و ایجاب می‌کند که از واحد حجم آب بیشترین استفاده به عمل آید. در این راستا، آگاهی از واکنش گیاهان و تعیین میزان حساسیت مراحل مختلف رشد آنها به کم‌آبی از اهمیت بسزایی برخوردار است (rezayi *et al*. 2009). شرایط تنش آبی بسته به زمان وقوع تنش و مرحله رشد گیاه با تأثیر بر اجزای عملکرد موجب کاهش عملکرد می‌شود (Shahriyari *et al*. 2008). کلروفیل مولکول سبز رنگی در گیاه بوده که نقش مهمی در فتوسنتز گیاه ایفا می‌کند. کلروفیل نور خورشید را جذب کرده و از انرژی آن برای سنتز قند استفاده می‌کند. همچنین دو نوع کلروفیل در گیاه وجود دارد. کلروفیل a و b که هر دو پذیرنده انرژی خورشیدی برای انجام فتوسنتز هستند. سیستم فتوسنتزی گیاهان آلی نسبت به تنش کم‌آبی حساسیت زیادی نشان می‌دهند (Falk e*t al*.1996). رنگدانه‌های فتوسنتزی نقش مهمی در جذب نوری و اتلاف انرژی مازاد داشته و تحت تنش کم‌آبی میزان کلروفیل a و b تغییر پیدا می‌کند. افزایش کلروفیل و کارتنوئید تحت تنش کم‌آبی ممکن است به دلیل کاهش سطح برگ بوده و یا پاسخ دفاعی در برابر اثرات مضر تنش کم‌آبی باشد (Farooq e*t al*. 2009).

گندم دوروم گیاهی است تک لپه، خودگشن، یکساله و روز بلند. این گیاه حدود ۱۰ درصد از تولید گندم در دنیا را به خود اختصاص داده است و در حدود ۲۵-۲۰ درصد بیشتر از گندم نان ارزش ریالی دارد. اغلب کشورهای تولید کننده گندم دارای شرایط آب و هوایی خشک و گرم و گاهی سرد هستند و این گیاه دارای تحمل بسیار خوبی به شرایط نامساعد طبیعی از جمله تنش آبی، گرما و تغییر ناگهانی دما دارد (Sadegh zade ahari. 2006). بر اساس گزارش کمیسیون جهانی غله تولید گندم دوروم در دنیا

در سال ۱۷-۲۰۱۶ میلادی برابر ۳۹/۹ میلیون تن بوده که از حدود ۱۳ میلیون هکتار برداشت شده است (Boyacioglu. 2017). گزارش شده است که تاثیر شدت‌های مختلف تنش آبی بر تمامی شاخص‌های عملکرد گندم دوروم و نیز زمان اعمال تنش آبی مرتبط بوده است. بر اساس نتایج مطالعات انجام شده، چنانچه گندم در تمام مراحل رشد خود آب کافی دریافت کند و تنها در مرحله پر شدن دانه‌ها تنش آبی با شدت متوسط رخ دهد، میزان خسارت وارده به عملکرد دانه گندم بیشتر از زمانی است که در تمام مراحل رشد گندم به طور یکنواخت تنش کم آبی با شدت متوسط اعمال شده باشد (Meskini vishkayi *et al*. 2020).

نشانگرهای مولکولی مانند نشانگرهای DNA و پروتئین ابزار مفید و ارزشمندی برای آنالیز تفاوت‌های ژنتیکی گونه‌های مختلف گیاهی است. نشانگرهای DNA برای تعیین نقشه ژنتیکی، شناسایی موجودات، مطالعات فیلوژنیکی و دست‌ورزی ژنتیکی استفاده می‌شوند. به کارگیری نشانگرهای پروتئینی با استفاده از روش SDS-PAGE برای شناسایی گونه‌ها، واریته‌ها و ارقام زراعی در گیاهان مختلف مورد استفاده قرار گرفته است (Fufa *et al*. 2005). گسترده ترین تکنیک برای توصیف بیوشیمیایی جمعیت‌های گیاهی، روش‌های الکتروفورز پروتئین است. روش-های الکتروفورزی بسیار متنوع و گوناگون بوده و مزیت بارز آن‌ها ارزانی و نتیجه‌گیری سریع در آن‌هاست. پروتئین‌های ذخیره‌ای ضمن داشتن چند شکلی زیاد بسیار با ثبات هستند. بنابراین الگوهای الکتروفورزی پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر به تنهایی یا با سایر نشانگرها معیار بسیار خوبی برای شناسایی جمعیت‌های گیاهی خواهد بود (Lawerence *et al*. 1987). پروتئین‌های ذخیره ای دانه، پیش از این نیز برای مطالعه برخی از گیاهان زراعی مهم مانند:گندم، برنج و جو استفاده شده‌اند. پروتئین‌های ذخیره‌ای در حبوبات به‌طور گسترده مورد مطالعات بیوشیمیایی به روش ژل پلی آکریل‌آمید در حضور سدیم دودسیل سولفات (SDS-PAGE) قرار گرفته‌اند (Muchelbauer *et al*. 1988). به علاوه تفاوت در سطح بیان پروتئین‌ها نیز برای شناسایی خصوصیات فیزیولوژیک گیاهان استفاده شده است (Aghayi *et al*. 2008). گزارش شده است که تنوع در الگوی باندهای پروتئینی دانه، اطلاعات مفیدی در مورد روابط فیلوژنتیکی در میان دانه‌های جمع‌آوری شده از مناطق مختلف جغرافیایی ارائه می‌دهد. هدف از این تحقیق گروهبندی برخی لاین‌های گندم دوروم با استفاده از برخی صفات فیزیولوژیکی و نشانگرهای پروتئینی در شرایط تنش آبی است.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در تابستان ۱۳۹۲ در گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی در قالب کرت‌های خرد شده بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار اجرا شد. فاکتورهای آزمایشی شامل سطوح شاهد (بدون تنش)، تنش ٤٠ درصد و٧٠ درصد تخلیه آب قابل نگهداری به عنوان فاکتور اصلی و لاینهای مورد مطالعه به عنوان فاکتور فرعی در نظر گرفته شدند. لاین‌های مورد استفاده در این آزمایش که شامل ۲۰ لاین گندم دوروم از مرکز بین المللی اصلاح گندم و ذرت (CIMMYT) تهیه شدند (جدول ۱).

کشت در گلدان‌هایی به ابعاد ٤٠×١٠٠ صورت گرفت. به طوریکه سطوح شاهد، تنش متوسط و تنش شدید در ردیف‌های جداگانه کشت شد. فاصله گلدان‌ها در هر سطح تنش از همدیگر از هر طرف ۳ سانتی‌متر و فاصله گلدان‌های سطوح مختلف از یکدیگر ۱۵ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. گلدان‌ها با نسبت ٦ به ۱ با خاک و کود پر شد. بذور مورد استفاده قبل از کاشت به مدت ٤٨ ساعت در ظروف پتری خیسانده و بعد از جوانه زنی به داخل گلدان‌ها منتقل شد. جوانه زنی بذور در دمای اتاق و نور غیر مستقیم و آب مقطر انجام گرفت. صفات اندازه‌گیری شده شامل رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a ، کلروفیل b ، کلروفیل a/b ، کلروفیل کل و کارتونوئید) به روش آرنون (١٩٦٧)، قند محلول به روش باردلف و همکاران (۲۰۰۱) و میزان پرولین به روش بیتس و همکاران (۱۹۷۳) بود. همچنین جهت اندازه‌گیری صفات ارتفاع بوته و طول سنبله بعد از ثابت شدن این مقادیر، در مرحله قبل از برداشت اندازه گیری بوته‌ها با استفاده از خط کش صورت گرفت. برای اندازه‌گیری حجم ریشه هم، ریشه‌ها بعد از مرحله برداشت در استوانه مدرج و روش حجمی استفاده شد. در خصوص صفات وزن تر بوته و ریشه بعد از مرحله برداشت،

[DOR: 20.1001.1.25885073.1400.10.2.15.7]

اقدام گردید. برای به دست آوردن وزن خشک بوته و ریشه هم نمونه‌ها به مدت ٤٨ ساعت در دمای ٦٠ درجه سانتیگراد داخل آون قرار گرفت. سپس نمونه‌ها مجددا با ترازوی هزارم دیجیتال توزین گردید.

به منظور بررسی الگوهای الکتروفورزی پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر، از تکنیک SDS-PAGE (الکتروفورز در ژل پلی‌اکریل‌آمید در حضور سدیم دو دسیل سولفات) طبق روش لاملی (۱۹۹۷) استفاده شد.

تجزیه واریانس داده‌ها بر اساس آزمایش کرت‌های خرد شده بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی انجام و برای مقایسه میانگین صفات از آزمون LSD در سطح ۵٪ استفاده شد. تجزیه خوشه‌ای نیز به منظور گروه‌بندی لاین‌های مورد بررسی در ارتباط با صفات اندازه‌گیری شده، به روش حداقل واریانس وارد استفاده شد. تعیین نقطه برش نمودار درختی با استفاده ازتجزیه واریانس چند متغیره بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی انجام شد.

تجزیه داده‌های مولکولی نیز با استفاده از فاصله ژنتیکی بین لاین‌ها بر اساس فاصله ژنتیکی نی (نی، ۱۹۷۸) محاسبه شد. گروه‌بندی ارقام با استفاده از تجزیه خوشه‌ای به روش UPGMA و ضریب تشابه ژاکارد انجام شد. همچنین تجزیه به مولفه‌های هماهنگ اصلی (PCoA) به‌منظور تعیین روابط ژنتیکی بین لاین‌ها و نیز گروه‌بندی آن‌ها و روشی به عنوان مکمل تجزیه خوشه‌ای انجام گرفت.

تجزیه صفات مورد بررسی با استفاده از نرم افزارهای SPSS ، SAS و EXCEL و همچنین تجزیه داده‌های مولکولی با استفاده از نرم‌افزار های NTSYS و POPGEN انجام گرفت.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که بین لاین‌های مورد مطالعه در صفات، اختلاف معنی‌دار وجود دارد. اثر متقابل لاین × تنش برای کلیه صفات معنی‌دار به دست آمد که این امر نشانگر تاثیر تنش اعمال شده بر روی صفات مورد بررسی است (جدول ۲).

نتایج حاصل از مقایسات میانگین انجام شده بر روی صفات مورد بررسی نشان داد که اثرات متقابل لاین × تنش در مورد کلیه صفات مورد بررسی معنی‌دار به دست آمد.

در مورد صفت قند محلول در شرایط آبیاری کامل بیشترین مقدار مربوط به لاین ١٤ و کمترین مقدار برای لاین ۷ به دست آمد. در شرایط تنش آبی شدید (۰/۷ تخلیه آب قابل نگهداری) بیشترین مقدار برای لاین ۱۰ و کمترین مقدار برای لاین ٤ به دست آمد. در شرایط تنش آبی متوسط (۰/٤ تخلیه آب قابل نگهداری) هم بیشترین مقدار برای لاین ١٦ و کمترین مقدار برای لاین ۱ حاصل گردید (شکل۱). باجی و همکاران (۲۰۰۱) افزایش معنی‌دار پرولین و قندهای محلول در گیاهان تحت تنش را نسبت به گیاه شاهد گزارش کردند. آن‌ها بیان کردند که در شرایط تنش قندها اصلی‌ترین محلول‌های آلی هستند که در تنظیم اسمزی شرکت دارند. کربوهیدرات‌ها و پرولین قادرند که نقش سیگنال‌های متابولیکی را ایفا کرده، بنابراین بر روی پاسخ فیزیولوژیک و تنظیم متابولیکی به شرایط تنش تاثیر می‌گذارند (Turkan. 2011). ساخته شدن قندهای محلول در برگ‌ها ممکن است دارای یک تاثیر محافظتی (اسموپروتکتانت) باشد. خصوصیت اسموتیکی قند می‌تواند نقش اساسی در افزایش نیروی محرکه‌ی ریشه برای جذب آب داشته باشد (Silvera et al. 2010).

در مورد صفت مقدار پرولین در شرایط آبیاری کامل بیشترین مقدار برای لاین ۱۰ و کمترین مقدار برای لاین ۱۱ به دست آمد. در شرایط تنش شدید بیشترین مقدار مربوط به لاین ١٦ و کمترین آن مربوط به لاین ٦ بود. در شرایط تنش متوسط هم لاین ۱۵ بیشترین مقدار و لاین ۱ کمترین مقدار را به خود اختصاص دادند(شکل۲). نتایج معاونی (۲۰۱۱) نشان‌دهنده‌ی افزایش پرولین تحت تاثیر تنش آبی بوده که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد. تجمع پرولین در طی تنش، نقش چندگانه محافظتی داشته و یک بررسی طولانی مدت در مورد پرولین نشان می‌دهد، پرولین یک اسمولیت خنثی بوده که ساختارهای سلولی را محافظت کرده و منجر به پایداری آنزیم‌ها می‌شود (Kavikishor *et al.* 2005).

جدول۱- شجره لاین‌های گندم دوروم مورد مطالعه در این تحقیق

Table1. Pedigree of durum wheat lines studied in this research

لاین	شجره	لاین	شجره
۱	STOT//ALTAR 84/	۲	CBC 509 CHILE/SOMAT_3.1//WODUCK/ CHAM_3
۳	BCRIS/BICUM//LLARETA INIA/3/DUKEM_12/2*RASCON _21	٤	ALTAR84/BINTEPE85/3/ALTAR 84/STINT//SILVER_45/4/ LHNKE/RASCON//CONA-D
٥	TRN//21563/AA/3/BD2080/4/BD2339/5/RASCO N_37/TARRO_2// RASCON_37/6/AUK/GUIL//GREEN	٦	GREEN_2/HIMAN_12//SHIP_1/7/ECO/CMH76 A.722//YAV/3/ALTAR 84/4/AJAIA_2/5/ KJOVE_1/6/MALM UK _1/ SERRATOR_1
۷	HYDRANASSA30/SILVER_5//LYMNO_8/3/PA TKA_7 /YAZI_1/4/YAZI_1/AKAKI_4//SOMAT_3/3/AU K/GUIL//GREEN	۸	RISSA/GAN//POHO_1/3/PLATA_3//CREX/AL LA/4/STOT//ALTAR 84/ALD/5/ARMENT //SRN _3/ NIGRIS_4/ 3/ CANELO_9.1
۹	STR/JO69/3/JO69/CRA//CIT71/5/ALTAR 84/AOS/ 6/ ENT E/MEXI_ 2//HUI/3/YAV_1/ GEDIZ/7/SOMAT_4/INTER _8/8/ INTER_8/ SILVER_2 CDSS02Y01292T-0TOPB-0Y-0M-8Y-0Y 4/	۱۰	ALTAR 84/STINT//SILVER_45/3/LLARETA INIA
۱۱	AINZEN-1/3/MINIMUS_6/PLATA_16//IMMER	۱۲	TRN//21563/AA/3/BD2080/4/BD2339/5/RASCO N_37/TARRO_2// RASCON_37/6/AUK/GUIL//GREEN
۱۳	TRN//21563/AA/3/BD2080/4/BD2339/5/RASCO N_37/TARRO_2/ /RASCON_37/6/AUK/GUIL//GREEN	۱٤	KUCUK_2/PATA_2/4/ARMENT//SRN_3/NIGR IS_4/3/CANELO_9.1
۱٥	GODRIN/GUTROS//DUKEM/3/DF900.83/2*RAS CON_37/4/ARMENT/ /SRN_3/NIGRIS_4/3/CANELO_9.1	۱٦	Mra-1/4/Aus1/3/Scar/GdoVZ579//BitI
۱۷	Icajihan2I	۱۸	Stk/Hau//Heca-1/3/1536-OGDOI
۱۹	Mrf1/Stj2/3/1718/BT24//KarimI	۲۰	Dehdasht

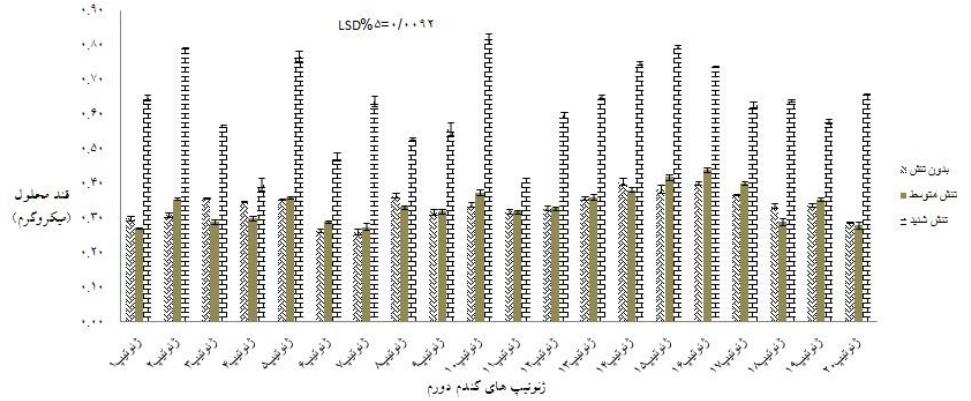
جدول۲- جدول تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه در لاین‌های گندم دوروم

Table2. Analysis of variance of studied traits in durum wheat lines

		میانگین مربعات						
منابع تغییرات	درجه آزادی	قند محلول	پرولین	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل(T)	کلروفیل a/b	کاروتنوئید
تکرار	۲	۰/۰۰۵۷ ns	۰/۰۰۹۱ ns	۱۹/۵۵*	۱٤/۵۸*	٦۷/۰۵*	۸/۵۰*	۰/۵۸ ns
تنش	۲	۰/۱٤۱*	۱/۷۳۲٦*	۳۸/٤۷*	۲۵/۲٤*	۱۲۵/۹۲*	۳۱/۸۵*	۲٦٤/۹٦*
تکرار×تنش	٤	۰/۰۰۳۲ ns	۰/۰۲۰**	۱۰/۰۲*	۷/٦۱*	۳۳/۵۱۲*	۷/۸۱*	۰/٤۲ ns
ژنوتیپ	۱۹	۰/۰۰۲٦*	۰/۰۳۱۱*	۰/٦۸*	۰/۰۵۰*	۰/۹۰*	۰/۲٤*	۱/۲٦**
ژنوتیپ×تنش	۳۹	۰/۰۰۸۰**	۰/۰۱۲*	۰/۳۹*	۰/۰٤٤*	۰/٤۹*	۰/۳۱*	۱/٦۸*
خطا	۱۱٤	۰/۰۰۵٦*	۰/۰۰٦*	۰/۹۵*	۰/۰۱۳*	۰/۱۲۱*	۰/۰۷۰*	۰/۷۹*
ضریب تغییرات	–	۱۲/٤۹	۱۸/۳۹	۸/۷۱	۷/۸٤	٦/۹۵	۹/۲۹	۷/۲۰

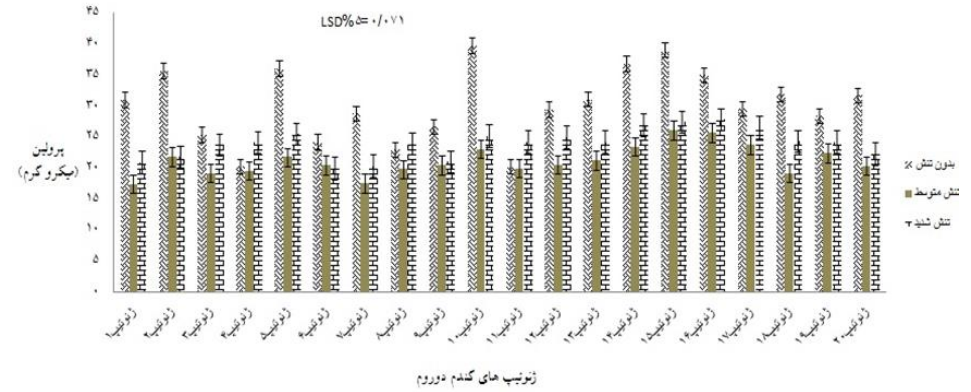
ns، *، ** به ترتیب نشان‌دهنده غیرمعنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪ می‌باشد.

[DOR: 20.1001.1.25885073.1400.10.2.15.7]



شکل۱- مقایسه میانگین صفت قند محلول در لاین‌های گندم دوروم در شرایط بدون تنش، تنش متوسط و تنش شدید

Fig1. Mean Comparison of sugar soluble traits in durum wheat lines under non-stress, medium stress and severe stress conditions



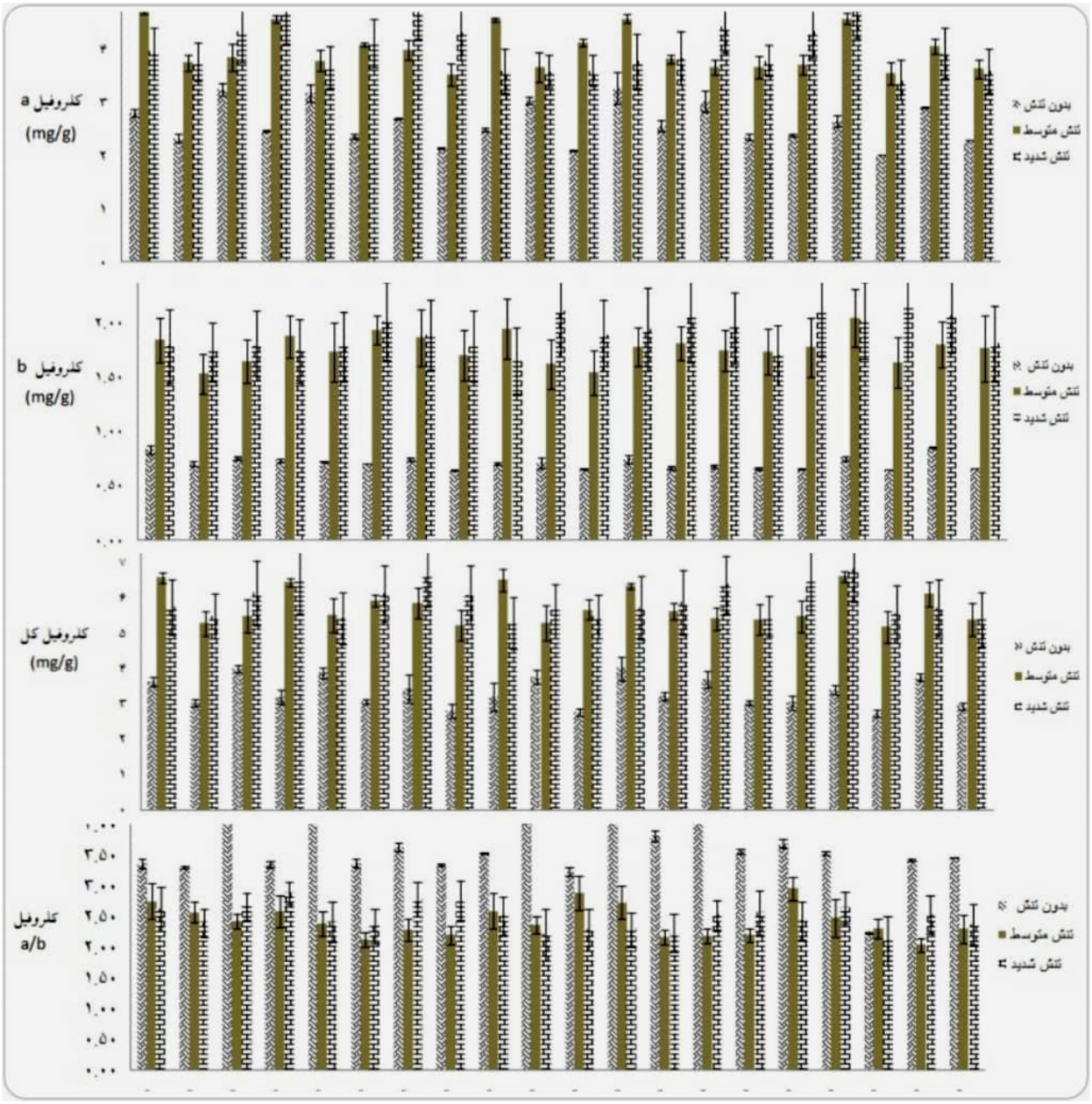
شکل ۲- مقایسه میانگین صفت پرولین در لاین‌های گندم دوروم در شرایط بدون تنش، تنش متوسط و تنش شدید

Fig2. Mean Comparison of Prolin traits in durum wheat lines under non-stress, medium stress and severe stress conditions

در خصوص صفت کلروفیل a در شرایط آبیاری کامل بیشترین و کمترین مقدار به ترتیب برای لاین‌های ۱۲ و ۱۸ به دست آمد. برای شرایط تنش شدید هم لاین ۱۵ بیشترین مقدار و لاین ۱۸ کمترین مقدار را دارا بودند. در شرایط تنش متوسط هم لاین ۱ بیشترین و لاین ۸ کمترین مقادیر را شامل شدند (شکل۳). در مورد صفت کلروفیل b در شرایط آبیاری کامل بیشترین مقدار مربوط به لاین ۱۹ و کمترین مقدار برای لاین ۸ به دست آمد. در شرایط تنش آبی شدید بیشترین مقدار برای لاین ۱۸و کمترین مقدار برای لاین ۹ به دست آمد. در شرایط تنش آبی متوسط هم بیشترین مقدار برای لاین ۱۷ و کمترین مقدار برای لاین ۲ حاصل گردید (شکل۳). در مورد صفت کلروفیل کل (T) در شرایط آبیاری کامل بیشترین مقدار برای لاین ۱۲ و کمترین مقدار برای لاین ۱۸ به دست آمد. در شرایط تنش شدید بیشترین مقدار مربوط به لاین ۱۷ و کمترین آن مربوط به لاین ۹ بود. در شرایط تنش متوسط هم لاین ۱۷ بیشترین مقدار و لاین ۱۸ کمترین مقدار را به خود اختصاص دادند (شکل۳). کاهش غلظت کلروفیل a و b در اثر کمبود آب درگیاه *Phragmites australis* گزارش شده است (agter *et al*. 2005). اهمیت رنگیزه‌های فتوسنتزی اساساً برای جذب نوری می‌باشد. همچنین کلروفیل a و b مستعد آسیب در برابر خشکی خاک بوده و تنش آبی موجب القاء تغییر در نسبت کلروفیل a، b و کارتنوئیدها می‌شود. به نظر می‌رسد کاهش محتوای کلروفیل تحت تنش کمبود آب به دلیل اکسایش نوری رنگیزه‌ها و تخریب کلروپلاست تحت تنش اکسیداتیو ناشی از کمبود آب بوده (Farooq *et al*. 2009)، یا ممکن است علت کاهش غلظت کلروفیل تحت تنش بواسطه اثر کلروفیلاز، پراکسیداز و ترکیبات فنلی و در نتیجه تجزیه کلروفیل باشد. در تنش‌های شدید با وجود افزایش وزن مخصوص برگ، تخریب کلروفیل نیز افزایش می‌یابد (Ahmadi *et al*. 2004)، که به تلفات

کلروفیل منجر خواهد شد. بنابرین بیوسنتز کلروفیل با محدودیت مواجه می‌شود (Bybordi *et al*. 2010).

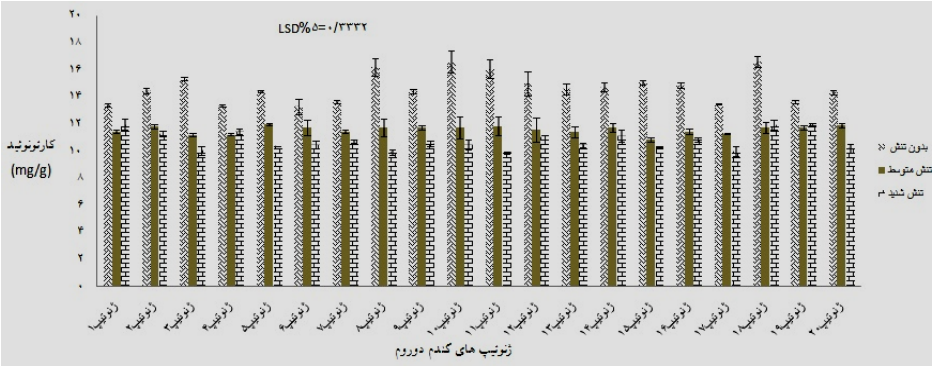
در خصوص صفت کلروفیل a/b در شرایط آبیاری کامل بیشترین و کمترین مقدار به ترتیب برای لاین‌های ١٤ و ١٨ به دست آمد. برای شرایط تنش شدید هم لاین ٤ بیشترین مقدار و لاین ١٨ کمترین مقدار را دارا بودند. در شرایط تنش متوسط هم لاین ١٦ بیشترین و لاین ١٩ کمترین مقادیر را شامل شدند(شکل٣). اثر متقابل تنش آبی و ژنوتیپ تاثیر معنی‌داری بر میزان کلروفیل a/b داشت. به طوری که افزایش میزان کلروفیل a/b در اثر شدت‌های بالای تنش آبی در همه‌ی ژنوتیپ‌ها قابل مشاهده بود که با نتایج آنتولین و همکاران (١٩٩٥) مطابقت دارد. استیل و همکاران (١٩٩١)، افزایش نسبت کلروفیل a/b را به‌واسطه‌ی تغییر در سیستم‌های فتوسنتزی در جهت نسبت کمتر فتوسیستم II به فتوسیستم I تحت شرایط تنش آبی گزارش کردند.



شکل ٣- مقایسه میانگین صفت کلروفیل a/b-b-a و کلروفیل کل در لاین‌های گندم دوروم در شرایط بدون تنش، تنش متوسط و تنش شدید

Fig3. Mean Comparison of Chlorophyll a-b-a/d and Total Chlorophyll traits in durum wheat lines under non-stress, medium stress and severe stress conditions

[DOR: 20.1001.1.25885073.1400.10.2.15.7]



شکل ٤- مقایسه میانگین صفت کارتنوئید در لاین‌های گندم دوروم در شرایط بدون تنش، تنش متوسط و تنش شدید

Fig4. Mean Comparison of carotenoid traits in durum wheat lines under non-stress, medium stress and severe stress conditions

در مورد صفت کاروتنوئید در شرایط آبیاری کامل بیشترین مقدار مربوط به لاین ۱۸ و کمترین مقدار برای لاین ٦ به دست آمد. در شرایط تنش آبی شدید بیشترین مقدار برای لاین ۱۹ و کمترین مقدار برای لاین ۱۱ به دست آمد. در شرایط تنش آبی متوسط هم بیشترین مقدار برای لاین ۵ و کمترین مقدار برای لاین ۱۵ حاصل گردید(شکل٤). تحت تنش کم‌آبی کاروتنوئیدها افزایش یافته و به طور جزئی منجر به ایجاد مقاومت به کمبود آب می‌شوند (Farooq. 2009). علاوه بر نقش کاروتنوئیدها در جذب نور (Sifermann *et al.*1987)، این رنگدانه از دستگاه فتوسنتزی در برابر رادیکال‌های آزاد مضر نیز محافظت می‌کند. از رادیکال‌های آزاد که کاروتنوئید در داخل دستگاه فتوسنتزی مهار می‌کند، می‌توان به اکسیژن منفرد اشاره کرد (Collins. 2001). از آنجایی که کاروتنوئیدها قادرند مستقیما اکسیژن منفرد ($^1O_2$) را غیرفعال می‌کند (Koyro. 2006)، تفاوت میزان کاروتنوئیدها در ژنوتیپ‌های مختلف، تحت شرایط تنش نشان‌دهنده‌ی تنوع در استفاده از مکانیزم‌های دفاعی کلروپلاست‌ها برای تحمل تنش می‌باشد.

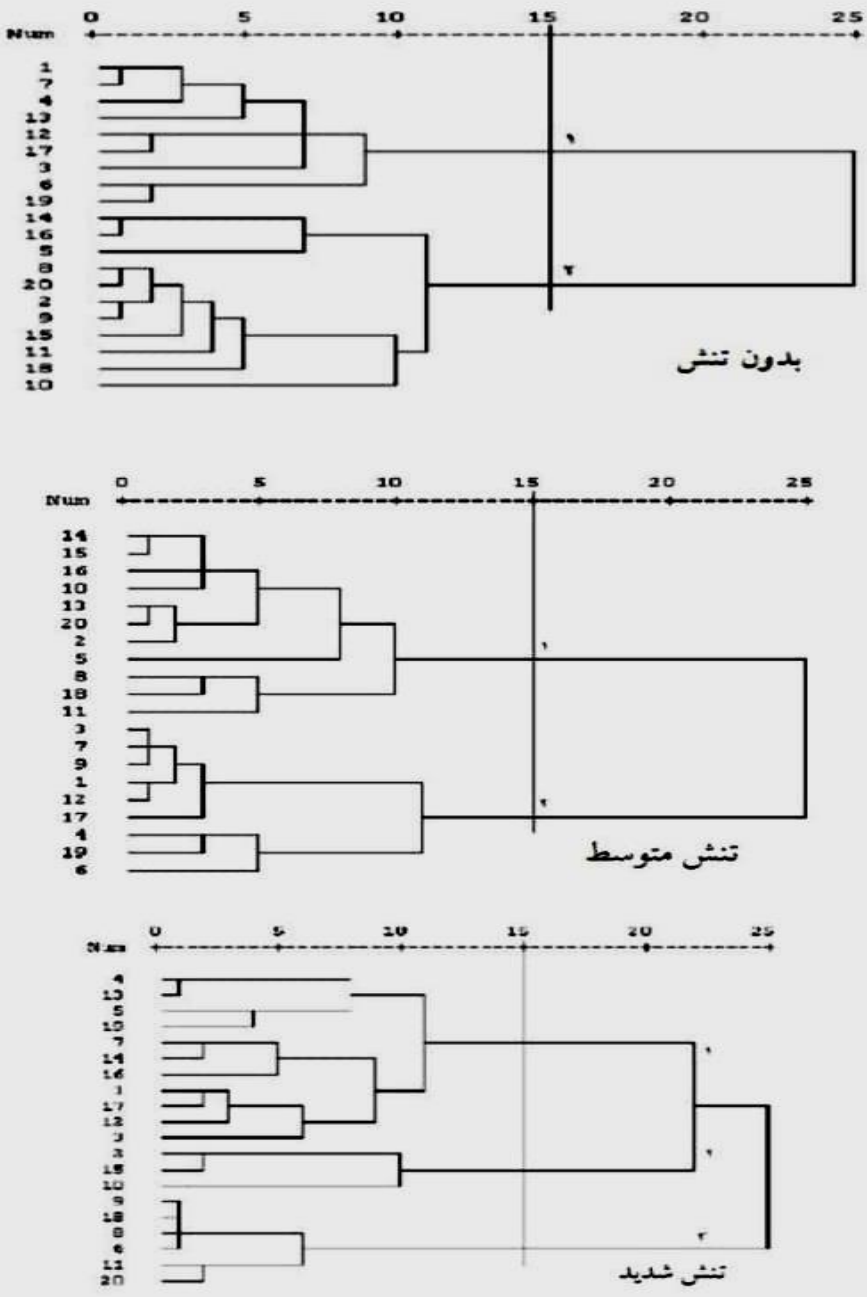
تجزیه خوشه‌ای لاین‌ها براساس صفات مورد مطالعه

استفاده از روش‌های آماری چند متغیره استراتژی مهمی برای طبقه بندی ژرم پلاسم، مرتب کردن تغییر پذیری در تعداد بسیار نمونه‌ها یا ارزیابی روابط ژنتیکی بین مواد مورد مطالعه است. از این روش‌ها بطور گسترده‌ای در ارزیابی تنوع ژنتیکی، صرف نظر از نوع داده‌ها (مورفولوژیکی ، بیوشیمیایی یا داده‌های مولکولی) استفاده می‌شود (Arcade *et al.*2000). تجزیه خوشه‌ای با هدف گروه‌بندی افراد یا مواد براساس صفات، انجام شده و سپس افراد دارای صفات مشابه را در یک خوشه قرارمی دهد. در تجزیه خوشه‌ای افراد داخل یک خوشه بیشترین شباهت و یکنواختی را دارند و بین خوشه‌ها حداکثر تفاوت و غیر یکنواختی وجود دارد. بنابراین، اگر گروه‌بندی موفقیت آمیز باشد، اجزاء یا افراد داخل خوشه از لحاظ ژنتیکی به‌هم نزدیکترند وخوشه‌های دورتر متفاوت‌تر خواهند بود (Bonato et al. 2006). لذا، به جای انجام تلاقی‌های تصادفی بین ژنوتیپ‌ها، تلاقی بین نماینده‌های گروه‌های ایجاد شده صورت می‌گیرد، که در نتیجه حداکثر تنوع ممکن در نتاج ایجاد شده و احتمال انتخاب لاین‌های برتر افزایش می‌یابد.

به منظور گروه‌بندی لاین‌های مورد بررسی در ارتباط با صفات اندازه‌گیری شده، از تجزیه خوشه‌ای به روش حداقل واریانس وارد استفاده شد. تعیین نقطه برش نمودار درختی با استفاده ازتجزیه واریانس چند متغیره بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی انجام شد (شکل۵).

همچنین به منظور تعیین خصوصیات هر گروه از نظر صفات مورد بررسی، انحراف از میانگین کل صفات نیز محاسبه گردید (جدول۳).

در شرایط بدون تنش، لاین‌های ۱، ۷، ٤، ۱۳، ۱۲، ۱۷، ۳، ٦ و ۱۹ در گروه یک قرار گرفتند. لاین‌های ١٤، ١٦، ۵، ۸، ۲۰، ۲،۹، ۱۵، ۱۱، ۱۸ و ۱۰ نیز در گروه دوم دسته‌بندی شدند. با توجه به میانگین بالا و انحراف از میانگین کل موجود در گروه دوم، این گروه به عنوان گروه برتر شناخته شد. لاین‌های گروه اول نیز به عنوان ژنوتیپ‌های حساس شناخته شدند.



شکل۵- گروه‌بندی ۲۰ لاین گندم دوروم به روش حداقل واریانس وارد بر اساس صفات اندازه‌گیری شده در بدون تنش، تنش متوسط و تنش شدید

Fig5. Grouping 20 lines of durum wheat by minimum variance method based on measured traits in non-stress, medium stress and severe stress

در شرایط تنش متوسط، لاین‌های ١٤، ١٥، ١٦، ١٠، ١٣، ٢٠، ٢، ٥، ٨، ١٨ و ١١ در گروه یک دسته‌بندی شدند. لاین‌های ٣، ٧، ٩، ١، ١٢، ١٧، ٤، ١٩ و ٦ نیز در گروه دوم قرار گرفتند. نتایج حاصل از مقادیر میانگین و انحراف از میانگین کل نشان داد که گروه یک به دلیل بالا بودن مقادیر میانگین و انحراف از میانگین کل به دست آمده، لاین‌های این گروه متحمل شناخته شدند. همچنین لاین‌های گروه دوم به دلیل پایین بودن مقادیر میانگین و انحراف از میانگین کل، در گروه لاین‌های حساس قرار گرفتند.

در شرایط تنش شدید نیز، لاین‌های ٤، ١٣، ٥، ١٩، ٧، ١٤، ١٦، ١، ١٧، ١٢ و ٣ درگروه یک قرار گرفتند. لاین‌های ٢،١٥ و١٠ در

[DOR: 20.1001.1.25885073.1400.10.2.15.7]

گروه دو جای گرفتند. همچنین لاین‌های ۹، ۱۸، ۸، ۶،۱۱ و ۲۰ نیز گروه سه قرار گرفتند. مقادیر به دست آمده میانگین و انحراف از میانگین کل بیانگر این بود که گروه دوم به دلیل بالا بودن این مقادیر جزء لاین‌های برتر و متحمل قرار گرفت. همچنین خوشه سه، به دلیل پایین بودن این مقادیر جزء لاین‌های حساس قرار گرفت. لاین‌های گروه اول هم حالت حد واسط را داشته و بین این دو گروه متحمل و حساس قرار گرفتند.

جدول ۳- میانگین، انحراف از میانگین کل و خطای معیار در دو خوشه‌ی حاصل از تجزیه خوشه‌ای بر اساس صفات مورد مطالعه در شرایط بدون تنش

Table3. Mean, standard deviation and standard error in two clusters obtained from cluster analysis based on the studied traits in non-stress

خوشه	ژنوتیپ		میانگین	انحراف از میانگین کل	خطای معیار	میانگین کل
۱	۱۷، ۱۳، ۴، ۱۲، ۱۷، ۳، ۶ و ۱۹	کلروفیل a	۴/۰۷	۰/۳۰۷	۰/۲۷	۳/۷۸
		کلروفیل b	۱/۵۹	۰/۶۳	۰/۰۸	۱/۵۳
		کلروفیل کل	۲/۶۸	۰/۳۷	۰/۲۷	۵/۳۱
		کلروفیل a/b	۲/۸۸	۰/۵۳	۰/۲۵	۲/۸۳
		کاروتنوئید	۱۱/۸۹	-۰/۰۳۸	۰/۳۲	۱۲/۸۷
		قند محلول	۰/۱۹	۰/۰۰۲	۰/۰۲۰	۰/۱۸
		پرولین	۰/۴۰	-۰/۰۴۴	۰/۰۵	۰/۴۴
		ارتفاع بوته	۲۱/۷۸	-۲/۱۲	۲/۸۱	۲۳/۹۱
		کلروفیل	۳۷/۸۴	-۰/۹۰	۶/۴۱	۳۸/۷۵
		حجم ریشه	۲/۳۶	-۰/۳۶	۰/۶۸	۲/۷۳
		طول سنبله	۸/۲۲	-۰/۳۳	۱/۲۰	۸/۴۶
		وزن تر ریشه	۱/۵۵	-۰/۰۱۹	۰/۱۹	۱/۵۷
		وزن خشک ریشه	۰/۷۹۴	۰/۰۰۹	۰/۰۷۸	۰/۷۹۳
		وزن تر بوته	۶/۸۹	-۰/۱۹۹	۰/۴۷	۷/۰۹
		وزن خشک بوته	۵/۷۶	-۰/۴۵	۱/۰۷	۶/۲۱
۲	۱۳ و ۱۲، ۶، ۱۶، ۲، ۱۱، ۱۰، ۲۰، ۳، ۱۵، ۱	کلروفیل a	۳/۵۲	-۰/۲۵	۰/۲۶	
		کلروفیل b	۱/۴۷	-۰/۰۵۱	۰/۰۷	
		کلروفیل کل	۵/۰۰	-۰/۳۰	۰/۲۸	
		کلروفیل a/b	۲/۸۹	-۰/۰۴۴	۰/۳۲	
		کاروتنوئید	۱۲/۵۹	۰/۳۱	۰/۵۶	
		قند محلول	۰/۱۸	-۰/۰۰۲	۰/۰۲۶	
		پرولین	۰/۴۸	۰/۰۳۶	۰/۰۴	
		ارتفاع بوته	۲۵/۶۵	۱/۷۴	۳/۶	
		کلروفیل	۳۹/۴۹	۰/۷۴	۷/۱۴	
		حجم ریشه	۳/۰۱	۰/۲۹	۰/۶۵	
		طول سنبله	۸/۶۵	۰/۱۹	۰/۸۶	
		وزن تر ریشه	۱/۵۸	۰/۰۱۵	۰/۴۸	
		وزن خشک ریشه	۰/۷۹۲	-۰/۰۰۸	۰/۱۸	
		وزن تر بوته	۸/۲۵	۰/۱۶	۰/۷۹	
		وزن خشک بوته	۶/۵۸	۰/۳۶	۰/۰۴	

[DOR: 20.1001.1.25885073.1400.10.2.15.7]

ادامه جدول ۳- Table3.

خوشه	۱			۲			میانگین کل
ژنوتیپ	۱، ۷، ۴، ۱۳، ۱۲، ۱۷، ۳، ۶ و ۱۹			۱، ۱۵، ۳، ۲۰، ۱۰، ۱۱، ۲، ۱۶، ۶، ۱۲ و ۱۳			
	میانگین	انحراف از میانگین	خطای معیار	میانگین	انحراف از میانگین	خطای معیار	
کلروفیل a	۳/۰۹	۰/۱۹	۰/۱۶	۲/۷۴	-۰/۱۵	۰/۱۳	۲/۹۰
کلروفیل b	۰/۹۸۳	۰/۰۵۱	۰/۰۶	۰/۸۹۰	-۰/۰۴۲	۰/۰۴	۰/۹۳۲
کلروفیل کل	۴/۰۷	۰/۲۴	۰/۱۷	۳/۶۳	-۰/۲	۰/۱۶	۳/۸۳
کلروفیل a/b	۳/۲۸	۰/۰۲۵	۰/۱۹	۳/۲۳	-۰/۰۲	۰/۱۱	۳/۲۵
کاروتنوئید	۱۱/۸۸	-۰/۰۳۹	۰/۳۱	۱۲/۶۰	۰/۳۲	۰/۵۵	۱۲/۲۸
قند محلول	۰/۱۸	-۰/۰۰۶	۰/۱۷	۰/۱۹	۰/۰۰۵	۰/۰۲	۰/۱۹
پرولین	۰/۳۸	-۰/۰۵۷	۰/۰۵	۰/۴۷	۰/۰۴۷	۰/۰۷	۰/۴۴
ارتفاع بوته	۲۲/۹۴	-۲/۵۴	۲/۷۹	۲۲/۵۸	۲/۰۸	۴/۵۷	۲۵/۴۹
کلروفیل	۴۱/۱۹	۰/۲	۴/۳۱	۴۰/۸۷	-۰/۱۸	۵/۶۹	۴۰/۹۶
حجم ریشه	۲/۴۶	-۰/۳۲	۰/۵۳	۳/۰۴	۰/۲۶	۰/۵۰	۲/۷۸
طول سنبله	۷/۸۵	-۰/۴۸	۰/۶۴	۷/۸۳	۰/۳۹	۰/۵۹	۷/۳۴
وزن تر ریشه	۱/۲۹	-۰/۰۵۱	۰/۱۴	۱/۳۸	۰/۰۴۲	۰/۴۱	۱/۳۴
وزن خشک	۰/۷۱۶	-۰/۰۰۴	۰/۰۹	۰/۷۲۴	۰/۰۰۳	۰/۱۸	۰/۷۲۱
وزن تر بوته	۶/۹۷	-۰/۱۲	۰/۵۲	۷/۱۹	۰/۰۹۹	۰/۳۰	۷/۰۹
وزن خشک بوته	۶/۱۳	-۰/۱۵	۰/۳۳	۶/۴۱	۰/۱۲	۰/۲۸	۶/۲۸

[DOR: 20.1001.1.25885073.1400.10.2.15.7]

ادامه جدول ۳- .Table3

خوشه	لاین	میانگین	انحراف از میانگین کا	خطای معیار
۱	۱۵،۱۶،۲۰،۱۲،۶،۲،۱۷،۸،۱۹،۱۰،۱۴ و ۱			
	کلروفیلa	۴/۱۷	۰/۲۰	۰/۱۸
	کلروفیل b	۱/۹۴	۰/۰۳	۰/۰۹
	کلروفیل کل	۶/۱۲	۰/۲۳	۰/۱۷
	کلروفیل a/b	۲/۵۹	۰/۰۹۶	۰/۲۴
	کاروتنوئید	۱۲/۵۰	۰/۰۴	۰/۵۲
	قند محلول	۰/۱۸	-۰/۰۰۲	۰/۰۱
	پرولین	۰/۴۴	۰/۰۱۸	۰/۰۲
	ارتفاع بوته	۰/۲۶	۰/۵۰	۱/۲۵
	کلروفیل	۴۲/۰۳	-۰/۷۶	۵/۱۸
	حجم ریشه	۲/۶۳	-۰/۰۸	۰/۸۸
	طول سنبله	۸/۵۴	۰/۱۳	۰/۸۰
	وزن تر ریشه	۱/۶۷	۰/۰۲	۰/۳۱
	وزن خشک ریشه	۰/۸۴	۰/۰۳	۰/۱۰
	وزن تر بوته	۷/۰۱	-۰/۰۷۷	۰/۴۸
	وزن خشک بوته	۶/۱۱	-۰/۱۵	۰/۳۰
۲	۱۳، ۱۱ و ۳			
	کلروفیلa	۳/۷۸	-۰/۱۹	۰/۱۶۴
	کلروفیل b	۱/۸۰	-۰/۱۰	۰/۱۲
	کلروفیل کل	۵/۵۸	-۰/۲۹	۰/۲۸
	کلروفیل a/b	۲/۵۵	۰/۰۴	۰/۲۱
	کاروتنوئید	۱۲/۱۳	-۰/۳۲	۰/۹۰
	قند محلول	۰/۱۹	۰/۰۰۶	۰/۰۲۰
	پرولین	۰/۴۹	۰/۰۶۷	۰/۰۱
	ارتفاع بوته	۲۹/۸	۳/۹۳	۰/۶۳
	کلروفیل	۴۴/۶	۱/۵۲	۲/۹۷
	حجم ریشه	۲/۶۹	-۰/۰۲	۰/۷۵
	طول سنبله	۸/۱۱	-۰/۲۹	۰/۵۷
	وزن تر ریشه	۱/۲۶	-۰/۳۸	۰/۶۲
	وزن خشک ریشه	۰/۵۷	-۰/۲۳	۰/۱۵
	وزن تر بوته	۷/۱۴	۰/۰۴۹	۰/۰۱۵
	وزن خشک بوته	۶/۷۶	۰/۴۸	۰/۲۵
۳	۱۸، ۷، ۵ و ۴			
	کلروفیلa	۳/۶۹	-۰/۲۸	۰/۱۶۳
	کلروفیل b	۱/۹۰	-۰/۰۱	۰/۰۷
	کلروفیل کل	۵/۵۹	-۰/۲۸	۰/۱۶
	کلروفیل a/b	۲/۳۰	-۰/۱۹	۰/۱۰
	کاروتنوئید	۱۲/۵۳	۰/۰۷	۰/۳۹
	قند محلول	۰/۱۸	۰/۰۰۱	۰/۰۲۴
	پرولین	۰/۳۵	-۰/۰۶۸	۰/۰۲
	ارتفاع بوته	۲۲/۹	-۲/۸۹	۱/۱۵
	کلروفیل	۴۳/۰۷	۰/۶۴	۱/۵۵
	حجم ریشه	۲/۸۹	۰/۱۶	۰/۴۵
	طول سنبله	۸/۳۱	-۰/۰۹۴	۰/۶۳
	وزن تر ریشه	۱/۸۱	۰/۱۵	۰/۱۴
	وزن خشک ریشه	۰/۸۵	۰/۰۴۷	۰/۰۵۸
	وزن تر بوته	۷/۲۱	۰/۱۱	۰/۴۰
	وزن خشک بوته	۶/۳۰	۰/۰۳۶	۰/۲۵
میانگین کل		۳/۹۷	۱/۹۱	۵/۸۸
		۲/۵۰	۰/۱۸	۱۲/۴۵
		۰/۴۲	۰/۱۸	۰/۲۵
		۲/۷۲	۸/۴۰	۱/۳۶۵
		۰/۸۰	۷/۰۹	۶/۲۷

برآورد فاصله ژنتیکی در پروتئین‌های محلول در آب و نمک

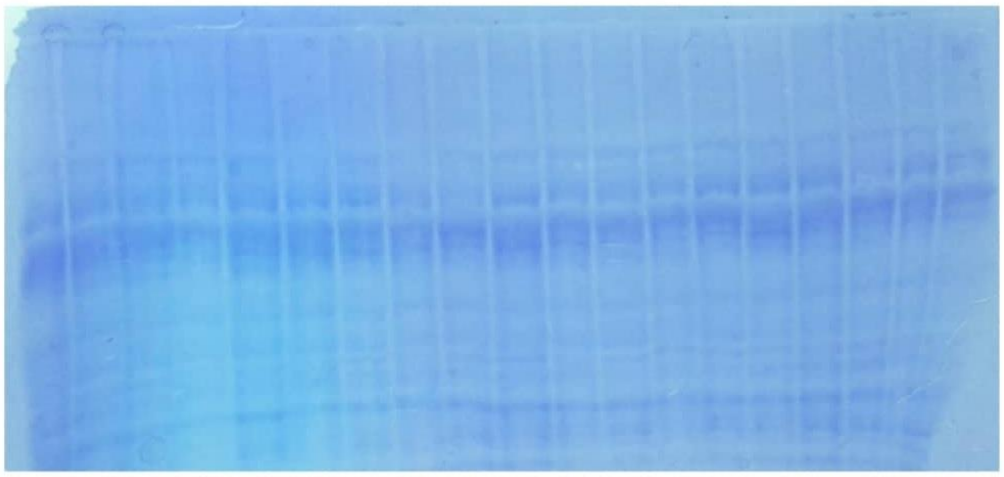
در مجموع برای ۲۰ لاین مورد مطالعه در شرایط تنش، ۲۵ نوار پروتئینی مشاهده گردید(شکل٦) که لاین ٤ کمترین نوار و لاین ۵ بیشترین نوار را دارا بودند. طبق نتایج حاصل، ۷۳/۳۳ درصد از مکان‌های ژنی در پلی‌مورفیسم بودند. همچنین نتایج حاصل از تجزیه الگوی الکتروفورزی پروتئین بیانگر این بود که میزان تنوع ژنی کل برای لاین‌های مورد مطالعه ١٦/٦٨ درصد و شاخص شانون (Shannon. 1949) نیز برابر ۰/۲٦٤ است. علاوه بر این میزان تنوع ژنتیکی نی (Nei. 1978) برای لاین‌های مورد بررسی

۱۶/٦٤ درصد محاسبه گردید. بر اساس ماتریس شباهت و فاصله ژنتیکی نی، کمترین فاصله ژنتیکی بین لاین‌های ۱۸ و ۱۹ (۰/۳۲) و بیشترین فاصله ژنتیکی بین لاین‌های ۱٦ و ۸ (۰/۹۸) بود (جدول٤).

جدول٤- ماتریس فاصله ژنتیکی نی (نی، ۱۹۷۸) برای پروتئین‌های محلول در آب و نمک مربوط به لاین‌های گندم دوروم مورد مطالعه

Table4. Nei Genetic distance matrix (Nei, 1978) for water and salt soluble proteins related to durum wheat lines studied

	۱	۲	۳	٤	٥	٦	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲	۱۳	۱٤	۱٥	۱٦	۱۷	۱۸	۱۹	۲۰
۱	۱																			
۲	۰/٤٥	۱																		
۳	۰/٦٤	۰/٤٤	۱																	
٤	۰/٥۳	۰/٦٥	۰/٥٥	۱																
٥	۰/٤۰	۰/٦۱	۰/٦۰	۰/٦۷	۱															
٦	۰/٦٥	۰/۷۲	۰/۷۱	۰/٥۹	۰/٦۰	۱														
۷	۰/۷٤	۰/٦٥	۰/٦٤	۰/٦۲	۰/٥۹	۰/٦٥	۱													
۸	۰/۸۲	۰/۸۷	۰/۷۸	۰/٤۰	۰/۷٤	۰/٥٦	۰/٦۲	۱												
۹	۰/٥۷	۰/۷۲	۰/٦۹	۰/٥۱	۰/٤٥	۰/٤۷	۰/٤۹	۰/٦٤	۱											
۱۰	۰/٦۸	۰/۹٦	۰/۸۱	۰/۷٤	۰/٤۹	۰/٦۱	۰/٤٥	۰/٦۸	۰/٤٦	۱										
۱۱	۰/۷۸	۰/٦٤	۰/۷۹	۰/٦٦	۰/٦٤	۰/٦۲	۰/٦۹	۰/٥۸	۰/٦۲	۰/٦۱	۱									
۱۲	۰/٦٤	۰/٦۸	۰/۸٤	۰/٥۷	۰/٥۷	۰/۷٦	۰/۷۳	۰/۸٤	۰/٦۸	۰/٥۲	۰/۳۹	۱								
۱۳	۰/٤۹	۰/۷۷	۰/۷۸	۰/٦۸	۰/۷۲	۰/۹۰	۰/۸٤	۰/۷۸	۰/۸۹	۰/۷٥	۰/٤٦	۰/٤۷	۱							
۱٤	۰/٦۸	۰/٦۸	۰/۷٥	۰/٦۳	۰/٦٤	۰/۸۲	۰/٦٥	۰/٦٤	۰/۷٦	۰/٥۷	۰/٤۱	۰/۳۹	۰/٤۰	۱						
۱٥	۰/۸۲	۰/٦۹	۰/۷۹	۰/٥۸	۰/٦۸	۰/٦٤	۰/۸٥	۰/٥٦	۰/٦۹	۰/٦٦	۰/٤٥	۰/٤۲	۰/۳۹	۰/٤٦	۱					
۱٦	۰/٦۳	۰/۷٥	۰/٦۷	۰/۷۱	۰/۷۹	۰/۷٥	۰/۸۰	۰/۹۸	۰/۷٥	۰/۷۱	۰/٥٥	۰/٤٤	۰/۷۰	۰/٦٥	۰/٥۱	۱				
۱۷	۰/۸۷	۰/۷٤	۰/۷٥	۰/٦۲	۰/۸۲	۰/۷۲	۰/۸۸	۰/۸٤	۰/۸۱	۰/۸۱	۰/٦۱	۰/٥۸	۰/۷٦	۰/٦۱	۰/٤۹	۰/٤٦	۱			
۱۸	۰/٥٤	۰/٥٦	۰/٦٤	۰/٥۹	۰/۷٥	۰/۷٦	۰/۷٥	۰/۷۳	۰/٦۹	۰/۷۳	۰/٤۸	۰/٤۸	۰/٦٥	۰/٦۱	۰/۸۱	۰/٤۹	۰/٤۷	۱		
۱۹	۰/٦۷	۰/٦۲	۰/۷٦	۰/٦٥	۰/۷۸	۰/۸۲	۰/۷۲	۰/۹۱	۰/٦۸	۰/٦٥	۰/٤۸	۰/٥۱	۰/٦۲	۰/٥۸	۰/٦۲	۰/٥۱	۰/٤۲	۰/۳۲	۱	
۲۰	۰/۷۸	۰/٦٥	۰/۷۰	۰/٥٤	۰/۷۰	۰/۷٥	۰/٦٥	۰/۸۷	۰/٥۸	۰/٥٥	۰/٥۷	۰/٦۰	۰/۷۱	۰/٥۹	۰/٥٦	۰/٦۳	۰/٥۰	۰/۳٥	۰/۳۹	۱



شکل٦- تصویرنوارهای پروتئینی پروتئین های ذخیره ای بذرگندم دوروم در ژل پلی آکریل آمید در شرایط تنش آبی

Fig6. Protein imagery of durum wheat storage proteins in polyacrylamide gel under water stress

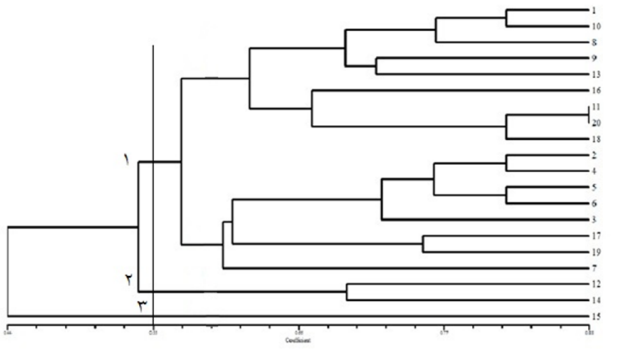
تجزیه خوشه‌ای بر اساس داده‌های مولکولی در پروتئین‌های محلول در آب و نمک

به منظور گروه‌بندی لاین‌های گندم دوروم در شرایط تنش، تجزیه کلاستر با استفاده از روش UPGMA و ضریب تشابه ژاکارد (J) انجام شد (شکل۷). با توجه به بالا بودن مقدار ضریب همبستگی کوفنتیک (۰/۷۲) در این روش نسبت به روش‌های دیگر انتخاب و مورد بررسی قرار گرفت. در این تجزیه لاین‌های مورد مطالعه در سه گروه دسته‌بندی شدند. لاین‌های ۱، ۱۰، ۸، ۹، ۱۳، ۱٦، ۱۱، ۲۰، ۱۸، ۲، ٤، ٥، ٦، ۳، ۱۷، ۱۹ و ۷ در گروه یک قرار گرفتند. لاین‌های ۱۲ و ۱٤ در گروه ۲ واقع شدند. ژنوتیپ ۱٥ هم در گروه ۳ واقع شد. واقع نشدن برخی لاین‌ها در کنار هم با توجه به یک ویژگی مورفولوژیکی، می‌تواند ناشی از عدم پوشش کامل ژن

[DOR: 20.1001.1.25885073.1400.10.2.15.7]

توسط پروتئین مورد مطالعه بوده و مربوط به بخش غیر کد شونده باشد که در بروز صفات نقشی ندارند. همچنین صفات محیطی هم می‌تواند در بروز صفات مورفولوژیکی تاثیر داشته باشد.

باشد.

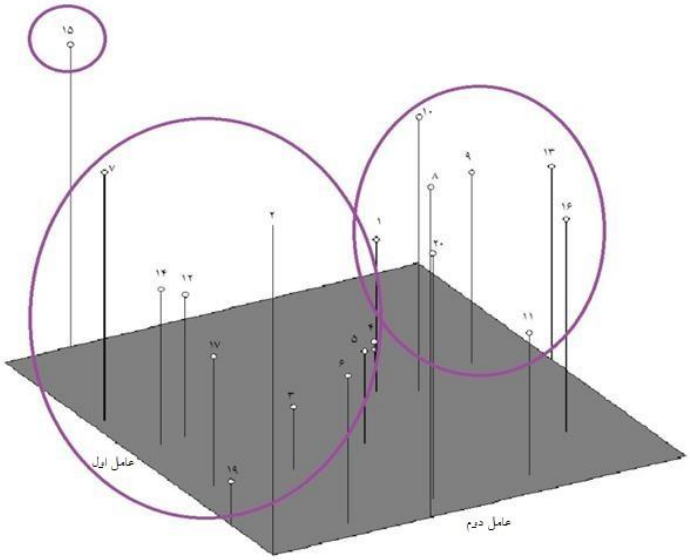


شکل ۷- گروه‌بندی لاین‌های گندم دوروم مورد مطالعه بر اساس پروتئین‌های محلول در آب و نمک با استفاده از روش UPGMA و ضریب تشابه ژاکارد

Fig7. Grouping of durum wheat lines based on water and salt soluble proteins using UPGMA method and Jacquard similarity coefficient

تجزیه به مولفه‌های هماهنگ اصلی (PCoA) برای پروتئین‌های محلول در آب و نمک

در این مطالعه تجزیه به مولفه‌های هماهنگ اصلی به‌منظور تعیین روابط ژنتیکی بین لاین‌ها و نیز گروه‌بندی آن‌ها و روشی به عنوان مکمل تجزیه خوشه‌ای انجام گرفت. نتایج تجزیه به مولفه‌های هماهنگ اصلی نشان داد که بر اساس داده‌های مولکولی پنج مولفه هماهنگ اصلی اول در مجموع حدود ٥٦/١٨ درصد تغییرات مولکولی بین لاین‌ها را توجیه کردند که در این حالت (بالای ۵۰ درصد) تجزیه به مولفه‌های هماهنگ اصلی مطلوب به حساب می‌آید. مولفه اول ١٥/٦٨، مولفه دوم ١٢/٢٠ و مولفه‌های سوم، چهارم و پنجم به ترتیب ١٠/٩٠، ٩/١٥ و ٨/٢٥ درصد از تنوع کل را تبیین کردند. نمایش لاین‌ها در یک نمودار سه بعدی بر اساس دو مولفه اصلی اول، گروه‌بندی حاصل از تجزیه خوشه‌ای را تایید کرد و توانست ژنوتیپ‌ها را به خوبی از هم تفکیک کند (شکل۸).



شکل ۸- نمایش سه بعدی لاین‌های گندم دوروم مورد مطالعه براساس دو مؤلفه هماهنگ اول و دوم برای داده‌های پروتئین محلول در آب و نمک

Fig8. Three-dimensional display of studied durum wheat lines based on the first and second coordinated components for water and salt soluble protein data

نتیجه گیری

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که لاین‌های مورد مطالعه از نظر اکثر صفات مورد بررسی اختلاف معنی‌دار داشتند. این نتیجه نشان‌دهنده وجود تنوع ژنتیکی قابل توجهی در بین ارقام مورد مطالعه در این تحقیق بود. نتایج حاصل از مقایسات میانگین صفات مورد بررسی نشان داد که در مجموع لاین‌های ١٦ و ۵ در اکثریت صفات بیشترین مقدار را دارا بوده و همچنین لاین‌های ۱۰ و ۱۸ در بیشتر صفات کمترین مقادیر را دارا می‌باشد. همچنین مقادیر صفات کلروفیل **a**، **b**، کلروفیل کل، قند محلول و پرولین در شرایط تنش افزایش و مقادیر صفات کلروفیل **a/b** و کارتونوئید در شرایط تنش کاهش می‌یابد. همچنین اطلاعات به دست آمده از تجزیه خوشه‌ای بیانگر این مسئله بود که هم در شرایط بدون تنش و هم در شرایط تنش لاین‌های ١٦ و ۵ با توجه به بالا بودن مقادیر میانگین نسبت به بقیه لاین‌ها دارای ثبات عملکرد بیشتری در شرایط محیطی مختلف هستند. با انجام تجزیه داده‌های مولکولی، بر اساس ماتریس شباهت و فاصله

ژنتیکی نی، در پروتئین‌های محلول در آب و نمک کمترین فاصله ژنتیکی بین لاین‌های ۱۸ و ۱۹ (۰/۳۲) و بیشترین فاصله ژنتیکی بین لاین‌های ۱۶ و ۸ (۰/۹۸) به دست آمد. علت متفاوت بودن گروه‌بندی در تجزیه خوشه‌ای برای صفات مورد بررسی و همچنین در خصوص داده‌های مولکولی این است که پروتئین‌ها فقط قسمتی از ژنوم را شامل می‌شوند و فقط بخشی از آن را بروز می‌دهند.

در نهایت توصیه می‌شود جهت شناسایی بهتر ارقام مقاوم و حساس به تنش آبی از پارامترهای مهم دیگری مانند کارایی مصرف آب، میزان کلروفیل برگ پرچم، محتوای آب نسبی برگ، پایداری غشای سلولی، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، انتقال مجدد و ... استفاده شود. همچنین می‌توان از نشانگرهای مولکولی همبارز و غیرهمبارز در کنار صفات زراعی استفاده کرد. ارزیابی در شرایط مزرعه‌ای، در محیط‌های مختلف و با تعداد بیشتری ژنوتیپ انجام شود. به منظور گزینش هر چه دقیق‌تر، توصیه می‌شود از مکان‌یابی **QTL** ها در راستای شناسایی جایگاه‌های مرتبط با تحمل به تنش آبی استفاده شود.

منابع

Aghaei, K., and A. A. Ehsanpour. 2008. Protemoe Analysis of Potato under Salt Stress.Journal of Proteome Reaserch. 11:4858-4868.

Ahmadi, A., Ceiocemardeh, A. 2004. Effect of drought stress on soluble carbohydrate, chlorophyll and Proline in four adapted wheat cultivars with various climate of Iran. Iranian Journal of Agriculture Science. 35: 753-763.

Akram H, Ali A, Sattar A, Rehman H, Bibi A. 2013. Impact of water deficit stress on various physiological and agronomic traits of three basmati rice (Oryzasativa L.) cultivars. J Anim Plant Sci 23(5): 1415-1423.

Antolin, M.C., Yoller, J., Sanchez-Diaz, M. 1993. Effects of temporary drought on nitrate-fed and nitrogen –fixing alfalfa plants. Plant Science. 107:159-165.

Arcade, A., Anselin, F., Faivre Rampant, P., Lesage, M. C., Paques, L. E. Prat, D. 2000. Application of AFLP, RAPD and ISSR markers to genetic mapping of European and Japanese larch. Theoretical and Applied Genetics, 100: 299-307.

Arnon, A.N. 1967. Method of extraction of chlorophyll in the plants. Agronomy Jornal, 23: 112-121.

Bajii, M., Lutts, S., Kinet, J. 2001. Water deficit effect on solute contribution to osmotic adjustment as a function of leaf ageing in three wheat cultivars performing differently in arid conditions. Plant Science. 160: 669-681.

Bates, I.S., Waldern. R.P., Teare, I.D. 1973. Rapid determination of free prolin for water stress studies. Plant and Soil, 39:205-207.

Bonato, A.L.V., Galvo, E.S., Geraldi, I.O., Arias C.A.A. 2006. Genetic variability among soybean (Glycine max L. Merrill) cultivars released in Brazil using AFLP ,arkers. Genet. Mol. Biol., 29: 692-704.

Bordloff, D., Etchebfr, H., Buscall, R. 2001. Improved procedures for extraction of water extractable carbohydrates from particulate organic matter. Oceanologica Acta. 24: 343-347.

Boyacioglu, H. 2017. Global durum wheat use trending upward. Accessible in :http://www.world grain.

Bybordi, A., Tabatabaei, S.J, Ahmadev, A. 2010. Effect of salinity on fatty acid composition of Canola (Brassica napus L). Journal of Food Agriculture and Environment. 8 (1): 113-115.

Collins, A. 2001. Carotenoids and genomic stability, Mutat. Res. 475p.

Estill, K., Delany, R.H., Smith, W.K., Ditterline, R.L. 1991. Water relations and productivity of alfalfa leaf chlorophyll variants. Crop Science. 31: 1229-1233.

Falk, S., Maxwell, D.P., Laudenbach, D.E., Huner, N.P.A., Baker, N.R. 1996. In Advances in Photosynthesis, V.5, Photosynthesis and the Environment. Academic Publishers Dordrecht Boston London. 367-385.

Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D., Basra, S.M.A. 2009. Plant drought stress: effects, mechanisms and management. Agronomy for Sustainable Development. 29: 185-212.

Fufa, H., Baenziger, P. S., Beecher, B. S., Dweikat, I., Graybosch, R. A. and Eskridge, K. M. 2005. Comparison of phenotypic and molecular marker-based classifications of hard red winter wheat cultivars. Euphytica 145: 133-146.

KaviKishor, P.B., Sangam, S., Amrutha, R. N., Sri Laxmi, P., Naidu, K. R., Rao, K. et al. 2005. Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: Its implications in plant growth and abiotic stress tolerance. Current Science. 88(3): 424-438.

Koyro, H.W. 2006. Effect of salinity on growth, photosynthesis, water relations and solute composition of potential cash crop halophyte (Plant agocoronopus L.). Environmental and Experimental Botany. 56: 136-149.

Laemmli, U. K. 1997. Cleavage of structural protein during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature 277: 680-685.

Lawerence G j, Moos H J, Shepherd K W, Wrigley C W, 1987. Dough quality of biotypes of eleven Australian wheat

[DOR: 20.1001.1.25885073.1400.10.2.15.7]

cultivars that differ in HMW glutenin subunits composition. J. Cereal.Sci. 6: 99-101.

Lum M, Hanafi M, Rafii Y, Akmar A. 2014. Effect of drought stress on growth, proline and antioxidant enzyme activities of upland rice. Journal of Animal and Plant Sciences 24(5): 1487-1493.

Meskini Vishkayi, F., Jaffar Neghadi, A., Davatgar. 2020. Evaluation of the Effect of Water Deficit Stress on Wheat Yield in a Moderate-Textured Soil in Khuzestan Province. Iranian Journal Of Water Research In Agriculture(Formerly Soil And Water Sciences). 46 (2): 229-241.

Moaveni, P. 2011. Effect of water deficit stress on some physiological traits of wheat (Triticum aestivum L.). Agricultural Science Research Journal. 1(1): 64-68.

Moghadassi, L., Rashidi, V., Razban haghighi, A. 2009. Effects Of Drought Stress On Grain Yield And Some Morphological Traits Of Durum Wheat Lines. Journal Of Crop Eco physiology. 12: 41-53(In Farsi with English abstract).

Muchlbauer, F. J., Redden, R. J., Nassib, A. M., Robertson, L.D., Smithson, J.B. 1988. population improvement in pulse crops: an assessment of methods and techniques .In : World crops: Cool season food legumes. R.J. Summerfield (Ed). Kluwer Academic Publishes, Dordrecht , The Nether. 5: 943-966.

Nei, M. 1978. Estimation of average heterozygosis and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*. 89: 583-590.

Pagter, M. Bragato, C., Brix, H. 2005. Tolerance and physiological responses of phragmites australis to water deficit. Aquatic Botany. 81: 285-299.

Rashidi, S., Naghavi, M. R., Mardi, M. & Hosseinzadeh, A. 2009. Evaluation of morphological and high molecular proteins in durum wheat germplasm. J Agric Sci Techno (In Farsi with English abstract).

Rezayi, A., Kamgar Haghighi, A. 2009. Effect Of Water Stress On The Yield Of Cowpea at Different Growth Stages. Iranian Journal of Soil Research. 23:117-124(In Farsi with English abstract).

Sadeghzade-Ahari, D. 2006. Evaluation for tolerance to drought stress in dry land promising durum wheat genotypes. Iranian Journal of Crop Science. 8 (1): 30-45

Shahriyari, R., Khodadad, D., Molla sadeghi, V. 2009. The effect of potassium humate on the storage capacity of assimilates in wheat stalks in end-of-year drought conditions. National Conference on Water Crisis in Agriculture and Natural Resources, Tehran.

Shannon, C. E., Weaver, W. 1949. The mathematical theory of communication. University. Illinois. Press, Urbana.

Siefermann-Harms, D. 1987. The light-harvesting and protective functions of carotenoids in photosynthetic membranes. Plant Physiology. 69:561–568.

Silveira, J.A.G., Arau´ jo, S.A.M., Lima, J.P.M.S., Viegas, R.A. 2010. Roots and leaves display contrasting osmotic adjustment mechanisms in response to NaCl-salinity in Atriplex nummularia. Environmental and Experimental Botany 66: 1-8.

Turkan, I. 2011. Plant responses to drought and salinity stress, Development in a post-Genomic era. Advances in Botanical Research. 593p.

[DOR: 20.1001.1.25885073.1400.10.2.15.7]