Shahid Bahonar University of Kerman
Agricultural Biotechnology Journal
Iranian Biotechnology Society
Print ISSN: 2228-6705 Online ISSN: 2228-6500

Assessment of Expression Pattern of Some Antioxidant and Dehydrin Genes in Durum Wheat Genotypes under Water Deficit Conditions

Mandana Moradi
PhD Student, Department of Biotechnology and Plant Breeding, Kermanshah Branch, Islamic Azad University, Kermanshah, Iran. E-mail address: m.moradi6267@gmail.com

Alireza Etminan
*Corresponding author. Associate Professor, Department of Biotechnology and Plant Breeding, Kermanshah Branch, Islamic Azad University, Kermanshah, Iran. E-mail address: alietminan55@yahoo.com

Reza Mohammadi
*Corresponding author. Associate Professor, Dryland Agricultural Research Institute (DARI), Sararood branch, AREEO, Kermanshah, Iran. E-mail address: rmohammadi95@yahoo.com

Lia Shooshtari
Assistant Professor, Department of Biotechnology and Plant Breeding, Kermanshah Branch, Islamic Azad University, Kermanshah, Iran. E-mail address: l_shooshtary@yahoo.com

Ali Mehras Mehrabi
Assistant Professor, Department of Biotechnology and Plant Breeding, Kermanshah Branch, Islamic Azad University, Kermanshah, Iran. E-mail address: alimehrasmehrabi@yahoo.com

Abstract

Objective

Drought stress is one of the most important environmental stresses that has negative effects on plant growth and development, as well as finally yield performance. Durum wheat has a wide range of adaptability in the Mediterranean regions, where the water deficit is a main challenge to achieving high productivity. In the present study, to investigate the molecular response of some selected durum wheat genotypes from breeding programs, the expression patterns of some antioxidant genes such as catalase (*CAT*), ascorbate peroxidase (*APX*), guaiacol peroxidase (*GPX*), superoxide dismutase (*SOD*) along with two dehydrin genes including *TdDHN16* and *TdDHN15* were assessed under control, moderate, severe water deficit stress treatments.

Materials and methods

In the present study, the effects of different water deficit treatments on expression patterns of *CAT*, *APX*, *GPX*, *SOD*, *TdDHN16*, and *TdDHN15* genes in six promising durum wheat genotypes

along with a check cultivar (Zahab) were evaluated. The experiment was performed in an optimal growth condition in an experimental glasshouse, and water deficit treatments were determined based on the filed capacity method. After seedling establishment and applying stress treatment (21-days), plants were subjected to sampling and the relative expression for targeted genes was estimated as proposed by Livak and Schmittgen (2001).

Results

According to results of combined analysis of variance, the significant differences were observed between water deficit stress treatments, genotypes, and their interaction in terms of relative expression of all studied genes. The highest increasing expression was observed in the moderate treatment for *APX*, *GPX*, and *SOD* genes and in the severe treatment for *APX*, *TdDHN15*, and *GPX* genes. A comparison of the expression patterns of studied genes revealed that tolerant genotypes (G2, G4, and G5) along with check cultivar (Zahab) showed highest relative expression than other genotypes. Hence, it seems that these genotypes have a high ability against oxidative stress.

Conclusions

Our results showed that the genotype G2 due to high ability in regulation of relative expression of antioxidant and dehydrin genes under water deficit stress treatments. Thus, complementary physiological and biochemical assays as well as evaluation of grain yield under field conditions of this genotype could provide useful information regarding to use of it as a drought-tolerant parent in breeding programs with emphasis on the transfer of desirable agronomic features.

Keywords: Transcription, Drought stress, Antioxidant mechanism, Reactive oxygen species.

Paper Type: Research Paper.

Citation: Moradi M, Etminan A, Mohammadi R, Shooshtari L, Mehrabi AM (2024) Assessment of expression pattern of some antioxidant and dehydrin genes in durum wheat genotypes under water deficit conditions. *Agricultural Biotechnology Journal* 16 (4), 189-208.

Agricultural Biotechnology Journal 16 (4), 189-208. DOI: 10.22103/jab.2024.24084.1619

Received: September 08, 2024. Received in revised form: November 15, 2024.

Accepted: November 16, 2024. Published online: December 30, 2024.

Publisher: Faculty of Agriculture and Technology Institute of Plant Production, Shahid Bahonar University of Kerman-Iranian Biotechnology Society.

© the authors

مجله بیوتکنولوژی کشاورزی
شاپا چاپی: ۶۷۰۵-۲۲۲۸ شاپا الکترونیکی: ۶۵۰۰-۲۲۲۸

بررسی الگوی بیان برخی از ژن‌های آنتی‌اکسیدان و دهیدرین در ژنوتیپ‌های گندم دوروم تحت شرایط تنش کم آبی

ماندانا مرادی

دانشجوی دکترا، گروه بیوتکنولوژی و بهنژادی گیاهی، واحد کرمانشاه، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمانشاه، ایران. رایانامه: m.moradi6267@gmail.com

علیرضا اطمینان

*نویسنده مسئول: دانشیار، گروه بیوتکنولوژی و بهنژادی گیاهی، واحد کرمانشاه، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمانشاه، ایران. رایانامه: alietminan55@yahoo.com

رضا محمدی

*نویسنده مسئول: دانشیار، موسسه تحقیقات کشاورزی دیم کشور، معاونت سرارود، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرمانشاه، ایران. رایانامه: rmohammadi95@yahoo.com

لیا شوشتری

استادیار، گروه بیوتکنولوژی و بهنژادی گیاهی، واحد کرمانشاه، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمانشاه، ایران. رایانامه: l_shooshtary@yahoo.com

علی مهراس مهرابی

استادیار، گروه بیوتکنولوژی و بهنژادی گیاهی، واحد کرمانشاه، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمانشاه، ایران. رایانامه: alimehrasmehrabi@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۶/۱۸ تاریخ دریافت فایل اصلاح شده نهایی: ۱۴۰۳/۰۸/۲۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۸/۲۶

چکیده

هدف: خشکی به عنوان یکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی شناخته می‌شود که اثرات نامطلوبی بر رشد و توسعه گیاه و در نهایت عملکرد آن دارد. گندم دوروم دامنه سازگاری ویژه‌ای به مناطق مدیترانه‌ای دارد، که غالباً تنش کم آبی یکی از چالش‌های عمده برای دستیابی به حداکثر عملکرد در این مناطق بشمار می‌آید. به منظور بررسی پاسخ مولکولی برخی از ژنوتیپ‌های گندم دوروم انتخاب شده از برنامه‌های به‌نژادی، الگوی بیان ژن‌های آنتی‌اکسیدان شامل کاتالاز (*CAT*)، آسکوربات پراکسیداز (*APX*)، گایاکول پراکسیداز (*GPX*) و سوپراکسیددیسموتاز (*SOD*) به همراه دو ژن دهیدرین همچون *TdDHN15* و *TdDHN16* در سه تیمار عدم تنش و تنش‌های ملایم و شدید مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: اثر تیمارهای مختلف تنش کم آبی بر تغییرات الگوی بیان ژن‌های *CAT*، *APX*، *GPX*، *SOD*، *TdDHN15* و *TdDHN16* در شش ژنوتیپ امیدبخش گندم دوروم به همراه یک رقم شاهد (ذهاب) مورد بررسی قرار گرفت. آزمایش در شرایط بهینه گلخانه اجرا و تیمارهای تنش کم آبی بر اساس ظرفیت زراعی مزرعه تعیین شدند. پس از استقرار گیاهچه‌ها و سه هفته بعد از اعمال تیمارهای تنش، نمونه‌برداری از برگ‌های جوان صورت گرفت. میزان بیان نسبی ژن‌های مورد نظر هر یک از تیمارهای تنش بر اساس روش Livak and Schmittgen (2001) اندازه‌گیری شد.

نتایج: با توجه به نتایج به دست آمده از تجزیه واریانس داده‌های آزمایشی، اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای تنش کم آبی، ژنوتیپ و همچنین اثر متقابل ژنوتیپ و تیمار از نظر بیان نسبی ژن‌های مورد مطالعه مشاهده شد. بیشترین میزان افزایش بیان نسبی در تیمار تنش ملایم مربوط به ژن‌های *APX*، *GPX* و *SOD* و در تیمار تنش شدید مربوط به ژن‌های *APX*، *TdDHN15* و *GPX* بود. مقایسه الگوی بیان هر یک از ژن‌ها در ژنوتیپ‌های بررسی شده نشان داد ژنوتیپ‌های متحمل (G2، G4 و G5) به همراه رقم شاهد (ذهاب) دارای بیشترین میزان بیان نسبی بودند. بنابراین می‌توان اظهار داشت این ژنوتیپ‌ها توانایی بالایی در کاهش اثرات تنش اکسیداتیو دارند.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج به دست آمده از این پژوهش مشخص شد ژنوتیپ G2 بواسطه قابلیت بالای آن در تنظیم بیان ژن‌های آنتی‌اکسیدان و دهیدرین تحمل بالایی نسبت به تیمارهای تنش کم آبی داشت. از اینرو، بررسی تکمیلی این ژنوتیپ و مطالعه سایر سازوکارهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی و ارزیابی عملکرد دانه آن در شرایط مزرعه‌ای می‌تواند اطلاعات مفیدی در رابطه با استفاده از این ژنوتیپ به عنوان یکی از والدین متحمل به خشکی در برنامه‌های دورگ‌گیری با هدف انتقال خصوصیات زراعی مطلوب مورد استفاده قرار گیرد.

کلیدواژه‌ها: ترانسکریپتوم، تنش خشکی، مکانیسم آنتی‌اکسیدان، گونه‌های اکسیژن واکنشگر.

نوع مقاله: پژوهشی.

استناد: مرادی ماندانا، اطمینان علیرضا، محمدی رضا، شوشتری لیا، مهرابی علی مهراس (۱۴۰۳) بررسی الگوی بیان برخی از ژن‌های آنتی‌اکسیدان و دهیدرین در ژنوتیپ‌های گندم دوروم تحت شرایط تنش کم آبی. *مجله بیوتکنولوژی کشاورزی*، ۱۶(۴)، ۱۸۹-۲۰۸.

Publisher: Faculty of Agriculture and Technology Institute of Plant Production, Shahid Bahonar University of Kerman-Iranian Biotechnology Society.

© the authors

مقدمه

گندم به عنوان یکی از مهم‌ترین محصولات غذایی استراتژیک در بسیاری از کشورهای دنیا شناخته شده است و بواسطه نقش مهمی که در تغذیه انسان دارد همواره از آن به عنوان یک سلاح مهم در مبارزه با قحطی و گرسنگی و تأمین امنیت غذایی استفاده می‌شود. بر اساس گزارشات سازمان خواروبار جهانی (فائو) تأمین نیاز غذایی مردم در سال ۲۰۵۰ نیازمند دو برابر شدن میزان تولیدات محصولات کشاورزی است، که برای دست‌یابی به چنین هدفی تولید ارقام جدید و بهبود روش‌های مدیریتی با بکارگیری تکنولوژی‌های جدید ضروری می‌باشد (Bares et al. 2020). گندم دوروم (*Triticum turgidum* L. subp. *durum* (Desf.)) گونه تتراپلوئید و متعلق به خانواده غلات می‌باشد که به صرت عمده در مناطق مختلف آمریکای شمالی، حوضه مدیترانه و استرالیا کشت می‌شود (De Santis et al. 2021). بر اساس آمارهای موجود، سطح زیر کشت این غله حدود ۱۷/۷ میلیون هکتار بوده و میزان تولید سالانه آن بین ۳۷ تا ۴۰ میلیون تن می‌باشد (International Grain Council, 2021). در این بین، حوضه مدیترانه بیش از ۵۰ درصد از سطح زیر کشت گندم دوروم را به خود اختصاص داده است (Buffangi et al. 2020). از نقطه نظر ارزش غذایی و صنعتی، گندم دوروم به دلیل وجود کربوهیدرات‌ها، فیبرهای غذایی، پروتئین و بسیاری از مواد معدنی به عنوان یکی از مهم‌ترین غلات دانه ریز محسوب می‌شود (De Santis et al. 2021). با توجه به اینکه بیشترین سطح زیر کشت و تولید این غله در مناطق مدیترانه‌ای می‌باشد و این مناطق عمدتاً جزو مناطق گرمسیر و نمیه گرمسیری قرار دارند لذا تولید ارقام متحمل به تنش خشکی یکی از مهم‌ترین اولویت‌های برنامه‌های به‌نژادی گندم دوروم محسوب می‌شود.

عملکرد بالقوه گیاهان بر اثر شرایط تنش کاهش خواهد یافت و غالباً گیاهان از طریق فرآیندهای مختلف به شرایط تنش واکنش نشان داده و با آن‌ها سازگار می‌شوند. در چنین شرایطی، پاسخ گیاهان از طریق انتقال پیام‌هایی که توسط مکانسیم‌های مختلفی همچون فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی که خود وابسته به فعال شدن مسیرهای متنوع و بیان ژن‌های دخیل در هر یک از آن‌هاست صورت می‌گیرد (Ahmadi et al. 2018). در بین تنش‌های محیطی، خشکی یا کم آبی به عنوان مهم‌ترین تنش غیر زیستی یکی از پیامدهای چالش برانگیز تغییرات اقلیمی در سال‌های اخیر بوده است (Buffagni et al. 2020). مواجهه گیاه با شرایط تنش سبب فعال شدن مسیر کلی انتقال پیام با درک پیام از طریق پیام‌رسان‌های ثانویه مانند گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) می‌شود. افزایش تجمع گونه‌های اکسیژن فعال سبب بروز تنش اکسیداتیو می‌شود که خود دارای معایب فراوانی از قبیل اکسیداسیون لیپیدهای غشای سلولی، اکسیداسیون پروتئین‌های بافتی و تخریب DNA می‌باشد (Hossain & Dietz 2016). در چنین شرایطی، گیاهان به منظور جلوگیری از افزایش تجمع و کاهش سطح ROS در سلول‌های خود دارای یکسری سازوکارها دفاعی با کارایی بالا برای حفظ شرایط بهینه خود هستند. در این راستا، سیستم آنتی‌اکسیدانی یک مکانیسم دفاعی فوق العاده قوی برای کنترل میزان ROSها در شرایط تنش‌زای محیطی می‌باشد. در واقع آنتی‌اکسیدان‌ها مولکول‌هایی هستند که مانع از عملکرد ROSها شده و از تخریب سلول‌ها جلوگیری می‌کنند. این مواد می‌توانند با اعطای الکترون به رادیکال‌های آزاد آن‌ها را به شکل پایدار خود تبدیل کنند و مانع از اثرات مخرب آن‌ها شوند (Ashraf 2009). آنزیم کاتالاز (CAT) یکی از مهم‌ترین آنزیم‌های دفاعی موثر

است که اثر مستقیمی بر پراکسید هیدروژن دارد و باعث می‌شود اثرات سمی آن کاهش یابد. پراکسید هیدروژن برای کلروپلاست بسیار سمی است به طوریکه حتی در غلظت‌های پایین باعث مهار فعالیت‌های مربوط به چرخه کالوین می‌شود. در واقع آنزیم کاتالاز از پراکسید هیدروژن به عنوان سوبسترا استفاده کرده و با تجزیه سریع اثرات سمی آن را از بین می‌برد (Noctor et al. 2018). سوپراکسید دیسموتاز (SOD) از دیگر آنزیم‌های درگیر در سیستم دفاعی گیاهان است که تحت شرایط تنش، تولید آن القا شده و باعث افزایش مقاومت گیاه در برابر مقادیر بالای ROS می‌شود. SOD یک متالوآنزیم است که یون سوپراکسید را تجزیه می‌کند و به عنوان یکی از گونه‌های اکسیژن واکنش‌گر در سلول شناخته شده است که سبب تغییر ماهیت آنزیم‌ها، اکسیداسیون لیپیدها و DNA می‌شود. از این رو، این آنزیم از مهم‌ترین آنتی‌اکسیدان‌های دفاعی در مقابل گونه‌های اکسیژن واکنش‌گر است و نتیجه فعالیت این آنزیم تبدیل سوپراکسید به پراکسید هیدروژن و اکسیژن مولکولی است (Hekimi et al. 2018).

آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX) جزو مهم‌ترین پراکسیدازها بوده و نقش موثری در تعدیل میزان ROSهای تولید شده تحت شرایط تنش دارد. این آنزیم از آسکوربات به عنوان عامل احیاکننده استفاده می‌کند و آب اکسیژنه را به آب و اکسیژن تجزیه می‌کند و از اینرو نقش مهمی در سمیت‌زدایی پراکسید هیدروژن دارد. این آنزیم در چرخه آسکوربات–گلوتاتیون شرکت می‌کند و منجر به اکسید شدن آسکوربات به مونودهیدروآسکوربات می‌شود. با توجه به اینکه این چرخه برای ادامه فعالیت خود نیاز به آسکوربات دارد در نتیجه آنزیم‌های مونودهیدروآسکوربات ردوکتاز (MAHAR)، دهیدروآسکوربات ردوکتاز (DHAR) و گلوتاتیون ردوکتاز (GR) با استفاده از NADPH و گلوتاتیون آسکوربات را احیا می‌کنند (Verma et al. 2014). آنزیم گایاکول پراکسیداز (GPX) نیز از دیگر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی است که از اکسیداسیون ترکیبات فنلی مانند گایاکول برای سم‌زدایی و تجزیه آب اکسیژنه استفاده می‌کند. در واقع ترکیبات فنلی به عنوان دهنده الکترون به پراکسید هیدروژن عمل می‌کنند. بر اساس مطالعات انجام شده رابطه مستقیمی بین افزایش تحمل به تنش‌های محیطی و سطح فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در گندم و سایر گیاهان زراعی گزارش شده است. به عنوان مثال در مطالعه Singht and Tuteja (2010) بین فعالیت‌های آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و عملکرد دانه رابطه مثبت و معنی‌داری گزارش شده است. احمدی و پورابوقداره (۱۳۹۷) در ارزیابی پاسخ به تنش خشکی برخی از گونه‌های اجدادی گندم اظهار داشتند گونه‌های برخوردار از سطح فعالیت آنزیمی بالاتر نسبت به ارقام تجاری و متحمل به تنش خشکی دارای نمود بهتری در شرایط تنش خشکی بودند. همچنین نتایج پژوهش Ghorbani et al. (2023) نشان داد بین بیوماس خشک اندام هوایی و ریشه ژنوتیپ‌های جو و فعالیت آنزیم‌های APX و GPX رابطه مستقیمی وجود داشت.

رویارویی گیاه با شرایط تنش‌زای محیط سبب می‌شود تا علاوه بر مکانیسم‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمایی، مجموعه کاملی از مکانیسم‌های ژنتیکی نیز فعال شوند تا در نهایت بیان ژن‌های ویژه که محصول نهایی آن‌ها پروتئین یا RNA افزایش یابد. این مکانیسم‌ها در مراحل مختلف از آغاز رونویسی تا پردازش RNA، مراحل پس از رونویسی و ترجمه و همچنین مراحل پس از آن یعنی پروتئین سازی نقش دارند. به عبارت دیگر بررسی‌های مولکولی امکان تحلیل فیزیولوژیکی و متابولیکی گیاه را در شرایط

خشکی فراهم کرده و سبب شناخت تعداد زیادی از ژن‌های درگیر در شرایط تنش خواهد شد (Shinozaki & Yamaguch-Shinozaki 2007). به محض بروز تغییرات درون سلولی، تنش‌های فیزیکی از طریق مسیرهای پیام‌رسان مختلفی به یک پاسخ بیوشیمیایی تبدیل می‌شوند که هر یک از آن‌ها دسته‌ای از ژن‌های پاسخ دهنده به تنش را وادار به فعالیت می‌کنند (Leonardis et al. 2007). سپس فرآورده‌های ژن‌های بیان شونده در حفاظت از سلول و در تنظیم ژن‌های درگیر در ترارسانی پاسخ به تنش وارد عمل می‌شوند (Maruyama et al. 2004). بنابراین، شناسایی ژن‌های پاسخ‌دهنده به تنش و تعیین الگوی بیان آن‌ها در پاسخ به تنش خشکی می‌تواند موجب درک بهتری از عملکرد هر یک از آن‌ها در سازگار نمودن گیاهان به شرایط خشکی و با کم آبی شود (Lorkowski & Paul 2004).

درک رفتارهای رونویسی گیاهان اطلاعات کاملی از بیان ژن‌ها در مرحله mRNA را فراهم می‌آورد. تاکنون اطلاعات گسترده‌ای در رابطه با ژن‌های پاسخ دهنده به خشکی و فاکتورهای رونویسی که باعث بیش بیان و یا کاهش بیان ژن‌های کلیدی می‌شوند با استفاده از الگوی بیان ژن شناسایی و فراهم شده است. یکی از مهمترین عوامل مشارکت کننده در القای تحمل به تنش خشکی که به عنوان سوئیچ‌های کنترل کننده بیان ژن معرفی شده‌اند فاکتورهای رونویسی هستند. تجمع پروتئین‌های حفاظتی در سلول‌ها به عنوان یکی از پاسخ‌های اولیه گیاه به تنش شناخته شده است. در این راستا پروتئین‌های LEA[1] یا دهیدرین‌ها نقش مهمی در القای تحمل به تنش خشکی دارند. این پروتئین‌ها نخستین بار در گندم و در اواخر دوره جنینی به عنوان پروتئین‌های تجمعی در واکنش به تنش‌های محیطی شناسایی و مطرح شدند (Eva et al. 2005). این پروتئین‌ها بر اساس ساختار دومین‌های پروتئینی در دو دسته کلی LEA و LEA-A گروه‌بندی می‌شوند (Dure et al. 1989). سلول‌های گیاهی با بیان گروه‌های مختلفی از پروتئین‌ها از جمله دهیدرین‌ها به شرایط تنش پاسخ می‌دهند (Samarah et al. 2006) که محدوده پروتئینی از ۹ تا ۲۰۰ کیلودالتون را تشکیل داده و در گونه‌های مختلف گیاهی در پاسخ به شرایط محیطی تنش دهیدراتیو مثل خشکی، سرما و شوری تجمع می‌یابند (Kosova et al. 2021) به طوری که ارقام مقاوم احتمالاً مقاومت خود را تحت شرایط تنش از طریق برقراری محدود هموستازی سلولی و افزایش فعالیت ساختارهای حفاظتی پروتئین‌ها و غشا و همچنین تنظیم روزنه‌ها بدست می‌آورند. Pampino et al. (2006) با بررسی الگوی بیان ژن *Wdhn13* به همراه چند ژن دیگر مربوط به گروه LEA گزارش کردند که در گیاهان مقاوم به تنش خشکی هیچ یک از ژن‌های مورد مطالعه بیان نشده ولی در شرایط تنش خشکی ژن *Wdhn13* به همراه *Wdhn15* و *Wdhn9* از سطح بالایی از بیان برخوردار بودند. همچنین این محققان اظهار داشتند که اگرچه ارقام مقاوم در شرایط تنش از محتوای نسبی آب بالایی برخوردار بودند ولی با بررسی الگوی بیان مشخص گردید در شرایط تنش هر یک از ژن‌های فوق تا حد قابل توجهی بیان می‌شوند. هدف از اجرای این پژوهش بررسی و مقایسه الگوی بیان برخی از ژن‌های آنتی‌اکسیدان و دهیدرین در ژنوتیپ‌های منتخب گندم دوروم در شرایط تنش کم آبی بود.

[1] Late embryogenesis abundant

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی مورد استفاده در این پژوهش شامل شش ژنوتیپ گندم دوروم به همراه رقم ذهاب (به عنوان شاهد آزمایشی) بود. مواد گیاهی بر اساس بررسی‌های انجام شده در آزمایشات مقایسه عملکرد در موسسه تحقیقات کشاورزی دیم، ایستگاه سرارود، کرمانشاه انتخاب شد. شجره هر یک از ژنوتیپ‌های مورد بررسی در جدول ۱ ارائه شده است. جهت اجرای آزمایش، بذور هر یک از ژنوتیپ‌های مورد نظر در گلدان‌های پلاستیکی حاوی مخلوطی از خاک، شن و ماسه کاشته شدند. سپس گلدان‌های آزمایشی تحت شرایط بهینه گلخانه با شرایط دمایی ۲۰ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد به ترتیب دمای شبانه و روزانه و همچنین شرایط نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی قرار گرفتند. پس از جوانه‌زنی بذور کشت شده، گلدان‌های آزمایشی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار مرتب شدند. بعد از کاشت و جوانه‌زنی تمامی واحدهای آزمایشی به صورت مرتب تا ظهور سومین برگ در هر گیاهچه آبیاری شدند.

جدول ۱. شجره ژنوتیپ‌های گندم دوروم مورد ارزیابی در این مطالعه

Table 1. Pedigree of investigated durum wheat genotypes in the present study

Code	Pedigree
1	Zahab (Check cultivar)
2	Ouasloukos1/5/Azn1/4/BEZAIZSHF//SD19539/Waha/3/Gdr2/6/Zegrenses1/7/Mgnl3/Aghrass 2/3/ICAMORTA0463//H.mouline/Sbl2/4/Beltagy1
3	CBC 509 CHILE/6/ECO/CMH76A.722//BIT/3/ALTAR 84/4/AJAIA_2/5/KJOVE_1/7/AJAIA_12/F3LOCAL(SEL.ETHIO.135.85)//PLATA_13/8/SO OTY_9/RASCON_37//WODUCK/CHAM_3/9/SOMAT_3/GREEN_22//2*RASCON_37/2*T ARRO_2
4	1A.1D 5+1- 06/3*WB881/6/CHEN_1/TEZ/3/GUIL//CIT71/CII/4/SORA/PLATA_12/5/STOT//ALTAR 84/ALD/7/DUKEM_1//PATKA_7/YAZI_1/3/PATKA_7/YAZI_1/9/CBC 509 CHILE/6/ECO/CMH76A.722//BIT/3/ALTAR 84/4/AJAIA_2/5/KJOVE_1/7/AJAIA_12/F3LOCAL(SEL.ETHIO.135.85)//PLATA_13/8/
5	SWAHEN_2/KIRKI_8//PROZANA_1/4/ADAMAR_15//ALBIA_1/ALTAR84/3/SNITAN/9/ GUAYACANINIA/GUANAY/8/GEDIZ/FGO//GTA/3/SRN_1/4/TOTUS/5/ENTE/MEXI_2// HUI/4/YAV_1/3/LD357E/2*TC60//JO69/6/SOMBRA_20/7/JUPAREC2001/10/TOPDY_18/F OCHA_1//ALTAR84/3/AJAIA_12/F3LOCAL(SCDSS11Y002
6	Ouasloukos1/5/Azn1/4/BEZAIZSHF//SD19539/Waha/3/Gdr2/6/Aghrass1/Bezaiz981//Icajihan 1ICD120035-0TR-2TR-0STR-2T-0STR-0TR-1STR-0AREC
7	HUBEI//SOOTY_9/RASCON_37/3/2*SOOTY_9/RASCON_37/4/2*SOOTY_9/RASCON_3 7/6/PLATA_6/GREEN_17/3/CHEN/AUK//BISU*2/5/PLATA_3//CREX/ALLA/3/SOMBRA_ 20/4/SILVER_14/MOEWECDSS11Y00197S-099Y-025M-6Y-0M-06Y-0B

در این مرحله تیمارهای تنش کم آبی بر اساس ظرفیت زراعی (Field Capacity) در سه سطح بدون تنش، تنش ملایم (FC = ٪ ۵۰) و شدید (FC = ٪ ۳۰) تعیین و اعمال شد. محاسبه FC برای هر یک از واحدهای آزمایشی بر اساس دستورالعمل

Souza et al. (2000) صورت گرفت. پس از ۲۱ روز از اعمال تیمارهای تنش کم آبی و ظهور علائم تنش، نمونه‌برداری از بافت برگ هر یک از ژنوتیپ‌های مورد نظر انجام شد و نمونه‌ها در دمای ۸۰- درجه سلسیوس نگهداری شدند.

استخراج RNA با استفاده از کیت استخراج شرکت دنازیست (DENAZIST ASIA) انجام شد. واکنش ساخت cDNA نیز با استفاده از کیت Easy^{Tm} cDNA Synthesis Kit و مطابق دستورالعمل شرکت سازنده (پارس توس) صورت گرفت. پس از تهیه cDNA نمونه‌های مورد ارزیابی، واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در زمان واقعی (RT-PCR) با استفاده از کیت Sina SYBR Green HS-qPCR (2x) انجام شد. به منظور تعیین کارایی هر جفت آغازگر مورد استفاده در واکنش RT-PCR ابتدا ترکیبی از تمامی تیمارها و تکرارها تهیه و برای هر جفت آغازگر چندین ضریب رقت در نظر گرفته شد. مخلوط واکنش شامل ۶ میکرولیتر از 2xRealQ Plus 2xMaster Mix SYBER Green، ۳/۴ میکرولیتر آب عاری از RNAse، ۲ میکرولیتر از cDNA هر یک از نمونه‌ها و ۰/۳ میکرولیتر از آغازگرهای مربوط به هریک از ژن‌های (جدول ۲) مورد نظر بود.

جدول ۲. توالی آغازگرهای مربوط به ژن‌های مورد بررسی

Table 2. Sequence of specific primers related to investigated genes

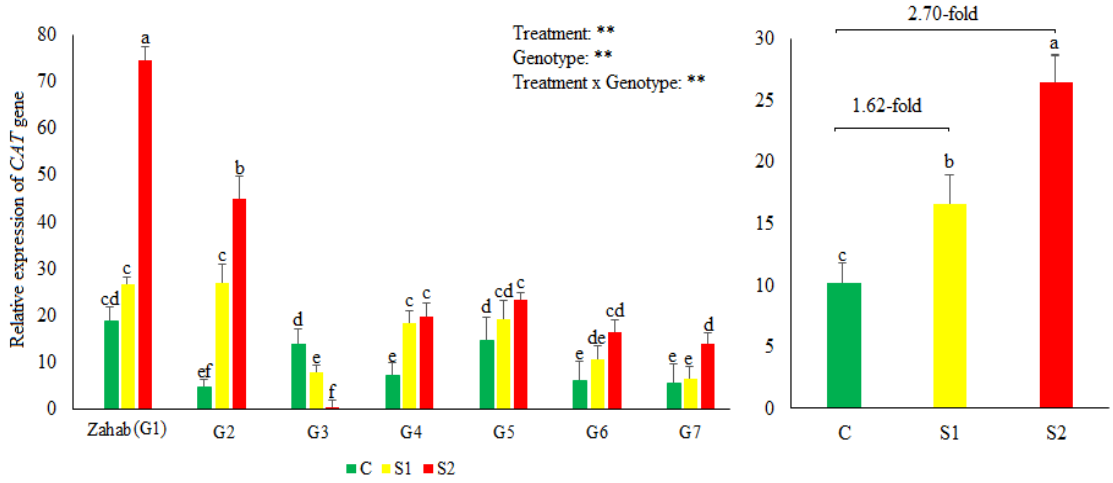
Gene	Primer	Sequence (5’ — 3’)
CAT	Forward	GCGAGAAGATGGTGATCG
	Reverse	CTTGATCTCATGGGTGAGG
APX	Forward	CCAGCACCAACAAGTGATAC
	Reverse	CCAGCACCAACAAGTGATAC
GPX	Forward	CAGCGACCTGCCAGGCTTTA
	Reverse	GTTGGCCCGGAGAGATGTGG
SOD	Forward	CCTACTGGATGAGACGGAGAG
	Reverse	GGACGAGGACAACGACGAA
TdDHN16	Forward	ATGGAGTACCAGGGACAGCAG
	Reverse	GGGCAGCTTCTCCTTGATCTT
TdDHN15	Forward	ATGGAGTTCCAAGGGCAG
	Reverse	TCAGTGCTGTCCCGGCAGCTT
Actin	Forward	CACGCTTCCTCATGCTATC
	Reverse	CTGACAATTTCCCGCTCAG

تمامی واکنش‌ها با استفاده از دستگاه MiniOpticon^{TM} Real-Time PCR انجام شدند. چرخه‌ها و شرایط دمایی واکنش RT-PCR عبارت بودند از ۳ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سلسیوس، ۴۵ تکرار با چرخه‌های ۱۵ ثانیه در دمای ۹۵ درجه سلسیوس، ۲۰ ثانیه در دمای ۵۸ درجه سلسیوس و به دنبال آن ۳۰ ثانیه در دمای ۷۲ درجه سلسیوس و افزایش دما از ۶۵ تا ۹۵ درجه سلسیوس به ازای هر ثانیه یک درجه. با توجه به دمای ذوب به دست آمده برای آغازگرهای مربوط به هر ژن، میزان بیان نسبی ژن‌های مورد نظر در تیمارهای عدم تنش، تنش کم آبی ملایم و شدید نسبت به ژن خانه‌دار با استفاده از رابطه $2^{-\Delta\Delta CT}$ محاسبه شد (Livak & Schmittgen 2001). پس از جمع‌آوری داده‌های آزمایشی تجزیه واریانس بر اساس سه تکرار بیولوژیکی انجام شد و مقایسه

الگوی بیان ژن‌های مورد نظر در ژنوتیپ‌های ارزیابی شده با استفاده از روش دانکن صورت گرفت. تجزیه‌های آماری با استفاده از بسته تحلیلی "metan" (Olivoto & Lucio 2020) در محیط R انجام شدند.

نتایج و بحث

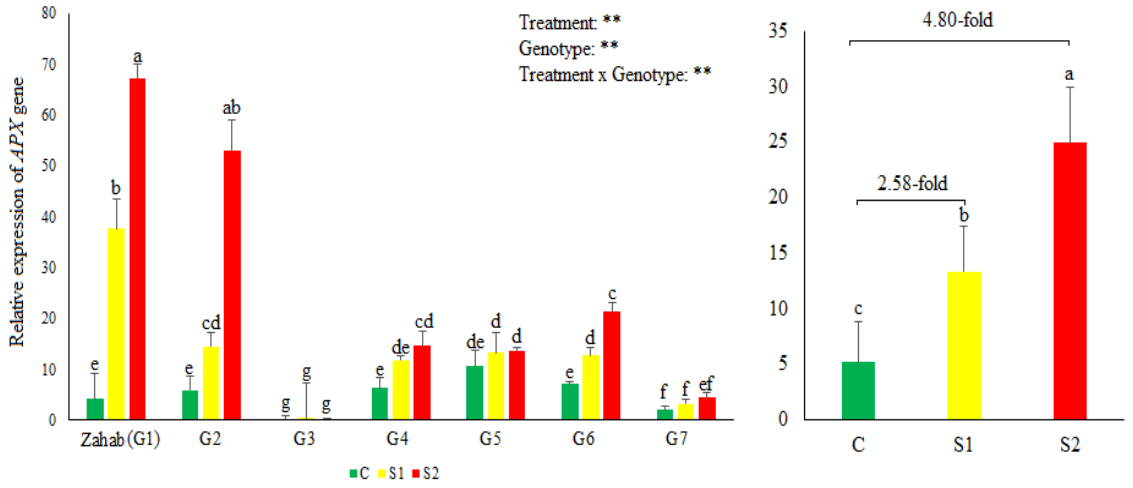
نتایج به دست آمده از تجزیه واریانس داده‌های به دست آمده از بیان نسبی هر یک از ژن‌های *CAT*، *APX*، *SOD*، *GPX*، *TdDHN15* و *TdDHN16* نشان داد از نظر بیان نسبی تمامی ژن‌ها بین تیمارهای تنش کم آبی، ژنوتیپ‌ها و اثرات متقابل بین تیمار و ژنوتیپ اختلاف معنی‌داری وجود داشت (شکل‌های ۶-۱). وجود اختلاف معنی‌دار بین هر یک از منابع تغییر نشان دهنده پاسخ متفاوت هر یک از ژنوتیپ‌های بررسی شده در شرایط رشدی متفاوت بوده که خود می‌تواند بیانگر تفاوت در مکانسیم دفاعی این ژنوتیپ‌ها باشد. پیش از این در بسیاری از مطالعات صورت گرفته در گندم دوروم و سایر محصولات زراعی اختلاف معنی‌داری از نظر بیان نسبی ژن‌های آنتی‌اکسیدان و سایر ژن‌های دخیل در القای تحمل به خشکی گزارش شده است که در این راستا با نتایج به دست آمده از این پژوهش مطابقت دارند (Eftekhari et al. 2017; Ahmadi et al. 2020; Pour-Aboughadareh et al. 2020; Pour-Aboughadareh et al. 2022; Jadidi et al. 2023; Ghorbani et al. 2023).



شکل ۱. میزان بیان نسبی ژن کاتالاز در ژنوتیپ‌های گندم دوروم در شرایط عدم تنش (C)، تنش کم آبی ملایم (S1) و شدید (S2). ** معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد می‌باشد

Figure 1. The relative expression of *CAT* gene in investigated durum wheat genotypes under control (C), moderate (S1), and severe (S2) water deficit stress conditions. ** indicates significant at %1 probability level

با توجه به نتایج به دست آمده در خصوص ژن *CAT*، تیمارهای تنش کم آبی ملایم و شدید به ترتیب موجب افزایش ۱/۶۲ و ۲/۷۰ برابری بیان این ژن نسبت به تیمار بدون تنش شدند (شکل ۱). نتایج مقایسه میانگین میزان بیان نسبی این ژن در ژنوتیپ‌های مختلف نشان داد رقم شاهد ذهاب (G1) و ژنوتیپ‌های G3 و G5 در شرایط بدون تنش و رقم شاهد ذهاب و ژنوتیپ‌های G2 و G5 در هر دو شرایط تنش ملایم و شدید دارای بیشترین میزان بیان نسبی نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها بودند. نتایج مطالعه Lascano et al. (2005) نیز نشان داد تنش خشکی موجب افزایش میزان بیان و به دنبال آن فعالیت آنزیم کاتالاز در ارقام مقاوم گندم خواهد شد. در این بررسی نیز اگرچه تنش کم آبی در هر دو سطح ملایم و شدید موجب افزایش بیان ژن کاتالاز شد اما اختلاف بین ژنوتیپ‌ها در شرایط تنش و بدون تنش نمایانگر تفاوت زمینه ژنتیکی آن‌ها و در نتیجه توانایی متفاوت آن‌ها جهت مقابله با صدمات اکسیداتیو است (Ahmadi et al. 2018). نتایج بررسی بیان ژن *APX* نشان داد میزان افزایش بیان این ژن بواسطه اثر تیمارهای تنش آبی ملایم و شدید به ترتیب برابر با ۲/۵۷ و ۴/۸۰ برابر بیشتر از تیمار بدون تنش بود (شکل ۲).



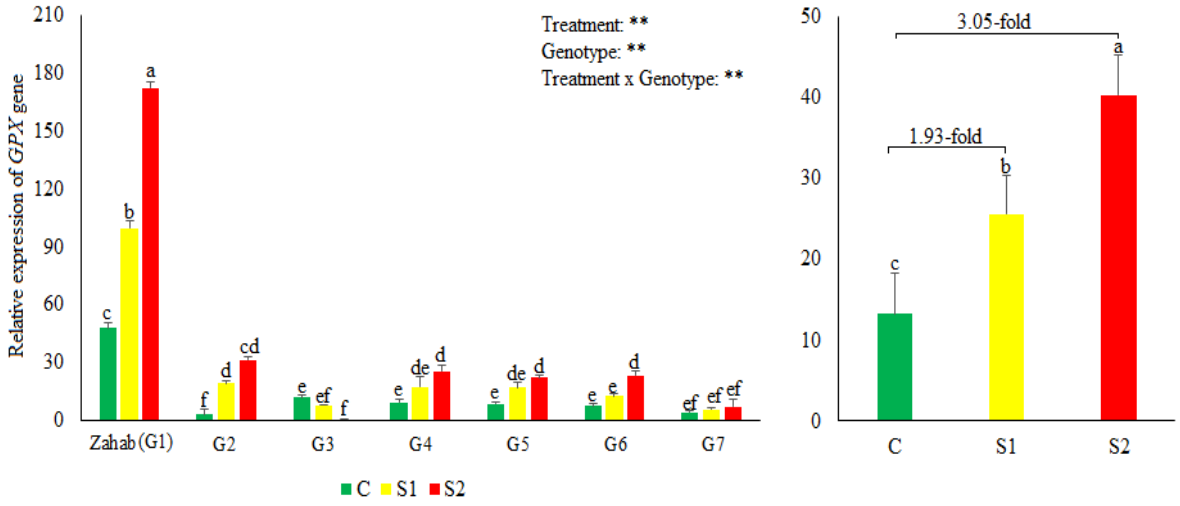
شکل ۲. میزان بیان نسبی ژن آسکوربات پراکسیداز در ژنوتیپ‌های گندم دوروم در شرایط عدم تنش (C)، تنش کم آبی ملایم (S1) و شدید (S2). ** معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد می‌باشد

Figure 2. The relative expression of *APX* gene in investigated durum wheat genotypes under control (C), moderate (S1), and severe (S2) water deficit stress conditions. ** indicates significant at %1 probability level

الگوی بیان این ژن در شرایط تنش ملایم نشان داد رقم شاهد ذهاب (G1) و ژنوتیپ‌های G2 و G5 به عنوان ژنوتیپ‌های متحمل به خشکی نسبت به ژنوتیپ‌های حساس به خشکی دارای بیشترین میزان بیان بودند. با این‌حال ژنوتیپ حساس شماره G6 به همراه دو ژنوتیپ G2 و G1 در شرایط تنش شدید دارای بیشترین سطح رونوشت از این ژن بودند. آنزیم APX یک آنزیم آنتی‌اکسیدان قوی می‌باشد که دارای قدرت چسبندگی بالایی با مولکول‌های هیدروژن پراکسیداز است به طوری که فعالیت این آنزیم

سبب می‌شود تا گیاه در برابر سطوح بالای تجمع ROS مصون بماند. از اینرو می‌توان اظهار داشت این آنزیم نقش یک سیگنال مولکولی را داشته و باعث کنترل سطح هیدروژن پراکسیداز خواهد شد (Panchuk et al. 2005). در یک پژوهش صورت گرفته توسط Guo et al. (2018) مشخص شد آنزیم APX بواسطه تنظیم غلظت هیدروژن پراکسیداز سبب به حرکت درآوردن سلول-های محافظ روزنه شده و از این طریق فعالیت‌های فتوسنتزی را تنظیم می‌کند. با توجه به نقش این آنزیم در محافظت گیاه در برابر انواع تنش‌های محیطی چندین گروه ژنی شامل گروه‌های سیتوپلاسمی (*cAPX*)، گلایکوسومالی/پراکسیسومالی (*mAPX*)، کلروپلاستی (*ChlAPX*) و میتوکندریایی (*mitAPX*) شناسایی و نقش هر یک از آن‌ها مورد بررسی قرار گرفته است (Ighodaro & Akinloye 2018). به طور کلی افزایش سطح ترانسکریپتوم ژن *APX* در تیمارهای مختلف تنش کم آبی با نتایج سایر محققان مطابقت داشت (Pour-Aboughadareh et al. 2022; Jadidi et al. 2023).

تیمارهای تنش کم آبی منجر به افزایش سطح رونوشت ژن *GPX* در کلیه ژنوتیپ‌های ارزیابی شده گندم دوروم شد (شکل ۳). میزان افزایش بیان این در شرایط تنش ملایم و شدید به ترتیب ۱/۹۳ و ۳/۰۵ برابر بیشتر از شرایط بدون تنش بود. مشابه سایر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، GPX نیز نقش مهمی در کاهش اثرات منفی تنش اکسیداتیو دارد و با تجزیه هیدروژن پراکسیداز به مولکول‌های آب از فرآیند اکسیداسیون لیپیدها و تخریب سلول‌های گیاهی جلوگیری می‌کند (Ighodaro & Akinloye 2018). روند الگوی بیان این ژن در تیمارها و ژنوتیپ‌های مختلف متفاوت از هم بود که خود بیانگر معنی‌دار بودن اثر متقابل تیمار تنش و ژنوتیپ می‌باشد. همانطور که در شکل ۳ مشاهده می‌شود در تیمار تنش کم آبی ملایم سه ژنوتیپ شماره G4 و G5 به همراه رقم شاهد ذهاب (G1) دارای بیشترین میزان بیان ژن *GPX* نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها بودند. در تیمار تنش شدید رقم شاهد ذهاب و ژنوتیپ G4 به همراه G2 دارای سطح رونوشت بیشتری از این ژن در مقایسه با سایر ژنوتیپ‌ها بودند. از اینرو می‌توان اظهار داشت ژنوتیپ‌های مقاوم G2 و G4 به رغم تولنایی خود در بیان این و سایر ژن‌های آنتی‌اکسیدان توانسته‌لند در غربال‌گری‌های صورت گرفته در شرایط مزرعه نسبت به سایر رقبای خود تحمل به تنش بیشتر و در نتیجه عملکرد دانه بالاتری تولید کرده و جز ژنوتیپ‌های منتخب در این آزمایش مورد مطالعه قرار گرفته‌اند. مشابه نتایج به دست آمده از این تحقیق، جدیدی و همکاران (۱۴۰۲) نیز سطح بالاییی از بیان نسبی ژن *GPX* را در ارقام مقاوم به تنش شوری جو گزارش کردند. در رابطه با تنش کم آبی نیز نتایج مطالعه Ahmadi et al. (2018) اظهار داشتند تنش کم آبی موجب افزایش چشمگیری در فعالیت آنزیم GPX خواهد شد و ژنوتیپ‌های برخوردار از تولنایی بالا در بیان ژن *GPX* و فعالیت این آنزیم می‌توانند از درصد تاب‌آوری بالایی در مواجه با شرایط تنش خشکی برخوردار باشند.

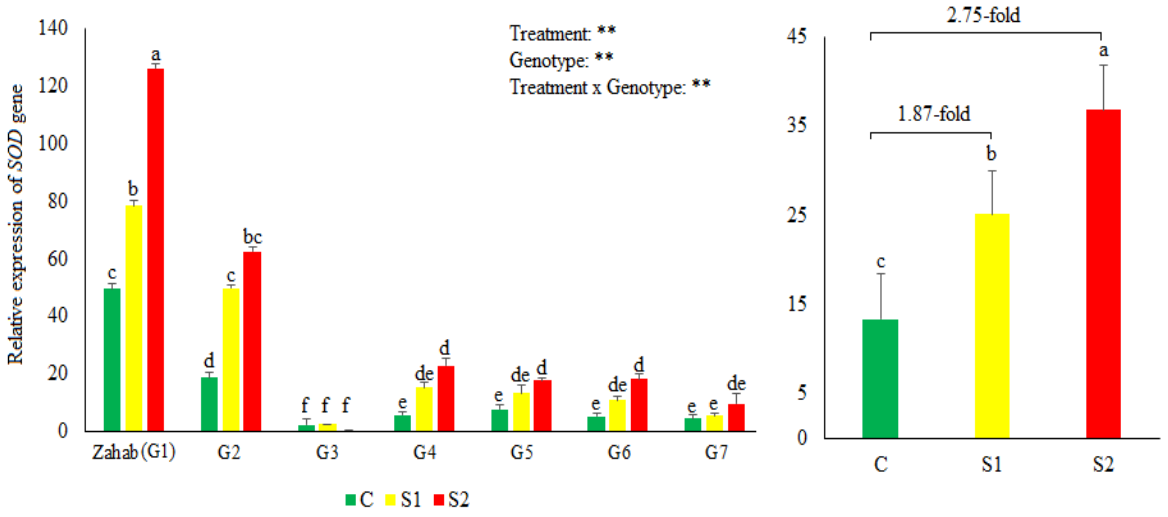


شکل ۳. میزان بیان نسبی ژن گایاکول پراکسیداز در ژنوتیپ‌های گندم دوروم در شرایط عدم تنش (C)، تنش کم آبی ملایم (S1) و شدید (S2). ** معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد می‌باشد.

Figure 3. The relative expression of *GPX* gene in investigated durum wheat genotypes under control (C), moderate (S1), and severe (S2) water deficit stress conditions. ** indicates significant at %1 probability level.

آنزیم SOD به عنوان یکی از مهم‌ترین اعضای خانواده آنتی‌اکسیدان‌ها شناخته شده و بیشترین مطالعات فیزیولوژیکی در خصوص فعالیت این آنزیم و ژن‌های بیان کننده در گندم و سایر گیاهان زراعی انجام شده است به طوری که می‌توان اظهار داشت این آنزیم نخستین خط دفاعی گیاه در برابر تنش اکسیداتیو می‌باشد (Lightfoot et al. 2017). اعضای آنزیم SOD از پروتئین‌ها و یون‌های فلزی تشکیل شده که به طور مؤثری می‌توانند آنیون‌های سوپراکسید را تجزیه کنند. همچنین این آنزیم قادر به کاتالیز رادیکال‌های آزاد هیدروژن پراکسیداز به مولکول‌های آب می‌باشد. تداوم این چرخه به همراه سایر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مانند APX، CAT و GPX سبب می‌شود سطح تجمع ROS در سلول‌های گیاهی و در شرایط تنش کنترل شود و گیاه از خسارات تنش اکسداتیو مصون بماند (Zhang et al. 2020). نتایج به دست آمده از این پژوهش نشان داد تنش کم آبی ملایم منجر به افزایش ۱/۸۷ برابری بیان ژن *SOD* نسبت به شرایط بدون تنش شد. همچنین بیان این ژن در شرایط تنش شدید به میزان ۲/۷۵ برابر نسبت به شرایط عدم تنش افزایش یافت (شکل ۴). بررسی الگوی بیان ژن *SOD* در ژنوتیپ‌های مختلف نشان داد در هر دو شرایط تنش ملایم و شدید رقم شاهد (G1) و ژنوتیپ‌های شماره G2 و G4 دارای بیشترین میزان بیان نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها بودند. بنابراین می‌توان اظهار داشت این ژنوتیپ‌ها از توانایی بالایی در حفظ سلامت سلول‌های گیاهی خود در برابر شرایط تنش دارند. پیش از این Shafi et al. (2015) عنوان کردند افزایش بیان ژن‌های *SOD* نقش مهمی و مستقیمی در سنتز دیواره‌های ثانویه سلول‌های گیاهی دارد و از این طریق باعث افزایش مقاومت گیاه در برابر انواع تنش‌های محیطی به ویژه خشکی و شوری

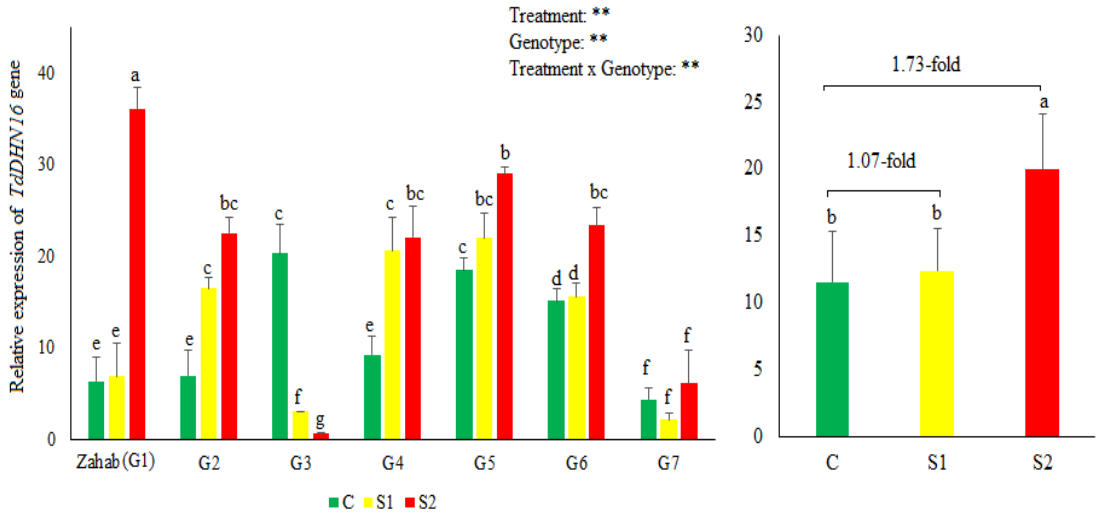
می‌شوند. به طور کلی افزایش بیان ژن‌های *APX*، *CAT*، *GPX* و *SOD* بواسطه اعمال تیمارهای تنش کم آبی با سایر گزارشات موجود در این زمینه مطابقت نشان داد (Shafi et al. 2015; ftekhari et al. 2017; Pour-Aboughadareh et al. 2020; Zhang et al. 2020; Jadidi et al. 2023; Ghorbani et al. 2023).



شکل ٤. میزان بیان نسبی ژن سوپراکسید دیسموتاز در ژنوتیپ‌های گندم دوروم در شرایط عدم تنش (C)، تنش کم آبی ملایم (S1) و شدید (S2). ** معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد می‌باشد

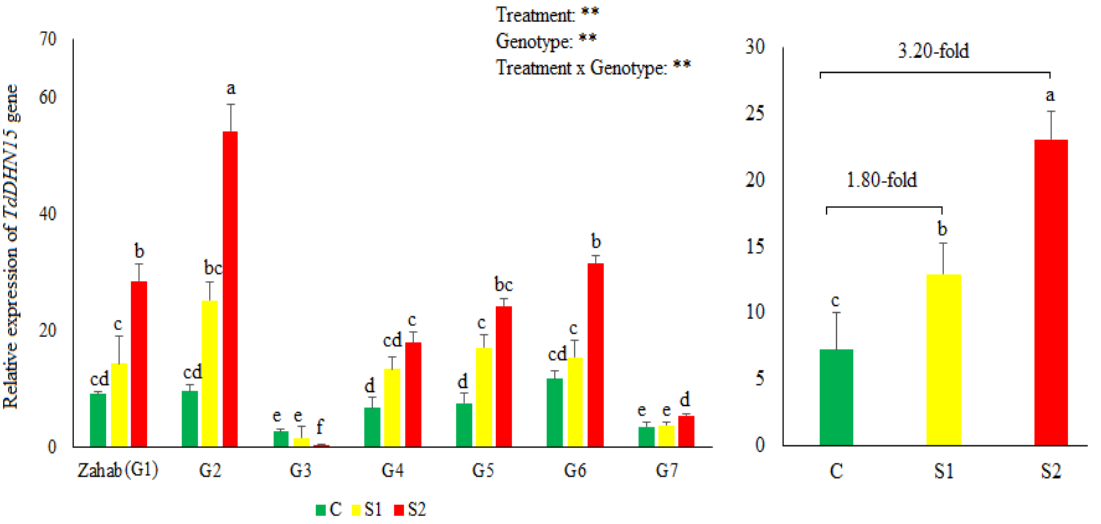
Figure 4. The relative expression of *SOD* gene in investigated durum wheat genotypes under control (C), moderate (S1), and severe (S2) water deficit stress conditions. ** indicates significant at %1 probability level

میزان بیان نسبی ژن *TdDHN16* در شرایط تنش کم آبی ملایم و شدید به ترتیب ۱/۰۷ و ۱/۷۳ برابر بیشتر از شرایط بدون تنش بود. از نقطه نظر مقایسه بین ژنوتیپ‌های مورد بررسی نیز ژنوتیپ‌های شماره G2، G4 و G5 در شرایط تنش ملایم دارای بیشترین میزان بیان نسبی نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها بودند (شکل ۳-A). روند مقایسه میزان بیان نسبی این ژن در شرایط تنش شدید نیز نشان داد رقم شاهد (ذهاب) و به دنبال آن ژنوتیپ‌های شماره G5، G6 و G2 دارای بیشترین میزان بیان نسبی نسبت به دیگر ژنوتیپ‌ها بودند (شکل ۵). تیمارهای تنش کم آبی همچنین موجب افزایش معنی‌دار بیان نسبی ژن *TdDHN15* نسبت به شرایط عدم تنش شدند. با توجه به شکل ۳-B، این میزان افزایش بیان بواسطه تنش ملایم و شدید به ترتیب برابر با ۱/۸۰ و ۳/۲۰ بیشتر بود. از نقطه نظر مقایسه بین ژنوتیپ‌های ارزیابی شده، ژنوتیپ شماره G2 و به دنبال آن ژنوتیپ‌های شماره G5 و G6 در شرایط تنش کم آبی ملایم و ژنوتیپ‌های شماره G2، G5، G6 و رقم شاهد ذهاب دارای بیشترین میزان بیان نسبی ژن *TdDHN15* بودند (شکل ۶).



شکل ۵. میزان بیان نسبی ژن *TdDHN16* در ژنوتیپ‌های گندم دوروم در شرایط عدم تنش (C)، تنش کم آبی ملایم (S1) و شدید (S2). ** معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد می‌باشد

Figure 5. The relative expression of *TdDHN16* gene in investigated durum wheat genotypes under control (C), moderate (S1), and severe (S2) water deficit stress conditions. ** indicates significant at %1 probability level



شکل ٦. میزان بیان نسبی ژن *TdDHN15* در ژنوتیپ‌های گندم دوروم در شرایط عدم تنش (C)، تنش کم آبی ملایم (S1) و شدید (S2). ** معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد می‌باشد

Figure 6. The relative expression of *TdDHN15* gene in investigated durum wheat genotypes under control (C), moderate (S1), and severe (S2) water deficit stress conditions. ** indicates significant at %1 probability level

دهیدرین‌ها (DHNs) پروتئین‌های پاسخ دهنده به تنش‌ها هستند که سرشار از اسیدهای آمینه باردار و قطبی می‌باشند (Yang et al. 2012; Zhang et al. 2019). در واقع این پروتئین‌ها به واسطه تنش‌های محیطی همچون خشکی، شوری و سرما در مرحله اواخر جنین زایی تولید و تجمع می‌یابند (Hand et al. 2011) و از سه طریق حفظ مولکول‌های آب سلول، اتصال با یون‌های فلزی و از بین بردن گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) و اتصال با فسفولیپیدها و DNA برای ادامه فعالیت‌های بیولوژیکی باعث محافظت گیاه از صدمات ناشی از تنش می‌شوند (Zhang et al. 2018). بر اساس نتایج ارائه شده در گزارشات قبلی مشخص شده است که بیان بیش از حد ژن‌های *DHN* نقش مهمی در افزایش تحمل به خشکی در گیاهان مختلف دارد (Chiappetta et al. 2015; Liu et al. 2015; Bao et al. 2017; Cao et al. 2017). در این پژوهش نیز ژنوتیپ‌های متحمل به خشکی (G1 (رقم شاهد ذهاب)، G2، G4 و G6) دارای بیشترین میزان بیان نسبی ژن‌های *TdDHN16* و *TdDHN15* بودند که این یافته‌ها مطابق با سایر نتایج ارائه شده در رابطه افزایش بیان این ژن‌ها بواسطه تیمارهای تنش خشکی یا کم آبی بود.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج به دست آمده از این پژوهش مشخص شد در بین ژنوتیپ‌های انتخاب شده از ارزیابی‌های مزرعه‌ای طی چرخه‌های مختلف به‌نژادی در شرایط دیم، ژنوتیپ شماره G2 با شجره " Ouasloukos1/5/Azn1/4/BEZAIZSHF//SD19539/Waha/3/Gdr2/6/Zegrenses1/7/Mgnl3/Aghrass2/ 3/ICAMORTA0463//H.mouline/Sbl2/4/Beltagy1" از بیان ژن‌های آنتی‌اکسیدانی همچون *APX*، *CAT*، *GPX* و *SOD* و همچنین دو ژن *TdDHN13* و *TdDHN15* دارای برتری قابل توجهی نسبت به سایر ژنوتیپ‌های بود. برتری این ژنوتیپ از نظر کلیه ژن‌های ارزیابی شده نیز می‌تواند بیانگر مشارکت بالای ژن‌های دهیدرین و آنتی‌اکسیدان در القای تحمل به تنش کم آبی در ژنوتیپ مذکور باشد. از این‌رو انجام مطالعات تکمیلی بر روی این ژنوتیپ با هدف بررسی سازوکارهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی و همچنین بیان برخی دیگر از ژن‌های دو خانواده ژنی مذکور می تواند اطلاعات جامع‌تری را فراهم آورد. با این‌حال با توجه به درجه تحمل تنش خشکی این ژنوتیپ در ارزیابی‌های مزرعه‌ای پیشین و الگوی بیان ژن به دست آمده در این پژوهش می‌توان اظهار داشت این ژنوتیپ پس از خالص‌سازی ممکن است بتواند به عنوان یکی از والدین متحمل به خشکی مناسب برای استفاده در برنامه‌های دورگ‌گیری با هدف ایجاد جمعیت‌ها و نسل‌های در حال تفرق مفید واقع شود.

سپاسگزاری: نگارندگان بر خود لازم می‌دانند از شورای تحریریه و داوران محترم این نشریه به خاطر مطالعه متن مقاله حاضر و ارائه نظرهای ارزشمند سپاسگزاری نمایند.

منابع

احمدی جعفر، پورابوقداره علیرضا (۱۳۹۷). مطالعه الگوی بیان ژن‌های آنتی‌اکسیدان در خویشاوندان وحشی گندم تحت شرایط تنش کم آبی. ژنتیک نوین، ۱۳، ۳۶۱-۳۵۳.

جدیدی امید، اطمینان علیرضا، عزیزی‌نژاد رضا، پورابوقداره علیرضا، ابراهیمی آسا (۱۴۰۱). بررسی الگی بیان برخی از ژن‌های مرتبط با فعالیت آنتی‌اکسیدانتی در ژنوتیپ‌های امیدبخش جو تحت شرایط تنش شوری. بیوتکنولوژی کشاورزی، ۱۵، ۶۰-۴۳.

References

Ahmadi J, Pour-Aboughadareh A, Fabriki Ourang S, Poczai P (2020) Unraveling salinity stress responses in ancestral and neglected wheat species at early growth stage: a baseline for utilization in future wheat improvement programs. Physiol Mol Biol Plants 26, 537–549.

Ahmadi J, Pour-Aboughadareh A (2018) Expression pattern of anti-oxidant genes in wheat wild relatives under water deficit stress. Modern Genetics, 13, 353-361.

Ahmadi J, Pour-Aboughadareh A, Ourang SF, et al. (2018) Wild relatives of wheat: *Aegilops–Triticum* accessions disclose differential antioxidative and physiological responses to water stress. Acta Physiol Plant 40, e90.

Ashraf M (2009) Biotechnological approach of improving plant salt tolerance using antioxidants as markers. Biotechnol Adv 27, 84-93.

Bao F, Du D, An Y, et al. (2017) Overexpression of *Prunus mume* Dehydrin genes in tobacco enhances tolerance to cold and drought. Front Plant Sci 8, e151.

Beres BL, Rahmani E, Clarke JM, et al. (2020) A systematic review of durum wheat: Enhancing production systems by exploring genotype, environment, and management (G × E × M) synergies. Front Plant Sci 11, e568657.

Buffagni V, Vurro F, Janni M, et al. (2020) Shaping durum wheat for the future: gene expression analyses and metabolites profiling support the contribution of *BCAT* genes to drought stress response. Front Plant Sci 11, e891.

Cao Y, Xiang X, Geng M, et al. (2017) Effect of *HbDHN1* and *HbDHN2* genes on abiotic stress responses in *Arabidopsis*. Front Plant Sci 8, e470.

Chiappetta A, Muto A, Bruno L, et al. (2015) A dehydrin gene isolated from feral olive enhances drought tolerance in Arabidopsis transgenic plants. Front Plant Sci 6, e392.

De Santis MA, Soccio M, Laus MN, Flagella Z (2021) Influence of drought and salt stress on durum wheat grain quality and composition: A review. Plants 10, e2599.

Dure L, Crouch M, Harada J, et al. (1989) Common amino acid sequence domains among the LEA proteins of higher plants. Plant Mol Biol 12, 475-486.

Eftekhari A, Baghizadeh A, Yaghoobi MM, Abdolshahi R (2017) Differences in the drought stress response of *DREB2* and *CAT1* genes and evaluation of related physiological parameters in some bread wheat cultivars. Biotechnol Biotechnol Equip 31, 709-716.

Ewa M, Kalemba A, Stanisawa P (2007) Possible roles of LEA proteins and sHSPs in seed protection. Biological Lett 44, 3-16.

Ghorbani S, Etminan A, Rashidi V, et al. (2023) Delineation of physiological and transcriptional responses of different barley genotypes to salt stress. Cereal Res Commun 51, 367–377.

Guo Y, Tian S, Liu S, et al. (2018) Energy dissipation and antioxidant enzyme system protect photosystem II of sweet sorghum under drought stress. Photosynthetica 56, 861-872.

Hand SC, Menze MA, Toner M, et al. (2011) LEA proteins during water stress: not just for plants anymore. Annu Rev Physiol 73, 115-34.

Hekimi S, Noë A, Branicky R, Wang Y (2018) Superoxide dismutases: Dual roles in controlling ROS damage and regulating ROS signaling. Journal of Cell Biology 217, 1915–1928.

Hossain MS, Dietz KJ (2016) Tuning of redox regulatory mechanisms, reactive oxygen species and redox homeostasis under salinity stress. Front Plant Sci 7, e548.

IGC (2021) The International Grains Council. https://www.igc.int/en/default.aspx

Ighodaro OM, Akinloye OA (2018) First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. Alexandria J Med 54, 287–293.

Jadidi O, Etminan A, Aziziezhad R, et al. (2023) Investigation of expression pattern for some genes related to antioxidant activities in promising genotypes of barley under salinity stress conditions. Agric Biotechnol J 15, 43-60.

Kosová K, Klíma M, Prášil IT, Vítámvás P (2021) COR/LEA Proteins as Indicators of Frost Tolerance in Triticeae: A Comparison of Controlled versus Field Conditions. Plants 10, e789.

Lascano R, Munoz N, Robert G, et al. (2005) Paraquat: An Oxidative Stress Inducer. In *Herbicide—Properties, Synthesis and Control of Weeds*; Hasaneen, M.N., Ed.; InTech: London, UK.

Leonardis AMD, Marone D, Mazzucotelli E, et al. (2007) Durum wheat genes up-regulated in the early phases of cold stress are modulated by drought in a developmental and genotype dependent manner. Plant Sci 172, 1005-1016.

Lightfoot DL, Mcgrann GRD, Able AJ (2017) The role of a cytosolic superoxide dismutase in barley-pathogen interactions. Mol Plant Pathol 18, 323-335.

Liu X, Liu Z, Niu X, et al. (2019) Genome-wide identification and analysis of the *NPR1*-like gene family in bread wheat and its relatives. Int J Mol Sci 20, e5974.

Livak KJ, Schmittgen TD (2001) Analysis of relative gene expression data using Real-Time Quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta ct}$ method. Methods 25, 402-408.

Lorkowski S, Paul C (2004) Highthroughput analysis of mRNA expression: microarrays are not the whole story. Expert Opin Ther Pat 14, 377-403.

Maruyama K, Sakuma Y, Kasuga M, et al. (2004) Identification of cold-inducible downstream genes of the Arabidopsis DREB1A/CBF3. Plant J 38, 982-993.

Noctor G, Reichheld JP, Foyer CH (2018) ROS-related redox regulation and signaling in plants. Semin Cell Dev Biol 80, 3–12.

Olivoto T, Lucio AD (2020) Metan: an R package for multi environment trial analysis. Methods Ecol Evol 11, 783-789.

Panchuk II, Zentgraf U, Volkov RA (2005) Expression of the *APX* gene family during leaf senescence of *Arabidopsis thaliana*. Planta 222, 926–932.

Pour-Aboughadareh A, Jadidi O, Shooshtari L, et al. (2022) Association analysis for some biochemical traits in wild relatives of wheat under drought stress conditions. Genes 13, e1491.

Pour-Aboughadareh A, Omidi M, Naghavi MR, et al. (2020) Wild relatives of wheat respond well to water deficit stress: a comparative study of antioxidant enzyme activities and their encoding gene expression. Agriculture 10, 415-415.

Samarah NH, Mullen RE, Cianzio SR, Scott P (2006) Dehydrin-like proteins in soybean seeds in response to drought stress during seed filling. Crop Sci 46, 2141–2150.

Shafi A, Chauhan R, Gill T, Swarnkar MK, et al. (2015) Expression of SOD and APX genes positively regulates secondary cell wall biosynthesis and promotes plant growth and yield in *Arabidopsis* under salt stress. Plant Mol Biol 87, 615–631.

Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K (2007) Gene networks involved in drought stress response and tolerance. J Exp Bot 58, 221-227.

Singh -Gill S, Tuteja N (2010) Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. Plant Physiol Biochem 48, 909-930.

Souza CC, Oliveira FA, Silva IF, Amorim Neto MS (2000) Evaluation of methods of available water determination and irrigation management in ‘‘terra roxa’’ under cotton crop. Rev Bras Eng Agric Ambient 4, 338-342.

Verma KK, Singh M, Gupta RK, Verma CL (2014) Photosynthetic gas exchange, chlorophyll fluorescence, antioxidant enzymes, and growth responses of *Jatropha curcas* during soil flooding. Turk J Bot 38, 130–140.

Yang Y, He M, Zhu Z, et al. (2012) Identification of the dehydrin gene family from grapevine species and analysis of their responsiveness to various forms of abiotic and biotic stress. BMC Plant Biol 12, e140.

Zhang H, Zheng J, Su H, et al. (2018) Molecular cloning and functional characterization of the Dehydrin (*IpDHN*) gene from Ipomoea pes-caprae. Front Plant Sci 9, e1454.

Zhang HF, Liu SY, Ma JH, et al. (2019) *CaDHN4*, a salt and cold stress-responsive Dehydrin gene from pepper decreases Abscisic acid sensitivity in Arabidopsis. Int J Mol Sci 21, e26.

Zhang X, Zhang L, Chen Y, et al. (2020) Genome-wide identification of the SOD gene family and expression analysis under drought and salt stress in barley. Plant Growth Regul 94, 49–60.