

تقييم تحمل طرز وراثية مبشرة من القمح القاسي للجفاف باستخدام بعض المؤشرات الشكلية والبيوكيميائية

نعيم الحسين*⁽¹⁾ ورهام أبو الكنج⁽¹⁾

(1) مركز البحوث العلمية الزراعية بحلب، الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية، حلب، سورية.

(*للمراسلة الدكتور: نعيم الحسين، البريد الإلكتروني: naiem64@hotmail.com)

الملخص

يعد القمح بنوعيه القاسي والطري العمود الفقري للأمن الغذائي في الوطن العربي بشكل عام، وسورية بشكل خاص، ويعد الجفاف أحد أهم الاجهادات اللاأحيائية التي تهدد زراعة القمح في العالم والمنطقة العربية، لذلك فقد هدف هذا البحث إلى تقييم استجابة بعض الطرز الوراثية لإجهاد الجفاف باستخدام بعض المؤشرات الشكلية والبيوكيميائية. نفذ البحث في مخبر التقانات الحيوية التابع للهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية/ مركز بحوث حلب خلال عام 2019، إذ درس رد فعل ثمان طرز مبشرة من القمح القاسي لإجهاد الجفاف المحرض باستخدام مادة Polyethylene Glycol بتركيز 5% وقورنت مع الشاهد / الماء المقطر في ظروف متحكم بها وفق نظام الزراعة على سطح الأغار، اعتماداً على المواصفات الشكلية (المجموع الجذري والخضري)، كما استخلص البروتين من بذور القمح وفصلت العينات البروتينية على هلامة البولي أكريلاميد بنظام SDS-PAGE، نفذت التجربة بتصميم القطاعات العشوائية الكاملة RCBD بثلاثة مكررات، حلت البيانات وقورنت المتوسطات باستخدام قيمة أقل فرق معنوي L.S.D عند مستوى 5% باستخدام برنامج Genstat V12.0. كما استخدم برنامج TASSEL لإجراء الارتباط الوراثي باستخدام النموذج الخطي العام (GLM) بين المؤشرات الجزيئية والصفات المدروسة. أوضحت النتائج الشكلية والبيوكيميائية أن الطراز 22 هو الطراز الوراثي الأفضل فقد امتلك العدد الأكبر والكثافة الأعلى للحزم ، يليه الصنف شام5 فقد كان أقل بحزمة واحدة من الطراز 22 في المعاملة 5% ، في حين كان الأسوأ استجابة للجفاف من الناحية الشكلية الطراز 14 وقد توافق ذلك مع نتائج الدراسة البيوكيميائية إذ لم تحدث أي تغييرات على الأليلات (الحزم) بزيادة أو حذف حزمة وإنما كانت التغييرات فقط من ناحية كمية الحزمة. كما بينت نتائج تحليل الارتباط إلى وجود عدد من المؤشرات البروتينية مرتبطة بأكثر من صفة، تم التوصل إلى قيام الصنف المتحمل للجفاف حال التعرض للإجهاد بزيادة نصف قطر الجذر ومساحة وحجم المجموع الجذر في محاولة للتكيف مع الإجهاد، ويمكن اعتبار الكشف عن وجود البروتينات كالدبيدريينات وبروتينات الصدمة الحرارية والبروتينات التي تفرز بفعل الجفاف مؤشرات مفيدة لانتخاب الطرز الوراثية المتحملة للجفاف في مراحل مبكرة واقتراح إدخالها في برامج التربية.

الكلمات المفتاحية: أصناف القمح، إجهاد الجفاف، تقانة SDS-PAGE، بروتينات الصدمة الحرارية، الدبيدريين، بولي اثيلين غليكول، برنامج Tassel.

المقدمة:

يمثل الجفاف مشكلة عالمية يحد من أداء النباتات ونموها وإنتاجيتها (Chaves and Oliveira, 2004)، مسؤول بنسبة 50% عن ضعف الإنتاج في منطقة المتوسط وقد أدى التغير المناخي العالمي الأخير إلى جعل هذا الوضع أكثر خطورة (Pan *et al.*, 2002)، حالياً تعد دراسة ظاهرة الجفاف واحدة من الاتجاهات الرئيسية في بيولوجيا النباتات، وتحسين الغلة تحت إجهاد الجفاف هو الهدف الرئيسي لمربي النبات (Cattivelli *et al.*, 2008).

يؤدي الإجهاد الناجم عن الجفاف إلى سلسلة من التغييرات بما في ذلك التغييرات الكيميائية الحيوية مثل تراكم المواد المشبعة وبروتينات محددة تشارك في تحمل الإجهاد (Sadiq *et al.*, 2013)، أحد البروتينات التي تلعب دوراً في آلية مقاومة الجفاف بروتين الديهيدرين (Shinozaki and Yamaguchi, 2007)، وهو بروتين وظيفي يقوم بحماية الخلية من الإجهاد عن طريق التحكم في الرابطة وتشكيل البروتينات البنيوية (بروتينات الغشاء) والبروتينات الوظيفية (أنزيمات) (Arumingtyas *et al.*, 2013). تعمل هذه البروتينات في تسهيل الاحتفاظ بالمياه واستقرار الغشاء وتدفق الأيونات (Beck *et al.*, 2007)، وتلعب أيضاً دوراً في حماية مكونات السيتوبلازم أثناء إجهاد الجفاف (Blackman *et al.*, 1995) من خلال قدرته على ربط جزيئات الماء على سطح الماء الذي يمنع مزيد من الضرر للبروتينات الخلوية (Close 1997). بالإضافة لبروتينات أخرى تحمي الخلية من الجفاف لها بنية مماثلة للديهيدرين (Close and Chandler, 1990). قد يكون للبروتينات الشبيهة بالديهيدرين دوراً في التعديل الاسموزي مماثل للمركبات الأخرى التي تم تحديدها في حالة الجفاف مثل البرولين والجلاليسين والبيتين والسكروروز. كما تعمل بروتينات التطور الجنيني المتأخر LEA ذات الوزن الجزيئي 10 - 30 كيلو دالتون في حماية النباتات من التلف الناجم عن الإجهاد بسبب الجفاف (Demirevska *et al.*, 2005; Hong *et al.*, 2008). تم تحديد التغييرات النوعية والكمية خلال بروتينات الإجهاد (Kottapalli *et al.*, 2009). أشار (Su and wu, 2004) إلى تناقص كمية البروتينات القابلة للذوبان ذات الوزن الجزيئي الأكثر من 100 كيلو دالتون في الأوراق، في حين أن البروتينات القابلة للذوبان المنخفضة الوزن الجزيئي ازدادت كميتها. تعد تقانة (SDS-PAGE) أحد أكثر التقنيات المستخدمة لفصل البروتينات كونها طريقة سهلة وسريعة. (Moradpour *et al.*, 2014).

يعد القمح أهم المحاصيل الغذائية عالمياً، فهو نظام غذائي مستقر لأكثر من ثلث سكان العالم، ويسهم من السعرات الحرارية والبروتين في النظام الغذائي العالمي أكثر من أي محصول حبي آخر (Waqar *et al.*, 2018). يشكل القمح في سورية المحصول الحبي الاستراتيجي الأول، يزرع بنوعيه القاسي والظري على نطاق واسع في كل من محافظات الحسكة وحلب وإدلب وحماة ودرعا وحمص والرقعة والسويداء ودير الزور بعلماً أو مروياً، وذلك تبعاً للظروف المناخية السائدة ومدى توافر مياه الري، وتعد محافظة الحسكة وحلب سلة القمح السورية وبلغت المساحة المزروعة به في عام 2017 نحو 1.1 مليون هكتار أنتجت 2.2 مليون طن (FAO, 2017).

مع تضاؤل موارد المياه، زادت برامج تربية القمح من السعي لتطوير أصناف متكيفة مع إجهاد الجفاف (Li *et al.*, 2011). وبالتالي، يبحث مربو القمح دائماً عن وسائل ومصادر لتحسين الوراثة للقمح، قد يساعد اعتماد تقنيات جديدة في تحقيق بعض الأهداف لزيادة إنتاج الغذاء. لذلك، تسعى فرق تربية النباتات إلى دمج أساليب التقانات الحيوية النباتية الحديثة مع تقنيات التربية التقليدية. يتم اختيار الأصناف المتحملة للجفاف في المراحل المبكرة من طور البادرة عن طريق تضمين جزيئات كيميائية محرصة للجفاف مثل بولي إيثيلين جليكول (PEG 6000) في الوسط. أشار (Lagerwerff *et al.*, 1961) إلى أنه يمكن استخدام PEG لتعديل القدرة التناضحية للمحلول المغذي، وبالتالي إحداث عجز في المياه النباتية بطريقة مسيطر عليها نسبياً، ومناسبة للبروتوكولات التجريبية (Zhu *et al.*, 1997). جزيئات (PEG) سلاسل خاملة وغير أيونية وكتيمة والتي كثيراً ما تستخدم للحث

على الإجهاد المائي دون التسبب في ضرر فيزيولوجي (Lu and Neumann, 1998). جزيء (PEG 6000) صغير لدرجة كافية للتأثير على القدرة التناضحية ولكنه كبير بما يكفي لعدم امتصاصه من قبل النبات (Carpita et al., 1979)، لأن PEG لا يدخل الأوبلاست، وإنما يتم سحب الماء من الخلية، لذلك يحاكي محلول PEG التربة الجافة عن كثب أكثر من محاليل الأسموزية المنخفضة الوزن الجزيئي، والتي تتسلل إلى جدار الخلية مع المذاب (Veslues et al., 1998).

هدف هذا البحث إلى: (1) استقصاء الصفات الشكلية لبعض الطرز الوراثية للقمح تحت إجهاد الجفاف (2) دراسة التغيرات الناجمة عن إجهاد الجفاف في تكوين البروتينات أو البولي ببتيدات لهذه الطرز بواسطة تقانة SDS-PAGE (3) محاولة إيجاد تقنية سريعة وسهلة لفحص الطرز الوراثية للقمح لتحمل الجفاف (4) تحديد الارتباط بين الصفات الشكلية والمؤشرات البروتينية.

مواد وطرائق البحث:

نفذ البحث في مخبر التقانات الحيوية التابع للهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية / مركز بحوث حلب خلال عام 2019.

الجدول(1): الطرز الوراثية المستخدمة في الدراسة

التسلسل	الطرز الوراثي	السلالة	النسب/ Pedgree
3	22	CM829/CandocrossH25//Icajihhan10	ICD07-078-BLMSD-0AP-2AP-0Tr-13AP-0THT-0AP -0TR
4	21	Ouasloukos 1/5/Azn1/4/BEZAIZSHF //SD19539/Waha/3/Gdr2	ICD03-0342BLMSD0AP-2AP-0Tr-10AP-0Tr-6AP-0Tr-2AP-0THT-0AP -0TR
5	4	IcamorTA041/4/Aghrass1/3/HFN94 N8/Mrb5//Zna1/5/Malmuk1/Serrator 1	ICD06-0903-BLMSD-0AP-1AP-0Tr2AP0Tr-2AP-0THT-0AP -0TR
6	12	Mgn13/Ainzen-1//Mgn13/Aghrass2	ICD06-1614-0AP2AP-0AP-4AP-0THTD -0TR
7	14	Oss11/Stj5/5/Bicrederaa1/4/BEZAIZ-SHF//SD19539/Waha/3/Stj/Mrb3/6/Stj3//Dra2/Bcr/3/Ter-3	ICD06-1431-0AP0AP-3AP-0AP-1AP0THTD -0TR
8	19	Ter1/3/Stj3//Bcr/Lks4/4/Aghrass1/3/Mrf1//Mrb16/Ru	ICD07-324-BLMSD-0AP-0Tr-3AP-0Tr-4AP-0THT-0AP -0TR

المادة النباتية:

تضمنت الدراسة ستة طرز وراثية مبشرة من القمح القاسي (جدول 1)، تم الحصول عليها من تجارب الغلة المتقدمة في برنامج القمح القاسي في المركز الدولي للبحوث الزراعية في المناطق الجافة (إيكاردا)، إضافةً لصنفين معتمدين في الزراعة شام³ وشام³.

الدراسة الشكلية:

زرعت الطرز الوراثية وقيمت في ظروف متحكم بها حسب طريقة (Wood, 2007). عُقمت البذور بمادة هيبوكلوريت الصوديوم بتركيز 0.5% لمدة خمس دقائق، ثم غسلت مرتين بالماء المقطر ثم نبتت في أطباق بتري على درجة حرارة المختبر لمدة يومين. نقلت البذور المنبته ووضعت على سطح شريحة الأغار تركيز 15 غ/ليتر الموضوع على لوح زجاجي، وغطيت بشريحة أخرى لتصبح ثخانة الشريحتين 6 مم كانت أبعاد لوحي الزجاج 21x30 سم، وقد ثبت لوحي الزجاج على بعضهما بواسطة ملاقط خاصة ترك فراغ بحدود 1 مم بين شريحتي الأغار من أجل تأمين التهوية الكافية للجذور. وضعت الألواح في حاضنة على درجة حرارة 15 مئوية لمدة أسبوعين، وتضمنت كل وحدة تجريبية 3 بذور منبته بحيث تنمو الجذور نحو الأسفل تم إجراء مسح للجذور بواسطة الماسح الضوئي للحصول على صور الجذور.

طبق الإجهاد المائي من خلال إضافة مادة بولي اثيلين غليكول 6000 (PEG6000) إلى الأغار قبل صبه على الشريحة الزجاجية، إذ استخدم تركيز 5%، إضافة لمعاملة الشاهد (0)، وقيس طول السويقة لجميع البادرات باستخدام مسطرة، وقدر الوزن الرطب للجذير والوزن الرطب للسويقة والوزن الجاف للجذير والوزن الجاف للسويقة، وذلك بعد أسبوعين من تنفيذ التجربة. كما تم الحصول على مجموعة من قياسات الجذور، الطول الكلي للجذور (TRL) سم، مساحة الجذور (RSA) مم²، متوسط قطر الجذور (AD) مم، عدد الجذور الأولية (SRN)، الطول الاعظمي للجذر (LRL)، حجم الجذور (RV). حلت الصور على الحاسب بواسطة برنامج خاص SMARTROOT v 4.1 (Lobet et al., 2011)، واستخدم تصميم القطاعات العشوائية الكاملة RCBD بثلاثة مكررات، حلت النتائج وقورنت المتوسطات باستخدام قيمة أقل فرق معنوي L.S.D عند مستوى 5% باستخدام برنامج Genstat V12.0.

الدراسة البيوكيميائية:

استخلص البروتين من بذور القمح وفق البروتوكول (Berber and Yasar, 2011)، بعد تعريضها لإجهاد الجفاف بواسطة PEG بتركيزي 5-10% لمدة يومين. طحنت البذور جيداً مع محلول الاستخلاص المكون من 1M tris-HCl, PH=8، 2.5% Glycerol، 10% SDS، 0.1% TCA، 10 mM urea، 0.5mM EDTA، 1.25% β-mercaptoetanol، ثقلت العينات على سرعة 10500 دورة/دقيقة لمدة 10 دقائق، نقل السائل الطافي الحاوي على البروتينات إلى أنبوب آخر، وتم التخلص من الراسب، حضنت العينات ضمن حمام مائي عند درجة حرارة 100 درجة مئوية لمدة 5 دقائق، وحفظت ضمن درجة حرارة (-20 درجة مئوية) لحين الاستخدام.

فصلت العينات البروتينية على هلامة البولي أكريلاميد بنظام SDS-PAGE وفقاً لطريقة (Laemmli, 1970)، تكونت الهلامة من هلامة الفصل بتركيز 12% (Separating gel solution) وهلامة التكديس أو التجميع (التراص) بتركيز 4% (Stacking Gel).

قبل عملية الفصل، مزجت العينة البروتينية مع المحلول المنظم للعينة (2x Laemmli) Sample buffer بنسبة 1:1 وفقاً لـ (Laemmli, 1970)، استغرقت عملية الفصل ساعتين تقريباً على شدة تيار بين 20-45 ميلي أمبير وتوتر بين 50-90 فولط، ولونت الهلامة في محلول الصبغ commassie brilliant blue R-250 لمدة يوم كامل، بعد ذلك، وضعت في محلول نزع الصبغ المؤلف من (ميثانول - حمض الخل الثلجي - ماء مقطر) عند درجة حرارة 50 درجة مئوية مع التحريك المستمر، حتى ظهرت الحزم bands بوضوح واستغرقت ذلك حوالي 2-3 أيام.

أخذت صورة للهلامة عن طريق المساح الضوئي، وقُرأت النتائج وفق النظام الثنائي، إذ أعطي الرقم (1) في حال وجود الحزمة، و(0) في حال غياب الحزمة، وتمت مقارنة حجوم الحزم الناتجة (الأوزان الجزيئية للبروتينات المفصولة) مع الأوزان الجزيئية المعلومة لـ protein Ladder.

كما استخدم برنامج TASSEL v4 (Trait Analysis by aSSociation, Evolution and Linkage) لإجراء الارتباط الوراثي باستخدام النموذج الخطي العام (GLM) بين المؤشرات الجزيئية والصفات المدروسة (Buckler et al., 2004).

النتائج والمناقشة:

الدراسة الشكلية:

1- الطرز والأصناف: أشار التحليل الاحصائي إلى عدم وجود فروق معنوية بين الطرز المدروسة في الوزن الرطب للجذور ($p=0.210$)، ووجود فروق معنوية وعالية المعنوية بين الطرز والأصناف في صفات المجموع الخضري والجذري (الوزن الجاف للسويقة - الوزن الرطب للسويقة - طول السويقة - نصف القطر - طول الجذر - الطول الأعظمي للجذر - مساحة المجموع الجذري - حجم المجموع الجذري) عند مستوى معنوية $p=0.05$ ($p=0.028$, $p=0.015$, $p<.001$, $p<.001$, $p<.001$, $p<.001$)، على التوالي، تفوق الطراز 22 على جميع الطرز والأصناف في صفات المجموع الجذري (نصف القطر، طول الجذر، الطول الأعظمي للجذر، مساحة المجموع الجذري، وحجم المجموع الجذري) بمتوسط (0.16 مم، 70.31 سم، 19.37 سم، 38.58 سم²، 2.41 مم³) على التوالي، في حين كان الصنف شام5 الأفضل في صفات المجموع الخضري (الوزن الجاف للسويقة - الوزن الرطب للسويقة - طول السويقة) بمتوسط (0.02 غ، 0.1 غ، 18.25 سم على التوالي).

2- التراكيز: بين التحليل الاحصائي إلى عدم وجود فروق معنوية بين التراكيز المدروسة في الوزن الرطب للجذور ($p=0.601$) وعدد الجذور ($p=0.954$)، ولوحظ وجود فروق عالية المعنوية بين الشاهد والتراكيز 5% إذ تفوقت معاملة التراكيز 5% على معاملة الشاهد في صفات المجموع الجذري (نصف القطر - مساحة المجموع الجذري - حجم المجموع الجذري) عند مستوى معنوية $p=0.05$ ($p<.001$). وهذا يفسر بزيادة نصف القطر للجذر ومساحة وحجم المجموع الجذري عند التعرض للإجهاد، أي ارتباط هذه الصفات بتحمل الجفاف.

أما بقية الصفات (الوزن الجاف للجذور - الوزن الجاف للسويقة - الوزن الرطب للسويقة - طول السويقة - طول الجذر - الطول الأعظمي للجذر) فكانت معاملة الشاهد متفوقة على التراكيز 5%، فكان هناك فروق عالية المعنوية ($P=0.002$, $p<.001$, $p<.001$, $p<.001$, $p<.001$) على التوالي.

3- الأثر المشترك للتراكيز والطرز والأصناف:

أظهرت نتائج التحليل إلى عدم وجود فروق معنوية للأثر المشترك لكل من التراكيز والطرز في عدد الجذور ($p=0.101$)، والوزن الجاف للجذور ($P=0.359$)، والوزن الجاف للسويقة ($p=0.736$)، والوزن الرطب للجذور ($p=0.954$)، والوزن الرطب للسويقة ($p=0.18$)، وطول السويقة ($p=0.286$)، في حين تفوق الطراز 22 بالتراكيز 5% في صفة نصف القطر وطول الجذر ومساحة وحجم المجموع الجذري، وكانت جميع الطرز والأصناف بالتراكيز 5% متفوقة على الشاهد في صفة نصف القطر للجذر. تفوق الصنف شام5 والطرز 12 بالتراكيز 5% على الشاهد في صفتي مساحة وحجم المجموع الجذري، أما الطول الأعظمي فتفوق الطراز 14 والصنف شام5 بالشاهد على التراكيز 5%.

الجدول (2): يبين متوسطات الأصناف والطرز والتراكيز والأثر المشترك بينهما لصفة الوزن الجاف للسويقة

المتوسط	19	14	12	4	21	22	شام3	شام5	الأصناف المعاملات
0.01733	0.01633 abcd	0.01667 abcd	0.01867 abc	0.01567 abcde	0.01867 abc	0.01800 abcd	0.01300 abcde	0.02167 a	الشاهد
0.00967	0.01200 abcde f	0.00800 def	0.00600 ef	0.00933 bcdef	0.00867 cdef	0.01167 abcdef	0.00267 f	0.01900 ab	5%
	0.01417 abc	0.01233 bc	0.01233 bc	0.01250 bc	0.01367 bc	0.01483 ab	0.00783 c	0.02033 a	المتوسط
	0.006139							الأصناف LSD _{0.05}	

0.003069	LSD _{0.05} المعاملات
0.008682	LSD _{0.05} التفاعل
38.6	CV%

الجدول (3) يبين متوسطات الأصناف والطرز والتراكيز والأثر المشترك بينهما لصفة عدد الجذور

المتوسط	19	14	12	4	21	22	شام3	شام5	الأصناف المعاملات
4.83	5.000 abcd	5.000 abcd	5.333 abc	4.667 abcd	4.333 bcd	5.333 abc	4.000 cd	5.000 abcd	الشاهد
4.79	6.333 a	3.333 d	4.000 cd	4.667 abcd	5.000 abcd	5.667 abc	3.333 d	6.000 ab	%5
	5.667 a	4.167 b	4.667 ab	4.667 ab	4.667 ab	5.500 a	3.667 b	5.500 a	المتوسط
1.137								الأصناف LSD _{0.05}	
0.568								المعاملات LSD _{0.05}	
1.607								التفاعل LSD _{0.05}	
20.0								CV%	

الجدول (4). يبين متوسطات الأصناف والطرز والتراكيز والأثر المشترك بينهما لصفة الوزن الطازج للجذور

المتوسط	19	14	12	4	21	22	شام3	شام5	الأصناف المعاملات
0.0242	0.02000 ab	0.03000 ab	0.04333 ab	0.01333 ab	0.02667 ab	0.01333 ab	0.02000 ab	0.02667 ab	الشاهد
0.0200	0.01733 ab	0.01000 b	0.06437 a	0.01100 ab	0.00333 ab	0.00933 b	0.01133 ab	0.02333 ab	%5
	0.01867 ab	0.0200 b	0.05385 a	0.01217 b	0.02000 ab	0.01133 b	0.01567 b	0.02500 ab	المتوسط
0.03220								الأصناف LSD _{0.05}	
0.01610								المعاملات LSD _{0.05}	
0.04554								التفاعل LSD _{0.05}	
123.6								CV%	

الجدول (5). يبين متوسطات الأصناف والطرز والتراكيز والأثر المشترك بينهما لصفة الوزن الطازج للسويقة

المتوسط	19	14	12	4	21	22	شام3	شام5	الأصناف المعاملات
0.0946	0.10000 ab	0.10000 ab	0.06333 bcdef	0.07667 abcde	0.11667 ab	0.09333 abc	0.08667 abcd	0.12000 a	الشاهد
0.0378	0.06833 abcde	0.03000 efg	0.04237 cdefg	0.02333 efg	0.01333 fg	0.03333 defg	0.00533 g	0.09667 abc	%5
	0.08417 ab	0.06500 b	0.05285 b	0.05000 b	0.06500 b	0.06333 b	0.04600 b	0.10833 a	المتوسط

0.03392	LSD _{0.05} الأصناف
0.01696	LSD _{0.05} المعاملات
0.04797	LSD _{0.05} التفاعل
43.0	CV%

الجدول (6) يبين متوسطات الأصناف والطرز والتراكيز والأثر المشترك بينهما لصفة طول السويقة

المتوسط	19	14	12	4	21	22	شام3	شام5	الأصناف المعاملات
16.35	16.00 ab	15.17 abc	16.17 ab	15.00 abc	16.33 ab	17.33 a	14.33 abc	20.50 a	الشاهد
7.31	10.50 bcd	7.00 def	9.00 cde	3.83 ef	4.00 ef	6.67 def	1.50 f	16.00 ab	%5
	13.25 b	11.08 bc	12.58 b	9.42 bc	10.17 bc	12.00 bc	7.92 c	18.25 a	المتوسط
4.007									LSD _{0.05} الأصناف
2.004									LSD _{0.05} المعاملات
5.667									LSD _{0.05} التفاعل
28.7									CV%

الجدول (7) يبين متوسطات الأصناف والطرز والتراكيز والأثر المشترك بينهما لصفة طول الجذر

المتوسط	19	14	12	4	21	22	شام3	شام5	الأصناف المعاملات
62.9	64.24 abc	64.40 abc	58.96 abcd	52.69 cd	66.81 abc	69.68 ab	53.79 bcd	72.27 a	الشاهد
36.8	35.93 efg	17.73 h	47.04 de	30.02 fgh	27.65 gh	70.93 a	20.37 gh	44.54 def	%5
	50.09 bcd	41.07 de	53.00 bc	41.36 de	47.23 cde	70.31 a	37.08 e	58.40 b	المتوسط
10.17									LSD _{0.05} الأصناف
5.08									LSD _{0.05} المعاملات
14.38									LSD _{0.05} التفاعل
17.3									CV%

الجدول (8). يبين متوسطات الأصناف والطرز والتراكيز والأثر المشترك بينهما لصفة الطول الأعظمي للجذر

المتوسط	19	14	12	4	21	22	شام3	شام5	الأصناف المعاملات
20.71	19.22 b	26.80 a	16.84 bc	21.20 b	20.54 b	19.60 b	19.04 b	22.41 ab	الشاهد

11.86	9.30 d	7.07 d	21.10 b	9.55 d	7.46 d	19.14 b	8.47 d	12.79 cd	%5
	14.26 b	16.94 ab	18.97 a	15.37 ab	14.00 b	19.37 a	13.76 b	17.60 ab	المتوسط
3.619								الأصناف LSD _{0.05}	
1.810								المعاملات LSD _{0.05}	
5.119								التفاعل LSD _{0.05}	
18.9								CV%	

الجدول (9) يبين متوسطات الأصناف والطرز والتراكيز والأثر المشترك بينهما لصفة مساحة المجموع الجذري

المتوسط	19	14	12	4	21	22	شام3	شام5	الأصناف المعاملات
12.64	12.42 cdef	10.39 cdef	10.14 cdef	16.89 cd	11.63 cdef	15.20 cde	7.41 def	17.03 cd	الشاهد
18.32	9.97 cdef	3.82 f	29.85 b	10.70 cdef	5.36 ef	61.95 a	5.89 def	19.01 c	%5
	11.20 cd	7.10 d	19.99 b	13.79 bcd	8.50 d	38.58 a	6.65 d	18.02 bc	المتوسط
6.719								الأصناف LSD _{0.05}	
3.360								المعاملات LSD _{0.05}	
9.503								التفاعل LSD _{0.05}	
36.8								CV%	

الجدول (10) يبين متوسطات الأصناف والطرز والتراكيز والأثر المشترك بينهما لصفة حجم المجموع الجذري

المتوسط	19	14	12	4	21	22	شام3	شام5	الأصناف المعاملات
0.247	0.2571 c	0.1458 c	0.1455 c	0.4909 c	0.1830 c	0.2811 c	0.0855 c	0.3832 c	الشاهد
0.966	0.2329 c	0.0752 c	1.5870 b	0.3317 c	0.1137 c	4.5534 a	0.1453 c	0.6914 bc	%5
	0.2450 bc	0.1105 c	0.8662 b	0.4113 bc	0.1483 c	2.4172 a	0.1154 c	0.5373 bc	المتوسط
0.6435								الأصناف LSD _{0.05}	
0.3218								المعاملات LSD _{0.05}	
0.9101								التفاعل LSD _{0.05}	
90.0								CV%	

الجدول(11) يبين متوسطات الأصناف والطرز والتراكيز والأثر المشترك بينهما لصفة متوسط نصف القطر

الأصناف المعاملات	شام5	شام3	22	21	4	12	14	19	المتوسط
الشاهد	0.06959 def	0.04249 f	0.06727 def	0.05662 ef	0.09949 cde	0.05341 ef	0.04983 f	0.06187 def	0.0626
%5	0.13091 c	0.08937 cdef	0.26880 a	0.05860 ef	0.11032 cd	0.19579 b	0.06845 def	0.08758 cdef	0.1262
المتوسط	0.10025 bc	0.06593 d	0.16804 a	0.05761 d	0.10490 bc	0.12460 b	0.05914 d	0.07473 cd	
الأصنافLSD0.05		0.02988							
المعاملاتLSD0.05		0.01494							
التفاعلLSD0.05		0.04226							
CV%		26.8							

الجدول (12) يبين متوسطات الأصناف والطرز والتراكيز والأثر المشترك بينهما لصفة الوزن الجاف للجذور

الأصناف المعاملات	شام5	شام3	22	21	4	12	14	19	المتوسط
الشاهد	0.010333a	0.005333 abc	0.008333 abc	0.009000 abc	0.009667 ab	0.007333 abc	0.008667 abc	0.008333 abc	0.00838
%5	0.009667 ab	0.006000 abcd	0.005000 bc	0.001333 c	0.004333 c	0.006333 abc	0.004333 c	0.007333 abc	0.00588
المتوسط	0.010000 a	0.005667 b	0.006667 ab	0.005167 b	0.007000 ab	0.006833 ab	0.006500 b	0.007833 ab	
الأصنافLSD0.05		0.003062							
المعاملاتLSD0.05		0.001531							
التفاعلLSD0.05		0.004331							
CV%		36.5							

الدراسة البيوكيميائية:

أوضحت نتائج الرحلان الكهربائي على هلامة البولي أكريلاميد وفق تقانة SDS-PAGE لبروتينات بذور القمح في الظروف المجهدة وغير المجهدة، تنوع وراثي بين الطرز الوراثية المدروسة، إذ ظهرت 21 حزمة بروتينية تراوحت أوزانها الجزيئية بين 6.5 إلى 95 كيلو دالتون توزعت على طول الهلامة (جدول 13). البعض من هذه الحزم ذات أوزان جزيئية منخفضة 16-18-22-30-32 كيلو دالتون، كانت مشتركة بين جميع الطرز والمعاملات مع وجود بعض الاختلافات في كثافة هذه الحزم بين الشاهد والمعاملتين 5%، 10%، وهذا يدل على اختلاف كمية البروتينات بين الشاهد والمعاملات.

بلغ عدد الحزم الكلية للصنف شام5 16، 16، 18 حزمة في الشاهد، 5%، 10% على التوالي. معظم هذه الحزم ظهرت عند كل من الشاهد والمعاملتين، في حين حرض التعرض للإجهاد المائي بواسطة PEG بتركيز 10% بروتينات محددة نوعية ذات وزن جزيئي 46 و 49 كيلو دالتون، ويرجح أنها بروتينات الديهيدرين وأنزيم البروتياز اللذان يتم تحريضهما بتأثير الجفاف، إذ الوزن الجزيئي للسيرين بروتياز 46 كيلو دالتون الذي يهضم البروتينات التالفة والمتعذر إصلاحها في الخلية مما يقلل من أضرار الجفاف (Abdelouahab et al., 2015)، ووزن الديهيدرين 49 كيلو دالتون يقوم هذا البروتين أثناء الجفاف بحماية الأغشية الخلوية

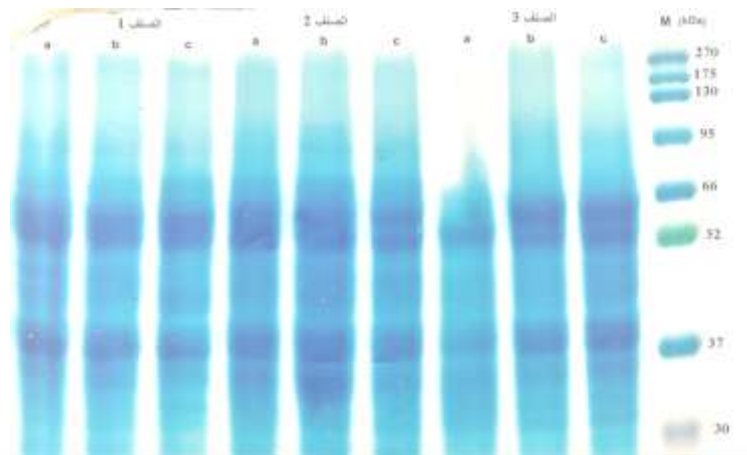
والإحاطة بالبروتينات الوظيفية لحمايتها وأيضاً له دور في إصلاح لف البروتينات التالفة. كما وجد بعض الاختلافات في كثافة الحزم ذات الأوزان الجزيئية المنخفضة 6.5- 13- 16- 18 كيلو دالتون، إذ كانت كثافة الحزم في المعاملات منخفضة بالمقارنة مع الشاهد، وهذا توافق مع نتيجة (Arumingtas *et al.*, 2013) الذي وجد أن الديهيدرين ذو الوزن 13 كيلو دالتون أقل كمية في المعاملات المجهددة مقارنة مع الشاهد، على النقيض من ذلك، كثافة الحزمتين البروتينيتين ذات الوزن الجزيئي 20- 30 كيلو دالتون ازدادت في التركيز 10% بالمقارنة مع الشاهد والتركيز 5%، وكذلك كثافة الحزم ذات الأوزان 32- 35- 37 إذ كانت الكثافة الأكثر في التركيز 10% تلتها المعاملة 5% ثم معاملة الشاهد، وهذا يفسر بزيادة كمية هذه البروتينات عند التعرض للإجهاد المائي، إن الحزمة ذات الوزن الجزيئي 35 كيلو دالتون عائدة لأنزيم الببسين (أحد أنواع البروتياز وله نفس وظيفته في تحليل البروتينات التالفة خلال إجهاد الجفاف) (Abdelouahab *et al.*, 2015). تشير هذه النتائج إلى أن الصنف شام5 قد يكون متحمل للجفاف، إذ أن إجهاد الجفاف حرض تركيب بروتينات نوعية محددة في محاولة للتكيف مع ظروف الاجهاد.

بينما أعطى الصنف شام3 14 حزمة في الشاهد و18 حزمة في المعاملة الأولى (5%) و 17 حزمة في المعاملة الثانية (10%)، ولوحظ وجود حزمة فريدة عند الوزن 94 كيلو دالتون لدى المعاملة 5%، ووزن هذه الحزمة يطابق وزن بروتين الصدمة الحرارية 94 حسب نتائج (Kee *et al.*, 1986) الذي وجد تراكم لبروتينات الصدمة ذات الوزن 94 كيلو دالتون في ظروف إجهاد الجفاف، ولهذا البروتين وظيفة في إعادة تنشيط البروتينات التالفة في الخلية من خلال إصلاح التفافها. أما عن الحزم ذات الأوزان الجزيئية 35-46 كيلو دالتون فقد غابت في الشاهد، بينما ظهرت في المعاملتين 5% و 10%، حفز الإجهاد المائي على تصنيع بروتينات جديدة، تطابقت الحزمة ذات الوزن الجزيئي 35 كيلو دالتون لأنزيم الببسين المحلل للبروتينات مائياً استجابة للجفاف (Abdelouahab *et al.*, 2015). أما عن التغيرات الكمية، فإن الحزمتين ذوات الوزن الجزيئي 36 و 37 كيلو دالتون كانت أكثر كثافة في المعاملة 5%، وبالنسبة للحزم ذات الأوزان 6.5- 13- 16- 18 كيلو دالتون كانت أكثر كثافة في الشاهد وتناقصت مع زيادة الجفاف، بينما الحزمة ذات الوزن 22 كيلو دالتون كانت باهتة في المعاملة 10%، على نقيض نتائج دراسة (Sadiq *et al.*, 2013) التي وجد فيها البروتين 22 كيلو دالتون فقط في الشاهد وكان غائب في ظروف الاجهاد، على عكس الحزم ذات الأوزان الجزيئية 30-32 كيلو دالتون بدت أكثر وضوحاً في المعاملة 10%.

الجدول (13): يبين وجود أو غياب الحزمة في كل صنف واوزانها الجزيئية إذ تمثل (1) وجود الحزمة و(0) غياب الحزمة.

19			14			12			4			21			22			شام3			شام5			الوزن
10%PEG	5%PEG	شاهد	10%PEG	5%PEG	شاهد	10%PEG	5%PEG	شاهد	10%PEG	5%PEG	شاهد	10%PEG	5%PEG	شاهد	10%PEG	5%PEG	شاهد	10%PEG	5%PEG	شاهد	10%PEG	5%PEG	شاهد	
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	94
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	70
1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	65
1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	60
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	58
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	52
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	0	1	1	0	1	0	0	49
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	0	1	1	0	1	0	0	46
1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	41
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	37
1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	36
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1	1	35
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	32
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	30
1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	24
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	22
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1	1	1	20
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	18
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	16
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	13
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	6.5

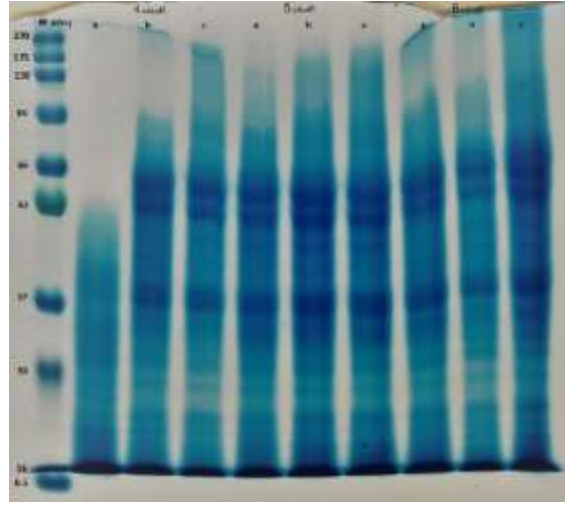
في حين وصل عدد الحزم الكلية للطراز المبشر 22، 13، 17، 18 حزمة بروتيينية في كل من الشاهد، المعاملة 5%، والمعاملة 10% على التوالي. تراوحت الأوزان الجزيئية لهذه الحزم بين 6.5 و 66 كيلو دالتون. وقد غابت الحزمة ذات الوزن الجزيئي 41-58 كيلو دالتون في الشاهد، بينما وجدت في المعاملتين 5% و 10%، هذا خالف نتائج (Sadiq et al. 2013)، إذ بدت هذه الحزمة في التركيز 5% وغابت في التركيز 10%، وكذلك الأمر بالنسبة للديهيدرين والبروتياز ذات الوزن الجزيئي 49 و 46 كيلو دالتون لم تظهر في الشاهد، وظهرت بوضوح في المعاملة 5% وأكثر وضوحاً في المعاملة 10%. أما عن الديهيدرين ذو الوزن الجزيئي 24 كيلو دالتون وجد فقط في المعاملة 10%، دل ظهور بروتينات جديدة على أن إجهاد الجفاف ربما حرض المورثة المشفرة لإنتاج هذا البروتين، وهذه النتيجة توافقت مع دراسة (Lopez et al., 2003) التي زاد فيها الديهيدرين ذو الوزن الجزيئي 24 كيلو دالتون مع ازدياد الجفاف وقاموا بربط تلك الزيادة بإنقاص الضرر الناجم عن إجهاد الجفاف. شوهد تغيرات كمية للبروتينات في هذا الصنف، إذ عرضت كثافة أعلى لحزم عديدة (6.5- 13- 16- 18- 22- 30- 32- 37 كيلو دالتون) تحت إجهاد الجفاف بالمقارنة مع الشاهد. مما سبق نجد أن إجهاد الجفاف سبب تغيرات كمية ونوعية على مستوى البروتينات في هذا الصنف كاستجابة للجفاف والتكيف معه لذلك ربما يكون صنف متحمل للجفاف.



الشكل (1) نتائج فصل العينات البروتينية للطرز الوراثية (شام 5(1) وشام 3(2) والطرز المبشر 22 (3)) على هلامة الأكريلاميد 12% في التركيزين 5 و 10% والشاهد على التوالي (a و b و c).

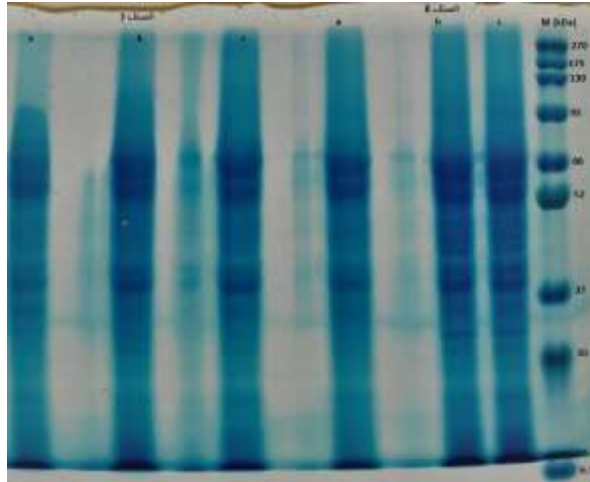
امتلك الطراز المبشر 21 أقل عدد من الحزم والتي بلغت 8، 12، 13 في الشاهد، المعاملة 5%، المعاملة 10% على التوالي الشكل. بالنسبة للتغيرات النوعية فتم الملاحظة بأن بعض الحزم (37-52-58 كيلو دالتون) ظهرت بكثافة متساوية في المعاملتين (5% و 10%)، ولم تلاحظ مطلقاً في الشاهد، على خلاف نتائج دراسة (Moradpour et al., 2014) التي غابت فيها البروتينات ذات الوزن الجزيئي المرتفع نتيجة إجهاد الجفاف. بينما حزم أخرى (46- 49) كيلو دالتون وجدت فقط في المعاملة 10%. وكان هناك اختلاف كمي طفيف ظهر في الحزم ذات الوزن 22- 32 كيلو دالتون، إذ بدت باهتة جداً في الشاهد، بينما ظهرت بوضوح في المعاملتين 5% و 10%، أما الطراز 4 فكان له نفس عدد الحزم لجميع المعاملات، والذي بلغ 12 حزمة تراوحت أوزانها الجزيئية بين 16- 55 كيلو دالتون، لم يسبب الإجهاد أية تغيرات كمية أو نوعية في هذا الصنف، باستثناء تغير واحد فقط في الحزمة ذات الوزن الجزيئي 22 كيلو دالتون، إذ تساوت كثافة الحزمة في المعاملتين (5%- 10%)، وكانت أقل كثافة في الشاهد، وسجل الطراز الوراثي المبشر 12، 12 حزمة في الشاهد و 13 حزمة في المعاملتين، تراوحت أوزانها الجزيئية بين 10- 55 كيلو دالتون. أظهرت نتائج الشكل وجود تعديلات كمية فقط، إذ نجد الديهيدرين والبروتياز وكذلك حزمة ذات وزن جزيئي 37 كيلو دالتون ذات كثافة أقل في المعاملة 5% مقارنة مع الشاهد والمعاملة 10%، وكانت الحزمة 22 كيلو دالتون باهتة في الشاهد مقارنة مع المعاملتين 5%

و10%. ووجد أن الحزمة ذات الوزن 32 كيلو دالتون زادت كثافتها في المعاملة 10% مقارنة مع باقي المعاملات، أما الحزمة ذات الوزن 36 كيلو دالتون فقد غابت في الشاهد بينما ظهرت بكمية قليلة في المعاملة 5% وازداد تركيزها في المعاملة 10%.



الشكل 2. نتائج فصل العينات البروتينية للطرز الوراثية (4)21 و(5)4 و(6)12 على هلامة الأكريلاميد 12% في التركيزين 5 و10% والشاهد على التوالي (a و b و c).

لوحظ من الشكل أن الطرازين 14 و19 لهما نفس عدد الحزم في جميع المعاملات والتي وصلت لـ 17 حزمة تراوحت أوزانها بين 16-66 كيلو دالتون. وكان الاختلاف كمياً فقط، إذ كان الشاهد يملك حزم باهتة، بينما كانت المعاملتين 5% و10% أكثر كثافة. وبالتالي يمكن الاستنتاج بأن هذين الصنفين لهما نفس الاستجابة للجفاف. هذه النتيجة تعاكس نتيجة (Najaphy *et al.*, 2014) التي كانت فيها حزم الشاهد أكثر كثافة من حزم المعاملات المجهدة بالجفاف وتفسر هذه النتيجة بأن هذا الصنفين ربما غير متحملين لإجهاد الجفاف.



الشكل (3): نتائج فصل العينات البروتينية للطرز الوراثية (7)14 و(8)19 على هلامة الأكريلاميد 12% في التركيزين 5 و10% والشاهد على التوالي (a و b و c).

أظهرت نتائج تحليل الارتباط بين المؤشرات البروتينية والصفات الشكلية المدروسة إلى أن صفة متوسط نصف القطر، ومساحة المجموع الجذري وحجم المجموع الجذري ارتبطت جميعها بمؤشر بروتيني واحد فقط ذو وزن جزيئي 94 كيلو دالتون، وكما أشرنا سابقاً من المرجح أن يكون بروتين الصدمة الحرارية 94 حسب نتائج (Kee *et al.*, 1986) الذي يتراكم في ظروف الجفاف، ويقوم بإعادة تنشيط البروتينات التالفة في الخلية من خلال إصلاح النفاها. على عكس صفة الطول الأعظمي التي ارتبطت بأكبر عدد

من المؤشرات البروتينية 8 مؤشرات ذات وزن جزيئي 70-65-52-41-37-36-24-20 كيلو دالتون، وكذلك صفة الوزن الجاف للجذور ارتبطت بالمؤشرات ذات الوزن الجزيئي التالية: 94-70-65-49-46-41-36-35 كيلو دالتون، أما صفتي الوزن الرطب للجذور وطول السوقية فارتبطت بمؤشرين بروتينيين فقط (35-20 كيلو دالتون) و(94-20 كيلو دالتون) على التوالي، وهذه البروتينات على الغالب أنها بروتينات الديهيدرين وانزيم البروتياز وانزيم الببسين التي تقوم بحماية الخلية وتقلل من أضرار الجفاف

الجدول (14) يبين الارتباط الوراثي باستخدام النموذج الخطي العام (GLM) بين المؤشرات البروتينية والصفات المدروسة

الصفة	المؤشر	قيمة F	الاحتمالية p	R2	الصفة	المؤشر	قيمة F	الاحتمالية p	R2
الوزن الجاف للسوقية	94	0.0563	0.8241	0.0023	الوزن الجاف للجذور	94	0.01881	0.89755	0.00217
	58	0.21053	0.67018	0.00829		70	0.39859	0.5621	0.04207
	52	0.17076	0.70063	0.00679		65	0.06576	0.81027	0.00751
	49	0.14352	0.72405	0.00574		49	0.0768	0.79542	0.00874
	46	0.14352	0.72405	0.00574		46	0.0768	0.79542	0.00874
	37	0.17076	0.70063	0.00679		41	0.06576	0.81027	0.00751
	24	0.17076	0.70063	0.00679		36	0.06576	0.81027	0.00751
	52	0.01936	0.89606	0.00108		35	0.07826	0.79354	0.00891
الوزن الطازج للسوقية	49	0.43249	0.54669	0.02183	الطول الأعظمي للجذر	70	0.03984	0.85153	0.00842
	46	0.43249	0.54669	0.02183		65	0.00354	0.95544	7.54E-04
	37	0.01936	0.89606	0.00108		52	0.48949	0.5227	0.09312
	35	0.25452	0.64044	0.01338		41	0.00354	0.95544	7.54E-04
	24	0.01936	0.89606	0.00108		37	0.48949	0.5227	0.09312
	94	0.00725	0.93623	0.00125		36	0.00354	0.95544	7.54E-04
	58	0.00353	0.95546	6.08E-04		24	0.48949	0.5227	0.09312
	49	0.50166	0.51786	0.07687		20	0.01401	0.91149	0.00298
مساحة المجموع الجذري	46	0.50166	0.51786	0.07687	طول الجذور	94	0.56351	0.4946	0.04855
	20	0.16907	0.70202	0.02797		58	0.14282	0.72469	0.01355
	13	0.0403	0.85069	0.00688		49	0.25598	0.63951	0.02365
	6.5	0.0403	0.85069	0.00688		46	0.25598	0.63951	0.02365
	94	0.08159	0.78934	0.01652		35	0.31601	0.60402	0.02879
	94	0.02041	0.8933	0.00411		20	0.03804	0.85487	0.0037
	94	0.00802	0.93294	0.00182		13	0.10617	0.76088	0.01017
	35	0.23025	0.6564	0.04945		6.5	0.10617	0.76088	0.01017
الوزن الطازج للجذور	20	0.24575	0.64609	0.05258	94	0.34698	0.58748	0.0273	

0.00507	0.81821	0.06023	20	طول السويقة	0.02351	0.71903	0.14913	94	متوسط نصف القطر
---------	---------	---------	----	----------------	---------	---------	---------	----	--------------------

كما بين تحليل الارتباط وجود ارتباط معنوي بين صفة الوزن الجاف للسويقة والمؤشرات ذات الوزن 52- 49- 46- 37- 24 كيلو دالتون، ولوحظ أيضاً عدد من المؤشرات البروتينية مرتبطة بصفة طول الجذور وهي 94- 58- 49- 46- 20- 13- 6.5 كيلو دالتون، وهناك مؤشرات ارتبطت بصفة الوزن الرطب للسويقة وهي 52- 49- 46- 37- 35- 24 كيلو دالتون (جدول 14).

الاستنتاجات:

1. تعد طريقة SDS-PAGE طريقة سريعة ودقيقة لتقييم تحمل طرز مختلفة من القمح تجاه الجفاف.
2. سبب الاجهاد المائي حث أو تثبيط تركيب بعض البروتينات أو البولي ببتيدات في البذور أو تباين في مستوى كثافة الحزمة البروتينية.
3. التغير الأكثر لفتاً للانتباه نتيجة التعرض للاجهاد المائي هو تركيب بروتينات جديدة كالدهيدرينات وبروتينات الصدمة الحرارية والبروتياز (بسين وسيرين).
4. البروتينات التي تزايدت أو تناقصت كميّاً ربما تلعب دوراً في الآليات المتنوعة للتحمل.
5. توافقت نتائج الدراسة الشكلية والدراسة البيوكيميائية إذ كان أفضل الطرز استجابة للجفاف من الناحية الشكلية الطراز المبشر 22 ومن الناحية البيوكيميائية فقد امتلك العدد الأكبر والكثافة الأعلى للحزم ، أما بالنسبة للصنف شام 5 فقد كان في الترتيب الثاني من حيث الاستجابة الشكلية للجفاف وأيضاً أخذ ثاني ترتيب من ناحية عدد الحزم خلال الاجهاد فقد كان أقل بحزمة واحدة من الطراز 22 في المعاملة 5%، في حين كان الأسوأ استجابة للجفاف من الناحية الشكلية الطراز 14 وقد توافق ذلك مع نتائج الدراسة البيوكيميائية إذ لم تحدث أي تغييرات على الأليلات (الحزم) بزيادة أو حذف حزمة وإنما كانت التغيرات فقط في كثافة الحزمة.
6. ارتباط عدد من المؤشرات البروتينية (94- 49- 46- 35- 20) بأكثر من صفة شكلية.
7. يقوم الصنف المتحمل للجفاف في حال التعرض للاجهاد بزيادة نصف قطر الجذر ومساحة وحجم المجموع الجذري كمحاولة للتكيف مع الجفاف، وذلك عن طريق تحريض المورثة المفردة لبروتين الصدمة الحرارية ذو الوزن الجزيئي 94 كيلو دالتون.
8. يمكن اعتبار البروتينات كالدهيدرينات وبروتينات الصدمة الحرارية والبروتياز (بسين وسيرين) كمؤشرات مفيدة تستخدم لكشف وانتخاب الطرز الوراثية المحتملة للجفاف في مراحل مبكرة.

التوصيات:

1. العمل على اختبار أصناف متباينة وراثياً تحت ظروف الاجهاد المائي وتراكيز أكثر تأثيراً من التراكيز المختبرة في هذه الدراسة.
2. التركيز على البروتينات النوعية كالدهيدرينات وبروتينات الصدمة الحرارية والبروتياز (بسين وسيرين)، والبروتينات الكمية التي تُفرز بفعل الظروف البيئية المختلفة (جفاف، وحرارة، وملوحة.....) من خلال استخدام تقنيات أخرى أكثر تخصصية كال western blot.
1. اختبار هذه الأصناف في الحقل لتأكيد النتائج المخبرية.

- Abdelouahab, N., B. Nabila, S. Roza, B. Slimane, D. Etienne, A. Pascal and B. Mouloud (2015). Molecular Weight Determination Of A Protease Extracted From *Mucor Pusillus*: Comparison Methods. Food And Nutrition Sciences, 6: 348-354
- Arumingtyas, E., E. Savitri and R. Purwoningrahayu (2013). protein profile and dyhedrine accumulation in some soybean varieties (glycine max L.Merr) in drought stress conditions. American Journal of Plant Science, 4: 134-141
- Beck, E.G, S. Fettig, C. Knake, K. Gartig and T. Bhatta- rai (2007). Specific and Unspecific Responses of Plant to Cold and Drought Stress. Journal of Bioscience, 32 (3): 501-510.
- Berber, İ and F. Yaşar (2011). Characterization of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars grown in turkey by SDS-page of seed proteins. Pak J Bot, 43(2):1085-1090
- Blackman, S.A, R.L Obendorf and A.C Leopold (1995). Desiccation Tolerance in Developing Soybean Seeds: The Role of Stress Proteins, *Physiologia Plantarum*, 93 (4): 630-638.
- Buckler, E., P. Bradbury, D. Kroon, Y. Ramdoss, A.J Fink and Z. Zhang (2004). Trait Analysis by Association; Evolution and Linkage (TASSEL). (<http://www.maizegenetics.net/bioinformatics/tasselindex.htm>)
- Carpita, N., D. Sabulase, D. Mofezinos and D. Delmer (1979). Determination of the pore size of cell walls of living plant cells. *Science*, 205: 1144-1147.
- Cattivelli, L., F. Rizza, F.W Badeck, E. Mazzucotelli, A.M Mastrangelo, E. Francia, C. Mare, A. Tondelli and A.M Stanca (2008). Drought tolerance improvement in crop plants: An integrated view from breeding to genomics. *Field Crop Res*, 105: 1-4.
- Chaves, M.M and M.M Oliveira (2004). Mechanisms underlying plant resilience to water deficits: prospects for water-saving agriculture. *J. Exp. Bot.*, 55(407): 2365-2384.
- Close, T. J. (1997). Dehydrins: A Commonalty in the Response of Plants to Dehydration and Low Temperature. *Physiologia Plantarum*, 97 (4): 795-803.
- Close, T.J and P.M. Chandler (1990). Cereal Dehydrins: Serology, Gene Mapping and Potential Functional Roles. *Australian Journal of Plant Physiology*, 17(30): 333-344.
- Demirevska, K., L. Simova-Stoilova, V. Vassileva, I. Vaseva, B. Grigorova and U. Feller (2008). Drought Induced Leaf Protein Alterations in Sensitive and Tolerant Wheat Varieties. *General and Applied Plant Physiology Special Issue*, 34(1-2): 79-102.
- FAO. 2017- Annual Agriculture Statistical Food and Agriculture Organization of United Nations FAO, Roma. Italy. (<Http://apps: fao.org/cgi-bin/nphdb.pl=agriculture>).
- Hong, B., R. Barg and D.H. Ho (2005). Development and Organ-Specific Expression of an ABA- and Stress-Induced Protein in Barley. *Plant Molecular Biology*, 18(4): 663-674.
- Kee, S.C and P.S. Nobel (1986). Concomitant Changes in High Temperature Tolerance And Heat-Shock Proteins In Desert Succulents. *plant physiology*, 80: 596-596.
- Kottapalli K.R, R. Rakwal, J. Shibato, G. Burow, D. Tissue, J. Burke, N. Puppala, M. Burow and A. Payton (2009). Physiology and proteomics of the water-deficit stress response in three contrasting peanut genotypes. *Plant Cell Environ*, 32: 380- 407
- Laemmli, U.K. (1970). Cleavage of structure proteins assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 22: 680-685.
- Lagerwerff, J.V., G. Ogata and H.E Eagle (1961). Control of osmotic pressure of culture solutions with polyethylene glycol. *Science*, 133: 1486- 1487.

- Li, Q., J. Huang, S.H. Liu, J. Li, X. Yang, Y. Liu and Z.H Liu (2011). Proteomic analysis of young leaves at three developmental stages in an albino tea cultivar. *Proteome Science*, 9: 44-50.
- Lobet, G., L. Pagès and X. Draye (2011). A novel image-analysis toolbox enabling quantitative analysis of root system architecture. *plant physiology*, 157(1): 29-39.
- Lopez, G., M. Banowetz, C. Perterson and E. Kronstad (2003). Dehydrin expression and drought tolerance in seven wheat cultivar. *Crop science*, 43: 577–582.
- Lu, Z and P. Neumann (1998). Water-stress maize, barley and rice seedlings show species diversity in mechanisms of leaf growth inhibition. *J. Exp. Bot*, 49: 1945-1952
- Moradpour K., A. Najaphy, S. Mansoorifar and A. Mostafaie (2014). Evaluation of leaf protein pattern in wheat genotypes under drought stress. *International journal of Advanced Biological and Biomedical Research*, 2(3):840-846
- Moradpour, K., A. Najaphy, S. Mansoorifar and A. Mostafaie (2014). Evaluation of leaf protein pattern in wheat genotypes under drought stress. *International journal of Advanced Biological and Biomedical Research*, 2(3): 840-846.
- Najaphy, A., K. Moradpour, C. Mansourifar and A. Mostafaie (2014). Terminal drought induced changes in leaf protein pattern of wheat. *International journal of plant, animal and Environmental sciences*, 4(2): 23-26.
- Pan, X.Y, Y.F Wang, G.X Wang, Q.D Cao and J. Wang (2002). Relationship between growth redundancy and size inequality in spring wheat populations mulched with clear plastic film. *Acta Phytoecol. Sinica*, 26: 177-184.
- Sadiq, M., R. Asghar, R. Qureshi and A. Ali (2013). Study of polypeptides induced by drought stress in some local varieties of barley from Pakistan. *Pakistan Journal of Botany*, 45(4): 1251-1254.
- Shinozaki, K and K. Yamaguchi-Shinozaki (2007). Gene Networks Involved in Drought Stress Response and Tolerance. *Journal of Experimental Botany*, 58 (2): 221-227.
- Su, J and R. Wu, (2004). Stress-inducible synthesis of proline in transgenic rice confers faster growth under stress conditions than that with constitutive synthesis. *Plant Sci*, 166: 941-948
- Veslues, P., E. Ober and R. Sharp (1998). Root growth and oxygen relations at low water potentials. Impact of oxygen availability in polyethylene glycol solutions. *Plant Physiol*, 116: 1403-1412
- Waqar A., S.H, Khattak, S. Begum, T. Rehman Rabia, A. Shehzad, W. Ajmal, S.S Zia, I. Siddiqi and G.M Ali (2018). Stripe rust: A review of the disease, *Yr* genes and its molecular markers. *Sarhad Journal of Agriculture*, 34(1), 188-201.
- Wood, A.J. (2007). The nature and distribution of vegetative desiccation-tolerance in hornworts, liverworts and mosses. *The Biologist*, 110:163-177.
- Zhu, J.K, P.M Hasegawa and R.A Bressan (1997). Molecular aspects of osmotic stress in plants. *Critical Rev. In Plant Sci*, 16: 253-277.

Evaluation of Tolerability of Some Promising Lines of Durum Wheat to Drought Stress Using Some Morphological and Biochemical Markers

Naim. Al-Husien* ⁽¹⁾ and Reham Abo -Alkanj ⁽¹⁾

(1).Aleppo Centre of Scientific Agricultural Researches, GCSAR, Aleppo, Syria.
(*Corresponding author: Naim Al-Husien. E-Mail: naiem64@hotmail.com).

Abstract

Drought is one of the most important abiotic stresses that threaten wheat cultivation in the world and the Arab region. Therefore, the aim of this research was to evaluate the response of some promising lines to the drought using some morphological and biochemical markers. The research was carried out in the Laboratory of Biotechnologies of the General Commission for Scientific Agricultural Research / Aleppo Research Center in 2019. The reaction of eight promising durum wheat genotypes to drought stress using polyethyleneglycol at 5% concentration and compared with distilled water in controlled conditions according to cultivation system on surface the agar, based on morphological markers, protein was extracted from wheat seeds and protein samples were separated on the polyacrylamide gel by SDS-PAGE system. The experiment was carried out using RCBD design with three replications under lab conditions. The data were analyzed and the means were compared using LSD at 5% using Genstat V12.0. The TASSEL software was used to perform a genetic correlation using the general linear model (GLM) between molecular markers and studied traits. The morphological and biochemical results showed that genotype 22 is the best genotype, having the largest number and highest density of the bands, followed by Sham 5, which was lower by one band than genotype 22 in the treatment 5%, Whereas the worst response to drought was morphologically, genotype 14, and this corresponded with the results of the biochemical study where there were no changes to the alleles (bands) increase or delete a band, but were only in the density of the band. The results of the correlation analysis showed that there are a number of protein markers associated with more than one trait. Drought tolerant genotypes under stress were found to increase the diameter of the root and the surface and volume of the root in an attempt to adapt to stress. Detection of the presence of proteins such as dehydrins, heat shock proteins and drought- induced proteins can be useful markers for the early selection of drought-tolerant genotypes and their introduction in breeding programs.

Key words: Wheat cultivars; Drought Stress; SDS-PAGE; chaperones, dhn; PEG6000; TASSEL