**الجمهورية العربية السورية**

**وزارة التعليم العالي**

**جامعة البعث**

**كلية الهندسة الزراعية**

**قسم المحاصيل الحقلية**

**أثر الإجهاد الجفافي في بعض طرز القمح باستخدام المؤشرات البيوكيميائية والجزيئية**

**The Effect Of Drought Stress On Some Wheat Genotypes Using Biochemical And Molecular Indicators**

**دراسة أعدت لنيل درجة الماجستير في الهندسة الزراعية**

**قسم المحاصيل الحقلية**

**إعداد**

**م. أمينه طنبري**

**بإشراف**

**د. لينا النداف (مشرفاً) د. سلام لاوند (مشرفاً مشاركاً)**

تقنيات حيوية وبيولوجيا جزيئية بيولوجيا جزيئية نباتية

أستاذ مساعد في قسم المحاصيل الحقلية أستاذ مساعد في قسم المحاصيل الحقلية

جامعة البعث جامعة دمشق

**2022 م / 1444هـ**

**تصريح**

قدم هذا البحث لنيل درجة الماجستير في علوم المحاصيل الحقلية في كلية الهندسة الزراعية بجامعة البعث تحت عنوان أثر الإجهاد الجفافي في بعض طرز القمح باستخدام المؤشرات البيوكيميائية والجزيئية.

إن هذا البحث لم يسبق أن قبل لأي شهادة ولا هو مقدم حالياً للحصول على شهادة أخرى.

**المرشحة**

**م. أمينه رياض طنبري**

**DECLARATION**

This work has been submitted for the degree Master in the field crops department, faculty of agriculture engineering, university of Albaath. Under the following name: The Effect Of Drought Stress On Some Wheat Genotypes Using Biochemical And Molecular Indicators.

It is thereby declared that this work has not been accepted for any degree, and it has not been submitted for any other degree.

**Canadidate**

**Amina Read Tonbary**

**شهادة**

نشهد بأن هذا العمل الموصوف في هذه الرسالة هو محصلة جهد شخصي قامت به المرشحة أمينه رياض طنبري تحت إشراف الدكتورة لينا النداف من قسم المحاصيل الحقلية في كلية الهندسة الزراعية بجامعة البعث والدكنورة سلام لاوند من قسم المحاصيل الحقلية في جامعة دمشق, وإن أية معلومات أو طرائق أو نتائج أخرى ذكرت في الرسالة قد نسبت إلى مصادرها ومؤلفيها بوضوح في النص وفي قائمة المراجع.

**المشرفون**

**الدكتورة لينا النداف الدكتورة سلام لاوند**

**CERTIFICATION**

It is thereby certified that the work describes in this thesis is the result of the author owns Amina Read Tonbary investigation under supervision of Dr. Lina Al-Naddaf, department of field crops, faculty of agriculture engineering, Al Baath university and Dr. Slam Lauand, department of field crops, faculty of agriculture engineering, Damascus university, and references to other research work has been duly acknowledge in this text.

**Supervisors**

**Dr. Lina Al-Naddaf Dr. Slam Lauand**

**الفهرس**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  |  | **الصفحة** |
|  | الفهرس | I |
|  | قائمة الجداول | IV |
|  | قائمة الأشكال | IIV |
|  | الملخص باللغة العربية | IIIV |
|  | المقدمة |  |
|  | الفصل الأول |  |
|  | الدراسة المرجعية |  |
| 1 | تعريف الإجهاد الجفافي Drought stress |  |
| 2 | المؤشرات البيوكيميائية Biochemical Indicators |  |
| .1.2 | البرولين Proline |  |
| .2.2 | الكلوروفيل Chlorophyll |  |
| .3.2 | السكريات الذائبة Soluble Sugars |  |
| .4.2 | المالون داي ألدهيد Malondiaaldehyd (MDA) |  |
| .5.2 | المحتوى المائي النسبي relative water content (RWC) |  |
| 3 | المؤشرات الجزيئية Molecular markers |  |
| .1.3 | دراسة القرابة الوراثية باستخدام تقنية الـ Inter Simple Sequence Repeats (ISSR) : |  |
| .2.3 | مورثة الديهدرين Dyhedrine |  |
|  | الفصل الثاني |  |
| 1 | أهمية البحث research importance |  |
| 2 | أهداف البحث Research Objectives |  |
| 3 | مواد البحث وطرائقه Materials and Methods |  |
| .1.3 | المادة النباتية Plant material |  |
| .2.3 | مكان تنفيذ البحث Site of Experiments |  |
| .3.3 | طريقة الزراعة Planting method |  |
| .4.3 | العوامل المدروسة Studied Factors |  |
| .5.3 | القراءات المدروسة Studied Readings |  |
| .1.5.3 | التحاليل البيوكيميائية |  |
| .1.1.5.3 | الحمض الأميني البرولين (ميكروغرام/غ وزن رطب) |  |
| .2.1.5.3 | تركيز الكلوروفيل في أوراق البادرات (ملغ/ غ وزن طري) |  |
| .3.1.5.3 | السكريات الذوابة (ميكروغرام/ غ وزن رطب) |  |
| .4.1.5.3 | محتوى السويقة والجذير من المالون داي ألدهيد (MDA) (ميكرومول/ غ) |  |
| .5.1.5.3 | المحتوى المائي النسبي للسويقة والجذير (RWC) % |  |
| .2.5.3 | المؤشرات الجزيئية |  |
| .1.2.5.3 | دراسة القرابة الوراثية باستخدام تقنية الـ Inter Simple Sequence Repeats (ISSR) : |  |
| .2.2.5.3 | تحديد المورثات المسؤولة عن الجفاف في القمح |  |
| .6.3 | التحليل الإحصائي |  |
|  | الفصل الثالث |  |
|  | النتائج والمناقشة |  |
| 1 | المؤشرات البيوكيمائية |  |
| .1.1 | تأثير تركيز ومدة الإجهاد الجفافي في محتوى البرولين في أصناف القمح المدروسة (ميكروغرام/ غ ) |  |
| .2.1 | تأثير تركيز ومدة الإجهاد الجفافي في محتوى الكلوروفيل في أصناف القمح المدروسة (ملغ/ غ) |  |
| .3.1 | تأثير تراكيز الإجهاد الجفافي في محتوى السكريات الذوابة في أصناف القمح المدروسة (ميكروغرام /غ) |  |
| .4.1 | تأثير تراكيز الإجهاد الجفافي في محتوى المالون داي ألدهيد في أوراق أصناف القمح المدروسة (ميكرو مول / غرام) |  |
| .5.1 | تأثير تراكيز الإجهاد الجفافي في محتوى المالون داي ألدهيد في جذور أصناف القمح المدروسة (ميكرو مول / غرام) |  |
| .6.1 | تأثير تراكيز الإجهاد الجفافي في المحتوى المائي النسبي في أوراق أصناف القمح المدروسة (%) |  |
| .7.1 | تأثير تراكيز الإجهاد الجفافي في المحتوى المائي النسبي في جذور أصناف القمح المدروسة (%) |  |
| 2 | المؤشرات الجزيئية: |  |
| .1.2 | دراسة القرابة الوراثية باستخدام تقنية التكرارات الترادفية البسيطة الداخلية ISSR |  |
| .1.1.2 | اختبار جودة الــ DNA المستخلص على هلامة الأغاروز بواسطة الرحلان الكهربائي |  |
| .2.1.2 | تقدير تركيز الــــ DNA باستخدام المطياف الضوئي Spectrophotometer |  |
| .3.1.2 | التعددية الشكلية الناتجة عن تطبيق تقنية ISSR في طرز القمح البري والطري |  |
| .4.1.2 | تحديد درجة القرابة الوراثية بين الطرز المدروسة باستخدام مصفوفة النسب المئوية لعدم التوافق PDV و شجرة القرابة الوراثية |  |
| .2.2 | تقييم التباين على مستوى تعبير مورثات الديهيدرين المحرضة تحت ظروف الإجهاد الجفافي |  |
| .1.2.2 | تقدير تركيز الـ RNA باستخدام مقياس الطيف الضوئي Spectrophotometer |  |
| .2.2.2 | اختبار جودة الـ RNA المستخلص على هلامة الأغاروز 2% بواسطة الرحلان الكهربائي |  |
| .3.2.2 | دراسة التباينات الأليلية لمورثات الديهيدرين المسؤولة عن تحمل الجفاف في الطرز الوراثية المدروسة |  |
|  | الفصل الرابع |  |
| 1 | الاستنتاجات والتوصيات |  |
| .1.1 | الاستنتاجات Conclusions |  |
| .2.1 | التوصيات Recommendations |  |
| 2 | المراجع العلمية |  |
|  | الملخص باللغة الإنكليزية |  |

**قائمة الجداول**



**قائمة الأشكال**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  |  | الصفحة |
| 1 | متوسط محتوى البرولين في الطرز المدروسة (ميكروغرام/غ) |  |
| 2 | متوسط محتوى الكلوروفيل في الطرز المدروسة (مغ/غ) |  |
| 3 | متوسط محتوى السكريات الذائبة في الطرز المدروسة (ميكروغرام/غ) |  |
| 4 | متوسط محتوى المالون داي ألدهيد للأوراق في الطرز المدروسة (ميكرومول/غ) |  |
| 5 | متوسط محتوى المالون داي ألدهيد للجذور في الطرز المدروسة (ميكرومول/غ) |  |
| 6 | متوسط المحتوى المائي النسبي للأوراق في الطرز المدروسة (%) |  |
| 7 | متوسط المحتوى المائي النسبي للجذور في الطرز المدروسة (%) |  |
| 8 | اختبار نوعية الـ DNA المستخلص من الطرز الوراثية المدروسة بعد تمريرها على هلامة الأغاروز 1% وتلوينها بالايثيديوم برومايد |  |
| 9 | صورة هلامة الآجاروز %2تبين التعددية الشكلية الناتجة عن استخدام البادئة (ISSR-….)في الطرز المدروسة من القمح القاسي والطري |  |
| 10 | صورة هلامة الآجاروز2 % تبين الحزم الفريدة الناتجة عن استخدام البادئة (....ISSR-) في طرز القمح القاسي والطري المدروسة |  |
| 11 | شجرة القرابة الوراثية لطرز القمح القاسي المدروسة |  |
| 12 | شجرة القرابة الوراثية لطرز القمح الطري المدروسة |  |
| 13 | الرحلان الكهربائي لعينات الـ RNA المستخلص من الطرز الوراثية المدروسة على هلامة الأغاروز 2% بعد تلوينها بالإيتيديوم برومايد |  |
| 14 | نتائج تضخيم DNAc عند الطرز الوراثية المدروسة على هلامة الأغاروز 2% |  |

**الملخص:**

أجريت هذه الدراسة في كلية الزراعة بجامعة البعث, خلال الموسم الزراعي 2020/2021 بهدف:

* **الدراسة البيوكيميائية:**

تقييم أداء ستة طرز وراثية معتمدة من القمح القاسي (حوراني, أكساد65, شام3) والطري (جولان2, بحوث10, شام10) للإجهاد الجفافي المطبق في مرحلة البادرة بواسطة تركيزين من البولي إيتيلين غليكول PEG-6000, (-6,-12 بار) بالإضافة إلى معاملة الشاهد, حيث قدر محتوى البرولين, الكلوروفيل, السكريات, المالون داي ألدهيد (MDA), المحتوى المائي النسبي (RWC) بعد (24, 48, 72 ساعة) من التعرض للإجهاد الجفافي. وضعت التجربة وفق تصميم القطاعات العشوائية الكاملة, في ثلاثة مكررات.

أشارت نتائج التحليل الإحصائي للتجربة إلى وجود تباين وراثي واضح في استجابة الطرز المدروسة للإجهاد الجفافي, حيث لوحظ ارتفاع محتوى كل من البرولين, الكلوروفيل, السكريات الذائبة, MDA للأوراق والجذور, وRWC للجذور مع زيادة شدة ومدة الإجهاد الجفافي, في حين انخفض RWC للأوراق مع زيادة شدة ومدة الإجهاد الجفافي, وسجل الصنف شام3 أعلى متوسط للبرولين ( 14.485 ميكرو غرام/ غ) بنسبة زيادة 62% عند التركيز -12بار بالمقارنة مع معاملة الشاهد, ونسبة زيادة 36% بعد مدة 72 ساعة من التعرض للإجهاد بالمقارنة مع مدة 24 ساعة , في حين سجل الصنف شام 10 أعلى متوسط للكلوروفيل( 49.211 ملغ/غ) بنسبة زيادة 65% عند التركيز -12بار بالمقارنة مع معاملة الشاهد, ونسبة زيادة 12% بعد مدة 72 ساعة من التعرض للإجهاد بالمقارنة مع مدة 24 ساعة, وسجل الصنف جولان2 أعلى متوسط للسكريات ( 87.810 ميكرو غرام/ غ) بنسبة زيادة 26% عند التركيز -12بار بالمقارنة مع معاملة الشاهد, ونسبة زيادة 2% بعد مدة 72 ساعة من التعرض للإجهاد بالمقارنة مع مدة 24 ساعة, وكان أعلى متوسط ل MDA في الأوراق عند الصنف حوراني (10.051 ميكرومول/ غ) بنسبة زيادة 50% عند التركيز -12بار بالمقارنة مع معاملة الشاهد, ونسبة زيادة 42% بعد مدة 72 ساعة من التعرض للإجهاد بالمقارنة مع مدة 24 ساعة, أما في الجذور فكان أعلى متوسط ل MDA عند الصنف شام3 (2.998 ميكرومول/غ) بنسبة زيادة 69% عند التركيز -12بار بالمقارنة مع معاملة الشاهد, ونسبة زيادة 154% بعد مدة 72 ساعة من التعرض للإجهاد بالمقارنة مع مدة 24 ساعة, أما بالنسبة ل RWC في الأوراق فقد وسجل الصنف بحوث10 أعلى متوسط ل RWC (55.675%), بنسبة انخفاض 68% عند التركيز -12بار بالمقارنة مع معاملة الشاهد, ونسبة انخفاض 35% بعد مدة 72 ساعة من التعرض للإجهاد بالمقارنة مع مدة 24 ساعة. وفي الجذور فقد وسجل الصنف شام10 أعلى متوسط ل RWC (78.403%), بنسبة زيادة 79% عند التركيز -12بار بالمقارنة مع معاملة الشاهد, ونسبة زيادة 122% بعد مدة 72 ساعة من التعرض للإجهاد بالمقارنة مع مدة 24 ساعة.

* **الدراسة الجزيئية:**

تقييم أداء عشرة طرز وراثية معتمدة من القمح القاسي (حوراني, أكساد65, شام3, شام5, بحوث9 ) والطري (دوما2, دوما6, جولان2, بحوث10, شام10), معرضة لنفس ظروف الإجهاد الجفافي السابقة.

1. **دراسة درجة القرابة الوراثية باستخدام تقنية التكرارات الترادفية البسيطة الداخلية Inter Simple Sequence Repeats (ISSR):**

تم تحديد درجة القرابة الوراثية بين طرز القمح المدروسة وذلك باستخدام تقنية ISSR, حيث استخدم لهذا الغرض 32 بادئة، أثبتت 17 بادئة منها فعاليتها في إعطاء تعددية شكلية (Polymorphic) بين الطرز الوراثية المدروسة، ونجم عن استخدام هذه البادئات ما مجموعه 122 حزمة، وتراوح عدد الحزم لكل بادئة من 3 حزم كأقل عدد مع البادئتين (ISSR-40، ISSR-36)، و14 حزمة كأعلى عدد مع البادئة (ISSR-18)، بمتوسط 7.2 حزمة لكل بادئة. وبلغت النسبة المئوية للتعددية الشكلية (93.4 %)، وقد تبين أنّ أقل قيمة لمصفوفة عدم التوافق(PDV) بين طرز القمح القاسي هي (0.3272) بين الطرازين شام 3 وشام 5، ما يدلُ على أنّهما على درجة كبيرة من القرابة الوراثية، بينما كانت أعلى قيمة لمصفوفة عدم التوافق PDV نحو (0.6042) بين الطرازين بحوث9 وحوراني, أما في القمح الطري فقد تبين أن أقل قيمة للمصفوفة هي (0.2647) بين الطرازين دوما2 و دوما6 , وأعلى قيمة (0.7655) بين الطرازين شام 10 و دوما6 . ما يدل على وجود تباين وراثي كبير بينهما. وكان متوسط معامل التعددية الشكلية (PIC) قرابة 0.2833 ، حيث أثبتت البادئات المستخدمة قدرتها على التمييز بين الطرز الوراثية المدروسة.

1. **دراسة التباينات الأليلية لمورثات الديهدرين Dehydrin:**

وفي دراسة التباينات الأليلية لمورثات الديهيدرين المسؤولة عن بعض الصفات المرتبطة بتحسين تحمل الجفاف على مستوى الحمض النووي DNA، أظهرت الدراسة اختلافاً واضحاً في هذه المورثات بين الطرز المدروسة، حيث كانت التباينات الشكلية في الوزن الجزيئي بين نظائر الموقع الواحد كبيرة أحياناً، وكانت على درجة عالية من التماثل في البعض الآخر، وأمكن تمييزها بسهولة على هلامة ميتافور أغاروز 4%. حيث أظهر تفاعل الــPCR تفوق المورثة *Dhn6* بعدد الأنماط الشكلية التي أعطتها والبالغة 13 نمطاً شكلياً مع كافة الطرز المدروسة، تلتها المورثة *Dhn9* بـ 10 نمطاً شكلياً، في حين أعطت المورثة *Dhn12*  أقل عدد من الأنماط الشكلية، (4 أنماط شكلية) مع الطرز الوراثية المدروسة. كما أظهرت النتائج تفوق طرز القمح القاسي بعدد الأنماط الوراثية التي أعطتها والبالغة 29 نمطاً وراثياً مقارنة بالطرز الطرية 17 نمطاً وراثياً, وتفوق طراز القمح القاسي أكساد65 بعدد الأنماط الوراثية التي أعطاها والبالغة 8 نمطاً وراثياً، تلاه الطراز القاسي حوراني 7 نمطاً وراثياً، في حين أعطى الطراز الوراثي جولان2 أقل عدد من الأنماط الشكلية (2 نمطاً شكلياً).

**كلمات مفتاحية:** جفاف **,**قمح, بادرة, بولي إيتيلين غليكول, برولين, كلوروفيل, سكريات, مالون داي ألدهيد, محتوى مائي نسبي, ISSR, تنوع وراثي, ديهدرين.

**المقدمة (Introduction):**

تُعدُّ محاصيل الحبوب الأهمّ زراعياً على مستوى العالم، حيث تُؤمن 70% من غذاء سكان العالم، ويشكَّل محصولا القمح Wheat والأرز Rice ما يعادل 50 % من الإنتاج العالمي (Lookhart and Bean, 2000)، يتبع القمح Wheat الجنس *Triticum* من العائلة النجيلية (*Gramineace*) (Kent and Evers, 1994), ويعد من أقدم الأنواع المحصولية التي زرعت منذ ما يزيد عن 8000 سنة، وذلك في مناطق مختلفة من العالم في أوروبا وغربي آسيا وشمالي أفريقيا (Dixon *et al*., 2009). ويعد مصدراً هاماً للطاقة والبروتين ومصدراً لدخل وعمل شريحة واسعة من المواطنين (Ahmad *et al*., 2020).

يحتل القمح من حيث الإنتاج العالمي المرتبة الثانية في قائمة محاصيل الحبوب بعد محصول الذرة الصفراء Corn (*Zea mays L*) ، حيث أنتج 773 مليون طناً من القمح للموسم الزراعي2020 -2021، ويشكل إنتاج الصين، الهند، روسيا, والولايات المتحدة أكثر من ربع الإنتاج العالمي. (International Grain Council, 2021), وينتج أكثر من 90% منه في نصف الكرة الشمالي (FAO, 2014).

بلغ إجمالي إنتاج الحبوب في المنطقة العربية حوالي (57.59) مليون طن في عام 2019م. شكل إنتاج القمح منها ما يعادل 49.43%, أي حوالي (28.47) مليون طن, والإنتاجية (2.71) طن للهكتار, كما يأتي بالمرتبة الأولى من حيث المساحة المزروعة, حيث شكلت مساحته نحو (33.70%) من إجمالي المساحة المزروعة بالحبوب في المنطقة العربية لعام 2019م, وتتركز زراعة القمح في كل من مصر والمغرب والعراق والجزائر وسوريا وتونس, حيث ساهمت هذه الدول مجتمعة بنحو (90%) من إجمالي إنتاج المنطقة العربية من هذا المحصول. (المنظمة العربية للتنمية الزراعية 2019).

بلغت المساحة المزروعة بالقمح في القطر العربي السوري 1350538 هكتاراً، والإنتاج 2848472 طناً، والإنتاجية 2109 كغ/هكتار، احتل القمح القاسي من المساحة المزروعة ما يعادل 744123 هكتاراً، وبلغ الإنتاج 1672849 طناً، والإنتاجية 2248 كغ/هكتار، في حين بلغت المساحة المزروعة بالقمح الطري 606415 هكتاراً، والإنتاج 1175622 طناً، والإنتاجية 1939 كغ/هكتار. تتركز زراعة القمح القاسي والطري في سورية في المناطق الشرقية والشمالية الشرقية، حيث تحتل محافظة الحسكة المرتبة الأولى من حيث المساحة المزروعة، تليها محافظة حلب، ثم محافظة الرقة (المجموعة الإحصائية الزراعية 2020). هذا وقد تراجعت إنتاجية محصول القمح من سنة لأخرى بسبب العديد من العوامل, لعل أهم هذه العوامل هو قلة معدلات الهطول المطري السنوية، وعدم انتظام توزع الأمطار خلال موسم النمو (Osman *et al*., 2010) لذلك كان لابد من العمل على تحسين تحمل هذا المحصول الهام تحت ظروف الإجهاد الجفافي، إما عن طريق التوسع الأفقي من خلال زيادة المساحة المزروعة، وهذا غير ممكن بسبب تراجع مساحة الأراضي الصالحة للزراعة نتيجة لتملح الموارد المائية العذبة وندرتها، أو زيادة الإنتاج بشكل رأسي، وذلك من خلال زيادة الإنتاج في وحدة المساحة المزروعة، إلا أن تناقص الموارد المائية يتحدى هذه الفكرة أيضاً (Kang et al., 2008) ومن هنا تأتي أهمية التربية للحصول على طرز وراثية متحملة للجفاف(Mathew *et al*., 2019). فضلاً عن أهمية الاستثمار الأفضل للتنوع الوراثي المتوافر من أجل تحمل الجفاف, وإلى ضرورة فهم أعمق وأوسع للآلية الفيزيولوجية التي تستخدمها النباتات لتحمل الجفاف, وهما أمران ضروريان لضمان الحصول على غلة جيدة عند التعرض للإجهاد الجفافي (Rizza et al., 2004).

**الفصل الأول**

**الدراسة المرجعية :(Review of Literature)**

1. **تعريف الإجهاد الجفافي Drought stress:**

يعرف الإجهاد الجفافي Drought stress بأنه فترة من ندرة المياه تواجه المحصول خلال مراحل نموه وتؤدي إلى الحد من إنتاجية النبات في الطبيعة أو في النظام الزراعي (Nayer & Heidari, 2008). لأنها تؤثر سلباً على العمليات الكيميائية والحيوية والفيزيولوجية المختلفة في الخلايا النباتية. ويعتمد مدى تأثير الإجهاد الجفافي على مدة وشدة الإجهاد, ومرحلة النمو, والصنف النباتي (Dacosta and Huang 2007). كما وترتبط القدرة على امتصاص الماء في ظل العجز المائي حسب عدد من الباحثين بتطور الجهاز الجذري (Ali dib et al., 1992) فالجذور هي العضو الوحيد لتزويد النبات بالماء, لذا فالقدرة على النقل الأفقي للنسغ الناقص في مستوى الجذور يمثل أعلى درجات مقاومة الجفاف (Peterson et al., 1993).

تعتمد دراسة تأثير الجفاف في النبات على تعريض النبات إلى بيئات ذات رطوبة منخفضة نسبياً أو بتعريض جذور النباتات إلى بيئة ذات جهد مائي منخفض, ويجري ذلك من خلال التحكم في كمية مياه الري, أو عدد مرات الري, أو باستخدام بعض المركبات العضوية لخفض جهد ماء التربة (Skribanek & Tomcsányi, 2008). نادراً ما يتم استخدام إجهاد الجفاف الفعلي لأن الانتخاب الحقلي لصفة التحمل للجفاف معقد, وذلك بسبب وجود مجموعة من العوامل المتداخلة مع بعضها والتي تؤثر في صفة التحمل للجفاف ,كاختلاف موعد حدوث الجفاف من موسم لآخر إلى جانب الاختلاف الكبير في شدة الجفاف من موقع إلى آخر, وهذا يسهم في إيجاد تفاعل كبير بين البيئة والنمط الوراثي ممّا يفسر البطء في تطوير أصناف جديدة مناسبة لظروف إجهادات الجفاف (Fukai et al.,1999). ومع ذلك فمن المهم لتجربة الإجهاد الجفافي إنشاء حالة مستقرة وخاضعة للرقابة (Zhang *et al*., 2004). لذلك فقد لجأ مربو النبات, إلى استخدام بعض المركبات الكيميائية التي تحث على الجفاف ضمن ظروف المخبر, ومن هذه المركبات, البولي إيتيلين غليكول PEG6000 التي تستخدم بكثرة من أجل غربلة أصناف القمح لتحمل الإجهاد الجفافي عند المراحل المبكرة للنمو, كونها مركبات غير متشردة, ولا تدخل عبر غلاف البذرة وتبقي جهد الوسط ثابت طيلة فترة التجربة (Valifard *et al*., 2012).

يلجأ النبات في ظروف الإجهاد الجفافي, للعديد من الآليات لتحمل الإجهاد المائي, وذلك إما بالتهرب أو التأقلم (Li *et al*., 2020), فالتهرب هو وسيلة يتبعها النبات لإلغاء أو التقليل من تأثيرات الإجهاد الجفافي, خلال مراحل تطوره خاصة الأصناف الحساسة لنقص المياه, ويكون ذلك بالتبكير في الإزهار والنضج خارج فترات الإجهاد الجفافي (Yekhlef, 2001) أما التأقلم فهو قدرة النبات على النمو وإعطاء مردود في المناطق التي تعاني من نقص المياه (Turner, 1979). ولعل من أهم آليات التأقلم, التنظيم الأسموزي الذي يعد إجراء بيولوجي يحمي العضو من تأثير نقص المياه, وذلك بتخفيض الضغط المائي والإبقاء على الضغط الانتباجي (Turner, 1986) ,عن طريق تراكم العديد من المركبات في السيتوبلازم, حيث تقوم هذه المركبات بالحفاظ على انتباج الخلايا (Anjum *et al*., 2011). ومن هذه المركبات السكريات الذوابة والأحماض العضوية وبعض الشوارد كالصوديوم والبوتاسيوم وغيرها (Farooq *et al*., 2009).

1. **المؤشرات البيوكيميائية Biochemical Indicators:**

يعد اختيار الصفات الفيزيولوجية المتعلقة بتحمل الجفاف أمراً ضروريا, لما لها من أهمية في زيادة مقدرة النبات على تحمل الإجهاد الجفافي (Almeselmani *et al*., 2012), بالإضافة لكونها تزيد من كفاءة الاختيار (Ciucặ *et al*., 2010), ومن أهم هذه الصفات, صفة تراكم البرولين (Anjum *et al*., 2011).

* 1. **البرولين Proline:**

البرولين هو أحد الأحماض الأمينية الهامة في النباتات, حيث تقوم باصطناعه كرد فعل أو كنوع من التأقلم ضد الجفاف, ويتركز البرولين في جميع أجزاء النبات وبكمية مرتفعة في الأوراق (Palfi *et al*., 1973), حيث يمثل في بعض الحالات 1% من الوزن الجاف للنبات (Hsiao, 1973). وقد لوحظ تراكم البرولين لأول مرة في أنسجة نباتات الشوفان الذابلة عام 1954. (Rayapati & Stewart, 1991).

يلعب البرولين دوراً مهماً في آلية تحمل الإجهاد المائي في النباتات نظراً لقدرته على مقاومة الإجهاد التأكسدي, وتعتبر هذه الاستراتيجية الأكثر أهمية في النباتات للتغلب على آثار نقص المياه (Vendruscolo *et al*., 2007). كما أنه يخفف من سمية بعض المركبات ويتفاعل مع بقايا بعض البروتينات (Nanjo *et al*., 1999; Yang & Jorgensen, 2011)

انقسم الباحثون في تحليلهم لتراكم البرولين إلى رأيين, فمنهم من قال أن الأصناف الأكثر مقاومة للجفاف هي الأصناف التي تجمع البرولين بكميات كبيرة (Stewart, 1983; Kanffman, 1972), ومنهم من قال العكس أي أن الأصناف الأكثر مقاومة للجفاف هي الأصناف الأقل تجميعاً للبرولين (Hanson *et al*., 1979; Fukutoka & Yamada, 1981; Hanson & Hitz, 1981). وجد الباحثون (Deora *et al*., 2001), تراكماً للبرولين في أوراق القمح المعرضة لإجهاد الجفاف مقارنة بالمروية وأرجعوا ذلك إلى أن البرولين المتراكم يعتبر نوعاً من مقاومة النبات للجفاف. في حين أقرّ (Hanson *et al*., 1977)أن تجمع البرولين في نبات الشعير يحتمل أن يكون ناتج من ردة فعله للجفاف فقط وليس لمقاومة الجفاف.

يتباين محتوى البرولين المتجمع باختلاف الأجناس, والأنواع النباتية ضمن الجنس الواحد, وشدة الإجهاد (Kishore *et al*., 2005) فقد توصل (Anjum *et al*., 2011) إلى أن الإجهاد الجفافي التدريجي أدى إلى تراكم البرولين في نباتات الذرة, حيث ازداد محتوى البرولين مع تقدم إجهاد الجفاف, ووصل إلى ذروته بعد 10 أيام من الإجهاد, ثم لوحظ انخفاضه بعد 15 يوم من الإجهاد وفي بحث آخر لوحظ زيادة محتوى البرولين الحر بنسبة 23.0٪ إلى 77.0٪ في الأوراق و 13.35٪ إلى 97.6٪ في الجذور من 24 ساعة إلى 48 ساعة من الإجهاد الجفافي (Lui *et al*., 2015).

* 1. **الكلوروفيل Chlorophyll:**

من الصفات الفيزيولوجية الأخرى المتعلقة بتحمل الإجهاد الجفافي , صفة المحتوى الكلوروفيلي, حيث تقوم النباتات بتصنيع الغذاء من خلال عملية التمثيل الضوئي وتعتبر الأصبغة الخضراء الموجودة في الأوراق جهازاً ضوئيا لالتقاط الضوء (Anjum *et al*., 2011), فالكلوروفيل هو المكون الرئيسي للبلاستيدات الخضراء ومحتواه النسبي له علاقة إيجابية مع معدل التمثيل الضوئي (Nyachiro *et al*., 2001), فقد ثبت أن تعرض النباتات للجفاف يؤدي إلى تأثير كبير في محتوى الكلوروفيل نتيجة لانخفاض نمو الأوراق (Chutia & Borah, 2012).

توصلت بعض الدراسات إلى أن الإجهاد الجفافي أدى إلى انخفاض محتوى الكلوروفيل لدى النباتات, ومن هذه الدراسات دراسة تمت على عدة أصناف من عباد الشمس أدى فيها الإجهاد الجفافي إلى انخفاض كبير في محتوى الكلوروفيل (Manivannan *et al*., 2007). وهذا ما تم إثباته أيضاً في دراسة أخرى حيث أدى تعريض صنفين من الزيتون لتقليل الري إلى انخفاض محتوى الكلوروفيل (Guerfel *et al*., 2009), وكذلك أيضاً لدى عدة أصناف من القمح, وسجل أعلى محتوى منه عند الأصناف المتحملة فيما سجلت الأصناف الحساسة أقل محتوى (Ali akbari *et al*., 2016).

من جهة ثانية كان هناك دراسات أخرى توصلت إلى أن الإجهاد الجفافي أدى إلى زيادة محتوى الكلوروفيل, كالدراسة التي قام بها(Mafakheri *et al*., 2010) على نبات الحمص, وهذا ما يتفق أيضاً مع بحثٍ آخر تم في سلطنة عمان على صنف من القمح خضع فيها لأربعة أنظمة مستويات هي 100% و 80% و 60% و 40% من السعة الحقلية كان محتوى الكلوروفيل في الأوراق (32.9 ملغ/غ) في النباتات المروية بنسبة 60 % وهو أعلى بالمقارنة مع 80 % ري حيث بلغ (28.8 ملغ/غ) (Ahmed *et al*., 2016).

كما وتختلف الأصناف في استجابتها للإجهاد, ففي دراسة تمت لمراقبة التغير في محتوى الكلوروفيل الكلي لدى نبات الأرز بعد سبعة أيام من حجب الماء وسبعة أيام أخرى من إعادة الري. أظهرت بيانات الدراسة زيادة معنوية في مستويات الكلوروفيل في بعض الطرز الوراثية بينما سجل البعض الآخر انخفاضاً ملحوظاً نتيجة الجفاف (Bashier *et al*., 2018), هذا الاختلاف في بعض الأصناف يودي بالباحثين إلى التركيز على صفة الكلوروفيل في عمليات الانتخاب (Kolaksazov *et al*., 2014; sabbagh *et al*., 2014).

**3.2.** **السكريات الذائبة Soluble Sugars:**

السكريات الذائبة هي عبارة عن هيدرات الكربون الذائبة (الغلوكوز والفركتوز والسكروز), وتوصف بغير الضارة باستقلاب الخلية إذا وجدت بتراكيز عالية مثل البوتاسيوم, والصوديوم, والكلور(Kishor *et a*l.,1995; Hayashi *et al*.,1997), بل تساعد في التعديل الأسموزي للخلية ((Blum,1988.

يلعب محتوى السكريات القابلة للذوبان دوراً مهماً في استقلاب الكربوهيدرات وله علاقة وثيقة بالتمثيل الضوئي وبالإنتاج (Wilcox, 2001). لاحظ (Bensari *et al*.,1990) أن تحمل الجفاف قد يكون راجعاً للاستعمال التدريجي للمدخرات النشوية, وأشار الكثير من الباحثين إلى الدور الوقائي الذي تلعبه السكريات الذائبة على مستوى الأنظمة الغشائية بصفة عامة والأغشية الميتوكوندرية بصفة خاصة (Bamoun.,1997), بالإضافة إلى ذلك فإن السكريات الذائبة تساهم في حماية التفاعلات المؤدية إلى تركيب الأنزيمات مما يسمح للنبات بتحمل أفضل لظروف الإجهاد الجفافي (Duffus.,1989 in Bamoun.,1997). لاحظ (Ali dib *et al*.,1990) إن تغيرات محتوى القمح من السكريات الذائبة أضعف بكثير منها بالنسبة للبرولين وأن أكبر النسب تسجل إنطلاقاً من اليوم الثاني عشر من الإجهاد المائي.وكذلك النتائج التي توصل إليها (Adjab, 2002) و(Qayyum, 2011). خلال تقديره للسكريات عند خمسة أصناف من القمح الصلب تحت ظروف إجهاد الجفاف الناتج عن استخدام ال PEG فبينت أن هذه الأخيرة تبدي تراكماً ضعيفاً. وفي دراسة أخرى زاد محتوى السكريات الذائبة بنسبة 7.1٪～ 46.7٪ في الأوراق وبنسبة 121.2٪～ 189.9٪ في الجذور من 24 ساعة إلى 48 ساعة من الإجهاد الجفافي (Lui *et al.,* 2015), كما لاحظ (Sukshala, 2017) أن نسبة السكريات القابلة للذوبان قد زادت تحت ظروف الإجهاد الجفافي وكانت الزيادة في الأصناف المتحملة للجفاف أكبر منها في الأصناف الحساسة.

**4.2. المالون داي ألدهيد Malondiaaldehyd (MDA):**

يمكن للنباتات في ظروف الإجهاد غير الحيوي أن تنتج أنواع الأكسجين النشطة (ROS), (Anjum et al., 2011). والتي تهاجم بشكل مباشر دهون الغشاء وتزيد من أكسدة الدهون (Maksup et al. 2014) ، مما يسبب خلل في نظام التمثيل الغذائي في الكائنات الحية ، ولتقليل هذه الأضرار طورت النباتات مسارات مختلفة مثل زيادة المركبات المضادة للأكسدة, مثل المالون داي ألدهيد (MDA) Malondiaaldehyd (RiceEvans et al. 1997).

لتقييم آثار إجهاد الجفاف قصير المدى في نباتات القمح البري ، تم تحديد محتويات MDA في الجذور والأوراق بشكل منفصل. أشارت النتيجة إلى أن مستويات MDA لم تتغير بشكل ملحوظ في كلا الأنسجة بعد 24 ساعة من إجهاد الجفاف. ومع ذلك ، تم زيادة مستوى MDA بمقدار 47.06٪ و 23.33٪ في الجذور و الأوراق على التوالي بعد 48 ساعة من الإجهاد, مما يشير إلى أن تلف الغشاء السيتوبلاسمي كان موجودًا إلى حد معين في هذه النقطة الزمنية (Lui *et al.,* 2015) . وفي دراسة أخرى تم فيها تعريض سبع بادرات من القمح لثلاث مستويات من الإجهاد الجفافي تبين فيها زيادة محتويات MDA بشكل كبير استجابة للإجهاد الجفافي, ومن ثم عادت وانخفضت مع إعادة الري. وكذلك كانت النتائج عند تطبيق الإجهاد الجفافي على نبات الألوفيرا, حيث زاد تركيز MDA مع زيادة الإجهاد الجفافي (Sadak *et al*., 2020).

**5.2.** **المحتوى المائي النسبي relative water content (RWC)**

يعتبر المحتوى المائي النسبي relative water content (RWC) مقياساً لحالة المياه في النبات, مما يعكس النشاط الاستقلابي في الأنسجة, ويستخدم كمؤشر ذو مغزى لتحمل الجفاف. يكون المحتوى المائي النسبي للأوراق أعلى في المراحل الأولى من نمو الأوراق وينخفض مع تراكم المادة الجافة ونضوج الأوراق. يرتبط المحتوى المائي النسبي بامتصاص الجذور للماء وفقدان الماء عن طريق النتح. لوحظ انخفاض RWC في مجموعة متنوعة من النباتات تحت ظروف الإجهاد الجفافي (Nayyar and Gupta, 2006).

أكدت النتائج التي تحصل عليها (Sassi *et al.,*2012) أن محتوى الماء النسبي مؤشر جيد لتحمل الجفاف يمكن استعماله في برامج انتخاب القمح في الظروف الجافة. إذ وجد أن الأوراق تظهر انخفاضاً كبيراً في المحتوى المائي النسبي تحت ظروف الإجهاد الجفافي (Siddique et al., 2001)., وأن الأنواع الوراثية التي تحتفظ بمحتوى ماء نسبي عالي خلال الإجهاد المائي تكون أكثر مقاومة وإنتاجية, فنلاحظ **أن** انخفاض RWC في أوراق نبات القمح تحت ظروف الإجهاد المائي لم يكن ملحوظ في الأصناف المتحملة, وسجلت أعلى قيمة ل RWC في الأصناف المتحملة, فيما سجلت القيمة الدنيا عند الأصناف الحساسة**,** (Bajji *et al.,*2001)**.** يمكن أن يعزى التباين الوراثي في كفاءة الطرز الوراثية في المحافظة على محتوى الماء النسبي في خلايا الأوراق إلى القدرة على التعديل الحلولي أو التباين في درجة انغلاق المسامات استجابة للإجهاد الجفافي (Nye & Tinker, 1977).

وجد أيضًا أن RWC انخفض على المدى القصير في نباتات القمح المجهدة بالجفاف تحت ظروف المختبر. ومع ذلك ، تحت ضغط طويل الأمد ،انخفض مؤشر RWC في البداية ثم ظل ثابتًا نسبيًا بعد 28 يومًا (Khan *et al.,* 2014).

توصل (الجباوي وعباس, 2015) في تجربة قام بها على نبات الشوندر إلى أن RWC كان في الأوراق الحديثة عند الشاهد بحدود (86-83-85%), وبعد 20 يوم من الجفاف كانت (83-79-81%), أما بعد 40 يوم من الجفاف فقد كانت (76- 71-73%).

1. **المؤشرات الجزيئية (**Molecular markers)

اتسم القرن الماضي باكتشافات مميزة على مستوى علم البيولوجيا, ولا سيما البيولوجيا الجزيئية. حيث كان هناك تقدم جوهري في استخدام الطرق الجزيئية في مجال تربية النبات, في الوقت الذي كان فيه التوصيف المورفولوجي هو الطريقة الوحيدة المستخدمة منذ اعتمادهم من قبل العالم النمساوي جورج ماندل. ويعد فهم ودراسة التركيب الوراثي للنبات اللبنة الأساسية لنجاح برامج تربية النبات التي ازداد اعتمادها على طرائق جديدة أسرع وأكثر فعالية لتطوير وإنتاج أصناف محسنة, ولزيادة الغلة (ICARDA,2003). حيث زودت التطورات الأخيرة في علم الوراثة الجزيئية , مربي النباتات بأدوات قوية لتحديد واختيار المكونات المندلية الكامنة وراء كل من الصفات الزراعية البسيطة والمعقدة (Dekkers and Hospital, 2002), حيث تتميز المؤشرات الجزيئية Molecular markers بأنها أكثر دقةً وثباتاً كونها تعتمد على دراسة جزيئة الحمض الريبي النووي DNA التي تحمل المعلومات الوراثية مباشرةَ (معلّا وزملاؤه, 2009) وبالتالي يمكن استخلاص المادة الوراثسة من الـ DNA في المراحل الأولى من عمر النبات, كذلك سهولة تحديد موقع مورثة معينة مسؤولة عن صفة ما بشكل مباشر, وعدم تأثر الدراسة الجزيئية بالشكل الظاهري للنبات وبالعوامل البيئية كما في برامج التربية التقليدية (سيد, 2001), ففي محاولات للتغلب على مشكلة الجفاف, استخدم الباحثون المؤشرات الجزيئية لتحديد الأصول الوراثية ذات الصفات المتعلقة بتحمل الجفاف (Afiukwa et al., 2016).

إن استخدام المؤشرات الجزيئية لاختيار الأصول الوراثية التي تمتلك المورثات والمناطق الوراثية التي تتحكم في الصفات المستهدفة يمكن أن تسرع من تقدم التربية لمقاومة الجفاف, وذلك لأن المؤشرات الجزيئية تنتقل من جيل إلى جيل دون أن تخضع للتأثيرات البيئية (Afiukwa et al., 2016). وقد أثبتت الدراسات التي تستخدم المؤشرات الجزيئية عن نجاحها في تحديد مواقع الصفات الكمية (QTLs) Quantitative Trait Loci الكامنة وراء العديد من سمات تحمل الجفاف في كروموسومات الأرز. على سبيل المثال, أثبت Vasant(2012) أن 12 علامة SSR ترتبط ارتباطاً وثيقاً بصفات الجذر في ظل الجفاف بينما تظهر 14 علامة SSR ارتباطاً كبيراً بالمحصول ومكوناته في ظل الجفاف. كذلك يمكن استعمال المؤشرات الجزيئية بشكل فعال في تحاليل التنوع الوراثي وتقدير التشابه الوراثي(Eleuch *et al*., 2008; Powell *et al*., 1996)

ولعل من أهم المؤشرات الجزيئية التقانات المعتمدة على تفاعل البوليميراز التسلسلي Polymerase Chain Reaction (PCR). حيث يقوم تفاعل ال (PCR) بمضاعفة قطع محددة من الحمض الريبي النووي منقوص الاوكسجين ـDNA وذلك بوجود بادئات Primers عشوائية مثل تقنية التعددية الشكلية للـDNA المضخم عشوائياً Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD), أو متخصصة مثل تقنية التسلسلات البسيطة المتكررة Simple Sequence Repeats (SSR) ، مما يسمح بالحصول على ملايين النسخ المضاعفة من قطعة واحدة من ال ـDNA التي تتضاعف أسياً, وذلك باستعمال دورات حرارية متعددة تصل لــــــــــ40 دورة (سيد، 2001؛ Karp et al., 1997).

* 1. **دراسة القرابة الوراثية باستخدام تقنية الـ (Inter Simple Sequence Repeats) ISSR:**

تعتمد تقنية ISSR (Inter Simple Sequence Repeats) التكرارات الترادفية البسيطة الداخلية على تضخيم المواقع (100-3000bp) بين التوابع الدقيقة المتقاربة، والمتوضعة بشكل متعاكس (Zietkiewicz *et al*., 1994) ، باستعمال بادئات وحيدة طولها (16-18bp)، ومؤلفة من نكليوتيدات متكررة، ومحاطة في أغلب الأحيان بـ2-4 نكليوتيدات إمّا في المنطقة 5َ أو3َ (Nagaraju *et al*., 2002; Bornet *et al*., 2002).

توصف تقنية ISSR بأنها أكثر تكرارية من تقنية RAPD، بسبب طول البادئ المستعمل، الذي يعكس درجة حرارة مرتفعة لمرحلة تشفع البادئات (Chowdhury *et* al., 2002; Bornet & Branchard, 2001), كما تتميز بوفرتها وتواجدها في مجينات حقيقيات النوى النباتية، ولا تحتاج إلى معلومات عن التسلسل المجيني المدروس (Kijas *et al*., 1995; Tautz & Renz, 1984), أضف إلى ذلك أنّ نتائجها ثابتة عند تكرارها وهي سريعة، كما أنّها تتطلب كمية قليلة من الحمض النووي DNA، ويمكن أتمتتها Automation، حيث يمكن نشر البادئات وتبادلها بسهولة بين المخابر بمجرد معرفة التسلسل النيكليوتيدي لها. وتكشف نسب متوسطة من التعددية الشكلية.

استخدمت مؤشرات ال ISSR بكفاءة لتقييم التنوع الوراثي في جينوم القمح (Sofalian *et al*., 2009), حيث أعطى تحليل ال ISSR لـ 27 صنف من أصناف القمح الطرية الهندية 176 حزمة كلية بنسبة مئوية للتعددية الشكلية 68.42%, وكذلك أيضاَ في دراسة أخرى تمت في الصين حيث طبقت تقنية الـ ISSR على 8 أصناف من القمح الطري, استخدمت فيها خمسة بادئات أعطت 43 حزمة وكان 29 منها متعددة شكلياً, حيث بلغت النسبة المئوية للتعددية الشكلية 67.44%, وتراوح عدد الحزم المتعددة شكلياَ لكل بادئ 3-8 بمتوسط قدره 4.8 (Yanfang *et al*., 2011). كما قام (Du *et al*., 2002) بتطبيق تقنية الـ ISSR على 14 صنف من القمح الطري حيث استخدم 33 بادئ أعطى 11 منها تعددية شكلية, وبلغت النسبة المئوية للتعددية الشكلية 80.3%.

تعد مؤشرات التسلسلات البسيطة المتكررة ((SSR من المؤشرات الجزيئية المهمة جداً والواسعة الانتشار حالياً. تتكون هذه المؤشرات من مقاطع صغيرة متكررة، تسمى وحدات متكررة أو الميكروساتاليت Microsatellite، تتكون من توليفات مختلفة من أربع وحدات هي قواعد ال DNA الأدنيين(A)، والسيتوزين(C)، الجوانين(G)، والتيامين(T)، وهي تتواجد بكثرة في مجينات حقيقات النوى حيث قدرت من 10⁴ إلى 10⁵ موقع مبعثرة على طول الجينوم (Sefc et al., 2000).

يتم اختبار PCR الخاص بـ SSR باستعمال بادئات متخصصة، يتألف كل منها من شقين: الأول يدعى Forward، ويلتحم في المنطقة التي تقع قبل SSR، والثاني يدعى Reverse، ويلتحم في المنطقة التي تقع بعد SSR (Hamwieh وزملاؤه، 2005؛ Ordon وزملاؤه، 2005).

تعد ال SSR من التقنيات المهمة التي تتميز بموثوقيتها العالية ومثاليتها, وذلك لارتفاع معدل تطفرها حيث أنَّ كسب أو فقد تكرار واحد بين جيل وآخر، يفوق عشرة آلاف مرة احتمال حدوث طفرة تصيب قاعدة آزوتية واحدة في مورثة ما (Sweigart وزملاؤه، 1999). بالإضافة إلى وفرتها وتوزعها ضمن الجينوم, وكذلك لتطلبها كميات قليلة من المادة الوراثية DNA (Wang *et al*.,2014), بالإضافة إلى إمكانية الكشف عن التتاليات النيكليوتيدية ذات السيادة المشتركة في التوريث (Rafallski *et al.,* 1993), وإمكانية أتمتتها حيث أنه يمكن نشر البادئات وتبادلها بسهولة بين المخابر بمجرد معرفة التسلسل النكليوتيدي لها, إلا أنَّه يُعاب عليها في أنَّها تحتاج إلى بادئات ذات تسلسل نكليوتيدي مُحدد، يُحدد مكان التكرار الترادفي للسلاسل البسيطة SSR (Yu, *et. al ,* 1994).

**2.3. مورثة الديهدرين Dehydrin**

تنتج النباتات في ظل الظروف البيئية التي تولد جهداً مائياً منخفضاً مجموعة من البروتينات المحبة للماء كجزء من الاستجابة للإجهاد لحماية الخلية (Allagulova *et al*., 2003; Garay *et al*., 2000; Ingram & Bartels, 1999). تم تمييز هذه البروتينات لأول مرة في القطن خلال المراحل المتأخرة من التطور الجيني, وسميت ببروتينات التخليق الجيني المتأخر Late-Embryogenesis-Abundant (LEA). بعد ذلك تم التعرف على البروتينات المماثلة للقطن LEA في بذور العديد من النباتات الراقية (Dure *et al*., 1989). السمة الأساسية لهذه البروتينات هي تركيبة الأحماض الأمينية المميزة والتي تؤدي إلى نسبة عالية من القطبية للماء (Wise & Tunnacliffe, 2004).

تم تحديد ثلاث مجموعات رئيسية من بروتينات LEA على أساس تشابه التسلسل والخصائص الهيكلية وهي: المجموعة الأولى, المجموعة الثانية, والمجموعة الثالثة. تنتمي الديهدرينات Dehydrins إلى المجموعة الثانية, وتوجد بشكل أساسي في الأنسجة النباتية الجافة, مثل البذور الناضجة, وفي الأنسجة النباتية المعرضة للجفاف ودرجة الحرارة المنخفضة, وظروف الملوحة المرتفعة (Nylander *et al*., 2001; Xu *et al*., 2008; kim & Nam, 2010).

توجد الديهدرينات في مجموعة واسعة من الكائنات الحية بما في ذلك النباتات العليا والطحالب والخميرة والبكتريا الزرقاء (Close, 1997; Mitwisha *et al*., 1998), وهي موجودة بنسب قليلة في معظم الأنسجة الخضرية أثناء ظروف النمو الطبيعي (Rodriguez *et al.,*2005; Nylander *et al*., 2001; Rorat *et al*., 2004; Rorat *et al*., 2006; Garay *et al.,* 2000), ويزداد تراكمها في الظروف البيئية القاسية مثل البرد والجفاف والملوحة والضغط الأسموزي (Close, 1997), ومن المثير للاهتمام أن الإفراط في التعبير عن الديهدرينات في السلالات المعدلة وراثياً يشجع مقاومة هذه السلالات لمختلف الإجهادات (Puhakainen *et al*., 2004; Shekhawat *et al*., 2011).

يشير هذا التوزيع الواسع لبروتينات الديهدرين إلى الدور الأساسي الذي تلعبه, في نمو النبات وفي تحمل الإجهاد. مما أثار اهتماماً كبيراً بها لاستخدامها في تحسين المحاصيل , علاوة على ذلك فقد تبين مؤخراً أن انخفاض مستويات الديهدرين في بذور نبات الأرابيدوبسيس المعدلة وراثياً يؤدي إلى تقليل طول عمر البذور مما يؤكد أهميتها لبقاء البذور (Hundertmark *et al*., 2011). إلا أنه لم يتم بعد تحديد آلية عمل الديهدرينات بدقة , ولكن من المقبول عموماً القول بأن وظيفتها حماية الخلايا من التلف الناجم عن الإجهاد الجفافي (Eriksson & Harryson, 2011), فهي قادرة على الارتباط بالماء بقابلية عالية, مما يمنع فقد الماء من الخلايا حتى درجة الجفاف القاتل للنبات, ويساعد الخلايا على الاحتفاظ بحد أدنى من الماء لتبقى حية.

لوحظ ارتباط إيجابي بين تعبير الديهدرين وتحمل الإجهاد الجفافي (Cseuz *et al*., 2002). وقد توصل العديد من الباحثين إلى نتائج مماثلة, فقد زادت القدرة على تحمل الإجهاد الجفافي والملحي عند إدخالها إلى الأرز والقمح. (Sivamani et al., 2000). وفي بحث آخر سبب الإجهاد الجفافي تراكم بروتينات الديهدرين خاصة ذات الوزن الجزيئي المنخفض في صنفين من القمح, وكان تراكمها في الصنف المقاوم (Omskaya 35) يفوق تراكمها في الصنف الحساس (Salavat Yulaev) بمرتين ونصف (Shakirova *et al*., 2016).

يحتوي كل من القمح والشعير على أربعة أنواع من الديهدرينات من أصل خمسة وهي (Kn, SKn, YnSKm, KnS) بينما تفتقر إلى الديهدرينات من نوع YnKm (Close,1997), وأكبر مجموعة من هذه الديهدرينات في الشعير وكذلك في القمح تنتمي إلى نوع YnSKm, والمحفزة بالإجهادات القوية التي تسبب الجفاف (الجفاف, والملح, والصقيع) وكذلك بسبب حمض الأبسيسيك (ABA). هذا وتختلف مستويات التعبير عن الديهدرينات في ظل الإجهادات المختلفة فقد تم العثور على عشر مورثات لبروتينات ديهدرين للشعير في ظروف الإجهاد الجفافي, في حين تم العثور على ثلاث مورثات فقط تحت ظروف درجات الحرارة المنخفضة (Tommasini *et al*.,2008), و لم يتم التعبير عن DHN1 العنب في ظل ظروف النمو الطبيعية, ولكن تم تحفيزها عن طريق الجفاف والبرد (Yang *et al*., 2012).

تم عزل 3 مورثات لبروتينات الديهدرين محفزة بالإجهاد الملحي من نبات القمح. كشف تحليل PCR أن جميع مورثات الديهيدرين الثلاثة ((TaDHN1, TaDHN2, TaDHN3 يتم تحفيزها بشكل كبير بواسطة ABA و NaCl ، ولكن فقط TaDHN2 يتم تحفيزها في البادرات بواسطة PEG والبرد (4 درجات مئوية) (Qin & Qin, 2016). كما توصل (Rampino *et al*., 2006) في بحث قام به لدراسة الاختلافات بين بادرات القمح والدوسر في استجابتها للإجهاد الجفافي على المستويين الفيزيولوجي والجزيئي إلى أن طريقة تعبير كل جين مختلفة مما يشير إلى أن كل جين في عائلة الديهدرينات قد يكون له وظيفة مميزة في استجابة النبات الجزيئية للجفاف. تم التوصل لذلك أيضاً في الشعير من قبل (Suprunova et al. 2004).

يختلف تراكم الديهدرينات حسب الأصناف وهذا ما توصل إليه (Lopez *et al*., 2001) في بحث قام به لدراسة تراكم الديهيدرين في البادرت أثناء إجهاد الجفاف وارتباطه بتحمل الإجهاد أثناء ملء الحبوب في سبعة أصناف من القمح ، "Connie" ، "Gene" ، "TAM105" ، "Rod" ، "Hiller"، "Rhode" و "Stephens". لاحظ تراكم 24 كيلو دالتون من الديهدرينات في البادرات في ظروف الإجهاد الجفافي, في حين لم تتراكم الديهدرينات في الشاهد. وبدأت الأصناف "Connie ، "Gene" ، "TAM105" في تراكم الديهيدرينات في اليوم الرابع من الإجهاد ، بينما بدأت الديهدرينات بالظهور في الأصناف الأخرى بعد اثني عشر يومًا من الإجهاد. هذا الاختلاف في التراكم في مرحلة البادرات ارتبط بتحمل الإجهاد في مرحلة ملء الحبوب، وتميَّز بانخفاض أقل في المحصول.

**الفصل الثاني**

1. **أهمية البحث(research importance) :**

يحدث في النبات عدد كبير من التفاعلات للتغلب على الآثار الضارة الناجمة عن مجموعة واسعة من الإجهادات الحيوية وغير الحيوية بما في ذلك الضوء، الجفاف، الملوحة وارتفاع درجات الحرارة، ويعد الإجهاد الجفافي واحد من أهم الضغوط البيئية التي يتعرض لها النبات والتي تؤثر سلباً على إنتاجيته.

ولما كان القمح من أهم المحاصيل التي تزرع في الوطن العربي عامةً، وسوريا خاصةً، ونظراً لموجات الجفاف التي يتعرض لها العالم وتذبذب كمية الأمطار وعدم انتظامها، فإنه من الأهمية بمكان فهم الاستجابات البيوكيميائية والجزيئية للجفاف من قبل النبات وذلك لإدراك شامل لآلية مقاومة النبات لظروف ندرة المياه، فالأصل في عملية تكيف النبات مع البيئة هو المورثات وما يصاحبها من عناصر منظمة تجعل النبات أفضل نمواً، لذلك فإن هذه الدراسة التي تعتبر حديثة وغير مطروحة يمكن اعتبارها خطوة رئيسة أولية يستفاد منها لاحقاً في دراسات التربية والانتخاب ومن هنا تأتي أهمية البحث.

1. **أهداف البحث( Research Objectives):**
2. تحديد بعض المؤشرات البيوكيميائية المميزة للطرز المدروسة المرتبطة بتحمل الإجهاد الجفافي.
3. تحديد درجة القرابة الوراثية بين الطرز الوراثية القاسية وبين الطرز الطرية المدروسة باستخدام تقنية ISSR.
4. تحديد مواقع مورثات الديهيدرين المسؤولة جزئياً عن تحسين تحمل الجفاف.
5. **مواد البحث وطرائقه (Materials and Methods):**
   1. **المادة النباتية (Plant material):**

تتألف المادة النباتية من عشرة طرز من القمح والتي تم الحصول عليها من مركز البحوث الزراعية وهذه الطرز هي:

**القمح القاسي (**حوراني ، شام 3 **،** شام 5 ،بحوث 9 ، اكساد 65**).**

**القمح الطري(**شام 10 **،** بحوث 10 **،** دوما 2 **،** دوما 6 **،** جولان 2**).**

**فيما يلي أهم مواصفات الطرز المدروسة:**

**طرز القمح القاسي:**

**حوراني:** إنتاجيته حوالي 1,71 طن/ه, السنبلة هرمية الشكل مقاومة للانفراط طولها 4-6 سم, لونها كريمي, الحبوب كروية لونها عنبري, طول النبات 68 سم, عدد الأيام للنضج التام 181 يوم. معتمد في منطقة الاستقرار الثانية.

**أكساد 65:** إنتاجيته تصل 3,17 طن/ه,, السنبلة هرمية الشكل مقاومة للانفراط, طولها4-6 سم, لونها كريمي غامق, الحبوب نصف متطاولة لونها عنبري, طول النبات 89 سم, عدد الأيام للنضج التام 165 يوم,يزرع بعلاً في منطقة الاستقرار الأولى.

**شام3:** إنتاجيته حوالي1,95 طن/ه, السنبلة هرمية الشكل مقاومة للانفراط, طولها 7-8 سم, لونها كريمي, الحبوب بيضوية لونها عنبري, طول النبات 61 سم, عدد الأيام للنضج التام 164 يوم, معتمد في منطقة الاستقرار الثانية.

**شام5:** إنتاجيته حولي 1,85 طن/ه, السنبلة هرمية الشكل مقاومة للانفراط, طولها 6-8 سم, لونها كريمي, الحبوب بيضوية لونها عنبري, طول النبات 56 سم, عدد الأيام للنضج التام 181 يوم, معتمد لمنطقة الاستقرار الثانية.

**بحوث9:** إنتاجيته في الزراعة المروية 6,91 طن/ه,, السنبلة هرمية الشكل مقاومة للانفراط, طولها 7-8 سم, لونها كريمي غامق, الحبوب بيضوية نصف متطاولة لونها عنبري, طول النبات 89 سم, عدد الأيام للنضج التام 163 يوم, يزرع مروياً.

**طرز القمح الطري:**

**جولان 2:** إنتاجيته حوالي 4,58 طن/ه,, السنبلة متوازية الشكل مقاومة للانفراط لونها كريمي, الحبوب كروية لونها عنبري, طول النبات 82 سم, عدد الأيام للنضج التام 164 يوم, معتمد في منطقة الاستقرار الأولى.

**بحوث 10:** عالي الإنتاجية, يزرع مروياً, متحمل للصدأ الأصفر

**شام 10:** إنتاجيته في الزراعة المروية حوالي 8 طن/ه,, السنبلة هرمية الشكل مقاومة للانفراط لونها كريمي غامق, الحبوب بيضوية لونها عنبري, طول النبات 87 سم, عدد الأيام للنضج التام 159 يوم.

**دوما 2:** إنتاجيته حوالي 2,26 طن/ه,, السنبلة هرمية الشكل مقاومة للانفراط لونها كريمي, الحبوب بيضوية لونها عنبري, طول النبات 67 سم, عدد الأيام للنضج التام 159 يوم, يزرع بعلاً في مناطق الاستقرار الثانية.

**دوما6:** متوسط الإنتاجية, متحمل للصدأ الأصفر

**2.3. مكان تنفيذ البحث (Site of Experiments):**

مخابر كلية الزراعة في جامعة البعث ومخابر التقانات الحيوية في جامعة دمشق.

* 1. **طريقة الزراعة Planting method)):**

تم زرع البذور أولاً في أطباق بتري لتسريع عملية الإنبات بمعدل 5 بذور في كل طبق, غطيت الأطباق منعاً لفقد الماء بالتبخر, ويتم تحضين الأطباق على درجة حرارة 20 ± 2 مْ, ثم نقلت البادرات إلى أصص, ووضعت الأصص تحت غطاء من البولي ايثلين الشفاف وذلك لتفادي تعرض النباتات للأمطار ثم تم تعريض البادرة بمرحلة 3 أوراق حقيقية إلى الإجهاد الجفافي باستخدام تركيزين من البولي إيتيلين غليكول PEG6000 (-6, -12) بار, بالإضافة إلى عينات تحتوي على ماء مقطر فقط، تعد كشاهد, ثم تم إجراء التجارب على العينات المختبرة وذلك بعد (24 , 48 , 72 ) ساعة من التعريض للإجهاد.

* 1. **العوامل المدروسة:**

1. الأصناف: ستة أصناف موزعة على ثلاثة أصناف من كل من القمح القاسي والقمح الطري.
2. الإجهاد: بثلاثة مستويات

* الشاهد (ماء مقطر).
* PEG بتركيز -6 بار.
* PEG بتركيز -12 بار.

1. فترة الجفاف: بثلاثة مستويات (24, 48, 72) ساعة.
2. عدد القطع التجريبية: 6×3×3=54 قطعة تجريبية.

صممت التجربة بالتصميم العشوائي الكامل وبثلاث مكررات والمخطط التالي يوضح توزيع المعاملات.



**5.3. القراءات المدروسة Studied Readings:**

**1.5.3. المؤشرات البيوكيميائية:**

يعتمد الجهد الأسموزي للخلية على محصلة الجزيئات أو الأيونات الموجودة حتى لو كانت لمركبات مختلفة، لذلك تلجأ النباتات أثناء الإجهاد إلى مراكمة أنواع مختلفة من المذابات المتوائمة في السيتوبلاسم، وتعمل هذه المذابات المتوائمة إما لخفض الجهد الأسموزي أي تجعله اكثر سالبية خاصة عند ارتفاع تراكيزها أو لحماية البروتينات والأغشية الخلوية، وقد تؤدي الوظيفتين معاً (Anjum *et al*., 2011). ومن هذه المذابات:

**1.1.5.3. الحمض الأميني البرولين (ميكروغرام/غ وزن رطب):**

يُعدُّ التباين الوراثي في كمية البرولين المُتراكمة بين النباتات صفةٍ فيزيولوجيةٍ مهمةٍ في التعديل الحلولي، ويُقترح إمكانية اعتماده كمؤشر إنتخاب في برامج التربية، وقد أُوصي بذلك بالنسبة لمحاصيل الحبوب المزروعة في بيئة حوض المتوسط (Nanjo et al., 1999).

تم تحليل البرولين حسب طريقة (Bates, 1973). ، ﺤﻴﺙ تم أخذ وزن معين من العينة حوالي 0.5 غ طحنت مع 10 مل من محلول حمض السلفوسالسيلك 3% (إذابة 3غ من الحامض وإكمال الحجم حتى 100 مل ماء مقطر) ووضعت في جهاز الطرد المركزي 2000 دورة/ دقيقة مدة 10 دقائق , سحب 2مل من الرشاحة وضع عليها 2 مل من حمض الخل الثلجي و 2مل من نينهدرين Ninhydrin ( الذي حضر بمزج 1.25 غ من الننهيدرين مع 30 مل من حمض الخل الثلجي و 20 مل من حمض الفوسفوريك 6 مول) يترك محلول الننهيدرين على المحرك المغناطيسي دون حرارة حتى تمام الذوبان، ثم وضعت الأنابيب لمدة ساعة في حمام مائي درجة حرارته 100 درجة مئوية، (يلاحظ في هذه المرحلة بدء ظهور اللون الأحمر بدرجات متفاوتة حسب تركيز البرولين, بعدها وضعت الأنابيب مباشرة في حمام ثلجي لوقف التفاعل, ثم أضيف للمزيج 4مل من التولوين، ومزج بشكل جيد لمدة عشرين ثانية، وترك عدة دقائق في درجة حرارة الغرفة لتنفصل طبقة التولوين وما تحمله من البرولين فوق المخلوط، أخذ من هذه الطبقة 3 مل ثم تم قياس البرولين بواسطة جهاز قياس الطيف الضوئي (Spectophotometer) بطول موجه 520 نانومتر وخلية زجاجية فيها سمك المسار الضوئي 1 سم, وتمت مقارنته مع منحنى قياسي للبرولين النقي.

**المنحنى القياسي للبرولين:**

رسم المنحنى القياسي للبرولين حسب طريقة (Bates et al., 1973), حضر المحلول الأساسي بإذابة 0.011513غ من البرولين النقي وإكمال الحجم حتى 100 مل فكان تركيزه 115.13 ميكروغرام/مل, ثم حضرت من هذا المحلول الأساسي التراكيز التالية (4.6, 9.2, 11.5, 23) ميكروغرام/مل, بعدها أخذ 2مل من كل تركيز وأضيف لها 2 مل حمض خل ثلجي و2 مل ننهايدرين, ثم وضعت الأنابيب لمدة ساعة في حمام مائي درجة حرارته 100 درجة مئوية, بعدها وضعت الأنابيب مباشرة في حمام ثلجي لوقف التفاعل, ثم أضيف للمزيج 4مل من التولوين، ومزج بشكل جيد لمدة عشرين ثانية، وترك في درجة حرارة الغرفة لتنفصل طبقة التولوين وما تحمله من البرولين فوق المخلوط، أخذ من هذه الطبقة 3 مل ثم تم قياس البرولين بواسطة جهاز قياس الطيف الضوئي بطول موجه 520 نانومتر, رسم المنحنى القياسي للبرولين وفي ضوئه تمت قراءة العينات مع المنحنى القياسي وقدر تركيز البرولين في الأوراق.

**2.1.5.3.** **تركيز الكلوروفيل في أوراق البادرات (ملغ/ غ وزن طري):**

للكلوروفيل أنواع A,B,C,D,F وهو من الصبغات المرتبطة باقتناص الطاقة الضوئية اللازمة للبناء الضوئي استخدمت طريقة (Arnon, 1949) لاستخلاص الكلوروفيل حيث تم طحن 1غ من الأوراق النباتية الغضة في هاون خزفي مع 20 مل من الأسيتون 80% لمدة 5 دقائق حتى تم استخلاص الصبغات من الأوراق الغضة, ثم وضع المستخلص في جهاز الطرد المركزي لمدة خمس دقائق على سرعة 1000 دورة/دقيقة. بعد ذلك أخذ 3مل من الرائق وقدر الكلوروفيل (أ, ب) باستخدام جهاز قياس الطيف الضوئي (Spectophotometer) عند الأطوال الموجية 663, 645 نانومتر باستخدام المعادلات التالية:

Total chlorophyll (mg/g) = 20.2 (A645 )+ 8.02 (A663)

Chlorophyll a (mg/g) = 12.7 (A663) -2.69(A 645)

Chlorophyll b (mg/g) =22.9(A 645 ) -4.68 (A663)

A: الكثافة الضوئية لمستخلص الكلوروفيل عند طول الموجة الموضحة.

* + - 1. **السكريات الذوابة (ملغ/ غ وزن جاف):**

تم تقدير نسبة السكريات الذائبة في الأوراق حسب طريقة (Herbet *et al*., 1971), حيث أخذ 1 غ من الأوراق الجافة، وأضيف لها 50 مل ماء مقطر مغلي وبعدها وضعت في حمام مائي بدرجة 80 درجة مئوية لمدة نصف ساعة بعد ذلك تم ترشيح العينة وأكمل الراشح الى 50 مل ماء مقطر، ثم أخذ 1مل من الراشح وأضيف له 1 مل من كاشف الفينول 5% ومزج جيداً ثم أضيف له 5 مل حمض الكبريت المركز H2So4، وأضيف له 10 مل ماء مقطر لغرض التخفيف ثم تم تقدير نسبة السكريات الذوابة بقياس الشدة اللونيه بجهاز المطياف الضوئي عند طول موجة 488 نانومتر.

**تحضير المنحنى القياسي للسكريات الذائبة**

تم إذابة 100 ملغ من الغلوكوز في ليتر ماء مقطر ثم حضرت التراكيز ( 0, 10, 20, 40, 60, 80) ملغ / ل , ثم أخذ واحد مل من هذه التراكيز وأضيف له 1 مل من كاشف الفينول 5% ومزج جيداً وأضيف 5 مل من حمض الكبريت المركز ومزج جيداً بعدها حددت شدة اللون الناتج بقياس الكثافة الضوئية ب جهاز قياس الطيف الضوئي (Spectophotometer) عند طول موجي 488 نانو متر, ثم رسم المنحنى القياسي من العلاقة بين التركيز والكثافة الضوئية.

**4.1.5.3. محتوى السويقة والجذير من المالون داي ألدهيد (MDA) (ميكرومول/ غ):**

يشير مستوى MDA في النباتات إلى درجة إصابة بلازما نظام الغشاء (Lui *et al.,* 2015) , وتستخدم عادة درجة أكسدة اللبيدات لتقدير مدى تضرر الأغشية الخلوية بإجهاد الأكسدة لذلك سيتم تقدير تركيز(MDA) وهو الناتج النهائي لأكسدة لبيدات الأغشية الخلوية وذلك بحسب طريقة (Carmak & Horst, 1991) حيث تم طحن 1 غ من العينة الطرية من الأوراق وأضيف لها 3 مل من محلول (TCA) Trichloroacetic acid 0.1% (w/v), ووضعت في أنابيب معقمة, فصل بعدها باستعمال جهاز الطرد المركزي بسرعة 20000 دورة/دقيقة لمدة 15 دقيقة, أخذ 0.5 مل من الرائق وأضيف له 3 مل من (TBA) Thiobarbituric acid 0.5% والمحضر من TCA 20% , ثم تم تسخين الخليط عند 95مْ في حمام مائي مع الرج لمدة 50 دقيقة, وبعدها بردت الأنابيب في حمام ثلجي مباشرة لوقف التفاعل, ومن ثم فصلت بواسطة جهاز الطرد المركزي بسرعة 10000 دورة/دقيقة لمدة 10 دقائق, أخذ الرائق وتم تقدير MDA في جهاز قياس الطيف الضوئي (Spectophotometer) عند الأطوال الموجية (450, 532, 600) نانومتر, قدر محتوى MDA بالميكرومول/غ وزن طري حسب المعادلة الموصوفة من قبل (Gao,2000).

MDA= {6.452\* (D532-D600)- 0.559 \* D450}\* Vt/V1\*FW

Vt: الحجم الكلي للاستخلاص (مل).

V1: حجم السائل المستخلص للاختبار (مل).

FW: وزن الأوراق الطري (1غ).

ملاحظة: لتقدير MDA في الجذور تتبع نفس الطريقة السابقة على الجذور بعد تنظيفها بالماء جيداً من الأتربة العالقة بها وتجفيفها بلطف لإزالة الماء الزائد العالق على سطوحها.

**5.1.5.3. المحتوى المائي النسبي للسويقة والجذير (RWC) %:**

تم تقدير المحتوى المائي النسبي للأوراق عن طريق قطع الأوراق وتسجيل الوزن الرطب Fresh Weight (FW), في أقل من 15 دقيقة ثم غمرت العينات بشكل كامل بالماء المقطر لمده كافية (24 ساعة) في ظروف تمنع العمليات الأيضية (ظلام ودرجة حرارة منخفضة) حتى تتشبع الخلايا بالماء وجففت العينات بلطف في نهاية فترة النقع لإزالة الماء الزائد العالق على سطوحها وسجل الوزن المشبع Turgid Weight (TW), ثم وضعت العينات في أكياس ورقية, ونقلت إلى مجفف مسخن بشكل مسبق على درجة حرارة (105°م) مدة نصف ساعة, وذلك لقتل الأنسجة النباتية وإيقاف عملية فقد المادة الجافة بالتنفس, ثم خفضت درجة حرارة المجفف إلى (80°م) وتركت العينات فيه مدة 72 ساعة, أو إلى حين الوصول إلى الوزن الجاف الثابت Dry Weight (DW) وحسب المحتوى المائي النسبي (RWC%) من المعادلة الرياضية التالية: (Schonfeld *et al*., 1988).

RWC% = {(FW-DW)/(TW-DW)} ×100

ملاحظة: لتقدير RWC في الجذور تتبع نفس الطريقة السابقة عللى الجذور بعد تنظيفها بالماء جيدا من الأتربة العالقة بها وتجفيفها بلطف لإزالة الماء الزائد العالق على سطوحها.

**2.5.3. المؤشرات الجزيئية**

**1.2.5.3. دراسة القرابة الوراثية بين الطرز المدروسة باستخدام تتقنية ISSR**

**أولاً: استخلاص الحمض النووي الريبي منقوص الاوكسجينDNA Extraction:**

عُزِل الـحمض النووي الريبي منقوص الأوكسجين ((DNA من الأوراق النباتية الطازجة والمجموعة من بادرات بعمر 3 أسابيع بطريقة CTAB المعدلـة وفقاً لما أشار إليه (Murray and Thompson, 1980)،

1. وزن 0.8 غ من الأوراق النباتية لكل عينة وطحنت ضمن هاون بورسلان بوجود الآزوت السائل طحناً ناعماً حتى أصبحت على شكل مسحوق ونقلت إلى أنبوب Eppendorf معقمة سعة (2 ml).
2. أضيف لكل عينة (800 µl) من محلول الاستخلاص الحاوي على المكونات التالية:

[3% (w/v) CTAB, 50mM Tris-HCl (pH8), 1.4M NaCl, 10 mM EDTA (pH8), 1% 2-mercaptoethanol (v/v), 1% PVP (w/v)]) المسخن إلى درجة حرارة º65 م والمحضن في حمام مائي حرارته º65 م.

1. حضنت العينات في الحمام المائي على درجة حرارة º65 م مع التحريك المستمر لمدة 30- 40 دقيقة، ثـم وضعت العيـنات في البراد على درجـة حرارة 4º م لمـدة 5 دقاﺌق.
2. أضيف لكل عينة من العينات النباتية حجم مماثل لحجم محلول الاستخلاص من مادة الكلوروفورم أيزو أميل الكحول (24:1)، وحركت الأنابيب بلطف مدة 10 دقائق، ثم تركت على الرجاج لمدة 20 دقيقة في وسط حراري 4º م.
3. وضعت الأنابيب بعد ذلك في جهاز الطرد المركزي على سرعة (10000 rpm) ولمدة 10 دقائق على درجة حرارة 4º م ، حيث تم في هذه المرحلة فصل المزيج إلى طورين، نقل بعدها الطور العلوي المنفصل بحذر إلى أنابيب Eppendorf جديدة سعة (1.5 ml).
4. كررت مرة ثانية خطوة المعاملة الكلوروفورم أيزو أميل الكحول (24:1) والمجانسة والتثفيل كما في الخطوات السابقة.
5. أضيف لكل أنبوب 600 ميكروليتر من الإيزوبروبانول المبرد على حرارة (- 20 ْم) إلى الحجم الكلي مع التحريك بلطف بقلب الأنبوب رأساً على عقب عدة مرات وتركت العينات بعدها على درجة حرارة (- 20 ْم) لليوم التالي وذلك من أجل ترسيب الحمض النووي DNA حيث ترسب على شكل كتلة خيطية هلامية أو بيضاء.
6. في اليوم التالي وضعت الأنابيب بعد ذلك في جهاز الطرد المركزي على سرعة (10000 rpm) ولمدة 10 دقائق على درجة حرارة 4º م.
7. تم التخلص من الرشاحة بإضافة (200 µl) من محلول الإيتانول 70% لراسب الحمض النووي DNA.
8. ثفلت الأنابيب بعد ذلك في جهاز الطرد المركزي على سرعة (10000 rpm) ولمدة 10 دقائق.
9. جفف راسب الحمض النووي DNA عند حرارة (37ºم) مدة (10) دقائق باستعمال التجفيف مع التفريغ الحراري في مجفدة Vacuum dryer مدّة 10-20 دقيقة.
10. أذيب الحمض النووي DNA في(50 µl) من المحلول المنظم TE المكون من كلا من (10 mM Tris- HCl, PH=8 1mM EDTA) وذلك عن طريق تركها على هزاز آلي مدّة 12-24 ساعة على درجة حرارة 4º م.
11. خلال كل عملية استخلاص للحمض النووي (DNA) فإنّه لابدّ من وجود كمية من الحمض النووي (RNA) الناتجة عن عملية الاستخلاص (تختلف كمية الحمض النووي RNA باختلاف طريقة الاستخلاص، وباختلاف النسيج النباتي وعمره)، وعليه فإنّه لابد من استبعاد هذه الحمض النووي وفق مايلي:

إضافة (2µl) من أنزيم RNase(10 mg/ml)، والتحضين على درجة 37 م ºمدّة نصف ساعة وأضيف حجم مماثل من الكلوروفورم:ايزوميل الكحول (1:24)، وبعد التثفيل نُقل الطور العلوي لأنبوب جديد، وأُضيف له ضعف كمية المزيج من الإيتانول Ethanol النقي، لإعادة ترسيب الحمض النووي (DNA)،

1. تُرك الحمض النووي عند الدرجة (4 مْ) مدّة ساعة، ثمّ رُسب المزيج بالتثفيل بسرعة (10000 rpm) ومدة 10 دقائق، وغُسل ثانيةً بواسطة الإيثانول 70%، وجُفف في الهواء للتخلص من آثار الإيتانول ضمن جهاز المجفف بالتفريغ والحرارة، ثمّ أُذيب الحمض النووي (DNA) في محلول TE المعقّم.
2. بعد ذلك تحفظ العينات بدرجة حرارة 4ºم لمدة 24 ساعة، ثم تخزن على درجة حرارة (- 20 ْم) لحين الاستخدام.

**ثانياً: تقدير كمية الحمض النووي الريبي منقوص الأوكسجين الـDNA ونوعيته بواسطة جهاز المطياف الضوئي UV:**

استخدم جهاز الطيف الضوئي UV. SpectropHotometer لتقدير كمية الحمض النووي DNA وتحديد نقاوته، إذ يعتمد الجهاز في عمله على قياس كمية الحمض النووي الموجودة، عن طريق تقديره لامتصاص الحمض النووي DNA للأشعة فوق البنفسجية بموجات طولها 260 و280 نانومتر (Prabhakar و Mark، 2002)، وقد ذكر Maniatis وزملاؤه (1982) أنّ النسبة بين قراءة الموجة 260 نانومتر والموجة 280 نانومتر OD 260/ OD 280 تُساعد في تقدير نقاوة الحمض النووي، إذْ يجب أن تتراوح هذه النسبة بين 1.8-2، كما أوضح الباحث نفسه أنّ قراءة الامتصاص على طول الموجة 260 نانومتر تسمح بحساب تركيز (DNA) في العينة المُقاسة، إذْ إنّ كل وحدة من الكثافة الضوئية (Optical density, OD) تقابل نحو 50 µg/ml من (DNA) (ذات السلاسل المضاعفة)، وبذلك حُسب تركيز (DNA) من المعادلة الرياضية الآتية (Maniatis وزملاؤه، 1982):

DNA con. (μg/ml) = {OD260 x 100 x 50}

OD260: الكثافة الضوئية لامتصاص الحمض النووي (µg) عند الموجة 260 نانومتر.

100: (Dilution Factor) معامل ....

50: معامل التمديد (μg/ml).

لتحديد نوعية الحمض النووي DNA المستخلصة للتأكد من عدم تقطعها, حملت كمية قليلة من ال DNA في هلامة من الأغاروز تركيزها 0.8% مضافاً لها مادة Ethidium bromide، - التي ترتبط مع الـحمض النووي DNA مشكلاً معقداً يتوهج إثر تعرضه للأشعة فوق البنفسجية-، حيث أن جزيئات الحمض النووي DNA تهاجر على هلامة الآغاروز إذْ يظهر الحمض النووي (DNA) ذي النوعية الجيدة على شكل حزمة Band، بينما يكون الحمض النووي (DNA) سيء النوعية ممشحاً وغير واضح الحدود Smear.

ثم مددت عينات الحمض النووي DNA للحصول على تركيز 40 نانوغرام/ميكرو لتر لتستخدم في تفاعل البلمرة المتسلسل PCR.

**ثالثاً: تطبيق تقنية ISSR:**

استُخدم في الدراسة 17 بادئة، تمّ الحصول عليها من )الهيئة العامة للطاقة الذرية في سورية( بتركيز (10 Micromole)، كما استعمل (2X PCR Master Mix)، الذي تمّ الحصول عليه من شركة (Euvofims Genomics) الحاوي على المكونات التالية: MgCl2,Taq-Polymerase, dNTPs)). ويوضح الجدول(1) التسلسل النيكليوتيدي للبادئات المختبرة ودرجة حرارة التحامها.

**الجدول رقم (1): التسلسل النيكليوتيدي للبادئات المختبرة في تقنية ISSR، ودرجة حرارة الالتحام.**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **البادئة** | **التسلسل النيكليوتيدي3' - 5'** | **درجة حرارة الالتحام (مْ)** |
| ISSR1 | CACACACACACACACAA | 50 |
| ISSR2 | ACACACACACACACACT | 50 |
| ISSR3 | AGAGAGAGAGAGAGAGT | 50 |
| ISSR4 | GGTCACACACACACACAC | 56 |
| ISSR5 | CGTCACACACACACACAC | 56 |
| ISSR6 | CAGCACACACACACACAC | 56 |
| ISSR7 | CAGCTCTCTCTCTCTCTC | 56 |
| ISSR8 | ATTTATTTATTTATTT | 52 |
| ISSR9 | CCGCCGCCGCCGCCGCCGCCGCCG | 52 |
| ISSR10 | GAGAGAGAGAGAGAGAT | 52 |
| ISSR11 | CACACACACACAACAG | 52 |
| ISSR12 | TCTCTCTCTCTCTCTCC | 52 |
| ISSR13 | TGTGTGTGTGTGTGTGAA | 52 |
| ISSR14 | CACACACACACACACAAT | 52 |
| ISSR15 | ACACACACACACACACG | 52 |
| ISSR16 | ACACACACACACACACTT | 52 |
| ISSR17 | TGTGTGTGTGTGTGTGAA | 52 |
| ISSR18 | TCTCTCTCTCTCTCTCAG | 54 |
| ISSR19 | CACACACACACACACAAC | 54 |
| ISSR20 | GAGAGAGAGAGAGAGACG | 56 |
| ISSR21 | ACACACACACACACACGG | 56 |
| ISSR22 | CCAGGTGTGTGTGTGTGT | 56 |
| ISSR23 | CCTCTCTCTGTGTGTGTG | 56 |
| ISSR24 | ACACACACACACACACGG | 56 |
| ISSR25 | GGTCACACACACACACAC | 56 |
| ISSR26 | GAGAGAGAGAGAGAGACTT | 56 |
| ISSR27 | ACACACACACACACACCTT | 56 |
| ISSR28 | ACACACACACACACACGG | 56 |
| ISSR29 | GGAGAGGAGAGGAGA | 48 |
| ISSR30 | CTCTCTCTCTCTCTCTG | 50 |
| ISSR31 | TGTGTGTGTGTGTGTGG | 52 |
| ISSR32 | GTGTGTGTGAGAGAGAGA | 54 |

* **تقنية SSR:**

حيث تم الكشف عن مورثات تحمل الإجهاد الجفافي باستخدام سبعة بادئات متخصصة لهذه المورثات, حيث تم تضخيم كل مورثة باستخدام بادئين Forward، Reverse لكل من المورثات المدروسة والتي حُصِلَ عليها من ( الهيئة العمة للطاقة الذرية في سورية) بتركيز(10 Micromole)، كما استعمل (2X PCR Master Mix)، الذي تمّ الحصول عليه من شركة (Eurofins Genomics) الحاوي على المكونات التالية: MgCl2,Taq-Polymerase, dNTPs)). ويوضح الجدول(2) التسلسل النيكليوتيدي للبادئات المختبرة ودرجة حرارة التحامها.

**الجدول (2): التسلسل النيكليوتيدي لمورثات الديهيدرين المسؤولة عن تحمل الجفاف ودرجة حرارة التحامها.**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| مورثة  الديهيدرين | Reverse Primers (3َ-5َ) | Forward Primers (3َ-5َ) | درجة حرارة الالتحام °C |
| Dhn12 | TCAGCTCGAGCTTGACGACT | GATGATCCAGCAGCAACTCA | 58 |
| Dhn14 | ATGGAGCACCAGGGAACA | TTAAACCAGAGATACATTTGCTCC | 55 |
| Dhn15 | TCAGTGCTGTCCCGGCAGCTT | ATGGAGTTCCAAGGGCAG | 54 |
| Dhn16 | GG GCAGCTTCTCCTTGATCTT | ATGGAGTACCAGGGACAGCAG | 55 |
| Dhn3 | GCGGAAGTTTTACTGCATCTCCATC | AGGCAACCAAGATCAACACCACCTG | 57 |
| Dhn6 | ACCAGGCCATGTCACAGTACTGC | TGACGTCGTGGCACACACCCTC | 59 |
| Dhn9 | AGGCTTCGACGCGTAGCTATGCAA | ATGGAGTTCCAAGGGCAGCAGGAC | 62 |

* **تفاعل البلمرة المتسلسل PCR**

أجري تفاعل البلمرة المتسلسل PCR وفقاً لـ (Williams et al, 1990). مع بعض التعديلات، فكان حجم التفاعل النهائي 25µl. يظهر الجدول (2) مكونات هذا التفاعل.

**الجدول (2): مكونات تفاعل البلمرة المتسلسل PCR لتقنية ال ISSR**

|  |  |
| --- | --- |
| **الكميات** | **مكونات تفاعل البلمرة المتسلسل PCR** |
| 12.5 µl | 2X master mix |
| 2 µl (40 ng/µl) | DNA |
| 2.5 µl (10pmol/µl) | Primer |
| 8 µl | H2O |

الجدول (4): مكونات تفاعل البلمرة المتسلسل PCR لتقنية ال SSR

|  |  |
| --- | --- |
| الكميات | مكونات تفاعل البلمرة المتسلسل PCR |
| 12.5 µl | 2X master mix |
| 2 µl (40 ng/µl) | DNA |
| 2 µl (10pmol/µl) | Primer F |
| 2 µl (10pmol/µl) | Primer R |
| 6.5 µl | H2O |

ويتم هذا التفاعل في جهاز التدوير الحراري من شركة (APOLLO, USA) موديل ATC401 وفقاً للظروف الآتية:

1- الانفصال: عند درجة حرارة 94 ْم، مدّة 5 دقائق ليتم انفصال سلسلتي الـحمض النووي (DNA).

2- 40 دورة تتضمن كل منها المراحل التالية:

- مرحلة التحطم الحراري Denaturation: رُفعت في هذه المرحلة درجة الحرارة حتى 94 ْم لفصل سلسلتي الحمض النووي (DNA) عن بعضهما، لتُصبحا في حالة سلسلة مفردة, مدة 30 ثانية.

- مرحلة الالتحام Annealing: خُفضت درجة الحرارة مدة دقيقة واحدة إلى درجة تتفاوت بين 50- 65 مْ، وذلك تبعاً لطول البادئة، وعدد النيكليوتيدات المكونة لها، لتلتحم البادئة بالقطعة المكملة لها من الـحمض النووي (DNA)، وتُعد هذه المرحلة الأهم خلال التفاعل لكي تتضاعف سلسلة (DNA) بشكلٍ صحيح.

- مرحلة الاستطالة Extension: رُفعت درجة الحرارة مدة دقيقة واحدة لتصل إلى 72 ْم، لتكتمل تكوين السلاسل الجديدة بوجود أنزيم Taq-Polymerase، والنيكليوزيدات ثلاثية الفوسفات، وبعد انتهاء هذا التفاعل تمّ الحصول على عدد كبير من سلاسل الـحمض النووي DNA بدءاً من قطعة واحدة.

3- اكتمال التفاعل عند حرارة 72 ْم مدّة عشر دقائق.

ثمّ حُفظت العينات في درجة حرارة 4 ْم، لتفصل الحزم بعدها بالترحيل على هلامة الآغاروز.

* **الرحلان الكهربائي والتلوين والتصوير:**

تم الترحيل على هلامة الأغاروز 2% في المحلول المنظم TBE 1Xوالمكون من:

{(10X TBE buffer = 108 g Tris borate + 55 g Boric acid + 9.2 EDTA, pH 8.0)} والمضاف إليها 5µl من صبغة الايتيديوم برومايد (10 mg/ml)، حيث حملت عينات الحمض النووي DNA على هلامة الميتافور آجاروز بإضافة 5 ميكرولتر من سائل التحميل الخاص (1X Loading buffer Bromophenol blue) و المكون من:

(15% Ficoll 400 + 1.03 % Bromophenol blue + 0.03 % xylene cyanol FF + 0.4 % Orange G + 10 mM Tris-HCl + 50 mM EDTA)

كما حقن مؤشر من الحمض النووي (DNA) 1Kpb من شركة(Fermentas, Germany) ، وذلك لتحديد الحجم و الوزن الجزيئي للحزم الناتجة ليتم بعد ذلك الترحيل بمرور حقل كهربائي قدره 100 فولط وذلك لفصل حزم الـحمض النووي DNA الناتجة عن التضخيم، ثم صورت الهلامة بعد ذلك بجهاز تصوير هلامة الآجاروزImage Analyzer (Agle Eye II staratagene) (Serwer، 1983).

**2.2.5.3. تحديد المورثات المسؤولة عن الجفاف في القمح:**

**أولاً: استخلاص الحمض النووي الـRNA:**

تم عزل الحمض النووي الريبي الـ RNA من البادرات الفتية بعمر 3-4 أسابيع، حيث وضعت في الآزوت السائل مباشرة، وطُحنت طحناً ناعماً ووضعت في أنابيب بسعة 2مل ثم مزجت مع 1مل من محلول الاستخلاص المكون من (80 Mm Tris-Hcl pH=9 و 15mM LiCl و 5Mm EDTA و5% SDS)، ثم أضيف كمية مماثلة من كلوروفورم أيزوأميل الكحول (1:24) ومزجت بلطف مدة لا تقل عن 10 دقائق، ثم ثُفلت الأنابيب بواسطة جهاز الطرد المركزي مدة 10 دقائق، وذلك لفصل راسب البقايا النباتية عن الرشاحة الحاوية على الأحماض النووية، ثم نُقل الطور العلوي إلى أنبوب جديد، وأُضيف إليه 1/3 من (8M LiCl) (تركيزه النهائي 2M) المبرد، وحُرك المزيج بلطف، ووُضع في درجة حرارة (-20 م°) حتى اليوم الثاني ليترسب الـRNA، بعد ذلك ثُفلت الأنابيب مدة 5 دقائق على سرعة (10000 دورة/دقيقة)، ثمّ تمّ التخلص من الرشاحة، وأُضيف lµ200 من محلول الإيتانول 70% لراسب الـRNA وجفف بالهواء مدّة 10 دقائق بالثلج ومن ثم أُخذ الراسب الحاوي على الـRNA وتم حلّه في lµ40 ماء مقطر مُعقّم.

**ثانياً: تقدير نقاوة وسلامة RNA باستخدام الرحلان الكهربائي الأفقي:**

تمّ وبهدف التأكد من نجاح عملية استبعادDNA والتحقق من سلامة RNA، ترحيل عينات RNA المعاملة في هلامة أغاروز فورم ألدهيد Formaldehyde Agarose Gel مكونة من:

1.2g أغاروز و10ml المحلول الواقي 10xFA (200mM MOPS, 50mM sodium acetate, 10mM EDTA pH:7.0)، وأكمل المزيج السابق إلى 100ml بالماء الخالي من DNease وRNease، ثمّ سخن المزيج حتى ذوبان الأغاروز، ثمّ بُرد إلى درجة 60°م وأضيف للمزيج 8μl من محلول الإيثيديوم برومايد5mg/ml ، كما استخدم المحلول1XFA buffer

(100ml10x FA gel buffer, 20ml37%{12.3 M} Formaldehyde, 880ml RNase-free water) كمحلول منظم في جهاز الرحلان الكهربائي الأفقي.

تمت إضافة 12μl من محلول عينة RNA إلى 3μl من محلول سائل التحميل5xRNA Loading buffer ومزجت جيداً، ثم حُضنت على درجة حرارة 65°م مدة 3-5 دقائق، ونُقلت العينة مباشرة إلى الثلج (Sambrook وزملاؤه، 1989)، بعد ذلك حُملت العينات في هلامة الأغاروز، وأُجريت عملية الرحلان الكهربائي مدة 45 دقيقة، ثمّ صُورت الهلامة باستخدام جهاز توثيق الهلامات Cleaver, Scientific LTD، ويشير ظهور حزمتين حادتين Sharps فقط (28S RNAr و18S RNAr) إلى سلامة ونقاوة RNA.

**ثالثاً: تقدير تركيز ونقاوة RNA باستخدام المطياف الضوئي SpectropHotometer:**

من أجل تحديد تركيزRNA الممدد بالمحلول الموقيbuffer (10 mM Tris.Cl, pH 7.5)، تؤخذ قراءات الامتصاصية على طول موجة 260 نانومتر، وتطبق المعادلة التالية:

RNA con. (μg/μl) = {A260 x 100 x 40}

A260: الكثافة الضوئية لامتصاص الـ RNA (µg) عند الموجة 260 نانومتر.

100: (Dilution Factor) معامل ....

40: معامل التمديد (μg/ml).

ثم مددت بعض عينات الـ RNA بالماء الخالي من DNase وRNase للحصول على تركيز نهائي بقيمة 150 ng/μl، وقدرت نقاوة عينات RNA بقراءة الامتصاصية بين طول الموجة 260 و280 نانومتر، حيث تمتلك عينات الـRNA النقية قراءة تتراوح بين1.8 إلى 2.

**رابعاً:**  **تركيب السلسلة المتممة DNAc:**

تمّ تركيب السلسلة المتممة DNAc لجزيئات الـ RNAm بدءاً من 150 نانوغرام من الـ RNA الكلي باستخدام المرئسة oligo (dT)18، وأنزيم النسخ العكسي Revert Aid M-MuLV RT، وفق تعليمات الشركة المصنّعة (Scientific Thermo)، بتحضير التفاعل وفق الجدول (3).

**الجدول (3): مكونات تفاعل تركيب سلسلة DNAc**

|  |  |
| --- | --- |
| المكونات Components | العينة Sample |
| DNAc |
| Total RNA (150 ng/ µL) | 4 µl |
| Oligo (dT)18 primer (10 picomol) | 1 µl |
| 5X Reaction Buffer | 4 µl |
| Ribo Lock RNase Inhibitor (20 U/µL) | 1 µl |
| 10 mM dNTP Mix | 2 µl |
| Revert Aid M-MuLV RT (200 U/µL) | 1 µl |
| Water, nuclease-free | 7 µl |
| الحجم النهائي | 20 µl |

حيث أجري التفاعل في جهاز التدوير الحراري وفق البرنامج الحراري المبيّن في الجدول (4).

**الجدول (4): البرنامج الحراري المستخدم في تركيب سلسلة DNAc**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| مراحل التفاعل | امدة الزمنية | درجة الحرارة°C |
| مرحلة تركيب سلسلة DNAc | 60 min | 42 |
| مرحلة إيقاف التفاعل | 5 min | 70 |

كما تم الكشف عن مورثات تحمل الجفاف باستخدام بادئات متخصصة لهذه المورثات بواسطة جهاز التدوير الحراري PCR (Choi وزملاؤه، 1999)، الجدول (5)، تمَّ الحصول عليها من الهيئة العامة للطاقة الذرية السورية.

**الجدول (5): التسلسل النيكليوتيدي لمورثات الديهيدرين المسؤولة عن تحمل الجفاف ودرجة حرارة التحامها.**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| مورثة  الديهيدرين | Reverse Primers (3َ-5َ) | Forward Primers (3َ-5َ) | درجة حرارة الالتحام °C |
| Dhn12 | TCAGCTCGAGCTTGACGACT | GATGATCCAGCAGCAACTCA | 58 |
| Dhn14 | ATGGAGCACCAGGGAACA | TTAAACCAGAGATACATTTGCTCC | 55 |
| Dhn15 | TCAGTGCTGTCCCGGCAGCTT | ATGGAGTTCCAAGGGCAG | 54 |
| Dhn16 | GG GCAGCTTCTCCTTGATCTT | ATGGAGTACCAGGGACAGCAG | 55 |
| Dhn3 | GCGGAAGTTTTACTGCATCTCCATC | AGGCAACCAAGATCAACACCACCTG | 57 |
| Dhn6 | ACCAGGCCATGTCACAGTACTGC | TGACGTCGTGGCACACACCCTC | 59 |
| Dhn9 | AGGCTTCGACGCGTAGCTATGCAA | ATGGAGTTCCAAGGGCAGCAGGAC | 62 |

**الجدول (6): مكونات تفاعل البلمرة المتسلسل PCR للكشف عن مورثات الديهدرين**

|  |  |
| --- | --- |
| **الكميات** | **مكونات تفاعل البلمرة المتسلسل PCR** |
| 12.5 µl | 2X master mix |
| 2 µl (40 ng/µl) | DNA |
| 2 µl (10pmol/µl) | Primer F |
| 2 µl (10pmol/µl) | Primer R |
| 6.5 µl | H2O |

* 1. **التحليل الإحصائي:**

بالنسبة للدراسة البيوكيميائية:

وُضعت التجربة وفق تصميم القطاعات الكاملة العشوائية (R.C.B.D)، بمعدل ثلاثة مكررات لكل طراز ضمن موقع الزراعة، وتمَّ تبويب النتائج المتحصل عليها، وحُلّلت إحصائياً باستخدام برنامج التحليل الإحصائيGenestate-12 لحساب قيمة أقل فرق معنوي L.S.D (Least Significant Difference) على مستوى معنوية 5%. ومقارنة المتوسطات وتحديد معنوية الفروق فيما بينها.

بالنسبة للدراسة الجزيئية:

استخدمت في الدراسة الوراثية البرامج الإحصائية الخاصة بالتقانات الحيوية لتحليل النتائج، فجُمعت نتائج عملية الرحلان الكهربائي في جداول مخصصة، اعتماداً على مقارنة وجود أو غياب حزم الحمض النووي DNA بين النباتات، حيث أُعطي الرقم (1) عند وجود حزمةDNA ذات وزن جزيئي محدد عند أي طراز، والرقم (0) عند غيابها، ونُظِّمت الجداول لكل بادئة على حده (Zhong وزملاؤه، 2009؛ Adonina وزملاؤه، 2005).

حُدِّدت درجة القرابة الوراثية، ورُسمت شجرة القرابة الوراثية Dendrogramبين طرز القمح المدروسة بتطبيق طريقة التحليل العنقودي Cluster analysis، باستخدام برنامج Popgene1.31 الإحصائي حيث يسمح التحليل العنقودي بتقسيم الطرز المدروسة إلى مجموعات تعكس درجة القرابة الوراثية فيما بينها، فمن الممكن أن تتجمع العينات ضمن مجموعة واحدة بناءً على موطنها الأصلي، أو بناءً على أصلها ونسبها، ولهذا شُكِّلت مصفوفة النسب المئوية لعدم التوافق (PDV) Percent Disagreement Values، وقد تمَّ إنشاء هذه المصفوفة وفقاً لعدد وحدات التضاعف المشتركة بتطبيق متوسطات المجموعات الزوجية غير المزانة Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Averaging (UPGMA) حسب (Sneath و Sokal، 1973)، يدل ارتفاع قيم هذه المصفوفة على وجود اختلاف وراثي، وبازديادها يزداد التباين الوراثي بين العينات المدروسة (Nei، 1972). وحُسبت قيم معامل التعددية الشكلية PolimorpHism Information Content (PIC) للبادئات المستخدمة وفق المعادلة: PIC = {Σ 2Pi (1-Pi)} ، حيث Pi تكرارية الحزم ith الناتجة عن استخدام البادئ من جميع العينات المدروسة (Botstein وزملاؤه، 1980؛ Mohammadi و Prasanna، 2003).

**الفصل الثالث**

**النتائج والمناقشة RESULTS and DISCUSSION)):**

1. **المؤشرات البيوكيميائية:**
   1. **تأثير الإجهاد الجفافي في محتوى البرولين ميكروغرام/ غ وزن رطب:**

* **تأثير العوامل المستقلة:**

كان متوسط البرولين الأعلى معنوياً عند الصنف شام3 ( 14.485 ميكروغرام/ غ) بنسبة زيادة 62% عند التركيز -12بار بالمقارنة مع معاملة الشاهد, ونسبة زيادة 36% بعد مدة 72 ساعة من التعرض للإجهاد بالمقارنة مع مدة 24 ساعة في حين كان الأدنى معنوياً عند الصنف جولان2 (8.830 ميكروغرام/ غ). وبلغ متوسط قيمة هذا المؤشر للأصناف جميعها في ظروف الشاهد (6.552 ميكروغرام/ غ) وارتفع مع زيادة تركيز PEG إلى (13.358 ميكروغرام/ غ) عند التركيز -6 بار و إلى (14.229 ميكروغرام/ غ) عند التركيز -12 بار, كما أن قيمة البرولين زادت مع زيادة مدة الإجهاد الجفافي, فقد بلغ متوسط قيمته عند جميع الأصناف (9.806, 10.132, 14.200 ميكروغرام/ غ) وذلك بعد (24, 48, 72 ساعة) على التوالي. جدول (7).

* **تأثير العوامل المشتركة:**

كان التفاعل صنف × مستوى الإجهاد معنوياً في مؤشر المحتوى البروليني جدول (7) فقد حقق الصنف شام3 أعلى القيم بالنسبة لمتوسط هذا المؤشر عند مستوى الإجهاد -12 بار (17.060 ميكروغرام/ غ), أما أدنى القيم فكانت للصنف بحوث 10 عند الشاهد (4.139 ميكروغرام/ غ).

كان التفاعل صنف × مدة الإجهاد معنوياً في مؤشر المحتوى البروليني جدول (7) فقد حقق الصنف شام3 أعلى القيم بالنسبة لمتوسط هذا المؤشر بعد 72 ساعة من التعرض للإجهاد (16.798 ميكروغرام/ غ), أما أدنى القيم فكانت للصنف جولان2 بعد 24 ساعة (5.848 ميكروغرام/ غ).

كان التفاعل مستوى الإجهاد × مدة الإجهاد معنوياً في مؤشر المحتوى البروليني جدول (7) فقد حقق مستوى الإجهاد -12 بار أعلى القيم بالنسبة لمتوسط المحتوى البروليني بعد 72 ساعة من التعرض للإجهاد (18.826 ميكروغرام/ غ), أما أدنى القيم فكانت للشاهد (6.552 ميكروغرام/ غ).

كان التفاعل صنف × مستوى الإجهاد × مدة الإجهاد معنوياً في مؤشر المحتوى البروليني حيث يلاحظ من الجدول (7) ارتفاع قيمة البرولين مع زيادة مدة وشدة الإجهاد الجفافي في جميع الأصناف المدروسة, وكانت أعلى قيمة له (22.537 ميكروغرام/ غ), سجلت عند الصنف أكساد 65 بعد 72 ساعة من التعرض للإجهاد الجفافي بتركيز -12 بار. في حين سجلت أدنى قيمة له (4.139 ميكروغرام/ غ), عند الصنف بحوث10 في الشاهد.

وهذا يتفق مع ما توصل إليه (Monneveux et Nemmar.,1986). أن تراكم البرولين عند القمح غير مرتبط بمرحلة معينة من النمو إنما هو ناتج عن الإجهاد المائي, وكذلك النتائج التي توصلت إليها (الحماد, 2006) حيث أن المحتوى البروليني قد زاد بزيادة الفترة الزمنية التي عرض فيها نبات القمح للإجهاد الجفافي وذلك لتقليل الضرر الذي يسببه الإجهاد للخلايا. عن طريق تعطيش النباتات لمدة (3,6,9,12) يوم حيث سجل أعلى معدل(7,92 ميكروغرام/مل) وذلك بعد 12 يوم من تعطيش النباتات مقارنة بالشاهد الذي سجل (1,35ميكروغرام/مل), أما أدنى معدل فقد بلغ (1.67 ميكروغرام/مل) وذلك بعد 3 أيام من التعطيش. وما توصل إليه (الرجو,2021), حيث ارتفعت قيمة البرولين تحت ظروف الإجهاد الجفافي في جميع أصناف القمح المدروسة بنسبة 62.76% .

**الجدول(7) تأثير مستويات مختلفة من الإجهاد الجفافي في محتوى البرولين لدى طرز القمح المدروسة في مرحلة البادرة (ميكروغرام/ غ )**

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **الصنف A** | **الإجهاد (bar) B** | **مواعيد (ساعة) C** | | | **متوسط A\*B** | **متوسط A** | |
| **24** | **48** | **72** |
| **حوراني** | **شاهد** | 4.771 | 4.771 | 4.771 | **4.771** | **11.205** | |
| **-6** | 16.796 | 15.519 | 12.919 | **15.078** |
| **-12** | 11.579 | 16.934 | 12.786 | **13.766** |
| **متوسط A\*C** | | **11.049** | **12.408** | **10.159** |  | | |
| **أكساد 65** | **شاهد** | 4.898 | 4.898 | 4.898 | **4.898** | **12.629** | |
| **-6** | 14.940 | 11.861 | 21.264 | **16.022** |
| **-12** | 16.727 | 11.640 | **22.537** | **16.968** |
| **متوسط A\*C** | | **12.188** | **9.466** | **16.233** |  | | |
| **شام 3** | **شاهد** | 10.528 | 10.528 | 10.528 | **10.528** | **14.485** | |
| **-6** | 12.619 | 15.278 | 19.707 | **15.868** |
| **-12** | 14.031 | 16.988 | 20.160 | **17.060** |
| **متوسط A\*C** | | **12.393** | **14.265** | **16.798** |  | | |
| **جولان 2** | **شاهد** | 4.875 | 4.875 | 4.875 | **4.875** | **8.830** | |
| **-6** | 4.766 | 6.832 | 17.492 | **9.697** |
| **-12** | 7.904 | 9.396 | 18.459 | **11.920** |
| **متوسط A\*C** | | **5.848** | **7.034** | **13.609** |  | | |
| **بحوث 10** | **شاهد** | **4.139** | 4.139 | 4.139 | **4.139** | **10.037** | |
| **-6** | 8.014 | 11.549 | 18.801 | **12.788** |
| **-12** | 11.216 | 8.836 | 19.498 | **13.183** |
| **متوسط A\*C** | | **7.790** | **8.175** | **14.146** |  | | |
| **شام 10** | **شاهد** | 10.098 | 10.098 | 10.098 | **10.098** | **11.089** | |
| **-6** | 10.410 | 8.509 | 13.161 | **10.693** |
| **-12** | 8.191 | 9.725 | 19.515 | **12.477** |
| **متوسط A\*C** | | **9.566** | **9.444** | **14.258** | **متوسط B** | | |
| **متوسط B\*C** | **شاهد** | 6.552 | 6.552 | 6.552 | **6.552** | | |
| **-6** | 11.258 | 11.591 | 17.224 | **13.358** | | |
| **-12** | 11.608 | 12.253 | 18.826 | **14.229** | | |
| **متوسط C** | | **9.806** | **10.132** | **14.200** |  | | |
| **LSD 0.05** | **A** | **B** | **C** | **A\*B** | **A\*C** | **B\*C** | **A\*B\*C** |
| 1.7310 | 1.2240 | 1.2240 | 2.9982 | 2.9982 | 2.1200 | 5.1930 |

**الشكل (1) متوسط محتوى البرولين في الطرز المدروسة (ميكروغرام/غ)**

**2.1. تأثير الإجهاد الجفافي على محتوى الكلوروفيل ملغ/ غ:**

* **تأثير العوامل المستقلة:**

كان متوسط الكلوروفيل الأعلى معنوياً عند الصنف شام10 ( 49.211 ملغ/غ), بنسبة زيادة 65% عند التركيز -12بار بالمقارنة مع معاملة الشاهد, ونسبة زيادة 12% بعد مدة 72 ساعة من التعرض للإجهاد بالمقارنة مع مدة 24 ساعة في حين كان الأدنى معنوياً عند الصنف جولان2 (43.236 ملغ/غ). وبلغ متوسط قيمة الكلوروفيل للأصناف جميعها في ظروف الشاهد (33.498 ملغ/غ), وارتفع مع زيادة تركيز PEG إلى (50.558 ملغ/غ) عند التركيز -6 بار, و إلى (55.254 ملغ/غ) عند التركيز -12 بار, كما أن قيمة الكلوروفيل زادت مع زيادة مدة الإجهاد الجفافي, فقد بلغ متوسط قيمته عند جميع الأصناف (42.851, 48.303, 47.682 ملغ/غ) وذلك بعد (24, 48, 72 ساعة) على التوالي جدول(8).

* **تأثير العوامل المشتركة:**

كان التفاعل صنف × مستوى الإجهاد معنوياً في مؤشر المحتوى الكلوروفيلي جدول (8) فقد حقق الصنف بحوث10 أعلى القيم بالنسبة لمتوسط هذا المؤشر عند مستوى الإجهاد -12 بار (59.274 ملغ/غ), أما أدنى القيم فكانت للصنف جولان2 عند الشاهد (31.002 ملغ/غ).

كان التفاعل صنف × مدة الإجهاد معنوياً في مؤشر المحتوى الكلوروفيلي جدول (8) فقد حقق الصنف شام10 أعلى القيم بالنسبة لمتوسط هذا المؤشر بعد 72 ساعة من التعرض للإجهاد (51.779 ملغ/غ), أما أدنى القيم فكانت للصنف شام3 بعد 24 ساعة (38.348 ملغ/غ).

كان التفاعل مستوى الإجهاد × مدة الإجهاد معنوياً في مؤشر المحتوى الكلوروفيلي جدول (8) فقد حقق مستوى الإجهاد -12 بار أعلى القيم بالنسبة لمتوسط المحتوى الكلوروفيلي بعد 48 ساعة من التعرض للإجهاد (58.431 ملغ/غ), أما أدنى القيم فكانت للشاهد (33.504 ملغ/غ).

كان التفاعل صنف × مستوى الإجهاد × مدة الإجهاد معنوياً في مؤشر المحتوى الكلوروفيلي حيث يلاحظ من الجدول (8) ارتفاع قيمة الكلوروفيل مع زيادة مدة وشدة الإجهاد الجفافي في جميع الأصناف المدروسة, وكانت أعلى قيمة له (66.073 ملغ/غ) سجلت عند الصنف شام 10 بعد 72 ساعة من الإجهاد الجفافي بتركيز -12 بار, في حين سجلت أدنى قيمة له (31.002 ملغ/غ), عند الصنف جولان 2 في الشاهد.

وهكذا كانت النتائج التي توصل إليها (Bhupinder and Usha, 2003)حيث أشارت إلى ارتفاع محتوى الكلوروفيل في نبات القمح تحت ظروف الإجهاد الجفافي, وكذلك أيضاً توافقت نتائج هذا البحث مع ما توصل إليه (Ait Kaki,1993; Siakhène,1984). حيث اختلفت عدة أصناف من القمح في استجابتها, فمنها من خفضت تركيزها من الكلوروفيل, في حين وفي نفس الظروف تبنت أصناف أخرى طريقة معاكسة في المقاومة, كما أن تركيز الكلوروفيل تغير حسب مدة وشدة الإجهاد وهذا ما أشار إليه (Kpyoarissis et al., 1995; Zhang and Kirkham, 1996).

**الجدول(8) تأثير مستويات مختلفة من الإجهاد الجفافي في محتوى الكلوروفيل لدى طرز القمح في مرحلة البادرة (ملغ/ غ)**

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **الصنف A** | **الإجهاد (bar) B** | **مواعيد (ساعة) C** | | | **متوسط A\*B** | **متوسط A** | |
| **24** | **48** | **72** |
| **حوراني** | **شاهد** | 33.325 | 33.325 | 33.325 | **33.325** | **47.733** | |
| **-6** | 41.848 | 58.004 | 57.149 | **52.334** |
| **-12** | 55.381 | 59.101 | 58.138 | **57.540** |
| **متوسط A\*C** | | **43.518** | **50.143** | **49.537** |  | | |
| **أكساد 65** | **شاهد** | 36.523 | 36.523 | 36.523 | **36.523** | **47.004** | |
| **-6** | 47.574 | 56.655 | 49.111 | **51.113** |
| **-12** | 42.980 | 54.089 | 63.060 | **53.376** |
| **متوسط A\*C** | | **42.359** | **49.089** | **49.565** |  | | |
| **شام 3** | **شاهد** | 34.550 | 34.550 | 34.550 | **34.550** | **43.862** | |
| **-6** | 38.144 | 46.497 | 50.534 | **45.058** |
| **-12** | 42.351 | 54.693 | 58.886 | **51.977** |
| **متوسط A\*C** | | **38.348** | **45.247** | **47.990** |  | | |
| **جولان 2** | **شاهد** | **31.002** | 31.002 | 31.002 | **31.002** | **43.236** | |
| **-6** | 46.634 | 49.060 | 42.023 | **45.906** |
| **-12** | 46.493 | 57.185 | 54.727 | **52.802** |
| **متوسط A\*C** | | **41.376** | **45.749** | **42.584** |  | | |
| **بحوث 10** | **شاهد** | 31.394 | 31.394 | 31.394 | **31.394** | **46.637** | |
| **-6** | 45.864 | 56.308 | 45.555 | **49.242** |
| **-12** | 58.282 | 62.584 | 56.955 | **59.274** |
| **متوسط A\*C** | | **45.180** | **50.095** | **44.635** |  | | |
| **شام 10** | **شاهد** | 34.230 | 34.230 | 34.230 | **34.230** | **49.211** | |
| **-6** | 53.142 | 51.324 | **66.073** | **56.846** |
| **-12** | 51.704 | 62.936 | 55.033 | **56.558** |
| **متوسط A\*C** | | **46.359** | **49.497** | **51.779** | **متوسط B** | | |
| **متوسط B\*C** | **شاهد** | 33.486 | 33.504 | 33.504 | **33.498** | | |
| **-6** | 45.534 | 52.975 | 51.741 | **50.083** | | |
| **-12** | 49.532 | 58.431 | 57.800 | **55.254** | | |
| **متوسط C** | | **42.851** | **48.303** | **47.682** |  | | |
| **LSD 0.05** | **A** | **B** | **C** | **A\*B** | **A\*C** | **B\*C** | **A\*B\*C** |
| 3.3828 | 2.3920 | 2.3920 | 5.8591 | 5.8591 | 4.1430 | 10.1483 |

**الشكل (2) متوسط محتوى الكلوروفيل في الطرز المدروسة (مغ/غ)**

**3.1. تأثير الإجهاد الجفافي في محتوى السكريات الذائبة ملغ/ غرام:**

* **تأثير العوامل المستقلة:**

كان متوسط السكريات الأعلى معنوياً عند الصنف جولان2 ( 77.666 ملغ/ غ) بنسبة زيادة 26% عند التركيز -12بار بالمقارنة مع معاملة الشاهد, ونسبة زيادة 2% بعد مدة 72 ساعة من التعرض للإجهاد بالمقارنة مع مدة 24 ساعة في حين كان الأدنى معنوياً عند الصنف أكساد 65 (53.492 ملغ/ غ). وبلغ متوسط قيمة السكريات للأصناف جميعها في ظروف الشاهد (54.543 ملغ/ غ), وارتفع مع زيادة تركيز PEG إلى (66.049 ملغ/ غ) عند التركيز -6 بار, و إلى (66.656 ملغ/ غ) عند التركيز -12 بار, كما أن قيمة السكريات زادت مع زيادة مدة الإجهاد الجفافي, فقد بلغ متوسط قيمته عند جميع الأصناف (60.178, 63.501, 63,570 ملغ/ غ) وذلك بعد (24, 48, 72 ساعة) على التوالي. الجدول(9).

* **تأثير العوامل المشتركة:**

كان التفاعل صنف × مستوى الإجهاد معنوياً في مؤشر محتوى السكريات الذائبة جدول (9) فقد حقق الصنف جولان2 أعلى القيم بالنسبة لمتوسط هذا المؤشر عند مستوى الإجهاد -12 بار (84.800 ملغ/غ), أما أدنى القيم فكانت للصنف شام3 عند الشاهد (50.720 ملغ/غ).

كان التفاعل صنف × مدة الإجهاد معنوياً في مؤشر محتوى السكريات الذائبة جدول (9) فقد حقق الصنف جولان2 أعلى القيم بالنسبة لمتوسط هذا المؤشر بعد 48 ساعة من التعرض للإجهاد (79.800 ملغ/غ), أما أدنى القيم فكانت للصنف أكساد65 بعد 24 ساعة (51.913 ملغ /غ).

كان التفاعل مستوى الإجهاد × مدة الإجهاد معنوياً في مؤشر محتوى السكريات الذائبة جدول (9) فقد حقق مستوى الإجهاد -12 بار أعلى القيم بالنسبة لمتوسط هذا المؤشر بعد 72 ساعة من التعرض للإجهاد (68.618 ملغ /غ), أما أدنى القيم فكانت للشاهد (54.543 ملغ /غ).

كان التفاعل صنف × مستوى الإجهاد × مدة الإجهاد معنوياً في مؤشر محتوى السكريات الذائبة حيث يلاحظ من الجدول (9) ارتفاع قيمة هذا المؤشر مع زيادة مدة وشدة الإجهاد الجفافي في جميع الأصناف المدروسة, وكانت أعلى قيمة له (87.810 ملغ / غ) عند الصنف جولان 2 بعد 72 ساعة من الإجهاد الجفافي بتركيز -12 بار, في حين سجلت أدنى قيمة له (50.720 ميكروغرام/غ), عند الصنف شام3 في الشاهد.

اتفقت هذه النتائج مع ما توصل إليه (الرجو,2021), حيث زادت نسبة السكريات الذوابة مع زيادة شدة الإجهاد الجفافي حيث بلغت قيمتها (17.76 مغ/غ) في الصنف شام 5 عند تركيز PEG (-6 بار), مقارنة بالشاهد (11.78 مغ/غ).

**الجدول(9) تأثير مستويات مختلفة من الإجهاد الجفافي في محتوى السكريات الذائبة لدى طرز القمح المدروسة في مرحلة البادرة (ميكروغرام/غ)**

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **الصنف A** | **الإجهاد (bar) B** | **مواعيد (ساعة) C** | | | **متوسط A\*B** | **متوسط A** | |
| **24** | **48** | **72** |
| **حوراني** | **شاهد** | 52.240 | 52.240 | 52.240 | **52.240** | **58.888** | |
| **-6** | 59.430 | 58.800 | 59.800 | **59.343** |
| **-12** | 65.450 | 64.390 | 65.400 | **65.080** |
| **متوسط A\*C** | | **59.040** | **58.477** | **59.147** |  | | |
| **أكساد 65** | **شاهد** | 50.900 | 50.900 | 50.900 | **50.900** | **53.492** | |
| **-6** | 52.310 | 54.590 | 55.950 | **54.283** |
| **-12** | 52.530 | 55.600 | 57.750 | **55.293** |
| **متوسط A\*C** | | **51.913** | **53.697** | **54.867** |  | | |
| **شام 3** | **شاهد** | **50.720** | 50.720 | 50.720 | **50.720** | **54.629** | |
| **-6** | 53.760 | 56.600 | 56.230 | **55.530** |
| **-12** | 55.390 | 58.390 | 59.130 | **57.637** |
| **متوسط A\*C** | | **53.290** | **55.237** | **55.360** |  | | |
| **جولان 2** | **شاهد** | 67.430 | 67.430 | 67.430 | **67.430** | **77.666** | |
| **-6** | 81.330 | 84.250 | 76.720 | **80.767** |
| **-12** | 78.870 | 87.720 | **87.810** | **84.800** |
| **متوسط A\*C** | | **75.877** | **79.800** | **77.320** |  | | |
| **بحوث 10** | **شاهد** | 52.660 | 52.660 | 52.660 | **52.660** | **64.526** | |
| **-6** | 66.230 | 71.680 | 75.360 | **71.090** |
| **-12** | 66.030 | 72.360 | 71.090 | **69.827** |
| **متوسط A\*C** | | **61.640** | **65.567** | **66.370** |  | | |
| **شام 10** | **شاهد** | 53.310 | 53.310 | 53.310 | **53.310** | **65.298** | |
| **-6** | 63.850 | 80.770 | 81.230 | **75.283** |
| **-12** | 60.760 | 70.610 | 70.530 | **67.300** |
| **متوسط A\*C** | | **59.307** | **68.230** | **68.357** | **متوسط B** | | |
| **متوسط B\*C** | **شاهد** | 54.543 | 54.543 | 54.543 | **54.543** | | |
| **-6** | 62.818 | 67.782 | 67.548 | **66.049** | | |
| **-12** | 63.172 | 68.178 | 68.618 | **66.656** | | |
| **متوسط C** | | **60.178** | **63.501** | **63.570** |  | | |
| **LSD 0.05** | **A** | **B** | **C** | **A\*B** | **A\*C** | **B\*C** | **A\*B\*C** |
| 6.1670 | 4.3610 | 4.3610 | 10.6820 | 10.6820 | 7.5540 | 18.5020 |

**الشكل (3) متوسط محتوى السكريات الذائبة في الطرز المدروسة (ميكروغرام/غ)**

**4.1. تأثير الإجهاد الجفافي في محتوى الأوراق من المالون داي ألدهيد ميكرو مول/ غ:**

* **تأثير العوامل المستقلة:**

كان متوسط MDA في الأوراق الأعلى معنوياً عند الصنف حوراني ( 10.051 ميكرومول/غ), بنسبة زيادة 50% عند التركيز -12بار بالمقارنة مع معاملة الشاهد, ونسبة زيادة 42% بعد مدة 72 ساعة من التعرض للإجهاد بالمقارنة مع مدة 24 ساعة, في حين كان الأدنى معنوياً عند الصنف شام3 (7.978 ميكرومول/غ). وبلغ متوسط قيمة MDA للأصناف جميعها في ظروف الشاهد (6.245 ميكرومول/غ), وارتفع مع زيادة تركيز PEG إلى (9.671 ميكرومول/غ) عند التركيز -6 بار, و إلى (10.624 ميكرومول/غ) عند التركيز -12 بار, كما أن قيمة MDA زادت مع زيادة مدة الإجهاد الجفافي, فقد بلغ متوسط قيمته عند جميع الأصناف ( 6.576, 8.232, 11.741 ميكرومول/غ ) وذلك بعد (24, 48, 72 ساعة) على التوالي. جدول (10).

* **تأثير العوامل المشتركة:**

كان التفاعل صنف × مستوى الإجهاد معنوياً في محتوى الأوراق من MDA جدول (10) فقد حقق الصنف جولان2 أعلى القيم بالنسبة لمتوسط هذا المؤشر عند مستوى الإجهاد -6 بار (12.270 ميكرومول/غ), أما أدنى القيم فكانت أيضاً للصنف جولان2 عند الشاهد (5.770 ميكرومول/غ).

أما التفاعل صنف × مدة الإجهاد معنوياً في محتوى الأوراق من MDA جدول (10) فقد حقق الصنف جولان2 أعلى القيم بالنسبة لمتوسط هذا المؤشر بعد 72 ساعة من التعرض للإجهاد (13.320 ميكرومول/غ), أما أدنى القيم فكانت للصنف بحوث10 بعد 24 ساعة (5.940 ميكرومول/غ).

في حين كان التفاعل مستوى الإجهاد × مدة الإجهاد معنوياً في محتوى الأوراق من MDA جدول (10) فقد حقق مستوى الإجهاد -12 بار أعلى القيم بالنسبة لمتوسط محتوى الأوراق من MDA بعد 72 ساعة من التعرض للإجهاد (15.397 ميكرومول/غ), أما أدنى القيم فكانت للشاهد (6.245 ميكرومول/غ).

كان التفاعل صنف × مستوى الإجهاد × مدة الإجهاد معنوياً في محتوى الأوراق من MDA حيث يلاحظ من الجدول (10) ارتفاع محتوى المالون داي ألدهيد في الأوراق مع زيادة شدة ومدة الإجهاد الجفافي, وبلغ أعلى قيمة له (18.790 ميكرومول/غ) عند الصنف شام 10 بعد 72 ساعة من الإجهاد الجفافي بتركيز -12 بار. في حين كانت أدنى قيمة له عند الصنف جولان2 (5.770 ميكرومول/غ) في الشاهد.

**الجدول(10) تأثير مستويات مختلفة من الإجهاد الجفافي في محتوى الأوراق من ال MDA لدى طرز القمح المدروسة في مرحلة البادرة (ميكرومول / غرام)**

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **الصنف A** | **الإجهاد (bar) B** | **مواعيد (ساعة) C** | | | **متوسط A\*B** | **متوسط A** | |
| **24** | **48** | **72** |
| **حوراني** | **شاهد** | 8.020 | 8.020 | 8.020 | **8.020** | **10.051** | |
| **-6** | 8.380 | 8.980 | 12.950 | **10.103** |
| **-12** | 8.630 | 13.010 | 14.450 | **12.030** |
| **متوسط A\*C** | | **8.343** | **10.003** | **11.807** |  | | |
| **أكساد 65** | **شاهد** | 5.900 | 5.900 | 5.900 | **5.900** | **8.457** | |
| **-6** | 5.950 | 9.380 | 12.550 | **9.293** |
| **-12** | 6.610 | 9.210 | 14.710 | **10.177** |
| **متوسط A\*C** | | **6.153** | **8.163** | **11.053** |  | | |
| **شام 3** | **شاهد** | 6.080 | 6.080 | 6.080 | **6.080** | **7.978** | |
| **-6** | 6.180 | 6.710 | 12.170 | **8.353** |
| **-12** | 6.680 | 10.240 | 11.580 | **9.500** |
| **متوسط A\*C** | | **6.313** | **7.677** | **9.943** |  | | |
| **جولان 2** | **شاهد** | **5.770** | 5.770 | 5.770 | **5.770** | **9.711** | |
| **-6** | 6.450 | 12.750 | 17.610 | **12.270** |
| **-12** | 6.640 | 10.060 | 16.580 | **11.093** |
| **متوسط A\*C** | | **6.287** | **9.527** | **13.320** |  | | |
| **بحوث 10** | **شاهد** | 5.880 | 5.880 | 5.880 | **5.880** | **8.056** | |
| **-6** | 6.040 | 6.270 | 14.280 | **8.863** |
| **-12** | 5.900 | 6.100 | 16.270 | **9.423** |
| **متوسط A\*C** | | **5.940** | **6.083** | **12.143** |  | | |
| **شام 10** | **شاهد** | 5.820 | 5.820 | 5.820 | **5.820** | **8.827** | |
| **-6** | 6.440 | 9.050 | 11.930 | **9.140** |
| **-12** | 6.830 | 8.940 | **18.790** | **11.520** |
| **متوسط A\*C** | | **6.363** | **7.937** | **12.180** | **متوسط B** | | |
| **متوسط B\*C** | **شاهد** | 6.245 | 6.245 | 6.245 | **6.245** | | |
| **-6** | 6.573 | 8.857 | 13.582 | **9.671** | | |
| **-12** | 6.882 | 9.593 | 15.397 | **10.624** | | |
| **متوسط C** | | **6.567** | **8.232** | **11.741** |  | | |
| **LSD 0.05** | **A** | **B** | **C** | **A\*B** | **A\*C** | **B\*C** | **A\*B\*C** |
| 0.3090 | 0.2190 | 0.2190 | 0.5360 | 0.5360 | 0.3790 | 0.9280 |

**الشكل (4) متوسط محتوى المالون داي ألدهيد للأوراق في الطرز المدروسة (ميكرومول/غ)**

**5.1. تأثير الإجهاد الجفافي في محتوى الجذور من المالون داي ألدهيد ميكرو مول/ غ:**

* **تأثير العوامل المستقلة:**
* كان متوسط MDA في الجذور الأعلى معنوياً عند الصنف شام3 ( 9.998 ميكرومول/غ), بنسبة زيادة 69% عند التركيز -12بار بالمقارنة مع معاملة الشاهد, ونسبة زيادة 158% بعد مدة 72 ساعة من التعرض للإجهاد بالمقارنة مع مدة 24 ساعة في حين كان الأدنى معنوياً عند الصنف شام10 (2.236 ميكرومول/غ). وبلغ متوسط قيمة MDA للأصناف جميعها في ظروف الشاهد (1.777 ميكرومول/غ), ارتفع مع زيادة تركيز PEG إلى (3.031 ميكرومول/غ) عند التركيز -6 بار, و إلى (3.259 ميكرومول/غ) عند التركيز -12 بار, كما أن قيمة MDA زادت مع زيادة مدة الإجهاد الجفافي, فقد بلغ متوسط قيمته عند جميع الأصناف ( 1.710, 1.959, 4.397 ميكرومول/غ ) وذلك بعد (24, 48, 72 ساعة) على التوالي جدول (11).
* **تأثير العوامل المشتركة:**

كان التفاعل صنف × مستوى الإجهاد معنوياً في محتوى الجذور من MDA جدول (11) فقد حقق الصنف أكساد65 أعلى القيم بالنسبة لمتوسط هذا المؤشر عند مستوى الإجهاد -12 بار (3.823 ميكرومول/غ), أما أدنى القيم فكانت أيضاً للصنف شام10 عند الشاهد (1.360 ميكرومول/غ).

أما التفاعل صنف × مدة الإجهاد معنوياً في محتوى الجذور من MDA جدول (11) فقد حقق الصنفان حوراني, وشام3 أعلى القيم بالنسبة لمتوسط هذا المؤشر بعد 72 ساعة من التعرض للإجهاد (4.920 ميكرومول/غ), أما أدنى القيم فكانت للصنف شام10 بعد 24 ساعة (1.343 ميكرومول/غ).

وكذلك كان التفاعل مستوى الإجهاد × مدة الإجهاد معنوياً في محتوى الجذور من MDA جدول (11) فقد حقق مستوى الإجهاد -12 بار أعلى القيم بالنسبة لمتوسط محتوى الجذور من MDA بعد 72 ساعة من التعرض للإجهاد (6.022 ميكرومول/غ), أما أدنى القيم فكانت لمستوى الإجهاد -12 بار بالنسبة لمتوسط محتوى الجذور من MDA بعد 24 ساعة من التعرض للإجهاد (1.675ميكرومول/غ).

كان التفاعل صنف × مستوى الإجهاد × مدة الإجهاد معنوياً في محتوى الجذور من MDA حيث يلاحظ من الجدول (11) ارتفاع محتوى المالون داي ألدهيد في الجذور مع زيادة شدة ومدة الإجهاد الجفافي, وبلغ أعلى قيمة له (6.900 ميكرومول/غ) عند الصنف حوراني بعد 72 ساعة من الإجهاد الجفافي بتركيز -12 بار, في حين كانت أدنى قيمة له عند الصنف شام10 (1.300ميكرومول/غ).

تتفق هذه النتائج مع ما توصل إليه (Wei *et al*., 2015), حيث زاد محتوى MDA في أوراق وجذور بادرات القمح المعرضة لظروف الإجهاد الجفافي بطريقة تعتمد على الوقت, وما توصل إليه (Guo *et al*., 2018) عند تعريضه بادرات العوسج لظروف الإجهاد الجفافي حيث أبدت الأوراق تراكمات من MDA أعلى منها في الجذور.

**الجدول(11) تأثير مستويات مختلفة من الإجهاد الجفافي في محتوى الجذور من ال MDA لدى طرز القمح المدروسة في مرحلة البادرة (ميكرومول / غرام)**

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **الصنف A** | **الإجهاد (bar) B** | **مواعيد (ساعة) C** | | | **متوسط A\*B** | **متوسط A** | |
| **24** | **48** | **72** |
| **حوراني** | **شاهد** | 2.060 | 2.060 | 2.060 | **2.060** | **2.908** | |
| **-6** | 1.880 | 1.890 | 5.800 | **3.190** |
| **-12** | 1.780 | 1.740 | **6.900** | **3.473** |
| **متوسط A\*C** | | **1.907** | **1.897** | **4.920** |  | | |
| **أكساد 65** | **شاهد** | 1.630 | 1.630 | 1.630 | **1.630** | **2.951** | |
| **-6** | 2.270 | 2.310 | 5.620 | **3.400** |
| **-12** | 1.580 | 3.000 | 6.890 | **3.823** |
| **متوسط A\*C** | | **1.827** | **2.313** | **4.713** |  | | |
| **شام 3** | **شاهد** | 2.140 | 2.140 | 2.140 | **2.140** | **2.998** | |
| **-6** | 1.650 | 2.300 | 5.770 | **3.240** |
| **-12** | 2.020 | 1.970 | 6.850 | **3.613** |
| **متوسط A\*C** | | **1.937** | **2.137** | **4.920** |  | | |
| **جولان 2** | **شاهد** | 2.060 | 2.060 | 2.060 | **2.060** | **2.780** | |
| **-6** | 1.400 | 1.970 | 5.750 | **3.040** |
| **-12** | 1.740 | 1.900 | 6.080 | **3.240** |
| **متوسط A\*C** | | **1.733** | **1.977** | **4.630** |  | | |
| **بحوث 10** | **شاهد** | 1.410 | 1.410 | 1.410 | **1.410** | **2.260** | |
| **-6** | 1.500 | 1.870 | 4.460 | **2.610** |
| **-12** | 1.630 | 2.100 | 4.550 | **2.760** |
| **متوسط A\*C** | | **1.513** | **1.793** | **3.473** |  | | |
| **شام 10** | **شاهد** | 1.360 | 1.360 | 1.360 | **1.360** | **2.236** | |
| **-6** | 1.370 | 1.780 | 4.960 | **2.703** |
| **-12** | **1.300** | 1.770 | 4.860 | **2.643** |
| **متوسط A\*C** | | **1.343** | **1.637** | **3.727** | **متوسط B** | | |
| **متوسط B\*C** | **شاهد** | 1.777 | 1.777 | 1.777 | **1.777** | | |
| **-6** | 1.678 | 2.020 | 5.393 | **3.031** | | |
| **-12** | 1.675 | 2.080 | 6.022 | **3.259** | | |
| **متوسط C** | | **1.710** | **1.959** | **4.397** |  | | |
| **LSD 0.05** | **A** | **B** | **C** | **A\*B** | **A\*C** | **B\*C** | **A\*B\*C** |
| 0.0150 | 0.0100 | 0.0100 | 0.0250 | 0.0250 | 0.0180 | 0.0440 |

**الشكل (5) متوسط محتوى المالون داي ألدهيد للجذور في الطرز المدروسة (ميكرومول/غ)**

**6.1. تأثير الإجهاد الجفافي في المحتوى المائي النسبي % للأوراق:**

* **تأثير العوامل المستقلة:**

كان متوسط RWC في الأوراق الأعلى معنوياً عند الصنف بحوث 10 (55.678%), بنسبة انخفاض 68% عند التركيز -12بار بالمقارنة مع معاملة الشاهد, ونسبة انخفاض 35% بعد مدة 72 ساعة من التعرض للإجهاد بالمقارنة مع مدة 24 ساعة, في حين كان الأدنى معنوياً عند الصنف جولان2 (41.936%). حيث كان متوسط قيمة RWC للأصناف جميعها في ظروف الشاهد (102.470%), وانخفض مع زيادة تركيز PEG إلى (28.309%) عند التركيز -6 بار, و إلى (22.602%) عند التركيز -12 بار, كما أن قيمة RWC انخفضت مع زيادة مدة التعرض للإجهاد الجفافي, فقد بلغ متوسط قيمته عند جميع الأصناف (63.317, 47.002, 43.042 %) وذلك بعد (24, 48, 72 ساعة) على التوالي الجدول (12).

* **تأثير العوامل المشتركة:**

كان التفاعل صنف × مستوى الإجهاد معنوياً في محتوى الأوراق من RWC جدول (12) فقد حقق الصنف حوراني أعلى القيم بالنسبة لمتوسط هذا المؤشر عند الشاهد (119.270%), أما أدنى القيم فكانت أيضاً للصنف جولان2 عند التركيز -12 بار (13.590%).

كان التفاعل صنف × مدة الإجهاد معنوياً في محتوى الأوراق من RWC جدول (12) فقد حقق الصنف أكساد65 أعلى القيم بالنسبة لمتوسط هذا المؤشر بعد 24 ساعة من التعرض للإجهاد (74.780%), أما أدنى القيم فكانت للصنف جولان2 بعد 72 ساعة (37.070%).

كان التفاعل مستوى الإجهاد × مدة الإجهاد معنوياً في محتوى الأوراق من RWC جدول (12) فقد حقق الشاهد أعلى القيم بالنسبة لمتوسط محتوى الأوراق من RWC (102.470%), أما أدنى القيم فكانت للتركيز -6 بار بعد 72 ساعة من التعرض للإجهاد (13.163%).

كان التفاعل صنف × مستوى الإجهاد × مدة الإجهاد معنوياً في محتوى الأوراق من RWC حيث يلاحظ من الجدول (12) انخفاض محتوى RWC في الأوراق مع زيادة شدة ومدة الإجهاد الجفافي, وبلغ أعلى قيمة له (119.270%) عند الصنف حوراني عند الشاهد, في حين كانت أدنى قيمة له عند الصنف شام10 (9.910%) بعد 48 ساعة من الإجهاد عند التركيز -6 بار.

**الجدول(12) تأثير مستويات مختلفة من الإجهاد الجفافي في المحتوى المائي النسبي للأوراق لدى طرز القمح المدروسة في مرحلة البادرة (%)**

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **الصنف A** | **الإجهاد (bar) B** | **مواعيد (ساعة) C** | | | **متوسط A\*B** | **متوسط A** | |
| **24** | **48** | **72** |
| **حوراني** | **شاهد** | **119.270** | 119.270 | 119.270 | **119.270** | **55.670** | |
| **-6** | 45.490 | 25.480 | 14.190 | **28.387** |
| **-12** | 22.390 | 24.450 | 11.220 | **19.353** |
| **متوسط A\*C** | | **62.383** | **56.400** | **48.227** |  | | |
| **أكساد 65** | **شاهد** | 94.970 | 94.970 | 94.970 | **94.970** | **53.416** | |
| **-6** | 71.270 | 27.620 | 13.580 | **37.490** |
| **-12** | 58.100 | 12.840 | 12.420 | **27.787** |
| **متوسط A\*C** | | **74.780** | **45.143** | **40.323** |  | | |
| **شام 3** | **شاهد** | 109.630 | 109.630 | 109.630 | **109.630** | **53.468** | |
| **-6** | 40.780 | 20.250 | 15.070 | **25.367** |
| **-12** | 32.780 | 29.120 | 14.320 | **25.407** |
| **متوسط A\*C** | | **61.063** | **53.000** | **46.340** |  | | |
| **جولان 2** | **شاهد** | 86.280 | 86.280 | 86.280 | **86.280** | **41.936** | |
| **-6** | 50.460 | 12.740 | 14.610 | **25.937** |
| **-12** | 16.430 | 14.020 | 10.320 | **13.590** |
| **متوسط A\*C** | | **51.057** | **37.680** | **37.070** |  | | |
| **بحوث 10** | **شاهد** | 107.290 | 107.290 | 107.290 | **107.290** | **55.678** | |
| **-6** | 47.890 | 19.850 | 10.030 | **25.923** |
| **-12** | 58.920 | 21.670 | 20.870 | **33.820** |
| **متوسط A\*C** | | **71.367** | **49.603** | **46.063** |  | | |
| **شام 10** | **شاهد** | 97.380 | 97.380 | 97.380 | **97.380** | **46.596** | |
| **-6** | 58.840 | **9.910** | 11.500 | **26.750** |
| **-12** | 21.540 | 13.620 | 11.810 | **15.657** |
| **متوسط A\*C** | | **59.253** | **40.303** | **40.230** | **متوسط B** | | |
| **متوسط B\*C** | **شاهد** | 102.470 | 102.470 | 102.470 | **102.470** | | |
| **-6** | 52.455 | 19.308 | 13.163 | **28.309** | | |
| **-12** | 35.027 | 19.287 | 13.493 | **22.602** | | |
| **متوسط C** | | **63.317** | **47.022** | **43.042** |  | | |
| **LSD 0.05** | **A** | **B** | **C** | **A\*B** | **A\*C** | **B\*C** | **A\*B\*C** |
| 0.0820 | 0.0580 | 0.0580 | 0.1410 | 0.1410 | 0.1000 | 0.2450 |

**الشكل (6) متوسط المحتوى المائي النسبي للأوراق في الطرز المدروسة (%)**

**7.1. تأثير الإجهاد الجفافي في المحتوى المائي النسبي % للجذور:**

* **تأثير العوامل المستقلة:**

كان متوسط RWC الأعلى معنوياً عند الصنف شام 10 (78.403%) بنسبة زيادة 79% عند التركيز -12بار بالمقارنة مع معاملة الشاهد, ونسبة زيادة 122% بعد مدة 72 ساعة من التعرض للإجهاد بالمقارنة مع مدة 24 ساعة, في حين كان الأدنى معنوياً عند الصنف شام3 (30.713%). حيث كان متوسط قيمة RWC للأصناف جميعها في ظروف الشاهد (39.490%), وارتفع مع زيادة تركيز PEG إلى (52.906%) عند التركيز -6 بار, و إلى (59.671%) عند التركيز -12 بار, كما أن قيمة RWC زادت مع زيادة مدة التعرض للإجهاد الجفافي, فقد بلغ متوسط قيمته عند جميع الأصناف (30.246, 59.084, 62.736%) وذلك بعد (24, 48, 72 ساعة) على التوالي الجدول (13).

* **تأثير العوامل المشتركة:**

كان التفاعل صنف × مستوى الإجهاد معنوياً في محتوى الجذور من RWC جدول (13) فقد حقق الصنف شام10 أعلى القيم بالنسبة لمتوسط هذا المؤشر عند مستوى الإجهاد -12 بار (93.720%), أما أدنى القيم فكانت أيضاً للصنف أكساد65 عند الشاهد (18.420%).

يعد تقييم التنوع الوراثي باستخدام المؤشرات الجزيئية حجر الزاوية لفهم البناء الجينومي, وتوصيف وبقاء التنوع الوراثي في المادة الوراثية للنباتات, وتحديد المورثات المحدد للصفات المهمة.

أما التفاعل صنف × مدة الإجهاد معنوياً في محتوى الجذور من RWC جدول (13) فقد حقق الصنف شام 10 أعلى القيم بالنسبة لمتوسط هذا المؤشر بعد 72 ساعة من التعرض للإجهاد (97.710%), أما أدنى القيم فكانت للصنف أكساد65 بعد 24 ساعة (19.643%).

وكذلك كان التفاعل مستوى الإجهاد × مدة الإجهاد معنوياً في محتوى الجذور من RWC جدول (13) فقد حقق مستوى الإجهاد -12 بار أعلى القيم بالنسبة لمتوسط محتوى الجذور من RWC بعد 72 ساعة من التعرض للإجهاد (76.468%), أما أدنى القيم فكانت عند مستوى الإجهاد -6 بار بعد 24 ساعة من التعرض للإجهاد (24.690%).

كان التفاعل صنف × مستوى الإجهاد × مدة الإجهاد معنوياً في محتوى الجذور من RWC حيث يلاحظ من الجدول (13) ارتفاع محتوى RWC في الجذور مع زيادة شدة ومدة الإجهاد الجفافي, وبلغ أعلى قيمة له (135.440%) عند الصنف شام 10 بعد 48 ساعة من الإجهاد الجفافي بتركيز -12 بار, في حين كانت أدنى قيمة له عند الصنف حوراني (9.330%).

وهذا ما أشار إليه (Yang and Miao, 2010) أن شدة تأثر RWC تعتمد على شدة ومدة الإجهاد والأنواع النباتية . واتفقت مع النتائج التي توصل إليها (Lui *et al.,* 2015) . بالنسبة لمحتوى RWC في الأوراق واختلفت بالنسبة لمحتواه في الجذور. فقد أشار إلى أن RWC في أوراق القمح انخفض بنسبة 1.92٪ بعد 24 ساعة من الجفاف وبنسبة 6.64٪ بعد 48 ساعة مقارنة مع الشاهد, و انخفضت أيضاً في الجذور فقد كانت نسبة الانخفاض 9.47% بعد 24 ساعة و 13.66% بعد 48 ساعة. يمكن أن يرجع تزايد المحتوى المائي في الجذور إلى أنه في ظروف الجفاف تبقى الجذور تبحث عن الماء, وتكون قادرة لفترة أن تزود النبات بكمية من الماء الضروري للنمو, لذلك فالرسائل الهرمونية المرسلة من قبل الجذور تكون قادرة على تقليل النمو قبل ظهور الأذى المرئي الذي يسببه الإجهاد (Gowing et al., 1993).

**الجدول(13) تأثير مستويات مختلفة من الإجهاد الجفافي في المحتوى المائي النسبي للجذور لدى طرز القمح المدروسة في مرحلة البادرة (%)**

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **الصنف A** | **الإجهاد (bar) B** | **مواعيد (ساعة) C** | | | **متوسط A\*B** | **متوسط A** | |
| **24** | **48** | **72** |
| **حوراني** | **شاهد** | 90.990 | 90.990 | 90.990 | **90.990** | **60.646** | |
| **-6** | 11.230 | 26.370 | 91.990 | **43.197** |
| **-12** | **9.330** | 44.540 | 89.380 | **47.750** |
| **متوسط A\*C** | | **37.183** | **53.967** | **90.787** |  | | |
| **أكساد 65** | **شاهد** | 18.420 | 18.420 | 18.420 | **18.420** | **41.142** | |
| **-6** | 21.210 | 55.410 | 43.850 | **40.157** |
| **-12** | 19.300 | 79.690 | 95.560 | **64.850** |
| **متوسط A\*C** | | **19.643** | **51.173** | **52.610** |  | | |
| **شام 3** | **شاهد** | 21.180 | 21.180 | 21.180 | **21.180** | **30.713** | |
| **-6** | 29.090 | 25.060 | 49.670 | **34.607** |
| **-12** | 21.440 | 14.240 | 73.380 | **36.353** |
| **متوسط A\*C** | | **23.903** | **20.160** | **48.077** |  | | |
| **جولان 2** | **شاهد** | 25.470 | 25.470 | 25.470 | **25.470** | **44.283** | |
| **-6** | 21.320 | 79.350 | 68.400 | **56.357** |
| **-12** | 31.980 | 95.840 | 25.250 | **51.023** |
| **متوسط A\*C** | | **26.257** | **66.887** | **39.707** |  | | |
| **بحوث 10** | **شاهد** | 28.570 | 28.570 | 28.570 | **28.570** | **48.946** | |
| **-6** | 29.090 | 88.570 | 44.150 | **53.937** |
| **-12** | 33.770 | 89.360 | 69.860 | **64.330** |
| **متوسط A\*C** | | **30.477** | **68.833** | **47.527** |  | | |
| **شام 10** | **شاهد** | 52.310 | 52.310 | 52.310 | **52.310** | **78.403** | |
| **-6** | 36.200 | 95.900 | **135.440** | **89.180** |
| **-12** | 43.530 | 132.250 | 105.380 | **93.720** |
| **متوسط A\*C** | | **44.013** | **93.487** | **97.710** | **متوسط B** | | |
| **متوسط B\*C** | **شاهد** | 39.490 | 39.490 | 39.490 | **39.490** | | |
| **-6** | 24.690 | 61.777 | 72.250 | **52.906** | | |
| **-12** | 26.558 | 75.987 | 76.468 | **59.671** | | |
| **متوسط C** | | **30.246** | **59.084** | **62.736** |  | | |
| **LSD 0.05** | **A** | **B** | **C** | **A\*B** | **A\*C** | **B\*C** | **A\*B\*C** |
| 2.5980 | 1.8370 | 1.8370 | 4.5000 | 4.5000 | 3.1820 | 7.7940 |

**الشكل(7) متوسط المحتوى المائي النسبي للجذور في الطرز المدروسة (%)**

1. **المؤشرات الجزيئية:**

**1.2. دراسة القرابة الوراثية باستخدام تقنية التكرارات الترادفية البسيطة الداخلية ISSR**

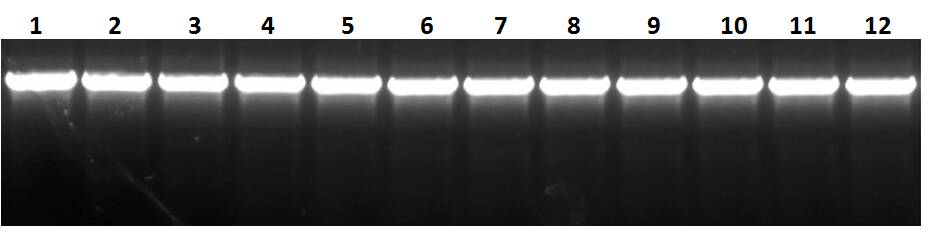
استُخلص الحمض النووي DNA من البادرات الفتية بعمر 3 أسابيع، وقيس تركيزه ونقاوته بجهاز المطياف الضوئي، ومُدد تركيزه ليصبح 40 ng/µl، وطبقت عملية الرحلان الكهربائي على هلامة الآغاروز بتركيز 0.8 % لمعرفة نوعية الحمض النووي DNA المستعمل.

**1.1.2. اختبار جودة الــ DNA المستخلص على هلامة الأغاروز بواسطة الرحلان الكهربائي:**

يبدو الحمض النووي DNA المستخلص على هلامة الأغاروز على شكل حزم أو عصابات مضيئة، حيث تتميز العينات الجيدة باحتوائها على جزيئات DNA ذات وزن جزيئي مرتفع، لذلك نجد الـــــ DNA بأعلى الهلامة دالاً على نوعية جيدة عندما تكون خالية من التقطعات، الشكل(8)، أمَّا عند حدوث تقطعات في شريط الـــــــ DNA أثناء عمليات التحضير، فإنَّ ذلك يؤدي إلى الحصول على جزئيات DNAتتدرج في أوزانها الجزيئية، وتظهر على هلامة الأغاروز على شكل خط مضيء طويل أسفل قطع DNA السليمة تدعى Smeer.

**الشكل (8) اختبار نوعية الحمض النووي DNA المستخلص من الطرز الوراثية المدروسة بعد تمريرها على هلامة الأغاروز** **1% وتلوينها بالايثيديوم برومايد**

**1: حوراني, 2: أكساد65, 3: شام3, 4: شام5, 5: بحوث9, 6: دوما6, 7: دوما2, 8: جولان2, 9: بحوث10, 10: شام10 .**



**2.1.2. تقدير تركيز الــــ DNA باستخدام المطياف الضوئي Spectrophotometer**

أظهر حساب النسبة بين قراءات تركيز عينات الـــ DNA المُستخلص من الطرز الوراثية المدروسة عند موجات ضوئية بطول 260/280 نانو متر وباستخدام المطياف الضوئي قيماً تتراوح بين ...... و ....... وهي تُشير إلى نقاوة جيدة من الـــــــ DNA، كما قُدِّرت تراكيز عينات الـــــ DNA ما بين (0.29 – 0.43 µg/µl) في المحلول المنظم الذي خزنت فيه هذه العينات، ويوضح الجدول (14) نتائج تقدير تراكيز الــــ DNA المستخلص من العينات المدروسة.

**الجدول (14): قراءات المطياف الضوئي عند أطوال موجات 260 و 280 نانومتر وتحديد تركيز ونقاوة عينات الـحمض النووي DNA المستخلصة مقدراً بالميكروغرام/ميكروليتر.**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **الطرز الوراثية** | **OD 260 /OD 280** | **تركيز الـ DNA**  **µg/µl** |
| **حوراني** |  |  |
| **أكساد65** |  |  |
| **شام3** |  |  |
| **بحوث9** |  |  |
| **شام5** |  |  |
| **دوما2** |  |  |
| **دوما6** |  |  |
| **جولان2** |  |  |
| **بحوث10** |  |  |
| **شام10** |  |  |

**3.1.2. التعددية الشكلية الناتجة عن تطبيق تقنية ISSR في طرز القمح القاسي والطري:**

تضمنت الدراسة اختبار 32 بادئة، ويبين الجدول (13) أنّ 17 بادئة منها أثبتت فعاليتها في إعطاء تعددية شكلية بين الطرز الوراثية المدروسة في تفاعل التسلسل البوليميرازي ، في حين لم تعطِ 5 بادئات أي نتائج تضخيم، ونجم عن استخدام هذه البادئات ما مجموعه 122 حزمة، تراوح عدد الحزم لكل بادئة من 3 حزم كأقل عدد مع البادئتين (ISSR-40، ISSR-36)، و14 حزمة كأعلى عدد مع البادئة (ISSR-18)، بمتوسط 7.2 حزمة لكل بادئة. وبلغت النسبة المئوية للتعددية الشكلية Polymorphic (93.4 %), تراوحت بين 50% مع البادئة (ISSR-6) و 100% مع كل من البادئات (ISSR-2, ISSR-4, ISSR-15, ISSR-22, ISSR-25, ISSR-33, ISSR-34, ISSR-35, ISSR-36, ISSR-37, ISSR-40, ISSR-43) تتفق هذه النتائج مع ما توصل إليه Vosough وزملاؤه (2013).

حُسب معامل التعددية الشكلية Polymorphic information content (PIC) لكل بادئة على حده، وفق المعادلة التالية:

**PIC = 1 - ∑ Pi²**

Pi: تكرار الأليل.

وهو يُعد كمعيار يدل على الإمكانية والمقدرة الخاصة لتسلسل الموقع المدروس باستخدام البادئة الخاصة به في تمييز التباينات الوراثية وإظهارها بين الطرز المختلفة، حيث يؤخذ بالحسبان عند حساب معامل PIC عدد الحزم الظاهرة ونسبة تكرارها عند مجموعة العينات المدروسة، فضلاً عن أن الحزم الزوجية المميزة للطراز الواحد (أو لعدة طرز) تشكل تعددية شكلية واحدة، ومن ثم كلما اقتربت قيمة PIC من (1) كانت المقدرة على تمييز التباينات الوراثية وإظهارها أكبر، ويمكن أن يعطي PIC قيمة (0) عندما تُظهر البادئة حزمة وحيدة ثابتة عند العينات كلها، لذلك يمكن عد هذه البادئة غير ذات أهميةٍ في تمييز الطرز الوراثية عن بعضها، حيث أنها لم تُظهر أي تعددية شكلية.

تراوحت قيم معامل التعددية الشكلية (PIC) من 0.2833 عند البادئة ISSR-15)) كأقل قيمة، إلى 0.3752 عند البادئة (ISSR-18) كأعلى قيمة، وبلغ المتوسط العام 0.364، ما يشير إلى قدرة البادئات المستخدمة على التمييز بين الطرز الوراثية المدروسة الجدول(15)، والشكل (9).

**الشكل (9) صورة هلامة الآجاروز %2تبين التعددية الشكلية الناتجة عن استخدام البادئة (ISSR-….)في الطرز  
المدروسة من القمح القاسي والطري ، Mيمثل المؤشر الجزيئي لتحديد الأوزان وأحجام حزم الحمض النووي .DNA  
1: حوراني, 2: أكساد65, 3: شام3, 4: بحوث9, 5: شام5, 6: دوما2, 7: دوما6: 8: جولان2, 9: بحوث10, 10: شام10**

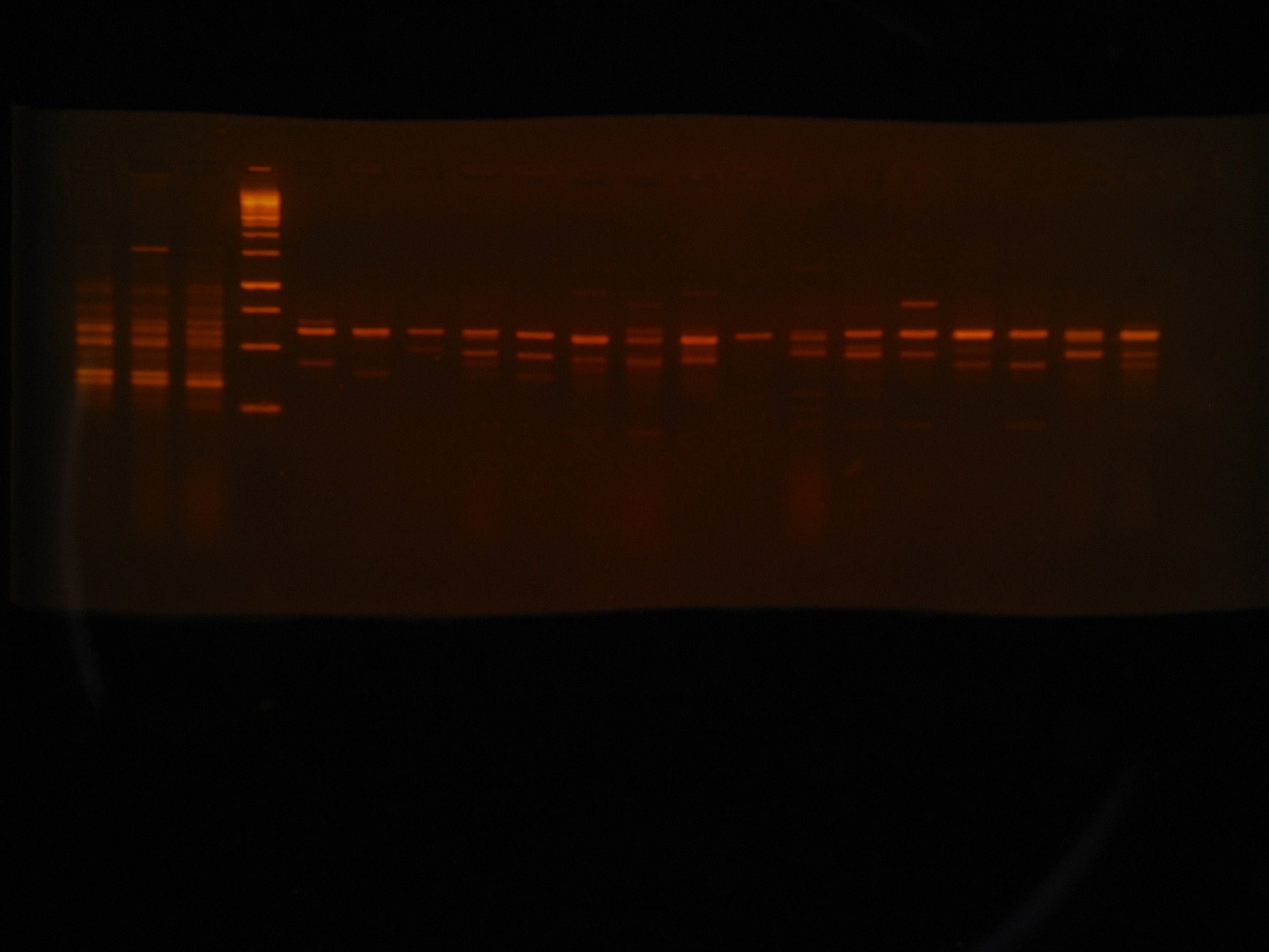
1000

750

500

250

M 1 2 3 4 5 6 7



**الجدول (15) رموز البادئات المستخدمة، وعدد الحزم الكلية والمتباينة شكلياً، والنسبة المئوية للتعددية الشكلية، وقيم معامل التعددية الشكلية PICفي القمح القاسي والطري.**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **اسم البادئ** | **عدد الحزم الكلية** | **عدد الحزم المتباينة شكلياً** | **النسبة المئوية للتعددية الشكلية** | **PIC** |
| **ISSR-2** | 5 | 5 | 100% | 0.3751 |
| **ISSR-4** | 11 | 11 | 100% | 0.3749 |
| **ISSR-6** | 8 | 4 | 50% | 0.3729 |
| **ISSR-14** | 9 | 8 | 88.90% | 0.375 |
| **ISSR-15** | 4 | 4 | 100% | 0.2833 |
| **ISSR-16** | 5 | 4 | 80% | 0.3746 |
| **ISSR-18** | 14 | 13 | 92.80% | 0.3752 |
| **ISSR-22** | 4 | 4 | 100% | 0.375 |
| **ISSR-25** | 8 | 8 | 100% | 0.3648 |
| **ISSR-32** | 8 | 7 | 87.50% | 0.371 |
| **ISSR-33** | 13 | 13 | 100% | 0.374 |
| **ISSR-34** | 5 | 5 | 100% | 0.3741 |
| **ISSR-35** | 9 | 9 | 100% | 0.3735 |
| **ISSR-36** | 3 | 3 | 100% | 0.3648 |
| **ISSR-37** | 6 | 6 | 100% | 0.3549 |
| **ISSR-40** | 3 | 3 | 100% | 0.3456 |
| **ISSR-43** | 7 | 7 | 100% | 0.3697 |
| **المجموع** | 122 | 114 | 93.40% |  |
| **المتوسط** | 7.2 | 6.7 |  | 0.364 |

يتبين من الجدول (16) وجود 31 حزمة فريدة (واسمة) للطرز المدروسة، منها 25 حزمة موجودة، و6 حزم غائبة، وقد ميزت هذه الحزم جميع الطرز الوراثية المدروسة القاسية والطرية، حيث امتلك الطراز الوراثي .... أكبر عدد من الحزم الفريدة (الموجودة والغائبة) بمعدل ..... حزمة، في حين بلغ أقل عدد من الحزم الفريدة في الطراز الوراثي .... بمعدل .... وهذا يدل على التنوع الوراثي الكبير بين الطرز الوراثية المدروسة، والذي استطاعت البادئات المدروسة الكشف عنه. فكلما زاد عدد الحزم الفريدة دل ذلك على وجود تنوع وراثي كبير.

**الجدول (16): عدد الحزم الفريدة (الموجودة والغائبة) في طرز القمح القاسي والطري الناتجة عن تطبيق تقنية ISSR**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **الطراز الوراثي** | **عدد الحزم الموجودة** | **عدد الحزم الغائبة** | **المجموع** |
| **حوراني** |  |  |  |
| **أكساد65** |  |  |  |
| **شام3** |  |  |  |
| **بحوث9** |  |  |  |
| **شام5** |  |  |  |
| **دوما2** |  |  |  |
| **دوما6** |  |  |  |
| **جولان2** |  |  |  |
| **بحوث10** |  |  |  |
| **شام10** |  |  |  |
| **المجموع** |  |  |  |

نلاحظ من الجدول (17) أن معظم البادئات المستخدمة امتلكت القدرة على تمييز الطرز المدروسة باستثناء البادئات (.......)، التي لم تعطِ أي حزم فريدة، في حين أنّ البادئ (......) أعطى أكبر عدد من الحزم الفريدة وبلغ عددها (...) حزم.

**الجدول (17): عدد الحزم الفريدة مع البادئات المدروسة**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **اسم البادئ** | **عدد الحزم الفريدة** | **اسم البادئ** | | **عدد الحزم الفريدة** |
| **ISSR-2** |  | **ISSR-32** |  | |
| **ISSR-4** |  | **ISSR-33** |  | |
| **ISSR-6** |  | **ISSR-34** |  | |
| **ISSR-14** |  | **ISSR-35** |  | |
| **ISSR-15** |  | **ISSR-36** |  | |
| **ISSR-16** |  | **ISSR-37** |  | |
| **ISSR-18** |  | **ISSR-40** |  | |
| **ISSR-22** |  | **ISSR-43** |  | |
| **ISSR-25** |  | **المجموع** |  | |

**الشكل(10): صورة هلامة الآجاروز2 % تبين الحزم الفريدة الناتجة عن استخدام البادئة (....ISSR-) في طرز القمح القاسي والطري المدروسة،M يمثل المؤشر الجزيئي لتحديد الأوزان وأحجام حزم الحمض النووي DNA.**

**1: حوراني, 2: أكساد65, 3: شام3, 4: بحوث9, 5: شام5, 6: دوما2, 7: دوما6: 8: جولان2, 9: بحوث10, 10: شام10**

**Pحزمة فريدة موجودة**

1000bp

500 bp

250 bp

800bp

**M 1 2 3 4 5 6 7**

**4.1.2. تحديد درجة القرابة الوراثية بين الطرز المدروسة باستخدام مصفوفة النسب المئوية لعدم التوافق PDV و شجرة القرابة الوراثية**

يفيد تحديد درجة القرابة الوراثية ضمن الأنواع في برامج تربية النبات، لتأمين قاعدة وراثية كبيرة، للاستفادة منها في برامج التهجين. وتمت دراسة العلاقة الوراثية بين أنواع القمح المدروسة بتطبيق مصفوفة النسب المئوية للتوافق (PAV) Percent Agreement Values حيث أن ارتفاع قيم هذه المصفوفة يدل على وجود قرابة وراثية وبازديادها يزداد التشابه الوراثي بين الصنفين المدروسين ويتم إنشاء هذه المصفوفة وفقاً لعدد وحدات التضاعف المشتركة.

**القمح القاسي:**

تشير مصفوفة النسب المئوية لعدم التوافق PDV إلى ارتفاع قيمة المصفوفة بين الصنفين بحوث9, وحوراني (0.6042) فهما على درجة عالية من التباعد الوراثي, في حين كانت أقل قيمة لها بين الصنفين شام3, وشام5 (0.3272) فهما على درجة عالية من التقارب الوراثي وهذا ما انعكس على شجرة القرابة الوراثية حيث انفصلت إلى تحت عنقودين ضم العنقود الأول Cluster-1 الصنف حوراني (POP2) وهو الأكثر بعداً عن بقية الطرز بمسافة وراثية 25.254, في حين ضم العنقود الثاني Cluster-2 الأصناف بحوث9 (POP1), شام3 (POP3), شام5 (POP4), و أكساد65 (POP5). حيث وجدأن أعلى درجة قرابة وراثية هي بين الصنفين شام3, شام5 بمسافة وراثية 16.360.

======حوراني===بحوث9===شام3===شام5===أكساد65========

حوراني \*\*\*\*

بحوث9 0.6042 \*\*\*\*

شام3 0.4113 0.5031 \*\*\*\*

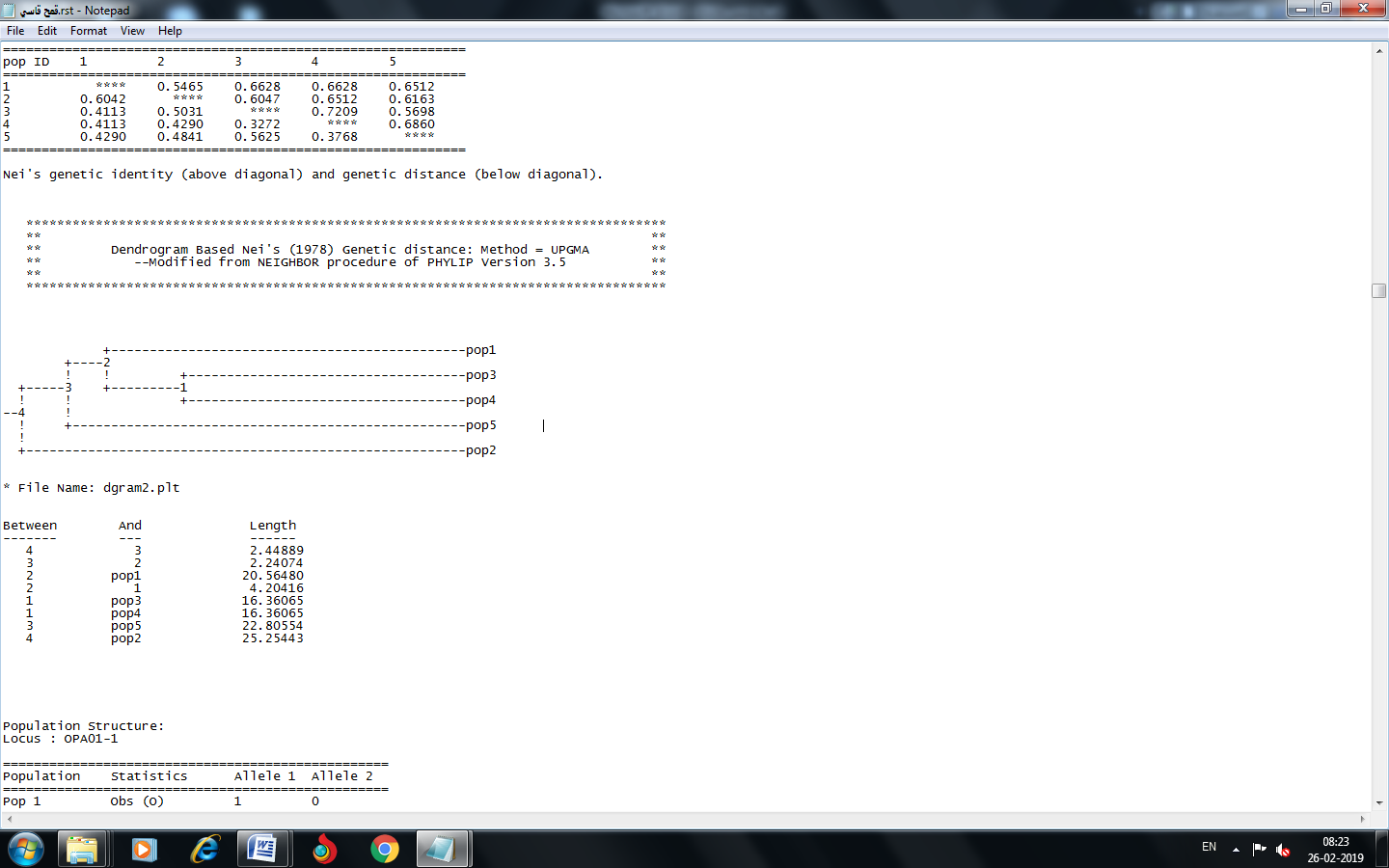
شام5 0.4113 0.4290 0.3272 \*\*\*\*

أكساد65 0.4290 0.4841 0.5625 0.3768 \*\*\*\*

=============================================

**الشكل (11) شجرة القرابة الوراثية لطرز القمح القاسي المدروسة**

**Pop1: بحوث9, pop2: حوراني, pop3: شام3, pop4: شام5, pop5: أكساد65**

****

**القمح الطري:**

تشير مصفوفة النسب المئوية لعدم التوافق PDV إلى ارتفاع قيمة المصفوفة بين الصنفين شام10 ودوما6 (0.7655) فهما على درجة عالية من التباعد الوراثي, في حين كانت أقل قيمة لها بين الصنفين دوما2 ودوما6 (0.2647), وهما على درجة عالية من التقارب الوراثي. وهذا ما انعكس على شجرة القرابة الوراثية حيث انفصلت إلى تحت عنقودين ضم العنقود الأول Cluster-1 الصنف شام10 (POP1) بمسافة وراثية (31.255) في حين ضم العنقود الثاني Cluster-2الأصناف جولان2 (POP2), دوما2 (POP3), دوما7 (POP4), و بحوث10 (POP5). حيث وجدأن أعلى درجة قرابة وراثية هي بين الصنفين دوما2, دوما7 بمسافة وراثية 13.234.

=======**شام10**===**جولان2**===**دوما2**===**دوما6**===**بحوث10**=============

**شام10** \*\*\*\*

**جولان2** 0.5423 \*\*\*\*

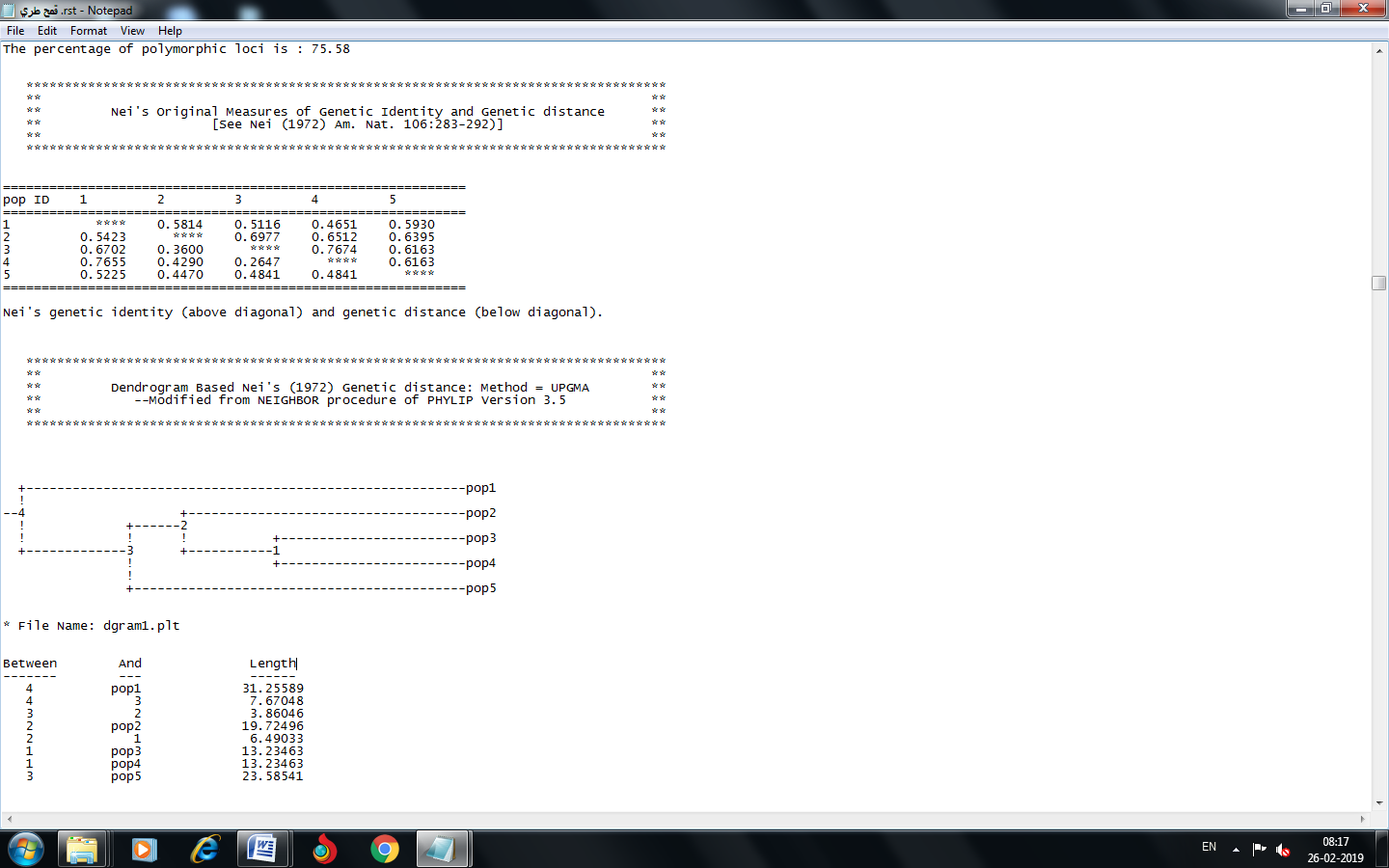
**دوما2** 0.6702 0.3600 \*\*\*\*

**دوما6** 0.7655 0.4290 0.2647 \*\*\*\*

**بحوث10**  0.5225 0.4470 0.4841 0.4841 \*\*\*\*

**الشكل (12) شجرة القرابة الوراثية لطرز القمح الطري المدروسة**

**Pop1: شام10, pop2: جولان2, pop3: دوما2, pop4: دوما7, pop5: بحوث10**



**2.2. تقييم التباين على مستوى تعبير مورثات الديهيدرين المحرضة تحت ظروف الإجهاد الجفافي**

**1.2.2. تقدير تركيز الـ RNA باستخدام مقياس الطيف الضوئي** Spectrophotometer**:**

أظهر حساب النسبة بين قراءات تركيز عينات الـ RNA المستخلص من الطرز الوراثية المدروسة عند موجات ضوئية بطول 260-280 نانومتر باستخدام المطياف الضوئي Spectrophotometer قيماً تتراوح بين 1.9- 2.0، وهي تُشير إلى نقاوة جيدة للـ RNA (Sambrook وزملاؤه، 1989)، كما قدرت تراكيز عينات الـ RNA بين 0.84-2.15 ميكروغرام/ميكروليتر كما في الجدول (18).

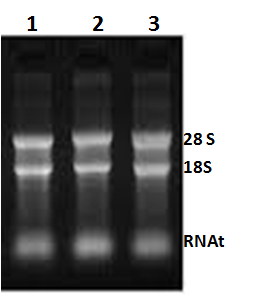
**الجدول (18): تحديد نقاوة وتراكيز الـ RNA باستخدام المطياف الضوئي Spectrophotometer**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **رقم العينة** | **OD280/OD260** | **تراكيز الـ RNA ميكروغرام/ميكروليتر** |
| **حوراني** |  |  |
| **أكساد65** |  |  |
| **شام3** |  |  |
| **بحوث9** |  |  |
| **شام5** |  |  |
| **دوما2** |  |  |
| **دوما6** |  |  |
| **جولان2** |  |  |
| **بحوث10** |  |  |
| **شام10** |  |  |

**2.2.2. اختبار جودة الـ RNA المستخلص على هلامة الأغاروز 2% بواسطة الرحلان الكهربائي:**

تتميز جزيئات الـ RNA ذات النوعية الجيدة بغياب الجزيئات المتكسرة الشكل (13)، وقد أظهر اختبار جودة الـ RNA المستخلص على هلامة الأغاروز نوعية جيدة من الـ RNA.

**الشكل (13) الرحلان الكهربائي لعينات الـ RNA المستخلص من الطرز الوراثية المدروسة على هلامة الأغاروز 2% بعد تلوينها بالإيتيديوم برومايد 1: حوراني, 2: أكساد65, 3: شام3, 4: بحوث9, 5: شام5, 6: دوما2, 7: دوما6: 8: جولان2, 9: بحوث10, 10: شام10**

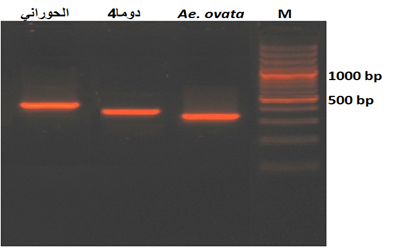
****

**- تقانة النسخ العكسي RT-PCR للـ RNAm بواسطة التفاعل السلسلي البوليميرازي وباستخدام بادئات متخصصة:**

طبقت هذه التقانة على الطرز الوراثية المدروسة، بواسطة PCR وباستخدام أزواج بادئات متخصصة بمواقع مورثات الديهيدرين، حيث تمّ الكشف عن عينات الـ cـ DNAالتي تمّ تضخيمها بالتفاعل السلسلي البوليميرازي، على هلامة الأغاروز 2 % وهذه العينات هي التي أرسلت لتحديد التتابع النيكلوتيدي وظهرت النتائج في الشكل (14).

**الشكل (14): نتائج تضخيم DNAc عند الطرز الوراثية المدروسة على هلامة الأغاروز 2%**

**1: حوراني, 2: أكساد65, 3: شام3, 4: بحوث9, 5: شام5, 6: دوما2, 7: دوما6: 8: جولان2, 9: بحوث10, 10: شام10**



**3.2.2. دراسة التباينات الأليلية لمورثات الديهيدرين المسؤولة عن تحمل الجفاف في الطرز الوراثية المدروسة:**

أظهرت نتائج دراسة تقييم التباين الأليلي لمورثات الديهيدرين المسؤولة جزئياً عن تحمل الجفاف، اختلافاً واضحاً في تعبير هذه المورثات بين الطرز الوراثية المدروسة، حيث كانت التباينات الشكلية في الوزن الجزيئي بين نظائر الموقع الواحد كبيرة أحياناً، في حين كانت على درجة عالية من التماثل في البعض الآخر، وأمكن تمييزها بسهولة على هلامة ميتافور آغاروز 4%، حيث أظهر تفاعل الــPCR بالنسبة لمورثة Dhn12 وجود نمط شكلي واحد (A) وجد عند كل من الطرز الوراثية دوما6، بحوث 10 (قمح طري)، أكساد 65، وشام 5 )قمح قاسي)، في حين غابت عند بقية الطرز الوراثية الجدول (19).

**الجدول (19): الأنماط الشكلية الناتجة عن تفاعل الـPCR لمورثة *Dhn12* في الطرز الوراثية المدروسة.**

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **مورثة الديهيدرين** | **القمح الطري** | | | | | **القمح القاسي** | | | | | **عدد الأنماط** |
| **دوما 2** | **دوما 6** | **جولان 2** | **بحوث 10** | **شام 10** | **أكساد65** | **بحوث 9** | **شام 5** | **شام3** | **حوراني** |
| ***Dhn12*** | ---- | A | ---- | A | ---- | A | --- | A | --- | ---- | 4 |

أظهرت مورثة الديهيدرين *Dhn6* نمطين شكليين (A,B) لكل من الطرز الوراثية بحوث 10 ، شام 10 (قمح طري)، أكساد56، شام3 وحوراني (قمح قاسي) الجدول (20)، في حين أنّها لم تظهر عند الطرز الوراثية شام5، ودوما6، ومن الملاحظ أن الطرز الوراثية دوما2, جولان 2 ، بحوث 9 امتلكت نمط شكلي واحد فقط هو النمط A.

**الجدول (20): الأنماط الشكلية الناتجة عن تفاعل الـ PCR لمورثة *Dhn6* في الطرز الوراثية المدروسة**

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **مورثة الديهيدرين** | **القمح الطري** | | | | | **القمح القاسي** | | | | | **عدد الأنماط** |
| **دوما 2** | **دوما 6** | **جولان 2** | **بحوث 10** | **شام 10** | **أكساد65** | **بحوث 9** | **شام 5** | **شام3** | **حوراني** |
| ***Dhn6*** | A | --- | A | A | A | A | A | --- | A | A | 13 |
| --- | --- | ---- | B | B | B | --- | ---- | B | B |

أعطت مورثة الديهيدرين *Dhn3* ثلاثة أنماط شكلية (A,B,C) تباينت في الظهور عند الطرز الوراثية المدروسة، فامتلكت كل من الطرز الوراثية دوما 6، بحوث 10 وشام 10 من القمح الطري، وحوراني من القمح القاسي نمط شكلي واحد (C)، والطراز الوراثي أكساد 65 نمطين شكليين (B,A) دون غيره من الطرز. الجدول (20).

**الجدول (20): الأنماط الشكلية الناتجة عن تفاعل الـ PCR لمورثتي *Dhn3* و *Dhn4في* الطرز الوراثية المدروسة**

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **مورثة الديهيدرين** | **القمح الطري** | | | | | **القمح القاسي** | | | | | **عدد الأنماط** |
| **دوما 2** | **دوما 6** | **جولان 2** | **بحوث 10** | **شام 10** | **أكساد65** | **بحوث 9** | **شام 5** | **شام3** | **حوراني** |
| ***Dhn3*** | ---- | ---- | ---- | ---- | ---- | A | ---- | --- | ---- | --- | 6 |
| ---- | ---- | ---- | ---- | ---- | B | ---- | ---- | ---- | ---- |
| ----- | C | ----- | C | C | ---- | ---- | ---- | ---- | C |

أعطت مورثة الديهيدرين*Dhn14*  ثلاثة أنماط شكلية (A,B,C)، ظهرت جميعها في الطراز الوراثي بحوث 9 دون غيره من الطرز، بينما ظهر نمط شكلي واحد (C) في الطراز الوراثي المحلي حوراني. الجدول (21).

**الجدول (21): الأنماط الشكلية الناتجة عن تفاعل الـ PCR لمورثة *Dhn14* في الطرز الوراثية المدروسة**

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **مورثة الديهيدرين** | **القمح الطري** | | | | | **القمح القاسي** | | | | | **عدد الأنماط** |
| **دوما 2** | **دوما 6** | **جولان 2** | **بحوث 10** | **شام 10** | **أكساد65** | **بحوث 9** | **شام 5** | **شام3** | **حوراني** |
| ***Dhn14*** | --- | ---- | --- | ---- | --- | - | A | --- | --- | --- | 4 |
| --- | ---- | ---- | ---- | ---- | - | B | --- | ---- | --- |
| ---- | ---- | ----- | ---- | ---- | - | C | ---- | --- | C |

ظهر نمطان شكليان (A, B) لمورثة الديهيدرين 9 Dhn في الطراز الوراثي دوما 2، وظهر النمط الشكلي A في جميع الطرز المدروسة وغاب في الطراز الوراثي بحوث 9، في حين غاب النمط الشكلي B في بقية الطرز المدروسة . الجدول (22).

**الجدول (22): الأنماط الشكلية الناتجة عن تفاعل الـPCR لمورثة *Dhn9* في الطرز الوراثية المدروسة**

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **مورثة الديهيدرين** | **القمح الطري** | | | | | **القمح القاسي** | | | | | **عدد الأنماط** |
| **دوما 2** | **دوما 6** | **جولان 2** | **بحوث 10** | **شام 10** | **أكساد65** | **بحوث 9** | **شام 5** | **شام3** | **حوراني** |
| ***Dhn9*** | A | A | A | A | A | A | --- | A | A | A | 10 |
| B | ---- | ---- | ---- | ---- | --- | --- | --- | ---- | --- |

أعطت مورثة الديهيدرين *Dhn16* نمطان شكليان (A, B,)، تباينت في الظهور في الطرز الوراثية المدروسة، فقد ظهر النمطان الشكليان في طرز القمح القاسي (بحوث9, شام3, حوراني) وغاب النمطان الشكليان في بقية الطرز المدروسة من القمح الطري إضافة إلى ظهور النمط الشكلي B في الطراز الوراثي شام5 من القمح القاسي المدروسة. الجدول (23).

**الجدول (23): الأنماط الشكلية الناتجة عن تفاعل الـ PCR لمورثة *Dhn16* في الطرز الوراثية المدروسة**

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **مورثة الديهيدرين** | **القمح الطري** | | | | | **القمح القاسي** | | | | | **عدد الأنماط** |
| **دوما 2** | **دوما 6** | **جولان 2** | **بحوث 10** | **شام 10** | **أكساد65** | **بحوث 9** | **شام 5** | **شام3** | **حوراني** |
| ***Dhn16*** | --- | ---- | --- | ---- | --- | --- | A | --- | A | A | 7 |
| --- | --- | ---- | ---- | ---- | --- | B | B | B | B |

أظهرت النتائج من خلال الجدول (24) تفوق المورثة *Dhn6* بعدد الأنماط الشكلية التي أعطتها والبالغة 13 نمطاً شكلياً مع كافة الطرز المدروسة، تلتها المورثة *Dhn9* بـ 10 أنماطاً شكلية، في حين أعطت المورثة *Dhn12* أقل عدد من الأنماط الشكلية والبالغ 4 أنماطاً شكلية مع الطرز الوراثية المدروسة. يشير عدد الأنماط الشكلية إلى عدد المواقع الأليلية للمورثة، وزيادتها تعد كدلالة على زيادة تحمل الطراز الوراثي للجفاف (Lopez وزملاؤه، 2001). وامتلكت الطرز الوراثية للقمح القاسي عدداً من الأليلات ( 29 أليلاً ) أكثر من الطرز الوراثية للقمح الطري (17 أليلاً) مما يجعلها أكثر تحملاً للجفاف تتفق هذه النتائج مع ما توصل إليه (Grignac, 1965) في أن قدرة القمح القاسي لتحمل أنواع الإجهاد تكون أكبر من القمح الطري.

كما أظهرت النتائج أيضاً تفوق الطراز الوراثي أكساد 65 وحوراني بعدد الأنماط الوراثية التي أعطتها والبالغة 8, 7 نمطاً وراثياً على التوالي، في حين أعطى الطراز الوراثي جولان 2 أقل عدد من الأنماط الشكلية والبالغ 2 نمطاً شكلياً، الجدول (24).

تعكس الأنماط الشكلية المختلفة لقطع الـ DNA الناتجة عن تفاعل الـ PCR عدد النظائر الخاصة لكل مورثة ضمن الطرز الوراثية المدروسة، وبالتالي التباينات الوراثية الخاصة بكل موقع وراثي، كما تعطي فكرة عن الطفرات التي تعرض لها موقع ما، فكلما كان عدد النظائر لموقع ما أكبر كان ذلك دليلاً على أن هذا الموقع تعرض لعدد أكبر من الطفرات التي أثرت على بنية المورثة وأدت لتغيير في الوزن الجزيئي سواء نقصاناً أو زيادة أو تبديلاً (Choi وزملاؤه، 2000).

إنّ هذه المورثات التي تمت دراستها تحدد بروتينات لها وظائف معينة في تحمل الجفاف، وبالتالي يمكن تقديم هذه الطرز الوراثية التي حملت عدداً أكبر من المواقع الأليلية لمورثات الديهيدرين كآباء متحملة للجفاف في برامج التربية، ليتم نقلها إلى الطرز الوراثية الحساسة بطرق التربية التقليدية كالتهجين أو استعمال التقانات الحيوية، لنقلها من نبات إلى آخر والحصول على نباتات معدلة وراثياً متحملة للجفاف.

**الجدول (24): الأنماط الشكلية الكلية لمورثات الديهيدرين مع الطرز الوراثية المدروسة.**

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **مورثات الديهيدرين** | **القمح الطري** | | | | | **القمح القاسي** | | | | | **عدد المواقع المورثية** |
| **دوما 2** | **دوما 6** | **جولان 2** | **بحوث 10** | **شام 10** | **أكساد65** | **بحوث 9** | **شام 5** | **شام3** | **حوراني** |
| ***Dhn16*** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 1 | 2 | 2 | 5 |
| ***Dhn3*** | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 2 | 0 | 0 | 0 | 1 | 6 |
| ***Dhn6*** | 1 | 0 | 1 | 2 | 2 | 2 | 1 | 0 | 2 | 2 | 13 |
| ***Dhn9*** | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 10 |
| ***Dhn12*** | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 4 |
| ***Dhn14*** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 3 | 0 | 0 | 1 | 6 |
| **المجموع** | 3 | 3 | 2 | 5 | 4 | 8 | 6 | 3 | 5 | 7 | 46 |
|  | **17** | | | | | **29** | | | | |  |

**الفصل الرابع**

1. **الاستنتاجات والتوصيات**
   1. **الاستنتاجات Conclusions)):**

* تباينت الطرز الوراثية المدروسة في استجابتها للإجهاد الجفافي في مرحلة البادرة, وكانت أعلى معدلات للصفات المدروسة في الأصنف القاسية مقارنة بالطرية.
* كان هناك فروق معنوية في محتوى البرولين بين الطرز المدروسة في ظروف الإجهاد الجفافي, ولوحظ ارتفاع قيم البرولين معنوياً مع زيادة مدة وشدة الإجهاد الجفافي. وسجل الصنف شام3 أعلى متوسط للبرولين ( 14.485 ميكرو غرام/ غ) بنسبة زيادة 62% عند التركيز -12بار بالمقارنة مع معاملة الشاهد, ونسبة زيادة 36% بعد مدة 72 ساعة من التعرض للإجهاد بالمقارنة مع مدة 24 ساعة.
* كان هناك فروق معنوية في محتوى الكلوروفيل بين الطرز المدروسة في ظروف الإجهاد الجفافي, ولوحظ ارتفاع قيم الكلوروفيل معنوياً مع زيادة شدة الإجهاد الجفافي, وارتفاع قيمته معنوياً حتى 48 ساعة من التعرض للإجهاد, ومن ثم انخفضت انخفاضاً غير معنوي بعد 72 ساعة من التعرض للإجهاد, مما يعني أنه بعد 72 ساعة من التعرض للإجهاد كانت استجابة النبات قد أصبحت ضعيفة بالنسبة لمحتواه من الكلوروفيل, وسجل الصنف شام 10 أعلى متوسط للكلوروفيل( 49.211 ملغ/غ) بنسبة زيادة 65% عند التركيز -12بار بالمقارنة مع معاملة الشاهد, ونسبة زيادة 12% بعد مدة 72 ساعة من التعرض للإجهاد بالمقارنة مع مدة 24 ساعة.
* كان هناك فروق معنوية في محتوى السكريات الذائبة بين الطرز المدروسة في ظروف الإجهاد الجفافي, ولوحظ ارتفاع قيم السكريات الذائبة معنوياً مع زيادة شدة الإجهاد الجفافي وارتفاع قيمته معنوياً حتى 48 ساعة من التعرض للإجهاد, وارتفاع غير معنوي بعد 72 ساعة من التعرض للإجهاد, مما يعني أنه بعد 72 ساعة من التعرض للإجهاد كانت استجابة النبات قد أصبحت ضعيفة بالنسبة لمحتواه من السكريات الذائبة, وسجل الصنف جولان2 أعلى متوسط للسكريات ( 87.810 ميكرو غرام/ غ) بنسبة زيادة 26% عند التركيز -12بار بالمقارنة مع معاملة الشاهد, ونسبة زيادة 2% بعد مدة 72 ساعة من التعرض للإجهاد بالمقارنة مع مدة 24 ساعة.
* كان هناك فروق معنوية في محتوى MDA بالأوراق بين الطرز المدروسة في ظروف الإجهاد الجفافي, ولوحظ ارتفاع قيم MDA معنوياً مع زيادة مدة وشدة الإجهاد الجفافي. وسجل الصنف حوراني أعلى متوسط ل MDA (10.051 ميكرومول/ غ), بنسبة زيادة 50% عند التركيز -12بار بالمقارنة مع معاملة الشاهد, ونسبة زيادة 42% بعد مدة 72 ساعة من التعرض للإجهاد بالمقارنة مع مدة 24 ساعة.
* كان هناك فروق معنوية في محتوى MDA بالجذور بين الطرز المدروسة في ظروف الإجهاد الجفافي, ولوحظ ارتفاع قيم MDA معنوياً مع زيادة مدة وشدة الإجهاد الجفافي. وسجل الصنف شام3 أعلى متوسط ل MDA (2.998 ميكرومول/غ), بنسبة زيادة 69% عند التركيز -12بار بالمقارنة مع معاملة الشاهد, ونسبة زيادة 154% بعد مدة 72 ساعة من التعرض للإجهاد بالمقارنة مع مدة 24 ساعة.
* كان هناك فروق معنوية في محتوى RWC بالأوراق بين الطرز المدروسة في ظروف الإجهاد الجفافي, ولوحظ انخفاض قيم RWC معنوياً مع زيادة مدة وشدة الإجهاد الجفافي. وسجل الصنف بحوث10 أعلى متوسط ل RWC (55.675%), بنسبة انخفاض 68% عند التركيز -12بار بالمقارنة مع معاملة الشاهد, ونسبة انخفاض 35% بعد مدة 72 ساعة من التعرض للإجهاد بالمقارنة مع مدة 24 ساعة.
* كان هناك فروق معنوية في محتوى RWC بالجذور بين الطرز المدروسة في ظروف الإجهاد الجفافي, ولوحظ ارتفاع قيم RWC معنوياً مع زيادة مدة وشدة الإجهاد الجفافي. وسجل الصنف شام10 أعلى متوسط ل RWC (78.403%), بنسبة زيادة 79% عند التركيز -12بار بالمقارنة مع معاملة الشاهد, ونسبة زيادة 122% بعد مدة 72 ساعة من التعرض للإجهاد بالمقارنة مع مدة 24 ساعة.
* أثبتت تقنية ISSR فعاليتها في التمييز بين الطرز الوراثية المدروسة، فتمكنت من إعطاء تعددية شكلية Polymorphic بين طرز القمح الوراثية المدروسة القاسي والطري في تفاعل التسلسلي البوليميرازي وبلغت نسبتها 93.4 %، وبلغ المتوسط العام لمعامل التعددية الشكلية (PIC) 0.364، مايشير إلى قدرة البادئات المستخدمة على التمييز بين الطرز الوراثية المدروسة.
* استطاعت البادئات المدروسة في تقنية ISSR الكشف عن التنوع الوراثي بين الطرز الوراثية المدروسة، فأظهرت وجود (....) حزمة فريدة منها (....) حزمة موجودة في مختلف الطرز الوراثية المدروسة للقمح القاسي, وبلغ أعلاها في الطراز .... .
* استطاعت البادئات المدروسة في تقنية ISSR الكشف عن التنوع الوراثي بين الطرز الوراثية المدروسة، فأظهرت وجود (....) حزمة فريدة منها (....) حزمة موجودة في مختلف الطرز الوراثية المدروسة للقمح الطري, وبلغ أعلاها في الطراز ....
* انفصلت شجرة القرابة الوراثية لطرز القمح الوراثية القاسية المدروسة إلى تحت عنقودين ضم العنقود الأول Cluster-1 الصنف حوراني (POP2) وهو الأكثر بعداً عن بقية الطرز بمسافة وراثية 25.254, في حين ضم العنقود الثاني Cluster-2 الأصناف بحوث9 (POP1), شام3 (POP3), شام5 (POP4), و أكساد65 (POP5). حيث وجدأن أعلى درجة قرابة وراثية هي بين الصنفين شام3, شام5 بمسافة وراثية 16.360.
* انفصلت شجرة القرابة الوراثية لطرز القمح الوراثية الطرية المدروسة إلى تحت عنقودين ضم العنقود الأول Cluster-1 الصنف شام10 (POP1) بمسافة وراثية (31.255) في حين ضم العنقود الثاني Cluster-2الأصناف جولان2 (POP2), دوما2 (POP3), دوما6 (POP4), و بحوث10 (POP5). حيث وجدأن أعلى درجة قرابة وراثية هي بين الصنفين دوما2, دوما6 بمسافة وراثية 13.234.
* تفوق المورثة *Dhn6* بعدد الأنماط الشكلية التي أعطتها والبالغة 13 نمطاً شكلياً مع كافة الطرز المدروسة، تلتها المورثة *Dhn9* بـ 10 أنماطاً شكلية، في حين أعطت المورثة *Dhn12* أقل عدد من الأنماط الشكلية والبالغ 4 أنماطاً شكلية مع الطرز الوراثية المدروسة.
* امتلكت الطرز الوراثية للقمح القاسي (حوراني, أكساد65, شام3, شام5, بحوث9) عدداً من الأليلات ( 29 أليلاً ) أكثر من الطرز الوراثية للقمح الطري (دوما, دوما6, جولان2, بحوث10, شام10) (17 أليلاً) مما يجعلها أكثر تحملاً للجفاف, كما أظهرت النتائج أيضاً
* تفوق الطراز الوراثي أكساد 65 وحوراني بعدد الأنماط الوراثية التي أعطتها جميع مورثات الديهيدرين والبالغة (8 , 7) نمطاً وراثياً على التوالي، مايشير إلى أنهما أكثر الطرز الوراثية تحملاً للجفاف وقد انعكس ذلك في سلوكهما الفيزيولوجي في حين أعطى الطراز الوراثي جولان 2 أقل عدد من الأنماط الشكلية والبالغ (2) نمطاً شكلياً.
* **2.1. التوصيات (Recommendations):**
* زراعة الطرز الوراثية القاسية في المناطق التي تتعرض للجفاف وتكون فيها الأمطار غير منتظمة الهطول.
* إدخال الطرز حوراني, أكساد 65 في عمليات التربية والتحسين الوراثي للصفات الكمية في محصول القمح.
* استخدام طرق الاختبار البيوكيميائية أو الجزيئية الموضحة في البحث في مرحلة البادرات كوسيلة مبكرة وسريعة في تقييم طرز القمح من حيث تحملها للجفاف.
* البحث عن وظيفة البروتين المشفر من مورثة الديهدرين، ومكان تواجده في الخلية.
* إنّ هذه المورثات التي تمت دراستها تحدد بروتينات لها وظائف معينة في تحمل الجفاف، وبالتالي يمكن تقديم هذه الطرز الوراثية التي حملت عدداً أكبر من المواقع الأليلية لمورثات الديهيدرين كآباء متحملة للجفاف في برامج التربية، ليتم نقلها إلى الطرز الوراثية الحساسة بطرق التربية التقليدية كالتهجين أو استعمال التقانات الحيوية، لنقلها من نبات إلى آخر والحصول على نباتات معدلة وراثياً متحملة للجفاف.
* البحث عن مورثات أخرى لتحمل الجفاف، مختلفة عن عائلة الديهيدرين، وإجراء المزيد من الدراسات عليها.

1. **المراجع:**

**المراجع العربية:**

1. **الرجو. سامي رياض, مهنا. أحمد, عباس. فادي. (2021).** استجابة بعض طرز القمح القاسي والطري للإجهاد الجفافي خلال أطوار النمو المختلفة في ظروف المنطقة الشرقية في محافظة حمص. رسالة دكتوراه- جامعة البعث.
2. **المجموعة الإحصائية الزراعية السورية (2020).** وزارة الزراعة والإصلاح الزراعي, قسم الإحصاء والتوثيق.
3. **الجباوي. انتصار, عباس. فادي. (2015).** تأثير الإجهاد المائي في بعض الصفات الفيزيولوجية لهجينين وحيدي الجنين من الشوندر السكري *(Beta vulgaris* L.). المجلة السورية للبحوث الزراعية. 2 (2): 79-93.
4. **معلا. محمد, شومان. وفاء, الواوي. هايل. (2009). دراسة** بعض الخواص الإنتاجية والمظهرية لسلالات منتخبة من الحمص المزروع (*Cicer arietinum* L), مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية- سلسلة العلوم البيولوجية, 31 (1): 81-99.
5. **سيد. محمود هيثم. (2001).** استخدام مؤشرات من الدنا (DNA) في انتخاب مورثات المقاومة للأمراض في الشعير, جامعة دمشق, كلية الزراعة, أطروحة دكتوراه.
6. **الحماد. بشرى )2006(.** دراسة تأثير الجفاف على محتوى البرولين في نبات القمح. جامعة الملك سعود.

**المراجع الأجنبية:**

1. **Lookhart. G And S. Bean (2000)**. Cereal Proteins: Composition for their major fractions and methods for identification. Handbook of Cereal Science and Technology. New York, USA: 363-383.
2. **Kent, N.L., A.D. Evers. (1994).** Technology of cereals. Fourth Edition Elsevier Science. Ltd. Okfordy. Uk.
3. **Dixon. J., H.J. Braun, P. Kosina, J. Crouch.** **(2009).** Wheat facts an futures. CIMMYT, Mexico, ISBN: 978-970-648-170-2.
4. **Ahmad. Z, EA. Waraich, C. Barutçular. (2020).** Enhancing drought tolerance in wheat through improving morpho- physiological and antioxidants activities of plants by the supplementation of foliar silicon. <https://doi.org/10.32604/phyton.2020.09143>.
5. **International Grains Council (2021).** Wheat Produce Report. 18 November.
6. **FAO, (2014)**. The year book of food and agriculture  
   organization.
7. **ARAB AGRICULTURAL STATISTICS YEARBOOK (2019).** Vol.39(3).
8. **Osman. S.S., H.A. Khalil, A.A. Mohamed, S.H. Saleh, (2010).** Performance and combining ability for rain yield and its components in diallel crosses of bread wheat under different sowing dates. Egypt. J. Plant Breeding, 14(1): 261-285.
9. **Kang, S.Z., X.L. Su, L. Tong, J.H. Zhang, L. Zhang, W.J. Davies.** **(2008).** A warning from an ancient oasis: intensive human activities are leading to potential ecological and social catastrophe. J. International journal of Sustainable development & world ecology. 15(5):440-447.
10. **Mathew. I, H. Shimelis, M. Mutema, A. Clulow, R. Zengeni, N. Mbava, V. Chaplot. (2019).** Genome-wide association study of  
    drought tolerance and biomass allocation in wheat. PLoS One  
    14(12): e0225383
11. **Rizza. F., W. Badeck, L. Cativelli, O. Lidestri, N. Di Fonzo, and M. Stanca. (2004).** Use of water stress index to identify barley genotypes adapted to rainfed and irrigated conditions. Crop science 44: 2127-2137.
12. **Nayer, M. and R. Heidari. (2008).** Water stress induced by polyethylene glycol 6000 and sodium chloride in two maize cultivars. Pakistan journal of Biological Sciences. 11(1):92-97.
13. **Dacosta. M, B. Huang. (2007).** Changes in antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation for bentgrass species in responses to drought stress. J. Amer. Soc Hort. 132: 319–326.
14. **Ali Dib. T., P. Monneveux, J.L. Araus, (1992).** Adaptation à la  
    sécheresse et notion d’idiotype chez le blé dur. II. Caractères  
    physiologiques d’adaptation. Agronomie. 12: 381-393.
15. **. Peterson. C.A., M. Murmman, E. Steudle, (1993)**. Location of the  
    major barriers to water and iron movement in young roots of *zee may L*.  
    Plant, 190: 127-136.
16. **Skribanek. A., A. Tomcsányi. (2008).** Predicting water stress tolerance of malting barley varieties with seedlings PEG reactions. Acta Biologica Szegediensis. 52(1):187-189.
17. **Fukai. S., G. Pantuwan, B. Jongdee, M. Cooper. (1999).** Screening for drought resistance in rainfed lowland rice. Field Crop Res*.* 64: 61-74
18. **Zhang. L. J., J. J. Fan., Y. Y. Ruan, X. Y. Guan, (2004)**. Application of polyethylene glycol in the study of plant osmotic stress physiology. J. Plant Physiol. 40(3): 361–364.
19. **Valifard. M., A. Moradshahi, B. Kholdebarin (2012).** Biochemical and physiological responses of two wheat (Triticum aestivum L.) cultivars to drought stress applied at seedling stage. J. journal of Agricultural science and technology.14(7): 1567-1578.
20. **Li. F, L. Zhang, H. Ji. (2020).** The specific W-boxes of GAPC5  
    promoter bound by TaWRKY are involved in drought stress response  
    in wheat. Plant Sci 26: 110460
21. **Yekhlef. N. (2001).** Photosynthèse activité photo chimique et tolérance au déficit hydrique chez le blé dur (Triticum durum Desf.).Thèse d'état, Fac des science.DSN.Universite Constantine,146 pages.
22. **Turner. N.C. (1979).** Drought resistance and adaptation to water deficits in crops plants. Stress Physiology in Crop Plants, New York: 344-372.
23. **Turner. N.C. (1986).** Adaptation to water deficit. A changing. J. Australian journal plant physiology. 13(1):175-190.
24. **Anjum. S.A, X. Xie, L. Wang, Mf. Saleem , C. Man, W. Lei. (2011).** Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. J. African journal of agricultural research. 6(9): 2026-2032.
25. **Farooq. M, A. Wahid, N. Kobayashi, D. Fujita, S.M.A. Basra. (2009).** Plant drought stress: effects, mechanisms and management. J. Agronomy for sustainable development. 29(1):185–212.
26. CIUCẶ. M, C. BẶNICẶ, M. DAVID, N.N. Sặulescu. (2010). Rome Agric. Res. 27: 1-5.
27. **Almeselmani. M., A. Saud, K. Al-zubi, F. Abdullah, F. Hareri, M. Naaesan, M.A. Ammar, O. Kanbar. (2012).** Physiological performance of different durum wheat varieties grown under rainfed condition. Global Journal of Science Frontier Research Agriculture and Biology. 12: 55-63.
28. **Anjum. S.A, L.C. Wang, M. Farooq, I. Khan, L.L. Xue. (2011).** Methyl jasmonate-induced alteration in lipid peroxidation, antioxidative defense system and yield in soybean under drought. J. Agron. Crop Sci., doi:10.1111/j.1439-037X.2010.00468.x.
29. **Palfi. G., M. Bito, Z. Palfi, (1973).** Water deficit and free proline in plant tissues. Fiziol. Rast. 20: 233–238
30. **Hsiao. T.C. (1973).** Plant responses to water stress. Annu. Rev. Plant Physiol, 24: 519-570.
31. **Rayapati, P.J., C.R. Stewart, (1991).** Solubilization of protin dehydrogenase from maize (Zea mays L.) mitochondria. Plant Physiology . 95: 787-791
32. **Vendruscolo, A.C., G.I. Schuster, M. Pileggi, C.A. Scapim, H.B.C. Molinari, P. Manivannan, C. Abdul Jaleel, B. Sankar, A, Kishorekumar, R. Somasundaram, G. Lakshmanan, R. Panneerselvam.** **(2007).** Growth, biochemical modifications and proline metabolism in Helianthus annuus L. as induced by drought stress. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 59: 141–149.
33. **Nanjo. T., M. Kobayashi; Y. Yoshiba; Y. Kakubari, K. Yamaguchi-Shinozaki, K. Shinozaki**. **(1999).** Antisense suppression of praline degradation improves tolerance to freezing and salinity in Arabidopsis thaliana. FEBS Lett. 461:205-210.
34. **Yang. F.A.D., H.Li. Jorgensen. (2011).** **Implications of hightemperature events and water deficits on protein profiles in wheat (Triticum aestivum L. cv. Vinjett) grain, Proteomics**, Vol. 11(9). 1684–1695.
35. **Kanffman. M. R. (1972).** Water deficit and plant growth in water deficit and Plant growth. T. T. Kozlowski (Edi.) 3pp 41-124.
36. **Hanson. A.D, E.R. Nelson, Pedorson, E.H. Everson. (1979).** Capacity for proline accumulation during water stress in barley and its implication for breeding for drought resistance crop. Sci. 19: 489-493.
37. **Fukutoka. Y., Y. Yamada. (1981).** Sources of proline nitrogen in Water stressed soydean. Soil Sci. Plant nutr. 28: 147- 151.
38. **HANSON. A.D., A.D. HITZ. (1982).** Water stress and metabolis Ann. Rev plant physiol. 33: 180.
39. **Deora. V.S., M.A. Shah, J.O. Arunab**. **(2001).** Effect of moisture stress on wheat genotypes. Department of plant Breeding & Genetics, Rajasthan College of Agriculture, India. Crop Res. Vol. 21(1). 24-26.
40. **Hanson. A.D., C.E. Nelsen, E.H. Everson. (1977).** Evolution of free proline accumulation as an index of drought resistance using two contrasting barley cultivars. Crops Sci. 17:720-726.
41. **Kavi – Kishor. P.B., S. Sangam, R. N. Amrutha, P. Sri Laxmi. K.R. Naidu, S. Rao, K.J. Reddy, P. Theriappan, N. Sreenivasan. (2005)**. Regulation of proline biosynthesis degradation, uptake and transport in higher plants: its implications in plant growth and abiotic stress tolerance. Curr. Sci.88:424-438.
42. **Liu. H, M.Ar.F. Sultan, Xl. Liu, J. Zhang, F. Yu, Hx. Zhao. (2015)** Physiological and Comparative Proteomic Analysis Reveals Different Drought Responses in Roots and Leaves of Drought Tolerant Wild Wheat (Triticum boeoticum). J. PLoS ONE. 10(4). 10-137.
43. **Nyachiro. J.M., K.G. Briggs, J. Hoddinott, A.M. Johnson-Flanagan. (2001).** Chlorophyll content, chlorophyll fluorescence and water deficit in spring wheat. Cer Res. Comm., 29: 135-142.
44. **Chutia. J, S.P Borah (2012).** Water stress effects on leaf growth and chlorophyll content but not the grain yield in traditional rice (*Oryza sativa* Linn.) genotypes of Assam, India II. Protein and proline status in seedlings under PEG induced water stress. American Journal of Plant Sciences, 3(07):971.
45. **Manivannan. P, C. Abdul Jaleel, B. Sankar, A. Kishorekumar, R. Somasundaram, G.M.A. Lakshmanan, R. Panneerselvam. (2007).** Growth, biochemical modifications and proline metabolism in *Helianthus annuus* L. as induced by drought stress. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 59: 141–149.
46. **Guerfel. M, O. Baccouri, D. Boujnah, W. Chaibi, M. Zarrouk. (2009).** Impacts of water stress on gas exchange, water relations, chlorophyll content and leaf structure in the two main Tunisian olive (Olea europaea L.) cultivars. 119: 257-263.
47. **Sadeghabad. A.A, A. Dadkhodaie, H. Hasheminasab. (2016).** Physio-biochemical Responses of Wheat Genotypes under Drought Stress. J. International Journal of Plant & Soil Science. 13(3).
48. **Mafakheri. A, A. Siosemardeh, B. Bahramnejad, P.C. Struik, Y. Sohrabi. (2010).** Effect of drought stress on yield, proline and chlorophyll contents in three chickpea cultivars. J. Australian journal of crop science. 4(8):580-585.
49. **Al-Maskri. A, W. Al-Busaidi, H. Al-Nadabi, A. Al-Fahdi M.M. Khan. (2016)**. Effects of Drought Stress on Wheat (*Triticum aestivum L*.) cv. Coolly. International Conference on Agricultural, Food, Biological and Health Sciences.
50. **Bashier. A., J. Masanga, W. Kariuki, S. Runo (2018).** Simple sequence repeat (SSR) markers linked to drought tolerant traits in selected Sudanese rice (Oryza sativa L.) genotypes. J. African Journal of Biotechnology. 17(20): 649-659.
51. **Kolaksazov. M, F. Laporte, V. Goltsev, M. Herzog, E.D. Ananiev, (2014).** Effect of frost stress on chlorophyll a fluorescence and modulated 820 nm reflection in (*arabis alpina*) population from Rila mountain. Genetics and Plant Physiology, 4: 44–56.
52. **Sabbagh. E, M. Lakzayi, A. Keshtehgar, K. Rigi. (2014)**. The effect of salt stress on respiration, PSII function, chlorophyll, carbohydrate and nitrogen content in crop plants, International Journal of Farming and Allied Sciences, 3(9): 988-993.
53. **Kishor. P.B.K., Z. Hong, C.H. Miao, C.A.A. Hu, and D.P.S. Verma. (1995).** Overexpression of A1- Pyrroline -5- Carboxylate Synthetase Increases Proline Production and Confers Osmotolerance in Transgenic Plants. Plant Physiology, 108: 1387-1394.
54. **Hayashi. H., L.M. Alia, P. Deshnium, M. Ida, and N. Murata, (1997).** Transformation of Arabidopsis thaliana with the cod A gene for choline oxidase; accumulation of glycinebetaine and enhanced tolerance to salt and cold stress. J. Plant Journal, 12: 133-42.
55. **Blum A, 1988.** Drought resistance. In Plant breeding for stress environment CRC Press Boca Raton, Florida USA: 43-73.
56. **Bensari M., S.J. Calme, G.Viala, (1990)**. Répartition du carbone  
    fixé par photosynthèse entre l’amidon et le saccharose dans la feuille de  
    soja: Influence d’un deficit hydrique. Plant. Physiol. Biochimie. 28: 113-  
    124.
57. **Bamoun A**., **(1997)**. Contribution à l’étude de quelques caractères  
    morph-ophysiologiques, biochimiques et moléculaires chez des variétés de  
    blé dur (*Triticum tirgidum* esp *durum*), pour l’étude de la tolérance a la  
    sécheresse dans la région des hauts plateaux de l’ouest algérien.Thèse de  
    magister, p: 1-33.
58. **Ali Dib T., P. Monneveux**, **and J.L. Araus**, **(1990)**. Breeding durum  
    wheat for drought tolerance analytical, synthetically approaches and their  
    connection. In: Wheat breeding-Prospects and future aproaches.  
    Panayotov L and Pavlov S (ends), Alpena, Bulgaria, 224-240.
59. **Adjab M. (2002).** Recherche destraits morphologique, physiologique etbiochimique d’adaptation au dificit hydrique chez différents génotypes de blédur (*Triticum durum*). Thése de magistére. Faculté des sciences. Univer.Annaba : 84 P.
60. **Qayyum. A., A. Razzaq, M. Ahmad, and M.A. Jenks. (2011).** Water stress causes differential effects on germination indices, total soluble sugar and proline content in wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes. African Journal of Biotechnology., 10(64): 14038-14045.
61. **Wilcox, J.R. (2001).** Sixty years of improvement in publicly developed elite soybean lines. Crop Science., 41: 1711-1716.
62. **Kadam, S., Y. Shukla, N. Subhash, C. Singh, and K. Suthar. (2017).** Screening of Wheat Genotypes (*Triticum durum* L.) in Response to Drought Stress by Some Physiological and Biochemical Indices, Int. J. Pure App. Biosci.5(3):969-977. doi: http://dx.doi.org/10.18782/2320-7051.2795
63. **Maksup. S, S. Roytrakul, K. Supaibulwatana. (2014).** Physiological and comparative proteomic analyses of Thai jasmine rice and two check cultivars in response to drought stress. J. Plant Interact. 9. 43–55.
64. **Rice-Evans. C.A, N.J. Miller, G. Paganga. (1997).** Antioxidant properties of phenolic compounds. Trends Plant Sci 2: 152–159.
65. **Zhang. J, M.B. Kirkham. (1994).** Drought Stress Induced Changes in Activities of Superoxide Dismutase, Catalase, and Peroxidase in Wheat Species, Plant and Physiology. 35(5): 785–791.
66. **Wei. L, L. Wang, Y. Yang, P. Wang, T. Guo, G. Kang. (2015)**. Abscisic acid enhances tolerance of Wheat Seedlind to drought and regulates transcript levels of genes encoding ascorbate-glutathion biosynthesis. Frontiers in plant Science. 6. 458. doi: 10.3389/fpls.2015.00458.
67. **Sadak. M.Sh., A.M. Abdalla, E.M. Abd-Elhamid, M.I. Ezzo. (2020).** Role of melatonin in improving growth, yield quantity and quality of *Moringa oleifera* L. plant under drought stress, Bulletin of the National Research Centre. 44(18).
68. **Hajihashemi. S, A.A. Ehsanpour. (2013).** Influence of exogenously applied paclobutrazol on some physiological traits and growth of Stevia rebaudiana under in vitro drought stress, Research Gate, <https://www.researchgate.net/publication/257908669>.
69. **Mirzai M., A. Moeini, F. Ghanati. (2013).** Effects of drought stress on the lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in two canola (*Brassica Napus* l.) Cultivars, J. Journal of agricultural science and technology, 15(3): 593-602.
70. **Guo. J., Y. Yang, G. Wang, L. Yang, X. Sun. (2010).** Ecophysiological responses of Abies fabri seedlings to drought stress and nitrogen supply, Physiologia plantarum, <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2010.01370.x>.
71. **Guo. Y.Y, H.Y. Yu, M.M. Yang, D.S. Kong, Y.J. Zhang. (2018**). Effect of Drought Stress on Lipid Peroxidation, Osmotic Adjustment and Antioxidant Enzyme Activity of Leaves and Roots of Lycium ruthenicum Murr. Seedling. J. Russian Journal of Plant Physiology, 65. 244–250.
72. **Nayyar. H., and D. Gupta (2006).** Differential sensitivity of C3 and C4 plants to water deficit stress: association with oxidative stress and antioxidants. Environ. Exp. Bot. 58: 106-113.
73. **Sassi. K., G. Abid, L. Jemni, B. Dridi-Al Mohandes, M. Boubaker, (2012).** tude comparative de six variétés de blé dur (*Triticum durum* Desf.), vis-à-vis du stress hydrique, Journal of Animal &Plant Sciences, 15(2): 2157– 2170.
74. **Siddique MRB, Hamid A, Islam MS. (2000).** Drought stress effects on water relations of wheat. Bot Bull Acad, 41: 35-39.
75. **Yang. F., L.F. Miao, (2010).** Adaptive responses to progressive drought stress in two poplar species originating from different altitudes. Silva Fennica, 44: 23-37.
76. **Bajji, M., S. Lutts, J.M. Kinet, (2001).** Water deficit effects on solute contribution to osmotic adjustment as a function of leaf aging in three durum wheat (*Triticum durum* Desf.) cultivars performing differently in arid conditions. Plant Sci., 160: 669-681.
77. **Nye, A. H. and P.B. H. Tinker. (1977).** Solutes movement in the Soil–root system. Black Well, Oxford.
78. **Khan. R.S, N.A. Darwish, B. Khattak, V. Ntui, K. Kong, K. Shimomae *et al*. (2014).** Retransformation of Marker-Free Potato for Enhanced Resistance Against Fungal Pathogens by Pyramiding Chitinase and Wasabi Defensin Genes. Molecular Biotechnology 56: 814–823. doi: 10.1007/s12033-014-9760-2 PMID: 24802621
79. **ICARDA. (2003).** Durum wheat germplasm improvement for increased productivity, yield stability, and grain quality in West Asia and North Africa. Annual Report. 18-20 International Triticeae Mapping Initiative (ITMI) Wheat mapping workshop (1994). Proc. of the 4th public workshop, McGuire PE and Qualset CO (eds), San Diego CA USA.
80. **Dekkers J.C.M., F. Hospital. (2002).** The use of molecular genetics in the improvement of agricultural populations. Nat. 3: 22-32.
81. **Afiukwa. C.A., J.O. Faluyi, C.J. Atkinson, B.E. Ubi, D.O. Igwe, R.O. Akinwale. (2016).** Screening of some rice varieties and landraces cultivated in Nigeria for drought tolerance based on phenotypic traits and their association with SSR polymorphism. African Journal of Agricultural Research, 11(29):2599-2615.
82. **Karp, A., S. Kresovich, K. V. Bhat, W. G. Ayad, and T. Hodgkin. (1997).** Molecular tools in plant genetic resources conservation: a guide to the technologies. 1st ed. IPGRI Technical Bulletin NO. 2. IPGRI, Rome, Italy, Pp. 9-21.
83. **Zietkiewicz E, A. Rafalski, and A. Labuda. (1994).** Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR) anchored polymerase chain reaction amplification. Genomics 20:178–183.
84. **Nagaraju, J., M. Kathirvel., R. Ramesh Kumar., E.A. Siddiq., and S.E. Hasnain. (2002).** Genetic analysis of traditional and evolved Basmati and non-Basmati rice varieties by using fluorescence-based ISSR-PCR and SSR markers. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 99 5836-5841.
85. **Bornet B., F. Goraguer., G. Joly., and M. Branchard. (2002).** Genetic diversity in European and Argentinian cultivated potatoes (Solanum tuberosum subsp. tuberosum) detected by inter-simple sequence repeats (ISSRs). Genome 45: 481-484.
86. **Chowdhury, M.A., B. Vandenberg and T. Warkentin. (2002).** Cultivar identification and genetic among selected breading lines and cultivars in Chickpea (*cicer aritinum* L.). Euphytica 127: 317-325.
87. **Bornet. B. and M. Branchard. (2001)**. Non-anchored inter simple sequence repeat (ISSR) markers: reproducible and specific tools for genome fingerprinting. Plant Mol Bio Res., 19:209-215.
88. **Kijas. J. M. H.; J. C. S., Fowwler and M. R., Thomas. (1995).** An evaluation of sequence tagged microsatellite site markers for genetic analysis within Citrus and related species. Genome 38: 349-355.
89. **Tautz. D, and M. Renz. (1984)**. Simple sequences are ubiquitous repetitive components of eukaryotic genomes. Nucleic Acid Research 12: 4127-4183.
90. **Sofalian. O., N. Chaparzadeh and M. Dolati. (2009).** Genetic diversity in spring wheat landraces from northwest of Iran assessed by ISSR markers. Notul. Bot. Hort. Agric., Cluj-Napoca, 37: 252-256.
91. **Yanfang Z, J. Hu, R. Han, Y. Wang, S. Zhu (2011)**.  
    Fingerprinting and identification of closely related wheat (*Triticum  
    aestivum* L.) cultivars using ISSR and fluorescence- labeled TP-M13-  
    SSR markers. Australian Journal of Crop Science, 5(7): 846-850.
92. **DU Jin-Kun, Y. Ying-Yin, N. Zhong-Fu, P. Hui-Ru, S. QiXin, (2002)**. Genetic Diversity Revealed by ISSR Molecular Marker in  
    133 Common Wheat, Spelt, Compactum and Progeny of Recurrent Selection.  
    China Agricultural University, Beijing 100094, China
93. **Ingram. J., D. Bartels, (1999).** The molecular basis of dehydration tolerance in plants. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.47: 377-403.
94. **Allagulova. Ch.R., F.R. Gilamov, F.M. Shakirova, V.A. Vakhitov, (2003).** The plant dehydrins: structure and functions. Biochemistry (Moscow)68: 945-951.
95. **Dure, L., M. Crouch, J. Harada, T.-H.D. Ho, J. Mundy, R. Quatrano, T. Thomas, Z.R. Sung, (1989).** Common amino acid sequence domains among the LEA proteins of higher plants. Plant Mol. Biol.12: 475-486.
96. **Wise. J.M., A. Tunnacliffe**, (2004). POPP the question: what do LEA proteins do, Trends Plant Sci.9(1):13-7.
97. **Close. T.J., (1997).** Dehydrins: A commonality in the response of plants to dehydration and low temperature. Physiol. Plant100: 291-296.
98. **Mitwisha. L., W. Brandt, L. McCread, G.G. Lindsey, (1998).** HSP12 is a LEA like protein in *Saccharomyces cerevisiae*. Plant Mol. Biol.37: 513-521.
99. **Rodriguez, E.M., J.T. Svenson, M. Malatrasi, D. Choi, T.J. Close, (2005).** Barley *Dhn*13 encodes a KS-type dehydrin with constitutive and stress responsive expression. Theor. Appl. Genet.110: 852-858.
100. **Nylander. M., J. Svensson, E.T. Palva, B.V. Welin, (2001).** Stress-induced accumulation and tissue-specific localisation of dehydrins in (*Arabidopsis thaliana*). Plant Mol. Biol**.** 45: 263-279.
101. **Rorat. T., W.J. Grygorowicz, W. Irzykowski, P. Rey, (2004).** Expression of KS-type dehydrins is primarily regulated by factors related to organ type and leaf developmental stage under vegetative growth. Planta218: 878-885.
102. **Rorat. T., B.M. Szabala, W.J. Grygorowicz, B. Wojtowicz, Z. Yin, P. Rey, (2006).** Expression of SK3-type dehydrin in transporting organs is associated with cold acclimation in *Solanum* species. Planta 224: 205-221.
103. **Garay-Arroyo A., J.M. Colmenoro-Florest, A. Garciarrubio, A.A. Covarrubias, (2000).** Highly hydrophilic proteins in prokaryotes and eucaryotes are common during conditions of water deficit. J. Biol. Chem.275: 5668-5674.
104. **Puhakainen. T., M.W. Hess, P.M. Kela, J. Svensson, P. Heino, E.T. Palva, (2004).** Overexpression of multiple dehydrine genes enhanced tolerance to Freezing, Plant Mol Biol, 54: 743-753.
105. **Shekhawat. U.K.S., L. Srinivas, T.R. Ganapathi, (2011).** *MusaDHN-1*, a novel multiple drought- and salt – stress tolerance in banana, Planta, doi:10.1007/s00425-00011-01455-00423.
106. **Hundertmark. M., J. Buitink, O. Leprince, D.K. Hincha, (2011).** The reduction of seed-specific dehydrins reduces seed longevity in *Arabidopsis thaliana*, Seed, Sci Res, 21: 165-173.
107. **Eriksson. S.K., P.D. Harryson, (2011).** Molecular biology structure and function in plant desiccation tolerance, edited by Luttge. U., E. Beck, D. Berlin, Springer-Verlag, 289-305.
108. **Cseuz L, Pank J, Kertesz Z, Matuz J, Tari I, Erdei L (2002)** Wheat breeding for tolerance to drought stress at the cereal non-profit company. In ‘Proceedings 7th Hungarian Congress on Plant Physiology’. Acta Biologica Szegediensis**46**, 25–26.
109. **Sivamani, E., A. Bahieldin, J.M. Wraith, T. Al-Niemi, W.E. Dyer, T.H.D. Ho, R. Qu, (2000).** Improved biomass productivity and water use efficiency under water deficit conditions in transgenic wheat constitutively expressing the Barley HVA1 gene. Plant Sci. 155: 1–9.
110. **Tommasini. L., J.T. Svensson, E.M. Rodriguez, A. Wahid, M. Malatrasi, K. Kato, S. Wanamaker, J. Resnik T.J. Close, (2008).** Dehydrin gene expression Provides an indicator of low temperature and drought stress transcriptome-based analysis of Barley (*Hordeum vulgare* L*.*), Funct Integr Genomics, 8: 387-405.
111. **Yang. Y., M. He, Z. Zhu, S. Li, Y. Xu, C. Zhang, S.D. Singer, (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 Biology, 12:140.
112. **Qin. Y.X., F. Qin, (2016).** Dehydrins from Wheat x Thinopyrum ponticum amphiploid increase salinity and drought tolerance under their own inducible promoters without growth retardation, Plant Physiology and Biochemistry, 99: 142-149.
113. **Lopez, C.G., G. Banowetz, C.J. Peterson, W.E. Kronstad, (2001**). Differential accumulation of a 24-kd dehydrin protein in wheat seedlings correlates with drought stress tolerance at grain filling. - Hereditas 135: 175- 181. Lund, Sweden. ISSN 0018-0661.
114. **Shakirova. F., C. Allagulova, D. Maslennikova, K. Fedorova, R. Yuldashev, A. Lubyanova, M. Bezrukova, A. Avalbaev, (2016).** Involvement of dehydrins in 24- epibrassinolide- induced protection of Wheat plants against drought stress, Plant Physiology Biochemistry, 108: 539-548.
115. **Rampino. P., S. Pataleo, C. Gerardi, G. Mita, C. Perrotta, (2006).** Drought stress response in wheat: physiological and molecular analysis of resistant and sensitive genotypes, Plant, Cell and Environment, 29: 2143–2152.
116. **Suprunova T., T. Krugman, T. Fahima, G. Chen, I. Shams, A. Korol, E. Nevo, (2004).** Differential expression of dehydrin genes in wild barley (*Hordeum spontaneum*) associated with resistance to water deficit. Plant, Cell & Environment 27: 1297–1308.
117. **Barrs H.D., P.E. Weatherley, (1962).** A re-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficit in leaves. Australian Journal of Biological Science 15: 413–428.
118. **Herbert, D., P.J. Philips, R.E. Strange, (1971).** Methods in Microbiology, Acad. Press. London. U.K.
119. **Nanjo. T., M. Kobayashi; Y. Yoshiba; Y. Kakubari, K. Yamaguchi-Shinozaki, K. Shinozaki (1999)**. Antisense suppression of praline degradation improves tolerance to freezing and salinity in Arabidopsis thaliana, FEBS Lett, 461. 205-210.
120. **Bates, L.S., R.P. Waldren, I.D. Teare, (1973**). Rapid determination of free proline for water stresses studies, Plant and Soil, 3: 205-207.
121. **Arnon Di. (1949).** Copper enzymes in isolated chloroplasts  
     polyphenoloxidase in *Beta vulgaris,* plant physiol 24. 1-15.
122. **Carmak. I., G.H. Horst, (1991).** Effect of aluminum on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase, and peroxidase activities in root tips of soybean (Glycine max). Physiol Plant, 83: 463-468.
123. **Gao. J.F. (2000**). Experiment Technique of plant physiology. 196-197.
124. **Schonfeld. M.A., R.C. Johnson, B.F. Carver, D.W. Mornhinweg (1988).** Water relations in winter wheat as drought resistance indicators. Crop, 28: 526-531.
125. …………………
126. [**Prabhakar**](http://en.wikipedia.org/wiki/Prabhakar_Misra)**, M., and D. Mark. (2002).** Ultraviolet Spectroscopy and UV Lasers. New York: Marcel Dekker. [ISBN](http://en.wikipedia.org/wiki/International_Standard_Book_Number) [0-8247-0668-4](http://en.wikipedia.org/wiki/Special:BookSources/0-8247-0668-4).
127. **Maniatis. T, E. F. Fritsch, and J. Sambrook. (1982).** Molecular cloning, a laboratory manual (Cold Spring Harbor: Cold Spring Harbor Laboratory).
128. **Williams, J.G.K., A. R. Kubelik, K.J. Livak, J.A. Rafalski and S.V. Tingey. (1990).** DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucleic Acids Research, 18(22): 6531-6535.
129. **Serwer. Ph. (1983).** "Agarose gels: Properties and use for electrophoresis". Electrophoresis, 4(6): 375–382. [doi](http://en.wikipedia.org/wiki/Digital_object_identifier): [10.1002/elps .1150040602](http://dx.doi.org/10.1002%2Felps.1150040602)
130. **Zhong. J., X. LV, R. Liu, and H. Chen, (2009).** Genetic Relationship of Sweet Cherry (Prunus avium L.) Based on SSR Markers. Plant Sciences Research. 2(1): 6-10.
131. **Adonina. I.G., E.A. Salina, E.G. Pestova, and M.S. Röder, (2005).** Transferability of Wheat Microsatellites to Diploid Aegilops Species and Determination of Chromosomal Localizations of Microsatellites in the S Genome. 48:959-970.
132. **Sneath. P. and R. Sokal. (1973).** Numerical Taxonomy. San Francisco: W. H. Freeman.
133. **Nei, S. M.(1972).** Interspecific gene differences and evolutionary time estimated from electrophoretic data on.
134. **Botstein. D. R. L., White, M. Skolinck, and R.W. Davis. (1980)**. Constraction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. Am. J. Hum. Genet., 32: 314-331.
135. **Mohammadi. S.A., and B.M. Prasanna. (2003).** Analysis of genetic diversity in crop plants: salient statistical tools and considerations cropscie. 43: 1235-1248.
136. **Monneveux. P, M. Nemmar, (1986)**. Contribution à l’étude de la résist- ance à la sécheresse chez le blé tendre (*Triticum aestivum*) et chez le blé dur (*Triticum durum* Desf), etude d’accumulation de proline au cours du cycle de développement. Agronomie, 6: 583-590.
137. **Bhupinder. S., K. Usha (2003)**. Salicylic acid induced physiological and biochemical changes in wheat seedlings under water stress, Nuclear Research Laboratory, Indian Agricultural Research Institute, New Delhi, India; Division of Fruits and Horticultural Technology.
138. **Ait Kaki. Y., (1993**). Contribution à l’étude des mécanismes morphophysiologiques et biochimiques de tolérance au stress hydrique sur cinq variétés de blé dur. Thèse de magistère, Univer.Annaba, 114p.
139. **Siakhène N., (1984**). Effet du stress hydrique Sur quelques espèces de luzerne Annuelle. Mémoire ing Agr, INA, El Harrach, 90 p.
140. **KYPARISSIS. A, Y. PETROPOULUN, Y. MANETAS (1995).** Summer survival of leaves in a soft-leaved shrub (Phlomis fruticosa L., Labiatae) under Mediterranean field conditions, J. Exp. Bot. avoidance of photoinhibitory damage through decreased chlorophyll contents, 46: 1825-1831.
141. **Zhang. J, M.B. Kirkham (1996**). Antioxidant response to drought in sunflower and sorghum seedlings, New Phytol., 132: 361-373.
142. **Wei. L, L. Wang, Y. Yang, P. Wang, T. Guo, G. Kang. (2015**). Abscisic acid enhances tolerance of Wheat Seedlind to drought and regulates transcript levels of genes encoding ascorbate-glutathion biosynthesis. Frontiers in plant Science. 6. 458. doi: 10.3389/fpls.2015.00458.
143. **GUO. Y.Y, H.Y. YU, M.M. YANG, D.S. KONG, Y.J. ZHANG (2018**). Effect of Drought Stress on Lipid Peroxidation, Osmotic Adjustment and Antioxidant Enzyme Activity of Leaves and Roots of Lycium ruthenicum Murr. Seedling. J. Russian Journal of Plant Physiology, 65: 244–250.
144. **Gowing, D.J., Davies, W.J., Trejo, C.L. and H.G. Jones  
     (1993**). Xylem- Transported Chemicals and The Regulation of Plant  
     Growth and Physiology. Philltrans Royal Soc.Lond. 341: 41-47.
145. **Sambrook, J., E.F. Fritsch., and J. Maniatis. (1989)**. Molecular Cloning, a Laboratory Manual. 2nd edition. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.
146. **Grignac. P.H., (1965).** La culture et l’amélioration génétique du lé dur. Guide national de l’agriculture T.III.
147. **Choi. D.W, M.C. Koag, and T.J. Close. (2000)**. Map location of Dhn gene determine by gene – specific PCR. Theor. Appl Genet. 101: 350-354.
148. ………………..
149. **Nei, S.M. 1987.** Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. Genetics 89: 583-590.

**Abstract:**

This study was conducted at faculty of Agriculture engineering, at Al Baath University during the growing season 2020-2021, in order to:

**Biochemical Study:**

evaluate the performance of six genotypes of durum Wheat (Horani, Acsad65, Cham3) and soft wheat (Golan2, Bohouth10, Cham10) to drought stress during seedling stage by PEG-6000 concentration (-6, -12 Bar) in addition to treatment control. Proline, chlorophyll, Soluble Sugars, malondiaaldehyde (MDA) and relative water content (RWC), was estimated after (24,48,72 hours) exposure to drought stress. The experiment was designed using randomized complete block design with three replications.

The statistical analysis results of the experiment clearly indicated to the existence of genetic variability in the response of studied wheat genotypes to drought stress. It was observed that proline and chlorophyll Soluble Sugars MDA in the leaves and the roots and RWC in the roots increased with the increase in the intensity and duration of drought stress. Whille RWC in the Leaves was decreased with the increase in the intensity and duration of drought stress. the variety Cham3 recorded the highest rate of proline (14.485 microg/g), with an increase of 62% at the concentration -12 bar compared to the treatment control, and 36% increase after 72 hours of exposure to stress compared with 24 hours. Whereas the variety Cham10 recorded the highest rate of chlorophyll (49.211 mlg/g). with an increase of 65% at the concentration -12 bar compared to the treatment control, and 12% increase after 72 hours of exposure to stress compared with 24 hours. the variety Golan2 recorded the highest rate of soluble sugar (87.810 microg/g), with an increase of 26% at the concentration -12 bar compared to the treatment control, and 2% increase after 72 hours of exposure to stress compared with 24 hours. And the highest rate of MDA in leaves was in the variety Horani (10.051µmol/g), with an increase of 50% at the concentration -12 bar compared to the treatment control, and 42% increase after 72 hours of exposure to stress compared with 24 hours. While the highest rate of MDA in the roots was in the variety Cham3 (2.998 µmol/g). with an increase of 69% at the concentration -12 bar compared to the treatment control, and 154% increase after 72 hours of exposure to stress compared with 24 hours. Whereas the variety Bohouth10 recorded the highest rate of RWC in the leaves (55.675%), with a decrease of 68% at the concentration -12 bar compared to the treatment control, and 35% decrease after 72 hours of exposure to stress compared with 24 hours. While in the root, the variety Cham10 recorded the highest rate of RWC (78.403%), with an increase of 79% at the concentration -12 bar compared to the treatment control, and 122% increase after 72 hours of exposure to stress compared with 24 hours.

**Molecular Study:**

evaluate the performance of ten genotypes of durum Wheat (Horani, Acsad65, Cham3, Cham5, Bohouth9) and soft wheat (Doma2, Doma6, Golan2, Bohouth10, Cham10) to the same drought stress.

1. **Study the degree of genetic relationship using ISSR technique.**

determine the degree of genetic relationship between the studied durum and soft wheat cultivars using ISSR technique, 32 primers were used for this purpose, 17 of which proved their efficiency in giving polymorphism among studied genotypes, and 122 bands were resulted, Number of bands for each primers between 3 bands as the lowest number with the two primers (ISSR-36, ISSR-40), and 14 bands with the primer (ISSR-18), with an average of 7.2 bands per primer. The mean percentage of polymorphism was (93.4%). The lowest value of dissimilarity matrix (PDV) in durum wheat genotypes was (0.3272) between the two genotypes (Cham3 and Cham5), indicating that they had a high degree of genetic relationship, while the highest value of PDV was (0.6042) between the two genotypes (Bohouth9, Horani) Indicating a significant genetic variation among them. While the lowest value of dissimilarity matrix (PDV) in soft wheat genotypes was (0.2647) between the two genotypes (Douma2, Doma6), and the highest value of PDV was (0.7655) between the two genotypes (Cham10, Doma6). The average polymorphic information content (PIC) was 0.2833, where the used primers demonstrated their ability to distinguish between studied genotypes.

1. **study of allelic variations of dehydrin genes**

In the study of allelic variations of dehydrin genes responsible for drought tolerance at the level of DNA, the study showed clear difference in these genes between the studied genotypes. The variations in molecular weight between the comparable of a single site were sometimes large and highly similar to others, and were easily discernible on the 4% metaphor agarose gel.

The PCR-reaction of the *Dhn6* gene showed that there was surpassed in the number of patterns (13) with all the studied genotypes, followed by Dhn9 with (10) patterns, while *Dhn12* gave the lowest number of patterns (4 morphological patterns) with the studied genotypes. The results showed that the durum wheat genotype was superior in the number of genetic patterns (29) compared with the soft genotypes (17). And that the genotype Acsad65 was superior in the number of genetic patterns (8), followed by the genotype Horani with 7 genetic patterns, while the genotype Golan2 gave the lowest number of morphological patterns (2) genetic patterns.

**Key words:Drought, Wheat, Seedling, PEG, Proline, Chlorophyll, MDA, RWC, SSR, Dehydrin.**