



## Original article

**Association of *TaEXPB23* gene expression with coleoptile growth, seed size and plant height in water-stressed wheat****Fatemeh Darvishnia<sup>1</sup>, Mohammad Hadi Pahlevani<sup>2\*</sup>, Khalil Zaynali Nezhad<sup>3</sup>, Khosro Azizi<sup>4</sup>, Saeed Bagherikia<sup>5</sup>**

1. Ph.D. Student, Plant Breeding and Biotechnology Department, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

2. Associate Professor, Plant Breeding and Biotechnology Department, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

3. Assistant Professor, Plant Breeding and Biotechnology Department, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

4. Associate Professor, Agronomy and Plant Breeding Department, Lorestan University, Khorramabad, Iran

5. Assistant Professor, Horticulture Crops Research Department, Golestan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Gorgan, Iran

Received 2 February 2025; Revised 7 January 2026; Accepted 31 January 2026

**Extended abstract****Introduction**

Changes in the size and growth rate of plant cells and tissues, driven by alterations in the expression of growth-related genes, represent one of the primary adaptive responses of plants to environmental stresses. Among these genes, *TaEXPB23*, a member of the expansin family, plays a key role in cell wall loosening and cell expansion, thereby promoting coleoptile elongation and early seedling growth. A longer coleoptile facilitates deeper sowing, improves seedling emergence, and enhances plant establishment under water-limited conditions, making it an important trait for drought adaptation. Although the biological function of *TaEXPB23* has been reported, its association with drought tolerance and related agronomic traits in wheat, particularly in Iranian cultivars, remains poorly understood. Therefore, this study aimed to investigate the expression pattern of the *TaEXPB23* gene in different wheat genotypes and to evaluate its relationship with coleoptile length, kernel weight, plant height, and drought tolerance, providing insights into its potential application in wheat breeding programs.

**Materials and methods**

The expression pattern of the *TaEXPB23* gene was investigated in eight bread wheat cultivars, including Arta, Uroum, Baharan, Weebill 264, Chamran, Roshan, Hirmand, and Darya. These genotypes were selected based on their contrasting responses to drought stress, coleoptile length, and grain yield. Field experiments were conducted at the Lorestan Agricultural Research Station using a randomized complete block design with three replications under two irrigation regimes: well-watered (control) and terminal drought stress. In the drought treatment, irrigation was applied only at seedling emergence, whereas the control plots received normal irrigation throughout the growing season. Grain yield, plant height, thousand-kernel weight, coleoptile length, and coleoptile dry weight were measured. The Stress Tolerance Index (STI) was calculated to evaluate genotype responses to drought stress. For gene expression analysis, seeds were germinated under laboratory conditions, and coleoptile samples were collected at 6, 24, 48, and 72 h after germination. Total RNA was extracted using a standard protocol, and its quantity and quality were assessed by spectrophotometry and agarose gel electrophoresis, respectively. First-strand cDNA was synthesized and used for quantitative real-time PCR (RT-qPCR)

\* Corresponding author: Mohammad Hadi Pahlevani; E-Mail: [hpahlavani@yahoo.com](mailto:hpahlavani@yahoo.com)



with SYBR Green chemistry on a Bio-Rad iQ5 system. The *18S rRNA* gene served as the internal reference. All reactions were performed in three technical replicates. Relative gene expression was quantified using the Pfaffl method and analyzed with the REST software.

### Results and discussion

The highest average coleoptile length belonged to genotypes Roshan, Baharan, Hirmand, Oroum and Darya and the lowest to Weebille264, Chamran and Arta. The 1000 kernel weight of the eight studied genotypes was between 35.1 to 44.0 grams and the range of changes in their plant height in non-stressed conditions was between 87.8 and 110.7 cm. The expression profile of the *TaEXPB23* gene differed among the wheat cultivars at 6, 24, 48, and 72 h after germination. Relative gene expression increased in almost all genotypes up to 48 hours after germination, and the closer the seedling is to the end of its coleoptile growth period (72 hours), the gene expression decreased. The existence of a negative correlation between coleoptile growth and gene expression at 6 hours and turning it into a positive correlation at 72 hours, shows that although in the early hours after germination, the increase in the expression of the *TaEXPB23* caused a decrease in coleoptile growth, but with the passage of time, the changes in gene expression caused an increase in the length and dry weight of coleoptiles of wheat genotypes

### Conclusion

Based on the correlation coefficients of gene expression with morphological traits, seed yield and tolerance indices, it can be stated that early growth and better seedling establishment as a result of higher expression of the *TaEXPB23* has led to increased growth and production in mature plants, especially under drought stress.

**Keywords:** Tolerance index, Germination, Housekeeping gene, qPCR

## تحلیل بیان ژن *TaEXPB23* و ارتباط آن با رشد کلنوپتیل و صفات زراعی گندم تحت تنش کم آبی

فاطمه درویش نیا<sup>۱</sup>، محمدهادی پهلوانی<sup>۲\*</sup>، خلیل زینلی نژاد<sup>۳</sup>، خسرو عزیزی<sup>۴</sup>، سعید باقری کیا<sup>۵</sup>

- ۱- دانشجوی دکتری، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان
- ۲- دانشیار، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان
- ۳- استادیار، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان
- ۴- دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم آباد
- ۵- استادیار، بخش تحقیقات علوم زراعی و باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی گلستان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، گرگان

مشخصات مقاله	چکیده
واژه‌های کلیدی: شاخص تحمل جوانه‌زنی ژن خانه‌دار واکنش زنجیره ای پلیمرز کمی	تغییر در اندازه و سرعت رشد سلول‌ها و بافت‌ها که در اثر تغییر الگوی بیان ژن‌های مرتبط ایجاد می‌شود، یکی از مهم‌ترین پاسخ‌های گیاهان به تنش‌های محیطی است. این پژوهش با هدف بررسی رابطه بیان ژن اکسپنسنین <i>TaEXPB23</i> با طول و وزن خشک کلنوپتیل، وزن دانه، ارتفاع بوته و عملکرد دانه در هشت رقم گندم نان تحت تنش کم آبی، در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی انجام شد. پس از تعیین واکنش ارقام بر اساس شاخص تحمل فرناندز (STI)، صفات مورفولوژیک و بیان نسبی ژن ارزیابی شدند. نتایج نشان داد بین ارقام از نظر عملکرد دانه در شرایط تنش و غیرتنش اختلاف معنی‌داری وجود داشت؛ به طوری که رقم اروم بیشترین و آرتا کمترین عملکرد را داشتند. بر اساس شاخص STI، شش رقم در گروه متحمل و دو رقم در گروه حساس قرار گرفتند. همچنین بین ارقام از نظر بیان نسبی ژن <i>TaEXPB23</i> ، طول و وزن خشک کلنوپتیل، وزن دانه و ارتفاع بوته اختلاف معنی‌داری مشاهده شد. بیشترین طول کلنوپتیل در ارقام روشن، بهاران، هیرمند، اروم و دریا و کمترین آن در <i>WeeBille264</i> ، چمران و آرتا ثبت شد. الگوی بیان ژن نیز در ارقام متفاوت بود؛ به گونه‌ای که در ۶ ساعت پس از جوانه‌زنی، افزایش معنی‌دار بیان ژن تنها در ارقام دریا و اروم، در ۲۴ ساعت در اروم و <i>WeeBille264</i> و در ۷۲ ساعت فقط در رقم دریا مشاهده شد. به طور کلی، بیان نسبی ژن تا ۴۸ ساعت روند افزایشی و سپس روند کاهشی داشت. تحلیل همبستگی نشان داد افزایش بیان ژن <i>TaEXPB23</i> با بهبود رشد اولیه و استقرار گیاهچه همراه بوده و می‌تواند موجب افزایش رشد و عملکرد گیاه بالغ، به ویژه تحت شرایط تنش کم آبی شود. این ژن می‌تواند به عنوان یک نشانگر مولکولی بالقوه در برنامه‌های اصلاح ارقام متحمل به خشکی مورد استفاده قرار گیرد.

### مقدمه

است (García-Coronado et al., 2025). اولین گام در تعیین این محدوده‌ها، تأثیر تنش کم آبی بر فرآیندهای فیزیولوژیکی گیاه در مراحل مختلف رشدی و ارتباط آن‌ها با رشد و نمو و در نهایت تولید عملکرد می‌باشد. از آن‌جا که بخش عمده اراضی کشاورزی ایران در نواحی خشک و نیمه خشک واقع شده‌اند، از دیرباز کشت و تولید انواع غلات بدلیل

امروزه آب به یکی از عوامل محدودکننده تولید محصول کشاورزی در سرتاسر جهان بویژه ایران تبدیل شده است. از این‌رو تعیین درجه تحمل نسبی و محدوده‌های رشدی گونه‌های گیاهی و ارقام زراعی بویژه توانمندی‌های آن‌ها در مواجهه با تنش‌های زیستی و غیر زیستی در انتخاب آن‌ها برای کشت در هر ناحیه آب و هوایی یا جغرافیایی ضروری

عملکرد پایین‌تر خواهد شد (Yagmur and Kaydan, 2009; Aydin et al., 2025).

در شرایط کم‌آبی، طیفی از واکنش و پاسخهای مولکولی و سلولی در سرتاسر گیاه آغاز می‌گردد که آگاهی از شدت، الگو و زمان وقوع آنها حلقه مفقوده درک مکانیزم واکنش گیاهان به تنش می‌باشد (Hasegawa et al., 2000). زمانی که گیاه با وضعیت کم‌آبی مواجه می‌شود، الگوی بیان بسیاری از ژن‌ها از جمله ژن‌های کدکننده پروتئین‌های درگیر در مسیرهای سیگنالی و پروتئین‌های عملکردی در پاسخ به تنش را تغییر می‌دهد تا رشد با ثبات تداوم یابد (Cosgrove, 2021). واکنش‌های رشد و نمو در گیاهان حاصل مستقیم پدیده تقسیم سلولی است و این پدیده خود ناشی از دستوراتی است که توسط پروتئین‌های تنظیمی صادر می‌گردد. به فرآیندی که در آن اطلاعات موجود در ژن به یک کارکرد رشد و نموی خاص تبدیل می‌گردند، بیان ژن گفته می‌شود. امروزه پیشرفت‌های تکنولوژیکی در زمینه مولکولی ژن‌ها موجب شده است تا به منظور درک صحیح‌تر فرآیندها و واکنش‌های فیزیولوژیکی گیاهان به انواع تنش‌ها الگوی بیان ژن مورد سنجش و تحلیل قرار گیرد (Lee et al., 2022; Reymond et al., 2000). گروهی از ژن‌ها که الگوی بیان آن‌ها در شرایطی که گیاه با تنش کم‌آبی مواجه می‌گردد تغییر می‌نماید پروتئین‌های گروه اکسپنسنین<sup>۱</sup> هستند (Cosgrove, 2021). اکسپنسنین‌ها یک گروه ژنی بزرگ هستند که پروتئین‌های نرم‌کننده دیواره سلولی در گیاهان را کد می‌نمایند و مسؤل فرآیندهای رشدی از جمله جوانه‌زنی بذر، طویل شدن ساقه، نمو گل‌ها و پیری محسوب می‌شوند و خود شامل چندین زیر گروه هستند (Fukuda 2014; Han et al., 2012). ژن‌های اکسپنسنین زیر گروه بتا که به اختصار گروه EXPB نیز نامیده می‌شوند بارها مورد مطالعه محققین در مورد نقش آنها در رشد و نمو بویژه در شرایط کم‌آبی قرار گرفته‌اند (Li et al., 2017; Cosgrove, 2021). ژن اکسپنسنین TaEXPB23 که اولین بار از کلئوپتیل گندم شناسایی و جداسازی شده‌است، بارها به منظور سنجش نقش آن در افزایش رشد در گندم و سایر گونه‌های گیاهی مورد ارزیابی قرار گرفته است (Han et al., 2012; Xing et al., 2009). این ژن به تنباکو منتقل گردید و با افزایش تقسیم سلولی و بزرگ شدن سلول، همراه با افزایش غشای پلاسمایی

سازگاری و تحمل در برابر کم‌آبی مورد توجه کشاورزان قرار داشته است. در بین غلات، گندم (*Triticum aestivum* L.) بواسطه ارزش غذایی، کشت و کار آسان و سازگاری‌اش در برابر دامن‌های از شرایط نامطلوب محیطی، دارای نقش اصلی در تأمین غذای انسان از جایگاه ویژه‌ای برخوردار می‌باشد. مطالعات گوناگون در گندم نشان داده‌اند که همه جنبه‌های رشد و نمو از جوانه‌زنی بذر تا رسیدگی با درجات مختلفی تحت تأثیر کم‌آبی قرار می‌گیرند (Zhao et al., 2020). جوانه‌زنی بذر و سبز شدن گیاهچه مراحل اولیه هستند که دارای حساسیت بالا نسبت به تنش کم‌آبی می‌باشند (Khaeim et al., 2022). در این مرحله، رشد بیشتر کلئوپتیل وضیعت استقرار گیاهچه‌ها را بهبود می‌بخشد که موجب دسترسی گیاهچه به رطوبت در لایه‌های پایین‌تر خاک می‌گردد و لذا ویژگی بسیار مطلوبی برای مقابله با تنش کم‌آبی محسوب می‌گردد (Khojamli et al., 2022). همانند سایر غلات، اولین اندامی که در هنگام جوانه‌زنی از بذر گندم خارج می‌شود، ریشه‌چه است که با طویل شدن در خاک به سمت پایین سیستم اولیه ریشه‌ای گیاه را تشکیل می‌دهد و موجب استقرار اولیه گیاهچه می‌گردد. پس از خروج ریشه‌چه، کلئوپتیل که در واقع غلاف محافظتی ساقه‌چه است از بذر خارج و به سمت سطح خاک رشد می‌نماید. از اینرو، رشد بیشتر و بلندبودن کلئوپتیل یک ویژگی مناسب برای کاشت گندم در محیط‌هایی است که رطوبت در عمق بیشتر خاک قرار دارد و طول آن به عنوان عاملی مهم در تعیین عمق کاشت، قدرت سبز کردن و استقرار گیاهچه‌ها و به منظور معیاری مؤثر در انتخاب ژنوتیپ‌های مقاوم به تنش کم‌آبی در برنامه‌های اصلاحی اندازه‌گیری می‌گردد (Reynolds et al., 2006; Ahmed et al., 2025). طول کلئوپتیل تحت تأثیر عواملی چون نوع رقم، اندازه بذر، پوشش بذر، رطوبت خاک و درجه حرارت قرار دارد (Singh et al., 2014; Li et al., 2017). همانند سایر فرآیندهای رشد و نموی، نقش ژن‌ها در کنترل طول کلئوپتیل گندم به اثبات رسیده است، بطوریکه ارقام نیمه‌پاکوتاه دارای کلئوپتیل کوتاه‌تر و ارقام پابلند از کلئوپتیل بلندتری برخوردار بودند (Wei et al., 2022). کشت ارقام گندم با کلئوپتیل کوتاه در عمق پایین‌تر خاک موجب جوانه‌زنی کندتر، رشد اولیه آهسته‌تر و در نهایت

<sup>1</sup> Expansin

و دیواره سلولی منجر به رشد گیاهچه‌ها گردید (Xing et al., 2009). انتقال ژن *TaEXPB23* به تنباکو هم‌چنین موجب افزایش رشد ریشه و بهبود تحمل به تنش کم‌آبی گردیده است (Li et al., 2017). رابطه مثبت بیان این ژن با رشد ریشه؛ عملکرد دانه و بیوماس تحت شرایط تنش خشکی در ارقام گندم ایرانی نیز گزارش گردیده است (Aligholizadeh-Moghaddam et al., 2020).

کمیاب منابع آب کشاورزی در پی خشکسالی‌های مداوم سال‌های اخیر در ایران لزوم یافتن راهکارهای مناسب و عملی مقابله با تنش کم‌آبی و تقلیل دادن خسارت آن در مزارع گندم را پراهمیت نموده است. کمی‌سازی واکنش گیاهان زراعی در شرایط کم‌آبی معمولاً با استفاده از شاخص‌های تحمل به خشکی صورت می‌گیرد. یکی از این شاخص‌ها که اعتبار آن بارها توسط محققین مختلف بویژه در گندم به اثبات رسیده است شاخص تحمل به تنش فرناندرز (STI) می‌باشد (Fernandez, 1992). برای اثبات نقش ژن *TaEXPB23* در رشد اندام‌های گیاهی بویژه کلئوپتیل از یک سو و اهمیت رشد و طول بیشتر کلئوپتیل در کشت بذر در عمق بیشتر خاک و استقرار گیاهچه به عنوان راهکاری برای مقابله با کم‌آبی، این سوال مهم طرح می‌گردد که ارتباط بیان ژن *TaEXPB23* با طول کلئوپتیل و تحمل به تنش کم‌آبی در گندم بویژه ارقام ایرانی چگونه است؟ بنابراین مطالعه حاضر با هدف بررسی تغییرات الگوی بیان ژن *TaEXPB23* در ناحیه ساقچه ژنوتیپ‌های گندم، و ارتباط این تغییرات با طول کلئوپتیل، وزن دانه، ارتفاع بوته و تحمل کم‌آبی در ارقام گندم به انجام رسید. یافتن رابطه بین الگوی بیان ژن *TaEXPB23* با تحمل به کم‌آبی در ارقام گندم هزینه و زمان مورد نیاز برنامه‌های غربالگری ژنوتیپ‌های در شرایط تنش را تا حد زیادی کاهش خواهد داد.

## مواد و روش‌ها

در این آزمایش الگوی بیان ژن *TaEXPB23* هشت رقم گندم نان شامل آرتا، اروم، بهاران، Weebille264، چمران، روشن، هیرمند و دریا در سال ۱۳۹۹ در آزمایشگاه ژنتیک دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان مورد مطالعه قرار گرفت. ژن *TaEXPB23* (کد دسترسی بانک ژن: AY260547) اولین بار از کلئوپتیل گندم شناسایی و جداسازی شده است (Xing et al., 2009). این ژنوتیپ‌ها عمدتاً ارقام در حال کشت در مناطق مختلف ایران بوده که

بذر آن‌ها از مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج تهیه شدند. مبنای انتخاب این ارقام واکنش متفاوت آن‌ها از نظر تحمل به تنش کم‌آبی، طول کلئوپتیل و عملکرد دانه تحت شرایط تنش کم‌آبی بود (Darvishnia et al., 2020). بررسی صفات مورد مطالعه در این پژوهش شامل ارتفاع بوته (سانتی‌متر)، عملکرد دانه (گرم در مترمربع) و کشت تحت شرایط کم‌آبی پایان فصل و نرمال (کنترل) در ایستگاه تحقیقاتی باغ کشاورزی متعلق به مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان لرستان و اندازه‌گیری طول کلئوپتیل (سانتی‌متر)، وزن خشک کلئوپتیل (گرم) و وزن هزار دانه (گرم) در آزمایشگاه دانشکده کشاورزی دانشگاه لرستان صورت پذیرفته است.

ایستگاه تحقیقاتی باغ کشاورزی در مدار ۵۴ درجه و ۲۵ دقیقه طول جغرافیایی و ۳۶ درجه و ۵۴ دقیقه عرض جغرافیایی با ارتفاع ۵/۵ متر از سطح دریا و در غرب شهر خرم‌آباد قرار گرفته است. خاک مزرعه از نوع لومی رسی، عمق خاک زراعی ۳۰ تا ۴۵ سانتی‌متر و اسیدیته آن بین ۷/۵ الی ۸ می‌باشد. از لحاظ آب و هوایی ایستگاه جزء مناطق گرم و مرطوب به شمار می‌رود و میزان بارندگی سالیانه آن ۴۰۰ الی ۴۵۰ میلی‌متر است. آزمایش مزرعه‌ای در قالب دو طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار برای شرایط کم‌آبی پایان فصل و بدون تنش‌آبی (کنترل-نرمال) به صورت جداگانه صورت گرفت. در آزمایش اول کم‌آبی پایان فصل اعمال شد و آبیاری فقط یکبار در مرحله سبز شدن انجام گرفت. در آزمایش دوم به منظور اعمال عدم تنش کم‌آبی آبیاری تا آخر فصل رشدی، بصورت معمول منطقه (بعد از سنبله رفتن و مرحله پر شدن دانه) انجام گرفت. هر کرت شامل پنج ردیف کاشت به طول دو متر و فاصله ۱۵ سانتی‌متر بود و عملیات کاشت به صورت دستی در آذر ماه سال ۹۴ انجام شد. تراکم کاشت برای همه ارقام ۴۵۰ بذر در مترمربع بود. برای مبارزه با علف‌های هرز پهن برگ از علف‌کش 2,4-D به میزان ۱/۲ لیتر در هکتار ماده تجاری در مرحله پنجه‌زنی استفاده شد. وجین دستی نیز در بهار طی دو مرحله صورت گرفت. برای اندازه‌گیری ارتفاع بوته از هر کرت پنج بوته بطور تصادفی انتخاب و اندازه‌گیری انجام شد. برای اندازه‌گیری وزن هزار دانه چهار نمونه صدتایی از بذرهای تمیز شده توزین و وزن هزار دانه مشخص شد. عملکرد دانه بر حسب گرم در مترمربع پس از حذف حاشیه‌ها از خطوط میانی هر کرت اندازه‌گیری و ثبت گردید. اندازه‌گیری طول کلئوپتیل بر حسب سانتی‌متر در آزمایشگاه و مطابق با دستورالعمل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار صورت گرفت (Darvishnia, 2020).

(Darvishnia, 2020). واکنش زنجیره‌ای پلیمرز معمولی جهت ساخت cDNA صورت گرفت. نام، توالی و خصوصیات مربوط به آغازگرهای استفاده شده در واکنش Real-time PCR که به منظور ارزیابی الگوی بیان ژن *TaEXPB23* صورت گرفت در (جدول ۱). نشان داده شده است. از ژن خانه‌دار 18SrRNA برای کنترل داخلی استفاده شد. واکنش‌های زنجیره‌ای پلی‌مرز کمی در زمان واقعی (RT-qPCR) در حجم ۲۰ میکرولیتر با استفاده از کیت YTA SYBER Green qPCR MasterMix 2X (شرکت یکتا تجهیز آزما، ایران) و در دستگاه iQ5 شرکت BioRad در شرایط بهینه اجرا گردیدند (جدول ۱). برای هر تیمار سه تکرار برای ژن اختصاصی و ژن خانه‌دار 18SrRNA در نظر گرفته شد. اندازه‌گیری مقادیر افزایش یا کاهش میزان بیان ژن مورد بررسی در ژنوتیپ‌ها و زمان‌های مختلف (۶، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از جوانه‌زنی)، در نرم‌افزار REST با استفاده از داده‌های خروجی از نرم‌افزار iQ5 انجام گرفت. برای ارائه میزان بیان ژن روش مقایسه نسبی مورد استفاده قرار گرفت که در آن مقادیر به‌دست آمده نمایان‌گر نسبت کاهش و یا افزایش تعداد رونوشت‌ها در هر نمونه در مقایسه با نمونه کنترل مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت (Pfaffl, 2001).

شاخص تحمل به تنش فرناندز (STI) برای کمی سازی واکنش ارقام به تنش کم‌آبی مورد استفاده قرار گرفت (Fernandez, 1992):

$$STI = \frac{(Yp)(Ys)}{(Yp)^2} \quad [1]$$

که در  $Yp$ ،  $Ys$  و  $\bar{Yp}$  به ترتیب بیانگر عملکرد هر رقم در محیط بدون تنش، کم‌آبی پایان فصل و میانگین عملکرد ارقام در محیط نرمال می‌باشند.

برای استخراج RNA، بذر ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در پتریدیش در شرایط آزمایشگاه کشت و سپس نمونه بافت کلئوپتیل در زمانهای ۶، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از جوانه‌زنی تهیه گردید و مراحل جداسازی مطابق دستورالعمل رایج به انجام رسید (Darvishnia, 2020). کمیت و کیفیت RNA استخراج شده به ترتیب با استفاده از اسپکتروفتومتر و الکتروفورز ژل آگارز ۱/۵ درصد تعیین گردید. نمونه‌های با حداقل غلظت ۱۵۰ نانوگرم در میکرولیتر انتخاب شدند و برای نمونه‌های با غلظت پایین‌تر مراحل استخراج RNA مجدداً انجام شد. RNA استخراج شده جهت نگهداری و استفاده بعدی به فریزر منفی ۸۰ درجه سانتی‌گراد منتقل گردید. ساخت cDNA بر اساس روش پیشنهادی شرکت SMOBIO (ژاپن) انجام شد و برای مراحل بعدی واکنش در فریزر منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

جدول ۱. آغازگرهای ژن‌های *TaEXPB23* و خانه‌دار مورد استفاده برای آزمایش Real-time PCR ارقام گندم

Table 1. The primers of *TaEXPB23* and housekeeping genes used for real-time PCR testing of wheat cultivars

نام Name	توالی (5'→3') Sequence (5'→3')	دمای اتصال (°C) Annealing Tm °C	اندازه تکثیر (جفت باز) Amplicon size (bp)
<i>TaEXPB23</i>	F:GGATCCAAGAAGCAGCGGTACTT R:GAGCTCACAGATACCAAATCAAGCCG	65 68	253
<i>18S rRNA</i>	F:CTT CGGGATCGGAGTAATGATTAA R:GCCAGAACATCTAAGGGCATCACAGA	58 58	
RT-qPCR Thermal cycling program		برنامه چرخه حرارتی RT-qPCR	
تعداد چرخه Number of cycle	مرحله Step	دما (°C) Tm °C	زمان (ثانیه) Time (s)
1	Initial denaturation	94	180
40	Denaturation	94	10
40	Annealing	61	30
40	Extension	72	12
1	Fluorescence acquisition	78	20
	Final extension	95	60

برای استنباط آماری نتایج از تجزیه واریانس، آزمون مقایسه میانگین توکی (HSD) و ضرایب همبستگی ساده متغیرها استفاده گردید. پردازش داده‌ها و رسم نمودار در نرم‌افزار Excel و تجزیه‌های آماری در نرم‌افزار SAS انجام شد.

## نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس برای طول و وزن کلئوپتیل، وزن ۱۰۰۰ دانه، ارتفاع بوته و عملکرد دانه در دو شرایط کم‌آبی پایان فصل و نرمال در جدول ۲ و نتایج مقایسه میانگین صفات ارقام در جدول ۳ ارائه شده است. نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان از تفاوت معنی‌دار بین هشت رقم مورد بررسی از نظر کلیه خصوصیات مورد نظر در هر دو شرایط تنش آبی داشت (جدول ۲). دامنه تغییرات میانگین عملکرد دانه ارقام در شرایط تنش بین ۱۱۲/۸ الی ۱۸۵/۶ گرم در مترمربع و در شرایط فاقد تنش بین ۱۲۰/۴ الی ۲۰۴/۶ گرم در متر مربع متغیر بود (جدول ۳). به عبارتی کم‌آبی پایان فصل دامنه تغییرات عملکرد ارقام را کاهش داده است. چنین نتیجه‌ای

در سایر آزمایشات بر روی گندم یا سایر گیاهان زراعی پیش از این نیز مشاهده شده است. از نظر عملکرد دانه پرتولیدترین ارقام در شرایط تنش اروم، هیرمند و Weebille264 و در شرایط بدون تنش ارقام بهاران، اروم و روشن بودند (جدول ۳). محاسبه شاخص STI نشان داد که ۵ رقم دارای تحمل و ۳ رقم دارای حساسیت به تنش کم‌آبی با دامنه STI بین ۰/۵۳ الی ۱/۴۴ بودند (جدول ۳). بر این مبنا اروم، هیرمند، بهاران، Weebille264 و روشن در گروه ارقام مقاوم و چمران، دریا و آرتا نیز در گروه حساس قرار داشتند (جدول ۳). اگرچه مشاهده واکنش متمایز تحمل و یا حساسیت در این مطالعه چندان دور از انتظار نبود زیرا هشت رقم مورد مطالعه از بین یک مجموعه بزرگتر شامل ۵۰ ژنوتیپ گندم نان و با هدف تفاوت و تنوع از نظر خصوصیات مورد بررسی بویژه اندازه کلئوپتیل و عملکرد دانه در شرایط تنش انتخاب شده بودند (Darvishnia, 2019). کارایی و قدرت STI در شناسایی ارقام مقاوم و حساس گندم در سایر مطالعات نیز به اثبات رسیده است (Darvishnia, 2020).

جدول ۲. تجزیه واریانس عملکرد دانه، ارتفاع بوته، وزن دانه و کلئوپتیل ارقام گندم

Table 2. Analysis of variance for grain yield, plant height, kernel weight and coleoptile size of wheat cultivars

منابع تغییر	Df	ارتفاع گیاه		وزن هزار دانه		عملکرد دانه		طول کلئوپتیل Coleoptile length †	وزن کلئوپتیل Coleoptile dry weight †
		تنش	نرمال	تنش	نرمال	تنش	نرمال		
S.O.V		Stress	Normal	Stress	Normal	Stress	Normal		
خطا	2	14.09 <sup>ns</sup>	468.54 <sup>**</sup>	19.86 <sup>ns</sup>	25.88 <sup>ns</sup>	5217.09 <sup>**</sup>	5271.51 <sup>**</sup>	0.23 <sup>ns</sup>	6 × 10 <sup>-7</sup> ns
Block									
رقم	7	447.52 <sup>**</sup>	385.74 <sup>**</sup>	62.03 <sup>*</sup>	38.47 <sup>*</sup>	3682.36 <sup>**</sup>	2885.69 <sup>*</sup>	0.66 <sup>**</sup>	9 × 10 <sup>-7</sup> *
Cultivar									
خطا	14	9.69	17.59	16.62	12.18	779.17	1231.61	0.14	3 × 10 <sup>-7</sup>
Error									
CV (%)	—	3.17	4.43	11.13	8.91	19.24	29.15	12.43	18.51

\*, \*\*, و ns: به ترتیب معنی‌دار در سطح پنج و یک درصد و غیرمعنی‌دار. †: این صفت در شرایط آزمایشگاه بررسی و اندازه‌گیری شده است.

\*, \*\* and ns: significant at 5, 1 % and non-significant, respectively.

†: This trait has evaluated and measuring at the laboratory condition.

گرم به ترتیب در ارقام دریا و چمران مشاهده گردید (جدول ۳). طول کلئوپتیل شاخص موفقیت در تمام گونه‌های غلات است و به عنوان عامل محدودکننده عمق کاشت آن‌ها محسوب می‌گردد. تحقیقات هم‌چنین نشان داده‌اند که داشتن طول کلئوپتیل بالاتر امکان کشت بذر در عمق بیشتر خاک را فراهم می‌سازد و با بهبود بخشیدن وضعیت استقرار

در بین هشت رقم مورد بررسی دامنه متغیرها برای طول کلئوپتیل بین ۲/۶۲ تا ۳/۴۱ سانتیمتر متغیر بود (جدول ۳). بر اساس نتایج مقایسه میانگین بیشترین طول کلئوپتیل به ارقام روشن، بهاران، هیرمند، اروم و دریا و کمترین آن به Weebille264، چمران و آرتا تعلق داشت (جدول ۳). از نظر وزن خشک کلئوپتیل نیز دامنه ای بین ۰/۰۱۶ الی ۰/۰۴۶

گیاهچه موجب افزایش تولید نهایی گیاه خصوصاً در تنش کم‌آبی می‌شود. وجود تنوع ژنتیکی برای طول کلئوپتیل در ژنوتیپ‌های گندم و ارتباط آن با مقاومت به تنش خشکی توسط اوزتورک و همکاران نیز گزارش شده است (Ozturk et al., 2014). وان (Whan, 1995) با اندازه‌گیری طول

کلئوپتیل گندم‌های نیمه پاکوتاه و معمولی در شرایط محیطی تحت کنترل و تاریک خاطر نشان نمود که وقتی عمق کاشت از طول کلئوپتیل هر واریته تجاوز نماید، سبز شدن آن به طور قابل توجهی کاهش می‌یابد.

جدول ۳. مقایسه میانگین با آزمون توکی (HSD) برای صفات و شاخص حساسیت به تنش کم‌آبی ارقام گندم در مطالعه بیان ژن  
Table 3. Mean comparison by Tukey test (HSD) for traits and water susceptibility index of wheat cultivars in gene expression study

عملکرد دانه Grain yield	ارتفاع گیاه (cm) Plant height (cm)		وزن هزار دانه (g) 1000 kernel weight (g)		عملکرد دانه Grain yield (g m <sup>-2</sup> )		طول کلئوپتیل Coleoptile length (cm)	وزن کلئوپتیل Coleoptile dry weight (g)	STI
	نرمال Normal	تنش Stress	نرمال Normal	نرمال Normal	تنش Stress	نرمال Normal			
اروم Uroum	101.4 <sup>a</sup>	95.7 <sup>ab</sup>	36.26 <sup>b</sup>	35.1 <sup>c</sup>	185.6 <sup>a</sup>	197.9 <sup>ab</sup>	3.08 <sup>ab</sup>	0.0029 <sup>cde</sup>	1.44
هیرمند Hirmand	103.5 <sup>a</sup>	100.9 <sup>a</sup>	38.13 <sup>a</sup>	39.5 <sup>bc</sup>	174.6 <sup>ab</sup>	163.3 <sup>abc</sup>	3.09 <sup>ab</sup>	0.0038 <sup>abc</sup>	1.12
بهاران Baharan	90.7 <sup>b</sup>	89.1 <sup>b</sup>	39.46 <sup>a</sup>	40.1 <sup>abc</sup>	131.8 <sup>bcd</sup>	204.6 <sup>a</sup>	3.18 <sup>ab</sup>	0.0023 <sup>def</sup>	1.06
Weebille264	100.5 <sup>a</sup>	99.5 <sup>a</sup>	43.84 <sup>a</sup>	44.0 <sup>a</sup>	162.3 <sup>abc</sup>	164.1 <sup>abc</sup>	2.62 <sup>b</sup>	0.0028 <sup>cdef</sup>	1.05
روشن Roshan	102.5 <sup>a</sup>	90.4 <sup>b</sup>	40.40 <sup>a</sup>	41.0 <sup>ab</sup>	150.2 <sup>abcd</sup>	169.3 <sup>abc</sup>	3.41 <sup>a</sup>	0.0042 <sup>ab</sup>	1.01
چمران Chamran	105.3 <sup>a</sup>	110.7 <sup>a</sup>	37.03 <sup>b</sup>	40.4 <sup>ab</sup>	122.1 <sup>cd</sup>	139.1 <sup>bc</sup>	2.74 <sup>ab</sup>	0.0046 <sup>a</sup>	0.66
دریا Darya	89.4 <sup>b</sup>	88.3 <sup>b</sup>	36.26 <sup>b</sup>	37.0 <sup>bc</sup>	121.5 <sup>cd</sup>	136.1 <sup>bc</sup>	3.08 <sup>ab</sup>	0.0016 <sup>f</sup>	0.65
آرتا Arta	91.6 <sup>b</sup>	87.8 <sup>b</sup>	37.72 <sup>b</sup>	36.0 <sup>c</sup>	112.8 <sup>d</sup>	120.4 <sup>c</sup>	2.89 <sup>ab</sup>	0.0030 <sup>bcd</sup>	0.53
HSD (5 %)	5.41	7.34	5.84	4.17	48.90	61.46	0.65	0.0012	—

†: Dissimilar letters in each column shows statistical difference at 5 % of Tukey test.

الی ۱۰۵/۳ سانتیمتر بود (جدول ۳). در شرایط فاقد تنش بیشترین ارتفاع بوته در چمران و کمترین در آرتا و در شرایط کم‌آبی پایان فصل بیشترین در چمران و کمترین در آرتا مشاهده گردید (جدول ۳). ارتفاع بوته نیز یکی از صفاتی است که گیاهان برای سازگاری با شرایط کم‌آبی از طریق کاهش آن به همراه سطح برگ میزان تعرق خود را کم می‌کنند. از جنبه اصلاحی گیاهانی با ارتفاع کمتر قابلیت کودپذیری بیشتری داشته و به خوابیدگی مقاوم‌تر هستند. با این حال اگرچه وارد کردن ژن‌های پاکوتاهی (Rht) به ژنوتیپ‌های زراعی گندم باعث ایجاد ژنوتیپ‌های پر محصول شده و انقلاب سبز را رقم زده است ولی ژنوتیپ‌های پاکوتاه مناسب کشت در نواحی گرم و خشک نیستند (Rebetzke et al., 2001). هیووان و همکاران (Feng et al., 2007) نیز در مطالعه تأثیر کم‌آبی بر روی گندم گزارش کردند که تنش رطوبتی سبب کاهش ارتفاع بوته شد. در بررسی‌های انجام شده توسط بارناباس و همکاران (Barnabas et al., 2008) کاهش سطح برگ، ارتفاع و پنجه‌دهی در شرایط تنش کم‌آبی گزارش شده است. در مطالعه گندم‌های دوروم و نان نتایج نشان داده است

وزن دانه ارقام مورد مطالعه بین ۳۵/۱ تا ۴۴/۰ گرم متفاوت بود (جدول ۳). از نظر وزن دانه نیز ارقام Weebille264، روشن، چمران و بهاران بیشترین و اروم، آرتا، دریا و هیرمند کمترین بودند (جدول ۳). یکی از اجزای عملکرد دانه در گندم، وزن دانه است که به عنوان یک جزء مهم تحت تأثیر دوره و مرحله وقوع کم‌آبی قرار می‌گیرد. وجود تنوع ژنتیکی برای وزن دانه در ارقام گندم پیش از این نیز گزارش شده است (Gulnaz et al., 2011). گیووانی و همکاران (Giovanni et al., 2004)، بیان کردند که وزن دانه بیشتر تحت کنترل عوامل ژنتیکی است ولی در واقع خاصیت جبران‌کنندگی نسبی بین اجزای عملکرد گندم می‌تواند نقصان عملکرد را وقتی که یک جز کاهش می‌یابد به حداقل برساند. گزارش سنجرى و یزدان‌سپاس (Sanjari and Yazdansepas, 2008) بر روی ۱۲ رقم گندم زمستانه نشان داد که تنش خشکی موجب کاهش شدید وزن دانه می‌شود.

دامنه تغییرات ارتفاع بوته هشت رقم مورد بررسی در شرایط فاقد تنش بین ۸۷/۸ تا ۱۱۰/۷ و در شرایط تنش ۹۰/۷

که طول سنبله، تعداد سنبلچه، عملکرد دانه، ماده خشک بوته و ارتفاع بوته در تنش کم‌آبی کاهش می‌یابند (Saleem, 2003).

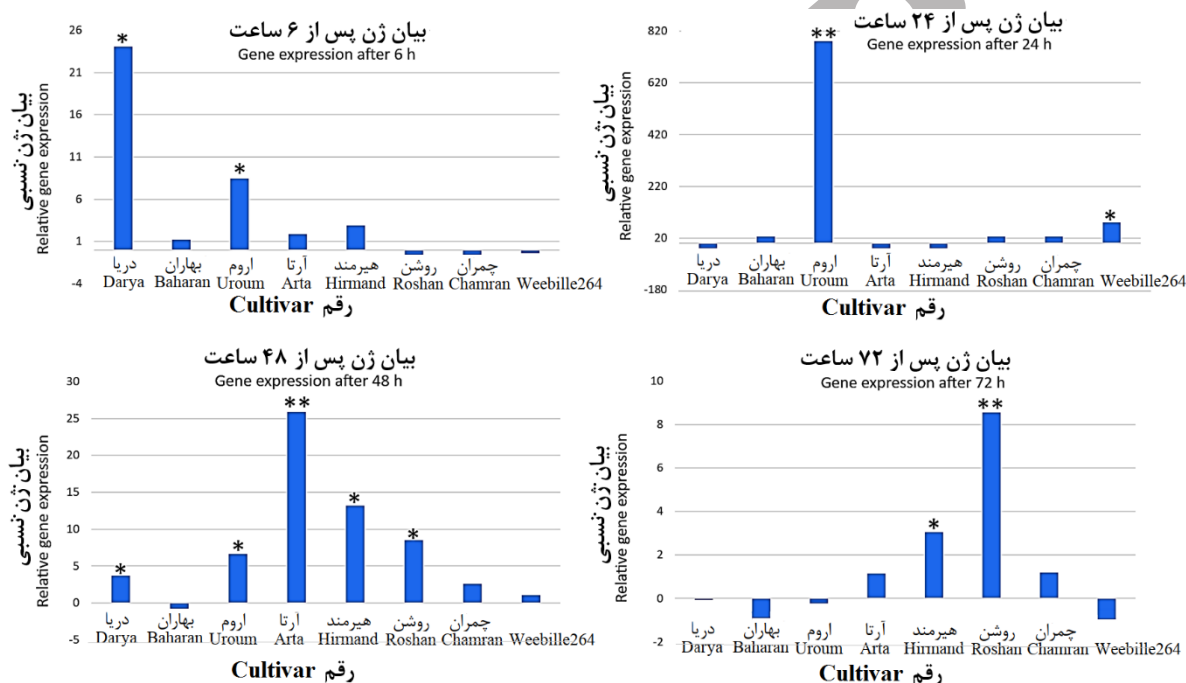
بیان ژن *TaEXPB23* در بافت کلئوپتیل هشت رقم در زمان‌های ۶، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از جوانه‌زنی مورد بررسی قرار گرفت. همانگونه که شکل ۱ مشاهده می‌گردد، نتایج حاکی از تفاوت الگوی بیان نسبی ژن *TaEXPB23* (نسبت به بیان ژن مرجع) در ارقام مورد بررسی بود. در زمان ۶ ساعت میزان بیان نسبی ژن *TaEXPB23* در ارقام دریا و اروم بطور معنی‌داری افزایش نشان داد درحالیکه برای سایر ارقام بیان نسبی معنی‌دار نبود (شکل ۱). در زمان ۲۴ ساعت بیان نسبی ژن برای اروم و Weebille 264 افزایش معنی‌داری نشان داد و برای سایر ارقام معنی‌دار نبود (شکل ۱). در زمان ۴۸ ساعت بیان نسبی ژن برای دریا، اروم، آرتا و چمران افزایش معنی‌داری نشان داد در حالیکه برای سایر ارقام بیان نسبی معنی‌دار نبود (شکل ۱). در زمان ۷۲ ساعت بیان نسبی ژن *TaEXPB23* تنها در رقم دریا معنی‌دار بود و برای سایر ارقام بیان نسبی تغییر معنی‌داری نسبت به ژن مرجع نداشت (شکل ۱). طبق گزارش فیرینگ و همکاران (Fiering et al., 2000) برخی ژن‌ها دارای الگوی بیان افزایشی-کاهشی و برخی دیگر دارای الگوی بیان یکنواخت و یکسانی هستند که در مورد رشد کلئوپتیل علت آن را می‌توان به شروع واکنش گیاه در جهت افزایش رشد اندام‌ها دانست. نتایج مطالعه زینگ و همکاران (Xing et al., 2009) در خصوص بیان ژن *TaEXPB23* در کلئوپتیل گندم نشان داد که سطح بیان ژن بعد از جوانه‌زنی افزایش یافت. بر اساس همین مطالعه گیاهان تراریخته‌ای که ژن *TaEXPB23* در آن‌ها بیان شده است، دارای ارتفاع بالاتر، ساقه بلندتر، برگ‌های بزرگ‌تر، و تعداد برگ‌ها و ریشه‌های بیشتری نسبت به شاهد در گیاهچه بودند (Xing et al., 2009). همچنین بیان ژن *TaEXPB23* منجر به افزایش سرعت رشد گیاه و افزایش ارتفاع نهال‌های تراریخته به دلیل افزایش طول میان‌گره‌ها می‌شود. این مشاهده نشان داد که ژن *TaEXPB23* نه تنها در رشد سلول بلکه در توسعه اندام‌های گیاهی نیز مؤثر می‌باشد (Wu et al., 1996). هم‌چنین به‌طور کلی می‌توان بیان نمود که با گذشت زمان از ۶ تا ۴۸ ساعت پس از جوانه‌زنی بیان نسبی ژن *TaEXPB23* در بیشتر ارقام مورد بررسی افزایش یافته است (شکل ۱). شدت این افزایش در هشت رقم مورد بررسی یکسان نبود

به‌طوری‌که در پنج رقم شامل اروم، روشن، هیرمند، آرتا و دریا این افزایش بسیار بیشتر از Weebille 264، بهاران و چمران بود (شکل ۱). مشاهده افزایش بیان ژن با یافته زینگ و همکاران (Xing et al., 2009) در گندم مبنی بر افزایش تدریجی بیان *TaEXPB23* در کلئوپتیل پس از جوانه‌زنی مطابقت داشت. کاهش میزان بیان ژن *TaEXPB23* در ۷۲ ساعت پس از جوانه‌زنی بیانگر اینست که هر چه گیاهچه به انتهای دوره رشد کلئوپتیل خود نزدیک‌تر شده است بیان ژن در آن کاهش یافته است به‌طوری‌که بیان ژن در زمان ۷۲ ساعت در کلیه ژنوتیپ‌های مورد مطالعه به استثنای روشن کاهش نشان داده‌است (شکل ۱).

به‌منظور دستیابی به درک صحیح از تأثیر بیان ژن *TaEXPB23* بر رشد کلئوپتیل و سایر پارامترهای رشدی ارقام گندم در شرایط متفاوت تنش‌آبی ضرایب همبستگی متغیرها محاسبه گردید (جدول ۴). مشاهده همبستگی منفی و معنی‌دار بین وزن خشک کلئوپتیل با بیان ژن در ساعت ۶ و تغییر آن به همبستگی مثبت و معنی‌دار در ساعت ۷۲، نشان می‌دهد اگرچه در ساعات اولیه پس از جوانه‌زنی، افزایش بیان ژن *TaEXPB23* موجب کاهش رشد کلئوپتیل شده است ولی با گذشت زمان این تأثیر مثبت شده است تا حدی که افزایش بیان ژن *TaEXPB23* موجب افزایش طول و وزن خشک کلئوپتیل ارقام گندم گردیده است (جدول ۴). رابطه قوی بیان ژن *TaEXPB23* و رشد کلئوپتیل در گندم اولین بار توسط زینگ و همکاران (Xing et al., 2009) مشاهده گردید. این محققین هم‌چنین نشان دادند که بیان بیشتر ژن *TaEXPB23* در توتون (*Nicotiana tabacum*) موجب تسریع در رشد برگ‌ها و میانگره‌ها در مراحل اولیه رشد به همراه اثرات تنظیم‌کنندگی در کل مراحل رشدی گیاه گردید (Xing et al., 2009). بیان بافت اختصاصی ژن اکسپنسیون در گونه‌های خانواده کدویان نیز پیش‌تر به اثبات رسیده است. در این مطالعه که بر روی چهار گونه از خانواده کدویان صورت گرفت نشان داده شد که بیشترین فعالیت این ژن‌ها در برگ‌ها و کمترین فعالیت در گل‌ها می‌باشد و این فعالیت افزایش یافته منجر به افزایش تحمل به تنش‌هایی هم‌چون سرما، خشکی و شوری گردیده است (Qi et al., 2025). از طرفی دیگر ضریب همبستگی وزن دانه با بیان ژن در ساعات اولیه (۶، ۲۴ و ۴۸) پس از جوانه‌زنی منفی (و معنی‌دار) بود، این مشاهده بیانگر بالاتر بودن بیان ژن در بذرهاى کوچکتر دارد (جدول ۴). البته همبستگی قابل‌توجهی بین وزن دانه با

به‌نژادی جهت افزایش عملکرد مورد استفاده قرار گرفته‌اند، باعث کاهش اندازه کلئوپتیل، عرض برگ و ارتفاع بوته گندم شده‌اند (Rebetzke et al., 2001). انتخاب ارقام با طول کلئوپتیل بیشتر یکی از ارکان بهبود سبز شدن گیاهچه، کنترل علف‌های هرز و عملکرد دانه گندم در مناطقی با بارندگی کم محسوب می‌گردد (Farhad et al., 2014). وجود توارث‌پذیری بالا برای طول کلئوپتیل در گندم نشان می‌دهد که شانس اصلاح این صفت از طریق روش انتخاب به دلیل پایین بودن اثرات محیط بر آن بسیار زیاد است (Gulnaz et al., 2011).

طول و وزن خشک کلئوپتیل وجود نداشت (جدول ۴). ضریب همبستگی مثبت و معنی‌دار وزن خشک کلئوپتیل با ارتفاع بوته تحت هر دو شرایط کم آبی پایان فصل و نرمال بیانگر این مهم است که ارقام با بوته بلندتر در مرحله رسیدگی دارای کلئوپتیل‌های بزرگتر در مرحله گیاهچه‌ای بوده‌اند (جدول ۴). این هم‌چنین نشان می‌دهد که در مقایسه با طول، وزن خشک معیار واقعی‌تری از رشد کلئوپتیل به دست داده است. رابطه ژنتیکی طول کلئوپتیل و ارتفاع بوته همواره مورد توجه اصلاحگران گندم قرار گرفته است زیرا ژن‌های پاکوتاهی RhtB1b و RhtD1b که به طور گسترده‌ای در برنامه‌های



شکل ۱. تغییرات میزان بیان ژن *TaEXPB23* (نسبت به ژن مرجع) در کلئوپتیل ارقام گندم در ساعات مختلف پس از جوانه‌زنی. \* و \*\*: به ترتیب معنی‌دار در سطح پنج و یک درصد

Fig. 1. Changes in the expression level of *TaEXPB23* gene (relative to reference gene) in coleoptile of wheat cultivars at different hours after germination. \* and \*\*: significant at 5 and 1 %, respectively

گندم در مزرعه بستگی به طول کلئوپتیل دارد این موضوع در شرایطی که عمق کشت بذر به منظور دسترسی ریشه به رطوبت افزایش می‌یابد اهمیت دوچندان پیدا می‌کند (Mohan et al, 2013). رابطه مثبت بیان این ژن با رشد ریشه؛ عملکرد دانه و بیوماس تحت شرایط تنش خشکی در ۱۰ رقم گندم ایرانی نیز گزارش گردیده است (Aligholizadeh-Moghaddam et al., 2020). این ژن با تنظیم اسمزی در تحمل به تنش شوری نیز نقش ایفاء

ضرایب همبستگی بیان ژن در ساعات مختلف با مقادیر عملکرد در محیط تنش و بدون تنش کم‌آبی و همچنین با مقادیر شاخص STI قابل‌توجه و معنی‌دار بود (جدول ۴). اگرچه نمی‌توان این یافته را به عنوان تأثیر مستقیم بیان ژن بر عملکرد دانه و واکنش به تنش کم‌آبی تفسیر نمود، ولی می‌توان بیان داشت که رشد اولیه و استقرار بهتر گیاهچه‌ها در نتیجه بیان بیشتر ژن *TaEXPB23*، منجر به افزایش رشد و تولید در مراحل نهایی رشد گیاه گردیده است. استقرار بهتر

می‌نماید. آزمایشات نشان داده‌اند که بیان بیشتر ژن *TaEXPB23* در توتون ترانسژنیک با بهبود توانایی حفظ آب و کاهش پتانسیل اسمزی موجب ارتقاء تحمل به تنش شوری گردیده است (Han et al., 2012). مطالعه توتون ترانسژنیک نشان داده است که افزایش بیان ژن *TaEXPB23* با تأثیر بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت بویژه پراکسیداز دیواره سلولی به رشد گیاه در شرایط غیر نرمال کمک می‌نماید (Hana et al., 2015). بهبود واکنش به تنش خشکی و شوری در پی

افزایش بیان ژنهای اکسپنسیون در یونجه زراعی نیز گزارش شده است (Li et al., 2024). ضریب همبستگی مثبت و معنی‌داری بین طول کلئوپتیل و ظهور گیاهچه در کشت عمیق ردیفی در گندم گزارش شده است (Gholami et al., 2023). همچنین طول کلئوپتیل، عاملی با پتانسیل قوی برای شکافتن خاک خشک و یا ظهور گیاهچه در خاک‌های سخت است (Donaldson et al., 2001).

جدول ۴. ضرایب همبستگی صفات در مطالعه بیان ژن در ژنوتیپ‌های گندم.

Table 4. Correlation coefficients of traits in the study of gene expression in wheat genotypes.

صفات Traits	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1 طول کلئوپتیل Coleoptile length	1											
2 وزن خشک کلئوپتیل Coleoptile dry weight	-0.02	1										
3 ارتفاع بوته در شرایط تنش Plant height (Stress)	-0.14	0.84**	1									
4 ارتفاع بوته در شرایط نرمال Plant height (Normal)	-0.56**	0.65**	0.79**	1								
5 وزن هزار دانه 1000 kernel weight	-0.22	0.09	0.06	0.01	1							
6 عملکرد دانه در شرایط تنش Grain yield (Stress)	0.14	0.15	0.58**	0.24	-0.05	1						
7 عملکرد دانه در شرایط نرمال Grain yield (Normal)	0.41	-0.12	0.13	-0.08	-0.01	0.62**	1					
8 شاخص تحمل به تنش STI	0.29	0.01	0.40	0.08	-0.09	0.92**	0.88**	1				
9 بیان ژن پس از ۶ ساعت Gene expression after 6 h	0.17	-0.65**	-0.49*	-0.36	-0.50*	-0.15	-0.20	-0.17	1			
10 بیان ژن پس از ۲۴ ساعت Gene expression after 24 h	0.09	-0.11	0.21	0.03	-0.64**	0.61**	0.50*	0.68**	0.16	1		
11 بیان ژن پس از ۴۸ ساعت Gene expression after 48 h	0.07	0.16	-0.14	-0.30	-0.18	-0.17	-0.50*	-0.033	-0.14	-0.07	1	
12 بیان ژن پس از ۷۲ ساعت Gene expression after 72 h	0.61**	0.58**	0.40	-0.10	0.35	0.15	0.07	0.11	-0.37	-0.26	0.14	1

\* و \*\*: به ترتیب معنی دار در سطوح ۵ و ۱ درصد.

\* and \*\*: significant at 5 and 1 percent levels, respectively.

### نتیجه‌گیری نهایی

داشتن کلئوپتیل طولی‌تر یکی از عوامل موفقیت گیاهان خانواده غلات به‌خصوص در خاک‌های با کمبود رطوبت محسوب می‌گردد. در این مطالعه طول کلئوپتیل ارقام متفاوت بود ولی رقم بهاران که در گروه با طول کلئوپتیل بیشتر قرار داشت از وزن دانه بالا و ارتفاع بوته کمتر نیز برخوردار بود. الگوی تظاهر ژن *TaEXPB23* در ارقام مورد

بررسی برای زمان‌های ۶، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از جوانه‌زنی متفاوت بود. بطور کلی با گذشت زمان ساعت تا ۴۸ ساعت پس از جوانه‌زنی بیان نسبی این ژن در بیشتر ارقام با شدت نایکسان افزایش یافت و با افزایش زمان به ۷۲ ساعت بیان ژن کاهش داشت. همچنین با گذشت زمان پس از جوانه‌زنی، افزایش بیان ژن *TaEXPB23* موجب افزایش طول و وزن خشک کلئوپتیل گردید. مشاهده همبستگی میزان بیان

ارتفاع بوته بیشتر در مرحله رسیدگی ناشی از کلئوپتیل‌های بزرگتر در مرحله گیاهچه‌ای می‌باشد. لذا انتخاب ارقام با طول کلئوپتیل بیشتر اجازه کشت بذر در عمق بیشتر خاک را می‌دهد و با اثراتی که بر بهبود سبزشدن گیاهچه و توانمند نمودن آنها در رقابت با علف‌های هرز دارد موجب بهبود عملکرد دانه گندم بویژه در مناطقی با بارندگی کم خواهد گردید.

ژن با عملکرد دانه ارقام در محیط تنش و بدون تنش و همچنین همبستگی میزان بیان ژن با شاخص‌های تحمل به تنش را می‌توان ناشی از تأثیر غیرمستقیم تغییرات بیان ژن بر عملکرد و واکنش به تنش تفسیر نمود، زیرا بیان ژن با افزایش طول کلئوپتیل و تقویت استقرار گیاهچه موجبات افزایش رشد و تولید در مراحل نهایی رشد گندم بویژه در شرایط کم‌آبی را فراهم آورده بود. بر اساس نتایج این مطالعه،

## منابع

- Ahmed, K., Shabbir, G., Ahmed, M., 2025. Exploring drought tolerance for germination traits of diverse wheat genotypes at seedling stage: a multivariate analysis approach. *BMC Plant Biology*. 25, 390. <https://doi.org/10.1186/s12870-025-06345-9>
- Aligholizadeh-Moghaddam, P., Ranjbar, G.A., Shahbazi, H., Najafi-Zarrini, H., 2020. The effect of drought stress on the expression of genes TaMOR, TaNAC69-1 and TaEXPB23 in different bread wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. *Iranian Journal of Genetics and Plant Breeding*, 9, 72-82. <https://doi.org/10.30479/ijgpb.2021.15069.1297>
- Aydin, N., Sönmez, M.E., Güleç, T., 2025. High-throughput phenotyping of wheat root angle and coleoptile length at different temperatures using 3D-printed equipment. *BMC Plant Biology*. 25, 112. <https://doi.org/10.1186/s12870-025-06120-w>
- Barnabas, B., Jager, K., Feher, A., 2008. The effect of drought and heat stress on reproductive processes in cereals. *Plant, Cell & Environment*. 31, 11-38. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2007.01727.x>
- Cosgrove, D.J., 2021. Expanding wheat yields with expansin. *New Phytologist*. 230(2), 403-405. <https://doi.org/10.1111/nph.17245>
- Darvishnia, F., Pahlevani, M., Zaynali Nezhad, K., Azizi, K., Bagherikia, S., 2020. Graphical analysis of reaction of bread wheat genotypes to water stress in Lorestan Province. *Plant Genetic Research*. 7,1-18. [In Persian with English summary]. <http://pgr.lu.ac.ir/article-1-172-fa.html>
- Darvishnia, F., 2020. Association of seed vigor and expression of gene involved in coleoptile growth with morphological traits and grain yield of wheat under rainfed conditions, PhD Thesis at Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, 176p. [In Persian].
- Darvishnia, F., Pahlevani, M., Zaynali Nezhad, K., Azizi, K., 2020. Analysis of grain yield and its attributes in bread wheat and their associations with coleoptile length under water deficit conditions, *Environmental Stresses in Crop Sciences*. 13, 41-56. [In Persian with English summary]. <https://doi.org/10.22077/escs.2019.1893.1457>
- Donaldson, E., Schillinger, W.E., Dofing, S.M., 2001. Straw production and grain yield relationship in winter wheat. *Crop Science*. 41, 100-106. <https://doi.org/10.2135/cropsci2001.411100x>
- Farhad, M., Hakim, M.A., Alam, M.A., Barma, N.C.D., 2014. Screening wheat genotypes for coleoptile length: A trait for drought tolerance. *American Journal of Agriculture and Forestry*. 2(6), 237-245. <https://doi.org/10.11648/j.ajaf.20140206.11>
- Feng, H., Li, S., Xue, L., An, L., Wang, X., 2007. The interactive effects of enhanced UV-B radiation and soil drought on spring wheat. *South African Journal of Botany*. 73,429-434. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2007.03.008>
- Fernandez, G.C.J., 1992. Effective selection criteria for assessing plant stress tolerance. p. 257-270. In C. G. Kuo (Ed.), *Proceedings of the International Symposium on Adaptation of Vegetables and Other Food Crops in Temperature and Water Stress*. Asian Vegetable Research and Development Center, Shanhua, Taiwan. <https://doi.org/10.22001/WVC.72511>
- Fiering, S., White Low, E., Martin, D.I., 2000. To be active or not to be active: the stochastic nature of enhancer action. *Bioassays*. 22, 381-38. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1521-](https://doi.org/10.1002/(sici)1521-)

1878(200004)22:4%3C381::aid-  
bies8%3E3.0.co;2-e

- Fukuda, H., 2014. Plant Cell Wall Patterning and Cell Shape, Wiley Blackwell. New Jersey, USA.
- García-Coronado, H., Ojeda-Contreras, A.-J., Berumen-Varela, G., Robles-Parra, J.-M., Handa, A. K., Tiznado-Hernández, M.-E., 2025. Engineering crops for enhanced drought stress tolerance: A strategy for sustainable agriculture. *Agronomy*. 15(8), 1912. <https://doi.org/10.3390/agronomy15081912>
- Gholami, H., Abdolshahi, R., Mohayeji, M., Esmaeilzadeh-Moghadam, M., 2023. Investigation of coleoptile and mesocotyl as the most important factors for the establishment of bread wheat seed under rain-fed conditions. *Iranian Journal of Seed Research*. 9, 63-76[In Persian with English summary]. <https://doi.org/10.61186/yujs.9.2.63>
- Giovanni, G., Silvano, P., Giovanni, D., 2004. Grain yield, nitrogen-use efficiency and baking quality old and modern Italian bread-wheat cultivars grown at different nitrogen levels. *European Journal of Agronomy*. 21, 181-182. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2003.08.001>
- Gulnaz, S., Sajjad, M., Khaliq, I., Khan, A.S. Khan, S.H., 2011. Relationship among coleoptile length, plant height and tillering capacity for developing improved wheat varieties. *The International Journal of Agriculture and Biology*. 13, 130-133. <https://doi.org/10.5555/20113079525>
- Han, Y., Li, A., Li, F., Zhao, M., Wang, W., 2012. Characterization of a wheat (*Triticum aestivum* L.) expansin gene, *TaEXPB23*, involved in the abiotic stress response and phytohormone regulation. *Plant Physiology and Biochemistry*. 54, 49-58. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy>
- Hasegawa, P.M., Bressan, R.A., Zhu, J.K., Bohnert, H.J., 2000. Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*. 51, 463-499. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.51.1.463>
- Khaim, H., Kende, Z., Balla, I., Gyuricza, C., Eser, A., Tarnawa, Á., 2022. The effect of temperature and water stresses on seed germination and seedling growth of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Sustainability*. 14, 3887. <https://doi.org/10.3390/su14073887>
- Khojamli, R., Zaynali Nezhad, K., Nasrollahnejad Ghomi, A., Bagherikia, S., 2022. Evaluation of bread wheat genotypes under drought stress conditions in seedling stage using drought indices. *Environmental Stresses in Crop Sciences*, 14, 887-899. [[In Persian with English summary]. <https://doi.org/10.22077/escs.2020.3202.1820>
- Lee, M.H., Kim, K.M., W.G., Kang, C.S., Choi, C., 2022. Comparison of gene expression changes in three wheat varieties with different susceptibilities to heat stress Using RNA-Seq Analysis. *International Journal of Molecular Sciences*. 23(18),10734. <https://doi.org/10.3390/ijms231810734>
- Li, G., Bai, G., Carver, B.F., Elliott, N.C., Bennett, R.S., Wu, Y., 2017. Genome-wide association study reveals genetic architecture of coleoptile length in wheat. *Theoretical and Applied Genetics*. 130, 391-401. <https://doi.org/10.1007/s00122-016-2820-1>
- Li, Y., Zhang, Y., Cui, J., Wang, X., Li, M., Zhang, L., Kang, J., 2024. Genome-wide identification, phylogenetic and expression analysis of expansin gene family in *Medicago sativa* L. *International Journal of Molecular Sciences*. 25, 4700. <https://doi.org/10.3390/ijms25094700>
- Li, A., Yang Han, Y., Wang, X., Hui Chen, Y., Rong Zhao, M., Zhou, S., Wang, W., 2015. Root-specific expression of wheat expansin gene *TaEXPB23* enhances root growth and water stress tolerance in tobacco, *Environmental and Experimental Botany*. 110, 73-84. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2014.10.002>
- Mohan, A., Schillinger, W.F, Gill, K.S., 2013. Wheat seedling emergence from deep planting depths and its relationship with coleoptile length. *PLoS One*. 8(9), p.e73314. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0073314>
- Ozturk, A., Bayram, S., Haliloglu, K., Aydin, M., Çağlar, O., Bulut, S., 2014. Characterization for drought resistance at early stages of wheat genotypes based on survival, coleoptile length, and seedling vigor. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*. 38, 824 -837. <https://doi.org/10.3906/tar-1402-57>
- Pfaffl, M.W., 2001. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucleic Acids Research*. 29, e45. <https://doi.org/10.1093/nar/29.9.e45>

- Qi, S., Liu, S., Wen, Y., 2025. Analysis of Expansin genes in Cucurbitaceae and identification of candidate genes for stress resistance. *Scientific Reports*. 15, 36163. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-18901-2>
- Rebetzke, G.R., Appels, R., Morrison, A.D., Richards, R.A., McDonald, G., Ellis, M. H., Spielmeier, W., Bonnet, G., 2001. Quantitative trait loci on chromosome 4B for coleoptile length and early vigor in wheat. *Crop and Pasture Science*. 52, 1221-1234. <https://doi.org/10.1071/AR01042>
- Reymond, P., Weber, H., Damond, M., Farmer, E.E., 2000. Differential gene expression in response to mechanical wounding and insect feeding in *Arabidopsis*. *Plant Cell*. 12, 707-720. <https://doi.org/10.1105/tpc.12.5.707>
- Reynolds, M.P., Rebetzke, G., Pellegrineschi, A., Trethowan, R., 2006. Drought adaptation in wheat. In: Ribaut, J.M. (ed.), *Drought Adaptation in Cereals*. New York, NY, USA: Food Products Press. pp. 401-446.
- Saleem, M., 2003. Response of durum and bread wheat genotypes to drought stress: Biomass and yield components. *Asian Journal of Plant Sciences*. 2, 290-293. <https://doi.org/10.3923/ajps.2003.290.293>
- Sanjari, P.A., Yazdansepar, A., 2008. Mobilization of dry matter and its relation with drought stress in wheat genotypes. *Journal of Agricultural Science and Technology*. 11, 121-129.
- Singh, K., Shukla, S., Kadam, S., Kumar Semwal, V., Kumar Singh, N., Khanna-Chopra, R., 2014. Genomic regions and underlying candidate genes associated with coleoptile length under deep sowing conditions in a wheat RIL population. *Plant Biochemistry and Biotechnology*. 24, 324-330. <https://doi.org/10.1007/s13562-014-0277-3>
- Wei, N., Zhang, S., Liu, Y., Wang, J., Wu, B., Zhao, J., Qiao, L., Zheng, X., Wang, J., Zheng, J., 2022. Genome-wide association study of coleoptile length with Shanxi wheat. *Frontiers in Plant Science*. 13, 1016551. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1016551>
- Whan, B.R., 1995. The emergence of semidwarf and standard wheats, and its association with coleoptile length. *Australian Journal of Experimental Agriculture*. 16, 411-416. <https://doi.org/10.1071/EA9760411>
- Wu, Y., Sharp, R.E., Durachko, D.M., Cosgrove, D.J., 1996. Growth maintenance of the maize primary root at low water potentials involves increases in cell wall extension properties, expansin activity, and wall susceptibility to expansins. *Plant Physiology*. 111, 765-772. <https://doi.org/10.1104/pp.111.3.765>
- Xing, S.C., Li, F., Guo, Q.F., Liu, D.R., Zhao, X.X., Wang, W., 2009. The involvement of an expansin gene *TaEXPB23* from wheat in regulating plant cell growth. *Biologia Plantarum*. 53, 429-434. [10.1007/s10535-009-0082-3](https://doi.org/10.1007/s10535-009-0082-3)
- Yagmur, M.A., Kaydan, D., 2009. The effects of different sowing depth on grain yield and some grain yield components in wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars under dryland conditions. *African Journal of Biotechnology*. 8, 196-201. <https://doi.org/10.4314/ajb.v8i2.59766>
- Zhao, W., Liu, L., Shen, Q., Yang, J., Han, X., Tian, F., Wu, J., 2020 Effects of water stress on photosynthesis, yield, and water use efficiency in winter wheat. *Water*. 12, 2127. <https://doi.org/10.3390/w12082127>