

ТОЛЕРАНТНОСТ КЪМ ОСМОТИЧЕН СТРЕС НА ГЕНОТИПОВЕ ТВЪРДА ПШЕНИЦА

Виолета Божанова, Дечко Дечев, Шенко Янев
Институт по памука и твърдата пшеница, Чирпан

Резюме

Божанова Виолета, Дечко Дечев, Шенко Янев, 2005. Толерантност към осмотичен стрес на генотипове твърда пшеница

Петнадесет генотипове твърда пшеница – стари и съвременни български сортове и селекционни линии са преценявани по толерантност към обезводняване чрез косвен физиологичен метод, отчитащ депресията в растежа на кълнове, отглеждани в разтвор с повишено осмотично налягане. В резултат на обезводняването в най-малка степен забавят растежа си и съответно се отличават с най-добра толерантност към осмотичен стрес средно за три години: старият български сорт 788 с коефициент на депресия 27.1 %, сорт Явор – 35.9 %, сорт Белослава – 37.8 %, старият български сорт 1522 – 38.8 %, сорт Прогрес – 39.2 % и селекционна линия М-5556 – 37.5 %. Варирането на толерантността в най-голяма степен се определя от взаимодействието между генотипа и годината на отглеждане, следвано от генотипа и в най-малка степен зависи от годината. Чрез корелационен анализ бе установена еквивалентност между относителната сухоустойчивост изразена чрез коефициента на депресия в растежа на кълнове, подложени на осмотичен стрес и действителната сухоустойчивост.

Ключови думи: твърда пшеница, толерантност към осмотичен стрес

Abstract

Bozhanova V., D. Dechev, Sh. Yanev, 2005. Tolerance to osmotic stress of durum wheat genotypes

The tolerance to dehydration in fifteen durum wheat genotypes – old and modern Bulgarian cultivars and breeding lines was estimated through an indirect physiological method, recognizing the growth depressing in seedling, cultivated in solution with increased osmotic pressure. As a result from the dehydration retard the seedlings growth in a lowest rate and distinguish for the best tolerance to osmotic stress average for three years the old Bulgarian cultivars 788 and 1522, cultivars Yavor, Beloslava and Progress and breeding line M-5556. The variation of tolerance depends in greatest rate on the interaction between genotypes and year of cultivation, following of the genotype and in lowest rate depends on the year. Through a correlation analyses the equivalence between the relative and real drought resistance was estimated.

Key words: durum wheat, tolerance to osmotic stress in seedling stage

УВОД

Сушата е един от най-важните абиотични стресови фактори, ограничаващи

производството на селскостопанска продукция в света. Тенденцията за изменение на световния климат в посока на глобално затопляне и намаляване на почвената и атмосферна влажност (IPCC, 1998) налага създаване на толерантни към засушаване генотипове културни растения и в умерения климатичен пояс. Физиологичните механизми, включени в отговора на растенията към воден дефицит, както на клетъчно, така и на организмо ниво са обект на многострани изследвания (Morgan, 1984; Turner, 1997; Blum, 1999, Reynolds et all., 1999). Подобряването на този признак е затруднено, поради голямото разнообразие от фактори, характеризиращи сушата и свързаната с това различна стратегия за толерантност, която растенията развиват. Идентифицирането на механизмите на устойчивост и използването на подходяща методология за измерване на устойчивостта към среса в големи селекционни популации са важни предпоставки за успех при генетичното подобряване на сухоустойчивостта.

Покълването на семената, нарастването на кълновете в разтвори с повищено осмотично налягане и натрупването на осморегулаторни вещества в тях (абсцисина, киселина, пролин, въглехидрати) се използват за оценка на голям брой генотипове в началните селекционни звена (Blum et al., 1980; Vajii, 2000; Almansouri, 2001; Pridashti et all., 2003). Налице са изследвания, които подкрепят идеята, че реакцията към осмотичен стрес на ниво цяло растение зависи от физиологичните механизми на клетъчно ниво (Vajii et al., 2004). Според Удовенко (1977) степента на подтискане на растежните процеси в кълновете под действие на осмотичен стрес в най-голяма степен корелира с общата сухоустойчивост.

Чрез това изследване се прави оценка на голям брой генотипове твърда пшеница – стари и съвременни сортове и селекционни линии по толерантност към обезводняване. Използван е косвен физиологичен метод, отчитащ депресията в растежа на кълнове, отглеждани в разтвор с повищено осмотично налягане. Определя се влиянието на годините и генотипа върху варирането на толерантността и се прави групиране на генотиповете по този признак.

МАТЕРИАЛ И МЕТОД

Петнадесет генотипове твърда пшеница – три стари български сорта 1522, 788 и А-233, два съвременни сорта – Прогрес и Белослава и десет селекционни линии от селекционната програма на ИПТП се оценяваха по толерантност към осмотичен стрес в за период от три години - 2000-2002 г. Растенията, от които се вземаха семената за покълване се отглеждаха при полски условия по рутинната за ИПТП технология за отглеждане на селекционни материали. Семената от всички включени в изследването генотипове след обеззаразяване се поставяха за покълване върху навлажнена филтърна хартия, завиваха се на рула и се оставяха в пластмасови кутии с 100 ml дестилирана H_2O за 48 h в термостат при 26 °C на тъмно. От всеки генотип се приготвяха по 4 рула. След покълването половината от рулата се поставяха отново в дестилирана вода (контролата с нормална водообеспечение), а другата половина се прехвърляха в 1M разтвор на захароза, който предизвиква осмотичен стрес с налягане 22 Atm и по този начин се симулира воден дефицит. Дължината на корените и прорастъците на кълновете в mm се измерва след три дни и се изчислява отношението между дължините на корена и прорастъка, както в контролния вариант, така и във вариант, при който кълновете се подлагаха на осмотичен стрес. Експериментът е извършен в две повторения за всеки вариант и генотип, като за всяко повторение са измервани по 20 кълна. Коефициентът на депресия се изчислява в проценти по формулата на Blum et al. (1980):

$$\% \text{ депресия} = [(A-B)/A] \times 100$$

A - средна дължина на корен/прорастък в контролен вариант, mm

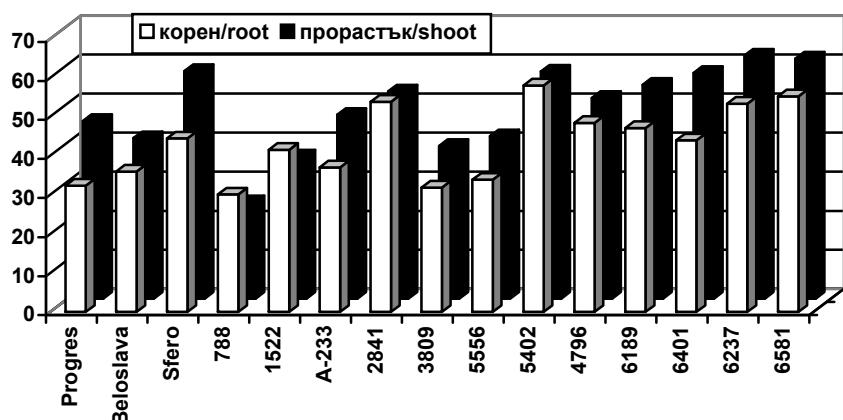
B - средна дължина на корен/прорастък при осмотичен стрес, mm

За определяне на действителната сухоустойчивост е използвана разликата в масата на 1000 зърна на изследваните генотипове във влажни и сухи години. Годините са характеризирани по влажност въз основа на хидротермичния коефициент за всяка година: $XTK = \Sigma \text{валеж}/(\Sigma t^{\circ}/10)$, съгласно класификацията на Сапожникова, 1963.

Всички статистически обработки са извършени чрез пакета програми Statistica-6, StatSoft. Чрез дисперсионен анализ е определено влиянието на генотипа и годините възху варирането на признака депресия в интензивността на растежните процеси в кълнове, поставени при осмотичен стрес. Силата на влияние на факторите е определена като отношение на дисперсията на фактора към общата дисперсия, при достоверен факторен варианс. Генотиповете са групирани по този признак чрез иерархична кластерна процедура, основаваща се на разликите, измерени чрез евклидово разстояние. Използван е корелационен анализ за установяване на зависимост между коефициента на депресия в растежа на кълнове, подложени на осмотичен стрес и действителната сухоустойчивост, изразена чрез разликата в масата на хиляда зърна във влажни и сухи години.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Осмотичният стрес, симулиран чрез добавяне на 1M разтвор на захароза приложен след фаза покълване, инхибира нарастването на кълновете при всички включени в експеримента генотипове твърда пшеница и през трите години на изследване. При повечето от изследваните генотипове водният дефицит потиска в по-голяма степен нарастването на надземната част – прорастъка в сравнение с корена (Фигура 1.).

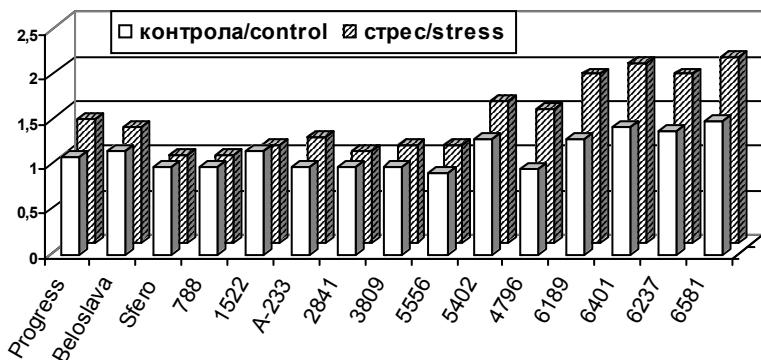


Фигура 1. Депресия в растежа на корени и прорастъци в кълнове твърда пшеница, подложени на осмотичен стрес

Figure 1. Growth depressing in seedlings roots and shoots under osmotic stress

Средният процент на депресия в дължината на корена за цялата поредица от години и генотипове е 42,9 %, а за прорастъка – 48,7 %. Изключение от очертаващата се тенденция правят само 3 генотипа, но различията между коефициентите на депресия за корена и прорастъка са несъществени. Варирането по отношение на депресията на прорастъка, изразено чрез вариационния коефициент – 23% е по-голямо в сравнение с варирането на депресията на корена – 21%, което още веднъж показва, че нарастването на прорастъка в по-голяма степен се влияе от обезводняването в сравнение с нарастването на корена. Този факт е констатиран досега и в други изследвания с различни житни видове (Bajji et al., 2000, Pridashti et

all., 2003) и най-вероятно се дължи на генетично програмираната защитна реакция, обезпечаваща устойчивост на растенията към обезводняване, в пред вид важната роля, която изпълняват корените по отношение на снабдяването на цялото растение с вода и хранителни вещества.



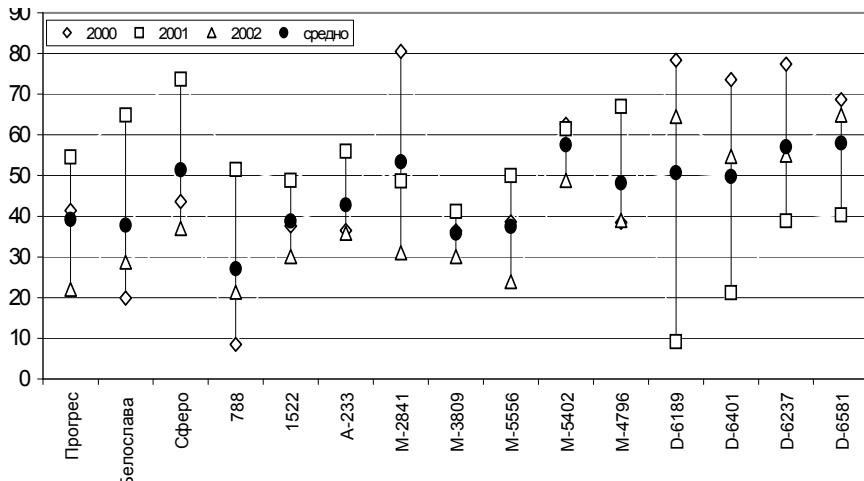
Фигура 2. Съотношение между дължината на корена и прорастъка в кълнове твърда пшеница при нормална водообеспеченост и при осмотичен стрес

Figure 2. Root length to shoot length in durum wheat seedlings under normal water providing and under osmotic stress

В резултат на обезводняването се променя и отношението между дълчините на корена и прорастъка (Фигура 2). При повечето от включените в изследването генотипове то нараства, но в различна степен. Налице е тенденция за по-голямо увеличаване при по-чувствителните на засушаване генотипове. Средното отношение К/П, средно за три години за целия набор от генотипове в контролния вариант е 1.1, а в 1M разтвор на захароза нараства на 1.4. Увеличаването на това отношение под действие на осмотичния стрес е най-голямо при селекционните линии 5402, 6189, 4796, 6237, 6581, 6401, при които в най-голяма степен се поддържа растежа на кълновете т.e. те понасят по-трудно обезводняването и са по-малко толерантни. При най-толерантните на осмотичен стрес генотипове отношението К/П нараства в най-малка степен или дори в някои случаи намалява. Нарастването на отношението между дълчините на корена и надземната част при настъпване на дехидратация на ниво кълнове е докладвано и от други автори, както при тетрапloidна, така и при хексапloidна пшеница (Bajji et al., 2000; Dhanda, et al., 2002) и може да се използва, като косвен признак за скрининг на толерантни към засушаване генотипове.

Поради наличието на висока положителна и доказана корелация между депресията в дължината на целия кълн и депресиите в дължината на корена $r = 0.94$, и в дължината на прорастъка $r = 0.96$ показваме и коментираме само коефициентите на депресия в растежа на целите кълнове по години и средно за три години (Фигура 3). Под въздействие на осмотичния стрес се намалява интензивността на нарастване на кълновете при всички изследвани генотипове, като са налице значителни генотипни различия. В резултат на обезводняването в най-малка степен забавят растежа си и съответно се отличават с най-добра толерантност към осмотичен стрес средно за три години: старият български сорт 788 с коефициент на депресия 27.1 %, сорт Явор – 35.9 %, сорт Белослава – 37.8 %, старият български сорт 1522 – 38.8 %, сорт Прогрес – 39.2 % и селекционна линия М-5556 – 37.5 %. Най-високи коефициенти на депресия, т.e. най-слаба толерантност към обезводняване показват селекционните линии Д-6581 - 58 %, Д-6237 – 57.1 %, М-2841 – 53.4 % и Сфера – 51.4 %. Варирането на коефициентите на депресия през трите години на изследването е различно при отделните генотипове. Най-малко е варирането по години при старите български сортове 1522 и А-233, сорт Явор и селекционна линия М-5402, а най-голямо

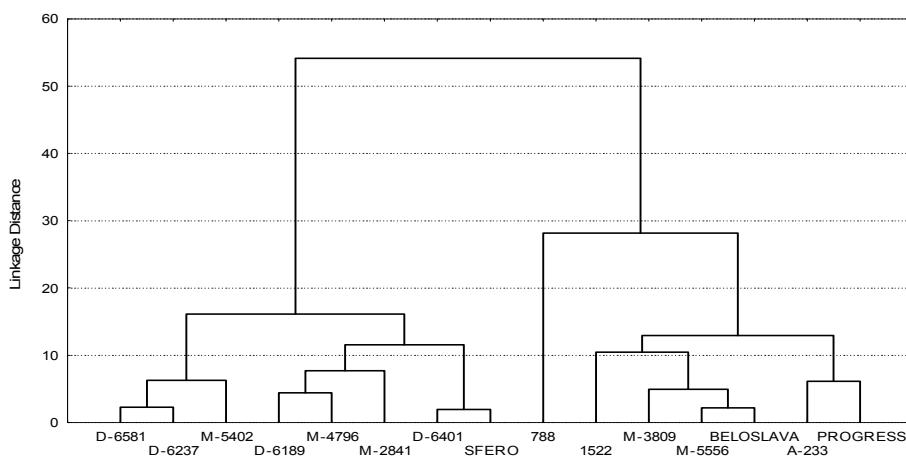
при линии Д-6189, Д-6401 и М-2841.



Фигура 3. Тolerантност към осмотичен стрес на генотипове твърда пшеница за период от три години

Figure 3. Tolerance to osmotic stress of durum wheat genotypes

Резултатите от кластерния анализ на всички включени в изследването генотипове по средните стойности на признаците, характеризиращи толерантността към обезводняване: коефициенти на депресия в нарастването на корените, прорастъците и целите кълнове и разликите в отношението на дълчините на К/П при стресови и при контролни условия показват, че генотиповете се разделят на две основни групи (Фигура 4). В първата група на по-толерантните влизат 7 генотипове – съвременните сортове Прогрес, Белослава и Явор (3809), старите сортове 1522, 788 и А-233 и селекционна линия М-5556. Към втората група на чувствителните към засушаване попадат всички останали селекционни линии. На базата на горепосоченото групиране може да се препоръча в бъдещи изследвания по сухоустойчивост, основаващи се на използвания в настоящия експеримент метод за отчитане на депресията в растежа на кълнове, подложени на осмотичен стрес, по един генотип от всяка група да се използва като стандарт, с който да се сравняват новоизпитваните генотипове.



Фиг. 4. Групиране на генотипове тв.пшеница по толерантност към осмотичен стрес
Fig. 4. Dendrogram of durum wheat genotypes by osmotic stress tolerance

Анализът на варианса на данните при участие на всички години показва, че и върху двата признака, характеризиращи толерантността към засушаване – депресия в растежа на корени и прорастъци в кълнове, подложени на осмотичен стрес доказано влияние оказват, както генотипът, така и условията на средата (годината, в която са реколтираны семената) и взаимодействието между тях (таблица 1). Варирането на признаките в най-голяма степен се определя от взаимодействието между генотипа и годината на отглеждане, следвано от генотипа и в най-малка степен зависи от годината. Голямото взаимодействие между генотип и среда, констатирано в нашето изследване доказва сложността на генетичната система, контролираща устойчивостта към засушаване и би могло да се обясни с явлението "преопределение на генетичните формули, контролиращи признака", формулирано от Драгавцев (Драгавцев и Аверянова, 1983). Необходимо е в бъдеще при прилагането на метода за отчитане на депресията в растежа на кълнове, подложени на осмотичен стрес с цел по-достоверна оценка на голям брой генотипове в началните селекционни звена да се използват многогодишни изследвания или да се установява фенотипната стабилност на признака.

Таблица 1. Анализ на варианса на коефициента на депресия в растежа на кълнове, подложени на осмотичен стрес

Table 1. Analyses of variance of depression coefficient in seedlings growth under osmotic stress

Източник на вариране Source of variation	Депресия в растежа на корена Root growth depressing				Депресия в растежа на прорастъка Shoot growth depressing			
	Степени на свобода Df	Варианс MS	Дисперсия SS	H ² %	Степени на свобода Df	Варианс MS	Дисперсия SS	H ² %
Общо/Total	89	35375.6			89	34720.7		
Години/Years	2	1517.0***	3034.0	8.5	2	913.9***	1827.9	5.2
Генотипове Genotypes	14	517.3***	7242.3	21	14	521.6***	7301.7	21
Взаимо- действие Interaction	28	784.6***	21969.4	62	28	768.9***	21528.8	62
Грешка/Error	45	69.6	3129.9	8.8	45	90.3	4062.3	11.7

При прилагане на косвени физиологични методи за идентифициране на толерантни към засушаване генотипове се отчита относителната суchoустойчивост. Действителната суchoустойчивост се измерва чрез степента на понижаване на продуктивността на съответния генотип под влияние на стресовия фактор. Това за съжаление не винаги е възможно, особено в умерения климатичен пояс, където липсва постоянно действие на фактора суша. За отчитане на достоверността на косвените методи обикновено се прилага сравняване на резултатите между относителната и действителната суchoустойчивост. С тази цел годините, в които е извършен експеримента, са класифицирани по хидротермичния коефициент съгласно класификацията на Сапожникова (1963) и е установено, че 2000 г. е засушлива с XTK – 0.9, 2001 г. е слабо засушлива до влажна с XTK – 1.1, а 2002 г. е преовлажнена с XTK – 1.7. Установено е понижаване на масата на хиляда зърна при всички изследвани генотипове през засушливата 2000 г. в сравнение с преовлажнената 2002 г. След провеждане на корелационен анализ коефициента на депресия в растежа на кълнове, подложени на осмотичен стрес и понижаването на масата на 1000 зърна при наличие на засушаване, бе установено наличието на добре доказана положителна корелация между изследваните показатели $r = 0.67***$. Този факт показва, че е налице еквивалентност между относителната суchoустойчивост, в нашия случай изразена чрез

коефициента на депресия в растежа на кълнове, подложени на осмотичен стрес, и действителната сухоустойчивост. Това ни дава основание да считаме, че използваният от нас метод може да служи за бърза и достоверна оценка на голям брой генотипове твърда пшеница в началните селекционни звена и потвърждава установената вече от други автори тясна зависимост между интензивността на растежните процеси на ниво кълнове и действителната сухоустойчивост.

ИЗВОДИ

Водният дефицит поддържа в по-голяма степен нарастването на надземната част на кълновете, в сравнение с корена.

В резултат на обезводняването се променя и отношението между дължините на корена и прорастъка. При повечето от включените в изследването генотипове то нараства, като е налице тенденция за по-голямо увеличаване при по-чувствителните на засушаване генотипове.

С най-добра толерантност към осмотичен стрес средно за три години се отличават старте български сортове 788 и 1522, сортовете Явор, Белослава и Прогрес и селекционна линия М-5556.

Варирането на толерантността към осмотичен стрес в най-голяма степен се определя от взаимодействието между генотипа и годината на отглеждане, следвано от генотипа и в най-малка степен зависи от годината.

Установена е еквивалентност между относителната сухоустойчивост, отчетена чрез коефициента на депресия в растежа на кълнове, подложени на осмотичен стрес и действителната сухоустойчивост.

ЛИТЕРАТУРА

- Драгавцев, В. и Аверянова, А., 1983.** Переопределение генетических формул количественных признаков пшеницы в разных условиях среды, Генетика, 19, 1811-1817
- Сапожникова, 1963.** Методические указания по составлению агроклиматических справочников, М.
- Удовенко, Г., 1976.** Методы оценки устойчивости растений к неблагоприятным условиям среды, Л., Колос
- Almansouri M., J. M. Kinet and S. Lutts, 2002.** Effect of salt and osmotic stresses on germination in durum wheat (*Triticum durum* Desf.), Plant and Soil, Vol.231, No. 2, 243-254
- Bajji M., S. Lutts , M. Kinet, 2000.** Physiological changes after exposure to and recovery from polyethylene glycol-induced water deficit in roots and leaves of durum wheat (*Triticum durum* Desf.) cultivars differing in drought resistance, J. Plant Physiol., Vol.157, 100-108
- Bajji M., Bertin P., Lutts, S and Kinet, M., 2004.** Evaluation of drought resistance-related traits in durum wheat somaclonal lines selected in vitro, Australian Journal of Experimental Agriculture, 44, 27-35
- Blum A., Sinmena B. and Ziv O., 1980.** An evaluation of seed and seedling drought tolerance screening tests in wheat, Euphytica 29, 727-736
- Blum, A., 1999.** Towards Standard Assays of Drought Resistance in Crop Plants, In: Molecular Approaches for the Genetic Improvement of Cereals for Stable Production in Water-Limited Environments, Ribaut J. and Poland, D (editors), CIMMYT, 29-35
- Dhanda, S., Sethi, G. and Behl, R., 2002.** Inheritance of seedling traits under drought stress conditions in bread wheat, Cereal Res. Comm., Vol. 30, 3-4, 293-300
- Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC), (1998),** The regional impact of climate change: an assessment of vulnerability, Summary for Policy Makers, Geneva,

Switzerland

- Morgan, J.M., 1984.** Osmoregulation and water stress in higher plants, Annual Review of Plant Physiology, 35, 299-319
- Pridashti, H., Tahmasebi Sarvestani, Z., Nematzadeh, Ismail, A., 2003.** Effect of water stress on seed germination and seedling growth in Rice (*Oryza sativa* L.) genotypes, Pakistan Journal of Agronomy, 2 (4), 217-222
- Reynolds, M., Skovmand, B., Trethowan, R. and Pfeiffer, W., 1999.** Evaluating a conceptual model for drought tolerance, In: Molecular Approaches for the Genetic Improvement of Cereals for Stable Production in Water-Limited Environments, Ribaut J. and Poland, D. (editors), CIMMYT, 49-53
- Turner, N.C., 1997.** Further progress in crop water relations, Advances in Agronomy: 58, 293-338