

ИЗСЛЕДВАНИЯ ВЪРХУ СТУДО- И СУХОУСТОЙЧИВОСТТА  
ПРИ ТВЪРДАТА ПШЕНИЦА

Виолета Божанова<sup>1</sup>, Дечко Дечев<sup>1</sup>, Елена Тодоровска<sup>2</sup> Шенко Янев<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт по памука и твърдата пшеница, 6200 Чирпан

<sup>2</sup> Агробиоинститут, София

**Резюме**

Виолета Божанова, Дечко Дечев, Елена Тодоровска Шенко Янев. 2010. Изследвания върху студо- и сухоустойчивостта при твърдата пшеница, FCS 6(3): 347-354

В обзорния доклад са представени подходите, резултатите и проблемите свързани със селекционното подобряване на твърдата пшеница по отношение устойчивостта и на абиотични стресови фактори – студ и суша. За разрешаване на проблема със затруднения отбор на устойчиви генотипове, поради липса на постоянно действие на стресовите фактори са адаптирани и разработени бързи и достоверни косвени методи. Въз основа на многогодишни изпитвания на голям брой селекционни линии са идентифицирани такива с много добра и добра толерантност към изучаваните фактори, някои от които вече са признати от ИАСАС като нови сортове, а други се изпитват като кандидат сортове. Голям набор от образци от диви и културни видове, принадлежащи към род *Aegilops* и род *Triticum* са изпитвани по отношение на изучаваните признаци. Образците от род *Aegilops* - *Ae. tauschii*, *Ae. crassa*, *Ae. caudata*, *Ae. umbellulata* и образеца от вид *Tr. dicoccum* се отличават с най-добра сухоустойчивост, а образците *Ae. crassa*, *Ae. tauschii*, *Ae. speltooides*, *Tr. boeithicum* и *Tr. sphaerococcum* – с най-добра студоустойчивост и са включени в програмата по отдалечена хибридизация с цел повишаване вариабилността по тези признаци при твърдата пшеница. Докладват се първоначалните резултати от експерименти за установяване на връзката между фенотипната изява на толерантността на ниво цяло растение и проявите на сухоустойчивост на молекулярно ниво.

**Ключови думи:** Твърда пшеница - Отдалечени видове от сем. Житни - Студоустойчивост - Сухоустойчивост - Молекулярни маркери

**Abstract**

Violeta Bozhanova, Dechko Dechev, Elena Todorovska and Shenko Yanev. 2010. Investigations of Cold- and Drought resistance in durum wheat, FCS 6(3): 347-354

The approaches, results and problems relevant to durum wheat breeding improvement of resistance to abiotic stress factors – cold and drought are presented in this survey. To solve the problems with difficult selection of tolerant genotypes at lack of stable action of stress factors a rapid and reliable indirect methods are adapted and elaborated. On the basis of many years examinations of large number of breeding lines, lines with very good and good tolerance to both stress factors were identified. The seventeen accession of wild and modern species of genus *Aegilops* and genus *Triticum* were

estimated according to their cold- and drought resistance. The accession of genus *Aegilops* - *Ae. tauschii*, *Ae. crassa*, *Ae. caudata*, *Ae. umbelulata* and *Tr. dicoccum* possess very good drought resistance and *Ae. crassa*, *Ae. tauschii*, *Ae. speltoides*, *Tr. boeothicum* и *Tr. sphaerococcum* – very good cold resistance. They are included in interspecific breeding program in order to increase the variability at these traits in durum wheat. The initial results of the experiments with respect to determine the relation between phenotype expression of drought tolerance on level of whole plants and the manifestation of this tolerance on molecular level were presented, too.

**Keywords:** Durum wheat - Wide species of fam. *Gramineae* - Cold resistance - Drought resistance - Molecular markers

## УВОД

Подобряването на студо- и сухоустойчивостта започна да се включва през последните години в селекционната програма по твърда пшеница в ИПТП – Чирпан (Божанова и др., 2005, Божанова и др., 2008) поради генетично обусловената по-слаба студоустойчивост на твърдата пшеница от една страна, и поради тенденцията за покачване на температурите и намаляването на почвената и атмосферна влажност и в районите на умерения климатичен пояс (IPCC, 1998), от друга. Основният проблем в тази насока е свързан със затруднения отбор на устойчиви генотипове, поради липса на постоянно действие на стресовите фактори. Най-важните предпоставки за успех при селекционното подобряване на устойчивостта към тези абиотични стресови фактори са: наличието на бързи и надеждни методи за отбор на устойчиви генотипове и познания за унаследяването на признака.

В настоящия обзорен доклад се обобщават подходите, получените резултати и проблемите от изследванията по студо- и сухоустойчивост на твърдата пшеница. Проведените изследвания са в следните основни направления:

1. Оценка на голям брой селекционни линии твърда пшеница по студоустойчивост и толерантност към обезводняване чрез адаптирани косвени физиологични методи;
2. Оценка на образци от диви и културни видове на сем. Житни, като донори за повишаване на генетичното разнообразие при твърдата пшеница по изучаваните признаци;
3. Информация за стабилността на добивите от български и чужди сортове твърда пшеница в условията на екстремно сухата 2007 г.;
4. Използване на цялостен подход, включващ класически генетичен метод за изучаване наследяването на полигенни признаци, морфо-физиологичен и молекулярен подход за идентифицирани на ДНК маркери, свързани със сухоустойчивост.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

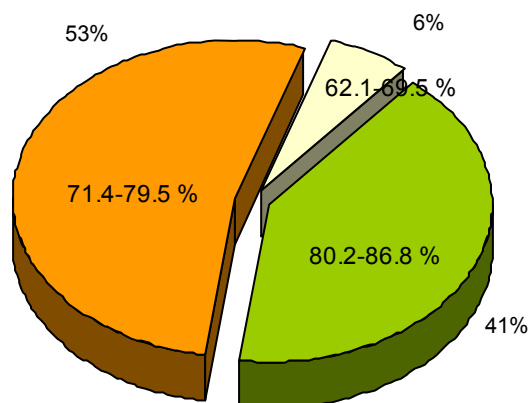
Селекционни линии твърда пшеница от селекционната програма на ИПТП-Чирпан; сортове твърда и обикновена пшеница; образци от седем диви вида с различно ниво на плоидност, принадлежащи към род *Aegilops* и осем диви и културни вида, принадлежащи към род *Triticum* са оценявани по толерантност към засушаване и студоустойчивост за различен период от време – от 1 до 4 години. Толерантността към засушаване е преценявана чрез косвен физиологичен метод, отчитащ депресията в растежа на кълнове, отглеждани в разтвор с повишено осмотично налягане (Божанова и др., 2005). Студоустойчивостта е оценявана чрез косвен метод, разработен в ИПТП – Чирпан, основаващ се на отрицателната корелация между интензивността на растежните процеси в есенния период и студоустойчивостта (Божанова и Петрова, 2000).

Наследяването на устойчивостта на осмотичен стрес е изследвано в диалелна кръстоска от 5 родителски генотипове, показали разнообразие в предварителни изследвания по показателя депресия в растежа на кълновете, подложени на осмотичен стрес – стария български сорт А-233, сортовете Гергана, Възход и Белослава и селекционна линия Д-6189.

Всички статистически обработки са извършени чрез пакет-програмата Statistica-6, StatSoft.

## РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Успешното адаптиране на косвени физиологични методи в ИПТП – Чирпан, отчитащи депресията в растежа на кълновете под действие на абиотичните стресови фактори студ и суша, позволи започването на рутинно многогодишно оценяване на голям набор от селекционни линии и сортове твърда пшеница по признаците студо- и сухоустойчивост. Косвеният метод за оценка на студоустойчиви генотипове се основава на отрицателната корелация между интензивността на растежните процеси в есенния период и студоустойчивостта (Образцов, 1981). Разработеният от нас метод не отчита прекратяването на растежа, което е значително по-трудно за установяване, а подтискането на растежа в кълновете в резултат на ниски положителни температури. Осреднените резултати от многогодишното изпитване на селекционните линии по отношение на студоустойчивостта им показват, че те се разделят в три основни групи по отношение на степента на забавяне на растежа на кълновете под въздействие на ниските положителни температури (4°C) (Фигура 1).



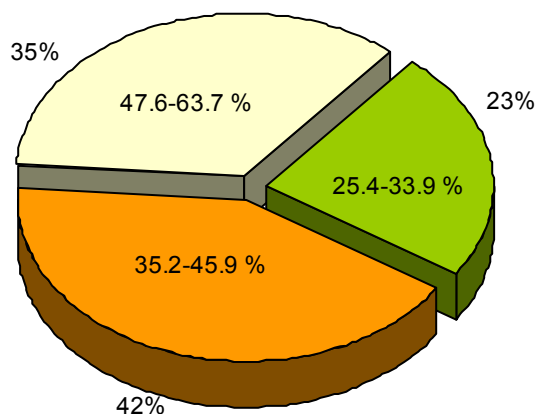
Фиг. 1. Групиране на селекционни линии твърда пшеница по ниво на студоустойчивост

Fig.1. Grouping of durum wheat breeding lines by level of cold resistance

В група А с висок коефициент на депресия от 86.8 % до 80.2 % т.е. с най-добра студоустойчивост попадат 21 селекционни линии, или 41 % от всички включени в изследването линии. Най-студоустойчиви са линии М-173, Д-6953, М-118, М-6129 и М-6502. Тези линии превишават незначително най-студоустойчивия български сорт 788, определен на базата на многогодишни изследвания за стандарт. Групата на генотиповете, показващи средно висок коефициент на депресия – от 71.4 – 79.5 % и с добра студоустойчивост е най-многобройна. В тази група Б попадат 53 % от всички изпитвани линии, между които е и новопризнатия сорт на ИПТП – Чирпан Виктория и кандидат-сорта 7110, който за втора година се изпитва в ИАСАС. В групата на най-слабо студоустойчивите влизат само три селекционни линии.

Осреднените резултати от многогодишното изпитване на селекционните линии

по отношение на сухоустойчивостта им показват, че те се разделят на три основни групи по отношение на степента на забавяне на растежа на кълновете под въздействие на осмотичния стрес (1М разтвор на захароза) (фигура 2.). Толерантността към засушаване, изразена чрез коефициента на депресия в растежа на кълновете, отглеждани в среда с осмотик варира в по-широки граници: от 25.4 % при линия M-160 до 63.7 % при линия M-6502. В групата на най-толерантните към осмотичен стрес с коефициент на депресия от 25.4 % до 33.9 % попадат 11 селекционни линии: M-160, M-6457, D-7236, D-6971, 5864, M-228, M-226, D-6973, M-118, D-6468, M-128 или 23 % от всички включени в изследването селекционни линии. В следващата група със сравнително добра толерантност с коефициент на депресия от 35.2 % до 45.9 % се намират най-голям брой селекционни линии – 20, или 42 % от всички изследвани линии. Най-чувствителни на осмотичен стрес с коефициенти на депресия от 47.6 % до 63.7 % са около 1/3 от линиите, включени в изследването - 35.4 %.

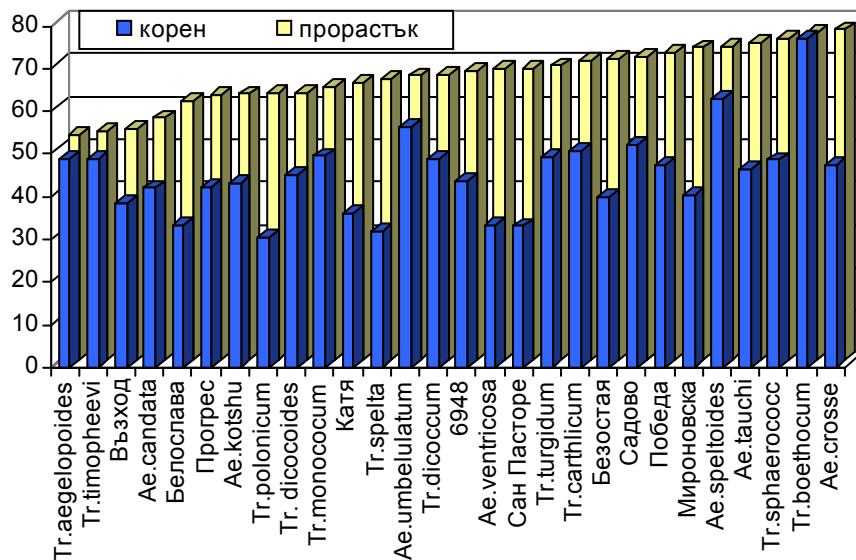


Фиг. 2. Групиране на селекционни линии твърда пшеница по ниво на толерантност към осмотичен стрес

Fig.2. Grouping of durum wheat lines by level of tolerance to osmotic stress

Провеждането на интензивен скрининг между образци от отдалечени диви и културни видове на сем. *Gramineae* позволява откриване на толерантни към студ и засушаване генотипове, които могат да бъдат включени в селекционната програма за създаване на генотипове твърда пшеница с повишена толерантност към тези абиотични стресови въздействия. В тази връзка беше предприето изпитване на седем диви вида с различно ниво на плоидност, принадлежащи към род *Aegilops* и осем диви и културни вида, принадлежащи към род *Triticum* по отношение на толерантността им към студ и осмотичен стрес и сравняването им по този признак с 3 сорта и една селекционна линия твърда пшеница и 6 сорта обикновена пшеница, приети за стандарти по студо- и сухоустойчивост. Най-добра студоустойчивост показаха образците: *Ae.crassa* с коефициент на депресия на кълновете – 77.5 %, *Ae. tauschii* – 74.3 % и *Tr.sphaerococcum* - 75.5 %., съдържащи хромозоми от D-генома, *Ae.speltoides* - 73.6 % - G-геном, и *Tr.boeithicum* – 76.9 % - A-геном. Тези генотипове показват по-добра студоустойчивост в сравнение със стандарта за най-добра студоустойчивост при обикновената пшеница сорт Мироновска – 73.2 % (фигура 3) и могат да бъдат включени в селекционната програми за създаване на генетично разнообразие по този признак. В групата на средно студоустойчивите попадат *Tr.spelta*, *Ae.umbellulatum*, *Tr.dicoccum*, *Tr.turgidum*, *Ae.ventricosa*, селекционна линия твърда пшеница 6948 и сорта Сан Пасторе, който се използва като стандарт за

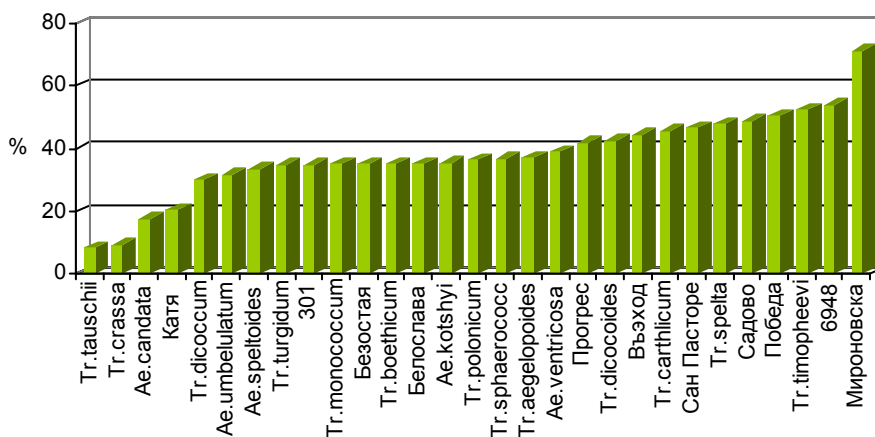
слаба студоустойчивост при обикновената пшеница при метода на прякото замразяване. Общозвестният факт, че твърдата пшеница и видовете, притежаващи *V*-геном и произлизащи от средиземноморския регион, отстъпват значително на обикновената по нивото си на студоустойчивост (Limin, 1981), се потвърди и чрез това изследване.



Фиг. 3. Студоустойчивост на различни видове от сем. Житни, изразена чрез коефициент на депресия в растежа на кълнове при 8 °C

Fig.3. Cold resistance of different species of fam. Gramineae expressed as depression coefficient in seedlings growth at 8 °C

С най-добра толерантност към осмотичен стрес се отличават три вида от род. *Aegilops* - *Ae. Tauschii* - 2.6 %, *Ae. crassa* - 9.4 % и *Ae.candata* – 17.7 %, следвани от *Tr.durum* – сорт Белослава (26.3 %), и *Tr.aestivum* – сорт Катя (26.3 %) (Фигура 4).

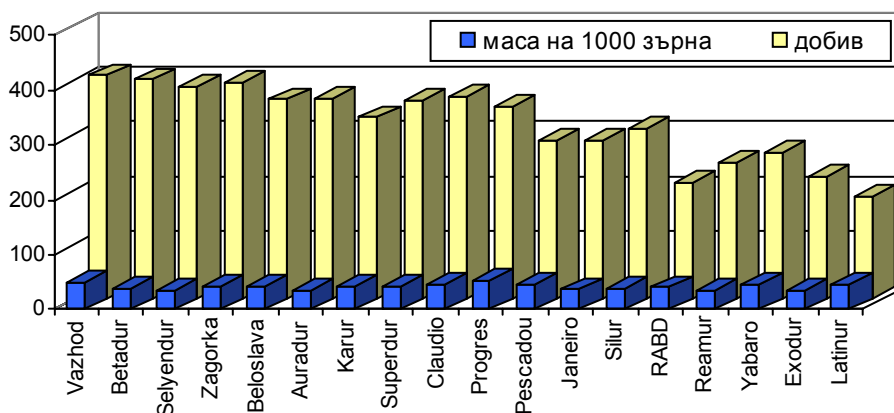


Фиг. 4. Толерантност към осмотичен стрес на видове и сортове от сем. Gramineae

Fig.4. Tolerance to osmotic stress of species and cultivars of fam. Gramineae

Образците, отличаващи се с по-висока студоустойчивост и толерантност към засушаване в сравнение с твърдата пшеница, са включени в програмата по отдалечена хибридизация с цел повишаване вариабилността по тези признаци при твърдата пшеница (Vozhanova et al., 2008). Получени са хибридни семена без ембрио култура от кръстосването на *Tr. durum* с *Tr. spelta* и *Tr. dicoccum*. С помощта на ембрио култура са регенерирани растения от хибридните комбинации с *Ae. tauschii* и *Ae. umbellulatum*. Продължава отглеждането на хибридните растения и бекросите в хибриден питомник. Отборът в разпадащите хибридни популации ще се води и по признаците студо- и сухоустойчивост.

Отборът на сухоустойчиви генотипове при полски условия е затруднен поради липса на постоянно действие на стресовия фактор. Затова информацията за стабилността на добивите и елементите на добива през екстремно сухата 2007 г. беше много важна за оценката на действителната сухоустойчивост на сортовете твърда пшеница. Направени бяха и ценни изводи за подходящи признаци, по които да се води отбора при селекционни линии от ранните селекционни звена, когато все още не може да се следи добива. В двугодишен конкурсен сортов опит с 4 български сорта и 14 от чужда селекция беше установено, че българските сортове твърда пшеница са сред най-добрите по добив и показват по-добра стабилност по години, включително и за условията на изключително топлата и суха 2007 г. (Фигура 5). Установени са корелационни връзки между добива и елементите на класа, като най-стойностен за селекцията е доказаният коефициент на корелация ( $r = 0.75^{***}$ ) между теглото на зърното в класа и масата на 1000 зърна (табл. 1). Този факт потвърждава мнението, че едрината на зърното може да е от голямо значение и за добива в години със силно засушаване (Slafer et al., 1994, Araus et al., 2002). Масата на 1000 зърна в сухи години може да се използва като критерий за добивност при оценка на селекционни линии.



Фиг. 5. Средни добиви от български и чужди сортове твърда пшеница за периода 2006-2007 г.

Fig. 5. Average yield of Bulgarian and foreign cultivars during 2006-2007 years.

Положено е началото на използване на цялостен подход, включващ комбинация от методи на различни нива - класически генетичен, морфо-физиологичен и молекулярен за изучаване на сухоустойчивостта при твърдата пшеница. С тази цел беше предприет експеримент по изучаване наследяването на устойчивостта на осмотичен стрес в диалелна кръстоска от 5 родителски генотипове (Dchev et al., 2008). Изследва се връзката между проявите на сухоустойчивост на молекулярно ниво и фенотипната изява на толерантността на ниво цяло растение с цел идентифициране на ДНК-маркери, свързани с този признак. Определени са най-

толерантните към осмотичен стрес генотипове и хибридни комбинации, влиянието на обезводняването върху агрономически важни признаци и наследяването на признаците в различни среди. Установени са полиморфизми между толерантни (А-233, Белослава), средно толерантни (Възход) и чувствителни генотипове (Гергана и 6189) в различни локуси върху 7А-хромозомата. Предстои те да бъдат наситени с допълнителен набор от микросателитни маркери и се направи прецизен подбор на такива, продуциращи полиморфни профили между анализирани линии и сортове, включени в анализите, свързани със сухоустойчивостта. Тези анализи ще послужат като изходна база за валидиране на *QTL* за осмотичен потенциал в сегрегираща популация на силно толерантните и силно чувствителни български генотипове твърда пшеница. Съчетаването на фенотипните с генотипните данни от сегрегиращата популация ще позволи определяне въз основа на маркерите на основните *QTLs* и тяхната хромозомна локализация. Това от своя страна ще позволи прилагането на селектираните полиморфни маркери за директна селекция на генотипове с повишена толерантност към воден дефицит.

**Таблица 1.** Корелационни коефициенти (*r*) между изследваните добив и елементи на класа при европейски сортове твърда пшеница през 2007 г.

**Table 1.** Correlation coefficients (*r*) between studied yield and spike characteristics at European durum wheat cultivars

Признаци Traits	Дължина на класа Spike length	Брой класчета в клас Spikelets in spike	Брой зърна в клас Kernels in spike	Тегло на зърното в класа Weight of kernels in spike	Маса на 1000 зърна TKW
Добив/Yield	-0.08	-0.29	0.04	0.22	0.23
Дължина на клас Spike length		0.39	0.50*	-0.19	-0.53*
Брой класчета в клас Spikelets in spike			0.46*	-0.07	-0.45
Брой зърна в клас Kernels in spike				0.29	-0.40
Тегло на зърното в класа Weight of kernel in spike					0.75****

\*  $p \leq 5\%$ , \*\*\*\*  $p \leq 0.1\%$

В заключение трябва да се подчертае, че чрез обобщените в този доклад подходи и експерименти насочени към оценка на голям брой генотипове по толерантност към абиотични стресови фактори - студ и суша, се задълбочиха първоначалните изследвания по подобряване на студо- и сухоустойчивостта на твърдата пшеница в България. Идентифицирани са селекционни линии с много добра и добра толерантност към изучаваните фактори, някои от които вече са признати от ИАСАС като нови сортове, а други се изпитват като кандидат сортове. Провеждането на скрининг между образци от отдалечени диви и културни видове на сем. *Gramineae* позволи откриването на толерантни към студ и засушаване образци, които вече са включени в селекционната програма за създаване на генетично разнообразие при твърдата пшеница по тези признаци. Направени са ценни изводи за подходящи признаци, по които да се води отбора по сухоустойчивост в ранните селекционни звена, въз основа на анализирани резултати през изключително сухата 2007 г. Предприети са експерименти за установяване на връзката между проявите на сухоустойчивост на молекулярно ниво и фенотипната

изява на толерантността на ниво цяло растение, с цел идентифициране на ДНК-маркери, свързани с този признак. Установени са полиморфизми между толерантни, средно толерантни и чувствителни генотипове в различни локуси върху 7А-хромозомата.

#### БЛАГОДАРНОСТИ

Изследванията са финансирани от СА, МЗХ (Националната програма по повишаване на сухоустойчивостта и студоустойчивостта при важни селскостопански култури) и Фонд "Научни Изследвания".

#### ЛИТЕРАТУРА

- Божанова, В. и Петрова, Т., 2000.** Оценка на генотипове твърда пшеница по студоустойчивост. Растениевъдни науки.37:705-707
- Божанова, В., Дечев, Д. и Ш. Янев, 2005.** Толерантност към осмотичен стрес на генотипове твърда пшеница, Field Crops Studies, Vol. II, No. 1, 37-44
- Божанова, В., Дечев, Д. и Т. Петрова, 2008.** Оценка на студоустойчивост с различни методи в диалелна кръстоска твърда пшеница, Растениевъдни науки (под печат)
- Образцов, А., 1981.** Биологические основы селекции растений, М., Колос, Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC), 1998, The regional impact of climate change: an assessment of vulnerability, Summary for Policy Makers, Geneva, Switzerland
- Araus J.L., Slafer, G.A., Reynolds, M.P., Royo, C., 2002.** Plant breeding and drought in C3 cereals: what should we breed for Ann. Bot. 89, 925-940
- Bozhanova, V., Dechev D., Hadzhivanova, B. and N. Valkova, 2008.** Crossability of Durum Wheat with Wild and Cultivated Species of Family *Gramineae* and Embryo Rescue Improvement, From Seed to Pasta: The Durum Wheat Chain – International Durum Wheat Symposium "Book of Abstracts", 160
- Dechev, D., Bozhanova, V. and E. Todorovska, 2008.** Heritability of some agronomic traits in diallel crossing of durum wheat under two different water regimes, In Proceeding of International Conference "Conventional and Molecular Breeding of Field and Vegetable Crops" November 2008, Novi Sad, Serbia
- Limin, A.E. and Fowler, D.B., 1981.** Cold hardiness of some wild relatives of hexaploid wheat. Can. J.Bot., 59: 572-573
- Slafer G.A., Satorre E.H., Andrade H., 1994.** Increases in grain yield in bread wheat from breeding and associated physiological changes. In: Slafer G.A. (Ed.) Genetic improvement of Field crops. Marcel Dekker. Inc., New York, pp. 1-67