

ИЗПОЛЗВАНЕ НА ГЕНОТИПНИТЕ РАЗЛИЧИЯ В СПОСОБНОСТТА ЗА ОСМОРЕГУЛАЦИЯ В СЕЛЕКЦИЯТА ПО СУХОУСТОЙЧИВОСТ

Виолета Божанова¹, Дечко Дечев¹, Елена Тодоровска²

¹Институт по памука и твърдата пшеница, Чирпан

²Агробиоинститут, София

Резюме

Божанова В., Д. Дечев, Е. Тодоровска, 2009. Използване на генотипните различия в способността за осморегулация в селекцията по сухоустойчивост

Подобряването на сухоустойчивостта заема все по-важно място в селекционните програми при житните видове и в районите на умерения климатичен пояс, поради тенденцията за покачване на температурите и намаляването на почвената и атмосферна влажност. Регулацията на осмотичното налягане е един от най-важните клетъчни адаптационни механизми, настъпващ при обезводняване. В обзорния доклад се прави преглед на: методите за скрининг на голям брой генотипове по отношение на способността им за осморегулация, съществуващата до момента информация за унаследяването на признака и наличието на взаимовръзка между високия потенциал за осморегулация и стабилността на добива в условия на воден дефицит при различни зърнено-житни култури. Докладват се и най-съвременните подходи и достижения за генетично подобряване на способността за осморегулация чрез молекулярно картиране и изолиране на гените, включени в този физиологичен механизъм. Дискутира се възможността и се посочват конкретни примери от съвременни селекционни програми за бърз селекционен напредък при подобряването на сухоустойчивостта чрез отбор на генотипове с висок потенциал за осморегулация.

Ключови думи: осмотична регулация, толерантност към засушаване, унаследяване, стабилност на добива, селекция, генетично инженерство

Abstract

Bozhanova, V., Dechev, D. and E. Todorovska, 2009, Utilization of genotype variation in osmotic adjustment in drought resistance breeding

The drought resistance improvement began to take important role in cereals breeding programs even in regions of the temperate climate zone because of the tendency of temperature rise and decreasing of soil and atmospheric humidity. Osmotic adjustment (OA) is one of the most important cellular adaptive mechanisms occurred during dehydration. In the paper are reviewed: commonly used methods for OA quantifying, information for inheritance of the trait and for association between high rate of OA and yield stability under water-limited conditions. The most promising strategies and achievements for genetic improvement of osmotic adjustment in cereals through molecular gene mapping, isolation and transformation with genes involved in this physiological mechanism are reported. The possibility to achieve rapid breeding advance in the creating of drought tolerant genotypes through selections of genotypes with high potential for osmotic adjustment is discussed and concrete examples are given.

Key words: osmotic adjustment, drought tolerance, inheritance, yield stability, plant breeding, genetic engineering

УВОД

Сушата е един от най-често повтарящите се абиотични стресови въздействия, оказваща влияние върху растежа и развитието на растенията чрез изменения в метаболизма и генната експресия. Независимо от многогодишните изследвания на физиологично, генетично а през последните години и на молекулярно ниво, все още създаването на толерантни на засушаване генотипове е предизвикателство за селекционерите, поради разнообразието от фактори, характеризиращи сушата и свързаната с това различна стратегия за толерантност, която растенията развиват. Очертаващата се през последните години тенденция за покачване на температурите и намаляването на почвената и атмосферна влажност доведе до включване на задачи по засухоустойчивост в селекционните програми при житните видове дори и в районите на умерения климатичен пояс.

Толерантността към засушаване включва различни механизми, които най-общо се класифицират в три основни групи - способност за подържане на висок воден потенциал в листата (предотвратяване на увяхването), толерантност към нисък воден потенциал (толерантност към засушаване) и избягване на сушата (Levitt 1980). Засухоустойчивостта при висок воден потенциал отразява способността на растенията да повишават абсорбцията на вода или да намаляват загубите на вода. Засухоустойчивостта при нисък воден потенциал се основава на способността на растенията да подържат тургора и някои метаболитни активности.

Гореспоменатите адаптивни механизми протичат на морфологично, анатомично, клетъчно и молекулярно ниво. Морфологичната адаптация е видооспецифична, докато клетъчните механизми са общовалидни при всички растителни видове (Zhu et al., 1997). Осмотичната регулация (ОА) е пример за общовалиден клетъчен механизъм за подържане на толерантността към засушаване при нисък воден потенциал на листата. За да се минимизира загубата на вода от клетките и за да се подържат клетъчните функции при воден дефицит в клетките се натрупват разтворими вещества. Чрез този основен клетъчен отговор, възникващ при засушаване се избягва дехидратирането на клетките и понижаването на добива (Blum 2005).

Противоречивите резултати от използването на многобройни физиологични показатели, отразяващи различните механизми за засухоустойчивост (Blum 2004) и затрудненията при използване на конвенционалния селекционен метод за отбор на засухоустойчиви генотипове въз основа на добива в различни среди и години (Сессарелли et al., 1991) (дължащи се на слабата унаследяемост на този признак в условия на стрес и типичното вариране на продължителността и интензивността на стреса) обуславят нарастващия интерес към използване на генотипните различия в способността за осморегулация в изследванията за подобряване на засухоустойчивостта при голям брой растителни видове, в т.ч. и при пшеницата.

Целта на настоящия обзорен доклад е да се направи преглед на: методите за измерване на способността за осморегулация и наличната в литературата информация за генотипното вариране по този признак и унаследяването му, молекулярното картиране и изолиране на гените, включени в този физиологичен механизъм при пшеницата. Поставя се на дискусия възможността за бърз селекционен напредък при подобряването на засухоустойчивостта чрез отбор на генотипове с висок потенциал за осморегулация.

РЕГУЛАЦИЯТА НА ОСМОТИЧНОТО НАЛЯГАНЕ КАТО ФИЗИОЛОГИЧЕН ПРОЦЕС

За да се намали загубата на вода от клетките при настъпващо обезводняване и за да се подържат клетъчните функции в тях се натрупват разтворими вещества. Именно този процес се нарича регулиране на осмотичното налягане или осморегулация, водещо до намаляване на осмотичния потенциал в клетките (Acevedo and Fereres, 1993; Blum 1988). Увеличаването на съдържанието на разтворими вещества включва K^+ , захари и различни типове клетъчни осмолити (Morgan 1984; Zhang et al., 1999)

Способността за осморегулация помага на растенията да функционират по-добре по време на суша по отношение на растежа и продуктивността чрез подържане на тургора и снабдяването с вода, като по този начин те подържат по-висока фотосинтетична способност и нарастват по-добре. (Blum et al., 1999; Ludlow & Muchow, 1990; Morgan & Condon, 1986) Докладвано е, че ОР по време на репродуктивната фаза играе важна роля срещу абортването на цветовете (Wright et al., 1983), което води до получаването на повече зърна в условия на воден дефицит (Leport et al., 1999; Moinuddin & Chopra 2004). По-добрата способност за осморегулация улеснява по-доброто транспортиране на въглехидратните резерви, натрупани преди изкласването към зърната във фазата на наливането им. (Morgan 1980; Subbarao et al., 2000). Има съобщения, че осморегулация подобрява способността на растенията да екстрахират влагата от по-дълбоките почвени слоеве (Wright & Smith, 1983). Освен добре установения ефект върху хидратацията на клетките се предполага, че осморегулацията оказва влияние и по отношение на т.нар "осмопротекция" (Rontein et al., 2002). Тази роля се свързва с функцията на клетъчните осмолити за предотвратяване на инактивацията на ензимите при висока температура и е формулирана отдавна (Paleg et al., 1981), но едва напоследък се съобщава за връзката между осморегулацията и стабилността на клетъчните мембрани при суша. (Babu et al., 2004; Riga & Vartanian, 1999).

МЕТОДИ ЗА ИЗМЕРВАНЕ НИВОТО НА ОСМОРЕГУЛАЦИЯ

Използването на този признак като критерий в селекцията по сухоустойчивост до скоро беше ограничено поради липсата на подходящи бързи методи за скрининг на голям брой генотипове, дължащо се на комплицираността и необходимостта от специализирана апаратура (осмометри, психрометри) при измерването на физиологичните показатели, отразяващи осморегулацията и добре квалифицирани технически помощници.

От прегледа на публикациите, отразяващи генотипните различия в способността за осморегулация при различни култури става ясно, че са използвани различни методи за измерване, което прави по-трудно съпоставими докладваните резултати. Най-общо обаче определянето на способността за осморегулация се основава на фундаменталната зависимост между обема на клетките и осмотичния потенциал. Въз основа на тази зависимост са разработени различни методи, като най-често използваните са: регресионният метод на Morgan (Morgan 1992, 1983), методът на Ludlow за определяне на пълния тургур (Ludlow et al., 1983) и методът на рехидратация, предложен от Blum (1989). Регресионният метод е разработен и първоначално е използван при пшеницата и се основава на линейната регресия между относителното водно съдържание (RWC) и осмотичния потенциал (ψ_s) (Morgan 1992). Измерванията трябва да се извършват многократно на равномерни интервали от време от началото на стреса, до увяхването на растенията, поради което е подходящ да се използва при изследване на неголям брой генотипове и измерванията се извършват по едно и също време.

При втория метод, осмотичната регулация (ОР) се изчислява като разлика в осмотичния потенциал при пълен тургор между стресирани и нестресирани контролни растения (Ludlow et al., 1990). При третия метод ОР се определя като разлика между стойностите на осмотичния потенциал пре стресирани растения, рехидратирани до пълен тургор и нестресирани контролни растения (Blum 1989).

Опростяването на методите за измерване на осмотичната регулация е много важно, защото гореизброените методи са доста комплицирани, осмотичния потенциал зависи от времето, от тъканите, а дори и от използваната апаратура. В тази връзка са разработени и няколко бързи косвени методи, които през последните години често се използват в селекционните програми при скрининга на голям брой генотипове (Eivazi et al., 2007, Moud et al., 2008).

Методът за измерване нарастването на колеоптила в условия на воден дефицит е разработен от Morgan (Morgan 1988) и се основава на факта, че генотиповете които имат по-добър потенциал за осморегулация са в състояние да подържат по-добър тургор и свързаните с това физиологични процеси като подържане на по-интензивно нарастване на клетките по време на воден дефицит. Установено е, че различията в регулацията на осмотичното налягане в листата на пшеницата се експресират и в поленовите зърна. Въз основа на тази закономерност е разработен метод за определяне способността на генотиповете за регулиране на осмотичното налягане на ниво полен, като за индикатор служи промяната във формата и площта на поленовите зърна, подложени на воден дефицит чрез третиране на зрелите антери за период от 48 часа с 30 и 50 % разтвор на ПЕГ (Morgan 1999a).

Установени са и още някои косвени връзки между осморегулацията и различни показатели, които могат да се използват в селекционните програми. Поради факта, че 87 % от разтворените в клетъчния сок вещества се падат на калия, измерването на неговата концентрация може да даде добра информация за нивото на осморегулация (Morgan 1992). Разтегливостта на тестото е използвана като ефективен метод за разграничаване на сортове пшеница с различно ниво на осморегулация, тъй като локусът *Per-A4*, отговорен за активността на пероксидазата и оказващ влияние върху разтегливостта на тестото е скачен с *or*-локусът (Morgan 1999b).

Всички тези методи са използване за измерване на способността за осморегулация при различни растителни видове, но публикуваните данни за сравняване на резултатите, получени от използването на различни методи в рамките на един и същ експеримент са сравнително малко. Babu et al. (1998) докладват, че по-бързия и по-евтин метод на рехидратация може успешно да замени регресионния метод на Morgan (1992). Налице са малък брой съобщения за наличие на съответствие между резултатите за осморегулацията получени чрез използвани на физиологичните методи, основаващи се на измерване на относителното водно съдържание и осмотичния потенциал и косвените методи в експерименти с едни и същи генотипове (Moud & Yamagishi, 2005). Нашите изследвания пък показват съответствие на резултатите при сравняване на косвените методи за измерване на дължината на колеоптила и формата и площта на поленовите зърна в условия на воден дефицит при два сорта твърда пшеница, различаващи се по способността си за осморегулация (Заключителен отчет проект СС-1515, МОН). През последните години е разработен и индекс, който позволява сравняване на способността за осморегулация между отделните видове и експерименти (Turner 2006).

Регулирането на осмотичното налягане (ОА) зависи до голяма степен от интензивността на стреса т.е от нивото на обезводняване и от времето за което настъпва обезводняването. При бързо настъпващо обезводняване механизмът за осморегулация не се включва в стресовия отговор на растенията. Тези съображения трябва да се имат предвид при измерване на осморегулацията и сравняването между генотиповете (Blum 1997).

ГЕНОТИПНИ РАЗЛИЧИЯ В СПОСОБНОСТТА ЗА ОСМОРЕГУЛАЦИЯ И ВРЪЗКА С ДОБИВА

Генотипни различия в способността за осморегулация са докладвани досега при различни култури. Съществено вариране по този признак е наблюдавано при пшеницата (Blum et al., 1999; Morgan 1983), слънчоглед (Jamaux et al., 1997), сорго (Ackerson et al., 1980), просо (Henson et al., 1982), ориз (Babu et al., 1999; Lilley et al., 1996) и ечемик (Blum 1989). Нашите изследвания показват наличие на генотипни различия и при твърда пшеница и някои други културни и диви видове от сем. Житни (Божанова и др., 2005, 2006). В противовес на това в някои по-стари изследвания при ориз (Culter et al., 1980) и сорго (Turner et al., 1978) не се установява съществено вариране между изследваните сортове по този признак. А в други публикации пък се посочва, че фенотипната експресия на осморегулацията не е стабилна и варира в зависимост от годината (Turner et al., 2007). Според авторите това показва, че различията в ОР са свързани с пасивната разлика между генотиповете в способността да акумулират и използват разтворимите вещества, отколкото на активната им акумулация по време на воден дефицит

Тези противоречиви резултати най-вероятно се дължат на ограничен брой използвани генотипове или неподходящи условия за симулиране на стрес в пред вид факта, че при бързо настъпващо обезводняване механизмът за осморегулация не се включва в стресовия отговор на растенията. Според нас наличието на значително вариране между генотиповете в рамките на един и същи вид по отношение на признака осморегулация показва пригодността му за използване като селекционен критерий в селекционните програми по сухоустойчивост, независимо от това дали различното ниво на осморегулация се дължи на вече натрупаните вещества в клетъчния сок или акумулирането им по време на стреса.

Паради факта, че чрез регулацията на осмотичното налягане се поддържа тургура и зависимите от тургура физиологични процеси в т.ч и растежа се счита, че по-високия потенциал за осморегулация е свързан с по-висок добив при отглеждане на растенията в условия на воден дефицит (Ali et al., 1999; Blum 1989; Morgan 1992). Нарастващ брой публикации потвърждават връзката между високо ниво на осмотичната регулация и стабилен добив или обща биомаса в условия на засушаване при различни сортове от различни стопански важни видове. При пшеницата се съобщава, че генотипове с по-висока осморегулация имат с 50 % по-висок добив в условия на воден дефицит в сравнение с тези с по-ниска способност за осморегулация (Morgan & Condon, 1986). Установена е и добре доказана корелация между осморегулацията и индекса чувствителност към суша (DSI), показваща важната роля на осморегулацията за стабилността на добива в условия на воден дефицит (Moinuddin et al., 2005). Santamaria et al. (1990) съобщават, че при просото по-високия добив при генотипове с по-добра осморегулация при засушаване по време на изкласяване се е дължал най-вече на по-високия жътвен индекс и по-големия брой зърна в един клас. В наше изследване с твърда пшеница установихме, че в години със силно засушаване генотипове с по-добра способност за регулиране на осмотичното налягане, намаляват в по-малка степен масата на 1000 зърна в сравнение с генотиповете с по-слаба осморегулация (Божанова и др., 2005). В изследвания със слънчоглед (Chimenti et al., 2002) е установено, че растенията от генотиповете с по-добра осморегулация екстрахират по-голямо количество вода по време на обезводняване (117 mm vs. 63 mm), имат по-голяма биомаса и жътвен индекс по време на физиологичната зрялост и с около 30 % по-висок добив на семена, дължащ се по-скоро на по-голямата маса на семената, отколкото на по-големия брой. Същевременно в контролния вариант, при който растенията са били напоявани не е отбелязана разлика в тези показатели между генотиповете с различна способност за осморегулация. Трябва да се има предвид, че зависимостта между ОР и добива зависи от интензивността на водния

дефицит (Moinuddin et al., 2005). Колкото по-интензивен е стресът, толкова по-силна е връзката между двата признака.

Според Blum (2005) обаче, въпреки натрупаните факти за взаимовръзка между по-добрата способност за осморегулация и по-високия добив в условия на воден дефицит, е трудно да бъде определена количествено осмопротективната функция във връзка с продуктивността на растенията по време на стрес. Налице са и публикации за липса на корелация между осморегулацията и добива (Lepoint et al. 1999, Serraj & Sinclair, 2002; Turner et al., 2007). Някои от авторите, дори изказват съмнения по отношение на възможността да се селектират сухоустойчиви и с висок добив сортове при използване на способността за осморегулация като селекционен критерий. Нещо повече Serraj & Sinclair, 2002 считат, че всички докладвани резултати, показващи положителна връзка между двата признака са получени в условия на изключително голям воден дефицит, довеждащ до много нисък добив или при по-специални сценарии на засушаване. При такива условия липсата на вода застрашава оцеляването на растенията, а добивите са толкова ниски, че нямат стопанско значение.

УНАСЛЕДЯВАНЕ НА СПОСОБНОСТТА ЗА ОСМОРЕГУЛАЦИЯ И МОЛЕКУЛЯРНО КАРТИРАНЕ

Въпреки тези противоречия, все пак преобладаващото мнение за връзка между способността за осморегулация и добивността в условия на воден дефицит е обусловило интереса към изследвания за установяване на унаследяването на този признак, с цел по-нататъшното подобряване по генетичен път. Идентифицирани са локуси, контролиращи осмотичната регулация при различни стопански важни видове. Установено е, че сравнително малък брой локуси отговарят за голяма част от варирането по този признак (Lilley et al., 1996 ; Morgan, 1991; Teulat et al., 1998). Изследванията в F_2 популацията, получена от кръстосването на два генотипа пшеница с контрастна способност за осморегулация и от серия от заместени линии с цел хромозомно локализиране свидетелстват за единичен рецесивен ген *or*, отговорен за добра осморегулация разположен в 7А хромозома (Morgan, 1983, Morgan, 1991). Galiba et al. (1992) докладват, че вероятните гени, отговорни за осморегулацията при пшеницата са локализирани в хромозомите 5А и 5D, основавайки се на акумулирането на свободни аминокиселини, в резултат на обезводняването в серия от заместени линии. Според Zhang et al. (1999), обаче разминаването в информацията за локализацията на гените за осморегулацията при пшеницата се дължи на факта, че двете изследователски групи са идентифицирали различни гени, отговорни за различни процеси имащи отношение към осморегулацията..

При ориза също е установено, че един основен локус е свързан със способността за осморегулация и се предполага, че е хомеоложен на единичния рецесивен ген *or*, идентифициран при пшеницата. Предполагаемият локус, заедно с още два от локусите, свързани с толерантността към обезводняване се намират близо до хромозомните участъци, в които са установени гени свързани с морфологията на корените (Lilley et al., 1996). При просото са идентифицирани два независими главни гена във връзка със способността за осморегулация. Предполага се, че още няколко гени с малък ефект оказват влияние върху експресията на осморегулацията, поради наличието на два предполагаеми сегреганта с по-висока осморегулация в сравнение с родителите, участващи в кръстоската за изучаване на унаследяването на този признак (Basnayake et al., 1995). При ечемика се докладва за гени с плейотропен ефект върху осморегулацията, които са свързани и със синтеза на глицинбетанин, който е един от основните растителни осмолити (Grumet & Hanson, 1986).

Възможността да бъде повишена продуктивността на растенията чрез генетично подобряване на способността за осморегулация обяснява нарастващия интерес да

бъдат идентифицирани ДНК-маркери, свързани с по-висок потенциал за осморегулация при стопански важни видове, в т.ч. и при пшеницата. Първите молекулярни изследвания за определяне на локуси на гени (QTL) за осморегулация за ОР са извършени при ориза в разпадаща популация от рекомбинантно имбридни линии с помощта на голям брой RFLP маркери. Установен е един основен локус в RG1 участъка от осма хромозома. По-късно Morgan & Tan (1996), базирайки се на предварителния си опит от конвенционалните генетични изследвания на този признак и RFLP маркери, определят вероятното място на гена за осморегулация *or* върху късото рамо на 7А хромозома, отстоящ на 13 cM от центромерата на RFLP локуса Xpsr119. В наше изследване с помощта на микросателитни маркери беше установен отчетлив полиморфизъм в локуси на 7А- хромозомата между три различни групи генотипове твърда пшеница, участващи в диалелна кръстоска, включваща група с много добра способност за осморегулация “А-233”, “Белослава”, със средна – “Възход” и със слаба – “Гергана” и “6189” (Заключителен отчет проект СС-1515, МОН, 2009). Тези данни подкрепят горепосочената при обикновената пшеница локализация на гена за осморегулация, но установения полиморфизъм в повече от един локус по-скоро свидетелства за необходимост от по-прецизно картиране на гена/ите за ОР с помощта на молекулярни маркери и подходящи сегрегирани популации.

Teulat et al. (1998) установяват няколко локуса отговорни за ОР и признаци свързани с ОР при ечемика. Но според Zhang et al., 1999 това противоречие в броя на локусите и локализацията им в молекулярните изследвания при различни житни видове се дължи по-скоро на методични неточности при подбора на родителите, които участват в сегрегиращите популации и методите за измерване на ОР.

Изследванията във връзка с идентифицирането на гени, свързани с осморегулацията е необходимо да бъдат задълбочени с цел получаване на по-детайлна информация за локализацията на локусите във вече дефинираните региони, като се предлага и стратегия базирана на използване на картираща популация, състояща се от изогенни линии, получени чрез бекросиране с рекурентните родители (Zhang et al., 1999). Според авторите, предлагащи тази стратегия чрез създаването на близки изогенни линии и включването им в класически генетични и молекулярни изследвания може да се установи до каква степен ОР определя сухоустойчивостта и добива, тъй като всички линии от тези популации ще са с еднакъв генотип, освен по специфичните локуси свързани с ОР. До този момент, обаче докладвани резултати от използването на тази стратегия са малко (Robin, 2003).

ГЕНЕТИЧНО ПОДОБРЯВАНЕ

Натрупаната през последните години информация за осморегулацията като основен клетъчен механизъм за подържане на растежа и продуктивността на растенията обуславя нарастващия интерес към използване на този признак за подобряване на сухоустойчивостта при голям брой растителни видове, в т.ч. и при пшеницата. Съвременните подходи за създаване на толеранти към засушаване генотипове чрез манипулиране на способността за ОР са генетичното инженерство и конвенционалната селекция.

Генетичното инженерство на този етап включва получаване на трансгенни растения чрез включване в генома им на гени, кодиращи биосинтеза на различни осмолити – пролин, глицин бетанин, манитол и др (Jinyou et al., 2004). Многостранните функции на осмопротектантите ги превръщат в желано средство за генетичното инженерство при подобряване на толерантността към засушаване. Очаква се комбинативния подход при който се манипулира повече от един осмопротектант и се използват стресово индуцирани промотори да увеличи ефективността на генетичното инженерство при подобряването на осморегулацията (Cushman 2001). Получени са трансгенни растения пшеница, съдържащи гена *mtD*, отговорен за синтеза на манитол,

които са по-толерантни към засушаване в сравнение с изходния сорт и имат по-добра способност за осморегулация (Zhang et al., 1999). Въпреки повишаващата се активност за получаване на трансформирани растения с нарастване на броя на идентифицираните гени, кодиращи биосинтеза на осмолити все още използването на тези подходи е в началото си и са необходими значителни допълнителни изследвания, проучващи експресията на инкорпорираните гени при полски условия за преценка на реалния им принос по отношение на толерантността към засушаване.

И докато биотехнологичния подход за подобряване на способността за осморегулация е все още в началния си етап, то чрез прилагане на конвенционален подход за отбор на генотипове с по-добра способност за осморегулация вече е постигнат бърз селекционен напредък при подобряването на сухоустойчивостта при обикновената пшеница. На базата на идентифицирания от Morgan (1991) *or*-ген за добра осморегулация и косвения метод за бърза оценка на генотиповете по отношение на ОР на ниво Polen (Morgan 1999) е разработена т.нар. "осморегулационна генна технология" (Farguhalson et al., 2004), с помощта на която рецесивният ген *or* свързан с акумуляцията на калий се прехвърля в селекционни линии с ценни агрономически признаци. В осемгодишни полски опити проведени в 39 пункта на Австралия с бекросни линии (идентифициране на осморегулацията на ниво Polen) и с по-напреднали селекционни линии (идентифициране на осморегулацията чрез показателите относително водно съдържание и осмотичен потенциал в листата) с или без *or*-гена е установено, че по-висок добив са показвали линиите, носители на гена за осморегулация в по-сухи години и условия (Morgan 2000). Потвърден е и ефективността на косвения метод за отбор на ниво Polen на генотипове с добра осморегулация. Налице е обаче негативна корелация между *or*-гена и гена за пероксидазна активност в ендосперма, редуциращ разтегливостта на тестото и трябва да се има предвид, че включването му в селекционните програми може до влоши хлебопекарните качества на генотиповете (Morgan 1999). В резултат на прилагане на гореспоменатата технология в Австралия през 2000 г. е признат и регистриран сорта обикновена пшеница "**Mulgara**", носител на *or*-гена (Richards, 2004).

През последните години се появиха още публикации, в които се отбелязва, че в условия на стрес идентифицирането на *or* алела и отбора по него въз основа на косвените методи може да се използва успешно в селекционните програми по сухоустойчивост при пшеницата (Moud and Yamagishi, 2005, Eivazi et al., 2007, Moud and Maghsoudi, 2008).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Общовалидността на осмотичната регулация като основен механизъм за поддръжане на растежа и продуктивността, създаването на косвени методи за бърз скрининг на голям брой генотипове, идентифицирането на един от гените *or*, отговорен за високо ниво на ОР и некомплицирания начин на унаследяването му са обнадеждаващи за приложимостта на този признак в селекционните програми по сухоустойчивост. Това се отнася в най-голяма степен за пшеницата, при която са налице нарастващ брой публикации докладващи връзката между високо ниво на осмотичната регулация и стабилен добив в условия на засушаване. Приемайки, че осмотичната регулация е само част от адаптивната стратегия на растенията и някои съобщения за липса на корелация между осморегулацията и добива, е необходимо да се установи дали при сценариите на засушаване в България, генотиповете с по-добра осморегулация са и по-високодобивни. BY Water limitation

Част от посочените в обзора изследвания на авторите са финансирани от МОН - Национален фонд "Научни изследвания" по проект СС-1515.

ЛИТЕРАТУРА

- Божанова, В., Д. Дечев, Ш. Янев. 2005.** Толерантност към осмотичен стрес на генотипове твърда пшеница, *Field Crops Studies*, Vol.II, № 1, 31-37
- Божанова, В., Д. Дечев, Ш. Янев, 2006.** Изследвания върху сухоустойчивостта при твърдата пшеница, *Почвознание, Агрехимия и Екология*, № 4, 40-46
- Заклучителен отчет**, 2009, проект СС-1515, МОН
- Ackerson, R.C., Krieg, D.R., Sung, F.J., 1980.** Leaf conductance and osmoregulation of field grown sorghum genotypes. *Crop Sci.* 2:10–14.
- Acevedo, E. and Fereres, E., 1993.** Resistance to abiotic stress. *In* M.D. Hayward, N.O. Bosemark and I. Romagoza, eds. *Plant breeding principles and prospects*, p. 406-421. London, Chapman & Hall.
- Ali M, Jensen CR, Mogensen VO, Andersen MN, Henson IE.** 1999, Root signalling and osmotic adjustment during intermittent soil drying sustain grain yield of field grown wheat. *Field Crops Research*, **62**, 35–52.
- Babu, R.C., Pathan M.S., Blum A., Nguyen T.N., 1998.** Comparison of measurement methods of osmotic adjustment in different rice cultivars, *Crop Science*, 39, 150-158
- Babu R, Zhang JX, Blum A, Ho D., Wu R, Nguyen HT, 2004.** HVA1, aLEA gene from barley confers dehydration tolerance in transgenic rice (*Oryza sativa* L.) via cell membrane protection. *Plant Science* **166**, 855–862.
- Basnayake J., M. Cooper, M. M. Ludlow, R. G. Henzell and P. J. Snell, 1995.** Inheritance of osmotic adjustment to water stress in three grain sorghum crosses, *Theoretical and Applied Genetics*, Vol. 90, N 5, 675-682
- Blum, A. 1988.** *Plant breeding for stress environments*. Boca Raton, FL, USA, CRC Press. 223 pp.
- Blum, A., 1989.** Osmotic adjustment and growth of barley genotypes under drought stress, *Crop Science* 29, 230 – 233
- Blum, A., 1997.** Crop responses to drought and the interpretation of adaptation. *In: Drought Tolerance in Higher Plants*, Belhassen, E. (ed.). Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp. 57-70.
- Blum, A., Zhang, J. and H.T.Nguyen, 1999.** Consistent differences among wheat cultivars in osmotic adjustment and their relationship to plant production, *Field Crop. Res.*, 64, 287-291
- Blum, A. 2004.** The physiological foundation of crop breeding for stress environments. *In Proc. World Rice Research Conf., Tsukuba, Japan, November 2004*, pp. 456–458. Manila, The Philippines: International Rice Research Institute.
- Blum, A. 2005.** Drought resistance, water-use efficiency, and yield potential—are they compatible, dissonant, or mutually exclusive?, *Australian Journal of Agricultural Research*, 56, 1159–1168
- Ceccarelli, S., Acevedo, E. and Grando, S., 1991.** Breeding for yield stability in unpredictable environments: Single traits, interaction between traits, and architecture of genotypes. *Euphytica*, 56: 169-185
- Climenti, CA, Pearson J, Hall AJ, 2002.** Osmotic adjustment and yield maintenance under drought in sunflower. *Field Crops Research* **75**, 235–246. doi: 10.1016/S0378-4290(02)00029-1
- Cushman, J., 2001.** Osmoregulation in Plants: Implications for Agriculture, *American Zoologist*, 41(4):758-769
- Cutler, J.M., K.W. Shahan, and P.L. Steponkus. 1980.** Dynamics of osmotic adjustment in rice, *Crop Sci.*, 20:310–314.
- Eivazi, A., Talat, F., Saeed, A., H. Ranjii, 2007.** Selection for osmoregulation gene to improve grain yield of wheat genotypes under osmotic stresses, *Pak. Journal of Biol. Sciences*, 10, 3703-3707

- Galiba, G., L. Simon-Sarkadi, G. Kocsy, A. Salgo and J. Sutka, 1992.** Possible chromosomal location of genes determining the osmoregulation of wheat, *Theoretical and Applied Genetics*, Volume 85, Number 4, 415-418
- Grumet, R., and A.D. Hanson, 1986.** Genetic evidence for an osmoregulatory function of glycinebetaine accumulation in barley. *Aust. J. Plant Physiol.* 13:353–364.
- Henson, I.E., 1982.** Osmotic adjustment to water stress in pearl millet (*Pennisetum americanum* (L.) Leeke) in a controlled environment. *Journal of Experimental Botany* 33, 78-87.
- Jamaux I, Steinmetz A, Belhassen E, 1997.** Looking for molecular and physiological markers of osmotic adjustment in sunflower, *New Phytol*, 137, 117–127
- Jinyou, D., Xiaoyang C., Wei L., Qiong G., 2004.** Osmoregulation mechanism of drought stress and genetic engineering strategies for improving drought resistance in plants, *Forestry Studies in China*, Volume 6, Number 2, June 2004, 56-62
- Leport, L., N.C. Turner, R.J. French, M.D. Barr, R. Duda, S.L. Davies, D. Tennant, and K.H.M. Siddique, 1999.** Physiological response of chickpea genotypes to terminal drought in a Mediterranean type environment. *Eur. J. Agron.* 11:279–291
- Levitt, J., 1980.** Responses of plant to environmental stresses. London: Academic Press. 297 p.
- Lilley J.M. and M.M. Ludlow, 1996.** Expression of osmotic adjustment and dehydration tolerance in diverse rice lines, *Field Crops Research*, Volume 48, Issues 2-3, Pages 185-197
- Lilley J.M., M.M. Ludlow, S.R. McCouch and J.C. O'Toole, 1996.** Locating QTL for osmotic adjustment and dehydration tolerance in rice, *Journal of Experimental Botany*, Vol. 47, No. 302, pp. 1427
- Ludlow M.M., Chu A., Clements, R., Kerlake R., 1983.** Adaptation of species of Centrosema to water stress, *Australian Journal of Plant Physiology*, 10, 119-130
- Ludlow, M.M., and R.C. Muchow, 1990.** A critical evaluation of the traits for improving crop yield in water limited environments. *Adv. Agron.* 43:107–153.
- Moinuddin, and Renu Khanna-Chopra. 2004.** Osmotic adjustment in chickpea in relation to seed yield and yield parameters. *Crop Sci.* 44:449–455.
- Moinuddin, R. A. Fischer, K. D. Sayre and M. P. Reynolds, 2005.** Osmotic Adjustment in Wheat in Relation to Grain Yield under Water Deficit Environments, *Agron J* 97:1062-1071
- Morgan, J.M., 1980.** Osmotic adjustment in the spikes and leaves of wheat. *J. Exp. Bot.* 31:655–665.
- Morgan, J.M., 1983.** Osmoregulation as a selection criterion for drought tolerance in wheat, *Australian Journal of Agricultural Research*, 34, 607-614
- Morgan, J.M., 1984.** Osmoregulation and water stress in higher plants. *Annu Rev Plant Physiol* 35: 299–319
- Morgan, J.M. and A.G. Condon, 1986.** Water use, grain yield and osmoregulation in wheat. *Aust. J. Plant Physiol.* 13:523–532.
- Morgan, J.M., 1988.** The use of coleoptile responses to water stress to differentiate wheat genotypes for osmoregulation, growth and yield. *Ann. Bot.*, 62: 193–8
- Morgan, J.M., 1991.** A gene controlling differences in osmoregulation in wheat. *Australian Journal of Plant Physiology* 18, 249-57
- Morgan, J.M., 1992.** Osmotic components and properties associated with genotypic differences in osmoregulation in wheat. *Australian J. Pl. Physiol.*, 19: 67–76
- Morgan, J.M., 1995.** Growth and yield of wheat lines with differing osmoregulative capacity at high soil water deficit in seasons of varying evaporative demand, *Field Crops Research*, Volume 40, Issue 3, March 1995, Pages 143-152
- Morgan, J.M. and Tan M.K., 1996.** Chromosomal location of a wheat osmoregulation gene using RFLP analysis. *of Plant Physiology* 23, 803-806.
- Morgan, J.M., 1988.** The use of coleoptile responses to water stress to differentiate wheat

- genotypes for osmoregulation, growth and yield. *Ann. Bot.*, 62: 193–8
- Morgan, J.M., 1991.** A gene controlling differences in osmoregulation in wheat. *Australian Journal of Plant Physiology* 18, 249-57
- Morgan, J.M., 1992.** Osmotic components and properties associated with genotypic differences in osmoregulation in wheat. *Australian J. Pl.Physiol.*, 19: 67–76
- Morgan, J.M., 1995.** Growth and yield of wheat lines with differing osmoregulative capacity at high soil water deficit in seasons of varying evaporative demand, *Field Crops Research*, Volume 40, Issue 3, March 1995, Pages 143-152
- Morgan, J.M., 1999a.** Pollen grain expression of a gene controlling differences in osmoregulation in wheat leaves: a simple breeding method. *Australian J. Agric. Res.*, 50: 953–62
- Morgan, J.M., 1999b.** Changes in rheological properties and endosperm peroxidase activity associated with breeding for an osmoregulation gene in bread wheat. *Australian Journal of Agricultural Research* 50, 963-968.
- Morgan, J.M., 2000.** Increases in grain yield of wheat by breeding for an osmoregulation gene: Relationship to water supply and evaporative demand. *Australian Journal of Agricultural Research* 51, 971-978.
- Moud, A. and K. Maghsoudi, 2008.** Application of coleoptile growth response method to differentiate osmoregulation capability of wheat cultivars, *Research Journal of Agronomy*, 2, 36-43
- Moud, A. and T. Yamagishi, 2005.** Application of Projected Pollen Area Response to Drought Stress to Determine Osmoregulation Capability of Different Wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars, *Int. J. Agri. Biol.*, Vol. 7, No. 4, 604-805
- Paleg LG, Douglas TJ, Van Daal A, Keech DB, 1981.** Proline and betaine protect enzymes against heat inactivation. *Austr.Journal of Plant Physiology* 8, 107–114.
- Richards, R.A., 2004.** Physiological traits used in the breeding of new cultivars for water-scarce environments, *Proceedings of the 4th International Crop Science Congress*, Brisbane, Australia, 26 Sep – 1 Oct 2004, 1-12, www.cropscience.org.au
- Riga, P. and Vartanian, N., 1999.** Sequential expression of adaptive mechanisms is responsible for drought resistance in tobacco. *Australian Journal of Plant Physiology* 26, 211–220.
- Robin, S., Pathan M.S., Courtois B., Lafitte R.H., Carandang S., Lanceras S., Amante M., Nguyen H.T., Li Z.K., 2003.** Mapping osmotic adjustment in an advanced back-cross inbred population of rice, *Theoretical and applied genetics*, 107: 1288-1296.
- Rontein D, Basset G, Hanson AD, 2002. **Metabolic engineering of osmoprotectant accumulation in plants.** *Metab Eng* 4: 49–56
- Sánchez, E. F. de Andrés, J. L. Tenorio and L. Ayerbe, 2004.** Growth of epicotyls, turgor maintenance and osmotic adjustment in pea plants (*Pisum sativum* L.) subjected to water stress, *Field Crops Research*, Volume 86, Issue 1, Pages 81-90
- Santamaria, J.M., M.M. Ludlow, and S. Fukai, 1990.** Contribution of osmotic adjustment to grain yield in *Sorghum bicolor* under water limited conditions I. Water stress before anthesis, *Aust. J. Agric. Res.* 41:51–65
- Serraj, R and Sinclair TR., 2002.** Osmolyte accumulation: can it really help increase crop yield under drought conditions? *Plant, Cell and Environment* 25, 333–341.
- Subbarao, G.V., N.H. Nam, Y.S. Chauhan, and C. Johansen, 2000.** Osmotic adjustment, water relations and carbohydrate remobilization in pigeonpea under water deficits. *J. Plant Physiol.* 157:651–659.
- Teulat B, This D, Khairallah M, Borries C, Ragot C, Sourdille P, Leroy P, Monneveux P, Charrier A., 1998.** Several QTLs involved in osmotic-adjustment trait variation in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Theor Appl Genet* 96: 688–698.
- Turner N.C, Begg J.E., and Tonnett M.L., 1978.** Osmotic adjustment of sorghum and sunflower crops in response to water deficits and its influence on the water potential at which stomata close. *Aust. J. Plant Physiol.* 5: 597-608.

- Turner, D., 2006.** An index of osmotic adjustment that allows comparison of its magnitude across species and experiments, *Physiologia Plantarum*, Vol.127, 3, 478-482
- Turner, N., Shahal A., Berger, J., Chaturvedi, S., French, R., Ludwig, C., Mannur, D., Singh S., Yadava, H., 2007.** Osmotic adjustment in chickpea (*Cicer arietinum L.*) results in no yield benefit under terminal drought, *Journal of Experimental Botany*, Vol. 58, No. 2, pp. 187–194,
- Wright GC, Smith RCG, 1983.** Differences between two sorghum genotypes in adaptation to drought stress. II. Root water uptake and water use. *Australian Journal of Agricultural Research* **34**, 627–636.
- Zhang J, Nguyen HT, Blum A, 1999.** Genetic analysis of osmotic adjustment in crop plants. *J Exp Bot* 50: 292–302.
- Zhang, H. G. Zheng, A. Aarti, G. Pantuwan, T. T. Nguyen, J. N. Tripathy, A. K. Sarial, S. Robin, R. C. Babu, Bay D. Nguyen, S. Sarkarung, A. Blum and H. T. Nguyen, 2001.** Locating genomic regions associated with components of drought resistance in rice: comparative mapping within and across species, *Theoretical and Applied Genetics*, Volume 103, Number 1, 19-29
- Zhu, J.K., Hasegawa, P.M., and Bressan, R.A., 1997.** Molecular aspects of osmotic stress in plants. *CRC Crit. Rev. Plant Sci.* **16**, 253–277.