

ارزیابی نقش تنظیم اسمزی دانه گرده، محتوای آب نسبی و تراکم روزنه در تحمل خشکی

در ۴۰ رقم گندم نان (*Triticum aestivum* L.)

Contribution of pollen grain osmoregulation, relative water content and stomata density on drought tolerance in 40 bread wheat (*Triticuma estivum* L.) cultivars

مریم نظری^۱ و روح اله عبدالشاهی^۲

چکیده

نظری، م. و ر. عبدالشاهی. ۱۳۹۲. ارزیابی نقش تنظیم اسمزی دانه گرده، محتوای آب نسبی و تراکم روزنه در تحمل خشکی در ۴۰ رقم گندم نان (*Triticum aestivum* L.). مجله علوم زراعی ایران. ۱۵(۳): ۲۲۲-۲۳۳.

به منظور بررسی تأثیر توانایی تنظیم اسمزی دانه گرده، محتوای نسبی آب برگ و تراکم روزنه در واحد سطح برگ پرچم بر تحمل خشکی ۴۰ رقم گندم نان و ارتباط آن‌ها با عملکرد دانه، دو آزمایش مجزا در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در سال ۱۳۸۹ در مزرعه پژوهشی دانشگاه شهید باهنر کرمان اجرا شد. توانایی تنظیم اسمزی در دانه گرده با استفاده از نسبت مساحت تصویر دانه‌های گرده در شرایط تنش خشکی (محلول ۵۰ درصد، ۱۲- مگاپاسکال) به شرایط بدون تنش (محلول ۳۰ درصد، ۲- مگاپاسکال) پلی اتیلن گلایکول ۶۰۰۰ اندازه‌گیری شد. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر تنش خشکی و رقم بر عملکرد دانه و صفات فیزیولوژیک ارقام گندم معنی‌دار بود. تنش خشکی باعث کاهش ۳۳ درصدی عملکرد دانه، کاهش ۱۵/۴ درصدی محتوای آب نسبی برگ و افزایش ۲۱ درصدی تراکم روزنه در واحد سطح برگ شد. توانایی تنظیم اسمزی دانه گرده در ارقام آذر ۲، دز، آزادی، هامون، کرج ۳، سیلان، امید و تجن بیشتر از یک بود و به عنوان ارقام دارای توانایی اسمزی شناخته شدند. تنظیم اسمزی دانه گرده همبستگی بالایی با عملکرد دانه در شرایط تنش داشته ($r = 0.41^{**}$) از این رو به طور مستقیم باعث افزایش عملکرد در شرایط تنش خشکی شد. جهت ارزیابی تحمل خشکی ارقام گندم مورد بررسی از شاخص تحمل تنش (STI) استفاده شد. بر اساس این شاخص، رقم آذر ۲ مقاوم‌ترین رقم به خشکی شناسایی شد. این رقم دارای بیشترین توانایی تنظیم اسمزی دانه گرده نیز بود، بنابراین به نظر می‌رسد که یکی از سازوکارهای تحمل به خشکی در این رقم، توانایی تنظیم اسمزی دانه گرده است.

واژه‌های کلیدی: تراکم روزنه، تنش خشکی، شاخص تحمل تنش، گندم نان و صفات فیزیولوژیک.

مقدمه

شاخص‌های فیزیولوژیک مقاومت به خشکی، از معیارهای مناسب برای گزینش ژنوتیپ‌های متحمل در جمعیت‌های بزرگ گیاهی محسوب می‌شوند (Winter *et al.*, 1988). تنش خشکی باعث کاهش پتانسیل آب خاک شده و در چنین شرایطی گیاه به منظور حفظ و ادامه جذب آب می‌تواند به تنظیم اسمزی اقدام کند. تنظیم اسمزی یکی از مهم‌ترین سازوکارهای تحمل و سازگاری سلول در مواجهه با تنش خشکی است و تحت تأثیر اثرات افزایشی و غیرافزایشی ژن‌ها قرار دارد (Bajji *et al.*, 2001; Bozhanova and Dechev, 2010). تنظیم اسمزی، بر اثر کاهش پتانسیل اسمزی از طریق تجمع املاح در سلول‌های گیاهی حاصل شده و با حفظ فشار آماس سلول‌ها، به توسعه سلولی و رشد گیاه در شرایط تنش کمک می‌کند (Rascio *et al.*, 1994). صفت تنظیم اسمزی در برگ پرچم و دانه گرده می‌تواند به عنوان یک شاخص در برنامه‌های به نژادی گندم برای افزایش تحمل به خشکی مورد استفاده قرار گیرد (Delpere *et al.*, 2003; Maghsoudi Moud and Yamagishi, 2005). از آنجا که یک نسخه از DNA بوته مادری در سلول‌های دانه گرده وجود دارد، بنابراین هرگاه دانه‌های گرده در معرض محلول تنش‌زایی نظیر پلی اتیلن گلاکول قرار گیرند، ژن‌های مربوط به تنظیم اسمزی بیان شده و صفات مربوط به آن‌ها بروز می‌نماید (Morgan, 1991; Morgan, 1999)، بنابراین می‌توان از دانه گرده برای تشخیص توانایی تنظیم اسمزی در گیاهان استفاده کرد (Morgan, 1999; Bozhanova and Dechev, 2010). گزارش شده است که تنظیم اسمزی رابطه مثبت با عملکرد دانه داشته و عملکرد دانه ارقام دارای توانایی تنظیم اسمزی در شرایط خشکی بیشتر از ارقام فاقد توانایی اسمزی است (Morgan, 1988; Maghsoudi and Maghsoudi Moud, 2008).

محتوای آب نسبی برگ (RWC) شاخص مهمی برای تعیین وضعیت آب گیاه محسوب می‌شود و می‌توان از این صفت به عنوان معیار انتخاب در برنامه‌های اصلاحی استفاده نمود (Lugojan and Ciulca, 2011; Ganji Arjenaki *et al.*, 2012). با افزایش میزان تنش خشکی در گندم، محتوای آب نسبی برگ نیز کاهش می‌یابد (Ganji Arjenaki *et al.*, 2012). معمولاً ارقام متحمل به تنش دارای محتوای آب نسبی بالاتری در شرایط تنش خشکی هستند (Shonfeld *et al.*, 1988). سیدیک و همکاران (Siddique *et al.*, 2000) گزارش کردند که در طی دوره رشد گندم تحت تنش، محتوای آب نسبی از ۸۸ درصد به ۴۵ درصد کاهش پیدا کرد.

روزنه‌ها در جلوگیری از تلفات آب در گیاه، سهم زیادی دارند و کنترل کننده اصلی تبادلات گازی بین سلول‌های برگ و هوا می‌باشند. میسکین و همکاران (Miskin *et al.*, 1972) گزارش کردند که کاهش تراکم روزنه می‌تواند به افزایش مقاومت به خشکی در ارقام جو منجر شود. علی رغم اینکه تعداد روزنه در واحد سطح از ویژگی‌های یک گونه گیاهی می‌باشد، اما این صفت تحت تأثیر شرایط محیطی نیز قرار می‌گیرد (Miller, 1983).

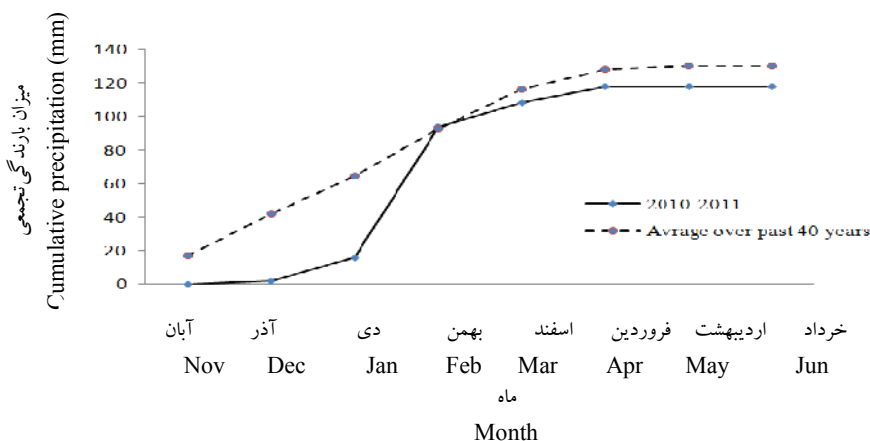
در این پژوهش به منظور ارزیابی سازوکارهای فیزیولوژیک مقاومت به خشکی در ۴۰ رقم گندم نان در شرایط آب و هوایی کرمان، صفات فیزیولوژیک توانایی تنظیم اسمزی دانه گرده، محتوای آب نسبی و فراوانی روزنه در واحد سطح برگ پرچم اندازه‌گیری شدند.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در آذر ماه ۱۳۸۹ با استفاده از ۴۰ رقم گندم نان (جدول ۱)، در زمینی با مساحت ۹۰۰ متر مربع واقع در مزرعه پژوهشی دانشگاه شهید باهنر کرمان در عرض جغرافیایی ۳۰ درجه و ۱۵ دقیقه، طول جغرافیایی

ماهانه در سال زراعی ۹۰-۱۳۸۹ و ۴۰ سال گذشته در شهر کرمان در شکل یک ارائه شده است. بافت خاک لوم شنی، دارای $pH=7/9$ و هدایت

۵۶ درجه و ۵۸ دقیقه و ارتفاع ۱۷۵۴ متر از سطح دریا اجرا شد. کرمان بر اساس اقلیم بندی کوپن، جزء مناطق خشک محسوب می شود. میانگین بارندگی تجمعی



شکل ۱- میانگین بارندگی تجمعی در سال زراعی ۹۰-۱۳۸۹ و ۴۰ سال گذشته در شهر کرمان

Fig 1. Mean of precipitation during 2010-2011 growing season and over the last 40 years in Kerman city

(Morgan, 1999) انجام شد. محلول پلی اتیلن گلیکول (۶۰۰۰) ۳۰ درصد وزنی (معادل ۲- مگاپاسکال) برای ایجاد محیط شاهد و محلول پلی اتیلن گلیکول (۶۰۰۰) ۵۰ درصد وزنی (معادل ۱۲- مگاپاسکال) برای ایجاد محیط تنش خشکی استفاده شد. با استفاده از میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی $40\times$ مجهز به دوربین عکاسی دیجیتال، از اسلایدها عکس تهیه شد و مساحت دانه‌های گرده با استفاده از نرم افزار Scion-Image بر حسب میکرون متر مربع اندازه گیری شد. از نسبت مساحت دانه گرده در محیط تنش به مساحت دانه گرده در محیط شاهد (شاخص توانایی تنظیم اسمزی) برای شناسایی ارقام دارای توانایی اسمزی استفاده شد (Maghsoudi and MaghsoudiMoud, 2008). محتوای آب نسبی برگ پرچم (RWC) برای محیط شاهد و تنش در دو مرحله (اواسط و اواخر سنبله دهی) با فاصله زمانی ۱۰ روز اندازه گیری شد (Shonfeld *et al.*, 1988). برای اندازه گیری فراوانی روزنه در واحد سطح روی برگ پرچم، از هر کرت آزمایشی یک برگ پرچم به صورت تصادفی انتخاب

الکتریکی $2/11$ دسی زمینس بر متر در عمق صفر تا ۳۰ سانتی متر خاک بود. این آزمایش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی، در دو شرایط بدون تنش (شاهد) و تنش خشکی هر کدام در سه تکرار اجرا شد. دو محیط شاهد و تنش با استفاده از پشته با فاصله ۱۰ متر از یکدیگر جدا شدند. ابعاد هر کرت 120×175 سانتی متر، شامل ۶ ردیف با فواصل ۲۵ سانتی متر به طول ۱۲۰ سانتی متر و تراکم ۱۱۴ بوته در متر مربع در نظر گرفته شد. آبیاری از هنگام کاشت تا مرحله ۳ برگی برای هر دو محیط شاهد و خشکی به صورت یکسان، ولی پس از آن منبع تامین رطوبت محیط تنش صرفاً بر اساس نزولات آسمانی بود و آبیاری محیط شاهد بر اساس شرایط آب و هوایی منطقه و نیاز ظاهری گیاه (هر ۱۰ روز یک مرتبه) تا پایان دوره رشد انجام شد.

به منظور اندازه گیری صفت تنظیم اسمزی دانه گرده، در زمان گرده افشانی از هر ژنوتیپ در هر کرت بدون تنش دو اسلاید دانه گرده تهیه شد. نمونه برداری از دانه‌های گرده مطابق روش مورگان

شد. روی قسمت میانی هر برگ لاک بی رنگ زده شد و پس از خشک شدن، یک قطعه چسب نواری روی قسمت لاک زده قرار داده شد تا تصویر روزنه‌ها روی تکه چسب نقش ببندد. پس از آن قطعه چسب بر روی لام قرار داده شد و با استفاده از میکروسکوپ نوری با بزرگمایی ۴۰X، تراکم روزنه در دایره دیدی که به طور تصادفی انتخاب شده بود، اندازه گیری شد (Miskinet *al.*, 1972). مساحت دایره دید در بزرگمایی ۴۰X با استفاده از لام مدرج، ۰/۰۲۳۴ میلی متر مربع بود.

$$STI = \frac{(y_p)(y_s)}{(\bar{y}_p)^2} \quad (1)$$

تجزیه و تحلیل های داده ها با استفاده از نرم افزار SAS (Version 9.1) و Excel و مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون دانکن انجام شد. با استفاده از آزمون بارتلت، همگنی واریانس های خطا در دو شرایط شاهد و تنش خشکی تایید شده و تجزیه مرکب برای صفات مورد بررسی انجام شد.

مبارزه با علف های هرز برای هر دو محیط به صورت دستی انجام گرفت. برداشت محصول کرت های تحت تنش در اواسط خردادماه و برای محیط شاهد در اواخر خردادماه انجام شد. در هنگام برداشت تمام گیاهان ۴ خط وسط هر کرت آزمایشی برداشت شدند. جهت شناسایی بهتر ارقام متحمل به خشکی، از شاخص تحمل خشکی (Stress Tolerance Index: STI)

جدول ۱- فهرست اسامی ارقام گندم نان مورد آزمایش

Table 1. The name of bread wheat cultivars used in this experiment

رقم	Cultivar	رقم	cultivar	رقم	cultivar	رقم	cultivar
روشن	Roshan	Mv-17	Mv-17	بزوستایا	Bzostaya	رسول	Rasool
الموت	Alamout	چمران	Chamran	سیلان	Sabalan	امید	Omid
گاسپارد	Gaspard	هرمند	Hirmand	شعله	Sholeh	مغان ۲	Moghan 2
شیراز	Shiraz	Ws-82-9	Ws-82-9	استار	Star	کرج ۳	Karaj 3
طوس	Tous	اکبری	Akbari	هامون	Hamoon	دز	Dez
بهار	Bahar	زرین	Zarin	آزادی	Azadi	سرداری	Sardari
بم	Bam	زاگرس	Zagross	مهدوی	Mahdavi	داراب ۲	Darab 2
الوند	Alvand	قدس	Ghuds	شاه پسند	Shahpasand	نیک نژاد	Niknejd
وری ناک	VeeNac	تجن	Tajan	مرو دشت	Marvdasht	کرج ۲	Karaj 2
پشتاز	Pishtaz	کویر	Kavir	آذر ۲	Azar 2	اکسلیبر	Excalibur

شرایط تنش شکل معمول خود را حفظ کنند و به حالت متورم باقی بمانند (شکل ۲. A₁ و A₂)، بنابراین در این ارقام نسبت مساحت تصویر دانه های گرده در شرایط تنش به مساحت تصویر دانه های گرده در شرایط شاهد (شاخص توانایی تنظیم اسمزی) بیشتر از یک بود، ولی در ارقام فاقد توانایی تنظیم اسمزی، دانه های

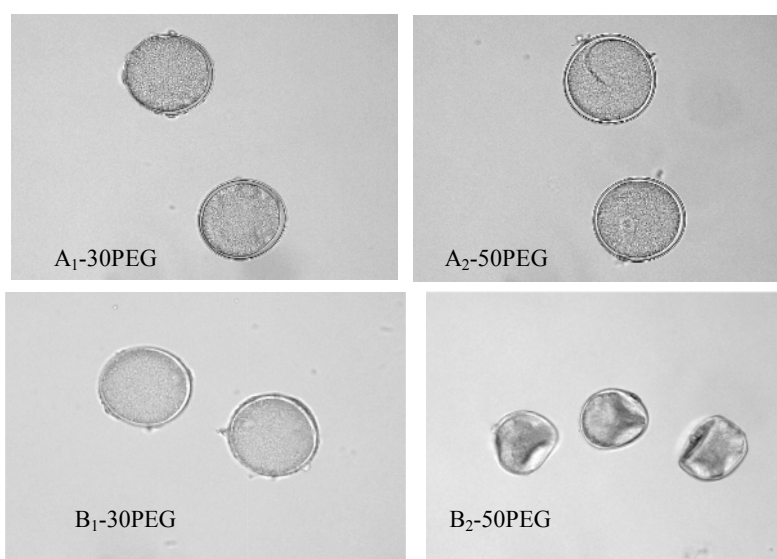
نتایج و بحث

بر اساس نتایج حاصل از آزمایش، بین ارقام گندم مورد بررسی تفاوت معنی داری از نظر تنظیم اسمزی مشاهده شد. با توجه به این که در ارقام دارای توانایی تنظیم اسمزی، انتظار می رود که دانه های گرده در

با تنش خشکی هستند. مقصودی مود و یاماگیشی (MaghsoudiMoud and Yamagishi, 2005) با بررسی توانایی تنظیم اسمزی دانه گرده شش رقم مختلف گندم، گزارش کردند که در ژنوتیپ‌های Asukaze, BR10 و سرداری، نسبت مساحت تصویر دانه گرده در محلول پلی اتیلن گلیکول ۵۰ به ۳۰ درصد، کمتر از یک و ژنوتیپ‌های BR9 و سبلان والوند بیشتر از یک بود.

نتایج تجزیه واریانس عملکرد دانه در تیمار شاهد و

گرده در شرایط تنش دچار چروکیدگی شدند (شکل ۲. B_1 و B_2) و نسبت مساحت تصویر دانه‌های گرده شرایط تنش به مساحت تصویر دانه‌های گرده شاهد کمتر از یک می‌شود (Morgan, 1999; Eivazi *et al.*, 2007). مقایسه میانگین‌ها (جدول ۲) نشان داد که تنظیم اسمزی ارقام آذر ۲، کرج ۳، دز، هامون، تجن، سبلان، آزادی و امید بیشتر از یک بود و به نظر می‌رسد که این ارقام دارای این سازوکار بوده و بقیه فاقد این سازوکار جهت مقابله



شکل ۲- دانه‌های گرده دارای توانایی تنظیم اسمزی (گندم رقم آذر ۲ A_1 -30 PEG و A_2 -50 PEG به ترتیب در محلول ۳۰ و ۵۰ درصد پلی اتیلن گلیکول) و فاقد توانایی تنظیم اسمزی (گندم رقم بهار B_1 -30 PEG و B_2 -50 PEG به ترتیب در محلول ۳۰ و ۵۰ درصد پلی اتیلن گلیکول) با بزرگ نمایی عدسی چشمی 10X و شینی 40X

Fig. 2. Pollen grain of capable for osmoregulation (Azar 2 wheat cultivar A_1 -30 PEG and A_2 -50 PEG under 30% and 50% PEG solutions respectively) and incapable for osmoregulation (Bahar wheat cultivar A_1 -30 PEG and A_2 -50 PEG under 30% and 50% PEG solutions respectively) ocular 10X, objective 40X

و بالایی ($r = 0.41^{**}$) بین توانایی تنظیم اسمزی (نسبت مساحت دانه گرده در شرایط تنش به بدون تنش) و عملکرد دانه در شرایط تنش مشاهده شد (جدول ۳). مقایسه ارقام گندم مورد بررسی از نظر عملکرد دانه نشان داد که در شرایط تنش، عملکرد گروه واجد توانایی تنظیم اسمزی ۱/۲ برابر بیشتر از گروه

تنش خشکی نشان داد که اثر خشکی و رقم روی این صفت معنی‌دار بود. بین عملکرد دانه هر دو محیط شاهد و تنش و شاخص STI همبستگی‌های معنی‌دار بالایی مشاهده شد (جدول ۳)، از این رو شاخص مذکور جهت غربال ارقام حساس و مقاوم به خشکی مناسب به نظر می‌رسد. در این آزمایش همبستگی مثبت

جدول ۲- مقایسه میانگین مساحت تصویر دانه گرده در محلول‌های ۳۰ و ۵۰ درصد پلی اتیلن گلایکول، عملکرد دانه و شاخص تحمل تنش در ارقام گندم

Table 2. Mean comparison of projected pollen area in 30% and 50% PEG, grain yield and STI in wheat cultivars

Wheat cultivars	ارقام گندم	Projected pollen grain area (μm^2) مساحت دانه گرده		تنظیم اسمزی Osmoregulation	Grain yield (kg.ha^{-1}) عملکرد دانه		شاخص تحمل تنش STI
		PEG 30%	PEG 50%		بدون تنش خشکی Normal	تنش خشکی Drought stress	
Azar 2	آذر ۲	2454.4 n-q	3231.9 de	1.340 a	4263 abc	3865 a	1.40 a
Karaj 3	کرج ۳	1766.2 rt	1957.3 l-p	1.200 b	4090 abc	1823 fgh	0.63 f-l
Dez	دز	2374.5 opq	2752.2 e-j	1.156 b	2263 k-l	1990 fgh	0.38 klm
Hamoon	هامون	4132.6 b	4590.8 a	1.093 bc	4226 abc	2360 c-h	0.85 c-h
Sabalan	سیلان	2626.4 m-p	2861.7 d-j	1.090 bc	3925 a-d	3405 abc	1.13 abc
Tajan	تجن	2166.1 pqr	2575.4 g-k	1.090 bc	2820 e-l	2690 b-g	0.640 f-k
Azadi	آزادی	3696.8 b-f	4014.2 b	1.086 bc	3585 a-j	3655 ab	1.10 abc
Omid	امید	1732.5 r	1832.7 nop	1.076 bcd	3133 c-k	2280 d-h	0.61 f-m
Roshan	روشن	2741.7 l-o	2363.2 i-o	0.865 e-k	4380 ab	3290 a-e	1.22 ab
Moghan 2	مغان ۲	3650.0 b-g	2655.5 e-j	0.770 h-n	3765 a-h	2110 fgh	0.67 f-k
Karaj 2	کرج ۲	5007.3 a	4151.6 ab	0.880 e-k	4525 a	2316 c-h	0.89 c-g
Excalibur	اکسکلیبر	3428.9 d-j	2448.7 h-m	0.633 nop	2735 f-l	1645 gh	0.61 f-m
Mahdavi	مهدوی	3136.4 f-m	2832.6 e-j	0.923 d-i	3633 a-i	3800 a	1.17 abc
Darab 2	داراب ۲	2934.8 j-n	2409.9 h-n	0.850 e-k	3240 b-k	1975 fgh	0.54 h-m
Niknejad	نیک نژاد	2812.1 k-o	1787.9 op	0.680 l-o	3800 a-h	2470 c-h	0.65 f-k
Kavir	کوبر	3096.8 g-m	2804.4 e-j	0.896 e-j	2716 g-l	2390 c-h	0.55 g-m
Bahar	بهار	3645.8 b-g	2513.6 h-l	0.656 no	3900 a-f	2070 fgh	0.69 f-k
Hirmand	هیرمند	3666.0 b-f	2284.5 j-o	0.643 nop	3445 a-j	1870 fgh	0.55 g-m
Mv-17	Mv-17	3902.3 bcd	3494.9 def	0.820 e-m	2415 kl	1406 h	0.29 lm
Marvdasht	مرودشت	3324.4 e-k	2592.0 f-k	0.876 e-k	4226 abc	2533 c-g	0.91 b-f
Chamran	چمران	3414.4 d-j	3027.0 d-h	0.886 e-k	2725 f-l	2590 c-g	0.60 f-m
Star	استار	4071.9 bc	2566.7 g-k	0.766 i-n	3170 c-k	1935 fgh	0.52 h-m
Rasool	رسول	3749.0 b-e	3454.8 cd	0.935 c-h	1950 l	1606 gh	0.27 m
Alvand	الوند	3060.4 h-m	1866.4 m-p	0.595 op	3445 a-j	2540 c-g	0.74 e-j
Ghuds	قدس	3629.0 b-g	2924.5 d-i	0.733 j-o	4385 ab	1750 fgh	0.67 f-k
Bam	بم	3691.5 b-f	2866.5 d-j	0.776 g-n	2465 i-l	2155 fgh	0.45 i-m
Zarin	زرین	3035.9 i-m	2311.9 i-o	0.733 j-o	3453 a-j	2570 c-g	0.75 e-j
Pishtaz	پیشناز	2706.7 l-o	2596.6 f-k	0.783 f-n	4065 a-d	2263 d-h	0.78 d-i
Shiraz	شیراز	3475.9 d-j	3025.7 d-h	0.830 e-l	4310 abc	2836 a-f	1.04 b-e
Alamout	الموت	3541.2 c-i	3134.5 d-g	0.910 e-i	3510 a-j	2205 d-h	0.66 f-k
Zagross	زاگرس	3610.1 b-h	1518.8 pq	0.495 p	2675 h-l	2125 fgh	0.48 i-m
VeeNac	وری ناک	1684.0 r	1633.9 pq	0.945 c-f	2730 f-l	1763 fgh	0.41 j-m
Akbari	اکبری	2711.7 l-o	2022.7 k-p	0.770 h-n	3815 a-h	2370 c-h	0.77 d-i
Sardari	سرداری	2783.3 k-o	2695.4 e-j	0.965 cde	3766 a-h	1946 fgh	0.62 f-l
Sholeh	شعله	2751.0 l-o	2584.5 f-k	0.940 c-g	4360 ab	2085 fgh	0.77 d-i
Ws-82-9	Ws-82-9	3923.1 bcd	3232.1 de	0.790 f-n	2903 d-l	2460 c-h	0.61 f-m
Gaspard	گاسپارد	1662.1 r	1220.1 q	0.756 i-n	3130 c-k	1606 gh	0.43 i-m
Shahpasand	شاه پسند	2014.9 qr	1514.8 pq	0.723 k-o	2505 i-l	2190 e-h	0.47 i-m
Bzostaya	بزوستایا	3201.7 e-l	2826.2 e-j	0.880 e-k	3693 a-h	1963 fgh	0.62 f-l
Tous	توس	3607.7 b-h	3822.0 bc	0.865 e-k	3873 a-g	3305 a-d	1.09 a-d

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری ندارند

Mean in each column followed by similar letter(s) are not significantly different at 5% probability level, using Duncan's Multiple Range Test

جدول ۳- ضرایب همبستگی بین صفات گیاهی و شاخص تحمل تنش ارقام گندم در شرایط بدون تنش و تنش خشکی

Table 3. Correlation coefficients between plant characteristics and STI of wheat cultivars under normal and drought stress conditions

		عملکرد دانه Grain yield	محتوای آب نسبی (۱) Relative water content:RWC (1)	محتوای آب نسبی (۲) Relative water content:RWC (2)	فراوانی روزنه Stomatal frequency: SF	تنظیم اسمزی Osmoregulation		شاخص تحمل تنش STI
						بدون تنش Normal	تنش خشکی Drought stress	
Grain yield	عملکرد دانه	1	0.12	-0.08	-0.24	0.14	0.41**	0.73**
RWC (1)	محتوای آب نسبی (۱)		1	-0.04	0.00	-0.13	-0.10	-0.04
RWC (2)	محتوای آب نسبی (۲)			1	0.38 *	0.19	-0.11	-0.07
Stomatal frequency	فراوانی روزنه				1	-0.07	-0.01	-0.09
Osmoregulation	تنظیم اسمزی					1	-0.21*	0.33
STI	شاخص تحمل تنش							1
Grain yield	عملکرد دانه	1	-0.28	0.05	0.02	0.41**	0.88**	
RWC (1)	محتوای آب نسبی (۱)		1	-0.05	-0.23	-0.10	-0.19	
RWC (2)	محتوای آب نسبی (۲)			1	-0.01	-0.11	-0.08	
Stomatal frequency	فراوانی روزنه				1	-0.21*	0.15	

* and **: Significant at 5% and 1% probability levels, respectively

* و **: به ترتیب معنی دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد

جدول ۴- مقایسه توانایی تنظیم اسمزی دانه گرده و عملکرد دانه ارقام گندم

Table 4. Comparison of osmoregulation capability and grain yield of wheat cultivars

Grouping	گروه بندی ↑	میانگین عملکرد دانه Grain yield (kg.ha ⁻¹)		میانگین مساحت دانه گرده Mean pollen area (μm ²)		تنظیم اسمزی Osmoregulation
		بدون تنش Normal	تنش خشکی Drought stress	تنش خشکی Drought stress	بدون تنش Normal	
Incapable for Osmoregulation	فاقد تنظیم اسمزی	3430	2260	2590.12	3239.47	0.80
Capable for Osmoregulation	واجد تنظیم اسمزی	3530	2750	2977	2618.69	1.14

↑ ارقام آذر ۲، کرج ۳، دز، هامون، تاجن، سبلان، آزادی و امید واجد توانایی تنظیم اسمزی و سایر ارقام فاقد توانایی تنظیم اسمزی هستند

↑ Azar 2, Karaj 3, Dez, Hamoon, Tajan, Sabalan, Azadi and Omid cultivars are capable for osmoregulation and another cultivars are incapable for osmoregulation

برگ پرچم در مرحله دوم محیط خشکی و شاهد (اواخر گلدهی) معنی دار بود. این موضوع نشان دهنده تأثیر زیاد خشکی انتهای فصل بر صفت مورد نظر می باشد، به طوری که تنش خشکی منجر به کاهش ۱۵/۴ درصدی محتوای آب نسبی شد. کاهش نسبی رطوبت برگ در اثر تنش خشکی، دارای همبستگی مثبت و زیادی با محتوای رطوبتی خاک می باشد (Nautiyal *et al.*, 2002). در این آزمایش ارقام شیراز، چمران، نیک نژاد، هامون، آزادی، آذر ۲، سبلان، طوس و روشن که محتوای آب نسبی بالایی داشتند، از عملکرد بالایی در شرایط تنش خشکی و یا درصد کاهش عملکرد کمتری برخوردار بودند. به نظر می رسد که محتوای آب نسبی برگ زیاد در ارقام مذکور، ساز و کاری مناسب در تحمل خشکی محسوب می شود. در همین زمینه لیو و همکاران (Liu *et al.*, 2003) بیان داشتند که محتوای نسبی آب برگ پرچم، شاخص مهمی برای تعیین وضعیت آبی گیاه و شناسایی ارقام مقاوم به تنش خشکی محسوب می شود.

تعداد روزنه در واحد سطح برگ پرچم، بین ارقام گندم تفاوت معنی داری داشت که نشان دهنده وجود تفاوت ژنتیکی بین آنها می باشد. تیر و همکاران (Tear *et al.*, 1971) نیز نتایج مشابهی را گزارش کردند. علاوه بر این، اثر تنش رطوبتی روی این صفت معنی دار و منجر به افزایش ۲۱ درصدی تعداد روزنه در واحد سطح برگ شد. وان دروورت و فولر (Van de Roovaort and Fuller, 1935) بیان داشتند که در شرایطی که میزان آب کافی در دسترس گیاه باشد، در مقایسه با شرایطی که گیاه تحت تنش خشکی قرار می گیرد، تراکم روزنه ها کمتر است. میلر (Miller, 1983) نیز گزارش کرد که تراکم روزنه علاوه بر عوامل ژنتیکی، تحت تأثیر شرایط محیطی نیز قرار می گیرد. به نظر می رسد که دلیل افزایش تعداد روزنه در شرایط خشکی، کاهش سطح برگ است. بلام و

فاقد توانایی اسمزی و درصد کاهش عملکرد کمتر از گروه فاقد توانایی اسمزی بود (جدول ۴). درصد کاهش عملکرد در گروه واجد و فاقد توانایی اسمزی به ترتیب ۲۲ و ۳۴ درصد بود. با در نظر گرفتن شاخص STI ارقامی مانند آذر ۲ و آزادی که واجد توانایی تنظیم اسمزی بودند، متحمل به خشکی نیز شناخته شدند. در گروه ارقام فاقد تنظیم اسمزی، ارقام متحمل به خشکی نظیر مهدوی و نیک نژاد مشاهده شدند که این موضوع نشان دهنده وجود سازوکارهای دیگر تحمل به خشکی مانند محتوای آب نسبی بالا در ارقام یاد شده است.

در آزمایش مقصودی و مقصودی مود (Maghsoudi and Maghsoudi Moud, 2008) که اندازه گیری صفت تنظیم اسمزی دانه گرده در محیط گلخانه انجام شده بود، ارقام دز و امید در گروه ارقام واجد توانایی اسمزی قرار گرفتند که با نتایج این آزمایش مطابقت دارد. به نظر می رسد که وجود بعضی از تفاوت ها در گروه بندی ارقام، نشان دهنده وجود اثر متقابل ژنوتیپ × محیط در مورد این صفت است.

تجزیه واریانس محتوای آب نسبی برگ پرچم در طی دو مرحله اواسط گلدهی (RWC1) و اواخر گلدهی (RWC2) نشان داد که در هر دو مرحله، اندازه گیری این صفت برای شرایط شاهد، تفاوت معنی داری بین ارقام وجود نداشت، ولی در هر دو مرحله در شرایط تنش خشکی، تفاوت معنی داری بین ارقام مشاهده شد. مقایسه ارقام گندم مورد بررسی از نظر این صفت در جدول ۵ نشان داده شده است. با توجه به نتایج حاصل، می توان اظهار داشت که وجود شرایط خشکی منجر به تفاوت بین ارقام از نظر محتوای آب نسبی شده است. این موضوع با نتایج سعیدی و همکاران (Saeidi *et al.*, 2010) مبنی بر تفاوت معنی دار بین ارقام گندم از نظر محتوای آب نسبی (فقط در شرایط تنش) مطابقت دارد.

اثر تنش خشکی روی صفت محتوای آب نسبی

جدول ۵- مقایسه میانگین محتوای آب نسبی و فراوانی روزنه برگ پرچم ارقام گندم در شرایط بدون تنش و تنش خشکی

Table 5. Mean comparison of wheat cultivars for relative water content (RWC) and stomatal frequency (SF) in flag leaf under normal and drought stress conditions

Wheat cultivars	ارقام گندم	Normal بدون تنش			Drought stress تنش خشکی		
		RWC1 (%)	RWC2 (%)	Stomatal frequency فراوانی روزنه	RWC1 (%)	RWC2 (%)	Stomatal frequency فراوانی روزنه
Azar 2	آذر ۲	92.6 bc	86.6 a-d	10.0 d-i	87.0 bcd	72.6 b-g	12.5 b-g
Karaj 3	کرج ۳	91.0 bc	91.0 abc	12.2 a-f	91.3 abc	67.5 e-h	9.0 fg
Dez	دز	89.5 c	87.0 a-d	9.5 e-i	87.3 bcd	73.5 a-g	12.0 b-g
Hamoon	هامون	92.5 abc	87.0 a-d	9.3 e-i	88.0 a-d	74.0 a-g	11.5 c-g
Sabalan	سیلان	91.3 abc	93.3 a	9.5 e-i	87.0 bcd	72.5 c-g	17.6 a
Tajan	تجن	85.3 c	83.6bcd	10.7 b-i	88.3 a-d	65.0 gh	12.0 b-g
Azadi	آزادی	92.5 abc	84.0 bcd	12.0 a-g	89.3 a-d	73.0 a-g	14.3 a-e
Omid	امید	92.3 abc	89.3 a-d	11.6 a-g	89.0 a-d	71.3 c-h	8.5 g
Roshan	روشن	91.6abc	87.0 a-d	10.0 d-i	87.0 bcd	73.0 a-g	14.3 a-e
Moghan 2	مغان ۲	91.3 abc	85.6 a-d	11.0 b-h	88.3 a-d	73.0 a-g	12.6 b-g
Karaj 2	کرج ۲	93.0 abc	82.6 d	9.3 e-i	85.3 cd	85.0 ab	10.0 efg
Excalibur	اکسکلیبر	90.3bc	87.0 a-d	12.3 a-f	85.0 cd	67.0 fgh	16.0 abc
Mahdavi	مهدوی	89.0 c	85.0 bcd	10.5 c-i	88.0 a-d	59.5 h	12.7 b-g
Darab 2	داراب ۲	92.0 abc	86.0 a-d	7.5 ij	89.6 a-d	66.0 fgh	15.5 a-d
Niknejad	نیک نژاد	93.3 abc	86.6 a-d	9.5 e-i	90.0 a-d	75.5 a-g	14.2 a-e
Kavir	کویر	91.0bc	91.0 abc	13.0 a-d	93.6ab	70.0 c-h	15.7 a-d
Bahar	بهار	91.3 abc	85.3 a-d	9.6 d-i	84.3 cd	65.0 gh	11.7 b-g
Hirmand	هیرمند	90.3bc	90.0 a-d	13.5 abc	91.6 abc	70.3 c-h	13.7 a-f
Mv-17	Mv-17	91.6 abc	91.6 ab	9.6 d-i	91.0 a-d	81.6 abc	12.5 b-g
Marvdasht	مرودشت	87.6 c	89.3 a-d	9.6 d-i	83.0 de	75.0 a-g	11.7 b-g
Chamran	چمران	91.5abc	88.3 a-d	14.5 a	88.0 a-d	75.0 a-g	12.6 b-g
Star	استار	98.0 ab	86.5 a-d	9.6 d-i	87.0 bcd	76.0 a-g	12.0 b-g
Rasool	رسول	90.8 c	85.0 bcd	11.6 a-g	91.6 abc	74.0 a-g	13.6 a-f
Alvand	الوند	89.3 c	82.6 d	11.5 a-g	88.3 a-d	72.3 c-g	14.5 a-e
Ghuds	قدس	92.0 abc	86.3 a-d	11.1 a-h	90.3 a-d	79.5 a-e	14.5 a-e
Bam	بم	93.0 abc	90.0 a-d	12.5 a-e	90.3 a-d	71.6 c-g	16.0 abc
Zarin	زرین	93.6 abc	82.0 d	10.5 c-i	89.0 a-d	68.5 d-h	15.1 a-d
Pishtaz	پیشاز	92.5 abc	87.6 a-d	12.0 a-g	88.6 a-d	73.5 a-g	10.2 efg
Shiraz	شیراز	91.6 abc	89.3 a-d	11.0 b-h	95.5 a	85.3 a	16.5 ab
Alamout	الموت	99.0 a	87.6 a-d	14.0 ab	89.0 a-d	72.6 b-g	12.2 b-g
Zagross	زاگرس	95.3 abc	82.0 d	8.6 g-j	90.6 a-d	80.5 a-d	12.1 b-g
VeeNac	وری ناک	92.5abc	88.0 a-d	10.0 d-i	88.6 a-d	77.0 a-g	12.6 b-g
Akbari	اکبری	95.3abc	85.3 a-d	9.5 e-i	88.6 a-d	74.5 a-g	15.3 a-d
Sardari	سرداری	91.5 abc	82.6 d	6.0 j	77.3 e	68.3 d-h	13.6 a-f
Sholeh	شعله	91.0 bc	83.3 cd	9.0 f-j	86.3 bcd	72.5 c-g	11.0 d-g
Ws-82-9	Ws-82-9	91.0 bc	86.0 a-d	11.3 a-h	87.3 bcd	77.5 a-f	12.0 b-g
Gaspard	گاسپارد	91.3 abc	91.6ab	13.0 abc	91.6 abc	77.0 a-g	15.5 a-d
Shahpasand	شاه پسند	90.0 bc	87.0 a-d	10.3 c-i	91.0 a-d	77.3 a-g	11.0 d-g
Bzostaya	بزوستایا	92.0 abc	86.0 a-d	8.0 hij	88.0 a-d	76.5 a-g	11.2 c-g
Tous	توس	92.3 abc	88.6 a-d	10.7 b-i	89.6 a-d	78.3 a-f	15.8 a-d
CV(%)	ضریب تغییرات	5.2	4.5	14.6	4.3	7.4	15.7

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری ندارند
Mean in each column followed by similar letter(s) are not significantly different at 5% probability level, using Duncan's Multiple Range Test

گرفته به دلیل همبستگی بالایی که با عملکرد دانه در شرایط خشکی داشت، می تواند بعنوان شاخص مناسبی برای گزینش ارقام مقاوم به خشکی مورد استفاده قرار گیرد. بر اساس نتایج بدست آمده از این تحقیق، ارقام والدی که از محتوای آب نسبی و توانایی تنظیم اسمزی دانه گرفته بیشتری برخوردار باشند، در اصلاح مقاومت به خشکی در ارقام گندم قابل استفاده هستند.

همکاران (Blum *et al.*, 1981) گزارش کردند در شرایطی که آب کافی در اختیار گیاه نباشد، کاهش سطح برگ نقش مهمی در سازگاری گونه ها با دمای بالا و تنش خشکی داشته و به تبع آن تراکم روزنه در واحد سطح افزایش می یابد. بر اساس نتایج این آزمایش به نظر می رسد که از بین صفات مورد بررسی، صفت تنظیم اسمزی دانه

References

منابع مورد استفاده

- Bajji, M., S. Lutts and J. M. Kinet. 2001. Water deficit effects on solute contribution to osmotic adjustment as a function of leaf ageing in three durum wheat cultivars performing differently in arid conditions. *Plant Sci.* 160: 669-681.
- Blum, A., G. Gozlan and J. Mayer. 1981. The manifestation of dehydration avoidance in wheat breeding germplasm. *Crop Sci.* 21: 495-499.
- Bozhanova, V. and D. Dechev. 2010. Heritability of osmoregulation ability at durum wheat. *Agric. Sci. Technol.* 4: 169-173
- Delperee, C., J. M. Kinter and S. Lutts. 2003. Low irradiance modifies the effect of water on survival and growth related parameter during the early development stages of buck wheat (*Fagopyrum esculentum*). *Physiol. Plant.* 119: 211- 220.
- Eivazi, A. R., F. Talat, A. Saeed and H. Ranji. 2007. Selection for osmoregulation gene to improve grain yield of wheat genotypes under osmotic stresses. *Pak. J. Biol. Sci.* 10: 3703-3707
- Fernandez G. C. J. 1992. Effective selection criteria for assessing stress tolerance. In: C.G. Kuo, (Editor), proceedings of the international symposium on adaptation of vegetables and other food crops in temperature and water stress condition, 13- 16 Aug. 1392, Tainan, Taiwan.
- Ganji-Arjenaki, F., R. Jabbari and A. Morshedi. 2012. Evaluation of drought stress on relative water content, chlorophyll content and mineral elements of wheat (*Triticum aestivum* L.) varieties. *Int. J. Agric Crop Sci.* 4: 726-729
- Liu F., C. R. Jensen and M. N. T. Andersen. 2003. Hydraulic and chemical signals in the control of leaf expansion and stomatal conductance in soybean exposed to drought stress. *Func. Plant Biol.* 30: 65-73.
- Lugojan, C. and S. Ciulca. 2011. Evaluation of relative water content in winter wheat. *J. Hortic. Forest. Biotechnol.* 15: 173-177.
- Maghsoudi, K. and A. A. MaghsoudiMoud. 2008. Assessment of osmoregulation capability in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars using response of projected pollen grains to drought stress. *Iran. J. Crop Sci.* 10: 1-14.

- MaghsoudiMoud, A. 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. Agric. Biol.* 4: 604-605.
- Miller, E. C. 1983.** Plant physiology. Mc Grow-Hill Book Company Inc. New York. U. S. A.
- Miskin, K. E., D. C. Rasmusson, and D. N. Moss. 1972.** Inheritance and physiological effects of stomatal frequency in barley. *Crop Sci.* 12: 780-783.
- Morgan, J. M. 1988.** The use of coleoptile responses to water stress to differentiate wheat genotypes for osmoregulation, growth and yield. *Ann. Bot.* 62: 193-198.
- Morgan, J. M. 1991.** Gene controlling differences in osmoregulation in wheat. *Aust. J. Plant. Physiol.* 18: 249-57.
- Morgan, J. M. 1999.** Pollen grain expression of a gene controlling differences in osmoregulation in wheat leaves: a simple breeding method. *Aust. J. Agric. Res.* 50: 953-62.
- Nautiyal, P. C., N. R. Rachaputi and Y. C. Joshi. 2002.** Moisture-deficit-induced changes in leafwater content, leaf carbon exchange rate and biomass production in groundnut cultivars differing in specific leaf area. *Field Crops Res.* 74: 67-79.
- Rascio, A., C. Platani, G. Scalfati, A. Tonti and N. D. Fonzo. 1994.** The accumulation of solutes and water binding strength in durum wheat. *Physiol. Plant.* 90: 715-721.
- Saeidi, M., F. Moradi, A. Ahmadi, R. Spehri, G. Najafian and A. Shabani. 2010.** The effects of terminal water stress on physiological characteristics and sink-source relations in two bread wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. *Iran. J. Crop Sci.* 12: 392-408. (In Persian with English abstract).
- Shonfeld, M. A., R. C. Johnson, B. F. Carver and D. W. Mornbinweng. 1988.** Water relation in winter wheat as drought resistance indicators. *Crop Sci.* 28: 526-531.
- Siddique, M. R. B., A. Hamid and M. S. Islam. 2000.** Drought stress effects on water relations of wheat. *Bet. Bull. Acad. Sin.* 41: 35-39.
- Tear, I. D., C. J. Peterson, and A. G. Law. 1971.** Size and frequency of leaf stomata in cultivars of *Triticumaestivum* and other *Triticum* species. *Crop Sci.* 11: 496-498.
- Van de Roovaaort, E. and G. D. Fuller. 1935.** Stomatal frequency in cereals. *J. Ecol.* 16: 278-279.
- Winter, S. R., J. T. Musick and K. B. Porter. 1988.** Evaluation of screening techniques for breeding drought resistant winter wheat. *Crop Sci.* 28: 512-516.

Contribution of pollen grain osmoregulation, relative water content and stomata density in drought tolerance in 40 bread wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars

Nazari, M.¹ and R. Abdolshahi²

ABSTRACT

Nazari, M. and R. Abdolshahi. 2013. Contribution of pollen grain osmoregulation, relative water content and stomata density in drought tolerance in 40 bread wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. **Iranian Journal of Crop Sciences. 15(3): 222-233. (In Persian).**

The contribution of physiological traits such as; osmoregulation capability of pollen grain, relative water content (RWC) and stomata density in flag leaf area to drought tolerance of 40 bread wheat cultivars was studied. To evaluate their effect of these traits on grain yield, two separate field experiments were designed and conducted in 2010 at experimental farm of college of agriculture, Kerman Shahid Bahonar University, Kerman, Iran using randomized complete block design with three replications. Osmoregulation capability of pollen grain was simulated using the ratio of projected pollen grains area under water stress to normal conditions in solutions containing 50% and 30% polyethylen glycol (PEG) 6000, respectively. Analysis of variance showed that the effect of drought stress and cultivar on grain yield and physiological traits were significant. Drought stress decreased grain yield by %33 and RWC by %15.4, but increased stomata density of flag leaf area by %21. Osmoregulation capability of pollen grain in Azar-2, Dez, Azadi, Hamoon, Karaj-3, Sabalan and Omid was greater than one, therefore these cultivars were identified as capable cultivars for osmoregulation. Osmoregulation capability of pollen grain showed highly significant correlation with grain yield under stress conditions ($r=0.41^{**}$). Thus, this mechanism directly contributed to increasing grain yield under drought stress. Stress Tolerance Index (STI) was also used for identification of drought tolerant genotypes. Based on this index, cv. Azar-2 was identified as the most drought tolerant genotype. This cultivar had also the highest osmoregulation capability. It can be concluded that pollen grain osmoregulation is a likely mechanism contributing to drought tolerance of cv. Azar-2.

Key words: Bread wheat, Drought stress, Physiological traits, Stomata density and Stress tolerance index.

Received: June 2012

Accepted: June 2013

1-MSc. Student, Kerman Shahid Bahonar University, Kerman, Iran

2-Asisstant Prof., Kerman Shahid Bahonar University, Kerman, Iran (Corresponding author) (Email: abdoshahi@gmail.com)