تحقیقات غلات
سال اول/ شماره اول/ زمستان ۱۳۹۰ (۲۴ -۱۱)

پاسخ به تنش خشکی برخی ژنوتیپ‌های گندم پاییزه با استفاده از صفات زراعی و الگوی پروتئینی

مصطفی ولیزاده[1*]، زینب محمودیان[2]، حسین محمدزاده جلالی[2]، عبدالعلی غفاری[3] و مظفر روستایی[3]

۱ و ۲- به ترتیب استاد و کارشناسان ارشد گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز

۳- اعضای هیأت علمی موسسه تحقیقات کشاورزی دیم مراغه

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۷/۵- تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۱۰/۵)

چکیده

به منظور بررسی اثر تنش خشکی در برخی از ژنوتیپ‌های پیشرفته گندم، آزمایشی در قالب طرح کرت‌های خرد شده بر اساس طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار انجام شد. فاکتور اصلی سه سطح و فاکتور فرعی ۱۲ ژنوتیپ گندم پاییزه (چهار ژنوتیپ مقاوم، چهار ژنوتیپ بینابین و چـهار ژنوتیپ حساس به خشکی) همراه با دو ژنوتیپ شاهد بود. نتایج تجزیه واریانس ژنوتیپ‌های گندم در سه شرایط متفاوت آبیاری نشان داد که در صفات طول ریشک، تعداد روز تا رسیدگی، طول دوره‌ی پرشدن دانه، وزن هزار دانه، بیوماس و عملکرد دانه اختلاف معنی‌داری وجود داشت. قطع آبیاری پس از گلدهی (تنش شدید) موجب کاهش معنی‌دار صفات وزن هزار دانه، عملکرد دانه، بیوماس، تعداد روز تا رسیدگی و طول دوره‌ی پرشدن دانه شد، ولی صفت طول ریشک بر اثر قطع آبیاری افزایش یافت. اختلاف بین ژنوتیپ‌ها برای کلیه صفات، به جز تعداد روز تا رسیدگی، در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. اثر متقابل ژنوتیپ×نوع آبیاری برای کلیه صفات غیر معنی‌دار به دست آمد. بیشترین عملکرد دانه را ژنوتیپ‌های ۱۴ (Sardari)، ۶ (DARIC 95-010-OMA-OMA-OMA-6MA-OMA) و ۳ (IRW92-1-D-474-OMA-OMA-OMA-OMA-IMA-OMA Ghafghaz//F9.10/Maya "s") به خود اختصاص دادند که همگی از ژنوتیپ‌های مقاوم بودند. محاسبه شاخص‌های میانگین حسابی عملکرد (MP)، میانگین هندسی عملکرد (GMP) و تحمل به تنش (STI) ضمن داشتن همبستگی مثبت و معنی‌دار با عملکرد در شرایط بدون تنش و تنش، نشان دادند که ژنوتیپ‌های ۱ (Unknown-1)، ۳، ۶، ۷ (DARIC 95-010-OMA-OMA-OMA-8MA-OMA)، ۱۲ (RINA-11) و ۱۴ بیشترین مقاومت به خشکی را داشتند و ژنوتیپ ۱۱ (JANZ QT3685-0AUS) حساس‌ترین ژنوتیپ بود. بررسی الگوی نواری گلوتنین‌های ذخیره‌ای نشان داد که ژنوتیپ‌های حساس فاقد یک پروتئین ذخیره‌ای ویژه گلوتنین بودند، در حالی که ارقام مقاوم و بیشتر ارقام بینابین آن پروتئین را داشتند.

واژه‌های کلیدی: الگوی پروتئینی، تنش خشکی، شاخص‌های مقاومت، گندم

* نویسنده مسئول: mvalizadeh@tabrizu.ac.ir

مقدمه

گیاهان در شرایط مزرعه‌ای در معرض تنش‌های غیر زیستی متفاوتی از قبیل کمبود آب، دمای بالا، شوری و سرما قرار دارند. ویج و تیاگی (Vij and Tyagi, 2007) بیان داشتند که شرایط تنش‌زا می‌تواند به طور بالقوه عملکرد گیاهان زراعی را تا ۵۰ درصد کاهش دهد. تنش خشکی یکی از مهم‌ترین عامل‌های غیرزنده است که رشد و تولید گیاهان را محدود می‌کند (Chaves and Oliveira, 2004). تقریبا ۳۲ درصد از نواحی کاشت گندم در کشورهای در حال توسعه، یکی از انواع تنش خشکی را در مدت فصل رشد و نمو تجربه می‌کنند (Morris *et al*., 1991).

در گذشته به دلیل محدود بودن روش‌های گزینش و اطلاعات در مورد نحوه مقاومت به تنش در محصولات زراعی، موفقیت در برنامه‌های اصلاح نباتات نیز محدود بوده است. به دلیل خسارات قابل توجهی که از تنش‌های محیطی به محصولات زراعی از جمله غلات وارد شده است، در سال‌های اخیر بررسی واکنش گیاهان زراعی به تنش-های محیطی بسیار مورد توجه قرار گرفته‌است (Christiansen and Lewis, 1982; Passioura, 2007). این درحالی است که تحمل به تنش تحت کنترل تعداد زیادی ژن می‌باشد و گزینش همزمان آن‌ها مشکل است (Richard, 1996, Flowers *et al.*, 2000; Zhang *et al.*, 2005). مجموعه‌ی صفات فنولوژیک، مرفولوژیک و فیزیولوژیک در تحمل گندم نسبت به خشکی دخالت دارند که از نظر زمان وقوع، مدت زمان دوام تنش، فراوانی وقوع خشکی و خصوصیات خاک، مورد شناسایی و ارزشیابی قرار می‌گیرند (Richard *et al.*, 2001). عملکرد دانه و پایداری آن در مناطق متعددی که تنش‌های محیطی وجود دارد، همیشه به عنوان معیار مهمی در گزینش و معرفی ارقام مورد استفاده قرار گرفته است (Trethowan and Reynolds, 2007).

نتایج مطالعات پژوهشگران (Siddique *et al*., 1993; Richard *et al.*, 2001) نشان می‌دهد که در مناطق دارای تنش خشکی، مطمئن‌ترین راه برای بهبود تحمل به خشکی در غلات دانه‌ریز، ادامه اصلاح برای افزایش پتانسیل عملکرد است. از این طریق، عملکرد حتی در محیط‌هایی که تنش بسیار شدید است افزایش نشان داده است. ریچارد (Richard *et al.*, 2001) بیان کرد که انتخاب بر اساس عمکرد ژنوتیپ‌های گندم نان در هر دو محیط تنش و بدون تنش، باعث انتخاب ژنوتیپ‌هایی با عملکرد بالا در شرایط تنش می‌شود، چرا که آلل‌های مطلوب تحت شرایط تنش خشکی انتخاب شده و در همین زمان پاسخ به انتخاب در شرایط بدون تنش به دلیل وراثت پذیری بالاتر عملکرد حداکثر است. بر این اساس شاخص‌های متفاوتی ارائه شده که می‌توان از آنها در تعیین ژنوتیپ‌های دارای پتانسیل عملکرد بالا و متحمل به تنش خشکی استفاده نمود. فیشر و مورر (Fischer and Maurer, 1978) شاخص حساسیت به تنش، روزیله و هامبلین (Rosielle and Hamblin, 1981) شاخص‌های تحمل و میانگین حسابی بهره‌وری و فرناندز (Fernandez, 1992) شاخص‌های تحمل به تنش و میانگین هندسی بهره‌وری را به عنوان شاخص‌های تحمل به خشکی ارائه کردند.

استفاده از نشانگرهای مولکولی مانند پروتئین‌های ذخیره‌ای دانه، ایزوزیم‌ها و نشانگرهای مبتنی بر DNA دو مشکل عمده‌ی، بروز صفت فنوتیپی متغیر در شرایط محیطی متفاوت و بروز فنوتیپ مشابه با وجود تفاوت‌های ژنتیکی را که در ارتباط با صفات مورفولوژیک پیش می‌آید، می‌توانند برطرف کنند. یکی از تغییرات عمده بیوشیمیایی که در اثر کاهش رطوبت خاک در گیاه روی می‌دهد، تغییر در میزان تولید پروتئین‌های گیاهی در جهت تجزیه و یا جلوگیری از سنتز بعضی از آن‌ها و نیز ساخت دسته کوچکی از پروتئین‌های مخصوص تنش است. این موضوع، تغییر و اصلاح مهمی را در بیان ژن به وجود آورده است که سبب فعال و یا غیر فعال شدن تعدادی از آنزیم‌ها می‌شود و به دنبال آن، اجازه تغییر در ساختار مخصوص بافت گیاهی را می‌دهد (Bewley and Larsen, 1982). بررسی‌های دانیل و تریبوی (Daniel and Triboi, 2000) نشان داد که بیشترین تاثیر تنش خشکی و سطوح مختلف نیتروژن بر درصد کل پروتئین و پروتئین‌های گلیادین بود که ۴۰ درصد کل پروتئین‌های دانه را شامل می‌شوند همچنین ژائو و همکاران (Zhao *et al*., 2005) گزارش

کردند که تنش خشکی در مرحله پر شدن دانه سبب افزایش غلظت پروتئین می‌شود.

پروتئین‌های ذخیره‌ای (گلوتنین و گلیادین) عمدتا در دانه انباشته شده‌اند و ضمن داشتن چند شکلی گسترده، بسیار با ثبات هستند. عوامل محیطی هرچند بر مقدار پروتئین‌های ذخیره‌ای تاثیر می‌گذارند، ولی بر حضور آن‌ها در دانه‌ی رسیده بی‌تاثیراند و یا تاثیر اندکی دارند. بنابراین الگوی الکتروفورزی پروتئین‌های دانه‌ی رسیده به تنهایی یا با سایر نشانگرها معیار خوبی برای شناسایی جوامع مختلف گیاهی و ارقام محسوب می‌شود (Adriaanse *et al.*, 1969; Driedger *et al.*, 1994). محمدخانی و حیدری (Mohammadkhani and Heidari, 2008) با بررسی پروتئین‌های محلول در دو رقم ذرت دریافتند که تنش خشکی باعث تغییراتی در سنتز پروتئین‌ها شد و با کاهش پتانسیل آب، پروتئین‌های محلول در ابتدا افزایش و سپس کاهش یافتند. هدف از انجام این پژوهش، بررسی نحوه پاسخ به تنش خشکی ژنوتیپ‌های مختلف گندم در شرایط مزرعه و مقایسه شاخص‌های مقاومت و هم‌چنین بررسی الگوی نواری پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر در پاسخ به تنش خشکی در گروه‌های مختلف گندم بود.

مواد و روش‌ها

جهت بررسی حساسیت و تحمل به تنش خشکی در ژنوتیپ‌های پیشرفته گندم نان (جدول ۱)، آزمایشی با ۱۴ ژنوتیپ گندم پاییزه به صورت طرح کرت‌های خردشده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار در ایستگاه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز واقع در کرکج در سال زراعی ۸۷-۱۳۸۶ اجرا شد. واکنش به خشکی این ژنوتیپ‌ها از سال‌ها قبل در موسسه تحقیقات دیم مراغه مورد تحقیق و ارزیابی قرار گرفته بود (Roostaei *et al.,* 2003; Roostaei, 2008). آبیاری با سه سطح، آبیاری کامل (آبیاری معمولی)، قطع آبیاری در پنج روز پس از گلدهی (تنش شدید) و قطع آبیاری در مرحله پایان سنبله‌دهی (تنش متوسط) در کرت‌های اصلی و ۱۴ رقم گندم پاییزه در کرت‌های فرعی قرارگرفتند. کرت‌های اصلی دارای ابعاد ۹×۲ متر بودند و در کل آزمایش ۱۶۸ واحد آزمایشی وجود داشت. هر واحد آزمایشی شامل سه ردیف دو متری به فاصله ۱۹ سانتی-متر بین ردیف‌ها و فاصله بذرها در داخل ردیف‌ها تقریبا دو سانتی‌متر بود.

صفات مورد مطالعه شامل عملکرد دانه (کیلوگرم در هکتار)، تعداد دانه در سنبله، وزن هزار دانه (گرم)، تعداد پنجه بارور، ارتفاع بوته (سانتی‌متر)، طول سنبله اصلی (سانتی‌متر)، طول ریشک (سانتی‌متر)، بیوماس (کیلوگرم در هکتار)، شاخص برداشت، تعداد روز تا ظهور سنبله، تعداد روز تا گلدهی، تعداد روز تا رسیدگی فیزیولوژیک و طول دوره پر شدن دانه (روز) بودند. برای اندازه‌گیری عملکرد دانه و بیوماس، به ترتیب عملکرد دانه و عملکرد بیولوژیک (مجموع عملکرد دانه و کاه) موجود در دو خط دو متری (یعنی با سطح برداشت ۰/۸ مترمربع) اندازه‌گیری و سپس به کیلوگرم در هکتار تبدیل شد و سپس شاخص برداشت از نسبت عملکرد دانه به بیوماس به دست آمد و برحسب درصد بیان شد. برای اندازه‌گیری تعداد دانه در سنبله، وزن هزار دانه، تعداد پنجه بارور، ارتفاع بوته، طول سنبله اصلی، طول ریشک از تعدادی بوته تصادفی در هر کرت استفاده شد. برای اندازه‌گیری تعداد روز تا گلدهی و رسیدگی نیز، تعداد روز از کاشت بذر تا زمانی که ۵۰ درصد از بوته‌های هر کرت به مرحله گلدهی یا رسیدگی رسیدند، اندازه‌گیری شد.

برای ارزیابی واکنش ژنوتیپ‌ها و تعیین مقاومت و حساسیت آن‌ها به تنش خشکی، از شاخص‌های زیر استفاده شد: شاخص میانگین حسابی عملکرد (MP) که میانگین عملکرد رقم را در دو محیط نشان می‌دهد (Rosielle and Hamblin, 1981)، شاخص میانگین هندسی عملکرد (GMP) که برخلاف میانگین حسابی به داده‌های استثنایی با مقادیر بسیار کم یا بسیار بالا حساسیت چندانی ندارد (Fernandez, 1992)، شاخص تحمل به تنش (STI) که با عملکرد بالای گیاه در هر دو محیط ارتباط دارد و این شاخص گزینش را به طرف ژنوتیپ‌هایی سوق می‌دهد که هم عملکرد بالایی دارند

و هم تحمل به تنش زیادتری دارند (Fernandez, 1992) و شاخص تحمل (TOL) که عبارت است از اختلاف عملکرد یک ژنوتیپ در محیط و محیط تنش‌دار و مقادیر بالای این شاخص نشان دهنده حساسیت به تنش است (Rosielle and Hamblin, 1981). شاخص‌های فوق از طریق رابطه‌های زیر محاسبه شدند:

$$TOL = Yp - Ys \quad (۱)$$

$$MP = (Ys+Yp)/2 \quad (۲)$$

$$GMP = (Yp*Ys)^{1/2} \quad (۳)$$

$$STI = (Ys* Yp)/(\quad)^2 \quad (۴)$$

در این رابطه، Yp عملکرد دانه یک ژنوتیپ در شرایط بدون تنش، Ys عملکرد دانه همان ژنوتیپ در شرایط تنش و میانگین عملکرد کل ژنوتیپ‌ها در شرایط بدون تنش می‌باشد.

برای بررسی الگوی گلوتنین‌های ذخیره‌ای دانه ارقام مورد مطالعه، دانه‌های برداشت شده از تکرارهای مختلف هر رقم مخلوط و سپس چند دانه تصادفی از هر رقم انتخاب و پس از پوست‌گیری، دانه‌ها آرد شدند. از آرد حاصل به میزان ۲۰ تا ۵۰ میلی گرم (بر حسب میزان پروتئین بذر) در نیم میلی‌لیتر محلول عصاره‌گیری (۰/۶۱ گرم تریس به همراه ۲/۹۳ گرم کلرید سدیم در مقداری آب مقطر حل شده و بعد از تنظیم pH با HCl یک نرمال، حجم نهایی با آب مقطر به ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد) اضافه و بعد از گذشت یک ساعت به دفعات هم زده شد (Payne and Lawernce, 1983). این محلول بسته به نوع بذر ، ۱۲ – ۲ ساعت در دمای اتاق نگهداری شد تا پروتئین های محلول در الکل فرصت کافی برای جدا شدن از بافت‌ها را داشته باشند. سپس به مدت ۲۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ انجام و فاز مایع حاوی پروتئین‌های محلول با ثبت مشخصات هر نمونه در یخچال نگهداری شد. الکتروفورز پروتئین‌های ذخیره‌ای گلوتنین ژنوتیپ‌های گندم مورد مطالعه با استفاده از ژل‌های پلی-آکریلامید ۱۰ درصد به ابعاد ۱۶*۱۳*۰/۲ سانتی‌متر و با ولتاژ ۳۰ میلی‌آمپر انجام شد. رنگ‌آمیزی ژل با TCA با اعمال اندکی تغییرات صورت گرفت (Laemmli, 1970).

تجزیه و تحلیل‌های آماری داده‌های مزرعه‌ای با استفاده از نرم افزارهای EXCEL، MSTATC و SPSS انجام پذیرفت و سپس امتیاز هر ژنوتیپ با استفاده از روش آروناچالام و باندیوپادهای (Arunachalam and Bandyopadhay, 1984) براساس نتایج حاصل از مقایسه میانگین صفات به دست آمد به طوری که برای میانگین-های دارای رتبه a امتیاز ۵، b امتیاز ۴، c امتیاز ۳، d امتیاز ۲ و e امتیاز ۱ در نظر گرفته شد و میانگینی که به فرض رتبه abc داشت، میانگین امتیازهای ۵، ۴ و ۳ یعنی ۴ دریافت کرد و نهایتاً با توجه به مجموعه امتیاز کلیه صفات، رتبه‌ی هر ژنوتیپ به دست آمد.

نتایج و بحث

تجزیه واریانس داده‌های حاصل از آزمایش مزرعه‌ای صفات مورد ارزیابی در ۱۴ ژنوتیپ گندم نشان داد که در صفات طول ریشک، تعداد روز تا رسیدگی، طول دوره‌ی پر شدن دانه و وزن هزار دانه بین سطوح متفاوت آبیاری در سطح احتمال یک درصد و در صفات بیوماس و عملکرد دانه، در سطح احتمال پنج درصد اختلاف معنی‌داری وجود داشت، در حالی که در صفات تعداد پنجه بارور، ارتفاع بوته، طول سنبله، تعداد روز تا سنبله دهی، تعداد روز تا گلدهی و شاخص برداشت، تفاوت بین رژیم‌های آبیاری غیرمعنی‌دار بود. همچنین اثر متقابل آبیاری×ژنوتیپ در تمام صفات غیرمعنی‌دار به‌دست آمد (جدول ۲). اهدایی و وینز (Ehdaie and Waines, 1997) نیز کاهش ارتفاع بوته را بر اثر تنش خشکی معنی‌دار نیافتند. نجارجان و همکاران (Nagarajan *et al.*, 1999) اثر معنی‌دار تنش رطوبتی روی عملکرد دانه در مراحل پایانی رشد گندم را گزارش کردند. شفازاده و همکاران (Shafazadeh *et al.*, 2004) اثر تنش خشکی در مرحله گرده‌افشانی را روی عملکرد دانه گندم معنی‌دار گزارش کردند.

بر اساس مقایسه میانگین‌ها (جدول۳)، ژنوتیپ ۱۲ بلندترین سنبله (۶/۲۶۲ سانتی‌متر) و ژنوتیپ ۱۱ کوتاه-ترین سنبله (۴/۱۹۰ سانتی‌متر) و عملکرد دانه را داشتند.

ژنوتیپ‌های ۱۲ و ۵ به ترتیب با ۲۳/۸۵ و ۲۱/۹۳ دانه، بیشترین و ژنوتیپ‌های ۲، ۱، ۱۴ و ۱۳ به ترتیب با ۱۳/۸۳، ۱۲/۷۶، ۱۲/۴۷ و ۶/۳۱۳ دانه، کمترین تعداد دانه در سنبله را داشتند. روستایی و همکاران (Roostaei *et al.*, 2003) بیان کردند که در صورت وجود رطوبت و مواد غذایی مناسب و قابل دسترس، ژنوتیپ‌هایی که طول سنبله زیاد و تعداد دانه در سنبله بیشتری دارند، عملکرد بالایی خواهند داشت. ژنوتیپ‌های ۱۴، ۸ و ۱ به ترتیب با ۶۲/۵۲، ۶۲/۲۷ و ۶۲ گرم، بیشترین و ژنوتیپ‌های ۱۰ و ۱۱ به ترتیب با ۳۹/۹۲ و ۴۲/۸۲ گرم، کمترین وزن هزار دانه را داشتند. تنش خشکی در طی پر شدن دانه معمولا وزن دانه را کاهش می‌دهد. این امر احتمالا به دلیل کاهش مواد پرورده برای رشد دانه‌ها است. کاهش تولید مواد پرورده نیز به کاهش فرایند فتوسنتزی مربوط می‌شود که با بسته شدن روزنه‌ها مرتبط است (Morgan, 1997). ژنوتیپ‌های ۱۴(شاهد سرداری)، ۶، ۳ و ۷ به ترتیب ۳۰۹۱، ۲۹۴۹، ۲۹۴۳ و ۲۹۰۰ کیلوگرم در هکتار، بیشترین عملکرد دانه را داشتند که به جز ژنوتیپ ۷ (گروه ژنوتیپ‌های بینابین)، بقیه ژنوتیپ‌ها جزء گروه ژنوتیپ‌های مقاوم بودند. ژنوتیپ-های ۹ و ۱۱ به ترتیب ۲۲۲۰ و ۱۴۴۸ کیلوگرم در هکتار کمترین عملکرد دانه را داشتند که هر دو جزء گروه ژنوتیپ‌های حساس محسوب می‌شوند. آقایی‌سربرزه و همکاران (Aghaee Sarbarzeh *et al.*, 2009) نیز اظهار کردند که رقم سرداری (ژنوتیپ شماره ۱۴در این مطالعه) دارای عملکرد دانه بالایی است.

با استفاده از روش آروناچالام و باندیوپادهای (Arunachalam and Bandyopadhay, 1984) نتایج حاصل از مقایسه میانگین صفات رتبه‌بندی شد (جدول۳). ژنوتیپ‌های ۵، ۶، ۷ و ۸ بالاترین رتبه‌ها را به خود اختصاص دادند که در گروه‌بندی اولیه، ژنوتیپ ۶ جزء گروه ژنوتیپ‌های مقاوم و ژنوتیپ‌های ۵، ۷ و ۸ جزء گروه ژنوتیپ‌های بینابین بودند. ژنوتیپ ۱۱ پایین‌ترین رتبه را داشت که از گروه ژنوتیپ‌های حساس بود. در تعیین بهترین شاخص مقاومت به خشکی، طبق نظر فرناندز (Fernandez, 1992) شاخصی که دارای همبستگی معنی‌دار و بالا با عملکرد دانه در هر دو شرایط تنش و بدون تنش باشد و از طرفی بر اساس نوع همبستگی، باعث افزایش عملکرد دانه در هر دو شرایط شود، به عنوان بهترین شاخص معرفی می‌شود. شاخص‌های MP، GMP و STI که همبستگی مثبت و معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد با عملکرد دانه در سطوح متفاوت آبیاری داشتند (جدول ۴)، به عنوان بهترین شاخص در این پژوهش بودند و احتمالا گزینش ژنوتیپ‌ها بر اساس آن‌ها باعث افزایش عملکرد دانه خواهد شد. در مقابل، همبستگی معنی‌داری بین شاخص TOL با عملکرد دانه در شرایط متفاوت آبیاری به دست نیامد (جدول ۴). احمدی و همکاران (Ahmadi *et al.*, 2006) نیز اظهار داشتند که شاخص-های MP، GMP و STI همبستگی مثبت معنی‌دار با عملکرد دانه و شاخصTOL دارای همبستگی منفی با عملکرد دانه در شرایط آبیاری متفاوت داشتند. با توجه به جدول ۵، از نظر شاخص‌های MP، GMP و STI ژنوتیپ-های ۶، ۳، ۷، ۱۴، ۱۲ و ۱ در سطح شدید خشکی (قطع آبیاری در پنج روز پس از گلدهی) و ژنوتیپ‌های۶، ۳، ۷، ۱۴، ۱۲، ۱، ۴ و ۸ در سطح متوسط خشکی (قطع آبیاری در مرحله پایان سنبله‌دهی) بالاترین مقادیر و بیشترین تحمل به تنش خشکی را داشتند و حساس‌ترین ژنوتیپ به تنش خشکی ژنوتیپ ۱۱ بود.

الکتروفورز به روش SDS-PAGE برای مطالعه پروتئین‌های گلوتنین بذر ژنوتیپ‌های گندم نیز به منظور تمایز احتمالی گروه‌های گندم نشان داد که هیچ‌کدام از پروتئین‌های گلوتنین به شکل چشمگیری از رژیم‌های آبیاری مختلف متاثر نشدند. با وجود این، در شرایط معمولی آبیاری تفاوت بارزی بین گروه‌های گندم مورد مطالعه مشاهده شد که در شکل ۱ ارائه شده است. بدین معنی که تمامی ارقام مقاوم به خشکی گندم از جمله گندم‌های شاهد آذر ۲ و سرداری نوار پروتئینی مشخصی داشتند، در حالی که کلیه ارقام حساس آن را نداشتند، ولی از بین ارقام بینابین برخی واجد این نوار و برخی فاقد آن بودند. ارتباط معنی‌دار اجزاء پروتئینی تشکیل دهنده گلوتن با کیفیت نانوایی گندم مورد بررسی‌های زیادی قرار گرفته است، این ارتباط بیشتر در بخش گلوتنین‌هایی با وزن مولکولی بالا (HMW) و نیز گلیادین‌ها متمرکز بوده‌اند

Bushuk, 1998; Takata *et al*., 2003; Deng *et al*.,) (2005; Pena, 2006; Valizadeh *et al*., 2009.

از آنجا که نوار متفاوت در گروه‌های گندم مرتبط با LMW هستند، شناخت کمتری از آن در اختیار است. بدیهی است برای شناخت دقیق‌تر اثر تنش روی پروتئین-های ذخیره‌ای و نیز شناخت این پروتئین مورد بحث به تحقیقات بیشتری از جمله مطالعه الگوی نواربندی گلیادین‌ها نیاز است.

جدول۱- فهرست ژنوتیپ‌های گندم مورد مطالعه

Table 1. List of studied wheat genotypes

شماره No	واکنش به خشکی Drought response	نام و شجره ژنوتیپ Name and genotype pedigree
1	مقاوم Resistance	Unknown-1
2	مقاوم Resistance	1-27-6149/Sabalan//84.40023
3	مقاوم Resistance	Ghafghaz//F9.10/Maya “s” IRW92-1-D-474-OMA-OMA-OMA-OMA-IMA-OMA
4	بینابین Intermediate	Manning/Sdv1//Dogu88
5	بینابین Intermediate	RECITAL/TIA.2//TRK13
6	مقاوم Resistance	DARIC 95-010-OMA-OMA-OMA-6MA-OMA
7	بینابین Intermediate	DARIC 95-010-OMA-OMA-OMA-8MA-OMA
8	بینابین Intermediate	Vrz/3/Orfl.148/Tdl//Bol/4/ Sabalan
9	حساس Sensitive	HK16/7/KVZ/TI71/3/MAYA//BB/INIA/4/KAR ICWH99034-0AP-0AP-0AP-OMAR-6MAR
10	حساس Sensitive	FKG13/4/NWT/3/TAST/SPRW// TCI98—0139-0AP-0AP-OMAR-5MAR
11	حساس Sensitive	JANZ QT3685-0AUS
12	حساس Sensitive	RINA-11
13	شاهد Check	Azar-2
14	شاهد Check	Sardari

جدول ۲- تجزیه واریانس صفات مورد ارزیابی ژنوتیپ‌های گندم پاییزه در شرایط مختلف آبیاری

Table 2. Analysis of variance for studied traits of winter wheat genotypes in different irrigation conditions

Source of variation	منابع تغییر	درجه آزادی df	میانگین مربعات Main square						
			پنجه بارور Fertile tiller	ارتفاع بوته (سانتی‌متر) Plant height (cm)	طول سنبله (سانتی‌متر) Spike length (cm)	طول ریشک (سانتی‌متر) Awn length (cm)	تعداد دانه در سنبله Grain number per spike	بیوماس (کیلوگرم در هکتار) Biomass ($Kg.ha^{-1}$)	وزن هزار دانه (گرم) 1000 Kernel weight (gr)
Replication	تکرار	3	0.432	245.982	2.72	0.74	37.131	0.063	53.946
Irrigation	آبیاری	2	0.464	117.104	1.395	1.416**	34.527	0.674*	551.850**
Error 1	خطای (۱)	6	0.702	183.319	3.18	0.03	49.057	0.136	26.44
Genotype	ژنوتیپ	13	1.011**	483.895**	2.73**	47.939**	159.421**	0.174**	757.109**
Genotype × Irrigation	آبیاری×ژنوتیپ	26	0.385	35.74	0.776	0.452	12.786	0.014	13.371
Error 2	خطای (۲) آزمایش	117	0.272	32.36	0.647	0.353	12.616	0.016	13.926
CV (%)	ضریب تغییرات (درصد)		28.68	8.62	14.78	11.08	21.39	17.78	6.93

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

* و **: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪.

ادامه جدول ۲

S.V	منابع تغییر	درجه آزادی df	شاخص برداشت (درصد) Harvest index (%)	عملکرد دانه (کیلوگرم در هکتار) Grain Yield (Kg.ha^{-1})	تعداد رو زتا گلدهی Days to flowery	تعداد روز تا رسیدگی Days to physiological maturity	طول دوره پرشدن دانه (روز) Grain filing duration (Day)
			میانگین مربعات صفات Mean square				
Replication	تکرار	3	248.674	0.029	6.262	28.802	48.206
Irrigation	آبیاری	2	52.845	0.117*	9.042	2784.929**	2652.720**
Error 1	خطای(۱)	6	64.032	0.02	18.256	34.778	46.784
Genotype	ژنوتیپ	13	81.783**	0.020**	57.403**	14.637	31.626**
Genotype×Irrigation	آبیاری×ژنوتیپ	26	47.166	0.003	2.08	7.409	12.842
Error 2	خطای (۲)	117	36.577	0.003	1.937	8.632	10.809
CV(%)	ضریب تغییرات (درصد)		16.35	22.49	0.62	1.08	6.67

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

*و**: به ترتیب بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪.

جدول ۳- مقایسه میانگین صفات مورد بررسی به روش دانکن ($p<0/05$) و رتبه بندی به روش آروناچالام وباندیوپادهای (Arunachalam and Bandyopadhay, 1984)

Table 3. Mean comparison of studied traits by Duncan's procedure ($p< 0.05$) and their ranking according to Arunachalam and Bandyopadhay (1984)

ژنوتیپ Geno-types	پنجه بارور Fertile tiller	ارتفاع بوته (سانتی‌متر) Plant height (cm)	طول سنبله (سانتی‌متر) Spike length (cm)	طول ریشک(سانتی‌متر) Awn length (cm)	تعداد دانه در سنبله Grain number - spike	بیوماس (کیلوکرم در هکتار) Biomass ($Kg.ha^{-1}$)	عملکرد دانه (کیلوگرم در هکتار) Grain Yield ($Kg.ha^{-1}$)	وزن هزار دانه (گرم) 1000 kernel weight (g)	تعداد روز تا رسیدگی Days to physiological maturity	تعداد روز تا گلدهی Days to flowering	طول دوره پر شدن دانه (روز) Grain filling duration (Day)	شاخص برداشت (درصد) Harvest index (%)	رتبه Rank
1	2.273a	66.94bcde	5.373ab	5.981bc	12.47e	7042bcd	2692abc	62a	215.3c	224.8c	50.08bc	37.83ab	32
2	1.872abc	68abcde	5.659ab	1.188d	12.76e	6073d	2386bc	57.29b	214.8bc	222.9ab	49.58bc	39.70ab	29
3	1.760abc	74.20a	5.424ab	7.19a	16.73cde	8826a	2943ab	56.86b	218.3e	226.9d	48.17abc	33.40b	32
4	1.524bc	62.12de	5.437ab	7.512a	18.03bcd	7918ab	2585abc	51.07c	215.6cd	223.2ab	48.67abc	33.30b	34.5
5	1.637abc	69.6abc	5.688ab	6.012bc	21.93ab	6934bcd	2494abc	48.41cd	212.2a	222.1a	49.75bc	35.94ab	36
6	2.072ab	67.4abcde	5.222b	5.753bc	14.44de	7396abcd	2949ab	60.72ab	211.8a	222.4ab	50.83c	39.55ab	35
7	1.829abc	68.9abcd	5.44ab	5.653bc	15.38de	7604abcd	2900ab	59.23ab	212.4a	222.4ab	49.33abc	63.37ab	36
8	2.098ab	69.72abc	5.239b	5.86bc	14.57de	6927bed	2526abc	62.27a	211.4a	221.9a	50.67c	36.63ab	35
9	1.788abc	64.71cde	5.947ab	6.247b	20.33abc	6178ed	2220c	46.91de	212.8ab	222.3ab	50.42c	35.51ab	32
10	1.418c	66.28bcde	5.831ab	5.448c	19.77bc	6708bcd	2508abc	39.99f	212.9ab	222.6ab	49.92bc	37.63ab	30
11	1.572bc	47.86f	4.19c	5.476c	15.01de	3760e	448d	42.82ef	216.3cde	223.8bc	49.75bc	41.15a	20.5
12	1.302c	72.59ab	6.262a	0.535e	23.85a	8240ab	2754abc	44.63de	220.8f	228.8e	45.67a	33b	26
13	2.076ab	64.02cde	5.132b	5.863bc	13.83e	7094bcd	2580abc	58.93ab	212.4a	222.1a	50.75c	44.36ab	34
14	2.075ab	61.35e	5.332ab	6.313b	6.313e	7700abc	3091a	62.52a	217.5be	226.6d	46.08ab	40.09ab	32.5

Means with the same letter in each column are not significantly different. میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشابه در هر ستون اختلاف معنی‌داری ندارند.

جدول۴- همبستگی بین شاخص‌های مقاومت به خشکی با عملکرد دانه در شرایط تنش و آبیاری معمولی

Table 4. Correlations between drought resistance indices and seed yield under stress and normal irrigation conditions

شاخص † Index †	همبستگی عملکرد دانه با Correlation of yield with		
	آبیاری معمولی Normal irrigation	تنش متوسط Temperate stress	تنش شدید Sever stress
TOL	0.261	-0.325	-0.493
MP	0.955**	0.957**	0.919**
STI	0.939**	0.961**	0.744**
GMP	0.951**	0.961**	0.942**

*و**: معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪

† شاخص‌ها عباتند از: TOL: شاخص تحمل، MP: میانگین حسابی عملکرد، STI: تحمل به تنش، GMP: میانگین هندسی عملکرد

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

†TOL: Tolerance, MP: Mean productivity, STI: Stress Tolerance Index, GMP: Geometric Mean Productivity

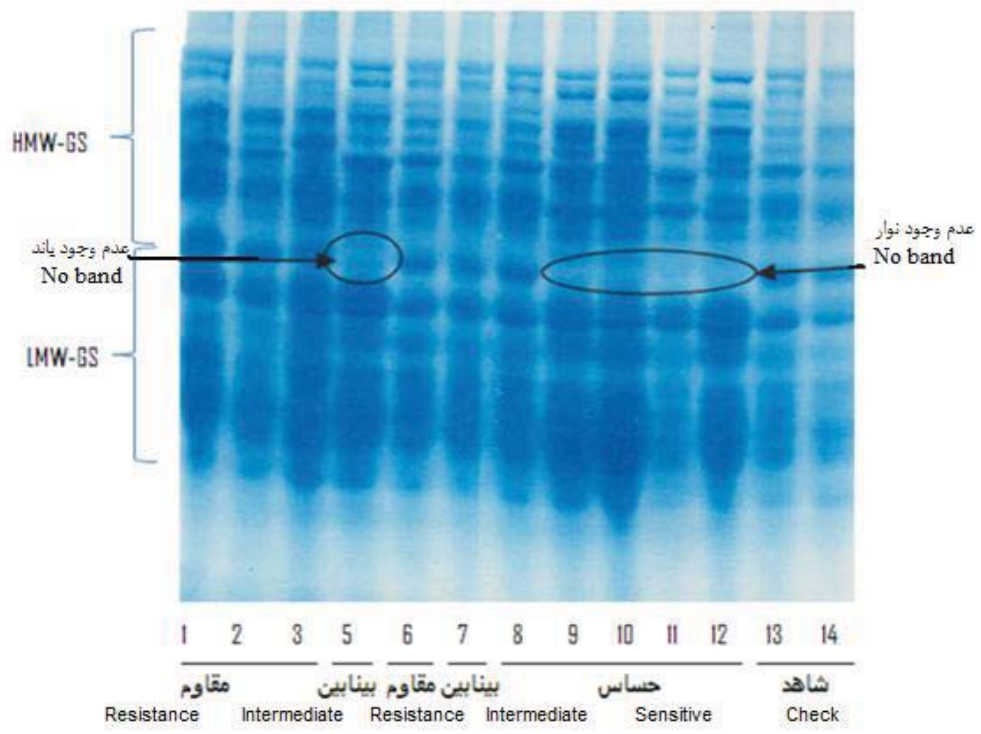
جدول۵- برآوردشاخص‌های مقاومت به خشکی ژنوتیپ‌های گندم بر اساس عملکرد دانه

Table 5. Drought resistance indices estimated for wheat genotypes based on seed yield

ژنوتیپ Genotypes	تنش متوسط Temperate stress				تنش شدید Sever stress			
	GMP	STI	MP	TOL	GMP	STI	MP	TOL
1	2533	0.715	2629	1410	3064	1.047	3075	517
2	2122	0.502	2171	917	2720	0.825	2721	-182
3	2781	0.862	2826	1006	3252	1.179	3253	152
4	2764	0.852	2765	132	2509	0.702	2527	606
5	2492	0.693	2529	861	2678	0.800	2691	538
6	2753	0.845	2793	935	3260	1.185	3260	1
7	2788	0.867	2868	1343	3238	1.169	3251	578
8	2650	0.783	2652	205	2503	0.698	2514	480
9	2129	0.505	2174	882	2458	0.673	2463	305
10	2302	0.591	2361	1050	2842	0.901	2842	87
11	1280	0.183	1372	988	1727	0.332	1732	269
12	2654	0.785	2736	1330	3079	1.057	3094	614
13	2569	0.090	2624	1068	2804	0.876	2824	669
14	3067	1.049	3080	562	3234	1.166	3236	251

اسامی ژنوتیپ‌ها در جدول ۱ و اسامی شاخص‌های مقاومت به خشکی در جدول ۴ ارائه شده‌اند.

Names of genotypes and drought resistance indices are shown in Tables 1 and 4, respectively.



شکل ۱- الکتروفورگرام SDS-PAGE گلوتنین دانه درگروه‌های مختلف ژنوتیپ‌های گندم.

Figure 1. SDS-PAGE electrophoregrams of seed glutenin for different groups of wheat genotypes.

References

Adriaanse, A., Klop, W. and Robbers, J. E. 1969. Characterization of *Phaseolus vulgaris* by their electrophoretic patterns. **Journal of Science of Food and Agriculture** 20: 647-650.

Aghaee Sarbarzeh, M., Rostaei, M., Mohammadi, R., Haghparast, R. and Rajabi, R. 2009. Determination of drought tolerant genotypes in bread wheat. **Electronic Journal of Crop Production** 2: 1-23. http://www.magiran.com/view.asp?Type=pdf&ID=6302_45&l=fa. (In Persian).

Ahmadi, A., Saeedi, M. and Zalli A. A. 2006. Drought resistance and its relation with yield, leaf area crop growth rate during reproductive stage in bread wheat genotypes with different breeding background. **Electronic Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources** 12:82-90. http://hamkelasy.com/files/pdfarticles/keshavarzi/5141384v108_(www.hamkelasy.com).pdf. (In Persian).

Arunachalam, V. and Bandyopadhay, A. 1984. A method to make decisions jointly on a number of dependent characters. **Indian Journal of Genetics** 44: 419-424.

Bewley, J. D. and Larsen, K. M. 1982. Differences in the responses to water stress of growing and non growing regions of maize mesocotyls, protein synthesis on total, free and membrane bound polyribosome fractions. **Journal of Experimental Botany** 33: 406-415.

Bushuk, W. 1998. Wheat breeding for end-product use. **Euphytica** 100: 137-145.

Chaves, M. M. and Oliveira, M. M. 2004. Mechanisms underlying plant resistance to water deficits: Prospects for water-saving agriculture. **Journal of Experimental Botany** 407: 2365-2385.

Christiansen, M. N. and Lewis, C. F. 1982. Breeding Plants for Less Favorable Environments.
Daniel, C. and Triboi, E. 2000. Effects of temperature and nitrogen nutrition on the grain composition of winter wheat: Effects on gliadin content and composition. **Journal of Cereal Science** 32: 45-56.
Deng, Z. Y., Tion, J. C. and Sun, G. X. 2005. Influence of high molecular weight glutenin subunit substitution on rheological behaviour and bread-making quality of near-isogenic lines developed from Chinese wheats. **Plant Breeding** 124 (5): 428-431.
Driedger, D. R., Wa S. B. M., Hussein, A. and Elias, L. G. 1994. Isozyme and cotyledon protein for identification of black beans (*Phaseolus vulgaris* L.) with similar seed morphology. **Euphytica** 74: 27-34.
Ehdaie, B. and Waines, J. G. 1997. Growth and evaporation efficiency in landrace and dwarf spring wheats. **Journal of Genetics and Breeding** 51: 201-209.
Fernandez, G. C. J. 1992. Effective selection criteria for assessing plant stress tolerance. Proceeding of a Symposium. Taiwan. 13-18Aug. pp. 257-270.
Fischer, R. A. and R. Maurer. 1978. Drought resistance in spring wheat cultivars. I. Grain yield responses. **Australian Journal of Agricultural Research** 29: 897-912.
Flowers, T. J., Koyama, M. L., Flowers, S. A., Sudhakar, C., Singh, K. P. and Yeo, R. A. 2000. QTL: Their place in engineering tolerance of rice to salinity. **Journal of Experimental Botany** 51: 99-106.
Laemmli, U. K. 1970. Cleavage of Structural Proteins During the Assembly of the Head of Bacteriophage T4. **Nature** 227: 680-685.
Mohammadkhani, N. and Heidari, R. 2008. Effects of drought stress on soluble proteims in two maize varieties. **Turkish Journal of Biology** 32: 23-30.
Morgan, J. M. 1977. Changes in diffusive conductance and potential of wheat plants before and after anthesis. **Australian Journal of Plant Physiology** 4: 75-86.
Morris, M. L., Blaid, A. and Byerlee, D. 1991. Wheat and barley production in rainfed marginal environments of the developing world. Part I of 1990-91 CIMMYT world wheat facts and trends: Wheat and barley production in rainfed marginal environments of the developing world. Mexico, D. F. CIMMYT. 51p.
Nagarajan, S., Mahes-wari, M. and Gembhir, P. N. 1999. Effect of postanthesis water stress on accumulation of dry matter, carbon, nitrogen and their partitioning in wheat varieties differing in drought tolerance. **Crop Science** 183: 129-136.
Passioura, J. 2007. The drought environment: physical, biological and agricultural perspectives. **Journal of Experimental Botany** 2: 113-117.
Payne, P. L. and Lawernce, G. S. 1983. Catalogue of alleles for the complex gene loci. Glu-A1, Glu-B1 and Glu-D1 which code for high-molecuar wight subunit of glutenin in hexaploid wheat. **Cereal Research Communication** 11: 29-35.
Pena, R. J. 2006. Wheat for bread and other foods. FAO Cooperative Document Repository. www. fao. org/docrep/htm: 1-14.
Richards, R. A. 1996. Defining selection criteria to improve yield under drought. **Plant Growth Regulation** 20: 157-166.
Richards, R. A., Condon, A. G. and Rebetzke, G. J. 2001. Traits to improve yeild in dry environments. pp. 88-100. In: Reynolds, M. P., Ortizmonasterio, J. I. and McNab, A. (eds.). Application of Physiology in Wheat Breeding. Mexico, D. F. CIMMYT.
Roostaei, M. 2008. Genetic analysis of drought tolerance in wheat by morph ohysiological traits and molecular analysis. Thesis Submitted PhD Degree in Plant Breeding. Science and Research Unit.
Roostaei, M., Sadeghzadeh, D., Esmailzadeh, H. and Arshad, Y. 2003. Assessment to relationships of yield related traits in dry conditions using factor analysis method. **Electronic Journal of Agricultural Science** 13: 1-10. http://www.sid.ir/fa/ViewPaperF_a.asp?_ID=2535&varStr=2. (In Persian).

Rosielle, A. A., and Hamblin, J. 1981. Theoretical aspects of selection for yield in stress and non-stress environments. **Crop Science** 21: 943-946.

Shafazadeh, M.K., Yazdansepas, A., Amini, A. and Ghanadha, M. 2004. Evalution of terminal drought tolerance in promising winter and facultative wheat genotypes using stress susceptibility and tolerance indices. **Electronic Journal of Seed and Plant improvement** 20: 57-71. http://spij.spii.ir/browse.php?a_code=A-10-1-31&slc_lang =fa&sid=1. (In Persian).

Siddique, B. J., Peacock, M. and Struik, P. C. 1993. Differences in developmental plasticity and growth rate among drought resistant and susceptible cultivars of durum wheat. **Plant and Soil** 157: 155-166.

Takata, K., Nishio, Z., Funatsuki, W., Kawabara, T. and Yamauchi, H. 2003. Difference in canbimation between *Glu-B1* and *Glu-D1* alleles in bread-making quality using near-isogenic lines. **Food Science and Technology Research** 9 (1): 67-72.

Trethowan, R. M. and Reynolds, M. 2007. Drought resistance: Genetic approaches for improving productivity under stress. pp. 289-299. In: Buck H. R. *et al*. (Eds.): Wheat Production in Stressed Environments. Springer, Netherlands.

Valizadeh, M., Badakhshan, H., Sufalian, O., Nasralahzadeh, S. and Piyareshfar, B. 2009. Relationships between gliadins and bread making qualities in winter and spring wheat cultivars of northwest of Iran, compared to improved varieties**. Iranian Journal of Field Crop Science** 40 (4): 91-102. (In Persian).

Vij, S. and Tyagi, A. K. 2007. Emerging trends in the functional genomics of the abiotic stress response in crop plants**. Journal of Plant Biology** 5: 361-380.

Zhang, X., Chen, X., Wu, Z., Zhang, X., Hung, C and Cao, M. 2005. A dwarf weaht mutant is associated with increased drought resistance and altered responses to gravity. **African Journal of Biotechnology** 10: 1054-1057.

Zhao, CH, Liu, l., Wang, J., Huang, W., Song, X. and Li, C. 2005. Predicting grain protein content of winter wheat using remote sensing data based on nitrogen status and water stress. **International Journal of Applied Earth Observation and Geoinformation** 7: 1-9.

Response of advanced winter wheat genotypes to drought stress using agronomic traits and protein patterns

Mostafa Valizadeh[1*], Zaynab Mahmoodian[2] , Hosein Mohammadzadeh Jalaly [2], Abdolali Ghafari[3] and Mozafar Roostaei [3]

1, 2. Professor and Graduate Students, Faculty of Agriculture, Tabriz University, 3. Staff Members, Maragheh Dryland Agricaltural Research Institute

(Received: September 27, 2011- Accepted: December 26, 2011)

Abstract

To study the effect of drought stress on agronomic characteristics of advanced wheat varieties, a split plot experiment with four replications was performed. Three levels of irrigations and twelve winter wheat genotypes (four resistant, four intermediate and four sensitive genotypes to drought) with two varieties, Azar2 and Sardari (as checks), were considered as the main and sub factors, respectively. The analysis of variance in three different irrigation conditions showed significant differences for awn length, days to physiological maturity, grain filling duration, 1000 kernel weight, biomass and grain yield. In sever stress (non irrigation after heading) significant decrease in grain filing duration, days to physiological maturity, 1000 kernel weight and biomass, but significant increase in awn length were observed. Differences between genotypes for all characteristics were significant. Interaction of genotype × irrigation type for all characteristics was not significant. Genotypes 3 (Ghafghaz//F9.10/Maya "s" IRW92-1-D-474-OMA-OMA-OMA-OMA-IMA-OMA), 6 (DARIC 95-010-OMA-OMA-OMA-6MA-OMA), 14 (Sardari), which were most resistant genotype to drought stress, produced the highest yield. The calculation of GMP, MP and STI showed positive and significant correlations with grain yield in both stress and non stress conditions, it obviously indicated that genotypes 1 (Unknown-1), 3 (Ghafghaz//F9.10/Maya "s" IRW92-1-D-474-OMA-OMA-OMA-OMA-IMA-OMA), 6 (DARIC 95-010-OMA-OMA-OMA-6MA-OMA), 7 (DARIC 95-010-OMA-OMA-OMA-8MA-OMA), 12 (RINA-11), and 14 (Sardari) had the greatest resistance, and genotype 11 (JANZ QT3685-0AUS) was the most sensitive to drought. The method of SDS-PAGE for glutenin storage proteins indicated that the genotypes which are sensitive lack a low molecular weight glutenin, but the above-mentioned protein was present both in all drought resistant genotypes and in the majority of intermediate wheat genotypes.

Keywords: Drought stress, Protein marker, Resistance index, Wheat

*Corresponding author: mvalizadeh@tabrizu.ac.ir