مجله به‌زراعی نهال و بذر
جلد ۲-۲۵ ، شماره ۳، سال ۱۳۸۸

مقاله کوتاه علمی

مطالعه تغییر محتوی پرولین، خسارت غشاء سلولی و تحمل به تنش خشکی در ژنوتیپ های گندم دوروم (*Triticum turgidum* var. durum) در شرایط کنترل شده

Evaluation of Proline Content, Cell Membrane Damage, and Drought Tolerance in Durum Wheat (*Triticum turgidum* var. durum) Genotypes under Controlled Conditions

مصطفی آقائی سربرزه[۱]، رحمن رجبی[۲] ، رضا حق‌پرست[۳] و رضا محمدی[۴]

۱- دانشیار موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج.
۲- پژوهشگر، موسسه تحقیقات کشاورزی دیم، سرارود، کرمانشاه.
۳- استادیار، موسسه تحقیقات کشاورزی دیم، سرارود، کرمانشاه.
۴- مربی پژوهش، موسسه تحقیقات کشاورزی دیم، سرارود، کرمانشاه.

تاریخ دریافت: ۱۳۸۶/۹/۱۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۷/۱۲/۱۵

آقائی سربرزه، م.، رجبی، ر.، حق‌پرست، ر.، و محمدی، ر. ۱۳۸۷. مطالعه تغییر محتوی پرولین، خسارت غشاء سلولی و تحمل به تنش خشکی در ژنوتیپ های گندم دوروم (*Triticum turgidum* var. durum) در شرایط کنترل شده . **نهال و بذر** ۲-۲۵ (۳): ۳۵۲-۳۴۵.

واکنش گیاهان به تنش خشکی به صورت‌های مختلفی از جمله پاسخ‌های فیزیولوژیک کوتاه مدت نمود پیدا می‌کند (Pessarkli, 1999). مطالعه واکنش‌های فوق در گیاهان زراعی از جمله گندم در شرایط بدون تنش و تنش می‌تواند به شناسایی سازوکارهای موثر در سازگاری به تنش خشکی کمک کند.

اصلاح گندم برای تحمل به خشکی فرآیندی زمان بر و مشکل است، معمولاً ژنوتیپ‌های گندم را بر اساس آزمایش‌های مقایسه‌ای در محیط‌های مختلف

آدرس پست الکترونیکی نگارنده مسئول: maghaee@yahoo.com

ارزیابی می‌نمایند. شاخص‌های ارزیابی تحمل به تنش متعددی پیشنهاد شده و مورد استفاده قرار گرفته‌اند (Fernandez, 1992; Naderi *et al.*, 1999). نقاط ضعف و قوت هر یک از این شاخص‌ها توسط محققین زیادی نیز مورد نقد و بررسی قرار گرفته‌اند (Naderi *et al.*, 1999; Gill, 1999). روش‌های غربال ژنوتیپ‌ها که اساس فیزیولوژیک داشته باشند را می‌توان برای گزینش مواد والدین یا غربال سریع جمعیت‌های در حال تفرق استفاده نمود (Winter *et al.*, 1988) بدین منظور لازم است جنبه‌های فیزیولوژیک تحمل به خشکی که با پایداری عملکرد در شرایط تنش مرتبط هستند مطالعه نمود و صفات مناسب را برای گزینش استفاده نمود (Mohammadi *et al.*, 2006).

مهم‌ترین شاخص مقاومت به خشکی مورد استفاده در برنامه‌های به‌نژادی گندم ارزیابی عملکرد دانه در شرایط آبیاری و تنش است، اما در صورت شناسایی مبانی فیزیولوژیک سازگاری به خشکی، به‌نژادگران می‌توانند از این شاخص‌ها نیز به عنوان گزینش در جمعیت‌ها استفاده کنند. خصوصیات بیوشیمیایی مانند محتوای اسید آمینه پرولین می‌تواند در تعیین ارقام مقاوم به خشکی مورد استفاده قرارگیرد (Martine *et al.*, 1993; Teulate *et al.*, 1997). افزایش غلظت این اسید آمینه که به تنظیم اسمزی کمک می‌کند. پرولین در تمام اندام‌های گیاه سالم در طی تنش خشکی تجمع می‌یابد. با این وجود تجمع به طور گسترده‌تر و سریع‌تر در برگ‌ها ظاهر می‌شود. پایداری غشا سلولی تحت تنش رطوبتی نیز به عنوان یک شاخص تحمل به خشکی مهم بیان شده است. میزان خسارت به غشاهای سلولی را می‌توان از طریق اندازه‌گیری الکترو لیکیج (Electro leakage) سلول‌ها (نشت سلولی) ارزیابی نمود (Fokar *et al.*, 1998).

در این بررسی ۲۲ ژنوتیپ و رقم گندم دوروم تحت شرایط گلخانه در ایستگاه تحقیقات کشاورزی دیم سرارود، کرمانشاه در سال زراعی ۸۴-۱۳۸۳ مورد ارزیابی قرار گرفتند. ژنوتیپ‌های مورد مطالعه شامل ۵ رقم بومی غرب کشور (ژنوتیپ‌های شماره ۱، ۳، ۸، ۹، ۱۰ و ۱۴)، ۳ رقم سیمره، Marvoid و Garagilchik (ژنوتیپ‌های شماره ۱۱، ۱۲ و ۱۳)، دوازده لاین به‌نژادی و یک رقم محلی (زردک بعنوان شاهد) بودند.

ژنوتیپ‌های گندم دوروم در قالب آزمایش فاکتوریل با طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار ارزیابی شدند. عامل اول شامل دو رژیم رطوبتی (بدون تنش رطوبتی و تنش رطوبتی در زمان گلدهی) و عامل دوم ژنوتیپ‌های گندم دوروم بودند. دمای شب و روز گلخانه به ترتیب ۱۸ و ۲۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد و نور تکمیلی به وسیله لامپ‌های فلورسنت و معمولی تا ۱۶ ساعت روشنایی در هر شبانه‌روز تأمین شد. کلیه گلدان‌ها روزانه تا

رسیدن به ظرفیت زراعی آبیاری شدند. تنش خشکی در مرحله گلدهی اعمال گردید. صفات مورد نظر بر روی برگ پرچم بوته‌های موجود در گلدان‌های شاهد (بلا فاصله پس از آبیاری) و تنش (۱۰روز پس از توقف آبیاری) اندازه‌گیری شدند.

شاخص تحمل به تنش (STI) (Fernandez, 1992)، درصد خسارت به غشاء سلولی و میزان پرولین با استفاده از نمونه‌های برگی در آزمایشگاه تعیین گردید (Bates *et al.*, 1973). درصد خسارت به غشاء سلولی در مرحله گرده‌افشانی با تهیه دیسک‌هائی از برگ در هر گلدان اندازه‌گیری شد (Blum and Ebercon, 1981). تجزیه و تحلیل داده‌های بدست آمده با استفاده از نرم‌افزارهای MSTAT-C، SPSS و EXCEL و بر اساس موازین طرح آماری مورد استفاده انجام شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ انجام گردید.

تجزیه واریانس و مقایسه میانگین برای صفات مورد نظر به ترتیب در جداول ۱ و ۲ درج شده‌اند. اثر اصلی عامل‌ها (ژنوتیپ‌ها و تنش) بر روی تمام صفات بسیار معنی‌دار بودند که بیانگر تفاوت سطوح مختلف این دو عامل از لحاظ این سه صفت می‌باشد. معنی‌دار شدن اثر متقابل ژنوتیپ×تنش بیانگر تفاوت واکنش ژنوتیپ‌های مختلف به سطوح متفاوت تنش می‌باشد (جدول ۱). با توجه به میانگین صفات به ویژه وزن دانه در سنبله، وزن ریست توده، و وزن ۱۰۰ دانه ملاحظه می‌شود که تنش باعث کاهش قابل ملاحظه‌ای در کمیت صفات نسبت به شرایط بدون تنش شده است (جدول ۲).

تفاوت ژنوتیپ‌ها برای شاخص تحمل تنش (STI) قابل ملاحظه بود (جدول ۲). بر اساس این شاخص لاین‌های ۱۲, ۱۳و۲۱ که دارای STI بیشتر از بقیه بودند به عنوان لاین‌های متحمل و لاین‌های ۲،۳،۱۱،۶،۴و۱۴ با STI کمتر به عنوان لاین‌های حساس به خشکی و سایر لاین‌ها با درجه‌ای از تحمل به خشکی ارزیابی شدند. در صورتی که به سایر صفات و بویژه میزان پرولین و خسارت به غشاء سلولی توجه شود ملاحظه می‌گردد که بر این اساس نیز می‌توان تا حد زیادی به تحمل و حساسیت ژنوتیپ‌ها پی برد (جدول ۲). اختلال در انتقال کربوهیدرات‌ها به دانه ممکن است مهمترین دلیل کاهش وزن دانه در شرایط تنش باشد. بدلیل اینکه وزن دانه تا حدودی از طول دوره پر شدن دانه متاثر می‌شود. مقایسه وزن صد دانه در این ژنوتیپ‌ها در دو شرایط تنش و بدون تنش این موضوع را نمایان می‌سازد (جدول ۲).

بررسی نتایج نشان داد که ژنوتیپ‌های مورد مطالعه از لحاظ میزان پرولین برگ در شرایط تنش و بدون تنش اختلاف زیادی داشتند. به طوری که میزان پرولین برگ در شرایط تنش بمراتب بیشتر از شرایط بدون تنش رطوبتی بود (جدول ۲).

تنظیم اسمزی نوعی ساز و کار اجتناب از تنش می‌باشد (Kao, 1981). تئولت و همکاران

جدول۱- تجزیه واریانس اثر تنش خشکی بر وزن دانه در سنبله (گرم)، وزن زیست توده دربوته (گرم)، وزن ۱۰۰ دانه و غلظت پرولین در گندم دوروم در شرایط گلخانه.

Table 1. Analysis of variance for grain weight/spike, plant biomass, 100 seed weight, and proline content in durum wheat as affected by drought stress under greenhouse conditions

			میانگین مربعات Mean Square			
S.O.V.	منابع تغییرات	درجه آزادی df.	وزن دانه درسنبله Grain weight /spike	وزن زیست توده در بوته Biomass/plant	وزن ۱۰۰ دانه 100 grain weight	غلظت پرولین Proline content
Replication	تکرار	2	0.005^{ns}	13.071**	0.345^{ns}	0.319*
Genotype (G)	ژنوتیپ	21	0.735**	23.31**	65.382**	1.596**
Stress (S)	تنش	1	9.249**	334.759**	1.911**	136.284**
G × S		21	0.523**	5.205**	2.162**	2.34**
Error	اشتباه	86	0.36	2.516	0.423	0.099

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

ns: غیر معنی‌دار

* and **: Significant at the 5% and 1% probability levels, respectively.
ns: Non-significant

(Teulate *et al.*, 1997) در آزمایشی که جهت مقایسه تنظیم اسمزی در ژنوتیپ‌های مختلف جو، گندم دوروم و اِمِر وحشی (Wild emmer) مقاوم به خشکی انجام دادند و به این نتیجه رسیدند که ارقامی که از ظرفیت تنظیم اسمزی بالایی برخوردار هستند پایداری عملکرد بهتری را در شرایط تنش‌های محیطی دارند. تنش خشکی باعث تجزیه وکاهش غلظت پروتئین‌ها در برگ‌های بالغ شده و در نتیجه اسیدهای آمینه آزاد از جمله پرولین افزایش می‌یابد (Kao, 1981). در این بررسی هم ارزیابی نتایج و مقایسه میزان پرولین ژنوتیپ‌ها با مطالعه بررسی شاخص تحمل تنش (STI) و میزان وزن دانه در سنبله مطابقت دارد به نحوی که ژنوتیپ‌های برتر (۱۲، ۱۳ و ۲۱) نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها درشرایط تنش خشکی وضعیت بهتری داشتند (جدول ۲).

بررسی پایداری غشاء سلولی در شرایط آزمایشگاهی به عنوان شیوه دیگری جهت ارزیابی میزان مقاومت ارقام به تنش خشکی معمولاً کاربرد دارد (Levitt, 1980; Gavutzzi *et al.*, 1997). نتایج این بررسی نشان داد بین ارقام و لاین‌ها از نظر درصد خسارت به غشاء سلول اختلاف زیادی وجود دارد (جدول۲).

روابط بین صفات مورد مطالعه نیز بررسی شد و نتایج حاصله در جدول ۳ ارائه شده است. همانطوریکه ملاحظه می‌شود، رابطه منفی و معنی‌داری بین درصد خسارت به غشاء سلولی در شرایط تنش با وزن دانه در سنبله وجود

جدول ۲. میانگین وزن دانه در سنبله، وزن زیست توده در بوته، وزن ۱۰۰ دانه و مقدار پرولین در شرایط تنش و بدون تنش، درصد خسارت به غشاء سلولی و شاخص تحمل تنش خشکی در ژنوتیپهای گندم دوروم مورد مطالعه درشرایط گلخانه

Table 2. Mean of grain weight/spike, plant biomass, 100 grain weight, proline content, cell membrane damage, and drought stress tolerance index in durum wheat genotypes under greenhouse conditions

ژنوتیپ Genotype	وزن دانه درسنبله (گرم) Grain weight /spike (g)		STI	وزن خشک بوته (گرم) Dry weight/plant (g)		وزن ۱۰۰ دانه (گرم) 100 grain weight(g)		خسارت به غشاء سلولی Cell Mem. Damage (%)	مقدار پرولین در برگ(میکروگرم برگرم) Proline content (µg/g)	
	بدون تنش Non–stress	تنش Stress		بدون تنش Non–stress	تنش Stress	بدون تنش Non–stress	تنش Stress		بدون تنش Non stress	تنش Stress
116-1-16	0.37bc	0.28a	0.20	8.54ce	7.65b	3.00	2.70	26.33	1.90a	3.72cf
G1	0.39bc	0.13a	0.10	5.97e	6.01be	2.90	1.63	31.33	0.49f	2.60hj
2019/01/23	0.60	0.13a	0.15	8.66be	4.40bf	3.47	0.00	58.00	1.09bf	1.85j
G2	0.32bc	0.24a	0.14	8.02ce	7.48bc	3.60	3.13	32.00	1.73ab	3.75cf
G3	0.33bc	0.26a	0.17	8.60be	7.04bd	2.53	2.50	36.00	1.22af	3.53dg
G4	0.18c	0.14a	0.05	9.32bd	5.57be	3.87	1.03	42.67	1.39ae	2.29ij
G5	0.45bc	0.27a	0.23	8.30ce	6.13be	3.00	2.53	26.00	1.64ac	3.73cf
27-10-2-1	0.84bc	0.23a	0.37	9.13bd	2.54ef	2.80	2.27	40.33	1.06bf	2.70hi
11-11-1-3	1.45b	0.15a	0.42	10.70bc	3.46cf	4.47	0.27	45.33	1.18af	2.32ij
31-19-2-2	1.07bc	0.21a	0.43	10.29bc	3.21df	2.97	1.13	34.00	1.79ab	3.31dh
GARAGILCHIK	0.26bc	0.16a	0.08	0.66f	1.18f	0.57	0.40	58.00	1.79ab	1.94j
MARVOID	1.00bc	0.58a	1.12	8.15ce	6.13be	2.67	2.37	21.00	0.66ef	4.32ac
SAYMAREH	1.07bc	0.48a	0.98	7.02de	6.09be	2.13	1.90	22.33	1.50ad	4.65ab
G6	0.34bc	0.17a	0.11	8.15ce	5.65be	2.83	1.40	42.00	1.17af	2.88gi
G7	0.62bc	0.21a	0.25	10.30bc	6.42be	3.70	1.33	37.67	1.54ac	3.30dh
G8	0.62bc	0.16a	0.19	10.60bc	6.02be	4.17	1.17	39.67	1.03bf	3.11fh
G9	0.56bc	0.17a	0.19	11.63b	5.97be	3.93	1.43	40.33	1.74ab	3.17eh
G10	0.53	0.39a	0.40	8.48ce	6.45be	3.17	2.20	26.00	0.99bf	3.79cf
G11	0.61bc	0.26a	0.31	9.01be	5.90be	2.27	1.80	31.34	1.24af	3.94be
G12	0.54bc	0.34a	0.35	8.01ce	7.56b	3.53	2.63	32.00	0.59f	2.36ij
G13	3.12a	0.75a	4.50	15.29a	12.80a	3.23	1.87	22.67	0.85cf	4.68a
ZARDAK	0.59bc	0.22a	0.25	8.79be	6.37be	3.20	1.33	28.67	0.74df	4.05ad
Mean	0.72	0.27	0.50	8.80	5.91	3.09	1.68	35.17	1.24	3.27

میانگین‌هایی، در هر ستون که دارای حروف مشابه هستند بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ اختلاف معنی‌داری ندارند.

Means, in each column, followed by similar letter(s) are not significantly different at the 5% probability level- using Duncan’s Multiple Range Test.

جدول ۳- همبستگی ساده بین صفات مختلف و شاخص تحمل به تنش خشکی

Table 3. Simple correlation coefficients between different traits and drought stress tolerance index (STI) in durum wheat

صفت Trait	وزن دانه /سنبله (گرم) Grain weight /spike (gr)		شاخص تحمل تنش STI	وزن خشک /بوته (گرم) Dry weight/plant (g)		خسارت دیواره سلولی Cell membrane damage	مقدار پرولین Proline	
	بدون تنش Non-stress (1)	تنش Stress (2)	(3)	بدون تنش Non-stress (4)	تنش Stress (5)	(6)	(بدون تنش) Non-stress (7)	(تنش) Stress (8)
(1) GW/S-NS	1							
(2) GW/S-S	0.705^{**}	1						
(3) STI	0.929^{**}	0.835^{**}	1					
(4) DW / PLANT- NS	0.633^{**}	0.336^{ns}	0.548^{**}	1				
(5) DW / PLANT- S	0.471^{*}	0.652^{**}	0.660^{**}	0.571^{**}	1			
(6) CD (%)	-0.308^{ns}	-0.695^{**}	-0.412^{ns}	-0.302^{ns}	-0.640^{**}	1		
(7) PROLIN-NS	-0.238^{ns}	-0.273^{ns}	-0.255^{ns}	-0.123^{ns}	-0.262^{ns}	0.211^{ns}	1	
(8) PROLIN-S	0.411^{ns}	0.730^{**}	0.513^{*}	0.356^{ns}	0.614^{**}	-0.861^{**}	0.003^{ns}	1

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

ns: غیر معنی‌دار

* and **: Significant at the 5% and 1% probability levels, respectively.
ns: Non-significant

داشت (جدول ۳). شیفراو و بیکر (Shiferaw and Baker, 1999) نیز این شاخص را در گندم برای گزینش برای مقاومت به خشکی مناسب گزارش کرده‌اند.

مزیت این شاخص آن است که امکان بررسی تعداد زیادی ژنوتیپ را در مدت زمان کم فراهم می‌سازد. سینگ و همکاران (Singh, *et al.*, 1992) و فوکار و همکاران (Fokar, *et al.*, 1998) نیز به این موضوع اشاره نموده‌اند. در این تحقیق نیز لاین‌هایی که به دیواره سلول آنها خسارت بیشتری رسیده بود کاهش بیشتری در وزن دانه در سنبله و غلظت پرولین نشان دادند (جداول ۲ و ۳). بنابر این با توجه به شرایط آزمایش و سهولت اندازه‌گیری میتوان از صفات متعددی جهت مقایسه ژنوتیپ‌ها و ارزیابی تحمل آنها به تنش خشکی استفاده کرد. از جمله این شاخص‌ها میتوان به میزان پرولین برگ در شرایط تنش خشکی و نیز درصد خسارت به غشاء سلولی اشاره نمود که بعنوان شاخص‌های گزینش می‌توانند مورد استفاده قرار گیرند.

References

Bates,I. S., Waldern, R. P. and Teare, I. D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and Soil 39: 205-207.

Blum, A. and Eberrcon, A. 1981. Cell membrance stability as a measure of drought and heat tolerance in wheat. Crop Science 21: 43-47.

Fernandez, G. C. J. 1992. Effective selection criteria for assessing plant stress tolerance. Proceeding of a Symposium. Taiwan. 13-18 Aug. Pp. 257-270

Fokar, M., Blum, A. and Nguyen, H. T. 1998. Heat tolerance in spring wheat. II Grain filling. Euphytica 104: 9-15.

Gavutzzi, P., Rizza, F., Palumbo, M., Gampaline, R. G., Ricciiardi, G. L. and Borghi, B. 1997. Evaluation of field and laboratory predictors of drought and heat tolerance in winter cereals. Canadian Journal of Plant Science 77: 523-531.

Gill, M. S. 1999. Breeding for drought resistance . In: Recent concepts in breeding for resistance to biotic and abiotic stresses in crop plants. Nanda, G.S. Chahal G. S., Singh B. S., Allah Rang and M. S. Gill (eds.) 4-22 Oct., Pp. 73-85, PAU, Ludhiana, India.

Kao, C. H. 1981. Senescenes of rice leaves. VI. Comparative study of the metabolic changes of senescing turgid and water stressed excised leaves. Plant and Cell Physiology 22: 683-685.

Levvitt, J. 1980. Responses of plant to environmental stresses. Vol. 1, Academic Press

Inc.

Martine,M., F. Micell., J. A. Morgan., M. Scalet and G. Zerbi. 1993. Synthesis of osmoticolly active substances in winter wheat leaves as related to drought resistance of different genotypes. Journal of Agronomy and Crop Science 17: 176-184.

Mohammadi, R., Haghparast, R., Aghaee-Sarbarzeh, M., Abdollahi, A. 2006. Evaluation of drought tolerance of advanced durum wheat genotypes based on physiological criteria and related traits. Journal of Agricultural Science of Iran. 3 (1-37): 563-575.

Naderi, A., Majidi-Harvan, E., Hashemi-Dezfoli, A., Rezaei, A., Normohamadi, Gh. 1999. Analysis of efficiency of drought tolerance indices in crop plants and introduction of a new criteria. Seed and Plant 15 (4): 390-402.

Pessarkli, M. 1999. Hand book of plant and crop stress. Marcel Dekker Inc.

Shiferaw, B., and Baker, D. A.1999. An evaluation of drought screening technigues. Eragrostis tef. In: Proceedings of New Genetic Apporoaches to Crop Improvement II. Naqvi, S. S. M. (ed.) Pp. 469-496.

Singh, M., Srivastava, J. P., and Kumar, A. 1992. Cell membrance stability in relation to drought tolerance in wheat genotypes. Journal of Agronomy and Crop Science 168: 186-190.

Teulate, B., Monneveux, P., J., Borrieres, C., Souyrus, I., Charri, A. and This, D. 1997. Relationshipes between relative water content and growth parameters and water stress in barley, a QTL study. New Physiology 137: 99-107.

Winter. S. R., Musik, J. T., and Porter, K. B. 1988. Evaluation of screening techniques for breeding drought resistant winter wheat. Crop Science 28: 512-516.