

Използване на дистанционни и физиологични методи за анализ на ефекта от засушаване през критични периоди от вегетацията на обикновена зимна пшеница

Радослав Чипилски^{1*}, Петър Петров², Константина Кочева²,
Георги Георгиев²

¹Институт по растителни и генетични ресурси, Садово – ССА

²Институт по физиология на растенията и генетика, София – БАН

*E-mail: radoch@abv.bg

Резюме

Растения от 4 сорта обикновена зимна пшеница, гледани в условия на „засушник“ до пълна зрялост при контролирана влагообезпеченост, бяха засушавани през фаза изкласяване за 15 дни и последователно възстановявани. Определено бе нивото на толерантност към засушаване по данни на корелативните зависимости между добив и дистанционно и лабораторно измервани параметри. Определяни са депресията на листната температура (CTD) и индекса на хлорофилното съдържание (CCI) и са измервани лабораторно физиологични параметри – относително водно съдържание (ОВС) и интензивност на транспирацията (ИТ). Едновременно бе направено светлинно-микроскопско изследване на структурата на листа при засушаване. Установено бе, че архитектурата и анатомията на листа на сорта корелират с нивото на стресова реакция, определена по дистанционните и физиологичните параметри. Сортове с еректовидно разположение на флаговия лист имат по-добър листен воден режим, по-малка редукция на сухата маса и добива при засушаване през фаза изкласяване за разлика от сортове с планофитно положение на флагов лист. Тези особености корелират положително с по-ниска температура и по-висок хлорофилен индекс на листата при сортовете с еректовидно разположен флагов лист. Получените резултати могат да се използват както за фундаментални, така и за приложни изследвания в растениевъдството при оценка на състоянието на стрес.

Ключови думи: пшеница; засушаване; флагов лист; депресия на листната температура; листен хлорофилен индекс; воден статус

Съкращения: CTD – депресия на листната температура, CCI – листен хлорофилен индекс, RWC – относително водно съдържание, LA – листна площ, RLA – относителна листна площ

Assessment of drought stress reaction during sensitive growth stages of common winter wheat cultivars applying remote and physiological methods

Radoslav Chipilski^{1*}, Petar Petrov², Konstantina Kocheva², Georgi Georgiev²

¹Institute of plant genetic resources, 4122 Sadovo – Agricultural Academy

²Institute of plant physiology and genetics resources, Sofia – BAS

*Corresponding author: radoch@abv.bg

Citation

Chipilski, R., Petrov, P., Kocheva, K., & Georgiev, G. (2019). Assessment of drought stress reaction during sensitive growth stages of common winter wheat cultivars applying remote and physiological methods. *Rastenievadni nauki*, 56(1), 3-17

Abstract

Four cultivars of well watered common winter wheat were grown as small plots with random design under rain-out shelter to full maturity. Part plots were non-irrigated for 15 days during heading growth stage followed by re-watering to the end of growth. The aim of the research was to evaluate drought tolerance during sensitive growth stage of wheat by application of remote and destructive methods of analysis. Remote indexes were canopy temperature depression (CTD) and leaf chlorophyll index (CCI). Laboratory methods were flag leaf relative water content (RWC) and transpiration rate (TR). Leaf anatomy was studied by light microscopy method. Leaf architecture and anatomy correlate with the changes of remote and lab physiological indexes. Cultivars with erect flag leaf distribution showed less reduced water status and yield after controlled drought stress during heading stage. These results correlated with remote measured parameters CTD and CCI. The dependence between indexes can be used for modeling growth reaction of cultivars under moderate drought stress.

Keywords: wheat; drought stress; flag leaf; canopy temperature depression; chlorophyll index; water status

Abbreviations: CTD – canopy temperature depression, CCI – chlorophyll content index, RWC – relative water content, LA – leaf area, RLA- relative leaf area

ВЪВЕДЕНИЕ

В последните години все повече се утвърждава мнението, че ранното диагностициране на стреса от засушаване може да помогне за ефективното управление на продуктивния процес при пшеницата (Ludlow and Muchow, 1990; Araus et al., 1993; Araus et al., 2002; Araus et al., 2003; Chandler and Bartels, 2003). Сред методите за ранна диагностика на стреса, освен класически физиологични, интензивно се разработват и използват дистанционни подходи (Blum et al., 1982, 1989; Blum, 1996). Ефективното им прилагане все още е дискуссионно, поради наличието на голям брой променливи, влияещи върху механизма на формиране на тези параметри. Сред тях са скорост на вятъра, албеда на слънчева радиация, влажност на въздух и почва и физиологична активност на растенията. Ето защо за по-ефективното им използване се търсят и допълнителни параметри, които да подпомогнат оценката на този процес. Сред дистанционните методи най-често се използва параметърът депресия на листната температура (CTD), измерван с безконтактен инфрачервен термометър (Blum et al., 1982; Amani et al., 1996). Друг прилаган метод е безконтактната оценка на хлорофилното съдържание на листа с така наречения хлорофилметър, който отразява промяната в хлорофилното съдържание на листата (Richardson et al., 2002; Cate and Perkins, 2003; Shefazadeh et al., 2012). Температурната депресия на листата се определя като разлика между температурата на окол-

ния въздух и температурата на повърхността на листната маса и се свързва най-вече с влиянието на транспирацията, като охлаждащ механизъм на листата. Малко се знае как тези дистанционни параметри се свързват с други физиологични реакции на растенията при засушаване (Araus et al., 1993; Gavuzzi et al., 1997). Оскъдна е информацията за това как положението и формата на листата влияят върху поглъщането и пропускането на падащата върху растенията светлина, а от там и върху връзката им с водообмена и топлинния режим на листата (Araus et al., 1993). Известно е, че засушаването води до недостатъчна транспирация, поради затваряне на устицата, което води до прегряване на растенията и възникване на топлинен стрес (Araus and Tapia, 1987; Kramer and Boyer, 1995; Prasad et al., 2011). Поради това по-рядко се срещат комбинирани изследвания на тези параметри през критични фази от развитието на обикновената пшеница (Kumar and Sharma, 2007; David, 2010).

Засушаванията през репродуктивната фаза на пшеницата са често явление, където основно се повлиява добивът в резултат на стреса изпитван от листния апарат, представляван от флаговия лист (Evans, 1983; Noctor et al., 2002). Неговата роля като основен източник на асимилати за изхранване на класа при пшеницата през този период е добре позната (Evans, 1983). Участието му в изграждане на реакцията на растенията към стрес, обаче, е все още недостатъчно проучено. Все още няма достатъчно факти за връзката между физиологичните параметри, характеризира-

щи състоянието на воден стрес, и прилаганите напоследък неинвазивни дистанционни методи за определяне на анатомията на листния апарат.

В настоящата работа се изследва връзката между дистанционните измервания на СТД с инфрачервен термометър и общия хлорофил на флагов лист с апарат ССМ 200, които се сравняват с данни от лабораторно определени физиологични индекси като транспирационна интензивност и относително водно съдържание. Тези резултати се анализират във връзка с някои морфометрични показатели на листа, като площ и суха маса, относителна плътност, анатомични особености като дебелина и структура на листната пластина на флаговия лист при краткосрочно контролирано засушаване от 15 дни, приложено в условия на „засушник”. Методът на „засушника” позволява да се индуцират засушавания близки до ефекта на тези в полски условия. Тъй като албедото на листа зависи и от архитектурата на листната маса, то тези изследвания бяха обвързани и с положението на флагов лист в пространството при няколко сорта

обикновена пшеница с различна агрономична характеристика.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Изследванията бяха проведени в ИРГР ”Константин Малков”, Садово и в ИФРГ, София в четири вегетационни години за периода 2011-2014 г.

Растителен материал. В опита бяха използвани 4 сорта обикновена зимна пшеница (*Triticum aestivum*, L.). Сорт Катя (Katya) и произхождащия от нея сорт Гинес (Gines), създаден чрез експериментален мутагенез са с еректовидно положение на флаговия лист. Другите два сорта Гей-1 (Geya-1) и Ники (Nikki) са с плановитно положение на флагов лист. Тези сортове бяха подбрани за изследване поради различна агрономична и морфологична характеристика при засушаване. Сорт Катя е признат за стандарт по толерантност към засушаване и е включен в 1st Facultative and Winter Wheat Elite Trial



Фигура 1. Вътрешен вид на „засушника”
Figure 1. Rain exclusion shelter

for Rain Fed Conditions, който се изпълнява от CIMMYT, Ankara, Turkey and ICARDA, Syria.

Скоростта на листната транспирация беше отчетена в лабораторни условия на отделен от растенията лист по метода на бързото теглене, описан от Vulchev and Georgiev (1991). Листата бяха отрязвани, затваряни в стъклени епруветки и веднага претегляни на аналитична везна. След точна експозиция от 3 min на открито, осветено място в лабораторията, пробите се претегляха втори път и след това се изсушаваха до постоянно тегло при 90°C. Транспирационната скорост ($\text{mg H}_2\text{O}/\text{cm}^2$ листна повърхност/ min^{-1}) се определяше като загубата на вода за 3 min. беше отнесена към площта на листа.

Относителното водно съдържание OBC/RWC (%) беше измерено на 15 отделени флагови листа по методика описан от Turner (1981) с модификации на Valchev and Georgiev (1991). Изчислявано е по формулата:

$$[(\text{FW}-\text{DW})/(\text{TW}-\text{FW})] \times 100$$
, където FW е свежо тегло, TW е тургесцентно тегло на листа, получено при водонасищане за 24 h и DW е абсолютно сухо тегло на листа, получено при сушене за 4 h при 90°C до постоянно тегло.

Листната площ LA (cm^2) беше изчислявана по формулата: $S = L \times H \times 0.65$, където L е дължината на листната пластинка; H е максималната ширина на листа; 0.65 е специфичен за пшеницата коефициент (Nenova et al., 2014).

Специфичната листна площ SLA (cm^2/g) се дефинира като листна площ на единица листна биомаса: $\text{SLA} = \text{LA}/\text{DM}$, където LA е листната площ на растенията, DM е биомасата на листата.

Депресията на температурата на листа (CTD: canopy temperature depression) беше определена по методика, описана от Blum et al. (1982), с помощта на дигитален дистанционен инфрачервен термометър и изчислена по формулата: $\text{CTD} = T^{\circ}\text{въздух} - T^{\circ}\text{лист}$. Разстоянието до листа беше 20 cm под ъгъл на измерване 45°. Измерването беше изпълнено в засушника, без да се нарушава целостта на флаговите листа. Анализът беше извършен в ясно и тихо време, като едновременно бяха измерени температурата на повърхността на листа и атмосферната температура.

Определянето на общото количество хлорофил CCI (Chlorophyll Content Index) в листата е извършено чрез портативен флуориметър

Chlorophyll Content Meter-CCM-200, произведен от Opti-science, Inc., NH, USA. Измерването беше осъществено на 20 броя флагови листа на засушени и контролни растения в засушника, без да се нарушава целостта на листа. Измерванията ставаха в 10 ч. сутринта при слънчево и безветрено време.

Всички измервания са извършвани в 10 до 15 повторения на вариант за вегетация и са осреднени за 4 вегетационни сезона. Резултатите са обработени статистически с помощта на програми SPSS 13.0 и Excel for Windows 10.

Светлинна микроскопия на листната пластина. Материалът за микроскопски наблюдения беше взет от централната зона на листа без листна жилка, листните парчета бяха фиксирани с 3% глутаров алдехид в 0.2M фосфатен буфер pH 7.2, след което бяха включени в епоксидна смола с ниска вискозност Spurr^R. Получени бяха полутънки срези на ултрамикротом Tesla BS 490 (Czech Republic), които бяха оцветени с 0.01% (W/V) разтвор на толуидин блау и наблюдавани на светлинен микроскоп Carl Zeiss, Jena (Germany). Микроскопските изображения бяха снимани с цифров фотоапарат и обработвани на компютър с програма (International Micro-Vision Inc., Redwood City, CA, USA). Използвано беше увеличение 300x, което е сума от микроскопското и софтуерно увеличение при обработката на снимките. Листната дебелина и общата площ на палисадния паренхим бе измервана от 3 образци, взети от 6 различни листа в два биологични експеримента. Измерванията бяха обработвани с програма 3D Doctor Software (Able Software Corp., Lexington, MA, USA).

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Депресия на температурата на листа (CTD)

През фаза изкласяване при незасушени растения разликата между температурата на въздуха и температурата на листа ($\text{CTD} = T^{\circ}\text{въздух} - T^{\circ}\text{лист}$) варира значително в диапазона от отрицателни до положителни стойности през годините (Фиг. 2). Средните стойности обаче остават положителни и са с по-ниска стойност при сортове с еректовидно положение на флагов лист.

При засушаване през този период, растенията показват преобладаващо отрицателни стойности на показателя CTD в сравнение с контролите (Фиг. 2). Това означава, че флаговият лист има по-висока температура от околния въздух, което е белег, че растенията прегряват спрямо въздуха и са с по-висок воден дефицит. За разлика от контролите, средните стойности на CTD са по-високи при Катя и Гинес, отколкото при Гей-1 и Ники. Това показва, че еректовидните сортове контролират по-добре температурата и физиологичната активност на листа при засушаване през репродуктивната фаза.

Общ хлорофил във флагов лист (CCI)

При контролните растения във фаза изкласяване количеството хлорофилни пигменти по индекса CCI не се различават съществено между сортовете (Фиг. 3). При растения засушени по време на изкласяването индексът на хлорофила се покачва в сравнение с контролите. Наблюдава се и по-силно вариране на резултатите за отделните сортове по години, но се запазва по-висока концентрация на общия хлорофил при стандарта Катя и Гинес. Тъй като хлорофилните пигменти не деградираат на този по-ранен етап на развитие, причините за посочените по-горе промени могат да бъдат търсени основно в бърза промяна на водния статус на растенията. Той

е охарактеризиран чрез оводнеността и интензивността на транспирацията на флаговия лист.

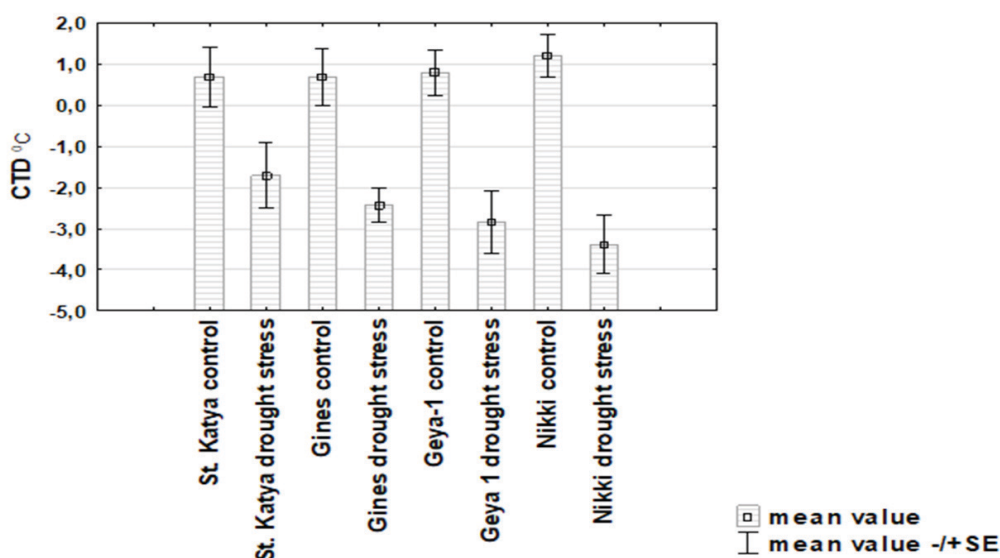
Интензивност на транспирацията (ИТ) и относително водно съдържание (ОВС) на флагов лист

Интензивността на транспирацията на листа е пряко свързана с температурата му и с регулиране на водния обмен на растенията със средата (Фиг. 4). При контролите с по-интензивна транспирация са сортовете Катя и Ники. Разликите между контролни и засушени растения по време на изкласяване са най-големи при Катя и Гинес, при това по-ниската транспирация е обвързана с по-висока оводненост на листа за разлика от данните за сорт Ники (Фиг. 5).

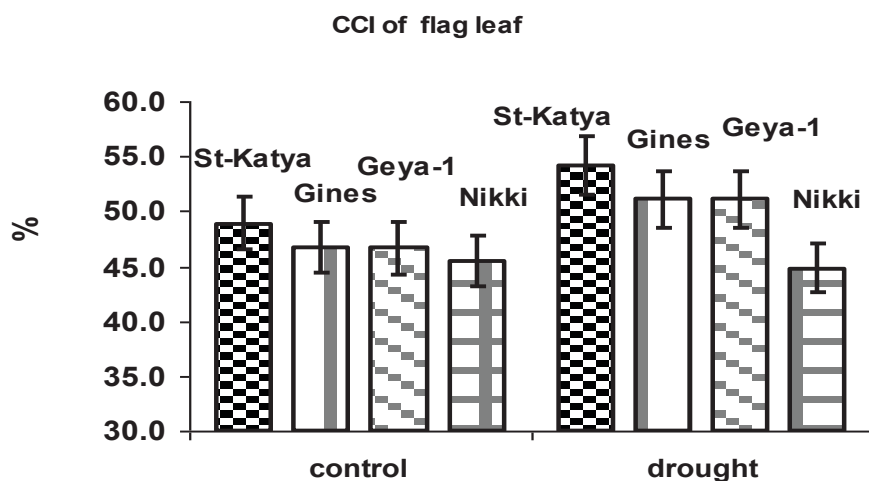
Понижената транспирация при засушените варианти е свързана с по-ниската оводненост (Фиг. 5). Разликата между контролите и засушените варианти е в порядъка на 10-15%, като при сорт Ники е най-висока. Като цяло сортовете с еректовидни листа запазват по-ефективен воден режим в сравнение с тези с планофитни листа.

Листна площ (ЛП) и специфична листна повърхност (СПП) на флагов лист

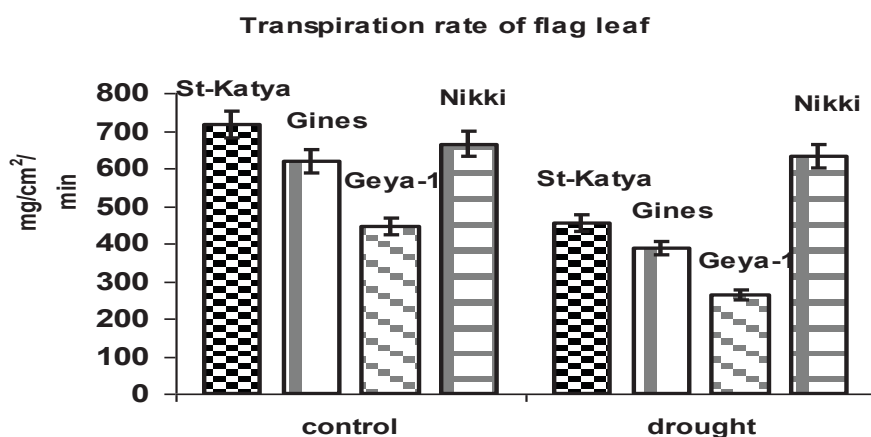
Нашите изследвания показват, че сортовете с планофитни листа Гей-1 и Ники се характеризират с по-голяма площ на флаговия лист



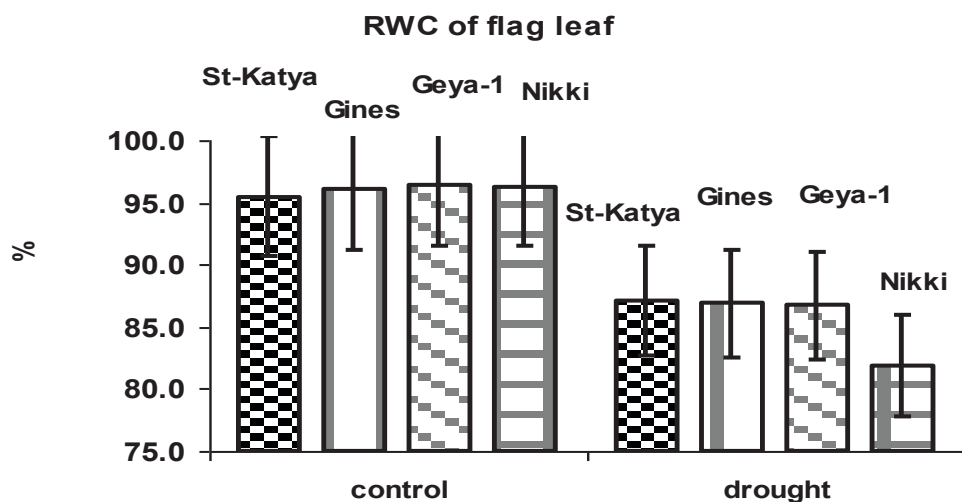
Фигура 2. Депресия на температурата на флагов лист през фаза изкласяване
Figure 2. Canopy temperature depression /CTD/ of wheat flag leaf during the heading stage



Фигура 3. Индекс на хлорофилно съдържание във флагов лист през фаза изкласяване
Figure 3. Chlorophyll content index (CCI) of flag leaf during the heading stage



Фигура 4. Интензивност на транспирацията на флагов лист през фаза изкласяване
Figure 4. Transpiration rate of flag leaf during the heading stage

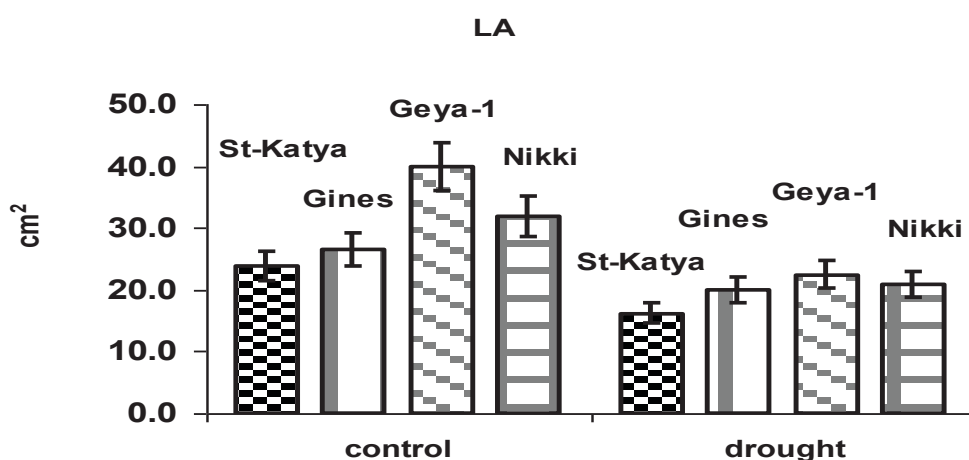


Фигура 5. Относително водно съдържание на флагов лист през фаза изкласяване
Figure 5. Relative water content of flag leaf during the heading stage

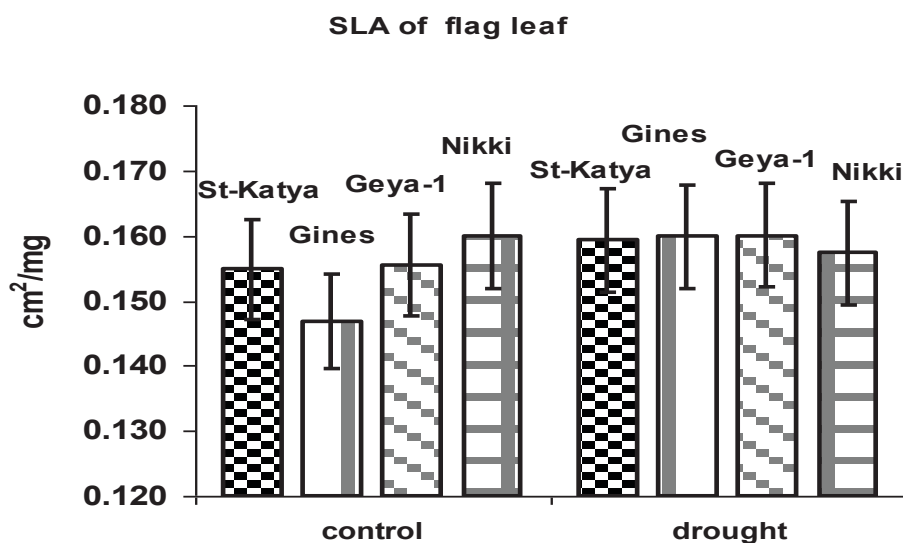
от сортовете с еректовидни листа Катя и Гинес (Фиг. 6). През фаза изкласяване при засушените растения от всички сортове под влиянието на неблагоприятния фактор се редуцира листната повърхност на флаговия лист спрямо контролата. Редукцията е по-голяма при сортовете Гей-1 и Ники, които са с планофитни листа.

Параметрите специфична листна повърхност (СЛП) и суха маса на листа и стъблото са важни интегрални индикатори за реакцията на сорта към засушаване (Фиг. 7 и 8). Те отразяват промяната в натрупаното сухо вещество, като съ-

щеременно показват и промяна в растежа и тургесцентността на листа (Turner, 1979). Индексът СЛП се влияе също и от температурния режим на листа при засушаване, тъй като при затваряне на устицата при воден стрес се понижава оводнеността на листа, като в същото време падащата светлинна енергия се превръща в топлина, поради намалено поглъщане на CO_2 от листа заради затворени устица. Този процес се влияе силно от албедото на листа, което е отношение между падаща и отразена светлина (Araus et al., 1993).



Фигура 6. Листна повърхност на флагов лист през фаза изкласяване
Figure 6. Leaf area of flag leaf during the heading stage



Фигура 7. Специфична листна повърхност на флагов лист през фаза изкласяване
Figure 7. Specific leaf area of flag leaf during the heading stage

През фаза изкласяване при контролите, сортовете с по-големите планофитни листа имат по-високи СЛП и суха маса, по-силно изразено при сорт Гей-1, от сортовете с еректовидни листа. При прилагане на 15-дневно засушаване в система „засушник“, растенията реагират с увеличение на СЛП на флаговите си листа, което се дължи на загуба на вода и сухо вещество на единица площ от листа. Планофитните сортове редуцират по-голям процент сухо вещество в сравнение с еректовидните (Фиг. 8).

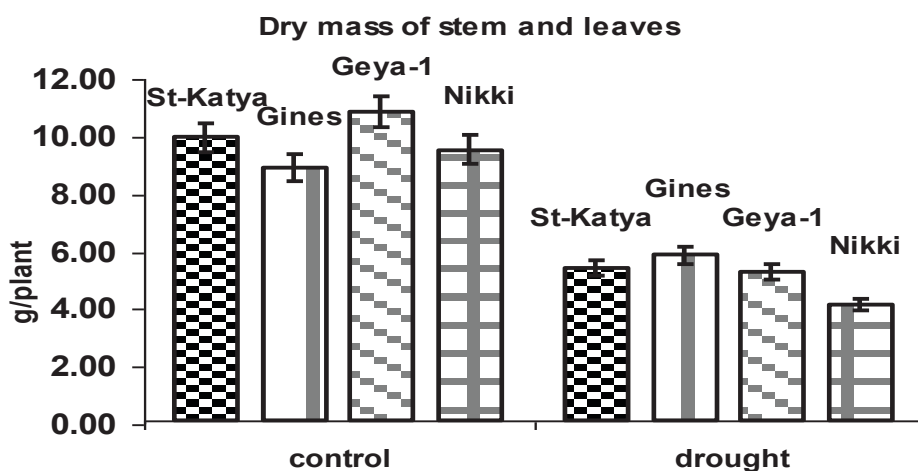
Добив на зърно от площ

Получените резултати показват липса на съществени разлики между сортовете при рас-

тенията с планофитни и еректовидни флагови листа при контролни условия (Табл. 1). Засушаването и през двете фази води до съществено снижение на добива от зърно, като най-високо е при сорт Ники - 36.2% спрямо контролата. Средно сортовете с планофитно положение на флагов лист редуцират добива си с 10.0% повече в сравнение с еректовидните сортове.

Морфо-анатомичен анализ на листен пререз

Една важна характеристика за физиологичната активност и водния статус на листа, особено при стресови въздействия, е неговата структура, която е слабо проучвана в тази връзка. На-



Фигура 8. Суха маса на стъбло и флагов лист през фаза изкласяване
Figure 8. Dry mass of stem and leaves during the heading stage

Таблица 1. Среден добив от зърно от 1 m² за периода 2011-2014 г.

Table 1. Average grain yield on 1 m² during the period 2011-2014

Сорт/ Cultivar	2011		2012		2013		2014		Средни стойности/ Average	
	поливани irrigated (g)	засушени non-irrigated (g)	поливани irrigated (g)	засушени non-irrigated (g)	поливани irrigated (g)	засушени non-irrigated (g)	поливани irrigated (g)	засушени non-irrigated (g)	поливани irrigated (g)	засушени non-irrigated (g)
St. Katya	735.4	397.8	495.1	356.0	627.5	123.2	907.9	386.6	691.5	315.9
Gines	805.4	483.9	344.5	280.6	602.0	181.1	873.3	451.3	656.3	349.2
Geya-1	731.8	412.0	350.2	263.1	698.0	130.9	893.3	373.8	668.3	294.9
Nikki	716.2	264.3	407.8	275.4	737.8	191.8	990.3	302.3	713.0	258.5

LSD control/поливани – 5.0%= 94.6; 1.0%=135.9; 0.1%=199.9

LSD non-irrigated/засушени – 5%= 89.1; 1%=128.0; 0.1%=188.3

шите изследвания чрез светлинно-микроскопски метод показват, че има съществени разлики в някои параметри, като дебелина на листната пластинка и големина на междуклетъчните пространства при контролни условия на влагообезпеченост и при засушаване (Табл. 2). Листната пластина на сорт Катя е с най-малка дебелина при контролни условия на отглеждане. Съответно, при засушаване сорт Катя редуцира най-малко дебелината на листа. Сорт Ники е с по-голяма дебелина на листната пластина и при засушаване редуцира най-много този параметър. Възстановяването чрез рехидратация се проявява с най-голяма скорост при сорт Катя.

Междуклетъчните пространства на листа са важен параметър на функцията на листа, тъй

като се смята, че играят роля при движението на вода, соли и асимилати между клетките (Фиг. 9). При засушаване, обаче, най-слабо се променят междуклетъчните пространства на листната пластина при сорт Катя, в сравнение с тези величини при сорт Ники (Табл. 2 и Фиг. 9). По-слабите промени в междуклетъчните пространства при възстановяване при сорт Катя са свързани с бързо възстановяване на обема на клетките при рехидратация.

Корелационен анализ и линейни регресионни зависимости между измерваните параметри

В резултат на проведения корелационен анализ между признаците при контролните расте-

Таблица 2. Морфо-анатомични измервания на срези от листа на пшеничени растения подложени на засушаване и на рехидратиране

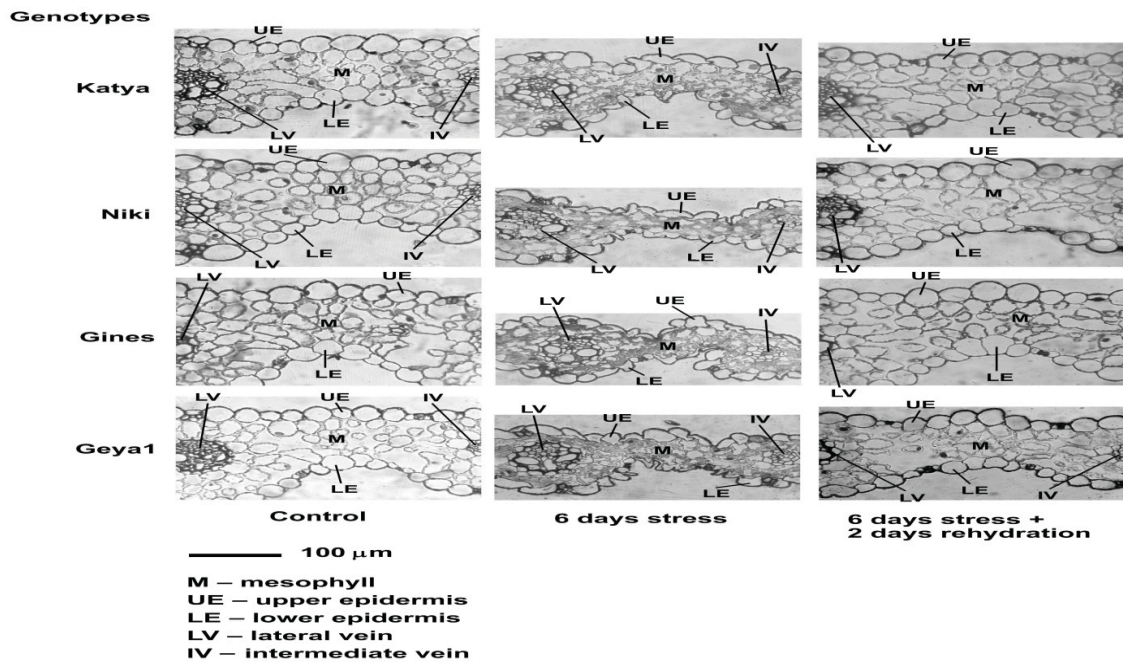
Table 2. Anatomical data of leaf cross section of wheat flag leaf of plants subjected to drought and rehydration

Варианти/ Variants	Листна дебелина от данни на листния пререз/ Leaf thickness from data for cut leaf section (μm^2) $\pm$ SE	% от контролата/ % of the control	Междуклетъчни пространства (% от общата вътрешна площ на листния пререз) $\pm$ SE % intercellular area from whole cut leaf section area $\pm$ SE
Ст. Катя – контрола St. Katya – irrigated	162.0 $\pm$ 4.6	-	33.5 $\pm$ 3.3
Гинес – контрола Gines – irrigated	183.0 $\pm$ 6.6	-	34.7 $\pm$ 4.5
Гея-1 – контрола Geya-1 – irrigated	168.0 $\pm$ 4.9	-	34.9 $\pm$ 2.7
Ники – контрола Nikki – irrigated	172.0 $\pm$ 2.7	-	30.8 $\pm$ 7.2
Ст. Катя – засушени St. Katya – non-irrigated	103.7 $\pm$ 4.3	64.0	11.36 $\pm$ 1.6
Гинес – засушени Gines – non-irrigated	98.4 $\pm$ 1.6	53.7	2.66 $\pm$ 1.4
Гея-1 – засушени Geya -1 – non-irrigated	93.7 $\pm$ 1.2	55.8	5.87 $\pm$ 1.8
Ники – засушени Nikki – non-irrigated	88.2 $\pm$ 3	51.3	2.25 $\pm$ 3.0
Ст. Катя – възстановяване St. Katya – rehydration	172.8 $\pm$ 5.6	107.0	23.5 $\pm$ 2.26
Гинес – възстановяване Gines – rehydration	169.0 $\pm$ 7.4	92.3	29.6 $\pm$ 1.00
Гея – възстановяване Geya-1 – rehydration	143.5 $\pm$ 4.6	85.4	30.8 $\pm$ 2.20
Ники – възстановяване Nikki – rehydration	164.5 $\pm$ 5.3	95.6	32.3 $\pm$ 1.06

ния бяха доказани средни положителни и доказано значими връзки на CTD с интензивност на транспирация и натрупана биомаса, както и доказаните отрицателни връзки на CTD с оводненост и СЛП (Табл. 3). Положителни връзки доказват охлаждащата роля на транспирацията, докато по-голямата оводненост (над 90% ОВС)

не е свързана с охлаждане на флаговите листа на контролните растения.

При засушените растения зависимости със средна положителна корелация и степен на достоверност до 1% бяха установени за показателите CTD и ОВС (Табл. 3). Слаба положителна, но достоверно доказана връзка до 5% има меж-



Фигура 9. Микроскопска фотография на напречни срези от листа на пшеница
Figure 9. Light microphotograph of leaf cross section cuttings of wheat flag leaf

Таблица 3. Корелационни коефициенти на физиологични показатели с показателите CTD и CCI през фаза изкласяване

Table 3. Correlation coefficients between physiological and remote indexes during heading stage

Показатели/ Indices	ОВС/ RWC	Транспирация transpiration	Лице на лист Leaf area	СЛП/SLA	Ширина на лист/LW	Суха маса/DW	CTD	CCI индекс/ CCI index
контрола / irrigated								
ДТЛ/CTD	-0.62**	0.44**	0.08	-0.45**	0.12	0.38**	1	-
CCI индекс/ CCI index	0.09	-0.08	-0.09	0.18*	-0.17	-0.15	-0.28**	1
стрес / non-irrigated								
ДТЛ/CTD	0.39**	0.27*	-0.16	-0.07	0.10	-0.10	1	-
CCI индекс/ CCI index	-0.04	0.01	-0.05	0.02	-0.07	0.10	-0.10	1

* значими разлики до 5%; ** значими разлики до 1%

* significance difference at 5%; ** significance difference at 1%

ду CTD и транспирация. Получените резултати доказват охлаждащата роля на оводнеността и транспирацията при по-ниско ОВС, получено при засушаване.

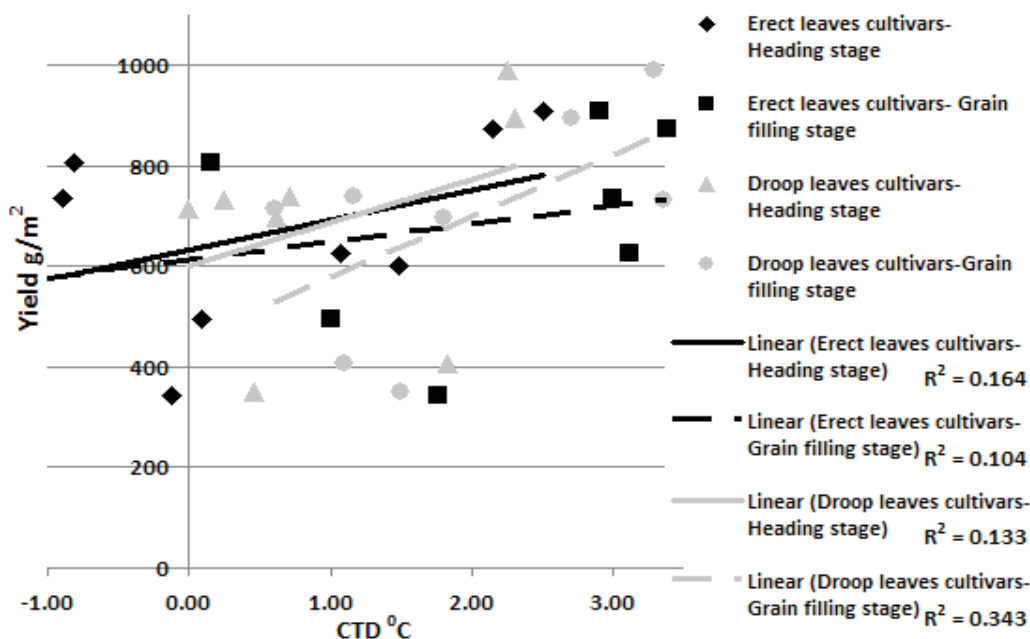
От Фиг. 10 до Фиг. 13 са дадени графично изразени линейните регресионни зависимости между показателите CTD и индекс на хлорофила (CCI) с добив от зърно на контролни и засушени растения през фазите изкласяване и наливане на зърното.

Изчислените регресионни зависимости и корелационни коефициенти при контролните варианти в групирани сортове с еректовидни и планофитни листа се различават за двете фази на изследване – изкласяване и наливане на зърното (Фиг. 10 и 12). При контролите връзката на CTD с добив зърно е средно положителна при планофитните сортове само през фаза наливане на зърното, докато еректовидните сортове имат слаби положителни корелационни зависимости и през двете фази (Фиг. 10). Ниската разлика в добива и близките регресионни зависимости по показател CTD и добива се обясняват с липсата на лимитиращата роля на водата.

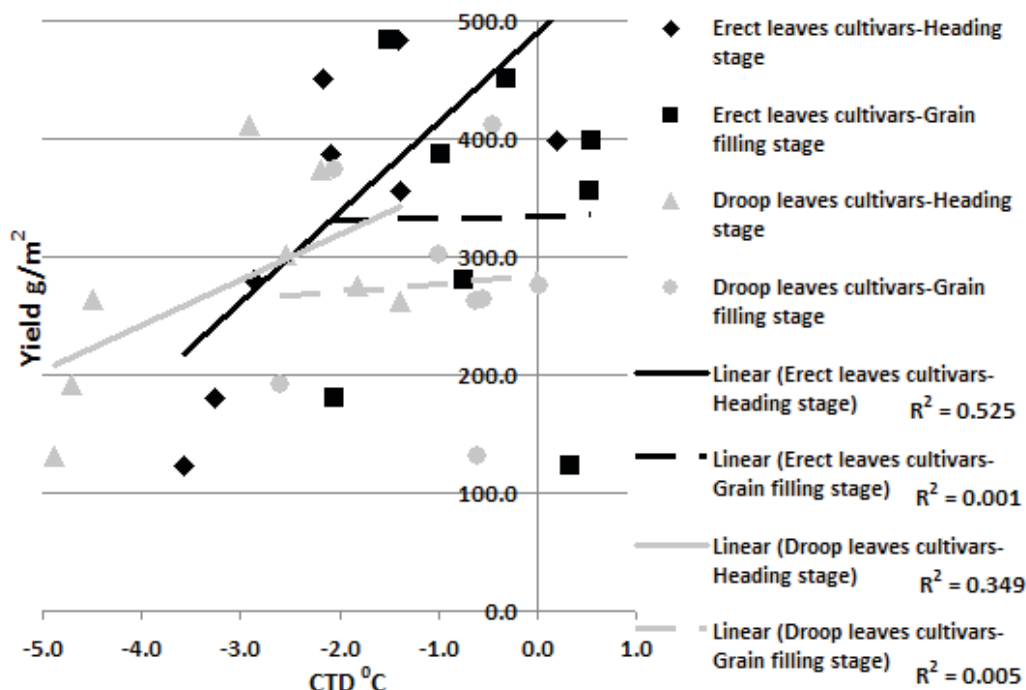
При засушените растения положителната връзка на CTD с добив ($r = 0.794$) при еректовидните сортове е по-силна и значима до 5% в сравнение с планофитните сортове във фаза изкласяване ($r = 0.591$). Във фаза наливане на зърното взаимодействието между тези два показателя е слабо и при двете групи сортове. Все пак при еректовидните сортове по-силната корелация е свързана и с по-висок добив при засушения вариант в сравнение с планофитните, изразена и през двете фази (Фиг. 11).

По-различни зависимости се наблюдават при изследване на връзката хлорофил (CCI) с добив. При поливния вариант връзките хлорофил с добив са средно отрицателни за двете групи сортове, както и за двете фази (Фиг. 12). При засушените варианти тя е слабо положителна през фаза изкласяване, но с по-голям наклон при еректовидните сортове и средно отрицателна при фаза наливане на зърното за двете групи сортове (Фиг. 13).

От анализът на получените регресионни зависимости се установиха доказано значими положителни зависимости на добива с показатели

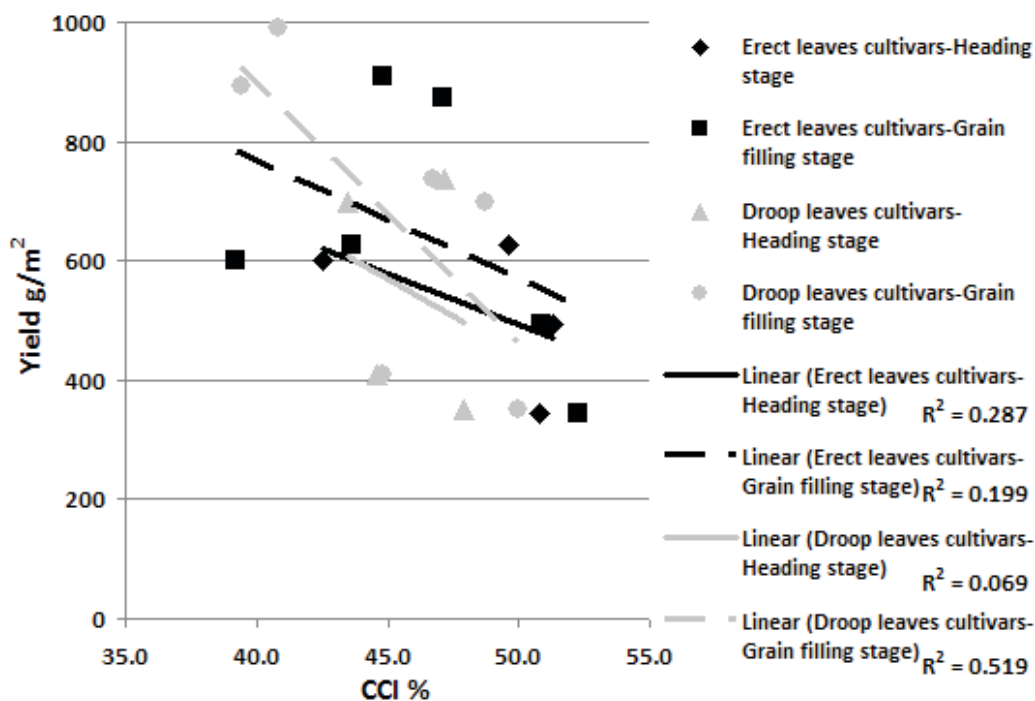


Фигура 10. Връзка добив - CTD между сортове с еректовиден флагов лист (Катя – Гинес) и планофитен флагов лист (Гея-1 – Ники) през фазите изкласяване и наливане на зърното (контрола)
Figure 10. Regression relationship seed yield - CTD between irrigated cultivars with erected (Katya – Gines) and drooped (Geya-1 – Nikki) posture of flag leaf during the heading and grain filling stages (control)



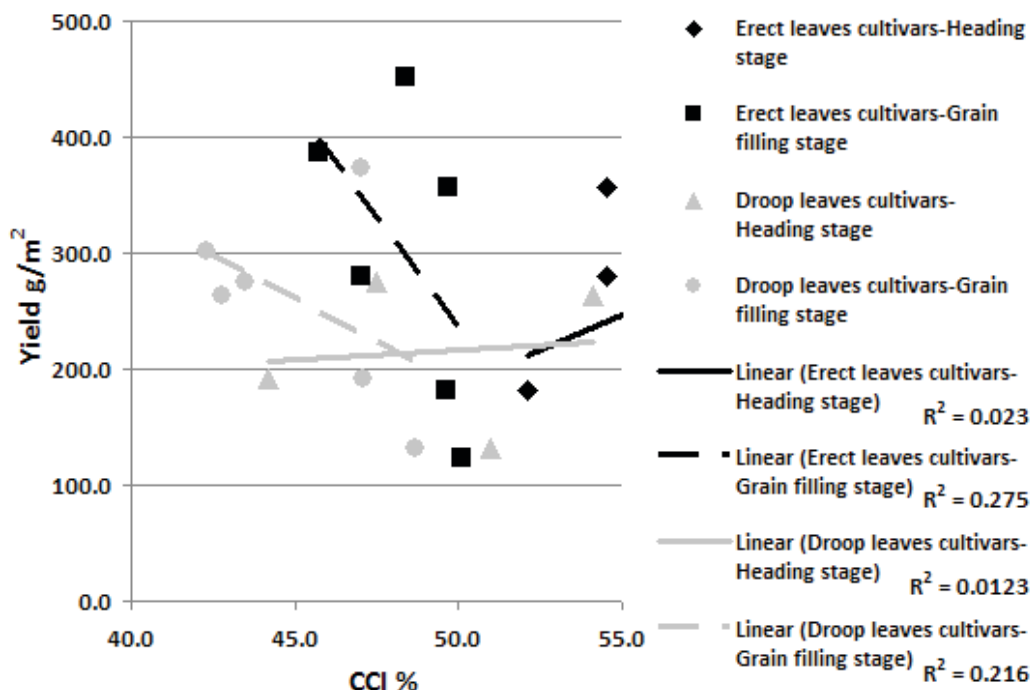
Фигура 11. Връзка добив – CTD между сортове с еректовиден флагов лист (Катя – Гинес) и планофитен флагов лист (Гея-1 – Ники) през фазите изкласяване и наливане на зърното (засушени растения)

Figure 11. Regression relationship seed yield-CTD between drought stressed cultivars with erected (Katya – Gines) and drooped (Geya-1 – Nikki) posture of flag leaf during the heading and grain filling stages (non-irrigated)



Фигура 12. Връзка добив - CCI (хлорофил) между сортове с еректовиден флагов лист (Катя – Гинес) и планофитен флагов лист (Гея-1 – Ники) през фазите изкласяване и наливане на зърното (контрола)

Figure 12. Regression relationship seed yield- CCI/chlorophyll/ between irrigated cultivars with erected (Katya – Gines) and drooped (Geya-1 – Nikki) posture of flag leaf during the heading and grain filling stages (control)



Фигура 13. Връзка добив - CCI (хлорофил) между сортове с еректовиден флагов лист (Катя – Гинес) и планофитен флагов лист (Гейя-1 – Ники) през фазите изкласяване и наливане на зърното (засушени растения)

Figure 13. Regression relationship seed yield - CCI/chlorophyll/ between drought stressed cultivars with erected (Katya – Gines) and drooped (Geya-1 – Nikki) posture of flag leaf during the heading and grain filling stages (non-irrigated)

като CTD, хлорофилен индекс, оводненост и интензивност на транспирацията при засушаване на всички сортове през изкласяване. Сортовете с еректовидно разположение на листата - стандартта Катя и Гинес - имат най-висок наклон на изчисленото регресионно уравнение на зависимостта CTD и добив, което е доказателство, че тези сортове успяват да поддържат по-ниска температура на листа при по-високи нива на добива при стрес. При сортовете Катя и Гинес е налице запазване на средно ниво на транспирация, което е свързано с по-висок добив, докато при сорт Гейя-1 и най-вече при най-чувствителния към засушаване сорт Ники е налице неефективно използване на водата, а именно по-висока транспирация, съчетана с нисък добив.

ОБСЪЖДАНЕ

Фенотипните прояви на толерантност към засушаване се свързват с различни морфоло-

гични и физиологични промени (Ludlow and Muchow, 1990; Chandler and Bartels, 2003). Най-общо, може да се каже, че по-толерантните житни растения към засушаване успяват да запазят по-малка редукция на добив за сметка на подобър воден режим, в резултат на контрол на транспирацията и запазване на оводнеността на тъканите. Това създава условия за запазване на физиологичната активност на растенията и по-малки загуби при формиране на крайния добив. Използването на параметъра депресия на температурата на листа се смята като едно от доказателствата в това отношение (Araus and Tapia, 1987; Blum et al., 1989; Araus et al., 2003). Установено е, че по-ниската температура на листата, както и по-малката разлика на CTD през вегетацията, корелират с по-голям добив при редица култури и се предлага да бъде използвана като селекционен признак при житните, което беше потвърдено при опити в CIMMYT и ICARDA (Araus et al., 2003). Нашите резултати показват ясно, че включването на допълнителни призна-

ци за оценка, като физиологична активност на водообмена и положение на листа в пространството, помагат за обяснението на причините за по-благоприятен топлинен режим и по-добър водообмен на листа през репродуктивния период. Допълнителната характеристика, получена чрез класическите физиологични методи, като оводненност и транспирация могат се свържат с архитектура и анатомия на листната маса. Тези качества на растенията влияят на отражателната способност или албедото на листата и от там на нагряването им (Premachandra et al., 1992, Akaus et al., 1993). Сортове с еректовидно разположение в пространството на флагови листа, при това с по-малка площ и дебелина на листната пластина, се свързват и с по-малки промени в параметъра CTD и съдържание на хлорофила. Наклона на флаговия лист в пространството по отношение на падащата светлина, съчетано с подходяща морфо-физиологична характеристика, облекчават пропускането и отразяването на част от тази светлина и влияят положително върху важни черти от физиологичната адаптация на растенията към воден и температурен стрес. Това се отразява на натрупването на биомаса и на добива. Изследванията показват, че почвено-климатичните условия от средиземноморската област, към която принадлежат и райони на България, са много често съчетани с прояви на средни по сила и продължителност засушавания най-вече през периода на формиране на добива (Chipilski and Georgiev, 2013). Това води до значителна редукция на количеството и качеството на добива от зърно. Проучванията при сорт Катя, а също и генетично сродния му Гинес, показват, че по-тесните и тънки листа, с по-малка листна плътност и по-големи междуклетъчни пространства при воден стрес, корелират добре и с по-висок CTD показател и запазено хлорофилно съдържание при краткосрочни засушавания през репродуктивния периода на пшеницата (Фиг. 2).

Промените могат да бъдат свързани също и с клетъчна мембранна пропускливост за електролити, измерена при засушаване с кондуктометър (Kocheva et al., 2005, 2014). Известно е също, че при стрес се засилват и нарушенията в мембраните поради въздействието на реактивни кислородни форми (ROS) върху тях. Причината за

образуване на ROS е блокираната работа на фотосинтезата от затварянето на устицата (Prasad et al., 2011). По-големият обем на междуклетъчните пространства може да играе роля на буфер за блокиране на ROS в клетките, благодарение на това предимство на анатомията. От друга страна, по-големият обем на междуклетъчните пространства в листа е допълнителен резервоар за запазване на вода в листа, когато се затворят устицата при засушаване. Водата в листа играе роля и при поглъщане на топлина поради високата топлемост на водната молекула. Нашите изследвания показват, че тази степен на действие на водния слой в листа зависи от ъгъла, под който пада върху листа тази слънчева радиация. Това обяснява положителните ефекти на изправения флагов лист при еректовидните сортове спрямо тези с хоризонтално или планофитно положение на листа по отношение на параметъра CTD. Така, освен регулатор на транспорта, тези черти на анатомията могат да имат и друга физиологична роля като антистресов механизъм. Нашите данни за промените във физиологичната активност, съчетани с данните от анатомията, свидетелствуват в полза на това заключение. Така, те могат да се окажат ефективно средство в борбата със сушата и дават определени насоки при подбора на признаци в конвенционалната селекция при пшеницата.

ИЗВОДИ

От получените и обработени чрез регресионен и корелационен анализ резултати се установи по-ефективна реакция на еректовидните сортове при засушаване по отношение на параметрите CTD и интензивност на транспирацията, която се изразява в по-висока продуктивност. С най-чувствителна реакция на засушаване по отношение на всички физиологични параметри и добива се характеризира сорт Ники. Също така може да се заключи, че изследването на физиологичната реакция в съчетание с измерване на параметъра CTD дистанционно при растенията, подложени на контролирано засушаване във фаза изкласяване, е достатъчно ефективно и може да се прилага и при приложни изследвания.

- Amani, I., Fischer, R. A., & Reynolds, M. P. (1996). Canopy temperature depression association with yield of irrigated spring wheat cultivars in a hot climate. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 176(2), 119-129.
- Araus, J. L., & Tapia, L. (1987). Photosynthetic gas exchange characteristics of wheat flag leaf blades and sheaths during grain filling: the case of a spring crop grown under Mediterranean climate conditions. *Plant Physiology*, 85(3), 667-673.
- Araus, J. L., Reynolds, M. P., & Acevedo, E. (1993). Leaf posture, grain yield, growth, leaf structure, and carbon isotope discrimination in wheat. *Crop Science*, 33(6), 1273-1279.
- Araus, J. L., Slafer, G. A., Reynolds, M. P., & Royo, C. (2002). Plant breeding and drought in C3 cereals: what should we breed for? *Annals of Botany*, 89(7), 925-940.
- Araus, J. L., Bort, J., Steduto, P., Villegas, D., & Royo, C. (2003). Breeding cereals for Mediterranean conditions: ecophysiological clues for biotechnology application. *Annals of Applied Biology*, 142(2), 129-141.
- Blum, A. (1996). Constitutive traits affecting plant performance under stress. In: *Developing drought and low N-tolerant maize*. Proceedings of a symposium, March 25-29, 1996, El Batán, Mexico, CIMMYT (pp. 131-135).
- Blum, A., Mayer, J., & Gozlan, G. (1982). Infrared thermal sensing of plant canopies as a screening technique for dehydration avoidance in wheat. *Field Crops Research*, 5, 137-146.
- Blum, A., Shpiler, L., Golan, G., & Mayer, J. (1989). Yield stability and canopy temperature of wheat genotypes under drought-stress. *Field Crops Research*, 22(4), 289-296.
- Cate, T. M., & Perkins, T. D. (2003). Chlorophyll content monitoring in sugar maple (*Acer saccharum*). *Tree Physiology*, 23(15), 1077-1079.
- Chandler, J. W., & Bartels, D. (2003). Drought avoidance and drought adaptation. In: *Encyclopedia of Water Science*. Marcel Dekker, New York (pp. 163-165).
- Chipilski, R., & Georgiev, G. (2013). Relationship between water regime, biomass and yield of recent cultivars common winter wheat grown in conditions of controlled irrigation. *Pochvoznanie, Agrohimiya i Ekologiya*, 47(4), 60-69 (Bg).
- David, M. (2010). Water loss from excised leaves in a collection of *Triticum aestivum* and *Triticum durum* cultivars. *Romanian Agricultural Research*, 27, 27-34.
- Evans, J. R. (1983). Nitrogen and photosynthesis in the flag leaf of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Physiology*, 72(2), 297-302.
- Gavuzzi, P., Rizza, F., Palumbo, M., Campanile, R. G., Ricciardi, G. L., & Borghi, B. (1997). Evaluation of field and laboratory predictors of drought and heat tolerance in winter cereals. *Canadian Journal of Plant Science*, 77(4), 523-531.
- Kocheva, K. V., Georgiev, G. I., & Kochev, V. K. (2005). A diffusion approach to the electrolyte leakage from plant tissues. *Physiologia Plantarum*, 125(1), 1-9.
- Kocheva, K., Nenova, V., Karceva, T., Petrov, P., Georgiev, G. I., Börner, A., & Landjeva, S. (2014). Changes in water status, membrane stability and antioxidant capacity of wheat seedlings carrying different Rht-B1 dwarfing alleles under drought stress. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 200(2), 83-91.
- Kramer, P. J., & Boyer, J. S. (1995). *Water relations of plants and soils*. Academic press, San Diego, CA, USA.
- Kumar, A., & Sharma, S. (2007). Genetics of excised-leaf water loss and relative water content in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Cereal Research Communications*, 35(1), 43-52.
- Ludlow, M. M., & Muchow, R. C. (1990). A critical evaluation of traits for improving crop yields in water-limited environments. *Advances in agronomy*, 43, 107-153.
- Nenova, V. R., Kocheva, K. V., Petrov, P. I., Georgiev, G. I., Karceva, T. V., Börner, A., & Landjeva, S. P. (2014). Wheat Rht-B1 Dwarfs Exhibit Better Photosynthetic Response to Water Deficit at Seedling Stage Compared to the Wild Type. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 200(6), 434-443.
- Noctor, G., Veljovic-Jovanovic, S. O. N. J. A., Driscoll, S., Novitskaya, L., & Foyer, C. H. (2002). Drought and oxidative load in the leaves of C3 plants: a predominant role for photorespiration? *Annals of Botany*, 89(7), 841-850.
- Prasad, P. V. V., Pisipati, S. R., Momčilović, I., & Ristic, Z. (2011). Independent and combined effects of high temperature and drought stress during grain filling on plant yield and chloroplast EF-Tu expression in spring wheat. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 197(6), 430-441.
- Premachandra, G. S., Saneoka, H., Fujita, K., & Ogata, S. (1992). Leaf water relations, osmotic adjustment, cell membrane stability, epicuticular wax load and growth as affected by increasing water deficits in sorghum. *Journal of Experimental Botany*, 43(12), 1569-1576.
- Richardson, A. D., Duigan, S. P., & Berlyn, G. P. (2002). An evaluation of noninvasive methods to estimate foliar chlorophyll content. *New Phytologist*, 153(1), 185-194.
- Shefazadeh, M. K., Karimizadeh, R., Mohammadi, M., & Suq, H. S. (2012). Using flag leaf chlorophyll content and canopy temperature depression for determining drought resistant durum wheat genotypes. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 10(1), 509-515.
- Turner, N. C. (1979). Drought resistance and adaptation to water deficits in crop plants. In: *Stress physiology in crop plants* (eds. H. Mussel and R.C. Staples). Wiley, New York (pp. 344-372).
- Turner, N. C. (1981). Techniques and experimental approaches for the measurement of plant water status. *Plant and Soil*, 58(1-3), 339-366.
- Valchev, D. & G. Georgiev, G. (1991). Protective action of coating with some plastic film antitranspirants on water relations and grain yield quantity and quality of barley under conditions of dry hot wind. In: *Plant metabolism regulation*. Proceedings of the 5th International Symposium, Varna, Bulgaria, 6, 363-367.
- Zadoks, J. C., Chang, T. T., & Konzak, C. F. (1974). A decimal code for the growth stages of cereals. *Weed Research*, 14(6), 415-421.