جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مجله علوم کشاورزی ایران
جلد ۳۶، شماره ۱، سال ۱۳۸۴ (۸۵-۷۵)

شناسائی ژنوتیپ های متحمل به شوری گندم نان از طریق کشت بافت وآزمون جوانه زنی

محمدرضا قنادها[۱] ، منصور امیدی[۲]، روح‌اله عبدالشاهی[۳] و کاظم پوستینی[٤]
۱، ۲، ۳، ٤، دانشیار، استادیار، دانشجوی دکتری و دانشیار دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران
تاریخ پذیرش مقاله ۸۳/۱/۲٦

خلاصه

به منظور بررسی ارتباط صفات درمحیطهای کشت بافت و آزمون جوانه زنی با تحمل به شوری دو آزمایش به صورت فاکتوریل اجرا گردید.درآزمایش کشت بافت ۵ رقم متحمل به شوری شعله،کویر، روشن ،سرخ تخم وکارچیا(۲) و۳ رقم حساس قدس(۲)، گاسپارد وچمران(مکاتبات شخصی باموسسه نهال و بذر بخش غلات) استفاده شد و غلظت‌های۰، ۰/۳۸، ۰/۷۷و۱/۱۵ درصد نمک توسط NaCl به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی با دو تکرار و دو مشاهده در هر تکرار انجام شد و صفاتی نظیروزن ترکالوس ،تعداد کالوس، اندازه کالوس، میزان سدیم و پتاسیم کالوس اندازه گیری شد. نتایج این آزمایش نشان داد که تنش شوری اعمال شده تاثیری بر وزن ترکالوس‌ها وتعداد کالوس‌های تشکیل شده نداشت و با افزایش تنش شوری وزن کالوس‌ها ثابت باقی ماند.ولی افزایش تنش شوری باعث کاهش اندازه کالوس وافزایش میزان سدیم در بافت کالوس ها شد.صفت پتاسیم ونسبت K^+ / Na^+ برای ژنوتیپ‌ها و ژنوتیپ×شوری معنی دار بود و بابررسی میانگین ارقام مقاوم وحساس مشخص شد که روند تغییرات پتاسیم درکالوس به مقاومت و یا حساسیت ارقام بستگی داردو از این نکته میتوان در انتخاب غیره مستقیم ژنوتیپ های متحمل به شوری استفاده کرد.درآزمایش جوانه زنی نیز همان ارقام آزمایش اول ولی با سطوح شوری۰، ۰/۱۹، ۰/۳۸، ۰/۵۸، ۰/۷۷، ۰/۹۶ و ۱/۱۵درصد نمک به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با۳ تکرار بکار گرفته شد. در این آزمایش نیز صفاتی نظیر درصد جوانه زنی،سرعت جوانه زنی،طول کلئوپتیل وطول ریشه چه اندازه گیری شد و درنهایت مشخص شد که ارقام مقاوم سرعت رشد بیشتری دارند.ازنتایج حاصل از دو آزمایش می توان به عنوان شاخصهایی در انتخاب ژنوتیپ های متحمل به شوری استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: گندم ، کشت بافت ، جوانه زنی ، القاء کالوس، تحمل به شوری ، K^+/Na^+

مقدمه

گندم ۱۸-۱۵ درصد مصرف غذائی مردم جهان را تشکیل میدهد و منبع غذائی اصلی مردم در بیشتر کشورهائی است که از خاک های شور رنج می برند(۸).بر اساس شواهد ومطالعات انجام شده سطح کل خاکهای شور در ایران حدود۲۵ملیون هکتار تخمین زده شده است که شامل ۱۵درصد سطح کل ایران،۳۰درصد دشتهاو۵۰درصداراضی کشت آبی است(۵). هافمن و ماس(۱۹۷۷)گیاهان زراعی را بر اساس مقاومت به شوری به ۴ گروه مقاوم ، نیمه مقاوم ، نیمه حساس وحساس تقسیم بندی نمودند وگندم را گیاهی نیمه مقاوم قلمداد کردند (۱۶). تحمل به شوری براساس ترکیبی از استراتژی‌های تحمل وفرار است که مکانیسمهای فرار ازشوری عبارتند از : تاخیر

مکاتبه کننده: روح‌اله عبدالشاهی

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

درجوانه زنی ،رشد درنواحی غیرشور(ریشه)، جلوگیری ازتجمع نمک، خارج سازی نمک از بافت گیاه (غده‌ها وکرک‌ها) و ذخیره نمک در برگهایی پیرتر(۱۵). ریچاردز(۱۹۹۲) اظهار کرد به دلیل غیره یکنواختی اراضی شور نیازی به اصلاح برای مقاومت به شوری نیست بلکه بایستی فعالیتها را روی ظرفیت عملکرد متمرکز نمود(۲۰). یئو و فلاورز(۱۹۹۵) اعلام کردندتعداد واریته های معرفی شده مقاوم به شوری در مورد کلیه گیاهان زراعی و باغی طی سال های ۱۹۷۵ تا ۱۹۹۵ به زحمت به بیش از ۲۰ واریته میرسد(۱۱). مزیت استفاده از جنین ها در اصلاح گندم باززائی سریع و غلبه بر سدهای طبیعی موجود در قابلیت تلاقی پذیری بین نژادها و ارقام مختلف گندم است(۱۳). فنون کشت بافت گیاهی روشهائی مطمئن و سریع برای ارزیابی ژرم پلاسم و تولید گیاهان متحمل به شوری است(۱۰). گزارشات اخیر مبنی بر امکان تولید گیاهان بارور و متحمل به شوری در گندم که از لحاظ ژنتیکی ثبات بالائی دارند پیشنهاد می‌کند که انتخاب در سطح کشت بافت گیاهی میتواند به عنوان ابزاری مفید در اصلاح مقاومت به شوری به کار رود(۱۳). ارزانی و میراجاق (۲۰۰۰)برای ارزیابی واریته های گندم دوروم از لحاظ مقاومت به شوری، کالوس های در حال رشد را در معرض غلظت های مختلف شوری از ۲/۱-۰ درصد نمک طعام قرار دادند، تیمارهای شوری در خلال دو زیرکشت اعمال گردید و مقایسه ارقام برای القاء کالوس از جنین نارس بر اساس فراوانی القاء کالوس و وزن تر کالوس صورت گرفت و برای تحمل به شوری وزن تر نسبی کالوس و درصد نکروزه کالوس مورد استفاده قرار گرفت نتایج این تحقیق نشان داد رقم شاهوندی که بومی ایران می باشد از نظر باززائی بهترین رقم بود این رقم همچنین دارای بیشترین رشد کالوس (۳۴/۶ درصد در روز) در بین ۲۸ رقم مورد بررسی بود. همچنین سرعت رشد نسبی بالا را به دلیل قرار نگرفتن طولانی در معرض محیط کشت، کاهش تنوع سوماکلونال و کوتاه شدن سیکل باززائی مفید اعلام کردند در این تحقیق تجزیه واریانس رشد نسبی کالوس برای وزن تر و درصد نکروزه در سطح یک درصد برای ژنوتیپ ها معنی دار بود، همچنین تفاوت معنی داری بین غلظت های مختلف نمک طعام و ژنوتیپ×شوری برای هر دو صفت مشاهده شد. با بررسی اثر شوری بر RFWG و درصد نکروزه شدن کالوس ها رقم PI40100 برای این صفات بهترین بود و پس از آن رقم دپیر-۶ قرار داشت، با افزایش غلظت نمک رشد نسبی کالوس برای وزن تر کاهش یافت(۷). تقوائی و همکاران(۱۳۷۶)گزارش کردند گندم نان توانائی لازم برای کشت بافت را دارد و بیشترین حجم کالوس در تمام ارقام به ترتیب به گل آذین نارس و جنین اختصاص داشت ولی بهترین نوع کالوس از نظر تولید جنین های رویشی و باززائی گیاه به ترتیب در جنین نارس و سپس گل آذین نارس به دست آمد(۳). عنایتی و دبیر اشرافی(۱۳۸۲) با بررسی کشت بافت و تنوع سوماکلونال در جو اعلام کردند جنین نارس ۱۸ روزه بیشترین کالوس زائی را دارد و در این تحقیق ۲۷ گیاه کامل متحمل به سطوح بالای شوری با ۸ گرم در لیتر نمک طعام از ۴ رقم جو مورد بررسی(والفجر،افضل،آشار و آریگاشار)باززائی گردید(۴). تال(۱۹۹۴) عنوان کرد هر چند تحمل به شوری در مرحله کالوس الزاما بدین معنی نیست که رقم مربوطه در مرحله گیاه کامل و در طی مراحل رشد خود تحمل مشابهی نسبت به شوری نشان خواهد داد، لیکن حداقل نشان دهنده وجود یا فقدان ظرفیت ژنتیکی تحمل به شوری در دو دسته ارقام مذبور میباشد(۲۳). تیم و همکاران(۱۹۹۱) تعداد ۱۷۹ لاین گندم حاصل از انتخاب درون شیشه ای با ۴و۸ گرم در لیتر نمک را مورد ارزیابی گلخانه ای برای تحمل به شوری قرار دادند و یک لاین متحمل به شوری شناسائی کردند که به طور معنی داری عملکرد دانه و زیست توده (بیوماس) بالاتری در شرایط تنش و غیرتنش نسبت به والد خود داشت(۲۴). یووئی وهمکاران (۲۰۰۱) برای انتقال ژن‌های مقاومت به شوری ازگونه *Aeleuropus Littorulis* به گندم از طریق هیبرید سوماتیکی برای بررسی انتقال ژن‌های تحمل به شوری نسبت K^+/Na^+ کالوس را اندازه گیری کرد ومیزان بالاتر این نسبت درهیبریدها را دلیل انتقال ژن‌های تحمل به شوری از *A.Littoralis* به گندم میداند ونسبت بالای K^+/Na^+ درمحیط کشت بافت را عامل تحمل به شوری گیاه میداند(۲۵). اورتون (۱۹۸۰)گزارش کردکه تحمل به شوری در جو بطور مشابه در کشت پینه حاصل از این گیاهان نیز مشاهده شد(۱۷). هی و کرامر(۱۹۹۳) با بررسی تحمل به شوری در دو گونه

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

Brasica napus و *B.carinata* مشاهده کردند که هم درسطوح پینه وهم گیاه کامل *B.napus* تحمل بیشتری به شوری داشت(۱۲). بوباکر(۱۹۹۶) نشان داد که درصد جوانه زنی،طول کلئوپتیل،تعداد ریشه،طول ریشه وطول جوانه ارقام گندم دورم با افزایش سطوح تیمار شوری بطور معنی داری درتمام ارقام کاهش یافت،ولی دربین ارقام در سطوح بالای شوری تفاوت وجود داشت واثرمتقابل رقم درسطح شوری نیز مشاهده شد (۹). هدف ازاین تحقیق ارزیابی صفات مرتبط با تحمل به شوری گیاه در محیطهای کشت بافت و آزمایش جوانه زنی می‌باشد،تا با توجه به این صفات امکان سریع فرایند انتخاب ژنوتیپ های متحمل به شوری فراهم گردد.

مواد و روش ها

کشت بافت

بذر رسیده ارقام شعله ،کویر، روشن،سرخ تخم، کارچیا گاسپارد، قدس و چمران به مدت ۳۵ ساعت در آب خیسانده شدند ،جهت استریل کردن بذور با الکل ۷۰٪ به مدت ۳۰ ثانیه ضدعفونی شدند وتحت شرایط استریل پس ازشستشو بلافاصله به مدت ۱۵ دقیقه در هیپوکلریت سدیم ۲/۵٪ قرار گرفتند و پس از آن نیز ۳ بار بذور با آب مقطر استریل شستشو داده شدند تا اثر هیپوکلریت سدیم به کلی پاک شود. سپس تحت شرایط استریل ودر زیرلامینارفلوجنین بذور را جدا وبه محیط کشت مایع MSحاوی۲میلی گرم در لیتر 2,4-D و تیمارهای شوری ۰، ۰/۳۸، ۰/۷۷و۱/۱۵ درصد نمک توسط نمک طعام اعمال نمودیم منتقل کردیم. درون هر ظرف پتری ۷ عدد جنین قرار دادیم و پس از بستن پتری ها با پارافیلم آنها را به مدت ۳۵ روز در ژرمیناتور با دمای ۱±۲۵ درجه سانتی گراد و در تاریکی قرار دادیم. اندازه کالوسها با توجه به مقیاسهای ارائه شده توسط هوکر و نی برز مشخص گردید و برای بدست آوردن غلظت عناصر سدیم و پتاسیم مقدار ۱۰۰میلی گرم کالوس جدا وبه لوله آزمایش منتقل گردید و مقدار۱۵cc اسید نیتریک ۰/۲ نرمال به آنها اضافه کردیم و پس از ۲۴ ساعت آنها را به وسیله دستگاه ورتکس به هم زدیم وپس از گذراندن از کاغذ صافی حجم آن را به ۱۰۰cc رسانده شد و به وسیله دستگاه فلیم فتومتر غلظت عناصر سدیم و پتاسیم تعیین گردید.

اندازه‌گیری پروتئین و رطوبت بذر

۳۵ روز پس ازبرداشت بذور رسیده از مزرعه (ارقام ذکر شده در بالا) پروتیئن وطوبت آنها توسط دستگاه Near Infrared Grain Analyzer اندازه گیری شد بدین ترتیب که بذرها ابتدا درظرف مخصوص دستگاه ریخته شده و سپس به مدت ۳۰ ثانیه دردستگاه mixerقرارگرفت پس ازاین ظرف مخصوص رادر دستگاه قرار دادیم وازصفحه نمایشگردستگاه درصد پروتئین و رطوبت قرائت گردید. از هرتیمار۴ نمونه تصادفی انتخاب شد وطرح پایه نیز طرح کاملا تصادفی بود لازم به ذکراست بعد از هر یادداشت ظرف مخصوص با برس تمیز می‌شد.

آزمایش جوانه زنی

ابتدا استریل طبق روشی که در کشت بافت توضیح داده شد صورت گرفت ولی در این آزمایش بذور پس از ضدعفونی و ۳ بارشستشو، مقداری قارچ کش ویتاواکس برای کنترل قارچ ها به‌آنها اضافه گردید سپس تعداد ۲۵ عدد بذر هم اندازه درون هرظرف پتری قرار دادیم و مقدار ۶ میلی‌متر از محلول شور ویا شاهد به آنها اضافه گردید، در این آزمایش مقدار ۰، ۰/۴۸، ۱/۴۴، ۱/۹۲، ۲/۴۰ و ۲/۸۸ گرم نمک در ۲۵۰ میلی لیترآب برای تهیه شوری مورد نظر اعمال گردید. پس از اتمام کارظروف پتری به ژرمیناتور با دمای ۲۳درجه سانتی گراد وبه مدت ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی منتقل شدند و۲۴ ساعت بعد یاداشت برداری‌ها شروع شد بدین ترتیب که هر روز(تاروز ششم) به فاصله ۲۴ ساعت تعدادبذر جوانه زده شمارش گردید. (بذری جوانه زده حساب می‌شد که حداقل ۲ میلی‌متر ریشه چه داشته باشد) که با استفاده از این داده ها سرعت جوانه زنی با فرمول زیرمحاسبه شد(۲۱).

$$Pi= nd_1(1) + nd_2(0.8)+ nd_3(0.6)+ nd_4(0.4)+ nd_5(0.2)$$

که در این فرمول:

pi= سرعت جوانه زنی

nd_1=تعداد بذر درجوانه زده در۲۴ ساعت بعد از کشت(روز اول)

nd2 =تعداد بذر درجوانه زده در روز دوم و....

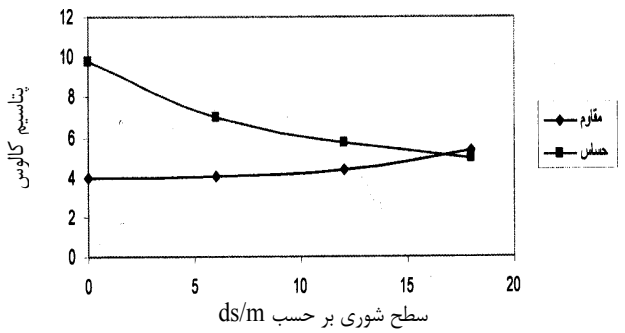
پس از ۹ روز طول ساقه چه و ریشه چه بوسیله خط کش (برحسب میلی‌متر) اندازه گیری شد وپس ازاندازه گیری برگ اولیه و ریشه چه راجدا وهرکدام را به پاکت مخصوص به خودمنتقل کردیم ودرنهایت پاکتها به آون با درجه حرارت ۷۵ ° c و به مدت ۲۴ ساعت منتقل شدندو پس از خشک شدن وزن ریشه چه وبرگ اولیه به وسیله ترازوی حساس با دقت ۰/۰۰۱ اندازه گیری شد.

نتایج و بحث

کشت بافت

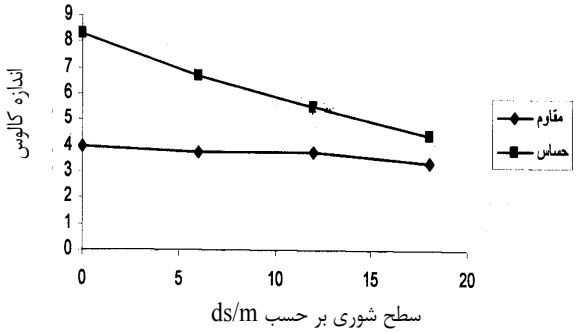
نتایج تجزیه و تحلیل نشان داد ارقام از نظر صفت پتاسیم کالوس، اندازه کالوس، نسبت پتاسیم به سدیم کالوس و تعداد کالوس تفاوت معنی داری دارند و همچنین اثر متقابل ژنوتیپ×سطوح شوری برای صفت پتاسیم کالوس و نسبت پتاسیم به سدیم کالوس در سطح ۱٪معنی دار شد. نتایج این تحقیق نشان داد هر دو گروه گندم مقاوم(کویر، روشن، کارچیا، شعله و سرخ تخم) و حساس(چمران، قدس و گاسپارد) مورد بررسی با افزایش شوری سدیم موجود در کالوس آنها افزایش یافت ولی همانطورکه در شکل ۱مشاهده میشود درارقام حساس با افزایش شوری پتاسیم کاهش یافت ولی طبق تجزیه‌هایی که انجام شد پتاسیم ارقام مقاوم باافزایش شوری ثابت باقی ماند.راینز(۱۹۹۶) اعلام کرد گیاهانی که شوری راکمترتحمل میکنند، درشرایط غلظت‌های بالای سدیم محیط ریشه ، کاهش شدیدی درجذب پتاسیم وافزایش جذب سدیم دراندامهای هوایی نشان میدهند(۱۸) از طرف دیگرجذب پتاسیم توسط گیاهان شورزی میتواند درغلظت کلرید سدیم از ۲۰ تا ۱۰۰۰ میلی مول حتی باافزایش محتوی سدیم بافت ثابت بماند (۱۵).

دراین تحقیق مشخص شد که ارقام از نظرمیزان جذب سدیم(Na^+ uptake) اختلاف معنی‌داری ندارند یعنی همه ارقام به یک میزان سدیم جذب می‌نمایند و درواقع بین مقاومها وحساس‌ها از نظرجذب سدیم تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ولی‌با افزایش شوری مقدارسدیم بافت هابه طور معنی داری افزایش یافت.



شکل۱-روند تغییرات میانگین پتاسیم در ارقام مقاوم(روشن، شعله، سرخ تخم، کارچیا و کویر) و حساس(قدس، چمران و گاسپارد) با افزایش سطوح شوری (سطوح شوری ۰، ۶، ۱۲و ۱۸dS/m در شکل به ترتیب معادل ۰، ۰/۳۸، ۰/۷۷و ۱/۱۵ درصد نمک می باشد)

اندازه کالوس که توسط مقیاس هوکرونی برز به دست آمد برای ارقام معنی‌داراست ،اندازه کالوس با افزایش شوری کاهش می‌یابد ولی نکته جالب توجه این است که افزایش شوری باعث کاهش وزن ترکالوس نشده است وبه نظرمی‌رسد تجمع سدیم دربافت کالوس درغلظت‌های بالا باعث افزایش چگالی کالوس‌ها شده است که سبب ثابت ماندن وزن کالوس درتیمارهای شوری مختلف شده است (با توجه به کاهش اندازه کالوس).تغییرات اندازه کالوس با افزایش تیمار شوری شاخص مناسبی برای تشخیص کالوس های حساس و مقاوم به شوری میباشد و همانطور که در شکل ۲ مشاهده می شود با افزایش تنش شوری اندازه کالوس در ارقام حساس کاهش می یابد در صورتی که تنش شوری تاثیری بر اندازه کالوس ارقام مقاوم ندارد و با توجه به این مطلب ارقامی که در مزرعه(گیاه کامل) مقاوم به شوری بودند در محیط کشت بافت هم کالوس های مقاوم تری تولید نمودند، از این ویژگی(تحمل کالوس ها) میتوان برای انتخاب ژنوتیپ های متحمل به شوری استفاده کرد. با توجه به اینکه گیاهان مقاوم در شرایط مزرعه در محیط کشت بافت هم کالوس‌های مقاوم تولید کردند چنین استنباط میشود بخشی از مکانیسم مقاومت به شوری در گندم(با توجه به مکانیسم های متعدد نظیر ریزش برگ های مسن و...)در سطح سلولی عمل می کند(مثل تنظیم پتانسیل اسمزی).



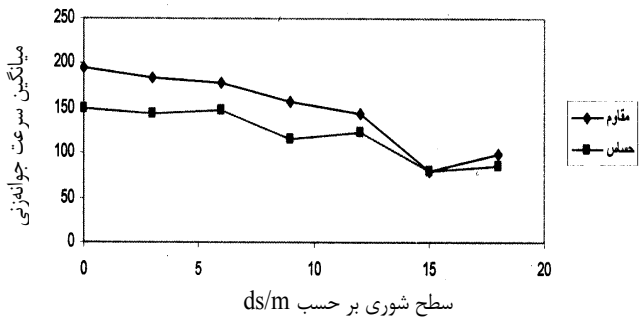
شکل۲-روند تغییرات میانگین اندازه کالوس در ارقام مقاوم(روشن، شعله، سرخ تخم، کارچیا و کویر) و حساس(قدس، چمران و گاسپارد) با افزایش سطوح شوری (سطوح شوری ۰، ۶، ۱۲و dS/m۱۸ در شکل به ترتیب معادل ۰، ۰/۳۸، ۰/۷۷و ۱/۱۵ درصد نمک می باشد)

افزایش شوری بر تعداد کالوس‌ها نیز تاثیری ندارد و با افزایش شوری تعداد کالوس‌ها ثابت باقی مانده است ولی ژنوتیپ‌ها با همدیگرتفاوت دارند بدین ترتیب که ژنوتیپ سرخ تخم با میانگین ۴/۷در سطح b و سایر ژنوتیپ‌ها درسطح a قرارگرفتند ونکته جالب این است که رقم قدس درهمه تکرارها و سطوح شوری مختلف تمام جنین های کشت شده تولید کالوس نمودند.

آزمایش جوانه زنی

نتایج تجزیه واریانس نشان میدهد که ژنوتیپ و اثر متقابل ژنوتیپ×شوری برای صفات سرعت جوانه زنی، قوه نامیه، وزن اندام هوائی، وزن ریشه چه، اندازه برگ، اندازه ریشه و تعداد ریشه معنی دار است. تنش شوری باعث کاهش همه صفات در این بخش از آزمایش شد اما این نتیجه از قبل نیز قابل پیش‌بینی بود ولی نکته مورد توجه در این آزمایش این بود که این صفات در ارقام مقاوم وحساس به چه صورت تغییرپیدا میکند.با بررسی سرعت جوانه زنی مشخص شد که ارقام مقاوم سرعت جوانه زنی بیشتری نسبت به ارقام حساس داشته‌اند و در بین ارقام بیشترین سرعت جوانه زنی مربوط به رقم فلات است که رقمی متحمل به شوری است وکمترین سرعت جوانه زنی را رقم چمران دارد که رقمی حساس به شوری به حساب میآید.

همانطور که در شکل ۳ مشاهده می‌شود در ابتدا و بدون وجود تنش شوری میانگین سرعت جوانه زنی ارقام مقاوم از حساس بیشتراست وبا ایجاد تنش سرعت جوانه زنی درمقاومها وحساس‌ها کاهش پیدا کرده است ولی ارقام مقاوم با شیب بیشتری کاهش پیدا کرده‌اند که باعث بوجود آمدن اثرمتقابل بین ارقام مقاوم و حساس شده است که از این قضیه میتوان درانتخاب لاین‌های متحمل به شوری استفاده کرد. یعنی اینکه ارقامی که شیب تندتری برای سرعت جوانه زنی با افزایش شوری دارند به عنوان مقاوم به شوری محسوب میشوند.



شکل۳-روند تغییرات میانگین سرعت جوانه زنی در ارقام مقاوم(روشن، شعله، سرخ تخم، کارچیا و کویر) و حساس(قدس، چمران و گاسپارد) با افزایش سطوح شوری (سطوح شوری ۰، ۶، ۱۲و dS/m۱۸ در شکل به ترتیب معادل ۰، ۰/۳۸، ۰/۷۷و ۱/۱۵ درصد نمک می باشد)

وقتی تجزیه رگرسیون برای ارقام مقاوم وحساس انجام شد معادلات زیربدست آمد:

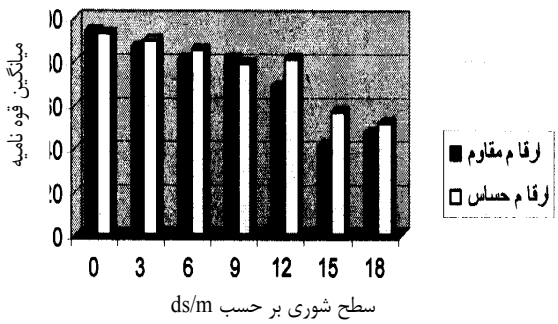
$y_s=157.37-4.08x$ و $y_t=205.54-6.38x$ $(R^2=0.87)$

که در این معادلات:

y_t = سرعت جوانه زنی ارقام مقاوم

y_s = سرعت جوانه زنی ارقام حساس و x = سطح شوری می‌باشد.

همانطور که درشکل۴ مشاهده می‌شود در شرایط بدون استرس (۰dS/m)قوه نامیه ارقام مقاوم وحساس با هم برابر هستند و درشرایط استرس شوری ارقام حساس معمولا قوۀ نامیه بالاتری از ارقام مقاوم دارند و این قضیه نیز مثل سرعت جوانه زنی این نوع مقاومت درمرحله جوانه زنی را درگندم تائید میکند و با توجه به این مطلب قوه نامیه کمتر درمحیط های شور میتواند حاکی از تحمل به شوری درگندم باشد.



شکل۴-مقایسه میانگین قوه نامیه در ارقام مقاوم(روشن، شعله، سرخ تخم، کارچیا و کویر) و حساس(قدس، چمران و گاسپارد) (سطوح شوری ۳،۰، ۶،۹، ۱۲، ۱۵و ۱۸dS/m در شکل به ترتیب معادل ۰، ۰/۱۹، ۰/۳۸، ۰/۵۸، ۰/۷۷، ۰/۹۶و ۱/۱۵ درصد نمک می باشد)

با توجه به اینکه جوانه زنی بذوردر۵ روز متوالی بررسی گردید،داده‌ها بصورت طرح خرد شده در زمان تجزیه گردید ونتایج این تجزیه نشان دادکه ارقام و شوری با زمان اثر متقابل دارند وتجزیه‌های جداگانه نیز نشان داد که ارقام درزمان‌های مختلف واکنش متفاوتی نشان دادندوبا تجزیه طرح خرد شده درزمان مشخص شد که رقم فلات درمجموع بیشترین درصد جوانه زنی ورقم روشن کمترین درصدجوانه زنی را دارند.

برای صفت تعداد ریشه ژنوتیپ و شوری و همینطوراثر متقابل ژنوتیپ × شوری معنی دار بود ولی تعداد ریشه تولید شده در ارقام مقاوم و حساس تفاوت معنی داری را نشان نداد نتیجه کلی این است که تعداد ریشه های گندم با افزایش شوری کاهش‌می‌یابد ولی به مقاومت و یا حساسیت ارقام بستگی ندارد.

شارما وهمکاران (۱۹۹۴) اعلام کردند خصوصیاتی از کارچیا نظیر پروتئین ورطوبت اندوسپرم بالا می‌تواند به عنوان شاخص برای انتخاب ارقام مقاوم به شوری قرارگیرد(۱۹) ولی در این آزمایش نتایج متفاوتی بدست آمد بدین ترتیب که حساس‌ها به طور معنی داری پروتئین بیشتری نسبت به مقاوم‌ها داشتند واز نظر میزان رطوبت دانه تفاوت معنی داری بین ارقام مقاوم وحساس وجود نداشت، ولی کارچیا که رقمی متحمل به شوری است دارای بیشترین میزان رطوبت و پروتئین دانه بود و این مورد نشان می‌دهد که استفاده ازهمه خصوصیات کارچیا نمیتواند مفید واقع شود.

باتوجه به جدول ۱ میزان سدیم در کشت بافت با قوه نامیه، سرعت رشد،وزن برگ اولیه، وزن ریشه اولیه، اندازه برگ اولیه وتعداد ریشه در آزمایش جوانه زنی همبستگی منفی و معنی داری دارد .

جدول۱-ضریب همبستگی صفات در دو آزمایش کشت بافت و آزمایش جوانه زنی

	قوه نامیه	سرعت جوانه زنی	وزن هوائی	وزن ریشه	طول برگ	طول ریشه	تعداد ریشه	اندازه کالوس	K^+ کالوس	Na^+ کالوس	تعداد کالوس	K^+/Na^+	وزن کالوس
قوه نامیه	۱	۰/۷۸**	۰/۷۸ **	۰/۷۶**	۰/۷۲**	۰/۶۷**	۰/۳۱ **	۰/۰۷ ns	-۰/۰۷ ns	-۰/۷۸**	۰/۰۰ ns	۰/۱۱ ns	-۰/۱ ns
سرعت‌جوانه زنی		۱	۰/۶۱ **	۰/۶۴**	۰/۶۱**	۰/۴۴**	۰/۴۰ **	۰/۰۸ ns	-۰/۱۳ ns	-۰/۶۲ **	-۰/۱۴ ns	۰/۲۷ ns	۰/۱ ns
وزن هوائی			۱	۰/۹۳**	۰/۹۳**	۰/۹۱**	۰/۴۹ **	۰/۱۸ ns	۰/۰۴ ns	-۰/۷۰ **	-۰/۱۳ ns	۰/۰۶ ns	-۰/۲۲ ns
وزن ریشه				۱	۰/۸۸**	۰/۹۳**	۰/۵۱ **	۰/۲۵ *	۰/۰۱ ns	-۰/۶۷ **	-۰/۱۰ ns	۰/۰۵ ns	-۰/۲۱ ns
طول برگ					۱	۰/۹۲**	۰/۵۵ **	۰/۱۹ ns	۰/۰۳ ns	-۰/۷۱ **	-۰/۰۶ ns	۰/۰۷ ns	-۰/۱۸ ns
طول ریشه						۱	۰/۳۴ **	۰/۲۴ ns	-۰/۰۱ ns	-۰/۶۱ **	۰/۱۲ ns	-۰/۲ ns	-۰/۳۱ **
تعداد ریشه							۱	۰/۰۵ ns	-۰/۰۶ ns	-۰/۴۳ **	-۰/۵۰**	۰/۴۵ **	۰/۴۵ **
اندازه کالوس								۱	۰/۶۰ **	-۰/۱۶ ns	۰/۴۱ **	۰/۰۱ ns	-۰/۱ns
K^+ کالوس									۱	-۰/۰۴ ns	-۰/۱ ns	۰/۲۵ ns	۰/ ۰۷ns
Na^+ کالوس										۱	۰/۱۷ ns	-۰/۲۹ ns	-۰/۰۲ ns
تعداد کالوس											۱	-۰/۵۸ **	۰/۶۵ **
K^+/Na^+ کالوس												۱	۰/۸۱ **
وزن کالوس													۱

ns غیر معنی دار *معنی دار در سطح ۵٪ ** معنی دار در سطح ۱٪

جدول ۲-مقایسه میانگین ژنوتیپ ها برای درصد پروتئین و رطوبت دانه

ژنوتیپ	درصد رطوبت	درصد پروتئین دانه
کارچیا	۱۶/۳۰ a	۱۱/۰۲ a
چمران	۱۳/۶۸ d	۱۱/۰۰a
گاسپارد	۱۵/۸۰ b	۱۰/۹۰ a
کویر	۱۳/۹۳ c	۱۰/۴۰ b
شعله	۱۲/۷۰ g	۱۰/۳۲ b
روشن	۱۳/۴۳ e	۱۰/۱۵ b
سرخ تخم	۱۳/۳۵ e	۱۰/۰۰ b
قدس	۱۳/۰۱ f	۹/۲۵ c

* ژنوتیپ های دارای حروف مشابه در سطح احتمال ۱٪ با همدیگر تفاوت معنی داری ندارند.

میزان پتاسیم نیز با اندازه کالوس همبستگی مثبت ومعنی داری دارد وبا توجه به این همبستگی کالوس های بزرگتر پتاسیم و در نهایت مقاومت بیشتری دارند.به نظر می رسید ارقامی که دارای قوه نامیه بیشتری هستند تعداد کالوس بیشتری نیز تولید نمایند ولی در این تحقیق مشخص شد که هیچ گونه همبستگی با هم ندارند.

برای بدست آوردن صفات مرتبط با مقاومت به شوری مقایسه گروهی بین مقاوم ها و حساس ها صورت گرفت که در تعدادی از صفات این مقایسه معنی دار بود ولی این تفاوت بدین معنی نبود که مقاومهاو حساس ها در دو گروه کاملا مجزا از هم قرار می گیرند ولی از این تفاوت معنی دار میتوان در تصمیم‌گیری‌ها برای انتخاب لاین ها استفاده کرد همانطور که مشخص است یکی از ضعف های انتخاب غیرمستقیم حذف ژنوتیپ های ارزشمند است ولی در مواردی که با کمبود وقت و هزینه مواجه هستیم استفاده از این نوع انتخاب ها توصیه میشود وبا توجه به مشکلات تهیه محیط شور در مزرعه انتخاب غیرمستقیم برای مقاومت به شوری اهمیت زیادی پیدا میکند.

به دلایل ذکر شده انتخاب غیرمستقیم برای شوری از اهمیت بالائی برخوردار است و در این تحقیق مشخص شد که مقدار پتاسیمی که توسط کالوسهای حاصل از کشت جنین کامل در غلظت های مختلف شوری جذب میشود به میزان مقاومت و یاحساسیت ارقام گندم بستگی دارد یعنی با افزایش شوری غلظت پتاسیم درکالوس ارقام حساس کاهش می یابد در صورتی که با افزایش شوری میزان پتاسیم در کالوس ارقام مقاوم ثابت باقی می ماند. علاوه بر این سرعت جوانه زنی در آزمایش جوانه زنی معیار خوبی برای شناسائی ارقام مقاوم و حساس از یکدیگر میباشد، بدین ترتیب که ارقام مقاوم سرعت رشدبیشتری نسبت به ارقام حساس دارند.

موارد ذکر شده ارقام متحمل و حساس را به دو گروه کاملا مجزا از هم تقسیم نمی کند مثلا رقمی ممکن است دارای سرعت جوانه زنی بالا باشد ولی در عین حال حساس به شوری باشد ولی موارد ذکر شده میتواند مورد استفاده قرار گیرند ، البته ممکن است لاین هائی حذف شود که واقعا مقاوم به شوری باشند که از عیوب این روش به حساب می آید ولی با مباحثی که مطرح گردید این مشکل قابل چشم پوشی است.

جدول۳-مقایسه میانگین سطوح شوری برای صفات اندازه گیری شده در آزمایش کشت بافت با استفاده از آزمون دانکن

سطوح شوری	وزن تر کالوس	اندازه کالوس*	K^+/Na^+کالوس	Na^+کالوس	K^+ کالوس	تعدادکالوس
۰	۰/۵ a	۵/۴ a	۲/۷ a	۲/۳ a	۴/۲ a	۶/۳ a+
۰/۳۸	۰/۴ a	۵/۰ ab	۱/۷ b	۳/۳ b	۵/۲ a	۶/۵ a
۰/۷۷	۰/۴ a	۴/۳ bc	۱/۴ b	۱/۴ b	۵/۲ a	۶/۴ a
۱/۱۵	۰/۴ a	۳/۸ c	۱/۱ b	۵/۱ a	۵/۴ a	۶/۶ a

ژنوتیپ های دارای حروف مشابه در هر ستون در سطح احتمال ۱٪ با همدیگر تفاوت معنی داری ندارند.

جدول۴-مقایسه میانگین ارقام برای صفات اندازه گیری شده در آزمایش جوانه زنی با استفاده از آزمون دانکن

واریته	طول ریشه	طول برگ اولیه	وزن ریشه اولیه	وزن اندام هوائی	قوه نامیه (درصد)	سرعت جوانه زنی	تعداد ریشه
قدس	۴۲/۵ a	۳۴/۰ ab	۷۶/۷ b	۶۶/۲۸ ab	۷۲/۹۵۲b	۱۲۵/۸cd	۳/۷ a
گاسپارد	۴۱/۸ a	۲۸/۲ b	۷۸/۵ b	۷۸/۸۰ a	۷۲/۹۵۲ b	۱۰۷/۳d	۲/۸ b
کویر	۴۸/۷ a	۳۲/۲ ab	۱۱۵/۱ a	۸۲/۵۰ a	۹۱/۲۵۰ a	۲۲۰/۷۷a	۳/۷ a
سرخ تخم	۴۵/۵ a	۳۱/۰ ab	۹۲/۲۳ b	۷۴/۴۱ a	۷۸/۷۸۶ b	۱۴۶/۸b	۳/۹ a
روشن	۱۷/۹ b	۲۴/۴ b	۵۷/۸۷ c	۵۱/۵۳ bc	۵۱/۳۸۷ c	۱۱۷/۶cd	۳/۲ b
چمران	۴۷/۸ a	۳۹/۰ a	۹۲/۸۴ b	۸۱/۴۲ a	۸۰/۶۹۷ b	۱۳۱/۰bc	۴/۱ a
شعله	۲۱/۹ b	۲۷/۶ b	۴۱/۹۰ c	۴۶/۰۰ c	۵۸/۹۲۲ c	۱۲۶/۸۸ c	۳/۱ b
کارچیا	۴۷/۹ a	۳۳/۹ ab	۸۷/۰۰ b	۷۸/۵۵ a	۷۸/۹۲۹ b	۱۲۸/۵ bc	۳/۹ a

ژنوتیپ های دارای حروف مشابه در هر ستون در سطح احتمال ۱٪ با همدیگر تفاوت معنی داری ندارند.

جدول۵-مقایسه میانگین سطوح شوری برای صفات اندازه گیری شده در آزمایش جوانه زنی با استفاده از آزمون دانکن

شوری	طول ریشه	طول برگ اولیه	وزن ریشه اولیه	وزن اندام هوائی	قوه نامیه (درصد)	سرعت جوانه زنی	تعداد ریشه
۰	۷۷/۵ a	۶۴/۳ a	۱۶۰/۰ a	۱۲۹/۲ a	۹۳/۶۳ a	۱۷۸/۱۷ +a	۴/۴ a
۰/۱۹	۵۸/۳ b	۵۰/۴ b	۱۱۳/۸ b	۱۱۰/۴ b	۸۸/۰۴ ab	۱۶۸/۶۳ a	۴/۰ ab
۰/۳۸	۴۸/۵ c	۴۰/۳ c	۹۴/۴۴ c	۹۵/۶ c	۸۲/۹۰ b	۱۶۷/۲۸ a	۳/۷ bc
۰/۵۸	۳۷/۳ d	۲۶/۸ d	۷۶/۴ d	۶۹/۳ d	۸۰/۹۱ bc	۱۴۱/۶۷ b	۳/۵ cd
۰/۷۷	۲۵/۷ e	۱۷/۵ e	۵۵/۰ e	۴۸/۸ e	۷۳/۸۲ c	۱۳۵/۵۸ b	۳/۱ e
۰/۹۶	۱۹/۹ ef	۱۳/۷ ef	۳۵/۸ f	۲۶/۱ f	۴۷/۵۰ d	۷۹/۸۰ c	۳/۳ de
۱/۱۵	۱۱/۸ f	۶/۷ f	۳۰/۹ f	۱۶/۲ f	۴۹/۷۹ d	۹۳/۳۹ c	۳/۰ e

ژنوتیپ های دارای حروف مشابه در هر ستون در سطح احتمال ۱٪ با همدیگر تفاوت معنی داری ندارند.

جدول۶-مقایسه میانگین ارقام مختلف برای صفات اندازه گیری شده در کشت بافت با استفاده از آزمون دانکن

واریته	وزن تر کالوس	اندازه کالوس*	K^+/Na^+کالوس	Na^+کالوس	K^+ کالوس	تعدادکالوس
قدس	۰/۵ a	۱۰ a	۳/۸ a	۳/۷ + a	۸/۸ a	۷/۰ a
گاسپارد	۰/۴ a	۴/۲ b	۲/۷ b	۳/۸ a	۶/۳ b	۶/۴ a
کویر	۰/۵ a	۵/۱ b	۱/۷ bc	۳/۱ a	۵/۲ bc	۶/۶ a
سرخ تخم	۰/۳ a	۱/۳ c	۱/۵ bc	۴/۲ a	۴/۵ cd	۴/۷ b
روشن	۰/۴ a	۴/۸ b	۱/۰ c	۴/۰ a	۴/۵ cd	۶/۹ a
چمران	۰/۴ a	۴/۰ b	۱/۳ c	۳/۲ a	۴/۰ cd	۶/۵ a
شعله	۰/۵ a	۴/۰ b	۱/۵ c	۳/۵ a	۳/۴ d	۶/۸ a
کارچیا	۰/۴ a	۳/۳ bc	۱/۱ c	۳/۳ a	۳/۳ d	۶/۳ a

* واحد اندازه گیری اندازه کالوس مقیاس هوکر و نی برز می باشد

ژنوتیپ های دارای حروف مشابه در هر ستون در سطح احتمال ۱٪ با همدیگر تفاوت معنی داری ندارند(به غیر از تعداد کالوس که حروف مشابه در سطح ۵٪تفاوت معنی داری با هم ندارند).

مراجع مورد استفاده REFERENCES

۱. امیدی،م. ۱۳۷۹.بررسی کشت بافت ، تنوع سیتوژنتیکی و پروتئینی جو . رساله دکتری ،دانشکده کشاورزی ،دانشگاه تهران.

۲. پوستینی،ک. ۱۳۸۱. ارزیابی ۳۰ رقم گندم از نظر واکنش به تنش شوری. مجله علوم کشاورزی ایران،جلد۳۳: (۱) ۶۴-۵۷.

۳. تقوائی،م.، ا.مجیدی هروان، غ.سرمدنیا، د.مظاهری، و ع.م.شکیب.۱۳۷۶.بررسی تحمل به شوری کالوسهای حاصل از کشت شش رقم گندم در محیطهای مصنوعی. مجله نهال و بذر. جلد۱۳:(۴)۶۸-۶۰.

۴. عنایتی،م. و ا.دبیر اشرافی. ۱۳۸۲.تولید لاین های متحمل به سطوح بالای شوری در جو با استفاده از تنوع سوماکلونی. مجله علوم کشاورزی ایران، جلد ۳۴(۲):۳۶۷-۳۷۷.

۵. وزارت کشاورزی،۱۳۷۴،مجموعه اطلاعات کشاورزی. جلد اول،ناشرمعاونت ترویج سازمان تحقیقات وآموزش کشاورزی.

6. Albert,R. & M. Popp.1977.Chcmical composition of halophytes from the Neusieder Lake region in Austria.oecologia,27:157-170.
7. Arzani,A. & S.Sh.Mirodjagh. 1999. Response of durum wheat cultivars to immature embryo culture, callus induction and in vitro salt stress. Plant Cell Tissue and Organ Culture 58:67-72.
8. Ashraf , M. 1994.Breeding for salinty tolerance in plant .CRC critical reviw in plant sciences,13:17-42.
9. Boubaker,M. 1996. Salt tolerance of durum wheat cultivars during germination and early seedling growth,agricoltura-mediterranea,126:1,32-39.
10. Cano,E., A.Perez, A.Moreno, V.M.Bolarin, & C.Maria .1998. Evaluation of salt tolerance in cultivated and wild tomato species through in vitro shoot apex culture.Plant Cell Tissue and Organ Culture. 53:19-26.
11. Flowers,T.J., & A.R. Yeo.1995. Breeding for salinity resistance in crop plants ,where nex?,Aust.J.plant physiol.22:875-884.
12. He,T. & D.R.Cramer.1992.Growth and mineral nutrition of six rapid cycling brassica species in respons to sea water salinity.Physiologia plantarum,87:1,56-60.
13. Kintzios,S., M.Barberaki, S.Gaivalakis, J.B.Drossopoulos, & .H.Olevase.1996.In vitro morphogenetical response of mature wheat embryo to differential NaCl concentration and growth regulator treatment. Plant Breading 116:113-118.
14. Leopold,A.C. & R.P.willing.1984.Evidence for toxity effect of salt on membrancs pp.67-69.Naw york:John Wiley.
15. Levitt, J., & T. T. Kuzlows.1972.Respons of plant to environmental stresses. Academic press ,New York.
16. Maas,E.V. & G.J.Hoffman.1977.Crop salt tolerance current assessment.J.Irrig.
Drainage Dive., ASCE,103:115-134.
17. Ourton,T.J.1980.Comparition of salt tolerance betwin Hordeum vulgar and H.jubatum in whole plants and calluse cultivare.Z.P.Flanzen physiol.98:105-118.
18. Rains,D.W.1969. Sodium and potassium absortion by stem tissue of beans and cotton.plant physiology,44:547-554.
19. Rengl,z.1992.The role of calciumin salt toxicity plant ,call and Environment ,15,625-632.
20. Richards,R.A.1992. Increasing salinity tolerance of grain crops :is it worth while? , plant and soil . 32:98-98.
21. Sapara, V.T.,E.Savge, A.O.Anaele & A.Beyl. 1997. Varietal differences of wheat and triticale to water stress. J.Agronomy and Crop Science.167:23-28.
22. Sharma,PK.varma, SK.Data, K.Bhumesh, & B.Kumer.1994.Effect of salinity on germination,eary seeding growth,some loiochemical parameters and ionic composition in two cuitivars of wheat widly differing in salt resistance, Haryana Agriculture University Jaurnal of Resarch,24:149-157.
23. Tal,M.1994. Invited review In vitro selection for salt tolerance in crop plants: Theoretical and practical consideration. In vitro Cell Dev. Biol. 30:175-180.

24. Timm,D., R.Waskom, D.Miller & M.Nabors.1991. Green house evaluation of regenerated spring wheat for enhanced salt tolerance .Cereal Research-Communication.
25.Yue,W., D. Zhi & H.Chen.2001.Transfer of salt tolerane from *Aeleuropus littorulis* sinensis to wheat via asymmetric somaclonal hyloridization, plant sci.,161,259-266.

Iranian, J. Agric. Sci. Vol. 36, No. 1, 2005

A Study of Salt Tolerance in Genotypes of Bread Wheat Using Tissue Culture and Germination Test

M. R. GHANNADHA[1], M. OMIDI[2], R. ABD SHAHI[3] AND K. POUSTINI[4]

1, 2, 3, 4, Associate Professor, Assistant professor, Ph. D. Scholar, and Associate Professor, Faculty of Agriculture, University of Tehran, Karaj, Iran

Accepted. April. 14, 2004

SUMMARY

To study the relationship between different traits and salt tolereance in bread wheat through tissue culture as well as germination test, two experiments with factorial design were carried out. In the first experiment, 5 salt tolerant varieties namely Kharchia, Sholeh, Kavir, Roshan, and Sorkhtokhm as well as 3 sensitive varieties of Gaspard, Ghods and Chamran were employed. The doses of Nacl were taken as 0, 0.38, 0.77 and 1.15%. This experiment was carried out factorially in a randomized complete block design (RCBD) with two replications and two observations to each replication. Some characters including callus fresh weight, callus size and amount of Na^+ and K^+ in callus were measured. The results showed that salt stress had no effect on either callus fresh weight or callus number. Callus weight didn't change with salt stress, but increase in salt stress caused decrease in callus size as well as increase in Na^+ content of callus. Genotype and genotype × salt effects were significant for K^+ and K^+/Na^+. The study showed that variation of K^+ in callus was related to tolerance or sensitivity of varieties, so we can select indirectly salt tolerant lines through this approach. Germination experiment was also carried out in the same way except for different salt levels which were 0, 0.19, 0.38, 0.58, 0.77, 0.96 and 1.15% of NaCl. Different traits such as germination percentage, germination rate, coleoptile length as well as root length were measured. Finally it was demonstrated that tolerant varieties had a more growth rate. So to select salt tolerant varieties one can make use of the demonstrated traits.

Key words: Wheat, Tissue culture, Germination, Callus induction, Salt tolerance, K^+/Na^+.