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 گیاهان زراعی ایران
دوره ۴۲، شماره ۱، ۱۳۹۰ (۹۰-۸۱)

بررسی اثرات تنش شوری بر جوانه‌زنی بذر، رشد گیاهچه‌ها و کشت پینه ژنوتیپ‌های کلزا

علی‌اشرف مهرابی[1]*، منصور امیدی[2] و بهمن فاضلی‌نسب[3]
۱، ۳، استادیار و مربی دانشکده کشاورزی دانشگاه ایلام
۲، استاد پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران
(تاریخ دریافت: ۸۹/۱/۲۴ - تاریخ تصویب: ۸۹/۸/۵)

چکیده

در این تحقیق پاسخ چهار ژنوتیپ مختلف کلزا در مراحل جوانه‌زنی، رشد اولیه گیاهچه‌ها و کشت پینه تحت تنش شوری مورد بررسی قرار گرفت. ژنوتیپ‌ها در سطوح مختلف شوری عکس‌العمل‌های متفاوتی داشتند. با این حال افزایش شوری باعث کاهش جوانه‌زنی و رشد بعدی گیاهچه‌ها در تمامی ژنوتیپ‌ها شد. برای هر یک از ژنوتیپ‌ها غلظتی از نمک که باعث ۵۰ درصد کاهش در جوانه‌زنی بذور شد، محاسبه گردید. در کشت پینه در محیط شور نیز مشاهده شد که از نظر وزن تر پینه‌ها و راندمان پینه‌زایی اختلاف بین ژنوتیپ‌ها کاملاً معنی‌دار است. افزایش غلظت نمک در محیط کشت تأثیری بر پینه‌زایی و رشد پینه‌ها نداشت. افزایش شوری در محیط منجر به افزایش تجمع سدیم و کاهش تجمع پتاسیم در بافت پینه شد اما نسبت K/Na در بافت پینه در تمامی ژنوتیپ‌ها با افزایش شوری روند کاهشی داشت. تجزیه همبستگی بین صفات ارزیابی شده در آزمون جوانه‌زنی و رشد پینه حاکی از عدم وجود همبستگی بین پارامترهای رشدی پینه و جوانه‌زنی ژنوتیپ‌ها تحت تنش شوری بود. همبستگی بین میزان تجمع K و نسبت K/Na در بافت پینه با درصد جوانه‌زنی بذر در محیط شور مثبت ولی همبستگی میزان تجمع Na با این صفت منفی بود. به طور کلی اطلاعات موجود در ارتباط با تحمل ژنوتیپ‌های مورد استفاده در این تحقیق بر مناسب بودن نسبت K/Na با میزان تحمل به شوری در این ژنوتیپ‌ها اشاره داشت. نتایج این تحقیق بر ارزش پایین تحلیل رشد پینه (رشد لاین‌های سلولی) به‌عنوان معیاری برای ارزیابی تحمل به شوری در کلزا اشاره دارد.

واژه‌های کلیدی: کلزا، شوری، جوانه‌زنی، کشت پینه، تجمع K/Na.

مقدمه

کلزا (*Brassica napus* L.) گیاهی نیمه‌حساس تا نیمه متحمل به شوری بوده و به عنوان یکی از مهمترین گیاهان روغنی مورد توجه قرار گرفته است (Enferad et al., 2004). از طرفی خاک‌های شور و شوری آب آبیاری از مهمترین عوامل تنش‌زای محیطی در تولید کلزا می‌باشند (Bybordi & Tabatabaei, 2009). جوانه‌زنی در کلزا بحرانی‌ترین مرحله از رشد گیاه است که در معرض شوری قرار می‌گیرد و با افزایش تنش شوری درصد سبز شدن بوته‌ها شدیداً کاهش می‌یابد (Ashraf et al., 2001).

به‌نژادی این گیاه با روش‌های سنتی و متداول عمدتاً آهسته و غیرقابل پیش‌بینی است. راهکارهای جدید بخصوص روش‌های مبتنی بر فناوری زیستی گیاهی

* نویسنده مسئول: علی اشرف مهرابی تلفن: ۰۹۱۲-۴۹۴۶۴۸۸ E-mail: A.mehrabi@ilam.ac.ir

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

غالباً روش‌های بسیار مناسبی جهت بهبود ارقام موجود می‌باشند (Wincov & Bastola, 1997). عمده‌ترین محدودیت به‌نژادی گیاهان در ارتباط با تحمل به شوری، عدم وجود روش‌های دقیق و سریع برای تشخیص و ارزیابی منابع ژنتیکی مقاومت است (McCoy, 1987).

اگر فنون کشت بافت و سلول‌های گیاهی با به‌نژادی متداول و مهندسی ژنتیک همراه گردد، مشکل غربال ژنوتیپ‌ها از نظر میزان تحمل آنها به شوری، بدون داشتن معیار معتبر و ثابت، برطرف می‌گردد و ایجاد گیاهان با تحمل بیشتر به تنش شوری و انتخاب رگه‌های متحمل به شوری، در مدت زمان کمتری امکان‌پذیر خواهد شد (Cano et al., 1998).

در فنون کشت بافت که تنوع سوماکلونال را به کار می‌گیرند، نیازی به دانش قبلی در مورد نحوه توارث و سازوکار ژنتیکی مقاومت نیست و این نکته باعث سهولت در گزینش سلول و بافت‌های متحمل به شوری در شرایط آزمایشگاهی در گیاهان مختلف چون خانواده چلیپائیان[1]، کتان، سیب‌زمینی و یونجه شده است (Wincov, 1991). با این حال تعدد مطالعات آزمایشگاهی که منتج به تهیه گیاهان واقعاً متحمل به شوری بشود، اندک بوده است (Smith & McComb, 1981b). تشخیص، جداسازی و بازیابی ژنوتیپ‌های متحمل به شوری با استفاده از کشت تعلیق سلولی به عنوان یک روش مؤثر و معتبر در به‌نژادی گیاهان متحمل به شوری پیشنهاد شده است. در این روش سلول‌های جهش یافته مقاوم به شوری شناسایی شده و سپس گیاهان مقاوم از این سلول‌ها بازیافت می‌شوند (Smith & McComb, 1981a). هرچند که درگیاه کلزا و خویشاوندان ژنتیکی آن مشخص شده است که صفت تحمل به شوری وراثت چند ژنی دارد، اما اطلاعات مربوط به جزئیات سازوکارهای درگیر در تحمل به شوری در این گیاه اندک است (Mahmood zadeh & Bemani Naeini, 2007).

در یونجه زراعی و پنج گونه وحشی مدیکاگو[2] هیچ ارتباطی بین پاسخ بافت پینه در محیط کشت شور و تحمل به شوری گیاه کامل مشاهده نشده است (McCoy, 1987). اما تحمل به شوری در کشت پینه و در سطح گیاه کامل در جوهای زراعی و وحشی مشابه بوده است (Orton, 1980). در بررسی تحمل به شوری دو گونه *B. napus* و *B. carinata* مشخص شده است که هم در سطح پینه و هم در گیاه کامل، تحمل *B. napus* به شوری بیشتر است (He & Cramer, 1992). در ارزیابی تحمل به شوری در عدس زراعی و گونه‌های وحشی آن، با کشت پینه‌های به دست آمده از ریزنمونه‌های برگ در محیط‌های حاوی غلظت‌های متفاوت از کلرورسدیم، رشد بهتری پینه‌های گونه‌های وحشی گزارش شده است. در این گیاهان، میزان تجمع Na بیشتر و میزان تجمع K کمتر از ارقام زراعی بوده است (Gulai & Jaiwal, 1996). همبستگی فنوتیپی معنی‌داری نیز بین تحمل گیاه یونجه به کلرورسدیم در مرحله جوانه‌زنی و رشد پینه مشاهده شده است (Smith & McComb, 1981b). از طرف دیگر گزارش‌های متعددی نیز در ارتباط با اختلاف در پاسخ رشدی گیاهان در مراحل مختلف رشد نسبت به تحمل به شوری موجود می‌باشد و در ضمن به ارتباط ضعیف تحمل به شوری در شرایط آزمایشگاهی و شرایط مزرعه‌ای نیز اشاره دارد (Naik & Widholm, 1993).

اهداف این تحقیق عبارتند از: بررسی پاسخ چهار ژنوتیپ کلزا به تنش شوری در مراحل جوانه‌زنی و کشت پینه در محیط کشت مایع حاوی مقادیر متفاوتی از نمک کلرورسدیم، تعیین همبستگی بین پارامترهای رشد و فیزیولوژیک اندازه‌گیری شده در کشت پینه کلزا با پارامترهای جوانه‌زنی و بررسی تناسب تحلیل رشد پینه در محیط شور به عنوان معیاری برای ارزیابی تحمل به شوری در ژنوتیپ‌های مختلف کلزا.

مواد و روش‌ها

جوانه‌زنی: بذر چهار ژنوتیپ کلزا (کلورت[3]، رجنت×کبرا[4]، پی‌اف۷۰۴۵/۹۱[5] و هایولا۴۲[6]) با محلول

1. Brassicacea
2. Medicago

3. Colvert
4. Regent × Cobra
5. PF7045/91
6. Hyola42

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

هیپوکلریت سدیم (با دو درصد کلرفعال) به مدت ۱۵ دقیقه ضد عفونی شد و در پنج سطح شوری (۰، ۶۰، ۱۲۰، ۱۸۰ و ۲۴۰ میلی‌مول) ایجاد شده با نمک کلرورسدیم کشت گردید. آزمایشی به‌صورت فاکتوریل (۴ ژنوتیپ × ۵ سطح شوری) بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. کشت‌ها در دمای ۲۰±۱°C و فتوپریود ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی نگهداری شدند.

پس از یک هفته از کشت بذر، تعداد بذر جوانه‌زده، طول ریشه‌چه و طول ساقه‌چه در گیاهچه‌های حاصل از بذرهای جوانه‌زده، اندازه‌گیری شد. درصد جوانه‌زنی در سطوح مختلف شوری برای هر کدام از ژنوتیپ‌ها نسبت به شاهد (سطح صفر NaCl) به صورت زیر محاسبه گردید:

$$\text{کاهش درصد جوانه زنی} = \frac{\text{تعداد بذر جوانه زده در هر سطح شوری}}{\text{تعداد بذر جوانه زده در شاهد}} \times ۱۰۰$$

با استفاده از تبدیل پروبیت غلظتی از NaCl که مانع از جوانه‌زنی ۵۰ درصد از بذرهای هر ژنوتیپ شد (RG50)[1] محاسبه گردید. شاخص تحمل به شوری[2] نیز برای هر یک از ژنوتیپ‌ها به صورت زیر محاسبه گردید:

$$STI = \frac{GPc \times GPs}{\overline{GPc}}$$

GPc: درصد جوانه‌زنی در شاهد؛ GPs: درصد جوانه‌زنی درسطح شوری۱۸۰میلی‌مول در لیتر؛ $\overline{GPc}$: میانگین درصد جوانه‌زنی در سطح شاهد برای تمامی ژنوتیپ‌ها.

کشت پینه: ضدعفونی سطحی بذر، با الکل ۷۰ درصد به مدت یک دقیقه و سپس به مدت ۱۵ دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم (دارای ۲/۵ درصد کلر فعال) انجام شد. برای تهیه ریزنمونه، کشت بذور در شرایط کاملاً سترون در محیط جوانه‌زنی شامل نصف ترکیبات محیط کشت پایه MS، بدون تنظیم‌کننده رشدی، همراه با ۳ درصد ساکاروز، ۸ گرم آگار در pH=۵/۸، انجام شد (Murashige & Skoog, 1962). کشت‌ها در اتاقک رشد با دورهٔ نوری ۱۶ ساعت نور و ۸ ساعت تاریکی و دمای ۲۵±۱°C نگهداری شدند. از گیاهچه‌های ۶ روزه حاصل از هر ژنوتیپ ریزنمونه‌های زیرلپه[3] به طول تقریبی ۵ تا ۷ میلی‌متر جدا شد و در محیط کشت MS به همراه ۲ میلی‌گرم در لیتر BAP (بنزیل آمینوپورین)[4] و ۲ میلی‌گرم در لیتر NAA (نفتالین استیک اسید)[5] کشت گردید. کشت‌ها در تاریکی و در دمای ۲۵±۱°C نگهداری شد. پینه‌های ایجاد شده به قطعاتی به وزن تقریبی ۲۰۰ میلی گرم برش داده شدند و در محیط کشت مایع MS حاوی ۲ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA به همراه ۰، ۶۰، ۱۲۰ و ۱۸۰ میلی‌مول کلرورسدیم، در لوله‌های شیشه‌ای به طول ۸ سانتی‌متر و قطر داخلی ۲/۲ سانتی‌متر روی پل کاغذی دو لایه‌ای، تهیه شده از کاغذ صافی واتمن شماره ۱، به ارتفاع ۱/۵ سانتی‌متر کشت گردید. این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کاملاً تصادفی با ۷ تکرار انجام شد.

پس از چهار هفته از کشت پینه‌ها، ابتدا وزن تر پینه و سپس غلظت عناصر سدیم (Na) و پتاسیم (K) در پینه‌ها اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری سدیم و پتاسیم به روش Cano et al. (1998) با اندکی تغییر بدین‌گونه انجام شد که از پینه‌های موجود در هر واحد آزمایشی به میزان ۲۰۰ میلی‌گرم برش داده و در ۳۰ میلی‌لیتر محلول ۰/۲ مولار اسید نیتریک ۰/۲ مولار به مدت ۲۴ ساعت در لوله‌های شیشه‌ای ۵۰cc با در پوش شیشه‌ای نگهداری شد، سپس به مدت ۳ دقیقه به وسیله دستگاه ورتکس به شدت بهم زده شد؛ پس از صاف کردن محلول‌های حاصل، حجم آن با آب مقطر دوبار تقطیر شده به۱۰۰ میلی‌لیتر رسید. برای قرائت میزان سدیم و پتاسیم در نمونه‌ها از دستگاه فلایم فتومتر استفاده شد؛ به‌این صورت که ابتدا محلول‌های استاندارد از عناصر سدیم و پتاسیم توسط نمک‌های NaCl (کلرور سدیم) و KCl (کلرور پتاسیم) با مقادیر ۰، ۵، ۱۰، ۱۵۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰، ۶۰، ۷۰، ۸۰، ۹۰ و ۱۰۰ppm (قسمت در میلیون)[6] تهیه شد. دستگاه فلایم فتومتر با محلول‌های

1. Reduction of Germination
2. Salt Tolerance Index
3. Hypocotyledon
4. 6-Banzil Amino Purine
5. Naphtalin Acetic Acid
6. Part per million

۰ و ۱۰۰ppm واسنجی[1] گردید. سپس مقادیر اندازه‌گیری شده برای هر کدام از محلول‌های استاندارد یادداشت گردید و این کار برای هر بلوک از نمونه‌های مورد آزمایش جداگانه صورت گرفت. سپس ۷ معادله رگرسیونی بین مقادیر قرائت شده (Y) و مقادیر استاندارد مربوطه (X) برازش داده شد و مقادیر قرائت شده برای هرکدام از نمونه‌های آزمایشی با معادله رگرسیونی بلوک مربوطه تصحیح گردید و با استفاده از رابطه زیر:

$$E = \frac{C \times D \times V}{10^{-6} \times FW} \times 100$$

مقادیر K و Na بر حسب ppm در گرم از وزن تر پینه محاسبه شد. اجزای این رابطه عبارتند از: مقدار عنصر مورد نظر بر حسبppm در گرم وزن تر پینه(E)، غلظت عنصر بر حسب میلی‌گرم در لیتر (C)، درجه رقت (D)، حجم نهایی محلول تهیه شده بر حسب میلی‌لیتر (V) و وزن تر نمونه پینه (FW).

نتایج و بحث

با افزایش شوری در محیط جوانه‌زنی، درصد بذرهای جوانه‌زده، طول ساقه‌چه و ریشه‌چه کاهش یافت. ژنوتیپ‌ها از نظر تمامی صفات مورد ارزیابی در مرحله جوانه‌زنی اختلاف معنی‌داری با هم داشتند. همچنین اثر متقابل بین ژنوتیپ‌ها و سطوح شوری مشاهده گردید به عبارتی واکنش ژنوتیپ‌ها برای تمامی صفات ارزیابی شده در سطوح مختلف شوری متفاوت بود (جدول۱و ۳).

انجام مقایسه میانگین برای فاکتورهای آزمایش نشان داد که بذور ژنوتیپ Colvert بیشترین درصد جوانه‌زنی را داشتند ولی بیشترین رشد ریشه‌چه و ساقه‌چه نیز مربوط به ژنوتیپ‌های Colvert و Regent*cobra بود. بذور ژنوتیپ PF7045191 و Hyola42 نیز کمترین درصد جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه را دارا بودند، مقادیر برآورد شده به عنوان شاخص تحمل به شوری (STI) و RG۵۰ برای هر یک از ژنوتیپ‌ها نیز دقیقاً مؤید نتایج فوق بود (جدول۲ و ۳).

پس از کشت پینه‌ها در محیط کشت مایع حاوی سطوح شوری مشاهده شد که از نظر وزن تر پینه‌ها و همچنین راندمان پینه‌زایی بین ژنوتیپ‌ها اختلاف معنی‌داری وجود دارد (جدول۴، شکل۲). به طوری که حداکثر وزن تر پینه و راندمان پینه‌زایی مربوط به ژنوتیپ Colvert بود و در ژنوتیپ Hyola42 نیز پینه‌ها حداقل پاسخ رشدی را از خود نشان دادند (جدول ۵). در تمامی ژنوتیپ‌ها افزایش غلظت نمک در محیط کشت تأثیری روی پینه‌زایی و رشد پینه‌ها نداشت. اما افزایش شوری توأم با افزایش تجمع سدیم و کاهش تجمع پتاسیم در بافت پینه بود. همچنین مشاهده گردید که نسبت عناصر K/Na در تمامی ژنوتیپ‌ها با افزایش شوری کاهش یافت (جدول ۶ و شکل ۳).

تجزیه همبستگی ساده بین صفات ارزیابی شده در مرحله جوانه‌زنی و کشت پینه نشان داد که بین تجمع سدیم در بافت پینه و درصد جوانه‌زنی بذور همبستگی منفی و معنی‌دار ($P<۰/۵$) وجود داشت. همچنین بین میزان جذب پتاسیم و K/Na در بافت پینه و درصد جوانه‌زنی بذور در محیط شور همبستگی مثبت و معنی‌داری مشاهده گردید اما بین پارامترهای رشدی پینه (وزن‌تر پینه و راندمان پینه‌زایی) و درصد جوانه‌زنی نیز همبستگی مثبت اندکی مشاهده شد که از نظر آماری معنی‌دار نبود ولی بین این پارامترها و رشد ساقه‌چه و ریشه‌چه همبستگی مثبت و معنی‌داری مشاهده گردید (جدول ۷).

از آنجا که صفات ارزیابی شده در دو آزمایش جوانه‌زنی و کشت پینه کلزا مربوط به دو مرحله فیزیولوژیک متفاوت در این گیاه است برای تأیید نتایج تجزیه همبستگی فوق، تجزیه همبستگی کانونیک نیز برای بررسی ارتباط بین دو گروه صفات ارزیابی شده در مرحله جوانه‌زنی بذر و کشت پینه انجام شد و چهار جفت متغییر کانونیک معنی‌دار استخراج گردید. در هر چهار سری معادلات خطی برازش داده شده، همبستگی‌های محاسبه شده معنی‌دار می‌باشد و بر رابطه قوی میان جذب عناصر سدیم و پتاسیم توسط پینه‌های کشت شده (لاین‌های سلولی) در محیط شور با درصد جوانه‌زنی و رشد اولیه گیاهچه‌ها (طول ساقه‌چه و ریشه‌چه) دلالت دارد (جدول ۸). تفسیر تجزیه همبستگی کانونیک با توجه به ضرایب معادلات و فرض

1. Calibration

جدول ۱- تجزیه واریانس صفات ارزیابی شده در آزمایش جوانه‌زنی بذر ژنوتیپ‌های کلزا در سطوح مختلف شوری (NaCl)

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات		
		جوانه‌زنی (درصد)	طول ساقه‌چه (میلی‌متر)	طول ریشه‌چه (میلی‌متر)
تکرار	۲	۰/۰۱۹	۰/۳۰۸	۰/۱۷۹
ژنوتیپ	۳	۲/۱۳۶**	۴/۶۷**	۶/۲۹**
شوری	۴	۱/۳۸۳**	۲۲/۶۶**	۲۱/۹۲**
ژنوتیپ* شوری	۱۲	۰/۰۹۹**	۰/۳۲۵*	۰/۵۵**
اشتباه آزمایشی	۳۸	۰/۰۳۱	۰/۱۲۳	۰/۱۲۹

* و ** : به ترتیب معنی‌دار در سطح۵ و۱ درصد

جدول ۲- شاخص تحمل به شوری و RG۵۰ محاسبه شده و مقایسه میانگین صفات ارزیابی شده در آزمایش جوانه‌زنی ژنوتیپ‌های مختلف کلزا به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن

ژنوتیپ	STI	RG۵۰ (میلی‌مول در لیتر)	میانگین		
			جوانه‌زنی (درصد)	طول ریشه‌چه (میلی‌متر)	طول ساقه‌چه (میلی‌متر)
Colvert	۱/۹۱	۲۳۴/۴۲	۸۵/۸۹^{a}±۴/۸۸	۲۴/۶۹^{a}±۱/۹۵	۱۲/۸۵^{a}±۲/۱۶
PF7045/41	۰/۰۰	۸۳/۹۵	۲۶/۱۴^{c}±۳/۴۳	۹/۱۷^{b}±۴/۰۹	۸/۲۰^{b}±۳/۱۲
Regent*Cobra	۰/۵۴	۱۹۸/۸۱	۵۰/۴۶^{b}±۵/۴۸	۱۷/۹۵^{a}±۰/۵۱	۱۶/۰۵^{a}±۳/۵۸
Hyola42	۰/۰۱۴	۱۳۱/۹۵	۲۷/۹۹^{c}±۲/۹۸	۶/۷۰^{b}±۰/۹۳	۶/۵۵^{b}±۱/۹۰

جدول ۳- مقایسه میانگین صفات ارزیابی شده در آزمایش جوانه‌زنی ژنوتیپ‌های کلزا برای سطوح مختلف شوری ایجاد شده با نمک کلرورسدیم به روش آزمون چنددامنه‌ای دانکن

NaCl (میلی مول در لیتر)	میانگین		
	جوانه‌زنی (درصد)	طول ریشه‌چه (میلی‌متر)	طول ساقه‌چه (میلی‌متر)
شاهد	۷۰/۲۴^{a}±۱/۹۴	۳۳/۷۷^{a}±۵/۳۶	۲۶/۵۶^{a}±۲/۳۵
۶۰	۶۱/۲۱^{b}±۵/۰۱	۳۱/۲۰^{a}±۳/۵۸	۱۸/۰۰^{b}±۲/۹۱
۱۲۰	۵۶/۹۲^{c}±۲/۳۹	۵/۵۶^{b}±۴/۰۳	۷/۳۴^{c}±۲/۰۳
۱۸۰	۳۳/۹۸^{d}±۴/۴۳	۱/۴۰^{c}±۰/۷۸	۲/۳۲^{d}±۰/۹۳
۲۴۰	۱۵/۷۷^{e}±۳/۱۲	۱/۲۶^{c}±۰/۷۲	۰/۳۳^{e}±۰/۰۹

حروف مشترک در هر ستون بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار است.

جدول ۴- تجزیه واریانس صفات ارزیابی شده در آزمایش کشت پینه ژنوتیپ‌های کلزا در سطوح مختلف شوری (NaCl)

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		وزن ترپینه (mg)	راندمان پینه‌زایی (درصد)	Na (ppm)	K (ppm)	K/Na
تکرار	۵	۱۶۰۲۳	۱۴۴/۲۸	۲۵/۱۰**	۲/۱۴	۱/۴۰
ژنوتیپ	۳	۶۲۳۹۱**	۱۸۱۸/۳۸**	۷/ ۵۷	۲/۳۳	۳/۳۶
شوری	۳	۵۹۱۵	۴۹/۸۷	۸۳۴/۶۳**	۱۸/۲۲**	۱۸۴/۸۷**
ژنوتیپ*شوری	۹	۱۰۶۳۹	۴۸۴/۱۱	۸/۷۷	۱/۶۲	۲/۵۲
اشتباه آزمایشی	۷۵	۱۰۰۵۳	۴۷۱/۰۱	۵/۲۷	۲/۹۸	۲/۲۳

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

جدول ۵- مقایسه میانگین صفات ارزیابی شده در آزمایش کشت پینه برای ژنوتیپ‌های مختلف کلزا به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن

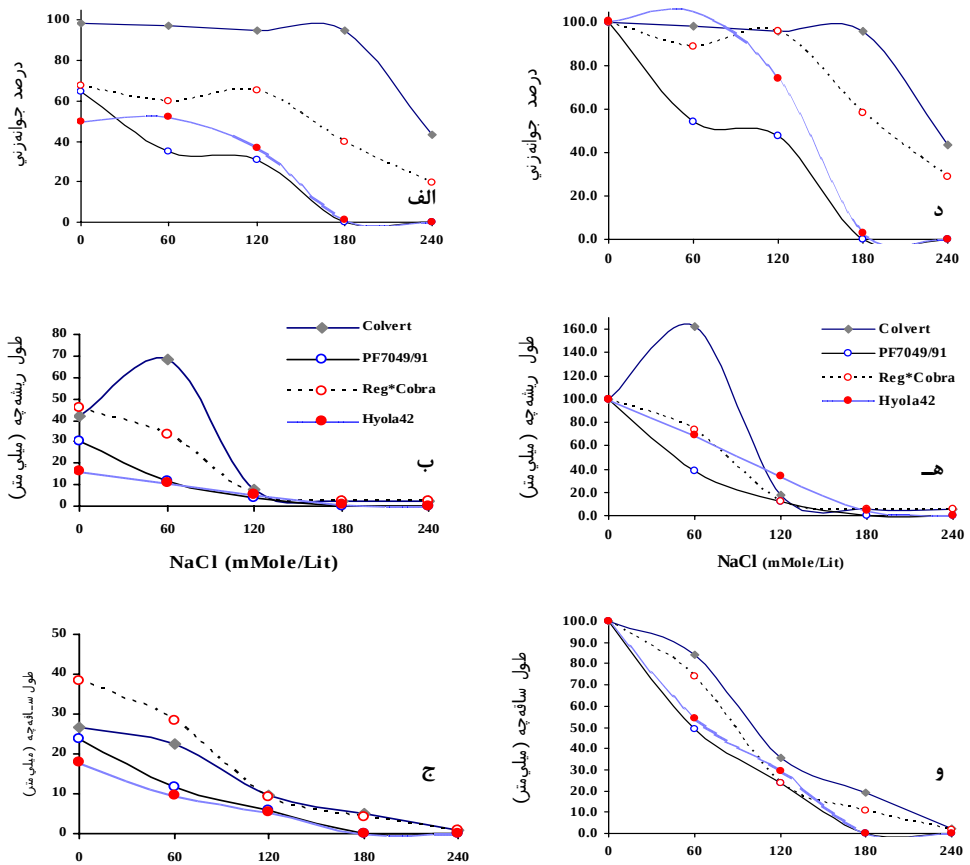
ژنوتیپ	میانگین				
	وزن ترپینه (mg)	راندمان پینه زایی (درصد)	Na (ppm)	K (ppm)	K/Na
Colvert	۷٦٦/۳٦^{a}±۷/۳۵	۷۳/٦۸^{a}±۱/۱۵	۹/۵۵^{a}±۱/۱۲	٤/٤٤^{a}±۰/۲۳	۰/۳۲^{a}±۰/۰۹
PF7045/91	۵۱۷/۳٦^{b}±۱۹/۲٦	۵۸/۹۲^{b}±۲/۵۳	۹/٦۸^{a}±۰/۹۳	۳/۹۵^{a}±۰/۱۵	۰/۳۵^{a}±۰/۰٦
Regent*Cobra	۵٦۷/٤۱^{b}±۱۵/۳۷	۵۷/۲۸^{b}±۲/٦٤	۹/۳۱^{a}±۱/۱۷	٤/۰۹^{a}±۰/۱٦	۰/۳۲^{a}±۰/۰۷
Hyola42	٤۷٤/۹٤^{b}±۲۰/٦۸	۵۳/۰۹^{b}±۱/۱۷	۸/۸۸^{a}±۱/۱٤	۳/۷۰^{a}±۰/۲۱	۰/۳۳^{a}±۰/۱۱

حروف مشترک در هر ستون بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار است.

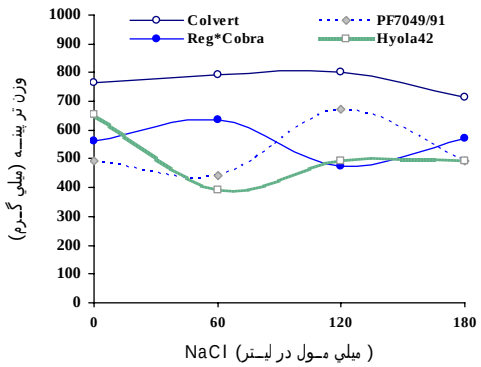
جدول ۶- مقایسه میانگین صفات ارزیابی شده در آزمایش کشت پینه برای سطوح مختلف شوری ایجاد شده با نمک کلرورسدیم به روش آزمون چنددامنه‌ای دانکن

NaCl (میلی مول در لیتر)	میانگین				
	وزن ترپینه (mg)	راندمان پینه‌زایی (درصد)	Na (ppm)	K (ppm)	K/Na
صفر	۵۹۱/۸۳^{a}±۲۳/۴۴	۵۹/۱۱^{a}±۲/۲۱	۱/۵۲^{d}±۰/۲۷	۵/۳۰^{a}±۰/۰۸	۳/۴۴^{a}±۰/۱۴
۶۰	۵۶۳/۳۷^{a}±۳۱/۷۳	۵۸/۱۱^{a}±۴/۱۷	۷/۱۴^{c}±۰/۱۲	۳/۹۲^{b}±۰/۲۰	۰/۶۷^{b}±۰/۰۵
۱۲۰	۶۰۷/۱۹^{a}±۲۷/۴۳	۶۱/۵۱^{a}±۰/۸۶	۱۳/۰۸^{b}±۰/۰۷	۳/۵۸^{b}±۰/۰۵	۰/۵۴^{b}±۰/۰۲
۱۸۰	۵۶۳/۷۲^{a}±۱۸/۶۰	۶۲/۲۳^{a}±۲/۳۸	۱۵/۶۴^{a}±۰/۲۴	۳/۴۱^{b}±۰/۰۷	۰/۲۲^{b}±۰/۰۶

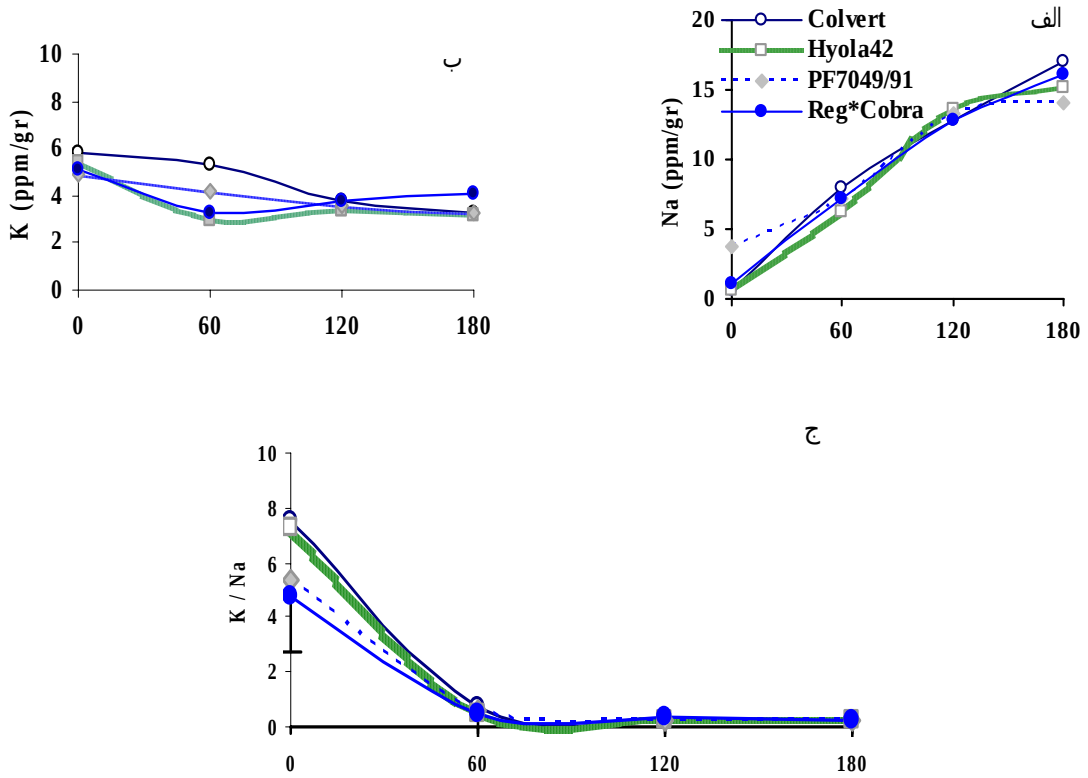
حروف مشترک در هر ستون بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار است.



شکل ۱- تغییرات درصد جوانه‌زنی (الف)، طول ریشه‌چه (ب) و طول ساقه‌چه (ج) ژنوتیپ‌های مختلف در سطوح شوری ایجاد شده با کلرورسدیم. در شکل‌های د، و، هـ مقادیرتصحیح شده برای هر کدام از این صفات در قیاس با شاهد آمده است.



شکل ۲- تغییرات وزن تر پینه ژنوتیپ‌های مورد استفاده در سطوح مختلف شوری ایجاد شده با کلرورسدیم



شکل ۳- تغییرات تجمع عناصر سدیم (الف)، پتاسیم (ب) و نسبت پتاسیم به سدیم (ج) در بافت پینه ژنوتیپ‌های مختلف کلزا در سطوح متفاوت شوری ایجاد شده با کلرورسدیم

جدول ۷- تجزیه همبستگی ساده بین صفات ارزیابی شده ژنوتیپ‌های کلزا در مرحله جوانه‌زنی و کشت پینه

	جوانه زنی (درصد)	طول ساقه‌چه (میلی‌متر)	طول ریشه‌چه (میلی‌متر)	وزن تر پینه (میلی‌گرم)	راندمان پینه‌زایی (درصد)	K/Na	K میلی‌گرم در لیتر
Na میلی‌گرم در لیتر	-۰/۵۷۵*	-۰/۰۸۸	-۰/۳۲۸	-۰/۰۶	-۰/۰۶	-۰/۸۳۵**	-۰/۷۴۳**
K میلی‌گرم در لیتر	۰/۶۷۰**	۰/۲۵۱	۰/۴۵۷	۰/۳۹۹	۰/۴۲۷	۰/۸۱۷**	
K/Na	۰/۷۵۹**	۰/۲۱۰	۰/۴۹۲	۰/۲۰۶	۰/۲۴۵		
راندمان پینه‌زایی (درصد)	۰/۳۸۲	۰/۵۶۷*	۰/۵۱۰*	۰/۹۷۵**			
وزن تر (میلی‌گرم)	۰/۳۱۹	۰/۵۸۵*	۰/۵۳۶*				
طول ریشه‌چه (میلی‌متر)	۰/۵۷۷*	۰/۸۵۰**					
طول ساقه‌چه (میلی‌متر)	۰/۵۴۲*						

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

اینکه هر کدام از چهار سری معادله‌ها بعدی از روابط بین دو گروه متغییر را نشان می‌دهند، انجام می‌شود (Sharma, 1996; Moghadam et al., 2009). در اینجا همبستگی بالا و معنی‌داری بین نسبت K/Na و جذب پتاسیم (K) در بافت پینه با میزان جوانه‌زنی بذر کلزا مشاهده می‌شود در حالی که عکس این وضعیت در ارتباط با میزان جذب سدیم در پینه با میزان جوانه‌زنی بذر برقرار است (جدول ۸).

علل عدم توسعه روش‌های انتخاب و ارزیابی تحمل به شوری را می‌توان مربوط به وجود تفاوت در تحمل به شوری گیاهان در مراحل مختلف رشد (Mass & Hoffman, 1977; Munns & Termaat, 1986)، سازوکارهای فیزیولوژیکی متعدد درگیر با تحمل به شوری (He & Cramer, 1992) و پیچیدگی اثرات متقابل ژنوتیپ و محیط دانست(Burbulis et al., 2008).

اغلب تنوع قابل ملاحظه‌ای در رشد پینه حاصل از یک ژنوتیپ حتی در شرایط بسیار کنترل شده مشاهده می‌شود (Burbulis et al., 2008) این تنوع ممکن است

جدول ۸- تجزیه همبستگی کانونیک بین صفات ارزیابی شده در آزمایش جوانه‌زنی و کشت پینه

ردیف	ترکیبات	λ_{wilk}	همبستگی کانونیک	مقدار ویژه	معادلات خطی برازش شده
۱	FW, K: Na / Shoot, Gp	۰/۲۵	۰/۸۰***	۰/۶۳	Y = ۰/۰۲ FW − ۰/۰۱ K: Na X = ۰/۳۷ Shoot − ۱/۱۵ GP
۲	FW, K: Na / Root, Gp	۰/۳۱	۰/۸۰**	۰/۶۳	Y = ۰/۳۵ FW − ۰/۸۷ K: Na X = ۰/۳۲ Shoot − ۱/۱۵ GP
۳	FW, K, Na / Shoot, Gp	۰/۴۰	۰/۷۱*	۰/۵۰	Y = ۰/۳۳ Na − ۰/۷۸ K + ۰/۲FW X = ۰/۴۹ Shoot − ۱/۱۸ GP
۴	FW, K, Na / Root, Gp	۰/۴۱	۰/۷۱+	۰/۵۱	Y = −۰/۳۷ Na + ۰/۵۱ K + ۰/۳۸ FW X = ۰/۳۶ Root + ۱/۱۸ GP

***، **، * و +: به ترتیب معنی‌دار در سطح ۰/۱، ۱، ۵ و ۱۰ درصد.

بر روی درستی و صحت تشخیص تحمل به شوری با استفاده از فنون کشت بافت تأثیر بگذارد و وجود همبستگی بین ارزیابی‌های آزمایشگاهی و مزرعه‌ای را کاهش دهد (Jain et al., 1992).

در گوجه‌فرنگی زراعی همبستگی مثبت میان رشد پینه‌ها و گیاهان باززاشده تحت شرایط شوری، مشاهده شده است (Cano et al., 1998). همچنین ارتباط مثبتی بین رشد پینه یونجه در محیط کشت حاوی کلرورسدیم و تحمل به شوری در گیاه کامل به دست آمده است (Smith & McComb, 1981b) و ارزیابی رشد پینه در محیط شور را به عنوان روشی سریع در تشخیص ژنوتیپ‌های متحمل به شوری یونجه مطرح شده است (Smith & McComb, 1981a).

بررسی‌های متعدد انجام شده در گونه‌های گیاهی مثل گندم و تیره براسیکا (از قبیل خردل وحشی و کلزا) بر وجود ارتباط بین نسبت بالای K/Na با صفت تحمل به شوری دلالت داشته و حتی در خصوص بعضی از غلات، از آن به عنوان شاخص انتخاب و غربال ژنوتیپ‌ها استفاده شده است. از طرفی در آزمایش حاضر مشاهده شد که با افزایش شوری این نسبت در تمامی ژنوتیپ‌های مورد بررسی به شدت کاهش می‌یابد. باتوجه به مطالب ذکر شده، می‌توان اذعان داشت که تمامی این ژنوتیپ‌ها حساس به شوری هستند. این استدلال در بررسی تحمل به شوری ۳۰ ژنوتیپ کلزا در مرحله گیاه کامل (عملکرد دانه و اجزای عملکرد دانه) تایید شده است، به‌نحوی که ژنوتیپ‌های استفاده شده در آزمایش حاضر را جزء ژنوتیپ‌های حساس تا نیمه حساس به شوری در مرحله گیاه‌کامل طبقه‌بندی کرده‌اند (Enferad, 2004).

با نگرشی بر روند تحمل به شوری در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در این تحقیق در مرحله جوانه‌زنی، در سطح سلولی و کشت بافت و مراحل بعدی رشد، می‌توان ناهمسانی پاسخ‌های مشاهده شده را ناشی از تفاوت در سازوکارهای ژنتیکی درگیر با تحمل گیاه به شوری در مراحل مختلف آن دانست (He & Cramer, 1992).

باتوجه به اینکه واکنش‌های گیاه به کلرورسدیم در گیاه کامل بسیار بیشتر از پاسخ‌های صرفاً سلولی است، بنابراین سازوکارهای منحصر به فردی که در سازمان گیاه کامل بروز می‌کند، قابل ارزیابی از طریق کشت بافت و سلول در سطح آزمایشگاهی نخواهد بود (Cano et al., 1998). اما روش آزمایشگاهی مبتنی بر کشت مریستم انتهایی شاخه، جهت ارزیابی سریع و غربال ژنوتیپ‌های گوجه فرنگی پیشنهاد شده و در این ارتباط بر ارزیابی پارامترهای ریشه‌زایی در محیط شور تأکید شده است (Perez-Alfocea et al., 1993; Cano et al., 1998). مزیت کشت مریستم انتهایی بر کشت پینه، پایداری ژنتیکی شاخه‌ها و گیاهچه‌های تکثیر شده از این روش است.

پیشنهاد می‌گردد که تحقیقات بعدی در این زمینه بر روی کشت مریستم نوک شاخه گیاهچه‌های کلزا انجام شود. با این استدلال که مریستم نوک شاخه در محیط کشت مناسب بلافاصله با شاخه‌زایی می‌نماید و سازمان آناتومیک نزدیک‌تری به گیاه کامل دارد. انتظار می‌رود که پاسخ‌های مشاهده شده در کشت مریستم در

محیط شور تشابه بیشتری به پاسخ‌های مورد انتظار در سطح گیاه کامل به تنش شوری داشته باشد. به این ترتیب که ابتدا ژنوتیپ‌های حساس و مقاوم به شوری در سطح گیاه کامل و با ارزیابی‌های گلخانه‌ای (یا مزرعه‌ای) مشخص گردد و سپس با کشت ریزنمونه‌های کاملاً سوماتیک از قبیل لپه و زیرلپه و کشت مریستم از نوک ساقه‌چه (هیپوکوتیل) از گیاهچه‌های حاصل از بذور جوانه زده، پاسخ‌های سلولی، اندام‌زایی و باززایی ژنوتیپ‌ها را در محیط شور بررسی نمود. با مقایسه پاسخ‌های مشاهده شده در کشت آزمایشگاهی و واکنش‌های ژنوتیپ‌ها در سطح گیاه کامل می‌توان به شاخص‌های رشدی و فیزیولوژیکی مستندی برای استفاده بعدی در غربال سریع ژرم‌پلاسم گیاه مورد ارزیابی، از لحاظ تحمل به شوری رسید.

REFERENCES

1. Ashraf, M., Nazir, N. & Mcneily, T. (2001). Comparative salt tolerance of amphidiploid and diploid Brassica species. *Plant Science*, 160, 683-689.
2. Burbulis, N., Kupriene, R. & Blinstrubiene, A. (2008). Callus induction and plant regeneration from somatic tissue in spring rapeseed (*Brassica napus* L.). *Biologija*, 54, 4.
3. Bybordi, A. & Tabatabaei, J. (2009). Effect of salinity stress on germination and seedling properties in canola cultivars (*Brassica napus* L.). *Not Bot Hort Agrobot Cluj*, 37(1), 71-76.
4. Cano, E., Perez–Alfocea, A., Moreno, V., Caro, M. & Bolarin, M. C. (1998). Evaluation of salt tolerance in cultivated and wild tomato species. *Plant Cell Tissue and organ Culture*, 5, 19-26.
5. Enferad, A., Poustini, K., Majnoun-Hosseini, N. & Khajeh-Ahmad-Attari, A. A. (2004). Physiological responses of rapeseed (*Brassica napus* L.) varieties to salinity stress in vegetative growth phase. *J Sci Technol Agric Natur Resour*, 7(4), 103 –113.
6. Gulai, A. & Jaiwal, P. K. (1996). In vitro evaluation of NaCl tolerance in wild and cultivated species of vigna. *National Academy Science Letters*, 19, 101-106.
7. He, T. Cramer, G. R. (1992). Growth and mineral nutrition of six rapid cycling brassica species in response to sea water salinity. *Plant and Soil*, 139(2), 285-294.
8. Jain, S., Nainawatee, H. S., Jain, R. K. & Chowdhury, J. B. (1992). Salt-tolerance in *Brassica juncea* L. II. Salt-stress induced changes in polypeptide pattern of in vitro selected NaCl-tolerant plants. *Euphytica*, 65(2), 107- 112.
9. Mahmood zadeh, H. & Bemani Naeini, M. (2007). Effects of salinity stress on the morphology and yield of two cultivars of canola. *Journal of Agronomy*, 6(3), 409-414.
10. Mass, E. V. & Hoffman, G. J. (1977). Crop salt tolerance: Current assessment. J. Irrig. Drainage Div., *Am Soc Civ Eng*, 103, 115-134.
11. McCoy, T. J. (1987). Tissue culture evaluation of NaCl tolerance in medicago species: cellular versus whole plant response. *Plant Cell Report*, 6, 31-34.
12. Moghadam, M., Mohammadi, S. A. & Aghaee Sarbarzeh, M. (2009). *Multivariate statistical methods*. Parivar Pub-Tabriz. PP: 280.
13. Mungala, A. J., Radhakrishna, T. & Dobaria, J. R. (2008). In vitro screening of 123 Indian peanut cultivars for sodium chloride induced salinity tolerance. *World Journal of Agricultural Sciences*, 4(5), 574-582.
14. Munns, R. & Termaat, A. (1986). Whole-plant responses to salinity. *Aust J Plant Physiol*, 13, 143-160.
15. Murashige, T. & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. *Physiol Plant*, 15, 473- 497.
16. Naik, P. S. & Widholm, J. M. (1993). Comparison of tissue culture and whole plant responses to salinity in potato. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 33(3), 273-280.
17. Orton, T. J. (1980). Comparison of salt tolerance between *Hordeum vulgar* and *H. jubatum* in whole plants and callus culture. *Z P Flanzenphysiol*, 98, 105-118.
18. Perez-Alfocea, F., Estan, F., Caro, M. & Balarin, M. C. (1993). Response of tomato cultivars to salinity. *Plant and Soil*, 150, 203-211.
19. Sharma, S. (1996). *Applied multivariate techniques*. Jhon Wiely and Sons, Inc. PP: 493.
20. Smith, M. K. & McComb, J. A. (1981a). Use of callus cultures to detect NaCl tolerance in cultivars of three species of pasture Legumes. *Aust J Plant Physiol*, 8, 437-442.
21. Smith, M. K. & McComb, J. A. (1981b). Effect of NaCl on the growth of whole plants and their corresponding callus cultures. *Aust J Plant Physiol*, 8, 267-275.
22. Winicov, I. (1991). Characterization of salt tolerance alfalfa (*Medicago sativa* L.) plants regenerated from salt tolerant cell lines. *Plant Cell Reports*, 10(11), 561-564.

23. Winicov, I. & Bastola, R. (1997). Salt tolerance in crop plants: new approaches through tissue culture and gene regulation. *Acta Physiologiae Plantarum*, 19(4), 435-449.