

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

محمد رضا قنادها^۱، منصور امیدي^۲، روح‌الله عبدالشاهی^۳ و کاظم پوستینی^۴
۱، ۲، ۳، ۴، دانشیار، استادیار، دانشجوی دکتری و دانشیار دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران
تاریخ پذیرش مقاله ۸۳/۱/۲۶

خلاصه

به منظور بررسی ارتباط صفات در محیطهای کشت بافت و آزمون جوانه زنی با تحمل به شوری دو آزمایش به صورت فاکتوریل اجرا گردید. در آزمایش کشت بافت ۵ رقم متحمل به شوری شعله، کویر، روشن، سرخ تخم و کارچیا (۲) و ۳ رقم حساس قدس (۲)، گاسپارد و چمران (مکاتبات شخصی باموسسه نهال و بذر بخش غلات) استفاده شد و غلظت‌های ۰، ۰/۳۸، ۰/۷۷ و ۱/۱۵ 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 نظیر وزن تر کالوس، تعداد کالوس، اندازه کالوس، میزان سدیم و پتاسیم کالوس اندازه گیری شد. نتایج این آزمایش نشان داد که تنش شوری اعمال شده تأثیری بر وزن تر کالوس‌ها و تعداد کالوس‌های تشکیل شده نداشت و با افزایش تنش شوری وزن کالوس‌ها ثابت باقی ماند. ولی افزایش تنش شوری باعث کاهش اندازه کالوس و افزایش میزان سدیم در بافت کالوس‌ها شد. صفت پتاسیم و نسبت K^+ / Na^+ برای ژنوتیپ‌ها و ژنوتیپ × شوری معنی دار بود و بابررسی میانگین ارقام مقاوم و حساس مشخص شد که روند تغییرات پتاسیم در کالوس به مقاومت و یا حساسیت ارقام بستگی دارد و از این نکته میتوان در انتخاب غیره مستقیم ژنوتیپ های متحمل به شوری استفاده کرد. در آزمایش جوانه زنی نیز همان ارقام آزمایش اول ولی با سطوح شوری ۰، ۱۹، ۳۸، ۵۸، ۷۷، ۹۶ و ۱۵ درصد نمک به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با ۳ تکرار بکار گرفته شد. در این آزمایش نیز صفاتی نظیر درصد جوانه زنی، سرعت جوانه زنی، طول کلئوتیل و طول ریشه چه اندازه گیری شد و در نهایت مشخص شد که ارقام مقاوم سرعت رشد بیشتری دارند. از نتایج 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 ۱۵-۱۸ درصد مصرف غذایی مردم جهان را تشکیل میدهد و منبع غذایی اصلی مردم در بیشتر کشورهای است که از خاک های شور رنج می برند (۸). بر اساس شواهد و مطالعات انجام شده سطح کل خاکهای شور در ایران حدود ۲۵ میلیون هکتار تخمین زده شده است که شامل ۱۵ درصد سطح کل

ایران، ۳۰ درصد دشتهای ۵۰ درصد اراضی کشت آبی است (۵). هافمن و ماس (۱۹۷۷) گیاهان زراعی را بر اساس مقاومت به شوری به ۴ گروه مقاوم، نیمه مقاوم، نیمه حساس و حساس تقسیم بندی نمودند و گندم را گیاهی نیمه مقاوم قلمداد کردند (۱۶). تحمل به شوری بر اساس ترکیبی از استراتژی‌های تحمل و فرار است که مکانیسمهای فرار از شوری عبارتند از: تاخیر

در جوانه زنی، رشد درنواحی غیرشور(ریشه)، جلوگیری از تجمع نمک، خارج سازی نمک از بافت گیاه (غده‌ها و 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 کردند تعداد وارپته 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 وارپته 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 روشهایی مطمئن و سریع برای ارزیابی ژرم پلاسما 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 ثابت بالائی دارند پیشنهاد می کند 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 وارپته 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 دبیر-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 مذکور میباشد(۲۳). تیم و همکاران(۱۹۹۱) تعداد ۱۷۹ لاین گندم حاصل از انتخاب درون شیشه ای با ۸۰۴ 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). یوئی و همکاران (۲۰۰۱) برای انتقال ژن های مقاومت به شوری از گونه *Aeleuopus Littoralis* به گندم از طریق هیبرید سوماتیکی برای بررسی انتقال ژن های تحمل به شوری نسبت K^+/Na^+ کالوس را اندازه گیری کرد و میزان بالاتر این نسبت در هیبریدها را دلیل انتقال ژن های تحمل به شوری از *A. Littoralis* به گندم میدانند و نسبت بالای K^+/Na^+ در محیط کشت بافت را عامل تحمل به شوری گیاه میدانند(۲۵). اورتون (۱۹۸۰) گزارش کرد که 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

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 از برداشت بذور رسیده از مزرعه (ارقام ذکر شده در بالا) پروتئین و رطوبت آنها توسط دستگاه Near Infrared Grain Analyzer اندازه‌گیری شد بدین ترتیب که بذرها ابتدا در ظرف مخصوص دستگاه ریخته شده و سپس به مدت ۳۰ ثانیه در دستگاه mixer قرار گرفت پس از این ظرف مخصوص رادر دستگاه قرار دادیم و از صفحه نمایشگر دستگاه درصد پروتئین و رطوبت قرائت گردید. از هر تیمار ۴ نمونه تصادفی انتخاب شد و طرح پایه نیز طرح کاملاً تصادفی بود لازم به ذکر است 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 بار شستشو، مقداری قارچ کش ویتاواکس برای کنترل قارچ‌ها به آنها اضافه گردید سپس تعداد ۲۵ عدد بذر هم اندازه درون هر ظرف پتری قرار دادیم و مقدار ۶ میلی‌متر از محلول شور و یا 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 لیتر آب برای تهیه شوری مورد نظر اعمال گردید. پس از اتمام کار ظروف پتری به ژرمیناتور با دمای ۲۳ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی منتقل شدند و ۲۴ ساعت بعد یادداشت برداری‌ها شروع شد بدین ترتیب که هر روز (تاروز ششم) به فاصله ۲۴ ساعت تعداد بذر جوانه زده شمارش گردید. (بذری جوانه زده حساب می‌شد که حداقل ۲ میلی‌متر ریشه چه داشته باشد) که با استفاده از این داده‌ها سرعت جوانه زنی با فرمول زیر محاسبه 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:

$$pi = \text{سرعت جوانه زنی}$$

$$nd_1 = \text{تعداد بذر در جوانه زده در ۲۴ ساعت بعد از کشت (روز اول)}$$

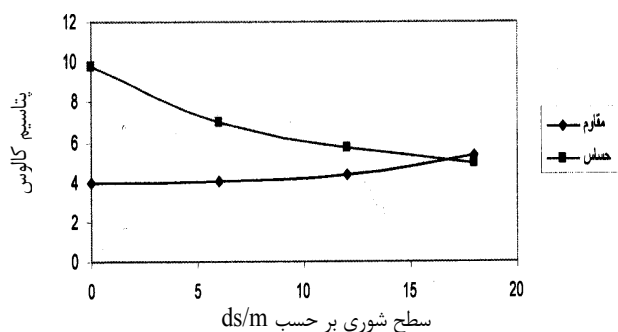
$$nd_2 = \text{تعداد بذر در جوانه زده در روز دوم و ...}$$

Brasica napus و *B.carinata* مشاهده کردند که هم در سطوح پینه وهم گیاه کامل *B.napus* تحمل بیشتری به شوری داشت (۱۲). بویاکر (۱۹۹۶) نشان داد که درصد جوانه زنی، طول کلئوپتیل، تعداد ریشه، طول ریشه و طول جوانه ارقام گندم دورم با افزایش سطوح تیمار شوری بطور معنی داری در تمام ارقام کاهش یافت، ولی در بین ارقام در سطوح بالای شوری تفاوت وجود داشت و اثر متقابل رقم در سطح شوری نیز مشاهده شد (۹). هدف از این 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 ژنوتیپ‌های متحمل به شوری فراهم گردد.

مواد و روش‌ها

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 و تحت شرایط استریل پس از شستشو 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 و در زیر لامینار فلوجنین بذور را جدا و به محیط کشت مایع MS حاوی ۲ میلی گرم در لیتر 2,4-D و تیمارهای شوری ۰، ۰/۳۸، ۰/۷۷ و ۱/۱۵ درصد نمک توسط نمک طعام اعمال نمودیم منتقل کردیم. درون هر ظرف پتری ۷ عدد جنین قرار دادیم و پس از بستن پتری‌ها با پارافیلیم آنها را به مدت ۳۵ روز در ژرمیناتور با دمای ۱±۲۵ درجه سانتی‌گراد 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 ۱۰۰ میلی گرم کالوس جدا و به لوله آزمایش منتقل گردید و مقدار ۱۵cc اسید نیتریک ۰/۲ نرمال به آنها اضافه کردیم و پس از ۲۴ ساعت آنها را به وسیله دستگاه ورتکس به هم زدیم و پس از گذراندن از کاغذ صافی



شکل ۱- 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، ۱۲ و ۱۸ ds/m در شکل به ترتیب معادل ۰، ۰/۳۸، ۰/۷۷ و ۱/۱۵ درصد نمک می باشد)

اندازه کالوس که توسط مقیاس هوکرونی برز به دست آمد برای ارقام معنی دار است، اندازه کالوس با افزایش شوری کاهش می یابد ولی نکته جالب توجه این است که افزایش شوری باعث کاهش وزن تر کالوس نشده است و به نظری رسید تجمع سدیم در بافت کالوس در غلظت های بالا باعث افزایش چگالی کالوس ها شده است که سبب ثابت ماندن وزن کالوس در تیمارهای 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 کالوس های 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).

پس از ۹ روز طول ساقه چه و ریشه چه بوسیله خط کش (برحسب میلی متر) اندازه گیری شد و پس از اندازه گیری برگ اولیه و ریشه چه راجدا و هر کدام را به پاکت مخصوص به خود منتقل کردیم و در نهایت پاکتها به آون با درجه حرارت $75^{\circ}C$ و به مدت ۲۴ ساعت منتقل شدند و پس از خشک شدن وزن ریشه چه و برگ اولیه به وسیله ترازوی حساس با دقت $0/001$ اندازه گیری شد.

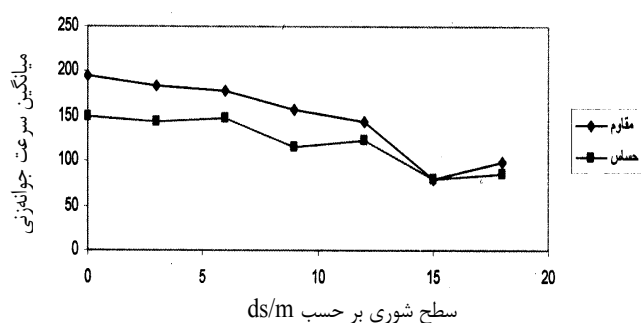
نتایج و بحث

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 ۰/۱ 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 همانطور که در شکل ۱ مشاهده میشود در ارقام حساس با افزایش شوری پتاسیم کاهش یافت ولی طبق تجزیه هایی که انجام شد پتاسیم ارقام مقاوم با افزایش شوری ثابت باقی ماند. راینز (۱۹۹۶) اعلام کرد گیاهانی که شوری را کمتر تحمل میکنند، در شرایط غلظت های بالای سدیم محیط ریشه، کاهش شدیدی در جذب پتاسیم و افزایش جذب سدیم در اندامهای هوایی نشان میدهند (۱۸) از طرف دیگر جذب پتاسیم توسط گیاهان شورزی میتواند در غلظت کلرید سدیم از ۲۰ تا ۱۰۰۰ میلی مول حتی با افزایش محتوی سدیم بافت ثابت بماند (۱۵).

در این تحقیق مشخص شد که ارقام از نظر میزان جذب سدیم (Na^{+} uptake) اختلاف معنی داری ندارند یعنی همه ارقام به یک میزان سدیم جذب می نمایند و در واقع بین مقاومها و حساسها از نظر جذب سدیم تفاوت معنی داری مشاهده نشد ولی با افزایش شوری مقدار سدیم بافت هابه طور معنی داری افزایش یافت.

حساس بیشتر است و با ایجاد تنش سرعت جوانه زنی در مقاومها و حساسها کاهش پیدا کرده است ولی ارقام مقاوم با شیب بیشتری کاهش پیدا کرده‌اند که باعث بوجود آمدن اثر متقابل بین ارقام مقاوم و حساس شده است که از این قضیه میتوان در انتخاب 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.



شکل ۳- 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، ۱۲ و ۱۸ ds/m) در شکل به ترتیب معادل ۰، ۳۸، ۷۷ و ۱۱۵ درصد نمک می باشد.

وقتی تجزیه رگرسیون برای ارقام مقاوم و حساس انجام شد معادلات زیر بدست آمد:

$$y_s = 157.37 - 4.08x \quad \text{و} \quad y_t = 205.54 - 6.38x \quad (R^2 = 0.87)$$

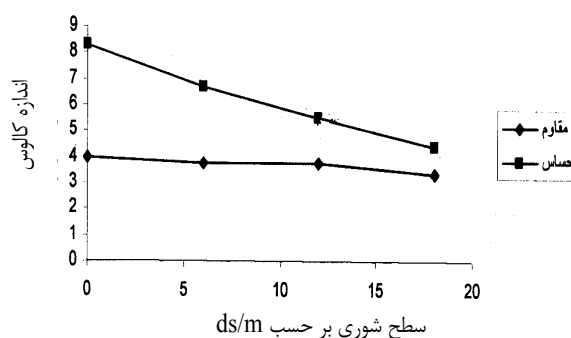
که در این معادلات:

$$y_t = \text{سرعت جوانه زنی ارقام مقاوم}$$

$$y_s = \text{سرعت جوانه زنی ارقام حساس و } x = \text{سطح شوری}$$

می باشد.

همانطور که در شکل ۴ مشاهده می شود در شرایط بدون استرس (۰ ds/m) قوه نامیه ارقام مقاوم و حساس با هم برابر هستند و در شرایط استرس شوری ارقام حساس معمولاً قوه نامیه بالاتری از ارقام مقاوم دارند و این قضیه نیز مثل سرعت جوانه زنی این نوع مقاومت در مرحله جوانه زنی را در گندم تأیید میکند و با توجه به این مطلب قوه نامیه کمتر در محیط های شور میتواند حاکی از تحمل به شوری در گندم باشد.



شکل ۲- 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، ۱۲ و ۱۸ ds/m) در شکل به ترتیب معادل ۰، ۳۸، ۷۷ و ۱۱۵ 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 همدیگر تفاوت دارند بدین ترتیب که ژنوتیپ سرخ تخم با میانگین ۴/۷ در سطح b و سایر ژنوتیپها در سطح a قرار گرفتند و نکته جالب این است که رقم قدس در همه تکرارها و سطوح شوری مختلف تمام جنین های کشت شده تولید کالوس نمودند.

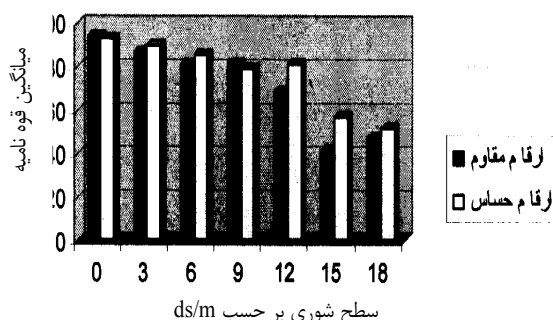
آزمایش جوانه زنی

نتایج تجزیه واریانس نشان میدهد که ژنوتیپ و اثر متقابل ژنوتیپ × شوری برای صفات سرعت جوانه زنی، قوه نامیه، وزن اندام هوایی، 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 پیش بینی بود ولی نکته مورد توجه در این آزمایش این بود که این صفات در ارقام مقاوم و حساس به چه صورت تغییر پیدا 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 و کمترین سرعت جوانه زنی را رقم چمران دارد که رقمی حساس به شوری به حساب می آید. همانطور که در شکل ۳ مشاهده می شود در ابتدا و بدون وجود تنش شوری میانگین سرعت جوانه زنی ارقام مقاوم از

برای صفت تعداد ریشه ژنوتیپ و شوری و همینطور اثر متقابل ژنوتیپ \times 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 کاهش می یابد ولی به مقاومت و یا حساسیت ارقام بستگی ندارد.

شارما وهمکاران (۱۹۹۴) اعلام کردند خصوصیتی از کارچیا نظیر پروتئین و رطوبت اندوسپرم بالا می تواند به عنوان شاخص برای انتخاب ارقام مقاوم به شوری قرار گیرد (۱۹) ولی در این آزمایش نتایج متفاوتی بدست آمد بدین ترتیب که حساس ها به طور معنی داری پروتئین بیشتری نسبت به مقاوم ها داشتند و از نظر میزان رطوبت دانه تفاوت معنی داری بین ارقام مقاوم و حساس وجود نداشت، ولی کارچیا که رقمی متحمل به شوری است دارای بیشترین میزان رطوبت و پروتئین دانه بود و این مورد نشان می دهد که استفاده از همه 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 و تعداد ریشه در آزمایش جوانه زنی همبستگی منفی و معنی داری دارد.



شکل ۴- مقایسه میانگین قوه نامیه در ارقام مقاوم (روشن، شعله، سرخ تخم، کارچیا و کویر) و حساس (قدس، چمران و گاسپارد) (سطوح شوری ۰، ۳، ۶، ۹، ۱۲، ۱۵ و ۱۸ ds/m) در شکل به ترتیب معادل ۰، ۰/۱۹، ۰/۳۸، ۰/۵۸، ۰/۷۷، ۰/۹۶ و ۱/۱۵ درصد نمک می باشد)

با توجه به اینکه جوانه زنی بذور در ۵ روز متوالی بررسی گردید، داده ها بصورت طرح خرد شده در زمان تجزیه گردید و نتایج این تجزیه نشان داد که ارقام و شوری با زمان اثر متقابل دارند و تجزیه های جداگانه نیز نشان داد که ارقام در زمان های مختلف واکنش متفاوتی نشان دادند و با تجزیه طرح خرد شده در زمان مشخص شد که رقم فلات در مجموع بیشترین درصد جوانه زنی و رقم روشن کمترین درصد جوانه زنی را دارند.

جدول ۱- ضریب همبستگی صفات در دو آزمایش کشت بافت و آزمایش جوانه زنی

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

** معنی دار در سطح ۱٪

* معنی دار در سطح ۵٪

ns غیر معنی دار

جدول ۲-مقایسه میانگین ژنوتیپ‌ها برای درصد پروتئین و

ژنوتیپ	رطوبت دانه	
	درصد رطوبت	درصد پروتئین دانه
کارچیا	۱۶/۳۰ a	۱۱/۰۲ a
چمران	۱۳/۶۸ d	۱۱/۰۰ a
گاسپارد	۱۵/۸۰ b	۱۰/۹۰ a
کوپر	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

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

میزان پتاسیم نیز با اندازه کالوس همبستگی مثبت و معنی داری دارد و با توجه به این همبستگی کالوس‌های بزرگتر پتاسیم و در نهایت مقاومت بیشتری دارند. به نظر می‌رسد ارقامی که دارای قوه نامیه بیشتری هستند تعداد کالوس بیشتری نیز تولید نمایند ولی در این تحقیق مشخص شد که هیچ‌گونه همبستگی با هم ندارند.

برای بدست آوردن صفات مرتبط با مقاومت به شوری مقایسه گروهی بین مقاوم‌ها و حساس‌ها صورت گرفت که در تعدادی از صفات این مقایسه معنی دار بود ولی این تفاوت بدین معنی نبود که مقاوم‌ها و حساس‌ها در دو گروه کاملاً مجزا از هم

قرار می‌گیرند ولی از این تفاوت معنی دار میتوان در تصمیم‌گیری‌ها برای انتخاب لاین‌ها استفاده کرد همانطور که مشخص است یکی از ضعف‌های انتخاب غیرمستقیم حذف ژنوتیپ‌های ارزشمند است ولی در مواردی که با کمبود وقت و هزینه مواجه هستیم استفاده از این نوع انتخاب‌ها توصیه میشود و با 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 بالایی برخوردار است و در این تحقیق مشخص شد که مقدار پتاسیمی که توسط کالوس‌های حاصل از کشت جنین کامل در غلظت‌های مختلف شوری جذب میشود به میزان مقاومت و یاحساسیت ارقام گندم بستگی دارد یعنی با افزایش شوری غلظت پتاسیم در کالوس ارقام حساس کاهش می‌یابد در صورتی که با افزایش شوری میزان پتاسیم در کالوس ارقام مقاوم ثابت باقی می‌ماند. 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 رشد بیشتری نسبت به ارقام حساس دارند.

موارد ذکر شده ارقام متحمل و حساس را به دو گروه کاملاً مجزا از هم تقسیم نمی‌کند مثلاً 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 لاین‌هایی حذف شود که واقعا مقاوم به شوری باشند که از عیوب این روش به حساب می‌آید ولی با مباحثی که مطرح گردید این مشکل قابل چشم‌پوشی است.

جدول ۳-مقایسه میانگین سطوح شوری برای صفات اندازه‌گیری شده در آزمایش کشت بافت با استفاده از آزمون دانکن

سطوح شوری	وزن تر کالوس	اندازه کالوس*	K^+/Na^+ کالوس	Na^+ کالوس	K^+ کالوس	تعداد کالوس
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

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

جدول ۴-مقایسه میانگین ارقام برای صفات اندازه گیری شده در آزمایش جوانه زنی با استفاده از آزمون دانکن

واريته	طول ریشه	طول برگ اوليه	وزن ریشه اوليه	وزن اندام هوائي	قوه ناميه (درصد)	سرعت جوانه زني	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
کوير	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
کارچيا	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.

جدول ۵-مقایسه میانگین سطوح شوری برای صفات اندازه گیری شده در آزمایش جوانه زنی با استفاده از آزمون دانکن

شوری	طول ریشه	طول برگ اوليه	وزن ریشه اوليه	وزن اندام هوائي	قوه ناميه (درصد)	سرعت جوانه زني	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.

جدول ۶-مقایسه میانگین ارقام مختلف برای صفات اندازه گیری شده در کشت بافت با استفاده از آزمون دانکن

واريته	وزن تر کالوس	اندازه کالوس*	K^+/Na^+ کالوس	Na^+ کالوس	K^+ کالوس	تعداد کالوس
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
کوير	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
کارچيا	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).

REFERENCES

مراجع مورد استفاده

۱. امیدی، م. ۱۳۷۹. بررسی کشت بافت، تنوع سیتوزنتیکی 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، جلد ۳۳: (۱) ۶۴-۵۷.
۳. تقوائی، م.، امجدی هروان، غ. سردنیا، 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. جلد ۱۳: (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، ناشر معاونت ترویج سازمان تحقیقات و آموزش کشاورزی.
6. Albert, R. & M. Popp. 1977. Chemical 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 salinity tolerance in plant. *CRC critical review in plant sciences*, 13: 17-42.
9. Boubaker, M. 1996. Salt tolerance of durum wheat cultivars during germination and early seedling growth. *agricultura-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 next?, *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 response 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 Breeding* 116: 113-118.
14. Leopold, A. C. & R. P. Willing. 1984. Evidence for toxicity effect of salt on membranes pp. 67-69. *New York: John Wiley*.
15. Levitt, J., & T. T. Kuzlows. 1972. *Response 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 Div.*, ASCE, 103: 115-134.
17. Ourton, T. J. 1980. Comparison of salt tolerance between *Hordeum vulgare* and *H. jubatum* in whole plants and callus culture. *Z. P. Pflanzen physiol.* 98: 105-118.
18. Rains, D. W. 1969. Sodium and potassium absorption by stem tissue of beans and cotton. *plant physiology*, 44: 547-554.
19. Rengel, Z. 1992. The role of calcium in 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, P. K., Varma, S. K., Data, K., Bhumes, & B. Kumer. 1994. Effect of salinity on germination, early seedling growth, some biochemical parameters and ionic composition in two cultivars of wheat widely differing in salt resistance, *Haryana Agriculture University Journal of Research*, 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 *Aeleuopus littorulis* sinensis to wheat via asymmetric somaclonal hyloridization, plant sci.,161,259-266.

Archive of SID

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

M. R. GHANNADHA¹, M. OMIDI², R. ABD SHAHI³
AND K. POUSTINI⁴

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 tolerance 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⁺.