



بررسی تحمل ژنوتیپ های مختلف گندم نان به سطوح مختلف تنش اسمزی با استفاده از

کشت جنین

حمیده میقانی مرزنکلاته^{۱*}، علی اشرف مهرابی^۲، علیرضا تاب^۳

۱-دانشجو کارشناسی ارشد دانشگاه ایلام، ۲و۳-استادیار دانشگاه ایلام

*حمیده میقانی مرزنکلاته، mighani.hamide64@gmail.com

چکیده

به منظور انتخاب ارقام گندم نان متحمل به خشکی در محیط کشت بافت، آزمایشی بصورت فاکتوریل اجرا گردید. در این آزمایش تیمارهای مورد بررسی شامل ده رقم گندم نان (DH۶۸، سرخه، روشن، گوهر، زاگرس، ورامین، سرداری، کرخه، چمران و پاوان) و سطوح مختلف پلی اتیلن گلیکول (۰، -۲/۵، -۵، -۷/۵، -۱۰، بار) بصورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک کاملاً تصادفی با ۸ تکرار انجام شد و صفاتی نظیر تعداد ریشه چه، طول ریشه چه، طول کلئوپتیل، طول ساقه چه و حجم کالوس اندازه گیری شدند. نتایج نشان داد که اثر تنش اسمزی اعمال شده، ارقام و خشکی ارقام بر صفات اندازه گیری شده معنی دار شد. از نتایج حاصل از دو آزمایش می توان به عنوان شاخص هایی در انتخاب ژنوتیپ های متحمل به خشکی استفاده کرد.

کلید واژه: تنش خشکی، گندم نان، کشت جنین، PEG۶۰۰۰

مقدمه

خشکی مهمترین فاکتور محدود کننده تولید گیاهان زراعی از جمله گندم در جهان و ایران است. همانطور که جمعیت جهان افزایش می یابد و منابع آبی برای تولید گیاه کاهش می یابد، تکامل کولتیوارهای مقاوم به خشکی یک هدف اساسی است. ایجاد گیاهان مقاوم به خشکی از طریق روش های سنتی بسیار وقت گیر و گاهی غیر ممکن است. بنابراین امروزه از شیوه های جدیدتر از جمله کشت بافت برای ایجاد گیاهان مقاوم به خشکی و سایر عوامل نامساعد استفاده می شود. انتخاب این ویترو برای تحمل به استرس غیرزیستی توسعه موثر و معتبر القای کالوس و سیستم های باززایی گیاه بستگی دارد (یاوری و همکاران ۱۳۸۰). گزارشات متعدد در زمینه کشت بافت گندم حاکی از آن است که فاکتورهای زیادی از جمله منشأ ریز نمونه، شرایط رشدی گیاه دهنده، محیط کشت و ژنوتیپ بر باززایی گندم موثرند که در این میان اغلب ژنوتیپ یک فاکتور غالب است (Guang Qin 2003). یکی از ریزنمونه های مورد استفاده در کشت بافت گندم جنین بالغ می باشد. مزیت استفاده از جنین ها در اصلاح گندم باززایی سریع و غلبه بر سدهای طبیعی موجود در قابلیت تلاقی پذیری بین نژادها و ارقام مختلف گندم است (قنادها و همکاران ۱۳۸۴). گالویک و همکاران (۲۰۰۵) در بررسی اثرات تنش خشکی بر روی ۱۳ ژنوتیپ گندم پاییزه، یک گندم بهاره و سه ژنوتیپ تریتیکاله دریافتند که تفاوت معنی دار آماری در میان ژنوتیپ ها در پاسخ آنها به تنش القا شده مشاهده شد. همچنین رشد کالوس ها تحت شرایط تنش بطور معنی داری وزن-تر کالوس را در تمام ژنوتیپ ها کاهش داد.

هدف از این تحقیق ارزیابی صفات مرتبط با تحمل به خشکی گیاه در محیط کشت بافت می باشد، تا با توجه به این صفات امکان سریع فرایند انتخاب ژنوتیپ های متحمل به خشکی فراهم گردد.

مواد و روش ها

بذور رسیده ارقام DH۶۸، سرخه، روشن، گوهر، زاگرس، ورامین، سرداری، کرخه، چمران و پاوان به مدت ۱۶ 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 درصد قرار گرفتند 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 زیرلامینارفلو جنین بذور را جدا و به محیط کشت مایع MS حاوی ۲ میلی گرم در لیتر 2,4-D و ۰/۱ میلی گرم در لیتر کیتین و تیمارهای صفر، -۲/۵، -۵، -۷/۵، -۱۰، بار تنش اسمزی ایجاد شده توسط پلی اتیلن گلیکول (PEG۶۰۰۰) بر روی پل های کاغذی منتقل کردیم. درون هر ظرف ۵ عدد جنین قرار دادیم و پس از بستن پتری ها با پارافیلیم آنها را به مدت ۳۵ روز در اتاقک رشد با دمای 25 ± 1 درجه سانتی گراد و ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی قرار دادیم. اندازه کالوسها با توجه به مقیاسهای ارائه شده توسط هوکر و نی برز مشخص گردید. همچنین صفات تعداد و طول ریشه چه، طول کلئوپتیل، طول ساقه چه نیز اندازه گیری شدند.

این آزمایش در قالب طرح بلوک کاملاً تصادفی با ۸ تکرار انجام شد. داده ها بعد از انجام آزمون نرمالیتی با استفاده از نرم افزار Minitab و تبدیل داده مناسب، توسط نرم افزار SAS تجزیه واریانس شدند. میانگین ها با استفاده از روش آزمون چند دامنه ای دانکن مورد مقایسه قرار گرفتند.

نتایج و بحث

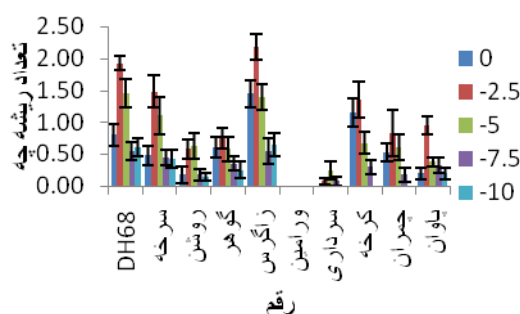
نتایج تجزیه واریانس نشان می دهد که اثر تنش بر تعداد ریشه چه، طول ریشه چه، طول کلئوپتیل، طول ساقه چه در سطح احتمال یک درصد معنی دار بدست آمد. که بیشترین مقادیر در صفت تعداد ریشه چه سطح دوم تنش ($-2/5\text{bar}$) با میانگین ۱/۰۱، طول ریشه چه، طول کلئوپتیل، طول ساقه چه حجم کالوس در سطح اول تنش به ترتیب با میانگین ۰/۲۸cm، ۰/۹۰۷، سانتی متر، ۱/۲۷۸ سانتی متر، ۱/۳۸ و کمترین مقادیر به استثنای صفت طول ریشه چه به سطح پنجم تنش (-10 bar) (به ترتیب با میانگین ۰/۲۲۷، ۰/۰۰۷۵، سانتی - متر، ۰/۰۰۷۵، سانتی متر، ۰/۳۲) تعلق داشت. همچنین اثرات ژنوتیپ بر صفات مورد مطالعه در سطح احتمال یک درصد معنی دار بدست آمد. در صفت تعداد و طول ریشه چه ارقام زاگرس و DH۶۸ به ترتیب با میانگین ۱/۲۴۵ و ۱/۰۶۵، ۰/۴۳۷ و ۰/۳۸۶، و در صفات طول کلئوپتیل و ساقه چه رقم DH۶۸ به ترتیب با میانگین ۰/۷۲۵ و ۰/۹۴۳ سانتی متر و پاوان در صفت حجم کالوس ۰/۹۴۳ سانتی - متر بیشترین و رقم ورامین در تمام صفات به استثنای حجم کالوس (به ترتیب با میانگین ۰، ۰/۰۳۳۵، ۰/۰۳۳۵، سانتی متر، ۰/۰۳۳۵، سانتی متر)، و سرداری با میانگین ۰/۰۹۲ در صفت حجم کالوس کمترین مقادیر را به خود اختصاص دادند. نتایج نشان می دهد که در صفات تعداد و طول ریشه چه رقم زاگرس در تمام سطوح تنش اسمزی بیشترین مقدار و ورامین کمترین میانگین را دارا بودند. در صفت طول کلئوپتیل و ساقه چه در سطح شاهد رقم DH۶۸ و رقم پاوان در بقیه سطوح بیشترین مقدار و ورامین کمترین میانگین را در تمام سطوح به خود اختصاص داد. درحالی که رقم پاوان در تمامی سطوح تنش اسمزی بیشترین و سرداری کمترین حجم کالوس را دارا بودند. نتایج بدست آمده در این مطالعه با نتایج بدست آمده توسط قنادها و همکاران (۱۳۸۴)، گالویک و همکاران (۲۰۰۵) مطابقت دارد.

جدول تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه

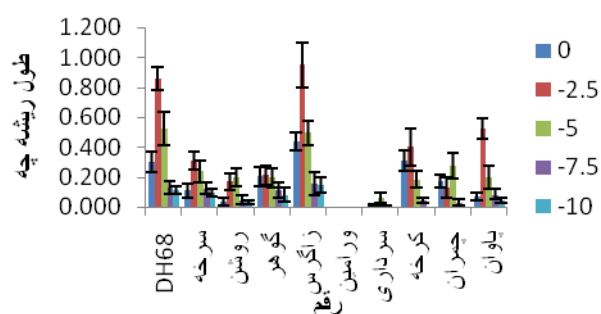
منابع تغییرات	درجه آزادی	تعداد ریشه‌چه	طول ریشه‌چه	طول کلنوپتیل	طول ساقه‌چه	حجم کالوس
تکرار	7	0.644**	0.065**	0.084**	0.196**	0.775*
رقم	9	6.351**	0.792**	1.795**	2.837**	25.994**
تنش	4	8.09**	1.253**	11.629**	23.437**	25.994**
رقم×تنش	36	0.580**	0.131**	1.109**	2.039**	5.747**
اشتباه	343	0.82	0.0243	0.039	0.093	0.327
کل	399					

** معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد

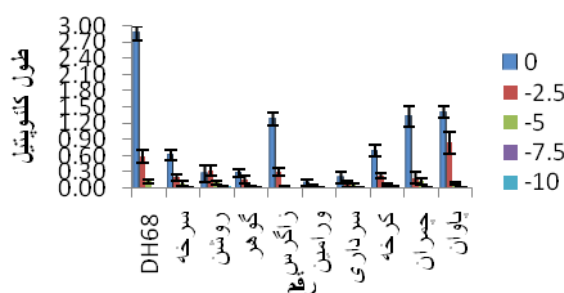
** معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد



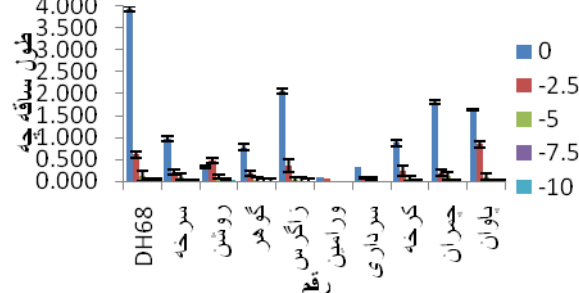
نمودار ۲- نمودار اثر متقابل رقم×سطوح تنش صفت طول ریشه‌چه



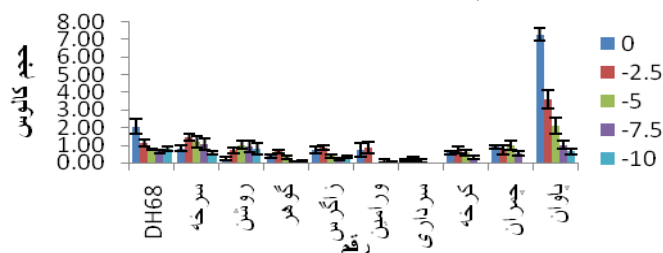
نمودار ۱- نمودار اثر متقابل رقم×سطوح تنش صفت تعداد ریشه‌چه



نمودار ۴- نمودار اثر متقابل رقم×سطوح تنش صفت طول ساقه‌چه



نمودار ۳- نمودار اثر متقابل رقم×سطوح تنش صفت طول کلنوپتیل



نمودار ۵- نمودار اثر متقابل رقم×سطوح تنش صفت طول ساقه‌چه

نتیجه‌گیری کلی



بر اساس این آزمایش می توان نتیجه گرفت که ارقام DH۶۸ و وزاگرس در مقابل تنش خشکی مقاوم می باشند. در حالیکه رقم ورامین حساس به خشکی شناسایی شد. با توجه به این، می توان با بررسی تحمل به خشکی ارقام مورد نظر در مراحل مختلف رشدی گیاهان، مشخص نمود که آیا در مراحل دیگر نیز متحمل به خشکی هستند یا خیر.

منابع

۱. قنادها م، امید ی م، عبدالشاهی ر، پوستینی ک. ۱۳۸۴. شناسائی ژنوتیپ های متحمل به شوری گندم نان از طریق کشت بافت و آزمون جوانه زنی. مجله علوم کشاورزی ایران. جلد ۳۶، شماره ۱، صفحه ۷۵ تا ۸۵.
۲. یاوری ن، صادقیان ی، مصباح م. ۱۳۸۰. استفاده از مانیتول به عنوان عامل تنش خشکی در مرحله جوانه زنی بذور و رشد اولیه گیاهچه چغندر قند در کشت درون شیشه. کجله علوم کشاورزی ایران. جلد ۱۷، شماره ۱، صفحه ۴۷-۴۳.
3. Galovic V, Kotaranin Z, and Dencic S. 2005. Invitro assessment of wheat tolerance to drought. Genetika 37(2):165-171
4. Li W, Ding Ch, Hu Zh, Lu W, Guo G. 2003. Relationship between tissue culture and agronomic traits of spring wheat. Plant Science . 164, 1079- 1085

Investigation of osmotic stress tolerance of different bread wheat genotypes using invitro embryo culture

Hamide Mighani Marzankalate^{*1}, Ali Ashraf Mehrabi², AliReza Tab³

1- M.A student of ilam university 2,3- Assistant professor of ilam university

Mighani.hamide64@gmail.com

To study the selection of drought tolerant bread wheat in tissue culture, an experiment with factorial design was carried out. The treatments were employed in this experiment were ten bread wheat (DH68, Sorkhe, Roshan, Gohar, Zagros, Varamin, Sardari, Karkhe, Chamran and Pavan) and different doses of PEG6000 (0, -2.5, -5, -7.5, -10 bar). This experiment was carried out factorially in a randomized complete block design (RCBD) with eight replications. Some characters including callus volume, number of root, length of root, length of coleoptile and length of shoot were measured. The results showed that drought stress, genotype and stress×genotype had significant effect on all measured characters. So to select salt tolerant varieties one can make use of the demonstrated trait. Keyword: drought stress, bread wheat, embryo culture, PEG6000.