دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارسنجان

مجله علمی پژوهشی اکوفیزیولوژی گیاهی
سال هفتم، شماره بیست و دوم، ۱۳۹۴

اثر اسیدآبسزیک بر جوانه‌زنی دانه، کشت کالوس و رویان‌زایی بدنی ژنوتیپ‌های کلزا (*Brassica napus* L.) تحت تنش شوری

علی‌اشرف مهرابی[۱]، منصور امیدی[۲]، بدرالدین طباطبایی[۳]، زینب صفری[٤]

تاریخ دریافت: ۹۳/۷/۲۱ تاریخ پذیرش: ۹۳/۹/۲۳

چکیده

شوری از عوامل اصلی محدود کننده‌ی رشد و کاهش عملکرد گیاهان زراعی می‌باشد. این تحقیق به منظور بررسی اثرات اسیدآبسزیک بر جوانه‌زنی دانه، رشد دانه‌رست‌ها و همچنین کشت زیرلپه سه ژنوتیپ کلزا در سطوح مختلف شوری انجام شد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار انجام گرفت. ژنوتیپ‌های مختلف در سه سطح، شوری در چهار سطح و اسید آبسزیک در سه سطح فاکتورهای مورد بررسی در این آزمایش بودند. همچنین در آزمایشی جداگانه جداکشت‌های محور زیرلپه، در محیط کشت MS به همراه دو میلی‌گرم در لیتر ٦-بنزیل‌آمینوپورین و یک میلی‌گرم در لیتر نفتالین استیک اسید در تیمارهای شوری و اسید آبسزیک ذکر شده در آزمایش جوانه‌زنی کشت شد. در بررسی جداگانه دو فاکتور، مشاهده شد که هر دو عامل نقش بازدارنده‌ای در جوانه‌زنی دانه، رشد دانه‌رست‌ها، پینه‌زایی و رشد پینه در تمامی ژنوتیپ‌ها داشتند. برهمکنش معنی‌دار دو فاکتور، بیانگر این است که در سطوح مختلف اسیدآبسزیک پاسخ ژنوتیپ‌ها به شوری متفاوت است. اکثر صفات جوانه‌زنی ارزیابی شده در سطوح مختلف اسیدآبسزیک و تحت تنش شوری دارای اختلاف معنی‌دار در سطح یک درصد بودند. به نحوی که دانه‌ها در سطح ۱۰ میکرومول اسیدآبسزیک نسبت به ۵ میکرومول، دارای وضعیت جوانه‌زنی بهتری در محیط‌های حاوی شوری بودند. مشاهده تغییرات پینه‌زایی و رشد پینه در اثر شوری در سطوح اسیدآبسزیک حاکی از پینه‌زایی و رشد بهتر پینه در ۵ میکرومول اسیدآبسزیک در سطوح پایین شوری (٦۰ و۱۲۰ میلی‌مول) در مقایسه با همین مقادیر شوری در واحدهای آزمایشی بدون اسیدآبسزیک بود (در سطح یک درصد).

واژه های کلیدی: پینه‌زایی، تنظیم کننده رشد گیاهی، جداکشت، زیرلپه، کشت بافت.

مهرابی، ع.ا.، م. امیدی، ب. طباطبایی و ز. صفری. ۱۳۹٤. اثر اسیدآبسزیک بر جوانه‌زنی دانه، کشت کالوس و رویان‌زایی بدنی ژنوتیپ‌های کلزا (Brassica napus L.) تحت تنش شوری. مجله اکوفیزیولوژی گیاهی. ۲۲: ۱٦۰-۱٤۲.

۱- گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران

۲- گروه زراعت و اصلاح نباتات، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

۳- گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران.

٤- گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران- مسئول مکاتبات. پست الکترونیک: zsafari_89@yahoo.com

مقدمه

کشور ایران دارای اقلیم گرم و خشک است و بیش از نیمی از اراضی قابل کشت آن خاک‌های شور و سدیمی می‌باشند. پاسخ گیاهان به تنش شوری تحت تأثیر عوامل مختلفی از قبیل غلظت نمک، نوع یون‌ها، شرایط محیطی و مرحله‌ی رشدی گیاه می‌باشد. تنش شوری در نتیجه‌ی تجمع یون‌های خاص به خصوص سدیم ایجاد می‌شود و سبب اختلال در واکنش‌های متابولیک و تغییرات فیزیولوژیکی و رشدی محصولات می‌شود. از سوی دیگر انرژی که صرف بقای گیاه در شرایط تنش می‌شود، موجب کاهش محصولات فتوسنتزی و کاهش عملکرد خواهد شد (ال–هنداوی و همکاران، ۲۰۰۵، قوامی و همکاران، ۱۳۸۳، لاری یزدی و همکاران، ۱۳۸۸ ، مونس و تستر، ۲۰۰۸).

گیاهان زراعی از جهت مقاومت به شوری به چهار گروه مقاوم، نیمه مقاوم، نیمه حساس و حساس تقسیم‌بندی شده‌اند (ماس و هافمن، ۱۹۷۷)، بر این اساس، کلزا از گیاهان نیمه حساس تا نیمه بردبار به شوری محسوب شده است (انفرد و همکاران، ۲۰۰٤) و تنوع قابل ملاحظه‌ای در مرحله جوانه‌زنی تحت شرایط شوری در بین ارقام مختلف آن وجود دارد (بای بوردی، ۲۰۱۰، تونوترک و همکاران، ۲۰۱۱، زمانی و همکاران، ۲۰۱۰). به نحوی که گونه‌های آمفی‌تتراپلوئید (***Brassica napus***. ***B. carinata***. ***B. juncea***) نسبت به شوری متحمل‌تر از اجداد دیپلوئیدشان (***B. campestris***. ***B. nigra***. ***B. oleracea***) می‌باشند (عباس‌زاده و همکاران، ۲۰۱۲).

بردباری به شوری براساس ترکیبی از تحمل و فرار است. ساز و کارهای فرار از شوری شامل تأخیر در جوانه‌زنی دانه، رشد ریشه در نواحی غیرشور، جلوگیری از تجمع نمک، خارج سازی نمک از بافت گیاه (غده‌ها وکرک‌ها) و ذخیره نمک در برگهای پیرتر می‌باشند (لویت و کازلاوس، ۱۹۷۲). تنش شوری با ایجاد اثرات اسمزی و جلوگیری از جذب آب توسط دانه، باعث بازدارندگی و یا تأخیر در جوانه‌زنی و استقرار گیاهچه می‌شود. بنابراین ارزیابی خصوصیات گیاهچه در مراحل اولیه‌ی رشد، به عنوان معیاری مناسب برای انتخاب گیاهان متحمل به شوری دارای اهمیت زیادی می‌باشد (امیدی و همکاران، ۲۰۰۹، جمیل و همکاران، ۲۰۰٦، علیزاده و همکاران، ۱۳۸۳).

کشت بافت گیاهی، روشی مطمئن و سریع برای ارزیابی ژرم پلاسم، تولید گیاهان پر محصول و مقاوم به تنش‌های زنده و غیر زنده است (کانو و همکاران، ۱۹۹۸، مونیر و همکاران، ۲۰۰۸). هر چند تحمل به شوری در مرحله پینه الزاماً به معنی تحمل مشابه رقم مربوطه در مرحله گیاه کامل و در طی مراحل رشد خود نسبت به شوری نیست اما حداقل نشان دهنده وجود یا فقدان ظرفیت ژنتیکی تحمل به شوری در دو گروه ارقام مورد بررسی می‌باشد (تال، ۱۹۹٤، وینیکاو، ۱۹۹۷).

از پاسخ‌های گیاه به تنش‌های محیطی، تنظیم واکنش‌های درونی خود با سنتز تنظیم کننده‌های درون‌زا و متعاقب آن پاسخ‌های اپی‌ژنتیکی ناشی از تأثیر این تنظیم کننده‌ها، به عنوان پیک‌هایی در سطح سلول است، به نحوی که بیان دسته‌ای از ژن‌ها و گاهی اوقات خاموشی دسته‌ای دیگر از ژن‌ها از اثرات القایی همین تنظیم کننده‌ها ناشی می‌شود (مهرابی و همکاران، ۱۳۸٦). بیشتر تحقیقات انجام شده در زمینه تحمل گیاهان به شوری و خشکی نشان می‌دهد که تحت شرایط تنش، میزان اسیدآبسزیک افزایش می‌یابد که این مسئله به نقش

مهم این تنظیم کننده در رابطه با تحمل به تنش و جلوگیری از پسابیدگی[1] (از دست رفتن آب سلول‌ها) سلول‌های گیاهی در اثر کاهش پتانسیل اسمزی اشاره دارد (اسکرایور و ماندی، ۱۹۹۰، فریک، ۲۰۰٤، فینکلستین و همکاران، ۲۰۰۲).

اسیدآبسزیک به صورت یک سیگنال عمل می‌کند و در فرآیندهای فیزیولوژیکی و بسیاری از فرآیندهای حیاتی گیاه چون تقسیم سلول، کارایی مصرف آب، خواب دانه و سازگاری در برابر تنش‌های زنده و غیرزنده محیطی دخالت دارد (چینوسمی و همکاران، ۲۰۰۵، وایلن و همکاران، ۱۹۹٤، هگنبیک و همکاران، ۲۰۰۰). درجه تحمل در میان ژنوتیپ‌های یک گیاه بیشتر متأثر از سرعت تولید اسیدآبسزیک عنوان شده است تا سطوح اسیدآبسزیک داخلی (لوپز- کاروبونل، ۱۹۹٦). سنتز اسیدآبسزیک در گیاه در اثر تنش‌های محیطی غیر زنده، نقش مهمی در سازگاری گیاه به فشارهای وارده و شرایط دشوار ناشی از این عوامل خارجی دارد، به طوری که بسیاری از تحقیقات انجام شده در زمینه شناسایی ژن‌های موثر در تحمل گیاه به تنش‌های محیطی، نقش اسیدآبسزیک را در بیان آنها محرز ساخته است، اما گزارش‌های دیگری نیز وجود ژن‌هایی را در پاسخ به تنش‌های محیطی بیان کرده‌اند که هیچ پاسخی به تیمار خارجی اسیدآبسزیک نشان نداده‌اند (مهرابی و همکاران، ۱۳۸٦). طی بررسی دو رقم مقاوم و حساس به شوری، نسبت میزان تجمع اسیدآبسزیک در پهنک برگ به غلاف برگ و میزان ایندول استیک اسید در اندام هوایی، به عنوان شاخصی در انتخاب ارقام متحمل به تنش شوری گزارش شده است (سعیدی‌پور و همکاران، ۱۳۸۵).

به علت تأثیر اسیدآبسزیک به عنوان یک ماده ضد تعرق و موثر در کاهش تعرق آب بافتی گیاه و همچنین نقش آن در افزایش تحمل به شوری از طریق فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت و سایر پروتئین‌های حفاظتی، مطالعات در زمینه نقش اسیدآبسزیک در القاء تحمل به تنش‌های محیطی از قبیل خشکی، شوری، سرما و جذب آلودگی‌ها اهمیت دارد و در صورت تکمیل اطلاعات و برطرف شدن محدودیت‌های اقتصادی می‌تواند در آینده کاربردهای گسترده‌ای در علوم زیستی داشته باشد (مهرابی و همکاران، ۱۳۸٦، فرهودی، ۱۳۹۲، وایلن و همکاران، ۱۹۹٤)

هدف از این تحقیق مطالعه تأثیر اسیدآبسزیک به عنوان یک تنظیم کننده رشد گیاهی بر روند جوانه‌زنی دانه و کشت بافت زیرلپه در سطوح مختلف شوری ایجاد شده توسط نمک کلریدسدیم می‌باشد.

مواد و روش‌ها

جوانه‌زنی

دانه سه ژنوتیپ کلزا (کلورت[2]، پی‌اف۷۰٤۵/۹۱[3] و رجنت×کبرا[4]) از بخش دانه‌های روغنی موسسه اصلاح و تهیه نهال و دانه کرج تهیه شد و با محلول هیپوکلریت سدیم (با دو درصد کلر فعال) به مدت ۱۵ دقیقه ضدعفونی گردیدند. پس از سه بار شستشو با آب مقطر سترون، تعداد ۳۰ دانه در ظروف شیشه‌ای نه سانتی‌متری در چهار سطح شوری (صفر، ٦۰، ۱۲۰ و ۱۸۰ میلی‌مول در لیتر) ایجاد شده با نمک کلرید سدیم و سه غلظت (صفر، ۵ و ۱۰ میکرومول در لیتر) از تنظیم کننده‌ی اسیدآبسزیک روی یک لایه کاغذ

1- dehydration

2-Colvert
3-PF7045/91
4- Regent×Cobra

صافی واتمن ۱ کشت شد و یک آزمایش فاکتوریل سه عاملی (سه ژنوتیپ × چهار سطح شوری × سه سطح اسیدآبسزیک) در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار انجام شد. کشت‌ها در دستگاه ژرمیناتور (مدل KW400)، تحت دمای ۲۰±۱ °C و دوره روشنایی ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی نگهداری شد. تعداد دانه جوانه زده به صورت روزانه تا زمانی که در یک واحد آزمایشی (تشتک پتری) سه روز متوالی افزایش در تعداد جوانه‌زنی مشاهده نشد، یادداشت شد. یک هفته پس از کشت، تعداد دانه جوانه زده، طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه، وزن تر دانه‌رست و وزن خشک دانه‌رست اندازه‌گیری شد. محتوای آب بافت (TWC[1]) دانه-رست‌ها در هر تیمار با رابطه (۱) گردید (زارع و همکاران، ۱۳۸۵، گنج خانلو و همکاران، ۱۳۹۱).

رابطه (۱):

$$TWC = \frac{\text{وزن خشک گیاهچه} - \text{وزن تر گیاهچه}}{\text{وزن تر گیاهچه}} \times 100$$

سرعت جوانه‌زنی بذور ژنوتیپ‌های مختلف نیز از طریق رابطه (۲) محاسبه گردید (مگوایر، ۱۹۶۲).

رابطه (۲):

$$GR = \frac{\left[\sum_{i=1}^{N} \frac{Gi}{Di}\right]}{N}$$

Germination Rate= سرعت جوانه زنی (دانه در روز)؛ Gi = تعداد تجمعی بذور جوانه زده تا روز i ام (تعداد بذوری که جوانه‌زنی آنها تا روز i ام تکمیل شده باشد)؛ Di = روز i ام شمارش بذور جوانه زده؛ N = تعداد روزهایی که سه روز پس از آن هیچ دانه‌ی جدیدی جوانه نزد.

ظهور یک تا دو میلی‌متر نوک ریشه‌چه از دانه به عنوان معیار جوانه‌زنی قرار گرفت.

کشت محور زیرلپه

از دانه‌رست‌های شش روزه کلزا که در محیط کشت پایه MS (موراشیگ و اسکوگ، ۱۹۶۲) با نصف غلظت، رویانده شده بودند، جداکشت‌های زیرلپه تهیه شد و در سطوح شوری و اسیدآبسزیک ذکر شده در آزمایش جوانه‌زنی و شرایط بهینه رشد که شامل محیط کشت MS تکمیل شده با دو میلی‌گرم در لیتر ۶-بنزیل‌آمینوپورین (BAP[2]) و یک میلی‌گرم در لیتر نفتالین استیک اسید (NAA[3])، ۳۰ گرم ساکاروز و هشت گرم در لیتر آگار می‌باشد (مهرابی و همکاران، ۱۳۸۶)، کشت گردید. کشت‌ها در دمای ۲۵±۱ °C در همان دوره روشنایی جوانه‌زنی نگهداری گردید. این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و در سه تکرار انجام شد. پس از چهار هفته از کشت زیرلپه، درصد پینه‌زایی و حجم پینه‌ها با استفاده از مقیاس هوکر و نی‌برز (مهرابی و همکاران، ۱۳۸۱) ثبت شد و سپس تمامی جداکشت‌ها و پینه‌ها مستقیماً در همان محیط کشت قبلی با رساندن نفتالین استیک اسید به ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر و بدون شوری و اسیدآبسزیک واکشت شدند. پس از گذشت چهار هفته از واکشت پینه‌ها، دوباره درصد پینه‌زایی و حجم پینه‌ها و همچنین درصد تشکیل رویان و رویان‌زایی بدنی در پینه‌ها ارزیابی شد. به این صورت که کالوس‌های ترد و غیر آبی (جنین در مرحله کروی) به عنوان کالوس‌های

1- Total Water Content

2- 6-Benzylaminopurine

3- *Naphthalene acetic acid*

رویان‌زا ارزیابی شدند (وان-آرنولد و همکاران، ۲۰۰۲).

پس از جمع‌آوری و ذخیره داده‌ها در نرم افزار Excel، تجزیه واریانس صفات ارزیابی شده با استفاده از نرم‌افزارهای Minitab ۱٤ و SAS ۹.۱ و مقایسه میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام گرفت .

نتایج و بحث

آزمایش جوانه‌زنی

نتایج تجزیه آماری صفات بررسی شده در آزمایش جوانه‌زنی نشان داد که بین ژنوتیپ‌ها از لحاظ درصد و سرعت جوانه‌زنی دانه و همچنین وزن تر و خشک گیاهچه و محتوای آب گیاهچه‌ها تفاوت‌ها در سطح یک درصد معنی‌دار وجود دارد (جدول ۱). شوری کلیه صفات ارزیابی شده در ارتباط با جوانه-زنی و رشد اولیه گیاهچه‌ها را تحت تأثیر قرار داد، به نحوی که تمامی صفات مورد ارزیابی، در سطوح مختلف این تنش دارای اختلاف معنی‌دار بودند (اکثراً در سطح یک درصد) و با افزایش شوری، درصد و سرعت جوانه‌زنی بذور، توان آبگیری گیاهچه (محتوای آب بافت‌ها) و درنتیجه رشد گیاهچه‌ها (طول ریشه‌چه و ساقه‌چه) کاهش یافت (جداول ۱ و ۲). در مطالعات قبلی نیز آثار منفی شوری بر جوانه-زنی و رشد رویشی ژنوتیپ‌های مختلف کلزا تأیید شده است، به نحوی که سطوح مختلف نمک (کلریدسدیم و کلریدکلسیم) تأثیر بسیار معنی‌داری را بر درصد و سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و طول ساقه‌چه (شمس الدین‌سعید، ۱۳۸٦) و همچنین محتوای نسبی آب، سرعت رشد نسبی و نسبت سطح برگ (لاری یزدی و همکاران، ۱۳۸۸) داشته است.

جدول ۱- تجزیه واریانس صفات بررسی شده در آزمایش جوانه‌زنی دانه ژنوتیپ‌های کلزا. mm: میلی‌متر؛ mg: میلی‌گرم.

منابع تغییر	میانگین مربعات								
	درجه آزادی	درصد آب گیاهچه	وزن خشک (mg)	وزن تر (mg)	ریشه / ساقه	طول ساقه-چه (mm)	طول ریشه-چه (mm)	سرعت جوانه-زنی	درصد جوانه‌زنی
تکرار	۲	۳٤۸/۲۳**	۲۲۹/۵۲^{ns}	٤٤۱۱٦/۸۷^{ns}	۰/٤۵۷^{ns}	۷۲٦/۷۳^{ns}	۲۵۲/۹۲^{ns}	۱/۳۳^{ns}	۳۵۷/۹۷**
ژنوتیپ	۲	۵۷۰/۳۷**	۲۵۷۰۷/۸۸**	۷۸۷٤۰۳/۹۸**	۱/۰۱۵^{ns}	٤۰٤/۸۵^{ns}	۱۳۹/۷۳^{ns}	۲۹/۲۱**	۲۰٦٦/۸۱**
شوری	۳	۵۷۰/۳۷**	۱۸۲۰/٦٦*	۲۵۵۷٤۳۳/۲۷**	۳/۸۲**	۳۷۳۰/۳۱**	۱۵۹٤/۵٤**	٤٤۱/۹۷**	۲۷۳۱۱/۵۵**
اسید آبسزیک	۲	۱٤۳۹/۳۳**	۹۱۷/۳٤*	۸٦۵۱۲۵٦/۹۲**	٤/۲۳**	٦٦۸٤/٦۱**	۲۸۱۷/۳۲**	۷۵٤/۳۱**	۳۰۰۱۹/۷۰**
ژنوتیپ× شوری	٦	٤۰/۱۷^{ns}	۱۲٤۰/٤۹^{ns}	۵۷٤۲۹/۳۷*	۰/۹۸*	۱۷۰/۲۹^{ns}	۱۰۲/۲۲^{ns}	۱۱/۳۳**	٤۰۲/۸۱^{ns}
ژنوتیپ× اسید آبسزیک	٤	۵٤/۳۹^{ns}	۲٤۲/٤۷^{ns}	۱۹۱۹۹٦/۲۹**	۰/۲۳^{ns}	٤۹۹/٦۹^{ns}	۲۰۲/٦۰*	۳/۸۳*	۳۹۷/۹۳^{ns}
شوری× اسید ابسزیک	٦	۳۵۲/۳۰**	۹۳۰/۹۵*	۱۷۱۳٤٦۵/٦۷**	۱/۵۹**	۲۷۳۳/۱۷**	۹۵۸/۰۷**	۱۰۳/۱۰**	٤۱۷۲/۰۰**
ژنوتیپ×شوری×اسیدآبسزیک	۱۲	۱٦/۰۱^{ns}	۸۱۱/۳۵^{ns}	۳۳۰۰۱/۵۷^{ns}	۰/۸٦^{ns}	۹٤/۸۸^{ns}	۵۲۵/۱۳^{ns}	۷/٦۸**	۲۲۷/۲٦^{ns}
خطای آزمایشی	۷۰	۲۸/۱٦	۷۰۱/٦۳	۲۲۹۲۳/۰۱	۰/٤۳	۳٦۰/۵٤	۹۱/٤۵	۱/۱۳	۳۱۳/۸۹

نتایج تجزیه واریانس تیمار اسیدآبسزیک نشان دهنده‌ی وجود اختلاف معنی‌دار بین سطوح مختلف این تیمار برای صفات مورد ارزیابی بود (جدول ۱)، به نحوی که افزایش سطح اسیدآبسزیک خارجی منجر به کاهش بیشتر پارامترهای ارزیابی شده در آزمایش جوانه‌زنی بود (جدول ۲). پس از مقایسه میانگین این صفات برای ژنوتیپ‌ها، سطوح شوری و اسیدآبسزیک مشاهده گردید که ژنوتیپ رجنت×کبرا بیشترین

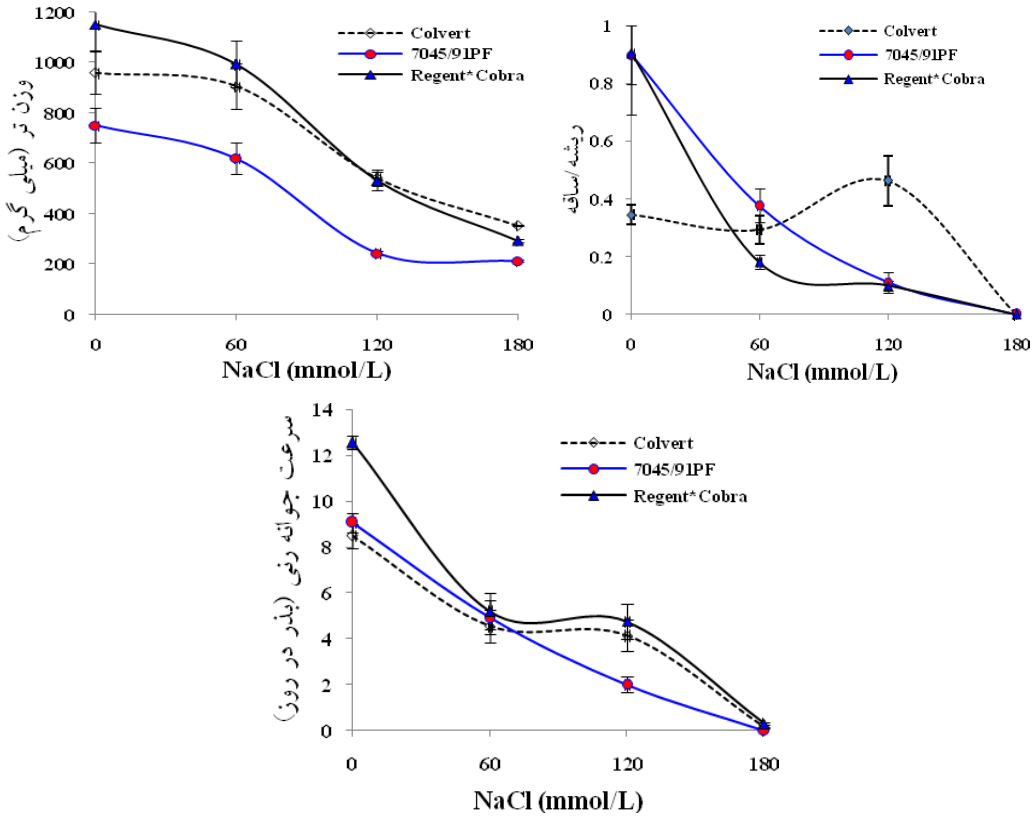
درصد و سرعت جوانه‌زنی و وزن‌تر گیاهچه را نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها دارا بود و همچنین کمترین سرعت جوانه‌زنی و وزن‌تر گیاهچه مربوط به ژنوتیپ پی‌اف۷۰۴۵/۹۱ بود. اما بالعکس محتوای آب گیاهچه در ژنوتیپ رجنت×کبرا کمترین و در ژنوتیپ پی‌اف۷۰۴۵/۹۱ بیشترین مقدار را دارا بود (جدول ۲). بنابراین می‌توان چنین نتیجه گرفت که رقم متحمل نسبت به رقم حساس، آب کمتری از پتانسیل بالقوه‌اش جذب نموده است و در واقع با این سازوکار، رقم متحمل اثر اختصاصی تنش شوری و به عبارت دیگر سمیت یونی عناصر سدیم و کلر را کاهش داده است. چنین وضعیتی در گندم هگزاپلوئید (مهرابی و همکاران، ۱۳۸۶) و گوجه فرنگی (کانو و همکاران، ۱۹۹۸) نیز گزارش شده است.

جدول۲- میانگین صفات بررسی شده در آزمایش جوانه‌زنی برای ژنوتیپ‌ها، سطوح شوری و اسید آبسزیک.

عوامل آزمایشی		میانگین ± انحراف معیار						
		درصد آب گیاهچه	وزن خشک (mg)	وزن تر (mg)	طول ساقه‌چه (mm)	طول ریشه‌چه (mm)	سرعت جوانه‌زنی	درصد جوانه‌زنی
ژنوتیپ	**کلورت**	۸۱/۰۸^{b}±۰/۴۹	۸۳/۷۵^{a}±۰/۸۸	۶۸۹/۶۹^{a}±۳۳/۳۵	۱۳/۷۷^{a}±۱/۶۱	۸/۶۷^{a}±۰/۹۴	۴/۳۳^{b}±۰/۳۱	۳۴/۲۲^{b}±۲/۱۹
	پی‌اف۷۰۴۵/۹۱	۸۶/۸۴^{a}±۰/۴۳	۳۴/۳۰^{b}±۰/۷۰	۴۵۶/۶۴^{b}±۲۵/۴۸	۸/۷۲^{a}±۱/۲۱	۷/۲۶^{a}±۰/۸۶	۴/۰۰^{b}±۰/۲۹	۳۴/۸۹^{b}±۲/۲۳
	رجنت×کبرا	۸۱/۶۹^{b}±۰/۵۵	۷۸/۵۸^{a}±۲/۲۸	۷۴۱/۴۴^{a}±۳۸/۹۵	۱۰/۸۰^{a}±۱/۳۳	۵/۵۴^{a}±۰/۶۸	۵/۷۰^{a}±۰/۳۶	۴۷/۶۷^{a}±۲/۴۱
اسیدآبسزیک µmole/L	۰	۹۰/۷۸^{a}±۰/۴۶	۶۱/۸۴^{a}±۱/۴۴	۱۲۲۰/۷۲^{a}±۴۲/۳۷	۲۹/۱۷^{a}±۱/۹۶	۱۸/۵۹^{a}±۱/۱۱	۱۰/۰۸^{a}±۰/۳۳	۷۱/۷۸^{a}±۲/۰۱
	۵	۷۹/۹۸^{b}±۰/۴۵	۷۰/۱۹^{a}±۲/۶۰	۳۶۴/۵۳^{b}±۹/۸۰	۲/۴۸^{b}±۰/۵۹	۱/۹۴^{b}±۰/۴۹	۲/۳۳^{b}±۰/۲۲	۲۷/۴۴^{b}±۲/۱۵
	۱۰	۷۸/۸۶^{b}±۰/۳۶	۶۴/۵۸^{a}±۱/۳۲	۳۰۲/۵۳^{b}±۳/۸۰	۱/۶۳^{b}±۰/۵۲	۰/۹۴^{b}±۰/۲۴	۱/۶۲^{c}±۰/۱۶	۱۷/۵۶^{c}±۱/۵۸
شوری mmole/L	۰	۸۸/۹۳^{a}±۰/۴۹	۵۹/۶۳^{b}±۱/۴۸	۹۵۳/۰۰^{a}±۴۹/۰۷	۲۷/۱۴^{a}±۲/۴۸	۱۷/۴۰^{a}±۱/۴۴	۱۰/۰۴^{a}±۰/۲۶	۸۰/۱۵^{a}±۱/۳۹
	۶۰	۸۳/۲۲^{b}±۰/۷۱	۷۵/۹۶^{a}±۳/۳۰	۸۳۹/۳۷^{a}±۴۶/۷۳	۱۴/۱۰^{b}±۱/۴۵	۹/۴۵^{b}±۰/۹۳	۴/۸۹^{b}±۰/۴۱	۴۱/۰۴^{b}±۲/۸۶
	۱۲۰	۸۲/۸۴^{b}±۰/۵۶	۶۱/۶۳^{ab}±۱/۷۰	۴۳۸/۸۱^{b}±۱۸/۵۲	۳/۱۵^{c}±۰/۷۳	۱/۷۷^{c}±۰/۳۴	۳/۶۳^{c}±۰/۳۵	۳۱/۲۶^{c}±۲/۵۷
	۱۸۰	۷۷/۸۲^{c}±۰/۳۴	۶۴/۹۶^{ab}±۱/۶۳	۲۸۵/۸۵^{c}±۴/۵۶	۰/۰۰^{d}±۰/۰۰	۰/۰۱^{d}±۰/۰۰	۰/۱۴^{d}±۰/۰۲	۳/۲۶^{d}±۰/۴۳

مقادیر، میانگین ۳ تکرار ± انحراف معیار میانگین‌ها (SE) است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد است.

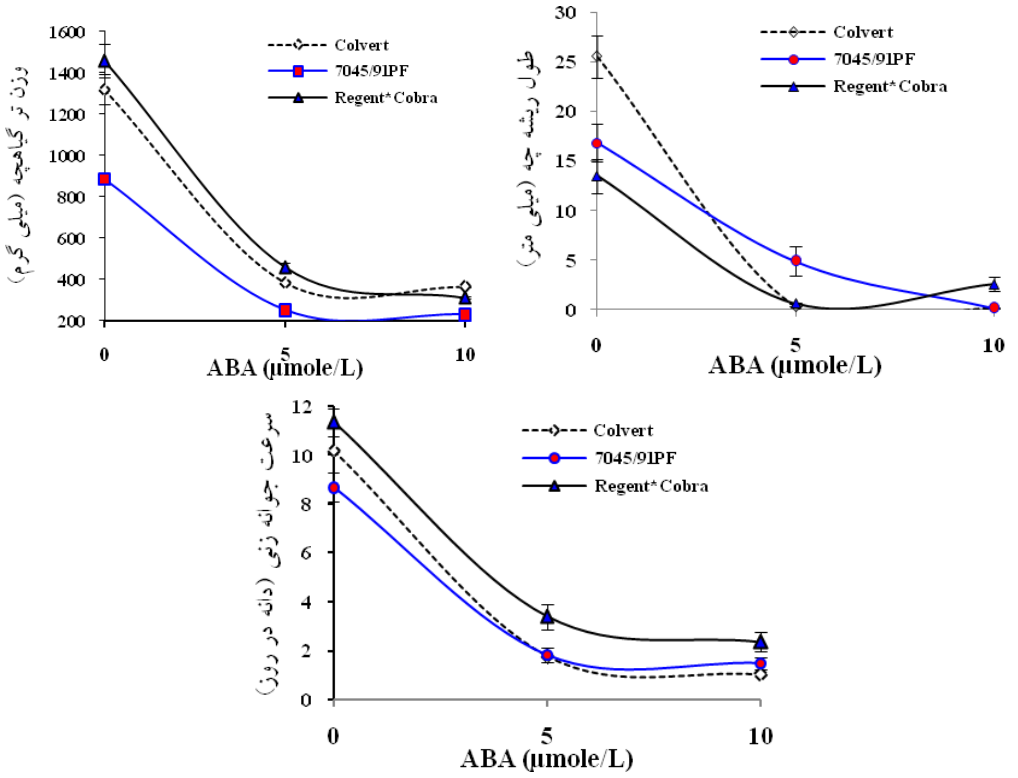
بررسی اثر متقابل ژنوتیپ- شوری حاکی از وجود تفاوت معنی‌دار پاسخ ژنوتیپ‌های مختلف به سطوح اعمال شده‌ی شوری برای صفات وزن تر گیاهچه‌ها، سرعت جوانه‌زنی و نسبت ریشه به ساقه بود (جدول ۱). مطابق نتایج شکل ۱، ژنوتیپ رجنت×کبرا تحت تأثیر تنش، دارای سرعت جوانه‌زنی و وزن تر بالاتری نسبت به ژتونیپ‌های دیگر بود. از سوی دیگر افزایش شوری به میزان ۶۰ میلی‌مول موجب کاهش شدید سرعت جوانه‌زنی و وزن تر گیاهچه‌ها و نسبت ریشه به ساقه در تمام ژنوتیپ‌ها گردید. در حالیکه اعمال ۱۲۰ میلی‌مول شوری منجر به افزایش چشمگیر سرعت جوانه‌زنی و نسبت ریشه به ساقه در ژنوتیپ-های کلورت و رجنت×کبرا شد (شکل ۱).



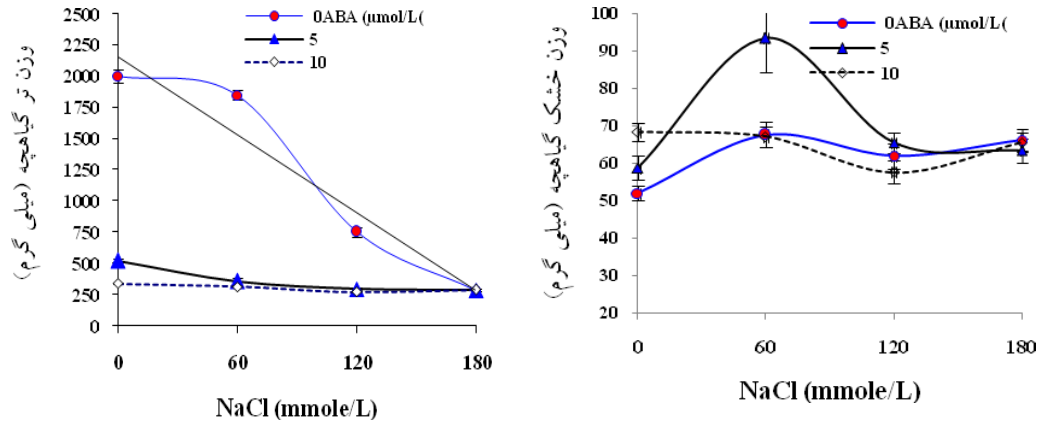
شکل ۱- ارزیابی صفات وزن تر گیاهچه، نسبت ریشه به ساقه و سرعت جوانه‌زنی ژنوتیپ‌های مختلف در شرایط شوری

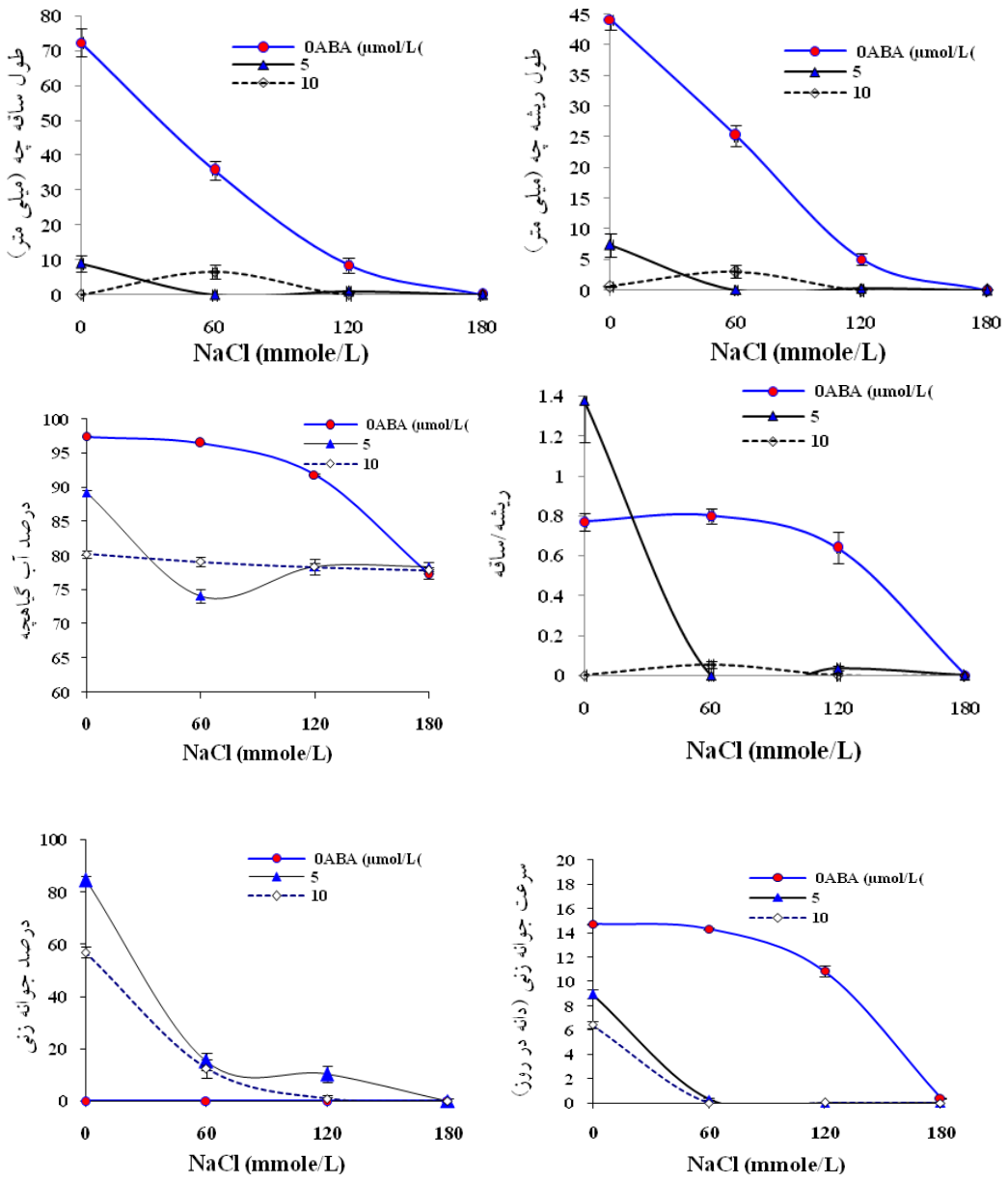
اثرات متقابل معنی‌دار ژنوتیپ- اسیدآبسزیک برای وزن‌تر گیاهچه‌ها، سرعت جوانه‌زنی و طول ریشه‌چه نشان داد که تیمار ۵ میکرومول اسیدآبسزیک موجب کاهش چشمگیر این صفات نسبت به شاهد می‌شود و با افزایش آن به ۱۰ میکرومول این کاهش با شدت کمتری ادامه می‌یابد. همچنین تحمل ژنوتیپ رجنت×کبرا به افزایش میزان اسیدآبسزیک برای صفات وزن تر و سرعت جوانه‌زنی بیشتر از ژنوتیپ-های دیگر و مخصوصاً ژنوتیپ پی‌اف۷۰٤۵/۹۱ بود (جدول ۱، شکل ۲).

در بررسی اثرات متقابل شوری و اسیدآبسزیک مشاهده گردید که از لحاظ تمامی صفات ارزیابی شده در ارتباط با جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌ها، تأثیر همزمان این تیمارها به شدت بازدارنده بود و موجب کاهش معنی‌دار آن‌ها گردید. با توجه شکل ۳، نقش بازدارنده اسیدآبسزیک را بر جوانه زنی بذور و رشد گیاهچه‌ها نسبت به سطح شاهد می‌توان به وضوح استنباط نمود. تا جایی که حداقل مقادیر اکثر این صفات در نتیجه‌ی تیمار ۱۸۰ میلی‌مول شوری و ۱۰ میکرومول اسیدآبسزیک به دست آمد.



شکل ۲- تاثیر آبسزیک اسید (**ABA**) بر وزن تر گیاهچه، طول ریشه‌چه و سرعت جوانه‌زنی در ژنوتیپ‌های مختلف



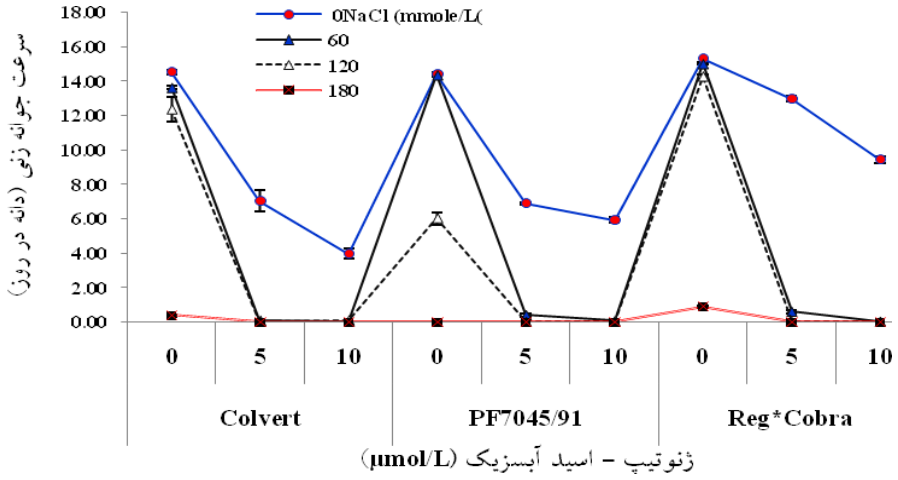


شکل ۳- تأثیر سطوح مختلف اسید آبسزیک (ABA) بر تغییرات صفات مختلف جوانه‌زنی در شرایط شوری

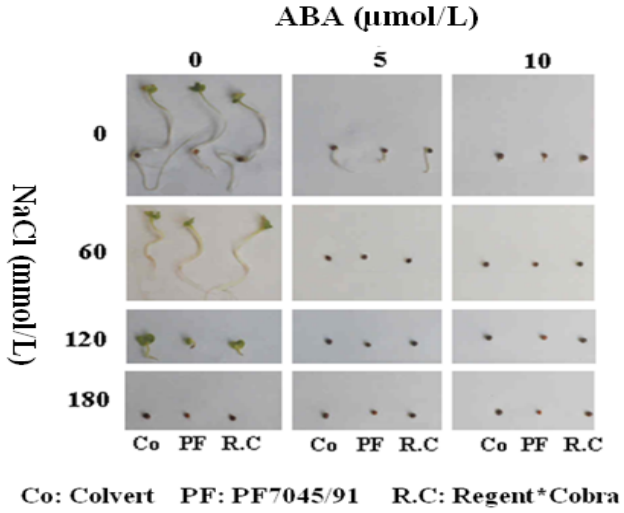
برهمکنش معنی‌دار دو عامل شوری و اسید آبسزیک در این آزمایش به این مفهوم است که در سطوح مختلف اسیدآبسزیک، پاسخ ژنوتیپ‌ها به شوری متفاوت بوده است (شکل ٤ و٥). به نحوی که نتایج تجزیه واریانس نشان داد که برای صفت سرعت جوانه‌زنی، در سطوح مختلف شوری و اسید آبسزیک بین ژنوتیپ‌ها اختلاف معنی‌داری در سطح یک درصد وجود دارد (جدول ۱). بر اساس این نتایج حداکثر

سرعت جوانه‌زنی در هر سه ژنوتیپ مورد ارزیابی، در عدم استفاده از اسیدآبسزیک و بدون اعمال تنش شوری و یا اعمال شوری در سطح پایین (۶۰ میلی-مول) بود. همچنین در شرایط بدون شوری، استفاده از ۵ میکرومول اسیدآبسزیک مؤثرتر از ۱۰ میکرومول بود. از سوی دیگر استفاده از اسیدآبسزیک و شوری در سطوح بالا (به ترتیب ۱۰ میکرومول و ۱۸۰ میلی-مول) به شدت بازدارنده بود و موجب کاهش چشمگیر سرعت جوانه‌زنی در تمام ژنوتیپ‌ها گردید (شکل ٤).

در تکمیل این اطلاعات و با تأمل در شکل ۵ در ارتباط با جوانه‌زنی بذور مشاهده می‌شود که بذور در سطح ۱۰ میکرومول اسیدآبسزیک نسبت به سطح ۵ میکرومول اسید آبسزیک در محیط‌های حاوی شوری ۱۲۰ میلی‌مول از وضعیت جوانه‌زنی بهتری برخوردار بود و همچنین تغییرات آب بافت نیز در تیمار اسیدآبسزیک نامحسوس تر بود، اما وزن تر دانه‌رست-ها در آنها به مراتب نسبت به شاهد کمتر بود. این نتایج با گزارش‌های پیشین که درجه تحمل تنش شوری را در میان ژنوتیپ‌های یک گیاه، بیشتر متأثر از سرعت تولید اسیدآبسزیک عنوان کرده‌اند تا سطوح اسید آبسزیک داخلی (لوپز- کاروبونل، ۱۹۹٦)، قابل توجیه است.



شکل ٤- تأثیر سطوح مختلف اسیدآبسزیک (ABA) بر سرعت جوانه‌زنی ژنوتیپ‌های مختلف تحت تنش شوری



شکل ۵- وضعیت جوانه‌زنی و رشد اولیه گیاهچه‌ها در ژنوتیپ‌های مختلف کلزا در سطوح مختلف شوری و اسیدآبسزیک. اثرات بازدارنده سطوح بالای شوری و تنظیم کننده روی جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌ها کاملاً محسوس است (تصاویر یک هفته پس از کشت تهیه شده‌اند)

آزمایش کشت زیرلپه کلزا

پس از کشت جداکشت‌های زیرلپه در محیط کشت حاوی مقادیر متفاوت از شوری و اسیدآبسزیک، مشاهده گردید که اختلاف معنی‌داری بین ژنوتیپ‌ها برای تمامی صفات مورد بررسی وجود داشت (اکثراً در سطح یک درصد). این تفاوت‌های میان ژنوتیپ‌ها، پس از واکشت پینه حاصل از کشت بافت زیرلپه، نیز مشاهده شد، اما میزان رویان‌زایی رویشی در ژنوتیپ‌های مختلف یکسان بود (جدول ۳). مقایسه میانگین صفات ارزیابی شده در ارتباط با استقرار جداکشت و رشد پینه، نشان داد که ژنوتیپ کلورت حداکثر پینه‌زایی را داشت و پس از واکشت نیز القاء رشد در پینه‌های این ژنوتیپ بیشترین مقدار بود. ژنوتیپ پی‌اف۷۰٤٥/۹۱ کمترین درصدپینه‌زایی و رشد پینه‌ها را در محیط شور داشت. همچنین پس از واکشت پینه‌های این ژنوتیپ القاء رشد در پینه‌های واکشت شده اندک بود (جدول ٤). این نتایج نشان می‌دهد که واکنش این ژنوتیپ حساس در دو مرحله جوانه‌زنی دانه و رشد پینه به تنش شوری حاصل از کلریدسدیم یکسان بوده است. تجزیه آماری و مقایسه میانگین صفات ارزیابی شده در کشت بافت زیرلپه، بیانگر این واقعیت بود که شوری و اسیدآبسزیک هر دو روی پینه‌زایی و رشد پینه‌ها نقش بازدارنده داشتند و این بازدارندگی با حضور توأم آنها تشدید می‌شد.

جدول ۳- تجزیه واریانس صفات بررسی شده در آزمایش کشت بافت زیرلپه ژنوتیپ‌های کلزا در سطوح شوری و آبسزیک اسید.

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		درصد رویان‌زایی رویشی	حجم پینه در واکشت پینه	القاء پینه‌زایی در واکشت پینه	حجم پینه در کشت ریزنمونه	درصد پینه‌زایی ریزنمونه
ژنوتیپ	۲	۲۲٤/۱٦^{ns}	۱٤/۰۹*	۳۲۵۵/۵۵**	۱۹/٦۱**	٦/۷۳**
شوری	۳	٤٤۸۱/۲۰**	۵٤/۹۷**	۱۳٦۱۵/۱۱**	۱۰۵/٦۱**	٤/۲۲**
اسید آبسزیک	۲	٦٤۷۲/۵٦**	۱۳۹/٦٦**	۹۱۷/۵۲**	۸۱/۰۱**	۱/۹٦**
ژنوتیپ × شوری	٦	٦۲۷/٦۳*	٦/۰۳^{ns}	۸۵۲/٤۵^{ns}	٤/۷۸^{ns}	٦/۹۹**
ژنوتیپ × اسید آبسزیک	٤	٤۷۰/۳۰^{ns}	۱٤/۲٦^{ns}	۱۰٦۵/٦۷^{ns}	۵/۱۱^{ns}	٦/۲۸^{ns}
شوری × اسید ابسزیک	٦	۸۳۱/۲۲**	۱۵/٤۹^{ns}	۲۱٤۹/۷۹**	۱٤/۰۷**	۵/٦۳^{ns}
ژنوتیپ× شوری× اسید آبسزیک	۱۲	۵۲۸/۸۲*	۵/۳۷^{ns}	۵۳۹/۹۸^{ns}	۲/۲۵^{ns}	٤/٤۰^{ns}
خطای آزمایشی	۷۲	۲۵۲/۹۱	٤/٤٤	۵۸۹/۸۳	۲/٤۱	۰/۱۰۳

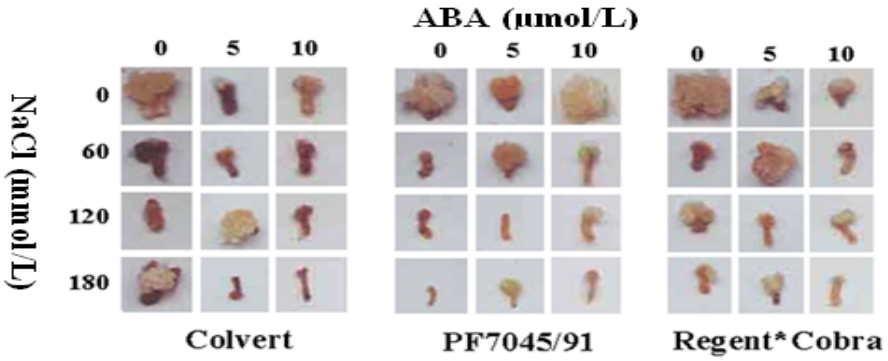
** تفاوت معنی‌دار در سطح یک درصد، * تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد ، ns عدم تفاوت معنی‌دار.

جدول٤- میانگین صفات بررسی شده در آزمایش کشت بافت زیرلپه برای ژنوتیپ‌ها، سطوح شوری و اسیدآبسزیک

عوامل آزمایشی		میانگین ± انحراف معیار				
		درصد رویان‌زایی رویشی	حجم پینه در واکشت پینه	القاء پینه‌زایی در واکشت پینه	حجم پینه در کشت ریزنمونه	درصد پینه‌زایی ریزنمونه
ژنوتیپ	**کلورت**	۱۷/٦۲^{a}±۱/۳۵	٦/٦۸^{ab}±۰/۲۱	٦٦/۰۱^{a}±۲/۱۱	۵/٤۷^{a}±۰/۱۸	۵۵/۳٦^{a}±۱/۸۵
	پی‌اف۷۰٤۵/۹۱	۱٦/٦۱^{a}±۱/۳۳	۵/۷۳^{b}±۰/۲۲	٤۹/۵۵^{b}±۲/۲۱	۳/٦۸^{b}±۰/۱۸	۲٦/٤۱^{c}±۱/٦۰
	رجنت×کبرا	۲۱/٦۱^{a}±۱/٦۷	۷/۲۷^{a}±۰/۲۱	۵۹/۸۰^{ab}±۲/۲۰	٤/٤۵^{b}±۰/۱۹	۳٦/۷۳^{b}±۱/٦۲
اسیدآبسزیک µmol/L	۰	۳۵/۲۰^{a}±۱/۷۸	۹/۵۷^{a}±۰/۲۱	۷۸/۹۲^{a}±۱/٦۱	٦/٦۱^{a}±۰/۱۹	۵٤/۵۰^{a}±۱/۷۸
	۵	۱۰/۹۳^{b}±۰/۸۷	۵/۵٤^{b}±۰/۱۸	۵٤/۸۲^{b}±۱/۹۸	٤/۰۳^{b}±۰/۱۷	۳۸/۳۹^{b}±۱/۷۳
	۱۰	۱۱/۲۵^{b}±۰/۷۱	٤/۷٦^{c}±۰/۱٦	٤۳/۵۸^{b}±۱/۹۵	۲/۹٦^{c}±۰/۱٤	۲۸/۵۷^{b}±۱/٦۹
شوری mmol/L	۰	۲۹/۹۸^{b}±۱/٤٤	۸/۸٦^{a}±۰/۲۷	۷٦/٦۲^{a}±۲/۱۷	٦/۹۱^{a}±۰/۲۲	۵٦/٤۹^{a}±۲/۰۹
	٦۰	۳۵/۳۹^{a}±۱/٦۹	۷/۱۵^{b}±۰/۲۳	۸۰/۹۵^{a}±۱/۳۲	٦/۲۰^{a}±۰/۱۹	۵۷/۱٤^{a}±۱/۵۹
	۱۲۰	۱٤/٦۹^{b}±۱/۵٤	۵/۹۸^{b}±۰/۱۹	۵۲/٦۸^{b}±۲/۰۲	۳/۳۸^{b}±۰/۱۵	۳٦/۰۲^{b}±۲/۱۱
	۱۸۰	۱/۹۱^{c}±۰/٤۳	٤/۵۰^{c}±۰/۲۱	۲۸/۰۱^{c}±۲/۰٤	۱/٦٤^{c}±۰/۱۱	۱۳/۱۹^{c}±۱/۲۳

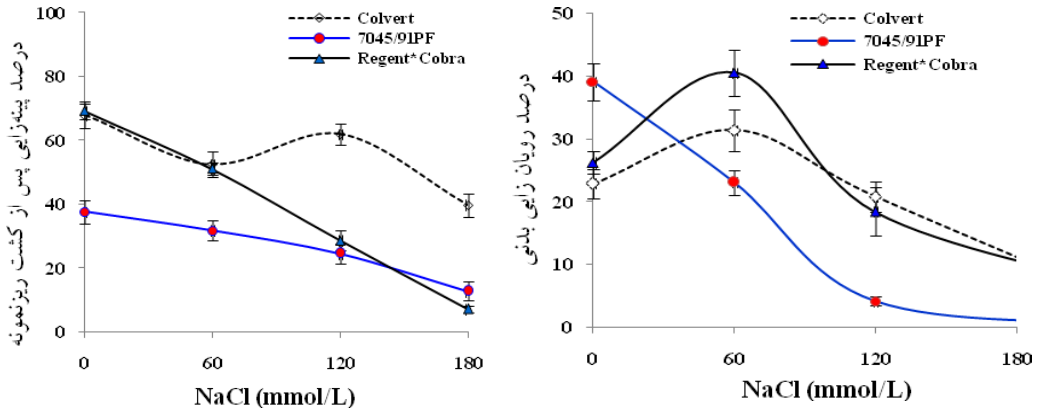
مقادیر، میانگین ۳ تکرار ± انحراف معیار میانگین‌ها (SE) است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد است.

در ارتباط با پینه‌زایی و رشد بعدی پینه‌ها، میزان حساسیت ژنوتیپ‌ها به اسیدآبسزیک بررسی شد و مشاهده شد که ژنوتیپ پی‌اف۷۰٤۵/۹۱ تحمل بیشتری از خود نشان داد به نحوی که روند تغییرات تمامی صفات ارزیابی شده در آزمایش کشت بافت زیرلپه، در این ژنوتیپ کمتر از دو ژنوتیپ دیگر بود و بالعکس ژنوتیپ رجنت×کبرا حساسیت بیشتری به استفاده از اسیدآبسزیک نشان داد و افزایش اسیدآبسزیک به شدت پینه‌زایی و رشد پینه‌ها در این ژنوتیپ را کاهش داد (شکل ٦).



شکل ٦- وضعیت پینه‌زایی و رشد پینه‌های حاصل از کشت زیرلپه ژنوتیپ‌های مختلف کلزا در سطوح مختلف شوری و اسیدآبسزیک (تصاویر چهار هفته پس از کشت زیرلپه تهیه شده‌اند)

مطابق نتایج حاصل از تجزیه واریانس، اثر متقابل ژنوتیپ-شوری برای صفات درصد پینه‌زایی جداکشت و رویان‌زایی تفاوت معنی‌داری نشان دادند (جدول ۳). به طوری که هر دو ژنوتیپ کلورت و پی‌اف۷۰٤٥/۹۱ دارای حداکثر رویان‌زایی بدنی تحت تأثیر ٦۰ میلی‌مول شوری بودند و با افزایش شوری، درصد رویان‌زایی آن‌ها کاهش یافت. در حالیکه حداکثر پینه‌زایی از جداکشت برای ژنوتیپ کلورت با استفاده از ۱۲۰ میلی مول شوری حاصل شد. افزایش میزان شوری به ۱۸۰ میلی‌مول موجب کاهش سریع این صفات در تمام ژنوتیپ‌ها گردید (شکل ۷).



شکل ۷- تأثیر سطوح مختلف شوری بر درصد پینه‌زایی جداکشت و رویان‌زایی بدنی ژنوتیپ‌های مختلف

برهمکنش‌های معنی‌دار شوری در اسیدآبسزیک در ارتباط با حجم پینه‌ها، درصد پینه‌زایی پس از واکشت و درصد رویان‌زایی بدنی (جدول ۳ و شکل ۸)، بیانگر این است که تقسیم سلولی و رشد پینه تحت اثرات متقابل شوری و اسیدآبسزیک متفاوت بوده است. شکل ٦ نیز القاء بهتر پینه‌زایی در ژنوتیپ کلورت در سطح ۱۲۰ میلی‌مول از کلریدسدیم را تحت تیمار ۵ میکرومول اسید آبسزیک نشان می‌دهد. همین وضعیت برای دو ژنوتیپ دیگر در ٦۰ میلی-مول از کلریدسدیم نشان داده شده است.

مشاهده تغییرات صفات مربوط به پینه‌زایی در اثر شوری در سطوح مختلف از اسیدآبسزیک حاکی از پینه‌زایی و القاء بهتر رشد پینه‌ها و همچنین درصد رویان‌زایی بدنی در سطح ۵ میکرومول از اسیدآبسزیک در سطوح خفیف از شوری (٦۰ میلی‌مول کلریدسدیم) در مقایسه با شاهد بود. با این حال نقش بازدارنده استفاده از اسیدآبسزیک بر پینه‌زایی، کاملاً مشهود است (شکل ۸). مطالعه اثر اسیدآبسزیک بر چرخه سلولی گیاه نیز نشان داده است که این تنظیم کننده سبب القاء عمل بازدارنده-های CDK[1] (پروتئین کینازهای وابسته به سیکلین) شده و چرخه سلولی را کندتر می‌کند (فینکلستین و همکاران، ۲۰۰۲، هانتلی و موری، ۱۹۹۹). کینازهای وابسته به سیکلین، مهمترین تنظیم کنندگان چرخه تقسیم سلولی بوده که اثر بازدارندگی اسیدآبسزیک بر آنها، مانع از پینه‌زایی در برخی جداکشت‌ها می‌شود. این تنظیم کننده اثر خود را با تعدیل و کاهش عمل تنظیم کننده‌های دیگری چون اکسین‌ها، سیتوکینین‌ها و جیبرلین‌ها انجام می‌دهد (کرنز و همکاران، ۱۹۹۵).

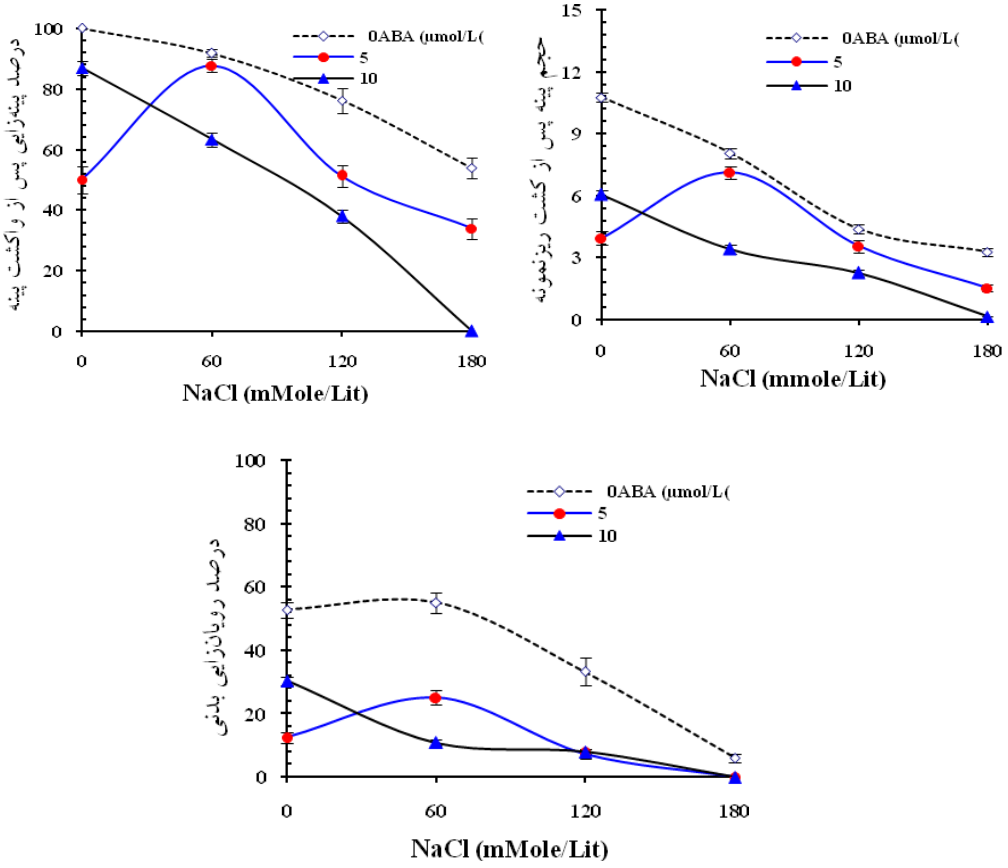
نتیجه‌گیری کلی

با توجه به کاهش معنی‌دار صفات مختلف جوانه-زنی در این مطالعه، می‌توان استنباط کرد که ممانعت از رشد در نتیجهٔ کاهش جذب آب بوده است و این وضعیت باعث جلوگیری از تقسیم سلول و رشد آن شده است (استویر و همکاران، ۱۹۹۸، مهرابی و همکاران، ۱۳۸٦). مطابق نتایج حاصل از این بررسی، ژنوتیپ رجنت×کبرا به عنوان ژنوتیپ متحمل به شوری با حداکثر درصد و سرعت جوانه‌زنی و وزن‌تر گیاهچه دارای حداقل محتوای آب گیاهچه و ژنوتیپ پی‌اف۷۰٤۵/۹۱ به عنوان ژنوتیپ حساس به شوری با حداقل درصد و سرعت جوانه‌زنی و وزن‌تر گیاهچه و حداکثر محتوای آب گیاهچه بود. بنابراین می‌توان چنین نتیجه گرفت که رقم متحمل نسبت به رقم حساس، آب کمتری از پتانسیل بالقوه‌اش جذب نموده است و در واقع با این سازوکار، رقم متحمل اثر اختصاصی تنش شوری و به عبارت دیگر سمیت یونی عناصر سدیم و کلر را کاهش داده است. برهمکنش معنی‌دار دو فاکتور شوری و اسید آبسزیک، نشان داد که در شرایط تنش شوری، تیمار اسید آبسزیک موجب کاهش چشمگیر صفات جوانه‌زنی شد تا جایی که محیط‌های با غلظت‌های ٦۰ و ۱۲۰ میلی‌مول شوری فاقد اسیدآبسزیک، دارای حداکثر مقادیر صفات مختلف نسبت به محیط‌های حاوی ۵ و ۱۰ میکرومول اسیدآبسزیک بودند (شکل ۳). از سوی دیگر دانه‌ها در سطح ۱۰ میکرومول اسیدآبسزیک نسبت به ۵ میکرومول، دارای وضعیت جوانه‌زنی بهتری در محیط‌های حاوی شوری بودند.

رویان‌زایی بدنی فرآیند پیچیده‌ای است که ممکن است در پاسخ به برخی تنظیم کننده‌های رشد و عوامل تنش‌زا ایجاد شود (رجب‌پور و همکاران، ۱۳۹۰). مطابق نتایج به دست آمده، سطح پائین شوری

1 -Cycline dependent protein kinases

اعمال شده (٦٠ میلی‌مول) منجر به افزایش درصد رویان‌زایی بدنی در پینه‌های واکشت شده گردید که به نقش تغذیه‌ای نمک کلریدسدیم در این سطح برای سلول‌های کلزا مربوط می‌شود (جدول ٤). اما اثرات پیش‌تیمار اسیدآبسزیک بر رویان‌زایی بعدی پینه‌ها (جدول ٤) چیزی است که با برخی گزارش‌های قبلی در ارتباط با نقش اسید آبسزیک در بلوغ رویان‌های کلزا و گندم مطابقت ندارد (موریس، ۱۹۸۹، روس، ۱۹۸۵).



شکل ۸- تغییرات صفات مربوط به پینه‌زایی در سطوح مختلف از اسیدآبسزیک (ABA) در شرایط تنش شوری

منابع

رجب‌پور، ش.، ع. صبورا و ع. وطن‌پور ازغندی. ۱۳۹۰. تغییر غلظت هورمون‌های برونزا و تأثیر آن روی بلوغ رویان‌های بدنی و ریز بنه‌زایی زعفران زراعی (*Crocus sativus* L.). فصلنامه زیست شناسی گیاهی ایران. ۲: ۵۸-٤۱.

زارع، م.، ع. ا. مهرابی و ش. شرف‌زاده. ۱۳۸۵. بررسی اثرات اسیدجیبرلیک (GA3) و کینتین بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌های گندم تحت تنش شوری. علوم کشاورزی. ٤ (۱۲): ۸۵۵-۸٦۵.

سعیدی‌پور، س.، ف. مرادی، م. نبی‌پور و م. رحیمی‌فرد. ۱۳۸۵. بررسی اثر تنش شوری ناشی از NaCl بر میزان تغییرات و توزیع ABA و IAA در گیاهچه‌های دو ژنوتیپ متحمل (IR651) و حساس(IR29) برنج. علوم زراعی ایران. ۳: ۲۳۱-۲۱۵.

شمس الدین سعید، م.، ح. فرح‌بخش و ع. ا. مقصودی مود. ۱۳۸٦. اثرات تنش شوری بر جوانه‌زنی، رشد رویشی و برخی خصوصیات فیزیولوژیکی ارقام کلزای پاییزه. علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی. ٤۱: ۲۰۲-۱۹۱.

علیزاده، ب.، م. ولیزاده، م. مقدم، ک. قاسمی گلعذانی و م. ر. احمدی. ۱۳۸۳. تجزیه ژنتیکی تحمل به شوری حاصل از کلرور سدیم کلزا (*Brassica napus* L.) در مرحله جوانه‌زنی. علوم کشاورزی و منابع طبیعی. ٤: ۵۸-٤۷.

فرهودی، ر. ۱۳۹۲. بررسی تأثیر محلول پاشی آبسزیک اسید بر تحمل شوری ارقام کلزا. نشریه پژوهش‌های زراعی ایران. ۲ (۱۱): ۲۳٤-۲٤۰.

قوامی، ف.، م. ع. ملبوبی، م. ر. قنادها، ب. یزدی صمدی، ج. مظفری و م. ج. آقایی. ۱۳۸۳. بررسی واکنش ارقام متحمل به گندم ایرانی به تنش شوری در مرحله جوانه‌زنی و گیاهچه. مجله علوم کشاورزی ایران. ۲ (۳۵): ٤۵۳-٤٦٤.

گنج خانلو، ع.، م. مقدم، س. ا. محمدی، م. ر. شکیبا، ک. قاسمی گلعذانی و ا. یوسفی. ۱۳۹۱. ارزیابی ژنوتیپ‌های جو از نظر تحمل یخ زدگی طوقه و برخی خصوصیات فیزیولوژیکی. مجله به‌نژادی نهال و بذر. ۱ (۲۸): ۸۵-۱۰۰.

لاری یزدی، ح.، ر. لک و م. گودرزی. ۱۳۸۸. بررسی اثرات بر هم کنش شوری کلرید سدیم و اسید آسکوربیک بر برخی شاخص‌های رشد، میزان پرولین و تغییرات یون‌های سدیم و پتاسیم در دو رقم کلزا (RGS & Hayola 401). فصلنامه پژوهش‌های علوم گیاهی ایران. ۱۳: ۱۹-۹.

مهرابی، ع. ا.، ب. یزدی صمدی، م. ر. نقوی، م. امیدی و ر. توکل افشاری. ۱۳۸٦. تأثیر اسید آبسزیک و کینتین بر جوانه-زنی و رشد دانه رست‌های گندم. فصلنامه پژوهش و سازندگی. ۷۷: ۹۳-۸۳.

مهرابی، ع. ا.، م. امیدی، ب.ا. طباطبایی، ع. ا. شاه نجات بوشهری و ر. توکل افشاری. ۱۳۸۱. بررسی کشت بافت و اثر کشت همجواری ریزنمونه‌ها در کلزا (*Brassica napus* L.). مجله علوم کشاورزی ایران. ٤ (۳۳): ٦۲۷-٦۳۵.

Abbaszadeh, F., V. Rameeh and A. Cherati. .2012. Salinity stress indices of seed yield and nutrient compositions in rapeseed (*Brassica napus* L.). Int. J. Biol. 4(1): 154-162.

Bybordi, A. 2010. Effects of salinity on yield and component characters in canola (*Brassica napus* L.) cultivars. Not. Sci. Biol. 2(1): 81-83.

Cano, E., A. Perez, A. Moreno, V. M. Bolarin and C. Maria. 1998. Evaluation of salt tolerance in cultivated and wild tomato species through in vitro shoot apex culture. Plant Cell Tiss. Org. 53: 19-26.

Chinnusamy, V., A. Jagendorf and J. K. Zhu. 2005. Understanding and improving salt tolerance in plants. Crop Sci. 45: 437-448.

El-Hendawy, S., H. Yuncai and U. Schmid-Hater. 2005. Growth, ion content, gas exchange, andwater relation of wheat genotypes differing in salttolerances. Aust. J. Agric. Res. 56: 123-134.

Enferad, A., K. Poustini, N. Majnoon-Hosseini and A. A. Khajeh-Ahmad-Attari. 2004. Physiological responses of rapeseed (*Brassica napus* L.) varieties to salinity stress in vegetative growth phase. J. Sci. Technol. Agric. Nat. Resour. 7(4): 103 – 113.

Finkelstein, R. R., S. S. L. Gampala and C. D. Rock. 2002. Abscisic acid signaling in seeds and seedlings. The Plant Cell. 14: 14-45.

Fricke, W. 2004. Rapid and tissue-specific accumulation of solutes in the growth zone of barely leaves in response to salinity. Planta. 219: 515-525.

Hagenbeek, D., R. S. Quatrano and C. D. Rock. 2000. Trivalent ions activate abscisic acid-inducible promoters through an ABI1-Dependent pathway in Rice protoplasts. Plant Physiol. 123: 1553–1560.

Huntely, R.P. and J.A.H. Murray. 1999. The plant cell cycle. Curr. Opin. Plant Biol. 2: 440-446.

Jamil, M., D. Bae-Lee, K. Yong-Jung, M. Ashraf, S. H. Chun-Lee and E. Shik-Rha. 2006. Effect of salt (NaCl) stress on germination and early seedling growth of four vegetable species. J. Cen. Europ. Agric. 7(2): 273-282.

Kranz, E., P. Von-Wiegenand and H. Lorz. 1995. Early cytological events after induction of cell division in egg cells and zygote development following in vitro fertilization with angiosperm gametes. Plant J. 8: 9-23.

Levitt, J. and T. T. Kuzlows. 1972. Respons of plant to environmental stresses. Academic press, New York.

Lopes Carobonell, M., L. Alegre and A. Pastor. 1996. Variation in abscisic acid, indol-3-acetic acid and zeatin ribozide concentrations in two mediteranean shrubs subjected to water stress. Plant Growth Regul. 20: 271-277.

Maas, E. V. and G. J. Hoffman. 1977. Crop salt tolerance current assessment. J. Irri. Drain. Eng. 103: 115-134.

Maguire, J. D. 1962. Speed of germination in selection and evaluation for seedling vigor. Crop Sci. 2: 176-177.

Morris, C. F. 1989. Seed dormancy and responces of caryopses, embryos and calli to abscissic acid in wheat. Plant Physiol. 90: 643-647.

Munir, M., H. Rashid, M. Rauf, Z. Chaudhry and M. Shahjahan-Bukhari. 2008. Callus formation and plantlets regeneration from hypocotyl of *Brassica napus* by using different media combinations. Pak. J. Bot. 40(1): 309-315.

Munns, R. and M. Tester. 2008. Mechanisms of salinity tolerance. Plant Biol. 59: 651-681.

Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. Physiol. Plant. 15: 473- 497.

Omidi, H., F. Khazaei, S. Hamzi-Alvanagh and H. Heidari-Sharifabad. 2009. Improvement of seed germination traits in canola (*Brassica napus* L.) as affected by saline and drought stresses. Plant Ecophysiol. 3: 151-158.

Ruth, R. F. 1985. Role of ABA in maturation of rapeseed embryos. Plant Physiol. 78: 630-636.

Skriver, K. and J. Mundy. 1990. Gene expression in response to abscisic acid and osmotic stress. The Plant Cell. 2: 503-512.

Stavir, K., A.K. Gupta and N. Kaure. 1998. Gibbrellic acid and kinetin partially reverse the effect of water stress on germination and seedling growth in chick pea. Plant growth Regul. 25: 29-33.

Tal, M. 1994. Invited review In vitro selection for salt tolerance in crop plants: Theoretical and practical consideration. In vitro Cellular Develop Biol. 30: 175-180.

Tunuturk, M., R. Tuncturk, B. Yildirim and V. Ciftci. 2011. Effect of salinity stress on plant fresh weight and nutrient composition of some Canola (*Brassica napus* L.) cultivars. Afr. J. Biotechnol. 10 (10): 1827-1832.

Von-Arnold, S., I. Sabala, P. Bozhkov, J. Dyachok and L. Filonova. 2002. Development pathways of somatic embryogenesis. Plant Cell Tiss. Org. 69: 233 – 249

Wilen, R. W., L. V. Gusta, B. Lei, S. R. Abrams and B.E. Ewan. 1994. Effects of abscisic acid (ABA) and ABA analogs on freezing tolerance, low-temperature growth, and flowering in rapeseed. J. Plant Growth Regul. 13(4): 235-241.

Winicov, I. 1997. Improving salt tolerance of crop plants through tissue culture and molecular biology: Progress and prospect. Proceeding of the Latvian Academy of Science Letters. 51: 19-27.

Zamani, Z., M. T. Nezami, D. Habibi and M. B. Khorshidi. 2010. Effect of quantitative and qualitative performance of four canola cultivars (*Brassica napus* L.) to salinity conditions. Adv. Environ. Biol. 4(3): 422-427.

Effect of abscisic acid on seed germination, callus culture and somatic embryogenesis of rapeseed (*Brassica napus* L.) genotypes under salinity stress

A.A. Mehrabi[1], M. Omidi[2], B. Tabatabaei[3], Z. Safari[1]

Received: 2014-10-13 Accepted: 2014-12-14

Abstract

Salinity is the one of the most important factors limited growth and yield of crops. This study was developed to evaluate the effects of abscisic acid (ABA) on seed germination, seedling growth and hypocotyl culture of rapeseed genotypes at different levels of salinity. The research was arranged as a factorial experiment in a randomized complete block design with three replications. Genotypes at three levels, salinity at four levels and three levels of ABA were tested in this experiment. In a separate experiment hypocotyl explants were cultured in MS medium complimented with 2 mg lit^{-1} BAP (6-Benzylaminopurine) and 1 mg lit^{-1} NAA *(Naphthalene acetic acid*), under salinity and ABA treatments in germination test. In separate consideration of ABA and salinity effects, both treatments were inhibited seed germination, seedling growth, callus induction and calli growth in all genotypes. The significant interactions between two factors indicated that genotypes had different responses to salinity in different concentrations of ABA. Most of germination traits evaluated under different levels of ABA and salt stress differences were significant at 1% probability level. So that seeds had higher germination rate in 10 µmol/L ABA than 5µmol/L ABA in saline environments. In low levels of salinity (60, 120 mmol/L), callus induction and calli growth were more efficient using 5µmol/L ABA in comparison with no ABA treatment.

Key words: Callus induction, explant, plant growth regulator, hypocotyl, tissue culture.

1-Department of Agronomy and Plant Breeding, Ilam University, Ilam, Iran
2- Departmentof Agronomy and Plant Breeding, Tehran University, Tehran, Iran
3- Department of Agronomy and Plant breeding, Isfahan University, Isfahan, Iran