بررسی تاثیر عناصر پر مصرف نیترات آمونیوم و نیترات پتاسیم بر روی نوساقه زایی درون شیشه‌ای پایه رویشی GXN15 (هیبرید هلو × بادام)

محمدمهدی عرب [1]، عباس یداللهی [2*]، سید مهدی حسینی مزینانی [3]، سعید جمشیدی آزاد [1]

1- دانشجویان کارشناسی ارشدگروه علوم باغبانی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران. 2- استادیار گروه علوم باغبانی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران. 3- دانشیار گروه ژنتیک ملکولی، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری، تهران.

نویسنده مسئول: Yadollah@modares.ac.ir

چکیده

تکثیر پایه‌ی رویشی GXN15 به عنوان یک پایه مناسب برای هلو و بادام از طریق کشت بافت گیاهی، در تجاری‌سازی باغ‌های سنتی کشور و ایجاد باغ‌های نوین از اهمیت ویژه‌ای برخوردار می‌باشد. هدف پژوهش حاضر دستیابی به نسبت مناسب نیترات آمونیوم به نیترات پتاسیم به منظور افزایش نوساقه زایی پایه رویشی GXN15 در شرایط درون شیشه ای می‌باشد. به منظور بررسی اثرات نیترات آمونیوم و نیترات پتاسیم آزمایشی به صورت طرح کاملا تصادفی با 6 تکرار و هر تکرار شامل 3 ریزنمونه طراحی گردید و بعد از واکشت دوم نوساقه ها در محیط کشت MS حاوی NH4NO3 و KNO3 به میزان 20% بیشتر و کمتر از میزان معمول کشت شدند. پس از 5 هفته پس از کشت، نتایج نشان داد که برای صفت تعداد نوساقه تیمار میزان 20% بیشتر KNO3 (2280 میلی گرم در لیتر) در ترکیب با میزان 20% کمتر NH4NO3 (1320 میلی گرم در لیتر) بهتر از شاهد و سایر تیمارها بوده است. و برای صفت طول نوساقه تیمار میزان 20% بیشتر KNO3 (2280 میلی گرم در لیتر) در ترکیب با میزان 20% کمتر NH4NO3 (1320 میلی گرم در لیتر) وتیمار میزان 20% کمتر KNO3 (1520 میلی گرم در لیتر) در ترکیب با تیمار میزان 20% بیشتر NH4NO3 (1980 میلی گرم در لیتر) نسبت به سایر تیمارها بهتر بودند.

کلمات کلیدی: GXN15، نوساقه زایی، نیترات آمونیوم، نیترات کلسیم

مقدمه:

پایه GXN15 (Garnem) تلاقی بین گونه ای هلو برگ قرمز "*Nemared*"و بادام"*Garfi*"می‌باشد. به عنوان پایه برای هلو و شلیل، بادام و آلوی ژاپنی مثل "*Santa rosa*" ، "*Golden japan*" و بعضی ارقام زرد آلو مثل "*Paviot*" استفاده می‌شود. که توسط مرکز تحقیقات و فناوری مواد غذایی آراگون(CITA)[1] در سال 1987 در کشور اسپانیا به ثبت رسیده است. پایه‌ای قوی و دارای عملکرد بالاتر و کمی پاکوتاه‌تر از GF677، سازگاری خوب به تمام انواع خاک و همچنین خاک‌های فقیر در صورتی که زهکش خاک مناسب باشد(Felipe, 2009)، مقاوم به خشکی، شوری و مقاوم به نماتد گره ریشه (Meloidogyne) و مناسب تکثیر از طریق کشت بافت می‌باشد (Pinochet *et al*., 1999). انتخاب مخلوط نمک های پرمصرف و کم مصرف، شدیدا به گیاه مورد مطالعه، بستگی دارد. کاربرد محیط کشت موراشی و اسکوگ یا MS به دلیل اینکه بسیاری از گیاهان به آن عکس‌العمل مناسبی نشان می‌دهند، بسیار متداول است. بیشتر گیاهان NO_3^- را بر NH_4^+ ترجیح می‌دهند،گرچه در بعضی موارد عکس آن هم صادق می‌باشد. لازم است توازن صحیح NO_3^-/NH_4^+ را برای رشد ایده آل ، پیدا کرد. اگر گیاه، یون های NH_4^+ را جذب کند، PH کاهش یافته و ممکن است آگار به صورت مایع درآید و در نتیجه به علت جذب NH_4^+، PH کم شده، جذب NH_4^+ به وسیله گیاه کاهش می‌یابد، و جذب ازت در فرم NO_3^- ارجحیت پیدا می کند (باقری و صفاری، 1389).

[1]Center of Investigation and Technology Agrifood of Aragon

مواد و روش ها:

ابتدا 4 نوع محیط کشت MS تغییریافته و همچنین 1 نوع محیط کشت MS پایه تهیه گردید (جدول1). در تمامی محیط ها میزان BAP $1^{mg}/_{l}$ به همراه $30^{gr}/_{l}$ شکر و $7/2^{gr}/_{l}$ آگار استفاده شد و pH تمامی محیط‌ها در 5/75±2 تنظیم گردید و محیط‌ها به مدت 25 دقیقه در دمای 121 درجه سانتی‌گراد و فشار1.2 بار اتوکلاو گردیدند.پس از تهیه محیط ها گیاهچه هایی که در واکشت دوم بودند دوباره واکشت و به 5 محیط فوق انتقال داده شدند، بعد از اتمام کشت نمونه ها به داخل فیتوترون(اتاقک رشد) با شرایط دمایی 24±2 و دوره‌ی نوری 16 ساعت روشنایی و 8 ساعت تاریکی و همچنین شدت نور 2500 تا 3000 لوکس انتقال داده شدند. بعد از گذشت 5 هفته ازکشت صفات ارتفاع نوساقه ها، تعداد نوساقه های جدید، میزان کالوس اندازه‌گیری شدند. تجزیه و تحلیل داده‌ها توسط نرم‌افزار minitab 16 و مقایسه میانگین با آزمون توکی در سطح 5 % انجام گرفت.

جدول1- بررسی اثر نمک های ماکرو(KNO3 و NH4NO3) محیط کشت MS

شماره تیمار	ترکیبات مورد مطالعه(برحسب میلی گرم در لیتر)	
	KNO3	NH4NO3
1	1900	1650
2	2280	1320
3	2280	1980
4	1520	1320
5	1520	1980

آزمایش فوق به صورت طرح کاملا تصادفی با 6 تکرار و هر تکرار شامل 4 ریزنمونه انجام گردید.

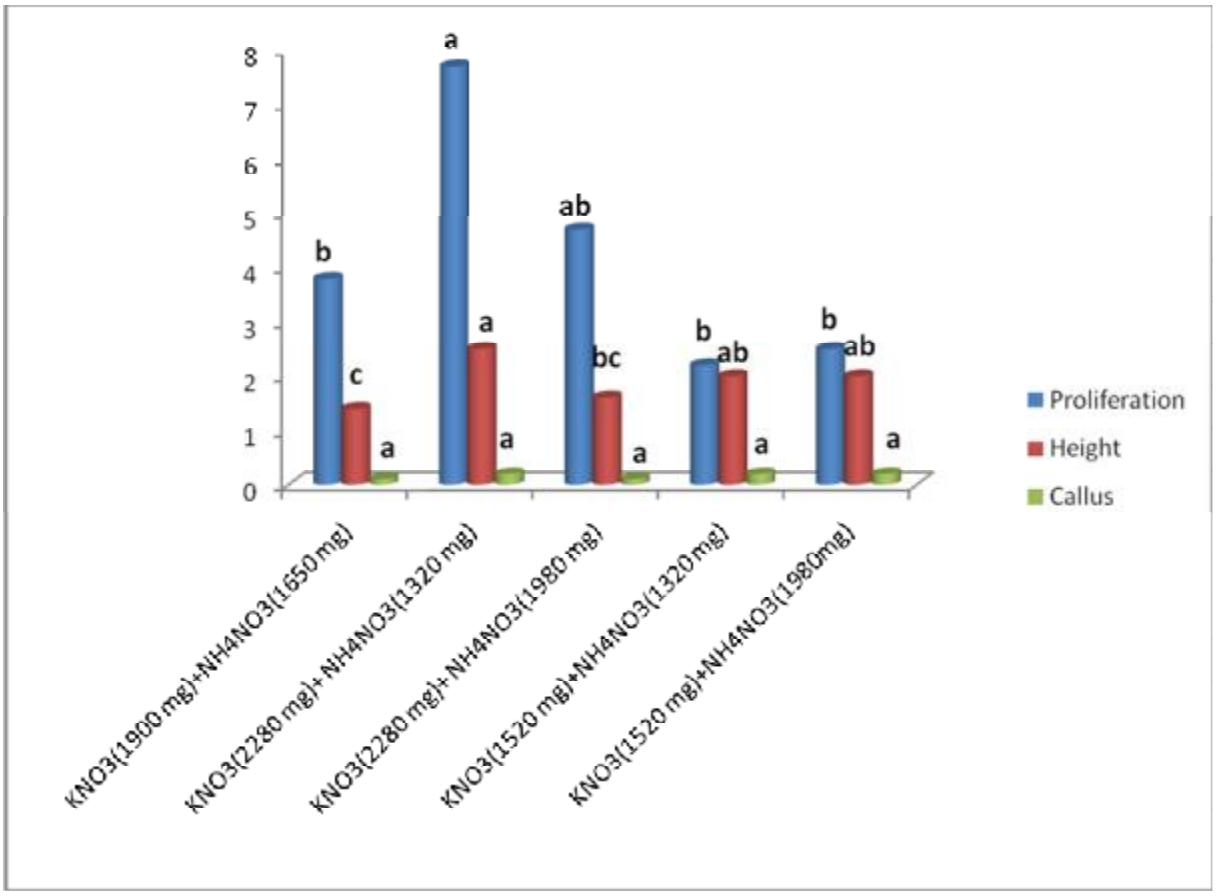
نتایج و بحث:

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد تفاوت معنی داری بین تیمارهای ترکیبی عناصر ماکرو (KNO3 و NH4NO3) وجود دارد. مقایسه میانگین‌ها (شکل2) نشان داد، ترکیب مقادیر مختلف عناصر ماکرو تاثیری بر روی میزان کالوس نداشتند ولی نوساقه‌زایی و میزان ارتفاع نوساقه ها را تحت تاثیر قرار دادند. یافته‌ها حاکی از این می‌باشد که در تیمارهای 20 درصد بالاتر از مقدار معمول KNO3 در ترکیب با مقادیر 20 درصد بالاتر و پائین‌تر NH4NO3 میزان نوساقه زایی افزایش می‌یابد.در کل می‌توان چنین نتیجه گیری نمود که افزایش میزان KNO3 نسبت به مقدار پایه در پروتوکل MS تاثیر معنی‌داری بر روی نوساقه زایی و افزایش طول نوساقه ها می گذارد. شیردل و همکاران (2011) گزارش نمودند غلظت های بالای نیترات و همچنین بالا بودن میزان کل نیتروژن دلیل افزایش طول نوساقه‌ها می‌باشدو همچنین میزان بالای آمونیوم به علت کاهش فعالیت آنزیم‌های نیترات ردوکتاز و گلوتامات سنتتاز درگیر در تولید اسیدهای آمینه منتج به کاهش طول نوساقه‌ها می‌گردد که با نتایج این مطالعه مطابقت دارد. تایز و زایگر (2002) گزارش نمودند نیتروژن یک عنصر اساسی برای بیوسنتز آمینواسیدها واسیدهای نوکلئیک می‌باشد ونقش مهمی در مسیر های متابولیکی زیادی از قبیل رشد و تمایز سلولی دارد که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد، در تیمارهایی که میزان KNO3 افزایش یافته میزان نوساقه زایی هم افزایش پیدا کرده است. باقری و صفاری(1389) ذکر نمودند که بیشتر گیاهان NO_3^- رابر NH_4^+ ترجیح می‌دهند و همچنین بیان نمودند جذب NH_4^+ سبب کاهش Ph محیط می‌گردد و جذب NH_4^+ کاهش و فرم NO_3^- ارجحیت می‌یابد که با نتایج این مطالعه مطابقت دارد.

جدول1- تجزیه واریانس اثر مقادیر مختلف عناصر ماکرو بر طول نوساقه ، تعداد نوساقه و میزان کالوس

		میانگین مربعات		
منابع تغییرات	درجه آزادی	تعداد نوساقه	طول نوساقه	وزن کالوس
مقادیر مختلف عناصر ماکرو	4	29.83**	1.025**	0.00073ns
خطای آزمایش	25	4.073	0.075	0.0098
کل	29			

** وجود اختلاف بسیار معنی دار در سطح 1 درصد



نمودار 1- تاثیر مقادیر مختلف عناصر ماکرو KNO3 و NH4NO3 بر روی تعدادنوساقه، طویل شدن و میزان کالوس در مرحله نوساقه زایی

فهرست منابع:

باقری، ع و صفاری، م (1388). مبانی کشت بافتهای گیاهی(تالیف: آر. ال. ام. پیریک). چاپ پنجم. انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد، 406ص.

Felipe, A.J. (2009). 'Felinem', 'Garnem', and 'Monegro' Almond · Peach Hybrid Rootstocks. Hort science 44(1):196–197.

Pinochet, J., Calvet, C., Hernández-Dorrego, A., Bonet, A., Felipe, A.J.and Moreno, M.A **.** (1999).Resistance of peach and plum rootstocks from Spain,France and Italy to rootknot nematode *Meloidogynejavanica. Hortscience* 34: 1259-1262.

Shirdel, M., Motallebi-Azar, A., Masiha, s., Mortazavi, N., Matloobi and Sharafi, Y. (2011). Effects of inorganic nitrogen source and NH4+: NO3-ratio on proliferation of dog rose (Rosa canina). Journal of Medicinal Plants Research Vol. 5(18), pp. 4605-4609

Effect of macronutrients, potassium nitrate(KNO3) and ammonium nitrate(NH4NO3)on in vitro proliferation of GXN15 (hybrid of Almond × Peach) vegetative

M.M. Arab[1], A. Yadollahi[2*], S.M. Hosseini-Mazinani[3]and S. Jmshidi azad[1]

1- MSc student, Departman of horticulture, TarbiatModares University, Tehran, Iran

2-Assistant Professor, Departman of horticulture, TarbiatModares University, Tehran, Iran

3-Associate Professor, Departman of Molecular Genetics, National Institute of Genetic Engineering & Biotechnology (NIGEB) Corresponding author**:** Yadollah@modares.ac.ir

Abstract:

Propagation of GXN15 vegatative rootstock as aappropriate rootstock for almond and peach Through tissue culture, in commercialization of traditional country orchards and establishment of high density orchards is particular importance. The aim of this study was to achieve an appropriate ration of $KNO3/NH4NO3$ to enhance proliferation of GXN15 vegetative rootstock on in vitro. Order to study effects ammonium nitrate and potassium nitrate The experiment was conducted based on completely randomized designwith6replicatesandeach replicate includes three explants. After second subculture micro-shoots were cultured on MS medium containing NH4NO3 and KNO3 to amount of 20% more and 20% less than common amount. After5weeks after culture, the results revealed that in proliferation step treated with 20% more KNO3 (2280 mg/l) in combination with 20% less NH4NO3(1320 mg/l) was better than the control and other treatments. Elongation of micro- shoots treated with 20% more KNO3 (2280 mg/l) in combination 20% less NH4NO3(1320 mg/l) and treated with 20% less KNO3 (1520 mg/l) in combination with 20% more NH4NO3(1980 mg/l) were better than other treatment.The over all results suggest that an increase in total nitrogen proliferation is increased.

Keywords: GXN15, Proliferation, KNO3, NH4NO3