اثر غلظت‌های مختلف نیترات‌کلسیم و نیترات‌پتاسیم بر جوانه‌زنی دانه‌گرده ارقام خرما

مریم بروجردنیا

گروه ژنتیک و بهنژادی، پژوهشکده خرما و میوه های گرمسیری، مؤسسه علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اهواز، ایران

*نویسنده مسئول:Boroujerdnia@gmail.com

چکیده

نخل خرما (*Phoenix dactylefera* L.) گیاهی تک لپه و دو پایه متعلق به خانواده Palmaceae می‌باشد. جوانه‌زنی دانه‌گرده و رشد لوله گرده مرحله‌ای ضروری در باروری خرما محسوب می‌شود، که در آن عوامل درونی و بیرونی نقش مهمی ایفا می‌کنند. در این آزمایش، اثر غلظت‌های مختلف نیترات کلسیم (۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و نیترات پتاسیم (۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر) روی جوانه‌زنی درون شیشه‌ای ۴ رقم خرما (غنامی قرمز، نر پاکوتاه، سبز پرک و وردی) ارزیابی گردید. آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی با سه تکرار انجام گرفت. نتایج نشان داد اثر غلظت پتاسیم و کلسیم محیط کشت بر درصد جوانه‌زنی دانه گرده ارقام نر مورد آزمایش معنی‌داری بود. جوانه‌زنی دانه‌گرده ارقام خرما با افزایش غلظت نیترات‌کلسیم در محیط کشت تا ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر افزایش یافت، درصورتیکه در غلظت‌های مختلف نیترات پتاسیم، جوانه‌زنی تا غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر افزایش و به تدریج در غلظت‌های بالاتر تا ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر به ترتیب کاهش نشان داد. بین ارقام مختلف از نظر جوانه‌زنی دانه‌گرده در محیط‌های کشت مختلف، تفاوت معنی‌داری وجود داشت. در غلظت‌های بهینه عناصر غذایی بیشترین جوانه‌زنی دانه گرده در رقم نر پاکوتاه بدست آمد.

واژه‌های کلیدی: جوانه‌زنی درون شیشه‌ای، دانه‌گرده، خرما، عناصر غذایی.

مقدمه

نخل خرما (*Phoenix dactylefera* L) گیاهی تک لپه و دو پایه متعلق به خانواده Palmaceae می‌باشد. جوانه‌زنی دانه گرده و رشد لوله گرده مرحله‌ای ضروری در باروری گیاهان محسوب می‌شود، که در آن عوامل درونی و بیرونی نقش مهمی ایفا می‌کنند. جوانه‌زنی درون شیشه‌ای دانه گرده تکنیکی است که غالباً برای مطالعه قدرت جوانه‌زنی دانه‌گرده مورد استفاده قرار می‌گیرد (مورا و همکاران، ۲۰۱۵). محیطی که برای جوانه‌زنی دانه گرده در شرایط درون شیشه‌ای بکار می‌رود در بین گونه‌های گیاهی متفاوت می‌باشد. دانه گرده بعضی گونه‌های گیاهی به محیط کشت پیچیده‌تری برای جوانه‌زنی نیاز دارد. مطالعات نشان می‌دهد که نیترات‌کلسیم و نیترات پتاسیم در جوانه‌زنی دانه گرده نقش دارند (دوتامودی و موندال، ۲۰۱۴). تحقیقات بسیاری نشان می‌دهد که کلسیم نقش ضروری در جوانه‌زنی دانه گرده و رشد لوله‌گرده دارد و به نفوذپذیری غشا و استحکام آن کمک می‌کند (استاین‌هورست و کودلا، ۲۰۱۳). مرتضوی و همکاران (۲۰۱۰) بیان کردند در سه رقم خرمای غیبانی، سمسماوی و غنامی بهترین جوانه‌زنی دانه گرده در محیط کشت حاوی ۵۰ میلی گرم در لیتر اسید بوریک، ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر نیترات کلسیم و ساکاروز ۱۵ درصد بدست می‌آید. کاوند و همکاران (۲۰۱۴) در سه رقم جارویس، فرد و بریم بیشترین جوانه‌زنی دانه گرده را در محیط کشت حاوی ۵۰ میلی‌گرم در لیتر اسید بوریک و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر نیترات کلسیم بدست آوردند. هدف از این مطالعه بررسی اثر غلظت‌های مختلف پتاسیم و کلسیم در محیط کشت بر روی جوانه‌زنی درون شیشه‌ای دانه‌گرده در ارقام مختلف خرما می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در آزمایشگاه ژنتیک و بهنژادی پژوهشکده خرما و میوه‌های گرمسیری انجام گرفت. اثر غلظت‌های مختلف نیترات کلسیم (۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و نیترات پتاسیم (۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر) بر جوانه‌زنی درون شیشه‌ای دانه‌های گرده ۴ رقم خرما (سبزپرک، غنامی‌قرمز، نرپاکوتاه و وردی) در طی ۲ آزمایش مجزا مورد بررسی قرار گرفت. در هر آزمایش از محیط کشت پایه بروباکر و کواک (۱۹۶۳) به همراه ۶ درصد ساکارز استفاده شد. پس از قرار دادن محیط کشت در پتری، مقداری دانه‌های گرده بر روی محیط کشت پاشیده شد. سپس پتری‌ها درون انکوباتور با دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۸ ساعت قرار گرفتند. در مرحله بعد، میزان جوانه‌زنی دانه‌های گرده در زیر میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۴۰ برابر در ۶ میدان دید که به صورت تصادفی انتخاب می‌شدند، مورد شمارش قرار گرفت. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی با سه تکرار انجام گرفت. تجزیه و تحلیل داده ها با نرم افزار (SAS) انجام شد و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن استفاده گردید.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثر غلظت‌های مختلف کلسیم و پتاسیم بر جوانه‌زنی دانه گرده ارقام مختلف خرما در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود. در بین غلظت‌های مختلف پتاسیم در محیط کشت، بیشترین و کمترین جوانه زنی دانه‌گرده در تیمار ۱۰۰ (۷۵/۶۳٪) و ۰ (۱۹٪/۸۲) میلی‌گرم در لیتر در جدول ۱ بدست آمد. افزایش غلظت پتاسیم بیش از ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر باعث کاهش میزان جوانه‌زنی به ترتیب در تیمارهای ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر گردید. از نظر جوانه‌زنی دانه گرده، رقم وردی با ۵۴٪/۴۹ برتری معنی‌داری نسبت به سایر ارقام داشت. کمترین میزان درصد جوانه‌زنی در رقم سبزپرک با میانگین ۳۴/۴۵٪ مشاهده گردید، جدول۲.

جدول ۱- مقایسه میانگین مربوط به اثر سطوح تیمارهای مختلف بردرصد جوانه‌زنی

ارقام	درصد جوانه زنی	
	کلسیم	پتاسیم
وردی	۳۴/۷۹ d	۱۹/۸۲ d
غنامی قرمز	۴۱/۱۶ c	۷۵/۶۳ a
سبز پرک	۶۰/۶۲ b	۵۰/۱۹ b
نر پاکوتاه	۷۳/۹۳ a	۲۹/۱۸ c

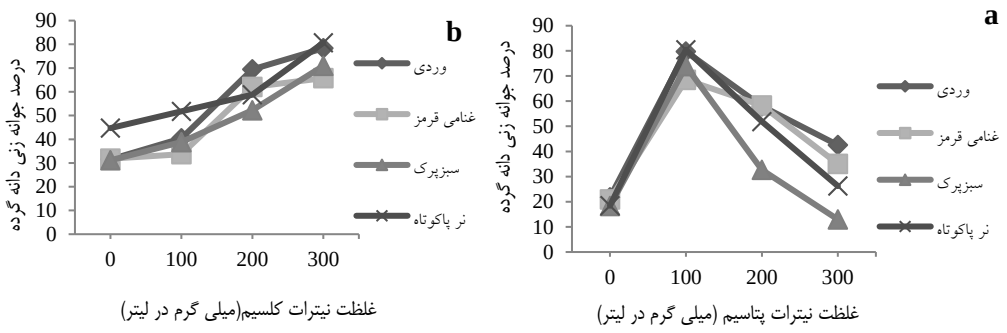
در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حرف مشترک هستند فاقد تفاوت آماری بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد.

جدول ۲: مقایسه میانگین اثر رقم بر درصد جوانه‌زنی دانه گرده خرما

ارقام	درصد جوانه زنی	
	کلسیم	پتاسیم
وردی	۵۴/۹۲ b	۵۴/۴۹ a
غنامی قرمز	۴۸/۳۳ c	۴۵/۶۶ b
سبز پرک	۴۸/۲۸ c	۳۴/۴۵ c
نر پاکوتاه	۵۸/۹۷ a	۴۴/۲۳ b

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حرف مشترک هستند فاقد تفاوت آماری بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد.

مقایسه میانگین‌های اثرمتقابل رقم و غلظت پتاسیم در نمودار ۱–a نشان داد که میزان جوانه‌زنی دانه گرده در ۴ رقم مورد بررسی در محیط فاقد نیترات‌پتاسیم بسیار پایین و بین ۱۸/۴۱ تا ۲۱/۷۴ درصد بود که ارقام وردی و غنامی‌قرمز در این شرایط جوانه‌زنی بالاتری نسبت به ارقام سبزپرک و نرپاکوتاه داشتند.. با افزایش نیترات پتاسیم به محیط کشت میزان جوانه‌زنی دانه گرده به‌طور معنی‌داری بین ۴۷/۶۲ تا ۶۲ درصد نسبت به محیط فاقد نیترات پتاسیم در ارقام مختلف افزایش نشان داد. این میزان افزایش جوانه‌زنی دانه گرده در ارقام نرپاکوتاه و وردی بیشتر از دو رقم دیگر بود. با افزایش غلظت نیترات‌پتاسیم از ۱۰۰ به ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر در محیط کشت از جوانه‌زنی دانه‌گرده به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر، میزان جوانه‌زنی دانه گرده در رقم سبزپرک با شتاب بیشتری نسبت به سایر ارقام کاهش یافت و به ۳۲/۶۸٪ رسید. بین ارقام غنامی قرمز، وردی و نر پا کوتاه اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. رقم سبز پرک در غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر نیترات پتاسیم کمترین میزان جوانه‌زنی دانه گرده را با ۱۲/۹۴٪ به خود اختصاص داد. درصورتی‌که رقم وردی نسبت به افزایش غلظت نیترات پتاسیم دامنه تغییرات کمتری داشت و بیشترین میزان جوانه‌زنی دانه‌گرده در این غلظت را نشان داد. جوانه‌زنی و رشد لوله گرده به‌طور معنی‌داری با انتقال یون‌های معدنی مانند کلسیم و پتاسیم در سرتاسر غشاء پلاسمایی دانه گرده و یا لوله گرده تنظیم می‌شود (تیلور و هپلر، ۱۹۹۷). در بسیاری از گونه‌های گیاهی، پتاسیم برای جوانه‌زنی بهینه دانه گرده در شرایط درون شیشه‌ای مورد نیاز می‌باشد و احتمالا در حفظ پتانسیل اسمزی نقش دارد (قنتا و ماندل، ۲۰۱۶).



نمودار۱: اثر غلظت نیترات پتاسیم (a) و نیترات کلسیم (b) بر میزان جوانه زنی دانه گرده ۴ رقم خرما.

نتایج نشان داد افزایش غلظت کلسیم در محیط کشت باعث افزایش درصد جوانه‌زنی دانه گرده گردید. در بین غلظت‌های مختلف کلسیم در محیط کشت، بیشترین (۷۳/۹۳٪) و کمترین (۳۴/۷۹٪) درصد جوانه‌زنی به ترتیب در تیمار ۳۰۰ و ۰ میلی‌گرم در لیتر نشان داده شد (جدول۱). در بین ارقام مورد مطالعه، بیشترین درصد جوانه‌زنی دانه گرده مربوط به غنامی قرمز (۵۸/۹۷٪) و بعد از آن ۵۴/۹۲٪ مربوط به رقم وردی بود. کمترین جوانه‌زنی دانه گرده در ارقام غنامی قرمز (۴۸/۳۳ ٪) و سبز پرک (۴۸/۲۸٪) مشاهده گردید که اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند (جدول۲). اثرمتقابل رقم و غلظت نیترات کلسیم در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود. در بین غلظت‌های مختلف نیترات کلسیم محیط کشت، بهترین جوانه‌زنی دانه گرده در همه ارقام در غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر مشاهده شد و بعد از آن به ترتیب مربوط به غلظت ۲۰۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر بود(نمودار ۱–b). در محیط فاقد نیترات کلسیم، رقم نر پا کوتاه (۴۴/۷٪) نسبت به سایر ارقام بیشترین میزان جوانه‌زنی دانه گرده را به خود اختصاص داد، درصورتی‌که بین سایر ارقام اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر نیترات کلسیم، رقم نر پا کوتاه برتری خود را نسبت به سایر ارقام حفظ نمود ولی در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر، به ترتیب رقم وردی و غنامی قرمز به‌طور معنی‌داری میزان جوانه‌زنی بالاتری نسبت به ارقام نر پا کوتاه و سبز پرک داشتند. در غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر نیترات کلسیم رقم نر پا کوتاه و پس از آن در رقم وردی بیشترین میزان جوانه‌زنی را به خود اختصاص دادند و بین آن‌ها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. کلسیم موجود در محیط کشت بر چندین خصوصیات فیزیولوژیکی از قبیل کاهش حساسیت دانه

گرده و لوله گرده به تغییرات محیط کشت پایه، نفوذپذیری کمتر، رشد خطی و ظاهر سفت لوله گرده اثر می‌گذارد (Soares *et al.*, 2008). رشد لوله گرده به شیب یون کلسیم وابسته می‌باشد، یون‌های کلسیم خارج سلولی در ترکیب با یون‌های داخلی این شیب غلظت را ایجاد می‌کنند (Steinhorst and Kudla, 2013). کلسیم همچنین نقش انتقال‌دهنده سیگنال در جوانه‌زنی دانه گرده دارد و در سنتز پکتین و تنظیم اسمزی نقش ایفا می‌کند (Zhang *et al.*, 2007). یون کلسیم مسئول عملکرد مناسب یون پتاسیم و کانال‌های پتاسیم/سدیم می‌باشد (Akhtar *et al.*, 2013). غلظت مناسب کلسیم برای جوانه‌زنی دانه گرده در گونه‌های مختلف متفاوت می‌باشد. به طور مشابه در بسیاری از گونه‌های مورد مطالعه، غلظت‌های پائین یا بالا کلسیم باعث کاهش جوانه‌زنی شده است (Lee *et al.*, 2009). با افزایش غلظت کلسیم، موازنه شیب کلسیم در انتهای لوله گرده از بین می‌رود و رشد لوله گرده متوقف می‌شود (Lee *et al.*, 2009). در صورت عدم کلسیم در محیط کشت، نفوذپذیری غشای لوله گرده افزایش می‌یابد و باعث رهاسازی متابولیت‌های داخلی به محیط بیرون می‌گردد (Soares *et al.*, 2008). نتایج نشان داد نمک‌هایی مانند نیترات‌کلسیم، نیترات پتاسیم و سولفات منیزیم در جوانه‌زنی دانه گرده موثر می‌باشند. نقش‌های ضروری و مکمل این عناصر در جوانه‌زنی دانه گرده تحت شرایط درون شیشه‌ای و مزرعه‌ای مشخص شده‌است (Lee *et al.*, 2009 ; Zhang *et al.*, 2007). نتایج نشان می‌دهد، در محیط‌کشت‌های فاقد عناصرغذایی (کلسیم، منیزیم، پتاسیم و بور) جوانه‌زنی دانه گرده به‌ندرت صورت می‌گیرد. همچنین در غلظت‌های بالای عناصر غذایی جوانه‌زنی کاهش می‌یابد، بنابراین غلظت بهینه مورد استفاده اهمیت بسزایی دارد.

منابع

Akhtar, N., Hossain, F., Karim, A. 2013. Influence of calcium on water relation of two cultivars of wheat under salt stress. International Journal of Environment, 2: 1-8.

Dutta Mudi, M., Mondal, S. 2014. Studies on in vitro Pollen Germination of Phyllanthus reticulates Poir. Indian Journal of Fundamental and Applied Life Sciences, 4 (3): 367-373.

Kavand, A.R., Ebadi, A., Dehghani Shuraki, Y., Abdosi, V. 2014. Effect of calcium nitrate and boric acid on pollen germination of some date palm male cultivars. European Journal of Experimental Biology, 4(3):10-14.

Lee, S.H., Kim, W.S., and Han, T.H. 2009. Effects of post-harvest foliar boron and calcium applications on subsequent season's pollen germination and pollen tube growth of pear (*Pyrus pyrifolia*). Scientia Horticulturae, 122(1): 77-82.

Mortazavi, M.H., Arzani, K., Moeini, A. 2007. The effect of different concentrations of several chemical compounds on in vitro germination of three cultivar of date palm (in Persian). Scientific Journal of Agriculture, 30(4): 1-8.

Soares, T.L., Silva, S.D.O., Costa, M. A.P.C. 2008. In vitro germination and viability of pollen grains of banana diploids. Crop Breeding and Applied Biotechnology, 8: 111-118.

Steinhorst, L., Kudla, J. 2013. Calcium-A central regulator of pollen germination and tube growth. Biochimica et Biophysica Acta, 1833(7): 1573-1581.

Wang, Q., Lu, L., Wu, X., Li, Y., Lin, J. 2003. Boron influences pollen germination and pollen tube growth in Picea meyeri. Tree Physiology, 23(5): 345-351.

Zhang, J., Liu, J., Chen, Z., Lin, J. 2007. In vitro germination and growth of lily pollen tubes is affected by calcium inhibitor with reference to calcium distribution. Flora, 202(7): 581-588.

Effect of different concentration of calcium nitrate and potassium nitrate on pollen germination of date palm (Phoenix dactylifera L.) different cultivars

Abstract

The date palm (Phoenix dactylefera L.) is a monocotyledon, dioecious plant belonging to the Palmaceae family. Pollen grain germination and pollen tube growth are essential stages in date fertility, in which internal and external factors play an important role. In this experiment, effect of different concentrations of calcium nitrate (0, 100, 200, 300 mg l^{-1}) and potassium nitrate (0, 100, 200, 300 mg l^{-1}) were examined on in vitro pollen germination of 4 date cultivars (Ghanami Ghermez, Nar Pakhotah, Sabz Parak and Vardi). The experiment was performed as a factorial experiment in a completely randomized design with three replications. The results revealed that elements concentration of the medium significantly affected the pollen germination percentage at all date male cultivars used in the experiment. It was found that pollen germination for all cultivars were decreased by raising calcium nitrate concentration up to 300 mg l^{-1} in the germination medium, whereas germination in different concentrations of potassium nitrate was increased up to 100 mg l^{-1} and gradually decreased again to 200 and 300 mg l^{-1}, respectively. Significant differences in germination percentage were found among cultivars in different media. In optimum concentrations of nutrient elements, the highest pollen germination was obtained for Nar Pakotah cultivar.

Keywords: Cultivar, Date Palm, In Vitro germination of pollen, Nutrient elements.