



بررسی میزان قند محلول و نامحلول و میزان پروتئین در پاسخ به غلظت های متفاوت KNO_3 در جداکشت های گیاه میخک در شرایط کشت بافت

مهرناز موسوی^{۱*}، حسین لاری یزدی^۲، عاطفه فعلی^۳

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد واحد بروجرد ۲- استادیار دانشگاه آزاد بروجرد ۳- دانشجوی کارشناسی ارشد

واحد بروجرد

*E-mail:mehrnaz.mousavi@yahoo.com

چکیده

میخک (*Dianthus caryophyllus L.*) از خانواده کاروفیلاسه یکی از مهمترین محصولات شاخه بریده می باشد. تکنیک های مهندسی ژنتیک همراه با کشت بافت، روش انتخابی برای اصلاح و ارتقاء خصوصیات کیفی این گل ارایه می کنند. پاسخ گیاه در شرایط کشت بافت به فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی مانند ژنوتیپ، تنظیم کننده های رشد و اجزاء محیط کشت همانند نمک های پرمصرف وابسته است این پژوهش با هدف دستیابی به شرایط مناسب برای رشد و شاخه زایی در شرایط درون شیشه صورت گرفت. در مرحله اول گیاه پایه استریل از بذرهاستریل موجود در محیط MS بدون هورمون تشکیل شد. بعد از ۴ هفته قطعات دوگره ای از گیاه استریل به محیط MS حاوی ۰/۵ میلی گرم در لیتر NAA و ۱ میلی گرم در لیتر BAP با غلظت های متفاوت KNO_3 ۳۷، ۲۸، ۱۸، ۹، ۰ منتقل شدند. بعد از ۴ هفته آنالیز داده ها در قالب طرح کاملا تصادفی با ۵ تکرار انجام شد و میزان فعالیت های فیزیولوژیکی گیاه بررسی شد. این داده ها در سطح ($p < 0.01$) معنی دار بودند. یافته ها نشان می دهد که محیط حاوی KNO_3 ۲۸ mmol/l شرایط بهینه رشد را دارا می باشد و با افزایش غلظت این نمک میزان، پروتئین و قند نامحلول کاهش و قند محلول افزایش پیدا کرد.

واژگان کلیدی: کشت بافت، *Dianthus caryophyllus L.*، نمک های پرمصرف، پروتئین، قند محلول و نا محلول

مقدمه

میخک با نام علمی *Dianthus caryophyllus L.* از تیره *caryophyllacea*. بومی مناطق مدیترانه ای است و یکی از مهمترین محصولات گلکاری دنیا می باشد، به دلیل وجود محدودیت ها در روش های به نژادی سنتی و همچنین ویژگی هتروزیگوتی بالای این گیاه، کاربرد روش های جدید مهندسی ژنتیک در شرایط کشت بافت خصوصیات اقتصادی این گیاه را بهبود می بخشد (کریمی ۱۳۸۳). پتاسیم یکی از عناصر پرمصرف در محیط کشت می باشد و به عنوان فراوانترین کاتیون در گیاهان عالی می باشد. وقتی که مقدار پتاسیم کافی نباشد متابولیسم کربوهیدراتها به هم می خورد و در اثر کمبود شدید این عنصر فتوسنتز متوقف و تنفس افزایش می یابد (لسانی و مجتهدی، ۱۳۷۵). هدف از این پژوهش بررسی اثر تغذیه پتاسیم در گیاه *Dianthus caryophyllus L.* و بهینه سازی غلظت این عنصر برای دستیابی به گیاهان مناسب با رشد بهینه برای انتقال به شرایط گلخانه ای در مقیاس انبوه می باشد.

مواد و روش ها

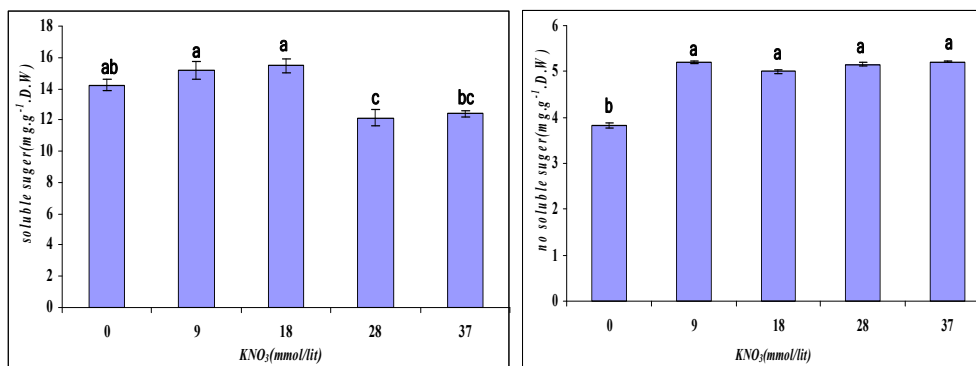
بذرهای میخک از شرکت پاکان بذرافصفهان تهیه شد. استریل کردن بذرها توسط هیپوکلرید سدیم ۱٪ صورت گرفت. سپس بذرها به محیط کشت MS بدون هورمون منتقل شدند و بذرها تحت شرایط دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی در دمای 25 ± 3 قرار گرفتند. بعد از ۴ هفته قطعات دو گره‌ای از گیاه استریل به محیط MS حاوی 0.5 mg/L NAA و 1 mg/l BAP با غلظت‌های متفاوت $0, 9, 18, 28, 37 \text{ mmol/l KNO}_3$ منتقل شدند. بعد از ۴ هفته برای سنجش قندها از روش فنل-اسید سولفوریک (Kochert, ۱۹۷۸) و از روش (Lowry *et al* 1951) برای سنجش میزان پروتئین استفاده شد.

نتایج حاصل از بررسی اثر غلظت‌های متفاوت KNO_3 بر میزان پروتئینها:

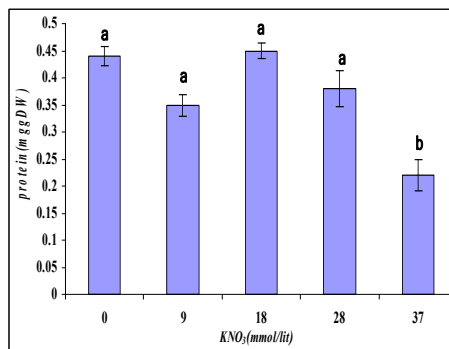
آنالیز واریانس بدست آمده از تغییرات پروتئینها نشان می‌دهد که غلظت‌های متفاوت KNO_3 سبب ایجاد تغییرات معنی داری با احتمال $P \leq 0.01$ در میزان پروتئینها نسبت به گروه شاهد گردید و در آزمون مقایسه‌ای کمترین مقدار در غلظت (37 mmol/lit) مشاهده می‌شود. (نمودار ۱) همچنین میانگین پروتئین در $0, 9, 28, 37 \text{ mmol/lit KNO}_3$ به ترتیب نسبت به شاهد ۱۵٪، ۲۲٪، ۲٪ و کاهش و غلظت $37 \text{ mmol/lit KNO}_3$ نسبت به شاهد ۵۱٪ افزایش داشتند.

نتایج حاصل از بررسی اثر غلظت‌های متفاوت KNO_3 بر میزان قند محلول و نامحلول:

میانگین مقدار قند محلول و نامحلول اندام هوایی با افزایش غلظت KNO_3 در محیط پایه به طور معنی‌دار ($P < 0.01$) کاهش یافت و طبق آزمون مقایسه‌ای میانگین‌های دانکن بیشترین مقدار قند محلول و نامحلول در غلظت 9 mmol/lit KNO_3 مشاهده شد.



نمودار ۱: قند نامحلول در گیاهان سی روزه تحت غلظت‌های KNO_3 ، نمودار ۲: قند محلول در گیاهان سی روزه تحت غلظت‌های KNO_3



نمودار ۳: میزان پروتئین در گیاهان سی روزه تحت غلظت‌های KNO_3

بحث و نتیجه گیری

در پژوهش ما با افزایش غلظت KNO_3 مقدار قندهای محلول و نامحلول کاهش می‌یابد. افزایش کربوهیدرات‌ها طی کمبود KNO_3 احتمالاً به علت کاهش به کارگیری و مصرف فرآورده‌های کربنی است نه تولید آنها و همین امر موجب تجمع قندهای



محلول و نامحلول در اندام هوایی گیاه می شود که با نتایج توفیقی بر روی گیاه گوجه فرنگی مطابقت دارد. بررسی نتایج شمالی بر روی گیاه برنج (۱۳۸۳) نشان داد که افزایش پتاسیم باعث افزایش میزان قند در این گیاه می شود که با نتایج ما تناقض دارد. آنزیم سنتز کننده نشاسته آنزیم مهم دیگری در تولیدات گیاهی به شمار می رود که برای فعال شدن به یون پتاسیم نیاز دارد (Nitosos et al, 1969). بدین ترتیب مقدار غیر کافی پتاسیم به تجمع قندها منجر می شود (Okamoto (1967). Ratner& Yeliseova (1968) و انتقال قندها که لازمه تشکیل لیپیدها هستند در گیاهان مبتلا به کمبود پتاسیم کاهش می یابد (Rains, 1976). پتاسیم به مقادیر مناسب برای پروتئین سازی ضروری است، احتمال دارد کاهش سنتز پروتئین باعث کاهش مقدار پتاسیم در سیتوزول باشد (Marschner, 1989). آنزیم های زیادی توسط کاتیون های تک ظرفیتی از جمله K فعال می شوند که عمدتاً عبارتند از: سیتینازها، اکسید و ردوکتازها، هیدروژنازها، ترانسفراز و کینازها. بنابراین پتاسیم طی چندین مرحله در ساخته شدن پروتئین دخالت می کند و به همین علت ساخته شدن پروتئین و میزان گردش ازت در گیاه سالم بستگی به مقدار پتاسیم دارد (Evans et al, 1971) و (Jeanniot et al, 1970). آزمایشاتی که توسط Blevins (۱۹۸۵) بر روی سنتز پروتئین صورت گرفته، نشانگر اینست که غلظت های بالایی از پتاسیم مورد نیاز است. بطور کلی کمبود نمک پر مصرف KNO_3 می تواند پیری برگ را با کاهش در پروتئین های محلول و تجزیه این ماکرو مولکول ها تحریک و تسریع کند (توفیقی، ۱۳۸۶). در پژوهش در حاضر با کاهش مقدار پتاسیم میزان پروتئین کاهش نشان داد که با نتایج چاپارزاده بر روی گیاه یونجه (۱۳۷۵) مطابقت دارد. در مجموع محدوده ی کافی نمک نترات پتاسیم برای رشد اندام هوایی گیاه KNO_3 ۹-۱۸ mmol/l می باشد.

منابع

۱. مجتهدی و لسانی، ۱۳۷۵، مبانی فیزیولوژی گیاهی، انتشارات دانشگاه تهران
۲. توفیقی، کبری. ۱۳۸۶. تاثیر کمبود عناصر پر مصرف نیتروژن و فسفر بر تجمع آنتوسیانین و برخی پارامترهای فیزیولوژیکی در گیاه گوجه فرنگی، پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه تربیت معلم.
۳. چاپارزاده، نادر. ۱۳۷۵. آثار متقابل شوری (کلرورسدیم) و کلسیم (Ca^{2+}) بر روی فتوسنتز، رشد و محتوی عناصر معدنی موجود در گیاه یونجه، پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه تربیت معلم.

6. Blevins, D.G., 1985. Role of potassium in protein metabolism in plants, P.43-424. In R.D. Munson (ed.) potassium in agriculture ASA. CSSA. Madison, WI.

7. Evans, H.J., Wildes, R.A., 1971. Potassium and its role in enzyme activation, P.13-39. In potassium in Biochemistry and physiology. Int. Potash Inst. Berne.

8. Jeanniot, A., Dupaigne, G., Coic, Y., 1970. Influence of potassium on the protein metabolism of wheat during germination and the first days of growth, Agrochimica. 15: 61-73.

9. Kochert, G., 1978. Carbohydrate determination by the phenol sulfuric acid method. in Helebus, J.A., Craig J. S(ed): Hand book of physiological methods, Pp.96-97 Cambridge Univ. Press, Cambridge.



10.Lowry, O.H., N.J., Rosebrough, A.L. Farr, R.J. Randall, 1951. Protein measurement with the fooling phenol reagent, Bid. Chem, 193, 265-272.

11.Marschner, H., 1995. Mineral nutrition of higher plants, London:Academic press,889P.

Study the effect of different concentrations of KNO₃ on the amount protein and soulabel and nonsoulabel sugar in explants of dianthus caryophyllus L. in vitro

Mehrnaz mousavi*, Hossain lary yazdi.atefe feaily

*E-mail:mehrnaz.mousavi@yahoo.com

Abstract

Dianthus caryophyllus L. a famous flower also called as carnation is widely distributed all over the world. tissue culture of plants has developed rapidly in the last years. the successful growth of tissue cultured plants depends on many factors including genotype, growth regulator, medium composition such as macro element. tis research aimed to achived optimum conditions for the growth and branches in conditions in vitro. in the first step, sterile plant were induced on sterile seed placed on media ms without hormone. after 4 week, parts two node of sterile plant transferred onto a series of culture media MSthat supplemented with 0.5mg/l NAA and 1mg/l BAP with different concentrations 0, 0.5, 1.5 and 2 of treatment kno₃. after 4 week, the data analysis was performed with randomized design on 5 replicate and were measured amounts protein and soulabel and non soulabel suger. results of this research work showed that optimum condition for the plant growth were provided by media containing MS0.5 kno₃ thus, increasing of kno₃ caus to deacreas protein , soulabel sugar and increase nonsoulabel sugar than control plant.

Key word: tissue culture, carnation, , protein, soulabel and nonsoulabel sugar