نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۲۶، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۱ ، ص. ۳۶۹-۳۶۴
شاپا: ۴۷۳۰ - ۲۰۰۸

Journal of Horticultural Science
Vol. 26, No. 4, Winter 2013, P. 364-369
ISSN: 2008 - 4730

بررسی اثر نسبت آمونیوم به نیترات و غلظت آگار بر ریزازدیادی میخک (*Dianthus caryophyllus* L.) رقم Mondeo Kgr

سیده مهدیه خرازی[1*]- سید حسین نعمتی[2]- علی تهرانی‌فر[3] - عبدالرضا باقری[4]- احمد شریفی[5]

تاریخ دریافت:۱۳۸۹/۱۱/۱۰
تاریخ پذیرش:۱۳۹۱/۶/۷

چکیده

میخک به عنوان سومین گل شاخه بریده دنیا مطرح است و تکنیک‌های کشت بافت روش مناسبی را برای تکثیر این گیاه زینتی فراهم کرده است. با این وجود، یکی از مشکلات کشت درون شیشه‌ای میخک پدیده‌ی شیشه‌ای شدن می‌باشد. نسبت آمونیوم به نیترات و غلظت آگار در محیط کشت از عوامل موثر بر این پدیده می‌باشند. لذا این آزمایش به منظور بررسی تاثیر این دو عامل بر میزان تکثیر و پدیده‌ی شیشه‌ای شدن میخک رقم Mondeo Kgr، صورت گرفت. در این بررسی، ریزنمونه‌های جوانه‌ی جانبی در محیط کشت MS حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر BA و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر NAA همراه با تیمارهای مختلف (غلظت‌های متفاوت آگار و نسبت‌های مختلف نیترات به آمونیوم) کشت گردیدند. نتایج آزمایش نشان داد که با افزایش غلظت آگار تا ۱۲ گرم در لیتر، درصد شیشه‌ای شدن کاهش می‌یابد. در عین حال میزان باززایی ریزنمونه‌ها نیز کاهش می‌یابد، زیرا افزایش غلظت آگار باعث محدودیت در جذب مواد غذایی توسط گیاه می‌شود. همچنین با کاهش نسبت آمونیوم به نیترات میزان پدیده شیشه‌ای شدن کاهش یافت، ولی اثر نامطلوبی بر میزان باززایی گیاهچه‌ها نداشت. همچنین رگرسیون چند متغیره نشان داد که اثر نسبت آمونیوم به نیترات بسیار بیشتر از غلظت آگار در پدیده شیشه ای شدن موثر می‌باشد. لذا با درنظر گرفتن میزان شاخه‌زایی ریزنمونه‌های کشت شده و میزان شیشه‌ای شدن آنها، برای بدست آوردن بیشترین شاخه طبیعی، غلظت ۱۰ گرم در لیتر آگار و نسبت ۶:۱ آمونیوم به نیترات توصیه می شود.

واژه های کلیدی: میخک، نسبت آمونیوم به نیترات، غلظت آگار، شیشه ای شدن، پرآوری

مقدمه

میخک (*Dianthus caryophyllus* L.) یکی از مهم ترین گیاهان زینتی دنیا می باشد که هم به جهت زیبایی و گوناگونی و هم از نظر اقتصادی از اهمیت قابل توجهی برخوردار است (۲). ابتدا تکنیک کشت بافت در میخک به منظور حذف ویروس در این گیاه مورد استفاده قرار گرفت و اکنون به عنوان روشی برای تکثیر تجاری آن بکار می رود. باززایی شاخساره های نابجا در میخک توسط ریزنمونه های مختلفی چون گلبرگ، برگ، گره ساقه، جوانه جانبی و انتهایی شاخساره امکان پذیر است (۲، ۳، ۱۱، ۱۲، ۱۴ و ۱۵). روش باززایی غیر مستقیم به علت تولید بافت کالوس، درصد گیاهان باززایی شده غیر مشابه با والد را افزایش می دهد و در نتیجه ثبات ژنتیکی گیاهان تولید شده کاهش می یابد. بر این اساس جوانه های جانبی میخک ریزنمونه های مناسبی برای تکثیر این گیاه می باشند، زیرا با استفاده از این نوع ریزنمونه ها مرحله پینه‌زایی را نخواهیم داشت و در نتیجه شاخساره های باززایی شده از نظر خصوصیات ژنتیکی یکسان و مشابه گیاهان مادری خواهند بود. علاوه براین سرعت تکثیر در این روش نسبت به باززایی غیر مستقیم بیشتر است (۴).

یکی از مشکلات متداول در طی فرایند کشت بافت میخک، پدیده شیشه ای شدن می باشد (۱۰). این پدیده در واقع ایجاد نوعی تغییرات نامطلوب فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی در بافت های گیاهی می‌باشد. در گیاهان شیشه ای شده تعداد دسته جات آوندی، سلول‌های روزنه ای و سلول های کوتیکولی برگ کاهش می یابد و سلول های مزوفیل برگ دارای واکوئل حجیمی می شوند. گیاهان شیشه ای شده برگ هایی پهن، ضخیم، ترد و شکننده دارند و ظرفیت فتوسنتزی آنها کاهش می یابد، در نتیجه شانس زنده مانی این گیاهان پس از انتقال به شرایط محیطی طبیعی کاهش می یابد (۱۰ و ۱۷). عوامل متعددی بر پدیده شیشه ای شدن گیاهچه های تکثیر

۱، ۲ و۳- به ترتیب دانشجوی کارشناسی‌ارشد، استادیار و دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
(*- نویسنده مسئول: (Email:ma_kh230@yahoo.com
۴- استاد گروه بیوتکنولوژی و به‌نژادی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
۵- عضو هیئت‌علمی گروه کشت‌بافت و ریزازدیادی گیاهان جهاددانشگاهی مشهد

Archive of SID
www.SID.ir

شده در شرایط این ویترو موثر می باشد که یکی از مهم ترین این عوامل نسبت آمونیوم به نیترات و غلظت آگار مورد استفاده در محیط کشت است. برخی پژوهشگران با تغییر در نسبت آمونیوم به نیترات و غلظت آگار محیط کشت، افزایش در پرآوری و کاهش پدیده شیشه‌ای شدن را گزارش کرده اند (۱۳ و ۱۸). نتایج بررسی های انجام شده نشان می دهد که افزایش غلظت آگار باعث کاهش پتانسیل اسمزی محیط کشت می شود، در نتیجه پدیده شیشه ای شدن نیز کاهش می‌یابد. اما در عین حال تاثیر نامطلوبی بر جذب عناصر غذایی و هورمون های موجود در محیط کشت داشته و باعث کاهش رشد گیاهچه ها می شود (۵). نتایج پژوهش یاداو و همکاران (۱۷) نشان داد که رقم تاثیر معنی داری بر میزان پدیده شیشه ای شدن دارد، بطوریکه در رقم White Sim، با کاهش غلظت آگار به ۶ گرم در لیتر، پدیده شیشه ای شدن رخ نداد. درصورتی که در سایر ارقام میزان این پدیده قابل توجه بود. بنابراین چنین به نظر می رسد که ارقام مختلف میخک عکس العمل متفاوتی نسبت به تغییر غلظت آگار در محیط کشت از خود نشان می دهند و سطح بهینه آگار جهت افزایش پرآوری و کاهش میزان شیشه ای شدن برای ارقام مختلف میخک، متفاوت می باشد. نسبت آمونیوم به نیترات نیز به عنوان یک عامل کلیدی در رشد گیاهان مختلف مطرح است (۱۳). لاپنا و همکاران (۱۳) گزارش کرده اند که کاهش نسبت آمونیوم به نیترات در محیط کشت نه تنها توانایی تشکیل جوانه را افزایش می دهد، بلکه میزان پدیده شیشه ای شدن نیز کاهش می یابد. گزارش های متناقضی در ارتباط با تاثیر نسبت آمونیوم به نیترات بر میزان پرآوری وجود دارد، بطوریکه برخی از محققان گزارش کردند که با کاهش میزان آمونیوم محیط کشت می توان میزان پرآوری را افزایش داد (۶). این درحالی است که نتایج پژوهش سایر محققان نشان می دهد که بهترین محیط کشت از نظر پرآوری محیط کشت پایه MS بدون تغییر در نسبت آمونیوم به نیترات می باشد (۷). نتایج پژوهش تیسی (۱۶) نشان داد که تنها در واکشت چهارم میخک، افزایش نسبت نیترات به آمونیوم باعث کاهش پدیده شیشه ای شدن گیاهچه های تکثیر شده می شود و تاثیر معنی داری بین تیمارها در واکشت اول مشاهده نشد.

هدف از پژوهش حاضر بررسی اثر غلظت های مختلف آگار و نسبت های متفاوت آمونیوم به نیترات بر شاخه زایی مستقیم ریزنمونه‌های گره جانبی میخک وتاثیر آنها بر میزان شیشه ای شدن گیاهچه‌های تکثیر شده به منظور پیدا کردن سطح بهینه ترکیب محیط کشت بود.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش گیاهان میخک رقمMondeo Kgr در شرایط محیطی مناسب در گلخانه نگهداری و از آنها برای تهیه ریزنمونه استفاده شد. گیاهان شاداب، عاری از بیماری و در مرحله رشد فعال انتخاب و ریزنمونه های جوانه های جانبی به اندازه ۱ سانتی متر از آنها تهیه و برای کشت آماده شدند. ریزنمونه ها ابتدا به مدت ۳۰ دقیقه در زیر آب جاری شستشو و سپس به مدت ۱۵ دقیقه با محلول دو درصد هیپوکلریت سدیم ضدعفونی گردیدند. ریزنمونه های ضدعفونی شده تحت شرایط استریل ۳ مرتبه با آب مقطر استریل شستشو شده و جوانه هایی به طول ۳ تا ۵ میلی متر از آنها تهیه و کشت گردیدند.

در این بررسی از محیط کشت جامد MS (موراشیگ و اسکوگ) حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر BA در ترکیب با ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر NAA ، ۳ درصد ساکارز ، pH=۵/۷ و تیمارهای مختلف شامل غلظت‌های متفاوت آگار (۰، ۸، ۱۰ و ۱۲ گرم در لیتر) و نسبت‌های مختلف آمونیوم به نیترات (۲:۱، ۴:۱ و ۶:۱) استفاده گردید. در محیط کشت فاقد آگار، برای استقرار ریزنمونه‌ها از پل کاغذی استفاده گردید. همچنین محاسبه‌ی نسبت آمونیوم به نیترات با تغییر در میزان نیترات پتاسیم (KNO_3) و نیترات آمونیوم (NH_4NO_3) در محیط کشت MS بصورت زیر صورت گرفت:

در نسبت ۲:۱، غلظت نیترات آمونیوم ۲۰/۶۰ میلی مولار و نیترات پتاسیم ۱۸/۷۹ میلی مولار در نظر گرفته شد و در نسبت ۴:۱، میزان نیترات آمونیوم، ۱۰/۳۰ میلی مولار و نیترات پتاسیم، ۲۸/۱۸ میلی مولار و در نسبت ۶:۱ میزان نیترات آمونیوم و نیترات پتاسیم به ترتیب برابر با ۶/۸۷ و ۳۱/۳۱ میلی مولار بود.

محیط کشت‌ها در لوله های آزمایش به میزان ۱۳ میلی‌لیتر توزیع گردیده و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد اتوکلاو گردیدند. پس از کشت ریزنمونه‌ها در لوله های آزمایش، ریزنمونه‌ها به شرایط نوری ۱۶ ساعت روشنایی (۳۰۰۰-۲۵۰۰ لوکس) در دمای ۱±۲۵ درجه سانتی گراد منتقل شده و در فاصله زمانی هر ۴ هفته واکشت انجام شد. در پایان هر واکشت عکس العمل ریزنمونه ها (تعداد و طول شاخه های باززایی شده، تعداد گره، فاصله میانگره و درصد شیشه ای شدن) مورد ارزیابی قرار گرفت. برای ریشه زایی شاخه های تکثیر شده از محیط کشت MS حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر NAA استفاده شد و در نهایت گیاهان ریشه‌دار شده به گلدان های حاوی مخلوطی از ماسه، پیت و خاک باغچه با نسبت حجمی ۱:۱:۱ منتقل شدند و مراحل سازگاری در شرایط محیطی ۲±۲۳ درجه سانتی گراد، ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی با میزان موفقیت ۹۰٪ صورت گرفت و سپس گیاهان سازگار شده به شرایط گلخانه انتقال یافتند. این بررسی به صورت آزمایش فاکتوریل با دو فاکتور غلظت آگار (چهار سطح) و نسبت آمونیوم به نیترات (سه سطح) در قالب طرح کاملا تصادفی با ۱۰ تکرار و آزمون مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد. نرمال سازی داده‌های درصدی آزمایش (درصد شیشه‌ای شدن) با استفاده از تبدیل زاویه‌ای [ArcSin √ (X/100)] صورت گرفت.

Archive of SID

www.SID.ir

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس حاصل از این آزمایش نشان داد که اثر غلظت های مختلف آگار بر تمامی صفات مورد ارزیابی در سطح ۱٪ معنی دار بود. اثر نسبت آمونیوم به نیترات نیز تنها بر تعداد شاخه باززایی شده و ارتفاع شاخساره تکثیر شده معنی دار بوده است ($p \leq ۰/۰۱$). همچنین اثرات متقابل آنها بر صفات مورد ارزیابی معنی دار نبود.

اثر غلظت آگار بر کشت درون شیشه ای میخک: نتایج آزمایش نشان داد که با افزایش غلظت آگار تا سطح ۱۰ گرم در لیتر، تعداد جوانه های باززایی شده به میزان ۴۰ درصد افزایش یافت و پس از آن روند کاهشی از خود نشان داد. بیشترین و کمترین تعداد جوانه باززایی شده به ترتیب در غلظت های ۱۰ و ۱۲ گرم در لیتر آگار با میانگین ۱/۸۷ و ۱/۱۳ مشاهده شد. همچنین مقایسه میانگین داده‌های آزمایش نشان داد که بیشترین و کمترین ارتفاع گیاهچه به ترتیب در غلظت ۸ و ۱۲ گرم در لیتر آگار با میانگین ۱/۵ و ۰/۹۴ سانتی متر مشاهده شد. با افزایش غلظت آگار از ۸ به ۱۲ گرم در لیتر ارتفاع گیاهچه باززایی شده ۳۷ درصد کاهش یافت. بین محیط کشت مایع (فاقد آگار) و محیط کشت جامد با غلظت ۸ گرم در لیتر آگار اختلاف معنی داری مشاهده نشد. همچنین نتایج پژوهش حاضر نشان داد که با افزایش غلظت آگار تا ۱۲ گرم در لیتر، پدیده شیشه ای شدن ۷۰ درصد کاهش یافت. بیشترین میزان پدیده شیشه ای شدن در محیط کشت مایع (۵۱/۲ درصد) و کمترین میزان آن در محیط کشت حاوی ۱۲ گرم در لیتر آگار (۱۵ درصد) مشاهده شد. بررسی غلظت‌های مختلف آگار نیز نشان داد که افزایش غلظت آگار تاثیر معنی داری بر فاصله میانگره داشت، بطوریکه با افزایش غلظت آگار فاصله میانگره کاهش یافت (جدول ۱).

بررسی تحقیقات سایر محققان نشان می دهد که افزایش غلظت آگار باعث کاهش پتانسیل اسمزی محیط کشت می شود و در نتیجه پدیده شیشه ای شدن نیز کاهش می یابد. اما در عین حال تاثیر نامطلوبی بر جذب عناصر غذایی و هورمون ها در محیط کشت داشته و باعث کاهش رشد گیاهچه ها نیز می گردد (۵). نتایج پژوهش هاکارت و ورسلویجز (۹) نشان داد که افزایش غلظت آگار از ۶ به ۱۲ گرم در لیتر باعث کاهش پدیده شیشه ای شدن در گیاه میخک شد ولی در عین حال ارتفاع گیاهچه های باززایی شده را نیز کاهش داد. بنابراین برای حصول گیاهچه های سالم و همچنین تعدیل اثرات نامطلوب غلظت بالای آگار بر صفات رویشی گیاهچه، غلظت ۸ تا ۱۰ گرم در لیتر آگار را توصیه کردند. لاپنا و همکاران (۱۳) گزارش کردند که بیشترین درصد باززایی در محیط کشت حاوی ۷ گرم در لیتر آگار بدست آمد و با افزایش غلظت آگار تا ۱۲ گرم در لیتر میزان باززایی گیاهچه ها و همچنین پدیده شیشه ای شدن نیز کاهش یافت. یاداو و همکاران (۱۷) در پژوهشی اثر غلظت های مختلف آگار را بر ریزنمونه‌های گره ۳ رقم میخک بررسی کردند. نتایج پژوهش آنها نشان داد که رقم تاثیر معنی داری بر میزان پدیده شیشه ای شدن دارد، بطوریکه در رقم White Sim، با کاهش غلظت آگار به ۶ گرم در لیتر، پدیده شیشه ای شدن رخ نداد. درصورتی که در سایر ارقام میزان این پدیده قابل توجه بود.

اثر نسبت آمونیوم به نیترات بر کشت درون شیشه ای میخک: مقایسه میانگین داده های آزمایش نشان داد که بیشترین تعداد جوانه رشد یافته (۲/۱۵) در نسبت ۶:۱ آمونیوم به نیترات و کمترین میزان آن (۱/۲) در نسبت ۲:۱ آمونیوم به نیترات بدست آمد. بین تیمارهای ۲:۱ و ۴:۱ از نظر میزان باززایی اختلاف معنی داری مشاهده نشد. همچنین با کاهش نسبت آمونیوم به نیترات از ۲:۱ به ۶:۱، ارتفاع گیاهچه های باززایی شده ۳۵درصد افزایش یافت. بین نسبت های مختلف آمونیوم به نیترات اختلاف معنی داری از نظر میزان پدیده شیشه ای شدن مشاهده نشد، با این حال با کاهش نسبت آمونیوم به نیترات روند کاهشی در میزان پدیده شیشه ای شدن مشاهده شد، بطوریکه با کاهش این نسبت از ۲:۱ به ۶:۱، درصد گیاهچه های شیشه ای شده از ۳۵ درصد به ۲۲/۵ درصد کاهش یافت. بررسی نسبت های مختلف آمونیوم به نیترات نیز نشان داد که کاهش این نسبت تاثیر معنی داری بر فاصله میانگره نداشت و با کاهش نسبت آمونیوم به نیترات از ۲:۱ به ۶:۱ فاصله میانگره تنها ۱۱ درصد روند افزایشی از خود نشان داد (جدول ۲).

جدول ۱- اثر غلظت آگار بر برخی از پارامترهای رشدی میخک رقم Mondeo Kgr

غلظت آگار (گرم در لیتر)	تعداد شاخه باززایی شده	ارتفاع شاخساره تکثیر شده (سانتی متر)	شیشه ای شدن (درصد)	فاصله میانگره (سانتی متر)
۰	۱/۳۳±۰/۲۱*ab	۱/۴۷±۰/۱۳a	۵۱/۶۷±۷/۱۰ a	۰/۳۸±۰/۰۳ a
۸	۱/۷۳±۰/۲۷ a	۱/۵±۰/۱۱ a	۳۰±۵/۵۶ ab	۰/۳۱±۰/۰۳ ab
۱۰	۱/۸۷±۰/۲۴ a	۱/۲۷±۰/۱۰ ab	۲۱/۶۷±۳/۱۳ b	۰/۲۵±۰/۰۲ bc
۱۲	۱/۱۳±۰/۲۲ b	۰/۹۴±۰/۰۸ b	۱۵±۲/۰۸ b	۰/۱۸±۰/۰۲ c

میانگین های دارای حروف مشابه در هر ستون بر اساس آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی داری ندارند.

* : میانگین ± انحراف معیار

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۲- اثر نسبت آمونیوم به نیترات بر برخی پارامترهای رشدی میخک رقم Mondeo Kgr

نسبت آمونیوم به نیترات	تعداد شاخه باززایی شده	ارتفاع شاخساره تکثیر شده (سانتی متر)	شیشه ای شدن (درصد)	فاصله میانگره (سانتی متر)
۱:۲	۱/۲۰±۰/۱۷*b	۱/۱۱±۰/۰۹ b	۳۵/۰±۵/۸۵ a	۰/۲۶±۰/۰۲ a
۱:۴	۱/۲۰±۰/۱۹ b	۱/۲۸±۰/۱۱ ab	۳۱/۲۵±۴/۴۰ a	۰/۲۸±۰/۰۳ a
۱:۶	۲/۱۵±۰/۲۰ a	۱/۴۹±۰/۱۰ a	۲۲/۵±۳/۱۰ a	۰/۲۹±۰/۰۳ a

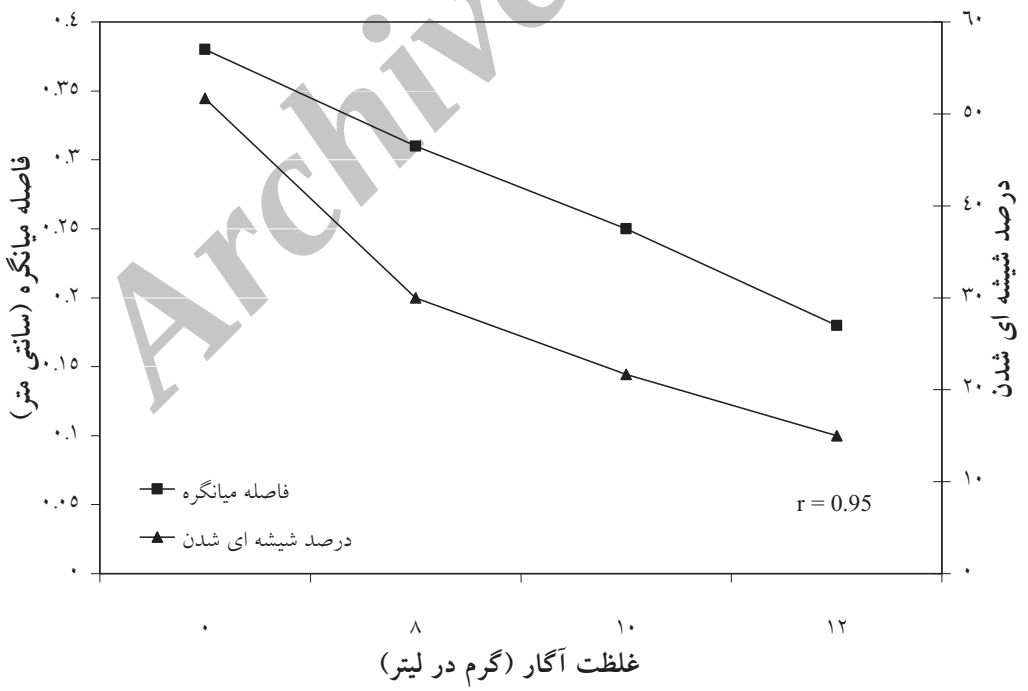
میانگین های دارای حروف مشابه در هر ستون بر اساس آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی داری ندارند.

* : میانگین ± انحراف معیار

تیسی (۱۶) نسبت ۱:۱ و ۲:۱ آمونیوم به نیترات را جهت کشت ریزنمونه های نوک شاخساره میخک پیشنهاد کرد. لاپنا و همکاران (۱۳) گزارش کردند که با کاهش نسبت آمونیوم به نیترات در محیط کشت، نه تنها درصد باززایی افزایش می یابد، بلکه میزان پدیده شیشه ای شدن نیز کاهش می یابد. زیو و آریل (۱۸) تاثیر نسبت های مختلف آمونیوم به نیترات را در محیط کشت جامد و مایع بر ریزنمونه‌های نوک شاخساره میخک بررسی کردند. نتایج پژوهش آنها نشان داد که تاثیر کاهش نسبت آمونیوم به نیترات بر میزان پدیده شیشه ای شدن در محیط کشت مایع در مقایسه با محیط کشت جامد بیشتر است. بطوریکه کاهش نسبت آمونیوم به نیترات از ۲:۱ به ۷:۱ در محیط کشت جامد تنها ۲۲درصد بر میزان پدیده شیشه ای شدن تاثیر داشت، درصورتیکه در محیط کشت مایع به میزان ۲۷درصد بر میزان این پدیده تاثیرگذار بود.

اثر غلظت آگار و نسبت آمونیوم به نیترات بر روابط همبستگی بین صفات مورد ارزیابی

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که همبستگی بین فاصله میانگره و درصد شیشه ای شدن در این دو تیمار متفاوت است، بطوریکه در تیمارهای حاوی نسبت های متفاوت آمونیوم به نیترات، با افزایش این نسبت درصد شیشه ای شدن و فاصله میانگره کاهش یافت و همبستگی منفی (r=-0.88) بین آنها مشاهده شد. درصورتیکه در تیمار حاوی غلظت های مختلف آگار میزان این همبستگی مثبت (r=0.95) بود، بطوریکه در مقادیر بالای شیشه ای شدن که ناشی از کاربرد کمتر آگار در محیط کشت می باشد، فاصله میانگره ها نیز بیشتر بود. لذا در این مورد میزان شیشه ای شدن با فاصله میانگره همبستگی مثبتی نشان داد (شکل ۱ و ۲).



شکل ۱- تاثیر غلظت آگار بر روابط همبستگی بین فاصله میانگره و درصد شیشه ای شدن

Archive of SID

www.SID.ir

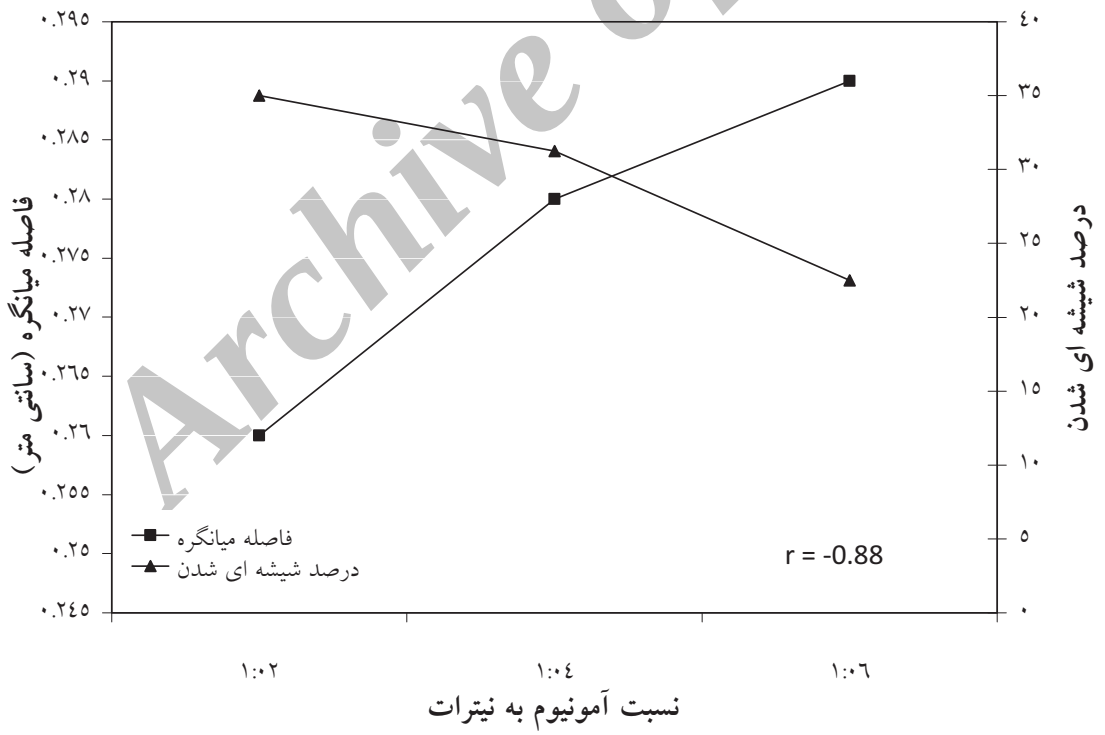
بررسی روابط همبستگی بین پارامترهای مورد ارزیابی نشان داد که کاهش نسبت آمونیوم به نیترات باعث بهبود رشد و افزایش فاصله میانگره شده و میزان پدیده شیشه ای شدن را کاهش داد. درصورتی که افزایش غلظت آگار باعث کاهش فاصله میانگره شد (شکل ۱ و ۲). می توان چنین استدلال کرد که افزایش بیش از حد غلظت آگار به عنوان یک عامل تنش زا، باعث کاهش پتانسیل اسمزی محیط کشت می شود و تاثیر نامطلوبی بر جذب عناصر غذایی و هورمون ها در محیط کشت داشته و درنتیجه باعث کاهش رشد گیاهچه ها و کاهش فاصله میانگره نیز می گردد (۱۲). کافی و همکاران (۱) نیز گزارش کردند که در شرایط تنش خشکی ارتفاع گیاه و طول میانگره کاهش می یابد.

به‌منظور تحلیل عمیق‌تر رابطهٔ بین فاصله میانگره و میزان شیشه‌ای شدن به عنوان متغیرهای تابع (Y) و تیمارهای مؤثر بر آن (متغیرهای مستقل، X) از تکنیک رگرسیون چندمتغیره استفاده شد. به این منظور، ابتدا متغیرهای تحت بررسی شامل نسبت آمونیوم به نیترات (X_1)، غلظت آگار (X_2) در مدل رگرسیون قرار گرفت. سپس رابطهٔ بین فاصله میانگره (Y_1) و میزان شیشه ای شدن (Y_2) و متغیرهای تحت بررسی (X_1 و X_2) برآورد گردید. ضرایب تبیین این مدل برای Y_1 و Y_2 به ترتیب ۰/۹۱ و ۰/۷۰ محاسبه شد.

$Y_1 = (0.44\ X_1) + (-0.04\ X_2) + 0.7 \quad R^2 = 0.91$

$Y_2 = (-0.10\ X_1) + (-0.015\ X_2) + 42 \quad R^2 = 0.70$

ضرایب معادلات بالا، تأثیر نسبی تغییرات هر یک از متغیرهای موجود در مدل را بر میزان شیشه ای شدن، تعداد گره و فاصله میانگره نشان می‌دهد. برای مثال، طبق ضرایب این معادله، تغییر میزان شیشه ای شدن به ازای هر واحد تغییر نسبت آمونیوم به نیترات، ۰/۴۴ واحد بوده در حالی‌که این تغییر به ازای هر واحد افزایش یا کاهش غلظت آگار، ۰/۰۴ خواهد بود. به بیان دیگر، سهم نسبی نسبت آمونیوم به نیترات در مقایسه با غلظت آگار در ارتباط با میزان شیشه ای شدن ۱۱ برابر می‌باشد. البته باید جهت تفسیر بهتر این نتایج، به واحد اندازه‌گیری هر متغیر نیز توجه داشت. در مدل فوق، این امکان فراهم شد تا بر اساس میزان افزایش یا کاهش تیمارهای مورد استفاده، پاسخ ریزنمونه های میخک را نسبت به انها به صورت کمی ارزیابی نمود.



شکل ۲- تاثیر نسبت آمونیوم به نیترات بر روابط همبستگی بین فاصله میانگره و درصد شیشه ای شدن

Archive of SID

www.SID.ir

نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج این پژوهش و همچنین گزارش های سایر محققان می توان بیان نمود که نسبت آمونیوم به نیترات و غلظت آگار از عوامل موثر در ریزازدیادی میخک می باشد. در این آزمایش کاهش نسبت آمونیوم به نیترات در محیط کشت، باعث کاهش میزان پدیده شیشه ای شدن و افزایش پرآوری شد و بهترین نسبت آمونیوم به نیترات، نسبت ۱ به ۶ بود.

همچنین افزایش غلظت آگار سبب کاهش میزان شیشه ای شدن گیاهچه های تکثیر شده گردید ولی درعین حال میزان پرآوری شاخه‌ها را نیز کاهش داد. گیاهچه های شیشه ای شده به علت رشد غیر طبیعی، درصد زنده مانی کمی دارند و طی مراحل سازگاری از بین می روند. لذا در مراحل پرآوری میخک توجه به میزان شاخه تکثیر شده و درصد شیشه ای شدن آنها اهمیت زیادی دارد. بنابراین با درنظر گرفتن میزان شاخه زایی و میزان شیشه ای شدن آنها، برای بدست آوردن بیشترین شاخه طبیعی، غلظت ۱۰ گرم در لیتر آگار همراه با نسبت ۶:۱ آمونیوم به نیترات برای رقمMondeo Kgr میخک توصیه می شود.

منابع

۱- کافی م.، برزوئی ا.، صالحی م.، کمندی ع. و نباتی ج. ۱۳۸۸. فیزیولوژی تنش های محیطی در گیاهان. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد. چاپ اول. ص ۲۷.

2- Ali A., Afrasiab H., Naz S., Rauf M., and Iqhbal J. 2008. An efficient protocol for *in vitro* propagation of carnation (*Dianthus caryophyllus* L.), Pakistan Journal of Botany, 40: 111-121.

3- Altvorst A.G., Koehorst H.J.J., Bruinsma T., Jansen J., Custers J.B.M., Jong J., and Dons J.J.M. 1992. Adventitious shoot formation from *in vitro* leaf explants of carnation (*Dianthus caryophyllus* L.). Scientia Horticulturae, 51: 223-235.

4- Brar M.S., Al-khayri M., and Klingaman G.L. 1995. Effect of thidiazuron and benzylaminopurine on *in vitro* shoot proliferation of carnation (*Dianthus caryophyllus* L.). Proceeding Arkansas Academy of Science, 49: 30-33.

5- Bornman C.H., and Vogelman T.C. 1984. Effect of rigidity of gel medium on benzyladenine-induced adventitious bud formationand vitrification *in vitro* in *Picea abies*. Physiologia Plantarum, 61:505-512.

6- Curir P., Damiano C., and Cosmi T. 1986. In vitro propagation of some rose cultivars. Acta Horticulture, 189: 221-224.

7- Davies D.R. 1980. Rapid propagation of rose. Scientia Horticulturae, 13: 385-389.

8- Evers P.W., Donkers J., Prat A., and Vermeer E. 1988. Micropropagation of forest trees through tissue culture. Evers P.W., Donkers J., Prat A., Vermeer E. (eds). Pudoc, Wageningen.

9- Hakkaart F.A., and Versluijs J.M.A. 1983. Some factors affecting glassiness in carnation meristem tip cultures. Netherlands Journal of Plant Pathology, 89:47-53.

10- Hazarika B.N., and Bora A. 2010. Hyperhydricity – a Bottleneck to Micropropagation of Plants. Acta Horticulture, 865: 95-102.

11- Kanwar J.K., and Kumar S. 2009. Influence of growth regulators and explants on shoot regeneration in carnation. Horticultural Science, 36: 140-146.

12- Karami O. 2008. Induction of embryogenic callus and plant regeneration in carnation (*Dianthus caryophyllus* L.). Online Journal of Biological Science, 8(4): 68-72.

13- Lapena L., Perez-Bermudez P., and Segura J. 1992. Factors affecting shoot proliferation and vitrification in *Digitalis obscura* cultures. In Vitro Cellular and Developmental Biology, 28:121-124.

14- Miller R.M., Kaul V., and Richards D. 1991. Adventitious shoot regeneration in carnation (*Dianthus caryophyllus* L.) from axillary bud explants. Annals of Botany, 67: 35-42.

15- Onamu R., Obukosia S.D., Musembi N., and Hutchinson M.J. 2003. Efficacy of thidiazuron in *in vitro* propagation of carnation shoot tips: influence of dose and duration of exposure. African Crop Science Journal, 11(2): 125-132.

16- Tsay H. 1998. Effect of medium composition at different recultures on vitrification of carnation (*Dianthus caryophyllus* L.) *in vitro* shoot proliferation. Acta Horticulture, 461: 243-249.

17- Yadav M.K., Gaur A.K., and Garg G.K. 2003. Development of suitable protocol to overcome hyperhydricity in carnation during micropropagation. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 72: 153-156.

18- Ziv M., and Ariel T. 1992. On the relation between vitrification and stomatal cell wall deformity in carnation leaves *in vitro*. Acta Horticulture, 314: 121-129.

Archive of SID

www.SID.ir