Archive of SID

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 14:56 IRST on Saturday October 3rd 2020

کنترل ارزیابی تحمل به تنش اسمزی با استفاده از اسید فولیک در کشت درون شیشه‌ای کنتاکی بلوگرس (*Poa pratensis* cv. Barimpala)

فهیمه سادات سجادی، مینا تقی‌زاده* و بابک ولی‌زاده کاجی
گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه اراک، اراک
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۰/۱۰، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۸/۰۲/۲۸)

چکیده

با توجه به نیاز آبی زیاد چمن در مراحل رشد و محدودیت منابع آبیاری، یافتن راه‌کاری مناسب برای کاهش نیاز آبی چمن‌ها به‌عنوان گیاهان پوششی مورد استفاده در فضای سبز از اهمیت بالایی برخوردار است. هدف این مطالعه، بررسی تأثیر 2,4,5-T بر القای پینه از ریزنمونه هیپوکتیل، القای تنش خشکی درون شیشه‌ای با استفاده از پلی‌اتیلن گلیکول و ارزیابی تحمل به تنش با کاربرد اسید فولیک در شرایط درون شیشه‌ای در چمن کنتاکی بلوگرس بود. این پژوهش در قالب چهار آزمایش طراحی شد. درآزمایش اول تأثیر 2,4,5-T در غلظت‌های ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌گرم در لیتر در ترکیب با دو غلظت صفر و ۰/۱ میلی‌گرم در لیترBA بر القای کالوی از ریزنمونه هیپوکتیل بررسی شد. در آزمایش دوم جهت القای تنش اسمزی در پینه‌ها از غلظت‌های صفر، ۰/۰۰۵-، ۰/۰۰۷-، ۰/۰۱۰-، ۰/۰۱۶- و ۰/۰۲- بار PEG استفاده شد. در آزمایش سوم و چهارم، اسید فولیک با هدف مهار تنش خشکی حاصل از PEG در دو مرحله پینه و گیاهان باززا شده از پینه مورد بررسی قرار گرفت. نتایج آزمایش اول نشان داد که در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر 2,4,5-T به‌تنهایی بیشترین درصد پینه‌زایی مشاهده شد. براساس نتایج آزمایش دوم مشخص شد که افزایش غلظت PEG سبب کاهش شاخص‌های رشدی در پینه شد به‌طوریکه در غلظت ۰/۰۱۶- و ۰/۰۲۲- بار کم‌ترین میزان صفات اندازه‌گیری شده پینه مشاهده شد. نتایج آزمایش سوم نشان داد که استفاده از اسید فولیک در محیط‌کشت MS، در غلظت‌های ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم در لیتر سبب کاهش ویژگی‌های رشدی پینه و افزایش میزان قند محلول شد. در آزمایش چهارم کاهش صفات اندازه‌گیری شده گیاهان باززایی‌شده در ۰/۰۲۲- بار PEG را مشاهده شد. بیشترین میزان قند محلول گیاهان باززایی شده در تیمار ۱ میلی‌گرم در لیتر فولیک اسید در در شرایط عدم‌وجود PEG مشاهده شد. در آزمایش سوم و چهارم اسید فولیک بر کنترل تنش اسمزی اثری نداشت.

واژه‌های کلیدی: باززایی، پلی اتیلن گلیکول، پینه، تنش، قند محلول، کلروفیل

مقدمه

کنتاکی بلوگرس (*Poa pratensis* L.) از خانواده پوآسه، یکی از اجزای مهم تشکیل‌دهنده بذور چمن‌های مخلوط و مناسب سایه و خاک‌های سبک است. چون قدرت پاخوری آن خوب است مناسب زمین‌های ورزشی، تفریحی، پارک و کلیه چمن‌زارهایی است که بدون محافظت خاص نگهداری می‌شوند. از خصوصیات خوب دیگر آن مقاومت به سرزنی مکرر است (قاسمی قهساره و کافی، ۱۳۹۱).

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: m-taghizadeh@araku.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 14:56 IRST on Saturday October 3rd 2020

تنش‌های گیاهی شامل تنش‌های زیستی (آفات و بیماری‌ها) و تنش‌های غیرزیستی (گرما، سرما، شوری، غرقابی، فلزات سنگین، کمبود اکسیژن، خشکی) است (Zhu, 2002). خشک‌سالی و تنش ناشی از آن مهم‌ترین و رایج‌ترین تنش محیطی در جهان و به‌ویژه در ایران به‌عنوان کشوری خشک و نیمه‌خشک است که هر ساله خسارت‌های زیادی به گیاهان وارد کرده و منجر به کاهش رشد و عملکرد گیاهان می‌گردد (Sinaki, 2007). شبیه‌سازی تنش خشکی در شرایط درون شیشه‌ای طی فرآیندهای باززایی راه‌کار مناسبی برای مطالعه تأثیرات خشکی بر پاسخ‌های موفوژنیک است (Sakthivelu *et al.*, 2008). یکی از رایج‌ترین رویکردها برای القای تنش خشکی در شرایط درون شیشه‌ای به‌کار بردن عوامل اسمزی با وزن مولکولی بالا مانند پلی‌اتیلن گلیکول (PEG) به‌عنوان ماده‌ای غیرنافذ و غیرسمی است (Wani *et al.*, 2010). در پژوهشی Tsago و همکاران (۲۰۱۳) برای شبیه‌سازی تنش خشکی در کشت درون شیشه‌ای گیاه سورگوم از پلیمر غیرسمی و محلول در آب PEG در پنج سطح صفر، ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ درصد استفاده نمودند. بررسی‌های Wani و همکاران (۲۰۱۰) در کشت درون شیشه‌ای دو رقم PAY 201 و PR 116 برنج تحت تنش خشکی القاشده با ماده PEG در غلظت‌های صفر، ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ درصد، دریافتند که توانایی القای پینه و باززایی گیاه با افزایش سطح تنش کاهش می‌یابد. در کشت‌بافت ارقام سویا ایجاد تنش خشکی با PEG در دو سطح چهار و شش درصد کاهش رشد پینه، افزایش ماده خشک و کاهش شاخساره‌زایی را در پی داشت (Sakthivelu *et al.*, 2008).

با توجه به ملاحظات زیست‌محیطی، به‌تازگی استفاده از انواع اسیدهای آلی برای بهبود کمی وکیفی محصولات زراعی و باغی رواج یافته است. از جمله اسیدهای آلی می‌توان به ترکیبات هوموسی مواد آلی اشاره کرد که دارای دو نوع اسید آلی مهم به نام‌های اسید هیومیک و اسید فولیک هستند و جز هیومین هستند و از منابع مختلف نظیر خاک، هوموس، لیگنیت اکسیدشده، ذغال سنگ و غیره استخراج می‌شوند و اندازه مولکولی و ساختار شیمیایی متفاوت دارند (Sebahattin and Nacdet, 2005). مواد هیومیک مستقیم و غیرمستقیم بر رشد گیاه تأثیر می‌گذارد. تأثیرات غیرمستقیم ترکیبات هیومیک شامل بالابردن جمعیت میکروبی خاک به‌ویژه میکروارگانیسم‌های مفید، بهبود ساختار خاک و افزایش ظرفیت تبادل کاتیون و ظرفیت بافری pH خاک است. به‌طور مستقیم، ترکیبات هوموس ممکن است تأثیرات بیوشیمیایی متفاوتی در سطح دیواره و غشای سلول یا در سیتوپلاسم شامل بهبود فتوسنتز و سرعت تنفس در گیاهان، سنتز بهتر پروتئین و فعالیت شبه هورمون گیاهی داشته باشند (Chen and Aviad, 1990). نقش اسید هیومیک در کشت‌بافت گیاهان به‌عنوان تنظیم‌کننده رشد گیاه بررسی شده است و نشان داده شده است که نقش حیاتی به‌عنوان هورمون رشد برای ازدیاد درون شیشه‌ای گیاهان ایفا می‌نماید (Dhanapal and Sathish Sekar, 2013).

با توجه به اینکه خشکی یک مشکل جهانی بوده و تغییرات اخیر اقلیمی جهان جدیت این شرایط را افزایش داده است و با توجه به اینکه درحال حاضر ایران و سایر کشورها با مسئله کم آبی مواجه‌اند و چمن‌ها نیز از دسته گیاهانی هستند که در مراحل رشدی خود نیاز آبی بالایی دارند، یافتن راهکاری مناسب برای کاهش نیاز آبی چمن‌ها به‌عنوان گیاهان پوششی مورد استفاده در فضای سبز از اهمیت زیادی برخوردار است. با توجه به مزایای کشت درون شیشه‌ای، این تکنیک به‌عنوان ابزاری کارآمد برای چگونگی پاسخ چمن کنتاکی بلوگرس به تنش خشکی و امکان افزایش تحمل به خشکی با استفاده از ترکیبات آلی در این مطالعه مدنظر قرار خواهد گرفت. به‌طور کلی آزمایش‌هایی که در این مطالعه صورت گرفت با هدف بررسی تأثیر تنظیم‌کننده شبه‌اکسینی 2,4,5-T بر القای پینه از ریزنمونه‌های هیپوکتیلی کنتاکی بلوگرس، ایجاد تنش اسمزی درون شیشه‌ای با کاربرد ماده پلی‌اتیلن گلیکول و ارزیابی تأثیر اسید فولیک در شرایط تنش اسمزی درون شیشه‌ای در مرحله پینه و باززایی بود.

مواد و روش‌ها

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 14:56 IRST on Saturday October 3rd 2020

مواد گیاهی: این پژوهش در آزمایشگاه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه اراک در سال‌های ۱۳۹۴-۱۳۹۶ انجام گرفت. بذور چمن کنتاکی بلوگرس رقم "Barimpala" (*Poa pratensis* cv. Barimpala) مورد استفاده در این پژوهش از شرکت ایران بذر مشهد، پلی‌اتیلن گلایکول با وزن مولکولی ۶۰۰۰، اسید فولیک با وزن مولوکی ۴۴۲/۴ گرم بر مول و 2,4,5,T با وزن مولکولی ۲۶۹/۵۰۲ گرم بر مول از شرکت سیگما تهیه گردید.

گندزدایی و شرایط محیطی (شرایط کشت): به‌منظور ضدعفونی بذور گونه چمن کنتاکی بلوگرس رقم "Barimpala" (*Poa pratensis* cv. Barimpala) ابتدا بذرها در الکل ۷۰ درصد به‌مدت دو دقیقه و سپس وایتکس تجاری (هیپوکلریت سدیم) دارای ۵ درصد ماده فعال به‌مدت ۱۵ دقیقه غوطه‌ور شده و در ادامه سه بار با آب‌مقطر استریل شستشو شدند (تقی‌زاده، ۱۳۹۰). بذور مورد نظر بر روی محیط‌کشت جوانه‌زنی (محیط‌کشت جامد دارای هفت گرم در لیتر آگار و بدون هورمون و ساکارز) برای جوانه‌زنی قرار گرفتند. ۱۴ روز پس از جوانه‌زنی بذر، هیپوکتیل‌ها جدا شده و در محیط‌کشت MS پایه شامل ساکارز و آگار به‌همراه غلظت‌های مختلف تنظیم‌کننده رشدی، کشت شدند. ریزنمونه‌های کشت‌شده در ادامه به‌منظور ادامه رشد در ژرمیناتور با شرایط تاریکی مطلق، دمای ۱±۲۴ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۴۰ درصد به‌مدت ۱۵ روز قرار داده شدند.

آزمایش اول: القای پینه از ریزنمونه هیپوکتیل چمن کنتاکی بلوگرس در شرایط کشت درون شیشه‌ای: به‌منظور بررسی تأثیر تنظیم‌کننده 2,4,5-T (2.4.5-trichlorophenoxyacetic acid) بر القای و انگیزش پینه از ریزنمونه هیپوکتیل کنتاکی بلوگرس از غلظت‌های ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌گرم در لیتر این تنظیم‌کننده به‌تنهایی و یا در ترکیب با دو سطح مختلف BA (صفر و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر) استفاده گردید. سپس صفاتی مانند درصد القای پینه، قطر (توسط خط‌کش فلزی استاندارد) و رشد ظاهری پینه مورد ازریابی قرار گرفتند.

محاسبه درصد القای پینه (Alonso-Herrada *et al.*, 2016):

$$CI = \frac{n}{N} \times 100 \qquad (۱)$$

که در این فرمول N، n و CI به‌ترتیب بیان‌گر تعداد کل ریزنمونه کشت‌شده، تعداد ریزنمونه‌ای که پینه تشکیل داده و درصد القای پینه است.

آزمایش دوم: بررسی میزان تحمل پینه چمن کنتاکی بلوگرس به تنش اسمزی ایجادشده توسط PEG: میزان تحمل به تنش اسمزی پینه‌های انگیزش‌یافته از حاصل از آزمایش قبل بررسی شد. بدین منظور جهت القای تنش اسمزی در شرایط درون شیشه‌ای از ماده PEG در غلظت‌های صفر، ۰/۰۰۵-، ۰/۰۰۷-، ۰/۰۱۰-، ۰/۰۱۶- و ۰/۰۲۲- بار استفاده شد و صفاتی مانند قطر (با استفاده از خط‌کش فلزی استاندارد) و وزن پینه (توسط ترازوی دیجیتال)، میزان رشد ظاهری پینه، میزان رشد نسبی، شاخص تحمل و نشت یونی پینه‌ها پس از گذشت ۳۰ روز از اعمال تنش اسمزی ارزیابی شدند.

آزمایش سوم: کاربرد اسید فولیک در شرایط تنش اسمزی بر پینه چمن کنتاکی بلوگرس: در این آزمایش اثر اسید فولیک بر افزایش تحمل به تنش اسمزی در پینه‌های استفاده شده در آزمایش قبل بررسی شد که به‌این منظور غلظت‌های صفر، ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌گرم در لیتر اسید فولیک و سه غلظت صفر، ۰/۰۲۲- و ۰/۰۲۸- بار PEG مورد استفاده قرار گرفتند. سپس، صفات وزن تر و خشک پینه‌ها، قطر پینه، میزان رشد ظاهری پینه، میزان رشد نسبی، شاخص تحمل، نشت یونی و میزان قند محلول پینه از روش فنل- اسید سولفوریک (جمالی، ۱۳۹۲) با فرمول‌های زیر محاسبه شدند.

محاسبه میزان رشد نسبی (Lokhande *et al.*, 2010):

$$RGR = \frac{Wi - Wj}{Wj} \times 100 \qquad (۲)$$

که در آن RGR: میزان نسبی رشد پینه (درصد)، Wi: وزن نهایی پینه (گرم) ۳۰ روز پس از اعمال تیمار اسید فولیک و تنش PEG و Wj وزن اولیه پینه (گرم) در زمان انتقال به محیط دارای PEG و اسید فولیک است.

اندازه‌گیری نشت یونی (Wang and Huang, 2004):

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 14:56 IRST on Saturday October 3rd 2020

$$EL = \frac{EC_1}{EC_2} \times 100 \quad (۳)$$

که در آن EC1: هدایت الکتریکی اولیه سلول‌های زنده (میکروموس بر سانتی‌متر)، EC2: هدایت الکتریکی سلول‌های مرده (میکروموس بر سانتی‌متر) و EL نشت یونی است.

شاخص تحمل خشکی براساس سرعت رشد نسبی پینه و از فرمول زیر محاسبه شد: (AL-Khayri and Al-Baharany, 2004):

$$TI = \frac{\text{PGR treatment}}{\text{PGR control}} \quad (٤)$$

که در آن RGR treatment: میزان نسبی رشد پینه در تیمار PEG (درصد) و PGR control میزان رشد نسبی در شاهد است.

آزمایش چهارم: کاربرد اسید فولیک در شرایط تنش اسمزی بر گیاهان باززایی‌شده چمن کنتاکی بلوگرس: در این بخش از آزمایش غلظت‌های صفر و ۱ میلی‌گرم در لیتر اسید فولیک و صفر و ٤ درصد PEG (براساس نتایج آزمایش‌های قبلی) با هدف بررسی تأثیر اسید فولیک بر افزایش تحمل به تنش اسمزی ایجادشده توسط PEG در گیاهان باززایی‌شده از پینه کنتاکی بلوگرس، مورد استفاده قرار گرفت. بدین منظور پینه‌ها جهت باززایی به محیط‌کشت MS دارای ۱ میلی‌گرم در لیتر BA انتقال داده شدند. پس از گذشت ٤٥ روز برخی صفات موفولوژیکی شامل وزن تر و خشک گیاهچه، تعداد و ارتفاع شاخساره، ریشه و گیاهچه، نسبت طول شاخساره به ریشه و صفات بیوشیمیایی مانند شاخص تحمل، میزان آب نسبی، میزان کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل، کارتنوئید، میزان قند محلول و نشت یونی گیاهان باززایی‌شده اندازه‌گیری و محاسبه گردید. محیط ریشه‌زایی ½ MS و بدون تنظیم‌کننده رشد بود.

محاسبه میزان آب نسبی (Sun and Hong, 2010):

$$RWC = \frac{(FW-DW) \times 100}{FW} \quad (٥)$$

در فرمول بالا FW: وزن تر گیاه، DW: وزن خشک گیاهان باززایی‌شده و RWC میزان آب نسبی است.

برای اندازه‌گیری میزان کلروفیل a، b، کل و کارتنوئید از روش Arnon (۱۹٦۷) استفاده شد. ۰/۰۱گرم برگ تازه با کمک استون ٨٠٪ در عدم‌حضور نور ساییده تا کاملاً سفید شد. سپس حجم آن را با استون ٨٠٪ به ۱۰ میلی‌لیتر رسانده و در دور rpm ۳۰۰۰ سانتریفیوژ شد. سپس میزان کلروفیل با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول‌موج‌های ٦٤٥، ٦٦٣ و ٤٧٠ نانومتر خوانده شد. درنهایت محتوای کلروفیل a، b، کل و کاروتنوئید بر حسب میلی‌گرم در گرم بافت برگ محاسبه گردید (Arnon, 1967).

$$\text{Chlorophyll A} = 12.9\,(A663) - 2.9\,(A645) \quad (٦)$$

$$\text{Chlorophyll B} = 22.9(A645) - 4.68\,(A663) \quad (٧)$$

$$\text{Chlorophyll T} = 20.2\,(A645) + 8.02\,(A663) \quad (٨)$$

کاروتنوئید نیز با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول‌موج ٤٧٠ نانومتر برحسب $mg\ ml^{-1}$ و با فرمول زیر محاسبه شد:

$$Car = \frac{1000(A470) - 1.82(mg\ chl.a) - 85.02(mg\ chl.b)}{198} \quad (٩)$$

آنالیز آماری: آزمایش دوم در قالب طرح کاملاً تصادفی و آزمایش اول، سوم و چهارم به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار و پنج مشاهده در هر تکرار انجام شد. آنالیز داده‌های حاصل از این پژوهش با نرم‌افزار SAS صورت گرفت. آزمون چند دامنه‌ای دانکن (DMRT) برای مقایسه میانگین و تعیین معنی‌دار بودن تفاوت آماری در تیمارها در سطح احتمال پنج درصد استفاده گردید. برای رسم نمودار از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

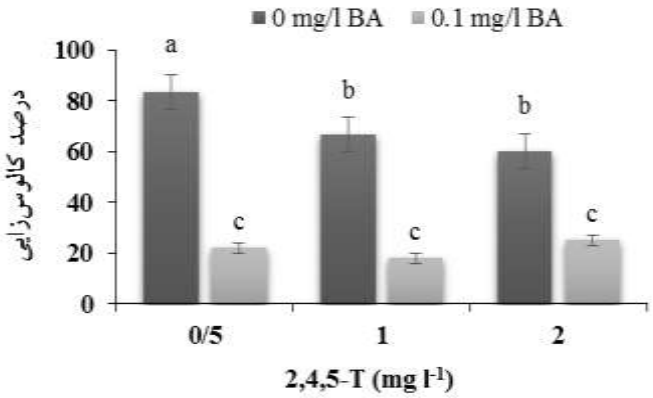
نتایج و بحث

آزمایش اول، القای پینه: همانطور که در شکل ۱ مشاهده می‌گردد، در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر 2,4,5-T و عدم‌حضور BA پینه‌زایی بهتری از نظر درصد پینه‌زایی مشاهده شد. غلظت‌های بیشتر (۲ و ۳ میلی‌گرم در لیتر) سبب کاهش درصد پینه‌زایی شد. همچنین در تمامی تیمارها، حضور BA باعث کاهش درصد پینه‌زایی شد. بیشترین درصد پینه‌زایی (۸۳/۳۳ درصد) در تیمار ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر 2,4,5-T به‌تنهایی و کمترین درصد پینه‌زایی (۱۷/۹۹ درصد) در تیمار ۱ میلی‌گرم بر لیتر 2,4,5-T در ترکیب با ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر BA حاصل شد که تفاوت معنی‌داری با غلظت‌های ۲ و۳ میلی‌گرم در لیتر

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 14:56 IRST on Saturday October 3rd 2020



شکل ۱- اثر متقابل 2,4,5-T و BA بر پینه‌زایی در چمن کنتاکی بلوگرس رقم "Barimpala" (*Poa pratensis* cv. Barimpala). میانگین‌های دارای حروف مشابه، براساس آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری با هم ندارند و حروف غیرمشابه دارای تفاوت معنی‌دار هستند.

در ترکیب با ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر BA نداشت. براساس نتایج این آزمایش بهترین تیمار برای القای پینه تیمار ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر 2,4,5-T شرایط عدم‌حضور BA بود (شکل ۱).

در این آزمایش، قطر و رشد ظاهری پینه تحت تأثیر غلظت‌های 2,4,5-T و BA قرار گرفتند. نتایج نشان داد که حضور تنظیم‌کننده سیتوکنینی BA در غلظت بالای 2,4,5-T (۲ میلی‌گرم در لیتر) سبب بهبود رشد پینه در ریزنمونه‌ها شد. بیشترین قطر بزرگ (۳/۳۷ میلی‌متر)، بیشترین قطر کوچک (۲/۲۷ میلی‌متر) و بیشترین میانگین قطر پینه (۲/۸۲ میلی‌متر) در غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر 2,4,5-T در ترکیب با ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر BA به‌دست آمد. کمترین قطر بزرگ (۱/۵٦ میلی‌متر) و کمترین میانگین قطر پینه (۱/۵۲ میلی‌متر) در تیمار ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر 2,4,5-T در ترکیب با ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر BA و کمترین قطر کوچک (۱/٤٤ میلی‌متر) در ترکیب هورمونی ۱ میلی‌گرم در لیتر 2,4,5-T در ترکیب با ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر BA مشاهده شد (شکل ۲).

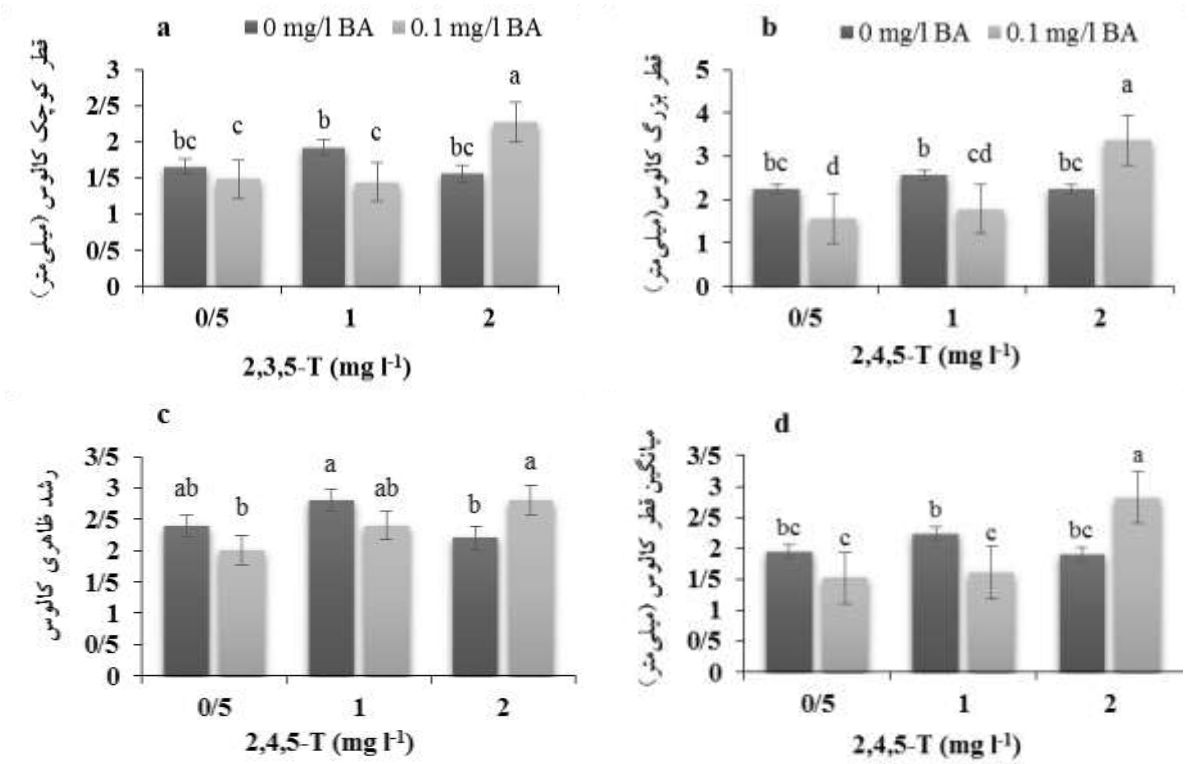
رشد ظاهری پینه نیزتحت تأثیر غلظت‌های 2,4,5-T و BA قرار گرفت. به‌طوریکه در غلظت‌های کمتر و بیشتر از ۱ میلی‌گرم در لیتر 2,4,5-T به‌تنهایی رشد ظاهری کاهش یافت. اما حضور BA در غلظت‌های بالا (۲ میلی‌گرم در لیتر) 2,4,5-T سبب افزایش رشد ظاهری پینه شد. بیشترین رشد ظاهری پینه در دو ترکیب هورمونی ۱ میلی‌گرم در لیتر 2,4,5-T به‌تنهایی و ۲ میلی‌گرم در لیتر 2,4,5-T در حضور BA حاصل شد (شکل ۲).

استفاده از ترکیبات اکسینی به‌منظور القای پینه در گیاهان مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرد و نتایج گزارش‌های پیشین نشان می‌دهد که برای پینه‌زایی موفق، بهتر است از ترکیبات مختلف اکسینی استفاده گردد. اکسین‌ها برای بالابردن توانایی تشکیل پینه شناخته شده‌اند و اغلب جهت انگیزش پینه در کشت‌بافت گیاه استفاده می‌شوند (Zong *et al.*, 2010). بیشتر پژوهش‌های صورت‌گرفته تاکنون بر روی القای پینه از ریزنمونه‌های مختلف چمن مربوط به کاربرد ترکیبات 2,4-D، نفتالین استیک اسید، ایندول بوتیریک اسید، 2,4,5-T و دایکامبا است (Ziauddin and Kasha, 1990). 2,4,5-T به‌میزان بسیار کم در کشت‌بافت گیاهان مورد استفاده قرار گرفته است. اکسین 2,4,5-T مانند 2,4-D در فرآیندهای سلولی مانند تقسیم سلولی، تمایزیابی و طویل‌شدن سلول نقش دارد (Venkov *et al.*, 2000). 2,4,5-T در پینه‌زایی و به‌ویژه در جنین‌زایی در برخی از گیاهان علفی مانند ریزنمونه جوانه جانبی سیب‌زمینی شیرین (*Ipomoea batatas*) (Al-Mazrooei *et al.*, 1997) و رُز (Estabrooks *et al.*, 2007) مؤثر بود که با نتایج این آزمایش مبنی بر انگیزش پینه در چمن کنتاکی بلوگرس تطبیق داشت. در طی پژوهشی بر خرما نیز کاربرد 2,4,5-T منجر به انگیزش پینه در این گیاه شد که با نتایج پژوهش حاضر مبنی بر

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 14:56 IRST on Saturday October 3rd 2020



شکل ۲- اثر متقابل 2,4,5-T و BA بر a: قطر بزرگ، b: قطر کوچک، c: میانگین قطر و d: رشد ظاهری پینه در چمن کنتاکی بلوگرس رقم "Barimpala" (*Poa pratensis* cv. Barimpala). میانگین‌های دارای حروف مشابه، براساس آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری با هم ندارند و حروف غیرمشابه دارای تفاوت معنی‌دار هستند.

اثر تحریکی این نوع اکسین بر پینه‌زایی کنتاکی بلوگرس مطابقت دارد (Aslam and Ahmed Khan, 2007). Pola و Mani (۲۰۰۶) و Pola و همکاران (۲۰۰۷) با بررسی پینه‌زایی شش رقم سورگوم از قطعات برگ دریافتند که بهترین تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی در تولید پینه، 2,4-D و 2,4,5-T هستند. تقی‌زاده (۱۳۹۰) نیز در کشت درون شیشه‌ای برموداگرس رشد پینه و باززایی از پینه را در حضور ۱ میلی‌گرم در لیتر اکسین 2,4,5-T گزارش نمود که با توجه به قرابت چمن برموداگرس با کنتاکی بلوگرس و غلظت‌های مورد استفاده، دلیل تشابهت در نتایج قابل توجیه است. Oswald و همکاران (۱۹۷۷) گزارش کردند که 2,4,5-T در اندام‌زایی، توانایی حفظ و رشد پینه در سویا و شبدر سفید نسبت به 2,4-D مناسب‌تر بود. نتایج بررسی‌های Pola و Mani (۲۰۰۶) نشان داد که حضور 2,4-D یا 2,4,5-T در محیط القای پینه برای انگیزش پینه و تشکیل جنین‌های سوماتیکی از ریزنمونه قطعات برگ در سورگوم ضروری است.

اکسین‌ها همراه با سیتوکینین‌ها به‌طور معمول جهت القای پینه به‌کار برده می‌شوند. به‌دلیل اینکه آنها رشد سلول را به‌وسیله تحریک تقسیم و طویل‌شدن سلولی از طریق عکس‌العمل‌های همسو (Synergism) و اثرات متضاد (Antagonism) تحریک می‌کنند. به‌هرحال غلظت این تنظیم‌کننده‌های رشد باید برای هر گونه گیاهی تعریف شده باشد (Loredo-Carrillo *et al.*, 2013). بهبود میزان باززایی پینه در سطوح کم BA در ترکیب با اکسین در برخی گونه‌های چمن گزارش شده است (Van der Valk *et al.*, 1995). تقی‌زاده (۱۳۹۰) نیز از اکسین 2,4,5-T در کشت درون شیشه‌ای برموداگرس رشد پینه و باززایی از پینه را در حضور غلظت ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر BA را گزارش نمود که با نتایج

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 14:56 IRST on Saturday October 3rd 2020

این آزمایش هم‌خوانی دارد.

آزمایش دوم، بررسی میزان تحمل پینه کنتاکی بلوگرس به تنش اسمزی: نتایج نشان داد افزایش غلظت PEG سبب کاهش در ویژگی‌های رشدی پینه کنتاکی بلوگرس شد. با افزایش غلظت PEG میزان قطر کوچک و وزن تر پینه کاهش یافت. بیشترین اندازه قطر کوچک پینه‌ها (۳/۹٤ میلی‌متر) در شاهد و کمترین اندازه قطر کوچک پینه‌ها در غلظت ۰/۰۱٦- بار (۲/۷۸ میلی‌متر) و ۰/۰۲۲- بار (۲/۸۰ میلی‌متر) درصد مشاهده شد. بیشترین وزن پینه (۱/٤ گرم) در شاهد و کمترین به‌میزان ۰/٦٥ گرم و ۰/٦٦ گرم به‌ترتیب در غلظت‌های ۰/۰۱٦- و ۰/۰۲۲- بار مشاهده شد. دو صفت میانگین قطر پینه و رشد ظاهری پینه تحت تأثیر غلظت‌های مختلف PEG، کاهش قابل توجهی نسبت به شاهد داشت به‌طوریکه در غلظت ۰/۰۲۲- بار PEG کمترین میزان این دو صفت مشاهده شد. بیشترین میزان رشد ظاهری پینه (۳) در شاهد و کمترین میزان (۱/٦٦) در غلظت ۰/۰۲۲- بار PEG و بیشترین میانگین قطر (٤/۷٤ میلی‌متر) نیز مربوط به شاهد و کمترین میانگین قطر (۳/۲۷ میلی‌متر) مربوط به بیشترین غلظت PEG (۰/۰۲۲- بار) بود. همچنین، کاهش در میزان رشد نسبی و شاخص تحمل پینه در غلظت ۰/۰۱۰- بار و غلظت‌های بالاتر PEG در مقایسه با شاهد حاصل شد. بیشترین میزان رشد نسبی در شاهد (۹۰/۷۸ درصد) و کمترین میزان در غلظت‌های ۰/۰۱۰-، ۰/۰۱٦- و ۰/۰۲۲- بار PEG (۱۷/۲۲، ۷/۹۳ و ۸/٦ درصد) حاصل شد. بیشترین میزان شاخص تحمل پینه نیز در شاهد (صفر درصد PG) و کمترین میزان آن در غلظت‌های بیش از ۰/۰۱۰- بار PEG مشاهده شد (جدول ۱).

استفاده از PEG برای ارزیابی تنش اسمزی درون شیشه‌ای در گیاهان مختلف قبلاً توسط محققین زیادی گزارش شده است. افزودن PEG به محیط‌کشت MS پتانسیل آب محیط را با ایجاد تنش اسمزی کاهش داده که تأثیرات نامطلوبی بر ظرفیت رشد پینه داشت (Gopal and Iwama, 2007). تأثیر اصلی تنش PEG بر رشد پینه به‌طور عمده به شکل کاهش وزن تر که پاسخ متداول توده‌های پینه است، مشاهده شده است (Wani *et al.*, 2010) که در نتایج این آزمایش نیز مشاهده گردید. علاوه بر این PEG در محیط‌کشت جامد با کاهش پتانسیل آب محیط‌کشت منجر به کاهش جذب آب نیز می‌شود که منجر به کاهش رشد پینه می‌گردد (Sakthivelu *et al.*, 2008). تقسیم و رشد سلول دو فرآیند اصلی در افزایش وزن تر هستند که می‌توانند تحت تأثیر تنش اسمزی متوسط قرار گیرند (Sakthivelu *et al.*, 2008). نتایج بررسی‌ها نشان داد که سطوح PEG سرعت رشد نسبی، شاخص تحمل و محتوای آب نسبی پینه را به‌طور معنی‌داری کاهش داده است (AL-Khayri and Al-Baharany, 2004). که این نتایج با نتایج این آزمایش در ارتباط با کاهش میزان رشد نسبی و شاخص تحمل پینه‌های کنتاکی بلوگرس با افزایش غلظت PEG هم‌راستا بود.

در گزارش‌های مشابه، Begum و همکاران (۲۰۱۱) و Nawaz و همکاران (۲۰۱۳) نیز اظهار داشتند که PEG اغلب به‌عنوان عامل اسمزی القاکننده تنش آب در کشت‌بافت گیاهان استفاده می‌شود. کاهش رشد سلول اغلب پاسخ اولیه گیاه به تنش آب است. از آنجایی‌که رشد سلول تا حدی به تورژسانس سلول وابسته است، با افزایش دهیدراسیون، رشد کاهش می‌یابد و از این طریق ضمن کاهش وزن، بر روی قطر نیز تأثیر منفی می‌گذارد که نتایج آزمایش ما نیز حاکی از آن بود که تنش اسمزی منجر به کاهش قطر پینه‌ها گردید. دهیدراسیون القاشده به‌وسیله PEG، آب در دسترس و بنابراین تورژسانس و رشد را کاهش می‌دهد (Heyser and Nabors, 1981). در مطالعه حاضر، مشخص شد که افزایش غلظت PEG به‌عنوان شبیه‌ساز تنش آب در شرایط درون شیشه‌ای سبب کاهش در وزن تر و رشد پینه در چمن کنتاکی بلوگرس شد. کاهش رشد در حضور PEG در محیط‌کشت در نیشکر (Errabii *et al.*, 2008) و گوجه‌فرنگی (Aazami *et al.*, 2010) همچنین گزارش شد که با نتایج این آزمایش هم‌راستا بود.

آزمایش سوم، تأثیر اسید فولیک بر پینه در شرایط تنش اسمزی: بنا به نتایج آنالیز واریانس در این آزمایش اثر PEG و اثر متقابل PEG و اسید فولیک بر صفات مورد بررسی معنی‌دار

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 14:56 IRST on Saturday October 3rd 2020

جدول ۱- اثر تنش اسمزی ناشی از کاربرد PEG بر پینه در چمن کنتاکی بلوگرس رقم "Barimpala" (*Poa pratensis* cv. Barimpala)

PEG (bar)	رشد ظاهری پینه	قطر کوچک پینه (mm)	میانگین قطر پینه (mm)	وزن تر پینه (g)	رشد نسبی پینه (٪)	شاخص تحمل
۰	۳/۰۰ a	۳/۹٤ a	٤/۷٤ a	۱/٤۰ a	۹۰/۸۷ a	۱/۰۰ a
-۰/۰۰۵	۲/۳۳ abc	۳/۲۸ bc	٤/٤۸ ab	۰/۹۲ bc	۲۱/٦٤ bc	۰/۲۳ bc
-۰/۰۰۷	۲/٦٦ ab	۳/٤٦ ab	٤/٤٦ ab	۱/۱۰ ab	۳٦/۷۸ b	۰/٤۰ b
-۰/۰۱۰	۲/٦٦ ab	۳/٦۲ ab	٤/٤۲ ab	۱/۰۹ ab	۱۷/۲۲ c	۰/۱۸ c
-۰/۰۱٦	۲/۰۰ bc	۲/۷۸ c	۳/٦٦ bc	۰/٦٥ c	۷/۹۳ c	۰/۰۹ c
-۰/۰۲۲	۱/٦٦ c	۲/۸۰ c	۳/۲۷ c	۰/٦٦ c	۸/٦۰ c	۰/۱۱ c

میانگین‌های دارای حروف مشابه، براساس آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری با هم ندارند و حروف غیرمشابه دارای تفاوت معنی‌دار هستند.

نشد. افزایش غلظت اسید فولیک سبب افزایش در میزان رشد نسبی و شاخص تحمل پینه شد به‌طوریکه در دو غلظت ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم در لیتر کاهش میزان رشد نسبی و شاخص تحمل و در غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر افزایش میزان رشد نسبی (۱/٤۷) و شاخص تحمل (۱/۱۸) و کمترین میزان رشد نسبی (۷/٤٦) و شاخص تحمل (۰/۳۷) در غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر اسید فولیک حاصل شد که تفاوتی با غلظت‌های صفر و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر نداشت. تأثیر غلظت‌های مختلف اسید فولیک بر میزان رشد ظاهری پینه و وزن تر پینه نشان داد که با افزایش غلظت اسید فولیک تا ۱ میلی‌گرم در لیتر کاهش داشته و در غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر افزایش یافت که با شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت. بیشترین مقدار وزن تر پینه مربوط به شاهد (۱/۰۳ گرم) و غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر اسید فولیک (۰/۸۹ گرم) و کمترین مقدار نیز مربوط به تیمار ۱ میلی‌گرم در لیتر (۰/۵۱ گرم) اسید فولیک و بیشترین و کمترین میزان رشد ظاهری به‌ترتیب در غلظت صفر (شاهد) (۲/٦٦) و در تیمار یک میلی‌گرم در لیتر اسید فولیک (۲) مشاهده شد (جدول ۲).

با توجه به جدول ۳، میزان وزن خشک پینه با افزایش غلظت اسید فولیک کاهش یافت، به‌طوریکه بیشترین میزان وزن خشک پینه در شاهد (۰/۱٤ گرم) و کمترین میزان وزن خشک پینه (۰/۰٦ گرم) در تیمار یک میلی‌گرم در لیتر اسید فولیک حاصل شد. همچنین، نتایج حاصل از مقایسه میانگین کاهش قطر پینه در دو غلظت ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم بر لیتر اسید فولیک را نشان داد و در غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر تفاوتی با شاهد از نظر قطر پینه وجود نداشت. بیشترین میزان قطر بزرگ پینه در شاهد (۹/۷٦ میلی‌متر) و غلظت دو میلی‌گرم در لیتر اسید فولیک (۹/۳۸ میلی‌متر) و کوچک‌ترین میزان قطر بزرگ در تیمار یک میلی‌گرم در لیتر اسید فولیک (۷/٤٦ میلی‌متر) حاصل شد. همچنین بزرگ‌ترین میزان قطر کوچک مربوط به شاهد (۵/۹۲ میلی‌متر) و کوچک‌ترین مربوط به تیمار یک میلی‌گرم در لیتر (٤/۸۱ میلی‌متر) اسید فولیک بود و در مورد میانگین قطر پینه، بیشترین میانگین قطر در شاهد (۷/۹۱ میلی‌متر) حاصل گردید. کمترین میزان میانگین قطر پینه‌ها در تیمار یک میلی‌گرم در لیتر (٦/۰٤ میلی‌متر) اسید فولیک مشاهده گردید. میزان قند محلول پینه نیز در غلظت‌های کمتر اسید فولیک (۰/۵ و ۱ میلی‌گرم در لیتر) نسبت به غلظت بالاتر، بیشتر بود. بیشترین میزان قند محلول در پینه ۱/۳۲ در تیمار یک میلی‌گرم در لیتر اسید فولیک (که تفاوت معنی‌داری با شاهد و غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر اسید فولیک نداشت) و کمترین میزان قند محلول در پینه ۰/۸۸ مشاهده شد (جدول ۲).

یکی از مهم‌ترین کارکردهای اسید فولیک در سلول، نقش مستقیم آن در سنتز DNA است و کمبود آن در بافت‌ها، باعث کاهش سرعت سنتز نوکلئیک اسید می‌گردد (Kim *et al.*, 2009). در واقع اسید فولیک با نقشی که در سنتز DNA دارد، منجر به افزایش تقسیم سلولی شده و از این طریق سبب بهبود

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 14:56 IRST on Saturday October 3rd 2020

جدول ۲- اثر کاربرد اسید فولیک بر پینه در چمن کنتاکی بلوگرس رقم "Barimpala" (*Poa pratensis* cv. Barimpala)

اسید فولیک ($mg\ l^{-1}$)	وزن تر پینه (g)	وزن خشک پینه (g)	رشد نسبی پینه (%)	قطر بزرگ پینه (mm)	قطر کوچک پینه (mm)	میانگین قطر پینه (mm)	رشد ظاهری پینه	قند محلول پینه	شاخص تحمل
۰	۱/۰۳ a	۰/۱٤ a	۰/۸۲ b	۹/۷٦ a	۵/۹۲ a	۷/۹۱ a	۲/٦٦ a	۰/۹۹ ab	۰/٦۵ b
۰/۵	۰/٦۳ b	۰/۰۸ bc	۰/٦۸ b	۸/۳۳ bc	۵/۲ bc	٦/۷٦ bc	۲/۱۱ b	۱/۲۱ ab	۰/۵٤ b
۱	۰/۵۱ b	۰/۰٦ c	۰/٤۵ b	۷/٤٦ c	٤/۸۱ c	٦/۰٤ c	۲ b	۱/۳۲ a	۰/۳۷ b
۲	۰/۸۹ a	۰/۱۱ b	۱/٤۷ a	۹/۳۸ ab	۵/۷٦ ab	۷/٤۳ ab	۲/۵۵ a	۰/۸۸ b	۱/۱۸ a

میانگین‌های دارای حروف مشابه، براساس آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری با هم ندارند و حروف غیرمشابه دارای تفاوت معنی‌دار هستند.

جدول ۳- اثر تنش اسمزی ناشی از کاربرد PEG بر صفات گیاهان باززاشده در چمن کنتاکی بلوگرس رقم "Barimpala" (*Poa pratensis* cv. Barimpala)

PEG (bar)	ارتفاع شاخساره (cm)	ارتفاع گیاه‌چه (cm)	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل
۰	۲/۲۸ a	۵/۲۳ a	۱/٤۲ a	۰/۵۸ a	۱/۹۸ a
-۰/۰۲۲	۱/٤۸ b	٤/۰۹ b	۰/۸۱ b	۰/۳۷ b	۱/۳۰ b

میانگین‌های دارای حروف مشابه، براساس آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری با هم ندارند و حروف غیرمشابه دارای تفاوت معنی‌دار هستند.

رشد می‌شود. از سوی دیگر، اسید فولیک با وجود عملکرد ضروری در متابولیسم اسیدهای آمینه و سنتز اسیدهای نوکلئیک مهم‌ترین بخش ویتامین B است (Andrew *et al.*, 2000). Li و همکاران (۲۰۱۵) گزارش کردند که فولات یکی از مهم‌ترین ریزمغذی‌هاست و انواع متنوعی دارد، اما تنها شکل اسید فولیک آن فعالیت کوفاکتوری دارد. تعدادی از پژوهش‌ها تأثیر مثبت اسید فولیک بر رشد، عملکرد و کیفیت برخی گیاهان مانند کتان (Emam *et al.*, 2011)، لوبیا (Zewail *et al.*, 2011) و گندم زمستانه (Vician and Kovacik, 2013) گزارش شده است که با نتایج به‌دست آمده از این پژوهش مبنی بر تأثیر تحریکی در رشد پینه کنتاکی بلوگرس هم‌راستا بود.

تشخیص تأثیرات سودمند مواد هیومیکی بایستی در ارتباط با تأثیرات مستقیم و غیرمستقیم آن بر رشد گیاه در نظر گرفته شود (El-Desuki, 2004). تأثیرات غیرمستقیم به‌طور عمده از طریق ویژگی‌هایی مانند غنی‌سازی مواد غذایی محیط، افزایش جمعیت میکروبی و افزایش ظرفیت تبادل کاتیونی و بهبود ساختار خاک ایجاد می‌شود، درحالیکه تأثیرات مستقیم شامل فعالیت‌های بیوشیمیایی مختلف در سطح دیواره سلولی، غشا یا پروتوپلاست و به‌طور عمده ساختار هورمونی است (Chen *et al.*, 2004). فعالیت شبه هورمونی، به‌ویژه فعالیت‌های شبه اکسینی، جیبرلینی و سیتوکینینی اسید هیومیک به‌خوبی در مقالات بسیاری مستند شده است است (Casenave *et al.*, 1990; Piccolo *et al.*, 1992; Pizzeghello *et al.*, 2002). به‌نظر می‌رسد در این مطالعه نیز تأثیر مثبت اسید فولیک در غلظت دو میلی‌گرم در لیتر بر رشد پینه در ارتباط با فعالیت شبه هورمونی این ماده بوده و سبب افزایش میزان رشد نسبی پینه و شاخص تحمل پینه شده باشد.

کربوهیدارت‌ها فراوان‌ترین مولکول‌های زیستی و منبع اصلی و اولیه انرژی برای گیاهان بوده و به‌عنوان منبع کربن برای سنتز مولکول‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند (Garg *et al.*, 2008). نتایج مطالعات نشان داده است که اسید فولیک کوفاکتور اصلی برای واکنش‌های انتقال کربن است و در

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 14:56 IRST on Saturday October 3rd 2020

بسیاری از واکنش‌های سلولی مانند سنتز پورین، متابولیسم اسیدهای آمینه، تبدیل گلایسین به سرین، سنتز متیونین و تشکیل لیگین، کلروفیل، کولین و نیز چرخه تنفس نوری دخیل است (Jabrin *et al.*, 2003). در این پژوهش ممکن است کاهش میزان قند محلول در غلظت دو میلی‌گرم در لیتر اسید فولیک به نقش این ماده در انتقال کربن برای سنتز اسیدهای آمینه و سایر مولکول‌ها باشد. تتراهیدروفوبلات (Tetrahydrofolate) شکل فعال و کوآنزیمی این ویتامین است که در انتقال بنیان‌های تک کربنی و تبدیل آنها به یکدیگر نقش دارد (Heldt, 2005). متیونین اولین اسیدآمینه‌ای است که در بیوسنتز پروتئین در زنجیر پلی‌پپتیدی قرار می‌گیرد. به‌علاوه تیمیدین مونوفسفات (Timidine monophosphate) نوکلئوتیدی است که در ساختار DNA به‌کار می‌رود (Stimola, 2011). لذا برآیند این واکنش‌ها با کاهش بیوسنتز پروتئین و تکثیر DNA سبب کاهش رشد می‌گردد. در این پژوهش کاهش رشد پینه در حضور غلظت‌های ۰/۵ و یک میلی‌گرم در لیتر اسید فولیک ممکن است در ارتباط با وقوع این دسته از واکنش‌ها باشد.

آزمایش چهارم: کاربرد اسید فولیک در شرایط تنش خشکی بر گیاهان باززایی شده‌چمن کنتاکی بلوگرس: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که خشکی القاشده توسط PEG به‌طور معنی‌داری بر ارتفاع شاخساره و گیاه‌چه، میزان کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل داشت تأثیر متقابل اسید فولیک و PEG تنها بر صفت میزان قندهای محلول معنی‌دار شد. نتایج حاصل این پژوهش نشان داد که حضور غلظت PEG درصد سبب کاهش صفات موفولوژیکی شامل ارتفاع شاخساره و گیاه‌چه و صفات شیمیایی از جمله میزان کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل شد (جدول ۳).

یکی از اثرهای تنش خشکی، محدودکردن میزان توسعه برگ و کاهش میزان رشد برگ‌هاست. این کاهش به‌دلیل کم‌شدن میزان تقسیم سلولی و یا کاهش طویل‌شدن سلول‌ها و یا هر دوی آنهاست که می‌تواند تجمع ماده خشک و عملکرد گیاه را تحت تأثیر قرار دهد (Etemadi, 2006). به‌نظر می‌رسد در گونه چمنی مورد مطالعه تنش خشکی حاصل از PEG بر تقسیم سلولی و یا طویل‌شدن سلول‌ها اثر داشته و ارتفاع شاخساره و گیاه‌چه را کاهش داده است. تنش رطوبتی بر بزرگ‌شدن سلول اثرگذار است و به کوتاه‌شدن ارتفاع چمن منجر می‌شود (اعتمادی و فولادی، ۱۳۸۸).

مقدار کلروفیل به‌عنوان یک معیار مناسب، برای ارزیابی وضعیت فیزیولوژیک گیاه مورد توجه قرار می‌گیرد (Jiang and Huang, 2001). کاهش سطوح کلروفیل در گیاهان تحت تنش می‌تواند به افزایش فعالیت آنزیم تخریب‌کننده کلروفیل (کلروفیلاز)، مربوط باشد (Bertrand and Schoefs, 1999). سمیعیانی و همکاران (۱۳۹۲) در بررسی اثر تنش خشکی بر شاخص‌های بیوشیمیایی در چمن لولیوم، پنتیلا، شبدر سفید و فرانکنیا کاهش میزان کلروفیل را با افزایش سطح خشکی مشاهده کردند. Moharramnejad و همکاران (۲۰۱۵) نیز اظهار داشتند که تنش خشکی باعث کاهش معنی‌دار کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل در ذرت می‌شود که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد.

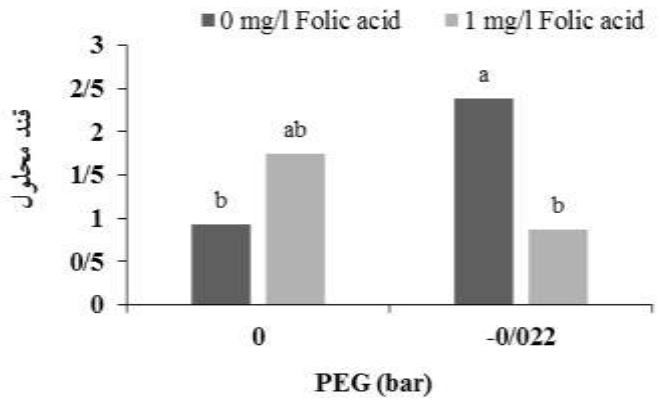
نتایج تأثیر متقابل اسید فولیک و PEG بر میزان قندهای محلول گیاهان باززایی‌شده نشان داد بیشترین میزان قندهای محلول در تیمار ۱ میلی‌گرم در لیتر اسید فولیک (۲/۳۹) حاصل شد که تفاوت معنی‌داری با تیمار ۰/۰۲۲- بار PEG (۱/۷٤) نداشت. در شاهد (۰/۹۳) و تیمار ۱ میلی‌گرم در لیتر اسید فولیک در ترکیب با۰/۰۲۲- بار PEG (۰/۸۷) کمترین میزان قند محلول مشاهده شد (شکل ۳).

در شرایط تنش، گیاه برای حفظ تعادل اسمزی و توانایی جذب بیشتر آب از محیط، ترکیباتی مانند کربوهیدارت‌ها که در ساختار سلول‌ها شرکت دارند و باعث رشد گیاه می‌شوند را در خود افزایش می‌دهد تا تنظیم اسمزی بهتر صورت گیرد (Abdalla and El-Khoshiban, 2007). در این پژوهش با افزایش سطح تنش۰/۰۲۲- بار PEG، میزان کربوهیدارت افزایش داشته است. نتایج این پژوهش با یافته‌های Arazmjo و همکاران (۲۰۱۰) مبنی بر افزایش غلظت کربوهیدارت‌های محلول در شرایط تنش خشکی، مطابقت و هم‌خوانی دارد.

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 14:56 IRST on Saturday October 3rd 2020



شکل ۳- اثر متقابل اسید فولیک و PEG بر میزان قند محلول پینه در چمن کنتاکی بلوگرس رقم "Barimpala" (*Poa pratensis* cv. 'Barimpala'). میانگین‌های دارای حروف مشابه، براساس آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری با هم ندارند و حروف غیرمشابه دارای تفاوت معنی‌دار هستند.

تنش خشکی با تأثیر بر عوامل مختلف مانند جذب و انتقال یون‌ها و کربوهیدارت‌ها باعث کاهش رشد گیاه می‌شود (Sankar *et al*., 2007). کربوهیدرات‌ها در تطابق و حفاظت اسمزی، ذخیره کربن و تصفیه رادیکال‌های آزاد نقش مهمی به‌عهده دارند (Anjum *et al*., 2011). در تحقیق حاضر، کربوهیدارت‌های محلول در تیمار PEG افزایش معنی‌داری نشان داد (شکل ۳). با افزایش سطح PEG به ۰/۰۲۲- بار و در حضور غلظت یک میلی‌گرم در لیتر اسید فولیک میزان کربوهیدارت کاهش یافت. بنابراین کاهش قندهای محلول در گیاهان تیمارشده با اسید فولیک را می‌توان به نقش این ماده در تعدیل pH و همچنین کاهش تنش‌های محیطی نسبت داد (Burguieres *et al*., 2007). همچنین، Poudineh و همکاران (۲۰۱۵) تأثیر مثبت اسید فولیک در بهبود ویژگی‌های کمی و کیفی آفتابگردان تحت تنش خشکی را گزارش کردند که با نتایج این پژوهش در ارتباط با تعدیل اثرات تنش PEG بر میزان قندهای محلول هم‌راستا بود.

نتیجه‌گیری

براساس نتایج به‌دست آمده در این پژوهش، مشخص شد که تنش خشکی حاصل از PEG بر رشد ظاهری، وزن، قطر، میزان رشد نسبی و شاخص تحمل پینه کنتاکی بلوگرس اثرگذار بوده و با افزایش غلظت PEG از میزان صفات ذکرشده کاسته شد، به‌طوریکه در بیشترین غلظت‌ها (۰/۰۱۶- و ۰/۰۲۲- بار) کمترین میزان این صفات مشاهده شد. همچنین اسید فولیک نتوانست تأثیرات مخرب تنش خشکی حاصل از PEG بر صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی کنتاکی بلوگرس (بجز دو صفت میزان رشد نسبی و شاخص تحمل در مرحله پینه) در دو مرحله پینه و باززایی را مهار کند. با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش، استفاده از غلظت‌های بیشتر اسید فولیک و ارزیابی تأثیرات این ماده در سطح بیوشیمایی و ملکولی بر کنتاکی بلوگرس پیشنهاد می‌شود.

منابع

اعتمادی، ن. و فولادی، ح. (۱۳۸۸) مدیریت چمن در مناطق معتدله. انتشارات جهاد دانشگاهی دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان.

تقی‌زاده، م. (۱۳۹۰) ارزیابی قابلیت چمن در گیاه‌پالایی سرب، القا درون شیشه‌ای و ردیابی ملکولی آن. پیان‌نامه دکتری، دانشگاه تهران.

جمالی، ف. (۱۳۹۲) تأثیر تیمار روی بر تعدیل تنش شوری. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشکده علوم پایه، دانشگاه اراک.

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 14:56 IRST on Saturday October 3rd 2020

سمیعیانی، ا. پ.، انصاری، ح.، عزیزی، م.، هاشمی‌نیا، س. م. و سلاحورزی، ی. (۱۳۹۱) اثر تنش خشکی بر برخی شاخص‌های بیوشیمیایی در چهار گونه گیاه پوششی (چمن لولیوم پرنه، پتنتیلا، شبدر سفید و فرانکینیا) با قابلیت استفاده در فضای سبز. علوم و فنون کشت‌های گلخانه‌ای ٤: ۱۰۵-۱۰۷.

قاسمی قهساره، م. و کافی، م. (۱۳۹۱) گلکاری علمی و کاربردی. جلد دوم، انتشارات مؤلف.

Aazami, M. A., Torabi, M. and Jalili, E. (2010) In vitro response of promising tomato genotypes for tolerance to osmotic stress. African Journal of Biotechnology 9: 4014-4017.

Abdalla, M. M. and El-Khoshiban, N. H. (2007) The influence of water stress on growth, relative water content, photosynthetic pigments, some metabolic and hormonal contents of two *Triticum aestivum* cultivars. Journal of Applied Science Research 3: 2062-2074.

Al-Khayri, J. M. and Al-Baharany, A. M. (2004) Growth, water content, and prolin accumulation in drought stressed callus of date palm. Biologia Plantarum 48: 105-108.

Al-Mazrooei, S., Bhatti, M. H., Henshaw, G. G., Taylor, N. J. and Blakeslay, D. (1997) Optimisation of somatic embryogenesis in fourteen ciltivars of sweet potato (*Impomoea batatas* L. Lam.). Plant Cell Reports 16: 710-714.

Alonso-Herradaa, J., Rico-Resendizb, F., Campos-Guillenb, J., Guevara-Gonzaleza, R. G., Torres-Pachecoa, I. and Cruz-Hernandeza, A. (2016) Establishment of in vitro regeneration system for *Acaciella angustissima* (Timbe) a shrubby plant endemic of Mexico for the production of phenolic compounds Jannett. Industrial Crops and Products 86: 49-57.

Andrew, W. J., Youngkoo, C., Chen, X. and Pandalai, S. G. (2000) Vicissitudes of a vitamin. Recent Research developments in Phytochemistry 4: 89-98.

Anjum, S. A., Xie, X. Y., Wang, L. C., Saleem, M. F., Man, C. and Lei, W. (2011) Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. African Journal of Agricultural Research 6: 2026-2032.

Arazmjo, A., Heidari, M. and Ghorbani, A. (2010) the effect of water stress and three sources of fertilizers on flower yield, physiological parameters and nutrient uptake in chamomile (*Matricaria chamomilla* L.). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants 25: 482-494.

Arnon, A. N. (1967) Method of extraction of chlorophyll in the plants. Agronomy Journal 23: 112-121.

Aslam, J. and Ahmed Khan, S. (2007) In vitro micropropagation of 'KHALAS' Date plam (*Phoenix dactylifera* L.), an important fruit. Journal of Fruit and Ornamental Plant Research 17: 15-27.

Begum, M. K., Islam, M. O., Miah, M. A. S., Hossain, M. A. and Islam, N. (2011) Production of somaclone In vitro for drought stress tolerant plantlet selection in sugarcane (*Saccharum officinarum* L.). A Scientific Journal of Krishi Foundation, the Agriculturists 9: 18-28.

Bertrand, M. and Schoefs, B. (1999) Photosyntetic pigment metabolism in plants during stress. In: Handbook of Plant and Crop Stress. (ed. Pessarakli, M.) Pp. 527-543. CRC Press.

Burguieres, E. P., McCue, P., Kwon, Y. I. and Shetty, K. (2007) Effect of vitamin C and folic acid on seed vigour response and phenolic-linked antioxidant activity. Bioresource Technology 98: 1393-404.

Casenave De Sanfilippo, E., Arguello, J. A., Abdala, G. and Oriolo, G. A. (1990) Content of auxin, inhibitor and gibberellin-like substances in humic acids. Biol Plantarum 32: 346-351.

Chen, Y. and Aviad, T. (1990) Effects of humic substances on plant growth 1. Humic substances in soil and crop sciences: Selected Readings, (Humicsubstances) 161-186.

Chen, Y., De Nobili, M. and Aviad, T. (2004) Stimulatory effects of humic substances on plant growth. In: Soil Organic Matter in Sustainable Agriculture. (eds. Magdoff, F. and Weil, R. R.) Pp. 103-129. CRC Press, New York, USA.

Dhanapal, S. and Sathish Sekar, D. (2013) Humic acids and its role in plant tissue culture at low nutrient level. Journal of Academia and Industrial Research (JAIR) 2: 338-340.

El-Desuki, M. (2004) Response of onion plants to humic acid and mineral fertilizers application. Annals of Agricultural Science, Moshtohor 42: 1955-1964.

Emam, M. M., El-Sweify, A. H. and Helal, N. M. (2011) Efficiencies of some vitamins in improving yield and quality of flax plant. African Journal of Agricultural Research 6: 4362-4369.

Errabii, T., Gandonou, C. B., Essalmani, H., Abrini, J., Idaomar, M. and Senhaji, N. S. (2008) Growth, proline and ion accumulation in sugarcane callus cultures under drought-induced osmotic stress and its subsequent relief. African Journal of Biotechnology 5: 1488-1493.

Estabrooks, T., Browne, R. and Dong, Z. (2007) 2,4,5-Trichlorophenoxyacetiv acid promotes somatic embryogenesis in the rose cultivar 'Livin' (Rosa sp.). Plant Cell Reports 26: 153-160.

Etemadi, N. (2006) Study on genetic diversity of drought resistant and visual characteristics of Bermuda grass populations (*Cynodon dactylon* L.). Ph. D. Thesis, Faculty of Horticulture, University College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Iran.

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 14:56 IRST on Saturday October 3rd 2020

Garg, H. G., Cowman, M. K. and Hales, C. A. (2008) Carbohydrate, Chemistry, Biology and Medicial Applications. Elsevier Ltd 414.

Gopal, J. and Iwama, K. (2007) In vitro screening of potato against water-stress mediated through sorbitol and polyethylene glycol. Plant Cell Reports 26: 693-700.

Heldt, H. W. (2005) Plant Biochemistry. Elsevier Academic Press Publication 620.

Heyser, J. W. and Nabors, M. W. (1981) Osmotic adjustment of cultures tobacco cells (*Nicotinic tabacum* var. Samsum) grown on sodium chloride. Pi Physio 67: 720-727.

Jabrin, S., Ravanel, S., Gambonnet, B., Douce, R. and Rebeille, F. (2003) One-carbon metabolism in plants. Regulation of tetrahydrofolate synthesis during germination and seedling development. Plant Physiology 131: 1431-1439.

Jiang, Y. and Huang, N. (2001) Drought and heat stress injury to two cool-season turf grasses in relation to antioxidant metabolism and lipid peroxidation. Crop Science 41: 436-442.

Kim, H. N., Kim, Y. K., Lee, I. K., Yang, D. H., Lee, J. J. and Shin, M. H. *et al*. (2009) Association between polymorphisms of folate metabolizing enzymes and hematological malignancies. Leukemia Research 33: 82-87.

Li, D., Li, L., Luo, Z., Mou, W., Mao, L. and Ying, T. (2015) Comparative transcriptome analysis reveals the influence of abscisic acid on the metabolism of pigments, ascorbic acid and folic acid during strawberry fruit ripening. PLos One 10: 1-15.

Lokhande, V. H., Nikam, T. D. and Penna, S. (2010) Biochemical, physiological and growth changes in response to salinity in callus cultures of *Sesuvium portulacastrum* L. Plant Cell Tissueand Organ Culture 102: 17-25.

Loredo-Carrillo, S. E., Santos-Diaz, M. D., Leyva, E. and Santos-Diaz, M. D. (2013) Establishment of callus from *Pyrostegia venusta* (Ker Gawl.) Miers and effect of abiotic stress on flavonoids and sterols accumulation. Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology 22: 312-318.

Moharramnejad, S., Sofalian, O., Valizadeh, M., Asgari, A. and Shiri, M. R. (2015) Proline, glycine betaine, total phenolics and pigment contents in response to osmotic stress in maize seedlings. Journal of Bioscience and Biotechnology 4: 313-319.

Nawaz, S., Ahmed, N., Iqbal, A. and Khaliq, I. (2013) Optimization of regeneration protocols for wheat under drought and salt stress. Pakistan Journal of Agricultural Sciences 50: 663-670.

Oswald, T. H., Smith, A. E. and Phillips, D. V. (1977) Callus and plantlet regeneration from cell cultures of ladin G clover and soybean. Physiologia Plantarum 39: 129-134.

Piccolo, A., Nardi, S. and Concheri, G. (1992) Structural characteristics of humic substances as related to nitrate uptake and growth regulation in plant systems. Soil Biology and Biochemistry 24: 373-380.

Pizzeghello, D., Nicolini, G. and Nardi, S. (2002) Hormone-like activities of humic substances in different forest ecosystems. New Phytologist 155: 393-402.

Pola, S. R. and Mani, N. S. (2006) Somatic embryogenesis and plantlet regeneration in *Sorghum bicolor* (L.) Moench, from leaf segments. Cell and Molecular Biology 5: 99-107.

Pola, S., Saradamani, N. and Ramana, T. (2007) Enhanced shoot regeneration in tissue culture studies of sorghum bicolor. Agricultural Technology 3: 275-286.

Poudineh, Z., Moghadam, Z. and Mirshekari, S. (2015) Effects of humic acid and folic acid on sunflower under drought stress. Biological Forum-An International Journal 7: 451-454.

Sakthivelu, G., Devi, M. K. A., Giridhar, P., Rajasekaran, T., Ravishankar, G. A., Nedev, T. and Kosturkova, G. (2008) Drought-induced alterations in growth, osmotic potential and in vitro regeneration of soybean cultivars. General and Applied Plant Physiology Special Issue 34: 103-112.

Sankar, B., Jaleel, C. A., Manivannan, P., Kishorekumar, A., Somasundaram, R. and Panneerselvam, R. (2007) Effect of paclobutrazol on water stress amelioration through antioxidants and free radical scavenging enzymes in *Arachis hypogaea* L. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 60: 229-235.

Sebahattin, A. and Necdet, C. (2005) Effects of different levels and application times of humic acid on root and leaf yield and yield components of forage Turnip (*Brassica rapa* L.). Agronomy Journal 4: 130-133.

Sinaki, J. M., Heravan, E. M., Rad, A. H. S., Noormohammadi, G. and Zarei, G. (2007) the effects of water deficit during growth stages of canola (*Brassica napus* L.). American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Sciences 2: 417-422.

Stimola, A. (2011) Cell Biology. The Rosen Publishing Group, Inc.

Sun, Y. L. and Hong, S. K. (2010) Effects of plant growth regulators and L glutamicacid on shoot organogenesis in the halophyte *Leymus chinensis* (Trin.). Plant Cell Tissue and Organ Culture 100: 317-328.

Tsago, T., Andargie, M. and Takele, A. (2013) In Vitro screening for drought tolerance in different sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) varieties. Journal of Stress Physiology and Biochemistry 9: 72-83.

Van der Valk, P., Ruis, F., Tetterlaar, S. A. M. and Van de Velde C. M. (1995) Optimizing plant regeneration from seed-derived callus cultures of Kentucky bluegrass. The effect of benzyladenine. Plant Cell Tissue Organ 40: 101-103.

www.SID.ir

Archive of SID

Venkov, P., Topashka-Ancheva, M., Georgieva, M., Alexiava, V. and Karanov, E. (2000) Genotoxic effect of substituted phenoxyacetic acids. Arch Toxicol 74: 560-566.

Vician, M. and Kovacik, P. (2013) The effect of folic application of mg-titanit fertilizer on phytomass, chlorophyll production and the harvest of winter wheat. Mendelnet 3: 162-168.

Wang, Z. and Huang, B. (2004) Physiological recovery of Kentucky bluegrass from simultaneous drought and heat stress. Crop Science 44: 1729-1736.

Wani, S., Sofi, P. A., Gosal, S. S. and Singh, N. B. (2010) In vitro screening of rice (*Oryza sativa* L.) callus for drought tolerance. Communications in Biometry and Crop Science 5: 108-115.

Zewail, R. M., Khder, Z. M. and Mady, A. M. (2011) Effect of potassium, some antioxidants, phosphoric acid and napthalen acetic acid (NAA) on growth and productivity of faba bean plants (*Faba vulga*ris). Annals of Agricultural Science, Moshtohor 49: 53-64.

Zhu, J. K. (2002) Salt and drought stress signal transduction in plants. Annual Review of Plant Biology l-53: 247-73.

Ziauddin, A. and Kasha, K. J. (1990) Long-term callus cultures of diploid barley (*Hordeum vulgare*) II. Effect of auxins on chromosomal status of cultures and regeneration of plants. Euphytica (In Press).

Zong, L., Ding, L. M., Xue, X. and Wang, T. (2010) Regeneration of green plants from seed-derived callus cultures of Poa. African Journal of Biotechnology 9: 3091-3098.

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 14:56 IRST on Saturday October 3rd 2020

www.SID.ir

Archive of SID

Control of osmotic stress tolerance evaluation using Folic acid of Kentucky bluegrass (*Poa pratensis* cv. Barimpala) in *in vitro* culture

Fahimeh Sadat Sajadi, Mina Taghizadeh* and Babak Valizadeh Kaji

Faculty of Agricultural and Natural Resources, Arak University, Markazi Province, Iran
(Received: 13/12/2018, Accepted: 18/05/2019)

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 14:56 IRST on Saturday October 3rd 2020

Abstract

Considering the high water requirement of turfgrass during growth stages and the limitation of irrigation sources, it is important to find a suitable way to reduce the water requirement of the lawns as ground cover plants used in the Landscape. The purpose of this study was to investigate the effect of 2,4,5-T on the induction of callus from the hypocotyl explant in Kentucky bluegrass, *in vitro* osmotic stress using polyethylene glycol and evaluation of the tolerance to stress using folic acid *in vitro* conditions. Therefore, the research was conducted in four experiments. In the first experiment, the effect of 2,4,5-T (0.5, 1 and 2 mg l^{-1}) in combination with two concentrations of 0 and 0.1 mg l^{-1} BA on callus induction in a hypocotyl explant was investigated. In the second experiment, 0, -0.005, -0.007, -0.010, -0.16 and -0.02 (bar) concentrations of PEG were used for induction of osmotic stress in calli. In the third and fourth experiments, folic acid was used to suppress osmotic stress induced by PEG in two stages of callus and regeneratin plants. The results of the first experiment showed that highest percentage of callus induction at a concentration of 0.5 mg l^{-1} of 2,4,5-T alone was observed. Based on the results of the second experiment, it was found that increasing the concentration of PEG decreased the growth indices in callus, so that in the concentration of -0.016 and -0.022 bar PEG, the least amount of measured traits of callus was observed. Also, the results of the third experiment showed that the use of folic acid in MS medium at 0.5 and 1 mg l^{-1} concentration reduced callus growth traits and increased soluble sugar content. In the fourth experiment, the results showed a decrease in the measured traits of regenerated plants in -0.022 bar PEG. The highest amount of soluble sugars in regenerated plants was observed in treatment 1 mg l^{-1} folic acid in combination with 0 bar PEG. In the third and fourth test, folic acid did not affect osmotic stress control.

Keywords: Callus, Chlorophyll, Polyethylene glycol, Regeneration, Soluble sugars

Corresponding author, Email: m-taghizadeh@araku.ac.ir

www.SID.ir