



بررسی اثرات باکتری تیوباسیلیوس و گوگرد بر عملکرد و خصوصیات بیوشیمیایی ذرت دانه‌ای (هیبرید ماکسیما) در شرایط کم آبیاری در منطقه ورامین.

Evaluation of effect of different ranges of *Thiobacillus* bacteria on bio chemical characteristics of grain corn (*Zea mays* L. var. *Maxima*) under water deficit stress in Varamin Region.

محمد نصری*

دانشیار گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی ورامین- پیشوا، ورامین- ایران.

چکیده:

به منظور دستیابی به افزایش تولید گیاهان کشاورزی در واحد سطح اقدامات زیادی نظیر مصرف بیشتر کودهای شیمیایی و سموم صورت گرفته است. نتیجه این فعالیت‌ها در طی سال‌های اخیر بحران آلودگی‌های محیط زیست و به ویژه آلودگی منابع خاک و آب بود که زنجیره وار به منابع غذایی انسان‌ها راه یافته و سلامت جوامع انسانی را مورد تهدید قرار داده است. به این منظور تلاش‌های گسترده‌ای با هدف یافتن راهکارهای مناسب برای بهبود کیفیت خاک، محصولات کشاورزی و حذف آلاینده‌ها آغاز شده است. کاهش این مخاطرات زیست محیطی و در عین حال افزایش عملکرد گیاهان زراعی نیازمند بکارگیری تکنیک‌های نوین زراعی است. از جمله این تکنیک‌ها، بررسی و ارزیابی جامعه زنده و فعال خاک به منظور شناسایی ریزموجودات خاکزی سودمند و استفاده از آنها به عنوان کودهای زیستی است. این تولیدات زیستی در برخی موارد به عنوان جایگزین و در اکثر موارد به عنوان مکمل کودهای شیمیایی می‌توانند پایداری تولید را در نظام‌های کشاورزی تضمین کنند. تنش رطوبتی به عنوان عاملی مهم در کاهش عملکرد گیاهان زراعی مطرح می‌باشد در بین عناصر مختلف، گوگرد باعث افزایش تحمل گیاهان به خصوص ذرت نسبت به تنش‌های محیطی می‌گردد. نظر به اینکه شکل قابل جذب گوگرد توسط گیاهان به صورت یون سولفات ($SO_4^{=}$) است، بنابراین لازم است گوگرد با کمک ریز جانداران اکسید کننده گوگرد به صورت یون سولفات درآید. گوگرد در گیاهان، به طور عمده ساخت پروتئین، روغن و بهبود کیفیت محصولات کشاورزی است انواعی از باکتری‌های خاکزی موجود در ریزوسفر که می‌توانند رشد گیاهان را تحریک نمایند در اصطلاح باکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR) نامیده می‌شوند. به منظور بررسی اثرات باکتری زیستی تیوباسیلیوس و گوگرد بر عملکرد و خصوصیات بیوشیمیایی ذرت دانه‌ای در شرایط کم آبیاری، آزمایشی به صورت کرت‌های یک‌بار خرد شده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در مزرعه پژوهشی شماره دو دانشگاه آزاد اسلامی ورامین در سال زراعی ۱۳۹۳ اجرا شد. تیمارهای این آزمایش شامل تنش کم آبی در سه سطح به عنوان کرت اصلی: شاهد (آبیاری معمول)، عدم آبیاری در مرحله گل‌دهی و عدم آبیاری در مرحله پرشدن دانه و مصرف باکتری زیستی تیوباسیلیوس و گوگرد در چهار سطح به عنوان کرت‌های فرعی شامل: شاهد (بدون مصرف)، مصرف کود زیستی تیوباسیلیوس به صورت اختلاط با بذر در هنگام کاشت، مصرف گوگرد (گوگرد گرانوله حاوی بنتونیت). بر اساس توصیه بروشور مصرف کود ۲۵ کیلوگرم در هکتار و مصرف توام کود زیستی تیوباسیلیوس و گوگرد بر اساس آزمون خاک بودند. نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که تمامی صفات مورد بررسی به جز



بیومارکر دی هیدروکسی گوانزین تحت تاثیر اثرات ساده تنش کم آبی و تیوباسیلیوس قرار گرفتند. نتایج نشان داد تنش خشکی باعث کاهش عملکرد دانه گردید گرچه مصرف تیوباسیلیوس و گوگرد موجب کاهش اثرات منفی تنش خشکی گردید، کم-ترین میزان عملکرد دانه از برهمکنش تیمار عدم آبیاری در مرحله گل دهی و عدم مصرف گوگرد و تیوباسیلیوس (۴/۸۹۲) تن در هکتار به دست آمد که نسبت به تیمار آبیاری معمول و مصرف توام کود زیستی و گوگرد، ۵۸/۲ درصد کاهش نشان داد به-کارگیری تیوباسیلیوس و گوگرد حتی در شرایط قطع آبیاری در مراحل حساس رشدی از اثرات منفی تنش بر عملکرد دانه تا حدود زیادی کاست (۵۰ درصد). بالاترین میزان پرولین (۱/۱۲۱ میکرومول برگرم وزن تازه)، آنزیم های آنتی اکسیدانت و بیومارکرهای تخریب نیز از تیمار عدم آبیاری در مرحله گل دهی و شاهد حاصل شد که نشان دهنده افزایش این صفات تحت تاثیر تنش و عدم وجود گوگرد می باشد. نتایج این مطالعه نشان داد که کاربرد گوگرد باعث افزایش تحمل ذرت در شرایط کم-آبیاری شده و عملکرد در این شرایط نقصان چندانی نمی یابد.

کلمات کلیدی: ذرت، کود زیستی، کشاورزی ارگانیک، اکسید کننده گوگرد، سوپر اکسید دیسموتاز، مالون دی آلدئید و عملکرد



اثر ترکیبات هورمونی و محیط کشت بر ریزازدیادی گیاه موسیر ایرانی

Allium stipitatum

ابوالفضل حاجی حیدر^{۱*}، مسعود توحیدفر^۲، سید مهدی میری^۱، امیررضا زارع کاریزی^۳، سمیه قادرمزی^۱

۱. گروه باغبانی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران

۲. گروه بیوتکنولوژی، دانشکده مهندسی انرژی و فناوری های نوین، دانشگاه شهید بهشتی، تهران

۳. مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی، کرج، ایران.

* Email: abolfazlhajiheidar1365@gmail.com

چکیده

در این پژوهش روش تکثیر درون شیشه ای کارآمد به منظور تکثیر گونه *A. stipitatum* از طریق تکثیر پیاز بررسی شد. در ابتدا ریزنمونه صفحه پایگاهی پیاز به منظور استقرار بر روی دو محیط کشت MS و ½MS با غلظت های مختلف هورمون های BA و NAA و IAA و زغال فعال کشت شدند. نتایج نشان داد بیشترین رشد طولی ساقه ها (۶/۳۲ سانتی متر) بر روی محیط کشت حاوی ۲ میلی گرم در لیتر BA و ۱ میلی گرم در لیتر NAA مشاهده شد. همچنین بیشترین تعداد پیاز (۱۲/۶۶) در تیمار هورمونی حاوی ۱ میلی گرم در لیتر BAP و ۰/۵ میلی گرم در لیتر NAA مشاهده شد. این پژوهش می تواند راه گشایی برای تکثیر سریع این گیاه در حال انقراض باشد.

کلمات کلیدی: موسیر، ریزازدیادی، محیط کشت، زغال فعال.

مقدمه

موسیر با نام علمی *Allium stipitatum* گیاه پایا دارای پیاز با لکه های سیاه و کم و بیش تازه است. برگ ها اغلب دارای کرک های مترکم، گلبرگ ها قاعده ای شکل و کم و بیش کوتاه می باشند. این گیاه در فلات ایران گزارش شده است (۱۱). از فرآورده های موسیر برای کم کردن قند خون در افراد دیابتی و در صنایع غذایی (ماست موسیر و ترشی) و دارویی کاربرد گسترده ای دارد. به طوری که رضایی خوزانی و همکاران (۱۳۹۱) نشان دادند که عصاره تام موسیر دارای اثرات ضد باکتریایی بوده و می تواند در آینده آن را جایگزین داروهای ضد باکتریایی شیمیایی نمود. موسیر به دلیل برداشت بی رویه در طبیعت در حال حاضر گونه ای در حال انقراض محسوب شده و از این رو اهمیت اقتصادی قابل ملاحظه ای برخوردار است. کشت بافت، نوعی تکثیر غیرجنسی در محیط *in vitro* است. مزیت این روش نسبت به سایر روش های مرسوم، تولید تعداد زیادی گیاه با محتوای ژنتیکی یکسان و کیفیت یکنواخت، در زمان کوتاه تر و فضای نسبتاً محدود می باشد (۱۴، ۱۲). تکثیر از طریق کشت بافت در جنس آلیوم مورد مطالعه قرار گرفته است و از قسمت های مختلفی چون بذر (۱۵)، مریستم ریشه (۸، ۹)، بخش های مختلف گل (۸) و صفحه پایگاهی (۷، ۱۶، ۴)، بدین منظور استفاده شده است. در این پژوهش اثر ترکیبات مختلف هورمونی و نوع محیط کشت بر تکثیر درون شیشه ای گیاه موسیر بررسی شده است.

مواد و روش ها

تهیه ریزنمونه و کشت



این پژوهش به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. ریز نمونه ی مورد استفاده گیاه درون شیشه ای موسیر عاری از ویروس بود، که از بانک گیاهی مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران، واقع در شهر کرج تهیه و ادامه ی مراحل آزمایش در گروه بیوتکنولوژی گیاهان دارویی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی کرج انجام شد. ابتدا گیاهچه های مورد نظر برای پرآوری در محیط های کشت MS+BA و MS+BA (2mg/l)+NAA(1mg/l) و (1mg/l)+NAA(0/5mg/l) و به شرح جدول شماره ۱ کشت گردیدند. پس از ۲ الی ۳ هفته پیازهای جدید ظاهر و مجدداً در محیط های کشت ذکر شده با همان غلظت ها قرار گرفتند تا تعداد ریزنمونه ها به سرعت افزایش پیدا کنند. تکثیر پیازها در محیط کشت MS حاوی غلظت های ۲ و ۱ میلی گرم در لیتر BAP در ترکیب با ۱ و ۰/۵ میلی گرم در لیتر NAA انجام شد. یک ماه پس از کشت صفات (تعداد پیاز، طول ساقه) در هر تیمار بررسی شد. از محیط کشت پایه MS همراه با 3 درصد ساکارز برای ریز نمونه استفاده شد (۱۰). پس از تهیه محیط کشت و افزودن مقادیر تیمارهای هورمونی PH محلول روی $5/7 \pm 0/1$ تنظیم و در نهایت آگار به میزان ۷ گرم در لیتر به عنوان جامد کننده به محلول اضافه و با استفاده از اتوکلاو در دمای ۱۲۱ درجه سانتی گراد به مدت ۲۰ دقیقه استریل شد. تمام کشت ها در اتاق رشد تحت شرایط دمایی 25 ± 2 و در فتوپریود ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی نگهداری شدند. داده های به دست آمده در آزمایش فاکتوریل و با طرح پایه کاملاً تصادفی با ۳ تکرار در هر تیمار مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. در هر تکرار ۳ ریزنمونه موسیر در شیشه های کشت با حجم ۴۰۰ سی سی که حاوی ۳۰-۲۵ میلی لیتر محیط کشت حاوی غلظت های مختلف هورمون بودند، کشت شدند. تجزیه آماری طرح با استفاده از نرم افزار MSTATC صورت گرفت. نتایج تجزیه واریانس توسط آزمون دانکن انجام شد.

جدول ۱: محیط های کشت حاوی غلظت های مختلف ترکیبات هورمونی

ترکیبات هورمونی محیط های کشت	ردیف
$\frac{1}{2}MS + 1 \text{ mg/l IAA}$	۱
$\frac{1}{2}MS + 1 \text{ mg/l IAA} + 1 \text{ gr/l activated charcoal}$	۲
$\frac{1}{2}MS + 1 \text{ 0.1 mg/l NAA}$	۳
$\frac{1}{2}MS + 1 \text{ 0.1 mg/l NAA} + 1 \text{ gr/l activated charcoal}$	۴
$MS + 1 \text{ mg/l BA} + 0.5 \text{ mg/l NAA}$	۵
$MS + 2 \text{ mg/l BA} + 1 \text{ mg/l NAA}$	۶

نتایج و بحث

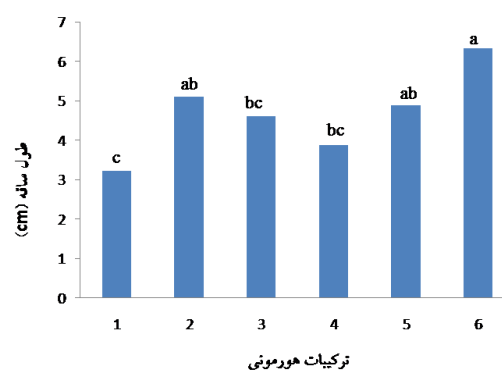
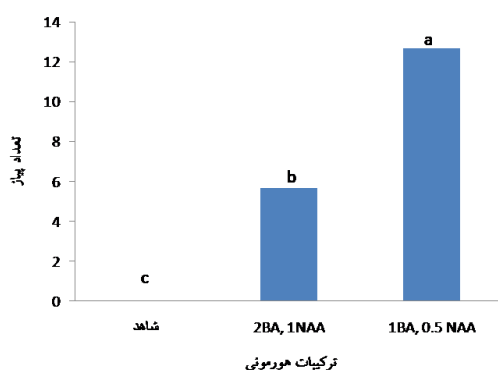
عکس العمل ریز نمونه ها در شرایط کشت درون شیشه ای به فاکتورهای متعددی بستگی دارد. مقادیر سطوح هورمون های داخلی، غلظت تنظیم کننده های رشد خارجی و بر همکنش اثر این تنظیم کننده ها همگی بر پاسخ ریز نمونه موثر می باشد (۱۳). استفاده از کشت بافت به منظور تکثیر انبوه و تولید تجاری گیاه موسیر تاکنون گزارش نشده است. استفاده از یک برآورد تئوری، با کشت ریزنمونه های صفحه پایگاهی در شرایط کشت درون شیشه ای پس از حداکثر ۴ هفته از یک پیاز موسیر به قطر ۳-۴ سانتی می توان حداکثر ۱۰-۱۵ پیازچه تولید کرد که این مقدار تفاوت قابل توجهی با تولید پیازچه در روش ازدیاد سنتی (۲-۳ پیازچه در سال) را نشان می دهد. بنابراین ریزازدیادی موسیر می تواند به عنوان یک روش کارآمد و سریع برای تولید و تکثیر این گیاه ارزشمند در سطح تجاری معرفی شود. نتایج تجزیه واریانس ترکیبات هورمونی نشان داد که صفت طول ساقه در سطح ۵ درصد معنی دار بود.



جدول ۲: تجزیه واریانس عامل ترکیبات هورمونی بر طول ساقه (یک ماه پس از کشت)

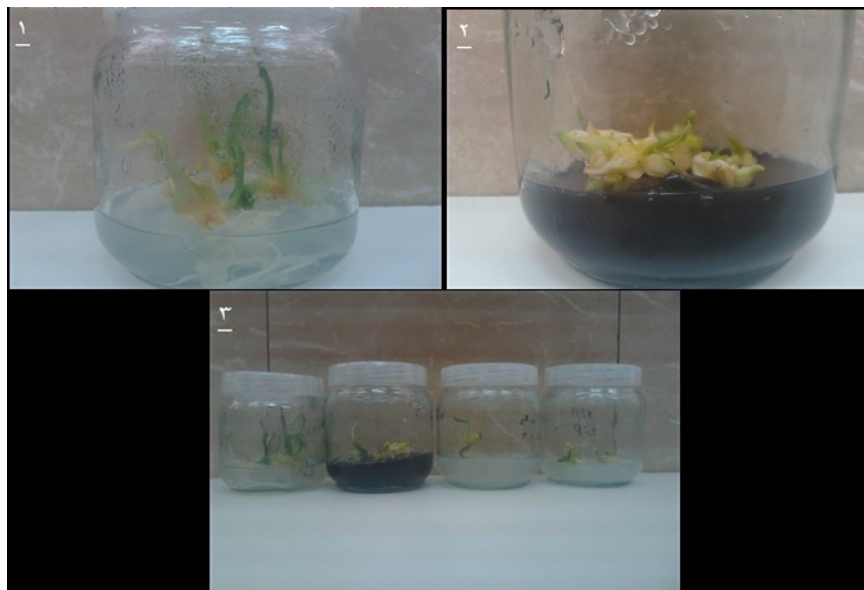
منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات
ترکیبات هورمونی	۵	۳/۴۲**
خطا	۱۰	۵/۹
ضریب تغییرات		۱۶/۳۷

** معنی دار در سطح ۱ درصد، * معنی دار در سطح ۵ درصد و ns عدم معنی دار بودن



نمودار ۱: اثر ترکیبات هورمونی بر تعداد پياز و طول ساقه ها (یک ماه پس از کشت)، حروف غیر مشابه نشان دهنده اثرات معنی دار بر اساس آزمون دانکن در سطح ۵ درصد می باشد

مقایسه میانگین بر اساس آزمون دانکن نشان داد که افزایش غلظت های هورمون BA و NAA (تیمار ۶) بیشترین تاثیر را روی طول ساقه ها (۶/۳۲ سانتی متر) داشت. تنظیم کننده های رشد اکسینی نقش موثری در تقسیم سلولی دارند. همچنین سایتوکینین ها نیز در تحریک رشد و نمو و تقسیم سلولی نقش دارند (۱).
همچنین مقایسه میانگین بر اساس آزمون دانکن نشان داد که کاهش غلظت های مختلف هورمون BA و NAA تاثیر معنی داری بر روی تعداد پيازها داشتند. تشکیل ساقه نا به جا نیاز به تیمار اکسین و سایتوکینین دارد که البته تاکید بر این است که اکسین با غلظت پایین استفاده شود. زیرا کاربرد وسیع آن سبب رشد کالوس و غیر نرمال شدن ساقه می شود (۵).



شکل ۱: اثر تیمارهای هورمونی بر تولید پیاز و طول ساقه ها، ۱، ۱. تیمار هورمونی حاوی BA و NAA، ۲، ۱. اثر زغال فعال بر تعداد ساقه ها، ۳، ۱. اثر تیمارهای مختلف بر تولید پیاز و طول ساقه ها

از نتایج این پژوهش می توان جهت مطالعات کشت بافت و همچنین مهندسی ژنتیک در گیاه موسیر استفاده نمود.

نتیجه گیری کلی

- ۸- بهترین محیط برای پرآوری این گیاه دارویی MS همراه با هورمون های BA با غلظت ۲ و ۱ میلی گرم در لیتر به همراه NAA با غلظت های ۱ و ۰/۵ میلی گرم بر لیتر می باشد.
- ۹- همچنین بیشترین طول ساقه ها در محیط کشت MS حاوی تیمار هورمونی BA با غلظت ۲ میلی گرم در لیتر و NAA با غلظت ۰/۵ میلی گرم در لیتر می باشد.

سپاسگزاری

از همکاری جناب آقای دکتر نقوی مدیر بانک گیاهی مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران جهت تهیه ریزنمونه و همچنین جناب آقای دکتر قادری مدیر گروه بیوتکنولوژی گیاهان دارویی پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی کرج و از همکاران محترمی که در انجام این تحقیق ما را یاری نمودند تشکر و قدردانی می گردد.

منابع

۱. باقری، ع. صفاری، م. ۱۳۷۶. مبانی کشت بافت های گیاهی. انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد.
۲. رضایی خوزانی، ن. دودی، م. قنبری، ف. نصیری، ز. ۱۳۹۱. بررسی ضد میکروبی عصاره موسیر علیه استافیلوکوکوس اورئوس های مقاوم به متی سیلین. مجله علمی تحقیقات آزمایشگاهی دامپزشکی، جلد ۴ شماره ۱ صفحات ۹۲-۹۲.
۳. مدرس، م. لاهوتی، م. گنجعلی، ع. اصیلی، ج. رمضانی، ع. تقوی زاده، م. ۱۳۹۰. بررسی تاثیر زغال فعال و اسید آسکوربیک بر باززایی گیاه *Salvia leriifolia*. کنگره بین المللی بیولوژی کاربردی، صفحه ۴۳۲



4. Ayabe, M. Sumi, S. 1998. Establishment of novel tissue culture method stems disc culture and practical application to micropropagation of garlic (*Allium sativum* L.). Plant Cell Reports 7:773-779.
5. Bonga, J.M., and P.Von Aderkas. 1992. In vitro culture of tree m. Nighoff publishers, Dordereht. 23-45.
6. Chang, S.H. C.K.HO, Z.Z. Chen, Y.J.Tsay. 2001. Micropropagation of *Taxus mairei* from mature trees. Plant Cell. Rep 20: 496-502.
7. Gabriela, F. Luciani, A. K. 2006. Effect of explants and growth regulators in garlic callus formation and plant regeneration. Plant Cell Tiss Organ Cult 87: 139-143.
8. Luciani, G. F. Mary, A. K. Pellegrini, C. Curvetto, N. R. 2006. Effects of explants and growth regulators in garlic callus formation and plant regeneration. Plant Cell Tissue Organ Cult 87:139-143.
9. Marti'n-Urdi'roz, N. Garrido-Gala, J. Marti'n, J. Barandiaran, X. 2004. Effect of light on the organogenic ability of garlic roots using a one-step *in vitro* system. Plant Cell Rep 22:721-724.
10. Murashige, T. Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant 15: 473- 497.
11. Rechinger, K. H. 1984. Flora Iranica, Alliaceae, Vol. 46, p 85.
12. Sayed-Tabatabae, BE. Omid, M. 2011. Plant Cell and Tissue Culture. Tehran University Press, Tehran, Iran. PP: 368
13. Torres, K. 1989. Tissue culture for horticulture crop. Published by Van Nostrand Reinhold .New Yourk.
14. Tripathi, L. Tripathi, JN. 2003. Role of biotechnology in medicin,vvdfd R. J. Weir, B. J. 1977. Structure of the mammalian ovary. In: Zuckerman S, Weit BJ (eds), The Ovary, vol 1, 2nd ed., New York: Academic Press, pp: 113-217.
15. Wawrosch, C. malla, P. R. kopp, B. 2001. Micropropagation of *Allium wallichii*kunth, a threatened medicinal plant of Nepal. *In vitro* Cell Dev. Boil-Plant 37: 555-557.
16. Xu, Z. Yeong-Cheol Um. Y. C. Kim, C. H. 2008. Effect of plant growth regulators, temperature and sucrose on shoot proliferation from the stem disc of Chinese jiaotou (*Allium chinense*) and *in vitro* bulblet formation. Acta Physiol Plant 30:521-528.