تأثیر برخی آنتی‌اکسین‌ها بر شاخص‌های ریزازدیادی، رشدی و فعالیت IAA-اکسیداز پایه رویشی سنت‌جولین-A

قاسمعلی گروسی*، امید استاد شریف و اسمعیل نظامی

گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه بین المللی امام خمینی (ره)، قزوین

(تاریخ دریافت: ١٣٩٤/٠٥/٠٢، تاریخ پذیرش نهایی: ١٣٩٤/١١/١٤)

چکیده:

پایه رویشی سنت‌جولینA یکی از پایه‌های رویشی نیمه پاکوتاه جنس پرونوس می‌باشد که به دلیل مقاومت به برخی بیماری‌ها و آفات شایع در هسته‌داران و همچنین سازگاری بالا در ارقام مختلف هسته‌داران از اهمیت خاصی برخوردار است. در این مطالعه تاثیر متیل‌جاسمونات، آنتی-اکسین‌های تیبا و اسکوپولتین بر برخی شاخص‌های نوساقه‌زایی، فعالیت آنزیم IAA-اکسیداز و همچنین بهبود برخی نارسایی‌های رشدی مانند رشد کند و بطئی نوساقه‌های تولید شده در طی فرایند ریزازدیادی در شرایط درون‌شیشه مورد مطالعه قرار گرفت. دو نوع ریزنمونه در آزمایش‌ها استفاده شد؛ ریزنمونه‌های با رشد عادی و با رشد کند و بطئی. در ریزنمونه‌های عادی اسکوپولتین و متیل‌جاسمونات با غلظت ١ میلی‌گرم در لیتر در محیط MS میزان نوساقه‌زایی را (به‌ترتیب ٣/٥±٠/٢ و ٢/٠٦± ٠/٠٦) و رشد طولی را (به‌ترتیب ١/٧٧±٠/٠٢ cm و ١/٤٥±٠/٠٣) به معنی‌داری نسبت به شاهد و تیبا افزایش دادند. این مواد همچنین تاثیر بسیار معنی‌داری در افزایش پارامترهای نوساقه‌زایی (به ترتیب ٤/١٢±٠/١٧ و ٣/١٨±٠/١٨) و رشد طولی (به ترتیب ٤/٣١±٠/١١cm و ٣/٩٣±٠/٠٦) ریزنمونه‌های با رشد کند و بطئی دارند. مطالعه تغییرات آنزیم IAA-اکسیداز هم نشان داد که نوساقه‌های با رشد کند و بطئی علی‌رغم رشد کم در مقایسه با شاهد، بیشترین میزان فعالیت آنزیمی را دارا هستند. استفاده از تیبا در مقایسه با اسکوپولتین کاهش معنی‌داری در فعالیت IAA-اکسیداز در هر دو نوع منبع ریزنمونه با روند نزولی در طول ٣٠ روز را نشان داد. نتایج بدست آمده در این مطالعه می‌تواند بیانگر تاثیر معنی‌دار تیمارهای مورد استفاده بویژه اسکوپولتین برروی بهبود شاخص‌های رشد نوساقه‌ها از نظر صفات کیفی و کمی باشد.

واژه های کلیدی: آنتی‌اکسین، IAA-اکسیداز، ریزازدیادی، رشد کند و بطئی، متیل‌جاسمونات.

مقدمه:

پایه‌رویشی سنت‌جولین (*Prunus domestica spp. Insititia*) از پایه‌های نیمه پاکوتاه جنس پرونوس می‌باشد که مقاومت و تحمل زیاد آن در مقابل تنش‌های زیستی و غیر زیستی و همچنین سازگاری آن با ارقام مختلف هلو، شلیل، آلو و گوجه سبز (Beckman and Lang, 2002)، در سال‌های اخیر منجر به استقبال روز افزون باغداران کشور به استفاده از آن به عنوان جایگزین مناسبی در مقایسه با سایر پایه‌های رویشی شده است. از طرفی، در حال حاضر با توجه به رویکرد بیشتر تولیدکنندگان نهال به استفاده از روش‌های سنتی (تولید نهال-های بذری، به عنوان مثال)، باغداران را با مشکلات متعددی از جمله غیریکنواختی درختان رشد یافته از نظر ارتفاع، تنوع زیاد در مقابل مقاومت به آفات و بیماری‌ها و همچنین عملکرد متفاوت ارقام پیوندی روی پایه‌های رویشی بذری روبرو ساخته است؛ که این مهم تلاش محققان را به منظور معرفی دستورالعمل‌های ریزازدیادی مقرون به صرفه امری اجتناب

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: coagaroosi90@yahoo.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-27]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1396.6.19.14.2]

ناپذیر می‌نماید.

در سال‌های اخیر موارد متعددی از بروز نارسایی رشدی در هنگام تکثیر گونه‌های مختلف جنس پرونوس در شرایط درون‌شیشه (*in vitro*)، در نتیجه عدم بهینه بودن ترکیبات محیط کشت شامل منبع کربنی، ترکیبات ماکرو و میکروالمنت، ویتامین، تنظیم کننده‌های رشدی و یا نوع جامد کننده، گزارش گردیده است؛ که می توان به بروز مشکلات متعددی ازجمله نرخ پایین نوساقه‌زایی، رشد طولی کم، نکروزگی، شیشه‌ای شدن، رشد رزت و یا رشد کند و بطئی (بسته به نوع گیاه) اشاره نمود (استادشریف، ۱۳۹۲؛ استاد شریف و همکاران، ۱۳۹۳، زارعی و همکاران، ۱۳۹۲؛ Fotopoulos and Sotiropoulos, 2005; Kornova and Popov, 2007; Nezami-Alanagh *et al.*, 2014; Nezami-Alanagh *et al.*, 2010 ;Ruzic and Vujovic, 2008).

استادشریف و همکاران (۱۳۹۳) به منظور معرفی یک دستورالعمل موفق و تکرارپذیر با هدف افزایش نرخ ریزازدیادی و همچنین بهبود کیفیت رشدی پایه رویشی سنت-جولین-A، تاثیر پارامترهای متعددی از جمله نوع محیط کشت، تنظیم‌کننده‌های رشدی و منبع، مورد ارزیابی قرار گرفت. علی-رغم بهبود نسبی پارامترهای رشدی، نرخ پایین نوساقه‌زایی و همچنین تولید نوساقه‌هایی بارشد کند و بطئی بویژه پس از چندین واکشت متوالی، از مشکلات قابل توجه در آن مطالعه بود. گزارش‌های متعددی از تاثیر استفاده از مقادیر زیاد تنظیم-کننده‌های رشدی در افزایش نسبی در تعداد نوساقه و کاهش طول نوساقه ایجاد شده و بروز نارسایی‌های رشدی در تکثیر گونه‌های مختلف جنس پرونوس از جمله پایه رویشی سنت‌جولین وجود دارد (Ruzic and Vujovic, 2008;Tatari *et al.*, 2012)؛ که احتمالا می‌تواند بیانگر این فرضیه باشد که در این قبیل گیاهان سطح برخی از هورمون‌های درون‌سلولی از جمله IAA واکنش آنتاگونیستیکی شدیدی با تنظیم‌کننده‌های اضافه شده به محیط کشت ایجاد می‌کند.

اکسین درون‌سلولی و انتقال آن در داخل سلول، در تنظیم فرایندهای گسترده فیزیولوژیکی و توسعه‌ای در طی رشد و نمو از قبیل تقسیم سلولی و طویل شدن سلول‌ها (Magyar *et al.*, 2005; Pasternak *et al.*, 2002)، جنین‌زایی (Rossin and Rey, 2011; Yang *et al.*, 2012)، اندام‌زایی (George *et al.*, 2008a)، تشکیل و توسعه ریشه در گیاهان (Pacurar *et al.*, 2014) دخیل می‌باشد. علی‌رغم تاثیر بارز اکسین درون‌سلولی در رشد و تمایز، غلظت بالای این هورمون می تواند تاثیرات نامطلوبی در ازدیاد گیاهان داشته باشد. به عنوان مثال، Chong و Andrew (۲۰۰٦) با استفاده از آنتی-اکسین‌های اسکوپولتین (7-hydroxy-6-methoxy-2H-1-benzopyran-2-one (Scopoletin)) (بواسطه تاثیر روی فعالیت IAA–اکسیداز) و تیبا (TriIodo Benzoic Acid (TIBA)) (بازدارنده انتقال قطبی اکسین)، مشکل کاهش رشد طولی نونهال‌های گیلاس در شرایط گلخانه را برطرف کردند (Chong and Andrew, 2006).اخیرا گزارش‌های متعددی از کاربرد این مواد روی افزایش نرخ نوساقه‌زایی در شرایط درون‌شیشه و گلخانه گردیده است (ملکی و همکاران ۱۳۹۱؛ ملکی، ۱۳۹۲؛ ملکی و همکاران، ۱۳۹۲؛ George *et al.*, 2008b, 2013; Ranade and Kanwar, 2014; Shukla *et al.*, 2014). جاسمونات‌ها نیز از تنظیم‌کننده‌های رشدی به شمار می‌روند که نقش آن‌ها در محافظت گیاهان در مقابل تنش‌های زیستی و غیر زیستی (Rohwer and Erwin, 2008)، غده‌زایی (Koda and Kikuta, 1991)، تولید پیازچه در گیاهان زینتی (Hosseini *et al.*, 2013) و همچنین افزایش تولید فلاونوئیدها (Wang *et al*, 2015) به خوبی شناخته شده است. علیرغم این یافته‌ها، براساس مطالعات انجام شده گزارشی از تاثیر این ماده روی رشد و ریزازدیادی گونه‌های جنس پرونوس وجود ندارد. در این پژوهش تاثیر تیبا، اسکوپولتین و متیل‌جاسمونات روی رفع مشکلات رشد کند و بطئی نوساقه‌های پایه رویشی سنت جولین–A، میزان نوساقه‌زایی و همچنین فعالیت آنزیم IAA–اکسیداز مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها:

ماده گیاهی و شرایط کشت: گیاه گلدانی پایه‌رویشی سنت-جولین به‌صورت نونهال از دانشگاه تربیت مدرس تهران تهیه و

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-27]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1396.6.19.14.2]

پس از ضدعفونی، جوانه‌های جانبی و انتهایی، جهت استقرار و تکثیر به محیط کشتMS حاوی BAP و IBA به ترتیب با غلظت‌های ۰/۵ و ۰/۲ میلی‌گرم بر لیتر، ۲۰ گرم در لیتر ساکارز، pH: ۵/۷ و ۷ گرم در لیتر فیتوآگار (Merck) به عنوان جامدکننده، منتقل شدند و سپس در اتاق رشد در دمای^{o}C ۲۲±۲ و شرایط نوری ۱۶/۸ ساعت (تاریکی/روشنایی) با لامپ‌های سرد-سفید با شدت روشنایی ۴۰ $\mu mol\ m^{-2}\ S^{-1}$ قرار گرفتند (استادشریف، ۱۳۹۲).

تأثیر متیل‌جاسمونات، تیبا و اسکوپولتین روی میزان نوساقه‌زایی و نارسایی‌های رشدی: در این آزمایش دو نوع ریزنمونه شامل الف) ریزنمونه‌های با رشد عادی (به طول ۰/۲ ± ۱/۵ سانتی‌متر) و ب) ریزنمونه‌های با رشد کند و بطئی (به طول ۰/۲ ± ۰/۵ سانتی‌متر) انتخاب و تاثیر برخی القاء کننده رشدی شامل تیبا، اسکوپولتین و متیل جاسمونات هرکدام به طور جداگانه در غلظت ثابت ۱ میلی‌گرم (براساس آزمایش اولیه و همچنین نتایج گزارش شده توسط Sing وهمکاران (۲۰۰۰) بروی رشد ریزنمونه‌های یادشده بررسی گردید. تمامی شرایط رشدی و همچنین سایر ترکیبات شیمیایی مطابق شرایط ذکر شده در مرحله ریزازدیادی به صورت ثابت در نظر گرفته شد؛ با این تفاوت که IBA (به‌عنوان منبع اکسین خارجی) در این آزمایش حذف گردید. به ازای هرتیمار ۸ ظرف شیشه‌ای (۱۸۰ سی‌سی) با درب کریستالی در نظر گرفته شده و در هرکدام ۴ ریزنمونه کشت گردید که در فواصل ابتدای آزمایش (۱ روزه) و ۱۵ روزه، از ۴ ظرف از هرکدام ۱-۲ نوساقه (شامل جوانه انتهایی، برگ و ساقه رشد یافته) به وزن تقریبی ۰/۵ گرم نمونه‌برداری و به منظور بررسی فعالیت آنزیمی و پروتئینی تثبیت گردید. نوساقه‌های تولید شده در ۴ ظرف شیشه‌ای باقی مانده در روز ۳۰ام پس از انجام یادداشت‌برداری از میزان نوساقه‌زایی، وزن‌تر نوساقه (g)، رشد طولی نوساقه (cm) و میزان پرآوری (cm)، نمونه‌برداری انجام گرفت. نمونه‌های حاصله در طول مدت آزمایش پس از حذف بقایای آگار، در داخل نیتروژون مایع تثبیت و سپس در فریزر ^{o}C ۸۰- نگهداری گردیدند.

سنجش میزان پروتئین کل: به منظور تهیه عصاره پروتئین، مقدار ۰/۵ گرم از بافت تر (FW) گیاهی به همراه ۰/۱ گرم PVP (Poly Vinyl Pyridine) در مجاورت نیتروژن مایع، خرد گردید و سپس ۵۰۰ میکرولیتر از بافر استخراج [بافر فسفات M ۰/۰۵ (pH: ۷) و سدیم متابای سولفیت M ۰/۰۰۱] به آن اضافه گردید. عصاره به‌دست آمده به مدت ۳۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در دور ۱۴۰۰۰ rpm سانتریفیوژ شد. سپس فاز رویی به‌آرامی داخل تیوب‌های ۲ میلی‌لیتری ریخته شد و پس از افزودن ۰/۲ میلی‌لیتر گلیسرول ۵۰٪ در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. پروتئین محلول کل در ۳ تکرار به روش Bradford (۱۹۷۶) اندازه‌گیری گردید. به‌منظور بررسی تغییرات فعالیت آنزیمی نمونه‌برداری در روزهای اول، ۱۵ و ۳۰ پس از شروع آزمایش انجام گرفت.

سنجش فعالیت آنزیم IAA-اکسیداز: مخلوط واکنش با کمی تغییرات در حجم نهایی ۰/۵ میلی‌لیتر شامل بافر فسفات ۶/۶۶ میلی‌مولار (pH: ۷)، $MnCl_2$ ۱۰۰ میکرومولار، p-coumaric acid ۵۰ میکرومولار، IAA ۵۰ میکروگرم (۲۸۲/۴۸ میکرومولار) تهیه (Bradford, 1976) و ۴۰ میکرولیتر از عصاره پروتئین به آن اضافه گردید و به مدت۵۰ دقیقه داخل انکوباتور با دمای ^{o}C ۲± ۳۷ در تاریکی نگهداری و پس ازافزودن واکنش‌گر سالکوفسکی (Gordon and Weber, 1951) به حجم ۱ میلی‌لیتر، مجددا به مدت ۲۵ دقیقه در همین شرایط نگهداری شد. بعد از رسم منحنی استاندارد، مخلوط واکنش و معرف سالکوفسکی در داخل کووت شیشه‌ای ۳ میلی‌لیتری ریخته شد و میزان فعالیت آنزیم IAA- اکسیداز در طول موج ۵۳۵ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتری(UV-3200 Labomed) UV-Visible اندازه-گیری و تعیین شد. هر واحد فعالیت آنزیم IAA- اکسیداز عبارتست از ۱ میکروگرم IAA تجزیه شده توسط یک میلی‌لیتر از عصاره پروتئینی وزن تر بافت گیاهی (Beffa *et al*, 1990).

تجزیه و تحلیل آماری: آزمایش‌ها به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح‌های کاملا تصادفی انجام شدند. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزارهای آماری SAS 9.1 استفاده شد.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-27]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1396.6.19.14.2]

لازم به ذکر است که قبل از تجزیه و تحلیل داده‌ها، باقیمانده داده‌های خام محاسبه شده و سپس از نظر نرمال بودن با آزمون Shapiro- Wilk مورد بررسی قرار گرفته و در صورت نیاز برای داده‌های شمارشی از تبدیل ریشه دوم استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون چند دامنه دانکن در سطح (α=۰/۰۱) انجام گرفت.

نتایج و بحث:

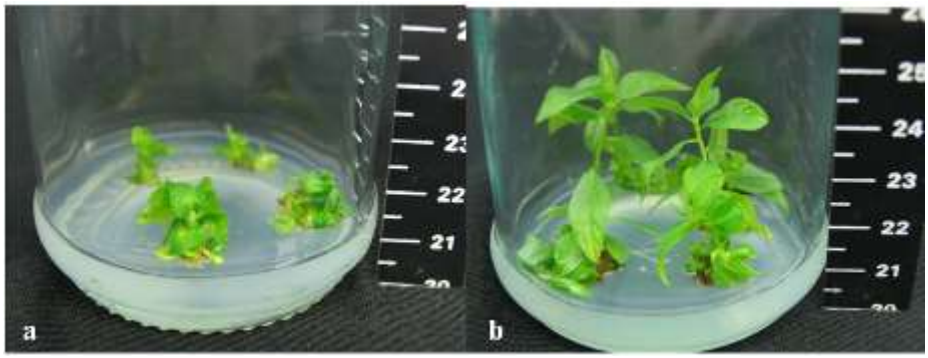
در گزارشی ریزازدیادی پایه رویشی سنت‌جولین (استاد شریف، ۱۳۹۰ و استاد شریف و همکاران، ۱۳۹۲) علی‌رغم بهینه سازی برخی از ترکیبات محیط کشت شامل منبع کربنی، نمک‌های معدنی و تنظیم‌کننده های رشدی و همچنین فراهم نمودن شرایط محیطی یکسان در شرایط درون‌شیشه (شدت نور و دمای محیط)، پس از انجام واکشت‌های متعدد (بیش از ۱۰ واکشت هریک با دوره رشدی ۳۰ روزه)، با مشکلاتی از جمله تولید نوساقه‌هایی با رشد کند و بطئی مواجه گردید که از نظر کیفیت رشد رویشی در مقایسه با نوساقه‌های بارشد عادی تفاوت قابل ملاحظه‌ای داشت (شکل ۱). در این مطالعه تاثیر برخی آنتی‌اکسین‌ها (تیبا و اسکوپولتین) و متیل جاسمونات هریک به طور جداگانه در غلظت ثابت ۱ میلی‌گرم (براساس آزمایش اولیه و همچنین نتایج گزارش شده توسط Sing و همکاران (۲۰۰۰)) روی بهبود مشکلات فیزیولوژیکی رشدی یاد شده با استفاده از دو نوع ریزنمونه (ریزنمونه‌های با رشد عادی و ریزنمونه‌های با رشد کند و بطئی) مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج حاصل از تجزیه واریانس مربوط به صفات تعداد، طول، وزن تر نوساقه و همچنین نرخ پرآوری بیانگر معنی‌دار بودن تأثیر نوع ریزنمونه، نوع محرک رشدی و همچنین اثر متقابل آنها روی صفات یادداشت‌برداری شده در سطح یک درصد بود (جدول ۱).

همچنین نتایج حاصل از مقایسه میانگین با آزمون چنددامنه‌ای دانکن نشان داد که تیمارهای استفاده شده در تحریک ریزنمونه‌های حاصل از نوساقه‌های با رشد کند و بطئی و همچنین در بهبود رشد ریزنمونه های سالم اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد (بدون استفاده از آنتی‌اکسین یا متیل-جاسمونات) داشتند؛ به طوریکه اسکوپولتین با تحریک ریزنمونه های با رشد کند و بطئی منجر به بهبود صفات کیفی و کمی با تولید بیشترین تعداد نوساقه (۰/۲ ± ۳/۵)، با بیشترین رشد طولی (۰/۰۲cm ± ۱/۷۷)، بیشترین وزن تر (۰/۰۱ ± ۰/٤) همراه با بالاترین نرخ پرآوری (۰/۳۵cm ± ٦/۰٤) در مقایسه با تیبا با اختلاف معنی‌دار حاصل گردید. اثر متیل جاسمونات نیز روی بهبود پارامترهای رشدی به طور معنی-داری بیشتر از آنتی‌اکسین تیبا و همچنین شاهد بود. اسکوپولتین و متیل جاسمونات همچنین در مقایسه با شاهد و تیبا، تاثیر معنی‌داری در بهبود صفات کیفی و کمی ریزنمونه-های حاصل از نوساقه‌های بارشد عادی داشتند، بطوری‌که بیشترین تعداد نوساقه (٤/۱۲±۰/۱۷)، رشد طولی (٤/۳۱±۰/۱۱cm)، وزن تر (۰/٦٤±۰/۰2g) و همچنین بالاترین نرخ پرآوری (۱۸/۲۵±۰/۸٤cm) در حضور اسکوپولتین حاصل گردید (شکل های ۲ و ۳). براساس نتایج گرفته شده می‌توان به نقش بارز اسکوپولتین با فعالیت IAA–اکسیدازی در مقایسه با سایر تنظیم‌کننده‌های رشدی استفاده شده در این مطالعه اشاره نمود که احتمالا بیانگر نقش و عملکرد متفاوت این مواد در سلول می باشد. اسکوپولتین به عنوان یکی از اولین ترکیبات فنولی شناخته شده کومارین، در مقادیر کم(کمتر از ۱۲/۵ میلی گرم در لیتر) افزایش‌دهنده فعالیت IAA–اکسیدازی (تجزیه IAA) و در مقادیر زیاد مهار کننده فعالیت IAA–اکسیدازی می‌باشد (Imbert and Wilson, 1970; Sirois and Miller, 1972). اخیراً کارایی اسکوپولتین در بهبود صفات رشدی در مقایسه با تیبا در سایر درختان میوه گزارش شده است (ملکی و همکاران، ۱۳۹۱؛ ملکی، ۱۳۹۲؛ ملکی و همکاران، ۱۳۹۳ Chong and Andrew, 2006;).آنتی‌اکسین تیبا به عنوان یکی از اعضاء خانواده فیتوتروپین‌ها محسوب می‌گردد که با متوقف کردن انتقال قطبی اکسین داخل سلولی تاثیر بارز فیزیولوژیکی در رشد گیاه می‌گذارد که از مهمترین آن‌ها می‌توان به کاهش رشد طولی گیاه، افزایش شاخه‌زایی و تاثیر غیر قابل پیش‌بینی در شرایط مختلف محیطی بر رشد گیاه اشاره نمود (Naidu *et al.*,

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-27]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1396.6.19.14.2]



شکل ۱- تاثیر نوع ریزنمونه روی رشد کیفی نوساقه. نوساقه‌های تکثیر شده در محیط کشت MS حاوی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۰/۲ میلی-گرم در لیتر IBA. a) نوساقه‌های با رشد کند و بطئی و b) نوساقه‌های عادی.

جدول ۱- تجزیه واریانس تأثیر متیل‌جاسمونات، آنتی اکسین‌های اسکوپولتین و تیبا روی شاخص‌های رشدی

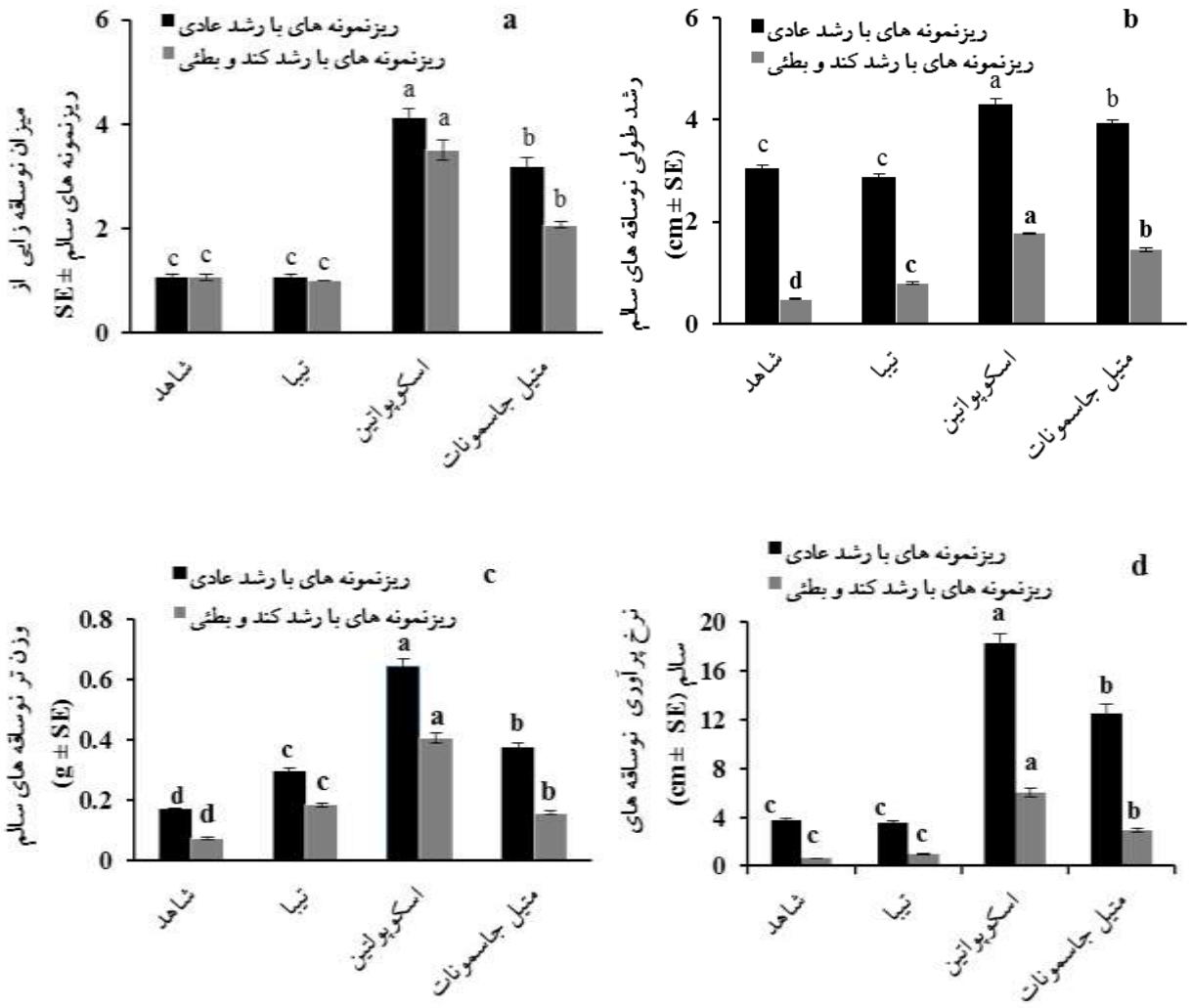
منبع تغییرات	درجه آزادی	تعداد نوساقه	وزن تر نوساقه (g)	طول نوساقه (cm)	پرآوری (cm)
نوع ریز نمونه	۱	۵/٤٦**	۰/۸۹**	۱۸۷/٦۹**	٦۷۳/۹۸**
آنتی‌اکسین	۳	۲/۸۸**	۰/۹۲**	۱۲/۷۹**	۱۰۷/۳۷**
آنتی‌اکسین × نوع ریزنمونه	۳	۰/۸۳**	۰/۰٤**	۰/٤٤**	۳۱/٤۱**
خطا	۱۲۰	۰/۰۱۱	۰/۰۰۲	۰/۰٦	۰/۲۷۵
٪CV		۷/٤۱	۱۸/۰۵	۱۰/۸۳	۱٤/۰٤

** بیانگر اختلاف معنی دار در سطح α=۰/۰۱ می‌باشد

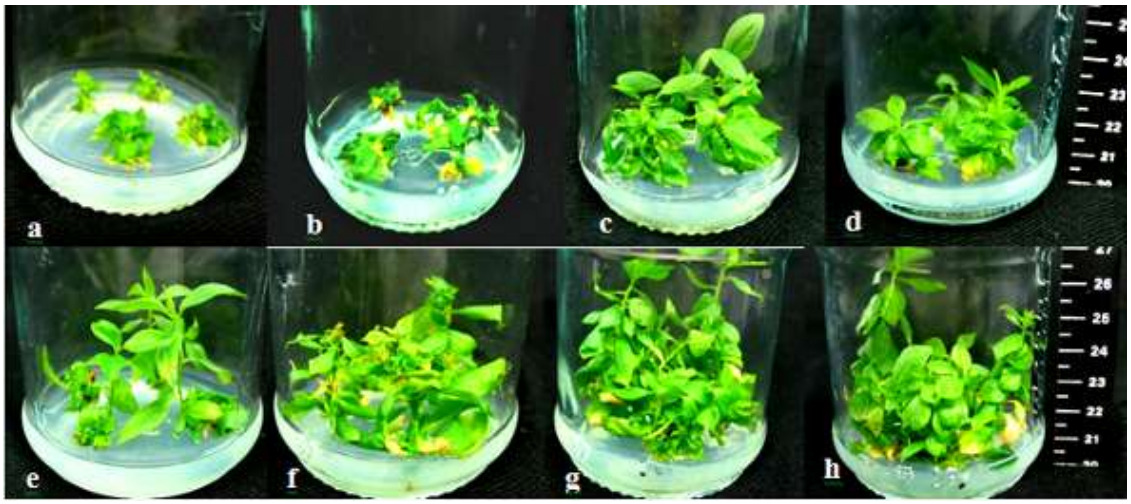
2014; Ramanayake *et al.*, 2008; Venkatesh *et al.*, 2009). جاسمونات‌ها در حال حاضر به عنوان هورمون درون‌سلولی بشمار می‌روند؛ که نقش های مهمی در جنبه های متعدد رشدی از قبیل تنظیم تجمع متابولیت های ثانویه متعدد (Wanger *et al*, 2015)، محافظت گیاهان در مقابل تنش‌های زیستی و غیر زیستی (Rohwer and Erwin, 2008)، غده‌زایی (Koda and Kikuta, 1991) و اخیرا تولید پیازچه در گیاهان زینتی (Hosseini *et al.*, 2013) بازی می‌کنند. در مطالعه‌ای (Hosseini, *et al.*, 2013) نشان داده شد که متیل جاسمونات بر ریشه‌زایی در گل نرگس تأثیر بارزی دارد که تا حدودی این تأثیر در روی شاخص رشدی دیگر مشاهده می‌شود. هر چند عنوان می‌شود که متیل جاسمونات باعث نکروزه شدن بافت می شود ولی مطالعه بالوسامی و همکاران (۲۰۱۵) نشان داد که تیمار خارجی آن در غلظت ۵۰ ماکرو مولار باعث ترمیم و بهبود بافت‌های آسیب دیده و مانع نکروزه شدن برگ‌ها در گیاه *Panax ginseng* می شود. لذا به نظر می‌رسد نوع تأثیر آن بسته به نوع گیاه (ژنوتیپ)، بافت، میزان غلظت، مدت زمان تیمار و نوع صفت و شاخص فیزیولوژیک می‌تواند متفاوت بوده و مطالعات دقیق‌تری را می‌طلبد.

نتایج حاصل از بررسی فعالیت آنزیم IAA–اکسیداز (جدول ۲) نشان می دهد که تاثیر تیمارهای استفاده شده در این آزمایش روی تغییرات فعالیت آنزیم IAA–اکسیداز در بازه دوره رشدی ۳۰ روزه، بسته به نوع ریزنمونه متفاوت بود. بطوریکه ریزنمونه‌های با رشد کند و بطئی تیمار شده با آنتی اکسین تیبا، در مقایسه با سایر تیمارهای بکار برده شده و همچنین تیمار شاهد، در روز نخست بعد از اعمال تیمار بیشترین فعالیت IAA–اکسیدازی را نشان دادند (۲۱۷/۳۲μ min /g) که با یک روند نزولی معنی‌دار (۳٦/۵۷ μ min /g) در روز

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-27]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1396.6.19.14.2]



شکل۲-مقایسه آزمون چند دامنه‌ای دانکن اثر متیل جاسمونات، آنتی اکسین‌های تیبا واسکوپولتین روی صفات رشدی. a) تعداد نوساقه، b) رشد طولی، c) وزن تر و d) پرآوری ریزنمونه‌های با رشد عادی و ریزنمونه‌های با رشد کند و بطئی. حروف متفاوت بالای ستون‌ها بیانگر اختلاف معنی دار در سطح α=۰/۰۱ می‌باشد



شکل ۳-تأثیر آنتی‌اکسین‌ها و متیل‌جاسمونات روی کیفیت رشد رویشی نوساقه. ریزنمونه‌های با رشد کند و بطئی (a-d) و ریزنمونه‌های سالم (e-h). a و e)شاهد، b و f) تیبا، c و g) اسکوپولتین، d و h) متیل‌جاسمونات.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-27]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1396.6.19.14.2]

جدول ۲- تاثیر متیل جاسمونات، آنتی‌اکسین‌های اسکوپولتین و تیبا روی تغییرات فعالیت آنزیم IAA-اکسیداز

نوع ریزنمونه	نوع تیمار	روز اول (μ /min / g FW)	روز ۱۵ام (μ /min / g FW)	روز ۳۰ام (μ /min / g FW)
ریزنمونه‌های بارشد کند و بطئی	شاهد	۱۶۲/۸^{a}	۸۹/۶۵^{b}	۱۰۸/۱۰^{b}
	تیبا	۲۱۷/۳۲^{a}	۱۰۴/۷۲^{b}	۵۷/۳۶^{c}
	اسکوپولتین	۱۲۶/۳۵^{b}	۷۵/۴۰^{c}	۱۹۴/۵۹^{a}
	متیل‌جاسمونات	۶۰/۰۴^{a}	۵۵/۳۳^{a}	۵۸/۷۶^{a}
ریزنمونه‌های عادی	شاهد	۱۳۲/۸۲^{a}	۴۷/۱۴^{c}	۹۴/۴۱^{b}
	تیبا	۸۱/۶۰^{a}	۵۷/۳۵^{b}	۶۷/۲۷^{ab}
	اسکوپولتین	۲۳/۵۷^{b}	۴۹/۴۸^{a}	۱۸/۶۲^{b}
	متیل‌جاسمونات	۲۸/۰۴^{a}	۱۴/۵۵^{a}	۳۲/۶۷^{a}

حروف متفاوت در هر ردیف بیانگر اختلاف معنی دار در سطح α=۰/۰۱ می‌باشد.

سی‌ام کاهش یافت. در مقابل تغییرات فعالیت IAA-اکسیدازی اسکوپولتین با کاهش معنی‌دار در روز ۱۵ام نمونه برداری در روز پایانی روند افزایشی معنی‌داری داشت (جدول ۲). بررسی تغییرات فعالیت آنزیم IAA-اکسیداز نوساقه‌های حاصل از ریزنمونه‌های سالم بیانگر بیشترین فعالیت IAA-اکسیدازی آنتی‌اکسین تیبا در اوایل دوره رشدی و اسکوپولتین در روز ۱۵ام نمونه برداری (۴۹/۴۸ μ min /g FW) بود. نظر به فعالیت بالای آنزیم IAA-اکسیداز تیمار های شاهد مربوط به هردونوع ریزنمونه در بازه زمانی ۳۰ روزه، احتمالاً بیانگر مکانیسم عمل چند بعدی (Multi-function) تیبا و اسکوپولین روی رشد و تمایز و متعاقب آن بهبود صفات کیفی و کمی مورد بررسی در این مطالعه می‌باشد؛ در غیر اینصورت رشد ریزنمونه‌ها در تیمار شاهد می‌بایست به نحو قابل ملاحظه‌ای بیشتر می‌بود؛ در حالیکه بطور معنی‌داری کمترین میزان رشد و نوساقه‌زایی مربوط به این تیمار می باشد (شکل ۲). این نتایج احتمالاً بیانگر عملکرد متفاوت فیزیولوژیکی دو آنتی‌اکسین مذکور بوده، بطوریکه که آنتی اکسین تیبا با بیشترین فعالیت IAA-اکسیدازی در اوایل دوره رشدی و اسکوپولتین با بیشترین تاثیر از روز ۱۵ام (اواخر دوره رشدی) به بعد، منجر به تحریک رشد ریزنمونه‌های بارشد کند و بطئی گردیده‌اند. بهرحال شاخص های رشدی در روز ۳۰ام یادداشت برداری گردید؛ ولی چنانچه شاخص‌های رشدی در روز های ۱ و ۱۵ نیز بررسی شود می تواند درک بهتری از ارتباط تغییرات فعالیت آنزیمی با شاخص های رشد را ارایه نماید. این مهم، لزوم مطالعات بیشتر برای درک بهتر مکانیسم‌های عمل این مواد روی رشد و تمایز را امری اجتناب‌ناپذیر می نماید. از طرفی دیگر، نتایج حاصل از تغییرات غیرمعنی‌دار فعالیت آنزیمی متاثر از اعمال متیل جاسمونات روی تحریک رشد هر دونوع ریزنمونه، می تواند بیانگر مکانیسم عمل متفاوت این ماده (Balusamy *et al.*, 2015) در بهبود رشد صفات کیفی و کمی مورد مطالعه در این پژوهش باشد؛ که نیاز به بررسی و تحقیق بیشتر را نشان می دهد (جدول ۲). در مقایسه با نتایج بدست آمده در این مطالعه، گزارش‌های متعددی از تاثیر تیبا در افزایش نوساقه‌زایی گیاه رز (Singh and Syamal, 2000)، نارون (Shukla *et al.*, 2012) به عنوان دستور العمل موفق گزارش گردیده است؛ در مطالعات مذکور تغییرات آنزیمی IAA-اکسیداز مورد بررسی قرار نگرفته است تا بتوان میزان رشد متاثر از تغییرات فعالیت آنزیمی در این مطالعه را با آن‌ها مورد بررسی و مقایسه دقیق‌تر قرار داد.

تشکر و قدردانی:

این پژوهش با حمایت مالی دانشگاه بین‌المللی امام خمینی(ره)

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-27]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1396.6.19.14.2]

و با کد طرح پژوهشی ۱۱۵۱٤ در آزمایشگاه‌های گروه بیوتکنولوژی دانشگاه انجام یافته است. بدینوسیله نویسندگان مراتب تشکر و امتنان خود را از حمایت‌های صورت‌گرفته در طی اجرای پروژه ابراز می‌دارند.

منابع:

استادشریف، ا. (۱۳۹۰) بهینه‌سازی ریزازدیادی پایه رویشی سنت جولین در شرایط درون‌شیشه (*Prunus domestica SPP. Insititia*). پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه بین‌المللی امام خمینی(ره)، قزوین، ایران.

استادشریف، ا.، گروسی، ق.، حداد، ر. و نظامی، ا. (۱۳۹۳) تاثیر محیط کشت، قند و تنظیم‌کننده رشدی روی ریزازدیادی پایه رویشی سنت جولین A (*Prunus domestica spp. Insititia*). بیوتکنولوژی کشاورزی ۹:۱۳-۸.

ملکی، س. (۱۳۹۲) مطالعه تاثیر بازدارنده‌های انتقال اکسین روی فعالیت IAA-اکسیداز و پراکسیداز در پایه‌های رویشی پسته (قزوینی و UCB-1) در شرایط درون‌شیشه، پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه بین‌المللی امام خمینی(ره)، قزوین، ایران.

ملکی، س.، گروسی، ق، حداد، ر. و نظامی، ا (۱۳۹۱)گامی در تهیه پروتکل ریزازدیادی پسته (پایه رویشی قزوینی): باتاکید بر تاثیر اسکوپولتین. کنگره ملی آخرین یافته‌های علمی و تحقیقاتی پسته، دانشگاه تربت حیدریه.

ملکی، س.، گروسی، ق، حداد، ر. و نظامی، ا (۱۳۹۲) تاثیر آنتی‌اکسیدانتی برخی از القاءکننده‌های نوساقه و ریشه‌زایی در پسته (پایه-های رویشی قزوینی و UCB-1) در شرایط درون‌شیشه. مجله مهندسی ژنتیک و ایمنی زیستی. پذیرفته شده برای چاپ .

زارعی، م.، گروسی، ق.، نظامی، ا. و حسینی، ر. (۱۳۹۲) ریزازدیادی گزیلا ٦: تاثیر محیط کشت، منبع کربن و تنظیم‌کننده‌های رشدی (PGRs). مجله سلول و بافت ۲: ۱٦۹-۱۸۵.

Beckman, T. and Lang, G. (2002) Rootstock breeding for stone fruits. XXVI International Horticultural Congress: Genetics and Breeding of Tree Fruits and Nuts 622: 531-551.

Beffa, R., Martin, H. and Pilet, P-E. (1990) *In vitro* oxidation of indoleacetic acid by soluble auxin-oxidases and peroxidases from maize roots. Plant Physiology 94: 485-491.

Bradford, M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry 72: 248-254.

Balusamy, S. R. D., Rahimi, S., Sukweenadhi, J., Kim, Y. J., Yang, DC. (2015) Exogenous methyl jasmonate prevents necrosis caused by mechanical wounding and increases terpenoid biosynthesis in *Panax ginseng*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC) 123: 341-348.

Chong, S. and Andrew, P. (2006) The relationship of dwarfing and IAA oxidase activity in sweet cherry (*Prunus avium* L.) rootstocks. Journal of Tropical Agriculture and Food Science 34:211-217.

Fotopoulos, S. and Sotiropoulos, T. (2005) *In vitro* propagation of the PR 204/84 (*Prunus persica* × *P. amygdalus*) rootstock: axillary shoot production and rhizogenesis. New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science 33:75-79.

George, E., Hall, M. and De Klerk, G-J. (2008a) Plant growth regulators I: Introduction; auxins, their analogues and inhibitors. Plant propagation by tissue culture. Springer, p_p 175-204.

George EF, Hall MA, De Klerk G-J (2008b) Plant growth regulators II: cytokinins, their analogues and antagonists. Plant propagation by tissue culture. Springer, Pp 205-226.

Gordon, S. and Weber, R. (1951) Colorimetric estimation of indoleacetic acid. Plant physiology 26(1): 192-195

Hosseini, R., Moradnejad, M., Nezami-Alanagh, E., Ashrafi, S. and Ghane-Golmohammadi, F. (2013) Somatic embryogenesis and bulblet production in *Narcissus papyraceus*cv. Shirazi: effect of plant growth regulators, light intensity, sucrose concentration, methyl jasmonate and anti-gibberellin. Journal of Genetics and Plant Breeding 2: 27-34.

Imbert, M. and Wilson, L. (1970) Stimulatory and inhibitory effects of scopoletin on IAA oxidase preparations from sweet potato. Phytochemistry 9: 1787-1794.

Koda, Y. and Kikuta, Y. (1991) Possible involvement of jasmonic acid in tuberization of yam plants. Plant and Cell Physiology 32: 629-633.

Kornova, K and Popov, S. (2007) Effect of the *in vitro* container type on growth characteristics of the microplants in *in vitro* propagation of GF 677. I Balkan Symposium on Fruit Growing 825: 277-282.

Magyar, Z., De Veylder, L., Atanassova, A., BakÃ, L., InzÃ, D. and BÃgre, L. (2005) The role of the Arabidopsis E2FB transcription factor in regulating auxin-dependent cell division. The Plant Cell Online 17: 2527-2541.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-27]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1396.6.19.14.2]

Naidu, J. H., Ashok, P., Sekhar, R. C. and Sasikala, K. (2014) Effect of plant growth retardants and spacings on vegetative growth and flower yield of African marigold (*Tagetes erecta* L) cv Pusa Narangi Gainda. International Journal of Farm Sciences 4: 92-99.

Nezami-Alanagh, E., Garoosi, G-A., Haddad, R., Maleki, S., Landin, M. and Gallego, P. P. (2014) Design of tissue culture media for efficient Prunus rootstock micropropagation using artificial intelligence models. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 117: 349-359.

Nezami-Alanagh, E., Garoosi, G. and Haddad, R. (2010) The effect of PGRs on *in vitro* shoot multiplication of GF677 hybrid (*Prunus persica*× *P. amygdalus*) rootstock on GNH medium. Iranian Journal of Genetics and Plant Breeding 1:34-43.

Pacurar, D., Perrone, I. and Bellini, C. (2014) Auxin is a central player in the hormone cross-talks that control adventitious rooting. Physiologia Plantarum 151: 83-96.

Pasternak, T. P., Prinsen, E., Ayaydin, F., Miskolczi, P., Potters, G., Asard, H., Van Onckelen, H., Dudits, D. and FehÃr, A. (2002) The role of auxin, pH, and stress in the activation of embryogenic cell division in leaf protoplast-derived cells of alfalfa. Plant Physiology 129: 1807-1819.

Ramanayake, S., Maddegoda, K., Vitharana, M. and Chaturani, G. (2008) Root induction in three species of bamboo with different rooting abilities. Scientia Horticulturae 118: 270-273.

Ranade, R. and Kanwar, K. (2014) Examining synergistic effects of TDZ and TIBA on adventitious shoot induction in Dianthus caryophyllus L. leaf explants. International Journal of Agricultural Science and Research (IJASR) 4: 17-26.

Rohwer, C. and Erwin, J. (2008) Horticultural applications of jasmonates: a review. Journal of Horticultural Science and Biotechnology 83: 283-304.

Rossin, C. and Rey, M. (2011) Effect of explant source and auxins on somatic embryogenesis of selected cassava (*Manihot esculenta* Crantz) cultivars. South African Journal of Botany 77: 59-65.

Ruzic, D. and Vujovic, T. (2008) The effects of cytokinin types and their concentration on in vitro multiplication of sweet cherry cv. Lapins (*Prunus avium* L.). Horticultural Science 35: 12-21.

Shukla, M. R., Jones, A. P., Sullivan, J. A., Liu, C., Gosling, S. and Saxena, P. K. (2012) *In vitro* conservation of American elm (*Ulmus americana*): potential role of auxin metabolism in sustained plant proliferation. Canadian Journal of Forest Research 42: 686-697.

Shukla, P., Das, A., Jha, B. and Agarwal, P. (2014) High-frequency in vitro shoot regeneration in Cucumis sativus by inhibition of endogenous auxin. *In Vitro* Cellular & Developmental Biology-Plant 50: 729-737.

Singh, S. and Syamal, M. (2000) Anti-auxin enhance *Rosa hybrida* L. micropropagation. Biologia Plantarum 43 : 279-281.

Sirois, J. C. and Miller, R. (1972) The mechanism of the scopoletin-induced inhibition of the peroxidase catalyzed degradation of indole-3-acetate. Plant physiology 49: 1012-1018.

Tatari, V., Mousavi, S. and Bouzari, N. (2012) Micropropagation of some clonal rootstocks of stone fruits. Seed and Improvement Journal 28: 53-66.

Venkatesh, K., Rani, A., Baburao, N. and Padmaja, G. (2009) Effect of auxins and auxin polar transport inhibitor (TIBA) on somatic embryogenesis in groundnut (*Arachis hypogaea* L.). African Journal of Plant Science 3: 288-293.

Wang J., Qian j., Lu Y. (2015) Enhanced Production of Flavonoids by Methyl Jasmonate Elicitation in Cell Suspension Culture of Hypericum Perforatum. Bioresource and Bioprocessing. 2:1-9

Yang, X., Zhang, X., Yuan, D., Jin, F., Zhang, Y. and Xu, J. (2012) Transcript profiling reveals complex auxin signalling pathway and transcription regulation involved in dedifferentiation and redifferentiation during somatic embryogenesis in cotton. BMC Plant Biology 12: 110.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-27]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1396.6.19.14.2]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1396.6.19.14.2] [Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-27]