Journal of
Plant Environmental Physiology
Print ISSN: 2423-7671
Online ISSN: 2783-4689
Phycological Society of Iran

Study of the effect of auxin and gibberellin on growth, total chlorophyll, carotenoid and terpenoid content in *Euphorbia trigona* Mill.

Hakimeh Rezaei[1], Aryan Sateei[2*], Tahereh A. Aghajanzadeh[3], Mehdi Ebadi[4]
1 Department of Plant Biology, Faculty of Basic Sciences, Gorgan Branch, Islamic Azad University, Gorgan, Iran.
2 Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Gorgan Branch, Islamic Azad University, Gorgan, Iran,
E-mail: aryan.Sateei@iau.ac.ir
3 Department of Plant Sciences, Faculty of Science, University of Mazandaran, Babolsae, Iran. E-mail: t.aghajanzadeh@umz.ac.ir
4 Department of Chemistry, Faculty of Basic Sciences, Gorgan Branch, Islamic Azad University, Gorgan, Iran.

Article type:
Research article

Article history
Received: 30.10.2022
Revised: 19.12.2022
Accepted: 25.12.2022
Published:22.12.2023

Keywords
Auxin
Carotenoid
Chlorophyll
Euphorbia trigona
GC-MS
Gibberellin
Indole butyric acid
Naphthalene acetic acid
Terpenoid

Abstract

This study was conducted to investigate the effects of auxin and gibberellin on Euphorbia trigona Mill. in a randomized complete block design in greenhouse conditions in 2020. One minute pretreatments including auxin regulators of NAA, IBA and IAA at a concentration of 500 mg / l and treatments containing GA, IAA, IBA and NAA, 250 mg / l were applied and compared with each other and with control plants. Fresh and dry weights of stems and roots, dry weight percentage, total photosynthetic pigments content, and total terpenoids were measured. Fresh and dry weight and the percentage of dry weight of stem did not show sensitivity to the treatments and pretreatments, and the effects were not significant. NAA treatment had the most positive effect on root fresh and dry weight, although the percentage of root dry weight was not significantly affected by the treatments. The highest significant increase in terpenoid content was observed in NAA treatment and NAA and IBA pretreatments. GA treatment had the most positive effects on the content of chlorophylls a, b, total and carotenoid content. In terms of effects on photosynthetic antenna composition, the most positive effects on the ratio of total chlorophyll to carotenoids were observed in GA, NAA, IAA treatments and IAA pretreatment. IAA treatment also showed a significant increase in chlorophyll a to b ratio. The correlation between growth parameters with each other and also the correlation of chlorophyll content with each other and with carotenoids were positive and significant. However, the correlation of terpenoid content with none of the other traits was significant. On the other hand and from an application point of view, based on gas chromatography-mass spectrometry measurements, naphthalene-acetic-acid treatment was effective in severely increasing the content of valuable medicinal compound, bis-2-ethylhexyl phthalate, compared to the control.

Cite this article as Rezaei, H., Sateei, A., Aghajanzadeh, T.A., Ebadi, M. (2023). Study of the effect of auxin and gibberellin on growth, total chlorophyll, carotenoid and terpenoid content in *Euphorbia trigona* Mill. *Journal of Plant Environmental Physiology*, 18(4): 143-166.

©The author(s)
Publisher: Islamic Azad University, Gorgan branch
Doi: https://doi.org/10.71890/iper.2023.1105569

فیزیولوژی محیطی گیاهی
شاپا چاپی: ۲۴۲۳-۷۶۷۱
شاپا الکترونیکی: ۲۷۸۳-۴۶۸۹
PSI
انجمن جلبک شناسی ایران
Phycological Society of Iran
دانشگاه آزاد اسلامی
واحد گرگان

مطالعه تاثیراکسین و جیبرلین بر رشد، محتوای کلروفیلی، کاروتنوئیدی و ترپنوئیدی کل در گیاه افوربیا تریگونا (*Euphorbia trigona* Mill.)

حکیمه رضایی[۱]، آرین ساطعی[۲*]، طاهره السادات آقاجانزاده[۳]، مهدی عبادی[۴]

[۱] گروه زیست شناسی گیاهی ، دانشکده علوم پایه، واحد گرگان، دانشگاه آزاد اسلامی، گرگان، ایران،
[۲] گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه،واحد گرگان، دانشگاه آزاد اسلامی، گرگان، ایران، رایانامه:Aryan.Sateei@iau.ac.ir
[۳] گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران، رایانامهt.aghajanzadeh@umz.ac.ir
[۴] گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، واحد گرگان، دانشگاه آزاد اسلامی، گرگان، ایران،

نوع مقاله:
مقاله پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۸/۰۸
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۰۹/۲۸
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۰/۰۴
تاریخ چاپ:۱۴۰۲/۱۰/۰۱

واژه‌های کلیدی:
افوربیا تریگونا
اکسین
ایندول بوتیریک اسید
بیس ۲-اتیل¬هگزیل فتالات
ترپنوئید
ژیبرلین
کاروتنوئید
کلروفیل
گازکروماتوگرافی-اسپکترومتری جرمی
نفتالن استیک اسید

چکیده

این پژوهش به‌منظور مطالعه تاثیراکسین و جیبرلین بر گیاه افوربیا تریگونا در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سال ۱۳۹۹ در شرایط گلخانه‌ای به اجرا درآمد. پیش تیمارهایی یک دقیقه‌ای شامل تنظیم‌کننده‌های اکسینی نفتالن‌استیک‌اسید، ایندول‌بوتیریک‌اسید و ایندول استیک‌اسید با غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر و تیمارهایی شامل هورمون‌های ژیبرلین، ایندول استیک‌اسید، ایندول‌بوتیریک‌اسید و نفتالن‌استیک‌اسید در غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر در مقایسه با هم و با گیاهان شاهد به کار گرفته شدند. وزن تر و خشک و درصد وزن خشک ساقه و ریشه، محتوای کلی رنگیزه‌های فتوسنتزی و مقدار ترپنوئیدهای کل اندازه گیری شد. وزن تر و خشک و درصد وزن خشک ساقه نسبت به تیمارها و پیش تیمارهای به کار رفته حساسیتی نشان نداد و تاثیرات معنی‌دار نبود. تیمار نفتالن استیک اسید بیشترین اثر مثبت را در افزایش وزن تر و خشک ریشه داشت هر چند درصد وزن خشک ریشه تحت تاثیرات معنی‌دار تیماری قرار نگرفت. بیشترین افزایش معنی‌دار در محتوای ترپنوئیدی در تیمار نفتالن‌استیک اسید و پیش تیمار نفتالن‌استیک اسید و ایندول‌بوتیریک‌اسید مشاهده شد. تیمار ژیبرلین بیشترین اثرات مثبت را بر محتوای هر یک از کلروفیل‌های a و b، مجموع آنها و نیز محتوای کاروتنوئیدی داشت. از نظر تاثیر بر ترکیب آنتن فتوسنتزی نیز بیشترین تاثیرات مثبت بر نسبت کلروفیل کل به کاروتنوئید در تیمارهای ژیبرلین، نفتالن‌استیک‌اسید، ایندول‌استیک‌اسید و پیش تیمار ایندول‌استیک‌اسید ملاحظه شد. همچنین تیمار ایندول‌استیک‌اسید افزایش معنی‌داری را در نسبت کلروفیل a به b نشان داد. همبستگی بین پارامترهای رشد با یکدیگر و نیز همبستگی محتوای کلروفیل‌ها با یکدیگر و با کاروتنوئیدها مثبت و معن یدار بود. با اینحال همبستگی محتوای ترپنوئیدی با هیچیک از موارد دیگر معنی دار نبود. از سوی دیگر و از نقطه نظر کاربردی، بر اساس اندازه‌گیری‌های کروماتوگرافی گازی-طیف‌سنجی جرمی، تیمار نفتالین-استیک-اسید در افزایش شدید محتوای ترکیب دارویی ارزشمند بیس-۲-اتیل هگزیل فتالات نسبت به شاهد موثر بود.

استناد: رضایی، حکیمه؛ ساطعی، آرین؛ آقاجانزاده، طاهره السادات؛ عبادی، مهدی .(۱۴۰۲). مطالعه تاثیراکسین و جیبرلین بر رشد، محتوای کلروفیلی، کاروتنوئیدی و ترپنوئیدی کل در گیاه افوربیا تریگونا (*Euphorbia trigona* Mill). *فیزیولوژی محیطی گیاهی*، ۱۸(۴)، ۱۶۶-۱۴۳.

Doi: https://doi.org/10.71890/iper.2023.1105569
ناشر: دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گرگان
CC BY NC

مقدمه

خانواده فرفیون Euphorbiaceae، خانواده بزرگی از گیاهان می‌باشند که شامل ۳۰۰ جنس و متجاوز از ۸۰۰ گونه‌اند. در اکثر نواحی کره زمین به جز مناطق قطبی و قله کوه‌های مرتفع، این خانواده از گیاهان پراکنده‌اند. تعداد زیادی از این گیاهان قادر به تولید نوعی لاتکس سمی هستند که اثر تحریکی بر روی بافت‌های مخاطی دارد. گونه‌هایی از این جنس به عنوان گیاه زینتی در خانه‌ها نگهداری می‌شوند (Tyler et al., 1998).

گیاهان متعلق به خانواده فرفیون به‌دلیل داشتن استرهای دیترپن و تریترپن، لکتین و ترکیبات آلکالوئیدی و همچنین مشتقات فوربول، تیگلیانه، دافنانه و سم‌های استردیترپن اینگنانه (Dagang et al., 1992; Gundidza et al., 1993) دارای ویژگی آفت‌کشی هستند و از شیرابه و عصاره گیاهان متعلق به این خانواده در دفع آفات گیاه به ویژه لارو حشرات، نرمتنان در مزارع کشاورزی غرقابی و نیز کنترل بیماری‌های باکتریایی و ویروسی و قارچ‌ها در محصولات زراعی در برخی از کشورهای افریقایی استفاده می‌شود (Mwine et al., 2013). ترکیبات جدا شده از جنس افوربیا شامل فلاونوئیدها، تری ترپنوئیدها، آلکان‌ها، اسیدهای آمینه وآلکالوئیدها هستند. اثرات ضدالتهابی، آنتی‌اکسیدانی و ضدتوموری فلاونوئیدهای خانواده افوربیاسه نیز کاملا شناخته شده است (Özlem et al., 2013).

همچنین بسیاری از گونه‌های افوربیا دارای خاصیت ضدمیکروبی و ضدسرطانی و ضدویروسی می‌باشند و از آنها مولکول‌های فعال دارویی مانند تانن وفلاونوئید وترپنوئید ولاکتون جدا شده است (Bigoniya et al., 2006). فرفیون دارای لوله‌های شیرابه‌ای حاوی لاتکس که شامل متابولیت‌های اولیه وثانویه می‌باشد. کارکرد بسیاری از متابولیت‌های ثانویه هنوز به‌طور واضح شناخته نشده است؛ اما این ترکیبات امروزه درگیاه شناسی جدید دارای اهمیت به‌سزایی هستند ترکیبات جدا شده از جنس افوربیا بیشتر شامل فلاونوئیدها، ترپنوئیدها، آلکان‌ها، اسیدهای آمینه وآلکالوئیدها می‌باشند. اثرات ضدالتهابی، آنتی‌اکسیدانی و ضد توموری فلاونوئیدهای خانواده افوربیاسه کاملا شناخته شده است (Özlem et al., 2013). ترپن‌ها بزرگترین گروه از متابولیت‌های ثانویه را تشکیل می‌دهند که با مواد سنتز شده عمومی با مسیر استیل کوآنزیم A یا حد واسطهای گلیکولیتیک پیوند می‌شوند. گستره وسیعی از ساختارهای ترپنی متفاوت به وسیله گیاهان تحت عنوان متابولیت‌های ثانویه تولید شده‌اند که به نظر می‌رسد به صورت سموم یا بازدارنده‌های تغذیه‌ای علیه شمار زیادی از حشرات و پستانداران گیاهخوار عمل می‌نمایند (Gershenzon et al.,1991).

برخی از فوربیاها برای اهداف زینتی (*Euphorbia milliDes*. Moul.، *Euphorbia tirucalli* L.، *Euphorbia lacteal* Roxb.) و همچنین اهمیت اقتصادی (*Euphorbia antisyphilitica* Zucc. candelilla) و نیز اهداف درمانی مورد استفاده قرار می گیرند. مطالعات غربالی انجام شده بر گونه‌های مختلف افوربیا حاکی از خواص درمانی سودمند این گیاهان برای درمان بیماری‌های مختلف نظیرسرطان، روماتیسم، آسم، عفونت‌های باکتریایی ودردهای عصبی است (Kukenov, 1977). عصاره گیاه برای درمان گوش درد، برای درمان عفونت طحال، سیاه سرفه، آسم و عفونتهای خونی استفاده می‌شود. در برخی از گونه‌های جنس *Euphorbia* حضور ترکیبات ترپنوئیدی و استرولی نشان داده شده است (Pradhan et al., 1969). استرول‌های گیاهی از ترکیبات تریترپنوئیدی می‌باشند که بیش از صد نوع مختلف از آنها در طبیعت شناسایی شده است. این متابولیت‌ها در

همه بافت‌های گیاهان عالی و بافراوانی بیشتر در بذرها دیده می‌شوند (Lagarda et al., 2006).

مطالعه فیتوشیمیایی جنس افوربیا نشان دهنده خواص ضدسمیت سلولی و ضدسرطانی بسیاری از دیترپنوئیدها است که برای درمان التهاب بسیار مفید هستند (Modupe, et al., 2009). با این‌حال در مورد گونه Euphorbia trigona تاکنون مطالعه فیتوشیمیایی کاملی صورت نگرفته است.

بکارگیری تنظیم کننده‌های رشد گیاهی نظیر اکسین‌های طبیعی یا مصنوعی، پیش نیازی برای ظهور ریشه نابجا روی ساقه است ودر واقع ثابت شده است که تقسیم اولین سلول‌های مریستمی ریشه زا، به وجود اکسین درونی و یا اکسین مصنوعی، وابسته است (Khosh Khoi et al., 2003) همچنین مشخص شده است که برای به دست آوردن بیشترین درصد ریشه زایی، قلمه‌ها را بایستی با تنظیم کننده‌های رشد تیمار نمود (Denaxa et al., 2012). برای مثال، برای ریشه‌زایی در قلمه گیاهان علفی، گرمسیری، گلخانه‌ای و رز ایندول بوتیریک اسید ۱۵۰۰-۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر، برای داوودی ۵۰۰-۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر، قلمه‌های چوب نرم ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر، قلمه‌های چوب سخت ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر و برای قلمه‌های بسیار سخت غلظت ۵۰۰۰ -۲۰۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر مورد استفاده قرار می‌گیرد (Khaligi et al, 2000).

قابل توجه است که اسید ایندول بوتیریک (IBA) اثر اکسینی ضعیفی دارد ولی توسط آنزیمهای تجزیه کننده به کندی تجزیه می‌شود و به همین دلیل اثر زیادی در ریشه زایی دارد. از دیگر تنظیم کننده‌های رشد که در افزایش ریشه زایی قلمه‌ها مؤثر به کار میرود، اسید نفتالین استیک (NAA) است (Weaver, 1972). هرچند گیاهان اکسین طبیعی را در شاخه‌ها وبرگ‌های جوان تولید می کنند، اما برای ریشه زایی موفقیت آمیز باید اکسین مصنوعی بکار برده شود تا از مرگ قلمه‌ها جلوگیری شود (Kasim and Rayya, Stefanic et al 2009; 2009).

علاوه بر نقش در ریشه‌زایی، تقریبا تمام فرایندهای زندگی گیاهان بطور مستقیم یاغیر مستقیم تحت تثیر تنش‌ها وهورمون‌های گیاهی قرار می گیرند (Pospisllova,2003). برای نمونه، محلول پاشی هورمون‌ها باعث تحریک سطح سبز و سنتز رنگیزه‌های فتوسنتزی وتجمع ماده خشک در سه گیاه ذرت و لوبیا چشم بلبلی و باقلا شد (Shaddad, 2008). رشد اندام‌های گیاهی از طریق ارتباط اکسین با دیگر هورمون‌ها مانند سیتوکینین، جیبرلین و اتیلن افزایش می یابد و توازن این هورمونها و نسبت بین آنها در نیل به بهترین نتایج دارای اهمیت است (Muraro, 2011).

مطالعات انجام شده در زمینه تنظیم‌کننده‌های رشد از قبیل جیبرلیک اسید نشان می‌دهد که آنها می‌توانند سبب افزایش میزان رنگیزه‌های مطرح همچون کارتنوئیدها شوند. کاروتنوئیدها که در دامنه رنگهای زرد تا قرمز دیده می شوند، یک زیر گروه از ترپنوئیدها هستند که بیش از ۶۰ نوع از آنها گزارش شده است (Nisar et al.,2008; Tanaka et al., 2015).

مسیر بیوسنتز کاروتنوئیدها با بیوسنتز هورمون‌های گیاهی جیبرلین و ABA پیوند دارد و تغییرات ساختاری و محتوایی کاروتنوئیدها می‌تواند تغییرات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی گیاهان را موجب شود که به نوبه خود بیوسنتز کاروتنوئیدها را تحت تاثیر قرار می‌دهد. بنابراین متابولیسم کاروتنوئیدها در گیاهان در چندین سطح تنظیم می‌شود (Fraser et al., 2007 Van Eck et al., 2003; Woitch et al., 2004).

کارتنوئیدها در کلروپلاست برای حفظ یکپارچگی دستگاه فتوسنتزی ضروری هستند (Tanaka et., 2008 al). آنها به ویژه در زمان انتقال انرژی به عنوان رنگیزه‌های کمکی درگیر هستند و همچنین از رنگیزه

کلروفیل در برابر صدمات ناشی از اکسیداسیون نوری محافظت میکنند. کارتنوئیدهااز فعالیت گونه‌های فعال اکسیژن در شرایط تنش نوری جلوگیری می‌کنند (Mlodzinska, 2009; Jahns & Holzwarth, 2012; Ougham el al., 2005). مشخص شده است که ترپنوئیدها (که کاروتنوئیدها نیز در زمره آنها هستند)، از مسیر اسید موالونیک ساخته می شوند و ماده اولیه سنتز آنها استیل کوآنزیم A است (Vainstein, 2002). لازم به ذکر است که هورمون‌هایی مانند جیبرلین، اسید آبسزیک اسید و سیتوکینین نیز از مسیر موالونیک ساخته می شوند و ماده اولیه سنتز آنها نیز استیل کوآنزیم A است (Fathee and Esmaeil Poor, 2000). کینتین ونفتالین استیک اسید، در گل محمدی باعث افزایش، اما جیبرلین سبب کاهش متابولیت‌های ثانویه گل مریم (Kheiry, 2006)، میمون (Bushue et al.,1999) و گل محمدی (Saffari et al., 2004) شده است.

همچنین جیبرلین و بنزیل آدنین میزان ترکیبات ثانویه گل مریم را کاهش دادند (Khairee, 2006). در نرگس و لاله جیبرلین باعث افزایش طول ساقه گل دهنده شد (Gordon and Rees, 1977). نفتالن استیک اسید به عنوان یک محرک رشد در افزایش رشد و نمو ساقه‌ها، بالا رفتن نرخ و سرعت رشد آنها افزایش بیشتر اسیمیلاتها برای ساخت ساقه، در نتیجه کاهش نسبت برگ به ساقه و کاهش مواد خشک در گیاه شمعدانی نقش داشته است (Bahlebi, 2009 et al., Motsa et al., 2006).

محلول پاشی برگ‌های گیاه شمعدانی عطری با جیبرلین تولیدترکیبات موثره و طول دوره گلدهی را افزایش داد (Rao et al., 1997). اثر هورمون‌های رشد IAA وNAA بر کمیت و کیفیت مواد موثره گیاه ترخون (*Artemisia dracunculus*) نشان داد که هر دو تیمار موجب افزایش بازده این مواد در گیاهان مورد تیمارگردید (Pazuki et al. , 2006).

استفاده از سایکوسل و جیبرلیک اسید افزایش عملکرد و کیفیت متابولیتهای ثانویه را در گیاه ریحان به دنبال داشت (Eid &Ahmed, 1976). بررسی تأثیر سیتوکنین‌ها و جیبرلیک اسید بر روی محتوای این متابولیتهاو برخی صفات رشدی گیاه نعناع نشان داد که استفاده ازجیبرلیک اسید به صورت محلول پاشی برگی موجب افزایش عملکرد پیکره رویشی و کاهش محتویترکیب ترپنوئیدی لینالول گردید (Zlatev, 1978).

در یک نگاه کل، فاکتورهای محیطی مشوق رشد که عملکرد پیکره رویشی را بالا میبرند اثر منفی و معکوسی را بر محتوای ترکیبات موثره القاء می نمایند (Weiss,1997). استفاده از پیش تیمارهای هورمونی برای تسریع ریشه زایی قلمه گیاهان ساکولنت پدیده ای رایج در گلخانه‌های کشور است. پژوهشهایی نیز در ایران بر روی تاثیر کود بر گیاهان ساکولنت و زینتی انجام شده است (Jokar et al., 2021, Rahmani et al., 2021). با این وجود، هم در ایران و هم در جهان تحقیقات علمی چندانی با تمرکز بر پاسخ گیاهان ساکولنت به هورمون‌های اگزوژن انجام نشده است. پژوهش حاضر به بررسی این پاسخ‌ها به پیش تیمار اکسینی و تیمارهای هورمونی اکسین و ژیبرلین در گیاه افوربیا تریگونا می‌پردازد.

مواد و روش‌ها

تهیه قلمه‌ها و بستر کشت: این پژوهش در گلخانه فرهیختگان دانشگاه آزاد گرگان در قالب طرح بلوکهای کامل تصادفی در چهار تکرار انجام شد. در اسفند سال ۱۳۹۹ از پایه‌های مادری گیاه افوربیا تریگونا،با ارتفاعی حدود یک متر و شاخه‌های

منشعب، قلمه‌های برگ دار به طول ۱۵-۱۳ سانتی‌متر و قطر ۱۰-۷ سانتی‌متر تهیه شد. قلمه‌های انتخاب شده به مدت دو هفته در سایه نگهداری شد تا انتهای قلمه خشک شود، بعد از این مدت بستر کشت قلمه‌ها آماده شد. برای بستر کشت قلمه‌ها از کوکوپیت و پرلیت به نسبت۳ به ۸ استفاده شد.

اعمال پیش تیمارها و تیمارهای هورمونی: برای تهیه محلولهای هورمونی ابتدا مقادیر مورد نظر با ترازوی حساس توزین ودر الکل حل گردید وسپس با آب مقطر به حجم مورد نظر رسید. پیش تیمار قلمه‌ها با هریک از هورمون‌های اکسینی شامل ایندول استیک اسید (IAA)، ایندول بوتیریک اسید (IBA) و نفتالن استیک اسید (NAA)، با غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر انجام شد. به این منظور، ۳-۲ سانتی‌متر از قسمت پایینی قلمه‌ها به‌مدت یک دقیقه در محلول هورمونی قرار گرفت و سپس در بستر کشت کاشته شد. نمونه‌های شاهد بدون اعمال پیش تیمار به بستر کشت منتقل شدند.

پس از کشت در بستر ریشه زایی، خاک اطراف هر قلمه فشرده شد تا قلمه‌ها بخوبی با محیط ریشه زایی در تماس باشند. بعد از یک هفته اطمینان از ریشه‌زایی قلمه‌ها اولین آبیاری با قارچ کش انجام شد. در ابتدای بهار آبیاری هر دوهفته یکبار ودر تابستان هر هفته انجام شد بعد از دو ماه که از رشد گیاه در شرایط گلخانه ای گذشت کود دهی (NPK سه بیست، با غلظت سه گرم در لیتر) و اعمال تیمار هورمونی برای برخی از پیش تیمارها توسط همان هورمون به کار رفته برای پیش تیمار با غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر و به روش هورمون پاشی صورت گرفت. علاوه بر این، هورمون ژیبرلین (جیبرلین، GA) نیز با غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر با استفاده از اسید ژیبرلیک (GA3) در مورد برخی از قلمه‌هایی که پیش تیمار اکسینی ندیده بودند اعمال گردید. در این طرح تیمار هورمونی وکوددهی هر ۱۵ روز یکبار و در ۸ مرحله انجام شده است. گیاهان شاهد نیز بدون اعمال پیش تیمار و یا تیمار هورمونی، صرفاً مراحل آبیاری با قارچکش و کود را مانند دیگر گیاهان گذراندند. در جدول۱، این گروهبندیها و اختصارات مربوط به آنها ارائه شده است.

جدول ۱: معرفی تیمارها و پیش تیمارهای مورد استفاده در پژوهش حاضر

حروف اختصاری تیمارها و شاهد	پیش تیمار IBA500mg/l	پیش تیمار IAA500mg/l	پیش تیمار NAA500mg/l	تیمار IBA250mg/l	تیمار IAA250mg/l	تیمار NAA250mg/l	تیمار GA250mg/l
C(شاهد)	-	-	-	-	-	-	-
GA250 mg/l	-	-	-	-	-	-	+
P.IBA500mg/l	+	-	-	-	-	-	-
T.IBA250mg/l	+	-	-	+	-	-	-
P.IAA500mg/l	-	+	-	-	-	-	-
T.IAA250mg/l	-	+	-	-	+	-	-
P.NAA500mg/l	-	-	+	-	-	-	-
T.NAA250mg/l	-	-	+	-	-	+	-

پارامترهای رشد: در شهریور تمامی قلمه‌ها به آرامی از بستر کاشت بیرون آورده شد. سپس ریشه‌ها از قلمه جدا و وزن تر ریشه و ساقه ثبت گردید.آنگاه برای اندازه گیری وزن خشک ساقه و ریشه گیاهان در آون قرار داده شده و در دمای ۹۰ درجه سانتیگراد خشک و توزین شدند. درصد وزن خشک هر اندام نیز از

حاصلضرب نسبت وزن خشک به تر همان اندام در عدد صد محاسبه شد.

سنجش کلروفیل‌های a، b و کاروتنوئیدها: سنجش میزان کلروفیل‌ها و کاروتنوئیدها با استفاده از روش Lichtentaler (۱۹۸۷) صورت گرفت. برای استخراج رنگدانه‌ها به ازای هر گرم از نمونه تازه برگی از ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد استفاده شد.سپس نمونه با همزن برقی به مدت ۱۰۰ ثانیه هموژن شد، با استفاده از کاغذصافی صاف گردید و در لوله‌های آزمایش قرار داده شد. جهت جلوگیری از تاثیر نور بر محلول‌های هموژن شده فوق، لوله‌های آزمایش با فویل آلومینیومی پیچانده شد. بعد از انجام سانتریفیوژ به مدت ۲۰ دقیقه با دور g ۳۰۰۰، جذب نمونه‌ها با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج‌های ۴۷۰، ٦٤٦/٨ و ٦٦٣/٢ نانومتر تعیین شد. غلظت کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئیدها با استفاده از فرمول‌های زیر برحسب میکروگرم در لیترمحاسبه گردید. سپس میزان رنگیزه‌ها بر حسب میکروگرم بر گرم وزن تر گیاه بر اساس حجم عصاره استنی به کار رفته و وزن تر نمونه محاسبه گردید. همچنین از حاصل جمع مقادیر نهایی هریک از انواع کلروفیل با یکدیگر مقدار کلروفیل کل محاسبه شد.

$Chl_a = 12.25\ E_{663.2} - 2.79\ E_{646.8}$

$Chl_b = 21.50\ E_{646.8} - 5.10\ E_{663.2}$

$Carotenoids = (1000\ E_{470} - 1.82\ Chl_a - 85.02\ Chl_b)/198$

سنجش محتوای ترپنوئید موجود در گیاه (Ghorai et al., 2012).

بر روی یک گرم از وزن تر گیاه درهاون چینی ۷ میلی‌لیتر متانول ۹۵ درصد ریخته شد. سپس‌هاون چینی در تشت آب یخ قرار داده شد و گیاه در مجاورت یخ ساییده شد تا یک محلول هموژن به دست آید. سپس این محلول هموژن در لوله‌های آزمایش ریخته شد .پس از سانتریفیوژ لوله‌های آزمایش در۴۰۰۰ دور در دقیقه در دمای اتاق ۱۵ دقیقه قرار داده شد ومحلول رویی در لوله‌های آزمایش دیگری جمع آوری گردید. سپس در لوله‌های آزمایش دیگری ۳ میلی‌لیتر کلروفرم ریخته شد و سپس ۵۰۰ میکرولیتر از محلول رویی جمع‌آوری شده به کلروفرم اضافه گردید. پس از ورتکس به‌مدت ۳ دقیقه ۲۰۰ میکرولیتر اسید سولفوریک غلیظ به هریک از لوله‌های آزمایش اضافه گردید. سپس لوله‌های آزمایش حداکثر ۱۵ دقیقه در تشت یخ سرد شد و ۱/۵ تا ۲ ساعت در تاریکی در دمای اتاق قرار داده شد. پس از آن، بسیار آرام و دقیق محلول رویی تخلیه شده و ۳ میلی‌لیتر متانول ۹۵ درصد به رسوب قرمز قهوه ای اضافه گردید. وقتی کاملا حل شد در ۵۳۸ نانومتر در برابر بلانک (متانول ۹۵ درصد) جذب نوری قرائت گردید. برای تهیه نمونه‌های استاندارد نیز ۲۰۰ میکرولیتر از محلول لینالول در متانول با غلظت معلوم به ۱/۵ میلی‌لیتر کلروفرم اضافه شد. پس از تعیین معادله استاندارد و لحاظ حجم عصاره و وزن نمونه، معادله نهایی زیر حاصل شد:

$C= (OD - 0.011)/0.012$

در نهایت، OD (جذب نوری) در معادله نهایی قرار داده شد و غلظت ترپنوئید کل بر حسب میکرو اکی والان لینالول بر گرم وزن تر محاسبه گردید.

استخراج عصاره با سوکسله وآنالیز دستگاهی با GC-MS: بخش هوایی گیاهان شاهد و نیز حاصل از تیمار NAA، جمع‌آوری شده برای انجام آزمایش،در شرایط معمولی و دور از نور خورشید خشک و سپس توسط آسیاب برقی به صورت پودر در آورده شدند. از هر تکرار برای شاهد و تیمار NAA، یک گرم گیاه پودر شده و در مجموع ٤ گرم به دقت توزین شد و در انگشتانه دستگاه سوکسله ۱۰۰ میلی‌لیتری ریخته شد. سپس با استفاده از ۲۵۰ میلی‌لیتر از حلال اتانول ۹٦ درصد بعد از اتصال دستگاه، عمل عصاره گیری به‌مدت ۹ ساعت انجام شد. فلاسک حاوی حلال در

داخل پارافین مایع قرار گرفت پس از کامل شدن فرایند عصاره گیری،حلال در هوای آزاد و سپس در دستگاه روتاری(تبخیر دوار تحت مکش) تبخیر و از عصاره جدا شد. این عصاره‌های تغلیظ شده بعد از خشک شدن توزین شدند و سپس با کمک متانول با حجم مشخص، تزریق نمونه‌ها به دستگاه گازکروماتوگرافی-اسپکترومتری‌جرمی (GC-MS)، شیمادزو مدل TQ-8050 جهت شناسایی ترکیبات آلی موجود در نمونه انجام گرفت.

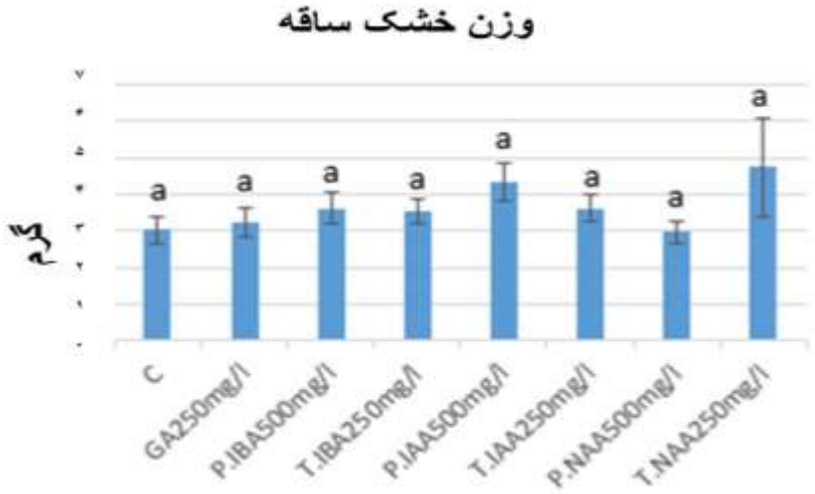
ملاحظات آماری

طرح در قالب بلوک‌های کامل تصادفی و با لحاظ ٤ تکرار برای هر سنجش انجام شد. استثناء در این مورد آنالیز GC-MS بود که طبق توضیحات بند قبل بر روی مخلوطی از پودر ٤ گیاه انجام شد. داده‌ها پس از جمع‌آوری با استفاده از نرم افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. میانگین و خطای معیار (Standard Error, SE) صفات محاسبه و از آزمون تجزیه واریانس یک طرفه ANOVA و آزمون تعقیبی (Post Hoc) توکی (Tukey) برای بررسی اختلافات معنی‌دار احتمالی در سطح ۰/۰۵ استفاده شد. آزمون پیرسون نیز جهت تحقیق همبستگی‌های احتمالی در سطوح ۰/۰۵ و ۰/۰۱ به کار گرفته شد. ترسیم شکل‌ها با کمک نرم‌افزار Excel انجام گردید.

نتایج

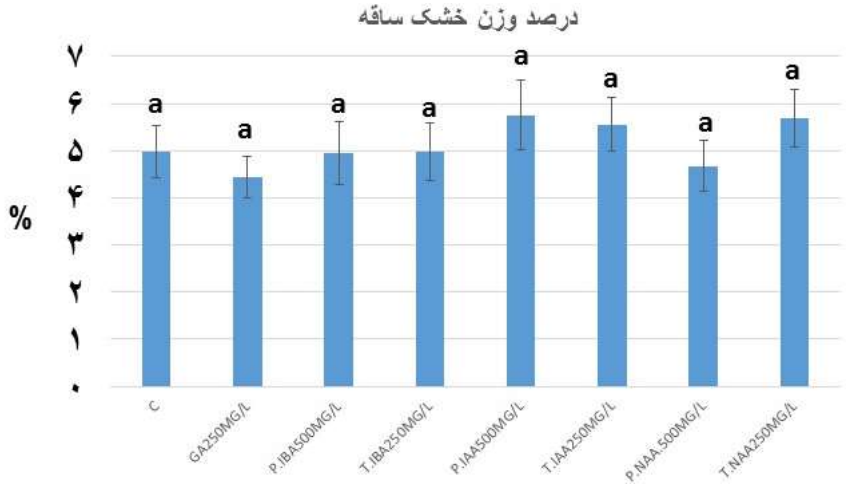
همان‌گونه که در شکل‌های ۱ تا ۳ ملاحظه می‌شود تاثیر تیمارهای به کار رفته در این تحقیق بر وزن تر، وزن خشک و درصد وزن خشک ساقه معنی‌دار نمیباشد. با این حال هم در مورد وزن تر و هم در مورد وزن خشک، گیاهان شاهد کمترین و تیمار ۲۵۰ میلی‌گرم بر لیتر NAA بیشترین مقادیر را نشان دادند.

شکل ۱: اثرات هورمون‌های اکسین و ژیبرلین بر میانگین وزن تر ساقه افوربیا تریگونا.
حروف مشابه بیانگر عدم تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد.



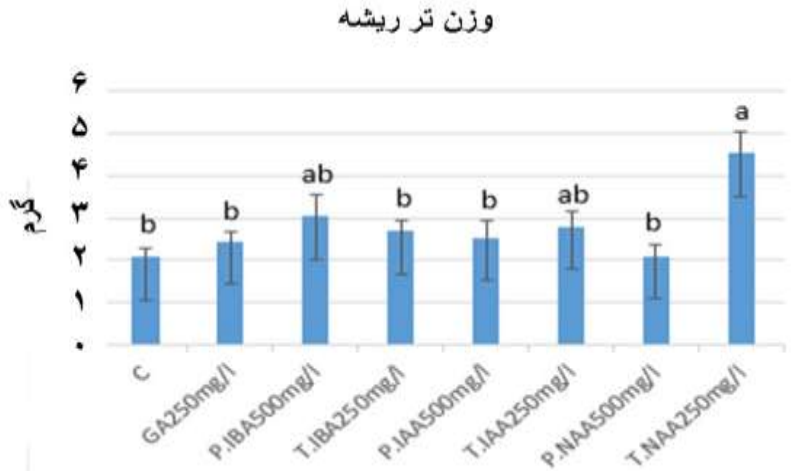
شکل ۲: اثرات هورمون‌های اکسین و ژیبرلین بر میانگین وزن خشک ساقه افوربیا تریگونا.

حروف مشابه بیانگر عدم تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد می باشد.



شکل ۳: اثرات هورمون‌های اکسین و ژیبرلین بر درصد وزن خشک ساقه افوربیا تریگونا .

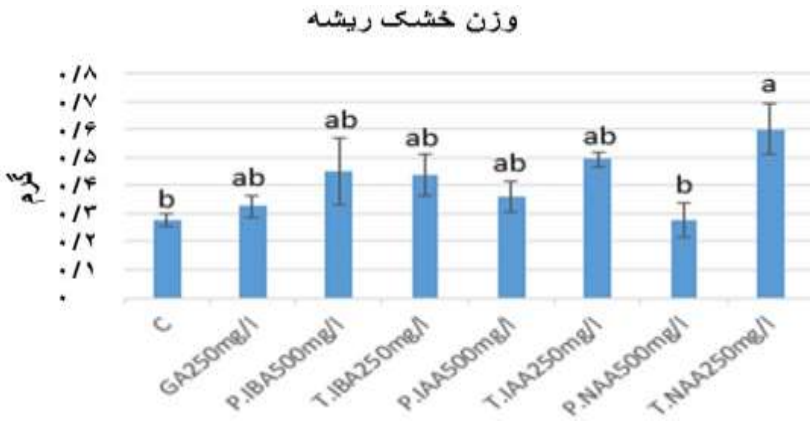
حروف مشابه بیانگر عدم تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد.



شکل ٤: اثرات هورمون‌های اکسین و ژیبرلین بر میانگین وزن تر ریشه افوربیا تریگونا.

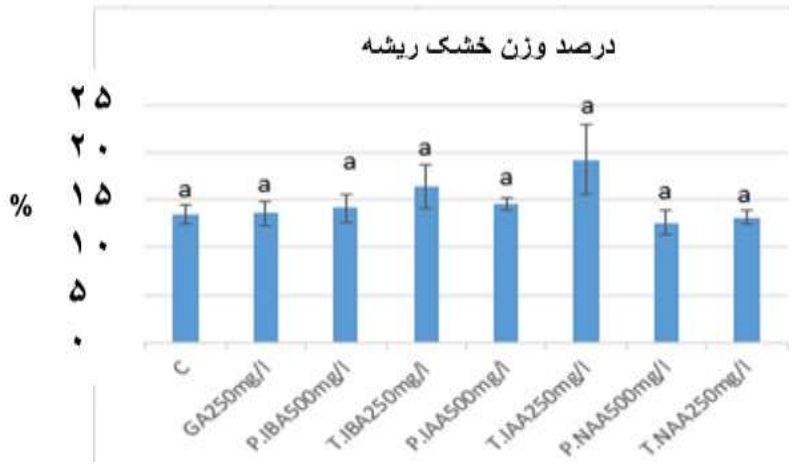
حروف مشابه بیانگر عدم تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد.

تاثیرات تیماری بر وزن تر ریشه معنی‌دار بوده است (شکل ٤). کمترین وزن تر ریشه مربوط به گیاهان شاهد و بیشترین آن مربوط به تیمار ۲۵۰ میلی‌گرم بر لیتر NAA بوده است. گیاهان شاهد با دیگر تیمارها اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد نشان ندادند. به جز تیمار ۲۵۰ میلی‌گرم بر لیتر IAA و پیش تیمار ۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر IBA، اختلاف دیگر تیمارها با تیمار ۲۵۰ میلی‌گرم بر لیتر NAA معنی‌دار بود.

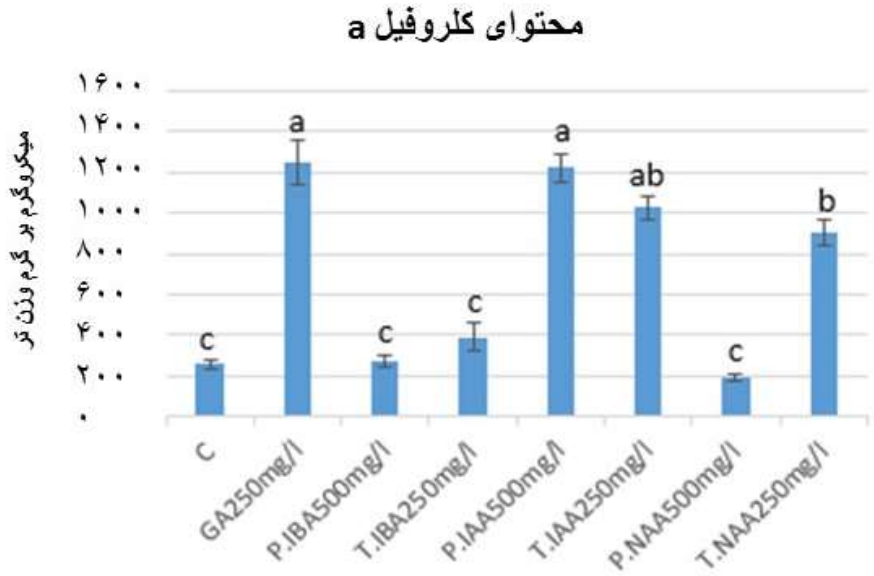


شکل ۵: اثرات هورمون‌های اکسین و ژیبرلین بر میانگین وزن خشک ریشه افوربیا تریگونا.
حروف مشابه بیانگر عدم تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد می باشد.

شکل ۵ نیز نشانگر تاثیرات معنی‌دار اعمال تیمارها بر وزن خشک ریشه است. شاهد و پیش تیمار ۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر NAA کمترین مقادیر و تیمار ۲۵۰ میلی‌گرم بر لیتر NAA بیشترین مقادیر را به خود اختصاص دادند. اختلاف این دو تیمار با سایر تیمارها و نیز اختلاف تیمار ۲۵۰ میلی‌گرم بر لیتر NAA با سایر تیمارها در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار نبود. از سوی دیگر تاثیرات تیماری بر درصد وزن خشک ریشه نیز معنی‌دار نبود (شکل ٦).

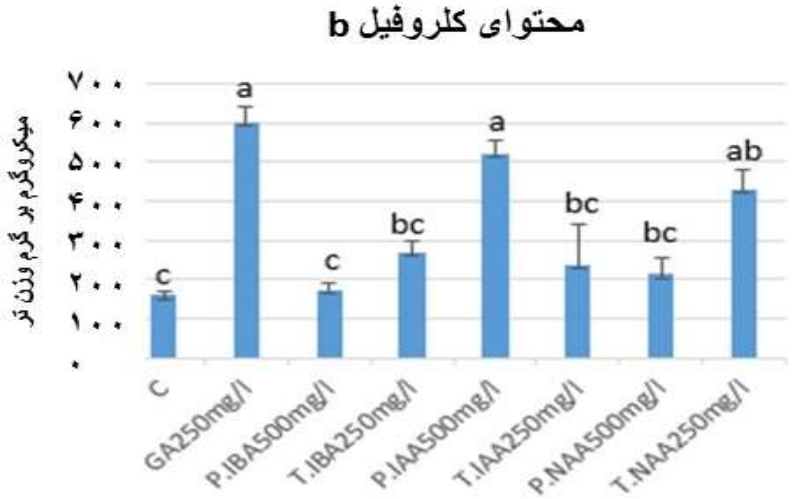


شکل ٦: اثرات هورمون‌های اکسین و ژیبرلین بر درصد وزن خشک ریشه در گیاه افوربیا تریگونا .
حروف مشابه بیانگر عدم تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد.



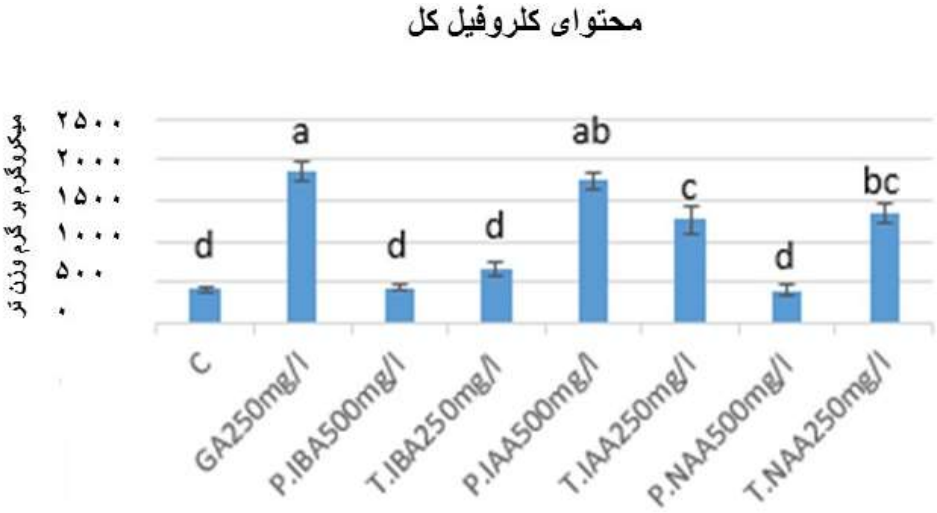
شکل ۷: اثرات هورمون‌های اکسین و ژیبرلین بر محتوای کلروفیل a در گیاه افوربیا تریگونا.
حروف مشابه بیانگر عدم تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد.

شکل ۷ نشان می‌دهد که تاثیرات تیماری بر محتوای کلروفیل a معنی‌دار است. ژیبرلین با غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم بر لیتر و بعد از آن پیش تیمار IAA با غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر بیشترین تاثیر مثبت بر افزایش معنی‌دار محتوای کلروفیل a نسبت به شاهد را نشان دادند. اختلاف بین این دو تیمار با هم و با تیمار ۲۵۰ میلی‌گرم بر لیتر IAA معنی‌دار نبود ولی با سایر تیمارها نیز اختلاف معنی‌دار نشان دادند. تیمار ۲۵۰ میلی‌گرم بر لیتر NAA نیز نسبت به شاهد افزایش معنی‌دار نشان داد ولی اختلاف معنی‌دار با تیمار ۲۵۰ میلی‌گرم بر لیتر IAA نداشت. سایر تیمارها نیز بدون اختلاف معنی‌دار با شاهد کمترین مقادیر این کلروفیل را نشان دادند.



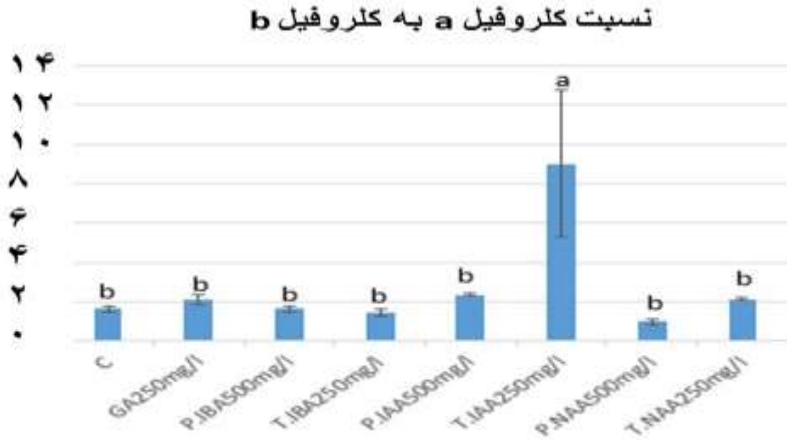
شکل ۸: اثرات هورمون‌های اکسین و ژیبرلین بر محتوای کلروفیل b در گیاه افوربیا تریگونا.
حروف مشابه بیانگر عدم تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد.

شکل ۸ نشان می‌دهد که تاثیرات تیماری بر محتوای کلروفیل b معنی‌دار است. ژیبرلین با غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم بر لیتر و بعد از آن پیش تیمار IAA با غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر بیشترین تاثیر مثبت بر افزایش معنی‌دار محتوای کلروفیل b نسبت به شاهد را نشان دادند. اختلاف این دو تیمار با تیمار ۲۵۰ میلی‌گرم بر لیتر NAA معنی‌دار نیست ولی با سایر تیمارها معنی‌دار است. تیمار اخیر با شاهد و پیش تیمار ۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر IBA که کمترین مقادیر را نشان میدهند دارای اختلاف معنی‌دار است و با تیمارهای دیگر اختلاف معنی‌دار ندارد. به غیر از موارد مورد اشاره، شاهد با دیگر تیمارها نیز اختلاف معنی‌دار ندارد.



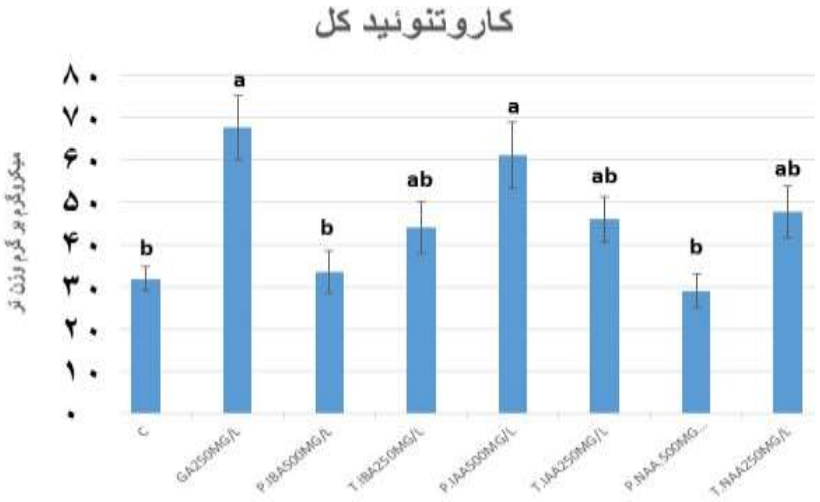
شکل ۹: اثرات هورمون‌های اکسین و ژیبرلین بر محتوای کلروفیل کل در گیاه افوربیا تریگونا.
حروف مشابه بیانگر عدم تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد.

شکل ۹ نشان می‌دهد که در مورد محتوای کلروفیل کل نیز بیشترین مقادیر مربوط به ژیبرلین ۲۵۰ میلی‌گرم بر لیتر و پس از آن مربوط به پیش تیمار ۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر IAA و بعد از آن به‌ترتیب مربوط به تیمارهای ۲۵۰ میلی‌گرم بر لیتر NAA و IAA می‌باشد. سایر تیمارها بدون اختلاف معنی‌دار با شاهد و همانند آن کمترین مقادیر را نشان می‌دهند.



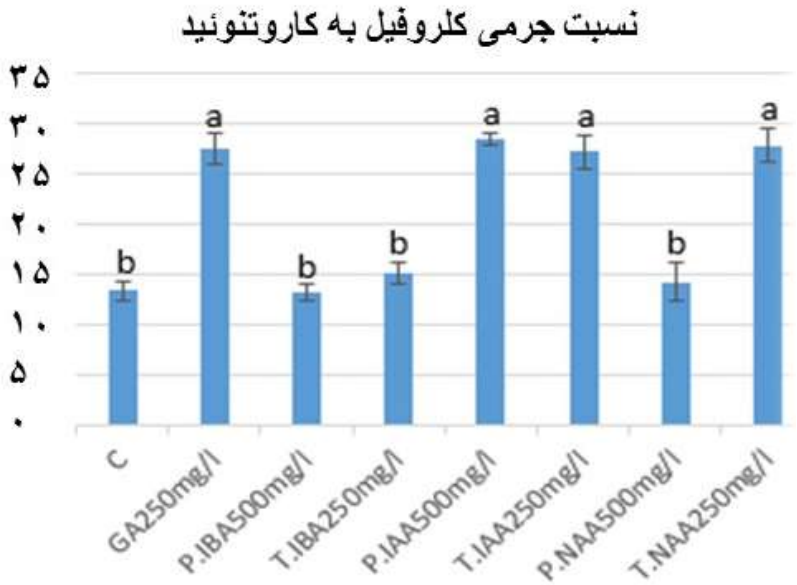
شکل۱۰: اثرات هورمون‌های اکسین و ژیبرلین بر میانگین نسبت کلروفیل a به کلروفیل b در گیاه افوربیا تریگونا.
حروف مشابه بیانگر عدم تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد.

در شکل ۱۰ ملاحظه می‌شود که تیمار ۲۵۰ میلی‌گرم بر لیتر IAA نسبت کلروفیل a به b را نسبت به شاهد و نسبت به دیگر تیمارها به شدت و به‌طور معنی‌داری افزایش داده است. اختلاف دیگر تیمارها با هم و با شاهد معنی‌دار نیست.



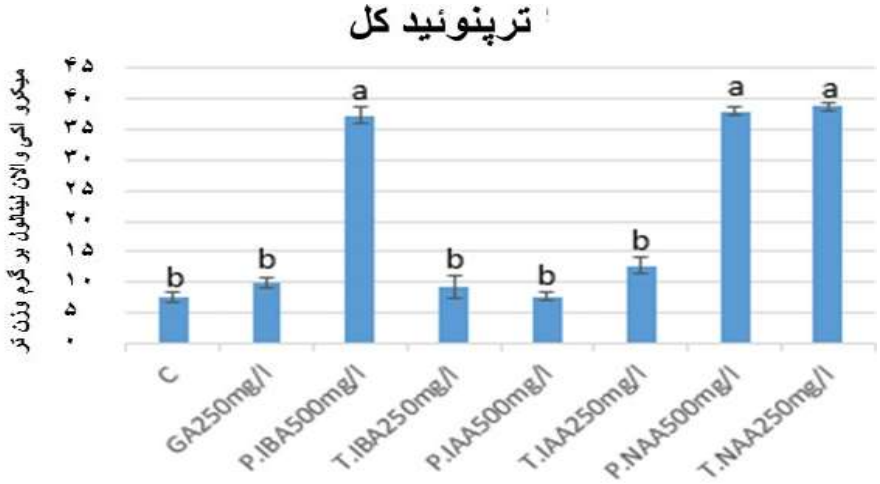
شکل ۱۱: اثرات هورمون‌های اکسین و ژیبرلین بر محتوای کاروتنوپید کل افوربیا تریگونا.
حروف مشابه بیانگر عدم تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد.

اثرات تیماری بر محتوای کاروتنوپیدی معنی‌دار بود و بالاترین میزان به‌ترتیب در تیمار ژیبرلین ۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر و پیش تیمار ۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر IAA مشاهده شد (شکل ۱۱). اختلاف سایر تیمارها با یکدیگر و با شاهد معنی‌دار نبود. با این وجود تیمارهای ۲۵۰ میلی‌گرم بر لیتر IBA و NAA و IAA با تیمار ژیبرلین ۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر و پیش تیمار ۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر IAA اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد نداشتند.



شکل ۱۲: اثرات هورمون‌های اکسین و ژیبرلین بر میانگین نسبت کلروفیل به کاروتنوئید در گیاه افوربیا تریگونا.
حروف مشابه بیانگر عدم تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد

از نظر نسبت کاروتنویید به کلروفیل کل، شاهد به اتفاق تیمار ۲۵۰ میلی‌گرم بر لیتر IBA و پیش تیمارهای ۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر IBA و یا NAA کمترین مقادیر را بدون اختلاف معنی‌دار با همدیگر نشان دادند. بیشترین مقادیر به دیگر تیمارها بدون اختلاف معنی‌دار با یکدیگر ولی با اختلاف معنی‌دار با شاهد و گروه‌های نامبرده تعلق داشت (شکل ۱۲).



شکل ۱۳: اثرات هورمون‌های اکسین و ژیبرلین بر محتوای ترپنوئید در گیاه افوربیا تریگونا.
حروف مشابه بیانگر عدم تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد.

اثرات تیماری بر محتوای ترپنوئید کل معنی‌دار است (شکل ۱۳). بیشترین مقادیر مربوط به پیش تیمارهای ۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر IBA و NAA و تیمار ۲۵۰ میلی‌گرم بر لیتر NAA است و اختلاف معنی‌داری بین آنها نیست. شاهد و سایر تیمارها کمترین مقادیر را نشان میدهند و از نظر آماری در یک گروه قرار میگیرند و اختلافشان با سه تیمار نامبرده در سطح ۵ درصد معنی‌دار است.

جدول ۲: همبستگی بین صفات. اعداد نشانگر ضرائب برگشت (R) می‌باشند. وجود همبستگی در سطح ۵ درصد و یا ۱ درصد به ترتیب با یک و دو ستاره مشخص شده است.

صفات مورد بررسی	وزن تر ساقه	وزن خشک ساقه	درصد وزن خشک ساقه	وزن تر ریشه	وزن خشک ریشه	درصد وزن خشک ریشه	کلروفیل a	کلروفیل b	کاروتنوئید کل	کلروفیل کل	نسبت کلروفیل a به b	نسبت کلروفیل به کاروتنوئیدها	ترپنوئید کل
وزن تر ساقه	۱	۰/۸۸۲**	۰/۵۰۵	۰/۵۵۴	۰/۵۶۸	-۰/۱۷۱	۰/۵۲۲	۰/۴۵۱	۰/۵۶۶	۰/۵۷۴	-۰/۲۰۴	۰/۵۵۰	۰/۱۹۱
وزن خشک ساقه		۱	۰/۸۲۶*	۰/۷۴۷*	۰/۷۶۶*	-۰/۰۵۵	۰/۵۰۵	۰/۴۴۲	۰/۳۹۵	۰/۵۰۳	۰/۱۰۰	۰/۶۱۶	۰/۱۹۹
درصد وزن خشک ساقه			۱	۰/۵۴۲	۰/۶۲۶	۰/۳۶۵	۰/۴۰۴	۰/۱۱۷	۰/۱۶۷	۰/۳۳۶	۰/۴۳۸	۰/۵۳۱	-۰/۰۲۱
وزن تر ریشه				۱	۰/۸۳۰*	-۰/۰۹۷	۰/۱۴۱	۰/۱۰۴	۰/۰۲۲	۰/۱۳۵	۰/۰۲۸	۰/۳۰۲	۰/۴۳۳
وزن خشک ریشه					۱	۰/۳۷۲	۰/۲۶۶	۰/۰۷۳	۰/۱۲۰	۰/۲۲۰	۰/۳۷۴	۰/۴۰۳	۰/۳۵۲
درصد وزن خشک ریشه						۱	۰/۲۵۵	-۰/۱۸۵	۰/۱۲۱	۰/۱۳۹	۰/۸۴۵**	۰/۲۳۸	-۰/۴۲۷
کلروفیل a							۱	۰/۸۵۲**	۰/۹۲۵**	۰/۹۸۹**	۰/۴۳۷	۰/۹۴۸**	-۰/۳۸۵
کلروفیل b								۱	۰/۹۴۰**	۰/۹۲۰**	-۰/۰۷۸	۰/۷۹۶*	-۰/۲۶۲
کاروتنوئید کل									۱	۰/۹۵۸**	۰/۱۵۹	۰/۸۳۰*	-۰/۴۸۳
کلروفیل کل										۱	۰/۳۰۶	۰/۹۵۰**	-۰/۳۶۲
نسبت کلروفیل a به b											۱	۰/۴۷۹	-۰/۲۵۴
نسبت کلروفیلها به کاروتنوئیدها												۱	-۰/۲۲۵
ترپنوئید کل													۱

جدول ۲ همبستگی بین شاخص‌های مورد اندازه‌گیری را نشان می‌دهد. علاوه بر همبستگی‌های مورد انتظار بین پارامترهای رشد و یا بین کلروفیل‌ها با یکدیگر، قابل توجه است که بین درصد وزن خشک ریشه و نسبت کلروفیل a به b همبستگی مثبت در سطح ۱ درصد دیده می‌شود. همچنین بین کاروتنویید کل و مقادیر مربوط به کلروفیل‌ها همبستگی مثبت وجود دارد. تغییرات ترپنوئید کل با تغییرات سایر صفات مورد اندازه گیری همبستگی نشان نمی‌دهد. نتایج حاصل از گاز کروماتوگرافی جرمی ۰/۲ گرم عصاره استخراجی از نمونه‌های شاهد و ۰/۳٤ گرم عصاره استخراجی از اندام هوایی گیاهان رشد یافته در تیمار نفتالین استیک اسید نیز به ترتیب در جداول ۳ و ٤ ارائه شده است.

جدول ۳: ترکیب‌های شیمیایی عصاره‌اندام‌های هوایی *Euphorbia trigona*، گیاهان شاهد

درصد در عصاره	نام ترکیب شیمیایی و ماهیت آن	شماره
۱/٤۲	۲-پنتادکانون-٦و۱۰و۱٤-تری متیل >>سزکی ترپن<<	۱
۲/۱۲	اسید هگزادکانوئیک (اسید پالمیتیک) >>اسیدچرب<<	۲
۹/٥٦	بیس(۲-اتیل‌هگزیل)فتالات >>استر فتالات بنزنی<<	۳
۱/۰۲	۱-هپتاکوزانول >>الکل چرب(فتی الکل)<<	٤
۱/٤۸	۳و٤-سکولوپا-٤(۲۳)و۲۰(۲۹)-دی‌ان-۳-اوئیک متیل استر (سکالوپادی‌انوئیک متیل‌استر) >>متیل استر اسید چرب<<	٥
۱/٤٦	استیگماسترول >>ترپنوئید استرولی<<	٦
۹/٥٦	۲۳-اتیل کولست-٥-ان-۳بتاال (اتیل‌کولستن‌بتاال) >>ترپنوئید استرولی<<	۷
۲/۱۲	لوپ-۲۰(۲۹)-ان-۳-ال(۳.بتا) (لوپنول) >>تری‌ترپن<<	۸
۲/۱۲	بنزوسیکلوپروپافلوئورنون >>هیدروکربن پلی‌سیکلیک<<	۹
۲/٥۷	آلفاآمیرین >>تری‌ترپن پنج حلقه‌ای<<	۱۰
۲/٥۷	لوپئول >>دی‌ترپن<<	۱۱
۱/۷۱	۳-بتا-فلوئورو-آندروستا-٥و۱٦-دی‌ان >>ترپنوئید استرولی<<	۱۲

درصد در عصاره	نام ترکیب شیمیایی و ماهیت آن	شماره
۲/۲۰	۷-متوکسی‌متیل-۱-(تریمتیل‌سیلیل)-۱-[۱و۱-بیس(تریمتیل‌سیلیل]-۲-اکسو-۱-سیلا <<هیدروکربن سیلیسیم‌دار>>	۱۳
٤/۹۵	متیل سیکلولانوستنول <<ترپنوئید استرولی>>	١٤
۱/۰۹	هوپنول <<ترپنوئید استرولی>>	۱۵
۸/۳۷	اپیفریدلینول <<تری‌ترپن>>	١٦
۲/٤۷	٤-اپی-فریدلین <<تری‌ترپن>>	۱۷

جدول ٤: ترکیب‌های شیمیایی عصاره اندام‌های هوایی *Euphorbia trigona*، تیمار نفتالین اسید استیک

درصد در عصاره	نام ترکیب شیمیایی و ماهیت آن	شماره
۱/۲۱	لولیولید <<تری‌ترپن>>	۱
۳/۱٦	تری‌متیل‌پنتادکانون <<سزکی‌ترپن>>	۲
۱/۱٦	اسید هگزادکانوئیک متیل استر (اسیدپالمیتیک متیل استر) <<متیل‌استراسیدچرب>>	۳
۲/۷۳	اسید هگزادکانوئیک (اسیدپالمیتیک) <<اسیدچرب>>	٤
٤۹/۳۱	بیس(۲-اتیل‌هگزیل)فتالات <<استر فتالات بنزنی>>	۵

بحث

بر اساس نتایج پژوهش حاضر ریشه بیش از ساقه نسبت به تاثیرات هورمونی حساسیت نشان داد. وزن تر و خشک و درصد وزن خشک ساقه نسبت به تیمارها و پیش تیمارهای به کار رفته حساسیتی نشان نداد و تاثیرات معنی‌دار نبود. تیمار NAA بیشترین اثر مثبت را در افزایش وزن تر و خشک ریشه داشت. Pacholczak, et al., 2005 دریافتند که استفاده از هورمون‌های IBA و NAA باعث تشکیل بهتر ریشه می‌گردد و میزان تشکیل ریشه به نوع و غلظت اکسین و روش کاربرد هورمون بستگی دارد که نهایتاً باعث بهبود یا عدم موفقیت در ریشه‌زایی می‌شود. این یافته‌ها با نتایج کار حاضرموافق است. همچنین محققین دیگری نیز نشان دادند که کاربرد تنظیم کننده‌های رشد گیاهی از نوع اکسین و به خصوص NAA برای بهبود خصوصیات مرتبط با ریشه‌دهی

مناسب می‌باشد (Centeno, and Gomez-Del-Campo. 2008). با این حال نتایج کار حاضر از نظر حساس نبودن رشد بخش هوایی به اکسینها، با نتایج برخی دیگر از محققین همخوانی ندارد. برای مثال، Duhok, M. and Rasheed, M.S. 2010 اثر تنظیم کننده‌های رشد گیاهی NAA و کینتین را بر تکثیر گیاه گاردنیا بررسی نمودند و دریافتند که بیشترین تعداد شاخساره، برگ، طول و تعداد ریشه در تیمارهایی از کینتین و NAA به صورت جداگانه و تلفیقی بدست آمد. نتایج مشابهی نیز توسط Abdullah et al., 2003 (۲۰۰۳) بدست آمد. همچنین گزارش شده است که اثر تنظیم کننده‌های رشد گیاهی در توزیع فرآورده‌های فتوسنتزی در مدت مشخص در اندام هوایی به مراتب بیشتر از ریشه‌ها منعکس می شود (Rajala, and Peltonen-saninio, 2001).

محلول‌پاشی جیبرلیک اسید در برخی غلظتها باعث افزایش تعداد برگ در گیاه و طول ساقه گل دهنده در گل مریم شد (Panwar et al., 2006). با این وجود در کار حاضر تاثیر ژیبرلین بر رشد بخش هوایی معنی‌دار نبود و تاثیر آن بر ریشه از اکسینها نیز کمتر بود. در پژوهش حاضر، تیمار GA بیشترین اثرات مثبت را بر محتوای هر یک از کلروفیل‌های a و b، مجموع آنها و نیز محتوای کاروتنوئیدی داشت. همچنین اکسین اثر مثبت و نیز منفی بر میانگین کاروتنوئید داشته است. از نظر تاثیر بر ترکیب آنتن فتوسنتزی نیز بیشترین تاثیرات مثبت بر نسبت کلروفیل کل به کاروتنوئید در تیمارهای GA، NAA، IAA و پیش تیمار IAA ملاحظه شد. همچنین تیمار IAA افزایش معنی‌داری را در نسبت کلروفیل a به b نشان داد.

به تعبیری دیگر افزایش این نسبت احتمالاً بیانگر نسبت بالای فتوسیستم ۱ به فتوسیستم ۲ می‌باشد (Hughes, 2007). با این وجود جدول همبستگی‌ها نشان می دهد که هرچند همبستگی بین پارامترهای رشد با یکدیگر و نیز همبستگی محتوای کلروفیل‌ها با یکدیگر و با کاروتنوئیدها مثبت و معنی‌دار بود ولی نسبت کلروفیل‌ها با هیچیک از شاخصهای رشد اندازه گیری شده ارتباط مثبت و معنی داری نداشته است. بنابراین نمیتوان تاثیرات معنی‌دار هورمونهای به کار رفته بر آنتن فتوسنتزی را منجر به افزایشی جدی در فرآورده‌های فتوسنتزی و افزایش رشد احتمالی منتج از آنها دانست.

مطالعات انجام شده در زمینه تنظیم‌کننده‌های رشد از قبیل جیبرلیک اسید نشان می‌دهد که آنها میتوانند سبب افزایش میزان رنگیزه‌های مطرح همچون کارتنوئیدها شوند (Hyun-Jin, et Kim et al., 2006; al., 2007; Glick et al., 2007). در آزمایشی گزارش شد که محلول پاشی هورمون‌ها باعث افزایش سطح سبز و رنگیزه‌های فتوسنتزی و تجمع ماده خشک در سه گیاه ذرت و لوبیا چشم بلبلی و باقلا می‌شود (Shaddad, 2008).

در پژوهشی دیگر، تاثیر غلظت جیبرلیک اسید، ایندول استیک اسید و نفتالین استیک اسید را بر رنگیزه‌های کلروفیل و کارتنوئید گیاه بابونه مورد بررسی قرار دادند (Kanjilal, and Singh, 1998). بر این اساس مشاهده شد که افزایش غلظت ایندول استیک اسید و نفتالین استیک اسید موجب کاهش ارتفاع گیاه و کلروفیل شد که با نتایج پژوهش حاضر همخوانی ندارد. همچنین ملاحظه شد که میزان کلروفیل در گیاهان تیمار شده با جیبرلیک اسید افزایش یافت.که با پژوهش حاضر مطابقت دارد. جیبرلیک اسید تجزیه و از بین رفتن کلروفیل را در طی فرایند پیری کاهش می‌دهد که ممکن است به دلیل نقش ساختاری جیبرلیک اسید در غشاء کلروپلاست باشد که در نهایت باعث تحریک فتوسنتز می‌گردد (Stephe et al., 2005, Janowsk and Jerzy,

2003). اکسین نقش مهمی در شکل گیری رنگیزه‌های فتوسنتزی ایفا می کند(Amin et al ., 2006). افزایش در محتوای رنگیزه ناشی از مصرف اکسین را می توان به افزایش سنتز یا جلوگیری از تخریب آن نسبت داد(Ashraf et al., 2006).

از طرفی جیبرلین‌ها با تحریک فعالیت برخی آنزیم‌های پروتئاز موجب تبدیل پروتئین‌ها به اسید-های‌آمینه از جمله تریپتوفان که پیش ساز اکسین است، می‌شوند. بنابراین برخی اثرات خود را بصورت غیر مستقیم از طریق اکسین نیز اعمال می‌کنند (Leshem, 1973). از تحقیقات انجام شده در کار حاضر می توان نتیجه گرفت که جیبرلین اثر معنی‌داری برمحتوای کلی ترپنوئیدها نداشته در حالی که اثر اکسین معنی دار بوده است. بیشترین افزایش معنی‌دار در محتوای ترپنوئیدی در تیمار NAA و پیش تیمار NAA و IBA مشاهده شد. با اینحال همبستگی محتوای ترپنوئیدی با هیچیک از موارد دیگر معنی‌دار نبود. استفاده ازسایکوسل و جیبرلیک اسید باعث افزایش محتوا و کیفیت مواد موثره در گیاه ریحان شد (Eid &Ahmed, 1976). تأثیر سیتوکینین‌ها و جیبرلیک اسید بر روی محتواترکیبات موثره و برخی صفات رشدی گیاه نعناع نشان داد که استفاده ازجیبرلیک اسید به صورت محلول پاشی برگی موجب افزایش رشد از یک سو و کاهش محتوای لینالول دراسانس از سوی دیگر گردید که این نتایج با نتایج پژوهش حاضر مطابقت ندارد (Zlatev,1978).

همچنین در مغایرت با نتایج کار حاضر، جیبرلین سبب کاهش مواد موثره در گل مریم (Kheiry, 2006)، میمون (Bushue et al.,1999) و گل محمدی (Saffari et al., 2004) شده است. در این مطالعه به نظر می رسد که هورمون محرک رشد اکسین (NAA) در بیوسنتز ترپن تاثیر بیشتری گذاشته است، همچنین مکانیسم تاثیرات هورمونی بر محتوای کاروتنوئیدی و بر محتوای سایر ترپنوئیدها متفاوت است و با توجه به آنکه کاروتنوئیدها گروهی از ترپنوئیدها میباشند ممکن است نشانی از تفاوت مسیرهای متابولیسمی کاروتنوئیدها (بیوسنتز، تجزیه و یا هردو) از سایر ترپنوئیدها و در نتیجه تفاوت تاثیرات هورمونی بر این مسیرهای متفاوت باشد.

با توجه به نتایج حاصل از کروماتوگرافی گازی-طیف سنجی جرمی بسیاری از ترکیبات شناسایی شده در عصاره افوربیا تریگونا دارای خواص درمانی و کاربردی دیگر هستند. یکی از مهمترین ترکیب شناسایی شده بیس- ۲ اتیل هگزیل فتالات است این ترکیب با وزن مولکولی ۳۹۰گرم /مول و نقطه ذوب ۵۰ درجه تیمار سانتیگراد و دمای ۳۸۵ درجه سانتی گراد با فرمول شیمیایی$C_{24}H_{38}O$ است. بیس -2_اتیل هگزیل فتالات به دلیل چربی دوست بودن جذب آب را کاهش داده و در ساخت فراورده‌های فشرده، زمان گیرایی چسب را افزایش میدهد .در فرایند خمیرسازی نیز سبب تاخیر در پخت و افزایش مواد شیمیایی در فرایند لیگنین زدایی خواهد شد .در کاغذسازی نیز به دلیل کاهش پیوند بین الیاف به طورکلی میتواند خواص مقاومتی کاغذ را کاهش دهد . اصلی ترین کاربرد این ترکیب در تولید رزینهای پی وی سی و وینیول کلرید است که برای انعطاف پذیری پلاستیک به آن اضافه می شود (Hosseini ., 2011 Hashemi). بیس ۲-اتیل‌هگزیل فتالات به عنوان یک نرم کننده مصنوعی در Alchornea cordifolia، شناسایی شده است (Mavar et al., 2008) در آلوئه ورا (Lee et al., 2000) و Euphorbia cyparissias نیز گزارش شده است (Toth-Soma et al., 1993).

این ترکیب یک بازدارنده آپوپتوز است و به‌عنوان یک آگونیست گیرنده آندرستان (استروئید) نقش دارد علاوه بر این ، دارای فعالیت ضد سرطان خون، ضد

جهش‌زایی، ضد میکروبی و ضد سمیت سلولی است (Lee et al .,2010).

پتانسیل استفاده از گیاه در درمان آنتی لوسمی به ویژه به دلیل محتوای بالای بیس (۲-اتیل هگزیل) فتالات‌هاست (Lee et al., 2010). همچنین ترکیب هگزا دکانویک اسید در درون چوب اقاقیا، پوست و چوب شب خسب واکالیپتوس و چوب درون و چوب برون و ریشه ارس نیز مشاهده شده است که جزو ترکیبات مهم به شمار می آید(Tajik et al., 2012; Hosseini Hashemi et al., 2011).

هگزادکانوئیک اسید (اسید پالمیتیک)، اسید چرب غالب در اکثر گیاهان ودانه‌ها است (De Souza et al., 2019). در تحقیق حاضر نیز، این ترکیب از دیگر ترکیبات مشترک در عصاره، بین شاهد و تیمار نفتالین استیک اسید می‌باشد. خاصیت ضد باکتری وضد قارچی اسیدهای چرب ویژگی شناخته شده‌ای است. قابل توجه است که اسیدهای چرب با تاثیری که بر سلول‌های ایمنی T می‌گذارند سیستم ایمنی بدن را تعدیل می‌کنند (Lawrence et al., 1993). مواد موثره اصلی شناسایی شده در گیاه Euphorbia hirta Linn شامل اسید هگزا دکانوئیک ، فیتول ،هگزا دکانال ، هگزا دکان – ۱-اول ، ۱و۲ بنزن دی کربوکسیلیک وترکیبات دیگر گزارش شده است (Modupe et al., 2009). در پژوهش‌های دیگری نیز هگزا دکانوئیک اسید و اسیدهای اولئیک به عنوان ضد باکتری وضد قارچی بالقوه شناخته شده‌اند (McGraw et al., 2002). این ترکیب در گیاه Tetracera scanden و در عصاره متانولی آن شناسایی شد. نتایج نشان داد که عصاره متانولی این گیاه دارای خاصیت آنتی اکسیدانی قوی می باشد (Soleha et al., 2020). همچنین گزارش شده است که این ماده یک ترکیب نماتیسید است و فعالیت ضدباکتری در برابر باکتری گرم مثبت و منفی دارد. این ترکیب خاصیت آنتی‌اکسیدانی آنتی میکروبی و پیشگیری از سرطان دارد ودر کاهش کلسترول موثر است. (Nurettin et al.,2009; wei et al., 2007). ترکیب شیمیایی دیگری که در شاهد و تیمار NAA مشترک بوده است ترکیب ٦،١٠،١٤-تری متیل ٢-پنتادکانون می‌باشد.

در عصاره اتانلی گیاه Phyllanthus niruri از خانواده افوربیاسه ترکیب ٢- پنتا دکانون ،٦،١٠،١٤،تری متیل به همراه ترکیبات دیگر گزارش شده است (Thana et al.,2006). همچنین ترکیبات اسانس بدست آمده از قسمتهای هوایی گلدار *Lamium album* L. مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و ٦،١٠،١٤-تری متیل-٢-پنتادکانون و ٤-هیدروکسی-٤-متیل-٢-پنتانانون به عنوان ترکیبات اصلی اسانس شناسایی شدند (Semnani et al., 2016). تحقیقی دیگر نشان داد که فیتول و ترکیب پنتا دکانون از اجزای رایج روغنهای موجود در گونه‌های فیکوس بودند (Sonibar et al.,2006).

در پژوهشی دیگر، اسانس قسمت‌های هوایی گیاه *Herniaria incana* توسط GC-MS مورد شناسایی قرار گرفت. اجزای اصلی تشکیل‌دهنده ٦،١٠،١٤-تری متیل ٢-پنتادکانون (٣٧,٦ درصد) و اسید پالمیتیک (٤,٠ درصد) بودند (Lazari et al.,2011). عصاره گیاه *Eclipta alba* L. به طور سنتی برای درمان اسهال ناشی از کمپیلوباکتر استفاده می شود. تری متیل-٢-پنتادکانون موجود در این عصاره می تواند آنزیم آرژینین دکربوکسیلاز را به طور موثر غیرفعال کند وچرخه متابولیکی باکتری مسبب اسهال را مختل نماید (Lazari et al., 2011).

داده‌های حاصل از این پژوهش نشان داد که ٤ ترکیب ٢٣- اتیل کلست- ٥- ان-٣- بتا، استیگماسترول، فیتول و بتا آمیرین در عصاره گیاهان شاهد حضور داشتند ولی در عصاره گیاهان تیمارشده با نفتالین استیک اسید مشاهده نشدند. تاثیر تیمار

هورمونی بر تغییر محتوای نوع ترپنوئیدها در سایر پژوهشها نیز گزارش شده‌است (Kim, et al., 2006 Zlatev, 1978; Glick, et Hyun-Jin, et al., 2007; al., 2007;).

نتیجه‌گیری

به‌طورکلی در پژوهش حاضر نوعی عدم حساسیت و رفتار محافظه کارانه در این گیاه از نظر پاسخ رشد بخش هوایی به هورمون‌ها دیده می‌شود. ممکن است این مسئله نشانی از نوعی سازگاری تکاملی در این گیاه ساکولنت و بیابانی باشد. در واقع علی رغم آبیاری مناسب در شرایط گلخانه ای، به نظر میرسد که سازشهای تکاملی با مناطق خشک، گیاه را به رفتار محافظه کارانه نسبت به احتمال مواجهه با کم آبی متمایل میکند. در نتیجه رشد سریع اندام هوایی در پاسخ به هورمون‌های رشد مشاهده نمی‌شود. بر اساس نتایج پژوهش حاضر ریشه بیش از ساقه نسبت به تاثیرات هورمونی حساسیت نشان داد. در واقع استراتژی گیاه در مورد رشد ریشه که اندام اصلی جستجو و جذب آب است متفاوت از اندام هوایی است. همچنین، تیمار NAA بیشترین اثر مثبت را در رشد ریشه داشت. افزایش شدید و معنی‌داری نیز در محتوای ترپنوئیدی در تیمار NAA و پیش تیمار NAA و همچنین در تیمار IBA مشاهده شد که میتواند نتیجه شایان توجهی برای مطالعات آتی در مورد افوربیا تریگونا به عنوان یک منبع زیستی ترپنوئیدهای دارویی باشد. از نظر تاثیر بر ترکیب آنتن فتوسنتزی و نسبت رنگیزه‌ها به یکدیگر نیز کلیه هورمونها به جز IBA تاثیرات معنی‌داری را نشان دادند. تیمار GA بیشترین اثرات مثبت را بر محتوای هر یک از کلروفیل‌های a و b و مجموع آنها داشت. هرچند تاثیر این تیمار بر محتوای ترپنوئیدی کل معنی‌دار نبود ولی بیشترین اثر معنی‌دار بر محتوای کلی کاروتنوئیدها که در واقع نوعی از ترپنوئیدها هستند نیز در همین تیمار مشاهده شد. نتایج مجموع ارزیابی‌ها نشان داد که تاثیر نوع هورمون و مکانیسم اثر آن بر مسیرهای متابولیسمی ترپنوئیدها ممکن است متفاوت باشد و بتوان از این نکته کاربردی در افزایش تولید تولید مواد موثره ارزشمندی مانند بیس اتیل‌هگزیل فتالات به کمک تیمارهای هورمونی استفاده کرد.

References

Abdullah G.R., Al-Khateeb A.A. and Serage M. (2003). Effect of different concentrations of growth regulators on Gardenia jasminoides cv. Veitchii micropropagation by tissue culture technique. Journal of Agriculture and marine sciences, 8(1), 35-40.

Amin, A.A., Rashad, M.El- Sh., and Gharib, F.A.E. (2006). Physiological response of maize plants (*Zea mays* L.) to foiliar application of morphactin CF and indole-3-butyric acid. J. Biol. Sci. 6(3): 547-554

Ashraf, M., Azhar, N., and Hussain, M. (2006). Indole acetic acid (IAA) induced changes ingrowth, relative water contents and gas exchange attributes of barley (*Hordeum vulgare* L.) grown under water stress conditions. J. Plant Growth. Regul., 50: 85-90

Bigoniya, P., & Rana, A.C. (2006). Antioxidant activity of a saponin isolated from Euphorbia nerifolia leaf, Recent Progress in plants, Natural Products. 2(20): 359-376.

Blythe, G., Denlay, T. & Sibley, J. L. (2000). Influence of commercial auxin formulation on cuttings of Camellia cultivars. SNA Research conference, 45: 303-306.

Centeno, A., & Gomez-Del-Campo, M. (2008). Effect of root promoting products in the propagation of organic olive (*Olea europaea* L.cv. Cronicabra) nursery plants. Hort Science 43: 2066-2069.

Dagang, W., Sorg, B., Adolf, W., Seip, E. and Hecker, E. (1992). Oligo- and macrocyclic diterpenes in thymelaeaceae and euphorbiaceae occurring and utilized in Yunnan (Southwest China). 2.

Ingenane type diterpene esters from Euphorbia nematocypha Hand.-Mazz. Phytotherapy Research, 6, 237-240.

Denaxa, N.K., Vemmos, S.N. and Roussos, P.A. (2012). The role of endogenous carbohydrates and seasonal variation in rooting ability of cuttings of an easy and a hard to root olive cultivars (*Olea europaea* L.). Sci. Hort. 143: 19-28.

De Souza, L. S., Puziol, L. C., Tosta, C. L., Bittencourt, M. L. F., Ardisson, J. S., Kitagawa, R. R., Filgueiras, P. R., & Kuster, R. M. (2019). Analytical methods to access the chemical composition of an Euphorbia tirucalli anticancer latex from traditional Brazilian medicine. Journal of ethnopharmacology, 237, 255–265.

Dhaduk, B. K., Kumara, S., Singh, A. and Desai, J. R.. (2007). Response of gibberellic acid on growth and flowering attributes in anthurium (*Anthurium andreanum* Lind.). Journal Ornamentals Horticulture. 10(3): 187-189.

Dharmasiri, N. Dharmasiri, S. and Estelle, M. (2005). The F-box protein TIR1 is an auxin receptor. Nature, 435:441–445.

Duhok, M. and Rasheed, M.S. (2010). Effect of different concentrations of kinetin and NAA on micropropagation of Gardenia jasmonioides. Journal of Zankoy Sulaimani. 13(1): 103-120.

Eid, M.N.A. & Ahmed, S.S. (1976). Preliminary studies on the effect of GA3 and CCC on growth and essential oil content of Ocimum basilicum L. Egypt Journal of Hortrticulture, 3, 83–87.

Ersoy, N. and Aydin, M. (2008). The effect of some hormone and humidity levels on rooting of Mahale (PrunusMahaleb) soft wood topcutting.Suleyman Demire luniversitiesi Ziraat Fakultesi Degisi. 3(1): 32-41.

Fathi G., & Esmaielpour B. (2000) Plant growth substances: principle and application. Jehad-e-Daneshghahee Mashhad. [In Persian with English Abstract]. Eisenreich W, Rohdich F, Bacher A .2001. Deoxyxylulose phosphate pathway to terpenoids. Trends Plant Sci., 6: 78–84.

Gershenzon J., & Croteau R. (1991). Terpenoids. In Herbivores their interaction with secondary plant metabolites, Vol I: The chemical participants, 2nd ed. G.A. Rosenthal and M.R. Berenbaum, eds, Academic press, San Diego, pp: 165-219.

Ghorai, N., Chakraborty, S., Guchhait, S., Saha, S.K., and Biswas, S. (2012). Estimation of Total Terpenoids Concentration in Plant Tissues using a Monoterpene, Linalool as Standard Reagent. Protoc Exch 1: 40.

Glick, A., S. Phllosoph-Hadas, A. Vainstein, A. Meir, Y. Tadmor and S. Meir. (2007). Methyl Jasmonate Enhances Color and Carotenoid Content of Yellow Pigmented Cut Rose Flowers. Acta Horticulturae. 755: 243-250.

Gordon R, Rees A (1977) Stem elongation in tulip and narcissus: The influence of floral organs and growth regulators. New Phytology 78: 579- 591.

Grieneisen, V. A. Xu, J. Mare, A. F. M. Hogeweg, P. Scheres, B. (2007) Auxin transport is sufficient to generate a maximum and gradient guiding root growth. Nature 449 1008–1013.

Gundidza, M., Sorg, B. and Hecker, E., (1993). A skin irritant principle from Euphorbia matabelensis Pax. Journal of Ethnopharmacology, 39, 209-212.

Hosseini Hashemi, S.Kh., Bagheri, and Safdari, A. V.R., and Sadeghifar, H., (2011). The chemical composition of the ethanol extract of black locust wood by using gas chromatography - mass spectrometry. Journal of Sciences and Techniques in Natural Resources, Vol 6 (3): 63-74. (In Persian).

Hughes N.M., Morley C.B. and Smith W.K. (2007). Coordination of anthocyanin decline and photosynthetic maturation in juvenile leaves of three deciduous tree species. New Phytologist, 175: 675–685.

Hunter WN (2007). The non-mevalonate pathway of isoprenoid precursor biosynthesis. Biological Chemistry, 282: p. 21573–21577.

Hyun-Jin, K., J. M. Fonseca, G. H. Chol and C. Kuboti. (2007). Effect of Methyl Jasmonate on Phenolic Compounds and Sarotenoid of Romain Lettuce (*Lactuca sativa* L.). Agricultural and Food Chemastry. 55: 10366- 10372.

Janowsk, B. and Jerzy, M. (2003). Effect of gibberrelic acid on postharvest leaf longevity of Zantedeschia elliottiana. Journal of Fruit and Ornamental pland Research. 11: 69-76.

Jokar, E., Sateei, A., Ebadi, M., Ahmadi Golsefidi, M. (2021). Comparative study of the effect of some types of nitrogen fertilizers on growth, alkaloid content and some physiological traits of the ornamental-medicinal plant Agave Americana cv marginata under greenhouse cultivation, Journal of Iranian Plant Ecophysiological Research.

Jones, R. J., Schreiber, B. E., McNeil, K. Brenner, M. L. (1990). Hormonal regulation of maize kernel development: the role of cytokinins. InProceedings of the Plant Growth Regulator Society of America, Seventh Annual Meeting, St. Paul, MN, August 5-9, 1990. Plant Growth Regulator Society of America, St. Paul, MN, pp 183-196.

Kaçar O., N. Azkan, and N. Çöplü. (2009). Effects of different rooting media and indole butyric acid on rooting of stem cuttings in sage (Salvia officinalis L. and Salvia triloba L.). Journal of Food, Agriculture & Environment, 7 (3): 349-352.

Kanjilal, P. B and R. S. Singh. (1998). Effect of phytohormones on growth, yield of flower heads and essential oil chamorile (*Chamornilla reactita* (L.) Rauschert). Indian Perfumer. 42(4): 197-200.

Kasim, N. E., and Rayya, A. (2009). Effect of different collection times and some treatments on rooting and chemical interminal constituents of bitter almond hard wood cutting. Journal of Agriculture and Biological Sciences 5(2): 116-122.

Khaligi A., and padasht-Dehkayee M. N. (2000). Iranian Journal Agricultural Sciences. 31 (3): 557-565 (in Persian).

Kheiry A. (2006). Effects of GA3 and 6-BA on the quality and essence of tuberose. M.Sc. Thesis, University of Tehran, Department of Horticultural Sciences, Karaj, Iran. [In Persian with English Abstract].

Khosh Khoi M. (2003). Multiplication plant (plant propagation) Principles and Practices (Volume II). Shiraz University Press, P ; 100. (in Persian).

Kim, H. J., F. Chen, X. Wang and N. C. Rajapakse. (2006). Effect of Methyl Jasmonate on Secondary Metabolites of Sweet Bsil (*Ocimum basilicum* L.). Journal of Agricultural and Food Chemistry. 54. 2327- 2332.

Kishan, S., Singh, K.P. and Raju. D.V.S. (2007). Vegetative growth, flowering and seed characters of African marigold (*Tagetes erecta* L.) as influenced by different.

Kukenov M. (1977). New toxic and cocarcinogenic diterpene esters from Euphorbiaceae. Pure Appl Chem. 49: 1423-31.

Lagarda, M., Garcia-Llatas, G. and Farré, R. (2006). Analysis of phytosterols in foods. J. Pharm. Biomed. Anal. 41(5):1486-96.

Lawrence J.L., Eric G.B., Robert B.Z. (1993). Treatment of rheumatoid arthritis with gamma linolenic acid. Ann Intern Med; 119:9.

Lazari, M.D., Skaltsa, H.D.. & Constantinidis, T. (2011). Composition of the Essential Oil of Herniaria incana Lam. from Greece, Journal of Essential Oil, 12: 435-437.

Lee, K.H., Kim, J.H., Lim, D.S. and Kim, C.H. (2000). Antileukaemic and anti-mutagenic ffects of di-(2-ethylhexyl) phthalate isolated from Aloe vera Linn. J. Pharm. Pharmacol., 52: 593-598.

Lee, K. H., Kim, J.H., Lim, D.S., & Kim, C.H, (2010). "Anti-leukaemic and Anti-mutagenic Effects of Di(2-ethylhexyl)phthalate Isolated from Aloe vera Linne", Journal of Pharmacy and Pharmacology, https://doi.org/10.1211/0022357001774246, 2010.

Leshem, Y. (1973). The molecular and hormonal basis of plant growth regulation. Department of life Science. Bar- Ilon University Ramat. Israel. pp: 159.

Lester, D.C., O.G. Carter, F.M. Kelleher and Laing, D.R. (2002). The effect of gibberellic acid on apparent photosynthesis and dark respiration of simulated swards of pennisetum clandestinum Hochst. Australian Journal of Agriculture Research, 23:205-213.

Mavar, M.H., M. Haddad, I. Pieters, C. Baccelli, A. Penge, and L.J. Quetin. (2008). Anti-inflammatory compounds from leaves and root of Alchornea cordifolia (*Schumach. and Thonn.*) Müll. Arg. J. Ethnopharmacol. 115:25-29.

McGraw, L.J., Jager, A.K., Van Staden, J. (2002). Isolation of antibacterial fatty acids from Schotia brachypetala. Fitoterapia, 73: 431-433.

Mlodzinska, E. (2009). Survey of plant pigments: molecular and environmental determination of plant colors. Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica 51: 7-16.

Modupe, O., Okiei, W., Ofor, E., & Osibote, E. (2009). Analysis of the essential oil from the dried leaves of Euphorbia hirta Linn (Euphorbiaceae), a potential medication for asthma. African Journal of Biotechnology 8 (24):7042-7050.

Motsa, M. N. (2006). Essential oil yield and composition of Rose – Scented Geranium (Pelargonium sp)as influenced by harvesting frequency and plant age. Submitted in partial fulfillment of requirements for the degree MSC (Agric)Agronomy.university of Pretoria.

Muraro, D., Byrne, H., King, J., VoB, U., Kiber, J., and Bennett, M. (2011). The influence of cytokinin–auxin cross-regulationon cell-fate determination in Arabidopsis thaliana root development. Journal of Theoretical Biology, 283:152–167.

Mwine, T.J., Van Damme, P., Hastilestari, B.R. and Papenbrock, J. (2013). *Euphorbia tirucalli* L. (Euphorbiacaea): the miracle tree: current status of knowledge. African natural plant products, volume II: discoveries and challenges in chemistry, health, and nutrition, 1127, 4-17.

Nurettin Yaylı, Ahmet Yaşar, & Nuran Yaylı. (2009). Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils from Centaurea appendicigera and Centaurea helenioides, Pharmaceutical Biology. 47(1):7-12.

Ougham H, Morris P, Thomas H (2005). The colors of autumn leaves as symptoms of cellular recycling and defenses against environmental stresses. Current Topics in Developmental Biol. 66:135-160.

Özlem, S., Aslan, T. and Tülay, A.Ç. (2013). Antioxidant, cytotoxic and apoptotic activities of extracts from medicinal plant Euphorbia platyphyllos L. JMPR, 7(19): 1293-1304.

Pacholczak A., Szydlo W., and Lukaszewska A. (2005). The effectiveness of foliar auxin application to stock plants in rooting of stem cutting of ornamental shrubs. Propagation of Ornamental Plants, 5(2): 100-106.

Panwar, R. D., Sindhu, S.S., Sharma, J.R. and Saini, R. S.. (2006). Effect of gibberellic acid spray on growth, flowering, quality and yield of bulbs in tuberose. Haryana Journal of Horticultrul Sciences. 35(3): 253-255.

Pospisllova, J. (2003). Participation of phytohormones in the stomatal regulation of gas exchange during water stress. Biologia Plantarum 46: 491-506.

Pradhan, B., and Khastgir, HN. (1969). Terpenoids and related compounds, chemical investigation of Euphorbia Sikkimensis. J Indian Chem Soc. 46: 331-4.

Rahmani, A., Sateei, A., Ebadi, M., & Ahmadi Golsefidi, M. (2021). Investigation of growth, nitrate reductase activity, total content of flavonoids, anthocyanins and some elements in Zamioculcas zamiifolia Engl. under the influence of three types of nitrogen fertilizers in greenhouse conditions, Journal of Iranian Plant Ecophysiological Research.

Rajala, A. and Peltonen-saninio, P. (2001). Plant Growth Regulator Effects on Spring Cereal Root and Shoot Growth. Agro. J. 93: 936-94.

Saffari, V., Khalighi, A., Lesani, H., Mesbah, B., and Julius F. (2004). Effect of different plant growth regulators and time of pruning on yield components of Rosa damascana Mill. International of Journal Agriculture and Biology6: 1040- 1042.

Sainio, P.P., Rajala, A., Simmons, S., Caspers, R. and Stutman, D.D. (2003). Plant Growth Regulator and daylenght effects on preanthesis main Shoot and tiller Growth in conventional and dwarf Oat Crop Sciences. 43: 227-233.

Semnani, M.K. Saeedi, M. & Akbarzadeh, M. (2016). Chemical Composition of the Essential Oil of the Flowering Aerial Parts of Lamium album L. Journal of Essential Oil Bearing Plants. vol. 19, no. 3, pp. 773-777.

Shaddad, M. A. Abd-ElSamad, H. M. K. and Ragaey, M. M. (2008) Drought Tolerance of Wheat Genotypes at the Early Vegetative Stage," Assiut University Journal of Botany 37: 15-32.

Shaddad, M.A.K., Hamdia Abd El-Samad, M. & Mohammed, H. T. (2011). Interactive Effects of Drought Stress and Phytohormones or Polyamines on Growth and Yield of Two M (*Zea maize* L.) Genotypes. American Journal of Plant Sciences, 2, 790-807.

Singh, S .(1992). Influence of auxins and planting time on carbohydrate and nitrogen fractions in semi-hardwood cuttings of Callistemon lanceolatus at root emergence -II. Adv. Hort. Forestry 2:165-171.

Soleha, M., Pratiwi, D.E., Sari, I.D., Hermiyanti, E., Yunarto, N. and Setyorini, H.A. (2020). Anti Antioxidant Activity of Methanol Extract *Tetracera scanden* L. Merr Predicted Active Compound of Methanol Extract with GCMS NIST Library Journal of Physics: Conference Series.

Sonibare, M.A., Ogunwande, I.A., Walker, T.M., Setzer, W.N., Soladoye, M.O. and Essien, E. (2006). Volatile constituents of Ficus exasperata Vahl leaves. Nat. Prod. Comm., 1, 763–765.

Stenfanic, M. and Vodnik, D. (2007). The effect of Fogging System on the Physiological Statas and Rooting Capacity of Leafy of Wood Species. Tree Structer and Function. 27: 441 – 496.

Stephen, G.T., R. Ivo and Camille, M.S. (2005). Gibberellin metabolism and signaling. Vitamins and Hormones, 72: 289-338.

Swamy, M.K., Arumugam, G., Kaur, R., Ghasemzadeh, A., Yusoff, M.M. and Sinniah, U.R. (2017). GC-MS based metabolite profiling, antioxidant and antimicrobial properties of different solvent extracts of Malaysian Plectranthus amboinicus leaves. Evidence-based Complementary and Alternative Medicine 2017: 1517683.

Tajik, M. and Vaysi, R. (2012). Identification and comparison of chemical components in extractive of bark and wood from willow by Gas chromatography- Mass spectrometry, Research projects Young Researchers and Elite Club, Chalous Branch, Islamic Azad University, 62 pp.

Tanaka, Y., Sakaki, N., Ohmiya, A (2008). Biosynthesis of plant pigments: anthocyanins, betalains and carotenoids. The Plant Journal. 54: 733-749.

Thana,N.N.Fotso, S., Poeggelerb, B., Hardelandb, R. & Laatsch, H. (2006). Niruriflavone, a New Antioxidant Flavone Sulfonic Acid from Phyllanthus niruri. Z. Naturforsch. 61b, 57 – 60.

Toth-Soma, L.T., Gulyas, S. & Szegletes, Z. (1993). Functional connection between and extracellular secretion in species of Euphorbia genus. Acta Biol. Hung., 44: 433-443.

Tripathi, A., N. Tripathi, S. N. Shukla and G. Pandey. (2003). Effect of GA, NAA and CCC on growth and flowering of French marigold (Tagetes patula). Journal of Applied Horticulture. 5(2): 112 -113.

Tyler E, Brady R, Robbers E. Pharmacognost. 9th ed. Lea and Febiger, Philadelphia, (1998); p: 441.

Vainstein A (2002) Breeding for ornamentals classicals and molecular approaches. Kluwer Acadamic Publishers, 392 pp.

Van Eck J, Conlin B, Garvin DF, Mason H, Navarre DA, Brown CR .(2007). Enhancing betacarotene content in potato by RNAi-mediated silencing of the beta-carotene hydroxylase gene. Potato Research, 84(4): p. 331–342.

Weaver, R.J. (1972). Plant Growth Substances in Agriculture. W.H. Freeman and Co., San Francisco, 594 p.

Wei A, Shibamoto T.(2007). Antioxidant activities and volatile constituents of various essential oils. Journal of Agricuiture Food Chemistry. 55(5):1737-42.

Zlatev, S., Iliev, L., Zlatev, M. & Vasiliv, G. (1978). Effect of some cytokinin on first material and essential oil yields in peppermint. Raseniev di Nanki, 15, 57–60.