داروهای گیاهی، سال هشتم، شماره۳ (ویژه نامه فارسی)، ۱۵۹-۱۶۸
doi: 10.14196/JHD.2018.159

فصل‌نامه داروهای گیاهی
journal homepage: www.jhd.iaushk.ac.ir

اثر تنظیم‌کننده‌های مختلف رشد و تیمار زخم در افزایش ریشه‌زایی قلمه‌های مورد (*Myrtus communis*)

حمیدرضا منصوری[۱]، عبدالله قاسمی پیربلوطی[۱*]، جلیل نوربخشیان[۲]، فاطمه ملک پور[۱]

۱. گروه گیاهان دارویی، مرکز پژوهش‌های گیاهان دارویی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد؛
**مسئول مکاتبات (E-mail: qhasemi955@yahoo.com)*

۲. مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان چهارمحال و بختیاری؛

شناسه مقاله

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۶/۰۷/۱۰
تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۶/۰۹/۱۵
نوع مقاله: علمی - پژوهشی
موضوع: گیاهان دارویی

کلید واژگان :
- ✓ *مورد*
- ✓ *ریشه‌زایی*
- ✓ *ایندول بوتیریک اسید*
- ✓ *نفتالین استیک اسید*

چکیده

مقدمه و هدف: استفاده از قلمه، یکی از مهم‌ترین شیوه‌های افزایش درختان و درختچه‌ها می‌باشد. گیاه مورد (***Myrtus communis* L.**) یکی از گیاهان دارویی و بومی فلور ایران و از گیاهان ویژه منطقه مدیترانه است که در مناطق استپی با شرایط زمستان‌های سرد و تابستان‌های گرم و خشک نیز رویش دارد. راحت‌ترین و ارزان‌ترین روش تکثیر این گیاه از طریق قلمه است، ولی قلمه‌های این گیاه به راحتی ریشه دار نشده و نیاز به تیمار خاصی از جمله، استفاده از اکسین و سیتوکینین می‌باشد.

روش تحقیق: این آزمایش در قالب فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با ۴ فاکتور (سه سطح تنظیم کننده **IBA**، سه سطح تنظیم کننده **NAA** و سه سطح تنظیم کننده **CK** و فاکتور زخم (زخم و عدم زخم) در سه تکرار انجام شد و صفاتی از قبیل تعداد ریشه، طول بلندترین ریشه، طول ریشه، تعداد ساقه فرعی، طول بلندترین ساقه و تعداد قلمه‌های ریشه‌دار شده مورد ارزیابی قرار گرفت.

نتایج و بحث: نتایج به دست آمده اختلاف معنی‌دار تیمارهای آزمایشی را در سطح احتمال یک درصد نشان داد. از بین تیمارها بهترین تیمار که منجر به تولید تعداد ریشه‌های مطلوب شد، تیمار مربوط به اکسین از نوع نفتالن استیک اسید با غلظت **۵۰۰ ppm** در شرایط بدون زخم است و تیماری که بزرگترین ریشه‌ها را تولید کرده بود، تیمار مربوط به اکسین از نوع نفتالن استیک اسید با غلظت **۱۰۰۰ ppm** در شرایط ایجاد زخم است. از بین مقادیر، تیمار **۱۰۰۰ ppm IBA** بیشترین درصد ریشه‌زایی را به همراه داشت، **IBA** با غلظت **۱۰۰۰ ppm** در شرایط ایجاد زخم و **NAA** با غلظت **۲۰۰۰ ppm** در شرایط بدون زخم مؤثرترین تیمار بوده است.

توصیه‌های کاربردی صنعتی: با توجه به اهمیت ریشه‌زایی در مورد درختانی مانند مورد که اهمیت دارویی فوق العاده دارند، توصیه می‌شود از هورمون اکسین از نوع نفتالین استیک اسید برای تولید بیشترین میزان ریشه‌های مطلوب استفاده کرد.

۱.مقدمه

قلمه‌زدن یکی از معمولی‌ترین روش‌های تکثیر رویشی است که امروزه به طور وسیعی مورد استفاده قرار می گیرد. تکثیر به وسیله قلمه امروز به صورت نقطه عطفی، در امر گسترش ارقام و گونه‌های علفی یا چوبی جدید مورد توجه قرار گرفته است (Harrison-Murry and Howard, 2000).

ریشه‌زایی به دنبال قلمه‌زدن نتیجه فرآیندهای پیچیده بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی است که تحت تأثیر فاکتورهای مختلفی مانند ژنتیک، مرحله رشدی، تنظیم کننده‌های رشد، ترکیبات فنولی، فعالیت پراکسیدازها، فتوپریود، شدت و کمیت نور قرار می‌گیرد (Rugini *et al.*, 1993). به طورکلی، محیط کشت عاملی است که بر درصد قلمه‌هایی که ریشه‌دار می‌شوند و نوع ریشه‌ای که روی آن ایجاد می‌شود، مؤثر است. محیط کشت باید رطوبت و اکسیژن کافی داشته و عاری از عوامل بیماری‌زا باشد (Khosh Khoy *et al.*, 2008). برای به دست آوردن بیشترین درصد ریشه‌زایی، قلم‌ها را بایستی با تنظیم کننده‌های رشد تیمار نمود (Denaxa *et al.*, 2012). پژوهشگران گزارش کرده‌اند که استفاده از مواد کمک ریشه‌زا مانند پراکسید هیدروژن، آسکوربیک اسید، پوترسین و پاکلوبوترازول به همراه IBA باعث افزایش ریشه‌دهی قلمه‌ها می‌شود (رمضانی و همکاران، ۱۳۸۸). تیمار قلمه‌ها با مواد مختلف برای انگیزش ریشه نابجا دارای تاریخچه‌ای کهن می باشد. از جمله قرار دادن بذر جوانه زده غلات در شکاف ته قلمه‌ها که روشی قدیمی است و مردمان خاورمیانه و اروپای قدیم از آن استفاده می‌کرده اند. این روش دارای مبنای علمی می‌باشد، زیرا بذرهای در حال جوانه‌زنی تولید ایندول استیک می‌نماید که اکسین طبیعی می‌باشد (Hartmann *et al.*, 1997).

نقش اساسی اکسین در القا ریشه زایی و تشکیل آغازنده ریشه اثبات شده است. اکسین بر روی سرعت و افزایش درصد ریشه‌زایی قلمه‌ها اثر دارد. اکسین موجب افزایش تقسیم و توسعهٔ سلولی در پوست، آوند آبکش و لایه زاینده می‌شود که این موضوع منجر به شکسته شدن حلقهٔ اسکلرانشیمی موجود می‌گردد (Selby and Kennedy, 1992). در واقع اکسین الگوی تقسیم سلولی را در سلول‌ها همزمان می‌کند (Campanoni *et al.*, 2003) و تشکیل ریشه جانبی را با فعال‌سازی چرخهٔ سلولی، میانجی‌گری می‌کند.

گیاهان اکسین طبیعی را در شاخه‌ها و برگ‌های جوان تولید می‌کنند، اما برای ریشه‌زایی موفقیت‌آمیز باید اکسین مصنوعی بکار برده شود تا از مرگ قلمه‌ها جلوگیری شود (Kasim and Rayya, 2009). اکسین‌های مورد استفاده در ریشه‌زایی معمولاً اکسین‌های سنتز شده هستند. از جمله اکسین‌هایی که به این منظور به کار برده شده‌اند: ایندول استیک اسید (IAA)، نفتالین استیک اسید (NAA) و ایندول بوتیریک اسید (IBA) می‌باشند. حداکثر تأثیر، در تحریک تولید ریشه های نابجا را دو اکسین NAA و IBA دارند. اگرچه جستجو برای یافتن اکسین‌های جدیدی که اثر محرک بر ریشه‌زایی داشته باشند، هنوز ادامه دارد (Blazich *et al.*, 1989). اکسین IBA و NAA به طور گسترده برای القا تشکیل ریشه‌های نابجا در قلمه‌های گیاهی استفاده شده‌اند (Blazich, 1989). برای مثال تیمار کردن قلمه‌های رز با IBA تشکیل ریشه و تعداد ریشه‌های جانبی را افزایش می‌دهد (Van de pol, 2000).

اسید ایندول بوتیریک (IBA) اثر اکسینی ضعیفی داشته و توسط آنزیم‌های تجزیه‌کننده به کندی تجزیه می‌شود و به همین دلیل اثر زیادی در ریشه‌زایی دارد. IBA در غلظتی گسترده، غیرسمی بوده و برای تسهیل ریشه‌زایی در بسیاری از گونه‌های گیاهی مؤثر است (Sivapalan *et al.*, 1986). بر اساس تحقیقی که توسط کوپز و مندل (۲۰۰۰) بر روی قلمه‌های گیاهان صورت گرفته، اسید ایندول بوتیریک و اسید نفتالن استیک هر دو اثر رونق بخشی بر تولید ریشه‌های نابجا دارند (Copes and Mandel, 2000).

علاوه بر این در مورد برخی درختان، اغلب از تکنیک لخت کردن و یا زخم کردن بخش پایین قلمه استفاده می‌کنند که ۳-۲ خراش طولی با نوک چاقوی هرس در ۳-۲ سانتی‌متری انتهای ته قلمه ایجاد می‌کنند (Hartmann *et al.*, 1997). زخم‌کردن قسمت تحتانی قلمه، منجر به افزایش تقسیم سلولی در پارانشیم‌های کنارهٔ لایه زاینده، افزایش اکسین و کربوهیدارت در ناحیه زخم، افزایش تنفس سلولی، تجمع مواد فنولی و تحریک تولید اتیلن شده که، همگی بر کیفیت و کمیت ریشه‌ها مؤثرند (Hartmann *et al.*, 1997; Selby and Kennedy, 1992). گزارش‌های مختلف حاکی از آن است که زخم کردن انتهای قلمه‌ها منجر به تشکیل کالوس و نمو ریشه می‌شود، همچنین اکسین‌ها و کربوهیدرات‌ها در محل زخم جمع می‌شوند و به ریشه‌زایی بهتر قلمه‌ها کمک می‌کنند (Kasim and Rayya, 2009). زخم‌زنی ریشه‌زایی را به دلیل تولید هورمون‌های تراماتیک اسید (HOOC.CH=CH(CH2)8COOH) ، بهبود می‌بخشد و باعث از هم گسیختگی لایه اسکلرانشیم می‌شود. زخم‌زنی باعث تمرکز CO_2 در مقایسه با O_2 می شود و درصد ریشه‌زایی قلمه‌ها را تا ۲۹ درصد افزایش می‌دهد (Tsipouidis *et al.*, 2003).

مورد با نام علمی *Myrtus communis* از خانواده Myrtaceae، درختچه‌ای است همیشه سبز، به بلندی حدود ۳ متر، با ساقه‌های بسیار متعدد و منشعب، که در خاورمیانه به عنوان چاشنی کاربرد دارد. اسانس این گیاه عمدتاً حاوی دو ترکیب اصلی و مهم آلفاپینن و ۱، ۸ سینئول می‌باشد. این گیاه به عنوان ضدعفونی کننده، نیرودهنده، پایین آورنده قندخون، درمان ترشحات زنانگی و خونروی‌ها و رفع بیماری‌های پوستی کاربرد دارد.

تحقیقات نشان می‌دهد در صورتی که مصرف هورمون در هنگام ریشه‌زایی بیش از حد نیاز باشد، علاوه بر افزایش هزینه، سبب بر هم

زدن تعادل هورمونی در گیاه می‌شود. بنابراین اهمیت تعیین بهترین غلظت هورمون، برای تکثیر گونه‌های مختلف گیاهی کاملاً مشخص است (Ersoy and Aydin, 2008). همچنین توانایی قلمه‌ها برای ریشه‌زایی، به محتوای اکسین، ترکیبات فنولیک و آنزیم‌های آنها بستگی دارد (Loreti and Morini, 1985). این پژوهش به منظور بررسی اثر غلظت‌های مختلف هورمون‌های IBA و NAA و سیتوکینین بر ریشه‌زایی قلمه‌های گیاه مورد، که یکی از گیاهان دارویی مهم و ارزشمند می‌باشد، در شرایط زخم و بدون زخم، اجرا شد. نتایج این تحقیق می‌تواند برای تکثیر انبوه این پایه در شرایط اقلیمی ایران مورد استفاده قرارگیرد.

۲. مواد و روش‌ها

۲-۱. تهیه مواد اولیه آزمایش

به‌منظور بررسی اثر غلظت‌های مختلف هورمون‌های ایندول بوتیریک اسید، نفتالین استیک اسید و سیتوکینین و تیمار زخم بر ریشه‌زایی قلمه‌های مورد، آزمایشی در سال ۱۳۹۲ در گلخانه‌ای در شهرکرد اجرا گردید. شاخه‌های خشبی گیاه مورد در ۱۴ دی ماه ۱۳۹۲ از گیاهان خودروی طبیعی واقع در حاشیه رودخانه که در سطح زیاد رشد نموده بودند، تهیه گردید. برای تهیه شاخه‌ها سعی شد از نرک‌های جوان یک تا سه ساله که به صورت پاجوش و تنه جوش رشد کرده و ارتفاعی حدود ۸۰ تا ۱۲۰ سانتی‌متر طول داشتند، استفاده شود.

آزمایش ریشه‌دار کردن قلمه‌های مورد در دو زمان متفاوت انجام شد. یک آزمایش با شاخه‌های خشبی در پایان فصل زمستان و دیگری با قلمه‌های سبز سال جاری، که حدود ۲۰ سانتی‌متر رشد کرده بودند. باتوجه به همیشه سبز بودن گیاه مورد و امکان تبخیر و کاهش رطوبت شاخه، شاخه‌های بریده شده در پوشش پلاستیکی پیچیده شده و به آزمایشگاه منتقل گردید.

۲-۲. بستر کشت

برای تهیه بستر کشت، ماسه بادی بدون خاک با دانه‌هایی به قطر ۰/۲ تا ۱ میلی‌متر که هم برای نگهداری رطوبت مناسب است و هم تهویه کافی درون آن ایجاد می‌شود، از کناره‌های زاینده‌رود جمع آوری گردید. این ماسه ها بعد از انتقال به آزمایشگاه با استفاده از اتوکلاو در دمای ۱۲۰ درجه سلسیوس ضدعفونی شد. پس از سرد شدن ماسه‌ها گلدان هایی به ارتفاع ۱۵سانتیمتر انتخاب و درون هر گلدان تا ارتفاع ۱۰ سانتی‌متری با ماسه ضدعفونی شده پر شد.

۲-۳. ریشه‌دار کردن قلمه‌ها

برای ریشه‌دار کردن قلمه‌ها، ۲۰۰ عدد قلمه چوبی شده ۲۰ سانتی‌متری با میانگین قطری معادل ۵ میلی‌متر تهیه گردید. قلمه-ها به دو دسته زخم‌خورده و زخم‌نخورده تقسیم شدند. برای تهیه قلمه‌های زخم خورده با تیغ تیز یک شیار باریک به طول ۲ سانتی-متر در ته قلمه ایجاد گردید. دو نوع هورمون گیاهی اکسین (IBA و NAA) و یک نوع هورمون گیاهی سیتوکنین (BAP) در سه سطح هورمونی ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر و تیمار بدون هورمون (شاهد) در ۱۰ تکرار استفاده شد. قلمه‌های آماده شده در دسته‌های ۱۰ عددی به مدت ۵ ثانیه در هر یک از تیمارهای هورمونی فرو شد و سپس این قلمه‌ها روی یک پارچه تمیز قرار گرفت تا به تدریج هورمون جذب قلمه شده و خیسی ته قلمه‌ها خشک شود. پس از آن برای حفاظت قلمه‌ها از آلودگی‌های قارچی در زمان ریشه‌زایی با استفاده از محلول قارچ‌کش ۲ در هزار مانکوزب ضدعفونی شدند. شرایط بستر ریشه‌زایی برای ریشه‌دارشدن قلمه‌ها نیز فراهم شد. دمای بستر کاشت برای ریشه دارشدن قلمه ها با استفاده از سیستم پاگرما در دامنه دمایی ۱±۲۵ درجه سلسیوس تنظیم گردید. این دما در ناحیه ریشه‌زایی قلمه‌ها در ته قلمه تأمین گردید، در حالی که دمای فضای بالایی قلمه‌ها معمولاً ۱ تا ۲ درجه کمتر از دمای ناحیه ریشه‌زایی بود. آبیاری قلمه‌ها به صورت مه‌پاشی تأمین گردید.

۲-۴. ارزیابی نتایج ریشه‌دار شدن و تأثیر هورمون بر شرایط قلمه‌ها در بستر کشت

از روز هفتم کاشت قلمه‌ها شرایط عمومی قلمه‌ها از جمله سبز بودن برگ، ریزش برگ‌ها و تولید جوانه جانبی بررسی شد و از روز بیستم با شستن قسمتی از ماسه بستر تشکیل کالوس و شروع ریشه‌زایی مورد بررسی‌های مقدماتی قرار گرفت تا این که دو ماه بعد از کاشت اقدام به خروج قلمه‌های همه تیمارها از بستر کشت گردید. تعداد قلمه‌های ریشه‌دار شده شمارش و یادداشت گردید. برای مقایسه نتایج از هر تیمار ۳ عدد قلمه ریشه‌دار شده انتخاب و یادداشت‌برداری از تعداد ریشه تولید شده و طول ۳ عدد از طویل-ترین ریشه، همچنین تعداد جوانه تولید شده و اندازه میزان رشد شاخه‌های فرعی انجام شد.

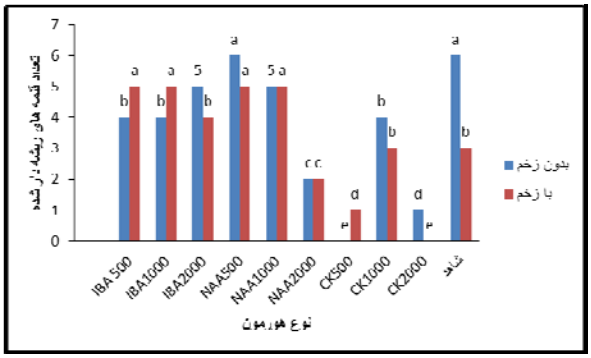
۲-۵. آنالیز آماری

آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار و هر تکرار شامل سه قلمه و بررسی آماری طرح با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS و مقایسه میانگین داده‌ها بر اساس آزمون

حداقل اختلاف معنی‌داری (LSD) در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

۳. نتایج و بحث

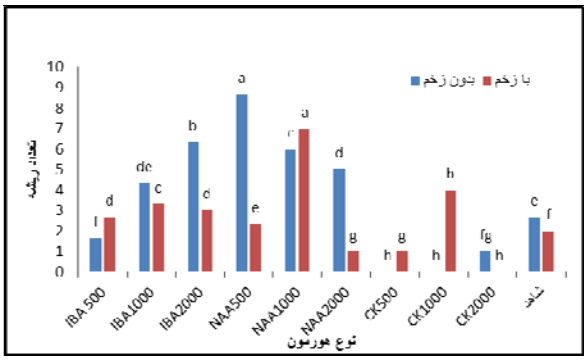
ظرفیت قلمه ساقه برای تشکیل ریشه با ارزیابی درصد قلمه‌های ریشه‌دار، تعداد ریشه در هر قلمه و سرعت ظهور و رشد ریشه سنجیده می‌شود. اغلب شرایط لازم برای آغازش ریشه و طویل شدن ریشه متفاوت است، به طوری که آغازش ریشه تحت تاثیر ژنتیک و شرایط فیزیولوژیکی گیاه است، در حالی که طویل شدن ریشه حساسیت بیشتری به شرایط محیطی دارد. همان‌طور که در شکل ۱ مشاهده می‌گردد، بیشترین تعداد قلمه‌های ریشه‌دار شده از هورمون اکسین نوع نفتالین استیک اسید در شرایط بدون زخم به دست آمد و کمترین مربوط به سیتوکینین در غلظت ۵۰۰ ppm در شرایط بدون زخم و سیتوکینین ۲۰۰۰ ppm در شرایط ایجاد زخم بود.



شکل ۱. اثر متقابل هورمون و زخم و عدم زخم بر تعداد قلمه‌های ریشه دار شده (IBA: ایندول بوتیریک اسید، NAA : نفتالین استیک اسید، CK: سیتوکینین)

اکسین تشکیل ریشه نابجا در قلمه‌های ساقه را از طریق تحریک فعالیت آغازنده‌های ریشه و افزایش انتقال کربوهیدرات به انتهای قلمه تسهیل می‌کند. پس به طورکلی، همان‌گونه که مشاهدات هنگام آزمایش و نتایج ارائه شده نشان می‌دهد هورمون سیتوکینین نقشی در تولید ریشه واقعی ندارد، ولی هورمون‌های IBA و NAA در تولید و رشد ریشه تأثیر فراوانی دارد، ولی در غلظت‌های مختلف اثرات متفاوتی دارند. زخم‌کردن قسمت تحتانی قلمه، منجر به افزایش تقسیم سلولی در پارانشیم‌های کنارهٔ لایه زاینده، افزایش اکسین و کربوهیدارت در ناحیه زخم، افزایش تنفس سلولی، تجمع مواد فنولی و تحریک تولید اتیلن شده که, همگی بر کیفیت و کمیت ریشه‌ها مؤثرند (Hartmann et al., 1997; Selby and Kennedy, 1992). گزارش‌های مختلف حاکی از آن است که زخم کردن انتهای قلمه‌ها منجر به تشکیل کالوس و نمو ریشه می‌شود، همچنین اکسین‌ها و کربوهیدرات‌ها در محل زخم جمع می‌شوند و به ریشه‌زایی بهتر قلمه‌ها کمک می‌کنند (Kasim and Rayya, 2009).

همانطور که در شکل ۲ مشاهده می‌شود بیشترین میانگین تعداد ریشه مربوط به اکسین از نوع نفتالن استیک اسید با غلظت ۵۰۰ ppm در شرایط بدون زخم است. به همین ترتیب IBA نیز باعث افزایش تعداد ریشه شده است. به نظر می‌رسد هورمون اکسین می تواند تعداد ریشه های جانبی را در حد مطلوبی افزایش دهد.



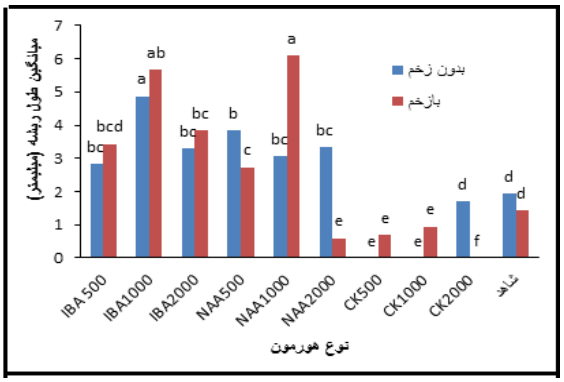
شکل ۲. اثر متقابل نوع هورمون و زخم و عدم زخم بر میانگین تعداد ریشه(IBA: ایندول بوتیریک اسید، NAA : نفتالین استیک اسید، CK: سیتوکینین)

راهداری و همکاران (۲۰۱۰) در مورد اثر تیمار با نفتالین استیک اسید بر درصد ریشه‌زایی، نشان دادند که تیمارهای نفتالین استیک اسید باعث افزایش ریشه‌زایی می‌شود، افزایش غلظت NAA از ۱۰۰۰ به ۲۰۰۰ میلی گرم در لیتر باعث افزایش ریشه‌زایی شده و افزایش غلظت این تنظیم کننده از ۲۰۰۰ به ۳۰۰۰ باعث کاهش درصد ریشه‌زایی شده است که این موضوع با نتایج برخی پژوهشگران هماهنگی دارد (Alizadeh and Gregorian, 2001). در این پژوهش نیز اختلاف درصد ریشه‌زایی در بین سه سطح نفتالین استیک اسید معنی‌دار شد.

پژوهشگران معتقدند که غلظت‌های بالای اکسین می‌تواند موجب تخریب بافت‌های ته قلمه شود. افزایش تعداد ریشه در قلمه تاحدودی به دلیل افزایش هیدرولیز ذخایر غذایی تحت تأثیر اکسین‌ها است (Hartman *et al.*, 1997; Macdonald, 2000) که افزایش هیدرولیز کربوهیدرات‌ها در اثر کاربرد خارجی هورمون اکسین نیز مشاهده شده است (Nanda & Anand, 1970). وجود مقادیر زیاد اسیدهای آمینه، ذخایر نیتروژنی و افزایش تنفس در قسمت تحتانی قلمه‌های تیمار شده با هورمون ایندول بوتیریک اسید سبب انگیزش ریشه‌های نابجا و افزایش تعداد پیش آغازنده-

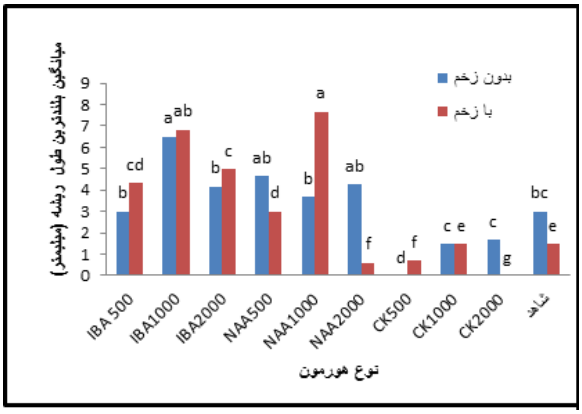
های ریشه و تا حدودی طویل شدن ریشه می‌گردد (Fuches, 2001). مطابق با نتایج این پژوهش اثرات مثبت غلظت‌های مختلف IBA بر ریشه‌زایی قلمه خشبی ژنوتیپ‌های رز نیز گزارش شده است (Ercisli & Guleryuz, 1999) و نشان دهنده این است که قلمه‌های گونه‌های مختلف نیازمند نسبت بهینه تنظیم کننده‌های رشد برای ریشه‌زایی بهتر هستند و رفتار سطوح مختلف یک هورمون بر صفات ریشه زایی متفاوت است. فوچز (۱۹۸۵) بیان کرد غلظت بیش از حد اکسین موجب زرد شدن و ریزش برگ‌ها، سیاه شدن ساقه و سرانجام خشک شدن قلمه‌ها می‌شود. در صورتی که غلظت‌های مناسب غیرسمی بود و موجب مقاوم شدن و افزایش تولید کالوس و ریشه می‌شود (Fuches, 1985). مک دونالد و همکاران (۲۰۰۰) نتایج مشابهی را در مورد غلظت های بالای ۵۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر IBA جهت ریشه زایی انواع سوزنی برگان گزارش نموده اند. ولی بر اساس گزارش صفدری و صانعی شریعت پناهی (۱۳۷۹)، حداکثر درصد ریشه‌زایی در غلظت‌های ۴۰۰۰ و ۶۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر IBA حاصل شده است. نتایج بدست آمده نشان داد کاربرد ایندول بوتیریک اسید اثر معنی داری بر درصد ریشه زایی داشت که با نتایج بلایت و همکاران (۲۰۰۱) مطابقت دارد (Blythe *et al.*, 2007).

همانطور که در شکل ۳ مشاهده می‌گردد، بیشترین میانگین طول ریشه مربوط به اکسین از نوع نفتالن استیک اسید با غلظت ۱۰۰۰ppm در شرایط ایجاد زخم است. به نظر می‌رسد در شرایط ایجاد زخم غلظت ppm ۱۰۰۰ می‌تواند شرایط مطلوبی را برای افزایش طول ریشه ایجاد کند.



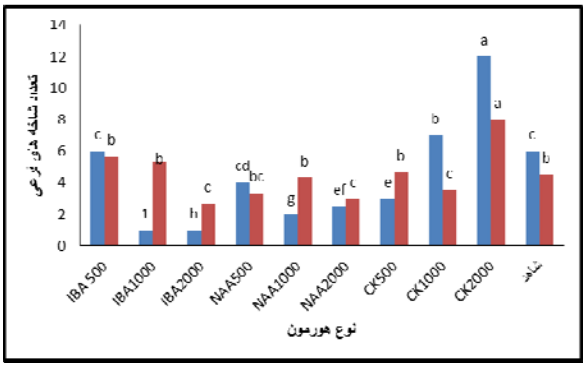
شکل ۳. اثر متقابل نوع هورمون و (زخم و عدم زخم) بر میانگین طول ریشه (IBA: ایندول بوتیریک اسید، NAA : نفتالین استیک اسید، CK: سیتوکینین)

نتایج حاکی از آن است که در تیمار هورمون اکسین از نوع نفتالن استیک اسید در غلظت ppm ۱۰۰۰ بلندترین طول ریشه مشاهده شد. راهداری و همکاران (۲۰۱۰) نیز نشان دادند که در مورد NAA بالاترین طول ریشه مربوط به سطح ۱۰۰۰ میلی‌گرم در در لیتر بوده و با افزایش غلظت، طول ریشه مجداً کاهش یافته است، که اختلاف آن نسبت به شاهد معنی‌دار نبود.



شکل ۴. اثر متقابل نوع هورمون و (زخم و عدم زخم) بر میانگین بلندترین طول ریشه(IBA: ایندول بوتیریک اسید، NAA : نفتالین استیک اسید، CK: سیتوکینین)

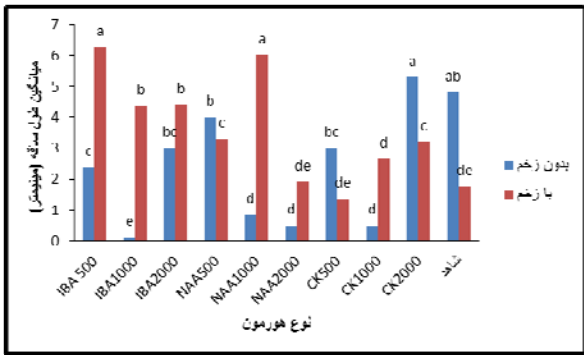
همانطور که در شکل ۵ مشاهده می‌گردد بیشترین تعداد شاخه فرعی مربوط به سیتوکینین در غلظتppm ۲۰۰۰ بود. کافی و همکاران (۱۳۷۹) نیز گزارش نمودند سیتوکینین می‌تواند موجب تحریک رشد جوانه‌های جانبی شود و تا اندازه‌ای موجب از بین رفتن غالبیت جوانه انتهایی می‌شود و اثرات اکسین را خنثی می‌کند.



شکل ۵. اثر متقابل نوع هورمون و (زخم و عدم زخم) بر تعداد شاخه فرعی(IBA: ایندول بوتیریک اسید، NAA : نفتالین استیک اسید، CK: سیتوکینین)

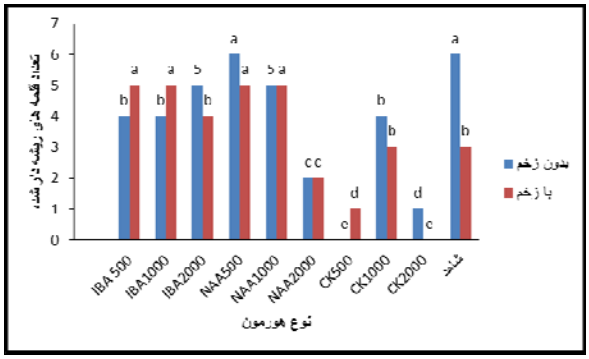
در غلات نیز کاهش نسبت اکسین به سیتوکینین سبب افزایش تعداد پنجه در گیاه می شود. سیتوکینین می‌تواند سبب تأخیر پیری در گل‌های بریده و سبزیجات تازه شود. سیتوکینین در نگهداری کلروفیل، جذب اسیدهای آمینه و نگهداری پروتئین‌ها در برگ دخالت دارد.

همانطور که در شکل ۶ مشاهده می‌گردد بیشترین اندازه طول ساقه از هورمون نفتالن استیک اسید در غلظتppm ۱۰۰۰ در شرایط ایجاد زخم می‌باشد. به نظر می‌رسد مناسب‌ترین غلظت در شرایط ایجاد زخم میزان ppm ۱۰۰۰ باشد و در شرایط بدون زخم هورمون سیتوکینین با غلظتppm ۲۰۰۰ توانسته بیشترین میزان طول ریشه را به خود اختصاص دهد. مقایسه میانگین بر اساس آزمون LSD نشان می‌دهد که در شرایط ایجاد زخم دو هورمون نفتالین استیک اسید و ایندول بوتیریک اسید هر دو در یک گروه آماری مشترک قرار گرفته‌اند.



شکل ۶. اثر متقابل نوع هورمون و (زخم و عدم زخم) بر میانگین طول ساقه(IBA: ایندول بوتیریک اسید، NAA : نفتالین استیک اسید، CK: سیتوکینین)

همانطور که در شکل ۷ مشاهده می‌گردد میانگین بلندترین طول ساقه از هورمون نفتالین استیک اسید در غلظت ppm ۱۰۰۰ در شرایط ایجاد زخم می‌باشد.

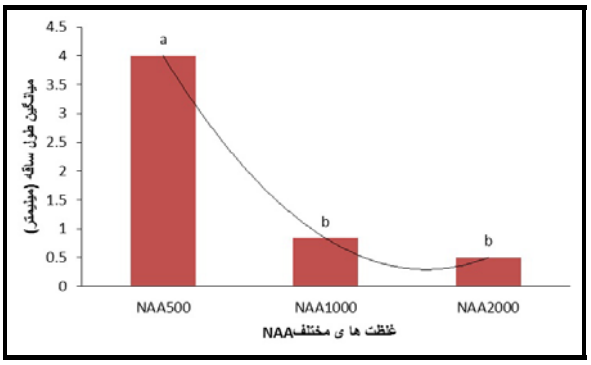


شکل ۷. اثر متقابل نوع هورمون و (زخم و عدم زخم) بر میانگین بلندترین طول ساقه(IBA: ایندول بوتریک اسید، NAA : نفتالین استیک اسید، CK: سیتوکینین)

به نظر می‌رسد مناسب‌ترین غلظت در شرایط ایجاد زخم میزان ppm ۱۰۰۰ باشد و در شرایط بدون زخم شاهد توانسته بیشترین میزان طول ریشه را به خود اختصاص دهد. مقایسه میانگین بر اساس آزمون LSD نشان می‌دهد که در شرایط ایجاد زخم دو هورمون نفتالن استیک اسید و ایندول بوتیریک اسید هر دو در یک گروه آماری مشترک قرار گرفته‌اند.

۳-۱. *اثر غلظت‌های مختلف هورمون NAA بر میانگین طول ساقه در شرایط ایجاد زخم*

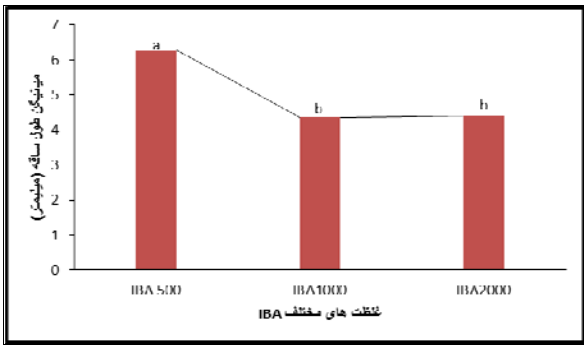
اطلاعات شکل ۸ نشان می‌دهد که هورمون اکسین از نوع NAA با غلظت ۵۰۰ می‌تواند طول ساقه را افزایش دهد. به طوری که بر اساس مقایسه میانگین با آزمون LSD در سطح ۵ درصد با غلظت های ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ پی پی ام در گروه آماری متفاوتی قرار دارند.



شکل ۸. رگرسیون اثر غلظت های مختلف NAA بر میانگین طول ساقه در شرایط ایجاد زخم (IBA: ایندول بوتریک اسید، NAA : نفتالین استیک اسید، CK: سیتوکینین)

۳-۲. *اثر غلظت‌های مختلف هورمون IBA بر میانگین طول ساقه در شرایط ایجاد زخم*

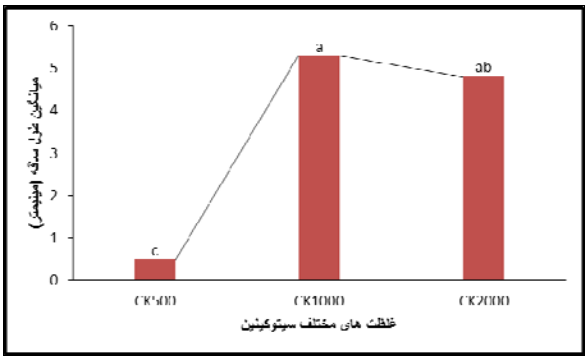
همانطور که در شکل ۹ مشاهده می‌گردد، هورمون ایندول بوتیریک اسید در غلظت ۵۰۰ پی پی ام بیشترین میانگین طول ساقه را به خود اختصاص داده است، به طوری که بر اساس مقایسه میانگین با آزمون LSD در سطح ۵ درصد با غلظت های ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ پی پی ام در گروه آماری متفاوتی قرار دارند. به طوری که دو غلظت ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ پی پی ام در گروه مشترک قرار گرفته اند.



شکل ۹. اثر غلظت های مختلف هورمون IBA بر میانگین طول ساقه در شرایط ایجاد زخم(IBA: ایندول بوتریک اسید، NAA : نفتالین استیک اسید، CK: سیتوکینین)

۳-۳. اثر غلظت‌های مختلف سیتوکینین بر میانگین طول ساقه در شرایط ایجاد زخم

مقایسه میانگین اثر غلظت های مختلف سیتوکینین بر میانگین طول ساقه نشان داد که بیشترین اندازه طول ساقه از غلظت ۱۰۰۰ پی پی ام به دست آمد. به گونه ای که بر اساس آزمون LSD در سطح اختلاف ۵ درصد هر کدام از این سه غلظت تقریباً در سه گروه آماری متفاوت قرار می گیرند.



شکل ۱۰. اثر غلظت‌های مختلف سیتوکینین بر میانگین طول ساقه در شرایط ایجاد زخم (IBA: ایندول بوتریک اسید، NAA : نفتالین استیک اسید، CK: سیتوکینین)

همچنین در این بررسی نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های مربوط به صفت وزن خشک ریشه نشان داد که اختلاف بین دو سطح ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی گرم در لیتر، IBA و NAA، و هر سه غلظت مخلوط دو تنظیم کننده ی نسبت به شاهد اختلاف معنی‌داری نشان دادند. کمترین مقدار وزن خشک ریشه مربوط به تیمار شاهد بوده است. نتایج مربوط به داده‌های مربوط به وزن تر ریشه نشان داد که وزن تر ریشه به ترتیب در تیمارهای (۱۰۰۰+۱۰۰۰) میلی‌گرم در لیتر مخلوط دو تنظیم کننده مخلوط دو تنظیم کننده (NAA + IBA) نسبت به شاهد در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌داری نشان دادند. کمترین مقدار وزن تر مربوط به تیمار شاهد می‌باشد. نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها از نظر صفت تعداد ریشه در هر قلمه نشان داد که تیمارهای به کار رفته در غلظت های یاد شده باعث افزایش تعداد ریشه در هر قلمه شده‌اند. به طوری که اختلاف تمام تیمارها با تیمار شاهد در سطح ۵ درصد معنی دار است. بجز غلظت های ۱۰۰۰ و ۳۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر NAA و که نسبت به شاهد اختلاف معنی داری نشان ندادند.

در مورد تأثیر تیمارها بر درصد ریشه زایی قلمه ها نتایج نشان دادند که کاربرد ایندول بوتیریک اسید در دو سطح ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی گرم در لیتر باعث افزایش معنی دار درصد ریشه زایی نسبت به شاهد شده که با نتایج تحقیقات سایر پژوهشگران هماهنگی دارد (Khosh Khoy, 2003). علت اثر مثبت این ماده بر ریشه‌زایی را می‌توان به تأثیر اکسین‌ها در تحریک تقسیم اولین یاخته های ریشه‌زایی است. این نتایج نیز با IBA آغاز گر ریشه دانست. در غلظت ۳۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر نتایج بعضی پژوهش‌ها هماهنگی دارد، چرا که به کارگیری اکسین‌های سنتز شده با غلظت زیاد روی قلمه‌های ساقه می‌تواند از نمو جوانه‌ها جلوگیری کند (Khosh Khoy, 2003).

به طور کلی، غیر از اکسین عوامل دیگری در ریشه زایی قلمه ها نقش دارند. هم زمان با تحریک ریشه زایی توسط اکسین، انتقال کربوهیدرات‌ها از برگ به سوی ریشه، به ریشه‌زایی کمک شایانی کرده است. به طور کلی قندها، ترکیبات حاوی نیتروژن، ترکیبات فنلی و سایر کوفاکتورها در ریشه‌زایی قلمه مؤثرند (Khosh Khoy, 2003).

در مورد اثر تیمار با نفتالین استیک اسید بر درصد ریشه‌زایی، نتایج نشان داد که هر سه سطح تیمارهای یاد شده نفتالین استیک اسید با شاهد معنی دار است و افزایش غلظت NAA از ۱۰۰۰ به ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر باعث افزایش ریشه‌زایی شده و افزایش غلظت این تنظیم‌کننده از ۲۰۰۰ به ۳۰۰۰ باعث کاهش درصد ریشه زایی شده است که این موضوع با نتایج برخی پژوهشگران هماهنگی دارد (Alizadeh and Gregorian, 2001). اختلاف درصد ریشه زایی در بین سه سطح نفتالین استیک اسید معنی‌دار شد.

پژوهشگران معتقدند که غلظت‌های بالای اکسین می‌تواند موجب تخریب بافت‌های ته قلمه شود، سولفات روی به عنوان پیش ساز سنتز اکسین عمل می‌کند. در مورد تیمارهای مخلوط دو تنظیم کننده بر درصد ریشه زایی نیز نتایج حاکی از آن است که اختلاف هر سه سطح تیمار یاد شده با تیمار شاهد معنی دار است. همچنین

تیمارهای مخلوط دو تنظیم کننده باعث افزایش تعداد ریشه در قلمه، طول ریشه، وزن تر ریشه و وزن خشک ریشه در قلمه شده است. در بسیاری پژوهش‌ها نیز تأکید شده که آمیختن مواد تسهیل کننده ریشه‌زایی، از کاربرد هر کدام به تنهایی مؤثرتر است (Khosh Khoy, 2003).

افزایش غلظت ایندول بوتیریک اسید از ۱۰۰۰ به ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر باعث افزایش طول ریشه، تعداد ریشه، وزن‌تر ریشه و وزن خشک ریشه در قلمه ها شده که به نظر می‌رسد، به علت تأثیر این تنظیم کننده بر تحریک ریشه های نابجا و ترغیب توسعه آغازنده‌های ریشه نهفته و پیش تشکیل شده می‌باشد. در مورد نفتالین استیک اسید، طول ریشه با افزایش غلظت نفتالین استیک اسید کاهش می‌یابد، اما تعداد ریشه، وزن‌تر ریشه، وزن خشک ریشه در قلمه از غلظت ۱۰۰۰ به ۲۰۰۰ میلی گرم در لیتر نفتالین استیک اسید افزایش و از غلظت ۲۰۰۰ به ۳۰۰۰ میلی گرم در لیتر نفتالین استیک اسید، کاهش می‌یابد.

در مجموع می‌توان گفت که غلظت‌های ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر NAA و مخلوط دو تنظیم کننده (۱۰۰۰+۱۰۰۰) میلی‌گرم در لیتر (NAA+IBA) مناسب ترین تیمارها جهت ریشه دار کردن قلمه های نیمه خشبی آرالیا می‌باشند. نتایج این پژوهش از تأثیر مثبت تنظیم کننده‌های رشد IBA،NAA بر ریشه زایی قلمه ها حکایت دارد، اما حداکثر ریشه‌زایی بدست آمده، ۷۶/۶ درصد می‌باشد. با تغییر نوع محیط ریشه زایی، آب پاشی و ... می‌توان درصد ریشه زایی را افزایش داد.

به طور کلی ثابت شده است که اکسین نقش محوری در تعیین ظرفیت ریشه زایی که عامل ضروری برای تکثیر رویشی است ایفا می کند. با این وجود پژوهش‌ها حاکی از آن است که درصد بقای قلمه‌های ریشه‌دار شده از وراثت پذیری بالایی برخوردار است (Borralho & Wilson, 1994). در واقع پاسخ به اکسین توسط دو خانواده پروتئینی بزرگ شامل پروتئین‌های ARF (فاکتور پاسخ به اکسین) که در فرآیند رونویسی، ARF ها در جایگاه پروموتورهای ژن اولیه پاسخ به اکسین، به صورت کاملاً اختصاصی با ژن مورد نظر تشکیل باند می دهند و به صورت محرک یا مانع شونده میزان رونویسی آن را کنترل می کنند و پروتئین‌های AUX / IAA تنظیم می شود (Overvoorde *et al*., 2005). تغییرات در الگوی تجمع mRNA و پروتئین در طی تشکیل ریشه تحت تاثیر اکسین در هیپوکوتیل ماش و تغییرات بیان ژن در قلمه های کاج Loblolly ، سیب و بادام در تیمار اکسین شناسایی شد. بیان بیش از ۲۰۰ ژن در طول تشکیل ریشه نابجا در هیپوکوتیل کاج *Pinus contorta* تیمار شده با اکسین و برداشت شده در مراحل مختلف نموی از توسعه ریشه بیانگر دخالت این ژن‌ها در فرآیند انتقال اکسین، فتوسنتز، تکثیر سلول و سنتز دیواره سلولی بودند (Brinker *et al*. 2004). ژن ARL_1 (Adventitious root less) کدکننده پروتئین بیان شده در پریموردیای ریشه نابجا و جانبی، بافت آوندی، فلس و دمبرگ‌های جوان است. ARL1 ژن پاسخگوی اکسین و اتیلن است و الگوی بیان آن در ریشه‌ها موازی با توزیع اکسین است، که سبب تمایز زدایی سلول‌ها و شروع تقسیم سلولی در مجاوت دایره محیطیه در ساقه می‌شود (Liu *et al*. 2005). از آنجایی که القای ریشه و مکانیسم‌های مربوط به ایجاد ریشه در گیاهان مربوط به فعالیت ترکیبات اکسینی است (George *et al*., 2008a) تولید ریشه در گیاهان به شدت تحت تأثیر سنتز، متابولیسم، انتقال و مسیرهای انتقال علائم اکسین می‌باشد (George *et al*., 2008b) و تیمار با اکسین سبب تنظیم عوامل پیش برنده (Up regulation) یا کاهنده (Down regulation) بیان ژن‌ها می‌گردد (Weijers & Jurgens, 2004). از طریق تبدیل به فرم فعال IAA بر روی بافت گیاهی تاثیر گذاشته (Lucia *et al*. 2010) و با توجه به توانایی ارتباط با ناقلین اکسین، توسط ناقلین IAA وارد سلول می‌گردد (Marchant *et al*., 1999). تاثیر کاربرد خارجی اکسین در تحریک ریشه‌زایی در قلمه های ساقه همچنین بستگی به انتقال کافی از محل کاربرد به محل آغازش ریشه های نابجا دارد (Blythe *et al*., 2007).

۴. نتیجه‌گیری

به طورکلی، از بین تیمارها بهترین تیمار که منجر به تولید تعداد ریشه های مطلوب شد، تیمار مربوط به اکسین از نوع نفتالن استیک اسید با غلظت ۵۰۰ پی پی ام در شرایط بدون زخم است و تیماری که بزرگترین ریشه ها را تولید کرده بود تیمار مربوط به اکسین از نوع نفتالن استیک اسید با غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام در شرایط ایجاد زخم است. از بین مقادیر، IBA تیمار ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام بیشترین درصد ریشه زایی را به همراه داشت، IBA با غلظت ۱۰۰۰ پی پی ام در شرایط ایجاد زخم و NAA با غلظت ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام در شرایط بدون زخم مؤثرترین تیمار بوده است. به نظر می‌رسد که علت اثر مثبت این ماده بر ریشه زایی را می توان به تأثیر اکسین ها در تحریک تقسیم اولین یاخته های ریشه زایی است. این نتایج نیز با IBA آغاز گر ریشه دانست. چرا که به کارگیری اکسین‌های سنتز شده با غلظت زیاد روی قلمه های ساقه می تواند از نمو جوانه ها جلوگیری کند.

۵. منابع

Alizadeh, A. and Gregorian, O., 2001. Study of the semi-woody cuttings rooting of peach and almond hybrids in the mist, Journal of Horticultural Science and Technology, 2:143-154.

Blazich, F.A., Davis, T.D., Haissing, B.E. and Sankhla., 1989. Mineral nutrition and adventitious rooting. In Adventitius Root formation in cutting eds. *Dioscorides press poress porthland*, pp. 67-69.

Blythe, E.K., Sibley, J.L., Tilt, K.M., Ruter, J.M., 2007. Methods of auxin application in cutting propagation: A review of 70 years of scientific discovery and commercial practice. Journal of Environmental Horticulture, 25(3): 166-185.

Borralho, N.M.G. and Wilson, P., 1994. Inheritance of initial survival and rooting ability in Eucalyptus Globulus Labill. stem cuttings. Silvae Genetica, 43: 238-242.

Brinker, M, van Zyl, L., Liu, W., Craig, D., Sederoff, R.R., Clapham, D.H., Von Arnold, S., 2004. Microarray analyses of gene expression during adventitious root development in *Pinus contorta*. Plant Physiology, 135(3): 1526-1539.

Campanoni, P., Blasius, B., Nick, P., 2003. Auxin transport synchronizes the pattern of cell division in a tobacco cell line. Plant Physiology, 133(3): 1251-1260.

Copes, D.L. and Mandel, N.L. 2000., Effects of IBA and NAA treatments on rooting Douglas-fir stem cuttings. New Forests, 20: 249-257.

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.). Scientia Horticulturae, 143: 19-28.

Ercisli, S. and Guleryuz, M., 1999. A study of the propagation of hardwood cuttings of some rose hips. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 23 (Supplement 3): 305- 310.

Ersoy, N., and Aydin, M., 2008. The effect of some hormone and humidity levels on rooting of Mahaleb (*Prunus mahaleb*) soft wood top cutting. Suleyman Demired Universitesi Ziraat Fakultesi Degisi 3(1): 32-41.

George, E.F., Hall, M.A. De Klerk G.J., 2008b. The anatomy and morphology of tissue cultured plants., In: Plant Propagation by Tissue Culture. Springer. Netherlands, pp. 465-477.

George, E.F., Hall, M.A., De Klerk, G.J., 2008a. Plant growth regulators I: introduction; auxins, their analogues and inhibitors., In: Plant Propagation by Tissue Culture. Springer. Netherlands, pp. 175-204.

Harrison-Murry, R.S. and Howard, B.H., 2000. Environmental requirements as determined by rooting potential in leafy cutting., In: Genetic and Environmental Manipulation of Horticultural Crops, pp. 59-64.

Hartmann, H.T., Kester, D.E., Davies, F.T. and Geneve, R.T., 1997. Plant propagation. International Edition. Prentice Hall. 769pp.

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.

Khosh khoy, C.E., Sheibani, B., Tafazzoli, A. and Rohani., 2008. Principles of Horticulture. Shiraz University, Iran, pp. 522 -526.

Khosh Khoy, M., 2003. Synergistic plant (growing plants) principles and methods. Shiraz University Press. Vol 2. pp. 522-526.

Liu, H., Wang, S., Yu, X., Yu, J., He, X., Zhang, S., Wu, P., 2005. ARL1, a LOB□domain protein required for adventitious root formation in rice. The Plant Journal, 43(1): 47-56.

Loreti, F. and Morini, S., 1985. Rooting responses to BS, B2 and GF677 rootstocks cuttings. Acta Horticulturae, 173: 261-269.

Lucia, C.S., Hendrickson Culler, A., Cohen, J.D., Bartel, B., 2010. Conversion of Endogenous Indole-3-Butyric Acid to Indole-3-Acetic Acid Drives Cell Expansion in Arabidopsis Seedlings. Plant Physiology, 153: 1577–1586.

MacDonald, B., 2000. Practical Woody Plant Propagation for Nursery Growers. Timber Press.

Marchant, A., Kargul, J., May, S.T., Muller, P., Delbarre, A., Perrot Rechenmann, C., Bennett, M.J., 1999. AUX1 regulates root gravitropism in Arabidopsis by facilitating auxin uptake within root apical tissues. EMBO Journal, 18(8): 2066-2073.

Overvoorde, P.J., Okushima, Y., Alonso, J.M., Chan, A., Chang, C., Ecker, J.R., Hughes, B., Liu, A., Onodera, C., Quach, H. 2005. Functional genomic analysis of the AUXIN/INDOLE-3-ACETIC ACID gene family members in *Arabidopsis thaliana*. Plant Cell, 17:3282–3300.

Rahdari, P., Mohanna, M., Asadi, A., 2010. Effect of zinc sulfate and IBA and NAA on rooting of semihardwood cuttings of Aralia spp. and its' bio-environment effect. Journal of Sciences and Techniques in Natural Resources, 5 (1): 95-103.

Rugini, E., Jacobani, A., Luppino, M., 1993. Role of basal darkening and exogenous putrescine treatment on in vitro rooting and on endogenous polayamines changes in difficult to root woody species. Scientia Horticulturae, 53: 63-73.

Selby, C. and Kennedy, S. J., 1992. Adventitious root formation in hypocotyl cuttings of Picea sitchensis: The influence of plant growth regulators. New Phytologist Journal, 120: 453-57.

Sivapalan, P.; Kulasegaram, S. and Kathiravetpillai, A., 1986. Hand book on Tea . Tea Research Insditute of Srilanka. 352 PP.

Stefanic, M., Stamper, F., and, Oster, G., 2006. The level of IAA, IAAsp and some phenolics in cherry rootstock, Gisela5, leafy cutting pretreated with IAA and IBA. Scientia Horticulturae, 112: 399-405

Van de pol Peter, A., 2000. Promotion of root formation with other effects. *Rhizophon*.

Weijers D, Jurgens, G., 2004. Funneling auxin action: specificity in signal transduction. Current Opinion in Plant Biology, 7: 687–693.