مقاله پژوهشی، صفحات ۱۸۴-۱۶۸
DOI: 10.22034/JPR.2022.2191

ریزازدیادی گیاه *Haworthia attenuatae* با استفاده از کینتین و بنزیل‌آمینوپورین بهمراه نفتالین‌استیک‌اسید

نفیسه نجاریان کرمانی[۱]، مهدیه پارسائیان[۱*] و زیبا قسیمی حق[۲]

[۱] **ایران، شاهرود، دانشگاه صنعتی شاهرود، دانشکده کشاورزی، گروه زراعت و اصلاح نباتات**

[۲] **ایران، شاهرود، دانشگاه صنعتی شاهرود، دانشکده کشاورزی، گروه باغبانی و گیاهپزشکی**

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۰/۱۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۱/۲۶

چکیده

روش معمول ازدیاد *Haworthia attenuatae* (Haw.) Rowely بدلیل کم بودن تعداد پاجوش‌ها و نرخ ریشه‌زایی پایین قلمه برگی، بازده تجاری خوبی ندارد. در پژوهش حاضر ریزازدیادی این گیاه با استفاده از ریزنمونه‌های برگی و کاربرد سیتوکینین‌های BAP و KIN (۰/۵، ۱و ۲ میلی‌گرم در لیتر) در ترکیب با اکسین NAA (۰، ۰/۰۱، ۰/۱ و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر) در محیط MS بررسی گردید. نتایج نشان داد که کاربرد BAP و NAA شاخساره‌های باززا شده‌ی بیشتری را از ریز نمونه‌ی تحتانی برگ تولید نمود. حداکثر تعداد برگ (۳/۵۵ عدد) و طویل‌ترین برگ‌ها (۰/۶۱سانتی‌متر) در تیمار۲ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر NAA در باززایی از ریزنمونه‌ی تحتانی برگ حاصل شد. عریض‌ترین برگ‌ها (۰/۴۴ تا ۰/۴۸ سانتی‌متر) با مصرف ۲ میلی‌گرم در لیتر BAP بهمراه عدم مصرف و سطوح ۰/۰۱ و ۰/۱ مصرف NAA تولید شدند. نتایج استفاده از KIN نشان داد که با تیمار ۲ میلی‌گرم در لیتر KIN و ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر NAA طویل‌ترین برگ‌ها (۰/۵۶سانتی‌متر) به تعداد بالا (۲/۴۵ عدد)، از ریزنمونه‌ی برگ‌کامل بدست آمد. همچنین عریض‌ترین (۰/۸۷ سانتی‌متر) برگ‌ها با اعمال۲ میلی‌گرم در لیتر KIN بدست آمدند. نتایج ریشه‌زایی شاخساره‌های باززا شده در محیط‌های MS و ½MS با غلظت‌های ۰، ۰/۵ ، ۱ ، ۱/۵ میلی-گرم در لیتر NAA نشان داد که بیشترین تعداد (۴/۳۳ عدد) و طویل‌ترین ریشه‌ها (۲/۱۶ سانتی‌متر) در محیط کشت ½MS با ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA تولید گردیدند. ۹۰ درصد شاخساره‌های ریشه‌دار با محیط گلخانه سازگار شدند. بنابراین، بهینه سازی دقیق این پروتکل در ریزازدیادی تجاری *H. attenuatae* با استفاده از ریزنمونه‌های برگی کاربردی خواهد بود.

واژه های کلیدی: ریزازدیادی، *Haworthia attenuatae*، تنظیم کننده‌های رشد گیاهی، ریزنمونه برگی

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۲۳۳۲۵۴۴۰۲۱ پست الکترونیکی: mahparsa.cb@shahroodut.ac.ir

مقدمه

جنس هاورتیا از ساکولنت‌های تک لپه‌ای و کوچک جثه‌ی خانواده‌ی Asphodelaceae می‌باشد که بلحاظ رشدی گیاهانی چندساله، گوشتی و گلدار هستند. این گیاهان نسبت به دیگر گیاهان گوشتی به نور متوسط متحمل‌تر هستند و از این رو با توسعه آپارتمان نشینی در گروه گیاهان محبوب در کل دنیا، جهت استفاده در باغ‌های مینیاتوری، مراکز اداری و بالکن‌ها قرار گرفته اند (۹). همچنین در مناطق با زمستان ملایم درترکیب با سنگریزه ها در طراحی فضای سبز کشت می‌گردند. هاورتیاها تنوع مورفولوژیکی زیادی در مناطق بومی خود از جمله آفریقای جنوبی، سوازیلند، موزامبیک و نامیبیا دارند که این امر جلب توجه گیاه‌شناسان و گردآورندگان ساکولنت‌ها را در پی داشته است (۹ و ۱۰). با توسعه پرورش گونه‌های مختلف هاورتیا، امروزه این گیاهان در بازارهای گل جهانی

مقاله پژوهشی، صفحات ۱۸۴-۱۶۸
DOI: 10.22034/JPR.2022.2191

داد و ستد می‌شوند (۱۰ و ۲۰). در بین گونه‌های مختلف هاورتیا، *H. attenuatae* بدلیل دارا بودن خطوط سفید رنگ و راه راه در برگ‌های ضخیم، نوک تیز، سبز رنگ و سفت خود به هاورتیای گورخری نیز معروف است. این گونه بدلیل داشتن زیبایی خاص، هم اکنون در کشورمان ایران هم پای بازارهای گل جهانی ارزش اقتصادی خوبی پیدا کرده است (۹). هاورتیاها به هر دو روش جنسی و غیرجنسی امکان ازدیاد دارند با این‌حال، ازدیاد جنسی آنها بدلیل خودناسازگاری، تولید کم بذر، کند رشد بودن گیاهان بذری و وجود تنوع ژنتیکی به‌ندرت توسط تولیدکنندگان مورد استفاده قرار می‌گیرد (۲۴). علاوه بر این، ازدیاد غیرجنسی این گیاهان نیز در مقیاس تجاری از طریق اندام‌های غیرجنسی نظیر پاجوش و قلمه برگی با محدودیت مواجه است. چرا که اولاً تهیه نمونه‌های مادری سالم و کافی دشوار است، ثانیا درصد ریشه‌زایی قلمه‌های برگی پایین است (۹ و ۲۴). این در حالی است که ریزازدیادی با حذف محدودیت‌های فصلی و محیطی می‌تواند بعنوان یک راهکار مناسب جهت ازدیاد در گونه-های هاورتیا جایگزین گردد (۱۸ و ۱۹). با این وجود، موفقیت این روش متاثر از برخی عوامل بیرونی نظیر نوع محیط کشت پایه و ترکیبات معدنی و آلی اضافه شده به آن، تنظیم کننده‌های رشدی گیاه، دما، کمیت (شدت) ،کیفیت و مدت زمان تابش نور و نیز عوامل درونی شامل نوع ریزنمونه، موقعیت ریزنمونه در گیاه مادری و اثر متقابل این عوامل است. تا کنون، کالوس‌زایی و باززایی غیرمستقیم گونه‌های مختلف هاورتیا با استفاده از هورمون های اکسینی NAA, 2,4-D و IAA و سیتوکینینی BAP, TDZ و KIN در محیط‌های پایه White و MS گزارش شده است (۱۰، ۱۷ و ۲۰). علاوه براین، باززایی مستقیم آنها در محیط پایه MS با استفاده از ریزنمونه‌ی برگی و ترکیب هورمون‌های اکسینی و سیتوکینین‌های BAP و KIN درگونه‌های *H. retusa, H. emelyae, H. mirabilis* و *H. mutica* (۲۸) و نیز با استفاده از ریزنمونه‌ی گل‌آذین و هورمون‌های BAP و Zeatin در گونه‌های *H. attenuate, H. coorctata* و *H. limifolia* (۲۷) و همچنین با کاربرد ریزنمونه‌های برگی و ساقه و ترکیب هورمون‌های BAP و IAA در گونه‌ی *H. cymbioformis* گزارش گردیده است (۲۱).

نظر به عدم وجود منابع تحقیقاتی کافی در ریزازدیادی تجاری گونه‌ی *H. attenuatae* جهت تامین تقاضای رو به رشد این ساکولنت آپارتمانی و نیز محدودیت‌های ازدیاد طبیعی این گیاه، راهکار کشت بافت در این پژوهش مورد استفاده قرار گرفت. در این راهکار، باززایی مستقیم این گیاه در محیط پایه MS تغییر یافته (استفاده از آهن Fe-EDDHA بجای Fe-EDTA) با استفاده از دو نوع ریزنمونه‌ی برگی و تیمار هورمون‌هایBAP و KIN بهمراه اکسین NAA با هدف بهینه‌سازی تکثیر انبوه غیرجنسی این گونه در شرایط درون شیشه‌ای مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روشها

بمنظور ریزازدیادی *H. attenuatae* ابتدا گیاهان سالم از گلخانه‌ای تجاری در شهرستان شاهرود تهیه گردیده و به آزمایشگاه بیوتکنولوژی دانشگاه صنعتی شاهرود منتقل شدند. برای حذف آلودگی‌های سطحی، نخست ریزنمونه‌های برگی بمدت ۳۰ دقیقه در زیر آب جاری قرار داده شدند و سپس در زیر هود ایرفلولامینار، ۱ دقیقه در الکل ۷۰ درصد غوطه‌ور شدند. بعد از دوبار شستشو با آب مقطر استریل، ریزنمونه‌ها در هیپوکلریت سدیم ۲۰ درصد بمدت ۱۰ دقیقه غوطه‌ورگردیدند. در مرحله پایانی سه بار با آب مقطر استریل آبکشی شده و نهایتا ریزنمونه‌های استریل شده در زیر هود، روی کاغذ صافی استریل گذاشته شدند تا سطح آن‌ها خشک شود.

محیط پایه مورد استفاده در این مطالعه، موراشیگ و اسکوک (MS) (۲۳) تغییر یافته بود به این ترتیب که در فرمول آن بجای ۳۷/۶ میلی گرم در لیتر آهن

مقاله پژوهشی، صفحات ۱۸۴-۱۶۸
DOI: 10.22034/JPR.2022.2191

Ethylenediamine tetraacetate ferric (FeNaEDTA) sodium iron از ۱۱۰ میلی گرم در لیتر آهن (Fe-Ethylenediamine di-2-hydroxyphenyl (EDDHA acetate ferric بعنوان جایگزین استفاده گردید. بررسی باززایی شاخساره در دو آزمایش جداگانه در قالب فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی انجام شد. در هر دو آزمایش، فاکتور اول نوع ریزنمونه شامل برگ کامل و قسمت تحتانی برگ (به اندازه ۲ سانتی‌متر) و فاکتور دوم، نوع هورمون سیتوکینینی BAP (در آزمایش اول) یا KIN (در آزمایش دوم) هریک با غلظت‌های ۰/۵، ۱ و ۲ میلی-گرم در لیتر و فاکتور سوم هورمون اکسین NAA با غلظت‌های۰، ۰/۰۱، ۰/۱، ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر بود. واکشت ریزنمونه‌ها بطور مرتب هر چهار هفته یک بار انجام گردید. ریشه‌زایی شاخساره‌های باززا شده، در یک آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی بررسی شد که فاکتور اول نوع محیط پایه (محیط MS و ½MS تغییر یافته) و فاکتور دوم غلظت‌های هورمون اکسین NAA (۰، ۰/۵، ۱ و ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر) بود. برای پیشگیری از اثرات منتقل شونده تیمارهای هورمونی مرحله باززایی و یکسان سازی آزمایشات ریشه‌زایی، شاخساره‌های باززا شده بمدت یک ماه در محیط بدون هورمون نگهداری شدند و سپس تیمارهای ریشه‌زایی در شاخساره‌هایی با اندازه یکسان اعمال گردید. در این پژوهش، هریک از تیمارها با ۳ تکرار و بر روی ۳ ریزنمونه از شاخساره‌ی باززا شده به اندازه تقریبی ۲ سانتی‌متر در هر تکرار اعمال گردید. در محیط‌های کشت، ۵۰ میلی‌گرم در لیتر اسید آسکوربیک، ۷ گرم در لیتر آگار و ۳۰ گرم در لیتر ساکارز (pH=۵/۸) اضافه گردید. کشت‌ها در دستگاه فیتوترون با دمای ۲± ۲۵ °C و با فتوپریود ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی با استفاده از لامپ فلورسنت با شدت نور۴۵ میکرومول بر مترمربع در ثانیه قرار گرفتند. صفات مورفولوژیکی شاخساره‌های باززا شده شامل تعداد شاخساره و تعداد برگ آنها ثبت گردید. طول و عرض شاخساره‌ها و نیز طول و عرض برگ‌های تولید شده با استفاده از کولیس اندازه‌گیری شد. در شاخساره‌های باززا شده، در مرحله ریشه‌زایی تعداد و طول ریشه‌ها نیز ثبت شدند. گیاهچه‌های ریشه‌دار شده از محیط‌های کشت خارج گردیده و پس از شست‌وشوی آرام ریشه‌ها با جریان آب و حذف آگار، در گلدان های کوچک حاوی کوکوپیت و پرلیت با نسبت وزنی ۱:۲ کشت گردیدند. مرحله سازگاری با انتقال گلدان‌ها به زیر پوشش‌های پلاستیکی انفرادی در گلخانه‌ای با دمای ۲± ۲۵ °C، رطوبت نسبی ۸۰ درصد و شدت نوری ۱۰۰۰۰ لوکس آغاز شد و پس از گذشت ۱۰ روز، پوشش گلدان‌ها برداشته شد و درصد بقای گیاهچه‌های سازگارشده پس از ۲ ماه یادداشت برداری گردید.

در این مطالعه، تجزیه داده‌ها با نرم افزار SAS انجام شد و نمودارها با استفاده از نرم افزار Excel رسم گردیدند. مقایسه میانگین تیمارها با استفاده از آزمون LSD ($p<0.05$) توسط نرم افزارMSTAT-C انجام شد و آزمون t زوجی برای مقایسه‌ی بین هورمون‌های سیتوکینینی بتفکیک هر ریز نمونه و برای هر صفت بطور جداگانه صورت گرفت.

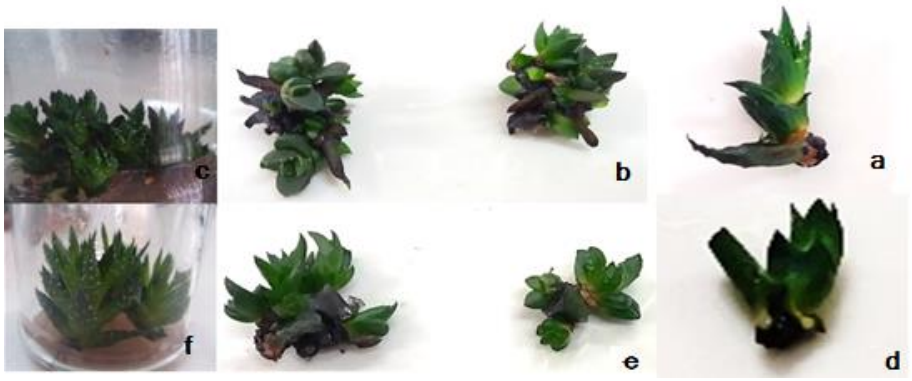
نتایج

با گذشت ۸ هفته از آغاز هر دو آزمایش و با عنایت به اینکه در عدم مصرف سیتوکینین‌ها باززایی مشاهده نگردید، باززایی شاخساره‌ها از ریزنمونه‌های برگی *H.attenuatae* در سطوح مختلف مصرف (۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌گرم در لیتر) سیتوکینین‌ها آغاز گردید. به‌طوری که هر دو ریزنمونه‌ی برگی انتخاب شده، از قابلیت باززایی شاخساره در سطوح مختلف ترکیبات هورمونی برخوردار بودند (شکل ۱ و ۲).

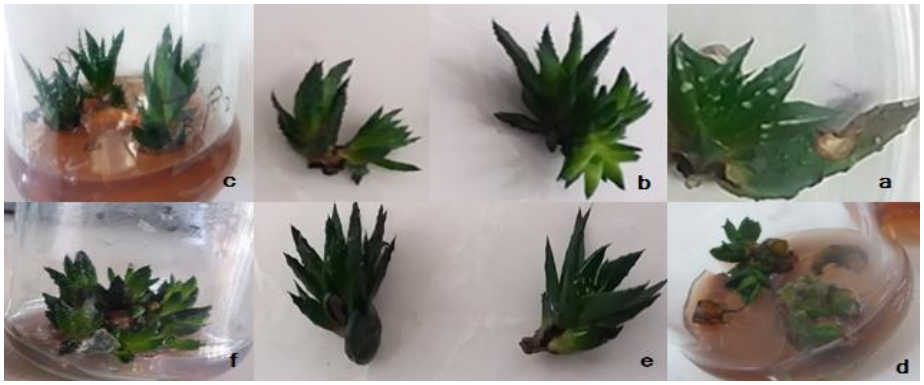
نتایج تجزیه واریانس داده‌های حاصل از بررسی باززایی در این گیاه برای صفات تعداد، طول و عرض شاخساره مبین معنی‌داری (در سطح یک درصد) آثار ساده‌ی هورمون‌های

مقاله پژوهشی، صفحات ۱۸۴-۱۶۸
DOI: 10.22034/JPR.2022.2191

NAA، BAP و KIN، همچنین آثار متقابل آنها در هر دو آزمایش بود (جداول ۱ و ۲).



شکل ۱ - باززایی شاخساره *H. attenuatae* از ریزنمونه تحتانی و برگ کامل با تیمار هورمونی BAP و NAA
a تا c: باززایی و رشد از ریزنمونه برگ کامل، شاخساره اولیه باززا شده (a)، یک ماه پس از باززایی (b) و دو ماه پس از باززایی (c)
d تا f: باززایی و رشد از ریزنمونه تحتانی برگ، شاخساره اولیه باززایی شده (d)، یک ماه پس از باززایی (e) و دو ماه پس از باززایی (f)



شکل ۲ - باززایی شاخساره *H. attenuatae* از ریزنمونه تحتانی و برگ کامل با تیمارهای هورمونی KIN و NAA.
a تا c: باززایی و رشد از ریزنمونه برگ کامل، شاخساره اولیه باززا شده (a)، دو ماه پس از باززایی (b&c). d تا f: باززایی و رشد از ریزنمونه تحتانی برگ، شاخساره اولیه باززا شده (d)، دو ماه پس از باززایی (e&f).

در آزمایش اول (در شرایط کاربرد سیتوکینین BAP)، اثر متقابل نوع ریزنمونه و هورمون NAA برای صفات تعداد و عرض شاخساره و اثر متقابل نوع ریزنمونه و هورمون BAP برای صفت طول شاخساره‌ی گیاهان باززا شده در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول۱). صفت تعداد شاخساره نیز بطور معنی‌داری (در سطح یک درصد) از برهمکنش سه جانبه‌ی تیمارهای هورمونی و نوع ریزنمونه تاثیر پذیرفت (جدول۱).

در آزمایش دوم (در شرایط کاربرد سیتوکینین KIN)، اثر متقابل نوع ریزنمونه و هریک از هورمون‌های NAA و KIN برای صفات تعداد و طول شاخساره معنی‌دار بود(جدول۲). در حالی‌که معنی‌داری اثر سه جانبه‌ی ترکیبات تیماری تنها درصفت عرض شاخساره مشاهده گردید (جدول۲).

مقاله پژوهشی، صفحات ۱۸۴-۱۶۸
DOI: 10.22034/JPR.2022.2191

جدول۱ – تجزیه واریانس صفات مورفولوژیک گیاهان باززا شده هاورتیا تحت سطوح مختلف تیمارهای هورمونی BAP، NAA و نوع ریزنمونه برگی

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات صفات					
		تعداد شاخساره	طول شاخساره	عرض شاخساره	تعداد برگ	طول برگ	پهنای برگ
BAP	۲	۰/۵۵**	۰/۴۳**	۰/۱۱**	۳/۰۵**	۰/۱۱**	۰/۱۳**
NAA	۳	۰/۴۶**	۰/۱۶**	۰/۰۷**	۲/۳۱**	۰/۰۳**	۰/۰۱*
ریزنمونه	۱	۰/۰۴ns	۰/۰۴*	۰/۰۰۵ns	۰/۰۰۱ ns	۰/۰۰۴ns	۰/۰۱*
NAA×BAP	۶	۰/۴۲**	۰/۲۱**	۰/۳**	۳/۰۱ **	۰/۰۱**	۰/۱**
ریزنمونه × NAA	۳	۰/۱۷**	۰/۰۱ns	۰/۰۱**	۰/۰۱ ns	۰/۰۰۹ns	۰/۰۰۴ns
ریزنمونه × BAP	۲	۰/۰۱ns	۰/۰۵**	۰/۰۱ns	۰/۰۵ ns	۰/۰۰۵ ns	۰/۰۰۴ ns
ریزنمونه×BAP× NAA	۶	۰/۲۸**	۰/۰۰۷ns	۰/۰۲ ns	۰/۲۱ns	۰/۰۱**	۰/۰۱ ns
خطای آزمایش	۴۸	۰/۰۳	۰/۰۰۹	۰/۰۰۳	۰/۱۳	۰/۰۰۴	۰/۰۰۲
ضریب تغییرات (٪)		۲۲/۴۱	۱۵/۹۵	۲۰/۲۲	۲۱/۷۰	۱۵/۰۰	۱۵/۰۵

* و ** بترتیب معنی داری در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد و ns عدم معنی داری را نشان می‌دهد.

جدول۲ تجزیه واریانس صفات مورفولوژیک گیاهان باززاشده‌ی هاورتیا تحت سطوح مختلف تیمارهای هورمونی،KIN، NAA و نوع ریزنمونه‌ی برگی

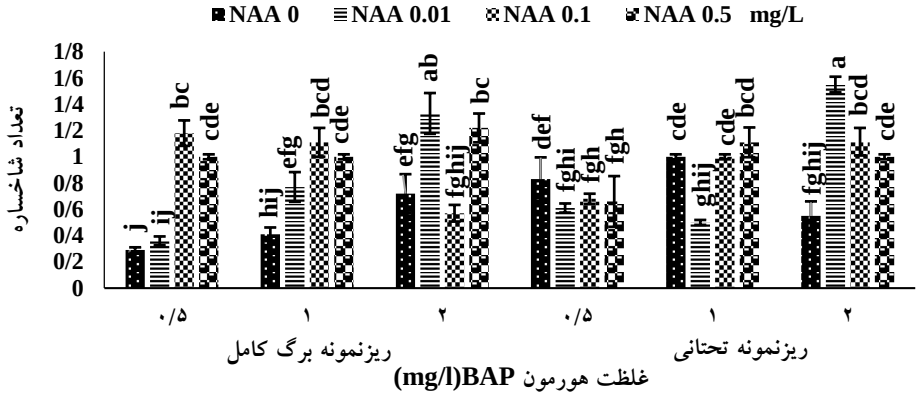
منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات صفات					
		تعداد شاخساره	طول شاخساره	عرض شاخساره	تعداد برگ	طول برگ	پهنای برگ
KIN	۲	۰/۲۲**	۰/۱۲**	۰/۰۹**	۰/۰۷**	۰/۱۲**	۰/۰۹**
NAA	۳	۰/۴۵**	۰/۰۷**	۰/۰۴**	۲/۴۴**	۰/۰۱۵**	۰/۰۰۵ ns
ریزنمونه	۱	۰/۰۴*	۰/۰۰۸ns	۰/۰۰۱ns	۰/۵۴ **	۰/۰۰۵ns	۰/۰۰۸ns
NAA×KIN	۶	۰/۰۸**	۰/۰۸**	۰/۰۴**	۲/۰۷ **	۰/۰۲**	۰/۰۱**
ریزنمونه × NAA	۳	۰/۲۴**	۰/۰۳**	۰/۰۰۲ns	۰/۲۷ **	۰/۰۰۹ns	۰/۰۰۲ns
ریزنمونه × KIN	۲	۰/۰۶*	۰/۰۷**	۰/۰۰۳ns	۰/۹۱ **	۰/۰۱ ns	۰/۰۰۲ ns
ریزنمونه × NAA × KIN	۶	۰/۰۴ns	۰/۰۱ns	۰/۰۲ **	۰/۶۱ns	۰/۰۰۵ns	۰/۰۰۷ ns
خطای آزمایش	۴۸	۰/۰۱	۰/۰۰۳	۰/۰۰۲	۰/۰۵	۰/۰۱	۰/۰۰۲
ضریب تغییرات (٪)		۱۴/۱۷	۱۱/۸۹	۱۰/۴۶	۱۶/۰۲	۱۶/۰۱	۱۴/۸۵

* و ** بترتیب معنی داری در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد و ns عدم معنی داری را نشان می‌دهد.

تعداد شاخساره: با عنایت به معنی‌دار شدن اثر متقابل سه جانبه‌ی تیمارهای هورمونی و نوع ریز نمونه، ارزیابی میانگین تعداد شاخساره‌های تولید شده از ریزنمونه‌های مختلف تحت تیمارهای هورمونی NAA و BAP نشان داد که کاربرد ترکیب هورمونی ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر NAA بهمراه ۲ میلی‌گرم در لیتر BAP، روند تولید شاخساره را در هر دو ریزنمونه‌ی تحتانی(۱/۵۵ عدد) و کامل (۱/۳۳ عدد) برگ به بالاترین سطح در این آزمایش رساند

مقاله پژوهشی، صفحات ۱۸۴-۱۶۸
DOI: 10.22034/JPR.2022.2191

(شکل۳). در آزمایش دوم و در شرایط کاربرد سیتوکینین KIN، نتایج مقایسه میانگین ترکیبات هورمونی NAA و KIN بر این صفت، مبین تولید بیشترین تعداد شاخساره (۰/۹۹، ۰/۹۷ و ۰/۹۵ عدد) بترتیب در تیمارهای هورمونی ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر NAA بهمراه کاربرد ۰/۵ و ۱ میلی-گرم در لیتر KIN و نیز در تیمار هورمونی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA با ۱ میلی‌گرم در لیتر KIN بود (جدول۳).



شکل ۳ – مقایسه میانگین اثر متقابل ترکیبات هورمونی BAP ، NAA و نوع ریزنمونه بر تعداد شاخساره‌های باززا شده در کشت درون شیشه‌ای گیاه *H.attenuatae*

مقایسات میانگین در سطح احتمال ۵ درصد و به‌روش حداقل تفاوت معنی‌دار انجام شد. وجود حداقل یک حرف آماری مشترک بیانگر عدم اختلاف معنی دار است.

جدول۳ – مقایسه میانگین آثار متقابل جداگانه‌ی نوع سیتوکینین BAP و KIN بهمراه اکسین NAA در باززایی گیاه *H.attenuatae*

cytokinin (mg/l)	NAA (mg/l)	تعداد شاخساره	طول شاخساره		عرض شاخساره	تعداد برگ		طول برگ	پهنای برگ	
		KIN	BAP	KIN	BAP	BAP	KIN	KIN	BAP	KIN
۰/۵	۰	۰/۴۷^{de}±۰/۰۷۷	۰/۴۰^{ef}±۰/۰۲۲	۰/۴۱^{hi}±۰/۰۱۰	۰/۳۳^{e}±۰/۰۴۰	۱/۲۳^{ef}±۰/۱۰۴	۱/۰۷^{e}±۰/۰۵۴	۰/۳۶^{de}±۰/۰۲۱	۰/۲۷^{d}±۰/۰۴۴	۰/۳۱^{fgh}±۰/۰۳۲
۰/۵	۰/۰۱	۰/۴۴^{e}±۰/۰۵۲	۰/۳۸^{f}±۰/۰۳۹	۰/۳۸^{i}±۰/۰۲۵	۰/۳۱^{e}±۰/۰۲۷	۱/۱۳^{f}±۰/۰۹۰	۱^{e}±۰/۰۰۱	۰/۳۳^{e}±۰/۰۲۶	۰/۲۵^{d}±۰/۰۲۵	۰/۲۸^{h}±۰/۰۱۳
۰/۵	۰/۱	۰/۹۵^{a}±۰/۱۵۲	۰/۶۱^{c}±۰/۰۸۴	۰/۷۴^{a}±۰/۱۱۵	۰/۵۱^{bc}±۰/۰۳۴	۱/۷۶^{c}±۰/۱۸۶	۲/۶۷^{a}±۰/۴۶۰	۰/۴۶^{b}±۰/۰۳۵	۰/۳۶^{b}±۰/۰۳۱	۰/۳۶^{def}±۰/۰۲۹
۰/۵	۰/۵	۰/۶۰^{c}±۰/۰۹۲	۰/۴۵^{ef}±۰/۰۲۰	۰/۴۴^{ghi}±۰/۰۲۱	۰/۴۰^{d}±۰/۰۲۱	۱/۳۴^{def}±۰/۱۴۹	۱/۳۴^{d}±۰/۱۴۹	۰/۳۹^{cd}±۰/۰۲۳	۰/۳۰^{cd}±۰/۰۱۸	۰/۳۱^{fgh}±۰/۰۰۹
۱	۰	۰/۶۹^{bc}±۰/۱۳۸	۰/۴۱^{ef}±۰/۰۲۱	۰/۴۱^{hi}±۰/۰۲۵	۰/۳۶^{de}±۰/۰۲۵	۱/۲۲^{ef}±۰/۱۴۲	۱/۱۲^{de}±۰/۰۶۶	۰/۳۶^{de}±۰/۰۱۶	۰/۲۵^{d}±۰/۰۲۵	۰/۲۹^{gh}±۰/۰۱۳
۱	۰/۰۱	۰/۵۸^{cd}±۰/۰۴۱	۰/۵۱^{cde}±۰/۰۳۶	۰/۵^{fg}±۰/۰۲۸	۰/۴۰^{d}±۰/۰۳۰	۱/۳۰^{def}±۰/۱۵۱	۱/۱۳^{de}±۰/۰۶۶	۰/۴۳^{bc}±۰/۰۲۴	۰/۳۷^{b}±۰/۰۲۹	۰/۳۷^{cde}±۰/۰۲۹
۱	۰/۱	۰/۹۷^{a}±۰/۰۱۹	۰/۹۴^{a}±۰/۰۴۰	۰/۶^{cd}±۰/۰۴۸	۰/۶۴^{a}±۰/۰۴۴	۲/۴۰^{b}±۰/۱۰۰	۱/۹^{b}±۰/۱۷۴	۰/۴۷^{b}±۰/۰۲۵	۰/۳۵^{bc}±۰/۰۱۳	۰/۴۱^{bcd}±۰/۰۲۰
۱	۰/۵	۰/۹۹^{a}±۰/۰۰۵	۰/۴۷^{def}±۰/۰۴۷	۰/۴۷^{fgh}±۰/۰۴۷	۰/۴۲^{d}±۰/۰۳۰	۱/۵۵^{cde}±۰/۲۰۵	۱/۰۵^{e}±۰/۰۵۵	۰/۴۲^{bc}±۰/۰۳۳	۰/۳۳^{bc}±۰/۰۰۸	۰/۳۴^{efg}±۰/۰۲۱
۲	۰	۰/۶۰^{c}±۰/۰۵۷	۰/۶۲^{c}±۰/۰۴۶	۰/۵۹^{de}±۰/۰۳۵	۰/۵۱^{bc}±۰/۰۱۶	۱/۲۶^{ef}±۰/۱۰۰	۱/۱۵^{de}±۰/۰۶۸	۰/۵۵^{a}±۰/۰۳۱	۰/۴۸^{a}±۰/۰۲۸	۰/۴۹^{a}±۰/۰۲۴
۲	۰/۰۱	۰/۶۶^{bc}±۰/۱۴۹	۰/۹۷^{a}±۰/۰۷۵	۰/۶۶^{bc}±۰/۰۶۹	۰/۵۶^{b}±۰/۰۴۷	۳/۵۵^{a}±۰/۱۱۲	۲/۴۵^{a}±۰/۱۳۰	۰/۵۶^{a}±۰/۰۳۷	۰/۴۶^{a}±۰/۰۱۸	۰/۴۳^{b}±۰/۰۳۰
۲	۰/۱	۰/۷۶^{b}±۰/۱۰۶	۰/۵۷^{cd}±۰/۰۲۶	۰/۵۳^{ef}±۰/۰۳۶	۰/۴۹^{c}±۰/۰۳۷	۱/۷۰^{cd}±۰/۱۶۰	۱/۳۷^{cd}±۰/۰۹۴	۰/۵۴^{a}±۰/۰۱۱	۰/۴۴^{a}±۰/۰۲۲	۰/۴۱^{bcd}±۰/۰۱۰
۲	۰/۵	۰/۷۴^{b}±۰/۱۰۹	۰/۷۷^{b}±۰/۰۳۵	۰/۷۱^{ab}±۰/۰۸۱	۰/۵۵^{bc}±۰/۰۴۰	۱/۷۷^{c}±۰/۲۰۴	۱/۶^{c}±۰/۱۰۲	۰/۵۳^{a}±۰/۰۳۹	۰/۳۷^{b}±۰/۰۳۴	۰/۴۲^{bc}±۰/۰۳۸

مقایسات میانگین در سطح احتمال ۵ درصد و به‌روش حداقل تفاوت معنی‌دار انجام شد. وجود حداقل یک حرف آماری مشترک بیانگر عدم اختلاف معنی دار است.

مقاله پژوهشی، صفحات ۱۸۴-۱۶۸
DOI: 10.22034/JPR.2022.2191

جدول۴ – مقایسه میانگین اثر متقابل نوع ریزنمونه و هورمون KIN در باززایی گیاه *H. attenuatae*

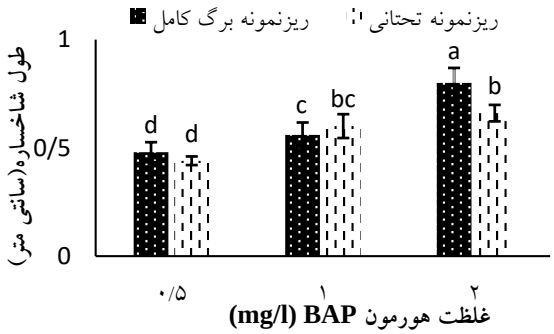
KIN (mg/l)	نوع ریزنمونه	تعداد شاخساره	طول شاخساره	تعداد برگ
۰/۵	برگ کامل	۰/۶۵^{c} ۰±/۱۲۵	۰/۵۴^{c} ۰±/۰۸۰	۱/۷۹^{a} ۰±/۲۲۰
۰/۵	تحتانی برگ	۰/۵۸^{c} ۰±/۰۳۰	۰/۴۴^{d} ۰±/۰۱۵	۱/۲۴^{cd} ۰±/۱۲۲
۱	برگ کامل	۰/۷۶^{b} ۰±/۰۷۶	۰/۴۳^{d} ۰±/۰۲۱	۱/۱۹^{d} ۰±/۰۷۵
۱	تحتانی برگ	۰/۸۵^{a} ۰±/۰۶۳	۰/۵۶^{bc} ۰±/۰۳۲	۱/۴۱^{bc} ۰±/۱۵۲
۲	برگ کامل	۰/۶۳^{c} ۰±/۰۷۹	۰/۶۰^{ab} ۰±/۰۵۲	۱/۷۴^{a} ۰±/۱۵۸
۲	تحتانی برگ	۰/۷۵^{b} ۰±/۰۷۶	۰/۶۴^{a} ۰±/۰۳۶	۱/۵۵^{b} ۰±/۱۶۵

مقایسات میانگین در سطح احتمال ۵ درصد و به‌روش حداقل تفاوت معنی‌دار انجام شد. وجود حداقل یک حرف آماری مشترک بیانگر عدم اختلاف معنی دار است.

طول شاخساره: نتایج مقایسه میانگین طول شاخساره‌های رشد یافته تحت تیمارهای هورمونی NAA و BAP نشان داد که بیشترین میانگین طول شاخساره (۰/۹۷ سانتی‌متر) و (۰/۹۴ سانتی‌متر) بترتیب با اعمال ۲ میلی‌گرم در لیتر BAP بهمراه ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر NAA و ۱ میلی‌گرم در لیتر BAP در ترکیب با ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر NAA حاصل گردید (جدول۳). در حالی‌که کاربرد سطوح پایین سیتوکینین (بویژه سطح ۰/۵ هورمون BAP) بهمراه برخی سطوح هورمون NAA به‌طور مشترک، شاخساره‌های کوتاه‌تری را در این گونه تولید نمود.

با توجه به معنی‌دار بودن میانگین طول شاخساره‌های تولید شده از ریزنمونه‌های مختلف تحت تیمار هورمونی BAP، نتایج مقایسه میانگین این صفت نشان داد که بیشترین میانگین طول شاخساره (۰/۸ سانتی‌متر) در تیمار ۲ میلی-گرم در لیتر BAP با کاربرد ریزنمونه‌ی برگ کامل بدست آمد (شکل۴). همچنین این نمودار نشان می‌دهد که با افزایش غلظت هورمون BAP برای هر یک از ریزنمونه-های برگ کامل و قسمت تحتانی برگ روند افزایش طول معنی‌دار شاخساره‌های باززا شده مشاهده می‌گردد.

در شرایط کاربرد سیتوکینین KIN، مقایسه میانگین اثر متقابل هورمون‌ها مبین تولید طویل‌ترین شاخساره‌ها با متوسط طول ۰/۷۴ سانتی‌متر در نتیجه‌ی کاربرد ۰/۵ میلی-گرم در لیتر KIN بهمراه ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر NAA بود که با نتایج حاصله، از اعمال۲ میلی‌گرم در لیتر KIN بهمراه ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA بلحاظ تولید شاخساره‌های طویل (با متوسط ۰/۷۱ سانتی‌متر) تفاوت معنی‌نداری نداشت (جدول۳).



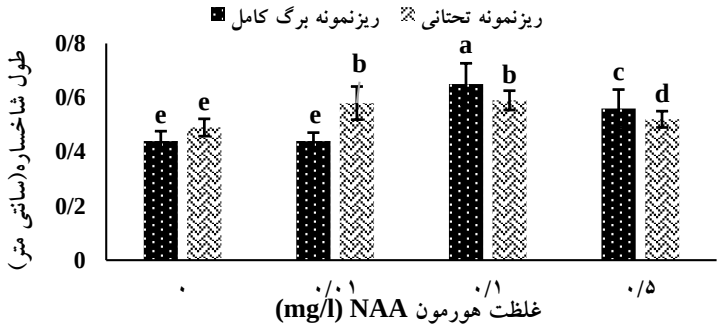
شکل۴ – مقایسه میانگین اثر متقابل نوع ریزنمونه و هورمون BAP بر طول شاخساره‌های باززا شده درکشت درون شیشه‌ای گیاه *H.attenuatae*

مقایسات میانگین در سطح احتمال ۵ درصد و به‌روش حداقل تفاوت معنی‌دار انجام شد. وجود حداقل یک حرف آماری مشترک بیانگر عدم اختلاف معنی دار است.

با این حال، ترکیب تیماری ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر KIN بهمراه ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر NAA، علاوه بر تاثیرگذاری مثبت در افزایش طول، از راندمان بالایی در حصول بیشترین تعداد شاخساره نیز برخوردار بود (جدول۳). در

مقاله پژوهشی، صفحات ۱۸۴-۱۶۸
DOI: 10.22034/JPR.2022.2191

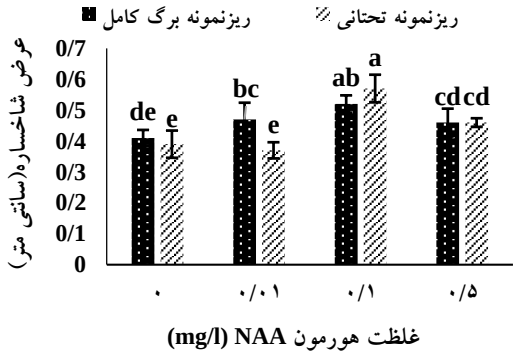
بررسی برهمکنش نوع ریزنمونه با سطوح مختلف هورمون NAA نیز مشاهده شد که ریزنمونه‌ی برگ کامل در محیط حاوی ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر NAA توانست در تولید شاخساره‌های طویل موفق عمل کند (شکل۵).



شکل۵ – مقایسه میانگین اثر متقابل نوع ریزنمونه و هورمون NAA بر طول شاخساره باززاشده در کشت درون شیشه‌ای گیاه *H.attenuatae* مقایسات میانگین در سطح احتمال ۵ درصد و به‌روش حداقل تفاوت معنی‌دار انجام شد. وجود حداقل یک حرف آماری مشترک بیانگر عدم اختلاف معنی دار است.

این در حالی است که مقایسه میانگین آثار متقابل غلظت-های مختلف هورمون KIN با نوع ریزنمونه حاکی از آن بود که ریزنمونه‌ی تحتانی برگ در بالاترین سطح هورمون KIN (۲ میلی‌گرم در لیتر) توانست شاخساره‌های طویل‌تر تولید نماید. روند رشد طولی شاخساره‌ی هاورتیا تحت تأثیر مصرف هورمون KIN نشان می‌دهدکه با افزایش غلظت هورمون KIN در ریزنمونه تحتانی کشت شده، طول شاخساره گیاه هاورتیا بیشتر شده است (جدول۴).

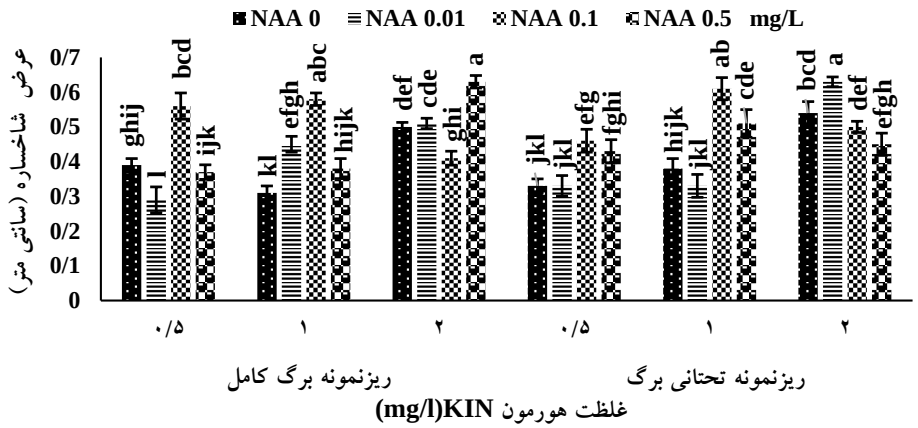
عرض شاخساره: بر اساس نتایج مقایسه میانگین، بیشترین میانگین عرض شاخساره در شرایط کاربرد سیتوکینین BAP، با اعمال تیمار هورمونی ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر NAA بهمراه ۱ میلی‌گرم در لیتر BAP (۰/۶۴ سانتی‌متر) حاصل گردید (جدول۲). همچنین کمترین عرض شاخساره‌ی گیاهان باززا شده (۰/۳۱ سانتی‌متر) نیز در محیط کشت حاوی ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر NAA همراه با کمترین غلظت هورمون BAP (۰/۵ میلی‌گرم در لیتر) حاصل شد. این نتیجه، با اعمال تیمارهای ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم در لیتر BAP به‌تنهایی نیز مشاهده شد (جدول ۲). مقایسه میانگین اثر متقابل نوع ریزنمونه و هورمون NAA بر صفت عرض شاخساره حاکی از آن بود که هر دو ریزنمونه‌ی برگ کامل و تحتانی برگ با دریافت ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر NAA، عریض‌ترین شاخساره‌ها (بترتیب ۰/۵۳ و ۰/۵۷ سانتی‌متر) را تولید نمودند (شکل ۶).



شکل۶ – مقایسه میانگین اثر متقابل نوع ریزنمونه و هورمون NAA بر عرض شاخساره‌های باززا شده درکشت درون شیشه‌ای گیاه *H.attenuatae*
مقایسات میانگین در سطح احتمال ۵ درصد و به‌روش حداقل تفاوت معنی‌دار انجام شد. وجود حداقل یک حرف آماری مشترک بیانگر عدم اختلاف معنی دار است.

مقاله پژوهشی، صفحات ۱۸۴-۱۶۸
DOI: 10.22034/JPR.2022.2191

اما در شرایط کاربرد سیتوکینین KIN، نتایج مقایسه میانگین صفت عرض شاخساره‌ی تولید شده در پی برهمکنش سه-جانبه‌ی معنی‌دار تیمارهای هورمونی و نوع ریزنمونه نشان داد که ریزنمونه‌های تحتاتی برگ در سطوح بالای KIN (۱ و ۲ میلی گرم در لیتر) بترتیب بهمراه سطوح متوسط (۰/۱ میلی‌گرم در لیتر) و پایین (۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر) هورمون NAA موفق به تولید شاخساره‌های عریض شدند، در حالی‌که ریزنمونه‌های برگ کامل، عریض‌ترین شاخساره‌ها را در محیط‌های حاوی سطوح بالای KIN (۱ و ۲ میلی‌گرم در لیتر) بترتیب بهمراه سطوح متوسط (۰/۱ میلی‌گرم در لیتر) و بالای (۰/۵ میلی‌گرم در لیتر) هورمون NAA تولید نمودند (شکل۷).

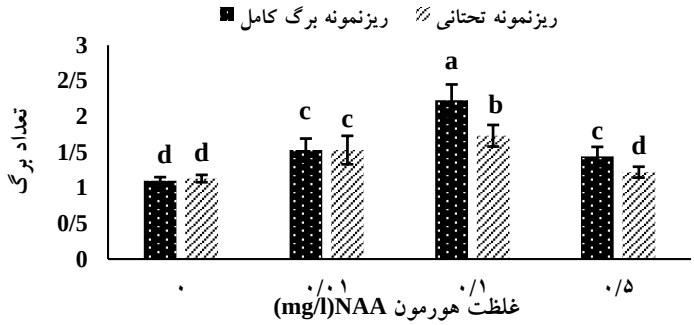


شکل۷ – مقایسه میانگین اثر متقابل ترکیبات هورمونی KIN ، NAA و نوع ریزنمونه بر عرض شاخساره‌های باززا شده در کشت درون شیشه‌ای گیاه *H.attenuatae*

مقایسات میانگین در سطح احتمال ۵ درصد و به‌روش حداقل تفاوت معنی‌دار انجام شد. وجود حداقل یک حرف آماری مشترک بیانگر عدم اختلاف معنی دار است.

تعداد برگ: نتایج تجزیه واریانس صفت تعداد برگ در شاخساره‌های باززا شده در شرایط کاربرد سیتوکینین BAP، حاکی از تاثیرپذیری معنی‌دار (در سطح احتمال یک درصد) این صفت از آثار ساده‌ی هر یک از دو هورمون BAP و NAA و نیز برهمکنش آنها بود (جدول۱). درحالی‌که تجزیه واریانس داده‌ها در شرایط کاربرد سیتوکینین KIN، نشان داد که آثار ساده و متقابل دو جانبه-ی کلیه‌ی تیمارهای مورد بررسی (هورمون‌های KIN، NAA و نوع ریزنمونه) تأثیر بسیار معنی‌داری (در سطح احتمال یک درصد) بر تعداد برگ تولید شده‌ی بوته‌های هاورتیا در شرایط محیط کشت داشت (جدول۲). صرفنظر از نوع سیتوکینین، یافته‌های مقایسه میانگین برهمکنش هورمون‌ها (اکسین×سیتوکینین) نشان داد که شاخساره‌های باززا شده تحت تیمارهای هورمونی ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر NAA و ۲ میلی‌گرم در لیتر سیتوکینین (BAP یا KIN) از نظر متوسط تعداد برگ تولید شده در گروه برتر آماری قرار گرفتند (جدول۳) علاوه بر این، درشرایط کاربرد سیتوکینین KIN نیز با اعمال ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر NAA بهمراه ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر KIN، بیشترین تعداد برگ در شاخساره‌ها ثبت گردید. در این راستا، مقایسه میانگین اثر متقابل هورمون NAA با نوع ریزنمونه نشان داد که ریزنمونه‌ی برگ کامل تحت تیمار هورمونی ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر NAA با میانگین تولید ۲/۲۳ عدد برگ درشاخساره، نسبت به سایر تیمارها موفق‌تر عمل نمود (شکل ۸).

مقاله پژوهشی، صفحات ۱۸۴-۱۶۸
DOI: 10.22034/JPR.2022.2191



شکل ۸ – مقایسه میانگین اثر متقابل نوع ریزنمونه و هورمون NAA بر تعداد برگ‌های تولید شده از شاخساره‌های باززاشده در کشت درون شیشه‌ای گیاه *H.attenuatae*

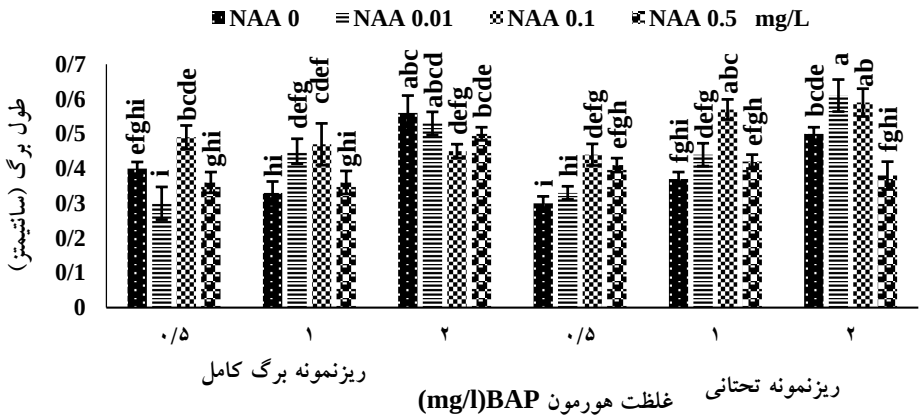
مقایسات میانگین در سطح احتمال ۵ درصد و به‌روش حداقل تفاوت معنی‌دار انجام شد. وجود حداقل یک حرف آماری مشترک بیانگر عدم اختلاف معنی دار است.

این موفقیت در تولید بالاترین تعداد برگ در شاخساره‌های باززا شده از ریز نمونه‌ی برگ کامل با در نظر گرفتن سطوح مختلف مصرف هورمون KIN، مشترکاً در تیمارهای هورمونی ۰/۵ و ۲ میلی‌گرم در لیتر KIN حاصل گردید (جدول۴). روند افزایش تعداد برگ‌های تولید شده در شاخساره‌های باززا شده از ریزنمونه‌ی تحتانی برگ نیز در غلظت‌های مختلف هورمون KIN نشان داد که با افزایش غلظت این هورمون، تعداد برگ‌های تولید شده از این ریزنمونه بطور معنی‌داری افزایش یافت (جدول۴). با این حال این افزایش در رتبه‌ی دوم نسبت به تعداد برگ-های تولید شده توسط ریزنمونه‌ی برگ کامل قرار داشت.

طول برگ: با توجه به معنی‌دار بودن (در سطح یک درصد) اثر متقابل ۳ جانبه‌ی هورمون‌های NAA و BAP با نوع ریزنمونه، برای صفت طول برگ‌های باززا شده (جدول ۱)، نتایج مقایسه میانگین این صفت نشان داد که کاربرد ترکیب هورمونی ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر NAA و ۲ میلی‌گرم در لیتر BAP بیشترین طول برگ را در شاخساره-های تولید شده از ریزنمونه‌ی تحتانی برگ (۰/۶۱ سانتی-متر) تولید نمود (شکل ۹). علاوه بر این ترکیب، مشاهده گردید که مصرف ۲ و ۱ میلی‌گرم در لیتر BAP در حضور ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر NAA، در محیط کشت ریزنمونه‌ی تحتانی برگ و کاربرد ۲ میلی‌گرم در لیتر BAP در محیط کشت ریز نمونه‌ی برگ کامل، شاخساره‌هایی با برگ‌های طویل تولید می‌نماید (شکل۹).

با عنایت به معنی‌دار شدن اثر متقابل دو جانبه‌ی هورمون-های KIN و NAA نیز در سطح یک درصد (جدول۲) مقایسه میانگین برهمکنش این دو هورمون بر رشد طولی برگ نشان داد که طویل‌ترین برگ‌ها در بالاترین سطح هورمون KIN (۲ میلی‌گرم در لیتر) بهمراه سطوح مختلف هورمون NAA تولید گردیدند. در مقایسه‌ی نتایج بدست آمده برای صفات تعداد و طول برگ، مشاهده شدکه در بین ترکیبات تیماری ذکر شده، اعمال ۲ میلی‌گرم در لیتر KIN یا BAP بهمراه ۰/۰۱ میلی گرم NAA، صرفنظر از نوع ریزنمونه، در تولید بیشترین تعداد و میانگین طول برگ در گیاه هاورتیا موفق عمل نموده است (جدول ۳).

مقاله پژوهشی، صفحات ۱۸۴-۱۶۸
DOI: 10.22034/JPR.2022.2191



شکل۹ – مقایسه میانگین اثر متقابل ترکیبات هورمونی BAP ، NAA و نوع ریزنمونه بر طول برگ‌های تولید شده از شاخساره‌های باززا شده در کشت درون شیشه‌ای گیاه *H.attenuatae*

مقایسات میانگین در سطح احتمال ۵ درصد و به‌روش حداقل تفاوت معنی‌دار انجام شد. وجود حداقل یک حرف آماری مشترک بیانگر عدم اختلاف معنی دار است.

پهنای برگ: صفت پهنای برگ بطور معنی‌داری از برهمکنش دو جانبه‌ی تیمار NAA با هر یک از هورمون-های KIN و BAP تأثیر پذیرفت (جداول ۱ و ۲). مقایسه میانگین داده‌ها برای این صفت نشان داد که عریض‌ترین برگ‌ها (۰/۴۸و ۰/۴۹ سانتی‌متر) با کاربرد بالاترین غلظت هریک از هورمون‌های سیتوکینینی BAP و KIN (۲ میلی-گرم در لیتر) در شرایط عدم حضور NAA تولید گردیدند (جدول ۳). این برتری در شرایط مصرف سیتوکینین BAP در ترکیب با سطوح پایین مصرف NAA (۰/۰۱ و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر) نیز حفظ گردید (جدول ۳).

اثر نوع محیط کشت و هورمون NAA بر ریشه‌زایی گیاه هاورتیا: در پژوهش حاضر، شاخساره‌های باززا شده‌ی هاورتیا با اندازه تقریبی۲ سانتی‌متر به محیط‌های کشت ریشه‌زایی حاوی اکسین NAA انتقال یافتند و نتایج نشان داد که تقریباً تمامی شاخساره‌ها یک ماه پس از انتقال به محیط‌ها، ریشه‌دار شدند (شکل۱۰).

شکل۱۰ – ریشه‌زایی شاخساره‌های *H. attenuatae* کشت شده در محیط ½ MS تیمار شده با ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر هورمون NAA (a) و شاخساره‌های رشدیافته در محیط MS تیمار شده با ۱ میلی گرم در لیتر هورمون NAA (b)

مقاله پژوهشی، صفحات ۱۸۴-۱۶۸
DOI: 10.22034/JPR.2022.2191

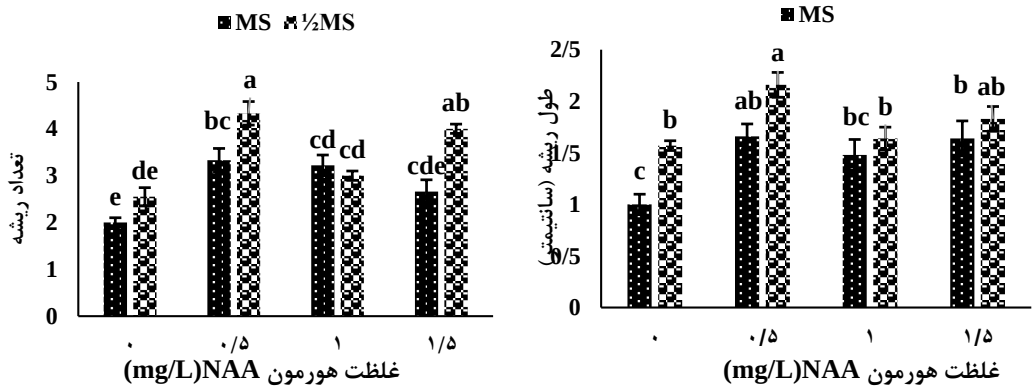
نتایج جدول تجزیه واریانس صفات تعداد و طول ریشه‌ی شاخساره‌های هاورتیای کشت شده در محیط‌های مختلف حاوی غلظت‌های متفاوت هورمون NAA نشان داد که، علاوه بر معنی‌داری اثر ساده‌ی هورمون NAA، اثر متقابل سطوح هورمونی و نوع محیط کشت برای هر دو صفت (تعداد و طول ریشه) مورد بررسی در بخش ریشه‌زایی، بترتیب در سطوح ۱ و ۵ درصد، معنی‌دار بود (جدول ۵).

جدول۵ – تجزیه واریانس تاثیر غلظت‌های مختلف هورمون NAA تیمار شده در محیط‌های کشت MS و ½MS بر ریشه‌زایی گیاه هاورتیا *H. attenuatae*

		میانگین مربعات	
منابع تغییرات	درجه آزادی	تعداد ریشه	طول ریشه
NAA	۳	۲/۵۲**	۰/۴۳*
محیط کشت	۱	۰/۱۶ns	۰/۰۶ns
محیط کشت×NAA	۳	۱/۵۱**	۰/۲۹*
خطای آزمایش	۱۶	۰/۱۷	۰/۲۱
ضریب تغییرات (٪)		۱۳/۳۴	۱۸/۹۷

* و ** بترتیب معنی داری در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد و ns عدم معنی داری را نشان می‌دهد.

نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل دوجانبه‌ی تیمار هورمونی و نوع محیط کشت در صفات مورد بررسی نشان داد که بیشترین تعداد (۴/۳۳ عدد) و طویل‌ترین ریشه‌ها (۲/۱۶ سانتی‌متر) در شاخساره‌های رشدیافته در محیط کشت ½MS تیمار شده با ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA ثبت گردید (شکل۱۱).



شکل۱۱– مقایسه میانگین اثر متقابل هورمون NAA با نوع محیط کشت بر تعداد (a) و طول ریشه‌ی (b) تولید شده از شاخساره‌های باززا شده در کشت درون شیشه‌ای گیاه *H.attenuatae*

مقایسات میانگین در سطح احتمال ۵ درصد و به‌روش حداقل تفاوت معنی‌دار انجام شد. وجود حداقل یک حرف آماری مشترک بیانگر عدم اختلاف معنی دار است.

مقاله پژوهشی، صفحات ۱۸۴-۱۶۸
DOI: 10.22034/JPR.2022.2191

مرحله سازگاری: در پژوهش حاضر، انتقال شاخساره‌های باززا شده‌ی *H. attenuatae* و دارای حداقل ۴ ریشه به طول بیش از دو و نیم سانتی متر به محیط گلخانه نشان داد که به‌طور متوسط، ۹۰ درصد گیاهچه‌های منتقل شده به خاک توانستند با شرایط گلخانه سازگار شوند و رشد مطلوبی را از خود نشان دهند (شکل۱۲). گیاهچه‌های کشت بافتی در صورتی که در شرایط درون شیشه‌ای بخوبی رشد کرده باشند و شرایط مناسبی برای ادامه فتوسنتز و رشد در شرایط طبیعی داشته باشند، می‌توانند در گلخانه با راندمان بالایی سازگار شده و رشد کنند.

شکل۱۲- نمونه ای از گیاهچه‌های *H. attenuatae* منتقل شده به خاک در گلخانه

بحث و نتیجه گیری

برنامه‌ی هدفمند و اجرای پژوهش‌ها در زمینه‌ی تکثیر و پرورش گل‌ها و گیاهان زینتی، می‌تواند افزایش تجارت آنها را در بازارهای بین المللی و نرخ رشد اقتصادی بالایی را در این حوزه به‌همراه داشته باشد.

گونه های مختلف جنس هاورتیا، از جمله ساکولنت‌های زینتی محبوبی هستند که بدلیل تنوع مورفولوژیکی بالا و تناسب نیازهای رشدی آنها با سبک زندگی فعلی و توسعه-ی آپارتمان نشینی، تقاضای رو به رشدی را در بازارهای گل جهانی داشته‌اند (۹). در این بین، گونه‌ی *H. attenuatae* (هاورتیای گورخری) با برخورداری از زیبایی خاص برگ‌ها، توجه‌ی ویژه‌ی علاقمندان و گردآورندگان ساکولنت‌ها را به خود جلب کرده است و تکثیر و تولید آن علاوه بر بازارهای جهانی، در بازار گل و گیاه داخلی نیز به‌لحاظ اقتصادی ارزشمند است. با این حال نظر بوجود برخی مشکلات در تکثیر جنسی و غیر جنسی، نظیر خودناسازگاری، تولید کم بذر و درصد ریشه‌زایی پایین قلمه‌های برگی، ریزازدیادی این گیاه در شرایط درون شیشه‌ای روش جایگزین مناسبی جهت ازدیاد این گونه است.

در این راستا، پژوهش حاضر راهکاری جهت بهبود باززایی مستقیم گونه‌ی *H. attenuatae* با استفاده از ریزنمونه‌های برگی در محیط MS تغییر یافته با کاربرد دو نوع سیتوکینین BAP و KIN در ترکیب با اکسین NAA را ارائه می‌کند، چرا که هورمون‌های BAP و KIN و نیز هورمون NAA، به‌ترتیب از معمول‌ترین و پرمصرف‌ترین سیتوکنین‌ها و اکسین‌های مصنوعی در باززایی مستقیم اغلب گیاهان و نیز ساکولنت‌های تک لپه‌ای هستند و مصرف نسبت صحیح این هورمون‌ها (نسبت بالای سیتوکنین به اکسین) باززایی مستقیم مناسبی را در ساکولنت‌ها در پی داشته است (۲۰ و ۳۰). در ابتدا و پیش از اجرا و اعمال تیمارهای اصلی، با توجه به کسب نتایج مثبت مبنی بر رشد و نمو بهتر بوته-های هاورتیا در نتیجه‌ی کاربرد Fe-EDDHA بجای Fe-EDTA در محیط پایه MS، این جایگزینی در تمامی واحدهای آزمایشی اعمال گردید. سایر محققین نیز گزارش نمودند که فراهمی و تامین عنصر آهن مورد نیاز در محیط کشت بدلیل پایداری بیشتر Fe-EDDHA در برابر تخریب نوری، بهبود خصوصیات مورفولوژیک و فیزیولوژیک شاخساره‌های باززا شده را در مطالعات مختلف در پی داشته است (۳، ۵، ۱۱ و ۱۵).

بررسی وضعیت باززایی شاخساره‌ها از ریزنمونه‌های برگی نشان داد که با گذشت ۸ هفته از آغاز هر دو آزمایش، علایم قابل رویت باززایی مشاهده گردید. اگرچه در

مقاله پژوهشی، صفحات ۱۸۴-۱۶۸
DOI: 10.22034/JPR.2022.2191

شرایط کاربرد BAP، ریزنمونه‌های برگی از تفاوت معنی-داری در قابلیت باززایی شاخساره برخوردار نبودند، ارزیابی برهمکنش نوع ریزنمونه و غلظت هورمون KIN، نشان داد که بیشترین تعداد شاخساره‌ی باززا شده با کاربرد ریزنمونه تحتانی برگ در غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر KIN و غلظت‌های کمتر NAA تولید گردید. بنظر می‌رسد نسبت بالای سیتوکنین به اکسین عامل اصلی تقسیم سلولی، تشکیل و پرآوری شاخساره‌ها باشد. در پژوهش چن و همکاران (۱۰) نیز بیشترین تولید شاخساره (۸۱/۰۱ درصد) با کاربرد ریزنمونه‌ی برگ گیاه هاورتیا در محیط کشت حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۰/۰۴ میلی‌گرم در لیتر NAA بدست آمد. همراستا با پژوهش حاضر، محیط‌های MS حاوی هر یک از دو سیتوکنین BAP و KIN در ترکیب با NAA، محیط‌های مناسبی جهت باززایی شاخساره در گیاه الوئه ورا معرفی گردیدند (۴ و ۲۵). یانگ و همکاران (۳۰) نیز نرخ بالای باززایی شاخساره از ریزنمونه‌ی گل‌آذین گونه‌ی *Haworthia arachnoidea* var. setata را در محیط MS حاوی ترکیب هورمونی ۱ میلی‌گرم در لیتر KIN و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر NAA گزارش نمودند. بنابراین، تنظیم کننده‌های رشدی سیتوکینینی در تعادل با اکسین‌ها، بر تمایزیابی سلول‌های گیاهی از ریزنمونه‌های مختلف تاثیرگذارند، نظر به اهمیت سیتوکینین‌ها در تشکیل و تکثیر شاخساره‌ها، گزینش نوع و غلظت سیتوکینین مورد استفاده در ریزازدیادی گیاهان مختلف با توجه به کارایی آنها در تحقق این هدف صورت می‌گیرد (۲ و ۶). نتایج پژوهش‌های پیشین در هاورتیاها نیز نشان داد که پاسخ باززایی در این گونه‌ی گیاهی، با توجه به کاربرد سیتوکینین‌های مختلف، متفاوت بود (۲۱ و ۲۷). در پژوهش حاضر نیز کاربرد BAP در ترکیب با NAA نسبت به ترکیب KIN و NAA توانست در مجموع تعداد شاخساره (باززا شده از ریز نمونه بخش تحتانی برگ) بیشتری را در هاورتیا تولید نماید ($t(70) = 2.28; p = 0.0255$). در این راستا، اثر مثبت کاربرد BAP بر شاخه-زایی هاورتیا (۲۸) و آلوئه‌ورا (۱۲) در تحقیقات گذشته نیز گزارش شده بود. در حالی‌که در پژوهش دیگری، طی ارزیابی و مقایسه تاثیر کاربرد سیتوکینین‌های BAP و KIN بر باززایی ۵ گونه‌ی مختلف هاورتیا از ریزنمونه‌های برگی، بر تاثیر بیشتر هورمون KIN در برخی صفات تاکید شده است(۲۸).

در پژوهش حاضر، اگر چه تاثیرگذاری مثبت غلظت‌های بالای هر دو سیتوکینین BAP و KIN در ایجاد شاخساره‌های طویل از ریزنمونه‌های برگی گونه‌ی *H. attenuatae* مشاهده شد. با این حال، در شرایط استفاده از سیتوکینین KIN، ترکیب تیماری ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر KIN بهمراه ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر NAA توانست تعداد بیشتری از شاخساره‌های طویل را باززا نماید. در پژوهش خانام و همکاران (۱۶)، نیز حداکثر طول شاخساره (۲/۵ سانتی‌متر) در گیاه آلوئه ورا با کاربرد ۴ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر NAA به‌دست آمد. در حالی‌که، دویدی و همکاران (۱۳) کاربرد ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP را مناسب‌ترین تیمار برای تولید شاخساره‌های طویل در گیاه آلوئه‌ورا معرفی نمودند. به‌این ترتیب، گزینش غلظت مناسب سیتوکینین‌ها در حصول بوته‌های دارای مورفولوژی مناسب حائز اهمیت است به‌طوری‌که اختلالاتی نظیر عدم رشد ریشه و کندی رشد شاخساره‌ها بدلیل افزایش تجمع متابولیت‌های سمی در تیمار غلظت‌های بالای سیتوکینین‌ها در شرایط کشت بافت گیاهی گزارش شده است (۷ و ۸). در این راستا، روگرز (۲۸) در باززایی گونه‌های مختلف هاورتیا گزارش نمود که کاربرد غلظت‌های تا ۲ میلی‌گرم در لیتر از سیتوکینین‌ها (BAP و KIN) شاخساره‌هایی با ارتفاع مناسب تولید نمود، در حالی‌که اعمال غلظت‌های بالاتر این هورمون‌ها، کاهش ارتفاع شاخساره‌ها را در پی داشت.

نتایج بررسی عرض شاخساره‌های باززاشده نیز نشان داد که غلظت‌های بالای هر دو سیتوکنین بر عریض‌تر شدن

مقاله پژوهشی، صفحات ۱۸۴-۱۶۸
DOI: 10.22034/JPR.2022.2191

شاخساره‌های باززا شده در گونه‌ی *H. attenuatae* موثرتر می‌باشد. همچنین در هر دو آزمایش، ریزنمونه برگ کامل مناسب‌تر بود. باتوجه به این نکته مهم که تناسب طول و عرض شاخساره در مورفولوژی و بازارپسندی بوته‌های هاورتیا اهمیت زیادی دارد، نتایج حاصله نشان داد که در شرایط کاربرد سیتوکینین BAP اگرچه کاربرد سطوح متوسط هر دو تیمار هورمونی (به‌ترتیب ۱ و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر BAP و NAA) به‌طور هماهنگ هر دو صفت طول و عرض را در شاخساره‌های باززا شده‌ی رقم هاورتیای مورد بررسی، ارتقا بخشید (جدول۳)، این هماهنگی بین طول و عرض شاخساره در شرایط کاربرد سیتوکینین KIN، در هیچ یک از ترکیبات تیماری به‌طور معنی‌داری مشاهده نگردید (جدول۳ و شکل۷).

از دیگر خصوصیات مهم برای مناسب بودن شاخساره‌های باززا شده، تعداد برگ تولید شده در هر شاخساره است. در این راستا، بررسی این صفت در هر دو آزمایش مبین تاثیر مثبت کاربرد سطوح بالای سیتوکنین‌ها در تولید تعداد بالای برگ در شاخساره‌های باززا شده بود. شاخساره‌های باززا شده از ریزنمونه‌ی برگ کامل از نظر تولید تعداد برگ بیشتر، موفق‌تر عمل نمودند. در پژوهش چمنی و همکاران (۱) در گیاه لاله، با کاربرد ۰/۳ میلی‌گرم در لیتر NAA و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP، بیشترین تعداد برگ (۱۷عدد) و نیز بالاترین میانگین طول برگ (۴ سانتی‌متر) گزارش گردید. در پژوهش حاضر نیز، طویل‌ترین برگ‌ها با اعمال غلظت‌های متوسط و بالای هورمون BAP، بهمراه سطوح پایین اکسین NAA تولید گردیدند. ضمن اینکه مشخص شد که بالاترین سطح مصرف سیتوکینین KIN بهمراه سطوح پایین مصرف NAA نیز می‌تواند در رشد طولی برگ‌ها موفق عمل نماید.

در مجموع، از آنجایی‌که اندازه و نوع ریزنمونه تاثیر زیادی در نتایج باززایی گیاهان کشت بافتی دارد، یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که اگرچه باززایی مستقیم از هر دو ریزنمونه‌ی برگی *H. attenuatae* می‌تواند در تولید گیاهچه‌هایی یکنواخت در مدت زمانی کوتاه موفق عمل نماید، ولیکن بنظر می‌رسد استفاده از ریزنمونه‌های برگ کامل نتایج بهتری را بهمراه داشته باشد. همچنین کاربرد دو نوع سیتوکینین در ریزازدیادی این گیاه نشان داد که اعمال غلظت بالاتر BAP یا KIN در شرایط عدم مصرف یا مصرف سطوح پایین اکسین NAA، در باززایی شاخساره‌هایی با برگ‌های طویل، عریض و با تعداد بیشتر، کارآمدتر از سایر سطوح بود.

در مرحله‌ی ریشه‌زایی، استفاده از سطوح ۰/۵ و ۱/۵ میلی-گرم در لیتر هورمون NAA در محیط ½MS توانست تقریبا ریشه هایی با تعداد و طول دو برابر شاهد تولید نماید. کاربرد اکسین‌های مختلف بویژه NAA، IBA و IAA در شرایط درون شیشه‌ای، با هدف ریشه‌زایی گیاهان باززا شده مرسوم است (۲۹). با این حال تعیین غلظت‌های مناسب این هورمون‌ها نیز حائز اهمیت است. پلا و همکاران (۲۶) تیمار ۱ میلی‌گرم در لیتر هورمون NAA را جهت ریشه‌زایی شاخساره‌های کاکتوس اچینوسرئوس توصیه کردند. سایر محققین نیز کاربرد اکسین IBA را در ریشه‌زایی گونه های دیگر گیاه هاورتیا موفقیت آمیز گزارش نمودند (۱۰). علاوه بر تیمار هورمونی، فادل و همکاران (۱۴) اظهار داشتند که کاهش غلظت محیط پایه و بدنبال آن ایجاد تغییرات جزئی در غلظت برخی عناصر از جمله عناصر کمیاب، تاثیر قابل توجهی بر اندام‌زایی گیاهان در شرایط آزمایشگاهی داشته که این تاثیر، در ریشه‌زایی سایر گونه‌های بررسی شده‌ی هاورتیا مطلوب بود (۱۷).

یکی از مراحل مهم کشت بافت گیاهان، استقرار گیاهچه‌های کشت بافتی در بسترهای کشت گلدانی است. راندمان بالای سازگاری گیاهچه‌های *H. attenuatae* با شرایط گلخانه مبین رشد مطلوب اندام‌های فتوسنتزی و ریشه‌ای این گیاهچه‌ها در شرایط درون شیشه‌ای و کسب

مقاله پژوهشی، صفحات ۱۸۴-۱۶۸
DOI: 10.22034/JPR.2022.2191

بنیه‌ی گیاهچه‌ای مطلوب جهت استقرار و ادامه‌ی رشد در شرایط طبیعی (گلدان) بود.

در نهایت می‌توان اظهار داشت که یافته‌های پژوهش حاضر علاوه بر تاثیر مثبت در گسترش تحقیقات مربوط به فیزیولوژی، مهندسی ژنتیک و زیست شناسی مولکولی جنس Haworthia، می‌تواند در بهینه‌سازی ریزازدیادی تجاری این گونه‌ی هاورتیا مورد استفاده قرار گیرد.

سپاسگزاری

نویسندگان این مقاله از دانشگاه صنعتی شاهرود و شرکت زیست فناور سپنتا ناروان بخاطر حمایت هایشان در اجرای این پژوهش تشکر و قدردانی می نمایند.

منابع

۱- چمنی، ا.، قمری، م.، محب الدینی، م.، قنبری، ع.، و حیدری، ح.، ۱۳۹۶. اثر تنظیم کننده‌های رشد گیاهی بر کالوس‌زایی و باززایی لاله (*Fritillaria imperalis L*). نشریه علوم باغبانی دانشگاه فردوسی مشهد، ۳۱، صفحات ۴۶۹- ۴۸۲.

۲- کاویانی، ب.، و غفاری ایسی‌زاد، س.، ۱۳۹۴. اثر غلظت های مختلف نفتالن استیک اسید و کینتین روی ریزازدیادی گیاه زینتی لیسیانتوس (*Eustoma grandiflorum*). مجله پژوهش‌های گیاهی (مجله زیست شناسی ایران). ۲۸، صفحات ۱۰۸۸-۱۰۹۶.

۳- مرادیان، م.، باقری، ع.، مرعشی، ح.، نعمتی، ح.، و شریفی، الف.، ۱۳۹۸. بررسی اثر آهن، نوع محیط کشت و ترکیب هورمونی محیط کشت بر باززایی دوگونه رز *Rosa canina* و *Rosa beggeriana* در شرایط این ویترو. مجله پژوهش‌های گیاهی (مجله زیست شناسی ایران).۳۲، صفحات ۲۱۸-۲۳۰.

4- Ahmed, S., Kabir, A. H., Ahmed, M. B., Razvy, M. A., and Ganesan, S., 2007. Development of rapid micropropagation method of *Aloe vera* L. Seed Science journal. 24: 121-128.

5- Antonopoulos, C., Dimassi, K., Therios, I., Chatzissavvidis, C. and Papadakis, I., 2007. The effect of Fe–EDDHA and of ascorbic acid on in vitro rooting of the peach rootstock GF-677 explants. Acta Physiologiae Plantarum, 29: 559–561.

6- Aziz, A. N., Tan, B.C., Othman, R.Y., and Khalid, N., 2018. Efficient micropropagation protocol and genome size estimation of an important cover crop, Mucuna bracteata DC. ex Kurz. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 132: 267- 278.

7- Bairu, M. W., Aremu, A. O., and Van Staden, J., 2010. Somaclonal variation in plants: causes and detection methods. Plant Growth Regulation, 63: 147–173.

8- Baroja-Fernández, E., Aguirreolea, J., Martínková, H., Hanus, J., and Strnad, M., 2002. Aromatic cytokinins in micropropagated potato plants. Plant Physiology and Biochemistry, 40: 217–224.

9- Bayer, B., 1999. Haworthia revisited a revision of the genus. National Botanic Gardens of South Africa, Umdaus Press, PP: 130.

10- Chen, Y .M., Huang, J .Z., Hou, T. W., and Pan, I. C., 2019. Effects of light intensity and plant growth regulators on callus proliferation and shoot regeneration in the ornamental succulent Haworthia, Botanical studies, 60:10.

11- Christensen, B., Sriskandarajah, S., Serek, M., and Muller, R., 2008. In vitro culture of *Hibiscus rosasinensis* L.: Influence of iron, calcium and BAP on establishment and multiplication. Plant Cell Tissue Organ Culture, 93: 151–161.

12- Debiasi, C., Silva, C. G., and Pescador, R., 2007. Micropropagation of *Aloe vera* L. Revista Brasileira de Plantas Medicinais. 9: 36-43.

13- Dwivedi, N. K., Indiradevi, A., Asha, K. I., Asokan-Nair, R., and Suma, A., 2014. A protocol for micro propagation of *Aloe vera* L. (Indian Aloe) a miracle plant. Research in Biotechnology. 5: 1-5.

14- Fadel, D., Kintzios, S., Economou, A .S., Moschopoulou, G., and Constantinidou, H. A., 2010. Effect of different strength of medium on organogenesis, phenolic accumulation and antioxidant activity of spearmint (*Mentha*

مقاله پژوهشی، صفحات ۱۸۴-۱۶۸ DOI: 10.22034/JPR.2022.2191

spicata l.). The Open Horticulture Journal, 3: 31-35.

15- Gomez, M., Pellico, D., Ramırez-Lopez, P., Mancheno, M. J., Romano, S., delaTorre, M. C., and Sierra M. A., 2005. Understanding of the mode of action of FeIII-EDDHA as iron chlorosis corrector based on its photochemical and redox behavior. Chemistry a European Journal. 11: 5997–6005.

16- Khanam, N., Khanam, M., and Sarma, G. K., 2014. Rapid in vitro propagation of *Aloe vera* L. with some growth regulators using lateral shoots as explant. Journal of Pharmaceutical Sciences, 3: 2278-4357.

17- Kim, Y. H., Kim, H. H., Lee, G. Y., Lee, J. H., Jung, J. H., and Lee, S. D., 2018. Effect of growth regulators on In vitro mass propagation of *Haworthia maughani.* Journal of Plant Biotechnology. 45:369-374.

18- Kitamura, Y., Kubo, K., Rahman, L., and Ikenaga, T., 2002. Reproduction of *Sedum drymarioides*, an endangered rare species, by micropropagation. Plant Biotechnology, 19:303–309.

19- Kumari, A., and Naseem, M. D., 2016. An efficient protocol for micro propagation of a medicinal plant *Aloe vera* L. Through organ culture. Journal of Indian botany Society, 94: 118–125.

20- Liu, B .L., Fang, H. Z., Meng, C .R., Chen, M., Chai, Q. D., Zhang, K., and Liu, S. J., 2017. Establishment of a rapid and efficient micropropagation system for succulent plant Haworthia turgida. HortScience, 52, PP:1278–1282.

21- Lizumi, M., and Amaki, W., 2011. Miropropagation of *Haworthia cymbioformis* through Thin-cell-layer tissue culture. Combined Proceedings International Plant Propagators. 51: 288-291.

22- Luria, G., Wiess, D., Ziv, O., and Borochov, A., 2004. Effect of planting depth and density, leaf removal, cytokinin and gibberellic acid treatment on flowering and rhizome production in *Zantedeschia aethiopica.* IX international Symposium on Flower Bulbs, PP: 725-730.

23- Murashige, T., and Skoog, F., 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Plant Physiology, 15: 473-497.

24- Mycock, D. J., Wesley-Smith, J., and Berjack, P., 1995. Cryopreservation of somatic embryos of 4 species with and without cryoprotectant pretreatment, Annual Botany, 75: 331-356.

25- Nayankantha, N. M. C., Singh, B. R., and kumar, A., 2010. "Improved culture medium for micropropagation of *Aloe vera* L. Tropical Agricultural Research and Extension, 13: 87-93.

26- Pelah, D., Kaushik, R., Mizrahi, Y., and Sitrit, Y., 2002. Organogenesis in the vine cactus *Selenicereus megalanthus* using thidiazuron. Plant Cell Tissue Organ Cultue. 71: 81–84.

27- Richwine, A. M., Tipton, J. L., and Thompson, G. A., 1995. Establishment of Aloe, *Gasteria*, and *Haworthia* Shoot Cultures from Inflorescence Explants. Hortscience, 30:1443–1444.

28- Rogers, S. M. D., 1993. Optimization of plant regeneration and rooting from leaf explants of five rare Haworthia. Scientia Horticulturae, 56:157-161.

29- Sivanesan, I., Song, J. Y., Hwang, S. J., and Jeong, B. R., 2011. Micropropagation of *Cotoneaster wilsonii* Nakai -A rare endemic ornamental plant. Plant Cell Tissue Organ Cult, 105: 55–63.

30- Yong, X. J., Mai, Y. L., Lin, S. H., and Xia, S. Y., 2007. Tissue culture and rapid propagation of *Haworthia arachnoidea* var. setata. Journal of Tianjin Agricultural Sciences. 1: 12-13.

مقاله پژوهشی، صفحات ۱۸۴-۱۶۸ DOI: 10.22034/JPR.2022.2191

Micropropagation of *Haworthia attenuatae* using Kinetin and Benzylaminopurine Naphthalene acetic acid in combination with

Najarian Kermani N.[1], Parsaeian M.[1*] and Ghasimi Hagh Z.[2]

[1]Dept. of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Shahrood University of Technology, Shahrood, I.R. of Iran

[2]Dept. of Horticulture and Plant Protection, Faculty of Agriculture, Shahrood University of Technology, Shahrood, I.R. of Iran

Abstract

The usual method of *Haworthia attenuatae* propagation hasn't commercial returns due to the low number of offsets and rooting of leaf cuttings. In the present study, micro-propagation of this plant was evaluated using leaf explants on MS medium supplemented with BAP, KIN (0.5, 1 and 2 mg / l) and NAA (0, 0.01, 0.1 and 0.5 mg/l). The results showed that the maximum number of shoots was regenerated using BAP in combination with NAA from the basal leaf segment explant. The maximum number of leaves (3.55) and the longest leaves (0.61 cm) were obtained on medium containing 2 mg/l BAP and 0.01 mg/l NAA using the basal leaf segment explant and the widest Leaves (0.44 to 0.48 cm) was observed on the medium containing 2 mg/l BAP without or with low concentration of NAA. The results of KIN application showed that the longest leaves (0.56 cm) with the maximum numbers (2.45) were obtained on medium containing 2 mg/l KIN and 0.01 mg/l NAA from the entire leaf explant. Moreover, the widest leaves (0.87 cm) was produced on medium supplemented with 2 mg/l KIN. The findings of rooting on MS and ½MS media supplemented with 0, 0.5, 1, 1.5 mg/l NAA showed that the highest number (4.33) and the longest roots (2.16 cm) were produced on ½MS medium containing 0.5 mg/l NAA. 90% of rooted plantlets were adapted to the greenhouse environment. Totally, the accurate optimization of this protocol can be applied to commercial micro-propagation of *H. Attenuatae* from leaf explants.

Key words: Micro-propagation, *Haworthia attenuate*, Plant growth regulators, Leaf explant