فرآیند و کارکرد گیاهی، جلد ۱۴، شماره ۶۴، فروردین و اردیبهشت‌ماه ۱۴۰۴ صفحه: ۴۹-۶۰
https://doi.org/10.22034/14.65.49

مقاله پژوهشی

# اثر غلظت‌های مختلف اکسین و سایتوکینین بر تکثیر درون شیشه‌ای گیاه انسولین (*Chamaecostus cuspidatus* Nak)

هاجر معتمدی شارک[۱]، عزیزاله خیری[۱*]، محسن ثانی‌خانی[۱] و نیر محمدخانی[۲]
[۱] گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران
[۲] گروه گیاهان دارویی و معطر، مرکز آموزش عالی شهید باکری میاندوآب، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
(تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۲/۱۱، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۳/۰۵/۰۱)

## چکیده

گیاه انسولین (*Chamaecostus cuspidatus* Nak) به علت داشتن طیف گسترده‌ای از فعالیت‌های زیستی از جمله خواص ضددیابت، ضدسرطان و ضدالتهابی یک گیاه دارویی مهم است. این تحقیق به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی به بررسی اثر غلظت‌های مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد NAA و BA بر جداکشت گره در دو آزمایش جداگانه بر ریزازدیادی گیاه می‌پردازد. غلظت‌های هورمونی در آزمایش اول شامل تیمارهای BA (صفر، ۲، ۴ و ۶ میلی‌گرم در لیتر) با NAA (صفر، ۰/۳ و ۰/۶ میلی‌گرم در لیتر) بود که نتایج آزمایش اول منجر به طراحی آزمایش دوم با غلظت‌های بهینه شد. آزمایش دوم شامل BA (صفر، ۱، ۲ میلی‌گرم در لیتر) با NAA (صفر، ۱/۲، ۲/۴ میلی‌گرم در لیتر) در محیط‌کشت MS بود. نتایج آزمایش اول نشان داد بیشترین درصد شاخه‌زایی، تعداد برگ، ارتفاع اندام هوایی، وزن تر اندام هوایی، درصد ریشه‌زایی، وزن تر ریشه، قطر ریشه و رنگیزه‌های فتوسنتزی مربوط به تیمار ۰/۶ میلی‌گرم در لیتر NAA و کمترین مقدار مربوط به شاهد است. نتایج آزمایش دوم نشان داد که محیط‌کشت حاوی ۲/۴ میلی‌گرم در لیتر NAA به همراه ۱ میلی‌گرم در لیتر BA بیشترین تأثیر را بر رشد گیاهچه و رشد اندام هوایی دارد. بیشترین طول ریشه (۲۰/۳۳ سانتی‌متر) در محیط تحت تیمار با ۱/۲ NAA به‌همراه صفر و ۱ میلی‌گرم در لیتر BA و ۲/۴ میلی‌گرم NAA به‌همراه ۱ و ۲ میلی‌گرم در لیتر BA حاصل شد. همچنین شاخص کلروفیل رابطه مستقیم با رشد اندام هوایی را نشان داد به‌طوری‌که با افزایش رشد گیاهچه (۱ میلی‌گرم در لیتر BA با ۲/۴ میلی‌گرم در لیتر NAA) میزان کلروفیل‌ها نیز افزایش یافت. پژوهش حاضر نشان داد گیاه برای افزایش رشد اندام هوایی به مقدار کمی از هورمون BA (۱ میلی‌گرم در لیتر) نیاز دارد. از سوی دیگر، افزایش مقدار NAA از ۱/۲ میلی‌گرم در لیتر به ۲/۴ میلی‌گرم در لیتر اختلاف معنی‌داری در رشد ریشه نداشت و در غلظت ۲/۴ میلی‌گرم در لیتر گیاه کالوس‌زایی را نشان داد.

واژه‌های کلیدی: تنظیم‌کننده رشد گیاه، ریزازدیادی، کشت‌بافت گیاهی، گیاه دارویی، BA، NAA

## مقدمه

گیاه دارویی انسولین با نام علمی *Chamaecostus cuspidatus*، معمولاً به نام زنجبیل مارپیچ شناخته می‌شود و به خانواده کاستاسه (Costaceae) تعلق دارد. گیاه انسولین یک راهکار جادویی برای درمان دیابت شناخته شده است. برگ آن از طریق کاهش سطح قند خون، بهبود پارامترهای کلیوی و

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: kheiry@znu.ac.ir

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-08-21 ]
[ DOI: DOI: 10.22034/14.65.49 ]

کبدی، افزایش سطح انسولین، بهبود وضعیت بافتی و آنتی‌اکسیدانی به بیماران دیابتی کمک می‌کند (Shinde *et al.*, 2020). به همین دلیل به‌عنوان "گیاه انسولین" شناخته می‌شود. گونه‌های این تیره به‌طور گسترده در مناطق گرمسیری جهان پراکنش دارند. این گیاه در آمریکا جنوبی و مرکزی رشد می‌کند و به دلیل ارزش دارویی آن، در هند نیز محبوب شده است (Dacasin *et al.*, 2023). اکنون به‌عنوان یک داروی مفید برای درمان دیابت به‌طور گسترده قبول و استفاده می‌شود. ویژگی‌های چندمنظوره این گیاه به دلیل ترکیبات فیتوشیمیایی فراوان در آن، از جمله کربوهیدرات‌ها، ترپنوئیدها، پروتئین‌ها، آلکالوئیدها، تانن‌ها و فلاونوئیدها گزارش شده است (Hegde *et al.*, 2014). متابولیت‌های ثانویه **مهم** گیاه دارویی انسولین مانند اسید کروزولیک، دیوسژنین، کوئرستین، کاتچین، سیتوسترول و اسید اولئیک فعالیت ضددیابتی را نشان می‌دهند (Shinde *et al.*, 2020).

در سال‌های اخیر، فرایند کشت درون شیشه بافت و سلول گیاهی به‌عنوان یک ابزار قدرتمند برای ازدیاد گیاهان با مقیاس زیاد به وجود آمده است (Sulakshana and Sabitha Rani, 2016). به علت بهره‌برداری انبوه صنعت داروسازی و مسائلی چون از بین رفتن قابلیت جوانه‌زنی، میزان جوانه‌زنی پایین و سخت ریشه‌زایی، گیاه انسولین با خطر انقراض روبه‌رو است (Bakrudeen and Arun, 2009). استفاده از تکنیک کشت بافت امکان افزایش انبوه گیاهان در شرایط محیطی کنترل‌شده بدون هیچ محدودیت فصلی را فراهم می‌کند (Ochoa-Villarreal *et al.*, 2016). در همین راستا، برخی پژوهشگران ریزازدیادی و مطالعه فیتوشیمیایی گیاه انسولین را در جنس و گونه‌هایی از این خانواده گیاهی با استفاده از غلظت‌های مختلف بنزیل آمینو پورین (BAP)، کینتین (KIN)، ایندول استیک اسید (IAA) و نفتالین استیک اسید (NAA) بر جداکشت‌های مختلف مانند برگ، گره و ریزوم گزارش کرده‌اند (Punyarani and Sharma, 2012; Jariteh *et al.*, 2020). هدف از انجام این پژوهش، ریزازدیادی گیاه دارویی انسولین در شرایط درون شیشه‌ای با توجه به بومی نبودن این گیاه و عدم شناخت کافی درباره مشخصات زیست‌شناختی آن می‌باشد. مطالعه حاضر در دو آزمایش جداگانه به‌صورت فاکتوریل که هدف از انجام آزمایش اول تعیین بهترین غلظت هورمونی برای اندام‌زایی و آزمایش دوم با هدف اندام‌زایی و افزایش هر چه بیشتر ریشه (رشد ریشه بالا و قوی می‌تواند به‌عنوان مواد اولیه برای تکثیر درون‌شیشه این گیاه مورد استفاده قرار بگیرد) انجام گردید. تا بتوان به‌طور کارآمد با ازدیاد گیاه از خصوصیات درمانی و دارویی این گیاه در ایران بهره‌مند شد.

## مواد و روش‌ها

**تهیه جداکشت گیاهی:** گیاه انسولین به شکل گلدانی از گلخانه محل پرورش این گیاه واقع در کرج تهیه و به آزمایشگاه کشت‌بافت دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان منتقل گردید. قطعه گره به‌عنوان جداکشت انتخاب شد. جهت ضدعفونی، ابتدا جداکشت‌ها با جریان آب شهری به مدت ۲۰ دقیقه شسته شدند. سپس با استفاده از الکل ۷۰ درصد ۳۰ ثانیه ضدعفونی و پس از شستشو با آب‌مقطر، نمونه‌ها با استفاده از هیپوکلریت سدیم ۱/۷ درصد ضدعفونی و درنهایت سه بار با آب‌مقطر استریل زیر هود لامینار شسته شدند. بعد از ضدعفونی، جداکشت‌ها روی محیط‌کشت MS (Murashige and Skoog, 1962) تکمیل‌شده با تیمارهای آزمایش حاوی ۳۰ گرم در لیتر ساکارز، ۴ گرم در لیتر آگار و اسیدیته ۵/۸ کشت شدند. محیط‌های کشت قبل از کشت جداکشت‌ها توسط اتوکلاو در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس به مدت ۲۰ دقیقه استریل شدند.

**تیمارهای آزمایش و شرایط رشد گیاه:** این مطالعه در دو آزمایش جداگانه با غلظت‌های مختلف هورمون اکسین (NAA) و سایتوکینین (BA) به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی بر روی جداکشت گره با سه تکرار و سه جداکشت در هر تکرار انجام شد. غلظت‌های هورمونی در آزمایش اول شامل تیمارهای BA (صفر، ۲، ۴ و ۶ میلی‌گرم در لیتر) با NAA (صفر، ۰/۳ و ۰/۶ میلی‌گرم در لیتر) بود که نتایج آزمایش اول منجر به طراحی آزمایش دوم با غلظت‌های بهینه

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-08-21 ]
[ DOI: DOI: 10.22034/14.65.49 ]

شد. آزمایش دوم شامل BA (صفر، ۱، ۲ میلی‌گرم در لیتر) با NAA (صفر، ۱/۲، ۲/۴ میلی‌گرم در لیتر) بود. محیط‌های کشت حاوی تیمارهای آزمایش پس از استقرار جداکشت به اتاقک رشد با شرایط دمای ۲۵ درجه سلسیوس در روز و ۲۰ درجه سلسیوس در شب، با دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی انتقال یافتند.

**اندازه‌گیری شاخص‌های رشد:** بعد از گذشت ۱۲ هفته از زمان کشت جداکشت گره، صفاتی از قبیل درصد شاخه‌زایی، درصد ریشه‌زایی، تعداد شاخه از هر جداکشت، تعداد برگ، قطر ساقه و قطر ریشه (با استفاده از کولیس)، ارتفاع اندام هوایی و طول ریشه (با استفاده از خط‌کش)، وزن تر اندام هوایی، وزن تر ریشه و رنگیزه‌های فتوسنتزی از جمله کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید کل اندازه‌گیری شد.

**اندازه‌گیری رنگیزه‌های فتوسنتزی برگ:** اندازه‌گیری کلروفیل a، b، کل و کاروتنوئید کل به روش Lichtenthaler و Wellbum (۱۹۸۳) انجام شد. رنگیزه‌های بافت تر برگی با استون ۸۰ درصد استخراج و جذب نمونه‌ها در طول‌موج‌های ۶۶۳، ۶۴۶ و ۴۷۰ نانومتر خوانده شد. میزان کلروفیل a، b، کل و کاروتنوئید کل طبق معادلات زیر محاسبه گردید:

کلروفیل a = $12.25\ A_{663} - 2.798\ A_{646}$

کلروفیل b = $21.50\ A_{646} - 5.1\ A_{663}$

کلروفیل کل = کلروفیل a + کلروفیل b

کاروتنوئید کل = $(1000\ A_{470} - 1.82_{Chl\ a} - 85.02_{Chl\ b})/198$

تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۵ صورت گرفت. مقایسه میانگین صفات به‌روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد.

## نتایج و بحث

**نتایج آزمایش اول:** بر اساس نتایج داده‌های حاصل از جدول تجزیه واریانس، هورمون NAA و BA اثر معنی‌داری بر روی صفات مورد بررسی از جمله درصد شاخه‌زایی، تعداد شاخه از هر جداکشت، تعداد برگ، ارتفاع اندام هوایی، طول ریشه، وزن تر اندام هوایی، درصد ریشه‌زایی، وزن تر ریشه، قطر ساقه، قطر ریشه و رنگیزه‌های فتوسنتزی در سطح احتمال ۱ درصد داشتند (جدول ۱ و ۲).

مقایسه میانگین داده‌های آزمایش اول (جدول ۳) نشان داد که بیشترین تعداد شاخه (۲/۲۲) در تیمار ۰/۶ میلی‌گرم NAA با ۴ میلی‌گرم BA و تیمار ۰/۶ میلی‌گرم NAA به همراه ۶ میلی‌گرم BA (۲/۱۱) حاصل شد. بیشترین درصد شاخه‌زایی، تعداد برگ، وزن تر اندام هوایی، درصد ریشه‌زایی، وزن تر ریشه، قطر ریشه در بین تیمارهای مختلف مربوط به تیمار ۰/۶ میلی‌گرم در لیتر NAA با صفر BA و کمترین مقدار مربوط به تیمار شاهد بود. بالاترین طول ریشه (۱۷ سانتی‌متر) در تیمار ۰/۳ میلی‌گرم NAA حاصل شد که با افزایش غلظت BA به ۶ میلی‌گرم در لیتر در ترکیب با هر دو غلظت ۰/۶ و ۰/۳ NAA طول ریشه کاهش یافته که این نشان می‌دهد مقادیر زیاد سایتوکنین نظیر BA بر میزان ریشه‌زایی و به دنبال آن بر طول ریشه اثر بازدارنده دارد. همچنین بیشترین قطر ساقه در تیمار ۰/۳ میلی‌گرم NAA همراه با ۶ میلی‌گرم BA مشاهده شد. همانطور که در جدول ۳ مشاهده می‌شود، ارتفاع اندام هوایی (۱۵ سانتی‌متر) در محیط‌کشت ترکیبی حاوی ۰/۶ میلی‌گرم NAA بدون BA بیشتر از سایر تیمارها بود.

ریزازدیادی را می‌توان یک روش مؤثر برای تکثیر جوانه‌های انتهایی یا جانبی و تکثیر غیرجنسی درون شیشه‌ای نیز نامید که یک روش تکثیر برای گونه‌ها یا واریته‌ای با ویژگی‌های مطلوب است (Faisal *et al.*, 2018). در این راستا تنظیم‌کننده‌های رشد نقش مهمی ایفا می‌کنند از جمله عوامل دیگری که در ریزازدیادی تأثیرگذار هستند می‌توان به ژنوتیپ، نوع جداکشت، سن جداکشت و شرایط محیطی اشاره کرد (Cesar *et al.*, 2017). همچنین عکس‌العمل جداکشت به مقدار بهینه تنظیم‌کننده‌های رشد داخلی و بیرونی بستگی دارد (Jun – jie *et al.*, 2017). بررسی نتایج آزمایش اول بر صفات ریختی نشان داد جداکشت‌هایی که در محیط‌کشت ۰/۶ میلی‌گرم در لیتر NAA قرار گرفتند رشد اندام هوایی از جمله تعداد برگ، ارتفاع اندام هوایی، وزن تر اندام هوایی، وزن تر ریشه و قطر ریشه قابل‌توجهی نسبت به سایر تیمارها و شاهد

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-08-21 ]
[ DOI: DOI: 10.22034/14.65.49 ]

**جدول ۱- تجزیه واریانس تأثیر سطوح مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد بر صفات ریختی جداکشت گره گیاه انسولین در آزمایش اول**

| منبع تغییرات | درجه آزادی | میانگین مربعات | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | درصد شاخه‌زایی | تعداد شاخه | تعداد برگ | ارتفاع اندام هوایی | وزن تر اندام هوایی | قطر ساقه | درصد ریشه‌زایی | طول ریشه | وزن تر ریشه | قطر ریشه |
| NAA | ۲ | ۳۱۷۹/۰۱** | ۱/۹۸۵** | ۳۲/۱۹۴** | ۱۲۹/۲۵۷** | ۱۸/۴۶۹** | ۸/۳۹۲** | ۳۵۷۲/۵۳** | ۲۴۰/۰۸۳** | ۸/۲۳۹** | ۱/۱۳۲** |
| BA | ۳ | ۶۹۹/۵۹** | ۲/۲۵۱** | ۲۶/۳۹۸** | ۵۶/۱۷۶** | ۱۴/۴۰۸** | ۵/۹۲۹** | ۱۷۷۷/۲۶** | ۱۳/۱۸۵** | ۱/۵۴۹** | ۰/۰۲۳** |
| NAA × BA | ۶ | ۲۰۲۶/۷۵** | ۰/۱۲۴** | ۲۴/۴۵۴** | ۳۳/۳۵۰** | ۷/۹۴۴** | ۲/۴۲۲** | ۲۲۸۶/۵۲** | ۷۵/۴۹۱** | ۶/۰۷۳** | ۰/۶۱۴** |
| خطا | ۲۴ | ۹۲/۵۹ | ۰/۰۳۱ | ۰/۲۷۸ | ۰/۲۵۰ | ۰/۰۲۷ | ۰/۰۲۲ | ۱۵/۴۳۲ | ۰/۲۲۲ | ۰/۰۷۵ | ۰/۰۰۲ |
| ضریب تغییرات | | ۲۰/۷۸ | ۱۳/۰۲ | ۱۱/۶۵ | ۸/۶۱ | ۷/۹۸ | ۴/۹۲ | ۸/۷۵ | ۴/۲۸ | ۱۳/۶۸ | ۵/۲۳ |

**: معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد

**جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس تأثیر سطوح مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد بر رنگیزه‌های فتوسنتزی جداکشت گره گیاه انسولین در آزمایش اول**

| منبع تغییرات | درجه آزادی | میانگین مربعات | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | کلروفیل a | کلروفیل b | کلروفیل کل | کاروتنوئید کل |
| NAA | ۲ | ۴۲۷/۸۸۴** | ۱۸/۵۱۹** | ۶۱۸/۵۹۷** | ۱۱۴/۴۳۶** |
| BA | ۳ | ۳۳/۲۲۱** | ۱۲/۶۶۸** | ۱۳/۸۲۳** | ۰/۹۴۰** |
| NAA × BA | ۶ | ۱۴۰/۹۱۵** | ۱۵/۷۶۷** | ۲۳۴/۸۸۱** | ۱۹/۷۲۰** |
| خطا | ۲۴ | ۱/۲۰۳ | ۰/۱۹۴ | ۰/۶۳۲ | ۰/۱۴۳ |
| ضریب تغییرات | | ۷/۱۴ | ۱۴/۲۴ | ۴/۳۱ | ۵/۰۸ |

**: معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد

(فاقد تنظیم‌کننده رشد) داشتند. در این پژوهش بالاترین تعداد شاخه در تیمار با غلظت‌های ۴ و ۶ میلی‌گرم BA به همراه ۰/۶ میلی‌گرم NAA به‌دست آمد که می‌تواند به نقش مؤثر سیتوکینین در القای شاخه‌زایی اشاره کند. طبق نتایج به‌دست آمده گیاه انسولین با مقادیر پایین از سایتوکینین بهترین عملکرد را از خود نشان می‌دهد که دلیل آن را به بالا بودن سایتوکینین داخلی و یا پایین بودن نسبی مقدار اکسین در جداکشت‌های گره می‌توان نسبت داد. آزمایش‌های مختلفی با غلظت‌های متعدد اکسین و سایتوکنین به‌تنهایی و به‌صورت ترکیبی انجام شده است. در بررسی اثر تنظیم‌کننده‌های رشد بر روی رشد اندام هوایی مشاهده شده که غلظت بالای BA اثر مثبتی رو رشد شاخساره نداشت (Jena *et al.*, 2020). همچنین در مطالعه انجام‌شده بر روی ریزازدیادی یک گونه از جنس کاستوس، بیشترین رشد و تکثیر اندام هوایی (۴ سانتی‌متر) روی محیط‌کشت MS حاوی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BA به‌دست آمد و طول ساقه به‌تدریج با افزایش غلظت BA به ۱ میلی‌گرم در لیتر کاهش یافت (Philip Robinson *et al.*, 2009). این مطالب با نتایج این تحقیق مطابقت دارد. در گزارش دیگری از اثر هورمون‌ها بر ریزازدیادی گیاه *Costus speciosus* بر روی جداکشت گره انجام شده که نشان می‌دهد غلظت‌های ۰/۲۵ تا ۱ میلی‌گرم در لیتر BA بیشترین فراوانی باززایی گیاه را داشته است (Sulakshana and Sabitha Rani, 2016). در مطالعه حاضر نتایج مشابهی مشاهده شد، اثر ترکیبی غلظت‌های ۴ و ۶ میلی‌گرم در لیتر BA به‌همراه ۰/۶ میلی‌گرم

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-08-21 ]

[ DOI: DOI: 10.22034/14.65.49 ]

**جدول ۳- مقایسه میانگین تأثیر سطوح مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد بر صفات ریختی جداکشت گره گیاه انسولین در آزمایش اول**

| تیمارها | درصد شاخه‌زایی | تعداد شاخه | تعداد برگ | ارتفاع اندام هوایی (سانتی‌متر) | وزن تر اندام هوایی (گرم) | قطر ساقه (میلی‌متر) | درصد ریشه‌زایی | طول ریشه (سانتی‌متر) | وزن تر ریشه (گرم) | قطر ریشه (میلی‌متر) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| NAA0 BA0 | T* | T* | T* | T* | T* | T* | T* | T* | T* | T* |
| NAA0 BA2 | ۳۳/۳۳d | ۱F | ۵/۳۳cd | ۴ef | ۱/۰۷fg | ۲/۶۴e | ۳۳/۳۳c | ۶/۳۳e | ۱/۱۹ef | ۰/۶۳ef |
| NAA0 BA4 | ۳۳/۳۳d | ۱/۳۳cde | ۴efg | ۲/۳۳g | ۰/۹۹fgh | ۲/۱۳f | ۳۳/۳۳c | ۶/۶۷e | ۰/۹۸f | ۰/۶۲f |
| NAA0 BA6 | ۴۴/۴۴cd | ۱/۳۳cde | ۱/۳۳i | ۲/۳۳g | ۰/۷۱h | ۳/۵۰b | ۳۳/۳۳c | ۱۰/۶۷d | ۲/۰۵d | ۰/۹۵d |
| NAA 0.3 BA0 | ۵۵/۵۵bc | ۱f | ۹/۳۳b | ۱۲/۶۶b | ۳/۹۷b | ۲/۹۰d | ۶۶/۶۶b | ۱۷a | ۲/۷۱c | ۰/۶۷ef |
| NAA 0.3 BA2 | ۶۶/۶۶b | ۱/۲۲def | ۵/۶۷c | ۶/۵۰cd | ۲/۵۵d | ۲/۸۳de | ۶۶/۶۶b | ۱۳/۶۷c | ۲/۲۹cd | ۰/۹۵d |
| NAA 0.3 BA4 | ۵۵/۵۵bc | ۱/۸۹b | ۳/۳۳g | ۴/۳۳e | ۱/۵۳e | ۳/۶۰b | ۶۶/۶۶b | ۱۶b | ۳/۵۷b | ۱/۲۱b |
| NAA 0.3 BA6 | ۳۳/۳۳d | ۱/۵۶c | ۲/۳۳h | ۳/۳۳f | ۰/۹۰gh | ۵/۳۲a | ۱۶/۶۷d | ۴/۳۳f | ۰/۸۸f | ۰/۵۹f |
| NAA 0.6 BA0 | ۱۰۰a | ۱/۱۱ef | ۱۰/۳۳a | ۱۵/۳۳a | ۷/۱۵a | ۳/۱۵c | ۱۰۰a | ۱۵/۶۷b | ۴/۸۳a | ۱/۷۳a |
| NAA 0.6 BA2 | ۶۶/۶۶b | ۱/۴۴cd | ۴/۶۷de | ۶/۸۳c | ۳/۱۷c | ۳/۵۳b | ۶۶/۶۶b | ۱۵/۳۳b | ۲/۶۸c | ۱/۱۸b |
| NAA 0.6 BA4 | ۳۳/۳۳d | ۲/۲۲a | ۳/۶۷fg | ۶/۳۳cd | ۱/۲۶ef | ۳/۳۶bc | ۲۷/۷۸c | ۱۳/۳۳c | ۱/۲۷ef | ۰/۷۱e |
| NAA 0.6 BA6 | ۳۳/۳۳d | ۲/۱۱ab | ۴/۳۳ef | ۵/۶۶d | ۱fgh | ۳/۲۰c | ۲۷/۷۸c | ۱۳c | ۱/۵۸e | ۱/۰۳c |

**حروف مشترک در هر ستون نمایانگر عدم تفاوت معنی‌داری است.**

***T: داده قابل اندازه‌گیری مشاهده نشد.**

در لیتر NAA باعث افزایش تعداد شاخه در هر جداکشت را نشان داد اما بیشترین درصد شاخه‌زایی، رشد اندام هوایی و تعداد برگ در عدم کاربرد BA حاصل شد. طبق نتایج به دست آمده این گیاه برای رشد گیاهچه به مقدار پایین‌تری از BA نیاز دارد و افزایش غلظت اثر منفی در رشد اندام هوایی داشت. بنزیل آدنین (BA) به‌عنوان یک عامل مؤثر در تکثیر اندام هوایی سایر گونه‌ها با غلظت کم نقش مثبت و قابل توجهی داشته است (Mohanty *et al.*, 2011; Abdelmageed *et al.*, 2011). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد، تیمار هورمونی ۰/۳ میلی‌گرم NAA به‌تنهایی (صفر BA) بلندترین طول ریشه رخ داده است. طبق نتایج به‌دست آمده، هورمون NAA با غلظت ۰/۳ میلی‌گرم در لیتر با صفر BA باعث رشد طولی در ریشه شد (۱۷ سانتی‌متر) و افزایش غلظت NAA از ۰/۳ میلی‌گرم در لیتر به غلظت ۰/۶ میلی‌گرم در لیتر افزایش درصد ریشه‌زایی، قطر و وزن تر ریشه را نشان داد (جدول ۳). طبق مطالعه انجام‌شده توسط Sari و همکاران (۲۰۱۵)، غلظت بالاتر اکسین نسبت به سایتوکینین باعث تحریک رشد ریشه می‌شود. هورمون اکسین به‌راحتی سبب تحریک سلول‌های دایره‌ی محیطی در بخش‌های بالایی تارهای کشنده شده و این تحریک باعث تقسیم سلول‌های این منطقه و درنهایت منجر به تشکیل ریشه می‌شود (Faisal *et al.*, 2018).

مقایسه میانگین اثر متقابل تنظیم‌کننده‌های رشد NAA و BA آزمایش اول بر رنگیزه‌های فتوسنتزی در جدول ۴ آورده شده است. همانطور که در جدول ۴ ملاحظه می‌شود، بیشترین میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی از جمله کلروفیل a، b، کل و کاروتنوئید کل مربوط به محیط‌کشت حاوی ۰/۶ میلی‌گرم بر لیتر NAA است (شکل ۱- C). بیشترین میزان کلروفیل a به ترتیب در تیمار ۰/۶ NAA، ۰/۶NAA با ۲ میلی‌گرم BA و ۰/۶ NAA با ۴ میلی‌گرم BA مشاهده شد و افزایش غلظت BA از ۴ میلی‌گرم به ۶ میلی‌گرم کاهش در مقدار کلروفیل a را نشان داد. نتایج اثر BA و NAA بر روی کاروتنوئید کل نشان می‌دهد هورمون NAA بیشترین اثر را داشته و کمترین مقدار مربوط به تیمارهای بدون NAA بعد از شاهد است. به‌طورکلی، گیاهان تولیدشده در محیط‌کشت حاوی ۰/۶ میلی‌گرم NAA

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-08-21 ]

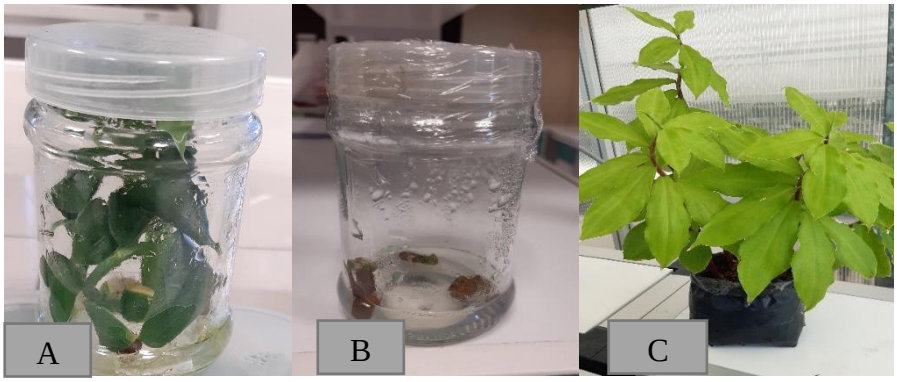
[ DOI: DOI: 10.22034/14.65.49 ]

**جدول ۴- مقایسه میانگین تأثیر سطوح مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد بر رنگیزه‌های فتوسنتزی جداکشت گره گیاه انسولین در آزمایش اول**

| تیمارها | کلروفیل a | کلروفیل b | کلروفیل کل | کاروتنوئید کل |
|---|---|---|---|---|
| | (میلی‌گرم بر گرم وزن تر) | | | |
| NAA0 BA0 | T* | T* | T* | **T*** |
| NAA0 BA2 | ۱۲/۳۰$^{f}$ | ۲/۰۴$^{d}$ | ۱۴/۳۳$^{e}$ | **۵/۱۴$^{e}$** |
| NAA0 BA4 | ۱۲/۱۹$^{f}$ | ۲/۴۵$^{d}$ | ۱۴/۶۴$^{e}$ | **۵/۳۹$^{e}$** |
| NAA0 BA6 | ۱۱/۱۴$^{f}$ | ۲/۱۷$^{d}$ | ۱۳/۳۱$^{e}$ | **۴/۹۹$^{e}$** |
| NAA 0.3 BA0 | ۱۲/۰۴$^{f}$ | ۴/۵۳$^{b}$ | ۱۶/۵۷$^{d}$ | **۹/۵۳$^{b}$** |
| NAA 0.3 BA2 | ۱۸/۵۲$^{d}$ | ۲/۰۹$^{d}$ | ۲۰/۶۱$^{c}$ | **۷/۶۸$^{c}$** |
| NAA 0.3 BA4 | ۱۵/۱۲$^{e}$ | ۴/۳۰$^{b}$ | ۱۹/۴۳$^{c}$ | **۹/۰۶$^{b}$** |
| NAA 0.3 BA6 | ۱۹/۹۴$^{cd}$ | ۳/۸۹$^{bc}$ | ۲۳/۸۳$^{b}$ | **۹/۴۹$^{b}$** |
| NAA 0.6 BA0 | ۲۸/۹۳$^{a}$ | ۸/۸۷$^{a}$ | ۳۷/۸۷$^{a}$ | **۱۲/۶۶$^{a}$** |
| NAA 0.6 BA2 | ۲۲/۳۹$^{b}$ | ۰/۷۱$^{e}$ | ۲۳/۱۰$^{b}$ | **۹/۵۲$^{b}$** |
| NAA 0.6 BA4 | ۲۰/۸۱$^{bc}$ | ۳/۴۷$^{c}$ | ۲۴/۲۹$^{b}$ | **۹/۰۸$^{b}$** |
| NAA 0.6 BA6 | ۱۰/۷۰$^{f}$ | ۲/۵۹$^{d}$ | ۱۳/۲۹$^{e}$ | **۶/۷۰$^{d}$** |

**حروف مشترک در هر ستون نمایانگر عدم تفاوت معنی‌داری است.**

***T**: **داده قابل اندازه‌گیری مشاهده نشد.**




**شکل ۲- A: گیاه انسولین، B: شاهد (عدم استفاده از تنظیم‌کننده رشد)، C: جداکشت‌های رشدکرده در تیمار صفر BA و ۰/۶ میلی‌گرم در لیتر NAA آزمایش اول**

نسبت به سایر تیمارها سبزتر و قوی‌تر بودند و رشد بیشتری داشتند. در بررسی اثر سطوح مختلف سایتوکینین بر تغییر دستگاه فتوسنتزی و محتوای رنگدانه برگ‌های سیب در شرایط درون شیشه‌ای، نتایج پژوهش نشان داد نوع و غلظت هورمون در مقدار کلروفیل a و b و نسبت آن‌ها تأثیر می‌گذارد (Dobranszki and Drienyovszki, 2014). Nofal و همکاران (۲۰۲۲) گزارش کردند که بیشترین مقدار کلروفیل کل در تیمار با کاینتین (Kin) ثبت شده، درحالی‌که کمترین مقدار مربوط به بنزیل آدنین (BA) بود.

**نتایج آزمایش دوم**: بر اساس نتایج داده‌های حاصل از

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-08-21 ]

[ DOI: DOI: 10.22034/14.65.49 ]

**جدول ۵- تجزیه واریانس تأثیر سطوح مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد بر صفات ریختی جداکشت گره گیاه انسولین در آزمایش دوم**

| منبع تغییرات | درجه آزادی | میانگین مربعات | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | درصد شاخه‌زایی | تعداد شاخه | تعداد برگ | ارتفاع اندام هوایی | وزن تر اندام هوایی | قطر ساقه | درصد ریشه‌زایی | طول ریشه | وزن تر ریشه | قطر ریشه |
| **NAA** | ۲ | ۲۸۰۸/۶۴** | ۰/۲۳۵** | ۷۸/۰۳۷** | ۲۰۳/۲۵۹** | ۷/۵۸۱** | ۶/۶۲۳** | ۴۹۷۹/۴۲** | ۴۰۸/۴۴۴** | ۶/۷۹۶** | ۱/۳۵۴** |
| **BA** | ۲ | ۲۲۵۳/۰۸** | ۱/۷۷۸** | ۸/۰۳۷** | ۸۰/۱۴۸** | ۷/۸۶۴** | ۲/۷۹۷** | ۱۱۵۲/۲۶** | ۴۸/۱۱۱** | ۳/۳۸۲** | ۰/۱۷۱** |
| **NAA × BA** | ۴ | ۹۸۷/۶۵** | ۰/۷۹۰** | ۲۲/۷۰۴** | ۲۷/۵۹۳** | ۱/۸۹۳** | ۴/۰۹۴** | ۴۲۶/۹۵** | ۴۶/۲۲۲** | ۰/۳۳۹** | ۰/۶۳۴** |
| **خطا** | ۱۸ | ۶۱/۷۳ | ۰/۰۰۸ | ۰/۲۵۹ | ۰/۳۳۳ | ۰/۰۱۴ | ۰/۰۱۴ | ۵۱/۴۴ | ۰/۳۳۳ | ۰/۰۰۸ | ۰/۰۰۳ |
| **ضریب تغییرات** | | ۱۳/۶۸ | ۸/۰۵ | ۹/۶۱ | ۶/۲۳ | ۵/۸۷ | ۳/۷۵ | ۱۳/۰۵ | ۳/۷۶ | ۵/۷۷ | ۵/۵۲ |

**: معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد

**جدول ۶- تجزیه واریانس تأثیر سطوح مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد بر رنگیزه‌های فتوسنتزی جداکشت گره گیاه انسولین در آزمایش دوم**

| منبع تغییرات | درجه آزادی | میانگین مربعات | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | کلروفیل a | کلروفیل b | کلروفیل کل | کاروتنوئید کل |
| **NAA** | ۲ | ۱۸۵/۱۳۱** | ۷۰/۰۴۶** | ۴۸۲/۲۴۹** | ۱۴/۶۴۶** |
| **BA** | ۲ | ۶۶/۴۴۳** | ۱۴/۳۸۳** | ۱۰۸/۸۳۱** | ۱۰/۲۰** |
| **NAA × BA** | ۴ | ۱۲۱/۴۸۱** | ۲۲/۳۷۷** | ۲۴۲/۲۵۹** | ۱۴/۹۳۷** |
| **خطا** | ۱۸ | ۰/۰۶۸ | ۰/۰۱۸ | ۰/۰۶۵ | ۰/۰۱۶ |
| **ضریب تغییرات** | | ۱/۶۱ | ۲/۰۷ | ۱/۱۳ | ۲/۳۱ |

**: معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد

جدول تجزیه واریانس، اثر ساده و اثر متقابل تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی NAA و BA بر صفات ارزیابی‌شده از جمله صفات ریختی و رنگیزه‌های فتوسنتزی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار است (جدول ۵ و ۶).

نتایج مقایسه میانگین آزمایش دوم بر صفات ریختی (جدول ۷) نشان داد که بیشترین تعداد شاخه (۱/۸۹) در تیمار ۱/۲ میلی‌گرم NAA با ۱ میلی‌گرم BA حاصل شد که اختلاف معنی‌داری با عدم کاربرد NAA با ۱ میلی‌گرم BA (۱/۷۸) ندارد. همچنین بیشترین درصد شاخه‌زایی (۷۷ درصد) و ریشه‌زایی (۷۷ درصد) در تیمار حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر BA به همراه ۱/۲ میلی‌گرم NAA حاصل شد. جداکشت‌های قرارگرفته در محیط‌های حاوی ۲/۴ میلی‌گرم NAA به همراه ۱ میلی‌گرم BA دارای بالاترین تعداد برگ، وزن تر اندام هوایی و قطر ساقه است (شکل ۲- B). همانطور که در شکل (۲- C) مشاهده می‌شود، افزایش غلظت NAA به ۲/۴ میلی‌گرم به همراه ۲ میلی‌گرم BA باعث کالوس‌زایی در جداکشت شده است. همچنین، بیشترین وزن تر ریشه و قطر ریشه در تیمار ۱/۲ میلی‌گرم NAA با ۱ میلی‌گرم BA مشاهده می‌شود. طبق نتایج مقایسه میانگین، بالاترین طول ریشه (۲۰/۳۳ سانتی‌متر) مربوط به تیمار ۱/۲ میلی‌گرم NAA است که اختلاف معنی‌داری با تیمارهای ۱/۲ میلی‌گرم NAA به همراه ۱ میلی‌گرم BA، ۲/۴ میلی‌گرم NAA با همراه ۱ و ۲ میلی‌گرم BA ندارد. همانطور که در جدول ۷ مشاهده می‌شود، بیشترین ارتفاع اندام هوایی (۱۸ سانتی‌متر) در محیط‌کشت حاوی ۲/۴ میلی‌گرم NAA به همراه ۱ میلی‌گرم BA و بعد در تیمار ۱/۲ میلی‌گرم NAA به همراه ۱ میلی‌گرم BA حاصل شده است.

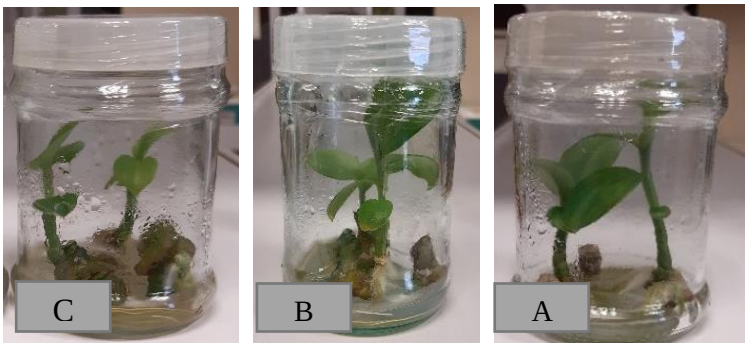
[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-08-21 ]
[ DOI: DOI: 10.22034/14.65.49 ]

**جدول ۷- مقایسه میانگین تأثیر سطوح مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد بر صفات ریختی جداکشت گره گیاه انسولین در آزمایش دوم**

| تیمارها | درصد شاخه‌زایی | تعداد شاخه | تعداد برگ | ارتفاع اندام هوایی (سانتی‌متر) | وزن تر اندام هوایی (گرم) | قطر ساقه (میلی‌متر) | درصد ریشه‌زایی | طول ریشه (سانتی‌متر) | وزن تر ریشه (گرم) | قطر ریشه (میلی‌متر) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| NAA0 BA0 | T* | T* | T* | T* | T* | T* | T* | T* | T* | **T*** |
| NAA0 BA1 | ۷۲/۲۲$^{ab}$ | ۱/۷۸$^{a}$ | ۲/۶۷$^{e}$ | ۶$^{e}$ | ۲/۱۲$^{c}$ | ۳/۰۲$^{e}$ | ۴۴/۴۴$^{c}$ | ۱۰/۳۳$^{d}$ | ۱/۵۹$^{f}$ | **۱/۰۷$^{c}$** |
| NAA0 BA2 | ۳۸/۳۳$^{c}$ | ۱/۳۳$^{b}$ | ۳/۳۳$^{e}$ | ۵/۳۳$^{e}$ | ۰/۹۸$^{e}$ | ۳/۵۰$^{cd}$ | ۳۸/۸۸$^{c}$ | ۱۲/۳۳$^{c}$ | ۱/۵۵$^{f}$ | **۰/۷۶$^{e}$** |
| NAA1.2 BA0 | ۶۱/۱۱$^{b}$ | ۱$^{c}$ | ۸/۶۷$^{b}$ | ۱۲/۶۶$^{c}$ | ۲/۴۷$^{b}$ | ۳/۷۲$^{ab}$ | ۶۱/۱۱$^{b}$ | ۲۰/۳۳$^{a}$ | ۲/۱۳$^{d}$ | **۱/۵۴$^{a}$** |
| NAA1.2 BA1 | ۷۷/۷۷$^{a}$ | ۱/۸۹$^{a}$ | ۵/۳۳$^{c}$ | ۱۳/۶۶$^{b}$ | ۲/۵۵$^{b}$ | ۳/۳۲$^{d}$ | ۷۷/۷۷$^{a}$ | ۱۹/۶۶$^{a}$ | ۳/۱۵$^{a}$ | **۱/۶۳$^{a}$** |
| NAA1.2 BA2 | ۶۶/۶۶$^{ab}$ | ۱$^{c}$ | ۴/۶۷$^{cd}$ | ۹$^{d}$ | ۱/۴۹$^{d}$ | ۳/۴۶$^{cd}$ | ۶۶/۶۶$^{ab}$ | ۱۸$^{b}$ | ۲/۴۱$^{c}$ | **۰/۹۹$^{cd}$** |
| NAA2.4 BA0 | ۶۶/۶۶$^{ab}$ | ۱$^{c}$ | ۴/۳۳$^{d}$ | ۸/۶۶$^{d}$ | ۱/۶۰$^{d}$ | ۳/۸۱$^{ab}$ | ۶۶/۶۶$^{ab}$ | ۱۷/۶۶$^{b}$ | ۱/۹۶$^{e}$ | **۱/۲۵$^{b}$** |
| NAA2.4 BA1 | ۷۲/۲۲$^{ab}$ | ۱$^{c}$ | ۱۰/۶۷$^{a}$ | ۱۸/۳۳$^{a}$ | ۴/۵۸$^{a}$ | ۳/۹۰$^{a}$ | ۷۲/۲۲$^{ab}$ | ۱۹/۶۶$^{a}$ | ۲/۸۹$^{b}$ | **۰/۷۶$^{e}$** |
| NAA2.4 BA2 | ۶۱/۱۱$^{b}$ | ۱$^{c}$ | ۸$^{b}$ | ۹/۶۶$^{d}$ | ۲/۳۶$^{b}$ | ۳/۶۲$^{b}$ | ۶۶/۶۶$^{ab}$ | ۲۰$^{a}$ | ۲/۷۶$^{b}$ | **۰/۹۴$^{d}$** |

**حروف مشترک در هر ستون نمایانگر عدم تفاوت معنی‌داری است.**

***T**: داده قابل اندازه‌گیری مشاهده نشد.**




**شکل ۲- A: محیط‌کشت حاوی صفر BA و ۲/۴ میلی‌گرم در لیتر NAA، B: محیط‌کشت ۱ BA و ۲/۴ میلی‌گرم در لیتر NAA، C: محیط کشت ۲ BA و ۲/۴ میلی‌گرم لیتر NAA آزمایش دوم**

مقایسه میانگین نتایج به‌دست آمده در آزمایش دوم نشان داد NAA با غلظت ۲/۴ میلی‌گرم در ترکیب با ۱ میلی‌گرم BA بیشترین تأثیر را در رشد اندام هوایی از جمله تعداد برگ، ارتفاع، وزن تر و قطر ساقه داشته و بالاترین میزان وزن تر ریشه، قطر ریشه و طول ریشه در محیط‌کشت ۱/۲ میلی‌گرم NAA به همراه ۱ میلی‌گرم BA مشاهده شد که طول ریشه اختلاف معنی‌داری با غلظت ۲/۴ میلی‌گرم NAA ندارد که نشان می‌دهد با افزایش غلظت هورمون NAA از مقدار ۱/۲ به ۲/۴ میلی‌گرم رشد ریشه به همان نسبت افزایش نیافته و رشد ریشه ثابت مانده است. جداکشت‌های تحت تأثیر غلظت بالای اکسین و سایتوکینین کالوس‌زایی را نشان دادند. همچنین نتایج شاخه‌زایی نشان می‌دهد غلظت پایین سایتوکینین اثر معنی‌داری داشته و بیشترین درصد شاخه‌زایی و تعداد شاخه در تیمار ۱ میلی‌گرم BA حاصل شد که تأکیدی بر نقش مؤثر اکسین و

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-08-21 ]
[ DOI: DOI: 10.22034/14.65.49 ]

**جدول ۸- مقایسه میانگین تأثیر سطوح مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد بر رنگیزه‌های فتوسنتزی جداکشت گره گیاه انسولین در آزمایش دوم**

| تیمارها | کلروفیل a | کلروفیل b | کلروفیل کل | کاروتنوئید کل |
|---|---|---|---|---|
| | (میلی‌گرم بر گرم وزن تر) | | | |
| | T* | T* | T* | T* |
| NAA0 BA0 | ۱۴/۳۶$^{d}$ | ۴/۳۹$^{f}$ | ۱۸/۷۵$^{g}$ | ۶/۳۶$^{b}$ |
| NAA0 BA1 | ۱۸/۵۹$^{c}$ | ۵/۶۸$^{e}$ | ۲۴/۲۷$^{f}$ | ۵/۶۵$^{c}$ |
| NAA0 BA2 | ۱۹/۹۸$^{a}$ | ۹/۰۷$^{b}$ | ۲۹/۰۵$^{b}$ | ۶/۶۰$^{a}$ |
| NAA1.2 BA0 | ۱۹/۲۱$^{b}$ | ۸/۹۲$^{b}$ | ۲۸/۱۴$^{c}$ | ۶/۸۱$^{a}$ |
| NAA1.2 BA1 | ۱۴/۷۴$^{d}$ | ۴/۱۳$^{g}$ | ۱۸/۸۷$^{g}$ | ۵/۰۲$^{d}$ |
| NAA1.2 BA2 | ۱۹/۰۶$^{b}$ | ۸/۶۱$^{c}$ | ۲۷/۶۶$^{d}$ | ۶/۲۵$^{b}$ |
| NAA2.4 BA0 | ۱۹/۹۹$^{a}$ | ۱۰/۴۹$^{a}$ | ۳۰/۴۸$^{a}$ | ۵/۸۰$^{c}$ |
| NAA2.4 BA1 | ۱۹/۳۹$^{b}$ | ۷/۰۷$^{d}$ | ۲۶/۴۶$^{e}$ | ۶/۷۹$^{a}$ |

**حروف مشترک در هر ستون نمایانگر عدم تفاوت معنی‌داری است.**

***T**: **داده قابل اندازه‌گیری مشاهده نشد.**

سایتوکینین در تحریک تقسیم سلولی دارد و در القای شاخه‌زایی مستقیم و غیرمستقیم بسیار مؤثر است (Jafari Najaf-Abadi and Hamidoghli, 2009).

نتایج حاصل از مقایسه میانگین اثر تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی NAA و BA بر رنگیزه‌های فتوسنتزی نشان داد (جدول ۸) که بیشترین میزان کلروفیل a، b و کل در محیط‌کشت حاوی ۲/۴ میلی‌گرم NAA و ۱ میلی‌گرم BA به‌دست‌آمده است. همچنین در رابطه با کاروتنوئید کل، بالاترین مقدار در تیمار ۱/۲ میلی‌گرم NAA به همراه ۱ میلی‌گرم BA است که اختلاف معنی‌داری به‌ترتیب با تیمارهای حاوی ۱/۲ میلی‌گرم NAA بدون BA و ۲/۴ میلی‌گرم NAA با ۲ میلی‌گرم BA نداشت. بررسی داده‌ها نشان می‌دهد رشد بالاتر و سبزینگی اندام هوایی با شاخص کلروفیل رابطه مستقیم داشته و با افزایش رشد میزان کلروفیل‌ها نیز افزایش می‌یابد. سایتوکینین باعث تقسیم سلولی، حفظ پروتئین‌ها و کلروفیل می‌شود که استفاده از غلظت مناسب می‌تواند تأثیر بهتر و بیشتری بر رشد گیاه داشته باشد، درنتیجه کاربرد بهینه تنظیم‌کننده رشد BA می‌تواند گیاهچه با کیفیت بالا به‌دست آورد. باززایی و رشد گیاه به‌طورمعمول تحت تأثیر میزان اکسین و سایتوکینین قرار می‌گیرد. مطالعات انجام‌شده توسط Siddiqui و همکاران (۲۰۱۹) نشان داد محیط‌کشت MS حاوی ۰/۵ میلی‌گرم BA همراه با ۰/۱ میلی‌گرم NAA بهترین تیمار برای القای شاخه از جداکشت گره است. به‌طورکلی اکسین مسئول حمل کربوهیدرات‌ها و سایر مواد مغذی به سمت ریشه‌ها است و این فعالیت باعث تحریک تقسیم و طویل‌شدن سلول‌ها و به دنبال آن تولید و تحریک تراکم ریشه‌زایی می‌گردد (Zhang *et al.*, 2010). برای افزایش تکثیر و پرآوری مناسب استفاده از BA با غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر به همراه ۲/۴ میلی‌گرم NAA توانست محیط‌کشت مناسبی برای تکثیر جداکشت گره باشد که این می‌تواند به دلیل تقسیم سلولی مناسب در این ترکیب هورمونی باشد که سبب جذب آب، مواد کربوهیدراتی و معدنی به مقدار لازم شده است.

## نتیجه‌گیری

در این پژوهش سعی بر این بود بهترین محیط‌کشت با غلظت‌های مختلف اکسین (NAA) و سایتوکینین (BA) به‌صورت فاکتوریل برای تکثیر گیاه انسولین در ایران تحت شرایط درون شیشه معرفی شود. طبق نتایج به‌دست آمده،

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-08-21 ]

[ DOI: DOI: 10.22034/14.65.49 ]

تیمارهای ترکیبی ۲/۴ میلی‌گرم NAA به همراه ۱ میلی‌گرم BA (آزمایش دوم)، سپس ۰/۶ میلی‌گرم NAA به‌تنهایی (آزمایش اول) بیشترین اثر را در درصد شاخه‌زایی، القای رشد اندام هوایی و درصد ریشه‌زایی این گیاه داشت. نتایج تحقیق نشان داد این گیاه به مقدار کمتری از هورمون سایتوکینین (BA) نیاز دارد و غلظت‌های اعمال‌شده در آزمایش اول اثر مثبتی بر رشد گیاهچه نداشت و رشد اندام هوایی کاهش یافت. همچنین رشد ریشه با افزایش غلظت NAA به سطح ۲/۴ میلی‌گرم در لیتر تغییر نکرد و گیاه وارد مرحله کالوس‌زایی گردید. افزایش رشد ریشه در گیاه انسولین بسیار اهمیت دارد چرا که می‌تواند به‌طور مؤثری برای ریزازدیادی درون شیشه مورد استفاده قرار گیرد و منجر به رشد اندام هوایی گردد. اعمال غلظت‌های پایین‌تر سایتوکینین بر جداکشت گره و اعمال هورمون‌های اکسین بیشتر بر روی ریشه‌زایی جهت تکثیر درون شیشه این گیاه توصیه می‌گردد.

## منابع


Abdelmageed, A. H. A., Faridah, Q. Z., Norhana, F. M. A., Julia, A. A., & Kadir, M. A. (2011). Micropropagation of *Eltingera elatior* by using axillary bud explants. *Journal of Medical Plants Research*, *5*, 4465-4469.

Bakrudeen, A. A. A. & Arun, K. R. (2009). In vitro propagation of monocot (*Costus pictus* D. don)-an antidiabetic medicinal plant. *Journal of Agricultural Technology*, *5*, 361-369.

Cesar, P., Silverio Garcia, L., & Janet, A. (2017). Enhancement of saponins and flavonols by micropropagation of *Agave salmiana*. *Industrial Crops and Products*, *105*(1), 225-230. doi:10.1016/j.indcrop.2017.05.014

Dacasin, B., Liquido, H., Maglaqui, B., Origenes, M., Santiago, A., & Devanadera, B. (2023). Evaluation of ipil-ipil (*Leucaena leucocephala*) seed gum as co-encapsulaying agent for targeted and controlled delivery of powdered insulin plant (*Chamaecostus cuspidatus*). *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, *12*(4), e6149. doi: https://doi.org/10.55251/jmbfs.6149

Dobranszki, J. & Drienyovszki, N. M. (2014). Cytokinin-induced changes in the chlorophyll content and fluorescence of in vitro apple leaves. *Journal of Plant Physiology*, *171*(16), 1472-1478. doi: 10.1016/j.jplph.2014.06.015

Faisal, M., Ahmad, N., Anis, M., Alatar, A., & Gahtan, A. (2018). Auxin -cytokinin synergism in vitro for producing genetically stable plants of *Ruta graveolens* using shoot tip meristems. *Saudi Journal of Biological Sciences*, *25*(2), 273-277. doi: 10.1016/j.sjbs.2017.09.009

Hegde, P. K., Rao, H. A., & Rao, P. N. (2014). A review on Insulin plant (*Costus igneus* Nak). *Pharmacognosy Review*, *8*(15), 67-72. doi: 10.4103/0973-7847.125536

Jafari Najaf-Abadi, A. & Hamidoghli, Y. (2009). Micropropagation of thronless trailing blackberry (*Rubus* sp.) by axiallary bud explants. *Australian Journal of Crop Science*, *3*(4), 191-194.

Jariteh, M., Vatankhah, E., Hosseini, A., & Vafadar, M. (2020). The optimization of tissue culture and phytochemical study of insulin plant (*Costus pictus* D. Don). *Iranian Journal of Plant Biology*, *12*(1), 23-36. doi:10.22108/IJPB.2020.119122.1173

Jena, S., Ray, A., Sahoo, A., Sahoo, S., Dash, B., Kar, B., & Nayak, S. (2020). Rapid plant regeneration in industrially important *Curcuma zedoaria* revealing genetic and biochemical fdelity of the regenerants. *3 Biotech*, *10*, 17. doi: 10.1007/s13205-019-2009-9

Jun -jie, Z., Yue -sheng, Y., Meng -fei, I., Shuqi, L., Yi, T., & Hanbin, C. (2017). An efficient micropropagation protocol for direct organogenesis from leaf explants of an economically valuable plant, drumstick (*Moringa oleifera*). *Industrial Crops and Products*, *103*, 59-63. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.03.028

Lichtenthaler, H. K. & Wellbum, A. R. (1983). Determination of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochemistry Society Transcends*, *11*, 591-592. http://dx.doi.org/10.1042/bst0110591

Mohanty, S., Panda, M. K., Sahoo, S., & Nayak, S. (2011). Micropropagation of *Zingiber rubens* and assessment of genetic stability through RAPD and ISSR markers. *Biologia Plantarum*, *55*(1), 16-20. https://doi.org/10.1007/s10535-011-0002-1

Murashige, T. & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bio assays with Tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, *15*(3), 473-497. https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x

Nofal, E. M. S., Sayed, S. S., & Hassan, H. H. M. (2022). Protocol for in vitro mass production of Nephrolepisexaltata Schott. *Applied Ecology and Environmental Research*, *20*(4), 3021-3032. doi:10.15666/aeer/2004_30213032

Ochoa-Villarreal, M., Howat, S., Hong, S., Jang, M. O., Jin, Y. W., Lee, E. K., & Loake, G. J. (2016). Plant cell culture strategies for the production of natural products. *Biochemistry and Molecular Biology Reports*, *49*(3), 149-158. doi: 10.5483/BMBRep.2016.49.3.264

Philip Robinson, J., John Britto, S., & Balakrishnsn, V. (2009). Micropropagation of *Costus speciosus* (Koem.ex.retz) Sm., an antidiabetic plant by using explants of pseudostems. *Botany Research International*, *2*(3), 182-185.


[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-08-21 ]

[ DOI: DOI: 10.22034/14.65.49 ]

Punyarani, K. & Sharma, J. G. (2012). Micropropagation and microrhizome induction in *Costus pictus* D. Don using in vitro and ex vitro nodal segments as explant. *Notulae Scientia Biologicae*, *4*, 72-78. doi: https://doi.org/10.15835/nsb427303

Sari, D. I., Suwirmen, S., & Nasir, N. (2015). Pengaruh konsentrasi thidiazuron (TDZ) dan arang aktif pada sub kultur tunas pisang kepok hijau (*Musa paradisiaca* L.). *Journal of Science and Technology*, *4*(3), 280-289. https://doi.org/10.22487/25411969.2015.v4.i3.5133

Shinde, S., Surwade, S., & Sharma, R. (2020). *Costus ignus*: Insulin plant and it's preparations as remedial approach for diabetes mellitus. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, *13*(4), 1551-58. doi: 10.13040/IJPSR.0975-8232.13(4).1551-58

Siddiqui, S., Thomas, T., & Khan, Sh. (2019). Standardization of an efficient protocol for in vitro micropropagation of *Centella asiatica* L. an important medicinal plant. *Pharmaceutical and Bioscience Journal*, *7*(4), 22-26. https://doi.org/10.20510/ukjpb/7/i4/185561

Sulakshana, G. & Sabitha Rani, A. (2016). Standardization of micropropagation from nodal segments of *Costus pictus* an anti-diabetic plant. *International Journal of Current Research*, *8*(8), 36680-36684.

Zhang, L., Jiarong, L., Hogan, S., Chung, H., Gregorg, E., & Zhou, W. K. (2010). Inhibitory effect of rasberries on starch digestive enzyme and their antioxidant properties and phenolic composition. *Food Chemistry*, *11*(9), 592-599. doi:10.1016/j.foodchem.2009.06.063

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-08-21 ]

[ DOI: DOI: 10.22034/14.65.49 ]

# The effect of different concentrations of auxin and cytokinin on the *in-vitro* propagation of Insulin plant (*Chamaecostus cuspidatus* Nak)

**Hajar Motamedi Sharak[1], Azizollah Kheiry[1*], Mohsen Sanikhani[1], Nayer Mohammadkhani[2]**

**[1] Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Zanjan University, Zanjan, Iran**
**[2] Shahid Bakeri High Education Center of Miandoab, Urmia University, Urmia, Iran**
**(Received: 2024/04/30, Accepted: 2024/07/22)**

**Abstract**

The anti-diabetic medicinal plant of *Chamaecostus cuspidatus* Nak is an important medicinal plant due to having an extensive range of bioactivities, including anti-diabetes, anti-cancer and anti-inflammatory. This research investigates the effects of different concentrations of growth regulators, namely NAA and BA, on nodal explants in two separate experiments on plant micropropagation. This experiment was conducted using a factorial in a completely randomized design (CRD). The Hormonal concentrations in the first experiment include treatments of BA (0, 2, 4 and 6 mg/L$^{-1}$) with NAA (0, 0.3 and 0.6 mg/L). The results of the first experiment led to the design of the second experiment with optimal concentrations. The second experiment included BA (0, 1, 2 mg/L$^{-1}$) with NAA (0, 1.2, 2.4 mg/L$^{-1}$) in MS culture medium. The results of the first experiment showed that the highest Percentage of shoot induction, number of leaves, plant height, shoot fresh weight, Percentage of root induction, root fresh weight, root diameter and photosynthetic pigments among different treatments related to zero BA treatment with 0.6 mg/L NAA and The lowest value corresponds to the control. The results of the second experiment showed that the culture medium containing 2.4 mg/L of NAA along with 1 mg/L of BA had the greatest effect on seedling growth and shoot growth. The highest root length (20.33 cm) was obtained in the medium under treatment with 1.2 mg/L of NAA with zero and 1 mg/L BA and 2.4 mg/L of NAA with 1 and 2 mg/L BA. Additionally, the index of chlorophylls showed a direct relationship with the growth of aerial organs and proper propagation, so that the amount of chlorophylls increased with the growth of the plant (1 mg/L BA with 2.4 mg/L NAA). The present study demonstrated that the plant requires a small amount of the hormone BA (1 mg/L) for enhanced shoot growth. On the other hand, increasing the amount of NAA from 1.2 mg/L to 2.4 mg/L did not show a significant difference in root growth, and at a concentration of 2.4 mg/L, the plant exhibited callus formation.

**Keywords:** BA, Medicinal plant, Micropropagation, NAA, Plant growth regulator, Plant tissue culture

Corresponding author, Email: kheiry@znu.ac.ir

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-08-21 ]

[ DOI: DOI: 10.22034/14.65.49 ]