

بهبود ریزازدیادی و ازدیاد اقاچیا (*Robinia pseudoacasia L.*) با استفاده از تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی و عصاره جلبک قهوه‌ای آسکوفیلوم (*Ascophyllum nodosum*)

بهزاد کاویانی^{۱*}، ناصر نگهدار^۲ و داود هاشم‌آبادی^۱

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۹/۲۳؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱۱/۲۴)

چکیده

تحقیق حاضر به منظور بررسی اثر عصاره جلبک قهوه‌ای آسکوفیلوم (*Ascophyllum nodosum*) بر رشد درخت زینتی اقاچیا (*Robinia pseudoacasia L.*)، صورت گرفت. تکثیر کلونی درون‌شیشه‌ای (*in vitro*) و برون‌شیشه‌ای (*ex vitro*) به ترتیب با استفاده از محورهای جنینی و بذرها به عنوان ریزنمونه‌ها به دست آمد. عوامل تأثیرگذار بر روی تولید ریشه و شاخه اقاچیا با مقایسه تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی - نفتالن استیک اسید (NAA) و ۶- بنزیل آمینوپورین (BA) و محیط‌های کشت موراشیگ و اسکوک (MS) و محیط کشت گیاهان چوبی (WPM) در شرایط درون‌شیشه‌ای، هم‌چنین بسترهای کشت (شن، پرلیت، کمپوست و کوکوپیت) با نسبت‌های مختلف و عصاره جلبک قهوه‌ای آسکوفیلوم در شرایط طبیعی بررسی شدند. هر دوی NAA و BA در غلظت‌های ۰، ۰/۵، ۱ و ۱/۵ میلی‌گرم بر لیتر استفاده شدند. غلظت‌های استفاده شده از عصاره آسکوفیلوم نیز ۰، ۱۰۰۰، ۲۰۰۰ و ۳۰۰۰ بودند. ترکیب بهینه تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی برای القای بیشینه ارتفاع گیاه، تعداد سرشاخه، تعداد گره، تعداد ریشه، طول ریشه، تعداد برگ، وزن خشک و وزن تر در شرایط درون‌شیشه‌ای ۱ میلی‌گرم بر لیتر NAA و ۱ میلی‌گرم بر لیتر BA در محیط MS بود. غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر عصاره آسکوفیلوم باعث القای بیشینه ارتفاع گیاه، تعداد گره، طول طویل‌ترین ریشه، تعداد برگ، وزن خشک و وزن تر شد. مناسب‌ترین بقای گیاهچه‌ها در شرایط طبیعی در هنگام کشت در بستر کشت حاوی شن، پرلیت و کمپوست به نسبت ۱:۱:۱ مشاهده شد. حدود ۷۵ درصد از گیاهچه‌های تکثیر شده و ۹۰ درصد گیاهچه‌های ریزازدیادی شده به‌طور موفقیت‌آمیزی سازگار شدند. گیاهچه‌های باززایی شده از نظر مورفولوژیکی با گیاهان مادر یکسان بودند. پژوهش حاضر، تکثیر زیاد شاخه، نرخ بالای ریشه‌زایی ساقه و ارتقای برخی ویژگی‌های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی اقاچیا را در صورت کاربرد تیمارهای بهینه نشان داد.

واژه‌های کلیدی: لگومینوزه، کشت بافت، اقاچیا، سیاه، تکثیر گیاه، رویان‌های بذر، جوانه‌زنی بذر، بستر کشت، جلبک قهوه‌ای

۱. استادیاران گروه علوم باغبانی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت

۲. کارشناس ارشد علوم باغبانی، مؤسسه تحقیقات علوم کشاورزی و بیوتکنولوژی هیرکان، آمل

*. مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: b.kaviani@yahoo.com

مقدمه

اقاقیا (*Robinia pseudoacasia* L.) متعلق به خانواده نخود (*Fabaceae*) یک درخت پروانه‌آسا (*Papilionaceae*) است و به‌خاطر ارزش تجاری و زینتی‌اش حائز اهمیت است. افاقیا یک گیاه با ارزش برای فضای سبز و پارک‌ها در تمام فصول است. جنس *Robinia* حدود ۱۰ گونه دارد که بومی جنوب شرقی ایالات متحده است (۵۰) که از بین آنها *R. pseudoacasia* تنها درخت دارای ارزش اقتصادی است و به‌طور وسیعی در سراسر جهان کشت می‌شود (۲۷). این گونه دارای چوب سخت است و می‌تواند در خاک‌های فقیر با کمبود نیتروژن به‌خوبی رشد کند و برای جنگل‌کاری مناسب است (۵). افاقیا برای کنترل فرسایش و تولید انرژی نیز کشت می‌شود. این گونه می‌تواند نیتروژن مولکولی (اتمسفری) را تثبیت کند و حاصلخیزی خاک را تقویت نماید (۵۰).

تکثیر مرسوم گیاهی به‌وسیله قلمه، پیوند و ریشه رونده، برای جواب‌گویی به نیازهای مزرعه‌ای در مقیاس بزرگ، خیلی آهسته است، هم‌چنین *R. pseudoacasia* خواب خارجی دارد و پوشش بذرش نسبت به آب نسبتاً غیر قابل نفوذ است. ریزازدیادی، به‌عنوان یک گزینه مناسب برای روش‌های مرسوم تکثیر گیاهی، توجه زیادی را به خود جلب کرده است، به‌طوری‌که یک روش مؤثر برای تولید سریع گیاهان و یک رویکرد برای به حداقل رساندن تنوع سوماکلونال بین گیاهان باززایی شده می‌باشد، هم‌چنین یک فن بسیار مفید برای تکثیر غیر جنسی در بسیاری از گونه‌ها به‌خصوص گیاهان زینتی است (۲۴) برخی از روش‌ها برای ریزازدیادی افاقیا ارائه شده‌اند (۲۶ و ۲۸). چندین عامل مانند تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی، نوع ریزنمونه و گیاه، نوع محیط کشت و شرایط محیطی می‌توانند ریزازدیادی درون شیشه‌ای را تحت‌تأثیر قرار دهند. تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی، مانند علائمی برای تحریک، جلوگیری یا تنظیم رشد در برنامه‌های رشدی گیاهان عمل می‌کنند. سیتوکینین‌ها،

معمولاً در فرایند ریزازدیادی، برای تحریک و تکثیر شاخه جانبی استفاده می‌شوند، اما غلظت‌های بهینه آنها از گونه‌ای به گونه دیگر متفاوت هستند و باید به‌صورت دقیقی برای هر گونه تعریف شوند. برخی مطالعات، اثر مثبت BAP و BA را به‌عنوان منبع سیتوکینین‌ها در محیط کشت *R. pseudoacasia* نشان دادند (۲۶ و ۵۰). ریشه‌زایی یک مرحله بحرانی برای موفقیت در ریزازدیادی است. اکسین‌ها، جوانه‌زنی، القای ریشه‌زایی و رشد نهال بذری را در بیشتر گونه‌ها تحریک می‌کنند. برخی مطالعات نقش NAA، IBA و 2,4-D را به‌عنوان اکسین‌های مناسب در کشت بافت *R. pseudoacasia* نشان دادند (۲۷ و ۵۰). ریزازدیادی با استفاده از ریزنمونه‌های محورهای جنینی، بذرها و جوانه‌های راسی و جانبی در مقایسه با سایر ریزنمونه‌ها، به‌دلیل پایداری ژنتیکی بیشتر، تنوع سوماکلونال کمتر و هم‌چنین عدم نیاز به غلظت‌های زیاد سیتوکینین‌ها برای رشد جوانه‌های جانبی، ساده‌تر و قابل اعتمادتر است (۲۴).

کشت‌های بدون خاک به‌مدت چند دهه برای تولید بیشتر با هزینه کمتر به‌طور موفقیت‌آمیزی مورد استفاده قرار گرفته است. بسترهای کشتی مانند کوکوپیت و کمپوست، به‌دلیل سبک و ارزان بودن و تجزیه آسان‌تر توسط میکروارگانیسم‌ها، سال‌هاست که در باغبانی مورد استفاده قرار می‌گیرند (۱۷ و ۴۷). این ترکیبات، ساختار مناسب با زهکشی خوب و هوادهی مناسبی دارند. بنابراین جستجو و استفاده از ترکیبات بومی ارزان‌تر به‌عنوان مواد جایگزین پیت، مورد نظر است. خواص فیزیکی ترکیبات مناسب برای رشد بهتر و تغذیه معدنی در *R. pseudoacasia* باید مورد بررسی قرار گیرد. افاقیا می‌تواند به‌طور موفقیت‌آمیزی در خاک‌هایی با زهکشی، تهویه و pH مناسب رشد کند. خاک باید غنی از ماده آلی باشد و رطوبت کافی را برای رشد مناسب حفظ کند. هم‌چنین بازده حداکثری به‌وسیله استفاده از نسبت مناسبی از کربن، نیتروژن، منگنز، منیزیم، روی، مس، آهن، فسفر و

پتاسیم به دست می آید (۳). در سال‌های اخیر نگرانی‌های اکولوژیکی و محیطی فزاینده‌ای در برابر استفاده از پیت به وجود آمده است (۴۹). برخی مطالعات نشان دادند که پیت می‌تواند به وسیله انواع متنوعی از کمپوست‌ها بدون هیچ اثر منفی بر روی گیاهان جایگزین شود (۴۹).

جلبک قهوه‌ای آسکوفیلوم رشد را در گیاهان، به‌ویژه گیاهان مناطق معتدله تحریک می‌کند. این جلبک، مهم‌ترین جلبک تجاری، به‌عنوان اصلاح‌کننده خاک برای بهبود رشد گیاهی در گونه‌های زراعی و باغی استفاده شده است (۲۳). عصاره‌های تجاری حاصل از جلبک قهوه‌ای، منابع خوبی از کود هستند. تولیدات استخراج شده از آسکوفیلوم، به‌صورت مایع و پودر، برای اهداف کشت گیاهان باغی و زراعی مورد استفاده قرار می‌گیرند (۲۳). عصاره آسکوفیلوم به‌عنوان یک محرک رشد گیاهی عمل می‌کند. عصاره‌های حاصل از آسکوفیلوم، جوانه‌زنی بذر، قدرت نهال بذر، طول‌شدن نوک ریشه و رشد ساقه را در بعضی از گونه‌ها تحریک می‌کند (۲۳). جایاراج و همکاران (۲۵) نشان دادند که عصاره آسکوفیلوم، بیماری قارچ برگی را در هویج در مقایسه با گیاهان شاهد کمی کاهش می‌دهد. ریزازدیادی موفقیت‌آمیز چند گونه با استفاده از محیط‌های کشت مختلف همراه با عصاره آسکوفیلوم گزارش شده است (۱۲ و ۲۳). گزارش راجع به ریزازدیادی درون‌شیشه‌ای و تکثیر طبیعی افاقیا به‌ویژه با استفاده از عصاره‌های حاصل از جلبک قهوه‌ای آسکوفیلوم محدود است. بنابراین اهداف مطالعه حاضر، تعیین اثر NAA و BA، محیط‌های کشت (MS) و محیط کشت گیاهان چوبی) و عصاره حاصل از جلبک قهوه‌ای آسکوفیلوم (*Ascophyllum nodosum*) بر بهبود ریزازدیادی درون‌شیشه‌ای و تکثیر طبیعی افاقیا (*R. pseudoacasia* L.) بودند.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و ضدعفونی

ریزنمونه‌های بذر از گیاهان ۱۵ ساله افاقیا (*Robinia pseudoacasia* L.)

رشد یافته در یک گلخانه در حومه شهر آمل جمع‌آوری شدند. بعد از برداشتن پوسته، بذرها در هیپوکلریت سدیم ۲۰ درصد (حجم به حجم) همراه با چند قطره تویین-۲۰ به مدت ۱۵ دقیقه ضدعفونی شدند. تویین به‌منظور افزایش سطح تماس ریزنمونه و هیپوکلریت سدیم به‌کار گرفته شد. بعد از ضدعفونی، بذرها ۳ تا ۵ بار با آب مقطر استریل شده، شستشو شدند. محورهای جنینی با طول ۱ - ۰/۵ سانتی‌متر از لپه‌ها جدا شده و به‌عنوان ریزنمونه مورد استفاده قرار گرفتند.

محیط‌های کشت و تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی

برای تعیین اثر نوع محیط کشت، ریزنمونه‌ها در محیط کشت موراشیگ و اسکوک (MS) (۳۶) و محیط کشت گیاهان چوبی (WPM) (۳۲ و ۳۳) غنی شده با ۳۰ گرم در لیتر سوکروز و ۰/۸ درصد پودر آگار کشت شدند. برای مقایسه اثر تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی از غلظت‌های ۰، ۰/۵، ۱ و ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر نفتالن استیک اسید (NAA) و بنزیل آدنین (BA) در هر دو محیط MS و WPM استفاده شد. اسیدیته (pH) محیط‌های کشت قبل از اتوکلاو در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱/۲ اتمسفر به مدت ۱۵ دقیقه، روی ۵/۷ تنظیم گردید. کشت‌ها در یک اتاقک رشد با دمای 20 ± 2 درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۸۰ - ۷۰ درصد، نور ۸۰ میکرومول بر مترمربع در ثانیه و دوره نوری ۱۲ ساعته قرار داده شدند.

اندازه‌گیری ویژگی‌های گیاهچه‌های رشد یافته در محیط کشت

شاخص‌های مورد اندازه‌گیری در گیاهان رشد یافته در شرایط درون‌شیشه‌ای، بعد از ۳۰ روز شامل ارتفاع گیاه، تعداد ساقه، تعداد گره، تعداد ریشه، طول ریشه، تعداد برگ، وزن تر و وزن خشک بودند. برای تعیین وزن تر گیاهان، آنها بلافاصله بعد از خارج شدن از محیط کشت، به‌وسیله یک ترازوی دیجیتال وزن شدند. بعد از تعیین وزن تر، گیاهان در آون با دمای ۷۵ درجه

نتایج

اثر NAA و BA و نوع محیط کشت بر خصوصیات رشد

در تحقیق حاضر، اثر غلظت‌های مختلف NAA و BA، هم‌چنین نوع محیط‌های کشت (MS و WPM) بر روی اصلاح ریزازدیادی افاقیا مورد مطالعه قرار گرفت. داده‌های حاصل نشان دادند که تفاوت‌های معنی‌داری در ارتباط با اثر غلظت‌های مختلف NAA و BA و اثر متقابل این دو تنظیم‌کننده رشد بر روی شاخص‌های اندازه‌گیری شده، وجود دارند (جدول ۱ و ۲- شکل ۱). گیاهان ریزازدیادی شده به شرایط طبیعی سازگار شده و به گیاهان کامل و سالم تبدیل شدند. این گیاهان هیچ تنوع مورفولوژیکی قابل توجهی را نسبت به یکدیگر و نسبت به گیاهان مادری نشان ندادند.

تجزیه داده‌ها نشان داد که اثر غلظت‌های مختلف NAA و BA، محیط‌های کشت و اثرات متقابل محیط کشت و BA، محیط کشت و NAA و BA بر روی ارتفاع گیاه در سطح ۰/۰۵ درصد معنی‌دار بودند (جدول ۱). محیط کشت MS، ارتفاع گیاه (۳/۴۷ سانتی‌متر) را نسبت به محیط کشت WPM (۲/۷۲ سانتی‌متر) بیشتر القا کرد. محیط کشت MS حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر BA و ۱ میلی‌گرم در لیتر NAA، بیشترین ارتفاع گیاه (۶/۵۱ سانتی‌متر) را نشان داد (جدول ۲). محیط کشت MS حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر BA با القای ارتفاع گیاه به میزان ۵/۸۷ سانتی‌متر نیز یک محیط کشت مناسب تشخیص داده شده و اختلاف آن با شاهد معنی‌دار بود. کمترین ارتفاع گیاه (۰/۹۳ و ۱/۱۶ سانتی‌متر) در محیط کشت بدون تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی حاصل شد (جدول ۲). مقایسه بین غلظت‌های مختلف NAA و BA نشان داد که ۱ میلی‌گرم در لیتر BA با القای ۵/۰۳ سانتی‌متر و ۱ میلی‌گرم در لیتر NAA با القای ۳/۵۹ سانتی‌متر، به ترتیب بیشترین و کمترین اثر را بر روی ارتفاع داشتند (جدول ۲).

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر غلظت‌های مختلف NAA و BA، محیط‌های کشت و اثرات متقابل محیط کشت و BA، محیط کشت و NAA و BA بر روی تعداد

سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت خشک شدند و وزن خشک به‌وسیله یک ترازوی دیجیتال تعیین شد.

بسترهای کشت و عصاره‌های حاصل از جلبک قهوه‌ای آسکوفیلوم

در آزمایش دوم و برای بررسی اثر بسترهای کشت و عصاره‌های جلبک آسکوفیلوم، گیاهچه‌های ۳۰ روزه رشد یافته در محیط کشت MS به بسترهای کشت مختلف (شن، ۱/۳ شن + ۱/۳ پرلیت + ۱/۳ کمپوست، ۱/۳ شن + ۱/۴ پرلیت + ۱/۴ کمپوست و ۱/۴ شن + ۱/۴ پرلیت + ۱/۴ کمپوست + ۱/۴ کوکوپیت) و غلظت‌های ۰، ۱۰۰۰، ۲۰۰۰ و ۳۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر عصاره جلبک آسکوفیلوم منتقل شدند.

اندازه‌گیری ویژگی‌های رشدی گیاهان رشد یافته در شرایط طبیعی

شاخص‌های طبیعی شامل ارتفاع گیاه، تعداد گره، طول طویل‌ترین ریشه، تعداد برگ، وزن خشک، وزن تر و بقای گیاهچه‌ها بعد از ۳۰ روز محاسبه شدند. بعد از تعیین وزن تر، گیاهان در آون با دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت خشک شدند و وزن خشک به‌وسیله یک ترازوی دیجیتال تعیین شد.

طرح آماری و تجزیه و تحلیل داده‌ها

یک طرح بلوک کامل تصادفی (Randomized Complete Block Design) برای همه آزمایش‌ها مورد استفاده قرار گرفت و آزمایش‌ها سه بار تکرار شد. تعداد ۵ ریزنمونه در هر ظرف شیشه‌ای (حاوی ۲۵ میلی‌لیتر محیط کشت) کشت شدند و هر تیمار شامل ۷ ظرف بود. بعد از ۳۰ روز از شروع آزمایش‌ها، داده‌ها ثبت شدند و مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. تجزیه واریانس (ANOVA) با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS 16 و MSTAT-C انجام شد و میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۰/۰۵ درصد مقایسه شدند.

جدول ۱. تجزیه واریانس اثر بسترهای کشت مختلف و غلظت‌های مختلف BA و NAA بر روی تعداد شاخه، وزن تر، وزن خشک، تعداد برگ، تعداد گره، ارتفاع گیاه، تعداد ریشه و طول ریشه در افاقیا (*Robinia pseudoacasia* L.)

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات						
		تعداد شاخه	وزن تر	وزن خشک	تعداد برگ	تعداد گره	ارتفاع گیاه	تعداد ریشه
بسترهای کشت (M)	۱	۲/۷۳۳**	۱/۶۱۴**	۲/۷۳۳**	۱/۵۰**	۲۹/۰۴۰**	۱۳/۸۰۰**	۱۴/۲۶۰**
بنزیل آدنین (B)	۳	۲۹/۳۵۳**	۷/۲۴۱**	۲۹/۳۵۳**	۱۵/۲۹۶**	۶۸/۲۳۰**	۵۹/۹۰۷**	۱۲۴/۱۲۱**
نفتالین استیک اسید (N)	۳	۰/۲۷۲ ^{ns}	۰/۴۱۰**	۰/۲۷۳ ^{ns}	۵/۳۲۰*	۴/۹۷۳**	۳/۷۲۲**	۱۶/۱۷۷**
M × B	۳	۰/۵۰۴**	۰/۴۱۷**	۰/۵۰۴**	۲/۵۳۶**	۲/۵۳۳**	۳/۱۴۰**	۷/۵۹۳**
M × N	۳	۰/۹۸۴**	۰/۱۰۸**	۰/۹۸۴**	۴/۵۶۴ ^{ns}	۰/۸۳۰*	۰/۹۴۲**	۵/۷۶۰**
B × N	۹	۰/۳۱۰**	۰/۱۹۳**	۰/۳۱۰**	۱/۴۳۹**	۱/۹۸۲**	۱/۵۸۰**	۸/۱۹۵**
M × B × N	۹	۰/۸۶۸**	۰/۰۲۱ ^{ns}	۰/۸۶۸**	۲/۷۷۷ ^{ns}	۰/۲۹۶ ^{ns}	۰/۱۸۰ ^{ns}	۱/۰۵۶ ^{ns}
خطا	۶۲	۰/۱۰۶	۰/۰۱۴	۰/۱۰۶	۰/۶۵۲	۰/۲۶۸	۰/۱۱۳	۰/۶۲۰
ضریب تغییرات (%)	-	۱۵/۰۷۴	۱۱/۴۵۶	۱۵/۰۷۴	۲۱/۰۴۵	۱۱/۸۸۰	۱۰/۸۷۷	۱۳/۲۹۱

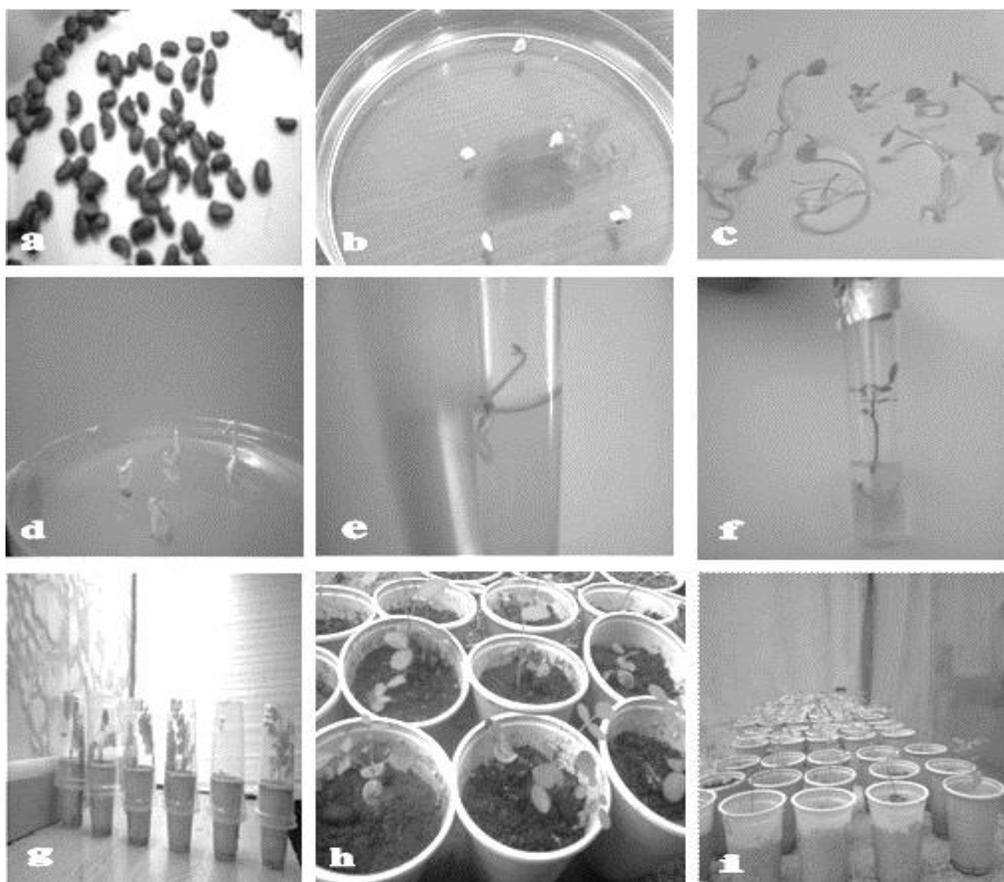
*: معنی‌دار در سطح ۱٪، **: معنی‌دار در سطح ۰٫۵٪، ^{ns}: غیر معنی‌دار

شاخه‌ها معنی‌دار بودند (p = 0.01) (جدول ۱). ریزنمونه‌های کشت شده در محیط کشت MS، تعداد شاخه بیشتری (۲/۳۳) شاخه در گیاه) نسبت به محیط کشت WPM (۱/۹۹) شاخه در گیاه) تولید کردند. مقایسه میانگین اثر غلظت‌های مختلف BA و NAA و همچنین محیط‌های کشت MS و WPM نشان داد که محیط کشت MS حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر BA و ۱ میلی‌گرم در لیتر NAA، بیشترین تعداد شاخه (۴/۸۶) را تحریک کرد (جدول ۲). این تعداد نسبت به تعداد شاخه در گیاهان شاهد (۰/۶) بسیار بیشتر بود. محیط کشت MS حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر BA با ۳/۸۸ شاخه در هر گیاه، همچنین محیط حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر BA و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA با ۳/۷۳ شاخه در هر گیاه نیز محیط‌های مناسبی بودند.

تجزیه داده‌ها نشان داد که اثر غلظت‌های مختلف BA، محیط‌های کشت و اثرات متقابل محیط کشت و BA، محیط کشت و NAA و BA و NAA بر روی تعداد برگ در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بودند. اما اثر غلظت‌های مختلف NAA بر روی تعداد برگ در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). محیط کشت MS تعداد برگ بیشتری در هر

تجزیه داده‌ها نشان داد که اثر غلظت‌های مختلف BA، NAA، محیط کشت و اثرات متقابل محیط کشت و BA، محیط کشت و NAA و BA و NAA بر روی تعداد گره در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بودند (جدول ۱). داده‌های حاصل آشکار کردند که تفاوت‌هایی در مورد اثر غلظت‌های مختلف شاخه‌ها معنی‌دار بودند (p = 0.01) (جدول ۱). ریزنمونه‌های کشت شده در محیط کشت MS، تعداد شاخه بیشتری (۲/۳۳) شاخه در گیاه) نسبت به محیط کشت WPM (۱/۹۹) شاخه در گیاه) تولید کردند. مقایسه میانگین اثر غلظت‌های مختلف BA و NAA و همچنین محیط‌های کشت MS و WPM نشان داد که محیط کشت MS حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر BA و ۱ میلی‌گرم در لیتر NAA، بیشترین تعداد شاخه (۴/۸۶) را تحریک کرد (جدول ۲). این تعداد نسبت به تعداد شاخه در گیاهان شاهد (۰/۶) بسیار بیشتر بود. محیط کشت MS حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر BA با ۳/۸۸ شاخه در هر گیاه، همچنین محیط حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر BA و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA با ۳/۷۳ شاخه در هر گیاه نیز محیط‌های مناسبی بودند.

تجزیه داده‌ها نشان داد که اثر غلظت‌های مختلف BA، NAA، محیط کشت و اثرات متقابل محیط کشت و BA، محیط کشت و NAA و BA و NAA بر روی تعداد گره در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بودند (جدول ۱). داده‌های حاصل آشکار کردند که تفاوت‌هایی در مورد اثر غلظت‌های مختلف



شکل ۱. مراحل ریزازدیادی در افاقیا (*Robinia pseudoacacia* L.). (a) بذرها، (b) بذرها، (c) بذرها، (d) بذرها، (e) بذرها، (f) بذرها، (g) بذرها، (h) بذرها، (i) بذرها

کشت و BA و اثر متقابل BA و NAA در سطح ۱ درصد معنی دار بودند (جدول ۱). طول ریشه در گیاهان رشد یافته در محیط کشت MS، بلندتر از گیاهان رشد یافته در محیط کشت WPM بود. طول ریشه در محیط کشت حاوی ۱ میلی گرم در لیتر BA و ۱ میلی گرم در لیتر NAA بیشترین بود (۶/۳۰ سانتی متر در هر گیاه) (جدول ۲). این مقدار از شاهد خیلی بهتر و تفاوت آن معنی دار بود (۱/۸ سانتی متر در هر گیاه). طول ریشه در محیط کشت MS حاوی ۱ میلی گرم در لیتر BA (۵/۶۶ در هر گیاه) نیز در مقایسه با سایر تیمارها مناسب تشخیص داده شد (جدول ۲).

گیاه (۴/۲۰) نسبت به محیط کشت WPM (۳/۴۰) برگ در هر گیاه) تولید کرد. محیط کشت MS حاوی ۱ میلی گرم در لیتر BA و ۱ میلی گرم در لیتر NAA، بیشترین تعداد گره (۷/۴۰) برگ در هر گیاه) را القا کرد (جدول ۲). محیط کشت MS حاوی ۱ میلی گرم در لیتر BA با القای ۶/۶۰ برگ در هر گیاه، نیز محیط مناسبی بود. این تعداد برگ در مقایسه با تعداد برگ در گیاه شاهد (۲/۲۰) بیشتر بود (جدول ۲).

تحلیل آماری نشان داد که اثر محیط کشت و اثر متقابل محیط کشت و NAA بر روی طول ریشه، در سطح ۵ درصد معنی دار بودند. هم چنین اثر BA، NAA، اثر متقابل محیط

جدول ۲. مقایسه میانگین اثر محیطی کشت مختلف و غلظت‌های مختلف BA و NAA بر روی تعداد شاخه، وزن تر، وزن خشک، تعداد برگ، ارتفاع گره، تعداد ریشه و طول ریشه در هر گیاه افاقیا (*Robinia pseudoacasia L.*)

طول ریشه (سانتی‌متر)	تعداد ریشه	ارتفاع گیاه (سانتی‌متر)		تعداد گره	تعداد برگ	وزن تر (گرم)		تعداد شاخه	تیمارها
		تعداد شاخه	وزن خشک (گرم)						
۳/۸۵ ^b ± ۰/۲	۵۴/۵ ^b ± ۰/۴	۷/۷۲ ± ۰/۲	۳/۸ ^b ± ۰/۳	۳/۹ ^b ± ۰/۲	۱/۹۹ ^b ± ۰/۱	۰/۸۳ ^b ± ۰/۰۷	۱/۹۹ ^b ± ۰/۱	WPM (M1)	
۳/۷۹ ^a ± ۰/۲	۶/۳۱ ^a ± ۰/۴	۳/۴۷ ^a ± ۰/۲	۴/۹ ^a ± ۰/۳	۴/۷ ^a ± ۰/۳	۲/۳۳ ^a ± ۰/۱	۰/۸۳ ^b ± ۰/۰۵	۲/۳۳ ^a ± ۰/۱	MS (M2)	
۲/۳۴ ^d ± ۰/۱	۳/۶۶ ^c ± ۰/۲	۱/۳۳ ^d ± ۰/۰۸	۲/۳ ^d ± ۰/۱	۲/۳ ^d ± ۰/۱	۰/۹۸ ^d ± ۰/۰۷	۰/۴۰ ^d ± ۰/۰۲	۰/۹۸ ^d ± ۰/۰۷	شاهد (B1)	
۳/۴۴ ^c ± ۰/۲	۹/۰۸ ^b ± ۰/۶	۲/۰۷ ^c ± ۰/۱	۴/۰ ^c ± ۰/۲	۳/۶ ^c ± ۰/۲	۱/۶۳ ^c ± ۰/۱	۰/۹۲ ^c ± ۰/۰۶	۱/۶۳ ^c ± ۰/۱	۰/۵ mg l ⁻¹ BA (B2)	
۵/۱۷ ^a ± ۰/۳	۵/۶۳ ^a ± ۰/۳	۵/۰۳ ^a ± ۰/۳	۶/۳ ^a ± ۰/۳	۵/۷ ^a ± ۰/۳	۳/۵۳ ^a ± ۰/۲	۱/۸۳ ^a ± ۰/۱	۳/۵۳ ^a ± ۰/۲	۱ mg l ⁻¹ BA (B3)	
۳/۸۳ ^b ± ۰/۲	۵/۳۳ ^b ± ۰/۳	۳/۴۲ ^b ± ۰/۲	۴/۶ ^b ± ۰/۲	۴/۰ ^b ± ۰/۲	۲/۵ ^b ± ۰/۱	۱/۱۶ ^b ± ۰/۰۶	۲/۵ ^b ± ۰/۱	۱/۵ mg l ⁻¹ BA (B4)	
۳/۱۷ ^c ± ۰/۱	۵/۰۸ ^c ± ۰/۲	۲/۶۴ ^c ± ۰/۱	۳/۸ ^c ± ۰/۲	۳/۶ ^b ± ۰/۲	۲/۰ ^b ± ۰/۱	۰/۹۱ ^c ± ۰/۰۵	۲/۰ ^b ± ۰/۱	شاهد (N1)	
۳/۶۱ ^b ± ۰/۱	۵/۹۱ ^b ± ۰/۳	۲/۹۹ ^b ± ۰/۱	۴/۱ ^c ± ۰/۲	۳/۶ ^b ± ۰/۱	۲/۲ ^{ab} ± ۰/۱	۱/۱ ^b ± ۰/۰۵	۲/۲ ^{ab} ± ۰/۱	۵ mg l ⁻¹ NAA (N2)	
۴/۱۷ ^a ± ۰/۲	۷/۰۴ ^a ± ۰/۳	۳/۵۹ ^a ± ۰/۱	۴/۹ ^a ± ۰/۲	۴/۳ ^a ± ۰/۲	۲/۱۳ ^{ab} ± ۰/۱	۱/۲۲ ^b ± ۰/۰۶	۲/۱۳ ^{ab} ± ۰/۱	۱ mg l ⁻¹ NAA (N3)	
۳/۸۰ ^b ± ۰/۱	۵/۶۶ ^b ± ۰/۲	۳/۱۵ ^b ± ۰/۱	۴/۵ ^b ± ۰/۲	۳/۸ ^b ± ۰/۱	۲/۲۸ ^a ± ۰/۱	۱/۰ ^b ± ۰/۰۵	۲/۲۸ ^a ± ۰/۱	۱/۵ mg l ⁻¹ NAA (N4)	
۲/۴۵ ^g ± ۰/۱	۳/۸۳ ^g ± ۰/۱	۱/۱۶ ^h ± ۰/۰۵	۱/۸ ^h ± ۰/۰۸	۲/۳ ^g ± ۰/۱	۰/۸ ^g ± ۰/۰۳	۰/۳۸ ^h ± ۰/۰۱	۰/۸ ^g ± ۰/۰۳	M1 × B1	
۳/۳۹ ^f ± ۰/۱	۵/۴۱ ^e ± ۰/۲	۲/۶ ^e ± ۰/۱	۳/۸ ^f ± ۰/۱	۳/۱ ^f ± ۰/۱	۱/۵۵ ^f ± ۰/۰۶	۰/۹ ^e ± ۰/۰۳	۱/۵۵ ^f ± ۰/۰۶	M1 × B2	
۴/۶۸ ^b ± ۰/۱	۷/۹۱ ^b ± ۰/۳	۴/۲ ^b ± ۰/۱	۵/۳ ^b ± ۰/۲	۴/۷ ^b ± ۰/۱	۳/۱۸ ^b ± ۰/۱	۱/۴۳ ^b ± ۰/۰۵	۳/۱۸ ^b ± ۰/۱	M1 × B3	
۳/۸۳ ^d ± ۰/۱	۵/۰ ^f ± ۰/۲	۲/۹۲ ^d ± ۰/۰۵	۴/۱ ^e ± ۰/۱	۳/۵ ^d ± ۰/۱	۲/۴۸ ^d ± ۰/۰۳	۰/۹۸ ^d ± ۰/۰۳	۲/۴۸ ^d ± ۰/۰۳	M1 × B4	
۲/۲ ^h ± ۰/۰۸	۳/۵ ^h ± ۰/۱	۱/۳۱ ^g ± ۰/۰۵	۲/۷ ^g ± ۰/۱	۲/۲ ^h ± ۰/۰۸	۱/۲ ^e ± ۰/۰۴	۰/۴۳ ^g ± ۰/۰۱	۱/۲ ^e ± ۰/۰۴	M2 × B1	
۳/۴۶ ^e ± ۰/۱	۵/۸۳ ^c ± ۰/۲	۲/۸ ^e ± ۰/۱	۴/۳ ^d ± ۰/۱	۳/۴ ^e ± ۰/۱	۱/۷ ^e ± ۰/۰۶	۰/۹۴ ^e ± ۰/۰۳	۱/۷ ^e ± ۰/۰۶	M2 × B2	
۵/۶۶ ^e ± ۰/۷	۱۰/۲۵ ^g ± ۰/۷	۵/۸۷ ^a ± ۰/۲	۷/۳ ^a ± ۰/۲	۶/۶ ^e ± ۰/۲	۳/۸ ^a ± ۰/۱	۲/۰ ^a ± ۰/۰۷	۳/۸ ^a ± ۰/۱	M2 × B3	
۳/۸۴ ^e ± ۰/۱	۵/۶۶ ^d ± ۰/۱	۳/۹۲ ^c ± ۰/۱	۵/۲ ^c ± ۰/۱	۴/۵ ^c ± ۰/۱	۲/۵ ^{ab} ± ۰/۰۸	۱/۳۵ ^c ± ۰/۰۴	۲/۵ ^{ab} ± ۰/۰۸	M2 × B4	
۳/۱۴ ^h ± ۰/۱	۴/۸۳ ^h ± ۰/۱	۲/۲۱ ^h ± ۰/۰۷	۳/۱ ^h ± ۰/۱	۳/۳ ^e ± ۰/۱	۱/۸۴ ^g ± ۰/۰۶	۰/۸۵ ^h ± ۰/۰۲	۱/۸۴ ^g ± ۰/۰۶	M1 × N1	
۳/۴۷ ^f ± ۰/۱	۵/۱۶ ^g ± ۰/۱	۲/۴۳ ^e ± ۰/۰۷	۳/۴ ^g ± ۰/۱	۲/۹ ^a ± ۰/۰۹	۲/۲۸ ^c ± ۰/۰۷	۰/۸۲ ^g ± ۰/۰۲	۲/۲۸ ^c ± ۰/۰۷	M1 × N2	

ادامه جدول ۲.

طول ریشه (سانتی‌متر)	تعداد ریشه	ارتفاع گیاه (سانتی‌متر)	تعداد گره	تعداد برگ	وزن تر		تعداد شاخه	تیمارها
					(گرم)	(گرم)		
۳/۸۶ ^c ± ۰/۱	۶/۲۵ ^c ± ۰/۱	۳/۱۷ ^d ± ۰/۰۹	۴/۳۰ ^e ± ۰/۱	۳/۸۰ ^a ± ۰/۱	۱/۷۱ ^h ± ۰/۰۵	۱/۰۷ ^d ± ۰/۰۳	۱/۷۱ ^h ± ۰/۰۵	M ₁ × N ₃
۳/۸۷ ^b ± ۰/۱	۵/۹۱ ^d ± ۰/۱	۳/۰۵ ^f ± ۰/۰۹	۴/۲۰ ^f ± ۰/۱	۳/۶۰ ^a ± ۰/۱	۲/۱۵ ^e ± ۰/۰۶	۱/۰۵ ^f ± ۰/۰۳	۲/۱۵ ^e ± ۰/۰۶	M ₁ × N ₄
۳/۲۱ ^g ± ۰/۰۹	۵/۳۳ ^f ± ۰/۱	۳/۰۸ ^e ± ۰/۰۹	۴/۵۰ ^d ± ۰/۱	۳/۹۰ ^a ± ۰/۱	۲/۲۳ ^d ± ۰/۰۶	۱/۰۶ ^e ± ۰/۰۳	۲/۲۳ ^d ± ۰/۰۶	M ₂ × N ₁
۳/۷۵ ^d ± ۰/۱	۶/۶۶ ^b ± ۰/۱	۳/۵۶ ^b ± ۰/۱	۴/۸۰ ^b ± ۰/۱	۴/۳۰ ^a ± ۰/۱	۲/۱۳ ^f ± ۰/۰۶	۱/۲۰ ^b ± ۰/۰۳	۲/۱۳ ^f ± ۰/۰۶	M ₂ × N ₂
۴/۴۸ ^a ± ۰/۱	۷/۸۳ ^a ± ۰/۲	۴/۰۲ ^a ± ۰/۱	۵/۴۰ ^a ± ۰/۱	۴/۸۰ ^a ± ۰/۱	۲/۵۵ ^a ± ۰/۰۷	۱/۳۶ ^b ± ۰/۰۳	۲/۵۵ ^a ± ۰/۰۷	M ₂ × N ₃
۳/۷۳ ^e ± ۰/۱	۵/۴۱ ^e ± ۰/۱	۳/۲۴ ^c ± ۰/۰۸	۴/۸۰ ^c ± ۰/۱	۳/۹۰ ^a ± ۰/۱	۲/۴۱ ^b ± ۰/۰۶	۱/۱۱ ^c ± ۰/۰۳	۲/۴۱ ^b ± ۰/۰۶	M ₂ × N ₄
۱/۸۳ ^o ± ۰/۰۴	۳/۳۳ ^m ± ۰/۰۸	۰/۹۳ ^p ± ۰/۰۲	۱/۶۷ ^p ± ۰/۰۴	۲/۸۰ ^l ± ۰/۰۷	۰/۸۰ ⁿ ± ۰/۰۲	۰/۳۰ ⁱ ± ۰/۰۰۷	۰/۸۰ ⁿ ± ۰/۰۲	B ₁ × N ₁
۲/۰۱ ⁿ ± ۰/۰۵	۳/۳۳ ^m ± ۰/۰۸	۱/۱۴ ^o ± ۰/۰۲	۲/۱۰ ^o ± ۰/۰۵	۱/۸۰ ^p ± ۰/۰۴	۰/۹۳ ^m ± ۰/۰۲	۰/۳۹ ^j ± ۰/۰۱	۰/۹۳ ^m ± ۰/۰۲	B ₁ × N ₂
۲/۸۳ ^l ± ۰/۰۶	۴/۱۶ ^k ± ۰/۱	۱/۲۹ ^m ± ۰/۰۳	۲/۵۰ ⁿ ± ۰/۰۶	۲/۲۰ ^o ± ۰/۰۵	۱/۱۰ ^o ± ۰/۰۲	۰/۴۰ ⁱ ± ۰/۰۱	۱/۱۰ ^o ± ۰/۰۲	B ₁ × N ₃
۲/۸۳ ^l ± ۰/۰۶	۳/۸۳ ^l ± ۰/۰۹	۱/۵۸ ^m ± ۰/۰۳	۲/۹۰ ^m ± ۰/۰۷	۲/۳۸ ⁿ ± ۰/۰۵	۱/۱۰ ^o ± ۰/۰۲	۰/۵۴ ^k ± ۰/۰۱	۱/۱۰ ^o ± ۰/۰۲	B ₁ × N ₄
۲/۶۳ ^m ± ۰/۰۶	۴/۶۶ ^j ± ۰/۱	۲/۰۳ ^l ± ۰/۰۴	۳/۶۰ ^l ± ۰/۰۸	۲/۸۰ ^m ± ۰/۰۶	۱/۴۳ ^k ± ۰/۰۳	۰/۷۱ ^h ± ۰/۰۱	۱/۴۳ ^k ± ۰/۰۳	B ₂ × N ₁
۳/۵۱ ^k ± ۰/۰۸	۵/۶۶ ^j ± ۰/۱	۲/۶۱ ^k ± ۰/۰۶	۳/۸۰ ^k ± ۰/۰۸	۳/۱۰ ^k ± ۰/۰۷	۱/۶۳ ^l ± ۰/۰۳	۰/۸۷ ^h ± ۰/۰۲	۱/۶۳ ^l ± ۰/۰۳	B ₂ × N ₂
۳/۷۰ ^b ± ۰/۰۸	۶/۱۰ ^e ± ۰/۱	۳/۰۹ ^l ± ۰/۰۶	۴/۲۰ ^l ± ۰/۰۴	۳/۴۰ ^j ± ۰/۰۷	۱/۴۳ ^k ± ۰/۰۳	۱/۰۵ ^c ± ۰/۰۲	۱/۴۳ ^k ± ۰/۰۳	B ₂ × N ₃
۳/۸۶ ^g ± ۰/۰۸	۶/۱۶ ^d ± ۰/۱	۳/۰۹ ^l ± ۰/۰۶	۴/۶۰ ^g ± ۰/۱	۳/۷۰ ^b ± ۰/۰۸	۲/۰۳ ^l ± ۰/۰۴	۱/۰۵ ^c ± ۰/۰۲	۲/۰۳ ^l ± ۰/۰۴	B ₂ × N ₄
۴/۴۸ ^d ± ۰/۰۹	۷/۱۶ ^c ± ۰/۱	۴/۴۰ ^c ± ۰/۰۹	۵/۷۰ ^c ± ۰/۱	۵/۱۰ ^c ± ۰/۱	۳/۳۰ ^d ± ۰/۰۷	۱/۵۱ ^b ± ۰/۰۳	۳/۳۰ ^d ± ۰/۰۷	B ₃ × N ₁
۵/۲۸ ^b ± ۰/۱	۹/۶۶ ^b ± ۰/۲	۴/۹۳ ^b ± ۰/۱	۶/۱۰ ^b ± ۰/۱	۵/۵۰ ^b ± ۰/۱	۳/۷۳ ^b ± ۰/۰۷	۱/۶۷ ^b ± ۰/۰۳	۳/۷۳ ^b ± ۰/۰۷	B ₃ × N ₂
۶/۳۰ ^a ± ۰/۱	۱۲/۳۳ ^a ± ۰/۲	۶/۵۱ ^a ± ۰/۱	۸/۰۰ ^a ± ۰/۱	۷/۴۰ ^a ± ۰/۱	۳/۷۷ ^a ± ۰/۰۷	۲/۲۳ ^a ± ۰/۰۴	۳/۷۷ ^a ± ۰/۰۷	B ₃ × N ₃
۴/۶۳ ^e ± ۰/۰۹	۷/۱۶ ^c ± ۰/۱	۴/۲۹ ^d ± ۰/۰۸	۵/۶۰ ^d ± ۰/۱	۴/۸۰ ^d ± ۰/۰۹	۳/۳۳ ^c ± ۰/۰۶	۱/۴۸ ^b ± ۰/۰۳	۳/۳۳ ^c ± ۰/۰۶	B ₃ × N ₄
۳/۷۶ ^h ± ۰/۰۷	۵/۱۶ ^h ± ۰/۱	۳/۲۲ ^h ± ۰/۰۶	۴/۴۰ ^b ± ۰/۰۸	۳/۷۰ ^h ± ۰/۰۷	۲/۶۰ ^f ± ۰/۰۵	۱/۱۰ ^c ± ۰/۰۲	۲/۶۰ ^f ± ۰/۰۵	B ₄ × N ₁
۳/۶۳ ⁱ ± ۰/۰۷	۵/۰۰ ^b ± ۰/۰۹	۳/۳۱ ^g ± ۰/۰۶	۴/۴۰ ^h ± ۰/۰۸	۳/۹۰ ^g ± ۰/۰۷	۲/۵۳ ^g ± ۰/۰۴	۱/۱۳ ^c ± ۰/۰۲	۲/۵۳ ^g ± ۰/۰۴	B ₄ × N ₂
۳/۹۶ ^f ± ۰/۰۷	۵/۶۶ ^f ± ۰/۱	۳/۵۴ ^f ± ۰/۰۶	۴/۸۰ ^f ± ۰/۰۹	۴/۱۰ ^f ± ۰/۰۷	۲/۲۳ ^h ± ۰/۰۴	۱/۱۸ ^c ± ۰/۰۲	۲/۲۳ ^h ± ۰/۰۴	B ₄ × N ₃

ادامه جدول ۲.

طول ریشه (سانتی‌متر)	تعداد ریشه	ارتفاع گیاه (سانتی‌متر)		تعداد گره	تعداد برگ	وزن تر (گرم)		وزن خشک (گرم)	تعداد شاخه	تیمارها
		تعداد	ارتفاع			وزن تر	وزن خشک			
۳/۸۸ ^a ± ۰/۰۷	۵/۵۵ ^b ± ۰/۰۱	۳/۶۳ ^c ± ۰/۰۶	۵/۰۵ ^d ± ۰/۰۹	۴/۳۰ ^e ± ۰/۰۸	۲/۶۶ ^f ± ۰/۰۵	۱/۲۲ ^g ± ۰/۰۲	۲/۶۶ ^h ± ۰/۰۵	B ₄ × N ₄		
۱/۸۳ ^a ± ۰/۰۳	۳/۳۳ ^b ± ۰/۰۶	۰/۸۴ ^c ± ۰/۰۱	۱/۱۰ ^d ± ۰/۰۲	۳/۶۰ ^e ± ۰/۰۶	۰/۶۰ ^f ± ۰/۰۱	۰/۲۲ ^g ± ۰/۰۰۴	۰/۶۰ ^h ± ۰/۰۱	M ₁ × B ₁ × N ₁		
۲/۳۶ ^a ± ۰/۰۴	۳/۶۶ ^b ± ۰/۰۶	۱/۰۸ ^c ± ۰/۰۱	۱/۶۰ ^d ± ۰/۰۲	۱/۶۰ ^e ± ۰/۰۲	۰/۸۳ ^f ± ۰/۰۱	۰/۳۵ ^g ± ۰/۰۰۶	۰/۸۳ ^h ± ۰/۰۱	M ₁ × B ₁ × N ₂		
۲/۶۰ ^a ± ۰/۰۴	۴/۱۰ ^b ± ۰/۰۷	۱/۱۸ ^c ± ۰/۰۲	۲/۰۵ ^d ± ۰/۰۲	۱/۹۰ ^e ± ۰/۰۳	۰/۸۰ ^f ± ۰/۰۱	۰/۴۰ ^g ± ۰/۰۰۷	۰/۸۰ ^h ± ۰/۰۱	M ₁ × B ₁ × N ₃		
۳/۱۰ ^a ± ۰/۰۵	۴/۳۳ ^b ± ۰/۰۷	۱/۶۲ ^c ± ۰/۰۲	۲/۵۰ ^d ± ۰/۰۴	۲/۲۰ ^e ± ۰/۰۲	۰/۹۳ ^f ± ۰/۰۱	۰/۵۵ ^g ± ۰/۰۰۹	۰/۹۳ ^h ± ۰/۰۱	M ₁ × B ₁ × N ₄		
۲/۸۶ ^a ± ۰/۰۵	۴/۶۶ ^b ± ۰/۰۸	۱/۸۳ ^c ± ۰/۰۳	۳/۴۰ ^d ± ۰/۰۵	۲/۴۰ ^e ± ۰/۰۴	۱/۲۶ ^f ± ۰/۰۲	۰/۶۵ ^g ± ۰/۰۱	۱/۲۶ ^h ± ۰/۰۲	M ₁ × B ₂ × N ₁		
۳/۵۰ ^a ± ۰/۰۵	۵/۳۳ ^b ± ۰/۰۹	۲/۲۹ ^c ± ۰/۰۳	۳/۲۰ ^d ± ۰/۰۵	۲/۸۰ ^e ± ۰/۰۴	۱/۴۰ ^f ± ۰/۰۲	۰/۸۸ ^g ± ۰/۰۱	۱/۴۰ ^h ± ۰/۰۲	M ₁ × B ₂ × N ₂		
۳/۶۰ ^a ± ۰/۰۶	۵/۳۳ ^b ± ۰/۰۸	۲/۹۶ ^c ± ۰/۰۴	۴/۰۵ ^d ± ۰/۰۶	۳/۲۰ ^e ± ۰/۰۵	۱/۲۶ ^f ± ۰/۰۲	۱/۰۴ ^g ± ۰/۰۱	۱/۲۶ ^h ± ۰/۰۲	M ₁ × B ₂ × N ₃		
۳/۸۰ ^a ± ۰/۰۶	۶/۳۳ ^b ± ۰/۱	۳/۳۳ ^c ± ۰/۰۵	۴/۸۳ ^d ± ۰/۰۷	۳/۹۰ ^e ± ۰/۰۶	۲/۶۶ ^f ± ۰/۰۳	۱/۱۲ ^g ± ۰/۰۱	۲/۶۶ ^h ± ۰/۰۳	M ₁ × B ₂ × N ₄		
۴/۰۶ ^a ± ۰/۰۶	۶/۳۳ ^b ± ۰/۱	۳/۳۸ ^c ± ۰/۰۵	۴/۲۰ ^d ± ۰/۰۶	۳/۸۰ ^e ± ۰/۰۶	۳/۰۶ ^f ± ۰/۰۴	۱/۱۴ ^g ± ۰/۰۱	۳/۰۶ ^h ± ۰/۰۴	M ₁ × B ₃ × N ₁		
۴/۵۰ ^a ± ۰/۰۷	۷/۳۳ ^b ± ۰/۱	۳/۸۴ ^c ± ۰/۰۵	۴/۹۰ ^d ± ۰/۰۷	۴/۲۰ ^e ± ۰/۰۶	۴/۳۳ ^f ± ۰/۰۶	۱/۲۷ ^g ± ۰/۰۱	۴/۳۳ ^h ± ۰/۰۶	M ₁ × B ₃ × N ₂		
۵/۵۳ ^a ± ۰/۰۸	۱۱/۰۰ ^b ± ۰/۱	۵/۸۳ ^c ± ۰/۰۷	۷/۲۰ ^d ± ۰/۱	۶/۶۰ ^e ± ۰/۱	۲/۶۶ ^f ± ۰/۰۴	۱/۹۶ ^g ± ۰/۰۳	۲/۶۶ ^h ± ۰/۰۴	M ₁ × B ₃ × N ₃		
۴/۶۳ ^a ± ۰/۰۷	۷/۰۰ ^b ± ۰/۱	۳/۹۶ ^c ± ۰/۰۶	۵/۰۵ ^d ± ۰/۰۷	۴/۴۰ ^e ± ۰/۰۶	۲/۶۶ ^f ± ۰/۰۴	۱/۳۶ ^g ± ۰/۰۳	۲/۶۶ ^h ± ۰/۰۴	M ₁ × B ₃ × N ₄		
۴/۰۵ ^a ± ۰/۰۶	۵/۰۵ ^b ± ۰/۰۷	۲/۹۰ ^c ± ۰/۰۴	۴/۰۵ ^d ± ۰/۰۶	۳/۴۰ ^e ± ۰/۰۵	۲/۴۰ ^f ± ۰/۰۳	۰/۹۷ ^g ± ۰/۰۱	۲/۴۰ ^h ± ۰/۰۳	M ₁ × B ₄ × N ₁		
۳/۵۳ ^a ± ۰/۰۵	۴/۳۳ ^b ± ۰/۰۶	۲/۶۲ ^c ± ۰/۰۳	۳/۸۰ ^d ± ۰/۰۵	۳/۸۰ ^e ± ۰/۰۵	۲/۶۶ ^f ± ۰/۰۴	۰/۸۹ ^g ± ۰/۰۱	۲/۶۶ ^h ± ۰/۰۴	M ₁ × B ₄ × N ₂		
۳/۸۳ ^a ± ۰/۰۵	۴/۶۶ ^b ± ۰/۰۶	۲/۸۵ ^c ± ۰/۰۴	۴/۲۰ ^d ± ۰/۰۶	۳/۴۰ ^e ± ۰/۰۵	۲/۸۳ ^f ± ۰/۰۳	۰/۹۳ ^g ± ۰/۰۱	۲/۸۳ ^h ± ۰/۰۳	M ₁ × B ₄ × N ₃		
۴/۰۶ ^a ± ۰/۰۵	۶/۰۰ ^b ± ۰/۰۸	۳/۳۰ ^c ± ۰/۰۴	۴/۶۰ ^d ± ۰/۰۶	۴/۰۵ ^e ± ۰/۰۵	۲/۸۳ ^f ± ۰/۰۳	۱/۱۴ ^g ± ۰/۰۱	۲/۸۳ ^h ± ۰/۰۳	M ₁ × B ₄ × N ₄		
۱/۹۳ ^a ± ۰/۰۲	۳/۳۳ ^b ± ۰/۰۴	۱/۱۳ ^c ± ۰/۰۱	۲/۴۰ ^d ± ۰/۰۳	۲/۰۵ ^e ± ۰/۰۲	۱/۰۰ ^f ± ۰/۰۱	۰/۳۷ ^g ± ۰/۰۰۵	۱/۰۰ ^h ± ۰/۰۱	M ₂ × B ₁ × N ₁		
۱/۶۶ ^a ± ۰/۰۲	۳/۰۰ ^b ± ۰/۰۴	۱/۱۹ ^c ± ۰/۰۱	۲/۶۰ ^d ± ۰/۰۳	۲/۰۵ ^e ± ۰/۰۲	۱/۱۳ ^f ± ۰/۰۱	۰/۳۸ ^g ± ۰/۰۰۵	۱/۱۳ ^h ± ۰/۰۱	M ₂ × B ₁ × N ₂		
۲/۸۶ ^a ± ۰/۰۳	۴/۳۳ ^b ± ۰/۰۶	۱/۳۹ ^c ± ۰/۰۱	۲/۹۰ ^d ± ۰/۰۳	۲/۴۰ ^e ± ۰/۰۳	۱/۴۰ ^f ± ۰/۰۱	۰/۴۱ ^g ± ۰/۰۰۵	۱/۴۰ ^h ± ۰/۰۱	M ₂ × B ₁ × N ₃		
۲/۶۶ ^a ± ۰/۰۳	۳/۳۳ ^b ± ۰/۰۴	۱/۵۴ ^c ± ۰/۰۲	۳/۲۰ ^d ± ۰/۰۴	۲/۵۰ ^e ± ۰/۰۳	۱/۲۶ ^f ± ۰/۰۱	۰/۵۳ ^g ± ۰/۰۰۷	۱/۲۶ ^h ± ۰/۰۱	M ₂ × B ₁ × N ₄		

ادامه جدول ۲.

طول ریشه (سانتی‌متر)	تعداد ریشه	ارتفاع گیاه (سانتی‌متر)	تعداد گره	تعداد برگ	وزن تر (گرم)	وزن خشک (گرم)	تعداد شاخه	تیمارها
۲/۵۰ ^a ± ۰/۰۳	۴/۶۶ ^a ± ۰/۰۶	۲/۲۵ ^a ± ۰/۰۳	۳/۹۰ ^a ± ۰/۰۵	۳/۱۰ ^a ± ۰/۰۴	۱/۶۰ ^a ± ۰/۰۲	۰/۸۶ ^a ± ۰/۰۱	۱/۶۰ ^a ± ۰/۰۲	M ₂ × B ₂ × N ₁
۳/۵۳ ^b ± ۰/۰۴	۶/۱۰۰ ^b ± ۰/۰۸	۲/۹۳ ^b ± ۰/۰۳	۴/۳۰ ^a ± ۰/۰۵	۳/۵۰ ^a ± ۰/۰۴	۱/۸۶ ^b ± ۰/۰۲	۰/۹۵ ^a ± ۰/۰۱	۱/۸۶ ^b ± ۰/۰۲	M ₂ × B ₂ × N ₂
۳/۸۰ ^b ± ۰/۰۵	۶/۶۶ ^b ± ۰/۰۸	۳/۱۶ ^b ± ۰/۰۴	۴/۴۰ ^a ± ۰/۰۵	۳/۵۰ ^a ± ۰/۰۴	۱/۶۰ ^b ± ۰/۰۲	۱/۰۷ ^b ± ۰/۰۱	۱/۶۰ ^b ± ۰/۰۲	M ₂ × B ₂ × N ₃
۴/۰۳ ^b ± ۰/۰۵	۶/۱۰۰ ^b ± ۰/۰۷	۲/۸۶ ^b ± ۰/۰۳	۴/۴۰ ^a ± ۰/۰۵	۳/۵۰ ^a ± ۰/۰۴	۱/۸۰ ^b ± ۰/۰۲	۰/۹۶ ^a ± ۰/۰۱	۱/۸۰ ^b ± ۰/۰۲	M ₂ × B ₂ × N ₄
۴/۹۰ ^c ± ۰/۰۶	۸/۰۰ ^b ± ۰/۱	۵/۴۲ ^b ± ۰/۰۶	۷/۲۰ ^b ± ۰/۰۹	۶/۴۰ ^a ± ۰/۰۸	۳/۵۳ ^b ± ۰/۰۴	۱/۸۹ ^a ± ۰/۰۲	۳/۵۳ ^b ± ۰/۰۴	M ₂ × B ₃ × N ₁
۶/۰۶ ^c ± ۰/۰۷	۱۲/۰۰ ^c ± ۰/۱	۶/۱۲ ^b ± ۰/۰۷	۷/۴۰ ^b ± ۰/۰۹	۶/۸۰ ^a ± ۰/۰۸	۳/۱۳ ^c ± ۰/۰۳	۲/۰۷ ^b ± ۰/۰۲	۳/۱۳ ^c ± ۰/۰۳	M ₂ × B ₃ × N ₂
۷/۰۶ ^c ± ۰/۰۸	۱۳/۶۶ ^c ± ۰/۱	۷/۳۲ ^b ± ۰/۰۹	۸/۸۰ ^b ± ۰/۱	۸/۳۰ ^a ± ۰/۱	۴/۸۶ ^a ± ۰/۰۶	۲/۵۲ ^b ± ۰/۰۳	۴/۹۶ ^a ± ۰/۰۶	M ₂ × B ₃ × N ₃
۴/۶۳ ^b ± ۰/۰۵	۷/۳۳ ^b ± ۰/۰۹	۴/۶۱ ^b ± ۰/۰۵	۶/۱۰ ^a ± ۰/۰۷	۵/۱۳ ^b ± ۰/۰۶	۴/۰۰ ^c ± ۰/۰۴	۱/۶۰ ^b ± ۰/۰۱	۴/۰۰ ^c ± ۰/۰۴	M ₂ × B ₃ × N ₄
۳/۵۳ ^b ± ۰/۰۴	۵/۳۳ ^b ± ۰/۰۶	۳/۵۵ ^b ± ۰/۰۴	۴/۷۰ ^a ± ۰/۰۵	۴/۱۰ ^a ± ۰/۰۵	۲/۸۰ ^b ± ۰/۰۳	۱/۲۲ ^b ± ۰/۰۱	۲/۸۰ ^c ± ۰/۰۳	M ₂ × B ₄ × N ₁
۳/۷۳ ^b ± ۰/۰۴	۵/۶۶ ^b ± ۰/۰۶	۳/۹۹ ^b ± ۰/۰۴	۵/۰۰ ^a ± ۰/۰۶	۴/۷۰ ^a ± ۰/۰۵	۲/۴۰ ^k ± ۰/۰۲	۱/۳۸ ^a ± ۰/۰۱	۲/۴۰ ^b ± ۰/۰۲	M ₂ × B ₄ × N ₂
۴/۲۰ ^a ± ۰/۰۵	۶/۶۶ ^b ± ۰/۰۷	۴/۲۰ ^a ± ۰/۰۵	۵/۵۰ ^a ± ۰/۰۶	۴/۸۰ ^a ± ۰/۰۵	۲/۳۱ ^l ± ۰/۰۲	۱/۴۳ ^b ± ۰/۰۱	۲/۳۱ ^k ± ۰/۰۲	M ₂ × B ₄ × N ₃
۳/۹۰ ^a ± ۰/۰۴	۵/۰۰ ^a ± ۰/۰۵	۳/۹۶ ^b ± ۰/۰۴	۵/۴۰ ^a ± ۰/۰۶	۴/۵۰ ^a ± ۰/۰۵	۲/۶۰ ^l ± ۰/۰۳	۱/۳۵ ^b ± ۰/۰۱	۲/۶۰ ^l ± ۰/۰۳	M ₂ × B ₄ × N ₄

در هر ستون و برای هر عامل به صورت مجزا و اثر متقابل این عوامل، میانگین‌هایی که دارای حروف همسان هستند در سطح احتمال ۵٪ آزمون چند دامنه‌ای LSD تفاوت معنی‌داری ندارند. محیط‌های کشت مختلف، B: غلظت‌های مختلف بنزیل آدنین، N: غلظت‌های مختلف فنلان استیک اسید.

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر غلظت‌های مختلف NAA، BA، محیط‌های کشت و اثرات متقابل محیط کشت و BA، محیط کشت و NAA و BA بر روی تعداد ریشه معنی‌دار بودند ($p = 0.01$) (جدول ۱). تعداد ریشه تولید شده در محیط MS بیشتر از تعداد ریشه تولید شده در محیط WPM بود. بهترین تیمار برای نمو ریشه از نظر تعداد ریشه در گیاه (۱۲/۳۳) مربوط به ریزنمونه‌هایی بود که در معرض ۱ میلی‌گرم در لیتر BA و ۱ میلی‌گرم در لیتر NAA قرار گرفته بودند (جدول ۲). هم‌چنین تعداد بالایی از ریشه‌ها در محیط MS حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر BA (۱۰/۲۵) ریشه در هر گیاه و محیط حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر BA و ۵/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA (۹/۶۶) ریشه در هر گیاه) به‌دست آمد (جدول ۲). کمترین تعداد ریشه (۳/۶۶) در گیاهان شاهد به‌دست آمد.

داده‌های ارائه شده در جدول ۱ نشان می‌دهد که اثر غلظت‌های مختلف NAA، BA، محیط‌های کشت و اثرات متقابل محیط کشت و BA، محیط کشت و NAA بر روی وزن تر و خشک معنی‌دار بودند ($p = 0.01$). محیط کشت MS، وزن تر (۲/۳۳) گرم در هر گیاه) و وزن خشک (۰/۸۳) گرم در هر گیاه) بیشتری را نسبت به محیط WPM (به‌ترتیب ۱/۹۹ و ۰/۷۲) گرم در هر گیاه) تولید کرد. بیشترین وزن تر (۴/۸۶) گرم در هر گیاه) و وزن خشک (۲/۲۳) گرم در هر گیاه) در محیط کشت MS حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر BA و ۱ میلی‌گرم در لیتر NAA به‌دست آمد (جدول ۲). این مقادیر به‌طور آشکاری از وزن تر و خشک شاهد (به‌ترتیب ۰/۶ و ۰/۳) گرم در هر گیاه) بیشتر بودند.

اثر بسترهای کشت و عصاره آسکوفیلوم بر ویژگی‌های رشد
داده‌های حاصل آشکار کردند که تفاوت‌های معنی‌داری در مورد اثر بسترهای مختلف کشت، غلظت‌های مختلف عصاره‌های آسکوفیلوم و تعامل بین این دو عامل بر روی شاخص‌های اندازه‌گیری شده وجود داشتند (جدول ۳ و ۴). گیاهچه‌های تولید شده در محیط‌های کشت به بسترهای کشت

ذکر شده در بالا به‌همراه عصاره آسکوفیلوم منتقل شدند. تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تفاوت‌های معنی‌داری در مورد ارتفاع گیاه بین گیاهان تیمار شده با عصاره آسکوفیلوم و بسترهای کشت و گیاهان شاهد وجود داشت (جدول ۳). تیمار ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر عصاره آسکوفیلوم و بستر کشت ۱/۳ شن + ۱/۳ پرلیت + ۱/۳ کمپوست، ارتفاع گیاه را تا ۱۵/۲۵ سانتی‌متر افزایش داد. این افزایش ارتفاع حدود ۳ برابر ارتفاع گیاهان شاهد (۵/۹۰ سانتی‌متر) بود (جدول ۴).

تجزیه واریانس داده‌ها (ANOVA) نشان داد که تعداد گره به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر بسترهای کشت، تلقیح با عصاره آسکوفیلوم و میان‌کنش بسترهای کشت و تلقیح با عصاره آسکوفیلوم قرار دارد ($p = 0.01$) (جدول ۳). مشاهدات چشمی نشان دادند که تعداد گره در بسترهای کشت ۱/۳ شن + ۱/۳ پرلیت + ۱/۳ کمپوست حاوی ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر عصاره آسکوفیلوم (۲۵/۹۵) نسبت به تیمارهای دیگر بیشتر بود (جدول ۴). تعداد گره‌های به‌دست آمده در این شرایط بیش از ۲ برابر تعداد گره در گیاهان شاهد بود.

تجزیه داده‌ها نشان داد که تعداد برگ به‌صورت معنی‌داری به‌وسیله بسترهای کشت تلقیح شده با عصاره آسکوفیلوم تحت تأثیر قرار گرفت ($p = 0.01$) (جدول ۳). مشاهدات چشمی نشان داد که تعداد برگ در بسترهای کشت ۱/۳ شن + ۱/۳ پرلیت + ۱/۳ کمپوست حاوی ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر عصاره آسکوفیلوم (۲۱/۲۶) حداکثر بود (جدول ۳). تعداد برگ تولید شده در بستر ۱/۳ شن + ۱/۳ پرلیت + ۱/۳ کمپوست حاوی ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر عصاره آسکوفیلوم (۱۷/۳۳) نیز به‌طور آشکاری نسبت به تعداد برگ تولید شده در بسترهای شاهد (۱۱/۴۵) بیشتر بوده و افزایش معنی‌داری نسبت به آن داشتند (جدول ۴).

تجزیه ANOVA نشان داد که طول‌ترین ریشه به‌صورت معنی‌داری تحت تأثیر بسترهای کشت، تلقیح با عصاره آسکوفیلوم و میان‌کنش بسترهای کشت و تلقیح با عصاره آسکوفیلوم قرار گرفت ($p = 0.01$) (جدول ۳). تولید طول‌ترین

جدول ۳. تجزیه واریانس اثر انواع بسترهای کشت و غلظت‌های مختلف عصاره آسکوفیلوم بر روی طول تولیدترین ریشه، ارتفاع گیاه، تعداد گره، تعداد برگ، وزن خشک، وزن تر و درصد بقای اقاچیا (*Robinia pseudoacacia L.*)

منبع تغییرات	درجه آزادی	طول بلندترین ریشه	ارتفاع گیاه	میانگین مربعات			وزن خشک	وزن تر	درصد زنده‌مانی
				تعداد گره	تعداد برگ	تعداد گره			
بسترهای کشت (S)	۳	۱۸/۶۴۰**	۴۰/۹۳۲**	۱۱۴/۶۱۰**	۸۵/۹۹۷**	۱/۵۲۰**	۶/۵۵۰**	۱۹۰۲/۰۸۳**	
<i>Ascophyllum nodosum</i> (A)	۳	۲۵/۳۱۳**	۳۵/۸۶۷**	۹۹/۰۷۸**	۶۹/۱۴۵**	۱/۸۸۱**	۴/۵۹۰**	۱۵۰۷/۶۳۸**	
S × A	۹	۴/۶۰۰**	۲/۴۳۳**	۶/۵۸۲**	۴/۵۵۷ ^{ns}	۰/۱۵۵**	۰/۳۳۰*	۷۹/۸۶۱ ^{ns}	
خطا	۳۲	۰/۸۸۲	۰/۵۷۰	۱/۷۱۸	۲/۳۸۸	۰/۰۲۷	۰/۱۱۷	۴۷/۹۱۶	
کل	۴۷	-	-	-	-	-	-	-	
ضریب تغییرات (%)	-	۹/۰۹۷	۷/۵۷۰	۷/۶۰۶	۱۰/۴۶۵	۹/۴۶۰	۹/۵۳۶	۱۱/۶۵۸	

** معنی‌دار در سطح ۱٪، * معنی‌دار در سطح ۵٪، ns غیر معنی‌دار

عصاره آسکوفیلوم و بستر کشت ۱/۳ شن + ۱/۳ پرلیت + ۱/۳ کمپوست، هم‌چنین ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر عصاره آسکوفیلوم و بستر کشت ۱/۳ شن + ۱/۳ پرلیت + ۱/۳ کمپوست، اثر مناسبی بر روی وزن تر (۴/۹۳ گرم) و وزن خشک (۲/۹۴ گرم) نشان دادند (جدول ۴). تیمارهای ۱/۳ شن + ۱/۳ کوکوپیت + ۱/۳ کمپوست با ۴/۱۸ گرم وزن تر و تلقیح با ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر عصاره آسکوفیلوم با ۴/۴۵ گرم وزن تر، وزن‌های بیشتری را نسبت به شاهد (۳/۱۷ گرم) القا کردند و تفاوت‌ها معنی‌دار بودند (جدول ۴). تیمارهای ۱/۳ شن + ۱/۳ پرلیت + ۱/۳ کمپوست با ۲/۰۵ گرم وزن خشک و تلقیح با ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر عصاره آسکوفیلوم با ۲/۳۱ گرم وزن خشک، وزن‌های بیشتری را نسبت به شاهد (۱/۴۶ گرم) تولید کردند (جدول ۴). اثر میان‌کنش بسترهای کشت و تلقیح با عصاره آسکوفیلوم بر روی درصد زنده‌مانی گیاه معنی‌دار نبود، اما اثر این دو عامل به صورت مجزا معنی‌دار بود (p = 0.01) (جدول ۳). مقایسه تیمارها آشکار کردند که درصد زنده‌مانی گیاه در بستر کشت حاوی ۱/۳ شن + ۱/۳ پرلیت + ۱/۳ کمپوست با ۷۱/۶۷ درصد زنده‌مانی و محیط غنی شده با ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر عصاره آسکوفیلوم با ۷۵ درصد زنده‌مانی نسبت به شاهد بهتر بودند (جدول ۴).

ریشه به‌طور معنی‌داری در بسترهای مختلف کشت حاوی غلظت‌های متفاوت عصاره‌های جلبک آسکوفیلوم متفاوت بود. تولیدترین ریشه زمانی به‌دست آمد که بسترهای غنی شده با ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر عصاره آسکوفیلوم و بستر کشت ۱/۳ شن + ۱/۳ پرلیت + ۱/۳ کمپوست (۱۴/۵۷ سانتی‌متر) برای ریشه‌زایی به‌کار رفتند. ریزنمونه‌های کشت شده بر روی بسترهای حاوی ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر عصاره آسکوفیلوم و بستر کشت ۱/۳ شن + ۱/۳ پرلیت + ۱/۳ کمپوست به‌صورت مجزایی ریشه‌هایی با طول ۱۲/۴۰ و ۱۱/۳۱ سانتی‌متر تولید کردند (جدول ۴) و بنابراین نسبت به شاهد (۸/۶۴ سانتی‌متر) افزایش معنی‌داری داشتند.

جدول ۳ هم‌چنین نشان می‌دهد که بیشترین وزن خشک به‌صورت معنی‌داری به‌وسیله بسترهای کشت، تلقیح با عصاره آسکوفیلوم و تعامل بسترهای کشت و تلقیح با عصاره آسکوفیلوم تحت تأثیر قرار گرفت (p = 0.01) (جدول ۳). داده‌های ارائه شده در جدول ۳ نشان دادند که اثر بسترهای کشت و تلقیح با عصاره آسکوفیلوم بر روی وزن تر در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بودند، اما تعامل بسترهای کشت و تلقیح با عصاره آسکوفیلوم در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار نبود. بسترهای غنی شده با ۳۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر

جدول ۴. مقایسه میانگین اثر انواع بسترهای کشت، غلظت‌های مختلف عصاره آسکوبلیوم و اثر متقابل این دو عامل بر روی طول‌ترین ریشه، ارتفاع گیاه، تعداد گره، تعداد برگ، وزن خشک، وزن تر و درصد بقا در هر گیاه افاقیا (*Robinia pseudoacacia L.*)

زنده‌مانی (درصد)	وزن تر (گرم)	وزن خشک (گرم)	تعداد برگ	تعداد گره	ارتفاع گیاه (سانتی‌متر)	طول بلندترین ریشه (سانتی‌متر)	بستارها
۴۲/۱۶±۰/۲	۲/۶۰±۰/۲	۱/۲۷±۰/۱	۱۱/۲۵±۰/۱	۱۳/۲۰±۰/۱	۵/۹۰±۰/۵	۸/۴۶±۰/۸	شاهد (S ₁)
۷۱/۶۶±۰/۶	۳/۱۳±۰/۳	۲/۰۵±۰/۱	۱۷/۳۰±۰/۱	۱۹/۹۳±۰/۱	۱۱/۵۴±۰/۱	۱۱/۳۱±۰/۱	۱/۳+ ماسه ۱/۳+ پرلیت ۱/۳+ کبوست (S ₂)
۵۴/۱۶±۰/۴	۳/۴۴±۰/۲	۱/۶۷±۰/۱	۱۳/۸۸±۰/۱	۱۶/۳۳±۰/۱	۹/۴۰±۰/۷	۱۰/۱۲±۰/۸	۱/۳+ ماسه ۱/۳+ کبوست (S ₃)
۶۷/۰۵±۰/۵	۲/۱۷±۰/۳	۱/۹۷±۰/۱	۱۶/۵۴±۰/۱	۱۹/۳۵±۰/۱	۱۱/۲۸±۰/۸	۱۱/۲۲±۰/۸	۱/۳+ ماسه ۱/۳+ پرلیت ۱/۳+ کبوست (S ₄)
۵۱/۶۶±۰/۳	۳/۱۷±۰/۲	۱/۳۶±۰/۱	۱۳/۳۳±۰/۱	۱۵/۳۳±۰/۱	۸/۷۳±۰/۲	۹/۲۲±۰/۶	شاهد (A ₁)
۷۵/۰۵±۰/۵	۲/۴۵±۰/۲	۲/۳۱±۰/۱	۱۸/۳۰±۰/۱	۲۱/۲۵±۰/۱	۱۲/۳۸±۰/۸	۱۲/۴۰±۰/۸	1000 mg l ⁻¹ .A. nodosum (A ₂)
۶۰/۰۵±۰/۳	۳/۶۲±۰/۲	۱/۷۳±۰/۱	۱۴/۳۳±۰/۱	۱۷/۳۲±۰/۱	۹/۹۸±۰/۶	۱۰/۲۳±۰/۶	2000 mg l ⁻¹ .A. nodosum (A ₃)
۵۰/۸۳±۰/۲	۳/۱۱±۰/۱	۱/۴۸±۰/۱	۱۳/۲۰±۰/۱	۱۵/۰۰±۰/۸	۸/۷۰±۰/۵	۹/۴۴±۰/۵	3000 mg l ⁻¹ .A. nodosum (A ₄)
۳۳/۳۳±۰/۲	۲/۵۲±۰/۱	۱/۳۰±۰/۱	۱۱/۲۵±۰/۱	۱۳/۲۰±۰/۱	۷/۶۵±۰/۲	۸/۹۶±۰/۳	S ₁ × A ₁
۶۰/۰۰±۰/۳	۳/۲۸±۰/۱	۱/۷۴±۰/۱	۱۴/۱۱±۰/۱	۱۶/۸۵±۰/۱	۹/۶۱±۰/۵	۱۰/۲۶±۰/۵	S ₁ × A ₂
۲۰/۰۰±۰/۲	۲/۵۱±۰/۱	۱/۱۶±۰/۱	۱۱/۲۸±۰/۱	۱۲/۳۳±۰/۱	۷/۱۳±۰/۳	۸/۳۳±۰/۳	S ₁ × A ₃
۳۳/۳۳±۰/۱	۲/۱۰±۰/۱	۰/۸۸±۰/۰۲	۹/۱۵±۰/۲	۱۰/۱۳±۰/۲	۷/۵۷±۰/۳	۷/۰۱±۰/۳	S ₁ × A ₄
۵۶/۶۶±۰/۲	۳/۳۹±۰/۱	۱/۴۹±۰/۱	۱۵/۱۳±۰/۱	۱۶/۱۳±۰/۱	۹/۱۷±۰/۲	۸/۶۴±۰/۳	S ₂ × A ₁
۹۲/۳۳±۰/۲	۵/۵۲±۰/۲	۲/۹۴±۰/۱	۲۲/۸۸±۰/۱	۲۵/۹۵±۰/۱	۱۵/۲۴±۰/۶	۱۴/۵۶±۰/۶	S ₂ × A ₂
۷۷/۳۳±۰/۳	۲/۰۳±۰/۱	۱/۹۸±۰/۱	۱۵/۸۳±۰/۱	۱۹/۳۳±۰/۱	۱۱/۲۴±۰/۴	۱۰/۸۶±۰/۴	S ₂ × A ₃
۶۳/۳۳±۰/۲	۳/۶۰±۰/۱	۱/۸۰±۰/۱	۱۵/۳۱±۰/۱	۱۸/۳۳±۰/۱	۱۰/۵۰±۰/۲	۱۱/۱۸±۰/۲	S ₂ × A ₄
۲۶/۶۶±۰/۱	۳/۶۰±۰/۱	۱/۵۲±۰/۱	۱۲/۲۵±۰/۱	۱۴/۳۵±۰/۱	۸/۳۱±۰/۳	۱۰/۳۴±۰/۳	S ₃ × A ₁
۶۶/۶۶±۰/۲	۲/۰۷±۰/۱	۲/۰۲±۰/۱	۱۶/۷۴±۰/۱	۱۹/۶۳±۰/۱	۱۱/۲۲±۰/۴	۱۲/۱۸±۰/۲	S ₃ × A ₂
۶۰/۰۰±۰/۲	۳/۸۶±۰/۱	۱/۸۲±۰/۱	۱۴/۳۱±۰/۱	۱۸/۲۰±۰/۱	۱۰/۳۴±۰/۳	۹/۳۹±۰/۳	S ₃ × A ₃
۳۳/۳۳±۰/۱	۲/۷۱±۰/۱	۱/۳۵±۰/۱	۱۱/۸۱±۰/۱	۱۳/۵۳±۰/۱	۷/۷۶±۰/۲	۸/۵۵±۰/۲	S ₃ × A ₄
۶۰/۰۰±۰/۲	۳/۶۴±۰/۱	۱/۵۳±۰/۱	۱۴/۶۶±۰/۱	۱۷/۴۷±۰/۱	۹/۸۰±۰/۳	۸/۹۴±۰/۲	S ₄ × A ₁
۸۰/۰۰±۰/۲	۲/۹۳±۰/۱	۲/۵۳±۰/۱	۱۹/۴۶±۰/۱	۲۲/۶۰±۰/۱	۱۳/۲۵±۰/۳	۱۲/۶۱±۰/۳	S ₄ × A ₂
۶۶/۶۶±۰/۲	۲/۱۰±۰/۱	۱/۹۶±۰/۱	۱۵/۴۹±۰/۱	۱۹/۳۳±۰/۱	۱۱/۲۰±۰/۳	۱۲/۳۳±۰/۳	S ₄ × A ₃
۶۳/۳۳±۰/۱	۲/۰۳±۰/۱	۱/۸۸±۰/۱	۱۶/۵۵±۰/۱	۱۸/۰۲±۰/۱	۱۰/۷۰±۰/۳	۱۱/۰۱±۰/۳	S ₄ × A ₄

در هر ستون و برای هر عامل به‌صورت مجزا و اثر متقابل این عوامل، میانگین‌هایی که دارای حروف همسان هستند در سطح احتمال ۵٪ آزمون چند دامنه‌ای LSD تفاوت معنی‌داری ندارند. S: بسترهای مختلف کشت، A: غلظت‌های مختلف عصاره آسکوبلیوم

بحث

اثر محیط کشت

توجه به افاقیا (*R. pseudoacasia*L.) به عنوان یک گونه مناسب برای فضای سبز، معطوف شده است. اولین مرحله در این مطالعات، تولید سریع گیاهان سالم و شبیه به مادر در یک محدوده زمانی کوتاه است. مطالعه حاضر به صورت موفقیت آمیزی یک سیستم تکثیر توده‌ای را برای افاقیا ارائه می‌دهد. در این پژوهش، تفاوت‌های معنی‌داری بین انواع تیمارها شامل محیط‌های کشت MS و WPM، بسترهای کشت، غلظت‌های مختلفی از NAA، BA و عصاره آسکوفیلوم مشاهده شد. محیط کشت مؤثر برای کشت درون‌شیشه‌ای گیاهان چوبی به نوع ریزنمونه، نوع گونه و نوع کشت وابسته است (۳۷). محیط‌های کشت MS و WPM، دو محیط پر استفاده برای تکثیر گیاهان بوته‌ای و چوبی است (۳۲ و ۳۷). در آزمایش‌های حاضر، ریزنمونه‌های کشت شده بر روی هر دو محیط کشت، تفاوت‌های معنی‌داری را در همه شاخص‌های اندازه‌گیری شده بین گیاهچه‌های شاهد و گیاهچه‌های تیمار شده با غلظت‌های مختلف NAA و BA نشان دادند. این تفاوت‌ها در محیط کشت MS، آشکارتر است. میزان نیتروژن و پتاسیم محیط MS تقریباً ۲ تا ۴ برابر بیشتر از محیط WPM هستند (۳۴). احتمالاً افاقیا برای ریزازدیادی موفقیت‌آمیز و مراحل سازگاری، به نیتروژن و پتاسیم بیشتری نیاز دارد. علت دیگر برای این نتایج، تفاوت در ترکیب ریزمغذی‌ها در محیط‌های کشت MS و WPM است که می‌تواند عاملی برای تفاوت‌ها در نرخ ریزازدیادی و سایر ویژگی‌ها باشد. مشابه با مطالعه حاضر، یافته‌های راتور و همکاران (۴۲) بر روی چند گیاه چوبی نشان داد که محیط MS یک محیط مناسب برای ریزازدیادی است. برخلاف یافته‌های ما، چندین گزارش بر روی *Vitis*، *Citrus*، *Ulmus* و *Ficus* برتری محیط WPM را نسبت به MS نشان داد (۱۸، ۳۱، ۳۴، ۳۷ و ۴۶). نتایج مطالعه پاسکوال و فریرا (۳۷) بر روی ریزازدیادی *Ficus carica* L. (یک گیاه چوبی)، تعداد زیادی از شاخه‌ها و رشد مناسب ریشه‌ها و قسمت‌های هوایی را در

حضور محیط کشت WPM غنی‌شده با ۱ میلی‌گرم در لیتر BA و ۱ میلی‌گرم در لیتر NAA نشان داد. اگرچه، هپاسکوی و اسکوی (۲۱) نشان دادند که ریشه‌زایی در محیط MS حاوی ۱/۲ و ۲/۵ میکرومولار NAA موفقیت‌آمیز بود. بورتاکور و همکاران (۷)، چیونگ و پولر (۸) و چند محقق دیگر (۳۸) و (۳۹) محیط MS را برای ریزازدیادی *Cercis Alpina* و *Albizia* (سه گیاه چوبی) و خیلی از گیاهان چوبی دیگر پیشنهاد کردند.

اثر تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی

ریزازدیادی موفقیت‌آمیز افاقیا با حضور ۱ میلی‌گرم در لیتر BA و ۱ میلی‌گرم در لیتر NAA به دست آمد. مطالعات مختلف، مؤثر بودن BA را برای القای شاخه‌زایی نشان دادند (۲۴، ۳۰ و ۳۴). احتمالاً سطوح درون‌زای اکسین و سیتوکینین در افاقیا نسبتاً پایین است، اگرچه این موضوع به بررسی بیشتری نیاز دارد. بروم (۷) و فراگواس و همکاران (۱۸) بیان داشتند که برای القای ریشه‌زایی و رشد بعضی از ارقام *Ficus carica* L. افزودن اکسین به محیط کشت ضرورتی ندارد. برخی از محققان گزارش کردند که NAA یک اکسین مناسب برای ریشه‌زایی درون‌شیشه‌ای است (۲۴ و ۳۴). هلوپیر و همکاران (۲۰) نشان دادند که IBA اکسین مناسب‌تری برای ریشه‌زایی درون‌شیشه‌ای انگور (*Vitis vinifera*) (یک گیاه چوبی) نسبت به NAA است. NAA ریشه‌های زیادی را القا نکرد، اما تولید کالوس کرد (۲۰). در مطالعه‌ای بر روی *Pyrus syrica* (یک گیاه چوبی)، تکثیر موفق شاخه در محیط کشت MS حاوی ۱/۵ تا ۲ میلی‌گرم در لیتر BA نشان داده شد (۴۵). استفاده از BA و NAA (به‌ویژه در غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر) برای ریزازدیادی موفق چند گیاه چوبی توسط برخی از محققان پیشنهاد شده است (۷، ۱۴ و ۴۶). پوجوا (۴۰)، محیط بهینه برای تولید شاخساره را محیط نیچ حاوی ۵/۵ میلی‌گرم بر لیتر BA در شرایط نور کم معرفی کرده است. با توجه به نتایج بی‌جوی (۴)، حضور یک سیتوکینین مانند BAP برای باززایی شاخساره بسیار مؤثر است.

استفاده از BAP با غلظت ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر، سبب گسترش همه جوانه‌ها شد، اما آنها رشد پایینی را نشان دادند. بهترین نتیجه با ۰/۳ میلی‌گرم در لیتر BAP با ۶/۷ شاخساره در واحد پینه به دست آمد.

اثر بستر کشت

بستر کشت، نقش بسیار مؤثری بر روی صفات رویشی مختلف در گیاهان دارد. این نتیجه در مطالعه ما و برخی از محققان نشان داده شده است (۲، ۱۵ و ۳۵). بستر کشت حاوی شن، پرلیت و کمپوست، بستر مناسبی برای افزایش اغلب ویژگی‌های کمی و کیفی گیاه افاقیا بوده است. این بستر هم هوادهی مناسبی دارد، هم جذب آب آن خوب است و هم از مواد معدنی و آلی کافی برای رشد برخوردار است. مناسب بودن این بستر ترکیبی برای رشد گیاهان در برخی مطالعات دیگر نشان داده شد (۲). تولید موفقیت‌آمیز گیاهان گلخانه‌ای و گیاهان رشد یافته در ظروف کشت، بستگی زیادی به خواص فیزیکی و شیمیایی محیط‌های رشد دارد (۱۷ و ۴۷). قبل از تصمیم‌گیری برای تهیه یک محیط کشت نهایی برای یک گیاه خاص، تعدادی از ویژگی‌های بحرانی فیزیکی و شیمیایی حیاتی باید مورد ارزیابی قرار گیرد (۱۷ و ۴۷). در طی ۱۰ سال اخیر، مصرف پیت در باغبانی به صورت قابل توجهی افزایش یافته است و سطح واردات آن ۱۰ برابر شده است (۱۰). محققان پتانسیل گیاهان دارویی و زینتی استفاده شده در سیستم‌های سستی متنوع را مورد مطالعه قرار داده‌اند (۱۳ و ۲۹). انتخاب نوع بستر و اثر آن بر روی رشد رویشی و گل‌دهی در گیاهان، دغدغه‌ای را برای تولیدکنندگان ایجاد کرده است. دلیل اصلی برای افزایش معنی‌دار تعداد و طول برگ در پرلیت این است که این بستر کشت حدود ۳ تا ۴ برابر حجم‌اش آب جذب می‌کند و شامل منافذ کافی برای خروج آب اضافی می‌باشد. بنابراین تهویه خوبی وجود دارد (۱۹). ال- نگر و ال- نشرتی (۱۵) برتری استفاده از بستر حاوی برگ‌های کمپوست شده را برای افزایش وزن تر و خشک گیاه علفی *Hippeastrum vittatum* نشان

دادند. مطالعات ال- نگر و ال- نشرتی (۱۵) در مورد اثر محیط رشد (رس، کمپوستی از برگ‌ها و شن همراه با کمپوست برگ) بر روی رشد گیاه علفی *H. vittatum* آشکار کرد که محیط‌های مختلف، اثر معنی‌داری بر روی اکثر شاخص‌های رشد رویشی داشتند. برخلاف نتایج به دست آمده در آزمایش حاضر، ال- نگر و ال- نشرتی (۱۵) نشان دادند که تفاوت معنی‌داری در تعداد برگ گیاهان به خاطر استفاده از محیط‌های متفاوت رشد وجود ندارد، درحالی‌که تیمارهای کوددهی به صورت معنی‌داری تعداد برگ گیاه را افزایش دادند. مطالعه محگوب و همکاران (۳۵) بر روی پاسخ پیازهای زنبق رشد یافته در خاک شنی به کوددهی نیتروژنی و پتاسیمی نشان داد که ارتفاع گیاه، تعداد برگ، وزن تر و وزن خشک برگ، وقتی که پیازها با سطوح مناسبی از نیتروژن و پتاسیم در بستر خاک شنی کوددهی شده بودند، افزایش یافتند. این یافته‌ها با مطالعات رامش کومار و یادار (۴۱) بر روی گل مریم مشابه هستند. در مجموع، نوع بستر کشت به خاطر کودهای مختلف موجود در آن و سایر عوامل بر روی ویژگی‌های رشدی، مؤثر هستند.

اثر عصاره آسکوفیلوم

عصاره جلبک آسکوفیلوم، شرایط رشدونمو را در افاقیا بهبود بخشید. برخی گزارش‌ها اثر مثبت عصاره‌های آسکوفیلوم را بر روی ویژگی‌های کمی و کیفی و مقاومت به آفات، بیماری‌ها و تنش‌های محیطی بعضی گونه‌ها نشان داده‌اند (۲۳، ۲۵ و ۴۳). تجزیه شیمیایی عصاره‌های آسکوفیلوم نشان داد که آنها به عنوان تنظیم‌کننده‌های رشدی مانند اکسین‌ها، سیتوکینین‌ها و جیبرلین‌ها عمل می‌کنند (۹ و ۲۲). آنها هم‌چنین یک منبع مواد مغذی، کربوهیدرات‌ها و اسیدهای آمینه هستند (۲۳). چندین مطالعه، اثر مثبت تولیدات آسکوفیلوم را بر روی رشدونمو گیاهی در شرایط کشت بافت نشان داده‌اند (۱۱ و ۲۳). عصاره آسکوفیلوم، رشد ریشه و ساقه را در *Arabidopsis thaliana* (۴۳)، جو (۴۴) و *Kappaphycus* (۲۳) تحریک کرد. مطالعه حاضر نشان داد که استفاده از عصاره آسکوفیلوم، مراحل

آنها باعث افزایش تعداد برگ در چغندر قند (*Beta vulgaris*) می‌گردد.

نتیجه گیری

پژوهش حاضر، تکثیر زیاد شاخه و نرخ بالای ریشه‌زایی ساقه را بعد از تیمار ریزنمونه‌های افاقیا با ۱ میلی‌گرم در لیتر BA و ۱ میلی‌گرم در لیتر NAA در محیط MS نشان داد. غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر عصاره آسکوفیلوم برای برخی ویژگی‌های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی افاقیا سودمند بود. قدرت باززایی بیشتر در گیاهان رشد یافته در شرایط طبیعی و بستر حاوی شن، پرلیت و کمپوست مشاهده شد. گیاهان ریزازدیادی شده هیچ تنوع مورفولوژیکی قابل‌توجهی را با یکدیگر و با گیاهان مادری نشان ندادند. رویکرد تشریح شده در اینجا می‌تواند برای ریزازدیادی افاقیا مورد استفاده قرار گیرد.

سازگاری و رشد را در افاقیا بهبود بخشید. این نتیجه با نتایج به‌دست آمده توسط هورتادو و همکاران (۲۳) مشابه است. این محققان کارایی عصاره‌های آسکوفیلوم را به‌عنوان یک محیط کشت برای باززایی گیاهان جوان ارقام مختلف *Kappaphycus* اثبات کردند. اثر مثبت برخی از سایر میکروارگانیزم‌ها مانند باکتری‌ها بر روی بهبود رشدونمو افاقیا نشان داده شده است (۵). علت افزایش تعداد برگ در تیمار آسکوفیلوم نودوسوم را می‌توان به تأثیر بیولوژیکی این کود بر جذب عناصر غذایی نسبت داد، که منبع مناسبی جهت کاربری بیولوژیکی کودی آنها است (۲۳). نتایج ما با نتایج وو و همکاران (۴۸) و ابولیزید و همکاران (۱) در مورد تأثیر تلقیح کودهای بیولوژیک بر افزایش تعداد برگ منطبق است. درزی و همکاران (۱۰) بیان کردند که کودهای بیولوژیک فسفات تأثیر مثبتی بر گیاه مرزنجوش (*Majorana hortensis*) دارند. فیکرتین و همکاران (۱۶) نشان دادند که استفاده از ارگانیزم‌های حاوی کود بیولوژیک و تلقیح

منابع مورد استفاده

1. Abou El-Yazeid, A., H. E. Abou-Aly, M. Mady and S. A. M. Moussa. 2007. Enhancing growth productivity dissolving microorganism (Bio-phosphor) combined with boron foliar. *Agriculture and Biological Science* 3 (4): 274-286.
2. Abouzari, A., S. Rouhi, A. R. Eslami and B. Kaviani. 2012. Comparison of the effect of different soilless growing media on some growth characteristics of benjamin tree (*Ficus benjamina*). *International Journal of Agriculture and Biology* 12: 985-988.
3. Alizadeh Zavieh, A. 2005. The effect of soilless growing media on the growth of *Ficus benjamina* L. MSc. Thesis, Islamic Azad University, Iran.
4. Bejoy, M., V. R. Sumitha and N. P. Anish. 2008. Foliar regeneration in *Anthurium andraeanum* Hort. cv. Agnihorti. *Biotechnology* 7 (1): 134-138.
5. Boine, B., G. Naujoks and T. Stauber. 2008. Investigations on influencing plant-associated bacteria in tissue culture of black locust (*Robinia pseudoacacia* L.). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 94: 219-223.
6. Borthakur, M., J. Hazarika and R. S. Singh. 1999. A protocol for micropropagation of *Alpinia galanga*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 55: 231-233.
7. Brum, G. R. 2001. Micropropagação da figueira (*Ficus carica* L.). MSc. Thesis, Universidade Federal de Lavras, Lavras, Brazil.
8. Cheong, E. and M. R. Pooler. 2003. Micropropagation of Chinese redbud (*Cercis yunnanensis*) through axillary bud breaking and induction of adventitious shoots from leaf pieces. *In Vitro Cellular and Developmental Biology of Plant* 39: 455-458.
9. Craft, C. A., D. Hiltz, S. Hankins and S. L. MakKinnon. 2007. Detection of growth hormones in *Ascophyllum nodosum* and seaweed products. In: Proceeding of the 12th International Symposium on Marine Natural Products in Queenstown New Zealand, Oral-Poster Abstract PO74-OR.
10. Darzi, M. T., A. Ghalavand, F. Rejali and F. Sefidkon. 2006. Effects of biofertilizers application on yield and yield components in fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants* 22 (4): 276-292 (In Farsi).
11. Dawes, C. J., A. O. Lluisma and G. C. Trono. 1994. Laboratory and field growth studies of commercial strains of

- Eucheuma denticulatum* and *Kappaphycus alvarezii* in the Philippines. *Journal of Applied Phycology* 6: 21-24.
12. Dawes, C. J., G. C. Trono and A. O. Lluisma. 1993. Clonal propagation of *Eucheuma denticulatum* and *Kappaphycus alvarezii* for the Philippine seaweed farms. *Hydrobiologia* 260-261: 379-383.
13. Dhanukar, S. A., R. A. Kulkarni and N. N. Rege. 2000. Pharmacology of medicinal plants and natural products. *Indian Journal of Pharmacology* 32: S81-S118.
14. urkovi, J. 2008. Micropropagation of mature *Cornus mas* 'Macrocarpa'. *Trees* 22: 597-602.
15. El-Naggar, A. H. and A. B. El-Nasharty. 2009. Effect of growing media and mineral fertilization on growth, flowering bulbs productivity and chemical constituents of *Hippeastrum vittatum*, Herb. *American-Eurasian Journal of Agriculture and Environmental Science* 6: 360-371.
16. Fikretin, S., R. Chakmakji and F. Kantar. 2004. Sugar beet and barley yield in relation to inoculation with N₂-fixing and phosphate solubilizing bacteria. *Plant and Soil* 256: 123-129.
17. Fitzpatrick, G. E. 2001. Compost utilization in ornamental and nursery crop production systems, pp. 135-150. In: P. J. Stoffella, B. A. Kahn, (Eds.), *Compost Utilization in Horticultural Cropping Systems*. Lewis Publication, Boca Raton, Florida, USA.
18. Fráguas, C. B., M. Pasqual, L. F. Dutra and O. Cazzeta. 2004. Micropropagation of fig (*Ficus carica* L.) 'Roxo de Valinhos' plants. *In Vitro Cellular and Developmental Biology* 40: 471-474.
19. Hartmann, H. T., D. E. Kester and F. T. Davies. 1990. *Plant Propagation, Principles and Practices* (5th Ed.). Prentice-Hall International Press. USA.
20. Heloir, M. C., J. C. Fourmioux, L. Oziol and R. Bessis. 1997. An improved procedure for the propagation *in vitro* of grapevine (*Vitis vinifera* cv. Pinot noir) using axillary bud microcuttings. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 49: 223-225.
21. Hepaksoy, S. and U. Aksoy. 2006. Propagation of *Ficus carica* L. clones by *in vitro* culture. *Biologia Plantarum* 50: 433-436.
22. Hiltz, D., S. L. MacKinnon, S. Hankins, R. Stefanova and C. A. Craft. 2007. Improved method of analysis of betaine in *Ascophyllum nodosum* and commercial seaweed. In: *Proceedings of the 12th International Symposium on Marine Natural Products in Queenstown New Zealand*, Poster Abstract PO76.
23. Hurtado, A. Q., D. A. Yunque, K. Tibubos and A. T. Critchley. 2009. Use of Acadian marine plant extracts powder from *Ascophyllum nodosum* in tissue culture of *Kappaphycus* varieties. *Journal of Applied Phycology* 21: 633-639.
24. Jain, S. M. and S. J. Ochatt. 2010. *Protocols for in vitro Propagation of Ornamental Plants*. Springer Protocols, Humana Press. USA.
25. Jayaraj, J., A. Wan, M. Rahman and Z. K. Punja. 2008. Seaweed extracts reduces foliar fungal disease in carrot. *Crop Protection* 27 (10): 1360-1366.
26. Kanwar, K., A. Bharadwaj, R. Deepika and D. R. Sharma. 2007. *Robinia pseudoacasia* Linn. *Tree and Forestry Science and Biotechnology* 1: 74-80.
27. Kanwar, K., A. Bhardwaj and R. Deepika. 2009. Efficient regeneration of plantlets from callus and mesophyll derived protoplasts of *Robinia pseudoacacia* L. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 96: 95-103.
28. Kanwar, K., B. Kaushal, S. Abrol and R. Deepika. 2008. *In vitro* regeneration from cell suspension culture in *Robinia pseudoacasia* L. *Plant Biology* 52: 187-190.
29. Kaufman, P. B. 1999. *Natural Products from Plants*. CRC Press. Boca Raton, USA.
30. Kaviani, B., A. Ahmadi Hesar, A. Kharabian Masouleh. 2011. *In vitro* propagation of *Matthiola incana* (Brassicaceae)-an ornamental plant. *Plant Omics Journal* 4: 435-440.
31. Kobayashi, A. K., J. C. Bepalhok, L. F. P. Pireira, L. G. E. Vieira. 2003. Plant regeneration of sweet range (*Citrus sinensis*) from thin sections of mature stem segments. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 74: 99-102.
32. Lloyd, G. and B. McCown. 1981. Use of microculture for production and improvement of *Rhododendron* spp. *HortScience* 15: 416-417.
33. Lloyd, G. B. and B. H. McCown. 1980. Commercially feasible micropropagation of mountain laurel (*Kalmia latifolia*) by use of shoot tip culture. *Combined Proceedings, International Plant Propagators' Society* 30: 421-437.
34. Lu, M. 2005. Micropropagation of *Vitis thunbergii* Sieb. et Zucc., a medicinal herb, through high-frequency shoots tip culture. *Scientia Horticulture* 107: 64-69.
35. Mahgoub, H. M., A. E. Rawia, B. H. A. Leila. 2006. Response of Iris bulbs grown in sandy soil to nitrogen and potassium fertilization. *Journal of Applied Science Research* 2: 899-903.
36. Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiologia Plantarum* 15: 473-479.
37. Pasqual, M. and E. A. Ferreira. 2007. Micropropagation of fig tree (*Ficus carica* L.), pp. 409-416, In: S. M. Jain and H. Häggman (Eds.), *Protocols for Micropropagation of Woody Trees and Fruits*. USA.
38. Phulwaria, M., R. Kheta, P. Gahlot N. S. Shekhawat. 2011. Micropropagation of *Salvadora persica*-a tree of arid horticulture and forestry. *New Forests* 42 (3): 317-327.

39. Prakash, E., P. S. Sha Valli Khan, T. J. Vivek, S. Rao and E. S. Meru, 2006. Micropropagation of red sanders (*Pterocarpus santalinus* L.) using mature nodal explants. *Journal of Forestry Research* 11: 329-335.
40. Puchooa, D. 2005. *In vitro* mutation breeding of *Anthurium* by gama radiation. *International Journal of Agriculture and Biology* 7(1): 17-20.
41. Ramesh Kumar, S. G. and D. S. Yadav. 2002. Study on N and P requirement of tuberose (*Polianthes tuberosa* L.) cv. Single in hilly soils. *Indian Horticulture* 20: 25-31.
42. Rathore, J. S., N. S. Vinod Rathore, R. P. Shekhawat, S. G. Liler, M. Phulwaria and H. R. Dagla. 2004. Micropropagation of Woody Plants. Plant Biotechnology and Molecular Markers, Anamaya Publishers, New Delhi, India.
43. Rayorath, P., J. N. Murdaya, A. Farid, K. Wajahatullah, P. Ravishankar, S. D. Hankirs, A. T. Critchley and P. Balakrishnan. 2007. Rapid bioassays to evaluate the plant growth promoting activity of *Ascophyllum nodosum* using a model plant, *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Applied Phycology* 20 (4): 423-429.
44. Rayorath, P., W. Khan, R. Palanisamy, S. L. Mackinnon, R. Stepanova, S. D. Hankins, A. T. Critchley and B. Prithiviraj. 2008. Extracts of brown seaweed *Ascophyllum nodosum* induce gibberellic acid (GA₃) – independent amylase activity in barley. *Journal of Plant Growth Regulation* 27: 270-279.
45. Shibli, R. A., M. M. Ajlouni, A. Jaradat, S. Aljanabi and M. Shatnawi. 1997. Micropropagation in wild pear (*Pyrus syrica*). *Scientia Horticulturae* 68: 237-242.
46. Thakur, R. C. and D. F. Karnosky. 2007. Micropropagation and germplasm conservation of Central Park Splendor Chinese elm (*Ulmus parvifolia* Jacq. 'A/Ross Central Park') trees. *Plant Cell Report* 26: 1171-1177.
47. Wilson, S. B., P. J. Stoffella and D. A. Graetz. 2003. Compost amended media and irrigation system influence containerized perennial *Salvia*. *Journal of American Society for Horticultural Science* 128: 260-268.
48. Wu, S. C., Z. H. Cao, Z. G. Li and K. C. Cheung. 2005. Effect of biofertilizer containing N. fixer, P and K solubilizers and fungi on maize growth. *Agreehous Trial Geoderma* 125: 155-166.
49. Zaller, J. G. 2007. Vermicompost as a substitute for peat in potting media: Effects on germination, biomass allocation, yields and fruit quality of three tomato varieties. *Scientia Horticulturae* 112: 191-199.
50. Zhang, J., Y. Liu, H. Wang. 2007. Micropropagation of black locust (*Robinia pseudoacacia* L.). pp. 193-199, In: S. M. Jain and H. Häggman (Eds.), *Protocols for Micropropagation of Woody Trees and Fruits*. Springer.

Improvement of Micropropagation and Proliferation of *Robinia pseudoacasia* L. Using Plant Growth Regulators and Extracts of Brown Seaweed *Ascophyllum nodosum*

B. Kaviani^{1*}, N. Negahdar² and D. Hashemabadi¹

(Received: December 14-2013; Accepted: February 13-2016)

Abstract

The present study was conducted to test the effect of *Ascophyllum nodosum* extract on the growth of *Robinia pseudoacasia* L., ornamental tree. *In vitro* and *ex vitro* clonal multiplication of *Robinia pseudoacasia* L. was achieved using embryonic axes and seeds as explants, respectively. Factors affecting shoot and root production of *R. pseudoacasia* L. were investigated by comparing various growth regulators [-naphthalene acetic acid (NAA) and 6-benzylaminopurine (BA)] and culture media [Murashige and Skoog (MS) and WPM (woody plant medium)] on *in vitro* conditions, also culture beds (sand, perlite, compost and cocopeat) with different ratios and extracts of brown seaweed *Ascophyllum nodosum* on *ex vitro* conditions. Both of BA and NAA were used at concentrations of 0, 0.5, 1 and 1.5 mg l⁻¹. Concentrations used from extracts of *A. nodosum* were 0, 1000, 2000 and 3000 mg l⁻¹. The optimum plant growth regulator (PGR) combination for maximal plant height, shoot number, node number, root number, root length, leaf number, fresh and dry weight on *in vitro* condition was 1 mg l⁻¹ NAA and 1 mg l⁻¹ BA in MS medium. The 1000 mg l⁻¹ of extracts of *A. nodosum* led to optimum plant height, node number, longest root, leaf number, dry weight, fresh weight. The most appropriate plantlets survival on *ex vitro* condition was observed when the culture medium was a bed containing sand + perlite + compost with proportion of 1:1:1. About 75% of the propagated plantlets and 90% of the micropropagated plantlets were established successfully in acclimatization medium. Regenerated plantlets were morphologically identical with mother plants. Present study showed positive modifications in shoot proliferation, rate of rooting of stem and some morphological and physiological characters due to subjection of *R. pseudoacasia* L. to optimum treatments.

Keywords: Fabaceae, tissue culture, black locust, plant multiplication, seed embryos, seed germination, cultivation bed, brown algae

1. Assistant Professors, Department of Horticultural Science, Islamic Azad University, Rasht Branch, Iran.

2. Master Science of Horticultural Science, Hyrcan Agricultural Sciences and Biotechnology Research Institute, Amol, Iran

*. Corresponding Author, Email: b.kaviani@yahoo.com