



<https://ijpb.ui.ac.ir/?lang=en>

IRANIAN JOURNAL OF PLANT BIOLOGY

E-ISSN: 2322-2204

Vol. 14, Issue, No. 3, Autumn 2022

Document Type: Research Paper

Received: 17/04/2023

Accepted: 05/08/2023

Utilization of Plant Bioassay System to Identify the Biological Function of Various Auxin Hormones

Azadeh Khadem^{1*}, Zahra Sargazi Moghaddam², Sana Ansari³, Ahmad Sharifi¹
Mahdiyeh Kharrazi¹

¹ Department of Horticultural Plants Biotechnology, Research Institute for Industrial Biotechnology, Academic Centre for Education, Culture and Research (ACECR), Khorasan Razavi Branch, Mashhad, Iran

² Department of Plant Biotechnology and Breeding, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

³ Department of Horticultural Sciences and Green Space Engineering, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

Abstract

To optimize the bioassay system of auxin hormones by identifying their effect on the growth of *Arabidopsis* plants under in vitro conditions, *Arabidopsis* seeds were germinated vertically in ½ MS medium. After 5 days, seedlings with the same root growth were transferred to ½MS medium culture containing IAA, IBA, NAA, and 2,4-D hormones with concentrations of 0, 0.01, 0.03, and 0.05 mg/ L. After 10 days, plant growth characteristics were measured using image analysis plus the fresh and dry weight of seedlings in each treatment. The different hormones had different effects on the growth. Increasing the concentration of IAA, IBA, and NAA hormones caused the reduction of the rootlets' induction. The use of different concentrations of 2,4-D hormone prevented the growth of roots. Higher concentrations resulted in the production of callus in the roots. The concentration of 0.01 mg/L of the examined auxin hormones mostly had the highest rate of leaf formation and biomass production. This bioassay method can distinguish the effects of different auxin hormones on different aspects of plant growth. The results can help in selecting the required auxin hormone in various activities and make it possible to identify unknown auxin compounds.

Introduction

Plant hormones perform different biological functions in different tissues according to the growth stage or in response to environmental conditions. Evidence shows that the response of the plant to different types of auxin is different from each other and the

* Corresponding Author: azadeh.khadem@jdm.ac.ir



activity of each of these hormones causes the activation of a range of different physiological processes in the plant. On the other hand, all lateral root growth stages are dependent on the amount of intracellular auxin hormone accumulation. Despite the similarity, these hormones are functionally different due to differences in structure which affect their signal transmission and downstream physiological pathways. Therefore, it is necessary to optimize a bioassay system to identify and differentiate the auxin hormones based on their biological effects, so we tried measuring the performance of different concentrations of auxin hormones.

Materials and Methods

The effects of different levels of auxin on *Arabidopsis thaliana* (Columbia cultivars) seedlings were investigated and ½MS medium culture containing 1% sucrose and 0.75% agar. The pH of the medium culture was set at 5.8 ± 0.1 and autoclaved at 121°C for 20 minutes. The seeds were disinfected with 1% sodium hypochlorite and sterile distilled water for 10 minutes and were cultured in ½MS without hormones. The petri dishes were placed vertically in the growth room for 5 days. The seedlings with 1 cm roots length were selected and in the 4 hormonal treatments, medium cultures were sub-cultured including IBA, 2,4-D, IAA, and NAA in three concentrations of 0.01, 0.03, and 0.05 mg/L, as well as the control treatment without hormones with three replications. Hormones were added to the sterile medium culture after passing through a 2 µm filter. After 10 days, the number of leaves, root length, the number of lateral roots, and fresh weight were measured. The growth level of the shoot and root and the level of greenness of seedling leaves were performed using image analysis and ImageJ software, dry weight of the seedlings was measured after exposure to 72°C for 48 hours. All treatments were analyzed using one-way ANOVA. The mean comparison of treatments was performed by LSD test with a minimum significant difference at a 5% probability level using JMP software (version 8.0). Graphs were also drawn using Excel software.

Results and Discussion

The presence of auxin in different concentrations inhibits the root length growth and the control seedlings showed the highest root length growth. Seedlings grown at the high concentrations of NAA and in the presence of 2,4-D had the lowest root length with an average of one cm. Seedlings grown in NAA hormone treatment with a concentration of 0.01 mg/L had the highest rootlets number. However, the roots formed in the presence of 2,4-D and high concentrations of NAA produced callus and did not grow normally. The root area in the presence of IBA was more than IAA. The number of seedling leaves grown at 0.01 mg/L concentration of hormones was equal to or more than the higher concentrations of these hormones. The lowest number of leaves belonged to the seedlings grown in 0.03 mg/L NAA and 0.05 mg/L 2,4-D treatments. IAA concentration had a direct relationship with leaf area and with the increase in the concentration of this hormone the leaf area increased, but the use of IBA had the opposite effect on leaf area and decreased with increasing its concentration. The highest leaf greenness was observed in three concentrations of 2,4-D and then in the control. The use of other auxin in the medium culture inhibited the production of chlorophyll in the cells. After the use of auxin in *Arabidopsis* plants, the fresh and dry weight of the seedlings grown in the presence of the concentration of 0.01 mg/L of NAA had the highest fresh and dry weight.

Conclusion

The effect of auxin hormones on different aspects of plant growth was different from each other. IAA increased the number of rootlets and low concentration and formed

many rootlets on the main root. High concentrations led to an increase in the number of lateral roots, but the root length significantly decreased. Also, 2,4-D stimulated callus production in the roots. The presence of IBA in the medium culture decreased the average root length. The difference in the morphological effects of different auxin hormones can be considered a road map that will provide the possibility of identifying the auxin hormone in unknown extracts in future research.

Keywords: Image Analysis, Arabidopsis, Auxin, Bioassay, Tissue Culture

بهره‌گیری از سیستم زیست‌سنجی گیاهی به منظور شناسایی کارکرد زیستی انواع هورمون اکسین

آزاده خادم^{۱*}، زهرا مقدم سرگزی^۲، سنا انصاری^۳، احمد شریفی^۱، مهدیه خرازی^۱
^۱ گروه پژوهشی بیوتکنولوژی گیاهان باغبانی، پژوهشکده بیوتکنولوژی صنعتی، سازمان جهاد دانشگاهی خراسان رضوی، مشهد، ایران

^۲ گروه بیوتکنولوژی و به‌نژادی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

^۳ گروه علوم باغبانی و مهندسی فضای سبز، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

چکیده

پژوهش حاضر با هدف بهینه‌سازی سیستم زیست‌سنجی انواع هورمون اکسین از طریق شناسایی اثر آنها بر شیوه رشد گیاه *آرابیدوپسیس* در شرایط درون‌شیشه‌ای انجام شد؛ به این منظور، بذرهای گیاه *آرابیدوپسیس* به‌شکل عمودی در محیط کشت 1/2MS جوانه زدند و پس از گذشت ۵ روز، گیاهچه‌های دارای رشد ریشه یکسان به محیط کشت 1/2MS حاوی هورمون‌های IAA، IBA، NAA و 2,4-D با غلظت‌های صفر، ۰/۰۱، ۰/۰۳ و ۰/۰۵ میلی‌گرم در لیتر منتقل شدند. پس از گذشت ۱۰ روز، ویژگی‌های رشدی گیاه با تجزیه و تحلیل تصویر اندازه‌گیری و وزن تر و خشک گیاهچه‌ها در هر تیمار نیز تعیین شد. نتایج نشان دادند هورمون‌های مختلف آثار متفاوتی بر شیوه رشد ریشه و اندام هوایی دارند؛ به طوری که افزایش غلظت هورمون‌های IAA، IBA و NAA سبب کاهش القای ریشه‌های فرعی شد. همچنین استفاده از غلظت‌های مختلف هورمون 2,4-D از رشد ریشه‌ها جلوگیری کرد و غلظت‌های بیشتر آن، تولید کالوس در ریشه‌ها را در پی داشت. بررسی میزان رشد گیاهچه‌ها نشان داد غلظت ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر بیشتر هورمون‌های اکسین بررسی شده (NAA، 2,4-D و IAA)، بیشترین میزان تشکیل برگ و تولید زیست‌توده را به همراه دارد. نتایج پژوهش حاضر، توانایی این روش زیست‌سنجی در تفکیک اثر هورمون‌های اکسین مختلف بر جنبه‌های مختلف رشد گیاه را نشان می‌دهند و می‌توانند کمک شایانی به گزینش هورمون اکسین لازم برای فعالیت‌های مختلف باشند.

واژه‌های کلیدی: تجزیه و تحلیل تصویر، *آرابیدوپسیس*، اکسین، زیست‌سنجی، کشت بافت



مقدمه

رشد و نمو گیاهان از طریق همکاری تعداد زیادی از واکنش‌های فیزیولوژیکی پیچیده با محوریت هورمون‌های گیاهی تنظیم می‌شود (Zwanenburg & Blanco-Ania, 2018). مطالعه‌های متعدد نشان داده‌اند هورمون‌های گیاهی با توجه به مرحله رشدی گیاه یا در پاسخ به شرایط محیطی متفاوت، عملکرد زیستی متفاوتی در بافت‌های مختلف دارند (Yu et al., 2020)؛ در این میان، هورمون اکسین با فعالیت در فرایندهای مختلف از جمله تشکیل کالوس، تعیین الگوی ساختاری جنین، تشکیل اندام‌های گیاهی و همچنین تنظیم پاسخ به شرایط محیطی، نقش کلیدی در رشد و نمو گیاه ایفا می‌کند (Semeradova et al., 2020). تغییر در میزان هورمون اکسین و توزیع غیریکنواخت آن بر اساس نیاز بافت‌ها و اندام‌های گیاهی در پاسخ به محرک‌های بیرونی و درونی ایجاد می‌شود (Skalický et al., 2018). شواهد بسیاری نشان می‌دهند پاسخ گیاه به انواع هورمون اکسین متفاوت است و فعالیت هریک از این هورمون‌ها به فعال شدن گستره‌ای از فرایندهای فیزیولوژیکی مختلف در گیاه منجر می‌شود (Campanoni & Nick, 2005)؛ از سوی دیگر، تمام مراحل رشد ریشه‌های جانبی شامل القا، ظهور و رشد آنها به میزان تجمع هورمون اکسین درون سلولی وابسته است (Meier et al., 2020)، تا آنجا که نور به عنوان یکی از مهم‌ترین عوامل مؤثر بر رشد و نمو ریشه، نقش خود را از طریق تغییر میزان بیوسنتز هورمون اکسین یا انتقال سیگنال آن ایفا می‌کند (Yun et al., 2023).

هورمون IAA فراوان‌ترین و فعال‌ترین هورمون اکسین طبیعی در گیاهان است؛ به طوری که از این هورمون به عنوان هورمون اکسین کلیدی در بیشتر گیاهان نام برده می‌شود. هورمون IAA علاوه بر القای پاسخ به نور و گرانش، تشکیل ریشه‌های جانبی و ریشه‌های موین را افزایش می‌دهد (Ljung, 2013; Bhatla, 2018) و در رشد اندام هوایی، جوانه‌زنی بذر و غده، تمایز اندام‌ها، غالبیت انتهایی، سنتز اتیلن مؤثر است (Strader & Zhao, 2016)؛ همچنین این هورمون در فرایندهای رشد رویشی، رشد و پیری میوه، تشکیل اندام جانبی و اندام‌زایی (Ljung, 2013)، برگ‌ریزی و تغذیه و افزایش رشد کامبیوم و اندازه سلول‌های آوندی تأثیر دارد (Skalický et al., 2018). هورمون IBA نیز هورمون اکسین طبیعی در گیاه است که به عنوان شکل ذخیره‌ای هورمون IAA معرفی شده است (Bartel et al., 2001; Woodward & Bartel, 2005). هورمون IBA در فرایندهای توسعه‌ای با واسطه اکسین مانند تنظیم اندازه مریستم ریشه و تشکیل و توسعه ریشه‌های موین نقش دارد (Strader et al., 2010). هورمون NAA معمولاً در تولید ریشه‌های جانبی مؤثر است و به بهبود رشد ساقه و ریشه کمک می‌کند (Campanoni & Nick, 2005). هورمون‌های اکسین مصنوعی مانند هورمون 2,4-D آثار مشابه با اکسین‌های طبیعی دارند و به عنوان ترکیبات فعال در محلول‌های تجاری باغبانی استفاده می‌شوند؛ این نوع هورمون‌ها سبب گسترش فعالیت ریشه و در مراحل بعدی رشد موجب یکسان‌سازی فرایند گل‌دهی و میوه‌دهی در

حاضر با هدف زیست‌سنجی عملکرد غلظت‌های مختلف انواع هورمون اکسین انجام شد تا از این راه، شناسنامه‌ای از آثار مورفولوژیکی به دست آید تا در تفکیک اثر اکسینی هورمون‌های اکسین طبیعی و سنتزی مؤثر باشد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و تهیه محیط کشت

در پژوهش حاضر، اثر سطوح مختلف انواع هورمون اکسین روی گیاهچه‌های *Arabidopsis thaliana* رقم Columbia بررسی شد. به منظور انجام آزمایش از محیط کشت 1/2MS استفاده شد. ساکارز با غلظت ۱ درصد (وزنی/حجمی) به عنوان منبع کربن به محیط کشت اضافه شد و سپس اسیدیته محیط کشت با استفاده از محلول ۰/۱ مولار NaOH یا محلول ۰/۱ مولار HCL روی $5/8 \pm 0/1$ تنظیم و پس از افزودن آگار ۰/۷۵ درصد (وزنی/حجمی) در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه اتوکلاو شد.

ضد عفونی و کشت بذرها

بذرهای *A. thaliana* به مدت ۱۰ دقیقه با هیپوکلریت سدیم ۱ درصد ضد عفونی سطحی و سپس به مدت ۱۰ دقیقه با آب مقطر استریل آب شویی شدند؛ پس از آن، بذرها در محیط کشت 1/2MS بدون هورمون کشت شدند. پتری‌دیش‌ها پس از کشت به مدت ۵ روز به طور عمودی در اتاق رشد قرار گرفتند و سپس گیاهچه‌های دارای ریشه‌های به طول ۱ سانتی‌متر انتخاب و در محیط کشت حاوی تیمارهای هورمونی مورد بررسی واکشت شدند.

باغ‌ها می‌شوند تا برداشت تجاری محصولات باغی با سهولت بیشتری انجام پذیرد (Emenecker & Strader, 2020). با وجود تشابه نسبی انواع هورمون اکسین، این هورمون‌ها به دلیل تفاوت در ساختار شیمیایی و فضایی از نظر عملکردی تفاوت‌هایی با یکدیگر دارند. هورمون‌های اکسین مصنوعی میزان گردش متابولیک کمی دارند و در نتیجه، این ترکیبات دارای پایداری بیشتری نسبت به اکسین‌های طبیعی هستند (Simon & Petrášek, 2011)؛ از این رو، غلظت زیاد این هورمون‌ها در گیاه آثار سمی ایجاد می‌کند و از رشد و فعالیت مسیرهای زیستی در گیاه جلوگیری می‌کند. وجود آثار سمی این هورمون‌ها سبب شده است برخی از آنها مانند هورمون 2,4-D در غلظت‌های زیاد به عنوان علف‌کش استفاده و موجب از بین رفتن برخی از گیاهان دولپه‌ای شود (Grossmann, 2010). تفاوت‌های موجود میان هورمون‌های اکسین سبب می‌شود انتقال سیگنال آنها به منظور فعال شدن مسیرهای فیزیولوژیکی پایین‌دستی آنها تحت تأثیر قرار گیرد. گیاه آرابیدوپسیس دارای ویژگی‌های مهمی شامل اندازه کوچک و چرخه زندگی کوتاه است که نیاز به امکانات رشد را محدود کرده و سبب شده است به عنوان گیاه مدل در آزمایش‌های فیزیولوژی گیاهی معرفی شود؛ همچنین ریشه‌های این گیاه ساختاری ساده دارند که سبب می‌شود برای مطالعه اثر هورمون اکسین مناسب باشند. با توجه به تفاوت‌های یاد شده لازم است نوعی سیستم زیست‌سنجی بهینه شود تا هورمون‌های اکسین را بتوان بر اساس آثار اکسینی آنها شناسایی و از یکدیگر تفکیک شود؛ در این راستا، پژوهش

اعمال تیمارهای هورمونی

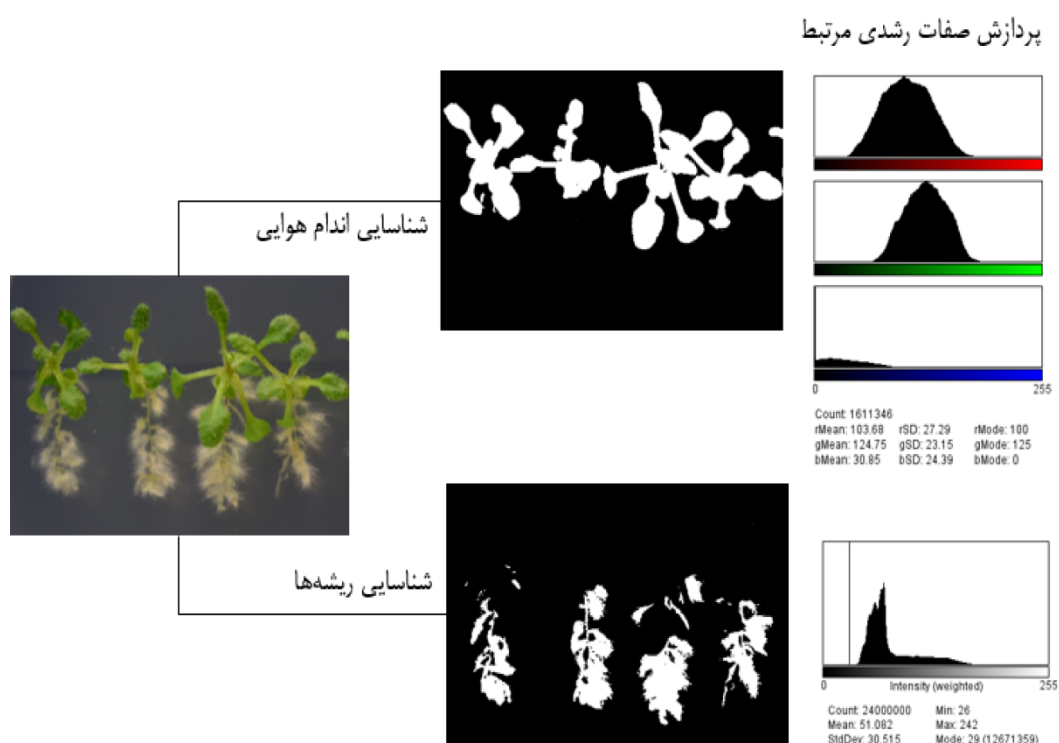
آزمایش حاضر شامل چهار تیمار هورمونی IAA، 2,4-D، JBA و NAA در سه غلظت ۰/۰۱، ۰/۰۳ و ۰/۰۵ میلی‌گرم در لیتر و تیمار شاهد (بدون هورمون) در سه تکرار بود. هورمون‌ها پس از عبور از فیلتر دارای منافذ ۲ میکرومتری به محیط کشت استریل اضافه شدند.

جمع‌آوری داده‌ها و تحلیل آماری

پس از گذشت ۱۰ روز از رشد گیاهچه‌ها در اتاق رشد و دمای 25 ± 1 درجه سانتی‌گراد، صفت‌های رشدی مختلف شامل تعداد برگ، طول ریشه‌چه، تعداد ریشه‌جانبی تشکیل‌شده، سطح رشد اندام هوایی و ریشه، میزان سبزیگی برگ

گیاهچه‌ها و وزن تر و خشک گیاهچه‌ها اندازه‌گیری شدند. سطح رشد اندام هوایی و ریشه و میزان سبزیگی برگ گیاهچه‌ها از طریق تجزیه و تحلیل تصویر و با نرم‌افزار ImageJ انجام شد (شکل ۱).

به منظور اندازه‌گیری وزن خشک، گیاهچه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و سپس وزن خشک آنها اندازه‌گیری شد. تمام تیمارها با آنالیز واریانس یک‌طرفه بررسی شدند و مقایسه میانگین تیمارها به کمک آزمون LSD با حداقل تفاوت معنادار در سطح احتمال ۵ درصد و با نرم‌افزار آماری JMP (نسخه ۸.۰) انجام شد. نمودارها با نرم‌افزار Excel رسم شدند.



شکل ۱- پردازش صفات رشدی مرتبط با اندام هوایی و ریشه گیاه *آرابیدوپسیس* از طریق تجزیه و تحلیل تصویر و با نرم‌افزار

ImageJ

Figure 1- Processing of growth traits related to shoot and root of *Arabidopsis* plant through image analysis and using ImageJ software

نتایج و بحث

اثر اکسین بر رشد ریشه

کاربرد هورمون اکسین بر صفت‌های مورفولوژیکی اندازه‌گیری شده در آزمایش تأثیرگذار بود. بر اساس نتایج، حضور هورمون اکسین در غلظت‌های مختلف، بازدارنده رشد طولی ریشه است و گیاهچه‌های رشدیافته در محیط کشت بدون هورمون اکسین، بیشترین رشد طولی ریشه را نشان می‌دهند (شکل ۲). نتایج نشان دادند ریزنمونه‌های IBA با میانگین طول ریشه ۵/۲۴ سانتی‌متر، بیشترین طول ریشه را دارند و پس از آنها، ریزنمونه‌های تیمارشده با IAA قرار می‌گیرند و تیمار 2,4-D با ۲/۰۸ سانتی‌متر طول ریشه، کمترین طول ریشه را دارد؛ همچنین نتایج نشان دادند با افزایش غلظت هورمون اکسین، میزان رشد طولی ریشه کاهش می‌یابد و نمونه شاهد با متوسط ۵/۶۴ سانتی‌متر طول ریشه، بیشترین میزان طول ریشه را دارد و پس از آن، غلظت‌های ۰/۰۱، ۰/۰۳ و ۰/۰۵ میلی‌گرم‌درلیتر با متوسط ۳/۹۷، ۳/۰۰ و ۲/۷۹ سانتی‌متر طول ریشه قرار می‌گیرند. در بررسی آثار متقابل نوع و غلظت هورمون مشخص شد گیاهچه‌های رشدیافته در غلظت‌های زیاد هورمون NAA همراه با گیاهچه‌های رشدیافته در حضور هورمون 2,4-D با میانگین ۱ سانتی‌متر، کمترین طول ریشه را به خود اختصاص می‌دهند (شکل ۲). کاربرد هورمون IBA با غلظت ۰/۰۵ میلی‌گرم‌درلیتر، میانگین طول ریشه را کاهش داد، اما استفاده از غلظت ۰/۰۳ میلی‌گرم‌درلیتر آن منجر به افزایش طول ریشه شد (شکل ۲). بررسی تعداد ریشه فرعی در تیمارهای هورمونی مختلف نشان داد ریزنمونه‌های 2,4-D و IAA با میانگین به ترتیب ۱۶/۷۳ و ۱۶/۳۱

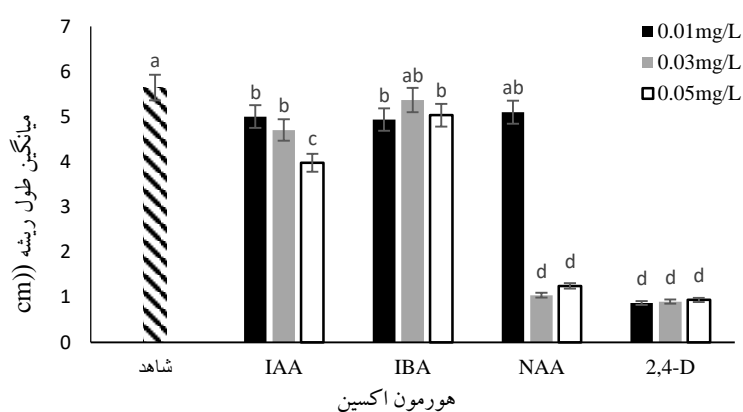
ریشه فرعی، بیشترین تعداد ریشه را دارند؛ این در حالیست که تیمار NAA با ۱۴/۹۲ و IBA با ۱۳/۹۳، ریشه فرعی کمتری داشتند. در میان غلظت‌های مختلف استفاده‌شده، غلظت ۰/۰۱ میلی‌گرم‌درلیتر با متوسط ۱۸/۳۳ ریشه فرعی، بیشترین مقدار ریشه را داشت و پس از آن، غلظت ۰/۰۵، ۰/۰۳ میلی‌گرم‌درلیتر و شاهد به ترتیب متوسط ۱۵/۱۵ و ۱۴/۲۸ و ۱۴/۱۰ ریشه فرعی را داشتند. در مقایسه میانگین آثار متقابل نوع و غلظت هورمون مشخص شد گیاهچه‌های رشدیافته در تیمار هورمونی NAA با غلظت ۰/۰۱ میلی‌گرم‌درلیتر، بیشترین تعداد ریشه فرعی را دارند (جدول ۱)؛ در این میان، ریشه‌های تشکیل‌شده در حضور هورمون 2,4-D و نیز غلظت‌های زیاد هورمون NAA، کالوس تولید کردند و رشد طبیعی نداشتند.

هورمون NAA نقش مهمی در افزایش تقسیم سلولی در ریشه و در نتیجه، القای ریشه‌های جانبی ایفا می‌کند. پژوهش‌های پیشین نشان می‌دهند غلظت‌های کم این هورمون سبب القای ریشه‌های جانبی در گیاه می‌شود، اما غلظت‌های زیاد آن از رشد ریشه‌ها جلوگیری می‌کند (Raju et al., 2010; Yan et al., 2014; da Costa et al., 2018). درخور توجه این است که کاربرد هورمون NAA برای ریشه‌دهی شاخساره‌های گیاه چای (*Camellia sinensis*) سبب می‌شود میزان هورمون IAA در آنها کاهش یابد (Wang et al., 2022). داکوستا و همکاران (۲۰۱۸) با بررسی گیاه آراییدوپسیس گزارش کردند زمانی که مقدار هورمون NAA در سلول‌ها افزایش می‌یابد، فرآیند خودتنظیمی هورمون اکسین با جلوگیری از رونویسی ژن‌های مرتبط با انتقال سیگنال اکسین از طویل شدن ریشه به شدت

IAA توانایی بیشتری در القای ریشه‌زایی در گیاه *Centella asiatica* دارد (Ling et al., 2009). در پژوهش‌های پیشین مشخص شده است هورمون IBA در گیاه طی فرایند بتا اکسیداسیون اسیدهای چرب به IAA تبدیل می‌شود (Bhatla, 2018). مطالعه Zolman et al. (2000) نشان داد هورمون IBA در مقایسه با IAA سبب افزایش مدت زمان ریشه‌زایی و به دنبال آن، افزایش عملکرد ریشه‌زایی در *آراییدوپسیس* می‌شود و دلیل آن را می‌توان میل ترکیبی کمتر این هورمون و سرعت تخریب کمتر آن نسبت به هورمون IAA پیشنهاد کرد. شواهد نشان می‌دهند تعادل میان منابع هورمون اکسین آزاد در گیاه، نقشی کلیدی در تنظیم اثر هورمون اکسین بر فرایند رشد و نمو و پاسخ گیاه به تغییرات شرایط محیطی دارد؛ از این‌رو، میزان هورمون IBA درون سلولی به‌طور درخور توجهی بر میزان دسترسی به منابع هورمون اکسین در گیاه و شیوه پاسخ گیاه به شرایط محیطی مؤثر است (Simon & Petrášek, 2011).

جلوگیری می‌کند (da Costa et al., 2018)؛ بنابراین، بسیاری از تنظیم‌کننده‌های رشد طولی ریشه، مقدار هورمون NAA در مریستم ریشه را در سطح پایینی نگه می‌دارند تا امکان رشد طولی آن را فراهم کنند (Motte et al., 2019)؛ از سوی دیگر، هورمون NAA شباهت کمی با ساختار فضایی اتصال اکسین در ناقل‌های PIN دارد و انتقال بین سلولی آن به‌شکل قطبی به میزان کمی انجام می‌شود؛ به‌طوری‌که میزان انتقال قطبی هورمون IAA در حضور ماده نفتیل فتالامیک‌اسید (NPA) به‌عنوان بازدارنده انتقال قطبی اکسین به‌شدت کاهش می‌یابد، اما حضور این ماده تأثیری بر میزان انتقال قطبی هورمون NAA ندارد (Karami et al., 2022).

در پژوهش حاضر مشخص شد سطح ریشه گیاهچه‌های رشد یافته در حضور هورمون IBA بیش از گیاهچه‌های رشد یافته در حضور هورمون IAA است (شکل ۲). Ling et al. (2009) نشان دادند هورمون IBA در مقایسه با هورمون‌های NAA و



شکل ۲- میزان رشد ریشه در انواع تیمارهای هورمون اکسین. میانگین‌ها با سه تکرار و هر تکرار ۱۰ ریزنمونه ± 0.1 است. حروف یکسان بیان‌کننده عدم اختلاف منعدار با استفاده از آزمون LSD هستند.

Figure 2- Diagram of root length changes according to the type and concentration of PGR treatments. The mean with three repetitions and each repetition with 10 ± 0.1 explants. The same letters indicate no significant difference using the LSD test.

جدول ۱- اثر نوع و غلظت هورمون اکسین بر صفت‌های رشدی گیاه آرابیدوپسیس

Table 1- The effect of type and concentration of auxin hormone on growth characteristics of Arabidopsis plant

هورمون	غلظت	تعداد ریشه فرعی	سطح رشد ریشه (سانتی متر مربع)	میانگین تعداد برگ	میزان سبزیگی برگ	وزن تر ۱۰ گیاهچه (میلی گرم)	وزن خشک ۱۰ گیاهچه (میلی گرم)
شاهد	۰	defg ۱۴/۱۰	۰/۲۷ ^{cde}	^a ۷/۵۵	^b ۶۱/۶۹	^h ۱۴۰	^h ۸/۳۰
IAA	۰/۰۱	^{bc} ۱۷/۷۰	۰/۶۴ ^b	^a ۷/۶۰	^{cd} ۴۷/۳۱	^e ۱۷۰	^b ۱۴/۱۰
	۰/۰۳	^{bcd} ۱۵/۵۰	۰/۳۳ ^c	^{ab} ۷/۴۶	^{de} ۳۹/۰۷	^c ۱۹۰	^e ۱۰/۵۰
	۰/۰۵	^{bc} ۱۷/۹۵	۰/۳۳ ^c	^{ab} ۷/۴۰	^e ۳۰/۴۵	^j ۱۱۰	^g ۸/۸۰
IBA	۰/۰۱	^{bcd} ۱۵/۶۰	۰/۵۶ ^b	^{abc} ۷/۰۳	^{de} ۳۶/۰۷	^d ۱۷۰	^d ۱۱/۵۰
	۰/۰۳	^{cdefg} ۱۴/۴۳	۰/۳۵ ^c	^{abc} ۷/۲۰	^e ۳۴/۹۹	^g ۱۶۰	^f ۹/۷۰
	۰/۰۵	^{fg} ۱۱/۵۰	۰/۰۵ ^{fg}	^{ab} ۷/۳۳	^{bc} ۵۸/۵۳	^f ۱۷۰	^c ۱۲/۶۰
NAA	۰/۰۱	^a ۲۲/۵۳	۰/۸۹ ^a	^a ۷/۷۳	^{de} ۳۸/۸۴	^a ۳۷۰	^a ۲۱/۱۰
	۰/۰۳	^g ۱۱/۰۲	۰/۰۳ ^g	^d ۶/۰۷	^e ۳۰/۲۶	^l ۴۰	^k ۴/۵۰
	۰/۰۵	^{efg} ۱۲/۰۳	۰/۲۹ ^{cd}	^{bcd} ۶/۵۶	^e ۳۲/۸۳	^j ۱۱۰	^g ۸/۸۰
2,4-D	۰/۰۱	^{bcd} ۱۷/۵۰	۰/۱۷ ^{def}	^a ۷/۷۶	^a ۱۲۳/۶۰	^b ۲۲۰	^d ۱۱/۶۰
	۰/۰۳	^{bcd} ۱۶/۲۰	۰/۱۵ ^{efg}	^{cd} ۶/۴۰	^a ۱۲۴/۱۶	^k ۹۰	^j ۶/۶۰
	۰/۰۵	^{ab} ۱۹/۱۳	۰/۱۱ ^{fg}	^d ۶/۰۶	^a ۱۲۶/۰۹	ⁱ ۱۲۰	ⁱ ۷/۵۰

مجموع، کمترین تعداد برگ به گیاهچه‌های رشدیافته در تیمارهای ۰/۰۳ میلی گرم در لیتر NAA و ۰/۰۵ میلی گرم در لیتر 2,4-D تعلق داشت (جدول ۱ و شکل ۴).

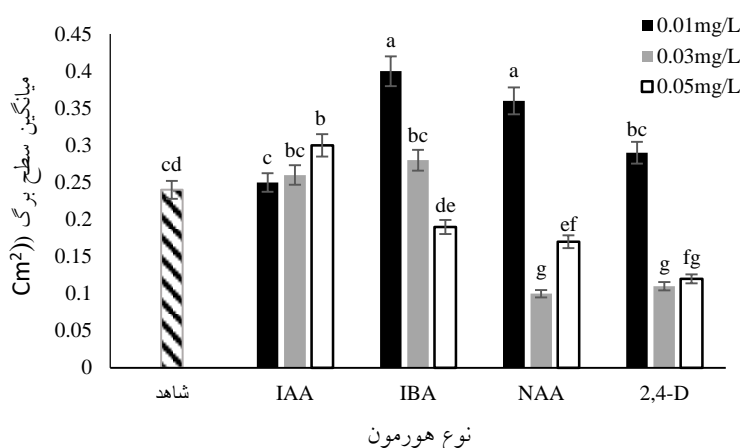
اثر هورمون‌های اکسین مختلف بر صفت‌هایی مانند سطح برگ و میزان سبزیگی گیاهچه‌ها معنادار بود. پس از انجام مقایسه در میانگین‌های به دست آمده در داده‌های سطح برگ مشخص شد از میان هورمون‌های اکسین مختلف، هورمون IBA سطح برگ را به میزان درخورد توجیهی افزایش داده است. مقایسه میانگین غلظت‌های مختلف هورمون‌های استفاده شده نشان داد غلظت ۰/۰۱ میلی گرم در لیتر سبب بیشترین سطح برگ می‌شود. در بررسی آثار متقابل مشخص شد غلظت هورمون IAA رابطه مستقیمی با سطح برگ دارد و باز یاد شدن غلظت این هورمون، سطح برگ افزایش می‌یابد، اما استفاده از هورمون IBA اثر معکوس بر سطح برگ داشت و با

اثر اکسین بر رشد اندام هوایی

نتایج بررسی اثر هورمون بر تعداد برگ تشکیل یافته ریزنمونه نشان دادند ریزنمونه‌های کشت شده در محیط حاوی IAA با تعداد متوسط ۷/۵ برگ، بیشترین تعداد برگ را دارند؛ این در حالی بود که تیمارهای IBA با ۷/۲۸ برگ، میانگین تعداد برگ کمتری داشت و در پایان نیز تیمارهای 2,4-D و NAA با متوسط ۶/۹ تعداد برگ قرار داشتند. در میان غلظت‌های مختلف استفاده شده، شاهد و غلظت ۰/۰۱ میلی گرم در لیتر با متوسط ± 1 ۷/۵ برگ نسبت به غلظت‌های ۰/۰۳ و ۰/۰۵ میلی گرم در لیتر با متوسط به ترتیب ۶/۸ و ۶/۷ برگ، بیشترین تعداد برگ را داشتند. بررسی اثر نوع و غلظت هورمون اکسین بر میزان تشکیل برگ نشان داد تعداد برگ گیاهچه‌های رشد یافته در غلظت ۰/۰۱ میلی گرم در لیتر هورمون‌های بررسی شده، برابر یا بیش از غلظت‌های زیاد این هورمون‌ها بود. در

تمایز بافت‌های آوندی در برگ نشان می‌دهد انتقال قطبی هورمون اکسین در تمایز آوندها و الگوهای تشکیل آنها در برگ مؤثر است (Govindaraju et al., 2020)؛ همچنین مشخص شده است اختلال در مسیر ژنتیکی پاسخ به اکسین سبب تغییر الگوی تشکیل آوندها می‌شود (Liu et al., 2015). در پژوهش‌های پیشین نشان داده شده است افزایش تجمع هورمون اکسین سبب کاهش تولید کلروفیل در سلول‌ها می‌شود، اگرچه غلظت بازدارنده هورمون اکسین در گونه‌های مختلف با یکدیگر متفاوت است (Czerpak et al., 2002; Tolentino et al., 2005; Bagheri et al., 2013). احتمالاً افزایش سبزیگی برگ در گیاهچه‌های تیمار شده با هورمون 2,4-D از کاهش چشمگیر سطح برگ در این گیاهچه‌ها ناشی می‌شود. در مجموع، نتایج پژوهش حاضر نشان دادند تفاوت در میزان انتقال و دریافت انواع هورمون اکسین بر شیوه رشد برگ مؤثر است.

افزایش غلظت آن، سطح برگ کاهش یافت. طبق نتایج یادشده، سطح برگ گیاهچه‌های رشد یافته در غلظت ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر هورمون‌های NAA و 2,4-D نیز از شاهد بیشتر بود، ولی استفاده از غلظت‌های بیشتر این ترکیبات هورمونی سبب کاهش رشد سطح برگ نسبت به شاهد شد. کمترین میزان سطح برگ در گیاهچه‌های رشد یافته در غلظت ۰/۰۳ میلی‌گرم در لیتر هورمون‌های NAA و 2,4-D مشاهده شد (شکل ۳). هورمون IAA در مقایسه با سایر هورمون‌ها سبب بیشترین میزان سبزیگی برگ شد. در بررسی غلظت‌های مختلف مشخص شد با افزایش غلظت هورمون از میزان سبزیگی کاسته می‌شود؛ به طوری که شاهد بیشترین میزان سبزیگی را داشت. با بررسی آثار متقابل هورمون و غلظت، بیشترین میزان سبزیگی در سه غلظت هورمون 2,4-D و پس از آن، در شاهد مشاهده شد؛ این در حالی بود که استفاده از سایر هورمون‌های اکسین در محیط کشت، بازدارنده تولید کلروفیل در سلول‌ها بود (جدول ۱).



شکل ۳- میزان سطح برگ در انواع تیمارهای هورمون اکسین. میانگین‌ها با سه تکرار و هر تکرار ۱۰ ریزنمونه ± 0.001 است. حروف یکسان بیان‌کننده عدم اختلاف معنادار با استفاده از آزمون LSD هستند.

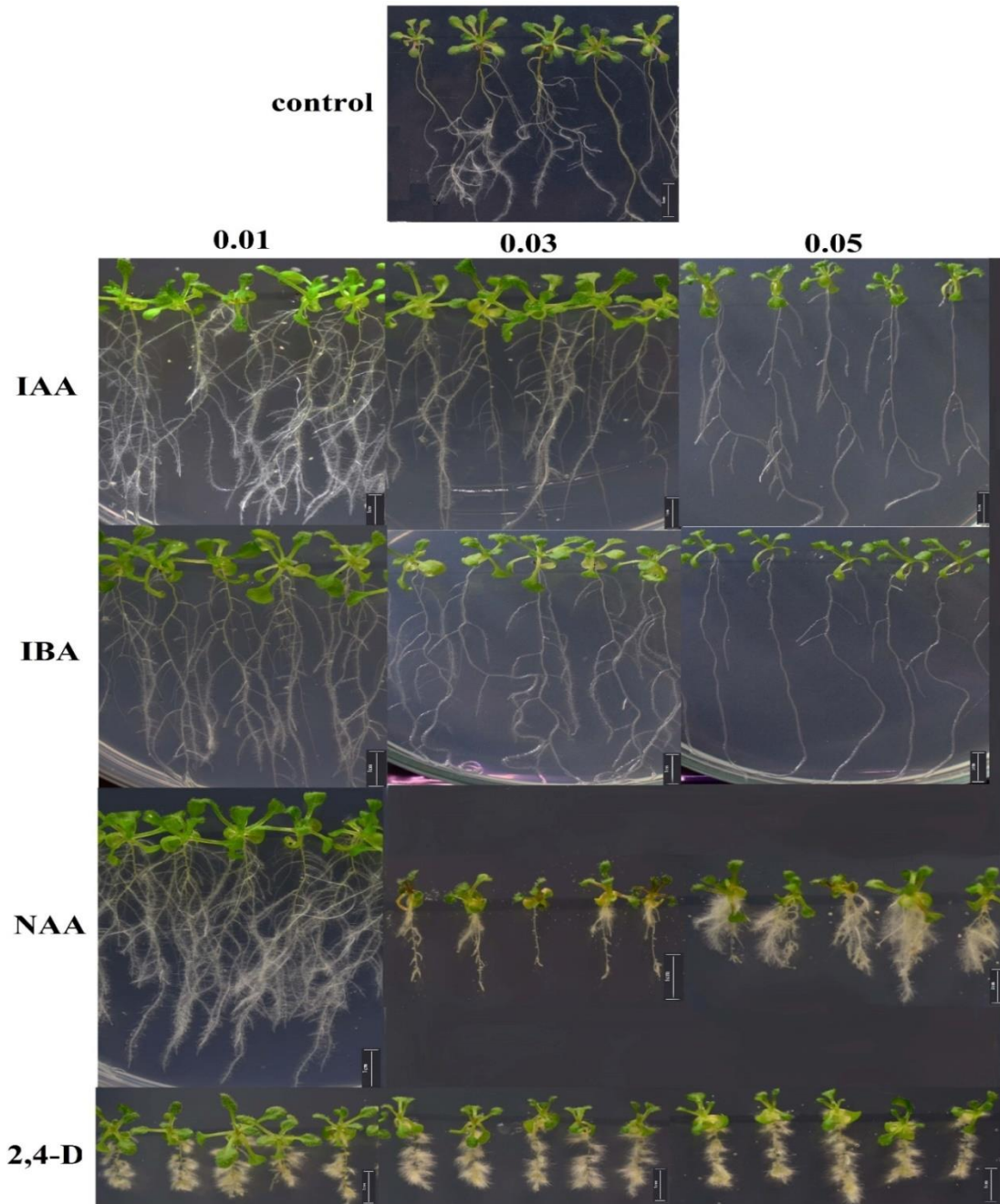
Figure 3- Diagram of Leaf area change according to the type and concentration of PGR treatments. The mean with three repetitions and each repetition with 10 ± 0.001 explants. The same letters indicate no significant difference using the LSD test.

اثر اکسین بر میزان رشد کل

در پژوهش حاضر، وزن تر و خشک گیاه به‌عنوان معیاری از رشد کل در نظر گرفته شد. نتایج نشان دادند استفاده از هورمون اکسین در شرایط کشت بافت بر مقدار کل رشد گیاهچه‌های آراییدوپسیس تأثیرگذار است. اعمال هورمون‌های اکسین در گیاه آراییدوپسیس بر وزن تر این گونه تأثیر داشت؛ به‌طوری‌که میانگین وزن تر در تیمار NAA و IBA با ۰/۱۶ گرم، بیشترین مقدار را داشت و پس‌از آن، هورمون‌های IAA و 2,4-D به‌ترتیب با ۰/۱۵ و ۰/۱۴ گرم قرار داشتند؛ این روند کاهش وزن در تیمار وزن خشک نیز به همین ترتیب مشاهده شد. در زمینه غلظت تیمارهای بررسی‌شده، غلظت ۰/۰۱ میلی‌گرم‌درلیتر نسبت به سایر غلظت‌ها، بیشترین وزن تر و خشک را در پی داشت. در مقایسه میانگین‌های برهم‌کنش نوع و غلظت هورمون مشخص شد گیاهچه‌های رشدیافته در حضور غلظت ۰/۰۱ میلی‌گرم‌درلیتر NAA بیشترین وزن تر را به خود اختصاص می‌دهند و پس‌از آنها، غلظت ۰/۰۱ میلی‌گرم‌درلیتر 2,4-D قرار می‌گیرد؛ این روند در صفت وزن خشک نیز بررسی و مشاهده شد غلظت ۰/۰۱ میلی‌گرم‌درلیتر NAA بیشترین وزن خشک را ایجاد می‌کند و پس‌از آن، غلظت ۰/۰۱ میلی‌گرم‌درلیتر IAA قرار می‌گیرد و کمترین وزن تر و خشک نیز در غلظت ۰/۰۳ میلی‌گرم‌درلیتر NAA مشاهده می‌شود (جدول ۱).

مقایسه واکنش گیاه به غلظت‌های ۰/۰۱ و ۰/۰۳ میلی‌گرم‌درلیتر هورمون NAA نشان داد در غلظت کم این هورمون، پاسخ به هورمون اکسین با شدت زیادی در سلول‌های گیاهی شکل می‌گیرد، اما با افزایش سه برابری غلظت این هورمون، مسیرهای خودتنظیمی پاسخ به هورمون اکسین فعال می‌شوند که بازدارنده رشد گیاه هستند (جدول ۱).

میزان اکسین در سلول‌ها تحت تأثیر فرایندهای متعددی شامل بیوسنتز اکسین، انتقال قطبی هورمون اکسین و مسیرهای متابولیکی آن قرار می‌گیرد؛ در این میان، انتقال قطبی هورمون اکسین سبب ایجاد شیب غلظت این هورمون در اندام‌های مختلف می‌شود که بر شیوه تمایز اندام‌ها و پاسخ به شرایط محیطی طی فرایند رشد گیاه مؤثر است (Hayashi et al., 2014). رشد و گسترش ریشه و نیز اندام هوایی در گیاهان به هماهنگی گسترده بین بافت‌های مختلف دارد تا نشانه‌های محیطی در طول رشد گیاه مورد توجه قرار گیرند؛ مشخص شده است اکسین نقش اصلی در تنظیم رشد ریشه دارد و سنتز، انتقال و انتقال سیگنال آن برای رشد ریشه و اندام هوایی گیاه دارای اهمیت زیادی است؛ تفاوت در ساختار شیمیایی و فضایی اکسین‌ها سبب می‌شود انتقال سیگنال آنها به‌منظور فعال شدن مسیرهای فیزیولوژیکی پایین‌دستی آنها تحت تأثیر قرار گیرد که تفاوت آثار مورفولوژیکی را در پی دارد (Dubrovsky et al., 2008).



شکل ۴- گیاهچه‌های آرابیدوپسیس رشدیافته در حضور هورمون‌های اکسین مختلف. شاخص موجود در تصاویر دارای طول ۱ سانتی‌متر است.

Figure 4- Arabidopsis seedlings grown in the presence of different auxin hormones. The index in the images has a length of 1 cm.

نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج پژوهش حاضر، اثر هورمون‌های اکسین بر جنبه‌های مختلف رشد گیاه با یکدیگر متفاوت است؛ به طوری که هورمون IAA بدون

تأثیر بر میزان رشد ریشه اصلی، تعداد ریشه‌های فرعی را افزایش داد. پاسخ ریشه به هورمون NAA به غلظت این هورمون وابسته است؛ به طوری که در غلظت کم، طول ریشه اصلی برابر با تیمار شاهد

- 20(3), 198-216. doi: 10.1007/s003440010025
- Bhatla, S. C. (2018) Auxins. In: *Plant Physiology, Development and Metabolism* (pp. 569-601). Springer. doi: 10.1007/978-981-13-2023-1_15
- Çakmakçı, R., Mosber, G., Milton, A. H., Alatürk, F. & Ali, B. (2020) The effect of auxin and auxin-producing bacteria on the growth, essential oil yield, and composition in medicinal and aromatic plants. *Current Microbiology*, 77(4), 564-577. doi: 10.1007/s00284-020-01917-4
- Campanoni, P. & Nick, P. (2005) Auxin-dependent cell division and cell elongation. 1-Naphthaleneacetic acid and 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid activate different pathways. *Plant Physiology*, 137(3), 939-948. doi: 10.1104/pp.104.053843
- Celenza, J. J., Grisafi, P. L. & Fink, G. R. (1995) A pathway for lateral root formation in *Arabidopsis thaliana*. *Genes & development*, 9(17), 2131-2142. doi: 10.1101/gad.9.17.2131
- Chhun, T., Taketa, S., Tsurumi, S. & Ichii, M. (2003) The effects of auxin on lateral root initiation and root gravitropism in a lateral rootless mutant Lrt1 of rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Growth Regulation*, 39(2), 161-170. doi: 10.1023/A:1022592511387
- Czerpak, R., Dobrzyn, P., Krotke, A. & Kicinska, E. (2002) The effect of auxins and salicylic acid on chlorophyll and carotenoid contents. *Polish Journal of Environmental Studies*, 11(3), 231-235.
- da Costa, C. T., Gaeta, M. L., de Araujo Mariath, J. E., Offringa, R. & Fett-Neto, A. G. (2018) Comparative adventitious root development in pre-etiolated and flooded *Arabidopsis* hypocotyls exposed to different auxins. *Plant Physiology and Biochemistry*, 127, 161-168. doi: 10.1016/j.plaphy.2018.03.022
- بود، اما تعداد بسیاری ریشه فرعی روی ریشه اصلی تشکیل شد. غلظت‌های زیاد این هورمون، افزایش تعداد ریشه‌های جانبی را در پی داشت، ولی طول ریشه نسبت به تیمار شاهد به مقدار زیادی کاهش یافت. استفاده از هورمون 2,4-D تولید کالوس را در ریشه‌ها تحریک کرد و با افزایش غلظت آن، میزان کالوس‌زایی نیز افزایش یافت. غلظت زیاد و کم IBA در محیط کشت به کاهش میانگین طول ریشه منجر شد. نتایج یادشده نشان می‌دهند غلظت مناسبی از هر هورمون باید در محیط کشت استفاده شود تا نتیجه مطلوب در ارتباط با رشد ریشه حاصل شود. تفاوت آثار مورفولوژیکی هورمون‌های اکسین مختلف را می‌توان نقشه راهی در نظر گرفت که امکان شناسایی هورمون اکسین موجود در عصاره‌های ناشناخته را طی پژوهش‌های آینده فراهم می‌کند.

References

- Bagheri, H., Hashemabadi, D., Sedaghatoor, S., Zarchini, M. & Eslami, A. (2013) Effect of naphthalene acetic acid (NAA) on vase life, chlorophyll b content and water relation of cut *Alestroemeria hybrida*. *Annals of Biological Research*, 4(1), 59-61.
- Barendse, G., Croes, A., Bosveld, M., Van Der Krieken, W. & Wullems, G. (1987) Uptake and metabolism of NAA and BAP in explants of tobacco in relation to in vitro flower bud formation. *Journal of Plant Growth Regulation*, 6(4), 193-200. doi: 10.1007/BF02102547
- Bartel, B., LeClere, S., Magidin, M. & Zolman, B. K. (2001) Inputs to the active indole-3-acetic acid pool: de novo synthesis, conjugate hydrolysis, and indole-3-butyric acid b-oxidation. *Journal of Plant Growth Regulation*,

- Dubrovsky, J. G., Sauer, M., Napsucially-Mendivil, S., Ivanchenko, M. G., Friml, J., Shishkova, S. ... & Benková, E. (2008). Auxin acts as a local morphogenetic trigger to specify lateral root founder cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(25), 8790-8794. doi: 10.1073/pnas.0712307105
- Emenecker, R. J., & Strader, L. C. (2020). Auxin-abscisic acid interactions in plant growth and development. *Biomolecules*, 10(2), 281. doi: 10.3390/biom10020281
- Gallei, M., Luschnig, C. & Friml, J. (2020) Auxin signalling in growth: Schrödinger's cat out of the bag. *Current Opinion in Plant Biology*, 53, 43-49. doi: 10.1016/j.pbi.2019.10.003
- Govindaraju, P., Verna, C., Zhu, T. & Scarpella, E. (2020) Vein patterning by tissue-specific auxin transport. *Development*, 147(13), dev187666. doi: 10.1242/dev.187666
- Grossmann, K. (2010) Auxin herbicides: Current status of mechanism and mode of action. *Pest Management Science: Formerly Pesticide Science*, 66(2), 113-120. doi: 10.1002/ps.1860
- Hayashi, K. I., Nakamura, S., Fukunaga, S., Nishimura, T., Jenness, M. K., Murphy, A. S. ... & Aoyama, T. (2014) Auxin transport sites are visualized in planta using fluorescent auxin analogs. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(31), 11557-11562. doi: 10.1073/pnas.1408960111
- Karami, O., Khadem, A., Rahimi, A. & Offringa, R. (2022) Key role of auxin cellular accumulation in totipotency and pluripotency acquisition. *bioRxiv*, 2022-2029. doi: 10.1101/2022.09.02.505607
- Klemš, M., Truksa, M., Eder, J. & Procházka, S. (1998) Uptake, transport and metabolism of 14C-2, 4-dichlorophenoxyacetic acid (14C-2, 4-d) in cucumber (*Cucumis sativus* L.) explants. *Plant Growth Regulation*, 26(3), 195-202. doi: 10.1023/A:1006159021969
- Leyser, O. (2018) Auxin signaling. *Plant Physiology*, 176(1), 465-479. doi: 10.1104/pp.17.00765
- Ling, A. P. K., Chin, M. F. & Hussein, S. (2009) Adventitious root production of *Centella asiatica* in response to plant growth regulators and sucrose concentration. *Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology*, 3(1), 36-41.
- Liu, S., Hu, Q., Luo, S., Li, Q., Yang, X., Wang, X. & Wang, S. (2015) Expression of wild-type *PtrIAA14. 1*, a poplar *Aux/IAA* gene causes morphological changes in *Arabidopsis*. *Frontiers in Plant Science*, 6, 388. doi: 10.3389/fpls.2015.00388
- Ljung, K. (2013) Auxin metabolism and homeostasis during plant development. *Development*, 140(5), 943-950. doi: 10.1242/dev.086363
- Meier, M., Liu, Y., Lay-Pruitt, K. S., Takahashi, H. & von Wirén, N. (2020) Auxin-mediated root branching is determined by the form of available nitrogen. *Nature Plants*, 6(9), 1136-1145. doi: 10.1038/s41477-020-00756-2
- Motte, H., Vanneste, S. & Beeckman, T. (2019) Molecular and environmental regulation of root development. *Annual Review of Plant Biology*, 70, 465-488. doi: 10.1146/annurev-arplant-050718-100423
- Osmont, K. S., Sibout, R. & Hardtke, C. S. (2007) Hidden branches: Developments in root system architecture. *Annual Review of Plant Biology*, 58, 93-113. doi: 10.1146/annurev.arplant.58.032806.104006
- Qaddoury, A. & Amssa, M. (2004) Effect of exogenous indole butyric acid on

- root formation and peroxidase and indole-3-acetic acid oxidase activities and phenolic contents in date Palm offshoots. *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, 45, 127-131.
- Raju, N. L. & Prasad, M. N. V. (2010) Influence of growth hormones on adventitious root formation in semi-hardwood cuttings of *Celastrus paniculatus* Willd.: A contribution for rapid multiplication and conservation management. *Agroforestry Systems*, 79, 249-252. doi: 10.1007/s10457-009-9251-9
- Semeradova, H., Montesinos, J. C. & Benkova, E. (2020) All roads lead to auxin: Post-translational regulation of auxin transport by multiple hormonal pathways. *Plant Communications*, 1(3), 100048. doi: 10.1016/j.xplc.2020.100048
- Simon, S., & Petrášek, J. (2011). Why plants need more than one type of auxin. *Plant Science*, 180(3), 454-460. doi: 10.1016/j.plantsci.2010.12.007
- Skalický, V., Kubeš, M., Napier, R. & Novák, O. (2018) Auxins and cytokinins—the role of subcellular organization on homeostasis. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(10), 3115. doi: 10.3390/ijms19103115
- Strader, L. C., Culler, A. H., Cohen, J. D. & Bartel, B. (2010) Conversion of endogenous indole-3-butyric acid to indole-3-acetic acid drives cell expansion in *Arabidopsis* seedlings. *Plant Physiology*, 153(4), 1577-1586. doi: 10.1104/pp.110.157461
- Strader, L. C. & Zhao, Y. (2016). Auxin perception and downstream events. *Current Opinion in Plant Biology*, 33, 8-14. doi: 10.1016/j.pbi.2016.04.004
- Tolentino, M. F. & Cadiz, N. M. (2005) Effects of Naphthaleneacetic Acid (NAA) and Gibberellic Acid (GA~ 3) on fruit morphology, parthenocarpy, alkaloid content and chlorophyll content in bittergourd (*Momordica charantia* L.Makiling). *Philippine Agricultural Scientist*, 88(1), 35-39.
- Wang, Y., Pang, D., Ruan, L., Liang, J., Zhang, Q., Qian, Y. ... & Wei, K. (2022) Integrated transcriptome and hormonal analysis of naphthalene acetic acid-induced adventitious root formation of tea cuttings (*Camellia sinensis*). *BMC Plant Biology*, 22(1), 319. doi: 10.1186/s12870-022-03701-x
- Woodward, A. W. & Bartel, B. (2005) Auxin: regulation, action, and interaction. *Annals of Botany*, 95(5), 707-735. doi: 10.1093/aob/mci083
- Xu, P., Zhao, P. X., Cai, X. T., Mao, J. L., Miao, Z. Q. & Xiang, C. B. (2020) Integration of jasmonic acid and ethylene into auxin signaling in root development. *Frontiers in Plant Science*, 11, 271. doi: 10.3389/fpls.2020.00271
- Yan, Y. H., Li, J. L., Zhang, X. Q., Yang, W. Y., Wan, Y., Ma, Y. M. ... & Huang, L. K. (2014) Effect of naphthalene acetic acid on adventitious root development and associated physiological changes in stem cutting of *Hemarthria compressa*. *Plos One*, 9(3), e90700. doi: 10.1371/journal.pone.0090700
- Yu, Z., Duan, X., Luo, L., Dai, S., Ding, Z. & Xia, G. (2020) How plant hormones mediate salt stress responses. *Trends in Plant Science*, 25(11), 1117-1130. doi: 10.1016/j.tplants.2020.06.008
- Yun, F., Liu, H., Deng, Y., Hou, X. & Liao, W. (2023) The role of light-regulated auxin signaling in root development. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(6), 5253. doi: 10.3390/ijms24065253
- Zolman, B. K., Yoder, A. & Bartel, B. (2000). Genetic analysis of indole-3-butyric acid responses in *Arabidopsis thaliana* reveals four mutant classes. *Genetics*, 156(3), 1323-1337. doi: 10.1093/genetics/156.3.1323

Zwanenburg, B. & Blanco-Ania, D. (2018)
Strigolactones: New plant hormones in
the spotlight. *Journal of Experimental
Botany*, 69(9), 2205-2218. doi:
10.1093/jxb/erx487