دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی

مقایسه میزان کالزایی گیاه سرو کوهی در محیط کشت‌های MS و WPM با غلظت‌های مختلف هورمون‌های NAA، 2,4-D و Kin

حسن برآوردی[1]، غلامعلی رنجبر[2] و سوده کمالی فرح آبادی[3]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، (نویسنده مسوول: h.baravardi@gmail.com)
۲ و ۳- دانشیار و کارشناس، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
تاریخ دریافت: ۹۳/۸/۱ تاریخ پذیرش: ۹۳/۱۱/۱۵

چکیده

سرو کوهی (*Juniperus excels* L.) گیاهی با رشد بسیار بطئی و متعلق به خانواده سرو (*Cuperssaceae*)، دارای خصوصیات دارویی و سرشار از روغن‌های معطر ضروری است که در صنعت داروسازی و عطر سازی بسیار با ارزش تلقی می‌شود. به همین منظور با استفاده از کشت بافت آزمایشی با ریزنمونه جوانه جانبی در شرایط درون‌شیشه‌ای صورت گرفت. آزمایش حاضر به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۳ تکرار در سال ۱۳۹۳ در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری اجرا شد. ریزنمونه‌های جوانه جانبی جهت القاء کالوس در محیط کشت پایه موراشیگ و اسکوگ (MS) و محیط کشت اختصاصی گیاهان چوبی (Woody Plant Medium) در دو آزمایش مجزا: با غلظت‌های مختلف Kin (mgl^{-1} ، ۰/۲، ۰/۱، ۰) با 2,4-D (mgl^{-1} ۴، ۳، ۲، ۰) و نیز Kin (mgl^{-1} ، ۰/۲، ۰/۱، ۰) با NAA (mgl^{-1} ۴، ۳، ۲، ۰) قرار گرفتند. بالاترین میانگین وزن کالوس در محیط WPM حاوی NAA ۳ mgl^{-1} در ترکیب با Kin ۰/۱ mgl^{-1} ، بیشترین میانگین قطر کالوس در محیط WPM حاوی NAA ۴ mgl^{-1} در ترکیب با Kin ۰/۱mgl^{-1} و بیشترین میانگین درصد کالزایی نیز در محیط WPM حاوی 2,4-D ۳ mgl^{-1} در ترکیب با Kin ۰/۲ mgl^{-1} بدست آمد.

واژه‌های کلیدی: ریزنمونه جوانه جانبی، سرو کوهی (*Juniperus excelsa* L.)، کالزایی، هورمون گیاهی

مقدمه

سرو کوهی (*Juniperus excelsa* L.) درختی است با قامت متوسط که تا ارتفاع بین ۳ تا ۱۵ متر رشد می‌کند و متعلق به خانواده *Cuperssaceae* است. جنس *Juniperus* شامل ۶۰ گونه است و گونه‌های این جنس از گروه گیاهان بسیار مقاوم با تحمل دامنه وسیع شرایط اکولوژیکی می‌باشند. سرو کوهی گیاهی است دو پایه از خانواده سرو (Juniperus) یکی از معدود سوزنی برگ‌های بومی شمال ایران و درخت مقاوم و زیبای مناطق جنگلی و کوهستانی به ویژه شمال کشور محسوب می‌شود. منطقه رویش این درخت از شرق تا غرب تا امتداد دامنه‌های جنوبی رشته کوه‌های البرز از شمال غربی تا جنوب در امتداد زاگرس را در بر می‌گیرد (۵). اورس یا سرو کوهی به علت مقاومت در برابر خشکی و سرما در شرایط سخت قدرت رشد خود را حفظ می‌کند و به علت دارا بودن بوی نامطبوع سبب فرار مار، عقرب و حشرات گزنده می‌شود و خواص ضد میکروبی آن نیز بسیار مورد توجه است. سرشاخه‌های آن دارای اسانسی به نام سابین است که به شدت محرک پوست و مخاط می باشد. مطالعات انجام شده روی اسانس سرو کوهی نشان داد که این متابولیت روی گونه‌های متعددی از قارچ های بیماریزا دارای خاصیت مهارکنندگی در برابر میکروارگانیزم‌ها می‌باشد (۸). اورس در حجاز برای مطالعه سل ریوی و یرقان مصرف سنتی داشته است و در گزارشی اعلام شده است که عصاره برگ و دانه آن علیه باکتری‌های گرم مثبت بیماریزا مانند *Staphylococcus aureus* و *Bacillus subtilis* تأثیر قابل توجهی داشته است (۴). از خواص ضد میکروبی اورس تاثیر علیه *Bacillus subtilis*، *Staphylococcus aureus* و *Staphylococcus durans* نیز می‌توان اشاره کرد و همچنین عصاره الکلی و متانلی اورس بر باسیل سل استاندارد *Mycobacterium tuberculosis* H37RV اثر مهارکنندگی قابل ملاحظه‌ای دارد (۹).

کشت بافت گیاهی عبارت است از کشت درون‌شیشه‌ای اجزای گیاهی (بافت، اندام، جنین، تک سلول، پروتوپلاست)، که بر روی محیط کشت‌های غذائی و تحت شرایط استریل انجام می‌گیرد. هر قسمت از یک گیاه ممکن است در شرایط مناسب و ویژه بتواند یک جنین کامل ایجاد نماید (۲). تولید گیاهان کامل از پروتوپلاست، سلول‌های منفرد و قطعات کوچکی از بافت گیاه امکان‌پذیر است زیرا سلول‌های گیاهی دارای خاصیت توتی پتنسی[1] هستند (۳). به این معنی که سلول گیاهی در شرایط کشت مناسب و در یک دوره

1- Totipotancy

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-07-18]

برنامه‌ریزی شده قابلیت تشکیل گیاهان کامل جدید را دارد. گیاه تولید شده همانند گیاه مادری اولیه است. باززائی گیاه از طریق کشت بافت در حال حاضر یک فرآیند ضروری و اساسی در بیوتکنولوژی و اصلاح نباتات بشمار می‌رود. امروزه برای تکثیر غیرجنسی بسیاری از گیاهان زراعی و باغی از روش‌های مختلف کشت بافت استفاده می‌شود (۲). ریزنمونه‌هائی نظیر برگ‌های بالغ، ریشه، ساقه، دمبرگ و اجزای گل، می‌توانند با موفقیت برای تولید گیاهچه به روش اندام‌زائی در گیاهان محتلف مورد استفاده قرار گیرند. فصل، سن و وضعیت فیزیولوژیکی گیاه والد، محیط کشت پایه و ترکیب مناسب هورمون‌ها نیز در موفقیت اندام‌زائی از کشت‌های سلولی سهیم‌اند (۷).

صالحی شانجانی (۱۴) در بررسی کشت بافت گیاه سرو کوهی به این نتیجه رسید که اضافه کردن مکمل گلوتامین به محیط کشت 1/2 MS تولید کالوس در گیاه سرو کوهی را تحریک می‌کند. وی هم چنین دریافت که تیمار نیتروژن به فرم نیترات هیچ گونه کالوسی در محیط کشت تولید نمی‌کند. علاوه بر این در تحقیق ایشان نشان داده شد که میزان و نوع اکسین بر روی درصد کالزایی و رشد کالوس اثر دارد و اثر هورمون BAP از Kin بیشتر است، ولی اگر غلظت این دو هورمون از یک میلی‌گرم درلیتر بشتر شود در رشد کالوس اثر منفی دارد.

اسرارزیدی و همکاران (۱) مریستم‌های نوک ساقه در گیاه سرو کوهی را روی محیط کشت MS، WPM و N6 که با غلظت‌های متفاوت هورمون‌های IAA، IBA و 2.4.D در ترکیب با BAP کشت کردند و به این نتیجه رسیدند که محیط کشت WPM با غلظت نیم میلی‌گرم در لیتر 2.4.D در ترکیب با BAP بهترین القاء کالوس را دارد. رنگ کالوس در محیط‌های کشت قهوه‌ای مایل به سبز بود.

توشیو مورانکا و همکاران (۱۹) در طی تحقیقی بیان کردند که هیچ کالوسی از برگ سرو چینی در محیط فاقد هورمون تشکیل نمی‌شود و همچنین اعلام کردند که بهترین محیط کشت برای القای کالوس محیط کشت SH و غلظت مطلوب تنظیم‌کننده‌های رشد ۳ میلی‌گرم در لیتر NAA در ترکیب با ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر Kin است.

بررسی کالزایی در سوزنی‌برگان دیگر هم انجام شده به عنوان مثال:

هوسیان و همکاران (۷) بهترین محیط برای القای کالوس سرخدار را در محیط MS همراه با ۲ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D و ۵ میلی‌گرم در لیتر زغال فعال بعد از دو هفته کشت از ریز نمونه ساقه بدست آوردند ولی موفق به باززایی از کالوس‌های به وجود آمده نشدند.

کورئا و همکاران (۴) گزارش دادند که بهترین محیط کشت برای کالزایی سرخدار را محیط کشت TM5 با یک میلی‌گرم در لیتر پیکولورام به علاوه ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر GA3 و ۰/۱ میلی‌گرم برلیتر کینتین است.

کیربی و همکاران (۹) بیان داشتند که هم فرم و مقدار نیتروژن در محیط کشت اثر معنی‌داری روی درصد، رشد سلولی، تفکیک و توتی پتانسی سلولی دارد و همچنین دریافتند که نیتروژنی که برای کشت ریز نمونه ریشه در محیط کشت استفاده می‌شود از مقدار نیتروژنی که برای کشت کالوس و پروتوپلاست استفاده می‌شود کمتر است.

اثنی عشری و همکاران (۲) بیان کردند که کالوس‌زایی در کاج مطبق هم در محیط کشت MS و BM فقط در حضور پیکلورام و در شرایط تاریکی مشاهده می‌شود اما در محیط کشت BM کالوس بیشتری نسبت به MS تولید می‌شود و میزان آن در ساقه نسبت به برگ زیادتر است.

صادقی و همکاران (۱۳) بیان کردند که اثر هورمون 2,4-D برای رشد کالوس حاصل از ریز نمونه‌های کاج از هورمون NAA بیشتر است و غلظت هورمون مذکور تا ۷/۵ میلی‌گرم در لیتر باعث افزایش میزان کالزایی می‌گردد اما در واکشت‌های پس از کالزایی میزان رشد کالوس در غلظت‌های پایین‌تر بهتر است و در ضمن رشد بهینه کالوس کاج تهران در غلظت‌های ۰/۵ تا ۷/۵ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D است که بودن هورمون کینتین در کنار آن باعث تحریک رشد کالوس می‌شود.

ناصری و همکاران (۱۲) اثر تنظیم کننده‌های رشد گیاهی بر القای بافت جنین‌زا در چهار گونه کاج بررسی نمودند و به این نتیجه رسیدند که اثر تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی و گونه بر القای بافت جنین‌زا معنی‌دار بوده و بهترین نتیجه در گونه *Pinus brutia* L. و در تیمار هورمونی ۱۰ میکرومول 2,4-D و ۵ میکرومول BA است.

مواد و روش‌ها

ضدعفونی جوانه‌های نابجا: نمونه‌های گیاهی مورد نیاز این آزمایش از درختچه موجود در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری تهیه گردید. بدین منظور از شاخه‌های سالم و جوان گیاه که فاقد علایم بیماری و کمبود بودند نمونه برداری انجام شد. به منظور سترون کردن ریزنمونه‌ها از روش صالحی شانجانی (۱۴) استفاده گردید بدین منظور ابتدا جوانه‌های جانبی سرو کوهی (*Juniperus excelsa* L.) حدود ۱۰ دقیقه در آب خیسانده شدند. سپس به منظور کاهش کشش سطحی و تماس بهتر مواد ضدعفونی‌کننده با ریزنمونه‌ها، ریزنمونه‌ها را درون مایع

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-07-18]

ظرفشویی به مدت ۵ قرار داده شدند، بعد ۳ مرتبه با آب مقطر شستشو داده شدند و در ادامه در آب مقطر به مدت ۳۰ دقیقه قرار گرفتند. در مرحله بعد به مدت ۱۵ دقیقه در قارچکش بنومیل ۲ در ۱۰۰۰ قرار گرفتند و سپس ۳ مرتبه با آب مقطر شسته شدند. این جوانه‌های جانبی آنگاه در محلول هیپوکلریت سدیم ۲۰٪ به مدت ۸ دقیقه قرار داده شدند و باز هم ۳ بار با آب مقطر و هر بار ۲ دقیقه مورد شستشو قرار گرفتند. در مرحله آخر ریز نمونه‌ها را به مدت ۳۰ ثانیه درون اتانول ۷۰٪ قرار داده شدند و در این مرحله نیز سه بار با آب مقطر شسته شدند و در نهایت به منظور تهیه کالوس، ریز نمونه های ضدعفونی شده روی کاغذ صافی استریل قرار گرفتند تا کاملا خشک شوند. سپس بر روی محیط کشت‌های MS و WPM با هورمون (تکمیل شده با ۳٪ ساکاروز، ۰/۷ درصد آگار، ۱۰۰ mgl^{-1} میواینوزیتول و pH ۵/۸) کشت شدند.

القای کالوس: در این آزمایش از محیط‌های کشت MS و WPM که تمام شرایط آزمایش (محل آزمایش، زمان، شرایط دمایی، سن ریزنمونه، نوع هورمون استفاده شده و ....) یکسان بود استفاده شد. به محیط‌های کشت ۳۰ گرم در لیتر ساکارز و ۷ گرم در لیتر آگار اضافه گردید و به منظور جلوگیری از قهوه‌ای شدن کالوس‌ها ۰/۵ گرم در لیتر زغال فعال استفاده گردید. سپس قطعات جداکشت جوانه جانبی تحت تیمار تنظیم‌کننده‌های رشد NAA و 2,4-D در چهار سطح (۰، ۲، ۳ و ۴ میلی‌گرم در لیتر) که هر کدام از این دو هورمون به صورت مجزا در ترکیب با Kin در سه سطح (۰، ۰/۱ و ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر) قرار گرفتند.

این آزمایش در سه تکرار و در هر تکرار ۱۵ قطعه جدا کشت بکار برده شد. پس از کشت ریزنمونه‌ها، درب ظروف (پتری دیش) با پارافیلم مسدود شده و در دمای ۲۵±۲ درجه سانتی‌گراد در اتاقک رشد در تاریکی قرار داده شدند و عمل واکشت هر ۲۰ روز یک بار انجام شد.

آنالیز داده‌ها و محاسبات آماری

داده‌های بدست آمده در در ۴ آزمایش فاکتوریل (ترکیب توامان هورمون‌های 2,4-D با Kin در محیط MS و WPM و ترکیب توامان هورمون‌های NAA و Kin در دو محیط‌های MS و WPM) و با طرح پایه کاملا تصادفی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. رسم نمودار در Excel، مقایسه میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن و آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.0 انجام گردید در ضمن پس از آماربرداری، برای تجزیه واریانس، جهت نرمال کردن داده‌ها از فرمول ($\mathrm{Arcsin}\sqrt{X+0.1}$) استفاده شد.

نتایج و بحث

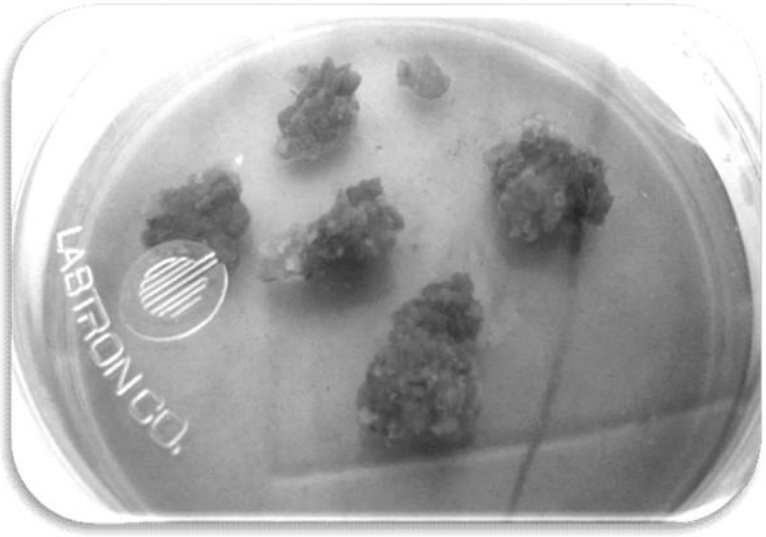
ریزنمونه‌ها بعد از گذشت ۲۱ روز در محیط کالوس‌دهی، بتدریج متورم شدند و بعد از ۶ هفته ریزنمونه‌ها بطور کامل کالوس‌زائی کردند. جدول ۱ نتایج حاصل از تجزیه واریانس اثر ترکیب هورمون‌های NAA, 2,4-D و Kin روی وزن (گرم)، قطر (میلی‌متر) و درصد کالوس تشکیل شده از کشت جوانه جانبی را در محیط کشت MS و WPM نشان می‌دهد (شکل ۱).

جدول ۱- تجزیه واریانس تاثیر کاربرد توامان هورمون‌های Kin-NAA و Kin-2,4-D روی وزن، قطر و درصد کالوس حاصل از کشت جوانه‌جانبی در محیط کشت MS و WPM

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات					
		وزن		قطر		درصد	
		MS	WPM	MS	WPM	MS	WPM
Kin	۲	۰/۰۱۷**	۰/۰۰۷*	۳/۰۶**	۵/۱۲*	۰/۰۰۷**	۰/۰۰۵*
NAA	۳	۰/۲۰۳**	۰/۲۲۱**	۱۹۲/۴۴**	۱۹۱/۲۴**	۰/۹۰**	۰/۹۹۰**
Kin×NAA	۶	۰/۰۱۵**	۰/۰۰۶*	۲/۲۶**	۲/۲۶*	۰/۰۰۸**	۰/۰۰۸*
اشتباه	۲۴	۰/۰۰۰۰۱	۰/۰۰۲	۰/۰۵۷	۱/۱۲	۰/۰۰۰۲	۰/۰۰۵
ضریب تغییرات		۱/۸۶	۲۰/۶۰	۱/۶۹	۱۶/۲۲	۳/۱۹	۱۶/۰۱
Kin	۲	۰/۰۰۹**	۰/۰۱۴**	۴/۵۷**	۲/۹۲**	۰/۰۱۵**	۰/۰۱**
2,4-D	۳	۰/۲۲۸**	۰/۲۲۷**	۱۷۶/۳۹**	۱۷۹/۰۹**	۰/۷۰۱**	۰/۷۷**
Kin×2,4-D	۶	۰/۰۰۲**	۰/۰۰۲ns	۰/۸۳**	۰/۶۵**	۰/۰۰۵**	۰/۰۰۷**
اشتباه	۲۴	۰/۰۰۰۰۲	۰/۰۰۱	۰/۰۲	۰/۱۲	۰/۰۰۰۲	۰/۰۰۱
ضریب تغییرات		۲/۱۱	۲۰/۴۱	۲/۳۳	۵/۶۵	۳/۳۷	۸/۷۳

*، ** و ns: به ترتیب معنی‌دار در سطح ۱ درصد، ۵ درصد و عدم معنی‌داری.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-07-18]



شکل ۱- کالوس تولید شده از جوانه جانبی سرو کوهی

بر اساس نتایج حاصل در محیط کشت MS، اثر سطوح مختلف تیمارهای هورمونی 2,4-D، NAA, Kin، اثر توامان 2,4-D با Kin و اثر توامان NAA با Kin بر وزن، قطر و درصد کالوس‌دهی در ضریب اطمینان (P<۰/۰۱) معنی‌دار بود. بیشرین میانگین وزن کالوس در تیمار هورمونی mgl^{-1} 4 2,4-D در ترکیب با mgl^{-1} Kin ۱ (۰/۶۹ گرم) و کمترین مربوط به تیمار شاهد (فاقد هورمون) (شکل ۲، الف)، بیشترین قطر کالوس مربوط به تیمار mgl^{-1} NAA۴ در ترکیب با mgl^{-1} Kin ۱ (۱۱/۰۶ میلی‌متر) و کمترین قطر مربوط به تیمار فاقد هورمون (شکل ۳، ب). بیشترین درصد کالوس‌دهی در تیمار هورمونی هورمونی mgl^{-1} NAA ۳ در ترکیب با mgl^{-1} Kin ۱ (۷۴٪) و کمترین مربوط به تیمار بدون هورمون بدست آمد (شکل ۳، ج). نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول ۱) ترکیب هورمون‌های NAA و Kin روی وزن، قطر و درصد کالوس تشکیل شده از کشت جوانه جانبی در محیط کشت WPM نشان داد که اثر تیمار هورمونی NAA بر وزن، قطر و درصد کالوس‌دهی با ضریب اطمینان (P<۰/۰۱) و اثر تیمار Kin و اثر توامان NAA با Kin با ضریب اطمینان (P<۰/۰۵) معنی‌دار بود و همچنین تجزیه واریانس ترکیب هورمون‌های 2,4-D و Kin روی وزن، قطر و در صد کالوس تشکیل شده، معنی‌داری اثر 2,4-D و Kin با ضریب اطمینان (P<۰/۰۱) را نشان داد ولی اثر توامان 2,4-D با Kin روی وزن تر کالوس معنی‌دار نبود. بیشرین میانگین وزن کالوس در تیمار هورمونی mgl^{-1} NAA ۳ در ترکیب با mgl^{-1} Kin ۱ (۰/۷۴ گرم) و کمترین مربوط به تیمار شاهد (فاقد هورمون) (شکل ۵، الف)، بیشترین قطر کالوس مربوط به تیمار mgl^{-1} NAA۴ در ترکیب با mgl^{-1} Kin ۰/۱ (۱۱/۲۲ میلی‌متر) و کمترین قطر مربوط به تیمار فاقد هورمون (شکل ۵، ب) و بیشترین درصد کالوس‌دهی در تیمار mgl^{-1} ۳ 2,4-D در ترکیب با mgl^{-1} Kin ۰/۲ (۷۸٪) بدست آمد (شکل ۴، ج).

اسرار زیدی و همکاران (۱) با استفاده از هورمون‌های mgl^{-1} BAP ۰/۵ و mgl^{-1} 2,4-D ۰/۵ میزان کالوس‌زایی *Juniperus excelsa* در محیط MS را ۵۰ درصد و در محیط WPM را ۹۰ درصد گزارش نمود. علت تفاوت در میانگین کالزایی در این گزارش با تحقیق حاضر می‌تواند مربوط به تفاوت در نوع ریز نمونه، و نیز در نوع و مقدار هورمون بکار گرفته شده باشد. توشیو و همکاران (۱۹) بیشترین میزان کالزایی در *Juniperus chinensis* را در غلظت ۳ میلی‌گرم در لیتر NAA و ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر Kin معرفی کردند که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد. گزارش صالحی شانجانی (۱۴) مبنی بر اینکه افزودن هورمون‌های سیتوکینین باعث افزایش رشد و درصد کالوس‌دهی در گیاه سرو کوهی می‌شود این نتیجه را تأیید می‌کند.

در گیاه سرخدار گزارش شده که بهترین رشد کالوس در محیط WPM همراه با تنظیم‌کننده‌های رشد 2,4-D توام با BAP در ریزنمونه رویان بالغ بوده است (۵) که با مطالعه حاضر از لحاظ نوع محیط کشت و اکسین به کار رفته مطابقت دارد.

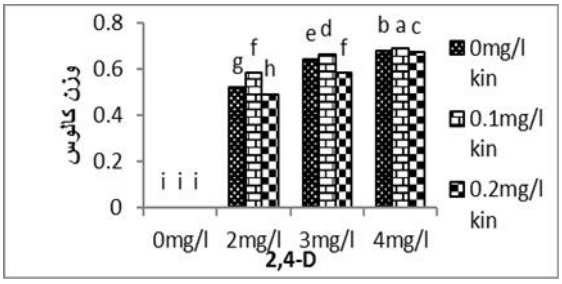
[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-07-18]

در این پژوهش کالزایی از سطوح برش یافته که به داخل محیط کشت فرو نرفته بودند آغاز می‌شد جداکشت‌های جوانه زودتر از جدا کشت‌های برگ شروع به کالزایی کردند. درصد کالوس‌زایی جوانه‌های جانبی به طور معنی‌داری (P= ۰/۰۰۱) از جداکشت‌های برگ بالاتر بود که این مسئله با یافته‌های قربانعلی و دلاور (۸) که روی گیاه سرخدار (سوزنی برگ) انجام گرفت مطابقت دارد.

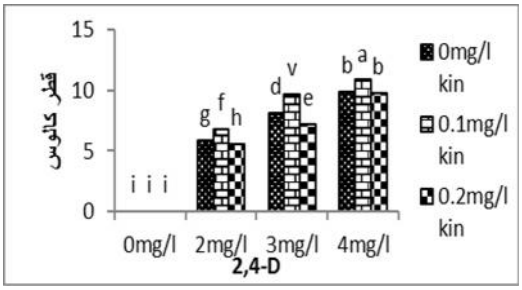
در آزمایش‌های مربوط به تنظیم‌کننده‌های رشد نتایج نشان داد که 2,4-D برای کالزایی جداکشت‌های جوانه جانبی بهتر از NAA عمل می‌کند و غلظت‌های کم Kin (۰/۱ و ۰/۲) روی کالزایی اثر مثبت دارد در این زمینه ویکرمزینه و آرتکا (۲۰) نشان دادند که در محیط‌های دارای ۲ میلی‌گرم در لیتر از هورمون Kin و غلظت‌های مختلف از اکسین هیچ‌گونه کالزایی در جداکشت‌های سرخدار صورت نمی‌گیرد و یا بسیار اندک است اما در محیط‌های حاوی ۰/۲ میلی‌گرم بر لیتر از هورمون Kin درصد کالزایی بسیار بالاست.

خسرو شاهی و همکاران (۱۰) بیان کردند که بیشترین درصد کالزایی مربوط به ریزنمونه ساقه گیاه سرخدار به میزان ۹۷/۴۶٪ در محیط کشت B5 تکمیل شده با NAA (۲ میلی‌گرم در لیتر)، 2,4-D (۰/۲ میلی‌گرم در لیتر) و Kin (۰/۲ میلی‌گرم در لیتر) است که با نتایج این پژوهش اختلاف دارد که علت این تفاوت را می‌تواند به دلیل نوع محیط کشت و نوع گیاه مورد مطالعه باشد.

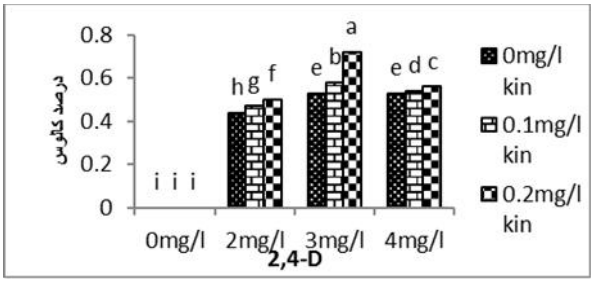
با توجه نتایج این آزمایش می‌توان پیشنهاد کرد که اگر هدف تولید کالوس است از محیط کشت WPM با ترکیب هورمونی ۳ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D با ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر Kin استفاده شود.



(الف)



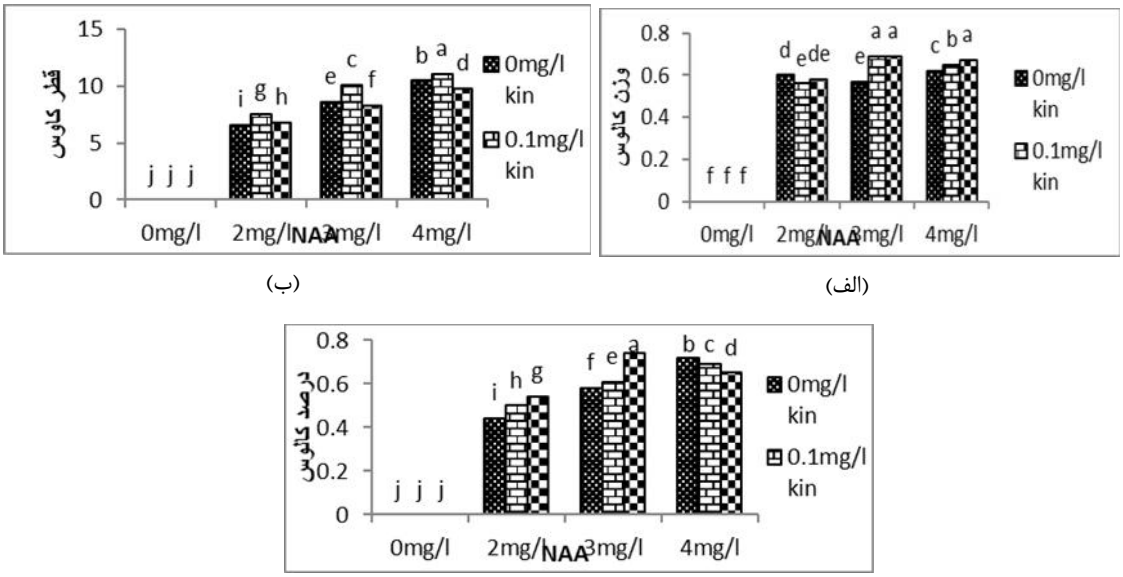
(ب)



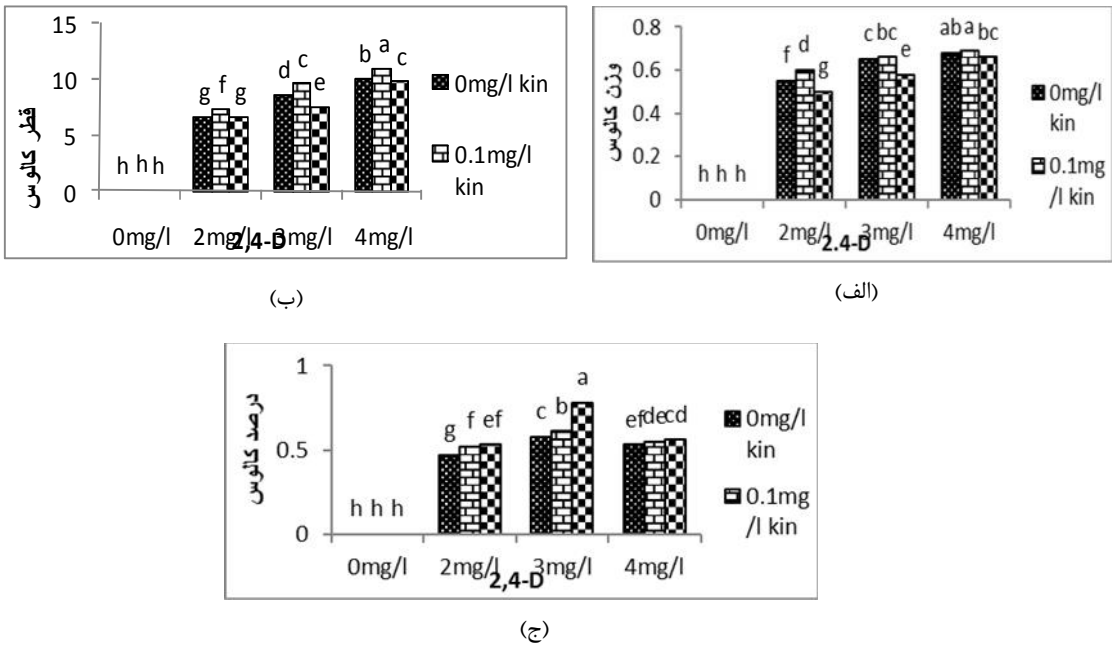
(ج)

شکل ۲- مقایسه میانگین اثر توامان هورمون 2,4-D و KIN روی صفات: الف) درصد تشکیل کالوس، ب) قطر کالوس و ج) وزن کالوس در محیط‌کشت MS

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-07-18]

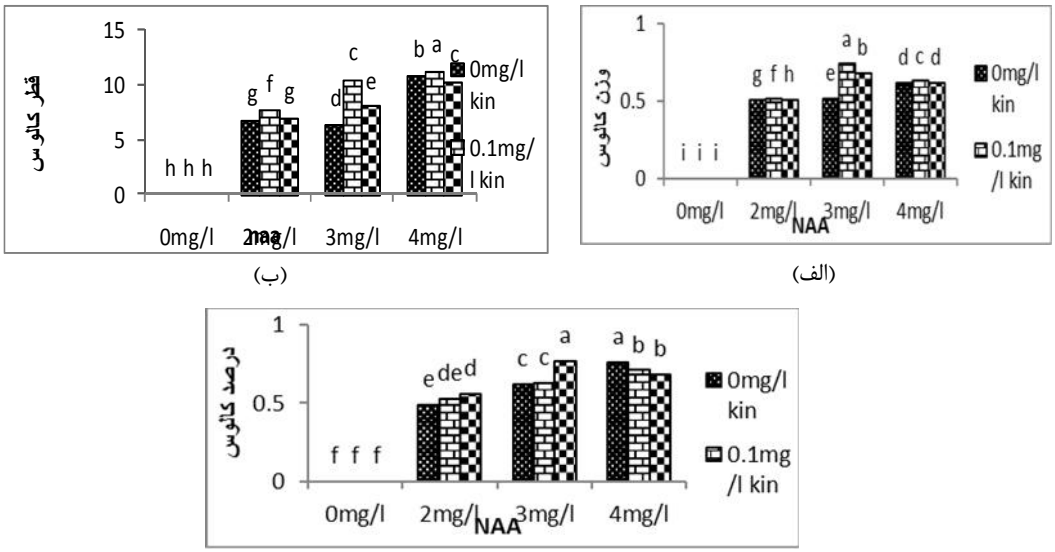


شکل ۳- مقایسه میانگین اثر توامان هورمون NAA و KIN روی صفات: الف) وزن کالوس، ب) قطر کالوس و ج) درصد تشکیل کالوس در محیط‌کشت MS



شکل ۴- مقایسه میانگین اثر توامان هورمون 2,4-D و KIN روی صفات: الف) وزن کالوس، ب) قطر کالوس و ج) درصد تشکیل کالوس در محیط‌کشت WPM

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-07-18]



شکل ۵- مقایسه میانگین اثر توامان هورمون NAA و KIN روی صفات: الف) وزن کالوس، ب) قطر کالوس و ج) درصد تشکیل کالوس در محیط‌کشت WPM

منابع

1. Asrar, Zaidi, M., S. Khan, N. Jahan, A. Yousafzai and A. Mansoor. 2012. Micropropagation and Conservation of Three Juniperus Specices (cuperssaceae). Pakistan journal of Botany, 44: 301-304.
2. Asnaashari, M., O. Karami and A. Mahmoodipour. 2007. In Vitro Callus Production from Leaf and Stem Explant of Norfolk Island pine (*Araucaria Excelsa* L.). Journal of Agricultural Sciences, 38: 659-664.
3. Bhojwanis, S. 1989. Theory and Practice Plant Tissue Culture. 767 pp., Publishing campany Inc., New York.
4. Correa, Y.M., J. Nino and Y. Mosquera. 2006. Cuantification the taxol y baccatin III EN callos de Taxus baccata por cromatografia liquida de alta eficiencia (HPLC). Scientia et Technica, 32: 431-435.
5. Datta, M.M., A. Majumder and S. Jha. 2006. Organogensis and plant regeneration in *Taxus wallichiana* (Zucc.). Plant Cell Reports, 25: 11-18.
6. Evan, D.E., J.O.D. Coleman and A. Kerans. 2003. Plant Cell Culture. BIOS Scientific Publisher-Taylor and Francis Group. ISBN: 1 85996 320 X, 194 pp.
7. Hussain, A., I.A. Qarshi H. Nazir, I. Uliah, M. Rashid and Z.Kh. Shinwari. 2013. In vitro callogenesis and organogenesis in *Taxus wallichiana zucc*.the Himalayan yew. Pakistan Journal of Botany 45: 1755-1759.
8. GHorbanli, M. and K. Delavar. 2001. Effect of the type and Concentration of Sugars on Taxol in callus of Taxus Baccata L.Iranian Journal Agricalture Sciences, 32: 575-583.
9. Kirby, E.G., T. Leustek and M.S. Lee. 1987. Nitrogen nutrition. *In:* Bonga,J.M. and D.J. Durzan, (eds.), *Cell and Tissue Culture in Forestry*, 1: 237 pp.
10. KHosroshahi, M., M. Valizade, A. GHasempour, M. KHosroshahli and H. Naghdi. 2006. The effect of Culture Media, Explant and growth regulators on callus and Taxol production in Taxus baccata L. Journal of Agricultural Sciences, 1: 69-78.
11. Muhammad, I., J.S. Mossa and F.S. El-Feraly. 1992. Antibacterial diterpenes from the leaves and seeds of Juniperus excelsa M. Bieb. Phytotherapy Research, 6: 261-2. 95.
12. Nasseri, E., S. Kalantari and R. Naderi. 2013. The effect of culture media type and species on embryogenic tissue induction in somatic embryogenesis of pine genus. Iranian Journal of Forest and Poplar Research, 20: 679-690.
13. Sadghi, H., K.A. KHavari-Nejad, H. Fahimi and F. Falahian. 2006. The effect of growth regulators on callus production potential and growth in the stem explant of Tehran Pine (Pinus Eldrica M.). Journal of Agricultural Sciences, 13: 650-664.
14. Salehi Shanjani, P. 2006. Seasonal variation of the leaf and cone oil of Juniperus Excelsa M.B Journal of Medicinal Plants, 17: 50-8.
15. Salehi Shanjani, P. 2003. Nitrogen Effect on Callus Induction and Plant Regeneration of *Juniperus excels*. International Journal of Agriculture and Biology, 5: 419-422.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-07-18]

16. Skala, A. and A. Wysokinska. 2006. In viro Regeneration of (*SalvIa nemorosa* L.) from shoot tips and leaf explants. Department of Biology and Pharmaceutical Botany, 1: 90-151.
17. Sokovic, M.D., M. Ristic and D. Grubisic. 2004. Chemical Composition and Antifungal Activity of the Essential Oil from Juniperus excelsa Berries. Pharmaceutical Biology, 42: 328-31.
18. Topçu, G., R. Erenler, O. lakmak, C.B. Johansson, C. Lelik, H.B. Chai and J.M. Pezzuto. 1999. Diterpenes from the berries of Juniperus excelsa. Phytochem. Phytochemistry, 50: 1195-1197.
19. Toshio, M., M. Masaru, I. Kazutaka and T. Sanro. 1998. Production of Podophyllotoxin in Juniperus Chinensis Callus Cultures Treated with Oligosaccharides and a Biogenetic Precursor. Phytochemistry, 49: 491-496.
20. Wickremesinhe, S.Y.P. and N. Arteca. 1993. Taxus callus culture: Initation optimization, optimization and Taxol production. Flant Cell Tiss.Org, 35: 181-193.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-07-18]

Comparison of Amount of Callus Induction in *Juniperus Excelsa* on MS and WPM Culture Media Using Different Concentration of NAA, 2,4-D and Kin

Hassan Baravardi[1], Gholam Ali Ranjbar[2] and Sodeh Kamali Farah Abadi[3]

1- M.Sc. Student, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University
(Corresponding author: h.baravardi@gmail.com)
2 and 3- Associate Professor and Expert, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University
Received: October 23, 2014 Accepted: February 4, 2015

Abastract

Juniper (*Juniperus excels*a L.), a plant with very slow growth and belong to *Cuperssaceae* family, has medicinal characteristics and is rich in aromatic essential oils and valuable in Pharmaceutical and perfumery industries. Therefore, to use tissue culture an experiment was undertaken using lateral buds explants. Present study has been fulfilled using factorial experiments based on completely randomized designs with 3 replications using MS (Murashige and Skoog) and WPM (Woody Plants Medium) in two separate experiments that supplemented with different concentrations of Kin (0, 0.1, 0.2 mgl^{-1}) with 2,4-D (0, 1, 2, 3, 4 mgl^{-1}) and NAA (0, 1, 2, 3, 4 mgl^{-1}) with Kin (0, 0.1, 0.2 mgl^{-1}). The highest average weight of calli was produced on WPM medium containing 3 mgl^{-1} NAA in combination with 0.2 mgl^{-1} Kin. The highest diameter of calli was formed on WPM medium containing 4 mgl^{-1} NAA in combination with 0.1 mgl^{-1} Kin and the highest percentage of callus induction was also obtained on WPM medium containing 3 mgl^{-1} 2,4-D in combination with 0.2 mgl^{-1} Kin.

Keywords*:* Callus Induction, Phytohormone, *Juniperus Excelsa* L., Lateral Buds Explants

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-07-18]