تأثیر غلظت‌های مختلف هورمونی و نوع ریزنمونه بر کالوس‌زایی گیاه شقایق ایرانی (*papaver bracteatum*)

سیده شکوفه مجتوی* و منصور امیدی

کرج، دانشگاه تهران، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، گروه بیوتکنولوژی کشاورزی

تاریخ دریافت: ۹۳/۱/۱۸ تاریخ پذیرش: ۹۳/۱۲/۱۹

چکیده

با توجه به مزایای تکثیر درون شیشه‌ای نسبت به روش‌های رایج، در پژوهش حاضر اثر غلظت‌های مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی 2,4-D (دی کلروفنوکسی استیک اسید) و BAP (بنزیل‌آمینوپورین) و نوع ریزنمونه (ریشه، برگ و طوقه) بر القای کالوس‌زایی گیاه شقایق ایرانی از طریق اندازه‌گیری صفات وزن تر، سطح و حجم کالوس بررسی شد. تحقیق حاضر بر پایه آزمایش فاکتوریل و در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار انجام شد. با توجه به نتایج بدست آمده بیشترین وزن تر کالوس (۱/۵۲ گرم)، بیشترین سطح کالوس (۱/۲۵ سانتی‌متر مربع) و بیشترین حجم کالوس (۰/۵۶۲ سانتی‌متر مکعب) مربوط به ریزنمونه ریشه می‌باشد که در غلظت هورمونی ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر 2,4-D و ۰/۵ میلی‌گرم لیتر BAP مشاهده شد. کمترین وزن تر حاصل (۰/۰۶۱ گرم) مربوط به ریزنمونه طوقه بود که در غلظت ۰/۱ میلی‌گرم لیتر 2,4-D و ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر BAP مشاهده گردید. کمترین سطح کالوس (۰/۱۳ سانتی‌متر مربع) برای ریزنمونه ریشه در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم لیتر 2,4-D و ۱ میلی-گرم بر لیتر BAP و کمترین حجم کالوس (۰/۰۰۸ سانتی متر مکعب) متعلق به ریزنمونه ریشه در غلظت هورمونی ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر 2,4-D و ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر BAP حاصل شد.

واژه‌های کلیدی: تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی، ریزنمونه، کالوس‌زایی، کشت بافت، شقایق ایرانی

* **نویسنده مسئول**، تلفن: ۰۹۳۳۴۲۹۷۴۶۴ ، پست الکترونیکی: shokufemojtavi@gmail.com

مقدمه

گیاهان دارویی از هزاران سال پیش بعنوان یکی از مهمترین منابع دارویی کاربرد داشته‌اند. در طول تاریخ همیشه با انسان قرابت خاصی داشته‌اند و آثار دارویی و موارد استفاده آن بر هیچ کس پوشیده نیست. اگرچه علاقه‌مندی و توجه به این گیاهان در سال-های گذشته ناچیز بود ولی خوش‌بختانه اخیرا مورد توجه و عنایت بیشتری قرار گرفته است (۱).

گیاه دارویی شقایق ایرانی (*Papaver bracteatum*) از خانواده Papaveraceae قدمتی فراتر از ۴ هزار سال دارد. برای اولین بار توسط لیندلی در سال ۱۸۲۱ شناخته شد. این گونه قرابت نزدیکی با گونه‌های *P. orientale* و *P. pseudoorientale* دارد و گیاهی دیپلوئید (2n = 14) می‌باشد (۳). این گیاه دارای ریشه مخروطی یا مارپیچی شکل است که بطور مستقیم در زمین فرو می‌رود و طول ریشه اصلی این گیاه متفاوت بوده و به گونه گیاه و شرایط اقلیمی محل رویش بستگی دارد و به طور متوسط بین ۱۸ تا ۲۰ سانتی‌متر طول و قطر آن ۱ تا ۲ سانتی‌متر متغیر می‌باشد. ریشه خشخاش دارای انشعاب‌های کمی است و ریشه‌های جانبی شبکه بسیار وسیعی از ریشه‌های ظریف را تا عمق ۵۰ تا ۱۰۰ سانتی‌متر خاک بوجود می‌آورند و بخش فوقانی ریشه قطورتر است که باعث استحکام می‌شود. ساقه مستقیم استوانه‌ای شکل با سطحی صاف به رنگ سبز روشن و ارتفاع آن با توجه به شرایط اقلیمی محل رویش، متفاوت است. برگ‌های این گیاه بیضی شکل و در سطح زمین قرار می‌گیرند و بدون دمبرگ هستند و به طور متناوب بر روی ساقه قرار می‌گیرند و برگ‌های پایین ساقه بزرگتر بوده که بتدریج به طرف بالا کوچک‌تر و تخم‌مرغی شکل می‌شوند. گل-

های این گیاه انتهای ساقه‌های اصلی و فرعی پدیدار می‌شوند و دارای گلبرگ سفید هستند که ناحیه فوقانی به رنگ بنفش یا روشن است و میوه خشخاش به شکل گرز بوده که شیره‌های مخصوص تولید می‌کند(۲). در مطالعاتی بر روی گیاه سیکاس *Cycas revoluta* تأثیر 2,4-D و پیکلورام با غلظت ۵، ۱۰ و ۲۰ میکرومولار بر کشت ریز نمونه آندوسپرم مورد بررسی قرار گرفت و نشان داد که افزایش غلظت 2,4-D از ۵ به ۲۰ میکرومولار باعث کاهش کالوس‌زایی شد، در حالی که در ریزنمونه آندوسپرم با افزایش غلظت پیکلورام از ۵ به ۲۰ میکرومولار، میزان کالوس‌زایی افزایش یافت (۸). القای کالوس از نمونه‌های برگ گیاه *Leonurus heterophylus Sw.* در غلظت‌های مختلف 2,4-D (۰/۵ – ۲ میلی‌گرم در لیتر) مورد بررسی قرار گرفت که بیشترین میزان القای کالوس در ۲ میلی‌گرم در لیتر به دست آمد (۱۱). طبق نتایج حاصل از آزمایش‌ها کشت برگ‌های اولیه حاصل از بذر F1 گیاه خیار (*Cucumis sativus*) در محیط کشت MS حاوی غلظت‌های 2,4-D (صفر، ۱، ۲ و ۳ میلی‌گرم در لیتر) و غلظت‌های NAA (صفر و ۰,۲۵ میلی‌گرم در لیتر)، بیشترین وزن‌تر کالوس در غلظت ۳ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D بدست آمد (۵).

همچنین در بررسی انجام شده روی گیاه *P.somniferum*، گزارش شده هنگامی که فقط یک نوع هورمون در محیط کشت وجود داشته باشد کالوس تولید نخواهد شد. البته اکسین و سیتوکنین بطور گسترده‌ای به عنوان تنظیم‌کننده-های گیاهی استفاده می‌شوند و معمولا نیز با هم به‌کار می-روند (۴). با توجه به اینکه کالوس‌زایی از مراحل اساسی جهت تکثیر درون شیشه‌ای گیاهان می‌باشد و تولید کالوس مناسب، مستلزم داشتن ریزنمونه و محیط بهینه می-باشد، بنابراین مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر نوع ریز نمونه و غلظت‌های مختلف مواد تنظیم کننده رشد بر القای کالوس‌زایی گیاه شقایق ایرانی به عنوان یک مرحله اساسی در تکثیر درون شیشه‌ای این گیاه انجام شد.

مواد و روشها

تهیه بذر: بذر گیاه *Papaver bracteatum* رقم پلور از پژوهشکده گیاهان دارویی دریافت شد (منطقه پلور با طول جغرافیایی: ۳۶ دقیقه و ۵۲ درجه و عرض جغرافیایی: ۴۲ دقیقه و ۳۵ درجه) و به مدت ۳–۲۲ ماه در یخچال با دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شدند.

آماده سازی بذر و کشت آنها: ابتدا بذرها سترون شدند، بدین صورت که ابتدا با الکل ۷۰٪ به مدت ۳–۲ دقیقه شسته شده و بعد با آب مقطر سترون ۲ بار شستشو نموده و به مدت ۱۰–۹ دقیقه در هیپوکلراید سدیم ۷٪ قرار داده شد و ظرف بمنظور ضد عفونی بهتر بذرها تکان داده شد. در نهایت ۶–۴ بار با آب مقطر سترون شسته شدند. بذرهای سترون شده زیر محفظه هود که قبلا با الکل ۷۰٪ و اشعه UV به مدت ۳۰–۲۰ دقیقه سترون شده بود در محیط کشتMS ۱/۱۰ (موراشیک و اسکوگ، ۱۹۶۲) با ۳٪ شکر، ۰/۷٪ آگار، آهن کامل و ویتامین B5 بمنظور تهیه گیاهچه سترون کشت شدند و در اتاقک کشت با دمای ۲۱–۲۰ سانتی‌گراد و ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی نگهداری شدند (۴). بعد از ۹–۸ هفته از گیاهچه-های حاصل در شرایط سترون (زیرهود) ریز نمونه بمنظور تولید کالوس تهیه شد. ریز نمونه ها شامل ریشه، طوقه و برگ بود که در محیط ۱/۲MS با ویتامین B5 و آهن کامل و ۵ غلظت هورمونی مختلف کشت شدند (جدول ۱) و دو بار واکشت به فاصله زمانی ۸ هفته انجام شد.

جدول ۱– تیمارهای هورمونی مورد استفاده در محیط کشت ۱/۲MS به‌منظور تشکیل کالوس از ریزنمونه‌های مختلف گیاه شقایق ایرانی

۲,۴-D(mg/l)	۰/۱	۱	۰/۵	۰/۵	۱
BAP(mg/l)	۰/۱	۰/۵	۰/۵	۱	۱

اندازه گیری وزن، سطح و حجم کالوس: بررسی کالوس-های حاصل با اندازه‌گیری سطح و حجم آنها و اندازه‌گیری وزن تر انجام شد. با توجه به اینکه برای اندازه‌گیری سطح کالوس به دلیل نامنظمی شکل کالوس‌ها، باید از یک روش مطمئن استفاده گردد. برای این منظور از کاغذ میلی‌متری استفاده شد. برای اندازه‌گیری سطح کالوس بزرگ‌ترین طول و عرض کالوس اندازه گیری و از حاصل‌ضرب آنها سطح کالوس به‌دست آمد. حجم کالوس نیز از ضرب سطح کالوس در بزرگترین ارتفاع کالوس حاصل شد. این تحقیق بر پایه آزمایش فاکتوریل و در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار و پنج ریز نمونه در هر تکرار انجام شد. در پایان آزمایش، داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.2 مورد آنالیز قرار گرفتند و میانگین‌ها نیز مطابق آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۱ درصد با یکدیگر مقایسه شدند.

نتایج

اثر تنظیم کننده‌های رشد 2,4-D و BAP در غلظت‌های متفاوت بر کالوس‌زایی اندام‌های ریشه، برگ و طوقه گیاه شقایق ایرانی بررسی شد. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر ساده غلظت تنظیم کننده و ریز نمونه و همچنین اثر متقابل غلظت تنظیم کننده و نوع ریز نمونه بر صفات اندازه‌گیری شده شامل وزن تر و سطح کالوس در سطح احتمال ۱٪ معنی دار بود، در حالی که اثر ساده نوع ریز نمونه برای صفت حجم کالوس با اطمینان ۹۹ درصد معنی دار نبود. ولی سایر فاکتورها تأثیر معنی‌داری بر روی حجم کالوس در سطح احتمال ۱٪ داشت (جدول ۲).

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر نوع ریزنمونه و غلظت تنظیم‌کننده رشد مورد استفاده بر وزن تر، سطح و حجم کالوس‌های شقایق ایرانی در شرایط درون شیشه‌ای

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات		
		وزن تر کالوس (گرم)	سطح کالوس (سانتی‌مترمربع)	حجم کالوس (سانتی‌مترمکعب)
تنظیم‌کننده رشد	۵	۱/۶۸** [۱]	۰/۳۴ **	۰/۲۱ **
ریزنمونه	۲	۰/۰۳۰ **	۰/۰۴۴ **	۰/۰۰۰۹
ریزنمونه × تنظیم‌کننده رشد	۱۰	۰/۱۴ **	۰/۱۴۹ **	۰/۰۳۷ **
خطای آزمایشی	۳۶	۰/۰۰۲	۰/۰۰۵	۰/۰۰۰۷
ضریب تغییرات (٪)	--	۹/۵۶	۱۵/۹۱	۱۶/۷۴

۱: میانگین مربعات **: معنی‌دار بودن در سطح احتمال یک درصد

جدول ۳- اثر غلظت‌های مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد بر صفات مورد بررسی بعد از ۸ هفته

تیمارهورمونی (میلی‌گرم در لیتر)	وزن تر کالوس (گرم)	سطح کالوس (سانتی‌مترمربع)	حجم کالوس (سانتی‌مترمکعب)
شاهد	۰/۰۰ e	۰/۰۰ e	۰/۰۰ e
2,4-D = ۰/۵ و BAP = ۱	۰/۴۵ d	۰/۳۵ c	۰/۰۸ d
2,4-D = ۰/۱ و BAP = ۰/۱	۰/۰۷ e	۰/۱۱ d	۰/۰۱ e
2,4-D = ۰/۵ و BAP = ۰/۵	۱/۰۶ a	۰/۹۲ a	۰/۳۷ a
2,4-D = ۱ و BAP = ۱	۰/۸۹ b	۰/۸۷ a	۰/۳۱ b
2,4-D = ۱ و BAP = ۰/۵	۰/۶۷ c	۰/۵۹ b	۰/۱۸ c

در هر ستون، اختلاف میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک مطابق آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار نمی‌باشد.

بیشترین وزن تر (۱/۰۶ گرم) و سطح (۰/۹۲ سانتی-مترمربع) و حجم کالوس (۰/۳۷ سانتی‌مترمکعب) مربوط به غلظت ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر 2,4-D و ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر BAP می‌باشد. کمترین میزان وزن تر (۰/۰۷گرم) و سطح (۰/۱۹ سانتی‌مترمربع) و حجم کالوس (۰/۰۴ سانتی‌مترمکعب) در تیمار ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر 2,4-D و ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر BAP مشاهده شد. در تیمار شاهد هیچ‌گونه کالوس‌زایی مشاهده نشد (جدول ۳).

همان‌طور که در جدول ۴ نشان داده شده بین ریز نمونه-های مورد استفاده، ریشه بیشترین وزن تر (۰/۵۷ گرم) و برگ و طوقه بترتیب با وزن تر ۰/۵۱ و ۰/۴۹ گرم از نظر آماری با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نشان ندادند. ریز نمونه طوقه بیشترین سطح کالوس (۰/۵۳ سانتی متر مربع) را نشان داد. ریز نمونه برگ با سطح ۰/۱۷ سانتی متر مکعب بیشترین سطح کالوس را داشت، با ذکر این نکته که هر سه ریز نمونه با یکدیگر از نظر میزان سطح، اختلاف معنی‌داری نداشتند.

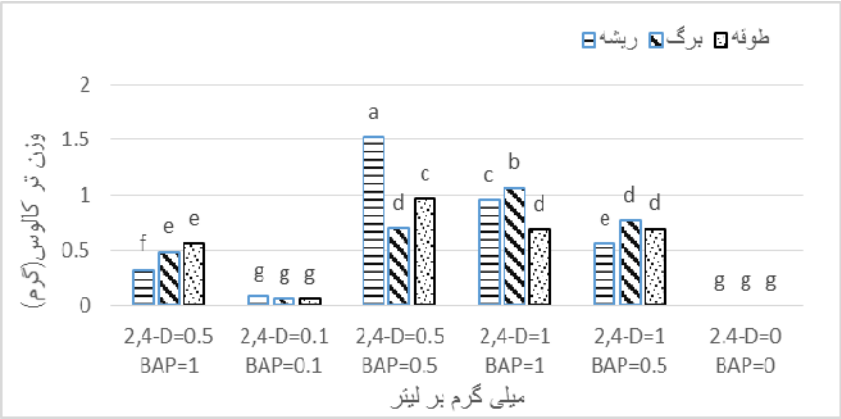
جدول ۴- اثر نوع ریزنمونه بر صفات مورد بررسی بعد از ۸ هفته

نوع ریزنمونه	وزن تر کالوس (گرم)	سطح کالوس (سانتی‌مترمربع)	حجم کالوس (سانتی‌مترمکعب)
ریشه	۰/۵۷ a	۰/۴۵ b	۰/۱۵ a
برگ	۰/۵۱ b	۰/۴۴ b	۰/۱۷ a
طوقه	۰/۴۹ b	۰/۵۳ a	۰/۱۵ a

در هر ستون، اختلاف میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک مطابق آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار نمی‌باشد.

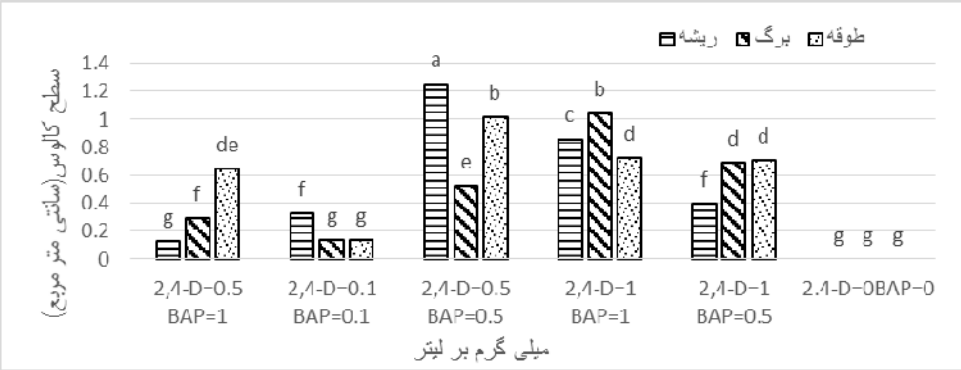
در بررسی اثر متقابل تیمارهای هورمونی در نوع ریز نمونه بر وزن تر کالوس، بیشترین وزن تر کالوس (۱/۵۲گرم) در ریزنمونه ریشه و ریز نمونه طوقه (۰/۹۶ گرم) در تیمار هورمونی ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر 2,4-D و ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر BAP بدست آمد. و کمترین وزن تر حاصل (۰/۰۶۱ گرم) مربوط به ریز نمونه طوقه بود که در غلظت ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر 2,4-D و ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر BAPمشاهده شد. البته در این غلظت سایر ریز نمونه‌ها نیز با هم اختلاف معنی‌داری نداشتند. بیشترین وزن تر ریز نمونه برگ (۱/۰۶ گرم) مربوط به یک میلی‌گرم بر لیتر 2,4-D و یک میلی‌گرم بر لیتر BAP می‌باشد (شکل ۱). برای صفت وزن کالوس، ریز نمونه ریشه به‌طور معنی‌داری بیشترین تأثیر را ایجاد کرد.

بیشترین سطح کالوس (۱/۲۵ سانتی‌متر مربع) مربوط به ریز نمونه ریشه می‌باشد که در غلظت هورمونی ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر 2,4-D و ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر BAP مشاهده شد که در این غلظت ریز نمونه طوقه نیز بیشترین سطح کالوس (۱/۰۱سانتی‌متر مربع) را نشان داد و کمترین سطح کالوس (۰/۱۳ سانتی‌متر مربع) برای ریز نمونه ریشه در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر 2,4-D و یک میلی‌گرم بر لیترBAP بدست آمد. برای ریز نمونه برگ بیشترین سطح (۱/۰۴۳ سانتی‌متر مربع) و کمترین سطح (۰/۱۳۵ سانتی‌متر مربع) بترتیب در غلظت‌های یک میلی‌گرم 2,4-D و یک میلی‌گرم بر لیتر BAP و ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر 2,4-D و ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر BAP مشاهده شد (شکل ۲).



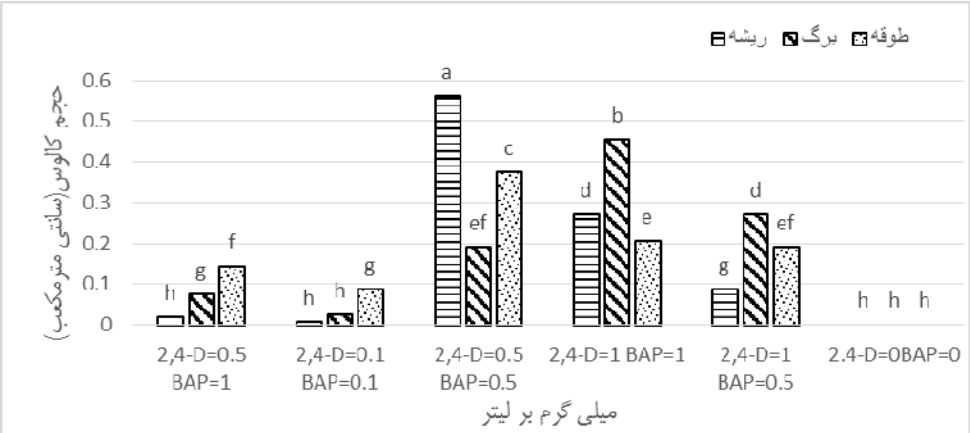
شکل۱- اثر متقابل تیمارهای هورمونی و نوع ریزنمونه بر وزن تر کالوس

اختلاف میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک مطابق آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار نمی‌باشد.



شکل ۲- اثر متقابل تیمارهای هورمونی و نوع ریزنمونه بر سطح کالوس

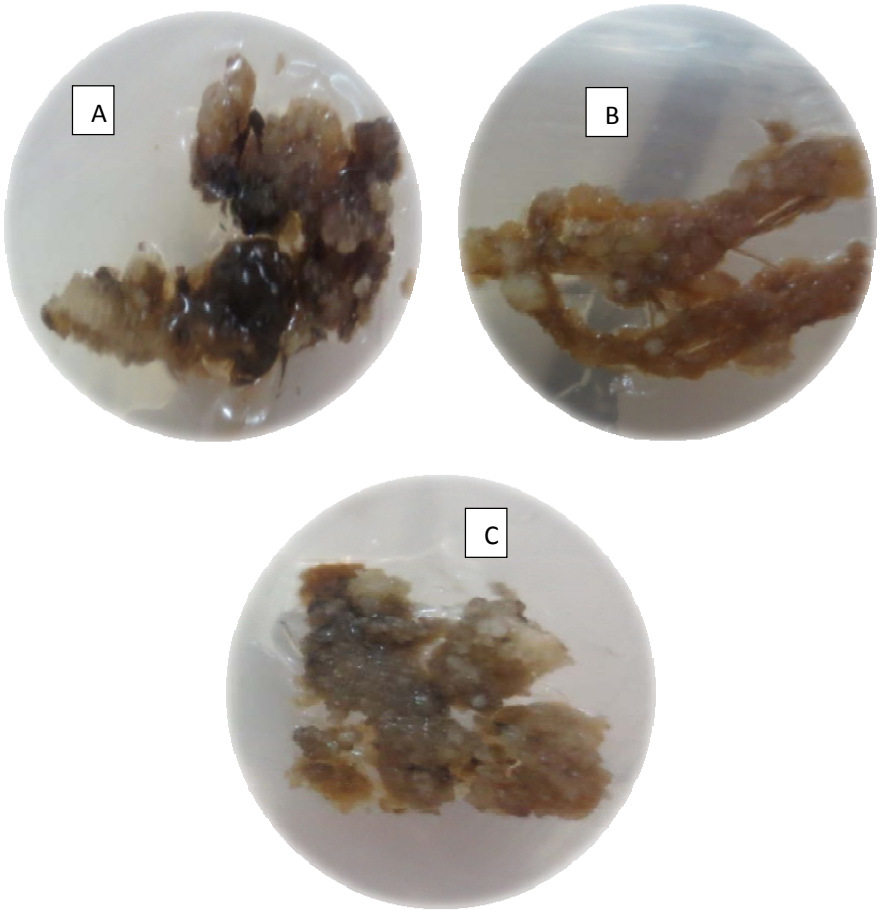
اختلاف میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک مطابق آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار نمی‌باشد.



شکل ۳- اثر متقابل تیمارهای هورمونی و نوع ریزنمونه بر حجم کالوس

اختلاف میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک مطابق آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار نمی‌باشد.

همان‌طور که در شکل ۳ مشاهده می‌شود بیشترین حجم کالوس (۰/۵۶۲ سانتی‌متر مکعب) در غلظت هورمونی ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر 2,4-D و ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر BAP مشاهده شد که مربوط به ریز نمونه ریشه می‌باشد و کمترین حجم کالوس (۰/۰۰۸ سانتی‌متر مکعب) متعلق به ریز نمونه ریشه می‌باشد که در غلظت هورمونی ۰/۱ میلی-گرم بر لیتر 2,4-D و ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر BAP حاصل شد. بیشترین سطح (۰/۴۵ سانتی‌متر مکعب) برای ریز نمونه برگ در غلظت هورمونی یک میلی‌گرم بر لیتر 2,4-D و یک میلی‌گرم بر لیتر BAP بدست آمد.



شکل ۴- شکل ظاهری کالوس‌های حاصل از ریزنمونه‌های A: ریشه B: برگ و C: طوقه در تیمار هورمونی ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر 2,4-D و ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر BAP بعد از ۸ هفته

بحث

با توجه به نتایج بدست آمده، حضور هورمون اکسین و سیتوکنین در القا و رشد کالوس ضروری بنظر می‌رسد. ریز نمونه‌های ریشه، برگ و طوقه در محیط شاهد (کنترل) هیچ گونه پاسخی به کالوس‌زایی نشان ندادند و پس از یک ماه سیاه شده و از بین رفتند. به‌طور مشابه در آزمایشی روی گیاه *Artemisia absinthium* هیچ پاسخ کالوس‌زایی در ریز نمونه برگ و ساقه در محیط بدون هورمون مشاهده نشد و ریزنمونه‌ها بعد از چند روز از بین رفتند(۷).

بین ریز نمونه‌های مورد استفاده (ریشه، برگ و طوقه)، از نظر وزن، حجم و سطح کالوس تفاوت وجود داشت. در تحقیقی مشاهده شد که در ریز نمونه‌های مختلف (برگ،

دمبرگ، کوتیلدون و ...) گیاه کاکائو در ایجاد کالوس تفاوت وجود داشت که این تغییرات مربوط به شرایط فیزیولوژیکی و عوامل ژنتیکی بود (۹). در محیط کشت حاوی غلظت هورمونی ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر 2,4-D و ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر BAP برای ریزنمونه ریشه و طوقه کالوس بهتری حاصل شد و برای ریز نمونه برگ در غلظت هورمونی ۱ میلی‌گرم بر لیتر 2,4-D با ۱ میلی‌گرم بر لیتر BAP به دست آمد که این نتیجه با نتایج حاصل روی گیاه *p.orientale* مطابقت داشت (۱۲). تیمار هورمونی ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر 2,4-D با ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر BAP از نظر آماری اختلاف معنی داری با شاهد نداشت. در غلظت‌های بالاتر وقتی این دو هورمون به نسبت مساوی به محیط کشت اضافه شدند پاسخ مناسب‌تری را نشان دادند که در این میان غلظت ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر 2,4-D و ۰/۵ میلی-گرم بر لیتر BAP با توجه به نتایج به دست آمده برای تولید کالوس در گیاه شقایق ایرانی مناسب‌تر است که نتایج حاصل با بررسی انجام شده در کشت درون شیشه‌ای گیاه *Papaver bracteatum* مطابقت نشان داد (۴).

جمع‌بندی کلی

ریزنمونه ریشه نسبت به سایر ریز نمونه ها کالوس بهتری تولید کرد که در غلظت هورمونی ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر 2,4-D و ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر BAP بدست آمد. ریز نمونه برگ نیز در غلظت هورمونی ۱ میلی‌گرم بر لیتر 2,4-D و ۱ میلی‌گرم بر لیتر BAP کالوس بهتری نسبت به سایر تیمارهای هورمونی تولید کرد، و کالوس مناسب برای ریزنمونه طوقه در غلظت هورمونی ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر 2,4-D و ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر BAP بدست آمد. که با توجه به اهداف بعدی می‌توان ریزنمونه و تیمار مناسب را انتخاب کرد.

منابع

1. Akçam OE (2006) Alkaloid Production in Tissue Cultures of *Papaver*. Plant Tissue Cult. & Biotech. 16: 1-4
2. Faribarin JW, Helliwel K (1977) *Papaver btacteatum* Lindly: thebaine content in relation to plant development. Journal of Pharmacy and Pharmmacology 29: 65-69.
3. Goldblatt P (1974) Biosystematic studies in *Papaver* section Oxytona. Ann of the Misso. Bot. Garden 2: 264-296.
4. Ilahi I, Ghauri EG (1994) Regeneration in cultures of *Papaver bracteatum* as influenced by growth hormones and temperature. Plant Cell,issue and Organ Culture 38: 81-83, 1994.
5. Khaled M, Elmeer S, Michael H (2008) Observations on the combined effects of light, NAA and 2, 4-D on somatic embryogenesis of cucumber (*Cucumis sativus*) hybrids. Plant Cell, Tissue, Organ Culture, 95: 381.384.
6. Mihalik E (1998) Biology of poppy. Taxonomy. In Bernath, J. (ed.) Poppy: the genus *Papaver*. Harwood Academic Publishers. Australia. pp 7-47
7. Nin S, Morosi E, Schiff S, Bennici A. (1996). Callus culture of *Atremisia absinthium* L.initiation, growth optimization and organogenesis. Plant Cell Tissue & Organ Culture, 45: 67-72.
8. Pick kA, Shu Thing Y, Gansau J, Hussein S (2008) Induction and multiplication of callus from endosperm of Cycas revoluta. African Journal of Biotechnology 7: 4279-4284.
9. Traore A, Guiltinan MJ (2006) Effects of carbon source and xeplant type on somatic embryogenesis of four *cacao* genotypes. HortScience 41: 753-758.
10. Wang YD, Yuan YJ, Wu JC (2003) Translocation of isopentenyl pyrophosphate for Taxol biosynthesis in suspension cultures of *Taxus chinensis* var. mairei. Plant Cell Tissue Organ Cult. 74: 283–288
11. Yang J, Gong ZC, Tan X (2008) Induction of callus and extraction of alkaloid from Yimu Cao (*Leonurus hetrophyllus* Sw.) culture. African Journal of biotechnology 7:1157-1162
12. Zakaria RA, Haghighat Hour M, Zare N (2011) Callus production and regeneration of the medicinal plant *Papaver orientale*. African Journal of Biotechnology 54: 11152-11156.

The effect of different concentrations of hormones and explant type on callus induction of *persian poppy* (*papaver bracteatum*)

Mojtavi S.S.and Omidi M.

Agronomy and Plant Breeding Dept., University of Tehran, Karaj, I.R. of Iran

Abstract

According to the in vitro advantages compared to conventional method, the effect of different concentrations of plant growth regulators (2,4-D and BAP) and explants (root, leaf and crown) on callus production in Iranian poppy plants by measuring the fresh weight, callus volume and callus surface was studied. The present study performed on base of factorial experiment in a completely randomized design with three replications. According to the obtained results, the highest callus fresh weight (1.52 g), the highest callus surface (1.25 cm^2) and the highest callus volume (0.562 cm^3) related to the root explant in hormone treatment of 0.5 mg/l 2,4- D and 0.5 mg/l BAP. The lowest fresh weight (0.061 g) observed in concentration of 1.0 mg/l 2,4-D and 1.0 mg/l of BAP and the crown explant. The lowest surface of callus (0.13 cm^2) for root explant was obtained at 0.5 mg/l 2,4-D and 1 mg/l BAP and the lowest callus volume (0.008 cm^3) was owned by root explant in hormone concentration of 0.1 mg/l 2,4-D and 0.1 mg/l BAP.

Key words: *plant growth regulators, explants, callus induction, tissue culture, Persian Poppies*