مقاله کوتاه فنآوری تولیدات گیاهی/ جلد بیست و یکم/ شمارهٔ دوم/ صفحات ۱۲۳-۱۳۲/ پاییز و زمستان ۱۴۰۰
DOI: 10.22084/PPT.2022.21106.1975

بهینه‌سازی شرایط تولید کالوس و باززایی شاخساره در دو رقم گلرنگ (*Carthamus tinctorius*)

Optimization of Callus Induction and Shoot Regeneration in Two Safflower (*Carthamus tinctorius*) Cultivars

سحر داشچی[۱]، کیانوش چقامیرزا[۲*]، حسن رهنما[۳] و کتایون زمانی[۴]

تاریخ دریافت: ۹۹/۱۲/۰۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۲/۲۱
(مقاله کوتاه پژوهشی)

چکیده

گلرنگ (*Carthamus tinctorius*) به‌عنوان یکی از مهم‌ترین محصولات اقتصادی جهان دارای یکی از با کیفیت‌ترین انواع روغن‌های خوراکی است. ارقام گلرنگ در مقایسه با دیگر گیاهان نسبت به روش‌های مختلف کشت بافت و باززایی، گیاهان سرسختی هستند. بنابراین ارائه روشی با بازدهی بالا برای باززایی ارقام تجاری گلرنگ کشور ضروری است. در این پژوهش اثر غلظت‌های مختلف هورمون های BAP، Kin و TDZ بر صفات کالوس‌زایی و باززایی نو ساقه ریزنمونه‌های زیرلپه و لپه ارقام گلمهر و صفه گلرنگ بر روی محیط کشت MS حاوی ۰، ۰/۲، ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم در لیتر هورمون NAA موردبررسی قرار گرفت. نتایج حاکی از آن بود که بیش‌ترین میزان کالوس‌دهی با زیرلپه رقم گلمهر در محیط حاوی غلظت‌های یک میلی‌گرم در لیتر TDZ و نیم میلی‌گرم در لیتر NAA به میزان تقریبی ۹۹/۵ درصد و بالاترین مقدار باززایی نیز در محیط حاوی یک میلی‌گرم در لیتر TDZ و صفر میلی‌گرم در لیتر NAA در ریزنمونه لپه رقم گلمهر و حدود ۳۳ درصد مشاهده شد. در ادامه شاخساره‌های حاصل به‌منظور ریشه‌زایی به هشت نوع محیط ریشه زایی مختلف منتقل شدند. بهترین محیط برای ریشه‌زایی محیط‌کشت MS حاوی ۲ میلی‌گرم در لیتر IBA، ۲۰ گرم ساکارز و ۷ گرم آگار بود. نتایج نشان داد که رقم گلمهر در مجموع از لحاظ باززایی و پاسخ به کالوس‌زایی برتر از رقم صفه بود.

واژه‌های کلیدی: ریشه‌زایی، ساقه‌زایی، هورمون گیاهی

۱ و ۲. به‌ترتیب دانشجوی دکتری و دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران
۳ و ۴. به‌ترتیب دانشیار و استادیار، گروه پژوهشی مهندسی ژنتیک و ایمنی زیستی، پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران
*: نویسنده مسئول Email: cheghamirza@yandex.ru
مقاله مستخرج از رساله دکتری نویسنده اول به‌راهنمایی آقای کیانوش چقامیرزا می‌باشد.

مقدمه

گلرنگ (*Carthamus tinctorius* L.) گیاهی یک‌ساله، از خانواده کاسنیان (*Asteraceae*)، بومی آسیا، خاورمیانه و آفریقا بوده، دارای 2n=24 کروموزوم، خودگشن، مقاوم به شرایط شوری و خشکی و سازگار به درجه حرارت پایین و بالا می‌باشد (*گلزارفر*[1] و همکاران، 2012). روغن دانه آن دارای میزان بالای لینولئیک اسید و اندیس یدی، رنگ زرد روشن و طعم مطبوع که این ویژگی‌ها باعث شده این روغن به‌عنوان روغن مرغوب به شمار رود (مروتی و همکاران، ۱۳۸۹). توکوفرول موجود در روغن گلرنگ به‌عنوان آنتی‌اکسیدان اولیه مانع از اکسایش روغن‌ها می‌شود و بدین ترتیب پایداری روغن را افزایش می‌دهد (شمس و همکاران، ۱۳۸۷). سطح زیر کشت گلرنگ در ایران ۲۲۸۵۱ هکتار، تولید ۱۹۷۸۲ تن و هم‌چنین میانگین تولید آن در کشت آبی ۹۶۵ کیلوگرم و در کشت دیم ۳۹۸ کیلوگرم گزارش شده است (آمارنامه کشاورزی، ۱۳۹۸). تاکنون موفقیت های چشمگیری از طریق اصلاح نباتات سنتی در جهت افزایش عملکرد و بهبود کیفیت روغن حاصل شده است. اما دستاوردها در زمینه مهندسی ژنتیک محدود می‌باشد، عمده‌ترین دلیل این محدودیت‌ها عدم وجود تکنیک‌های مناسب جهت تکثیر درون شیشه‌ای گیاه است. کشت بافت سیستم مناسبی برای القای صفات مطلوب بوده و امکان باززایی از بافت‌های رویشی را همانند بافت‌های زایشی از طریق اندام‌زایی و جنین‌زایی سوماتیکی به وجود آورده است (*سوجاتا* و *کومار*[2]، 2007). برای استفاده از پتانسیل مهندسی ژنتیک در اصلاح این گیاه، شایسته است روش‌های کشت بافت آن تا رسیدن به سطح اقتصادی مطلوب بهبود یابد. ژنوتیپ (حمید[3] و همکاران، 2018، 2020)، انواع تنظیم‌کننده‌های رشدی، نوع قند، محیط‌کشت (*جوتارو*[4] و همکاران، 2015)، زمان واکشت، تعداد نمونه‌های موجود در پتری‌دیش، عامل ژله‌ای شدن محیط‌کشت، نور و دما (*نیخیل*[5] و همکاران، 2014) ازجمله عواملی هستند که کارایی باززایی و ریشه‌زایی را تحت تأثیر قرار می‌دهند. اگر چه باززایی به‌طور قابل‌توجهی در سال‌های اخیر بهبود یافته است، اما برخی از مشکلات همچنان باقی است. تنها تعداد محدودی از ارقام گلرنگ می‌توانند تولید گیاهان باززا کنند. به‌علاوه یکی از مشکلات کشت بافت این گیاه، عدم ریشه‌زایی گیاهان باززا شده یا سخت ریشه‌زایی آن می‌باشد. بنابراین توسعه یک شیوه کارآمد برای افزایش تعداد گیاهان باززا در ارقام زراعی گلرنگ امری ضروری است. لذا در مطالعه حاضر پتانسیل شاخه‌زایی و ریشه‌زایی دو رقم تجاری صفه و گلمهر با استفاده از ریزنمونه لپه و زیرلپه تحت‌تأثیر غلظت‌های مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد موردبررسی قرار گرفت.

1. Golzarfar
2. Sujatha and Kumar
3. Hamid
4. Juturu
5. Nikhil

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

بذرهای ارقام گلمهر و صفه از مؤسسه اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج تهیه گردید. این ارقام به لحاظ میزان تولید و کیفیت روغن اهمیت تجاری بسیار بالایی دارند. به‌منظور ضدعفونی، بذور به مدت ۱ دقیقه در اتانول ۷۰ درصد نگه‌داری شدند و پس از شستشو با آب مقطر، به‌مدت ۱۰ دقیقه در محلول کلریدجیوه ۰/۰۱ درصد قرار گرفتند. سپس ۳ الی ۴ مرتبه با آب‌مقطر استریل در فواصل زمانی ۲ الی ۳ دقیقه‌ای شستشو داده شدند. بذور پس از ضدعفونی در محیط‌کشت MS (*موراشیگ* و *اسکوگ*[6]، 1962) بدون هورمون‌های گیاهی و تحت شرایط شانزده ساعت روشنایی و هشت ساعت تاریکی و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. در فاصله زمانی ۷-۶ روز گیاهانی به‌اندازه ۵-۳ سانتی‌متر به‌وجود آمدند. پس از انتقال شاخساره‌ها به زیر هود لامینار ریز نمونه‌گیری از زیرلپه و لپه به ابعاد ۱-۰/۵ سانتی‌متر انجام شد.

کالوس‌زایی و باززایی

محیط‌های کشت MS به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱۵ پاسکال اتوکلاو شدند. سپس ریزنمونه های لپه (از سمت پشت) و زیرلپه بر روی محیط‌کشت MS حاوی ۰ (صفر)، ۰/۲، ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم در لیتر NAA، ۳۰ گرم ساکارز و ۷ گرم آگار منتقل شدند. در ادامه این محیط کشت MS حاوی سطوح مختلف هورمون NAA طی سه آزمایش متفاوت و هر مرتبه با یک نوع هورمون سیتوکینین با سطوح متفاوت (۰/۵ و ۱ میلی‌گرم در لیتر TDZ، ۰/۲، ۰/۵، ۱، ۱/۵، ۲، ۲/۵ و ۳ میلی‌گرم در لیتر BAP یا ۱ و ۲ میلی‌گرم در لیتر Kin) تکمیل شد، بدین منظور ابتدا هورمون‌ها فیلتر شدند و بعد از اتوکلاو محیط‌کشت به آن اضافه گردیدند. به دنبال کالوس‌زایی، برای ایجاد باززایی و استفاده حداکثری ریزنمونه‌ها از تمامی مواد مغذی، پس از دو هفته ریزنمونه‌ها به محیط کشت با هورمون مشابه واکشت شدند. بعد از یک ماه درصد باززایی اندازه‌گیری شد. سپس ریزنمونه‌های باززا شده برای افزایش طول ساقه به محیط حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر GA3 و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر Kin منتقل شدند (جدول ۱). شاخساره

6. Murashige and Skoog

های ۲/۵-۲ سانتی‌متری (گیاهان ۴۵-۴۰ روزه) برای ریشه‌زایی به هشت نوع محیط حاوی مقادیر مختلف IBA و NAA به همراه ۲۰ گرم ساکارز، ۷ گرم آگار و ۲/۵ گرم ذغال فعال با pH حدود ۷ برای ۳-۲ هفته منتقل شدند (جدول ۱). گیاهچه‌هایی که به‌خوبی سیستم ریشه‌ای آن‌ها توسعه‌یافته بود در گلدان هایی حاوی نسبت مساوی ورمی‌کولیت و شن کشت شدند.

صفات مورد اندازه‌گیری در این مطالعه شامل درصد کالوس زایی، باززایی و ریشه‌زایی بودند. فراوانی کالوس با تقسیم تعداد نمونه‌های کالوس به‌دست‌آمده به کل ریزنمونه‌ها در دو هفته بعد از کشت محاسبه شد. چهار هفته پس از کشت فراوانی ریزنمونه‌های باززا شده به کل ریزنمونه‌های کشت شده در هر پتری‌دیش محاسبه گردید. کلیه آزمایش‌ها به‌صورت فاکتوریل بر اساس طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام شدند. برای انجام تجزیه‌های آماری از نرم‌افزارهای EXCEL و SPSS استفاده شد. پس از انجام آزمون نرمال بودن توزیع داده‌ها، در صورت لزوم از تبدیل داده مناسب استفاده شد و مقایسه میانگین بر اساس آزمون LSD صورت گرفت.

نتایج و بحث

اثر هورمون اکسین (NAA) همراه با یکی از انواع سیتوکینین‌ها (BAP، Kin و TDZ) در دو رقم صفه و گلمهر در شش آزمایش جداگانه بر صفات کالوس‌زایی و باززایی دو ریزنمونه لپه و زیرلپه بررسی شد. نتایج تجزیه واریانس در جداول ۲، ۳ و ۴ نشان داده شده است.

بیش‌ترین میزان کالوس‌دهی از ریزنمونه زیرلپه در رقم گلمهر با غلظت‌های هورمونی (۱ میلی‌گرم در لیتر TDZ و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA) به میزان تقریبی ۹۹/۵ درصد و هم چنین در رقم صفه با ریزنمونه زیرلپه در غلظت‌های (۱ میلی‌گرم در لیتر TDZ و ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر NAA) در حدود ۹۷/۸ درصد به‌دست آمد (جدول ۵). در تمامی برگ‌های کوتیلدونی ۴۸ الی ۷۲ ساعت پس از کشت، تورم برگی که نشانه تشکیل کالوس بود، مشاهده شد (شکل ۱ الف). ساقه‌زایی در هر دو رقم و هر دو نوع ریزنمونه برای برخی از سطوح هورمونی مشاهده شد، درحالی‌که رقم صفه پاسخ ضعیف و کندتری برای ساقه‌زایی (۱۸/۵۵ درصد در ریزنمونه زیرلپه و ۲۵ درصد در ریزنمونه لپه) نسبت به رقم گلمهر (۱۷/۲۳ درصد در ریزنمونه زیرلپه و ۳۳/۵۴ درصد در ریزنمونه لپه) نشان داد (جدول ۵).

جدول ۱: اجزای محیط‌کشت MS در مراحل مختلف کشت بافت ریزنمونه‌های متفاوت ارقام گلمهر و صفه در گلرنگ

Table 1: Components of MS medium in different tissue culture stages of different explants of Golmehr and Soffeh cultivars in safflower

مرحله کشت Culture stage	اجزای محیط‌کشت Components of the culture medium
القای کالوس و شاخه‌زایی Callus induction and branching	MS + NAA (0, 0.2, 0.5, 1 mg/L) + TDZ (0.5, 1 mg/L) MS + NAA (0, 0.2, 0.5, 1 mg/L) + BAP (0.2, 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3 mg/L) MS + NAA (0, 0.2, 0.5, 1 mg/L) + Kin (1, 2 mg/L)
طویل‌سازی ساقه Stem elongation	MS + Kin (0.5 mg/L) MS + GA3 (1 mg/L)
ریشه‌زایی Rooting	½MS + NAA (1 mg/L (A) ½MS + NAA (2 mg/L) (B) MS + NAA (1 mg/L) (C) MS + NAA (2 mg/L) (D) MS + IBA (1 mg/L) (E) MS + IBA (2 mg/L) (F) ½MS (G) MS (H)

حروف A تا H به طور اختصار معرف تیمارهای مختلف ریشه‌زایی هستند

The letters A to H briefly represent the different rooting treatments

جدول ۲: نتایج تجزیه واریانس صفات کالوس‌زایی و باززایی در بررسی تأثیر ریزنمونه و تنظیم‌کننده رشد (BAP و NAA) در ارقام صفه و گلمهر گلرنگ

Table 2: ANOVA Results of callus induction and regeneration traits in assesment of explant and phytohormone (BAP and NAA) in Soffeh and Golmehr safflower cultivars

رقم گلمهر Golmehr cultivar		رقم صفه Soffeh cultivar		درجه آزادی	منابع تغییر
باززایی Regeneration	کالوس زایی Callus formation	باززایی Regeneration	کالوس‌زایی Callus formation	df	Sources of variation
0.13^{ns}	0.46^{ns}	0.14^{ns}	0.48^{**}	1	ریزنمونه Explant
0.10^{ns}	0.41^{ns}	0.10^{ns}	0.42^{**}	6	BAP
0.10^{ns}	0.20^{ns}	0.10^{ns}	0.20^{ns}	2	NAA
0.11^{ns}	0.54^{*}	0.11^{ns}	0.44^{**}	6	BAP × NAA
0.13^{ns}	0.55^{*}	0.11^{ns}	0.45^{**}	5	ریزنمونه × BAP Explant × BAP
0.10^{ns}	0.21^{ns}	0.11^{ns}	0.11^{ns}	2	ریزنمونه × NAA Explant × NAA
0.16^{ns}	0.59^{**}	0.11^{ns}	0.45^{**}	10	ریزنمونه × NAA × BAP Explant × NAA × BAP
0.12	0.21	0.10	0.12	68	خطای آزمایش Experimental error
0.35	0.35	0.32	0.32	-	ضریب تغییرات (درصد) CV (%)

ns، * و **: به‌ترتیب غیرمعنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

ns, * and **: Not significant, significant at 0.05 and 0.01 probability levels, respectively

جدول ۳: نتایج تجزیه واریانس صفات کالوس‌زایی و باززایی در بررسی تأثیر ریزنمونه و تنظیم‌کننده رشد (Kin و NAA) در ارقام صفه و گلمهر گلرنگ

Table 3: ANOVA Results of callus induction and regeneration traits in assessment of explant and phytohormone (Kin and NAA) in Soffeh and Golmehr safflower cultivars

رقم گلمهر Golmehr cultivar		رقم صفه Soffeh cultivar		درجه آزادی	منابع تغییر
باززایی Regeneration	کالوس‌زایی Callus formation	باززایی Regeneration	کالوس‌زایی Callus formation	df	Sources of variation
0.05^{ns}	0.45^{ns}	0.07^{ns}	0.26^{ns}	1	ریزنمونه Explant
0.04^{ns}	0.42^{ns}	0.05^{ns}	0.41^{ns}	3	Kin
0.06^{ns}	0.46^{ns}	0.03^{ns}	0.40^{ns}	2	NAA
0.06^{ns}	0.49^{ns}	0.02^{ns}	0.46^{ns}	6	Kin × NAA
0.02^{ns}	0.34^{ns}	0.04^{ns}	0.34^{ns}	3	Kin ×ریزنمونه Explant × Kin
0.07^{ns}	0.20^{ns}	0.06^{ns}	0.11^{ns}	2	ریزنمونه × NAA Explant × NAA
0.05^{ns}	0.36^{ns}	0.07^{*}	0.39^{ns}	6	ریزنمونه × Kin × NAA Explant × NAA × Kin
0.03	0.31	0.02	0.21	22	خطای آزمایش Experimental error
0.32	0.28	0.12	0.35	-	ضریب تغییرات (درصد) CV (%)

ns و ❋: به‌ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد

ns and * **: Not significant, significant at 0.05 probability levels, respectively

جدول ۴: نتایج تجزیه واریانس صفات کالوس‌زایی و باززایی در بررسی تأثیر ریزنمونه و هورمون (TDZ and NAA) در ارقام صفه و گلمهر گلرنگ

Table 4: ANOVA Results of callus induction and regeneration traits in assessment of explant and phytohormone (TDZ and NAA) in Soffeh and Golmehr safflower cultivars

رقم گلمهر Golmehr cultivar		رقم صفه Soffeh cultivar		درجه آزادی	منابع تغییر
باززایی Regeneration	کالوس زایی Callus formation	باززایی Regeneration	کالوس زایی Callus formation	df	Sources of variation
0.33^{ns}	0.22^{ns}	0.35^{ns}	0.24^{ns}	1	ریزنمونه Explant
0.38^{*}	0.24^{ns}	0.31^{ns}	0.21^{ns}	3	TDZ
0.15^{ns}	0.25^{ns}	0.15^{ns}	0.23^{ns}	2	NAA
0.11^{ns}	0.27^{ns}	0.16^{ns}	0.21^{ns}	6	TDZ×NAA
0.36^{*}	0.14^{ns}	0.34^{ns}	0.22^{ns}	3	ریزنمونه × TDZ Explant × TDZ
0.23^{ns}	0.21^{ns}	0.21^{ns}	0.11^{ns}	2	ریزنمونه × NAA Explant × NAA
0.16^{ns}	0.12^{ns}	0.18^{ns}	0.16^{ns}	6	ریزنمونه × TDZ × NAA Explant× NAA× TDZ
0.12	0.22	0.28	0.17	22	خطای آزمایش Experimental error
0.33	0.31	0.26	0.23	-	ضریب تغییرات (درصد) CV (%)

ns و *: به‌ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد

ns and *: Not significant, significant at 0.05 probability levels, respectively

جدول ۵: مقایسه میانگین‌ها ترکیبات هورمونی مختلف (TDZ/NAA), (Kin/NAA), (BAP/NAA) از نظر میزان باززایی و کالوس‌زایی در ریزنمونه زیرلپه و لپه در ارقام گلمهر و صفه گلرنگ

Table 5: The Mean comparisons with different hormone compositions (TDZ/NAA), (Kin/NAA), (BAP/NAA) in terms of regeneration and callus induction in hypocotyl and cotyledon explants of Golmehr and Soffeh safflower cultivars

کالوس‌زایی لپه (درصد) Cotyledon callus formation (%)	کالوس‌زایی زیرلپه (درصد) Hypocotyl callus formation (%)	باززایی لپه (درصد) Cotyledon regeneration (%)	باززایی زیرلپه (درصد) Hypocotyl regeneration (%)	محیط‌کشت/رقم گلرنگ Medium / Safflower cultivar	
61.915 ± 2.07^{b}	62.38 ± 2.36^{b}	16.23 ± 1.08^{b}	2.02 ± 0.68^{bd}	BAP (0.2 mg/l)	
60.84 ± 1.77^{b}	41.34 ± 2.67^{f}	3.27 ± 0.73^{f}	0.00 ± 0.13^{f}	BAP (0.2 mg/l)+ NAA (0.2 mg/l)	
68.24 ± 1.17^{b}	42.27 ± 1.82^{df}	3.32 ± 0.12^{f}	0.00 ± 0.11^{f}	BAP (0.2 mg/l) + NAA (0.5 mg/l)	
52.28 ± 3.25^{c}	52.55 ± 2.23^{c}	4.58 ± 0.91^{d}	0.00 ± 0.19^{f}	BAP (0.2 mg/l) + NAA (1 mg/l)	
$64.65b\pm2.23^{b}$	68.18 ± 0.71^{b}	12.65 ± 1.67^{c}	2.12 ± 2.42^{d}	BAP (0.5 mg/l)	
55.34 ± 3.58^{c}	60.05 ± 4.40^{c}	3.12 ± 1.02^{f}	2.13 ± 2.02^{d}	BAP (0.5 mg/l) + NAA (0.2 mg/l)	
52.45 ± 2.01^{c}	62.62 ± 3.09^{b}	5.42 ± 3.98^{d}	0.00 ± 0.42^{f}	BAP (0.5 mg/l) + NAA (0.5 mg/l)	
56.21 ± 3.41^{c}	45.25 ± 1.91^{d}	6.12 ± 1.64^{d}	0.00 ± 0.62^{f}	BAP (0.5 mg/l) + NAA (1 mg/l)	
59.78 ± 4.55^{b}	79.23 ± 4.92^{a}	10.45 ± 1.02^{c}	0.00 ± 0.32^{f}	BAP (1 mg/l)	
48.23 ± 1.88^{c}	45.45 ± 2.47^{d}	4.98 ± 0.83^{d}	0.00 ± 0.72^{f}	BAP (1 mg/l) + NAA (0.2 mg/l)	
41.24 ± 3.11^{d}	45.34 ± 3.65^{cd}	5.11 ± 1.1^{ad}	2.13 ± 1.06^{d}	BAP (1 mg/l) + NAA (0.5 mg/l)	
45.27 ± 1.27^{d}	48.27 ± 2.9^{d}	3.09 ± 1.73^{f}	4.01 ± 1.29^{d}	BAP (1 mg/l) + NAA (1 mg/l)	
66.58 ± 3.57^{b}	80.45 ± 3.25^{a}	15.25 ± 2.15^{b}	13.09 ± 2.42^{b}	BAP (1.5 mg/l)	
40.28 ± 2.18^{d}	69.18 ± 3.93^{eb}	16.58 ± 2.72^{b}	17.23 ± 5.45^{a}	BAP (1.5 mg/l) + NAA (0.2 mg/l)	گلمهر Golmehr
60.78 ± 3.76^{b}	55.16 ± 0.96^{c}	14.97 ± 2.19^{b}	9.84 ± 2.13^{bc}	BAP (1.5 mg/l) + NAA (0.5 mg/l)	
62.26 ± 3.87^{b}	45.35 ± 1.86^{d}	3.13 ± 1.25^{f}	8.25 ± 4.25^{c}	BAP (1.5 mg/l) + NAA (1 mg/l)	
81.56 ± 2.86^{a}	80.42 ± 1.65^{a}	15.56 ± 2.94^{b}	14.02 ± 1.05^{ab}	BAP (2 mg/l)	
43.25 ± 2.38^{d}	71.4 ± 3.52^{b}	13.05 ± 2.37^{c}	2.58 ± 0.45^{d}	BAP (2 mg/l) + NAA (0.2 mg/l)	
44.25 ± 2.74^{d}	60.07 ± 1.04^{c}	14.68 ± 2.71^{b}	9.87 ± 1.47^{bc}	BAP (2 mg/l) + NAA (0.5 mg/l)	
84.27 ± 4.98^{a}	80.42 ± 4.11^{a}	16.02 ± 2.18^{b}	0.00 ± 0.45^{f}	BAP (2 mg/l) + NAA (1 mg/l)	
82.23 ± 5.05^{a}	80.62 ± 7.00^{a}	17.98 ± 2.06^{a}	15.65 ± 4.40^{a}	BAP (2.5 mg/l)	
70.01 ± 3.01^{b}	62.48 ± 2.34^{b}	19.78 ± 3.58^{a}	15.78 ± 4.45^{a}	BAP (2.5mg/l) + NAA (0.2 mg/l)	
42.25 ± 1.66^{d}	42.28 ± 1.25^{df}	16.08 ± 1.15^{b}	16.14 ± 3.75^{a}	BAP (2.5mg/l) + NAA (0.5 mg/l)	
42.35 ± 1.22^{d}	59.15 ± 2.02^{c}	18.89 ± 1.86^{a}	4.08 ± 1.32^{d}	BAP (2.5mg/l) + NAA (1 mg/l)	
82.89 ± 1.72^{a}	80.65 ± 4.34^{a}	18.75 ± 1.15^{a}	12.98 ± 2.18^{b}	BAP (3 mg/l)	
82.76 ± 2.27^{a}	80.24 ± 2.07^{a}	3.25 ± 16.04^{b}	11.96 ± 1.20^{b}	BAP (3 mg/l) + NAA (0.2 mg/l)	
75.87 ± 3.07^{a}	80.56 ± 2.23^{a}	17.98 ± 3.58^{a}	6.23 ± 1.50^{c}	BAP (3 mg/l) + NAA (0.5 mg/l)	
75.98 ± 4.49^{a}	66.24 ± 1.68^{b}	16.13 ± 0.68^{b}	7.45 ± 2.20^{d}	BAP (3 mg/l) + NAA (1 mg/l)	

میانگین‌های با حروف مشترک در سطح احتمال پنج درصد با هم اختلاف آماری معنی‌دار ندارند

The means with the common letter do not have a statistically significant difference at the 5% probability level

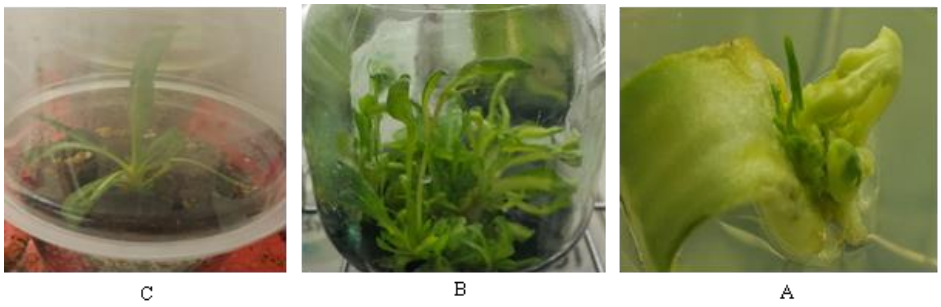
ادامه جدول ۵: مقایسه میانگین‌ها ترکیبات هورمونی مختلف (BAP/NAA), (Kin/NAA), (TDZ/NAA) از نظر میزان باززایی و کالوس‌زایی در ریزنمونه زیرلپه و لپه در ارقام گلمهر و صفه گلرنگ

Table 5 countinued: The Mean comparisons with different hormone compositions (TDZ/NAA), (Kin/NAA), (BAP/NAA) in terms of regeneration and callus induction in hypocotyl and cotyledon explants of Golmehr and Soffeh safflower cultivars

کالوس‌زایی لپه (درصد) Cotyledon callus formation (%)	کالوس‌زایی زیرلپه (درصد) Hypocotyl callus formation (%)	باززایی لپه (درصد) Cotyledon regeneration (%)	باززایی زیرلپه (درصد) Hypocotyl regeneration (%)	محیط‌کشت/رقم گلرنگ Medium / Safflower cultivar	
10.69±1.09^{d}	10.06±1.08^{d}	0.00±00.00^{c}	0.0±0.70^{c}	Kin (1 mg/l)	
14.34±1.11^{c}	26.15±1.25^{c}	3.8±00.00^{a}	3.94±1.20^{a}	Kin (1 mg/l) + NAA (0.2 mg/l)	
25.32±1.77^{b}	25.35±2.78^{c}	3.12±00.00^{a}	3.01±1.08^{b}	Kin (1 mg/l) + NAA (0.5 mg/l)	
29.24±2.27^{b}	30.52±3.25^{b}	2.05±0.78^{b}	3.98±1.10^{a}	Kin (1 mg/l) + NAA (1 mg/l)	
10.16±1.82^{d}	11.18±2.75^{d}	1.91±0.82^{b}	0.00±1.03^{c}	Kin (2 mg/l)	
37.55±1.34^{a}	35.12±00^{b}	3.02±00^{a}	3.01±1.25^{b}	Kin (2 mg/l) + NAA (0.2 mg/l)	
38.42±00^{a}	38.45±00^{a}	1.92±00^{b}	2.94±1.7^{b}	Kin (2 mg/l) + NAA (0.5 mg/l)	
42.06±3.45^{a}	45.22±3.65^{a}	1.21±1.15^{a}	4.21±1.26^{a}	Kin (2 mg/l) + NAA (1 mg/l)	گلمهر Golmehr
50.52±1.22^{c}	56.5.23±2.14^{c}	23.22±1.07^{d}	17.21±3.25^{a}	TDZ (0.5 mg/l)	
51.64±1.05^{c}	55.62±2.27^{c}	32.56±1.34^{a}	15.03±2.24^{b}	TDZ (0.5 mg/l) + NAA (0.2 mg/l)	
66.52±2.32^{b}	73.51±1.1^{b}	24.23±1.15^{c}	8.00±1.05^{c}	TDZ (0.5 mg/l) + NAA (0.5 mg/l)	
65.52±1.48^{b}	72.55±1.55^{b}	22.23±1.25^{d}	5.00±1.04^{d}	TDZ (0.5 mg/l) + NAA (1 mg/l)	
70.28±0.65^{b}	75.29±0.85^{b}	33.54±2.58^{a}	17.12±2.10^{a}	TDZ (1 mg/l)	
90.69±4.45^{a}	96.64±3.25^{a}	31.0±1.261^{b}	16.12±2.20^{ab}	TDZ (1 mg/l) + NAA (0.2 mg/l)	
98.54±3.55^{a}	99.54±4.49^{a}	25.12±1.45^{c}	7.01±1.30^{c}	TDZ (1 mg/l) + NAA (0.5 mg/l)	
92.55±3.56^{a}	98.53±5.35^{a}	24.02±1.05^{c}	10.00±2.02^{c}	TDZ (1 mg/l) + NAA (1 mg/l)	
62.22±2.24^{b}	66.75±2.1^{b}	11.13±1.2^{c}	2.00±0.86^{d}	BAP (0.2 mg/l)	
54.58±1.85^{c}	60.68±1.48^{c}	2.10±0.50^{f}	2.01±0.70^{d}	BAP (0.2 mg/l)+ NAA (0.2 mg/l)	
50.42±2.22^{c}	61.88±1.22^{b}	4.80±1.78^{d}	0.00±0.40^{f}	BAP (0.2 mg/l) + NAA (0.5 mg/l)	
54.32±3.25^{c}	44.12±1.20^{d}	5.25±1.24^{d}	0.00±0.00^{f}	BAP (0.2 mg/l) + NAA (1 mg/l)	
60.44±2.75^{b}	61.56±3.27^{b}	15.11±2.71^{b}	2.03±0.00^{d}	BAP (0.5 mg/l)	
61.11±3.94^{b}	42.82±1.45^{f}	3.14±1.22^{f}	0.00±0.00^{f}	BAP (0.5 mg/l) + NAA (0.2 mg/l)	
67.20±3.22^{b}	41.59±1.29^{df}	3.11±0.77^{f}	0.00±0.00^{f}	BAP (0.5 mg/l) + NAA (0.5 mg/l)	
51.72±1.11^{c}	51.84±3.09^{c}	3.13±2.58^{d}	0.00±0.00^{f}	BAP (0.5 mg/l) + NAA (1 mg/l)	
57.63±3.06^{b}	77.28±6.40^{a}	9.45±0.09^{c}	0.00±0.00^{f}	BAP (1 mg/l)	
46.11±1.92^{c}	44.65±2.55^{d}	3.23±1.41^{d}	0.00±0.00^{f}	BAP (1 mg/l) + NAA (0.2 mg/l)	
40.20±1.98^{d}	44.25±1.91^{d}	4.27±2.64^{cd}	2.11±0.90^{d}	BAP (1 mg/l) + NAA (0.5 mg/l)	
44.38±2.47^{d}	47.55±2.83^{d}	2.02±3.02^{f}	3.01±0.65^{d}	BAP (1 mg/l) + NAA (1 mg/l)	
65.84±3.88^{b}	76.32±4.88^{a}	14.25±3.27^{b}	12.16±2.250^{b}	BAP (1.5 mg/l)	
41.21±2.11^{d}	68.25±1.1^{b}	15.23±2.65^{b}	13.89±2.60^{a}	BAP (1.5 mg/l) + NAA (0.2 mg/l)	
60.45±2.93^{b}	54.24±2.18^{c}	13.12±2.76^{b}	9.56±2.07b^{c}	BAP (1.5 mg/l) + NAA (0.5 mg/l)	
61.44±00^{b}	44.12±3.13^{d}	3.00±0.7^{f}	7.89±0.86^{c}	BAP (1.5 mg/l) + NAA (1 mg/l)	
75.23±0.96^{a}	76.12±4.58^{a}	18.25±2.25^{a}	14.57±3.49^{a}	BAP (2 mg/l)	
71.52±1.25^{b}	61.71±1.85^{b}	18.42±3.85^{a}	14.65±2.25^{a}	BAP (2 mg/l) + NAA (0.2 mg/l)	
41.89±2.94^{d}	41.71±2.40^{df}	15.32±1.86^{b}	15.78±2.68^{a}	BAP (2 mg/l) + NAA (0.5 mg/l)	
41.87±1.75^{d}	58.64±2.9^{c}	17.25±1.75^{b}	3.94±1.07^{d}	BAP (2 mg/l) + NAA (1 mg/l)	
75.56±4.95^{a}	76.35±4.85^{a}	19.69±5.72^{a}	11.22±0.99^{b}	BAP (2.5 mg/l)	
81.22±7.80^{a}	78.36±5.50^{a}	16.27±1.86^{b}	10.23±2.12^{b}	BAP (2.5mg/l) + NAA (0.2 mg/l)	صفه Soffeh
76.28±4.56^{a}	78.12±5.45^{a}	19.95±5.68^{a}	5.45±1.28^{c}	BAP (2.5mg/l) + NAA (0.5 mg/l)	
76.24±5.55^{a}	65.13±2.65^{b}	16.12±2.85^{b}	6.55±0.68^{d}	BAP (2.5mg/l) + NAA (1 mg/l)	
75.33±4.25^{a}	76.13±4.49^{a}	14.98±1.25^{b}	12.12±1.83^{ab}	BAP (3 mg/l)	
42.32±5.75^{d}	70.03±1.65^{b}	12.12±1.64^{c}	2.11±0.88^{d}	BAP (3 mg/l) + NAA (0.2 mg/l)	
43.44±1.52^{d}	61.04±3.25^{c}	13.67±0.86^{b}	8.63±1.38^{bc}	BAP (3 mg/l) + NAA (0.5 mg/l)	
82.54±2.20^{a}	79.03±2.86^{a}	18.56±3.56^{b}	0.00±0.09^{f}	BAP (3 mg/l) + NAA (1 mg/l)	
18.88±1.86^{c}	20.45±2.66^{c}	0.00±0.42^{c}	0.00±0.00^{c}	Kin (1 mg/l)	
31.55±2.28^{b}	36.65±1.35^{b}	4.21±0.17^{a}	2.33±0.00^{b}	Kin (1 mg/l) + NAA (0.2 mg/l)	
30.55±3.54^{b}	35.55±2.45^{b}	3.78±0.8^{a}	3.12±0.00^{a}	Kin (1 mg/l) + NAA (0.5 mg/l)	
28.20±5.01^{b}	40.22±4.61^{b}	2.21±2.95^{b}	2.78±0.00^{ab}	Kin (1 mg/l) + NAA (1 mg/l)	
18.51±2.34^{c}	21.66±6.04^{c}	0.00±0.72^{c}	0.00±0.00^{c}	Kin (2 mg/l)	
48.65±2.58^{a}	77.76±7.05^{a}	4.04±0.85^{a}	3.01±0.13^{a}	Kin (2 mg/l) + NAA (0.2 mg/l)	
45.54±5.78^{a}	68.45±4.58^{a}	3.32±1.52^{b}	2.79±2.42^{a}	Kin (2 mg/l) + NAA (0.5 mg/l)	
50.52±6.90^{a}	75.55±6.08^{a}	2.11±0.51^{b}	3.11±2.25^{a}	Kin (2 mg/l) + NAA (1 mg/l)	
50.80±2.18^{c}	52.55±3.11^{c}	25.23±4.82^{a}	18.55±2.42^{a}	TDZ (0.5 mg/l)	
50.44±5.72^{c}	55.50±2.18^{c}	20.55±3.852^{b}	17.65±3.75^{a}	TDZ (0.5 mg/l) + NAA (0.2 mg/l)	
65.32±3.72^{b}	68.52±5.04^{b}	21.23±3.39^{b}	17.52±1.06^{a}	TDZ (0.5 mg/l) + NAA (0.5 mg/l)	
63.45±4.23^{b}	64.50±2.15^{b}	20.54±2.56^{b}	15.23±2.27^{b}	TDZ (0.5 mg/l) + NAA (1 mg/l)	
65.32±2.29^{b}	66.22±4.29^{b}	15.65±3.52^{c}	12.25±1.34^{c}	TDZ (1 mg/l)	
92.36±4.38^{a}	97.78±8.48^{a}	16.24±2.86^{c}	11.58±1.15^{c}	TDZ (1 mg/l) + NAA (0.2 mg/l)	
92.45±8.30^{a}	96.19±7.57^{a}	14.26±2.45^{c}	12.26±1.65^{c}	TDZ (1 mg/l) + NAA (0.5 mg/l)	
90.65±10.20^{a}	95.49±9.52^{a}	12.58±3.52^{d}	5.22±1.72^{d}	TDZ (1 mg/l) + NAA (1 mg/l)	

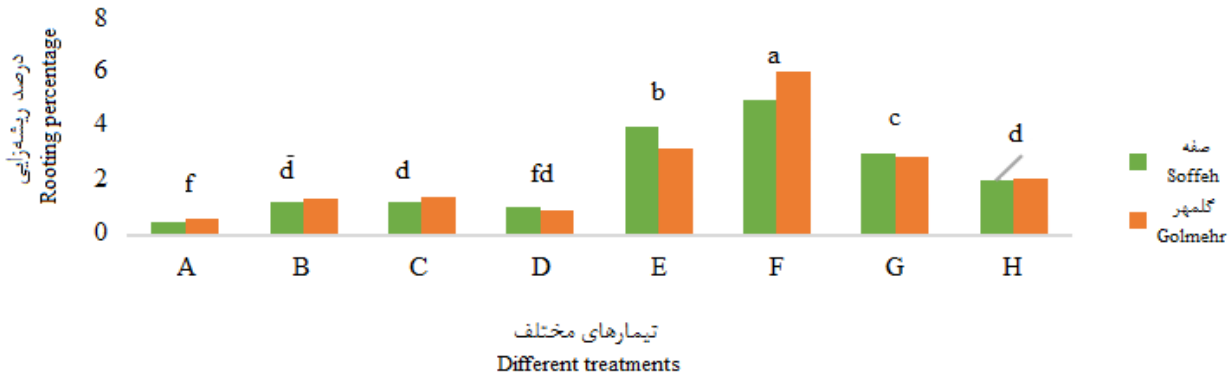
میانگین‌های با حروف مشترک در سطح احتمال پنج درصد با هم اختلاف آماری معنی‌دار ندارند

The means with the common letter do not have a statistically significant difference at the 5% probability level



شکل ۱: A) تشکیل کالوس از ریزنمونه‌های کوتیلدون گلرنگ در محیط‌های کالوس‌زایی و ایجاد نوساقه‌های باززا شده. B) انتقال ساقه های باززا شده به محیط ریشه‌زایی. C) انتقال گیاهچه‌های باززا شده به گلدان

Fig. 1: A) Callus formation from cotyledon explants of safflower on the callus induction medium and regenerated shoots. B) The transfer of regenerated shoots to the rooting medium. C) The transfer of regenerated seedlings to pot



شکل ۲: مقایسه میانگین‌ها در تیمار محیط‌های مختلف ریشه‌زایی دو رقم گلرنگ (صفه و گلمهر) از نظر میزان ریشه‌زایی با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد (A تا H شرح داده شده در جدول ۱)

Fig. 2: The means comparisons in different rooting media in terms of rooting rate in tow varieties of Golmehr and Soffeh using LSD test at 5% probability level (A to H listed in Table 1)

بیش‌ترین میزان باززایی ساقه از ریزنمونه لپه در محیط کشت (۰ میلی‌گرم در لیتر NAA، ۱ میلی‌گرم در لیتر TDZ) برای رقم گلمهر در حدود ۳۳ درصد و برای رقم صفه ۲۵ درصد در محیط‌کشت (۰ میلی‌گرم در لیتر NAA، ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر TDZ) ایجاد شد. مطالعات قبلی لپه را به عنوان ریزنمونه بهتری برای باززایی گلرنگ گزارش نموده‌اند (*باسالما*[1] و همکاران، 2008؛ *معتمدی*[2] و همکاران، 2011؛ *رانی*[3] و همکاران، 2018). پاسخ بهتر رقم گلمهر به باززایی نسبت به رقم صفه در رژیم هورمونی مشابه نشان‌دهنده وابستگی بسیار زیاد باززایی گلرنگ به ژنوتیپ مورد مطالعه می‌باشد. *سوجاتا و کومار* (2007) مشاهده کردند که قطعات برگی *Carthamus arborescens* بیش‌ترین فراوانی باززایی را در غلظت ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر NAA، ۱ میلی‌گرم در لیتر TDZ در مقایسه با گونه‌های دیگر *Carthamus* ایجاد کردند. افزایش در میزان TDZ به‌تنهایی و یا همراه با NAA منجر به افزایش باززایی ساقه می‌شود. نتایج تحقیقات نشان دادند که افزایش غلظت TDZ (تا ۰/۵) باعث افزایش فراوانی ساقه‌زایی و کالوس‌دهی آن می‌شود *باسالما* و همکاران (2008). نتایج پژوهش‌های قبلی بیان‌کننده این است که افزایش مقدار NAA در ترکیب با هورمون TDZ باعث بهبود باززایی گلرنگ می‌شود (*باسالما* و همکاران، 2008؛ *ویجیاکومار*[4] و همکاران، 2017). در مطالعه حاضر وجود یا عدم‌وجود هورمون NAA تأثیری بر روی باززایی نشان نداد. پیش‌تر گزارش شده است که افزایش میزان غلظت TDZ (بالاتر از ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر) همراه با افزایش میزان NAA باعث کاهش باززایی در لپه و دیگر ریزنمونه‌ها گردیده است (*رازیکا*[5] و همکاران، 2006). مطالعات باززایی در گیاه گلرنگ نشان داده‌اند که درصد کالوس‌زایی متأثر از ترکیب هورمون‌های رشد اکسین و سیتوکنین و تعادل بین آن‌ها بوده است *معتمدی* و همکاران (2011). مرحله رشدی ریزنمونه،

1. Basalma
2. Motamedi
3. Rani
4. Vijayakumar
5. Radhika

ژنوتیپ (جرج[1] *و رائو*، 1982؛ *گلکار و کریمی*[2]، 2019) و انتخاب نوع و میزان هورمون‌های گیاهی تأثیر زیادی بر کالوس‌زایی و باززایی نوساقه‌ها دارد (*ویجیاکومار* و همکاران،2017).

هر دو نوع محیط‌کشت طویل‌سازی ریزنمونه‌های باززا شده (۱ میلی‌گرم در لیتر GA3 و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر Kin) اثر تقریباً مشابهی روی افزایش طول ساقه داشتند (نتایج نشان داده نشده است). دو هفته پس از انتقال به محیط طویل‌سازی، شاخساره‌ها به محیط ریشه‌زایی منتقل شدند (جدول ۱)، القای ریشه‌زایی چندین بار در محیط حاوی هورمون IBA و NAA در حضور کربن فعال انجام شد. شاخساره‌های ریشه‌دار پس از دو هفته به گلدان‌های حاوی خاک استریل منتقل شدند (شکل ۱ B و C). در این پژوهش هر دو رقم ریشه‌زایی ضعیفی (گلمهر ۶ درصد و صفه ۵ درصد) نشان دادند. درصد ریشه‌زایی در تحقیقات گذشته از چهار درصد (*پاتیال*[3] و همکاران، 2016) الی هفتاد درصد (*شیلپا*[4] و همکاران، 2010) و به‌صورت متفاوت گزارش شده است. *رازیکا* و همکاران (2006) ریشه‌دهی در محیط ½MS همراه با ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA را گزارش نمودند. ولی در تحقیق *سوجاتا و کومار* (2007)، ریشه‌دهی در ½MS و ۱ میلی‌گرم در لیتر IBA همراه با فلورگلوکینول مشاهده شد. در برخی مطالعات نیز به‌دلیل پایین بودن ریشه زایی درصد آن بیان نشده است (*لیجیائو و میلی*[5]، 2013).

نتایج باززایی نشان‌دهنده عملکرد بهتر هورمون TDZ نسبت به هورمون BAP و هم‌چنین بالا بودن فراوانی باززایی در لپه نسبت به زیرلپه بود. پژوهش‌های قبلی هم تاییدکننده این موضوع می‌باشند (*باسالما* و همکاران، 2008؛ *ویجیاکومار* و همکاران، 2017؛ *گلکار* و *کریمی*، 2019) نتایج باززایی با هورمون Kin بسیار ضعیف بود. در این رابطه، مطالعات متعددی وجود دارند که صحت این نتیجه را در سایر ارقام و گونه‌های گلرنگ نیز تأیید می‌کنند *سوجاتا و کومار* (2007). نتایج تحقیقات قبل حاکی از برتری ترکیب هورمون‌های TDZ و NAA در القای شاخه‌زایی می‌باشند و در تحقیق حاضر نیز حدود ۳۳ درصد شاخه‌زایی به‌دست آمد. بنابراین TDZ هورمون شناخته شده‌ای در ایجاد نوساقه‌ها و ایجاد شاخه‌های جانبی در گیاهان یک‌ساله چوبی مانند گلرنگ می‌باشد. مطالعات نشان می‌دهد که هورمون‌های تنظیم‌کننده رشد ازجمله ترکیبات هورمون‌های TDZ و NAA با توجه به بالا بودن پاسخ باززایی در آن‌ها می‌توانند باعث کاهش اثرات ژنوتیپ در گلرنگ شوند. هورمون TDZ به‌تنهایی و در ترکیب با هورمون‌های دیگر سبب القای نوساقه و شاخه‌های جانبی در گونه‌های دیگر گیاهی نیز شده است (*حسینی-نصر و رشید*[6]، 2003).

درنهایت گیاهان باززا شده به هشت نوع محیط ریشه‌دهی منتقل شدند. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین محیط‌های مختلف ریشه‌زایی وجود نداشت. البته ارقام به محیط‌های مختلف ریشه‌زایی پاسخ‌های متفاوتی نشان دادند به‌طوری که رقم گلمهر بیشترین درصد ریشه‌زایی (۶ درصد) در محیط F (جدول ۱) نشان داد (شکل ۲).

نتیجه‌گیری

ژنوتیپ، نوع و میزان هورمون‌های گیاهی تأثیر زیادی بر صفات کالوس‌زایی و باززایی نوساقه‌ها در کشت بافت گلرنگ داشتند. نتایج باززایی نشان‌دهنده عملکرد بهتر هورمون TDZ نسبت به هورمون BAP و Kin و هم‌چنین بالا بودن فراوانی باززایی در لپه نسبت به زیرلپه بود. ریزنمونه لپه در رقم گلمهر باززایی بهتری نسبت به این ریزنمونه در رقم صفه نشان داد. در این مطالعه یک شیوه کارآمد و تکرارپذیر برای شاخه‌زایی ارقام تجاری گلرنگ با استفاده از ریزنمونه‌های لپه و زیرلپه توسعه یافت. همچنین یک روش ریشه‌زایی هرچند با کارایی کم اما تکرارپذیر انجام شد. انتظار می‌رود نتایج این مطالعه به‌منظور بهبود میزان کالوس‌زایی و باززایی این دو رقم گلرنگ و شناخت بهتر عوامل مؤثر در آن‌ها جهت به‌کارگیری در ریز ازدیادی، مطالعات سوسپانسیون سلولی و تحقیقات مهندسی ژنتیک و انتقال ژن‌های هدف به‌کار گرفته شود.

منابع

آمارنامه کشاورزی، ۹۸-۱۳۹۷. جلد اول: محصولات زراعی، چاپ ۱۳۹۹.

مروتی، ع.، سحری، م. ع. و برزگر، ب. ۱۳۸۹. خواص فیزیکوشیمیایی بذر و روغن گلرنگ ارقام/ لاین‌های ایرانی به‌عنوان منبع غنی از امگا ۶. فصلنامه گیاهان دارویی، ۴ (۳۶): ۱۴۵-۱۵۴.

شمس، ک.، پازکی، ع. ر. و کبرایی، س. ۱۳۸۷. بررسی اثر تاریخ کشت بر عملکرد و اجزا عملکرد گلرنگ پاییزه (*Carthamus tinctoris*

1. George and Rao
2. Golkar and Karimi
3. Patial
4. Shilpa
5. Lijiao and Meili
6. Hosseini-Nasr and Rashid

L.) در شرایط دیم کرمانشاه. مجله زراعت و اصلاح نباتات ایران، ۲ (۴): ۲۳-۳۵.

Basalma, D., Uranbey, S., Mirici, S. and Kolsarici, Ö. 2008. TDZ × IBA induced shoot regeneration from cotyledonary leaves and in vitro multiplication in safflower (*Carthamus tinctorius* L.). African Journal of Biotechnology, 7: 960-966.

George, L. and Rao, P. 1982. In vitro multiplication of safflower (*Carthamus tinctorius* L.). Proceedings of the Indian National Science Academy, B48 (6): 791-794.

Golkar, P and Karimi S. 2019. Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) breeding. In: Al-Khayri J., Jain S., Johnson D. (eds) Advances in plant breeding strategies: Industrial and food crops. Springer, Cham doi.org/10.1007/978-3-030-23265-8_14.

Golzarfar, M., SHirani rad, A. H., Delkhosh, B. and Bitarafan, Z. 2012. Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) response to different nitrogen and phosphorus fertilizer rates in two planting seasons. Žemdirbystė Agriculture, 2: 159-166.

Hamid, R., Marashi, H., Tohidfar, M. and Malekzadeh-Shafaroudi, S. 2018. Optimization of regeneration and parameters affecting Agrobacterium-mediated transformation of commercial cultivar of cotton (*Gossypium hirsutum* L). Modern Genetics Journal, 12.4: 597-606.

Hamid, R., Marashi, H., Tohidfar, M. and Malekzadeh-Shafaroudi, S. 2020. Transgenic cotton expressing synthesized antifungal NaD1 gene confers enhanced resistance to fusarium wilt and verticillium wilt. Modern Genetics Journal,14 (4): 297-308.

Hosseini-Nasr, M and Rashid, A. 2003. Thidiazuron-induced high-frequency shoot regeneration from root region of *Robinia pseudoacacia* L. seedlings. Biologia Plantarum, 47: 593-596.

Juturu, V. N., Mekala, G. K. and Kirti, P. 2015. Current status of tissue culture and genetic transformation research in cotton (*Gossypium spp*.). Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC), 120: 813-839.

Lijiao, F, and Meili, T. 2013. Progress of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) regeneration through tissue culture. Journal of Medical Colleges of PLA, 28 (5): 289-301.

Motamedi, J., Zebarjadi, A., Kahrizi, D. and Salmanian, A. H. 2011. *In vitro* propagation and agrobacterium-mediated transformation of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) using a bacterial mutated aroa gene. Australian Journal of Crop Science, 5 (4): 479-486.

Murashige, T and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. Physiologia Plantarum, 15 (3): 473-497.

Nikhil, M., Dudhare, M., Jadhav, P., Moharil, M. and Deshmukh, A. 2014. In vitro shoot regeneration and plantlet development in safflower (*Carthamus tinctorius* L.). The Bioscan, 9: 551-555.

Patial, V., Krishna, R., Arya, G., Singh, V., Agarwal, M., Goel, S., Jagannath, A. and Kumar, A. 2016. Development of an efficient, genotype independent plant regeneration and transformation protocol using cotyledonary nodes in safflower (*Carthamus tinctorius* L.). Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology, 25: 421-432.

Radhika, K., Sujatha, M. and Rao, T. N. 2006. Thidiazuron stimulates adventitious shoot regeneration in different safflower explants. Biologia Plantarum, 50: 174-179.

Rani, A., Panwar, A., Sathe, M. and Kush, A. 2018. A modified in planta method of Agrobacterium-mediated transformation enhances the transformation efficiency in safflower (*Carthamus tinctorius* L.). Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology, 27: 272-283.

Shilpa, K. S., Kumar, V. D. and Sujatha, M. 2010. Agrobacterium mediated genetic transformation of safflower (*Carthamus tinctorius*). Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 103 (3): 387-401.

Sujatha, M and Kumar, V. D. 2007. In vitro bud regeneration of *Carthamus tinctorius* and wild *Carthamus* species from leaf explants and axillary buds. Biologia Plantarum, 51: 782-786.

Vijayakumar, J., Ponmanickam, P., Samuel, P., Sudarmani, D. and Pandiarajan, J. 2017. Influence of meta-topolin on efficient plant regeneration via micropropagation and organogenesis of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) cv. NARI-H-15. American Journal of Plant Sciences, 8 (4): 688-705.

Optimization of Callus Induction and Shoot Regeneration in Two Safflower (*Carthamus tinctorius*) Cultivars

Dashchi[1], S., Cheghamirza[2*], K, Rahnama[3], H. and Zamani[4], K.

Abstract

Safflower (*Carthamus tinctorius*), as one of the most important economic products in the world, has one of the highest quality edible oils. Safflower cultivars are hardy plants compared to other plants due to different methods of tissue culture and regeneration. Therefore, it is necessary to provide a high efficiency method for the regeneration of safflower commercial cultivars. In this study, the effect of different concentrations of BAP, Kin and TDZ on callus induction and shoot regeneration of hypocotyl and cotyledon explants for two safflower cultivars (Soffeh and Golmehr) in different concentrations of BAP, Kin, TDZ and NAA (0, 0.2, 0.5 and 1 mg/l) were evaluated. The results showed that the highest frequency of shoot regeneration also was obtained on MS medium supplemented with 0 mg/l NAA and 1 mg/l TDZ (33%) from cotyledon explant of Golmehr cultivar. There was a significant difference between cultivar's shooting, Golmehr cultivar showed a better shooting percentage. Finally, shoots were transferred to eight different rooting media. The best medium for rooting was MS medium supplemented with IBA (2 mg/l) + sucrose (2%) + agar (7%). The results showed that Golmehr cultivar was better than Soffeh cultivar in terms of regeneration and response to optimization.

Keywords: Phytohormone, Rooting, Shooting

1 and 2. PhD Student and Associate Professor, Respectively, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agricultural Science and Engineering, Razi University, Kermanshah, Iran

3 and 4. Associate Professor and Assistant Professor, Respectively, Department of Genetic Engineering and Biosafety, Agricultural Biotechnology Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran

*: Corresponding author Email: cheghamirza@yandex.ru

This paper has been extracted from the first author's PhD thesis under the guidance of Kianoosh Cheghamirza.