Archive of SID

نشریه زراعت و فناوری زعفران
جلد ۳، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۴ ص. ۲۰۲-۱۹۵

Saffron Agronomy & Technology
Vol. 3, No. 3, Fall 2015, P. 195-202

بررسی تأثیر نوع ریز نمونه و هورمون بر کالوس‌زایی و باززایی زعفران (*Crocus sativus* L.)

محسن سجادی‌فرد[۱] و مقصود پژوهنده*[۲]

تاریخ دریافت: ۱۲ اردیبهشت ۱۳۹۳ تاریخ پذیرش: ۷ فروردین ۱۳۹۴

چکیده

زعفران (*Crocus sativus* L.) یکی از گیاهان دارویی است که دارای مواد مغذی و دارویی می‌باشد. کشت‌بافت زعفران می‌تواند عملکرد کمی و کیفی این محصول را ارتقا داده و درآمدزایی کشاورزان و صادرات آن را افزایش دهد. در این مطالعه ۳۶ نوع ترکیب هورمونی متفاوت در شرایط تاریکی و ۹ ترکیب هورمونی متفاوت در شرایط تیمار سرمایی ۴ درجه سانتی‌گراد با استفاده از ریزنمونه‌های متفاوت (بنه، برگ، بخش انتهایی برگ و فلس اطراف برگ) مورد بررسی قرار گرفت. جهت بررسی میزان رشد بنه‌ها، میزان کالوس‌زایی و میزان باززایی با ۳ تکرار برای هر تیمار، شاخص‌های طول اندام هوایی گیاه (cm)، درصد کالوس‌زایی و درصد باززایی اندازه‌گیری شد و تحلیل‌های آماری صورت گرفت. در بین انواع ریزنمونه‌ها تنها ریزنمونه‌های بنه نسبت به کالوس‌زایی در محیط MS حاوی هورمون‌های IBA (۱ mg/l) و BAP (۲ mg/l) هم در شرایط تاریکی و هم در شرایط سرما پاسخ مناسبی دادند. بالاترین درصد باززایی در محیط MS با ترکیب هورمونی TDZ (۰/۳ mg/l)، BAP (۱ mg/l)، IBA (۲ mg/l) و GA_3 (۰/۰۱ mg/l) و در شرایط سرما بدست آمد.

کلمات کلیدی: زعفران، ریزازدیادی، هورمون، کشت درون شیشه‌ای

مقدمه

گیاهان دارویی یکی از مهمترین منابع دارویی می‌باشند که از هزاران سال پیش کاربرد داشته‌اند. سازمان بهداشت جهانی تخمین زده است که بیش از ۸۰ % از مردم به‌صورت سنتی و یا مدرن از گیاهان دارویی استفاده می‌کنند. بعلاوه برخی از داروهای شیمیایی نیز با الگوبرداری از مواد گیاهی ساخته شده‌اند (Tripathi & Tripathi, 2003). گونه زعفران (*Crocus sativus* L.) یکی از اعضای خانواده زنبقیان (Iridaceae) بوده و به عنوان یک گیاه دارویی و تغذیه‌ای کاربردهای متعددی دارد. گیاهان این خانواده دارای ریزوم، بالب و کورم می‌باشند. در میان ۸۵ گونه متعلق به جنس زعفران، گونه *C. sativus* مهم‌ترین گونه محسوب می‌شود. اهمیت مطالعه زعفران در این است که ایران بزرگترین کشور تولید کننده زعفران می‌باشد. بطوری که ۹۰ درصد زعفران جهان در ایران تولید می‌شود و برخی محققان بر این باورند که منشأ این گیاه کشور ایران است (Winterhalter & Straubinger, 2000). مواد شیمیایی

۱- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی دانشگاه شهید مدنی آذربایجان.
۲- استادیار گروه بیوتکنولوژی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید مدنی آذربایجان.
(نویسنده مسئول: pazhouhandeh@gmail.com)

www.SID.ir

Archive of SID

متنوعی در کلاله گیاه زعفران وجود دارد که از جمله این مواد می‌توان به کربوهیدرات‌ها، مواد معدنی، موسیلاژها، ویتامین‌ها (مانند ریبوفلاوین و تیامین)، رنگدانه‌ها (مانند کروسین، انتوسیانین، کاروتن، لیکوپن، زیکسانتین[1])، مواد ترپنی (مانند سافرانال) اشاره کرد. غلظت پایین این ترکیبات در گیاه و محدودیت منابع طبیعی، توجه محققین را به استفاده از راهکارهای زیست‌فناوری جهت افزایش تولید و بهره‌وری گیاهان دارویی معطوف نموده است. فناوری زیستی با بهره‌گیری از علوم مختلف مانند بیولوژی، بیوشیمی، ژنتیک و با استفاده از راه‌کارهای کشت سلول‌ها، اندام‌ها و بافت‌ها، مهندسی ژنتیک و نشانگرهای مولکولی قادر است کارآیی گیاهان را به عنوان منابع تجدیدپذیر جهت تولید دارو افزایش دهد (Kumar & Gupta, 2008; Mulabagal & Tsay, 2004). روش‌های سنتی تکثیر گیاهان دارویی همانند سایر گیاهان شامل روشهای جنسی، تکثیر با بذر و غیرجنسی نظیر: قلمه، خوابانیدن، پاجوش می باشد. گیاهان تکثیر شده با بذر عمدتا از لحاظ ژنتیکی یکنواخت نیستند وگیاه حاصله دارای تمام خواص گیاه مادری نیست. به همین جهت تکثیر غیرجنسی به جنسی ترجیح داده می‌شود. روش‌های سنتی تکثیر غیرجنسی نیز با مشکلات متعددی ازجمله محدودیت تکثیر از گیاه مادری و بازدهی پایین مواجه است. کشت بافت، نوعی تکثیر غیرجنسی است که مزیت آن نسبت به سایر روش‌های مرسوم، تولید تعداد زیادی گیاه در محیط درون شیشه ای[2] با محتوای ژنتیکی یکسان و کیفیت یکنواخت، در زمانی کوتاهتر و فضایی محدودتر می‌باشد. مهمترین روش‌های تکثیر درون شیشه‌ای گیاهان ریزازدیادی، اندام‌زایی از طریق کالوس و جنین‌زایی سوماتیکی می‌باشد (Tripathi & Tripathi, 2003). اولین گزارش موفق از کشت بافت زعفران با استفاده از هورمون‌های IAA و 2,4-D و ریزنمونه‌های بنه بود (Ding et al., 1979). پس از آن تولید کورم‌های کوچک و باززایی با استفاده از هورمون 2,4-D (Homes et al., 1987)، تولید کالوس از طریق کورم با استفاده از هورمون 2,4-D (Ilahi et al., 1987)، توسعه شاخسار از طریق کورم با استفاده از هورمون‌های سیتوکینینی و 2,4-D (Plessner et al., 1990) تولید بهینه کالوس از طریق ریزنمونه گل و تخمدان (Choob et al., 1994)، تولید کالوس از طریق کورم در شرایط ۱۰ درجه سانتی‌گراد (Milyaeva et al., 1995)، باززایی مستقیم از طریق تخمدان با استفاده از هورمون NAA و BA ابتدا در شرایط تاریکی مداوم و سپس روشنای (Bhagyalakshmi et al., 1999) تولید کالوس از طریق برگ با استفاده از هورمون BA و 2,4-D (Raja et al., 2007) و مطالعه بر روی منشأ القا کالوس با استفاده از هورمون‌های NAA و BAP (Sharifi et al., 2010) گزارشات موفقیت آمیزی بود که ارائه شده‌اند. هدف از این مطالعه بررسی تأثیر نوع ریزنمونه، ترکیبات متفاوت هورمونی اکسین و سیتوکنین و تأثیر شرایط محیطی در کشت بافت گیاه زعفران می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در این آزمایش بنه‌های زعفران از ایستگاه تحقیقات کشاورزی دانشگاه شهید مدنی آذربایجان تهیه و پس از ۲۰ دقیقه شستشو با آب مقطر استریل و ۲ دقیقه اتانول ۷۰ درصد، توسط محلول هیپوکلرید سدیم ۰/۵٪ به همراه یک قطره Tween20 به مدت ۱۰ دقیقه غوطه‌ور شد که پس از ۳ بار شستشو با آب مقطر استریل، مواد گیاهی درون محلول (mg/l ۰/۵) بنومیل و (mg/l ۱۰) کانامایسین به مدت ۵ دقیقه آغشته شدند. سپس بنه‌ها به محیط کشت موراشیگ-اسکوگ (MS) به همراه غلظت‌های هورمونی مختلف اکسین و سیتوکنین با pH ۷/۵ و آگار ۸ درصد در لیتر انتقال یافت. جهت کنترل فنول در

1-Zeaxanthin
2- In vitro

www.SID.ir

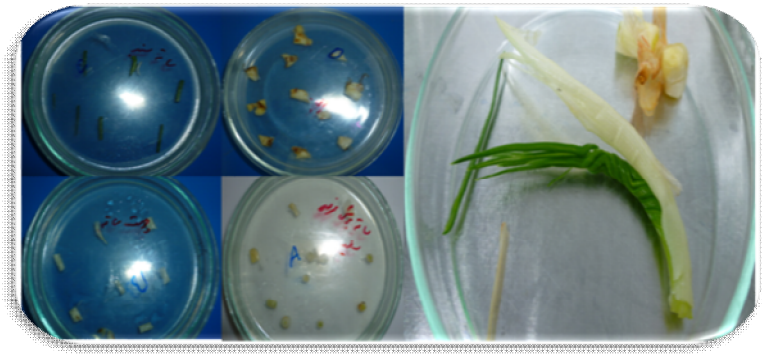
Archive of SID

مراحل اولیه رشد از شیشه‌های کشت بزرگ (۲۰×۴۰) و همچنین از ترکیبات اسید اسکوربیک (۲٪)، هورمون TDZ و (۵ mg/l) نیترات نقره در ترکیب محیط کشت استفاده شد. برای بدست آوردن ریزنمونه‌های مناسب، بنه‌ها به محیط MS به همراه غلظت‌های هورمونی مختلف اکسین و سیتوکنین در شریط تاریکی ۱۸ ساعت (جدول ۱) و شرایط سرمای ۴ درجه سانتی‌گراد (جدول ۲) انتقال یافت که پس از رشد بنه‌ها در محیط درون شیشه‌ای از ریزنمونه‌های مختلف قطعات برگی (سبز رنگ)، قطعات پایین برگی (سفید رنگ)، قطعات بنه و فلس اطراف برگ (شکل ۱) جهت آزمایش کشت بافت تهیه شد.

پس از رشد مواد گیاهی، ریزنمونه‌های متفاوت (شکل ۱) از آنها تهیه شد و جهت تشکیل کالوس به محیط القای کالوس حاوی نمک‌های پایه به همراه ترکیبات متفاوت هورمونی (جدول ۳) انتقال داده شدند.

ریزنمونه‌هایی که در آنها کالوس تشکیل شده بود به محیط باززایی شامل MS بعلاوه ترکیبات هورمونی متفاوت (جدول ۴) جهت بررسی میزان باززایی منتقل شد.

در نهایت جهت بررسی میزان رشد بنه‌ها، میزان کالوس‌زایی و میزان باززایی با ۳ تکرار برای هر تیمار، به ترتیب شاخص‌های طول اندام هوایی گیاه(cm)، درصد کالوس‌زایی (تعداد کالوس تشکیل شده به ازای تعداد ریزنمونه در هر پلیت) و درصد باززایی (تعداد کالوس‌های باززایی شده بر تعداد ریزنمونه در هر پلیت) اندازه‌گیری و تحلیل‌های آماری صورت گرفت.



شکل ۱- بخش‌های مختلف گیاه زعفران جهت تهیه ریزنمونه
Figure 1- Different parts of the saffron for preparation of explants.

جدول ۱- محیط‌های رشد بنه در شرایط تاریکی (d) داخل اتاقک کشت
Table 1- Media for corm growth in darkness (d) in growth chamber

نفتالین استیک اسید NAA(mg/l) Naphthaleneacetic acid	بنزیل آمینو پورین Benzylaminopurin BAP(mg/l)					
	0.5	0.8	1	1.3	1.5	2
0.5	A1d	A2d	A3d	A4d	A5d	A6d
0.8	B1d	B2d	B3d	B4d	B5d	B6d
1	C1d	C2d	C3d	C4d	C5d	C6d
1.3	D1d	D2d	D3d	D4d	D5d	D6d
1.5	E1d	E2d	E3d	E4d	E5d	E6d
2	F1d	F2d	F3d	F4d	F5d	F6d

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲- محیط‌های رشد بنه در شرایط سرما (c)

Table 2- Media for bulb growth in cold condition

نفتالین استیک اسید Naphthaleneacetic acid NAA (mg/l)	BAP(mg/l) Benzylaminopurin بنزیل آمینو پورین		
	0.5	0.8	1
0.5	A1c	A2c	A3c
0.8	B1c	B2c	B3c
1	C1c	C2c	C3c

جدول ۳- محیط‌های القای کالوس‌زایی

Table 3- Callus induction media

محیط کشت Culture medium	هورمون ها Hormones	
	ایندول بوتیریک اسید Indole butyric acid IBA (mg/l)	بنزیل آمینو پورین Benzylaminopurin BAP (mg/l)
CM1	0	0
CM2	2	1
CM3	1	2
CM4	2	0

جدول ٤- محیط‌های القای باززایی

Table 4- Regeneration and induction media

محیط کشت Culture medium	Hormone (mg/l) هورمون			
	تیدیازرون Thidiazuron TDZ	بنزیل آمینو پورین Benzylaminopurin BAP	جیبرلیک اسید Gibberellic acid GA_3	ایندول بوتیریک اسید Indole butyric acid IBA
DM1	0	0	0	0
DM2	0.3	0.5	0.01	2
DM3	0.3	1	0.01	2

نتایج و بحث

در این تحقیق ابتدا جهت دست‌یابی به ترکیب محیط رشد بهینه برای بنه‌های زعفران به منظور تهیه ریزنمونه مناسب، ۳۶ نوع ترکیب هورمونی متفاوت در شرایط تاریکی (جدول ۱) و ۹ ترکیب هورمونی متفاوت در شرایط تیمار سرمایی ۴ درجه سانتی‌گراد (جدول ۲) مورد بررسی قرار گرفتند. میانگین میزان رشد بخش هوایی (جدول ۵) نشان داد که محیط‌های (جدول ۱) A1، B2 و C3 از بیشترین میزان رشد به لحاظ طول قسمت هوایی (cm) برخوردار هستند. همچنین گیاهان رشد کرده در این تیمارهای هورمونی برای تهیه ریزنمونه شاداب تر و مناسب تر بودند (شکل ۱). بنه‌هایی که جهت رشد آنها از تیمارهای C2d، B4d، E5d، D6d، E6d و F6d استفاده شده بود هیچ رشدی از خود نشان ندادند (جدول ۵). نتایج بررسی تیمارهای هورمونی در شرایط سرما بر روی رشد بخش هوایی بنه‌ها (جدول ۶) نشان دهنده افزایش میزان رشد بخش هوایی نسبت به میزان رشد در شرایط تاریکی بود (محیط‌های A1c، B2c و C3c میزان رشد بیشتری در مقایسه با محیط‌های A1d، B2d و C3d داشتند، لازم به ذکر است که این تیمارها از لحاظ ترکیب هورمونی یکسان بودند و تنها شرایط محیطی آنها با هم تفاوت داشت).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۵- میانگین میزان رشد بخش هوایی در تیمار تاریکی

Table 5- Growth mean of aerial part in dark treatment

محیط کشت Culture medium	طول بخش هوایی Shoot length (cm)	محیط کشت Culture medium	طول بخش هوایی Shoot length (cm)	محیط کشت Culture medium	طول بخش هوایی Shoot length (cm)
A1d	9.02	B1d	3.33	C1d	2
A2d	3.1	B2d	10.58	C2d	0
A3d	3.33	B3d	1	C3d	10.02
A4d	5.8	B4d	0	C4d	5.5
A5d	2.3	B5d	2	C5d	2.02
A6d	5.02	B6d	2	C6d	2
D1d	3.3	E1d	3.4	F1d	3.33
D2d	5.4	E2d	1.2	F2d	4
D3d	2	E3d	3.04	F3d	1.01
D4d	1.01	E4d	1	F4d	2.3
D5d	4.5	E5d	0	F5d	3.02
D6d	0	E6d	0	F6d	0

جدول ٦- میانگین میزان رشد بخش هوایی در تیمار سرما

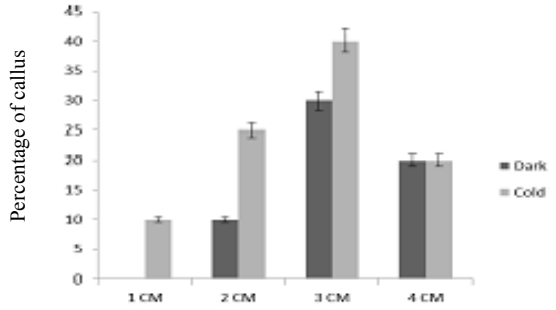
Table 6- Growth mean of aerial part in cold treatment

محیط کشت Culture medium	طول بخش هوایی Shoot length (cm)	محیط کشت Culture Medium	طول بخش هوایی Shoot length (cm)	محیط کشت Culture medium	طول بخش هوایی Shoot length (cm)
A1d	15.15	B1d	5.05	C1d	4.6
A2d	8.8	B2d	18.1	C2d	0
A3d	7.08	B3d	3.05	C3d	20.13

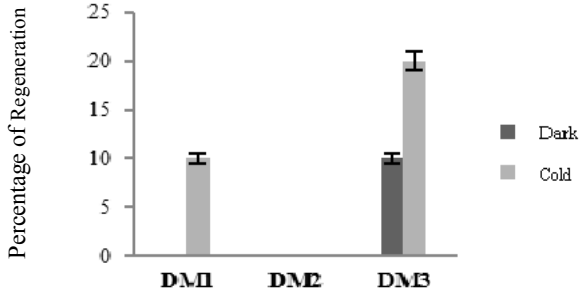
بررسی میزان کالوس‌زایی ریزنمونه‌های متفاوت نشان داد که فقط ریزنمونه‌های بنه قابلیت کالوس‌زایی دارند. سایر ریزنمونه‌ها بعد از گذشت چند هفته نکروزه شده و از بین رفتند. بنابراین برای ادامه آزمایشات فقط از ریزنمونه بنه استفاده شد. در بین انواع محیط‌های القای کالوس، محیط CM3 با ترکیب هورمونی (۱ mg/l) IBA و (۲ mg/l) BAP هم برای ریزنمونه‌های رشد کرده درشرایط تاریکی و هم برای ریزنمونه‌های شرایط سرما (به ترتیب ۴۰٪ و ۳۰٪) بیشترین میزان کالوس‌زایی را به خود اختصاص داد (شکل ۲). محیط CM1 با ترکیب MS بدون هورمون (IBA و BAP)، در صورت استفاده از ریزنمونه‌های رشد کرده در شرایط تاریکی کمترین میزان کالوس‌زایی (صفر) را به خود اختصاص داد. مطابق شکل ۳، در صورت استفاده از ریزنمونه‌های رشد کرده در شرایط سرما، بالاترین درصد باززایی (۲۰٪) متعلق به محیط DM3 با ترکیب هورمونی (۰/۳ mg/l) TDZ، (۱ mg/l) BAP، (۲ mg/l) IBA و (۰/۰۱ mg/l) GA_3 بود. همچنین کمترین درصد باززایی (صفر) برای محیط DM2 با ترکیب هورمونی (۰/۳ mg/l) TDZ، (۵ mg/l) BAP، (۲ mg/l) IBA و (۱ mg/l) برای هر دو ریزنمونه (رشد کرده در شرایط تاریکی و سرما) بود و برای محیط DM1 درصورت استفاده از ریزنمونه‌های رشد کرده در شرایط تاریکی بدست آمد. همچنین تعدادی از ریزنمونه‌ها در محیط باززایی DM3 میکروکورم (کورم یا پداژه‌های سفید رنگ) تشکیل دادند. پس از گذشت چند هفته گیاهچه‌های باززا شده‌ای که به محیط ریشه‌زایی با ترکیب هورمون (۱ mg/l) IBA و (۲ mg/l) D 2,4 منتقل شده بودند، توانایی ریشه‌دهی ضعیفی را از خود نشان دادند.

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۲- مقایسه میزان تشکیل کالوس در ریزنمونه‌های رشد کرده در شرایط تاریکی و سرما
Figure 2-Comparison of the callus formation using grown explants in the dark and cold conditions.
(Display error bar for the selected chart series with%5 value)



شکل ۳- مقایسه میزان باززایی در ریزنمونه‌های رشد کرده در شرایط تاریکی و سرما
Figure 3- Comparison of the regeneration rate using explants grown in the dark and cold conditions.

شکل ٤- واکنش متفاوت ریزنمونه‌های مختلف به کشت بافت در محیط‌های هورمونی متفاوت
Figure 4- Different reaction of various explants to tissue culture in different hormonal media.

از راهکارهای بسیار مفید جهت تکثیر گیاه زعفران، استفاده از تکنیک کشت بافت می‌باشد زیرا دارای پتانسیل زیاد تولید بر پایه مهندسی ژنتیک جهت اصلاح و بهبود صفات ژنتیکی است. مهمترین عوامل موثر بر افزایش کارایی ریز ازدیادی درون شیشه‌ای گیاهان دارویی ریزنمونه و ژنوتیپ گیاهی، میزان تنظیم کننده‌های رشد، محیط کشت و عوامل فیزیکی می‌باشد (Basu & Chand 1996; Satheesh & Bhavanandan 1988; Shasany et al., 1998). باززایی گیاهان با استفاده ازجنین‌زای

www.SID.ir

Archive of SID

سوماتیکی، در بسیاری ازگونه‌های گیاهان دارویی از جمله زعفران با موفقیت انجام شده است (Chaloushi et al., 2007). در این مطالعه فقط ریزنمونه‌های بنه، در صورت استفاده از هر دو ریزنمونه (رشد کرده در شرایط تاریکی و رشد کرده در شرایط سرما)، قابلیت کالوس‌زایی در محیط MS حاوی هورمون‌های (۱ mg/l) IBA و (۲ mg/l) BAP به ترتیب ۴۰٪ و ۳۰٪ داشتند. بالاترین درصد باززایی با تشکیل میکروکورم‌ها نیز در محیط MS با ترکیب هورمونی (۰/۳ mg/l) TDZ، (۱ mg/l) BAP، (۲ mg/l) IBA و (۰/۰۱ mg/l) GA_3 و در صورت استفاده از ریزنمونه‌های رشد کرده در شرایط سرما (۲۰٪) بدست آمد. کاهش غلظت تنظیم کننده‌های رشد روی محیط کشت سبب رشد و جوانه‌زایی جنین‌های سوماتیکی می‌شود (Chaloushi et al., 2007). نتایج این تحقیق با تحقیقات قبلی (Karaoglu et al., 2007; Milyaeva et al., 1995) همسویی بیشتری دارد. همچنین طی تحقیقات انجام گرفته در این مطالعه مشخص شد که شرایط محیطی (دماهای پایین و تاریکی)، ترکیب هورمونی محیط کشت اولیه، نوع ریزنمونه و کنترل میزان فنول تأثیر چشم‌گیری در بهینه‌سازی کشت بافت گیاه زعفران دارند. اهمیت تولید میکروکورم‌های زعفران در ایجاد مزارع بنه عاری از بیماری و گلدهی یکدست می‌باشد. در این مطالعه تولید کالوس و میکروکورم زعفران با موفقیت انجام گرفت که نتایج بدست آمده می‌تواند در مطالعات بعدی جهت افزایش کارایی ریزازدیادی، تولید متابولیت‌های با ارزش، تراریزش جهت انتقال صفات مفید از طریق تکنیک‌های انتقال ژن وابسته به کشت بافت و غیره استفاده گردد.

منابع

Basu, P. and Chand, S. 1996. Regeneration of plantlets from root-derived callus of Egyptian Henbane. Cell Chromosome Research, 19:31-34.

Bhagyalakshmi, N. 1999. Factors influencing direct shoot regeneration from ovary explants of saffron. Plant Cell Tissue Organ Cult, 58: 205–211.

Chaloushi, B., Zarghami, R., Abd-Mishani, C., Omidi, M., Agayev, Y. and Sardood, B. 2007. Effects of different hormonal treatments on the callus production and plantlet regeneration in saffron (*Crocus sativus* L.). Pak. J. Biol. Sci. 15:1625-31.

Choob, V.V., Vlassova, T.A. and Butenko R.G. 1994. Callusogenesis and morphogenesis in generative organ culture of the spring flowering species of Crocus L. Russ J. Plant Physiol, 41: 712–716.

Ding, B., Bai, S., Wu, Y. and Wang, B.K. 1979. Preliminary report on tissue culture of corms of *Crocus sativus*. Acta. Bot. Sin., 21: 387

Homes, J., Legros, M. and Jaziri, M. 1987. In vitro multiplication of *C. sativus* L. ActaHortic, 212: 675-676.

Ilahi, I., Jabeen, M. and Firdous, N. 1987. Morphogenesis with saffron tissue cultures. J. Plant Physiol., 128:227-232.

Karaoglu, C., Cocu, S., Ipek, A., Parmaksiz, I., Sarihan, E., Uranbey, S., Arslan, N., Kaya, M., Sancak, C., Ozcan, S., Gurbuz, B., Mirici, S., Er, C. and Khawar K. 2007. *In vitro* micropropagation of saffron. Acta. Hortic, 739: 223-228.

Kumar, J. and Gupta, P. 2008. Molecular approaches for improvement of medicinal and aromatic plants. Plant Biotechnology Reports, 2:93-112.

Milyaeva, L., Azizbekova, N., Komarova, E. and Akhundova, D. 1995. *In vitro* of regenerant corms of Saffron (*Crocus sativus* L.). R. J. Plant Physiol, 42: 112-119.

www.SID.ir

Archive of SID

Mulabagal, V., and Tsay, H. 2004. Plant cell cultures-an alternative and efficient source for the production of biologically important secondary metabolites. International Journal of Applied Science and Engineering, 2:29-48.

Plessner, O., Ziv, M. and Negbi, M. 1990. *In vitro* corm production in the saffron (*Crocus sativus* L.). Plant Cell Tissue Organ Cult, 20: 89-94.

Raja, W., Zaffer, G. and Wani, S. 2007. *In vitro* microcorm formation in saffron (*Crocus sativus* L.). ActaHortic, 739: 291-296.

Satheesh, K. and Bhavanandan, K.V. 1988. Micropropagation of Plumbagorosea Linn. Plant Cell Tissue Organ Culture, 15:275-8.

Sharifi, G., Ebrahimzadeh, H., Ghareyazie, B. and Karimi, M. 2010. Globular embryo-like structures and highly efficient thidiazuron-induced multiple shoot formation in saffron (*Crocus sativus* L.). In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant, 46:274-280.

Shasany, A., Khanuja, S., Dhawan, U., Yadav, S., Sharma, S., Kumar, S. and Biosci, J. 1998. High regenerative nature of *Mentha arvensis* internodes. Journal Bioscience, 23:641-6.

Tripathi, L. and Tripathi, J. 2003. Role of biotechnology in medicinal plants. Tropical Journal of Pharmaceutical Research, 2:243-253

Winterhalter, P. and Straubinger, M. 2000. Saffron-renewed interest in an ancient spice. Food Rev. Int., 16:39-59.

www.SID.ir

Archive of SID

Study on Effect of Type of Explant and Hormone on Callus Induction and Regeneration in Saffron (*Crocus sativus* L.)

Mohsen Sajjadi fard[1] and Maghsoud Pazhouhandeh[*2]

1, 2. M.Sc. and Assistant Professor, Department of Plant Biotechnology, Faculty of Agriculture, Azarbaijan Shahid Madani University, Respectively.
*(*Corresponding Author E-mail:* Majidrostami7@yahoo.com*)*

Received: 2 May, 2014 **Accepted:** 27 March, 2015

Abstract:

Saffron (*Crocus sativus* L.) is one of the medicinal plants that contain active components and medicinal materials. Tissue culture of saffron can improve the quality and quantity of the saffron product, increase its export and the farmers' income. In this study, 36 different types of hormone combinations in the dark and 9 different treatments of hormone combinations in cold (4°C), using different saffron explants (bulb, leaf, scales around leaf and distal parts of the leaf) were studied in tissue culture. To investigate the growth of corms, the callus formation and the regeneration rate, three replications for each treatment were used and the length of shoot (cm), the callus formation percentage and the regeneration percentage were measured and statistical analysis was performed. Among the types of explants, only explants from bulbs produced the callus on MS medium containing 2 $mg.l^{-1}$ BAP and 1 $mg.l^{-1}$ IBA in both the dark and cold conditions. The highest percentage of regeneration was obtained in MS medium with hormonal composition of 0.3 $mg.l^{-1}$ TDZ, 1 $mg.l^{-1}$ BAP, 2 $mg.l^{-1}$ IBA and 0.01 $mg.l^{-1}$ GA3 in the cold conditions.

Keywords: *Hormones, In vitro, Micropropagation, Saffron.*

www.SID.ir