ریزازدیادی بلوط ایرانی با کشت قطعات رأسی شاخه‌های در حال رشد بهاره

پیام فیاض[۱،*]، سیده سبا نبوی‌گلده[۲]، مسعود دهداری[۳]

[۱] استادیار دانشگاه یاسوج، دانشکده کشاورزی و پژوهشکده منابع طبیعی و زیست محیطی، گروه جنگلداری
[۲] دانش‌آموخته کارشناسی ارشد جنگلداری دانشگاه یاسوج، دانشکده کشاورزی، گروه جنگلداری
[۳] دانشیار دانشگاه یاسوج، دانشکده کشاورزی ،گروه زراعت و اصلاح نباتات
[*]پست الکترونیک نویسنده مسئول: pfayyaz@mail.yu.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۰۳/۲۱ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۰۶/۲)

چکیده

بلوط ایرانی فراوان‌ترین گونه درختی در جنگل‌های زاگرس می‌باشد که تکثیر غیرجنسی آن از طریق قلمه تاکنون انجام نشده است. موفقیت در تکثیر غیرجنسی، موجب تسریع کارهای اصلاحی می‌گردد. به‌این منظور سرشاخه‌های در حال رشد بهاره دارا و فاقد جوانه رأسی بلوط ایرانی در محیط‌کشت‌های مختلف نیم MS و WPM در محیط درون‌شیشه‌ای، کشت داده شدند. به‌منظور سترون کردن ریزنمونه‌ها، چهار نوع ماده سترون کننده شامل اتانول، کلریدجیوه، هیپوکلریت سدیم و هیپوکلریت پتاسیم به‌همراه توئین در غلظت‌های مختلف مورد آزمون قرار گرفت و رتبهٔ آلودگی، ترشحات فنلی و قهوه‌ای شدن ریزنمونه‌ها ثبت شد. تأثیر تیمارهای مختلف اسید اسکوربیک، اسید استیک، PVP، زغال‌فعال و تاریکی بر میزان ترشحات فنلی و قهوه‌ای شدن ریزنمونه‌ها، مورد ارزیابی قرار گرفت. همچنین نرخ پرآوری و پینه‌زایی ریزنمونه‌ها با استفاده از غلظت‌های مختلف دو هورمون NAA و BAP بررسی شد. در پایان، توان ریشه‌دهی ریزنمونه‌ها با چهار ترکیب هورمونی اکسین (شاهد، ۰/۴ میلی‌گرم در لیتر NAA، ۰/۴ میلی‌گرم در لیتر IBA و مخلوط NAA و IBA به میزان ۰/۱ و ۰/۳ میلی‌گرم در لیتر) و سه غلظت هورمون سیتوکنین (۰، ۰/۴ و ۱ میلی‌گرم در لیتر) مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که بهترین شرایط جهت استقرار و پرآوری ریزنمونه‌های در حال رشد بهارهٔ بلوط ایرانی، سترون کردن ریزنمونه‌ها با کلریدجیوه ۰/۱٪ و انتقال به محیط‌کشت WPM به‌همراه ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر PVP یا زغال‌فعال می‌باشد. افزایش غلظت BAP و NAA به‌ترتیب تا یک و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر تأثیر معنی‌داری بر نرخ پرآوری ریزنمونه‌ها نداشت. هیچ یک از تیمارهای ریشه‌دهی منجر به تشکیل ریشه در ریزنمونه‌ها نشد.

کلمات کلیدی: بلوط ایرانی، پرآوری، ترشحات فنلی، زاگرس، کشت بافت

مقدمه

با توجه به پراکنش وسیع بلوط ایرانی (*Quercus brantii* Lindl.) در جنگل‌های زاگرس (متینی‌زاده و همکاران، ۱۳۸۵؛ مروی‌مهاجر، ۱۳۸۵)، نقش این گونه در حفاظت از خاک، آب و جلوگیری از فرسایش در منطقه انکارناپذیر است. از طرفی به‌دلیل قطع بی‌رویه و بهره‌برداری‌های نامناسب و تعلیف دام، این جنگل‌ها سیر قهقرایی را طی می‌کنند، به‌نحوی که میزان

[Downloaded from yujs.yu.ac.ir on 2026-11-10]

تاج‌پوشش، رویش و زادآوری در رویشگاه‌های این گونه به‌دلیل شدت تخریب بسیار اندک است (نقوی و همکاران، ۱۳۸۸). همچنین با توجه به اهمیت این گونه از ابعاد مختلف بوم‌شناسی و اقتصادی، روی‌کرد اصلاحی به جنگل‌های این منطقه، موجب ارتقاء عمل‌کرد کمی و کیفی آن می‌شود. یکی از روش‌های مؤثر در اجرای پروژه‌های اصلاحی، دستیابی به تکثیر غیرجنسی، جهت تکثیر و بررسی درختان منتخب می‌باشد. تلاش‌هایی که تاکنون جهت تکثیر غیرجنسی گونه‌های مختلف بلوط صورت گرفته‌اند حاکی از آن است که دست‌یابی به این امر از طریق روش‌های معمول مانند قلمه، پیوند و تولید ریشه‌های نابجا مشکل می‌باشد. از طرفی بذر بلوط در دسته بذرهای ری‌کلسی‌ترانت[1] بوده و نگهداری طولانی‌مدت بذور آن به‌دلیل حساسیت بالای این بذور به خشکی امکان‌پذیر نیست (Mohan Jainne & Häggman, 2007). ولی با انجام ریزازدیادی می‌توان هر زمان و به هر میزان که لازم باشد گیاهانی سالم، یک‌نواخت و مرغوب با حفظ کامل ساختار ژنتیکی و امکان ذخیره‌سازی بلندمدت را تولید کرد (George & Klerk, 2008).

از طرفی ریزازدیادی گیاهان با استفاده از ریزنمونه‌های کاملاً رشدیافته در عرصه عمدتاً به‌دلیل غیرفعال‌بودن بافت مریستمی (Romano & Martins- Chalupa, 1993; Loução, 1992) آلودگی بالا و اکسیداسیون سریع بافت‌های آن پس از کاشت دشوار است (Jain & Priyadarshan, 2009). ازاین‌رو در برخی موارد استفاده از شاخه‌های در حال رشد بهاره که از آلودگی کم‌تر و توان رویشی بیشتری برخوردار هستند توصیه می‌شود (Barlass & Skene, 1978) هرچند در برخی موارد استفاده از شاخه‌های بهاره‌ای که رشد طولی آن متوقف شده است به‌جای شاخه‌های در حال رشد مناسب‌تر بوده است (Volkaert *et al.*, 1990).

ضدعفونی‌کردن در شرایط درون‌شیشه‌ای توسط موادی نظیر اتانول، هیپوکلریت‌کلسیم، هیپوکلریت سدیم، کلریدجیوه، با توجه به نوع گونه و گیاه مورد نظر، در غلظت‌ها و زمان‌های مختلف صورت می‌گیرد (Lizarraga *et al.*, 1989). درصورتی‌که منشأ آلودگی داخلی باشد، پس از قطع ریزنمونه و یا در هنگام واکشت امکان تماس عامل بیماری‌زا با محیط کشت فراهم می‌شود (Höfer, 2009). در برخی موارد علاوه بر موارد فوق استفاده از قارچ‌کش‌ها و آنتی‌بیوتیک‌های مختلف نیز توصیه می‌شود (Kritzinger *et al.*, 1997).

روش‌های به‌کاررفته در گونه‌های مختلف جنس بلوط نیز بسیار متنوع می‌باشند که از جمله مؤثرترین آن‌ها می‌توان به ضدعفونی‌کردن ریزنمونه‌های دارا و فاقد جوانه رأسی با شستشوی اولیه در آب جاری به

[1] Recalcitrant

[Downloaded from yujs.yu.ac.ir on 2026-11-10]

مدت یک ساعت و سپس قراردادن ریزنمونه‌ها در اتانول ۷۰ درصد به‌مدت ۱۰-۵ دقیقه و متعاقب آن انتقال ریزنمونه‌ها به محلول کلریدجیوه ۰/۱ درصد به همراه سه قطره توین ۸۰ به مدت ۱۰-۵ دقیقه (Ostrolucka *et al.*, 2007) اشاره کرد. همچنین در تحقیقی که در گونه‌ی *Quercus lobata* روی ساقه نهال‌های یک‌ساله این گونه صورت گرفت، ریزنمونه‌های پنج سانتی‌متری به‌مدت سه دقیقه در محلول هیپوکلریت‌کلسیم شش درصد به‌همراه ۰/۰۵درصد توین ۸۰ با اسیدیته شش، به‌خوبی ضدعفونی شدند (Johnson & Walker, 1990). همچنین به‌منظور ریزازدیادی دو گونه‌ی *Q. robur* و *Q. petrea* با استفاده از جوانه‌های رأسی و جانبی، از محلول کلریدجیوه ۰/۱ تا ۰/۳ درصد برای مدت ۲۰ الی ۴۰ دقیقه استفاده شد (Chalupa, 1984 & 1993). در تحقیقی دیگر که بر روی دو گونه بلوط *Q. leucotrichophor* و *Q. glauca* انجام شد، نتیجه مطلوب با خیساندن ریزنمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در محلول کلریدجیوه ۰/۰۵ درصد حاصل شد (Purohit *et al.*, 2002).

قهوه‌ای‌شدن بافت یک پدیده خودکاتالیزوری است که موجب مرگ ریزنمونه‌ها می‌شود. ترکیبات فنلی تولید شده باعث ایجاد صدمه به بافت می‌شوند. که این خود باعث آزاد شدن فنل بیشتر و به‌دنبال آن، قهوه‌ای شدن بیشتر بافت می‌شود. به‌طور کلی، برای جلوگیری از قهوه‌ای شدن ریزنمونه‌ها، باید ضمن عمل جداسازی، آن‌ها را در تماس نزدیک با ضد اکسید کننده‌ها قرار داد (Comptan & Preec, 1986). از جمله روش‌های کاهش قهوه‌ای‌شدن می‌توان به انجام واکشت‌های مکرر (McCown, 1986)، کاهش غلظت ساکارز (Evers, 1981)، افزودن Na-DIECA[1] و یا گلوتامین به محیط‌کشت، پیش‌تیمار ریزنمونه‌ها با تاریکی (Marks & Simpson, 1990؛ Compton, 1999) و یا نگهداری کشت‌ها در تاریکی (Monteuuis & Bon, 2000) اشاره نمود. Ostrolucka *et al*. (2007) به‌منظور حذف فنل در بلوط، ریزنمونه‌ها را در محلول ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید اسکوربیک به مدت ۳۰ دقیقه قرار دادند و Mohan Jainne & Häggman (2007) ۳ تا ۱۰ گرم در لیتر زغال‌فعال را جهت حذف ترشحات فنلی در بلوط توصیه نمودند.

پرآوری به‌معنی تحریک رویش ساقه‌های متعدد از یک ریزنمونه می‌باشد. عوامل مختلفی بر پرآوری و میزان رشد آن‌ها تأثیر دارد. به‌طور کلی استفاده از نسبت بالای سیتوکینین به اکسین موجب تحریک پرآوری در ریزنمونه‌ها می‌شود. هرچند در برخی موارد استفاده از غلظت بالای برخی سیتوکینین‌ها نظیر، BA و BAP موجب توقف رشد ساقه‌ها شده است (Chalupa, 1984; Vieitez *et al*., 1983).

[1] Sodium-diethyldithiocarbamate

[Downloaded from yujs.yu.ac.ir on 2026-11-10]

Ostrolucka *et al*. (2007) ۱-۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP به همراه ۰/۱-۰/۵میلی‌گرم در لیتر NAA را در محیط‌کشت WPM به‌منظور پرآوری جنس بلوط توصیه نمودند. همچنین در تحقیقی دیگر استفاده از ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر NAA را در محیط‌کشت WPM بهترین شرایط برای پرآوری *Q. robur* تعیین شد (Chalupa, 1983). استفاده از ریزنمونه‌های جوان (Vieitez *et al*., 1983)، جایگزین‌کردن ساکارز با فروکتوز (Chauvin & Salesses, 1988)، اضافه نمودن زغال‌فعال و جیبرلیک اسید (Ostrolucka *et al*., 2007) نیز در تحقیقات مختلف، موجب طویل شدن شاخه‌ها شد. به‌طور کلی استفاده از نسبت بالای اکسین به سیتوکنین برای شروع ریشه‌دهی ضروری است (McCown, 1986). همچنین ترکیب دو نوع اکسین NAA و IBA مقدار ریشه‌دهی را افزایش می‌دهد (Chalupa, 1984؛ Ostrolucka *et al*., 2007). با ترکیب ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر NAA و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر IBA میزان ریشه‌دهی در *Q. robur* به میزان ۷۰ تا ۹۵ درصد افزایش یافت (Chalupa, 1984). Ostrolucka *et al*. (2007) نیز نتایج مشابهی در مورد ریشه‌دهی انواع بلوط‌ها به‌دست آوردند به طوری‌که با ترکیب ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر NAA و ۰/۳ میلی‌گرم در لیتر IBA در محیط کشت WPM بیشترین میزان ریشه‌دهی حاصل شد. در تحقیقی که توسط Chalupa *et al*. (2002) به‌منظور ریشه‌دهی انواع جنس بلوط انجام شده استفاده از IBA به‌تنهایی (۰/۵ میلی‌گرم در لیتر) و یا به‌صورت ترکیبی از IBA و NAA (هر کدام ۰/۴ میلی‌گرم در لیتر) موجب تولید ریشه در انواع بلوط شد. عوامل فیزیکی و شیمیایی متعددی موجب ریشه‌دهی ریزنمونه‌ها می‌شوند. Gaspar & Coumans (1987) عنوان نمودند که شش عامل فیزیکی شامل تنش‌آبی، دمای بالا، زغال فعال، اکسیژن بالا و شدت نور پایین موجب تحریک ریشه‌دهی ریزنمونه‌ها می‌شوند. همچنین محرک‌های شیمیایی نظیر افزایش بر، کلسیم و منگنز و نیز حضور برخی از ترکیبات فنلی و ویتامین D می‌تواند موجب تحریک ریشه‌دهی شوند (1987) Gasper & Coumas طی تحقیقی که توسط Badoni *et al*. (2010) به‌منظور ریشه‌دهی *Q. robur* انجام شد، استفاده از محیط‌کشت کم‌نمک و ساکارز پایین (۱۰ گرم در لیتر) به ریشه‌دارشدن ریزنمونه‌ها منجر شد.

با توجه به این‌که ریزازدیادی بلوط ایرانی در هیچ یک از مراحل آن تاکنون به انجام نرسیده است و با توجه به پراکنش و اهمیت بسیار بالای این گونه مخصوصاً در جنگل‌های غرب ایران، در این تحقیق امکان ریزازدیادی این گونه مورد بررسی قرار گرفت. موفقیت ریزازدیادی در این گونه موجب تسریع فعالیت‌های

[Downloaded from yujs.yu.ac.ir on 2026-11-10]

اصلاحی و در نهایت بهبود کمی و کیفی گونه بلوط ایرانی خواهد شد.

مواد و روش‌ها

سرشاخه‌های در حال رشد درختان بالغ بلوط ایرانی واقع در جنگل آموزشی-تحقیقاتی دانشگاه یاسوج در اوایل بهار به طول ۱۵ تا ۲۰ سانتی‌متر قطع و به آزمایشگاه منتقل شدند. ابتدا سرشاخه‌ها سه مرتبه و هر مرتبه به مدت ۱۵ دقیقه با آب لوله‌کشی شهری آبکشی شدند. سپس ۵ سانتی‌متر ابتدایی سرشاخه‌ها قطع و برگ‌های آن حذف شدند و به مدت ۲ ساعت دیگر در آب خیسانده شد و پس از آن نمونه‌ها به‌صورت مرطوب در کاغذ آلومینیوم پیچانده و در یخچال در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد تا روز بعد نگهداری شد. از این سرشاخه‌ها، ریزنمونه‌هایی به‌طول تقریبی ۱ الی ۱/۵ سانتی‌متر با تعداد یک الی دو جوانه در هر ریزنمونه تهیه شد و ریزنمونه‌های دارا و فاقد جوانهٔ انتهایی از یکدیگر جدا شد. ریزنمونه‌ها به‌مدت ۳ ساعت دیگر در آب قرار داده شد. پس از آن ریزنمونه‌ها آبکشی شده و به زیر لامینارفلو جهت انجام مراحل بعدی سترون کردن منتقل شدند. به‌منظور ریزازدیادی بلوط ایرانی آزمایش‌هایی با چهار هدف ضدعفونی نمودن، حذف ترشحات فنلی، پرآوری و ریشه‌دهی بر روی سرشاخه‌های در حال رشد بهاره بلوط ایرانی انجام شد. تیمارهای ضدعفونی شامل تیمارهای شستشو با آب مقطر (شاهد)، اتانول (۷۰ درصد) و کلریدجیوه (۰/۱ و ۱ درصد) و یا همراه با هیپوکلریت سدیم و کلسیم (۳۰۰ میلی‌مولار) و توئین بر اساس جدول ۱ انجام شد. ریزنمونه‌ها در هر مادهٔ ضدعفونی‌کننده به‌مدت ۵ دقیقه ضدعفونی گردید و در پایان ۵ دقیقه در آب مقطر خیسانده و آبکشی شد. سه بار آبکشی با آب مقطر به‌عنوان شاهد استفاده گردید. در هر ظرف کشت‌بافت ۱۰ ریزنمونه به محیط کشت پایهٔ نیم MS جامد شده با ۰/۲۸ درصد ژلرایت به‌صورت عمودی منتقل و در اتاق کشت قرار گرفت (۱۶ ساعت نور و ۸ ساعت تاریکی، ۲۷ درجه سانتی‌گراد و ۱۵۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه نور فعال فتوسنتزی). میزان آلودگی، قهوه‌ای‌شدن و نشت ترشحات فنلی دو هفته پس از استقرار ثبت شدند.

تیمارهایی که به‌منظور حذف ترشحات فنلی مورد آزمون قرار گرفتند شامل PVP (۰/۵، ۱ و ۱۰ گرم در لیتر)، مخلوط اسید سیتریک و اسید اسکوربیک (به ترتیب ۷۵ و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر و یا ۱۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر)، زغال‌فعال (۰/۵، ۱ و ۳ گرم در لیتر) و تیمار تاریکی (۱، ۲ و ۱۴ روز تاریکی در دمای ۲۷ درجهٔ سانتی‌گراد) بود که در دو محیط کشت نیم MS و WPM انجام گرفت. به‌منظور تعیین بهترین تیمار پرآوری، دو نوع ریزنمونهٔ دارا و فاقد جوانهٔ رأسی پس از ضدعفونی با کلرید جیوهٔ ۰/۱ درصد به محیط کشت WPM همراه با ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر PVP

[Downloaded from yujs.yu.ac.ir on 2026-11-10]

منتقل شد و تأثیر هورمون‌های NAA در سه سطح (۰، ۰/۰۱، ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر) و BAP در چهار سطح (۰، ۰/۱، ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم در لیتر) بر نرخ پرآوری، پینه‌زایی و طول شاخه مورد ارزیابی قرار گرفت. در پایان، به‌منظور تعیین بهترین تیمار ریشه‌دهی، دو نوع ریزنمونهٔ دارا و فاقد جوانهٔ رأسی پس از ضد عفونی با کلرید جیوهٔ ۰/۱ درصد به محیط کشت WPM همراه با ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر PVP با هورمون‌های اکسین در چهار سطح (۰، ۰/۴ میلی‌گرم در لیتر NAA، ۰/۴ میلی‌گرم در لیتر IBA و ترکیبی از IBA و NAA با غلظت‌های ۰/۱ و ۰/۳ میلی‌گرم در لیتر) و کینتین در سه سطح (۰، ۰/۴ و ۱ میلی‌گرم در لیتر) مورد آزمایش قرار گرفتند. تجزیه و تحلیل داده‌ها به کمک آنالیز واریانس یک‌طرفه کروسکال والیس و مقایسات میانگین دوگانه با استفاده از آزمون U من-ویتنی و مقایسات میانگین چندگانه با استفاده از آزمون U من-ویتنی به‌همراه ضریب تصحیح آلفای بنفرونی انجام شدند.

نتایج

نتایج حاصل از تجزیه واریانس یک‌طرفه کروسکال والیس برای بررسی اثر تیمارهای سترون‌سازی نشان داد تیمارهای مورد استفاده در تغییر میزان آلودگی ریزنمونه‌ها مؤثر بود (کای مربع ۱۵۹، آلفا ۰/۰۰۰). نتایج حاصل از مقایسه میانگین تیمارهای مختلف سترون‌سازی از نظر صفات نرخ آلودگی، نرخ ترشحات فنلی و نرخ قهوه‌ای شدن در شکل ۱ نشان داده شده است. در این بین نمونه‌های سترون‌شده با الکل ۷۰ درصد و پس از آن هیپوکلریت سدیم ۲/۲ درصد (۳۰۰ میلی‌مولار) از نظر میزان آلودگی و نرخ ترشحات فنلی تفاوت معنی‌داری (در سطح اطمینان ۹۵ درصد) را با ریزنمونه های شاهد (شسته‌شده با آب مقطر) نداشتند و تنها میزان قهوه‌ای‌شدن ریزنمونه‌ها به‌طور معنی‌داری کاهش یافت، اما استفاده از الکل ۷۰ درصد به‌همراه هیپوکلریت کلسیم ۴/۲ درصد (۳۰۰ میلی مولار) هر چند که در رفع آلودگی ریزنمونه‌ها مؤثر بود اما هم‌چنان موجب قهوه‌ای شدن ریزنمونه‌ها همانند ریزنمونه‌های شاهد گردید.

همچنین استفاده از توئین به‌همراه الکل و هیپوکلریت سدیم تأثیری در بهبود سترون‌سازی ریزنمونه‌ها نداشت و تنها موجب تشدید ترشحات فنلی در تیمار ترکیبی الکل و هیپوکلریت کلسیم گردید. استفاده از کلریدجیوه ۰/۱ درصد در رفع آلودگی ریزنمونه‌ها در مقایسه با تیمار شاهد مؤثر است (U من-ویتنی ۰/۰۰۰، آلفای تصحیح‌شده بنفرونی ۰/۰۰۰) و هیچ‌گونه آلودگی با استفاده از کلریدجیوه ۰/۱ درصد پس از دو هفته مشاهده نشد. استفاده از کلریدجیوه ۱ درصد، میزان ترشحات فنلی و قهوه‌ای شدن ریزنمونه‌ها را در مقایسه با تیمار کلریدجیوه ۰/۱ درصد افزایش داد (U من- ویتنی ۹، آلفا ۰/۰۰۰).

[Downloaded from yujs.yu.ac.ir on 2026-11-10]

جدول ۱- لیست تیمارهای ضدعفونی مورد استفاده در آزمایش

Table 1. The list of sterilising reagents used in experiment

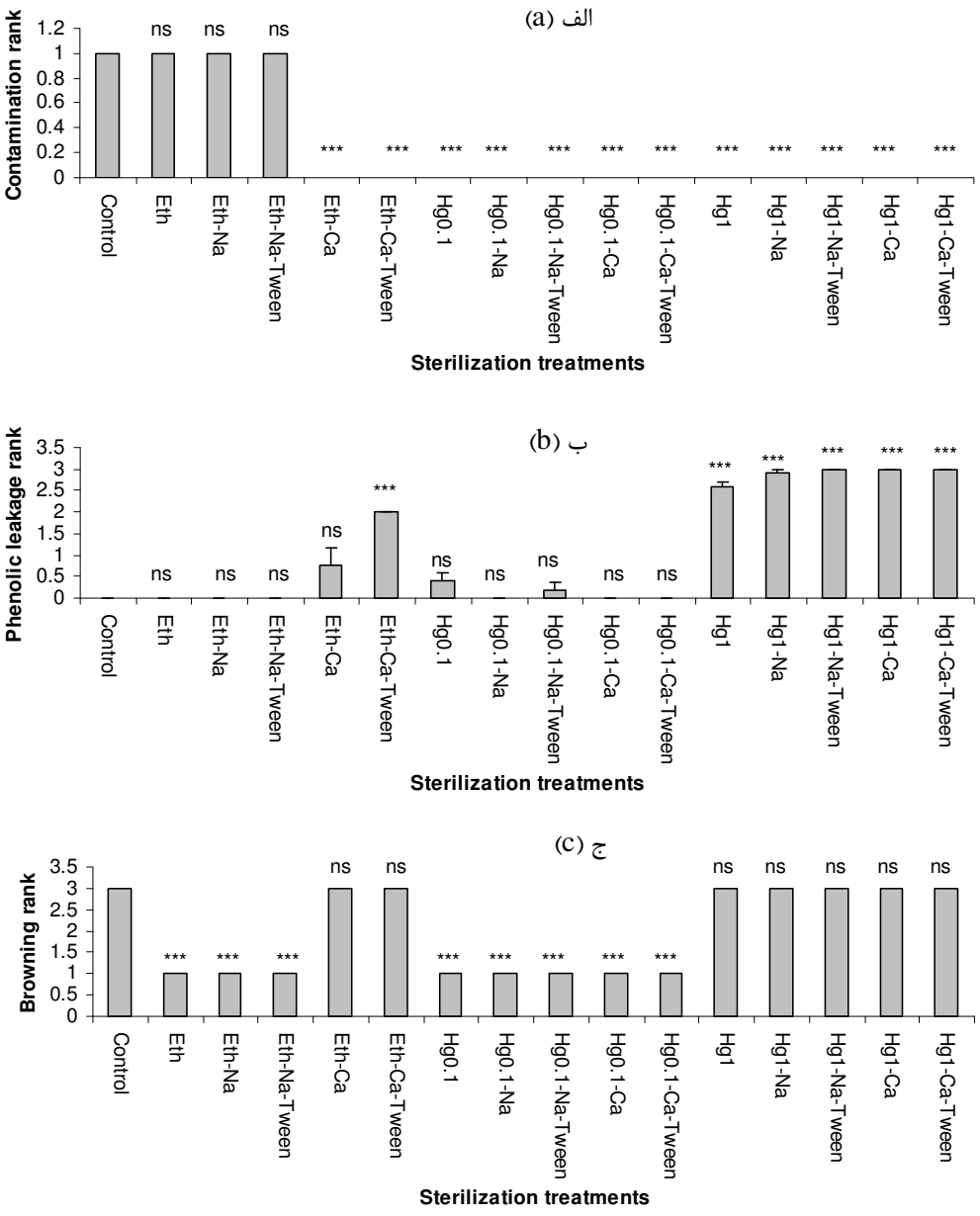
نام اختصاری Abbreviation name	مرحله ۱ Step 1	مرحله ۲ Step 2	
Control	Bidest.water	-	-
Eth		-	-
Eth-Na		NaClO [300 mM] (2.2%)	-
Eth-Na-Tween	Ethanol 70%		Tween
Eth-Ca		$Ca(ClO)_2$ [300 mM] (4.2%)	-
Eth-Ca-Tween			Tween
Hg0.1		-	-
Hg0.1-Na		NaClO [300 mM] (2.2%)	-
Hg0.1-Na-Tween	$HgCl_2$ 0.1%		Tween
Hg0.1-Ca		$Ca(ClO)_2$ [300 mM] (4.2%)	-
Hg0.1-Ca-Tween			Tween
Hg1		-	-
Hg1-Na		NaClO [300 mM] (2.2%)	-
Hg1-Na-Tween	$HgCl_2$ 1%		Tween
Hg1-Ca		$Ca(ClO)_2$ [300 mM] (4.2%)	-
Hg1-Ca-Tween			Tween

استفاده از محیط‌کشت WPM موجب کاهش ترشحات فنلی ریزنمونه‌ها به محیط کشت (α=۰/۰۰۰)، قهوه‌ای شدن ریزنمونه‌ها (α=۰/۰۰۰) و افزایش نرخ پرآوری (α=۰/۰۰۳) گردید (نتایج نشان داده نشده است).

اثر سادهٔ نوع ریزنمونه (دارا و یا فاقد جوانهٔ انتهایی) و نوع محیط کشت پایه (نیم MS و یا WPM)، تأثیری بر میزان ترشحات فنلی دو هفته پس از کشت نداشت. استفاده از تیمارهای PVP، زغال‌فعال، اسیدآسکوربیک– سیتریک و تاریکی به‌نحو مؤثری ترشحات فنلی ریزنمونه‌ها را کاهش دادند (شکل ۲) ولی در این بین تیمارهای مختلف تاریکی و مقادیر بالای PVP (۱ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر) موجب قهوه‌ای‌شدن ریزنمونه‌ها گردیدند (شکل ۳). از تیمارهای مختلف آنتی‌اکسیدانی اعمال‌شده استفاده از ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر زغال فعال و یا ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر PVP کمترین ترشحات فنلی و بیشترین درصد سبزمانی ریزنمونه‌ها را به‌همراه داشتند. تیمارهای مختلف تاریکی موجب کاهش ترشحات فنلی انواع ریزنمونه‌های مورد استفاده گردید که در این بین ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر PVP مؤثرترین تیمار جهت کاهش ترشحات فنلی بود.ریزنمونه‌های دارای جوانه انتهایی دارای نرخ پرآوری بیشتر، طول شاخه بزرگتری نسبت

[Downloaded from yujs.yu.ac.ir on 2026-11-10]

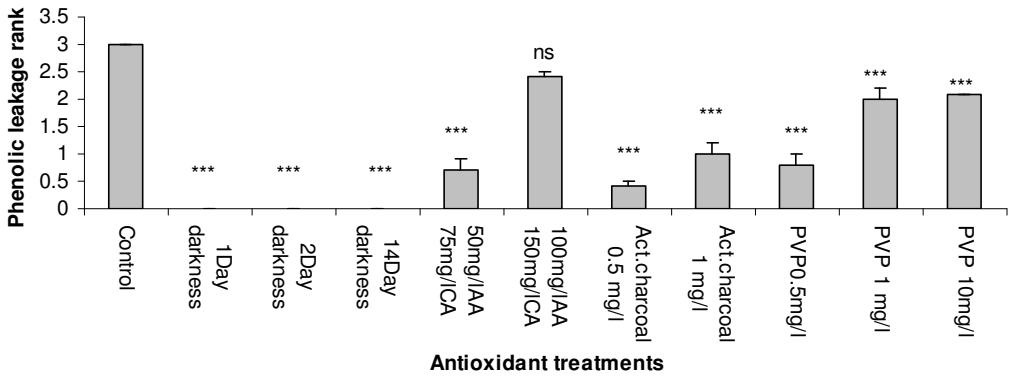
به ریزنمونه‌های فاقد جوانه انتهایی داشته و نوع ریزنمونه تأثیر معنی‌داری بر میزان ترشحات فنلی (α=۰/۷۲۴) و قهوه‌ای‌شدن ریزنمونه‌ها (α=۰/۰۶۶) در سطح اطمینان ۹۵ درصد نداشت (نتایج نشان داده نشده است).



شکل ۱- تأثیر تیمارهای مختلف سترون کردن در محیط‌کشت نیمMS (۱۰ تکرار) بر (الف) رتبهٔ آلودگی، (ب) رتبهٔ ترشحات فنلی و (ج) رتبهٔ قهوه‌ای شدن ریزنمونه‌ها

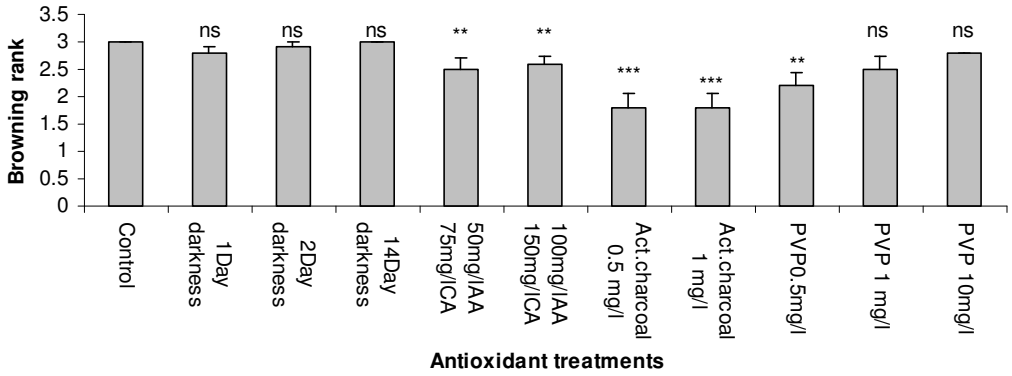
Figure 1. Effect of different sterilizing reagents in half MS medium (10 replications) on (a) contamination ratio (b) phenolic leakage ratio and (c) browning ratio of explants

[Downloaded from yujs.yu.ac.ir on 2026-11-10]



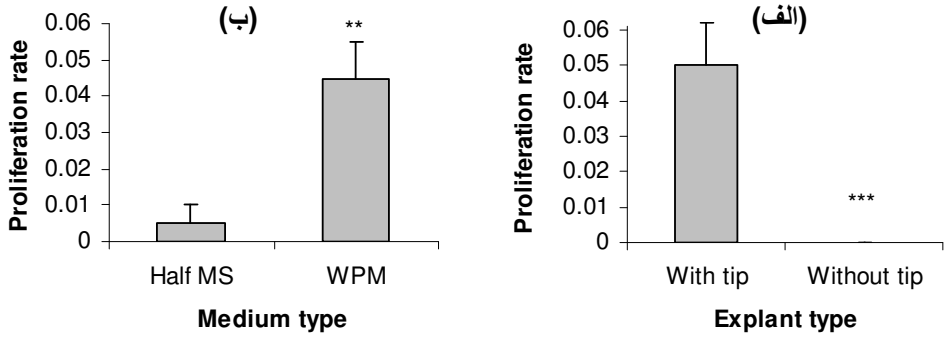
شکل ۲- میانگین رتبه ترشحات فنلی (به‌همراه اشتباه معیار)، تحت تیمارهای مختلف آنتی‌اکسیدانی دو هفته پس از کشت (۲۰ تکرار)

Figure 2. Average of phenolic leakage (with standard error), under different antioxidant treatments two weeks after culturing (n=20)



شکل ۳- میانگین رتبه‌ی قهوه‌ای‌شدن (به‌همراه اشتباه معیار)، تحت تیمارهای مختلف آنتی‌اکسیدانی دو هفته پس از کشت (۲۰ تکرار)

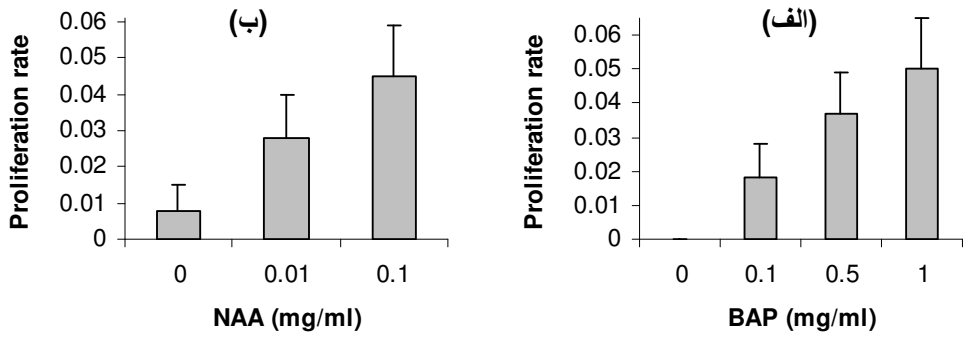
Figure 3. Average of browning (with standard error), under different antioxidant treatments two weeks after culturing (n=20)



شکل ۴- میانگین نرخ پرآوری (به‌همراه اشتباه معیار) تحت تأثیر نوع ریزنمونه (الف) و نوع محیط‌کشت (ب) یک‌ماه پس از کشت (۲۴۰ تکرار)

Figure 4. Average of proliferation rate (with standard error) in different explant (a) and medium (b) types one month after culturing (n=240)

[Downloaded from yujs.yu.ac.ir on 2026-11-10]



شکل ۵- میانگین نرخ پرآوری (به‌همراه اشتباه معیار) تحت تأثیر تیمارهای هورمونی مختلف یک‌ماه پس از کشت. الف: اثر هورمون BAP، (۱۲۰ تکرار) ب: اثر هورمون NAA (۱۶۰ تکرار)

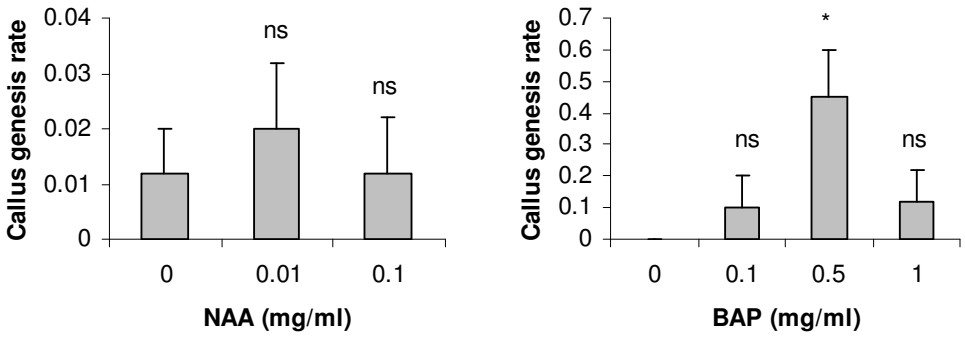
Figure 5. Average of proliferation rate (with standard error) in different hormone treatments one month after culturing. Effect of NAA (a) (n=120) and BAP (b) (n=160)

نرخ پرآوری تفاوت معنی‌داری در سطح ۵ درصد در غلظت‌های مختلف هورمونی نداشت، ولی روند افزایشی مشاهده گردید. نرخ پرآوری در ریزنمونه‌های در حال رشد بهاره (دارای جوانه‌ی انتهایی) با استفاده از محیط‌کشت WPM بسیار بالا بود (شکل ۳-الف) و افزایش NAA (α=۰/۱۰۴) و BAP (α=۰/۰۷۵) تاثیر معنی‌داری در سطح اطمینان ۹۵ درصد در نرخ پرآوری ریزنمونه‌های بهاره در حال رشد نداشتند، اما روندی صعودی در میزان پرآوری ریزنمونه‌ها با افزایش غلظت هر دو هورمون مشاهده گردید (شکل ۵- الف و ب).

نتایج آنالیز واریانس یک‌طرفه کروسکال والیس نشان داد که سطوح مختلف NAA و BAP به‌کار رفته به‌منظور تحریک ساقه‌دهی ریزنمونه‌های بهاره در حال رشد در پینه زایی ریزنمونه‌ها مؤثر است، به نحوی‌که بیشترین نرخ پینه‌زایی در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر مشاهده گردید و با افزایش غلظت نرخ پینه‌زایی مجددا کاهش یافت (شکل ۶).

با توجه به عدم دستیابی به ریزنمونه پرآوری‌شده به‌میزان کافی، اقدام به استفاده از ریزنمونه‌های خارجی جهت ارزیابی تیمارهای ریشه‌دهی گردید. استفاده از تیمارهای مختلف هورمونی، محیط کشت و نوع ریزنمونه برای ریشه‌دارکردن سرشاخه‌های بهاره درختان بلوط موثر نبود و هیچ یک از تیمارهای ریشه‌دهی منجر به تشکیل ریشه در ریزنمونه‌ها نگردید.

[Downloaded from yujs.yu.ac.ir on 2026-11-10]



شکل ۶- میانگین نرخ پینه‌زایی (به‌همراه اشتباه معیار)، تحت تأثیر تیمارهای هورمونی مختلف، یک‌ماه پس از کشت. (الف) تأثیر هورمون BAP بر پینه‌زایی (۱۲۰ تکرار) و (ب) تأثیر هورمون NAA (۱۶۰ تکرار) بر پینه‌زایی

Figure 6. Average of callus genesis rate (with standard error) in different hormone treatments one month after culturing. Effect of NAA on callus genesis (a) (n=120) and BAP on callus genesis (b) (n=160)

بحث

تشدید ترشحات فنلی در غلظت‌های بالای کلریدجیوه در برخی مطالعات مشاهده شده است. Romano & Martins-Loução (1992) ترشحات فنلی تیمارهای مختلف استریل را در گونه‌ی *Q. suber* بررسی کردند و استفاده از کلریدجیوه ۱درصد به‌همراه هیپوکلریت‌سدیم ۲۰ درصد باعث افزایش و تشدید ترشحات فنلی گردید. استفاده از غلظت‌های کم کلریدجیوه در ریزنمونه‌های بهاره به‌دلیل نفوذپذیری و حساسیت بیشتر این ریزنمونه‌ها در بسیاری از تحقیقات مشاهده شده است. Chalupa (1993) بهترین تیمار ضدعفونی را برای ریزنمونه‌های بهاره، کلریدجیوه‌ی ۰/۱ درصد به‌مدت زمان ۲۰ دقیقه برای جوانه‌های دارا و فاقد جوانه‌ی رأسی انواع بلوط گزارش نمودند.

استفاده‌ی ترکیبی از اتانول ۷۰ درصد و هیپوکلریت‌کلسیم نیز در بسیاری از موارد نتایج موفقیت‌آمیزی جهت حذف آلودگی‌های ریزنمونه‌های بهاره نشان می‌دهد. Lizarraga *et al*. (1989) در بررسی که به‌منظور ضدعفونی نمودن ریزنمونه‌های زیتون *Olea europaea* انجام داد به این نتیجه رسید که بهترین تیمار اتانول ۹۵ درصد به مدت ۱ دقیقه و سپس قرار دادن ریزنمونه‌ها در هیپوکلریت کلسیم ۱٪ به‌همراه چند قطره توین ۸۰ به‌مدت ۱۵ دقیقه بود. عصاره و همکاران (۱۳۸۵) نیز ریزنمونه‌های گل محمدی را با استفاده از اتانول ۷۰٪ و متعاقب آن ضدعفونی‌نمودن آن‌ها با هیپوکلریت‌کلسیم ۲۵ درصد یا کلریدجیوه ۰/۱ درصد برای مدت یک تا ۵ دقیقه به طور موفقیت‌آمیزی ضدعفونی نمودند.

مشاهده بالاتربودن نرخ پرآوری ریزنمونه‌های بلوط در محیط کشت WPM در مقایسه با نیم MS

[Downloaded from yujs.yu.ac.ir on 2026-11-10]

می‌تواند به دلیل بالاتر بودن تراکم نمک در محیط کشت نیم MS نسبت به WPM باشد. استفاده از محیط کشت‌های کم‌نمک نظیر WPM کاربرد وسیعی در گیاهان چوبی دارد. افزایش غلظت نمک‌ها در محیط‌کشت احتمالاً موجب تحریک ترشحات فنلی و افزایش مرگ ریزنمونه‌ها می‌گردد (Romano & Martins-Loução, 1992). همچنین این دو محقق طی بررسی محیط کشت‌های مختلف و تیمارهای مختلف حذف ترشحات فنلی اعلام نمودند که محیط‌کشت MS به دلیل نمک زیاد نسبت به سایر محیط‌کشت‌ها، ترشحات فنلی را به صورت چشم‌گیری افزایش می‌دهند.

در تحقیقی که توسط Ostrolucká *et al.* (2007) جهت ریزازدیادی ریزنمونه‌های *Q. suber* صورت گرفت، استفاده از PVP ۱ درصد به‌همراه ۲۴ ساعت تاریکی مؤثرترین تیمار جهت حذف ترشحات فنلی ریزنمونه‌های *Q. suber* بود. همچنین عدم موفقیت در حذف ترشحات فنلی ریزنمونه‌های *Q. suber* با استفاده از اسکوربیک و سیتریک توسط Romano & Martins-Loução (1992) گزارش گردید.

بالابودن نرخ پرآوری در ریزنمونه‌های دارای جوانهٔ انتهایی را می‌توان به قطبیت و فعال‌تر بودن مریستم انتهایی نسبت داد (فارسی و ذوالعلی، ۱۳۸۵). Mohan Jainne & Häggman (2007) بهترین تیمار هورمونی برای پرآوری جوانه‌های رأسی بلوط *Q. robur* را ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP به‌همراه ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر NAA به دست آوردند.

گزارش‌های متعددی در مورد تأثیر هورمون BAP بر میزان پینه‌زایی ریزنمونه‌ها وجود دارد. در تحقیقی که توسط گنجی‌مقدم و همکاران (۱۳۸۷) صورت گرفت افزایش غلظت BAP باعث افزایش میزان پینه از انتهای جوانه‌های گیاه محلب (*Prunus mahaleb*) شد. بیشترین پینه در تیمار ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP در گیاه داوودی (*Chrysanthemum morifolium* Ramat) مشاهده شد که در تطابق با نتیجه این آزمایش است (پیوندی و همکاران، ۱۳۸۹).

نتیجه‌گیری

از آنجایی‌که محیط‌کشت WPM از هر نظر بهتر از محیط‌کشت نیم MS بود، استفاده از محیط‌کشت WPM جهت تکمیل نتایج این تحقیق توصیه می‌شود. در اوایل فصل رویش ریزنمونه‌هایی دارای جوانه انتهایی از شاخه‌های در حال رشد تهیه و به محیط‌کشت حاوی NAA (۰/۱ میلی‌گرم در لیتر یا بیشتر) و BAP (۱ میلی‌گرم در لیتر یا بیشتر) به‌منظور پرآوری منتقل گردد. جهت ضدعفونی ریزنمونه‌ها کلریدجیوه ۰/۱ درصد به‌نحو مؤثری میزان آلودگی ریزنمونه‌ها را کاهش داده و کمترین تحریک

[Downloaded from yujs.yu.ac.ir on 2026-11-10]

ترشحات فنلی را موجب می‌شود. جهت حذف ترشحات فنلی استفاده از ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر PVP به طور مشترک در کلیه تیمارها مؤثر بوده ولی حذف کامل ترشحات فنلی نیازمند واکشت ریزنمونه‌ها به‌صورت دوره‌ای می‌باشد. به‌منظور تحریک ریشه‌دهی ریزنمونه‌ها، استفاده از ریزنمونه‌های تکثیر شده در شرایط درون شیشه‌ای بدون انجام تیمارهای ضدعفونی جهت انجام مطالعات آتی توصیه می‌شود. همچنین با توجه به این‌که نسبت بالایی از اکسین به سیتوکینین در تحریک ریشه‌زایی مؤثر است پیشنهاد می‌شود غلظت‌های بالاتری از اکسین (بیش از ۰/۴ میلی‌گرم در لیتر) در آزمایش قرار گیرند.

قدردانی

این تحقیق بخشی از نتایج پایان نامهٔ کارشناسی‌ارشد است که با حمایت مالی دانشگاه یاسوج انجام شده است.

منابع

پیوندی، م.، مرادتهرانی، م. و مجد، ا. ۱۳۸۹. کالوس‌زائی و اندام‌زائی گیاه داوودی *Chrysanthemum morifolium* Ramat L. . فصلنامه علوم‌زیستی دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان، ۹(۳): ۵۹-۵۳.

عصاره، م. ح.، قربانعلی، م. ل.، الهوردی ممقانی، ب.، قمری‌زارع، ع. و شهرزاد، ش. ۱۳۸۵. اثر محیط‌کشت و تنظیم کننده‌های رشد بر تکثیر درون شیشه‌ای گل محمدی. مجله پژوهش سازندگی، ۱۲۰: ۵۱-۴۵.

فارسی، م. و ذوالعلی، ج. ۱۳۸۵. اصول بیوتکنولوژی گیاهی. انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد، ایران، ۴۹۵ ص.

گنجی‌مقدم، ا.، رضا بلندی، ا. و آناهید، ص. ۱۳۸۷. تکثیر درون شیشه‌ای چهار ژنوتیپ پاکوتاه گزینش شده محلب. مجله پژوهش سازندگی در منابع طبیعی، ۲۱(۷۹): ۶۱-۵۴.

مروی‌مهاجر، م.ر. ۱۳۸۵. جنگل‌شناسی و پرورش جنگل. انتشارات دانشگاه تهران، ایران، ۳۸۷ ص.

متینی زاده م.، کروری س.ع.ا.، خوشنویس م.، تیموری، م. و ورنر، و. ۱۳۸۵. تغییرات فصلی کربوهیدارت‌های غیر ساختمانی و آنزیم آمیلاز در شاخه‌های برودار. تحقیقات جنگل و صنوبر، ۱۴(۳): ۲۷۷-۲۶۹.

نقوی، ح.، فلاح، ا.، جلیلوند، ح.، سوسنی، ج. ۱۳۸۸. تعیین مناسب‌ترین طول خط نمونه در برآورد مشخصه‌های کمی جنگل‌های زاگرس. مجله‌ی جنگل ایران، ۱(۳): ۲۳۸-۲۲۹.

[Downloaded from yujs.yu.ac.ir on 2026-11-10]

Badoni, A., Bisht, C. & Chauhan, J.S. 2010. Micropropagation of *Hedychium spicatum* smith using *In Vitro* shoot tip. Stem Cell, 1(1): 11-13.

Barlass, M. & Skene, K.G.M. 1978. In vitro propagation of grape vine (*Vitis vinefera* L.) from fragmented shoot apices. Vitis, 17: 335-340.

Chalupa, V. 1984. *In vitro* propagation of oak (*Quercus robur* L.) and linden (*Tilia cordata* MILL). Biologia Plantarum (Praha), 26(5): 374-377.

Chalupa, V. 1993. Vegetative propagation of oak (*Quercus robur* and *Q petraea*) by cutting and tissue culture. In annales des sciences forestières (Vol. 50, No. Supplement, pp. 295s-307s). EDP Sciences.

Chalupa, V. 2002. *In vitro* propagation of mature trees of *sorbus aucuparia* L. and field performance of micropropagated trees. Journal of Forest Science, 12: 529-535.

Chauvin, J.E. & Salesses G. 1988. Effet du fructose sur la micropropagation du chataigenier *Castanea* sp. Comptes Rendus de l'Académie des Sciences, 306(5): 207-212.

Compton, M.E. 1999. Dark pretreatment improves adventitious shoot organogenesis from cotyledons of diploid watermelon. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 58(3): 185-188.

Evars, P. 1981. Growth and morphogenesis of shoot initials of Douglas fir, *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco: *In vitro*. (Doctoral dissertation), Wageningen University Press, Netherlands, 16(2): 1-46.

Gasper, T. and Coumans M. 1987. Root formation. In: Cell and tissue culture in forestry. Springer, Netherlands, pp: 202-217.

George, E.F. & Klerk, J.D. 2008. Plant propagation by tissue culture. Springer, pp: 29-64.

Höfer, M. 2009. Conservation strategy of genetic resources for strawberry in Germany. pp: 421-430. Proceedings of the 1st International Symposium on Cryopreservation in Horticultural Species, Leuven, Belgium, 908 p.

Jain, S.M. & Priyadarshan, P.M. 2009. Breeding plantation tree crops: Tropical species. Springer, 668 P.

Johnson, K.R. & Walker, R.F. 1990. Micropropagation of valley oak shoots. Tree Planter's Notes, 41(2): 27-30.

Kritzinger, E.M., Van Vuuren, R.J., Woodward, B., Rong, I.H., Spreeth, M.H., & Slabbert, M.M. 1997. Elimination of external and internal contaminants in rhizomes of *Zantedeschia aethiopica* with commercial fungicides and antibiotics. pp. 161-167. *In* Cassels A.C.

[Downloaded from yujs.yu.ac.ir on 2026-11-10]

pathogen and microbial contamination management in micropropagation. Springer, Netherlands, 372 p.

Lizarraga, R., Tovar, P., Jayasinghe, U. & Dodds, J. 1989. Tissue culture for elimination of pathogens. International Potato Center, Lima, Peru. 22 p.

Marks, T.R. & Simpson, S.E. 1990. Reduced phenolic oxidation at culture initiation *in vitro* following the exposure of field-grown stockplants to darkness or low levels of irradiance. Journal of Horticultural Science, 65(2): 103-111.

McCown B.H. 1986. Woody ornamentals, shade trees and conifers. pp: 333-342. *In*: Zimmerman, R.H., Griesbach, R.J., Hammerschlag, F.A., Lawson, R.H. (eds.) Tissue culture as a plant production system for horticultural crops, Kluwer Academic Publisher, Dordrecht, Netherland, 375 p.

Mohan Jainne, S. & Häggman, H. 2007. Protocols for micropropagation of woody trees and fruits. Springer Verlag. pp: 85-91.

Monteuuis, O., & Bon, M.C. 2000. Influence of auxins and darkness on in vitro rooting of micropropagated shoots from mature and juvenile *Acacia mangium*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 63(3): 173-177.

Ostrolucká, M.G., Gajdošová, A. & Libiaková, G. 2007. Protocol for micropropagation of *Quercus spp*. pp: 85-91. In: Mohan Jainne, S. and Häggman, H. (eds.) Protocols for micropropagation of woody trees and fruits, Springer Verlag.

Purohit, V.K., Tamta, S., Chandra, S., Vyas, P., Palni, L. M.S. & Nandi, S.K. 2002. In vitro multiplication of *Quercus leucotrichophora* and *Q. glauca*: Important himalayan oaks. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 69(2): 121-133.

Romano, A. & Martins-Loução M.A. 1992. Role of carbohydrates in micropropagation of cork oak. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 40(2): 159-167.

Vieitez, A.M., Ballester, A.M. Vieitez, L. & Vieitez E. 1983. *In vitro* plantlet regeneration of mature chestnut. The Journal of Horticultural Science, 58: 457-463.

Volkaert, H., Schoofs, J., Pieters, A. & De Langhe, E. 1990. Influence of explant source on *in vitro* axillary shoot formation in oak seedlings. Tree Physiology, 6(1): 87-93.

[Downloaded from yujs.yu.ac.ir on 2026-11-10]

Journal of Zagros Forests Researche, 1(1), Spring & Summer, 2014

Micropropagation of brant oak (*Quercus brantii* Lindl.) from apical segments of early spring expanding shoots

Payam Fayyaz[1,*], Seyedeh Saba Nabavi Goldeh[2], Masoud Dehdari[3]

[1] *Assistant Professer, Faculty of Agriculture, and Institute of Natural Research and Environment, University of Yasouj, Yasouj, Iran*
[2] *M'Sc. student of Yasouj University, Yasouj, Iran*
[3]*Associate Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Yasouj University, Yasouj, Iran*
[*]Corresponding author, E-mail address: pfayyaz@mail.yu.ac.ir

(Received: 2014.06.11 - Accepted: 2014.08.24)

Abstract

Brant oak (*Quercusbrantii*) is one of the most abundant tree species in Zagros forests but there have been scantefforts to its propagation *via* shoot cuttings approach. Any achievement in its asexual reproduction shall accelerate the breeding improvements. For this purpose, under growing twigs of Brant oak with and without apical bud were cultured in different culture mediums of half MS and WPM adopting *in vitro* conditions. In order to study of the explants' sterilization, four kinds of sterilizing reagent consist of ethanol, mercury chloride, sodium and calcium hypochlorite with and without Tween as a surfactant in different concentrations were tested and the rate of contamination, phenolic leakage and browning of explants were recorded. The effect of different treatments of ascorbic acid, acetic acid, PVP, activated charcoal and darkness on phenolic leakage and browning of explants were evaluated. The ratio of proliferation and callus formation with different NAA and BAP concentrations were investigated. Finally the rooting vigor of explants by four auxin combinations (control, 0.4 mg L^{-1} NAA, 0.4 mg L^{-1} IBA and a mixture of NAA and IBA with amount of 0.1 and 0.3 mg L^{-1}) and three cytokinin concentration (0, 0.4 and 1 mg L^{-1}) were assessed. The results revealed that the best suitable condition to establish and proliferate of under growing twigs of Brant oak was sterilizing the explants using mercuric chloride 0.1% (w/v) and transferring to WPM medium containing 0.5 mg L^{-1} PVP or activated charcoal. Increasing BAP and NAA concentrations up to 1 and 0.1 mg L^{-1} respectively had no significant effect on proliferation rate of explants. None of the rooting treatments were conducted to root formation in explants.

Keywords: Brant oak, Proliferation, Phenolic leakage, Zagros, Tissue culture

[Downloaded from yujs.yu.ac.ir on 2026-11-10]

Translated References

Assareh, M.H., Ghorbanli, M., Allahverdi Mamaghani, B., Ghamari Zare, A. & Shahrzad, S. 2006. Effects of culture media and plant growth regulators on in vitro shoot proliferation of Damask rose (*Rosa damascena* Mill.). Pajouhesh and Sazandegi, 72: 45-57. (In Persian with English Abstract).

Cangi Moghadam, E., Bolandi, A.R. & Anahid, S. 2008. Micropropagation of four selected dwarf mahaleb (*Prunus mahaleb* L.) genotypes. Pajouhesh and Sazandegi, 79: 54-61. (In Persian with English Abstract).

Chauvin, J.E. & Salesses G. 1988. The effect of fructose on chestnut micropropagation Castanea sp. Comptes Rendus de l'Académie des Sciences, 306(5): 207-212. (In French).

Farsi, M., & Zolali, J. 2006. Principle of plant biotechnology. Ferdowsi University of Mashhad, 495 P. (In Persian).

Marvie Mohadjer M.R. 2005. Silviculture. Tehran University Press, Iran, 387P. (In Persian)

Peyvandi, M., Moradtehrani, M. & Majd, A. 2010. Callogenesis and organogenesis of *Chrysanthemum morifolium* Ramat L. Journal of Biological Sciences, Islamic Azad University of Zanjan, 9(3): 53-59. (In Persian)

Matinizadeh, M., Korori, S.A.A., Khoshnevis, M., Teimouri, M. & Praznik, W. 2006. Seasonal changes of non-structural carbohydrates and amylase in twigs of *Quercus brantii* var. persica (Jaub. & Spach) Zohary. Iranian Journal of Forest and Poplar Research, 14(3): 277-269. (In Persian with English Abstract).

Naghavi, H., Fallah, A., Jalilvand, H. & Soosani, J. 2009. Determination of the most appropriate transect length for estimation of quantitative characteristics in Zagros forests. Iranian Journal of Forest, 1(3): 229-238. (In Persian with English Abstract).

[Downloaded from yujs.yu.ac.ir on 2026-11-10]