



دانشگاه گوارش و منابع طبیعی

نشریه پژوهش‌های علوم و فناوری چوب و جنگل
جلد بیستم، شماره سوم، ۱۳۹۲
<http://jwfst.gau.ac.ir>

گزارش کوتاه علمی

باززایی مستقیم توس (*Betula litwinowii*) از طریق کشت درون‌شیشه‌ای ریزنمونه تک‌گره

* جمیله نظری^۱، وحیده پیام‌نور^۲، مهدی علیزاده^۳ و کمال قاسمی‌یزدی^۴

^۱ دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ^۲ استادیار دانشکده علوم جنگل،
^۳ استادیار دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و

منابع طبیعی گرگان، ^۴ استادیار مؤسسه تحقیقات پنبه کشور

تاریخ دریافت: ۹۲/۱/۸؛ تاریخ پذیرش: ۹۲/۸/۱۴

چکیده

توس (*Betula sp*) در ایران بازمانده جنگل‌های اولیه خزری و رو به انقراض است. دامنه پراکنش محدود و شرایط رویشگاهی نامساعد جنس توس و نبود زادآوری در رویشگاه‌های طبیعی و ناتوانی در تکثیر جنسی باعث در معرض انقراض قرار گرفتن آن شده و استفاده از فنون درون‌شیشه‌ای را برای حمایت بیش‌تر از این جنس مورد تاکید قرار می‌دهد. هدف از این پژوهش بهینه‌سازی محیط کشت و تیمارهای سترون‌سازی برای ریزازدیادی *B. litwinowii*، یکی از سه گونه شناسایی شده این جنس در ایران با استفاده از ریزنمونه تک‌گره است. ریزنمونه‌ها به‌صورت تصادفی از نهال‌های ۴-۵ ساله جمع‌آوری و با اعمال تیمارهای مختلف سترون‌سازی در دو محیط کشت MS و WPM با غلظت‌های مختلف هورمون‌های BAP و NAA کشت شدند. داده‌های به‌دست آمده با استفاده از آزمایش فاکتوریل دو عامله در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از نرم‌افزار SPSS و MSTATC مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. نتایج نشان داد برای استریل کردن ریزنمونه‌های تک‌گره، بهترین حالت استفاده از تیمار کلرید جیوه ۰/۱ درصد به‌مدت ۷ دقیقه بود و دو محیط کشت MS و WPM با غلظت‌های مختلف هورمونی برای تولید برگ تک‌گره مناسب بودند. بیش از ۷۵ درصد جوانه‌های جانبی تک‌گره‌ها در هر دو محیط کشت بالا به برگ تبدیل شدند و در نهایت ۱۰ درصد از تک‌گره‌ها تنها در محیط کشت WPM قادر به ساقه‌زایی و تولید ریشه شدند.

واژه‌های کلیدی: *Betula litwinowii*، کشت بافت، ریزازدیادی، سترون‌سازی

* مسئول مکاتبه: jamile.nazari85@gmail.com

مقدمه

توس (*Betula sp*) درختی سریع‌الرشد و نورپسند از تیره غان است (برزکار، ۱۳۸۴). در ایران تنها ۳ گونه از این جنس با نام‌های *B. pendula* (کردعلیوند، ۱۳۹۱)، *B. litwinowii* (زارع و همکاران، ۲۰۱۰؛ کردعلیوند، ۱۳۹۱) و *B. pubescens* (کردعلیوند، ۱۳۹۱) شناسایی شده که بازمانده جنگل‌های اولیه خزری هستند (نظری، ۱۳۹۱). سهم توده‌های توس در ترکیب جوامع جنگل‌های شمال ایران بسیار ناچیز بوده و در معرض خطر انقراض است (جلیلی و ارزانی، ۱۹۹۹). بنابراین استفاده از روش‌های کشت بافت در تکثیر آن با توجه به وجود مشکلات ناشی از نبود دسترسی آسان به رویشگاه‌های طبیعی و صعب‌العبور بودن راه‌ها، همچنین پراکنده شدن سریع بذور و مشکلات مربوط به جوانه‌زنی، می‌تواند راه‌حل مناسبی برای حمایت و حفاظت از این ذخیره ژنتیکی با ارزش باشد. اولین بار هاتینین و یحی‌اوقلی (۱۹۷۴) اقدام به تکثیر *B. penelula* از طریق کشت بافت کردند. جانسون و ولاندر (۱۹۹۰) در کشور سوئد بر روی کشت بافت گونه‌های مختلف توس در مدت زمان کوتاه به‌جای استفاده از قلمه‌ها، آزمایش‌هایی انجام دادند. ایشان ریزنمونه‌ها را در محیط کشت‌های WPM، MS^۱ و N₆^۳ کشت دادند و مشخص شد محیط مناسب برای شاخسار از تک‌گره‌ها محیط WPM شامل هورمون‌های BAP^۴ و NAA^۵ می‌باشد. ایوالد و همکاران (۲۰۰۱) برای ریزازدیادی ژنوتیپ‌های مختلف *B. pendula* و جنگل‌کاری در عرصه، نهال‌هایی را از کشورهای سوئد، فنلاند و آلمان تهیه نموده و هر یک از ژنوتیپ‌ها با توجه به‌شدت آلودگی تحت تیمارهای سترون‌سازی قرار گرفتند. کلون‌های سوئد با اتانول ۷۰ درصد و کلریدجیوه ۰/۲ درصد، کلون‌های آلمان با کلرید جیوه ۰/۲ درصد در چند ثانیه و کلون‌های فنلاند با اتانول ۷۰ درصد و هیپوکلریت سدیم ۱۰ درصد سترون شده و در محیط کشت‌های WPM، N₆ و LS^۶ با غلظت هورمونی مختلف Kin^۷ و Zeatin^۸ کشت دادند که در نهایت ۸۵-۱۰۰ درصد ژنوتیپ‌های مختلف ریشه‌زایی داشتند. هاگمن و همکاران (۲۰۰۷) طی پژوهشی که بر روی ریزازدیادی *B. pendula* داشتند، برای سترون‌سازی از هیپوکلریت سدیم ۱۰ درصد شامل مایع شوینده توئین-۸۰ مدت ۱۵ دقیقه و در مواردی که آلودگی شدید بود از

- 1- Woody Plant Medium
- 2- Murashige and Skoog Modified Medium
- 3- Chu (N₆) Medium
- 4- 6-Benzyl Amino Purine
- 5- α -Naphtalene Acetic Acid
- 6- Linsmaier and Skoog Medium
- 7- Kinetin
- 8- Zeatin

کلرید جیوه ۰/۲ درصد به مدت ۷ دقیقه استفاده نمودند. نتایج نشان داد که ریزنمونه‌ها در هر دو محیط کشت WPM و MS شامل ۲/۲ میکرومولار BAP و ۲/۸۵ میکرومولار IBA تبدیل به گیاهچه شدند. مگینوسون و همکاران (۲۰۰۹) طی پژوهشی با استفاده از محیط کشت WPM، تأثیر سه هورمون BAP، TDZ^۱ و Zeatin را در ساقه‌زایی به دست آمده از جوانه‌های جانبی دو گونه *B. papyrifera* Varen و *B. platyphylla* VerDale بررسی کردند. از بین سه سیتوکینین استفاده شده Zeatin تأثیر بهتری در ساقه‌زایی داشت. فان (۲۰۱۲) برای سترون‌سازی تک‌گره‌های *B. microphylla* var. *paludosa* از هیپوکلریت سدیم ۱۰ درصد و کلرید جیوه ۰/۱ درصد استفاده کرد و سپس بر روی محیط کشت MS شامل ۰/۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر BAP کشت نمود. بر خلاف در حال انقراض بودن توس در ایران و با وجود مرور منابع و پژوهش‌های مختلف برای ریزازدیادی گونه‌های مختلف توس در خارج از کشور، در داخل کشور این پژوهش برای اولین بار انجام شده است.

مواد و روش‌ها

برای انجام این پژوهش ۵ نهال ۴-۵ ساله ریشه لخت با قطر ۲-۱ سانتی‌متر از نهالستان سنگده واقع در استان مازندران تهیه شد. ۵۰ ساقه شامل ۱۰-۶ تک‌گره به صورت تصادفی از تمام قسمت‌های اندام نهال تهیه و ریزقلمه‌های تک‌گره به طول ۳ سانتی‌متر شامل یک جوانه جانبی برش داده شد و در مقداری مایع شوینده توئین-۸۰ شستشو و سپس با آب معمولی آب‌کشی شدند. پس از آن در محلول قارچ‌کش بنومیل به غلظت ۴ گرم در لیتر به مدت ۱ ساعت غوطه‌ور گردیدند. سپس زیر هود لامینارفلو به دلیل آلودگی زیاد ریزنمونه‌ها، برای سترون‌سازی از روش جدید و تلفیقی علیزاده (۱۳۹۰) استفاده شد. براساس آن ۴ تیمار سترون‌سازی در نظر گرفته شد که در جدول ۱ ارایه شد و بهترین تیمار براساس درصد آلودگی کم و زنده‌مانی ریزنمونه‌ها انتخاب گردید.

جدول ۱- تیمارهای مختلف سترون‌سازی ریزنمونه‌های تک‌گره *Betula litwinowii*

کد	تیمارهای مختلف سترون‌سازی
۱	باکتری‌کش HQC ^۲ به مدت ۱ ساعت، الکل ۷۰ درصد به مدت ۸-۵ ثانیه و هیپوکلریت سدیم ۲۵ درصد به مدت ۳ دقیقه
۲	الکل ۷۰ درصد به مدت ۲۵ ثانیه و کلریدجیوه (HgCl _۲) ۰/۱ درصد به مدت ۵ دقیقه
۳	کلریدجیوه (HgCl _۲) ۰/۱ درصد به مدت ۷ دقیقه
۴	کلریدجیوه (HgCl _۲) ۰/۱ درصد به مدت ۱۰ دقیقه

1- Thidiazuron

2- 8- Hydroxy Quinoline Citrate

پس از سترون‌سازی، ریزنمونه‌ها به اندازه ۲-۱/۵ سانتی‌متر با یک جوانه، در دو محیط کشت پایه WPM و MS شامل غلظت ثابت NAA و غلظت‌های مختلف هورمون BAP با ۴ تکرار طبق جدول ۲ کشت شدند.

جدول ۲- ترکیبات مختلف هورمون‌های مورد استفاده محیط کشت برای تولید شاخسار ریزنمونه تک‌گره

Betula litwinowii

کد	ترکیب هورمونی (میلی‌گرم بر لیتر)	محیط کشت پایه
A	BAP + NAA (۰/۲) (۰/۲)	WPM / MS
B	BAP + NAA (۰/۴) (۰/۲)	WPM / MS
C	BAP + NAA (۱) (۰/۲)	WPM / MS
D	BAP + NAA (۲) (۰/۲)	WPM / MS

این پژوهش به صورت آزمایش فاکتوریل دو عامله در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی انجام گرفت. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار MSTATC و SPSS انجام شد و مقایسه میانگین‌ها نیز با استفاده از آزمون حداقل معنی‌دار (LSD) صورت گرفت.

نتایج

نتایج تجزیه واریانس به دست آمده از بررسی تیمارهای مختلف سترون‌سازی ریزنمونه‌ها در جدول ۳ ارائه شده است. براساس نتایج تجزیه واریانس، درصد آلودگی ریزنمونه‌ها تحت تأثیر تیمارهای مختلف سترون‌سازی در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود.

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارهای مختلف سترون‌سازی بر درصد آلودگی ریزنمونه‌های تک‌گره

Betula litwinowii

درصد آلودگی	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	مقدار F	سطح معنی‌دار
بین تیمارهای سترون‌سازی	۱۳۹۱۷/۶۶۷	۳	۴۶۳۹/۲۲۲	۲۸/۳۴۸	۰/۰۰۰
درون تیمار سترون‌سازی	۱۳۰۹/۳۳۳	۸	۱۶۳/۶۶۷		
کل	۱۵۲۲۷	۱۱			
ضریب تغییرات (درصد)			۲۷/۵		

نتایج به دست آمده از مقایسه میانگین ۴ تیمار سترون سازی بر درصد آلودگی تک‌گره‌های *B. litwinowii* به روش آزمون حداقل اختلاف معنی دار (LSD) در سطح ۵ درصد، در جدول ۴ ارائه شده است. کم‌ترین درصد آلودگی ریزنمونه‌های تک‌گره در تیمار ۴ مشاهده شد، ولی براساس نتایج این پژوهش استفاده طولانی مدت از کلریدجیوه تأثیرات منفی روی ریزنمونه‌ها گذاشته و سبب تولید نشدن برگ گردید. از این رو در این پژوهش برای سترون نمودن ریزنمونه‌های تک‌گره از تیمار سترون سازی کد ۳، که نسبت به تیمارهای کد ۱ و ۲ درصد آلودگی کم‌تر و نسبت به تیمار ۴ درصد تولید برگ بالاتری داشت، استفاده شد.

جدول ۴- مقایسه میانگین درصد آلودگی تیمارهای مختلف سترون سازی ریزنمونه‌های تک‌گره *Betula litwinowii*

کد	ترکیب تیمارهای سترون سازی	درصد آلودگی
۱	باکتری کش HQC به مدت ۱ ساعت، الکل ۷۰ درصد به مدت ۸-۵ ثانیه و هیپوکلریت سدیم ۲۵ درصد به مدت ۳ دقیقه	۷۹٫۳ ^a
۲	الکل ۷۰ درصد به مدت ۲۵ ثانیه و کلریدجیوه ۰/۱ درصد به مدت ۵ دقیقه	۸۱٫۷ ^a
۳	کلریدجیوه ۰/۱ درصد به مدت ۷ دقیقه	۱۵ ^b
۴	کلریدجیوه ۰/۱ درصد به مدت ۱۰ دقیقه	۱۰ ^b

میانگین‌های دارای حروف مشترک تفاوت معنی داری را در سطح احتمال ۵ درصد با آزمون LSD نشان نمی‌دهند.

نتایج تجربه واریانس میزان تولید برگ و شاخسار ریزنمونه‌های تک‌گره در دو محیط کشت و ترکیبات هورمونی مختلف با استفاده از آزمایش فاکتوریل دو عامله در قالب طرح کاملاً تصادفی، در جدول ۵ ارائه شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود بین محیط کشت، تیمارهای مختلف هورمونی و اثر متقابل آن‌ها اختلاف معنی داری وجود ندارد.

جدول ۵- تجربه واریانس تأثیر محیط کشت، تیمارهای هورمونی و اثر متقابل آن‌ها بر تولید برگ ریزنمونه‌های

Betula litwinowii تک‌گره

منبع تغییرات	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	مقدار F	سطح معنی دار
محیط کشت	۱	۸۸۳/۳۴۰	۸۸۳/۳۴۰	۱/۵۰۸	۰/۲۳۱
تیمارهای هورمونی	۳	۸۰۱/۱۴۶	۲۶۷	۰/۴۸۳	۰/۶۹۷
محیط کشت × تیمارهای هورمونی	۳	۳۵۹/۵۲۱	۱۱۹/۸	۰/۲۱۷	۰/۸۸۴
اشتباه آزمایشی	۲۴	۱۳۲۶۰/۶۹۷	۵۵۲/۵		
کل	۳۱	۱۵۲۵۴/۷۰۵			
ضریب تغییرات (درصد)		۳۱			

تولید برگ تک‌گره‌ها در دو محیط کشت با تیمارهای مختلف هورمونی از درصد بالایی برخوردار بود و بیش‌تر جوانه‌های تک‌گره قادر به شکوفایی برگ بودند (جدول‌های ۶ و ۷). این روند رشد تا ۲ هفته بعد از کشت ادامه داشت ولی پس از این مدت، برگ‌های باز شده زرد و در نهایت به خشکی گرائیدند (شکل ۱-ب). اکثریت ریزنمونه‌های تک‌گره در هر دو محیط کشت از بین رفتند و تنها ۱۰ درصد از ریزنمونه‌های کشت شده در محیط کشت WPM با ترکیب هورمونی تیمار B ریشه‌زایی داشتند (شکل ۲-ج).

جدول ۶- درصد تولید برگ جوانه‌های تک‌گره *Betula litwinowii*

درصد تولید برگ و شاخسار	محیط کشت
۷۰/۶	MS
۸۰/۸	WPM

جدول ۷- درصد تولید برگ و شاخسار جوانه‌های تک‌گره *Betula litwinowii* در تیمارهای مختلف هورمونی.

کد	تیمارهای هورمونی (میلی‌گرم بر لیتر)	درصد تولید برگ و شاخسار
A	(۰/۲) NAA (۰/۲) + BAP	۸۲/۵
B	(۰/۲) NAA (۰/۴) + BAP	۷۴/۲
C	(۰/۲) NAA (۱) + BAP	۷۷/۵
D	(۰/۲) NAA (۲) + BAP	۶۸/۷



شکل ۱- (الف): رشد جوانه‌ها و تولید برگ ۲ هفته پس از کشت در محیط MS با ترکیب هورمونی A، شکل (ب): شروع تغییر رنگ حاشیه برگ‌ها پس از ۴ هفته از کشت در محیط کشت WPM با ترکیب هورمونی B، شکل (ج): زرد و خشک شدن تک‌گره‌ها پس از ۶-۵ هفته از کشت.



شکل ۲- ریشه‌زایی ریزنمونه تک‌گره در محیط کشت WPM شامل ترکیب هورمونی B (الف): کشت ریزنمونه تک‌گره، (ب): رشد شاخسار طی ۳ هفته، (ج): ایجاد گیاهچه ریشه‌دار طی ۵-۶ هفته.

بحث

نتایج این پژوهش نشان داد که از بین تیمارهای اعمال شده برای سترون‌سازی ریزنمونه تک‌گره، کاربرد کلریدجیوه ۰/۱ درصد به مدت ۷ دقیقه نتایج بهتری در مقایسه با سایر تیمارها داشت که با نتایج پژوهش هاگمن و همکاران (۲۰۰۷) که بر روی ریزنمونه تک‌گره گونه *B. pendula* بود و همچنین تیمار کلریدجیوه استفاده شده بر روی ریزنمونه‌های تک‌گره *B. pendula* روی کلون‌های آلمان در پژوهش ایوالد و همکاران (۲۰۰۱) مطابقت داشت. افزایش مدت زمان استفاده از این ماده شیمیایی تا ۱۰ دقیقه با وجود کاهش درصد آلودگی‌ها، به دلیل سمیت ایجاد شده باعث کاهش زنده‌مانی ریزنمونه‌ها شده، به طوری که بعد از چند روز به زردی و خشکی گرائیدند. تیمار سترون‌سازی که شامل باکتری‌کش HQC به مدت ۱ ساعت، الکل ۷۰ درصد به مدت ۸-۵ ثانیه و هیپوکلریت سدیم ۲۵ درصد به مدت ۳ دقیقه و تیمار دیگر که شامل الکل ۷۰ درصد و کلریدجیوه ۰/۱ درصد به مدت ۵ دقیقه بود، قادر به حذف آلودگی‌ها حتی به میزان ۲۰ درصد هم نبود و همه ریزنمونه‌ها از بین رفتند. در پژوهش‌های ایوالد و همکاران (۲۰۰۱) بر روی تک‌گره کلون‌های سوئد و فنلاند *B. penelula* و هاگمن و همکاران (۲۰۰۷) در کشت *B. penelula* که از تیمارهای بالا استفاده شده بود و نتایج موفقیت‌آمیزی به دست آمده بود که با این پژوهش هم‌سو نبود. به نظر می‌رسد آلوده شدن ریزنمونه‌های تک‌گره در تیمار ۱ به دلیل نداشتن قدرت نفوذپذیری مواد به داخل جوانه‌های خفته و در نتیجه ناتوانی در از بین بردن آلودگی‌های درون جوانه‌ای تک‌گره‌ها باشد. پژوهش‌گران زیادی توانسته‌اند با به کار بردن ترکیبات هورمونی مختلف و با استفاده از دو محیط کشت MS و WPM گیاهچه‌هایی با ریشه‌های انبوه از ریزنمونه تک‌گره تولید کنند که می‌توان به چند نمونه از جمله: جانسون و ولاندر

(۱۹۹۰) بر روی گونه‌های مختلف؛ مگینسون و همکاران (۲۰۰۹) بر روی *B. papyrifera* Varen و *B. platyphylla* VerDale و فان (۲۰۱۲) بر روی *B. microphylla* var. *paludosa* اشاره کرد. در این پژوهش برای تولید برگ و شاخسار اولیه محیط کشت‌های مورد استفاده با نتایج هاگمن و همکاران (۲۰۰۷) بر روی گونه *B. penelula* هم‌سو می‌باشد. در این پژوهش با وجود نتیجه بسیار مطلوب در باززایی اولیه (۷۵-۹۰ درصد)، حدود ۸۰ درصد از ریزنمونه‌ها پس از ۲ هفته، زرد و خشک شدند. برای رشد بهتر تک‌گره‌ها و جلوگیری از خشک شدن آن‌ها تغییراتی در عناصر ماکرو، میکرو و مواد آلی محیط کشت و شرایط محیطی از جمله شدت نور، رطوبت و دما انجام شد ولی نتیجه‌ای نداشت و تنها بازکشت‌های مکرر در هر ۲ هفته یک‌بار، تا حدودی مؤثر بود و ۱۰ درصد از تک‌گره‌ها قادر به ریشه‌زایی شدند. با توجه به این‌که در این پژوهش تمام ریزنمونه‌ها به‌صورت عمودی بر روی محیط کشت قرار گرفته بودند و ارتباط ریزنمونه با محیط کشت فقط از طریق مقطع پایینی ساقه میسر بود (علیزاده، ۱۳۹۱)، بنابراین انجام پیشنهاد می‌شود پژوهش‌های تکمیلی برای کشت افقی ریزنمونه و ریشه‌زایی تک‌گره با اعمال هورمون‌ها و محیط کشت‌های مختلف انجام گیرد.

منابع

1. Alizadeh, M. 2012. A User Manual Plant Tissue Culture and Micropropagation. Publicist Norouzi, 322p.
2. Barzakar, Gh. 2005. Parks and Forestry Promenades, Pp: 37-38.
3. Ewald, D., Naujoks, G., Welander, M., Zhu, H., Hagqvist, R., Salonen, M. and Harrison, A. 2001. Micropropagation and birch field trials. Proceedings of the workshop on high quality birch: clonal propagation and wood properties, Ronneby, Sweden, 27-28 August. Pp: 37-46.
4. Haggman, H., Sutela, S. and Welander, M. 2007. Micropropagation of *Betula pendula* Roth including genetically modified material. Springer, Pp: 153-162.
5. Huhtinen, O. and Yahyaogly, Z. 1974. Das frühe Blühen von aus Kalluskulturen herangezogenen Pfl änzchen beider Birke (*Betula pendula* Roth). *Silvae Genetica*. 23: 1-3. 32-34.
6. Jalili, A. and Arzani, H. 1999. A preliminary survey of endemic, rare and endangered plant species in Iran (red data book of Iran). Research institute of forests and rangelands, Tehran Iran, 764p.
7. Jansson, E. and Welander, M. 1990. Micropropagation of some adult *Betula* species. Rapport Institutionen for Tradgardsvetenskap, Sveriges Lantbruksuniversitet, 55: 20.

8. Kordalivand, A. 2012. Genetic diversity of Birch based on morphology of leaf and fruit. Thesis submitted in partial fulfillment of the requirements. For the degree of M.Sc. in. Silviculture and Forest Ecology, 137p.
9. Magnusson, V.A., Castillo, C.M. and Dai, W. 2009. Micropropagation of two elite birch species through shoot proliferation and regeneration. *Acta Horticulturae*. Pp: 223-230.
10. Nazari, J. 2013. Optimization of culture medium and sterilization treatments for *Betula litwinowii* micropropagation. Thesis submitted in partial fulfillment of the requirements. For the degree of M.Sc. in. Silviculture and Forest Ecology. Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran, 70p.
11. Qun, Zh. 2012. Tissue culture of endangered plant *Betula microphylla* var. *paludosa* and its pilotscale experiment in Shanghai area. *J. Shanghai Jiaotong Univ. Agric. Sci.* 30: 1. 50-54.
12. Zare, H., Akbarinia, M., Hosseini, S.M., Ejtehadi, H. and Amini Eshkevari, T. 2010. A New Record of *Betula litwinowii* (Betulaceae) and a review of the geographical distribution of the genus *Betula* in Iran.



Gorgan University of Agricultural
Sciences and Natural Resources

J. of Wood & Forest Science and Technology, Vol. 20 (3), 2013
<http://jwfst.gau.ac.ir>

Direct regeneration of *Birch (Betula litwinowii)* by *in vitro* culture nodal explants

***J. Nazari¹, V. Payamnoor², M. Alizadeh³ and K. Ghasemi Yazdi⁴**

¹M.Sc. Student, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources,

²Assistant Prof., Faculty of Forest Science, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, ³Assistant Prof., Faculty of Plant Production, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, ⁴Assistant Prof., Cotton Research Institute

Received: 03/28/2013; Accepted: 11/05/2013

Abstract

Birch (*Betula sp.*) is considered as a survivor of Caspian primary forests and one of the extinct forest trees in Iran. In our country, Birch species is endangered because of limited distribution range, unfavourable habitat conditions, lack of regeneration in natural habitat and inability to reproduce sexually in natural condition. Therefore, using the technique of *in vitro* is very important to support this species. The objective of this study is to optimize culture medium and surface sterilization treatments for *B. litwinowii* micro-propagation, that is one of known Birch by use of nodal explants. Nodal explants were collected randomly from 4-5 years old of birch seedlings and sterilised by applying different treatments in both MS and WPM medium with various concentrations of BAP and NAA hormones were cultured. The obtained data were analyzed based on completely randomized design using SPSS and MSTATC software. The results revealed that HgCl₂ (0.1% for 7 min) was the best treatment for surface sterilization of nodal explants. The MS and WPM media supplemented with various concentrations of hormones were suitable for culture establishment of nodal explants. More than 70% of single lateral bud nodal in both mediums becomes to leaves. Finally, 10% of nodal explants are able to produce shoot and roots in WPM medium.

Keywords: *Betula litwinowii*, Tissue Culture, Micropropagation, Sterilization

* Corresponding Author; Email: jamile.nazari85@gmail.com