مقاله علمی پژوهشی
مجله دوفصل نامه
مهندسی ژنتیک و ایمنی زیستی
ISSN 2588-5073 چاپی
ISSN 2588-5081 الکترونیکی online
دوره ۱۳، شماره ۲، پاییز و زمستان ۱۴۰۳
صفحه ۲۲۴-۲۱۳

Research Article
Genetic Engineering and Biosafety Journal 2025
Volume 13, Number 2, Pages: 213-224

http://gebsj.ir/

https://ecc.isc.ac/showJournal/23064

10.61882/gebsj.13.2.7

بهینه‌سازی تولید کالوس از ریزنمونه تخمدان در گیاه دارویی سنبل بیابانی (*Cistanche tubulosa*)

Optimization of callus induction from ovary explants in desert Hyancinth *(Cistanche tubulosa)*

فاطمه اکبری[۱]، فاطمه ذاکر تولایی[۲*]، معصومه صالحی[۳]

Fatemeh Akbari[1], Fatemeh Zaker Tavallaie[2*], Masoumeh Salehi[3]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی کشاورزی ۲- دانشیار گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی شیروان، دانشگاه بجنورد. ۳- دانشیار مرکز ملی تحقیقات شوری، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، یزد

1. M.Sc. student, 2. Associate professor, Dept. of Plant Production and Genetics Engineering, Shirvan Agriculture Faculty, University of Bojnord, Bojnord, Iran.

3. Associate Professor, National Salinity Research Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Yazd, Iran

*Corresponding Author, Email: f.zaker.t@um.ac.ir

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی:

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۱/۱۴ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۲/۹ - تاریخ انتشار: ۱۴۰۴/۷/۱۳)

Received: 2025/02/023 | Accepted: 2025/04/29 | Published: 2025/10/04

Abstract

Cistanche tubulosa, which is called Sonbol biyabani in Persian, is holoparasitic perennial plant, one of the most famous pasture and medicinal plants known as "desert ginseng". In this study, the callus formation of this plant was optimized. Initially, in order to determine the best disinfection treatment, plant parts were disinfected in five sodium hypochlorite treatments for 10 minutes and cultivated in MS culture medium. Also, the effect of activated charcoal and ascorbic acid on the control of browning of explants was investigated. Different explants were used for callus formation. To investigate the effect of plant growth regulators on plant callus formation, explants were cultivated on MS culture medium containing BAP at a concentration of 0.5 mg/L, kinetin at a concentration of 0.5 mg/L and 2.4.D in twenty-three levels with three replications. This experiment was conducted in a completely randomized design. After 10 days, the possibility of callus formation was examined for up to 2 months. The lowest level of contamination in the explants was observed in the treatment of 2% sodium hypochlorite and a disinfection time of 10 minutes. The treatment of 0.5 g/L of activated carbon plus 0.5 g/L of ascorbic acid was able to control browning well. The highest percentage of callus formation was obtained in the treatment of 0.5 mg/L of kinetin plus 0.5 mg/L of BAP and 8.5 mg/L of 2-4-D. The results of this study can be used in the future to perform indirect regeneration and also to produce active pharmaceutical ingredients in vitro using callus culture and cell suspension culture.

Keywords: Browning, Callus induction, *Cistanche tubolosa*, 2,4-D.

چکیده

رفرانس دهی این مقاله Citation

Akbari F, Zaker Tavallaie F, Salehi M. (2025). Optimization of callus induction in medicinal plant *Cistanche tubulosa*. Genetic Engineering and Biosafety Journal, 13 (2): 213-224. Doi: 10.61882/gebsj.13.2.7
URL: http://gebsj.ir/article-1-511-en.html

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-09-09]

[DOI: 10.61882/gebsj.13.2.7]

Genetic Engineering and Biosafety Journal
Volume 13, Number 2, 2025

خلاصه

گونه *Cistanche tubulosa*، که در فارسی به آن سنبل بیابانی گفته می‌شود، انگل کامل و چند ساله، از معروف‌ترین گیاهان مرتعی و دارویی است که به عنوان "جینسنگ بیابان‌ها" شناخته می‌شود. در این پژوهش کالوس‌زایی این گیاه بهینه‌سازی شد. در ابتدا به منظور تعیین بهترین تیمار ضدعفونی، قطعات گیاهی در پنج تیمار هیپوکلریت سدیم به مدت ۱۰ دقیقه ضدعفونی شده و در محیط کشت MS کشت شدند. همچنین اثر زغال فعال و اسید اسکوربیک روی کنترل قهوه‌ای‌شدن ریزنمونه‌ها بررسی شد. جهت کالوس‌زایی از ریزنمونه‌های مختلف استفاده شد. برای بررسی تاثیر تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی روی کالوس‌زایی گیاه، ریزنمونه‌ها روی محیط کشت MS داری BAP با غلظت ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر، Kin با غلظت ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر و 2.4.D در بیست و سه سطح در سه تکرار کشت شدند. این آزمون در قالب طرح کامل تصادفی انجام شد. پس از ۱۰ روز، تا ۲ ماه احتمال ایجاد کالوس بررسی شد. کمترین میزان آلودگی در ریزنمونه‌ها، مربوط به تیمار دو درصد هیپوکلریت سدیم و زمان ۱۰ دقیقه ضدعفونی بود. تیمار ۰/۵ گرم بر لیتر زغال فعال به اضافه ۰/۵ گرم بر لیتر اسید اسکوربیک توانست قهوه‌ای شدن را به خوبی کنترل کند. بیشترین درصد کالوس‌زایی در تیمار ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر Kin به همراه ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر BAP و ۸/۵ میلی‌گرم بر لیتر 2-4-D بدست آمد. نتایج این پژوهش می‌تواند در آینده جهت انجام باززایی غیر مستقیم و همچنین تولید مواد موثره دارویی در محیط درون شیشه‌ای با استفاده از کشت کالوس و کشت سوسپانسیون سلولی استفاده شود.

کلمات کلیدی: سنبل بیابانی(*Cistanche tubulosa*) کالوس‌زایی، قهوه‌ای‌شدن، 2,4-D.

مقدمه
Introduction

گیاه *Cistanche tubulosa* یک گیاه کویری انگلی از جنس *Cistanche* و خانواده گل جالیزی(Orobanchaceae) است. در ایران به این گیاه سنبل بیابانی گفته می‌شود. این گیاه از معروف‌ترین گیاهان خوراکی و دارویی است که به عنوان "جینسنگ بیابان‌ها" نیز شناخته می‌شود (Jiang & Tu, 2009). سنبل بیابانی فاقد کلروفیل و ریشه بوده و قادر به فتوسنتز نیست و لذا مواد غذایی را به‌صورت انگلی از گیاه میزبان جذب می‌کند. جنس *Cistanche* در برابر شرایط سخت محیطی مناطق خشک و نیمه خشک بسیار مقاوم است. این گونه با شرایط مختلف زیست محیطی مانند زیستگاه‌های خشک، سواحل دریا و تپه‌های ماسه‌ای با تأمین آب کافی، سازگار بوده و خاک‌های گلی، گچی و شور را ترجیح می‌دهد (Salehi *et al.*, 2019). این گیاه برای جلوگیری از طوفان شن در مناطق بیابانی استفاده می‌شود و به عنوان راه‌حلی برای بیابان‌زدایی و ممانعت‌کننده از گرمایش جهانی مورد توجه قرار گرفته است (Wang *et al.*, 2012). گیاهان میزبان این گونه شامل *Zygophyllum*، *Haloxylon*، *Calliganum*، *Prosopis*، *Tamarix* و *Seidlitzia* می‌باشند(Shahi Shavvon & Saeidi Mehrvarz, 2010).

بر اساس پژوهش‌های اخیر، گلیکوزیدهای فنیل‌اتانول (CPhGs) شامل اکیناکوزید و اکتئوزید، ترکیبات زیست‌فعال اصلی و شاخص‌های کنترل کیفیت برای *Cistanche tubulosa* به حساب می‌آیند. این ترکیبات طیف گسترده‌ای از فعالیت‌های زیستی از جمله ضد تومور (Wen *et al.*, 2021)، محافظت از کبد (Pei *et al.*, 2018)، محافظت از کلیه (Ding *et al.*, 2023)، ضد التهاب (Peng *et al.*, 2020) ، ضد پوکی استخوان (Lin *et al.*, 2023)، آنتی‌اکسیدان (Ding *et al.*, 2023)، بهبود عملکرد جنسی (Wang *et al.*, 2012)، ضد خستگی (Kan *et al.*, 2021) بهبود حافظه و جلوگیری از آلزایمر (Wu *et al.*, 2023) و خاصیت محافظتی در مقابل خستگی‌های مرتبط با سرطان (Zhang *et al.*, 2025) دارند. گلیکوزید فعال موجود در سنبل بیابانی، آرتروز را کاهش می‌دهد (Fuxiang, 2006) همچنین گلیکوزید، اسید لاکتیک اضافی را از عضلات

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-09-09]
[DOI: 10.61882/gebsj.13.2.7]

برطرف می‌کند و در نتیجه خستگی آنها را کاهش می‌دهد (Shimoda *et al.*, 2009). این گیاه میزان متابولیسم لیپیدها را افزایش می‌دهد که تأثیر به‌سزایی در کاهش کلسترول خون دارد (Shimoda *et al.*, 2009).

کالوس به توده سلولی تمایز نیافته ناهمگنی از گیاه گفته می‌شود که در کشت بافت می‌تواند با اهداف زیر کشت شود. از کشت کالوس برای باززایی غیر مستقیم از ریزنمونه‌های گیاهی استفاده می‌شود. با بهره‌گیری از تنوع سوماکلونال در کشت کالوس و همچنین اعمال موتاژن‌های مختلف در کشت کالوس می توان به گیاهان تغییر یافته ژنتیکی با صفات بهبود یافته دست یافت. با استفاده از کالوس می‌توان سوسپانسیون سلولی تهیه کرد. می‌توان تولید متابولیت‌های ثانویه باارزش مانند مواد موثره دارویی را در کشت کالوس وسوسپانسیون سلولی بهینه‌سازی نمود و زمینه را برای تولید مکانیزه این ترکیبات با ارزش به‌صورت تجاری فراهم کرد

گیاه سنبل بیابانی در معرض انقراض است (Song *et al.*, 2021) و از طرفی بذرهای آن ناقص بوده و جوانه‌زنی موفق ندارد (Ma *et al.*, 2014 & Wang *et al.*, 2017). لذا تلاش برای بهینه‌سازی باززایی درون شیشه‌ای گیاه کمک زیادی به حفظ آن می‌کند. این گیاه انگل کامل است و اگر امکان سازگار شدن ساقه‌های باززایی شده در مجاورت قطعاتی از گیاهان میزبان و انتقال آنها به محیط بیرون فراهم شود، به حفظ و تکثیر گیاهان کمک زیادی می‌شود. بهینه‌سازی تولید کالوس در گیاه می‌تواند امکان باززایی غیرمستقیم ساقه‌های گیاه را در مراحل بعدی فراهم کند. همچنین با توجه به اینکه این گیاه فقط مدت زمانی خیلی کوتاه (کمتر از یک ماه) در طبیعت پیدا می‌شود، لذا در بقیه طول سال دسترسی به این گیاه ارزشمند وجود ندارد. یک راه نگهداری کوتاه مدت گیاه، کشت بافت می‌باشد. همچنین کشت کالوس و سوسپانسیون سلولی راهی برای تولید درون‌شیشه‌ای متابولیت‌های ثانویه این گیاه از جمله گلیکوزیدهای فنیل‌اتانول (CPhGs) شامل اکیناکوزید و اکتئوزید و بررسی عوامل موثر بر افزایش این متابولیت‌های ارزشمند محسوب می‌شود. بهینه‌سازی تولید کالوس در سنبل بیابانی می‌تواند قدم اول در رسیدن به این اهداف در نظر گرفته شود.

در مطالعه‌ای روی *C. tubulosa*، کالوس‌زایی آن روی محیط کشت 1/2MS دارای ۲/۵ میلی‌گرم بر لیتر IAA و ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر Kin همراه با تیمار سرمایی سه ماهه انجام شد (Moriya *et al.* 1995). در مطالعه دیگری کالوس‌زایی این گیاه با استفاده از ریزنمونه‌های مختلف در محیط کشت B5 دارای ۸ گرم بر لیتر کازئین هیدرولیز شده و ترکیبات هورمونی مختلف بررسی شد. در این مطالعه، ساقه‌های گوشتی گیاه به عنوان مناسب‌ترین ریزنمونه برای القای کالوس معرفی شد. همچنین محیط کشت جامد B5 حاوی ۰/۸ گرم بر لیتر کازئین هیدرولیز شده، ۲۰ گرم بر لیتر ساکارز، ۲ میلی‌گرم بر لیتر نفتالن استیک اسید (NAA) و یک میلی‌گرم بر لیتر ٦-بنزیل آدنین (BA-6) را به عنوان بهترین شرایط برای القای کالوس معرفی نمودند (Liu *et al.*, 2018).

در پژوهش حاضر کالوس‌زایی گیاه انگلی دارویی *Cistanche tubulosa* با استفاده از ریزنمونه‌های ساقه و تخمدان و ترکیبات هورمونی متفاوت بهینه‌سازی شد. با توجه به خواص دارویی زیاد این گیاه و همچنین استفاده در بیابان‌زدایی و سابقه پژوهشی بسیار اندک در کشت بافت این گیاه، پژوهش در مورد کشت بافت این گیاه ارزشمند می‌باشد.

مواد و روش‌ها
Materials and Methods

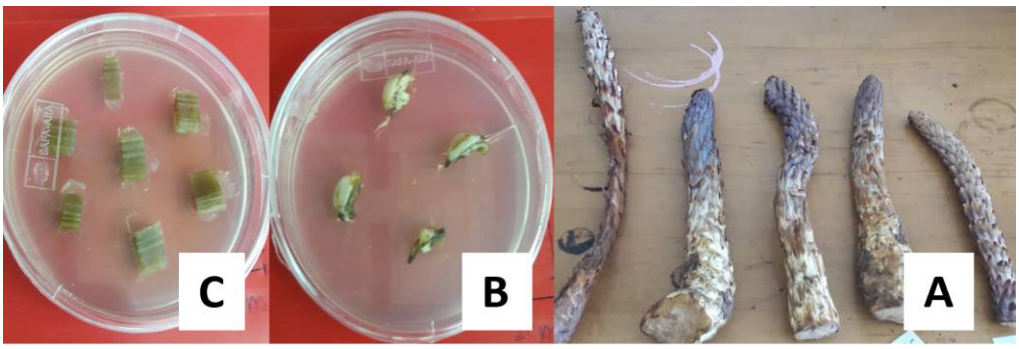
گیاه دارویی ***C. tubulosa*** از روستای چلپو شهرستان کوهسرخ در استان خراسان رضوی جمع‌آوری و سپس با کمک پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد با کد هرباریومی **46377FUMH** شناسایی شد (شکل **1A**). این پژوهش طی سال‌های ۱۳۹۷ تا ۱٤۰۰ در آزمایشگاه بیوتکنوژی دانشکده کشاورزی شیروان دانشگاه بجنورد انجام شد.

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-09-09]
[DOI: 10.61882/gebsj.13.2.7]

ضد عفونی مواد گیاهی: به منظور ضدعفونی کردن، قطعات گیاهی ابتدا با آب جاری شسته شدند تا گرد و خاک و مواد زائد از سطح آنها برطرف شود. سپس در الکل ۷۰ درصد به مدت دو دقیقه گذاشته شده و پس از آن سه مرتبه با آب مقطر استریل و در مجموع به مدت ۱۰ دقیقه در زیر هود لامینار شستشو داده شدند. سپس قطعات گیاه در پنج تیمار ضدعفونی هیپوکلریت‌سدیم با غلظت‌های ۱، ۲، ۳، ٤ و ٥ درصد به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شد و مجددا سه بار با آب مقطر استریل آبکشی شدند. به منظور افزایش سطح تماس گیاه و مواد ضدعفونی بسته به حجم محلول ضدعفونی یک تا دو قطره مایع ظرفشویی به آن افزوده شده و طی مدت ضدعفونی محلول تکان داده شد. بعد از ضدعفونی قطعات گیاهی، ریزنمونه‌های مختلف در ابعاد حدود ۰/۵ سانتی‌متر تهیه و در محیط کشت پایه **MS** (موراشی و اسکوگ) دارای ۳۰ گرم بر لیتر ساکارز و ۱۰ گرم بر لیتر آگار کشت شدند. نمونه‌ها در اتاقک رشد با شرایط ١٦ ساعت روشنایی (با شدت ۲۵۰۰ تا ۳۰۰۰ لوکس) و ۸ ساعت تاریکی در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. بعد از گذشت یک هفته میزان آلودگی نمونه‌ها بررسی شد.

تاثیر نوع ریزنمونه روی کالوس‌زایی گیاه

برای انجام کشت بافت، پس از ضد عفونی بافت‌های گیاه، ریزنمونه‌های حدودا ۰/۵ سانتی‌متری از تمام بافت‌های گیاه شامل: ساقه، مادگی، تخمدان و پرچم گیاه با کمک پنس و اسکالپل استریل تهیه شده و برای القای کالوس بررسی شد. دو مورد از ریزنمونه‌ها در شکل یک مشاهده می شود (شکل **1B** و **1C**).



شکل ۱- A) نمونه‌های *C. tubulosa* جمع‌آوری شده از کوهسرخ، B و C) ریزنمونه‌های تخمدان و ساقه تهیه شده از *C. tubulosa* برای کالوس‌زایی.

Figure 1. A) Samples of *Cistanche tubulosa* collected from Kuhsorkh. B and C) Stem and ovary explants prepared from C. tubulosa for callus induction.

تاثیر تیمارهای مختلف روی کنترل قهوه‌ای شدن

تیمارهای مورد استفاده شامل محیط کشت MS، محیط کشت MS دارای یک گرم بر لیتر زغال فعال و محیط کشت MS دارای یک گرم بر لیتر زغال فعال به همراه یک گرم بر لیتر اسیداسکوربیک بود. ثبت مشاهدات پس از گذشت یک هفته انجام شد. این آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی با ۳ تیمار و ۳ تکرار انجام شد.

تاثیر تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی روی کالوس‌زایی گیاه

جهت بررسی اثر تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی روی کالوس‌زایی گیاه، از ریزنمونه‌های تخمدان و ساقه استفاده شد. گیاه در مرحله گلدهی(دارای گل‌های باز شده و باز نشده) جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل شد. با کمک پنس و اسکالپل تخمدان‌ها از داخل گل‌های باز نشده جداسازی و ضد عفونی شدند. ریزنمونه‌های استریل روی محیط کشت MS دارای ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر BAP، ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر Kin و ۲۳ سطح(صفر، ۰/۵، ۱، ۱/۵، ۲، ۲/۵، ۳، ۳/۵، ٤، ٤/۵، ٥، ٥/۵، ٦، ٦/۵، ۷، ۷/۵، ۸، ۸/۵، ۹، ۹/۵، ۱۰، ۱۰/۵ و ۱۱ میلی‌گرم بر لیتر) از

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-09-09]
[DOI: 10.61882/gebsj.13.2.7]

2.4.D در سه تکرار در قالب طرح کاملا تصادفی کشت شدند. ویال‌ها به اتاقک رشد با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد با شرایط ۱۶ ساعت روشنایی(با شدت ۲۵۰۰ تا ۳۰۰۰ لوکس) و ۸ ساعت تاریکی منتقل شدند. بعد از گذشت ۱۰ روز تا مدت ۲ ماه امکان تشکیل کالوس بررسی شد. این آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی با ۲۳ تیمار و۳ تکرار انجام شد.

تجزیه و تحلیل آماری

مرتب نمودن داده‌ها در برنامه Excel و تجزیه و تحلیل آنها با استفاده از نرم‌افزار SAS انجام شد. مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون LSD انجام شد. نمودارها با استفاده از برنامه Excel رسم گردیدند.

نتایج و بحث Results and Discussion

در ابتدای این پژوهش با جمع‌آوری بذرهای گیاه از کوهسرخ، با استفاده از روش‌های متفاوت، تلاش زیادی برای جوانه‌زنی بذرها و تولید گیاهچه‌های استریل انجام شد که به نتیجه نرسید. البته در پژوهشی در سال ۲۰۱۶ جوانه‌زنی بذرهای این گیاه با استفاده از فلوریدن انجام شد(Chen et al., 2016). با این وجود در مطالعه حاضر حتی با استفاده از فلوریدن هم موفق به جوانه‌زنی بذرها نشدیم. بذرهای بالغ .C deserticola حاوی یک جنین کروی هستند که تمایز نیافته است (Ma et al., 2014). بذرها نوع خاصی از خواب مورفولوژیکی دارند. جنین کوچک باید تا طول بحرانی (۰/٤٤ میلی‌متر) رشد کند تا بتواند جوانه بزند. این نوع خواب با سرمادهی شکسته می‌شود. بذرها باید در طول زمستان در معرض یک دوره دمای پایین قرار گیرند. خواب فیزیولوژیکی باید قبل از خروج لوله جوانه از بذر آزاد شود و محرک شیمیایی برای جوانه زنی نیاز است. این محرک به طور طبیعی توسط گیاه میزبان تولید می‌شود. در آزمایشگاه، فلوریدین و جیبرلین با غلظت ۱۰-۵ مولار در دمای ۲۰/۳۰ درجه سانتی‌گراد پس از ۱۲ هفته جوانه‌زنی را القا کردند (Wang et al., 2017).

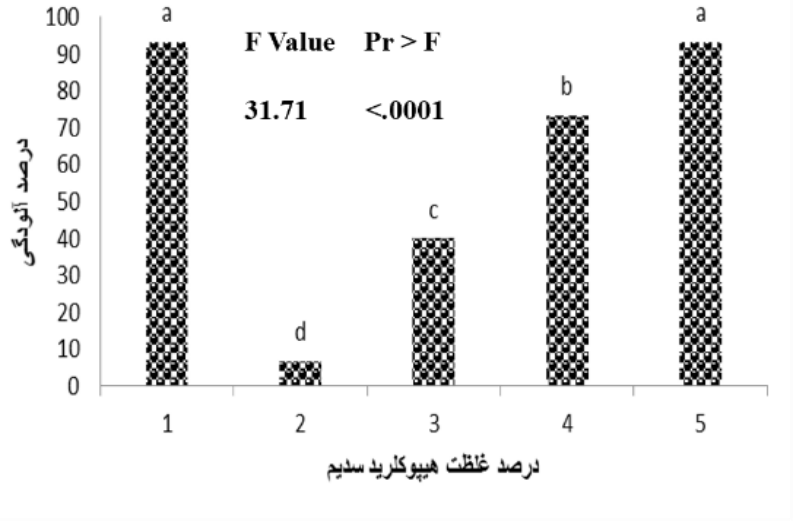
ضد عفونی مواد گیاهی

بررسی اثر تیمارهای ضدعفونی روی ریزنمونه‌های گیاه *C. tubulosa* نشان داد که موثرترین تیمار، هیپوکلریت سدیم با غلظت دو درصد به مدت ۱۰ دقیقه می‌باشد که کمترین میزان آلودگی (٦ درصد) را نشان داد. بیشترین میزان آلودگی (۹۰ درصد) در غلظت‌های یک و پنج درصد مشاهده شد (شکل ۲). Liu و همکاران نیز هیپوکلریت سدیم با غلظت دو درصد را به مدت ۱۵ دقیقه برای ضد عفونی ریزنمونه‌های C. tubulosa پیشنهاد دادند (Liu et al., 2018). در این آزمایش در غلظت‌های ۳، ٤ و ۵ درصد از هیپوکلریت سدیم با افزایش آلودگی مواجه شد. این اتفاق در کشت بافت می‌تواند در اثر یک یا چند عامل زیر اتفاق بیفتد. هیپوکلریت سدیم در غلظت‌های بالا ممکن است به سلولهای گیاهی آسیب برساند و باعث پاره شدن دیواره سلولی یا مرگ سلول گیاهی شود. این اتفاق باعث نشت ترکیبات آلی از جمله اسیدهای آمینه، قندها و فنول‌ها از داخل بافت گیاهی به محیط کشت می‌شود. این مواد مغذی، محیط مناسبی برای رشد میکروارگانیسم‌ها و ایجاد آلودگی فراهم می‌کنند (George et al., 2008).

دلیل دیگر می‌تواند تخریب اپیدرم به عنوان لایه محافظ بافت گیاهی و سد دفاعی گیاه در برابر حمله میکروارگانیسم‌ها توسط غلظت بالای هیپوکلریت سدیم باشد که می‌تواند بافت‌های حساس داخلی را در معرض میکروارگانیسم‌ها قرار داده و احتمال آلودگی را افزایش دهد (Bhojwani & Razdan, 1996). دلیل سوم می‌تواند فعال شدن پاسخ‌های تنش اکسیداتیو در حضور هیپوکلریت سدیم باشد. این ماده یک اکسید کننده قوی است و در غلظت‌های بالا می‌تواند با تولید گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) در سلول‌های گیاهی به سلول‌ها آسیب وارد کرده و حتی با تحریک نشت ترکیبات فنولی منبع تغذیه برای رشد میکروارگانیسم‌ها فراهم آورد (Cassells & Curry,2001). دلیل دیگری که می‌توان برای این پدیده بیان کرد این است‌که برخی میکروارگانیسم‌ها از جمله باکتری‌های گرم منفی توان مقاومت در برابر هیپوکلریت سدیم را دارند. لذا در غلظت‌های بالا گونه‌های حساس باکتری حذف می‌شوند در حالی‌که گونه‌های مقاوم زنده مانده و تکثیر می‌شوند (Herman,

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-09-09]
[DOI: 10.61882/gebsj.13.2.7]

2015). از دلایل دیگر می‌توان به کاهش کارایی استریل کننده‌ها در غلظت‌های بالا نام برد. گزارش‌هایی وجود دارد که نشان می‌دهد هیپوکلریت سدیم در غلظت خیلی بالا به دلیل واکنش سریع با مواد آلی، قبل از نفوذ به لایه‌های عمقی بافت گیاه، تجزیه شده و اثر بخشی خود را از دست می‌دهد و لذا آلودگی افزایش می‌یابد (George et al.,2008). با توجه به مواردی که ذکر شد نباید انتظار داشت که حتما غلظت بالاتر هیپوکلریت سدیم با کاهش آلودگی همراه باشد.



شکل ۲- تاثیر غلظت هیپوکلریت شدیم بر میزان آلودگی ریزنمونه‌های *C. tubulosa* حروف مشابه در هر ستون نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار است.

Figure 2. The effect of sodium hypochlorite concentration on the contamination rate of *C. tubulosa* explants. Similar letter in each column indicate no significant difference.

تأثیر نوع ریزنمونه روی کالوس‌زایی گیاه

در این پژوهش فقط کالوس‌زایی از ریزنمونه تخمدان موفق بود و در بقیه ریزنمونه‌ها هیچ کالوس‌زایی مشاهده نشد (شکل ۳).

شکل ۳-کالوس های بدست آمده از تخمدان *C. tubulosa*

Figure 3. Callus obtained from *C. tubulos* ovary.

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-09-09]

[DOI: 10.61882/gebsj.13.2.7]

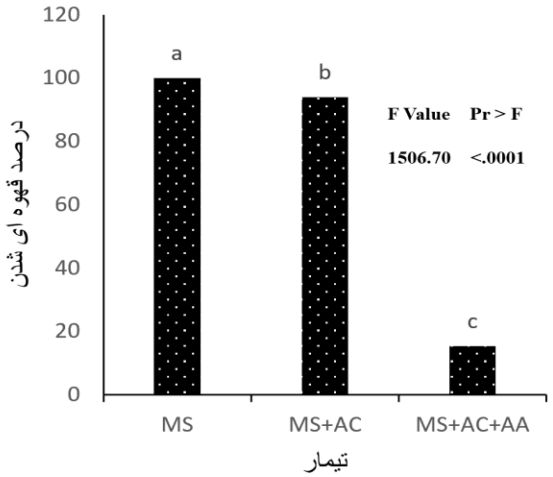
تفاوت در پاسخ‌دهی به کالوس‌زایی در بین ریزنمونه‌ها و پاسخ بهتر تخمدان در این پژوهش شاید به دلایل زیر اتفاق بیفتد: اولین دلیل می‌تواند تفاوت در پتانسیل تمایزیابی سلول‌های گیاهی باشد. سلول‌های بافت‌های مختلف گیاهی از جهت توانایی بازبرنامه‌ریزی و تشکیل کالوس متفاوت هستند. و ممکن است سلول‌های تخمدان پتانسیل تکثیری بالاتری نسبت به سایر بافت‌ها داشته باشند و به تحریک هورمونی پاسخ بهتری بدهند (George et al., 2008). همچنین ممکن است در گیاهان انگلی مثل این گونه، بافت‌های تولید مثلی مانند تخمدان به دلیل نقشی که در توسعه گل و میوه دارند، غلظت بالاتری از اکسین و سایتوکنین را به‌طور طبیعی در خود ذخیره داشته باشند. این سطح بالاتر اکسین می‌تواند تشکیل کالوس را تقویت کند (Verpoorte et al., 2002). دلیل دیگر می‌تواند تفاوت در الگوی بیان ژن‌های مرتبط با تکثیر سلولی در بافت‌های مختلف گیاه باشد به این معنی که ژن‌های تاثیرگذار در بازبرنامه‌ریزی سلولی در تخمدان بهتر بیان شوند (Sugimoto et al., 2011). از دلایل دیگر تفاوت در پاسخ ریزنمونه‌ها به کالوس‌زایی می‌توان به احتمال وجود برخی ترکیبات بازدارنده رشد مانند فنول‌ها و آلکالوئیدها در بافت‌هایی مثل ساقه بالغ باشد. تجمع این متابولیت‌های ثانویه در بافت‌های بالغ برخی گیاهان پارازیت مثل سنبل بیابانی می تواند اثر منفی در پاسخ گیاه به کشت بافت داشته باشد (Ikeuchi et al., 2013). فرایند تهیه ریزنمونه و قرار دادن آن در محیط کشت معمولا یک تنش فیزیولوژیکی و مکانیکی ایجاد می‌کند. تخمدان‌ها ممکن است سیگنال‌های استرس را بهتر تنظیم کرده و به تحریک هورمونی بهتر پاسخ دهند (Ikeuchi et al., 2013). پاسخ متفاوت ریزنمونه‌های *C. tubulosa* ممکن است ترکیبی از عوامل فوق باشد. تخمدان‌ها ممکن است به‌دلیل پتانسیل تکثیری ذاتی، سطح هورمونی مطلوب، و نبود نسبی بازدارنده‌های رشد، محیط بهتری برای کالوس‌زایی فراهم کنند. در پژوهشی، در گونه *C. deserticola* (Zhong et al., 2001) بافت ساقه و تخمدان به عنوان بهترین ریزنمونه‌ها جهت تولید کالوس معرفی شدند. در مقاله دیگری روی گونه *C. deserticola* کالوس‌زایی با استفاده از ریزنمونه بذر پوست گرفته‌شده انجام شد (Ouyang et al. 2003). در پژوهشی جهت کالوس‌زایی در گونه *C. deserticola* از بذرهای گیاه استفاده شد (Sulata et al 2024). در پژوهش حاضر با وجود استفاده از انواع ریزنمونه‌ها، فقط از بافت تخمدان کالوس‌زایی خوبی انجام شد. به نظر می‌رسد در گونه *C. tubulosa* بر خلاف گونه *C.deserticola*، ریزنمونه ساقه پاسخ خوبی به القای کالوس نمی‌دهد.

تأثیر تیمارهای مختلف روی کنترل قهوه‌ای شدن

پس از انجام آزمایشات مقدماتی و مشاهده قهوه‌ای شدن بافت ریزنمونه‌های مختلف در اثر وجود ترکیبات فنلی، روش‌های مختلف جهت کنترل قهوه‌ای شدن ارزیابی شد. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تاثیر تیمارهای مورد استفاده برای کنترل قهوه‌ای شدن در سطح یک درصد معنی‌دار است. بیشترین میزان قهوه‌ای شدن در تیمار شاهد و کمترین میزان قهوه‌ای‌شدن در تیمار سوم که دارای ۰/۵ گرم زغال فعال به همراه ۰/۵ گرم اسیدآسکوربیک بود مشاهده شد (شکل ٤). در مطالعه مومنی و همکاران در کاکوتی (*Ziziphora clinopodioides*) ترکیب پلی‌وینیل‌پیرولیدین، اسیدآسکوربیک و زغال‌فعال به خوبی توانست قهوه‌ای شدن ریزنمونه‌ها را کنترل کرده و گیاه را محافظت نماید (Momeni et al., 2019). اسید آسکوربیک دارای آسکوربات است که اثر غیرفعال‌کنندگی مستقیم بر آنزیم پلی‌فنل اکسیداز دارد و با تبدیل اُ-کینون‌های بی‌رنگ به دی‌فنل‌ها، از قهوه‌ای شدن بافت گیاهی جلوگیری می‌کند. اسید آسکوربیک با جمع‌آوری رادیکال‌های اکسیژن از اکسید شدن ترکیبات فنولی در ریزنمونه‌های گیاهی جلوگیری می‌کند (Liu et al. 2024). زغال فعال به‌عنوان یک جاذب از طریق پیوندهای هیدروژنی و نیروهای واندروالس، ترکیبات فنلی را جذب کرده و مانع از تجمع و آسیب آنها به گیاه می‌شود. زغال فعال معمولا همراه با سایر مهارکننده‌ها، اثر بهتری در کنترل قهوه‌ای شدن دارد (Liu et al. 2024).

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-09-09]

[DOI: 10.61882/gebsj.13.2.7]

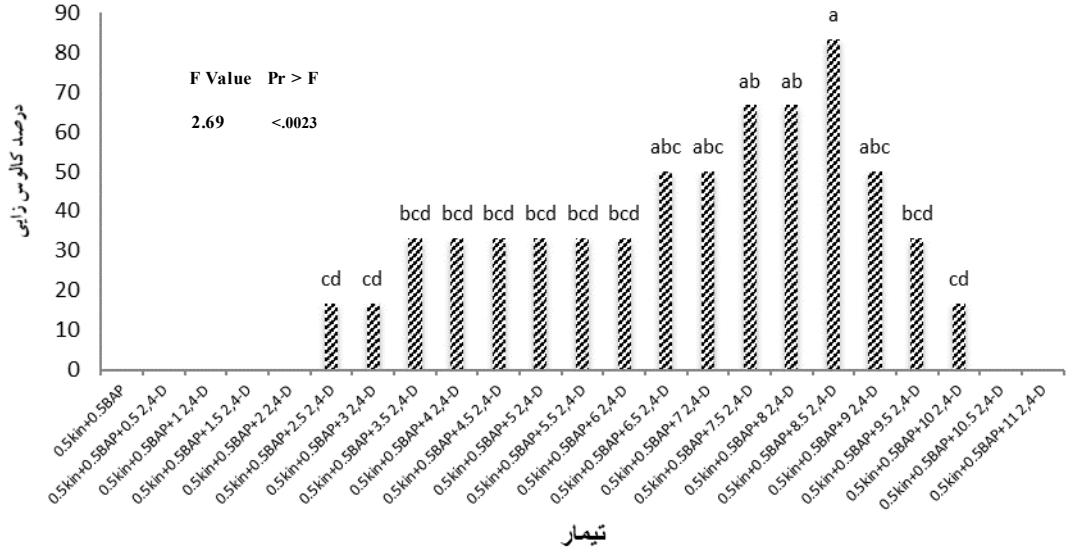


شکل ٤- تأثیر بازدارنده‌های مختلف (AC = زغال فعال و AA = اسید آسکوربیک) بر کنترل قهوه‌ای شدن ریز نمونه‌های *C. tubulosa*. حروف مشابه در هر ستون نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار است.

Figure 4. Effect of different inhibitors (AC = Activated Charcoal, AA = Ascorbic Acid) on controlling browning of *C. tubulosa* explants. Similar letter in each column indicate no significant difference.

تاثیر تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی روی کالوس‌زایی گیاه

تیمارهای مختلف هورمونی روی کالوس‌زایی ریزنمونه تخمدان در سطح یک درصد تفاوت معنی‌دار داشتند. بیشترین درصد کالوس‌زایی به میزان ۸۳/۳۳ درصد در محیط کشت MS دارای ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر Kin به‌اضافه ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر BAP به‌اضافه ۸/۵ میلی‌گرم بر لیتر 2,4-D مشاهده شد (شکل ۵).



شکل ٥- تاثیر تیمارهای مختلف هورمونی بر میزان کالوس زایی از ریزنمونه تخمدان *C. tubulosa* . حروف مشابه در هر ستون نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار است.

Figure 5. Effect of different hormonal treatments on callus induction from *C. tubulosa* ovary explants. Similar letter in each column indicates no significant difference.

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-09-09]

[DOI: 10.61882/gebsj.13.2.7]

در شکل نمونه‌هایی از کالوس‌های بدست آمده از محیط کشت MS غنی شده با ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر Kin به‌اضافه ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر BAP به‌اضافه ۸/۵ میلی‌گرم بر لیتر 2,4-D را نشان می‌دهد (شکل ٦).

شکل ٦- نمونه هایی از کالوس‌های بدست آمده از تخمدان *C. tubulosa*. با A) تیمار ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر Kin با ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر BAP و ۸ میلی‌گرم بر لیتر 2,4-D، B) تیمار ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر Kin با ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر BAP و ۸/۵ میلی‌گرم بر لیتر 2,4-D.

Figure 6. Samples of callus obtained from *C. tubulosa* ovary explants by: A) treatment of A) 0.5 mg/L kinetin, 0.5 mg/L BAP, and 8 mg/L 2,4-D, and B) 0.5 mg/L kinetin, 0.5 mg/L BAP, and 8.5 mg/L 2,4-D.

اکسین پایه و اساس رشد و توسعه گیاه را تشکیل می‌دهد و همچنین دفاع گیاه در برابر تنش‌های محیطی را تنظیم میکند (Kacprzyk et al., 2022). 2,4-D یک هورمون مصنوعی از خانواده اکسین است که نقش کلیدی در القای کالوس در کشت بافت گیاهی دارد. این هورمون می تواند با تقلید عملکرد اکسین‌های طبیعی و اتصال به گیرنده‌های اکسینی، بیان ژن‌های مرتبط با تقسیم سلولی و بازبرنامه‌ریزی سلول‌های تمایز یافته گیاهی به حالت مریستمی یا کالوس را تحریک کند. این هورمون می‌تواند با القای تولید رادیکال‌های آزاد، تنش اکسیداتیو خفیف ایجاد کرده و تقسیم سلولی و تشکیل کالوس را تسهیل نماید (Fan et al., 2022). پژوهش‌ها نشان می‌دهد که 2,4-D می‌تواند با القای متیلاسیون/دمتیلاسیون DNA و تغییر هیستون‌ها و تسهیل بازبرنامه‌ریزی ژنوم، سلول‌های گیاهی را به حالت مریستمی بازگرداند (Ikeuchi et al., 2019). این هورمون با تغییر نسبت اکسین/سایتوکنین و سرکوب اسید ابسزیک و جیبرلین‌ها نیز تقسیم سلولی را در گیاه تحریک می‌کند (Fan et al., 2022). با افزایش میزان هورمون 2.4-D میزان کالوس‌زایی نیز افزایش یافت. اما از سطح ۸/۵ میلی‌گرم بر لیتر به بعد روند کاهشی مشاهده شد. این کاهش با دلایل زیر قابل تفسیر است.. هورمون 2,4-D در غلظت‌های پایین تا متوسط با تحریک بیان ژن‌های تقسیم سلولی و مهار ژن‌های تمایز، کالوس‌زایی را به‌طور خطی افزایش می‌دهد، در صورتی که در غلظت‌های بالا اثرات سمی بر گیاه می‌گذارد. اثرات بازدارندگی 2,4-D در غلظت‌های بالا می‌تواند ناشی از آسیب به غشاهای سلولی، پروتئین‌ها و DNA از طریق تنش اکسیداتیو شدید و تولید رادیکال‌های آزاد بیش از حد باشد (Kacprzyk et al., 2022). بعضی گزارش‌ها حاکی از آن است که 2,4-D در غلظت بالا می‌تواند گاهی به جای فاز تکثیر، تمایز سلولی نابجا را القا نماید (Su et al., 2011). همچنین گزارش شده است که غلظت‌های بالای 2,4-D می‌تواند بیان ژن‌های مرتبط با چرخه سلولی را کاهش داده و تقسیم سلولی را متوقف کند (Kacprzyk et al., 2022). اگرچه به‌طور کلی اکسین معمولاً مهارکننده مرگ سلولی است، اما در برخی شرایط می‌تواند با تحریک بیوسنتز اتیلن، رویدادهای مرگ سلولی برنامه‌ریزی‌شده را تقویت کند (Kacprzyk et al., 2022).

در این پژوهش از ترکیب غلظت‌های مختلف 2,4-D با غلظت‌های پایین BAP و Kin جهت کالوس‌زایی استفاده شد. ترکیب 2,4-D با غلظت‌های پایین سیتوکینین‌هایی مانند BAP و Kin می‌تواند با ایجاد تعادل هورمونی، افزایش درصد کالوس‌زایی را به‌دنبال داشته باشد. غلظت پایینی از سیتوکینین می‌تواند با جلوگیری از مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی، بقای سلول‌های گیاهی را بهبود بخشد (Ikeuchi et al., 2013).

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-09-09]
[DOI: 10.61882/gebsj.13.2.7]

در پژوهشی برای کالوس‌زایی *C. deserticola* از محیط کشت B5 غنی شده با ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر ٦-بنزیل‌آمینوپورین، ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر جیبرلین، ۸۰۰ میلی‌گرم بر لیتر کازئین هیدرولیزشده و ۲۰ گرم بر لیتر ساکارز استفاده شد (Ouyang et al. 2003). دورانی و همکاران نیز جهت کالوس‌زایی در برنج از ترکیب 2,4-D و Kin استفاده کردند (Dorani et al., 2021). در پژوهش ذاکر تولایی و همکاران جهت کالوس-زایی در گون (*Astragalus verus*)، مشاهده شد که2,4-D از NAA بهتر عمل می‌کند. آنان بیشترین کالوس‌زایی را در محیط کشت MS غنی شده با ۱/۵ میلی‌گرم بر لیتر 2,4-D در ریزنمونه ریشه به میزان ۹۸ درصد گزارش کردند (Zaker Tavallaie et al. 2020). در پژوهشی روی *C. deserticola* از بذرهای پوست‌گیری شده، پس از یک ساعت نگهداری در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد در محیط MS غنی شده با یک میلی‌گرم بر لیتر2,4-D، ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر Kin و یک میلی‌گرم بر لیتر جیبرلین و ۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر کازئین هیدرولیز شده به میزان ٢٤ درصد کالوس‌زایی انجام شد (Ouyang et al. 2002). در پژوهش Sulata و همکاران روی گونه *C. deserticola* نیز از محیط کشت B5 دارای یک میلی‌گرم بر لیتر 2,4-D و ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر GA3 و ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر BAP و ۷۰۰ میلی‌گرم بر لیتر کازئین هیدرولیز شده، برای القای کالوس استفاده شد (Sulata et al. 2024). در این پژوهش نشان داده شد که بافت کالوس، سطح بالاتری از متابولیسم کربوهیدرات را دارد که می‌تواند به محتوای بالای گلیکوزیدهای فنل‌اتانوئیدی مرتبط باشد، که در صنعت دارویی بسیار مورد توجه هستند (Sulata et al. 2024). از طرفی مطالعه (Fan et al., 2022) نشان داد که فعالیت ضدافسردگی عصاره ساقه *C. tubulosa* قوی‌تر از عصاره ساقه *C. deserticola* است و تفاوت زیادی در محتوای ترکیبات اصلی در ساقه‌های *C. deserticola* و *C. tubulosa* از جمله در مورد پلی‌ساکاریدها، الیگوساکاریدها، فنیل‌اتانوئید و گلیکوزیدهای ایریدوئیدها وجود دارد (Fan et al., 2022). با توجه به نتایج پژوهش‌های انجام شده که نشان دهنده افزایش سطح مواد موثره در کالوس‌های حاصل از کشت بافت نسبت به ساقه گیاه طبیعی در *C. deserticola* (Sulata et al. 2024) و همچنین تفاوت در محتوای دو گونه *C. deserticola* و *C. tubulosa* (Fan et al., 2022)، و با در نظر گرفتن اینکه اکثر پژوهش‌ها و تولیدات دارویی تجاری شده روی گونه *C. deserticola* در چین متمرکز می‌باشد، می‌توان به پتانسیل بالای گونه *C. tubulosa* موجود در ایران برای تولید دارو امیدوار بود. این امر به ویژه با توجه به کمبود پژوهش‌های جامع روی گونه *C. tubulosa* و نتایج امیدوارکننده این پژوهش، می‌تواند زمینه‌ساز تحقیقات گسترده‌تر و در نهایت تولید داروهای جدید از این گیاه دارویی ارزشمند در آینده باشد. با توجه به اینکه بهینه-سازی کالوس‌زایی اولین گام برای دستیابی به تولید مواد موثره دارویی در کالوس و کشت سوسپانسیون سلولی و همچنین باززایی غیر مستقیم گیاه می‌باشد، نتایج پژوهش حاضر می‌تواند به‌عنوان اولین گام برای رسیدن به این اهداف ارزشمند باشد.

نتیجه‌گیری کلی: به‌طور کلی بهترین تیمار برای ضدعفونی مربوط به دو درصد هیپوکلریت سدیم و زمان ۱۰ دقیقه ضدعفونی بود. بهترین تیمار برای کنترل قهوه‌ای شدن ۰/۵ گرم بر لیتر زغال فعال به اضافه ۰/۵ گرم بر لیتر اسید اسکوربیک بود. بیشترین درصد کالوس‌زایی در تیمار ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر Kin به همراه ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر BAP و ۸/۵ میلی‌گرم بر لیتر 2-4-D بدست آمد.

سپاسگزاری: بدین‌وسیله از دانشکده کشاورزی شیروان دانشگاه بجنورد جهت حمایت مالی و در اختیار گذاشتن امکانات و تجهیزات آزمایشگاه قدردانی می‌شود.

منابع

References

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-09-09]

[DOI: 10.61882/gebsj.13.2.7]

Bhojwani, S.S., Razdan, M.K. (1996). Tissue culture media. In: Studies in plant science, vol 5. Elsevier, pp 39–62. https://doi.org/10.1016/S0928-3420(96)80005-X.

Cassells, A. C., & Curry, R. F. (2001). Oxidative stress and physiological, epigenetic and genetic variability in plant tissue culture: implications for micro propagators and genetic engineers. *Plant cell, tissue and organ culture*, *64*, 145-157. https://doi.org/10.1023/A:1010692104861.

Chen, Q. L., Guo, Y., Jiang, Y., & Tu, P. (2016). Mechanism of fluridone-induced seed germination of *Cistanche tubulosa*. *Pakistan Journal of Botany, 48*(3), 971-976. URL: http://www.pakbs.org/pjbot/PDFs/48(3)/15.pdf.

Ding, Y.H., Zhang, Y., Wang, Z.H., Zeng, F.L., Zhen, Q.Z., Zhao, H.Z., et al. (2023). Echinacoside from *Cistanche tubulosa* ameliorates alcohol-induced liver injury and oxidative stress by targeting Nrf2. Faseb Journal, 37(3), e22792. https://doi.org/10.1096/fj.202201430R.

Fan, L., Peng, Y., Chen, X., Ma, P., & Li, X. (2022). Integrated analysis of phytochemical composition, pharmacokinetics, and network pharmacology to probe distinctions between the stems of *Cistanche deserticola* and *C. tubulosa* based on antidepressant activity. *Food & Function*, *13*(16), 8542-8557. https://doi.org/10.1039/D2FO01357F.

Fan, Y., Tang, Z., Wei, J., Yu, X., Guo, H., Li, T., ... & Zeng, F. (2022). Dynamic transcriptome analysis reveals complex regulatory pathway underlying induction and dose effect by different exogenous auxin IAA and 2, 4-D during in vitro embryogenic redifferentiation in cotton. *Frontiers in Plant Science*, *13*, 931105. https://doi.org/10.3389/fpls.2022.931105.

Herman, E.B. (2015). Plant tissue culture contamination: Challenges and opportunities. In *VI International Symposium on Production and Establishment of Micro propagated Plants 1155* (pp. 231-238). 10.17660/ActaHortic.2017.1155.33.

Kan, J.T., Cheng, J.R., Hu, C., Chen, L., Liu, S.Y., Venzon, D., et al. (2021). A botanical product containing *Cistanche* and ginkgo extracts potentially improves chronic fatigue syndrome symptoms in adults: A randomized, double-blind, and placebo-controlled study. Frontiers in Nutrition, 8, 658630. https://doi.org/10.3389/fnut.2021.658630.

George EF, Hall MA, Klerk G-J. (2008). Plant propagation by tissue culture.Volume 1. The background. 3rd.edn. Dordrecht, Springer. https://doi.org/10.1007/s11240-008-9357-1.

Kacprzyk, J., Burke, R., Schwarze, J., & McCabe, P. F. (2022). Plant programmed cell death meets auxin signaling. *The FEBS journal*, *289*(7), 1731-1745. https://doi.org/10.1111/febs.16210

Ikeuchi, M., Sugimoto, K., & Iwase, A. (2013). Plant callus: mechanisms of induction and repression. *The plant cell*, *25*(9), 3159-3173. doi.org/10.1105/tpc.113.116053

Ikeuchi, M., Favero, D. S., Sakamoto, Y., Iwase, A., Coleman, D., Rymen, B., & Sugimoto, K. (2019). Molecular mechanisms of plant regeneration. *Annual review of plant biology*, *70*(1), 377-406. https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-050718-100434.

Jiang, Y., & Tu, P. F. (2009). Analysis of chemical constituents in *Cistanche* species. *Journal of Chromatography A, 1216*, 1970-1979. https://doi.org/10.1016/j.chroma.2008.07.031.

Lin, D. M., Huang, W. W., Han, X. F., & Xie, X. W. (2023). Potential mechanism of *Cistanche deserticola* in the treatment of osteoporosis: Based on network pharmacology and ovariectomized rat model. Asian Journal of Surgery, 46(5), 2114–2115. https://doi.org/10.1016/j.asjsur.2022.11.047.

Liu, C., Fan, H., Zhang, J., Wu, J., Zhou, M., Cao, F., ... & Zhou, X. (2024). Combating browning: Mechanisms and management strategies in in vitro culture of economic woody plants. *Forestry Research, 4*, e032. https://doi.org/10.48130/forres-0024-0026.

Liu, X., Yan, Y., Liu, Y., Mo, T., Wang, X., Song, Y., ... & Tu, P. (2018). Cell culture establishment and regulation of two phenylethanoid glycosides accumulation in cell suspension culture of desert plant *Cistanche tubulosa*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 134*, 107-118. https://doi.org/10.1007/s11240-018-1404-y.

Ma, Z., Yang, Z., Lu, D., Dai, L., Wu, B., & Yao, S. (2014). Determination of bioactive components of *Cistanche deserticola* (Roucongrong) by high-performance liquid chromatography with diode array and mass spectrometry detectors. *Analytical Letters*, *47*(17), 2783-2794. https://doi.org/10.1080/00032719.2014.924012

Momeni, A., Zaker Tavallaie, F., Shokoohifar, F., & Kheirkhah, M. (2019). Optimization of regeneration in mountain Ziziphora (*Ziziphora clinopodioides* Lam). *Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research, 27*, 143-151. doi: 10.22092/ijrfpbgr.2019.120266.

Moriya, A., Karasawa, D. E., Arima, H., Deyama, T., Ibe, N., Kegasawa, K., & Usmanghani, K. (1995). Studies on the tissue culture of *Cistanche* plants I: Callus induction and shoot differentiation from the seed of *Cistanche tubulosa* Wight. *Plant Tissue Culture Letters, 12*(1), 46-54. https://doi.org/10.5511/plantbiotechnology1984.12.46.

Ouyang, J., Wang, X. D., Zhao, B., & Wang, Y. C. (2003). Formation of phenylethanoid glycosides by *Cistanche deserticola* callus grown on solid media. *Biotechnology Letters, 25*, 223-225. https://doi.org/10.1023/A:1022325203622.

Pei, W., Guo, R., Zhang, J., & Li, X. (2018). Extraction of phenylethanoid glycosides from *Cistanche tubulosa* by high-speed shearing homogenization extraction. Journal of AOAC International, 102, 63-68. https://doi.org/10.5740/jaoacint.18-0039.

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-09-09]

[DOI: 10.61882/gebsj.13.2.7]

Peng, S., Li, P.Y., Liu, P.R., Yan, H.Z., Wang, J., Lu, W.H., et al. (2020). *Cistanche* alleviates sevoflurane-induced cognitive dysfunction by regulating PPAR-γ-dependent antioxidant and anti-inflammatory pathways in rats. Journal of Cellular and Molecular Medicine, 24(2), 1345–1359. https://doi.org/10.1111/jcmm.14807.

Shahi Shavvon, R., & Saeidi Mehrvarz, S. (2010). Pollen and seed morphology of the genus Cistanche (Orobanchaceae) in Iran. *Biologia*, *65*, 615-620. https://doi.org/10.2478/s11756-010-0062-2.

Salehi, M., Esmailzadeh, S.H., Kheyli, S.A.G., Malekshah, A.F., & Zaroudi, M. (2019). *Cistanche tubulosa* could be considered as medicinal plant in halophytes farming. In R. Tucker (Ed.), **Halophytes** (pp. 193-233). Nova Science Publishers, Inc.

Shimoda, H., Tanaka, J., Takahara, Y., Takemoto, K., Shan, S.J., & Su, M.H. (2009). The hypocholesterolemic effects of *Cistanche tubulosa* extract, a Chinese traditional crude medicine, in mice. *The American Journal of Chinese Medicine, 37*(6), 1125-1138. https://doi.org/10.1142/S0192415X09007545

Song, Y., Zeng, K., Jiang, Y., & Tu, P. (2021). Cistanches Herba, from an endangered species to a big brand of Chinese medicine. *Medicinal Research Reviews*, *41*(3), 1539-1577. https://doi.org/10.1002/med.21768.

Su, Y.H., Zhao, X.Y., Liu, Y.B., Zhang, C.L., O'Neill, S.D., & Zhang, X.S. (2009). Auxin-induced WUS expression is essential for embryonic stem cell renewal during somatic embryogenesis in Arabidopsis. *The Plant Journal*, *59*(3), 448-460. https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2009.03880.x.

Sugimoto, K., Gordon, S.P., & Meyerowitz, E.M. (2011). Regeneration in plants and animals: dedifferentiation, transdifferentiation, or just differentiation. *Trends in cell biology*, *21*(4), 212-218. https://doi.org/10.1016/j.tcb.2010.12.004.

Sutula, M., Gubaidullin, N.N., Рахимжанова, A.O., & Manabayeva, S.A. (2024). Identification of secondary metabolites by gas chromatography with mass spectroscopy in callus tissues of *cistanche deserticola* y.c. ma. *Eurasian Journal of Applied Biotechnology*, *4*, 21–39. https://doi.org/10.11134/btp.4.2024.3.

Verpoorte, R., Contin, A., & Memelink, J. (2002). Biotechnology for the production of plant secondary metabolites. *Phytochemistry reviews*, *1*, 13-25. https://doi.org/10.1023/A:1015871916833.

Wang, T., Zhang, X., & Xie, W. (2012). *Cistanche deserticola* Y.C. Ma, "Desert ginseng": A review. *The American Journal of Chinese Medicine, 40*(6), 1123-1141. https://doi.org/10.1142/S0192415X12500838.

Wang, J., Baskin, J. M. , Baskin, C. C., Liu, G., Yang, X., & Huang, Z. (2017). Seed dormancy and germination of the medicinal holoparasitic plant Cistanche deserticola from the cold desert of northwest China. *Plant Physiol Biochem, 115*, 279-285. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.04.010

Wen, L. M., Hu, J. P., Zhang, J. W., & Yang, J. H. (2021). Phenylethanol glycosides from Herba *Cistanche* improve the hypoxic tumor microenvironment and enhance the effects of oxaliplatin via the HIF-1α signaling pathway. Molecular Medicine Reports, 24(1), 517. https://doi.org/10.3892/mmr.2021.12156.

Wu, L., Xiang, T., Chen, C., Isah, M. B., & Zhang, X. (2023). Studies on Cistanches herba: A bibliometric analysis. *Plants*, *12*(5), 1098. https://doi.org/10.3390/plants12051098

Zaker Tavallaie, F., Ebrahimi, S., Zare Mehrjerdi, M., & Ghorbanzadeh Neghab, M. (2020). Investigating the effect of explant type and hormonal composition on *Astragalus verus* callogenesis. *Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research, 1*, 102-114. https://doi.org/10.22092/ijrfpbgr.2019.122389.1309.

Zhang, S., Gong, F., Liu, J., You, S., Liu, T., Yang, J., & Hu, J. (2025). Effects of acteoside from *Cistanche tubulosa* on the plasma metabolome of cancer-related fatigue mice inoculated with colon cancer cells. Frontiers in Pharmacology, 15, 1370264. https://doi.org/10.3389/fphar.2024.1370264.

Zhong, Y., Chen, C., Tang, Q., & Luo, Z. (2001). Studies on calluses induced from various explants of *Cistanche deserticola*. *Journal of Chinese Medicinal Materials, 24*(4), 242-243.

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-09-09]

[DOI: 10.61882/gebsj.13.2.7]