نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۲۷، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۲، ص. ۲۰۷-۲۰۱
شاپا: ۴۷۳۰ - ۲۰۰۸

Journal of Horticultural Science
Vol. 27, No. 2, Summer 2013, P. 201-207
ISSN: 2008 - 4730

بررسی اثر نوع توده و تیمار هورمونی BAP بر باززایی درون شیشه‌ای گیاه دارویی زوفا (*Hyssopus officinalis* L.)

مرتضی علیزاده[۱] - بهمن حسینی[۲*]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۱/۳۱
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۴/۵

چکیده

زوفا (*Hyssopus officinalis* L.)، از مهمترین گیاهان دارویی و ادویه‌ای متعلق به تیره نعناعیان می‌باشد که مبدأ آن آسیای صغیر است. تکثیر و بهره‌برداری از پتانسیل بالقوه گیاهان دارویی از اهداف فن‌آوری‌های نوین از جمله بیوتکنولوژی و کشت بافت می‌باشد. در این تحقیق اثر نوع توده و غلظت‌های مختلف هورمون BAP بر باززایی گیاه زوفا در شرایط کشت درون شیشه‌ای مطالعه گردید. آزمایش به صورت فاکتوریل با سه نوع توده (همدان، شیراز و مشهد) و در چهار سطح BAP (۰، ۲/۲، ۴/۴، ۱۳/۲ میکرومولار) و در سه تکرار انجام گردید. نتایج آنالیز داده‌ها نشان داد که توده‌های مورد مطالعه از نظر میانگین باززایی دارای اختلاف معنی‌داری می‌باشند. در هر سه توده کمترین میانگین باززایی و درصد باززایی در محیط MS بدون هورمون مشاهده شد. در توده همدان بیشترین میانگین شاخساره باززایی شده (۷/۸۶) و درصد باززایی (۸۶ درصد) در تیمار ۴/۴ میکرومولار BAP، بدست آمد. در توده شیراز تیمار ۴/۴ میکرومولار BAP با میانگین ۷ شاخساره باززایی شده و ۸۰ درصد باززایی مناسبترین تیمار هورمونی بود. غلظت ۲/۲ میکرومولار BAP در توده مشهد با میانگین ۹ شاخساره باززایی شده و درصد باززایی ۸۶ درصد بهترین تیمار شناخته شد. کمترین میزان درصد باززایی نیز با صفر درصد در محیط کشت‌های MS بدون هورمون و حاوی ۱۳/۲ میکرومولار BAP مشاهده گردید. اثر غلظت‌های مختلف IBA بر درصد ریشه‌زایی در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بوده است و بیشترین درصد ریشه‌زایی (۸۶/۶۶ درصد) در غلظت ۹/۸۴ میکرومولار IBA و کمترین درصد ریشه‌زایی (صفر درصد) در محیط MS $^1/_2$ بدون هورمون ثبت گردید.

واژه‌های کلیدی: زوفا، توده، باززایی درون شیشه ای، تیمار هورمونی

مقدمه

زوفا (*Hyssopus officinalis* L.)، گیاهی خشبی، چند ساله، متعلق به تیره نعناعیان با منشای آسیای صغیر است. میزان اسانس در پیکره رویشی زوفا بین ۰/۳ تا ۱ درصد و در برخی منابع ۰/۱ تا ۱/۸ درصد گزارش شده است (۶). مهمترین ترکیبات تشکیل دهنده اسانس، پینوکامفن (۵۰ درصد)، آلفا و بتا- پینن، کامفن و الکل‌های سزکویی‌ترپنی می‌باشد. پیکره رویشی هم‌چنین حاوی فلاونوئید، تانن (۵ تا ۸ درصد)، مواد تلخ (۳ تا ۶ درصد) و موادی دیگری مانند دیوزمین، هیسوپین و ترکیبات موسیلاژی است (۳).

کاربرد تکنیک کشت بافت و افزایش راندمان باززایی گیاهان دارویی می تواند نتایج امیدوار کننده‌ای را در تولید داروهای گیاهی با کیفیت و کمیت بالا ایجاد کند (۲۱). عوامل مختلفی مانند توده، محیط کشت، نوع و غلظت مواد هورمونی و غیره در میزان باززایی گیاهان موثر می‌باشند. مفتاح‌یزاده و همکاران (۱۱)، در مطالعات خود در گیاه بادرنجبویه گزارش کردند که میزان باززایی در توده‌های مختلف دارای اختلاف معنی‌داری می‌باشد. وینتراپ و همکاران (۲۳) به منظور بررسی قابلیت باززایی شاخساره نابجا، تاثیر رقم (Sweet Green purple Ruffles, Dani lemom basil و Methylcinnamate basil)، نوع ریزنمونه تهیه شده (کوتیلدون، دمبرگ، ساقه، برگهای بالغ و برگ‌های جوان) و محیط کشت MS تکمیل شده با غلظت‌های مختلف هورمون TDZ (۰، ۴/۲، ۱۲/۶، ۱۶/۸، ۲۵/۲، ۴۲ و ۸۴ میکرومولار) را در گیاه ریحان بررسی کردند. نتایج مطالعات آنها نشان داد که بین نوع رقم، ریز نمونه و غلظت TDZ از نظر تاثیر روی میزان باززایی تفاوت معنی داری وجود دارد. بیشترین باززایی شاخساره نابجا، (۸۵ درصد) از ریزنمونه‌های برگ‌های جوان در رقم Sweet Dani lemom basil در محیط حاوی ۱۶/۸ میکرومولار پس از ۴ هفته بدست آمد. در حالیکه رقم‌های Green purple Ruffles و Methylcinnamate basil به ترتیب دارای مقادیر باززایی ۳۶/۸ و ۲۸/۱ درصد بودند.

پرآوری شاخساره در محیط کشت بیشتر تحت تاثیر هورمون‌های

۱- کارشناس ارشد، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه
۲- استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه
(*- نویسندهٔ مسئول: Email: b.hosseini@urmia.ac.ir)

Archive of SID
www.SID.ir

گروه سیتوکینین می‌باشد و در صورتیکه هورمون‌های اکسینی بدون توجه به غلظت BAP تاثیری در پرآوری شاخساره ندارند (۱۶). نتایج بررسی ها در گیاه دارویی نعناع فلفلی نشان داد که حداکثر میزان تولید شاخساره به مقدار ۴۹/۸ درصد از ریزنمونه های گره کشت شده در محیط کشت MS تکمیل شده با BAP (۴/۴ میکرومولار) (۲۲). در افسنطین غلظت BAP (۲/۲ میکرومولار) و NAA (۰/۵ میکرومولار) (۱۳)؛ در سیر BAP (۴/۴ میکرومولار) (۸) و در باززایی گونه‌ای اکالیپتوس (*Eucalyptus tereticomis*) BAP (۴/۴ میکرومولار) و NAA (۲/۷ میکرومولار) (۱۷) بیشترین باززایی را نشان دادند.

در گونه‌ای ریحان (*Ocimum gratissimum* L.) محیط کشت MS حاوی ۲/۲ میکرومولار BAP و ۱/۴ میکرومولار IAA مناسب‌ترین محیط جهت باززایی مستقیم گزارش شده است (۹).

ریشه‌زایی توسط عوامل مختلفی مانند وجود تنظیم کننده‌های رشد در محیط، ترکیب نمک‌های پایه، ژنوتیپ و شرایط کشت کنترل می‌شود. برای بیشتر گونه‌ها، وجود اکسین برای انگیزش ریشه‌زایی لازم است. همچنین مشخص شده است سلول‌های اکثر دولپه‌ای‌ها می‌توانند در محیط کشت شامل اکسین، سیتوکینین، ویتامین‌ها، مواد معدنی و قند رشد کنند. نسبت اکسین به سیتوکینین جهت القاء و رشد ریشه مهم می‌باشد با افزایش اکسین و کاهش سیتوکینین، ریشه‌ها تشکیل می‌شوند (۲).

در گیاه *Kigelia pinnata* بیشترین درصد شاخساره‌های ریشه‌دار شده در IBA (۴ میکرومولار) با میانگین ۴/۴ ریشه در شاخساره بدست آمد. بیشترین طول ریشه‌ها در غلظت IBA (۱ میکرومولار) با ۴۷ درصد ریشه‌زایی گزارش شد (۵). در ریشه‌زایی گیاهچه‌های پرآوری شده *Hydrastis camadensis* در غلظت‌های مختلف هورمون IBA ، بیشترین میزان توسعه ریشه در محیط کشت MS $^1/_2$ تکمیل شده با ۱ الی ۲ میکرومولار IBA بدست آمد. بیشترین درصد ریشه‌زایی (۶۳/۵ درصد) در غلظت ۲ میکرومولار IBA با حدود ۳/۸ ریشه در هر ریزنمونه با متوسط طول ۸/۴ میلی‌متر بدست آمد. (۲۰).

این آزمایش به منظور ارزیابی فاکتورهای موثر در باززایی درون شیشه و همچنین دست‌یابی به دستورالعمل سریع، کارآمد و بهینه تکثیر زوفا در شرایط درون شیشه و بهبود فرایندهای انتقال ژن در گیاه دارویی زوفا انجام گردید.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی، ضد عفونی سطحی بذر و شرایط نگهداری و رشد

کلیه توده‌های مورد استفاده در این پژوهش از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه و در طول سال‌های ۱۳۹۰-۱۳۸۹ در آزمایشگاه کشت بافت گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه انجام گردید. به منظور ضدعفونی سطحی بذور زوفا، از اتانول ۷۰ درصد به مدت ۱ دقیقه، هیپوکلریت سدیم ۲/۵ درصد و مدت زمان ۵ دقیقه استفاده گردید. همچنین در تمامی تیمارهای ضدعفونی کننده از ماده توین۲۰، به مقدار ۱ الی ۲ قطره، به منظور افزایش تماس بهتر ماده ضدعفونی کننده با پوشش بذر استفاده گردید. در پایان چند بار شستشو با آب مقطر نیز انجام شد. پس از کشت بذور، فلاسک‌های حاوی بذور در اتاقک‌های رشد با شرایط دمای روز ۲±۲۵ و دمای شب ۲±۲۲ درجه سانتیگراد، نور سفید فلورسنت و فتوپریود ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی با شدت نور ۳۰۰۰ لوکس قرار گرفتند.

بررسی اثر نوع توده و تیمار هورمونی BAP بر میزان باززایی درون شیشه‌ای گیاه زوفا

این آزمایش به منظور بررسی اثر نوع توده بر میزان باززایی ریزنمونه گره با استفاده از ۳ نوع توده مختلف به صورت فاکتوریل در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی با دو فاکتور A نوع توده در سه سطح (توده‌های مشهد، شیراز و همدان) و B نوع محیط هورمونی در چهار سطح (غلظت‌های صفر، ۲/۲، ۴/۴ و ۱۳/۲ میکرومولار BAP در محیط کشت MS) در سه تکرار انجام گردید. در پایان واکشت‌ها حداکثر درصد و میانگین باززایی در هر تیمار یادداشت گردید. نمادهایی که برای نشان دادن نوع تیمارها و غلظت‌های مورد استفاده در این آزمایش به کار گرفته شده است عبارتند از:

فاکتور اول A (نماد توده‌های مختلف):

توده همدان (A_1)

توده شیراز (A_2)

توده مشهد (A_3)

فاکتور دوم B (نماد بنزیل‌آدنین: BAP):

غلظت صفر میکرومولار در لیتر (B_1)

غلظت ۲/۲ میکرومولار در لیتر (B_2)

غلظت ۴/۴ میکرومولار در لیتر (B_3)

غلظت ۱۳/۲ میکرومولار در لیتر (B_4)

بررسی اثر نوع محیط کشت پایه و غلظت IBA بر ریشه‌زایی گیاه زوفا

به منظور شناسایی محیط کشت مناسب ریشه‌زایی از دو محیط کشت پایه MS و $^1/_2$MS به تنهایی و محیط کشت MS $^1/_2$ تکمیل شده با ۴ چهار غلظت هورمون IBA (۱، ۲/۵، ۴/۹۲ و ۹/۸۴ میکرومولار) استفاده گردید.. آزمایش به صورت طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام و در پایان واکشت‌ها، درصد و میانگین ریشه‌زایی در تیمارهای مختلف هورمونی اندازه گیری گردید.

Archive of SID

www.SID.ir

سازگاری گیاهچه‌های باززایی شده در محیط درون شیشه

به منظور استقرار گیاهچه‌های ریشه‌دار شده در مرحله باززایی، از محیط پرلیت استریل استفاده گردید. گیاهچه‌ها بعد از واکشت‌های کافی و رشد مناسب به محیط کشت پرلیت در داخل لیوان‌های پلاستیکی و سپس به منظور حفظ رطوبت به داخل جعبه‌های پلاستیکی انتقال داده شدند. برای آبیاری گیاهچه‌های سازگار شده از محلول MS $^1/_2$ و ۱/۴ غلظت استفاده شد. سازگاری به تدریج و طی چهار هفته صورت گرفت. گیاهچه‌ها پس از سازگاری به شرایط گلخانه انتقال یافتند.

تجزیه و تحلیل آماری

داده‌های حاصل از آزمایش با استفاده از نرم‌افزار کامپیوتری SAS 9.1 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. در ابتدا نرمال بودن داده‌ها بررسی شد و داده‌هایی که نرمال نبودند توسط روش تبدیل زاویه‌ای (Arc sin√x +0.5) نرمال شدند. برای مقایسهٔ میانگین‌ها از آزمون FLSD استفاده گردید. برای رسم نمودارها از نرم افزار Excel 2007 استفاده شد.

نتایج و بحث

ضد عفونی سطحی و جوانه زنی بذور

پس از ضدعفونی بذرها، هیچگونه علائم آلودگی در آنها و محیط کشت مشاهده نگردید. یک هفته پس از کشت، جوانه‌زنی شروع و تمامی گیاهچه‌ها دارای ریشه‌ها و شاخساره‌های نرمال بودند. درصد جوانه‌زنی بذور ۶۰ درصد بود. پس از انجام بررسی‌ها و اندازه‌گیری صفات مورد نظر داده‌های بدست آمده برای هر یک از این آزمایش‌ها بطور جداگانه مورد تجزیه واریانس قرار گرفته و میانگین‌های حاصله از طریق FLSD مورد ارزیابی قرار گرفتند.

اثر نوع توده بر درصد باززایی شاخساره

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان داد که اثر غلظت‌های مختلف هورمون و توده و نیز اثرات متقابل آن‌ها بر درصد باززایی شاخساره در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بوده است. بطوریکه در توده همدان بیشترین درصد باززایی (۸۶ درصد) و کمترین درصد باززایی (صفر درصد) به ترتیب در غلظت ۴/۴ میکرومولار BAP و محیط کشت MS فاقد هورمون مشاهده گردید (شکل ۱). در توده شیراز بیشترین درصد باززایی با ۸۰ درصد در محیط کشت MS تکمیل شده با ۴/۴ میکرومولار BAP و کمترین مقدار آن نیز با صفر درصد در محیط کشت‌های MS بدون هورمون و حاوی ۱۳/۲ میکرومولار BAP بدست آمد. در توده مشهد بیشترین درصد باززایی (۸۶ درصد) در تیمار ۲/۲ میکرومولار BAP و کمترین مقدار باززایی (صفر درصد) در تیمار محیط کشت MS بدون هورمون مشاهده شد (شکل ۱).

اثر توده‌های مختلف زوفا بر میانگین باززایی در هر شاخساره

جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثر غلظت‌های مختلف محیط هورمونی و اثر متقابل آن با توده بر میانگین باززایی شاخساره در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار می‌باشد. در هر سه توده کمترین میانگین باززایی در محیط کشت MS بدون هورمون مشاهده گردید. در توده همدان بیشترین میانگین شاخساره باززایی شده (۷/۸۶) در تیمار ۴/۴ میکرومولار BAP بدست آمد. در توده شیراز بیشترین میانگین شاخساره باززایی شده (۷) در تیمار ۴/۴ میکرومولار BAP مشاهده گردید. غلظت ۲/۲ میکرومولار BAP در توده مشهد با میانگین ۹ شاخساره باززایی شده دارای بالاترین میانگین باززایی در بین تیمارهای آزمایش بود. در همین توده بین تیمارهای ۴/۴ و ۱۳/۲ میکرومولار BAP اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید (شکل‌های ۲ و ۳).

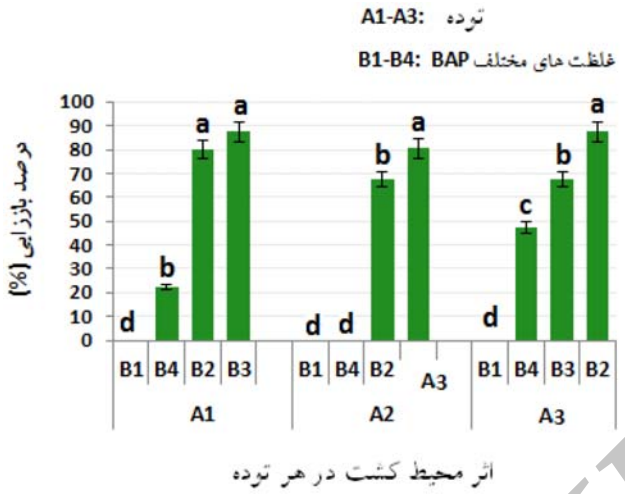
جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه تحت تأثیر ژنوتیپ و غلظت‌های مختلف بنزیل آدنین (BAP) در محیط کشت

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	
		درصد باززایی	میانگین باززایی
ژنوتیپ (A)	۲	۹۲۹/۸۸**	۰/۱۵^{ns}
تیمار هورمونی (B)	۳	۳۱۹۶/۹۰۵**	۷/۶۰۸**
اثر متقابل (A*B)	۶	۶۵۸/۴۵۶**	۰/۶۸**
اشتباه آزمایشی	۲۴	۲۹/۳۷	۰/۰۷۶
برش دهی اثر متقابل (A×B)			
a_1 (همدان)	۳	۶۱۰/۳۵**	۲/۸۷**
a_2 (شیراز)	۳	۲۸۵۰/۰۴۹**	۳/۲۴**
a_3 (مشهد)	۳	۱۰۵۳/۴۱۶**	۲/۸۴**
ضریب تغییرات (٪)		۱۷/۵۵	۱۵/۹۸

ns و **: به ترتیب نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار و معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد می‌باشند.

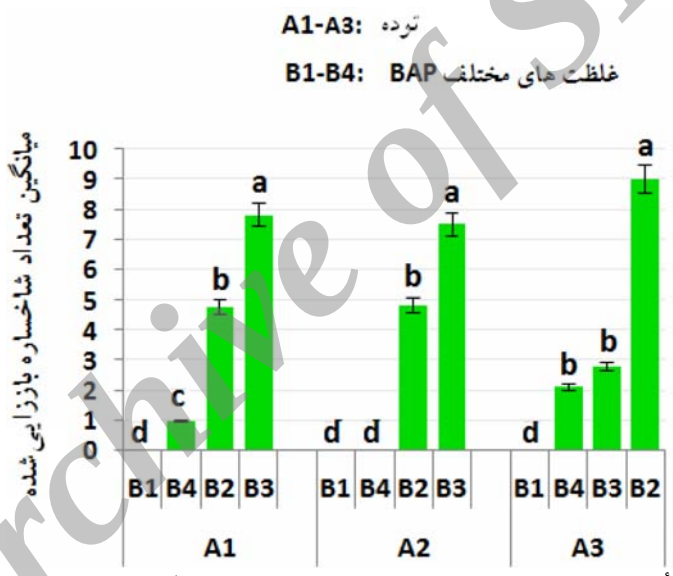
Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۱- تأثیر توده‌های مختلف و ترکیب هورمونی بر درصد باززایی شاخساره ریزنمونه گره گیاه زوفا

حروف غیر مشابه نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۵٪ در بین میانگین‌ها در آزمون FLSD می‌باشند



شکل ۲- تأثیر توده‌های مختلف و ترکیب هورمونی بر میانگین باززایی شاخساره در ریزنمونه گره گیاه زوفا

حروف غیر مشابه نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۵٪ در بین میانگین‌ها در آزمون FLSD می‌باشند.

اثر غلظت‌های مختلف IBA بر درصد ریشه‌زایی

جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثر غلظت‌های مختلف IBA بر درصد ریشه‌زایی در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بوده است. بیشترین درصد ریشه‌زایی (۸۶/۶۶ درصد) در غلظت ۹/۸۴ میکرومولار IBA و کمترین درصد ریشه‌زایی (صفر درصد) در محیط کشت $^{1}/_{2}$ MS بدون هورمون بدست آمد که البته بین این تیمار و محیط کشت MS اختلاف معنی‌داری ملاحظه نشد. هم‌چنین بین تیمارهای ۱ و ۴/۹۲ میکرومولار IBA اختلاف معنی‌داری ثبت نگردید (شکل ۴).

اثر غلظت‌های مختلف IBA بر طول ریشه

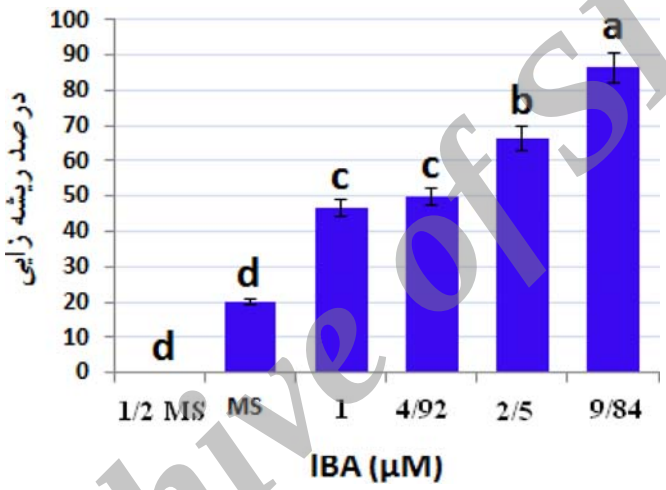
جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثر غلظت‌های مختلف IBA بر طول ریشه‌های تشکیل شده در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار می‌باشد. بیشترین طول ریشه (۱۴/۳۳ میلی‌متر) در محیط MS تکمیل شده با غلظت ۲/۵ میکرومولار IBA بدست آمد و کمترین مقدار هم در محیط‌های MS و $^{1}/_{2}$ MS فاقد هورمون مشاهده شد. هم‌چنین بین تیمارهای ۱ و ۴/۹۲ میکرومولار IBA اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (شکل ۵).

Archive of SID

www.SID.ir

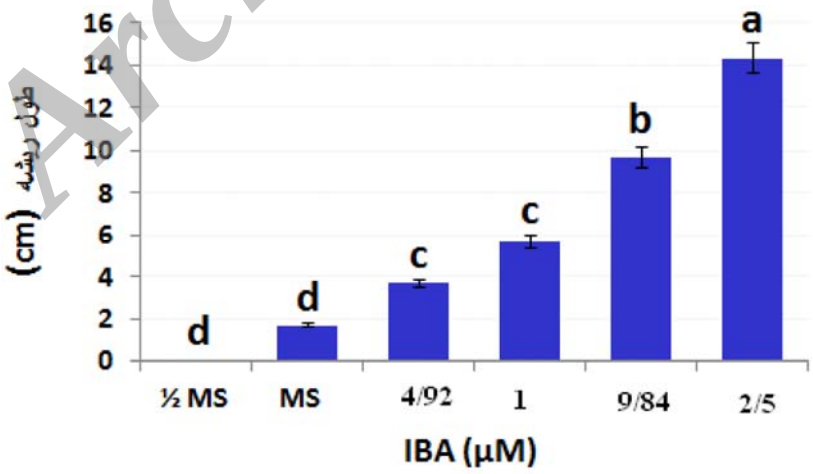
شکل ۳- مقایسه توده‌های مختلف زوفا از لحاظ میانگین باززایی

A: تعداد شاخساره در محیط حاوی ۴/۴ میکرومولار BAP در توده مشهد B: تعداد شاخساره در محیط حاوی ۴/۴ میکرومولار BAP در توده شیراز C: تعداد شاخساره در محیط حاوی ۲/۲ میکرومولار BAP در توده همدان



شکل ٤- تأثیر تیمارهای مختلف هورمونی بر درصد ریشه‌زایی گیاهچه‌های باززا شده در شرایط درون شیشه‌ای گیاه زوفا

حروف غیر مشابه نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۵٪ در بین میانگین‌ها در آزمون FLSD می‌باشند.



شکل ٥- مقایسه میانگین تیمارهای مختلف هورمونی بر طول ریشه در گیاهچه‌های باززاشده زوفا

حروف غیر مشابه نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۵٪ در بین میانگین‌ها در آزمون FLSD می‌باشند

Archive of SID

www.SID.ir

سازگاری گیاهان باززا شده در شرایط درون شیشه

انتقال گیاهچه‌های ریشه دار از محیط درون شیشه به محیط گلدانی به راحتی انجام پذیرفت. بدلیل وجود شرایط مناسب و رعایت برخی نکات از جمله تامین رطوبت و همچنین تغذیه گیاهان با مواد غذایی محیط کشت MS، پس از گذشت حدودا ۴ هفته گلدانهای منتقل شده به اتاق سازگاری به محیط گلخانه منتقل گردیدند. میزان موفقیت در سازگاری گیاهان در این مرحله، بیش از ۹۵ درصد ثبت گردید.

بحث

کشت درون شیشه‌ای در گیاهان مختلف از جمله گیاهان دارویی جهت کاربردهای مختلف بیولوژیکی ازجمله تکثیر کلونی، تولید گیاهان عاری از ویروس، انتقال ژن و تولید متابولیتهای ثانویه مورد استفاده قرار می‌گیرد. در موفقیت این تکنیک فاکتورهای متعددی از جمله نوع مواد گیاهی، نوع و سن ریزنمونه، ترکیبات محیط پایه و غلظت و نوع هورمونهای گیاهی و همچنین شرایط مختلف محیطی موثر می‌باشند (۲۱). یکی از فاکتورهای موثر روی رشد و نمو در کشت درون شیشه، تاثیر مواد گیاهی بویژه انتخاب ژنوتیپ می‌باشد. در ارتباط با باززایی درون شیشه‌ای گیاه زوفا مطالعات زیادی انجام نشده است و این اولین مطالعه در ارتباط با بررسی اثر نوع توده و ترکیبات مختلف هورمونی بر باززایی این گیاه می‌باشد

نتایج بدست آمده از این آزمایش نشان داد که توده‌های مورد استفاده گیاه زوفا در غلظت‌های مختلف BAP دارای باززایی متفاوتی بودند. در ارتباط با پرآوری گیاه زوفا از ریزنمونه گره و هورمون شبه سیتوکینین *N-phenyl- N'-benzothiazol-6-yl-urea (PBU)* استفاده شده است .(18) نتایج این مطالعه نشان داد که غلظت ۱ میکرومولار هورمون PBU دارای قابلیت بالایی در ارتباط درصد ریزازدیادی و پرآوری ان می‌باشد. همچنین نانوا و همکاران (۱۴) از ریزنمونه نوک ساقه و مواد فعال بیولوژیکی نظیر بنزیمیدازول (BI) و مشتقات فنوکسی استیک اسید و اسید فولیک جهت باززایی و ریز ازدیادی گیاه زوفا استفاده کردند. در ارتباط با مقایسه اثر نوع توده بر ریزازدیادی و باززایی گیاه زوفا گزارشی منتشر نشده است.

مطالعات اصغری (۱) نشان داد که اثر توده بر درصد و میانگین باززایی گیاه ریحان معنی‌دار می‌باشد. مطالعه ۴ توده مختلف ریحان شامل ارومیه، همدان، اردبیل و مجارستان در محیط MS تکمیل شده با غلظت‌های متفاوت BAP (صفر، ۲/۵، ۵ و ۷/۵ میلی‌گرم در لیتر) بیشترین درصد باززایی در توده مجارستان و در غلظت ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP با ۹۰ درصد و میانگین ۷/۱ گیاهچه در هر ریزنمونه ثبت گردید. همچنین طبق تحقیقات بوربولیس و همکاران (۴)، که روی اثرات ژنوتیپ و تنظیم‌کننده‌های رشد در کشت ریزنمونه‌های هیپوکوتیل کتان روغنی (*Linum Usitatissimum* L.) صورت گرفت، نشان داده شد که در بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه، تفاوت معنی داری از لحاظ پتانسیل تشکیل جوانه نابجا وجود دارد. نسبت بهینه تنظیم کننده‌های رشد برای باززایی شاخساره به ژنوتیپ یا رقم بستگی دارد (4).

عکس العمل های متفاوت توده های مختلف در غلظت های متفاوت هورمونی توسط خیلی از پژوهشگران در سایر گیاهان نیز گزارش شده است (۱ و ۲۳).

مفتاح‌یزاده و همکاران (۱۱) در مطالعات خود بروی گیاه بادرنجبویه گزارش کردند که استفاده از ژنوتیپ‌های مختلف اثر معنی داری در میزان باززایی این گیاه دارد. آن‌ها در مطالعات خود از ژنوتیپ‌های همدان، قزوین، رشت و ارومیه استفاده کرده و نشان دادند که بیشترین درصد باززایی با ۸۶ درصد مربوط به ژنوتیپ ارومیه با میانگین ۲/۵ گیاهچه می باشد. همانند نتایج گزارش شده از سایر پژوهشگران در این پژوهش نیز تاثیر ژنوتیپ در باززایی گیاه زوفا معنی‌دار بوده و با نتایج آنها مطابقت دارد.

مشخص شده است که گیاهان چوبی نسبت به گیاهان علفی، به غلظت های بالاتری از اکسین نیازمندند. هورمون اکسین برای القای ریشه ضروری بوده و در خیلی از گیاهان به صورت موفقیت آمیزی برای افزایش درصد ریشه زایی مورد استفاده قرار گرفته است (۲). با این حال رفتار ریشه زایی گیاهان مختلف در غلظت های مختلف تیمار هورمونی اکسین متفاوت می باشد. نانوا و همکاران (۱۴) در مطالعه‌ای روی ریشه‌زایی گیاه زوفا در غلظت‌های متفاوت هورمون IAA (صفر، ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم در لیتر) مشاهده کردند که بیشترین درصد ریشه‌زایی (۹۰ درصد) مربوط به تیمار ۰/۱ میلی-گرم در لیتر با طول ۷/۷ میلی‌متر می باشد. نتایج این مطالعه نیز اشکار ساخت که جهت القای ریشه و ریشه زایی استفاده از هورمونهای اکسینی ضروری می‌باشد و حداکثر درصد ریشه زایی در محیط کشت MS تکمیل شده با هورمون IBA (۹/۸۴ میکرومولار در لیتر) تولید می‌شود.

مینا و همکاران (۱۲) در مطالعه ریشه‌زایی گیاه دارویی *Citrullus colocynthis* با استفاده از غلظت‌های متفاوتی از هورمون IBA، بیشترین درصد ریشه‌زایی را در غلظت ۴ میلی‌گرم در لیتر با ۲۴ ریشه در هر شاخساره در محیط MS و کمترین ریشه‌زایی را در محیط حاوی ۲ میلی‌گرم IBA گزارش کردند.

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که توده های مختلف رفتار متفاوتی به غلظت های مختلف هورمونی نشان می‌دهند به طوری که بیشترین درصد باززایی در توده مشهد و همدان با ۸۶/۶۶ درصد به ترتیب در محیط کشت‌های حاوی ۲/۲ و ۴/۴ میکرومولار BAP و

Archive of SID

www.SID.ir

حداکثر میانگین باززایی در توده مشهد بـا ۹ گیاهچـه در ریزنمونـه در تیمار ۲/۲ میکرومولار BAP بدست آمد. بالاترین درصد ریشـه زایـی گیاهچه های باززایی شده گیاه زوفا (۸۶/۶۶ درصـد) در غلظـت ۹/۸۴ میکرومولار IBA بدست آمـد. نتـایج بدسـت آمـده از ایـن پـژوهش می‌تواند برای تکثیر موفقیت آمیز گیاه زوفـا در تکنیـک کشـت بافـت مورد استفاده اساسی تری قرار گیرد.

منابع

۱- اصغری ف. ۱۳۸۹. بررسی اثر توده، ریزنمونه و ترکیبات هورمونی مختلف در باززایی گیاه ریحان (*Ocimum basilicum*). رسـاله کارشناسـی ارشد. گروه باغبانی، دانشگاه ارومیه.

۲- ترابی گیگلو م. مسیحا س. مجیدی ا. خسروشاهی م. و ولیزاده م. ۱۳۸۰. تعیین مناسب ترین تنظـیم کننـده رشـد در کشـت درون شیشـه ای انتهای شاخساره میخک (*Dianthus caryophyllus* L.). مجله دانش کشاورزی،۱۱: ۵۰-۴۱.

3- Bernath J. 1993. Cultivation Medicinal Plant. Mezo. Publ. Budapest. 566 p.

4- Burbulis N. Blinstrubiene A., and Kupriene R. 2009. Regeneration of adventitious shoots of linseed (*Linum usitatissimum* L.) from hypocotyle explants. Zemdirbyste-Agriculture, 96 (3): 168-175.

5- Dennis T. and Puthur J. 2004. Thidiazuron induced high frequency shoot organogenesis in callus from *kigelia pinnata*. Academic Sinence, 45: 307- 313.

6- Dzhumaevkh K. 1986. Dynamics of essential oil accumulation in *Hyssopus seravschanicus*. Process Nature Academic Science, 6: 31- 33.

7- Gabriela F., Luciani A., Mary C.P., and Curvetto N.R. 2006. Effect of explants and growth regulators in garlic callus formation and plant regeneration. Plant Cell Tissue Organ Culture, 87: 139-143.

8- Gopi C., Nataraja S.Y., and Ponmurugan P. 2006. *In vitro* multiplication of *Ocimum gratissimum* L. through direct regeneration. African Journal of Biotechnology, 59: 723-726.

9- Meftahizade H., Lotfi M., and Moradkhani H. 2010a. Optimization of micropropagation and establishment of cell suspension culture in *Melissa officinalis* L. African Journal of Biotechnology, 9: 4314- 4321.

10- Meftahizade H., Moradkhani H., Naseri B., Lotfi M., and Naseri A. 2010b. Improved *in vitro* culture and micropropagation of different *Melissa officinalis* L. genotypes. Journal of Medicinal Plants Research, 4: 240-246.

11- Meena M., Meena R., and Patni V. 2010. High frequency plant regeneration from shoot tip explants of *Citrullus colocynthis* an important medicinal herb. African Journal of Biotechnology, 9 (31): 5037- 5041.

12- Muhammad, Z., Riazur, R., and Muhammad, F. (2007). Hormonal regulation for callogenesis and organogenesis of Artemisia absinthium L. African Journal of Biotechnology, 6: 1874-1878.

13- Nanova Z., Slavova Y., Nenkova D., and Ivanova I. 2007. Microclonal propagation of *Hyssopus officinalis*. Bulgarian Journal of Agricultural Science, 13: 213- 219.

14- Oluk E., and Cakir A. 2009. Micropropagation of *Origanum sipyleum* L. an endemic medicinal herb of Turkey. African Journal of Biotechnology, 8 (21): 5769- 5772.

15- Rout G.R., Samantaray S., Mottley J., and Das P. 1999. Biotechnology of the rose a review of recent progress. Science Horticulture, 81: 201- 228.

16- Roberson D., Cristiane L., Francine L., Henrique K., and Marguerite Q. 2005. Plant regeneration from cotyledonary explants of *Eucalyptus camaldulensis*. Science Agriculture, 62: 406-412.

17- Rolli E., Ricct A., Bianchi A., and Bruni R. 2011 Optimisation of *in vitro* propagation of *Hyssopus officinalis* L. using two-node explants and N-phenyl-N'-benzothiazol-6-yl-urea (PBU), a new urea-type cytokinin. Journal Horticultural Science and Biotechnology 86(2), 141-145.

18- Shahzad A., and Sharma R. 2008. Thidiazuran induced regeneration from cotyledonary nod explant of *Abelmoschus moschatus*. World Journal of Agriculture Sciences, 4(4): 449- 452.

19- Shan-shan H., Chun-zhao L., and Praveen S. 2007. Plant regeneration of an endangered medicinal plant *Hydrastis canadensis* L. Scientia Horticulturae, 113: 82-86.

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

21- Van Eck J.M., and Kitto S.L. 1992. Regeneration of peppermint and orange mint from leaf disks. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 30: 41-49.

22- Winthrop B., Phippen E., and James S. 2000. Shoot regeneration of young leaf explants from basil. *In vitro* Cellular and Developmental Biology Plant, 36 (4): 250- 254.

Archive of SID

www.SID.ir