ریزازدیادی و حفاظت از گیاه دارویی انحصاری و در خطر انقراض مورخوش

مریم فلاح[۱]، محمد حسین میرجلیلی[*۱]، محسن فرزانه[۱]، مرتضی یوسف زادی[۲]، اصغر مصلح آرانی[۳]

۱- به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد گیاهان دارویی و استادیاران گروه کشاورزی، پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران.

۲- دانشیار گروه زیست شناسی دریا، دانشکده علوم پایه، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس.

۳- دانشیار گروه محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی و کویرشناسی، دانشگاه یزد، یزد.

[*]نویسنده مسئول:m-mirjalili@sbu.ac.ir

چکیده

مورخوش (*Zhumeria majdae*)، گیاهی دارویی و چندساله از خانواده نعناعیان است که پراکنش آن به عنوان یکی از گونه‌های انحصاری ایران به مناطقی از استان هرمزگان محدود می‌شود. در طب سنتی از برگهای گیاه برای درمان دل درد، ضد عفونی کننده و ضد نفخ بخصوص در خردسالان استفاده می‌شود. با توجه به سرعت زادآوری کم گیاه و همچنین برداشت بی‌رویه و بلایای طبیعی، جمعیت این گیاه به طور قابل توجهی کاهش یافته بطوریکه در خطر انقراض قرار گرفته است. در این تحقیق، روشی کارامد برای ریزازدیادی و حفاظت از این گیاه معرفی شده است. برای این منظور اثر غلظت‌های مختلف تنظیم کننده‌های رشد شامل بنزیل‌آمینوپورین (۲/۲۲، ۴/۴۴، ۸/۸۸، ۱۷/۷۶، ۳۱/۰۸ و ۷۱/۰۴ میکرومولار) و کینتین (۲/۳۲، ۴/۶۵، ۹/۳ و ۱۸/۶ میکرومولار) بر شاخه‌زایی و عارضه شیشه‌ای شدن ریزنمونه‌های تک گره و سرشاخه کشت داده شده بر روی محیط کشت موراشیگ و اسکوگ (اِم‌اِس) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که بهترین شاخه‌زایی (۱/۸۸ شاخه در ریزنمونه و ۱۰۰٪ شاخه زایی) در محیط کشت اِم اِس حاوی ۱۷/۷۶ میکرومولار بنزیل آمینو پورین بدست می‌آید. پس از انتقال شاخه‌ها به محیط حاوی ۲/۲۲ µM BAP جهت طویل شدن، محیط کشت اِم‌اِس کامل و نصف غلظت فاقد هورمون بعلاوه محیط اِم‌اِس حاوی غلظت‌های مختلف اکسین‌های IAA و IBA به منظور ریشه زایی مورد ارزیابی قرار گرفتند. بیشترین درصد ریشه‌زایی(۶۸/۶٪) در محیط کشت اِم‌اِس با نصف غلظت و فاقد هورمون بدست آمد. ۸۰٪ از گیاهچه‌های ریشه دار شده پس از انتقال به فضای آزاد و در شرایط گلخانه سازگار شدند.

کلمات کلیدی: مورخوش، نعناعیان، کشت بافت، شیشه‌ای شدن، ریزازدیادی، حفاظت

مقدمه

با توجه به افزایش جمعیت جهان و وابستگی آنها به طبیعت بویژه در بهره‌برداری و استفاده انسان‌ها از گیاهان دارویی، بوم نظام‌ها و زیستگاه‌های طبیعی برای بسیاری از گونه‌های دارویی به سرعت در حال فرسایش و نابودی است. تا کنون هشدارهای بسیار متعددی برای حفاظت از گونه‌های رو به انقراض دارویی گزارش شده است. تحقیقات نشان داده است که در حال حاضر از هر ۵ گیاه دارویی، ۴ گیاه از عرصه های طبیعی جمع آوری می‌شوند. طبق گزارش‌های سازمان خواربار جهانی (فائو) و اتحادیه بین المللی حفاظت، سالیانه ۱۶/۸ میلیون هکتار از عرصه های طبیعی نابود می شوند. در بسیاری از کشورهای دنیا هیچ گونه قانونی در مورد کنترل برداشت گیاهان دارویی وجود ندارد به طوریکه در برخی از کشورها تامین ۹۰ ٪ گیاهان دارویی به صورت برداشت از رویشگاه‌های وحشی می‌باشد. اگر به موضوع فوق این نکته نیز اضافه شود که تکثیر و زادآوری بسیاری از گونه‌های دارویی در خطر انقراض، بطئی و طولانی بوده و نرخ تجدید رویشگاه‌های آنها کمتر از سرعت برداشت آنها از طبیعت می‌باشد، موضوع حفاظت از آنها بیش از پیش اهمیت پیدا می‌کند. مورخوش (*Zhumeria majdae* Rech.f & Wendelbo)، گیاهی دارویی و در خطر انقراض است که به عنوان گونه‌ی

انحصاری در ناحیه جغرافیایی محدود در استان هرمزگان رویش دارد (Asareh, 2005, Jalili and Jamzad, 1999). سالیان زیادی است که برگهای آن برای درمان درد معده، ضد نفخ بخصوص در نوزادان و درمان قاعدگی‌های دردناک مورد استفاده قرار می‌گیرد (Aynehchi, 1991). این گیاه در حال حاضر به عنوان یک گونه بسیار آسیب پذیر در ایران ذکر شده است (Jalili and Jamzad, 1999). امروزه استفاده از روش‌های کشت بافت گیاهی به عنوان یکی از جنبه‌های هیجان‌انگیز بیوتکنولوژی در زمینه حفاظت از گیاهان دارویی می‌باشد. در ریزادیادی این امکان وجود دارد که بدون محدودیت زمانی و با استفاده از ریزنمونه‌های مختلف اعم از قطعات برگ، دمبرگ، ساقه، ریشه و قسمت‌های زایشی گیاه و کشت آنها بر روی محیط کشت‌های مصنوعی، در شرایط کنترل شده درون‌شیشه‌ای به باززایی و تکثیر آنها اقدام نمود. تاکنون گزارش‌های متنوعی از کاربرد روش‌های کشت بافت برای جنبه‌های مختلف گیاهان دارویی بویژه حفاظت از انواع گونه‌های در خطر نابودی و به‌نژادی آنها منتشر شده است. در این تحقیق برای اولین بار تکثیر درون شیشه‌ای گیاه دارویی انحصاری مورخوش جهت معرفی یک روش کارآمد برای تولید انبوه و حفاظت از ذخایر ژنتیکی این گیاه انجام شده است.

مواد و روش‌ها

بذرهای سه ساله مورخوش از گروه محیط زیست دانشکده منابع طبیعی و کویرشناسی دانشگاه یزد که از رویشگاه طبیعی آن جمع آوری شده بود، تهیه گردید. بذرها تحت آب جاری به مدت ۳ ساعت قرار گرفته و سپس در الکل ۷۰٪ به مدت ۳۰ ثانیه ، سدیم هیپوکلریت به مدت ۶ دقیقه و شستشو با آب مقطر استریل ضدعفونی شدند. در این تحقیق غلظت‌های مختلف بنزیل آمینو پورین (۲/۲۲، ۴/۴۴، ۸/۸۸، ۱۷/۷۶، ۳۱/۰۸ و ۷۱/۰۴ میکرومولار) و کینتین (۲/۳۲، ۴/۶۵، ۹/۳ و ۱۸/۶ میکرومولار) بر ریزازدیادی مورخوش مورد بررسی قرار گرفت. سرشاخه و قطعات تک گره‌ای از دانهال‌های درون شیشه‌ای دو ماهه تهیه گردید و جهت شاخه‌زایی و طویل شدن شاخه‌ها بترتیب به محیط کشت اِم‌اِس حاوی ۴/۴۴ و ۲/۲۲ میکرومولار بنزیل آمینو پورین انتقال داده شد. کشت‌ها در شرایط ۱۶ ساعت روشنایی (۴۰ میکرومول بر متر مربع بر ثانیه) و دمای ۲±۲۳ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته و به فاصله هر ماه واکشت شدند. تیمارها در قالب طرح کامل تصادفی با سه تکرار در هر تیمار و ۲۵ ریزنمونه در هر تکرار، اعمال شدند. چهار هفته پس از کشت، داده‌ها جمع آوری گردید. به منظور ریشه زایی، شاخه‌های بوجود آمده پس از انتقال به محیط ۲/۲۲ میکرومولار بنزیل آمینو پورین و ماندن به مدت چهار هفته در این محیط(جهت طویل شدن)، بر روی محیط کشت اِم‌اِس کامل و نصف غلظت فاقد هورمون و نیز محیط اِم‌اِس حاوی غلظت‌های مختلف ایندول استیک اسید (۱/۱۴، ۵/۷۱ و ۱۴/۲۷ میکرومولار) و ایندول بوتریک اسید (۰/۹۸، ۴/۹۲ و ۱۲/۳ میکرومولار) قرار گرفتند.گیاهچه‌هایی با ریشه‌های خوب رشد یافته از محیط کشت ریشه زایی جدا و پس از حذف آگار باقی مانده از سطح ریشه‌ها درون گلخانه سازگار شدند.

نتایج و بحث

۳۱/۹٪ بذرهای ضدعفونی شده طی چهار هفته جوانه زدند. بذرهای جوانه زده به صورت تدریجی به محیط اِم‌اِس انتقال داده شدند. گیاهچه‌هایی به طول ۶-۵ سانتی‌متر و دارای ۷-۶ جفت برگ پس از ۶۰ روز از جوانه زنی بدست آمد. دانهال مورخوش غالبیت انتهایی بالایی از خود نشان داد که موجب رشد کم جوانه‌های جانبی می‌شد. همچنین ۱۱٪ از دانهال‌ها علائم شیشه‌ای شدن را از خود نشان دادند. اصطلاح شیشه‌ای شدن، اشاره به اختلالات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و متابولیتی دارد که بسیاری از گیاهان چوبی و علفی طی

کشت درون شیشه با آن مواجه می گردند (Debergh et al., 1992). ساقه و برگ‌های گیاه شیشه‌ای شده اغلب انعطاف ناپذیر، ضخیم و شکننده هستند. در طی سازگاری، توانایی رشد گیاهچه‌های شیشه‌ای شده برای رشد طبیعی کاهش می‌یابد(Yadav et al., 2003).

شکل ۱. ریشه زایی شاخه‌های تکثیر شده، چهار هفته بعد از القای ریشه (a,b)- توسعه ریشه در انتهای شاخه طویل شده در محیط اِم‌اس حاوی ۱۲/۳ میکرومولار ایندول بوتریک اسید (a، خط=۱ سانتیمتر) و محیط نصف غلظت اِم‌اس فاقد هورمون(b، خط=۱ سانتیمتر). سازگاری و رشد گیاهچه‌های حاصل از ریزازدیادی مورخوش (c,d,e)- گیاه سازگارشده بعد از یک ماه(c، خط=۳ سانتیمتر و d، خط=۷ سانتیمتر). رشد گیاه انتقال داده شده به خاک باغچه بعد از چهار ماه تحت شرایط محیطی(e، خط=۳ سانتیمتر)

پدیده شیشه‌ای شدن به عنوان عامل محدود کننده در سایر گیاهان تیره نعناع مثل *Lavandula dentata* (Echeverrigaray et al., 2005)، *Salvia officinalis* (Gostin, 2008) و *Salvia guaranitica* (Echeverrigaray et al., 2010) نیز ذکر شده است. داده‌برداری بخش شاخه زایی پس از ۴ هفته از کشت انجام و شاخه‌ها به محیط جدید برای طویل شدن منتقل شدند. نتایج نشان داد که بنزیل آمینو پورین بهتر از کینتین است و با افزایش غلظت سیتوکینین تعداد شاخه در ریزنمونه افزایش می‌یابد اما ارتفاع گیاه کاهش می‌یابد (جدول ۱). حداکثر تعداد شاخه در ریزنمونه(۳/۳۸) در محیط حاوی ۷۱/۰۴ میکرومولار بنزیل آمینوپورین بدست آمد، در حالی که بهترین تعداد شاخه در ریزنمونه (۱/۸۸) در ۱۷/۷۶ میکرومولار از این هورمون حاصل شد. اگر چه بعد از چهار هفته تفاوت معنی داری بین میزان شاخه‌های شیشه‌ای شده در بین تیمارها وجود ندارد، در مرحله طویل شدن درصد شیشه‌ای شدن در شاخه‌هایی که از محیط حاوی ۰۸ /۳۱ (۴۳٪) و ۷۱/۰۴ (۸۶/۱۶٪) میکرومولار بنزیل آمینوپورین بدست آمدند افزایش یافت و این در حالی است که در تیمارهای دیگر چنین اتفاقی رخ نداد. بعلاوه، در غلظت‌های بالای بنزیل آمینوپورین، شاخه‌های با مورفولوژی غیر طبیعی نیز مشاهده شد (۱/۵۰٪ در ۳۱/۰۸ میکرومولار و۱۱/۷۲٪ در ۷۱/۰۴ میکرومولار). حداکثر تعداد گره در شاخه و نیز طول شاخه در غلظت ۲/۲۲ و ۴/۴۴ میکرومولار بنزیل آمینوپورین بدست آمد. بنزیل آمینوپورین در غلظتهای پایین تر اثر کمتری بر غالبیت انتهایی دارد و بنابراین طول شاخه افزایش می‌یابد. بیشترین درصد ریشه زایی (۶۸/۶۶٪) در محیط کشت نصف غلظت اِم‌اِس فاقد هورمون بدست آمد که به طور معنی داری بهتر از اِم‌اِس کامل بدون هورمون (۳۶/۳۳٪) بوده است (جدول ۲). در سایر گونه‌های نعناعیان مثل *Teucrium stocksianum* (Bouhouche and Ksiksi, 2007)، *Lavandula vera* (Andrade et al., 1999) و *Lavandula viridis* (Dias et al., 2002) مشاهده شده است که کاهش غلظت عناصر پرمصرف ریشه زایی را بهبود می‌بخشد. در محیط اِم‌اِس حاوی اکسین، تنها غلظت پایین ایندول بوتریک اسید (۰/۹۸ میکرومولار، ۴۲/۳۳٪) بهتر از اِم اِس فاقد هورمون بوده است. هم برای ایندول استیک اسید و هم

ایندول بوتریک اسید در غلظت‌های بالاتر، توسعه ریشه همراه با تشکیل کالوس در انتهای شاخه است و ریشه‌ها کلفت و شکننده بوده و به راحتی در طی انتقال گیاهچه به خاک شکسته شده و فرایند سازاگاری مشکل تر می‌گردد. از نظر طول ریشه، تفاوت معنی داری بین تیمارها وجود نداشت. اگرچه حداکثر تعداد ریشه(۲/۵۹) و ریشه فرعی (۱۶/۵۸) هنگامی بدست آمد که شاخه‌ها در حضور غلظت بالای ایندول بوتریک اسید (۱۲/۳ میکرومولار) قرار گرفته بودند، اما کیفیت ریشه خوب نبود و ریشه ها تیره تر و شکننده بودند (شکل۱-a). پس از فرایند سازگاری، ۸۰٪ از گیاهچه‌ها زنده‌مانی نشان دادند (شکل۱-e, d , c).

جدول۱. اثر اصلی غلظت‌های مختلف سیتوکینین روی میانگین صفات و درصد شیشه‌ای شدن گیاه مورخوش در شرایط درون شیشه‌ای

نوع و غلظت هورمون (میکرومولار)	شاخه‌زایی (درصد)	تعدادشاخه در ریزنمونه	طول شاخه (سانتیمتر)	تعداد گره در هر شاخه	شیشه‌ای شدن (درصد)
بنزیل آمینو پورین					
۲/۲۲	۹۶/۵۵ a	۱/۴۳±۰/۰۶ def	۱/۴۲±	۲/۱۲±۰/۱۱ a	۸/۶±۰/۹۵a
۴/۴۴	۹۸/۸۳ a	۱/۵۰±۰/۰۸ def	۱/۳۰±	۲/۰۵±۰/۰۸ a	۱۱/۰۶±
۸/۸۸	۱۰۰ a	۱/۶۶±۰/۰۸ cd	۱/۱۴±	۱/۹۴±۰/۱۱ ab	۷/۶۶±۱/۱۴
۱۷/۷۶	۱۰۰ a	۱/۸۸±۰/۰۷ c	۱/۱۱±	۱/۸۲±۰/۰۶ b	۹/۶۶±۰/۹۵
۳۱/۰۸	۱۰۰ a	۲/۲۴±۰/۰۹b	۰/۷۶±	۱/۵۱±۰/۰۷ c	۱۱/۴۶±
۷۱/۰۴	۱۰۰ a	۳/۳۸±۰/۲۰ a	۰/۵۶±	۰/۸۵±۰/۰۸ e	۸/۴± ۰/۶۹a
کینتین					
۲/۳۲	۹۶/۲۵ a	۱/۳۰±۰/۰۵ f	۰/۸۶±	۱/۳۸±۰/۱۱ c	۸/۸± ۰/۸a
۴/۶۵	۱۰۰ a	۱/۴۱±۰/۰۹ def	۰/۹۲±	۱/۴۳±۰/۰۹ c	۵/۶۶±۰/۷۶
۹/۳	۹۸/۸۳ a	۱/۳۹± ۰/۰۶ef	۰/۷۳±	۱/۱۶±۰/۱۱ d	۴/۲۶±۰/۵۹
۱۸/۶	۹۸/۷۰a	۱/۵۹±۰/۰۹ de	۰/۷۸±	۱/۳۳±۰/۱۱ cd	۳/۷۳±۰/۵ a

اعداد نشان داده شده خطای استاندارد ± میانگین است. اعداد با حروف متفاوت در یک ستون اختلاف معنی داری در سطح P=5 دارند.

جدول۲. اثر نوع محیط کشت و غلظت اکسین بر ریشه‌زایی شاخه‌های درون شیشه‌ای مورخوش ۴ هفته بعد از از کشت

محیط کشت	نوع و غلظت هورمون (میکرومولار)	ریشه‌زایی (%)	تعداد ریشه	طول ریشه (سانتیمتر)	تعداد ریشه فرعی	طول ریشه فرعی(سانتیمتر)
½ MS	۰	۶۸/۶۶ ± ۴/۰۹	۲/۳۱±۰/۱۳	۳/۹۴ ±	۱۰/۶۸ ± ۱/۲۱	۱/۳۱ ±
	۰	۳۶/۳۳ ± ۳/۱۷	۲/۲ ± ۰/۱۳	۴/۶۱ ±	۷/۱۵ ± ۰/۵۷ d	۱/۹۷± ۰/۱۵
	ایندول بوتریک					
	۰/۹۸	۴۲/۳۳ ± ۶/۲۲	۱/۹۶ ± ۰/۲۱	۴/۲۶ ±	۶/۷۸ ± ۰/۷۳ d	۱/۴۹ ±
	۴/۹۲	۳۶/۶۶ ± ۶/۹۸	۱/۶ ± ۰/۱۹ b	۴/۵۹ ±	۱۵/۴ ± ۱/۹۶	۱/۵۱ ±
	۱۲/۳	۳۳/۳۳ ± ۳/۳۳	۲/۵۹± ۰/۳۲	۴/۰۷ ±	۱۶/۵۸ ± ۱/۴ a	۱/۹۸ ±
	ایندول استیک					
	۱/۱۴	۲۷/۰۰ ± ۶/۱۱	۲ ± ۰/۲۸ ab	۴/۶ ± ۰/۵۵	۸/۲۲ ± ۱/۱۲	۱/۴ ± ۰/۱۷
	۵/۷۱	۲۷/۶۶ ± ۵/۰۴	۱/۵۴ ± ۰/۱۴	۴/۵۰ ±	۶/۵۹ ± ۱/۰۷ d	۱/۲۸ ±
	۱۴/۲۷	۲۱/۰۰ ± ۰/۵۷	۱/۵۴ ± ۰/۳۹	۴/۰۲ ±	۱۲/۰۹± ۱/۹۱	۲/۲۹ ±

اعداد نشان داده شده خطای استاندارد ± میانگین هستند . اعداد یک ستون با حروف متفاوت اختلاف معنی داری در سطح P=5 دارند.

منابع

1. Andrade, L. B., Echeverrigaray, S., Fracaro, F., Pauletti, G. F. & Rota, L. 1999. The effect of growth regulators on shoot propagation and rooting of common Lavender (*Lavandula vera* DC). Plant Cell Tissue and Organ Culture, 56, 79-83.
2. Asareh, M. H. 2005. Plants biodiversity of Iran, Iran, Research Institue of Forests and Rangelands.
3. Aynehchi, Y. 1991. Pharmcognosy and medicinal plants of Iran, Tehran, Tehran University
4. Baker, C. M. & Wetzstein, H. Y. 1994. Influence of auxin type and concentration on peanut somatic embryogenesis. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 36, 361-68.
5. Bouhouche, N. & Ksiksi, T. 2007. An efficient *in vitro* plant regeneration system for the medicinal plant *Teucrium stocksianum* Boiss. Plant Biotechnology Reports, 1, 179-84.
6. Debergh, P., Aitken-Christie, J., Cohen, D., Grout, B., Von Arnold, S., Zimmerman, R. & Ziv, M. 1992. Reconsideration of the term vitrification as used in micropropagation. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 30**,** 140-165.
7. Dias, M. C., Almeida, R. & Romano, A. 2002. Rapid clonal multiplication of *Lavandula viridis* L'He'r through *in vitro* axillary shoot proliferation. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 68, 99-102.
8. Echeverrigaray, S., Basso, R. & Andrade, L. B. 2005. Micropropagation of *Lavandula Dentata* from axillary buds of field-grown adult plants. Biologia Plantarum, 49**,** 439-42.
9. Echeverrigaray, S., Carrer, R. P. & Andrade, L. B. 2010. Micropropagation of *Salvia guaranitica* Benth through axillary shoot proliferation. Brazilian Archives of Biology and Technology, 53**,** 883-88.
10. Fay, M. 1994 In what situation is *in vitro* culture appropriate to plant conservation? . Biodiversity and Conservation, 3, 176-83.
11. Gostin, I. 2008. Effects of different plant hormones on *Salvia officinalis* cultivated *in vitro*. International Journal of Botany, 4**,** 430-36.
12. Jalili, A. & Jamzad, Z. 1999. Red data book of Iran: a preliminary survey of endemic, rare & endangered plant species in Iran, Tehran, Research Institute of Forest and Rangelands.
13. Le, C. L. 1989. Microbouturage *in vitro* Du thym (*Thymus vulgaris* L.), London, Taylor & Francis.
14. Mozaffarian, V. 1997. Dictionary of the names of Iranian plants, Tehran, Frahang Mo'aser
15. Murashige, T. & Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiologia Plantarum, 15, 473-97.
16. Yadav, M. K., Gaur, A. K. & Garg, G. K. 2003. Development of suitable protocol to overcome hyperhydricity in carnation during micropropagation. Plant Cell Tissue and Organ culture, 72, 153-56.

Micropropagation and conservation of *Zhumeria majdae*: an endemic and endangered medicinal plant

M. Fallah[1], M.H. Mirjalili[1,*], M. Farzaneh[1], M. Yousefzadi[2], A. Mosleh Arany[3]

1- M. Sc of Medicinal plants, Assistant professors respectively, Dep. of Agriculture, Shahid Beheshti University of Tehran. 2-Associate Professor, Dep. of Marine Biology, Hormozgan University of Bandar Abbas. 3- Associate Professor, Dep. of Environment,Yazd University.
*Corresponding author: m-mirjalili@sbu.ac.ir

Abstrat

Zhumeria majdae Rech.f & Wendelbo, with the common Persian name of "Mohrekhosh" is a perennial herb of the Lamiaceae family which grows as an endemic species in a limited geographical range in Hormozgan province. The leaves of the plant have been traditionally used as a curative for stomach aches, antiseptic, and carminative especially in infants. Owing to a narrow range of distribution, human activity and land-use disturbances, over-collection of wild plants for medicinal purposes and a low propagation rate in nature, *Z. majdae* is now almost extinct and is listed as an extremely vulnerable species in Iran.

There is an obvious need to develop an efficient regeneration system for effective conservation and rapid multiplication in order to replenish highly impoverished populations. For this purpose, the effect of different concentrations of BAP (2.22, 4.44, 8.88, 17.76, 31.08 and 71.04 µM) and KN (2.32, 4.65, 9.30 and 18.60 µM) were examined on the hyperhydricity and shoot multiplication of shoot tip and single nod explants cultured on Murashige and Skoog medium (MS). The results showed that the best shooting (1.88 shoot per explant, 100% shooting) was achieved on the MS medium containing 17.76 µM BAP. Shoot elongation was conducted on MS medium containing 2.22 µM BAP and then rooting was performed on half or full strength MS medium alone or MS medium supplemented with different concentrations of IAA (1.14, 5.71 & 14.27 µM) and IBA (0.98, 4.92 & 12.3 µM). The maximum percentage of rooting (68.8%) obtained on half-strength MS medium without plant growth regulator. The rooted plantlets were successfully acclimatized (80.0%) in a greenhouse.

Key words: *Zhumeria majdae*, Lamiaceae, tissue culture, hyperhidricity, micropropagation, conservation