



## تعیین بهترین ترکیب تیماری بر کالوس‌زایی آویشن (*Thymus vulgaris*)

سید کریم تهامی<sup>۱\*</sup>، جواد فرخی<sup>۲</sup>، مهران اوچی اردبیلی<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup> کارشناس ارشد اصلاح گیاهان زینتی - عضو پژوهش جهاد دانشگاهی واحد استان اردبیل

<sup>۲</sup> دکتری باغبانی - عضو پژوهش جهاد دانشگاهی واحد استان اردبیل

<sup>۲</sup> دانشجوی دکتری گیاهان دارویی - عضو پژوهش جهاد دانشگاهی واحد استان اردبیل

مسئول مکاتبه: [k\\_tahami@ymail.com](mailto:k_tahami@ymail.com)

### چکیده

آویشن با نام علمی *Thymus vulgaris* یکی از گونه‌های دارویی مهم و معطر بوده و سازگاری بسیار بالایی با شرایط آب و هوایی ایران دارد. بنابراین، به منظور بهینه‌سازی کشت بافت این گیاه، دو آزمایش جداگانه به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار طراحی گردید. در آزمایش اول فاکتور اول 2,4-D (0, 1, 2/5, 5 ppm) و فاکتور دوم BA (0, 1, 2, 4 ppm) و در آزمایش دوم فاکتور اول 2,4-D (0, 1, 2/5, 5 ppm) و فاکتور دوم NAA (0, 1, 2, 4 ppm) بود. با توجه به نتایج تجزیه آماری داده‌ها و با استفاده از روش ناپارامتری Kruskal-Wallis اختلاف معنی‌داری بین تیمارها در هر دو آزمایش مشاهده گردید. بهترین ترکیب تیماری در آزمایش اول 1 ppm, 2,4-D 2.5 ppm و 0 ppm, 2,4-D 2.5 ppm بود و در آزمایش دوم 1 ppm, 2,4-D 2.5 ppm و 4 ppm, 2,4-D 2.5 ppm بهترین ترکیب تیماری در القاء کالوس‌زایی بود.

**کلمات کلیدی:** آویشن، تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی، کشت بافت.

### مقدمه

کشت گیاهان دارویی و معطر از دیرباز دارای جایگاه ویژه‌ای در نظام‌های کشاورزی سنتی ایران بوده و این نظام‌ها از نظر ایجاد تنوع و پایداری نقش مهمی در اکوسیستم‌ها ایفا نموده‌اند. امروزه به دلیل عوارض جانبی داروهای شیمیایی تمایل به استفاده از گیاهان دارویی و در نتیجه تقاضا برای محصولات طبیعی رو به افزایش است (کاروبا و همکاران، ۲۰۰۲). آویشن (*Thymus vulgaris*) از خانواده نعناع (Lamiaceae) به دلیل استفاده از بذر و برگ آن برای تولید ترکیب‌های مختلف شیمیایی در داروسازی، از گیاهان دارویی ارزشمند جهان محسوب می‌شود (کوچکی و همکاران، ۲۰۰۴). معمولاً مناطق معتدل را برای رشد و نمو ترجیح می‌دهد و در مناطق گرم در کوهستان‌ها می‌روید. زمان گلدهی آویشن به ابری یا آفتابی بودن هوا بستگی دارد. طولانی شدن روزهای ابری زمان گلدهی را تا اوایل تیر ماه به تاخیر می‌اندازد. معمولاً گلدهی آویشن بر حسب شرایط محیطی از اواخر خرداد تا اواسط شهریور ماه گزارش شده است. (کیومرث و همکاران، ۲۰۰۵؛ رشینگر، ۱۹۹۰؛ کومارو، ۱۹۶۸؛ قهرمان، ۱۳۷۰).

کالوس یک توده سلولی تمایز نیافته می‌باشد که معمولاً در محل زخم‌ها ایجاد شده و سپس از آنها بافت‌ها و اندام‌های تمایز یافته، ایجاد می‌گردد. تشکیل کالوس در گیاهان تک‌لپه‌ای در مقایسه با گیاهان دولپه‌ای با شدت کمتری انجام می‌گیرد و برای القای کالوس نیاز به افزودن هورمون اکسین است (باقری و صفاری، ۱۳۷۷). با توجه به اینکه گیاه آویشن دارای صفات مهمی از قبیل، مقاومت زیاد به سرما و عطر زیاد می‌باشد. از اینرو می‌تواند به عنوان منبع ژنی مهم برای بهبود ژنتیکی گیاهان مورد استفاده قرار گیرند (نقدی بادی و همکاران، ۲۰۰۳). لذا تکثیر این گیاه از طریق کشت بافت ضروری به نظر می‌رسد و این موضوع ما را بر آن داشت که با پژوهش حاضر گامی در جهت رساندن این گیاه ارزشمند به جایگاه واقعی اش برداشته باشیم.

### مواد و روش‌ها

به منظور تولید کالوس ریزنمونه‌ها تحت تاثیر تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی قرار گرفته و به محیط‌های کشت برای القا کالوس انتقال داده شدند و در اتاقک رشد با دمای ۲۵ درجه سلسیوس در شرایط تاریکی نگهداری شدند. این تحقیق بصورت



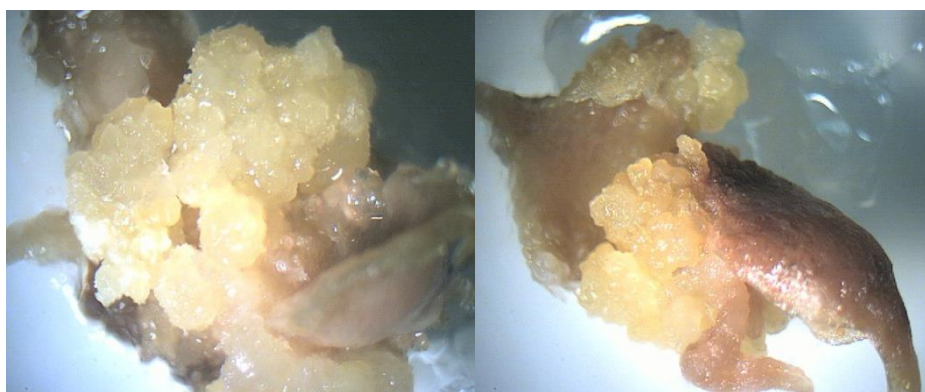
فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. در این تحقیق از ساقه آویشن به عنوان ریز نمونه استفاده گردید. در آزمایش اول، فاکتور اول 2,4-D (۰,۱,۲/۵,۵ ppm) و فاکتور دوم BA (۰,۱,۲,۴ ppm) و در آزمایش دوم فاکتور اول 2,4-D (۰,۱,۲/۵,۵ ppm) و فاکتور دوم NAA (۰,۱,۲,۴ ppm) بود. نرمال بودن داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS16 بررسی گردید. بدلیل نرمال نبودن داده ها تبدیل داده با استفاده از روش های مختلف انجام شد ولی با وجود تبدیل های انجام شده، داده ها نرمال نشدند، با توجه به نرمال نشدن داده ها از روش های ناپارامتری (Mann-Whitney Test و Kruskal-Wallis Test) استفاده گردید.

## نتایج و بحث

با توجه به نتایج تجزیه داده ها با استفاده از روش های ناپارامتری (Mann-Whitney Test و Kruskal-Wallis Test) اختلاف معنی داری در سطح احتمال ۱ درصد در هر دو آزمایش مشاهده گردید. برای تعیین بهترین ترکیب تیماری در آزمایش اول (ترکیبات هورمونی BA و 2,4-D) از روش Mann-Whitney Test استفاده شد. نتایج این تجزیه نشان داد که تیمارهای 2,4-D 2.5 BA 1 ppm و 2,4-D 2.5 BA 0 ppm بهترین ترکیبات تیماری در القاء کالوس بودند و ترکیبات تیماری ۱۲,۱۳,۱۴,۱۵,۱۶,۱۲,۳,۴,۶,۶,۱۲,۱۳,۱۴,۱۵,۱۶ توانایی القاء کالوس را نداشتند. جانگ و همکاران (۲۰۰۰) از ریزنمونه های گیاه آویشن *Thymus vulgaris* در محیط کشت MS حاوی 2,4-D 3 ppm و BA 0.25 ppm کالوس تولید کردند. تانک و همکاران (۲۰۱۰) گزارش نمودند که محیط کشت MS حاوی 2,4-D 1 ppm و BA 1 ppm بیشترین کالوس زایی را از برگ *Thymus vulgaris* به همراه داشت. در آزمایش دوم با استفاده از روش Mann-Whitney Test مشخص گردید که ترکیبات تیماری 2,4-D 1 NAA 1 ppm و 2,4-D 1 NAA 4 ppm بهترین ترکیبات تیماری در القاء کالوس بودند. نایاک (۲۰۰۵)، تشکیل کالوس از فلس های پیاز *Ornithogalum viren* هنگامی که به محیط کشت حاوی 2,4-D 2 ppm، MS اضافه شد بدست آمد ولی در گزارشات دیگر آغازش کالوس با حضور NAA صورت می گیرد.

## ۱- جدول ناپارامتری مقایسه میانگین

ترکیب تیماری آزمایش اول	میانگین رتبه	ترکیب تیماری آزمایش دوم	میانگین رتبه
1(2,4-D 0,BA 0)	15.5 <sup>c</sup>	1(2,4-D 0,NAA 0)	19 <sup>c</sup>
2(2,4-D 0,BA 1)	15.5 <sup>c</sup>	2(2,4-D 0,NAA 1)	19 <sup>c</sup>
3(2,4-D 0,BA 2)	15.5 <sup>c</sup>	3(2,4-D 0,NAA 2)	19 <sup>c</sup>
4(2,4-D 0,BA 4)	15.5 <sup>c</sup>	4(2,4-D 0,NAA 4)	19 <sup>c</sup>
5(2,4-D 1,BA 0)	34.00 <sup>b</sup>	5(2,4-D 1,NAA 0)	43.67 <sup>ab</sup>
6(2,4-D 1,BA 1)	15.50 <sup>c</sup>	6(2,4-D 1,NAA 1)	46.33 <sup>a</sup>
7(2,4-D 1,BA 2)	38.33 <sup>ab</sup>	7(2,4-D 1,NAA 2)	41.00 <sup>b</sup>
8(2,4-D 1,BA 4)	38.33 <sup>ab</sup>	8(2,4-D 1,NAA 4)	33.00 <sup>b</sup>
9(2,4-D 2.5,BA 0)	42.67 <sup>a</sup>	9(2,4-D 2.5,NAA 0)	19.00 <sup>c</sup>
10(2,4-D 2.5,BA 1)	45.33 <sup>a</sup>	10(2,4-D 2.5,NAA 1)	19.00 <sup>c</sup>
11(2,4-D 2.5,BA 2)	38.33 <sup>ab</sup>	11(2,4-D 2.5,NAA 2)	19.00 <sup>c</sup>
12(2,4-D 2.5,BA 4)	15.50 <sup>c</sup>	12(2,4-D 2.5,NAA 4)	19.00 <sup>c</sup>
13(2,4-D 5,BA 0)	15.50 <sup>c</sup>	13(2,4-D 5,NAA 0)	19.00 <sup>c</sup>
14(2,4-D 5,BA 1)	15.50 <sup>c</sup>	14(2,4-D 5,NAA 1)	19.00 <sup>c</sup>
15(2,4-D 5,BA 2)	15.50 <sup>c</sup>	15(2,4-D 5,NAA 2)	19.00 <sup>c</sup>
16(2,4-D 5,BA 4)	15.50 <sup>c</sup>	16(2,4-D 5,NAA 4)	19.00 <sup>c</sup>



## منابع

- باقری، ع. و صفاری، م. ۱۳۷۷. مبانی کشت بافت های گیاهی. ترجمه. انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد.
- Chang, Chen; Chen, C., Tsai, Y., and C, Wei-Chin. 2000. A tissue culture protocol for propagation of a rare plant, *Lilium speciosum* Thunb. var. *glorisoides* Baker. *Botanical Bulletin of Academia Sinica*. 41(2): 139-142.
- Koocheki A, Nasiri Mahallati M and Azizi G. The effect of water stress and defoliation on some of quantitative traits of *Zatatria multiflora*, *Ziziphora clinopodioides*, *Thymus vulgaris* and *Teucrium polium*. *Iranian Journal of Field Crops Res.* 2004; 2 (1): 89 - 105.
- Kim, K. J. and Kim, K. S. 2005. Changes of endogenous growth substances during bulb maturation after flowering in *Lilium* Oriental Hybrid 'Casa Blanca'. *Acta Horticulturae*, vol. 673, p. 661-665.
- Kumar, A., Sood, A., Palni, L. M. S. and Gupta, A. K. 1999. *In vitro* propagation of *Gladiolus hybridus* Hort: synergistic effects of heat shock and sucrose on morphogenesis. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 57(2): 105-112.
- Naghdi badi H and Makkizadeh M. Review of common thyme. *J. Med. Plants* 2003; 2 (7): 1 - 12.
- Naik, P, K., and Nayak, S. 2005. Different modes of plant regeneration and factors affecting *in vitro* bulblet production in *Ornithogalum virens*. *ScienceAsia*. 31: 409-414.