

بررسی اثر ریزنمونه های مختلف بر باززایی مستقیم شاخساره گیاه دارویی زوفا (*Hyssopus officinalis* L.)

مرتضی عزیززاده (۱)، بهمن حسینی (۲)، عباس حسینی (۲)، مراد جعفری (۳) و خدیجه جنگجو (۱)

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد گروه باغبانی دانشگاه ارومیه، ۲- استادیار گروه باغبانی دانشگاه ارومیه و پژوهشکده زیست فن آوری دانشگاه ارومیه

۳- استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشگاه ارومیه

زوفا (*Hyssopus officinalis* L.) گیاهی علفی، چند ساله و متعلق به خانواده نعنائیان و از مهم ترین گیاهان دارویی و ادویه ای به شمار می رود. به منظور بررسی اثر ریزنمونه های مختلف بر باززایی مستقیم زوفا، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار و با استفاده از محیط کشت پایه MS انجام گردید. در این آزمایش از ریزنمونه های مختلف (گره، مریستم انتهایی، هیپوکوتیل و کوتیلدون) در محیط هورمونی با غلظت ۴/۴ میکرومولار BAP در ترکیب با ۱ میکرومولار IAA استفاده گردید. پس از گذشت ۶ هفته درصد باززایی هر کدام از تیمارها و نیز میانگین گیاهچه های باززا شده در هر تیمار محاسبه گردید. بیشترین میزان درصد باززایی (۸۳/۳۳ درصد) در ریزنمونه مریستم انتهایی و کمترین باززایی (صفر درصد) در ریزنمونه هیپوکوتیل و کوتیلدون مشاهده گردید. هم چنین حداکثر میانگین باززایی (۳۳/۳۳ گیاهچه در هر ریزنمونه) در ریزنمونه گره و حداقل میانگین باززایی (صفر) گیاهچه در ریزنمونه هیپوکوتیل و کوتیلدون مشاهده گردید.

کلمات کلیدی: زوفا، باززایی مستقیم، ریزنمونه، BAP

مقدمه:

زوفا (*Hyssopus officinalis* L.) گیاهی علفی، چند ساله و متعلق به خانواده نعنائیان (Lamiaceae) است، که یکی از مهم ترین گیاهان دارویی و ادویه ای به شمار می رود و در اکثر فارماکوپه های معتبر از پیکره رویشی آن به عنوان دارو یاد می شود. منشا این گیاه آسیای صغیر گزارش شده و از دریای خزر تا دریای سیاه می روید. اسانس آن خاصیت ضد قارچی و باکتریایی (۲) داشته و در صنایع کنسروسازی، نوشابه سازی و آرایشی و بهداشتی مورد استفاده قرار می گیرد (۱). زوفا عمدتاً به عنوان خلط آور در برونشیت، سرفه های شدید و آسم مصرف می شود و ضد نفخ و قولنج، محرک تعریق در آنفلونزا و سرما خوردگی است. هم چنین خواص سیتوتوکسیک و ضد التهاب و آنتی اکسیدانی دارد (۵). روشهای زیست فن آوری مانند کشت بافت قابلیت بسیار خوبی برای تکثیر گیاهان دارد. با استفاده از کشت بافت می توان در مدت زمان خیلی کم تعداد بسیار زیادی از یک گیاه را تکثیر کرد (۶). در یک تحقیق صورت گرفته در ریزازدیادی زوفا از ریزنمونه نوک ساقه استفاده شد (۳). Zuzanna و همکاران (۲۰۰۳) به منظور دستیابی به Sterol در کشت سلولی زوفا از ریزنمونه هیپوکوتیل کالوس تهیه کردند (۷). تحقیق حاضر به منظور بررسی تاثیر ریزنمونه های مختلف بر روی باززایی مستقیم گیاهچه های درون شیشه زوفا صورت پذیرفت.

مواد و روش ها:

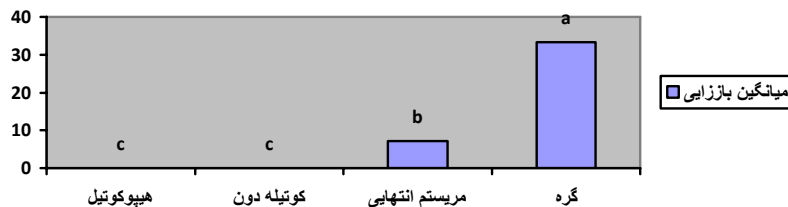
این تحقیق در آزمایشگاه بیوتکنولوژی گروه باغبانی دانشگاه ارومیه انجام شد. بذور زوفا پس از شستشو، با اتانول ۷۰ درصد به مدت یک دقیقه و سپس هیپوکلریت سدیم (۲/۵ درصد) به مدت ۷ دقیقه استریل شدند. پس از هر مرحله با آب مقطر استریل سه با آبکشی انجام گردید. بذور ضد عفونی شده در داخل محیط کشت پایه MS کشت گردید. پس از جوانه زنی بذور برای تهیه ریزنمونه از گیاهچه های ۳۰ روزه گیاه زوفا استفاده شد و برای باززایی به محیط MS تکمیل شده با ۳ درصد ساکارز، ۱۰۰ میلی گرم در لیتر میواینوزیتول و ۰/۷ درصد آگار با ترکیبات هورمونی منتقل گردید. برای هر تیمار ۳ پتری و در هر پتری ۱۰ ریزنمونه به عنوان تکرار در نظر گرفته شد. ترکیب محیط هورمونی شامل غلظت ۲/۲ میکرومولار هورمون BAP در ترکیب با ۱ میکرومولار IAA بود. ریزنمونه ها شامل قطعات گره، مریستم انتهایی، هیپوکوتیل و کوتیله دون بود.

کشت‌ها به اتاقک رشد با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و شدت روشنایی ۲۵۰۰ لوکس با ۱۶ ساعت روشنایی در روز منتقل شدند. پس از گذشت ۶ هفته و سه بار واکشت ریزنمونه‌ها درصد باززایی و میانگین هر کدام از تیمارها مورد محاسبه قرار گرفت. تجزیه آماری با استفاده از نرم‌افزار SAS و مقایسه میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال یک درصد انجام شد.

نتایج و بحث:

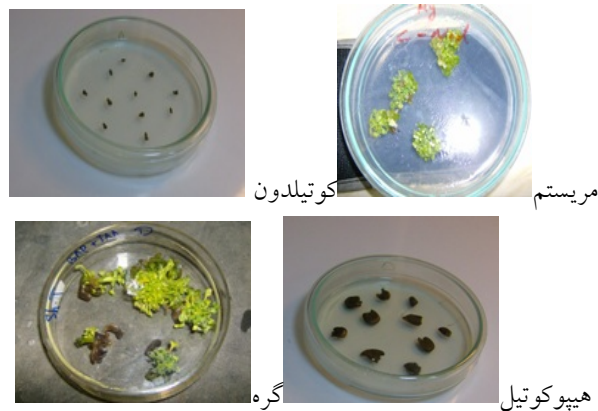
بیشترین میزان باززایی (۸۳.۳۳ درصد) در ریزنمونه مریستم انتهایی و کمترین باززایی (صفر درصد) در ریزنمونه هیپوکوتیل و کوتیله‌دون مشاهده گردید. درصد باززایی در ریزنمونه گره ۷۳.۳۳ درصد گزارش شد. هم چنین حداکثر میانگین باززایی (۳۳.۳۳ گیاهچه در هر ریزنمونه) در ریزنمونه گره و حداقل میانگین باززایی (صفر) گیاهچه در ریزنمونه هیپوکوتیل و کوتیله‌دون مشاهده گردید. میانگین باززایی در ریزنمونه مریستم انتهایی برابر با ۶.۸ گیاهچه در هر ریزنمونه گزارش شد.

جدول شماره یک: مقایسه میانگین باززایی در ریزنمونه‌های مختلف



در تحقیق دیگری بر روی باززایی درون شیشه ای گیاه بادرنجبویه در محیط های MS تکمیل شده با ۱۳/۲ میکرومولار مشاهده گردید که در ۸۲ تا ۹۰ درصد ریز نمونه های مریستم انتهایی شاخساره با موفقیت انجام شد. در حالیکه با افزایش غلظت بنزیل آدنین تا ۱۷/۶ میکرومولار در ترکیب با ۵/۷۱ میکرومولار ایندول استیک اسید تعداد شاخساره باززا شده در هر ریزنمونه رو به کاهش می گذارد (۳) در بررسی دیگری بروی گیاه نعنای فلفلی گزارش شده است که بالاترین تعداد شاخساره به تعداد ۴۹/۸ از ریزنمونه گره کشت شده در محیط MS تکمیل شده با ۴/۴ میکرومولار بنزیل آدنین حاصل شد.

شکل شماره یک: مقایسه میانگین باززایی در ریزنمونه‌های مختلف



منابع:

۱- امیدبگی، رضا. ۱۳۸۵. رهیافت های تولید و فرآوری گیاهان دارویی. جلد سوم. انتشارات آستان قدس رضوی، ۴۰۰ صفحه.

- 2- Cantrell, Ch. L., Franzblau, S. G. and Fischer, N. H. (2001). Antimycobacterial plant terpenoids. *Planta Med.* 67: 685-694.
- 3- Meftahizade, H., Moradkhani, H., Naseri, B., Lotfi, M. and Naseri, A. (2010). Improved *in vitro* culture and micropropagation of different *Melissa officinalis* L. genotypes. *Medicinal Plants Research*, 4: 240-246.
- 4- Nanova, Zh; Salavova, D; Nenkova and Ivanova, I. (2007). Microclonal Propagation of hyssop (*Hyssopus officinalis* L.). *Bulg. J. Agric. Sci.*, 13:213- 219.
- 5- Rios, M. R., Gonzales-Morales, A. and Villarreal, M. L. (2001). Sterols, triterpenes, bioflavonoids of *Viburnum juncundum*, and cytotoxic activity of ursolic acid. *Planta Med.* 67: 683-684.
- 6- Stockigt, J., Obitz, P., Falkenhagen, H., Lutterbach, R. and Endreb, S. (1995). Natural
- 7- Zuzanna, S., and Wysokinska, H. (2003). Sterols and triterpenes in cell culture of *Hyssopus officinalis* L. *Medical university, Muszynskiego.* 90- 151.

Influence of different explants on direct regeneration of Hyssop plant (*Hyssopus officinalis*)

Abstract

Hyssop plant (*Hyssopus officinalis*) belonging to the family *Lamiaceae* is an aromatic perennial herb native to southern Europe. In order to compare the effect of different explants on direct regeneration of this valuable medicinal plant we tested nodal segments, shoot tips, hypocotyls and cotyledon on the medium that contain 4.4 μ M BAP in combination with 1 μ M IAA. Statistical analysis of results showed when we use shoot tip explants the highest regeneration rate (83.33%) had been occurred. maximum numbers of shoots (33.33) per explants were observed in application of nodal segments.

Key words: Hyssop, Direct regeneration, Explant , BAP