علوم باغبانی ایران
دورۀ ۴۶، شمارۀ ۲، تابستان ۱۳۹۴ (ص ۲۹۶-۲۹۱)

ارزیابی ریز ازدیادی گیاه دارویی مرزۀ خوزستانی (*Satureja khuzistanica*)

بهمن زاهدی[1*] و امیر صحرارو[2]
۱. استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکدۀ کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد
۲. استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکدۀ کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۹/۱۱ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۳/۴/۲۲)

چکیده

به‌منظور مطالعۀ ریزازدیادی گیاه مرزۀ خوزستانی، بذور این گیاه در محیط کشت موراشیگ و اسکوگ (MS) نیم‌غلظت کشت و سپس گیاهچه‌ها واکشت شدند. پس از آن نمونه‌ها در سطوح مختلف هورمون‌های BA و Kinetin، به‌صورت منفرد یا در ترکیب با IBA کشت شدند. نتایج نشان داد، بیشترین میزان پرآوری (۲/۴ شاخه) در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر IBA و ۳ میلی‌گرم در لیتر BA مشاهده شد. در بخش طول شاخه، طویل‌ترین شاخه‌ها (۵/۷۶ سانتی‌متر) در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر IBA و ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر BA به دست آمد. بیشترین درصد ریشه‌زایی (۸۵/۲ درصد) در محیط کشت MS با ۱/۴ غلظت نمک به دست آمد. بیشترین تعداد ریشه (۱۲/۳) با طول ۱/۵۵ سانتی‌متر ریشه، در محیط کشت MS با ۱/۲ غلظت نمک، به دست آمد. بیشترین درصد ریشه‌زایی (۶۴/۳ درصد) در غلظت ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر IBA و بیشترین تعداد ریشه (۸/۴ و ۷/۷)، به‌ترتیب در غلظت‌های ۰/۲۵ و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر IBA، به دست آمدند. درمجموع می‌توان تیمار ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر IBA به همراه ۳ میلی‌گرم در لیتر BA را به‌منزلۀ مفیدترین ترکیبات هورمونی برای ریزازدیادی مرزۀ خوزستانی نام برد.

واژه‌های کلیدی: **ریزازدیادی، ریزنمونه، مرزۀ خوزستانی، محیط کشت، هورمون.**

مقدمه

کشت بافت ابزاری را برای تکثیر سریع تعداد زیادی از گیاهان یکنواخت، در عین حفظ ژنوتیپ آن‌ها فراهم کرده است. در مورد گیاهان دارویی، کاربرد روش‌های کشت بافت و ریزازدیادی برای به دست آوردن شمار زیاد گیاهان شبیه به اصل و سالم با ظرفیت تولید بالا، توسط پژوهشگران استفاده می‌شود. علاوه بر این کشت بافت گیاهی می‌تواند بستر مناسبی برای حفظ و نگهداری گونه‌ها و ژنوتیپ‌های مادری و یا در حال انقراض طبیعت به‌منزلۀ منابع با ارزش ژرم‌پلاسم محسوب شود (Arikat *et al*., 2004).

گیاهان دارویی یکی از منابع مهم دارویی هستند که از هزاران سال پیش کاربرد داشته‌اند. سازمان بهداشت جهانی تخمین زده است که بیش از ۸۰ درصد از مردم به‌صورت سنتی و یا مدرن از گیاهان دارویی استفاده می‌کنند. به‌علاوه برخی داروهای شیمیایی نیز با الگوبرداری از مواد گیاهی ساخته شده‌اند (Tripathi & Tripathi, 2003).

با توجه به قدمت گیاهان دارویی تا کنون در مورد اصلاح آن‌ها پیشرفت چندانی انجام نشده است و طی سال‌های گذشته مواد اولیۀ گیاهی مورد نیاز صنایع دارویی از طبیعت برداشت شده است که علاوه بر تخریب روزافزون جنگل‌ها، مراتع و فضای سبز، مواد اولیۀ ناهمگن و خطر انقراض گونه، برخی از این گیاهان زیستگاه‌های طبیعی محدود دارند و بسته به شرایط محیطی و جغرافیایی محل رویش گیاه، جمع‌آوری آن‌ها با مشکلاتی

* تلفن: ۰۹۱۶۱۶۱۳۹۳۱
E-mail: Zahedik2000@yahoo.com

مواجه است. ازآنجاکه استفاده از گیاهان دارویی در ایران تاریخچهٔ غنی و پرافتخاری دارد، این دانش سنتی را باید مطابق استانداردهای روز دنیا به دانشی کاربردی تبدیل کرد که جوابگوی نیازمندی‌های روز دنیا با زبان علمی و قابل قبول برای مراجع پزشکی و صنعت باشد. در این راستا کشت و اهلی‌کردن گیاهان دارویی به‌منظور ارتقای صفات کمّی و کیفی فرآورده‌های گیاهی و ایجاد ژنوتیپ‌هایی با صفات مطلوب اهمیت خاصی دارد (Fotovati & Noorbakhsh, 2009).

مرزهٔ خوزستانی از گونه‌های اندمیک جنس مرزه به‌دلیل داشتن کارواکرول[1] بالا در اسانس و اسیدهای فنولی آزاد به‌ویژه رزمارینیک اسید در عصاره (Hadian, 2008)، از نظر تجاری (کاربردهای دارویی، غذایی، آرایشی، بهداشتی) حائز اهمیت است. در بررسی سرشاخه‌های گلدار مرزهٔخوزستانی بازده اسانس ۳ درصد بود (Sefidkon *et al*., 2007). این گونه در مناطق خشک، آفتابی و خاک‌های سنگلاخی آهکی جنوب غرب ایران در استان‌های لرستان و خوزستان رشد می‌کند (Jamzad, 1994). در سال‌های اخیر چندین دارو ازجمله داروهای ساتورکس، دنتول، زاگرول و غیره از گیاه مرزهٔ خوزستانی فرموله و به بازار عرضه شده است. طی سال‌های گذشته مواد اولیهٔ گیاهی مورد نیاز صنایع دارویی از طبیعت برداشت شده است که مشکلاتی ازقبیل خطر انقراض گونه، مواد اولیهٔ ناهمگن، عدم اطمینان از تأمین پایدار مواد گیاهی تقاضاشده را در پی داشت. از طرفی با توجه به اهمیت روزافزون این‌گونه گیاهان و نیاز صنایع دارویی و غذایی به مواد اولیهٔ گیاهی، اهلی‌کردن، ایجاد ارقام مرغوب و همگن و کشت وسیع این گیاه ضروری است (Hadian *et al*., 2011). دستیابی به رقم اصلاح‌شدهٔ همگن و مرغوب از جنبه‌های مختلف اهمیت زیادی دارد. در مسیر اهلی‌کردن باید عوامل متعددی برای بهینه‌سازی سیستم تولید بررسی شوند و تلاش‌های لازم برای دستیابی به ژنوتیپ مرغوب صورت گیرد. دستیابی به روش مطلوب تکثیر گیاه یکی از عوامل مهم موفقیت کشت و اصلاح است. تکثیر مؤثر با قلمه و کشت بافت می‌تواند در کلون‌سازی ژنوتیپ‌های مرغوب کمک کند و در کوتاه‌مدت برای تکثیر تجاری این ژنوتیپ‌ها استفاده شود. با توجه به موارد گفته‌شده، ریزازدیادی مرزهٔ خوزستانی ازجمله موارد امیدبخش است که در پژوهش حاضر به آن پرداخته می‌شود.

مواد و روش‌ها

به‌منظور مطالعهٔ ریزازدیادی گیاه مرزهٔ خوزستانی، بذور این گیاه از رویشگاه طبیعی جمع‌آوری و به آزمایشگاه کشت بافت دانشکدهٔ علوم دانشگاه تهران منتقل شد. سپس مراحل ضد عفونی سطحی بذور انجام گرفت. بذور ابتدا به‌مدت ۳۰ دقیقه با آب جاری و چند قطره مایع ظرفشویی شسته و سپس ۳ بار با آب‌مقطر غیراستریل آبکشی شدند. ضد عفونی نهایی قبل از کشت در زیر لامینارفلوی استریل انجام گرفت. پس از آن نمونه‌ها ابتدا با اتانول ۷۰ درصد به‌مدت ۶۰ ثانیه ضد عفونی شدند. در مرحلهٔ بعدی آن‌ها با آب‌مقطر استریل آبکشی شدند. بلافاصله پس از این مرحله، آن‌ها در محلول هیپوکلریت ۱۰ درصد حاوی ۰/۱ درصد محلول ۲۰ Tween به‌مدت ۱۰ دقیقه تیمار و سپس با آب‌مقطر استریل، سه مرتبه و با فواصل ۵، ۱۰ و ۱۵ دقیقه آبکشی شدند.

به هدف تولید گیاهچه‌های عاری از آلودگی، پس از ضدعفونی بذور، آن‌ها در محیط کشت موراشیگ و اسکوگ (MS) (Murashige & Skoog, 1962) نیم‌غلظت کشت شدند. به‌منظور جوانه‌زنی بذور، نمونه‌ها در تاریکی قرار داده شدند. پس از جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌ها، مراحل واکشت آغاز شد. درخصوص ایجاد یکنواخت‌کردن کشت‌ها، بهترین گیاهچه انتخاب و واکشت‌ها بر روی آن انجام گرفت. زمان هر دورهٔ واکشت ۳۰ـ۴۰ روز و محیط کشت‌ها نیز MS کامل در نظر گرفته شد (شکل 1A).

پس از به دست آوردن تعداد کافی ریزنمونه، مرحلهٔ بعدی ریزازدیادی (پرآوری) شروع شد. به‌منظور بررسی اثر سطوح مختلف هورمون‌های سیتوکنین و اکسین، شاخه‌های تشکیل‌شده در مرحلهٔ قبل به قطعاتی دارای دو تا سه گره برش داده شدند و سپس به تعداد ۳ عدد در ویال‌های حاوی ۲۰ میلی‌لیتر محیط کشت MS و

1. Cavacrol

هورمون‌های BA (۱، ۱/۵، ۲، ۲/۵ و ۳ میلی‌گرم در لیتر) و Kinetin (۰/۵ و ۱ میلی‌گرم در لیتر)، به‌صورت منفرد و یا در ترکیب با IBA (۰/۲۵ و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر) کشت شدند.

۴ هفته پس از کاشت پارامترهای لازم در رابطه با تعداد شاخه، طول شاخه، تعداد گره در هر شاخه و درصد بقای ریزنمونه‌ها، ثبت شد. داده‌ها طی آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۵ تکرار پی‌ریزی شدند.

پس از به دست آوردن تعداد زیادی نمونه، مرحلهٔ ریشه‌زایی شروع شد. پیش‌تیمار ریشه‌زایی به‌منظور حذف آثار بازدارندهٔ سیتوکنین بر ریشه‌دهی و یکنواخت‌کردن نسبی محتوای هورمونی، صورت گرفت. بدین منظور شاخه‌های تشکیل‌شده در مرحلهٔ تکثیر به قطعاتی با طول تقریبی دو تا سه گره برش داده و سپس به‌مدت ۳۰ روز در محیط کشت MS فاقد هورمون رشد، کشت شدند. پس از طی این مدت برای بررسی ریشه‌زایی ریزنمونه‌ها، آن‌ها در محیط‌های کشت ۱/۴، ۱/۲ و غلظت کامل محیط کشت MS، حاوی هورمون IBA (۰/۲۵ و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر) و نیز محیط کشت فاقد هورمون (شاهد)، کشت شدند. چهار هفته پس از کاشت پارامترهای لازم ازقبیل درصد ریشه‌زایی، تعداد ریشه‌ها و طول ریشه‌ها، ثبت شد. تیمارها شامل ۳ نوع محیط کشت و ۳ غلظت مختلف هورمون IBA بودند که در آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۵ تکرار که در هر تکرار ۵ ریزنمونه کشت شده بودند، مقایسه شدند. تجزیهٔ داده‌ها برای مراحل مختلف با استفاده از نرم‌افزار SAS. Ver. 2000 آنالیز و میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۵ درصد مقایسه شدند.

سپس مرحلهٔ سازگاری با هدف انتقال گیاهچه‌های ریشه‌دار شده از محیط کشت مصنوعی به خاک و سازگارکردن آن‌ها با شرایط طبیعی محیط انجام شد. بدین منظور گیاهچه‌های ریشه‌دار شده در محیط کشت خود و در ویال‌هایی که درب آن‌ها نیمه‌باز نگهداشته شده بودند، به‌مدت ۴ هفته در اتاقک رشد و در شرایط دمایی ۲۴±۲°C و فتوپریود ۱۶ ساعت روشنایی (با شدت جریان فتون فتوسنتزی $PPFD=40\mu\ mol\ m^{-2}s^{-1}$)، نگهداری شدند. سپس گیاهچه‌های ریشه‌دار شده از محیط‌های کشت با احتیاط و به کمک پنس خارج شده و پس از شست‌وشوی آرام ریشه‌ها با جریان آب و حذف آگار، گیاهچه‌ها به‌صورت مستقیم در مخلوطی از خاک، خاک پیت و ماسه با نسبت وزنی، ۱:۱:۱، در گلدان‌های پلاستیکی به ابعاد ۱۷/۵×۱۷/۵ cm در گلخانه و در شرایط دمایی ۲۴±۲°C در روز و ۱۵±۲°C در شب و ۵۰ درصد سایه نگهداری شدند. آبیاری به‌صورت روزانه انجام گرفت. پس از ۲ ماه، درصد بقای گیاهچه‌ها ثبت شد.

نتایج و بحث

قطعات گره‌دار به‌دست‌آمده از گیاهچه‌های رشدکرده در مرحلهٔ قبل، در تمامی ترکیب‌های مختلف سیتوکنین‌ها و هورمون‌های رشدی، به‌خوبی رشد کرد و تولید گره‌های جدید ساقه، از طریق افزایش رشد طولی شاخه‌ها و نیز افزایش تعداد گره در هر گیاهچه، انجام شد (شکل۱B). درخصوص تعداد گره در هر نمونه، اگرچه گروه‌بندی انجام‌شده همگی را در سطوح مشابه قرار داد اما بیشترین میزان پرآوری (۲/۴ شاخه) در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر IBA و ۳ میلی‌گرم در لیتر BA مشاهده شد (جدول۱). البته بایستی ذکر کرد که شاخه‌های به‌دست‌آمده در این تیمار درصد بقای پایینی نشان دادند. این امکان وجود دارد که با افزایش تعداد شاخه در یک ریزنمونه، از توانایی بعضی شاخه‌های ضعیف برای ادامهٔ مسیر کاسته شود. Afzalifar *et al.* (2012) نیز هورمون BA را به‌منزلهٔ مؤثرترین هورمون در پرآوری دو گونه مرزه معرفی کردند. در آزمایش ایشان، بیشترین تأثیر را غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر BA از خود نشان داد. این بدان معناست که گیاهان مرزهٔ بررسی‌شده، به غلظت‌های متوسط به بالای سیتوکنین BA جواب‌دهی بهتری از خود نشان می‌دهند. نیز ایشان بیان کردند که در بین سیتوکنین‌های آزمون‌شده، سیتوکنین Kinetin در پرآوری کمترین اثر را داشته است. کمترین مقدار این پارامترها در تیمار شاهد مشاهده شد که با نتایج Arikat *et al.* (2004) روی مریم گلی و Iram & Anis (2008) روی ریحان مطابقت داشت. در بخش طول شاخه، طویل‌ترین شاخه‌ها (۵/۷۶ سانتی‌متر) در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر IBA و ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر

BA و کوتاه‌ترین شاخه‌ها (۲/۴۴ سانتی‌متر) در غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر Kinetin به دست آمد (جدول۱). در آزمایش Afzalifar *et al.* (2012)، طویل‌ترین شاخه‌ها در غلظت‌های ۱/۵ و ۲ میلی‌گرم در لیتر BA در هر دو گونهٔ بررسی‌شده مشاهده شد. نتایج نشان داد که تعداد گره‌ها در شاخه در محیط کشت حاوی ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر IBA و ۱ میلی‌گرم در لیتر BA بیشترین (۳/۴۲ گره) بود (جدول۱). این نتایج کاملاً منطبق بر نتایج Iram & Anis (2008) در ریحان بود. همچنین در این زمینه Afzalifar *et al.* (2012) بیان کردند که بیشترین تعداد گره در محیط حاوی ۲ میلی‌گرم در لیتر BA به همراه ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر IBA مشاهده شد. ازآنجاکه بقای گیاهچه‌های به‌دست‌آمده از موارد مهم در کشت بافت است، این مشخصه نیز اندازه‌گیری شد و کمترین درصد بقا (۴۶/۶۰ درصد) در محیط کشت حاوی ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر IBA و ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر BA مشاهده شد (جدول۱). با در نظر گرفتن ویژگی‌های مهم اندازه‌گیری‌شده، تیمار ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر IBA و ۳ میلی‌گرم در لیتر BA را می‌توان به‌منزلهٔ یکی از بهترین غلظت‌های هورمونی برای این بخش نام برد.

نتایج تجزیهٔ واریانس ریشه‌زایی مشخص کرد که اثر محیط کشت و غلظت اکسین در مشخصه‌های اندازه‌گیری شده معنادار بود. از طرفی هیچ‌گونه اثر متقابل معناداری ($P \leq ۰/۰۵$)، بین ترکیب محیط کشت و غلظت اکسین دیده نشد. بررسی‌ها نشان داد که بیشترین درصد ریشه‌زایی (۸۵/۲ درصد) در محیط کشت MS با ۱/۴ غلظت نمک در مقایسه با محیط کشت MS با ۱/۲ غلظت نمک (۴۶/۶۶ درصد) و MS (۱۷/۶ درصد) به دست آمد (جدول ۲ و شکل ۱-C). بیشترین تعداد ریشه (۱۲/۳) با طول ۱/۵۵ سانتی‌متر ریشه، در محیط کشت MS با ۱/۲ غلظت نمک، به دست آمد (جدول۲). برخی پژوهش‌ها آثار مثبت کاهش غلظت نمک‌ها را در افزایش و بهبود ریشه‌زایی، در گونه‌های دارویی از قبیل Salix humboldtiana (Pereira *et al.*, 2000) و Hancorina speciosa (Preira, 1996) نشان داده‌اند. در این پژوهش ریشه‌زایی در محیط کشت فاقد هورمون رشد (شاهد)، نیز مشاهده شد ولی بیشترین درصد ریشه‌زایی (۶۴/۳ درصد) در غلظت ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر IBA و بیشترین تعداد ریشه (۸/۴ و ۷/۷)، به‌ترتیب در غلظت‌های ۰/۲۵ و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر IBA، به دست آمدند (جدول۲). ریشه‌زایی ریزنمونه‌ها در محیط کشت MS فاقد هورمون‌های رشدی در بسیاری از گونه‌های دارویی و معطر گزارش شده است (Saxena *et al.*, 1998; Mao *et al.*, 1995; Cristna *et al.*, 1990). همچنین ریزنمونه‌های برخی از گیاهان تیرهٔ نعناعیان[1]، از قبیل Salvia blancoana، S. velentina (Cuenca & Amo-Marco, 2000) و S.miltiorrhiza (Morimoto *et al.*, 1994)، قادر به ایجاد ریشه در محیط کشت فاقد اکسین بودند. در قسمت سازگاری نیز ۸۰ درصد گیاهچه‌های تولیدشده از مرحلهٔ ریزازدیادی پس از انتقال به گلدان زنده ماندند و به‌خوبی مستقر شدند، بنابراین تکثیر گیاه دارویی مرزهٔ خوزستانی از طریق کشت بافت موفقیت‌آمیز بود (شکل ۱-C و ۱-D).

نتیجه‌گیری کلی

امروزه برداشت بی‌رویه و غیراصولی از یک‌سو و مشکلات و پیچیدگی‌های جوانه‌زنی بذور گیاهان دارویی از سوی دیگر، این گیاهان را در معرض خطر نابودی قرار داده است. از طرف دیگر، متغیربودن ترکیبات دارویی از کلونی به کلون دیگر، پژوهشگران را بر آن داشته است که پس از یافتن کلون مناسب و برتر، به ازدیاد آن بپردازند و این مهم جز با کاربرد روش‌های کشت بافتی (ریزازدیادی) به دست نمی‌آید. گیاه مرزهٔ خوزستانی نیز ازجمله گیاهان مهم و بومی ایران است که در سال‌های اخیر توجه خاصی به آن شده است، بنابراین در پژوهش حاضر به ریزازدیادی آن پرداخته شد. نتایج به‌دست‌آمده بیانگر این بود که برای بخش پرآوری سیتوکنین‌های مصنوعی بهتر از نوع طبیعی جواب می‌دهند. همچنین غلظت‌های متوسط به بالای سیتوکنین برای پرآوری این گیاه در شرایط درون‌شیشه ضروری به نظر می‌رسد. در این خصوص می‌توان غلظت ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر IBA به همراه ۳ میلی‌گرم در لیتر BA را به‌منزلهٔ ترکیب‌های مفید هورمونی برای ریزازدیادی

1. Labiateae

مرزهٔ خوزستانی نام برد. ریشه‌زایی ریزنمونه‌های کشت بافتی نیز بررسی شد و نتیجهٔ به‌دست‌آمده نشان داد که محیط کشت‌های حاوی غلظت نمک کمتر (MS با ۱/۴ غلظت نمک) و همچنین غلظت‌های پایین اکسین (۰/۲۵ و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر) برای ریشه‌زایی این گونهٔ مرزه جواب‌دهی بهتری داشته است.

جدول ۱. اثر ترکیب‌های مختلف هورمون‌های رشدی بر تکثیر شاخه در گونهٔ دارویی مرزهٔ خوزستانی پس از چهار هفته در محیط کشت MS

ترکیب هورمون رشدی		تعداد شاخه	طول شاخه (cm)	تعداد گره	بقای گیاهچه‌ها (٪)
BA (mg/l)					
۱		۱/۵۸ ab	۳/۳۶ abc	۲/۸۲ ab	۷۳/۳۰ abc
۱/۵		۱/۱۲ b	۲/۹۴ bc	۲/۶۲ ab	۷۳/۳۲ abc
۲		۱/۴۸ b	۳/۴۲ abc	۲/۶۸ ab	۷۳/۳۲ abc
۲/۵		۱/۱۲ b	۳/۲۴ abc	۲/۳۰ ab	۶۶/۶ abc
۳		۱/۷۲ ab	۳/۶۶ abc	۳/۱۲ ab	۸۶/۴۴ abc
Kinetin (mg/l)					
۰/۵		۱/۱۲ b	۳/۴۲ abc	۲/۵۴ ab	۸۶/۶۴ abc
۱		۱/۲۲ b	۲/۴۴ c	۲/۳۲ ab	۵۳/۲۸ bc
BA (mg/l)	IBA (mg/l)				
۱	۰/۲۵	۱/۶۴ ab	۵/۵۲ ab	۳/۴۲a	۹۳/۳۰ab
۱	۰/۵	۱/۳۲ b	۴/۱۰ abc	۲/۸۴ ab	۹۳/۳۲ ab
۱/۵	۰/۲۵	۱/۰۴b	۲/۶۲ c	۱/۸۲ b	۴۶/۶۰ c
۱/۵	۰/۵	۱/۶۰ ab	۵/۷۶ a	۳/۱۶ ab	۸۶/۶۴ abc
۲	۰/۲۵	۱/۲۸ b	۳/۹۶ abc	۲/۷۸ ab	۸۶/۶۴ abc
۲	۰/۵	۱/۴۲ b	۴/۵۶ abc	۲/۷۶ ab	۷۳/۳۰ abc
۲/۵	۰/۲۵	۱/۵۰b	۴/۷۶ abc	۲/۸۰ ab	۶۹/۹۶ abc
۲/۵	۰/۵	۱/۸۰ ab	۲/۵۰ c	۲/۶۰ ab	۵۰ c
۳	۰/۲۵	۱/۹۰ ab	۳/۷۴ abc	۲/۷۰ ab	۸۰ abc
۳	۰/۵	۲/۴۰ ab	۳/۳۰abc	۲/۸۰ ab	۵۰ c
Kinetin (mg/l)	IBA (mg/l)				
۰/۵	۰/۲۵	۱/۳۴ b	۳/۴۴ abc	۳/۲۴ ab	۸۶/۶۴ abc
۰/۵	۰/۵	۱/۱۶ b	۳/۶۸ abc	۲/۹۲ ab	۸۰ abc
۱	۰/۲۵	۱/۳۶ b	۳/۱۵ abc	۲/۶۸ ab	۶۶/۶۴ abc
۱	۰/۵	۱/۶۴ ab	۴/۲۴ abc	۳/۲۴ ab	۱۰۰ a

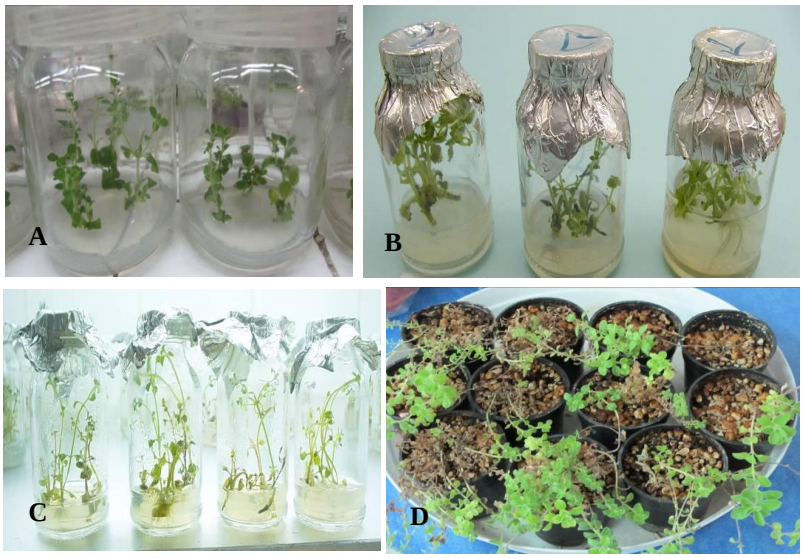
داده‌های دارای حروف مشترک فاقد اختلاف معنادار براساس آزمون دانکن در سطح ۵ درصد هستند.

جدول ۲. اثر محیط‌های کشت و غلظت‌های مختلف اکسین بر ریشه‌زایی گونهٔ دارویی مرزهٔ خوزستانی

محیط کشت	ریشه‌زایی (%)	طول ریشه (cm)	تعداد ریشه
MS[1]	۱۷/۶۰ b	۰/۲۶b	۵/۰۰ab
MS/2	۴۶/۶۶b	۱/۵۵a	۱۲/۳۰a
MS/4	۸۵/۲a	۱/۲۴a	۳/۱۴b
اکسین (mg/1) IBA			
۰/۲۵	۶۴/۳۰a	۱/۲۲a	۸/۴۰a
۰/۵	۵۴/۴۰a	۱/۰۰a	۷/۷۰a
شاهد[2]	۲۸/۸۰b	۰/۶۳a	۱/۷۳b

۱. محیط کشت با غلظت کامل عناصر؛ ۲. محیط کشت فاقد هورمون رشد

داده‌های دارای حروف مشترک یکسان فاقد اختلاف معنادار براساس آزمون دانکن در سطح ۵ درصد هستند.



شکل ۱. کشت بافت گونهٔ دارویی مرزهٔ خوزستانی

(A) استقرار اولیهٔ گیاه محیط کشت MS؛ (B) تکثیر شاخه؛ (C) ریشه‌دهی و سازگاری (ویال‌های نیمه‌باز شده)؛ (D) گیاه استقراریافته در خاک

REFERENCES

1. Afzalifar, M. (2012). *Evaluation of different propagation and androgenesis in Satureja khuzistanica and S. rechingeri*. M.Sc. thesis. Medicinal Plants and Drug Research Institute. Shahid Beheshti University, Iran. (in Farsi)
2. Arikat, N. A., Jawad, F. M., Karam, N. S. & Shibli, R. A. (2004). Micropropagation and accumulation of essential oils in wild sage (*Salvia fruticosa* Mill.). *Scientia Horticulturae*, 100, 193-202.
3. Cristna, M. F. D., Esquibel, M. A. & Dos Santos, A.V. P. (1990). In vitro propagation of the alkaloid producing plant Datura insignis Barb. Rodr. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 21, 75-78.
4. Cuenca, S. & Amo-Marco, J. B. (2000). In vitro propagation of two Spanish endemic species of *Salvia* through bud proliferation. *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant*, 36, 225-229.
5. Fotovati, H. & Noorbakhsh, S. (2009). Biotechnology, the new aspect for agricultural progress. *The 6th National Biotechnology Congress of Iran*, Tehran. (in Farsi).
6. Hadian, J. (2008). *Evaluation of genetic diversity of endemic Iranian Satureja species*. PhD thesis. University College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Iran. (in Farsi)
7. Hadian, J., Mirjalili, M. H. & Ganjipoor, N. (2011). Morphological and phytochemical characterization of natural populations of *Satureja khuzestanica*. *Chemistry & Biodiversity*, 8, 902-915.
8. Iram, S. & Anis, M. (2008). An improved plant regeneration system and ex vitro acclimatization of *Ocimum basilicum* L. *Acta Physiologiae Plantarum*, 30, 493-499.
9. Jamzad, Z. (1994). A new species of the genus *Satureja* from Iran. *The Iranian Journal of Botny*, 6(2), 215-218.
10. Mao, A. H., Wettem, A., Fay, M. & Caligari, P. D. S. (1995). In vitro propagation of *Clerodendrum colebrookianum* Walp, a potential natural anti-hypertension medicinal plant. *Plant Cell Reports*, 14, 493-496.
11. Morimoto, S., Goto,Y. & Shorama, Y. (1994). Production of lithospermic acid B and rosmarinic acid in callus tissue and regenerated plantlets of *Salvia miltiorrhiza*. *Journal of Natural Products*, 57, 817-823.
12. Murashige, T. & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Plant Physiology*, 15, 473-497.
13. Pereira, A. M. S., Bertoni, B. W., Moraes, R. M. & Franca, S. C. (2000). Micropropagation of *Salix humboldtiana* Hild. *Revista Brasileriade Plantas Medicinasis*, 2, 17-21.
14. Preira, N. A. B. (1996). In vitro propagation of *Hancornia speciosa*, a tropical fruit tree. *In Vitro Cellular Development Biology*, 32, 253-256.
15. Saxena, C., Rout, G. R. & Das, P. (1998). Micropropagation of *Psoralea corylifolia*.Linn. *Journal of Medicinal and Aromatic Plant Sciences*, 20, 8-15.
16. Sefidkon, F., Abbasi, K., Jamzad, Z. & Ahmadi, S. (2007). The effect of distillation methods and stage of plant growth on the essential oil content and composition of *Satureja rechingeri* Jamzad. *Food Chemistry*, 100 (3), 1054-1058.
17. Tripathi, L. & Tripathi, J. N. (2003). Role of biotechnology in medicinal plants. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 2, 243-253.