مقاله پژوهشی

نشریه علمی تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران
جلد ۲۹، شماره ۱، صفحه ۱۴۷-۱۳۸ (۱۴۰۰)

شناسه دیجیتال (DOI): 10.22092/ijrfpbgr.2020.342954.1366
شناسه دیجیتال (DOR): 20.1001.1.17350891.1400.29.1.11.8

تأثیر محیط کشت و تنظیم‌کننده‌های رشد بر ریزازدیادی گیاه دارویی *Myrtus communis* L.

لیلا میرجانی[1*] و میترا امام[2]

۱*- نویسنده مسئول مکاتبات، دکتری، محقق بخش تحقیقات زیست‌فناوری منابع طبیعی، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، پست‌الکترونیک: mirjani@rifr-ac.ir

۲- استادیار، بخش تحقیقات زیست‌فناوری منابع طبیعی، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۲/۳۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۸/۱۱

چکیده

گیاه مورد (*Myrtus communis* L) دارای ارزش دارویی، اقتصادی و زینتی است. در سال‌های اخیر متأسفانه بهره‌برداری بی‌رویه و غیر اصولی سودجویان از این گیاه برای وصول به مواد مؤثره دارویی آن، رویشگاه‌های طبیعی مورد را تا مرز انقراض پیش برده است. بنابراین تکثیر گیاه به‌ویژه از طریق ریزازدیادی امکان بدست آوردن مواد مؤثره در آزمایشگاه را بدون آسیب به رویشگاه گیاه فراهم می‌کند. هدف از این پژوهش، بررسی تأثیر محیط کشت و تنظیم کننده‌های رشد بر ریزازدیادی گیاه مورد است. بذرهای گیاه از منطقه حاجی‌آباد استان هرمزگان جمع‌آوری گردید. بهترین محیط شاخه‌زایی محیط کشت پایه DKW حاوی تنظیم کننده‌های رشد BA، TDZ و Kinetin به‌ترتیب در غلظت‌های ۱، ۱ و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر تعیین شد. ریشه‌زایی مناسب بر محیط DKW با تنظیم کننده‌های رشد IBA و NAA به‌ترتیب در غلظت‌های ۱ و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر به‌دست آمد. این محیط کشت محرک تولید بیشترین تعداد ریشه اصلی و فرعی بود. به‌طوری‌که در طی این تحقیق مناسب‌ترین روش ریزازدیادی برای گونه مورد به‌دست آمد.

واژه‌های کلیدی: مورد، تکثیر درون شیشه‌ای، تنظیم کننده‌های رشد و محیط کشت

مقدمه

گونه *Myrtus communis* L. (مورد) درختچه همیشه سبز از خانواده Myrtaceae می‌باشد. حفظ ذخائر توارثی و جلوگیری از فرسایش و انقراض آن با توجه به ارزش این گیاه از نظر دارویی و زینتی، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. این گونه گیاهی ازجمله گیاهان همیشه سبز است. گیاه مورد، درختچه کوچکی است که ارتفاع آن در شرایط عادی بین ۱ تا ۳ متر می‌باشد. در پوست اولیه ساقه، برگ، کلیه قسمت‌های گل، میوه و حتی دانه این گیاه کیسه‌های ترشحی اسانس وجود دارد (Zargari, 2014). گیاه مورد جزء گیاهانی است که می‌تواند شرایط مختلفی از نور کامل را تا قرار گرفتن در سایه سایر گیاهان تحمل کند و از این نظر جزو گونه‌های سازگار و بردبار محسوب می‌شود. این درختچه با ایجاد تغییراتی در ویژگی‌های ریخت‌شناختی و آناتومی خود با شرایط محیطی سازگار می‌شود. به‌دلیل اهمیت این درختچه در زمینه‌های دارویی و پزشکی، عطرسازی و غذایی، استفاده از آن در کشورهای صنعتی و در حال توسعه رو به افزایش است (Mirazadi and Pilehvar, 2013).

برگ‌های مورد دارای خواص دارویی منحصربه‌فرد بوده و اسانس آن، عمدتاً شامل ترپینولن، سینئول، لینالول، ترپینئول و لینالیل استات می‌باشد. همچنین برگ مورد دارای مواد رزینی، تانن، فلاونوئید، ویتامین C، اسیدتانیک و

اسیدهای آلی بوده و فاقد آلکالوئید و گلیکوزید است. به همین سبب در مواردی مانند ضداحتقان، قابض، تقویت‌کننده، درمان آکنه، ناراحتی‌های مجاری تنفسی، سینوزیت و عفونت لثه کاربرد دارد و به‌عنوان ضد عفونی کننده و ضد انگل مورد استفاده قرار می‌گیرد (Ismaeeli, 2012). به علت خواص دارویی بسیار مورد، مردم بومی به سفارش شرکت‌های تولیدکننده دارو، سالانه مقدار زیادی از این گیاه را برداشت می‌کنند و باعث کاهش پراکنش آن شده‌اند. به همین دلیل علاوه بر کشت و کار این گیاه با ارزش باید از برداشت بی‌رویه آن جلوگیری کرد و اجازه زادآوری به گیاه داد.

تحقیقاتی در زمینه ریزازدیادی این گونه انجام شده است که هم از لحاظ محیط کشت پایه و هم ترکیب تنظیم کننده‌های رشد تفاوت زیادی با یکدیگر دارند. به‌عنوان مثال، ŞAN و همکاران (۲۰۱۵) اثر تیدیازرون و زغال فعال را بر روی ریزازدیادی گونه مورد بررسی کردند که تنظیم کننده رشد تیدیازورون اثر افزایشی بر ضریب شاخه‌زایی و زغال فعال نیز اثر مثبت بر ریشه‌زایی نشان داد. Scarpa و همکاران (۲۰۰۰) گزارش کردند که ترکیب تنظیم کننده رشدهای BA[۱] و NAA[۲] بیشترین درصد شاخه‌زایی را در گیاه *M. communis* داشته و تنظیم کننده رشد IAA[۳] ۱ mgl^{-1} محرک بیشترین ریشه‌زایی در این گونه بوده است. Ibrahim و همکاران (۲۰۱۷) شاخه‌زایی در محیط کشت پایه MS[۴] حاوی BA ۱ mgl^{-1} و Kinetin ۱ mgl^{-1} و محیط بهینه ریشه‌زایی IBA[۵] ۵ mgl^{-1} و NAA ۵ mgl^{-1} را گزارش کردند. در حالی که مطالعه بر روی سه نوع محیط پایه مختلف برای ریزازدیادی مورد نشان داد که بهترین محیط پایه WPM[۶] می‌باشد (Şimşek *et al* 2017). در بررسی دیگری بهترین محیط کشت پایه برای شاخه‌زایی گیاه مورد MS حاوی تنظیم کننده‌های رشد BA ۰/۵ mgl^{-1} و IAA ۰/۲ mgl^{-1} و برای افزایش ریشه‌زایی محیط MS حاوی تنظیم کننده رشد IAA ۰/۵ mgl^{-1} به‌دست آمد (Ruffoni *et al* 2010). در ایران تنها گزارش ریزازدیادی گیاه مورد مربوط به Khosh-Khui و همکاران (۱۹۸۴) است که بهترین محیط برای شاخه‌زایی را محیط کشت پایه MS حاوی BA ۱/۵ mgl^{-1} و NAA ۰/۱ mgl^{-1} گزارش کردند. با توجه به اینکه در سال‌های اخیر متأسفانه بهره‌برداری بی‌رویه و غیر اصولی سودجویان از این گیاه برای وصول به مواد مؤثره دارویی آن، رویشگاه‌های طبیعی مورد را تا مرز انقراض پیش برده است. بنابراین تکثیر گیاه به‌ویژه از طریق ریزازدیادی امکان بدست آوردن مواد مؤثره در آزمایشگاه را بدون آسیب به رویشگاه گیاه فراهم می‌کند. هدف از انجام این پژوهش بررسی تأثیر محیط کشت و تنظیم کننده‌های رشد بر ریزازدیادی گیاه مورد *M. communis* برای حفظ و احیای رویشگاه‌های این گیاه می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی: بذرهای گیاه *M. communis* از منطقه حاجی‌آباد استان هرمزگان جمع‌آوری شد.

سترون‌سازی: پس از انتقال بذرها به آزمایشگاه کشت بافت مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور (۱۳۹۸)، سترون‌سازی با محلول هیپوکلریت سدیم ۵ درصد کلر فعال به‌مدت ۱۰ دقیقه انجام گردید. سپس نمونه‌ها در محیط کشت MS (Murashige and Skoog, 1962) کاشته شد. گیاهچه‌های حاصل از جوانه‌زنی بذرهای مستقر شده، وارد مرحله شاخه‌زایی شد.

شاخه‌زایی: ریزنمونه‌ها (ساقه گیاهچه) در محیط‌های کشت DKW[۷] (Driver and Kuniyuki, 1984), MS و WPM (Lloyd and McCown, 1981) با ترکیب‌های مختلف تنظیم کننده رشد (جدول ۱) کشت گردید.

[1] 6-Benzylaminopurine
[2] 1-Naphthaleneacetic acid
[3] Indole-3-acetic acid
[4] Murashige and Skoog medium
[5] Indole-3-butyric acid
[6] Woody Plant media
[7] Driver Kuniyuki Walnut

جدول ۱- محیط کشت‌های پایه و ترکیب‌های تنظیم‌کننده رشد مورد آزمون در مرحله شاخه‌زایی

ردیف	کد	محیط کشت پایه	تیمار ترکیب‌های تنظیم کننده رشدی برای شاخه‌زایی
۱	m1	MS	۱ mgl^{-1}BAP+ ۰/۱ mgl^{-1} Kin
۲	m2	MS	۰/۵ mgl^{-1} BAP + ۰/۵ mgl^{-1}TDZ[1] + ۰/۱ mgl^{-1}Kin
۳	m3	MS	۲ mgl^{-1}BAP+ ۰/۱ mgl^{-1}Kin
۴	m4	MS	۱mgl^{-1}BAP + ۱ mgl^{-1}TDZ + ۰/۱ mgl^{-1}Kin
۵	d1	DKW	۱ mgl^{-1}BAP+ ۰/۱ mgl^{-1} Kin
۶	d2	DKW	۰/۵ mgl^{-1} BAP + ۰/۵ mgl^{-1}TDZ + ۰/۱ mgl^{-1}Kin
۷	d3	DKW	۲ mgl^{-1}BAP+ ۰/۱ mgl^{-1}Kin
۸	d4	DKW	۱mgl^{-1}BAP + ۱ mgl^{-1}TDZ + ۰/۱ mgl^{-1}Kin
۹	w1	WPM	۱ mgl^{-1}BAP+ ۰/۱ mgl^{-1} Kin
۱۰	w2	WPM	۰/۵ mgl^{-1} BAP + ۰/۵ mgl^{-1}TDZ + ۰/۱ mgl^{-1}Kin
۱۱	w3	WPM	۲ mgl^{-1}BAP+ ۰/۱ mgl^{-1}Kin
۱۲	w4	WPM	۱mgl^{-1}BAP + ۱ mgl^{-1}TDZ + ۰/۱ mgl^{-1}Kin

جدول ۲- ترکیب‌های تنظیم‌کننده رشد مورد آزمون در مرحله ریشه‌زایی

ردیف	ترکیب‌های تنظیم‌کننده رشدی برای ریشه‌زایی
۱	۱ mgl^{-1}IBA
۲	۲ mgl^{-1}IBA
۳	۳ mgl^{-1}IBA
۴	۱ mgl^{-1}NAA
۵	۲ mgl^{-1}NAA
۶	۳ mgl^{-1}NAA
۷	۰/۵ mgl^{-1}NAA + ۰/۵ mgl^{-1}IBA
۸	۱/۵ mgl^{-1}NAA + ۱/۵ mgl^{-1}IBA
۹	۰/۱ mgl^{-1}NAA + ۱ mgl^{-1}IBA
۱۰	۰/۱ mgl^{-1}Kin + ۱ mgl^{-1}IBA

[1] Thidiazuron

پس از استقرار و رشد جوانه‌ها، در هر ماه بازکشت انجام شد. پس از چهار ماه که شاخه‌زایی کامل شد، صفات ضریب ازدیاد تعداد شاخه و رشد طولی شاخه‌ها اندازه‌گیری شد. تعداد تکرارها در هر تیمار ۲۵ عدد (۵ شیشه و در هر یک ۵ نمونه) بود.

ریشه‌زایی: پس از اینکه بهترین محیط کشت برای شاخه‌زایی بدست آمد، نمونه برای ریشه‌زایی در محیط پایه DKW حاوی ترکیب‌های مختلف تنظیم کننده رشدی کشت شد (جدول۲). پس از ریشه‌زایی تعداد ریزنمونه ریشه‌دار شده در هر شیشه، تعداد ریشه اصلی، طول ریشه اصلی و تعداد ریشه فرعی اندازه‌گیری شد. تعداد تکرارها در هر تیمار ۲۵ عدد (۵ شیشه و در هر یک ۵ نمونه) بود.

تجزیه‌وتحلیل آماری

در این تحقیق تعداد تکرارها در شرایط درون شیشه‌ای هر تیمار ۲۵ عدد (۵ شیشه و در هر یک ۵ نمونه) بود. برای شاخه‌زایی سه محیط پایه MS , DKW و WPM و هر یک ۴ سطح با استفاده از آزمایش فاکتوریل بررسی شدند و برای ریشه‌زایی فقط از یک محیط پایه DKW استفاده و تجزیه واریانس ۱۰ تیمار با استفاده از طرح کاملاً تصادفی انجام شد. مقایسه میانگین تیمارها نیز با روش دانکن بوسیله نرم‌افزار SPSS انجام گردید.

نتایج

نتایج تجزیه واریانس داده‌های مربوط به شاخه‌زایی نشان داد که تفاوت بین محیط‌های کشت بین ترکیب‌های تنظیم کننده رشد و اثر متقابل محیط کشت در ترکیب‌های تنظیم کننده برای صفات طول شاخه و تعداد شاخه در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۳).

مقایسه میانگین داده‌های مربوط به محیط پایه و ترکیب تنظیم کننده رشد شاخه‌زایی به روش دانکن، بیانگر این است که بهترین محیط پایه کشت جهت شاخه‌زایی برای این گونه، محیط پایه DKW به‌همراه ترکیب تنظیم کننده رشد (۰/۱ mgl^{-1}Kin +۱ mgl^{-1}TDZ + ۱ mgl^{-1}BAP) بود.

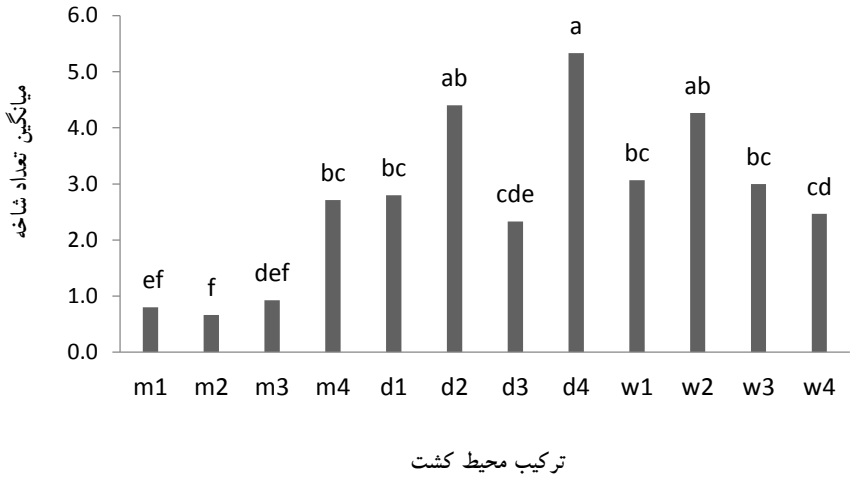
برای تعداد شاخه تیمار d4 یا محیط پایه DKW به‌همراه ترکیب تنظیم کننده رشد (۱ mgl^{-1}BAP + ۱ mgl^{-1}TDZ + ۰/۱ mgl^{-1}Kin) بهترین بود. ولی از لحاظ آماری با تیمارهای w2 (۰/۵ mgl^{-1} BAP + ۰/۵mgl^{-1}Kin+ ۰/ ۱ mgl $^{-1}$TDZ) و d2 (۰/۵ mgl^{-1} BAP + ۰/۵ mgl^{-1}Kin + ۰/۱ mgl^{-1}TDZ) تفاوت معنی‌داری نداشت.

برای طول شاخه تیمار d1 محیط پایه DKW به‌همراه ترکیب تنظیم کننده (۱ mgl^{-1} BAP + ۰/۱ mgl $^{-1}$Kin) بهتر بود. ولی از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری با d2 (mgl^{-1}Kin + ۰/۵ mgl^{-1} BAP + ۰/۱ mgl^{-1}TDZ) و w2 (۰/۵ mgl^{-1} BAP + ۰/۵ mgl^{-1} + ۰/۱ mgl^{-1}TDZ) و w3 (۲ mgl^{-1} BAP + ۰/۱mgl^{-1}Kin) نداشت (شکل‌های ۱ و ۲).

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس اثر محیط‌های پایه و ترکیب‌های تنظیم‌کننده رشد مختلف بر روی شاخه‌زایی

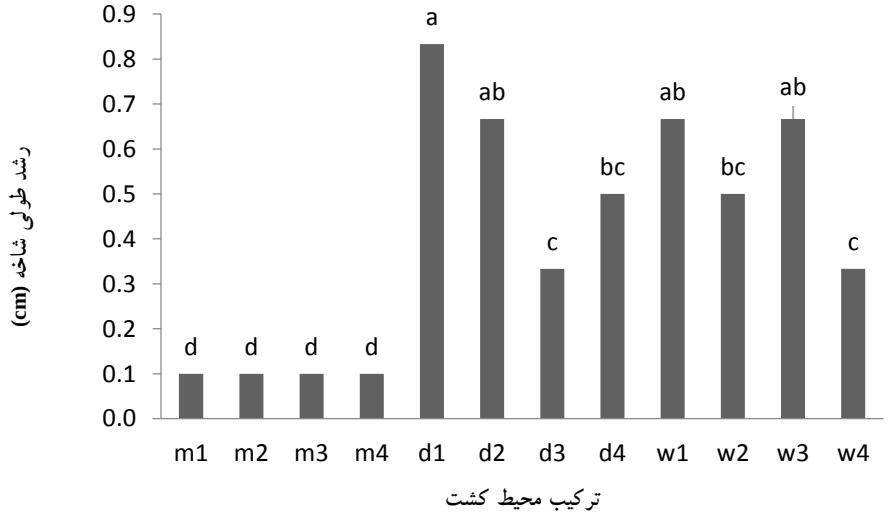
منابع تغییر	درجه آزادی	MS	
		تعداد شاخه	رشد طولی
محیط پایه (A)	۲	۹۳/۲۶**	۶/۲۰**
ترکیب تنظیم‌کننده رشد (B)	۳	۲۰/۸۹**	۰/۴**
A*B	۶	۱۵/۱۷**	۰/۳۳**
خطا	۱۶۶	۴/۳۸	۰/۰۷

**: معنی‌دار در سطح ۰/۰۱



شکل ۱- مقایسه میانگین اثر ترکیبات مختلف محیط کشت بر تعداد شاخه در هر تکرار به روش دانکن

نام کامل تیمارها (ترکیبات محیط کشت) در جدول ۱ آمده است. میانگین تیمارهایی که دارای حروف یکسان می‌باشند بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۱ درصد تفاوت معنی‌داری با هم ندارند.



شکل ۲- مقایسه میانگین اثر ترکیبات مختلف محیط کشت بر رشد طولی شاخه به روش دانکن

نام کامل تیمارها (ترکیبات محیط کشت) در جدول ۱ آمده است. میانگین تیمارهایی که دارای حروف یکسان می‌باشند بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۱ درصد تفاوت معنی‌داری با هم ندارند.

همانطور که در شکل ۳ نیز کاملاً مشاهده می‌گردد، تفاوت معنی‌داری بین محیط‌های کشت پایه DKW، MS و WPM با ترکیب تنظیم کننده‌های رشد مشابه (۰/۱ mgl^{-1}Kin +۱ mgl^{-1}TDZ + ۱ mgl^{-1}BAP) وجود دارد.

تعداد و طول شاخه در محیط کشت پایه DKW (شکل ۳- الف) به‌همراه ترکیب تنظیم کننده رشد (۰/۱ mgl^{-1}Kin +۱ mgl^{-1}TDZ + ۱ mgl^{-1}BAP) بهترین است.

شکل ۳- شاخه‌زایی در محیط‌های کشت پایه مختلف با تنظیم‌کننده‌های رشد ۰/۱ mgl^{-1}Kin +۱ mgl^{-1}TDZ + ۱ mgl^{-1}BAP

الف: محیط پایه DKW، ب: WPM و ج: MS

تیمارهای ریشه‌زایی در بهترین محیط کشت پایه انتخاب شده (DKW) اعمال گردید. از لحاظ تعداد و طول ریشه اصلی اختلاف معنی‌داری (P< ۰/۰۱) بین ترکیب‌های تنظیم کننده رشدی مختلف مورد استفاده مشاهده شد (جدول ۴). مقایسه میانگین داده‌ها بر اساس روش دانکن نشان داد که با توجه به تعداد ریشه اصلی، بهترین محیط پایه DKW به همراه ترکیب تنظیم کننده رشدی ۱ mgl^{-1}IBA+۰/۱ mgl^{-1}NAA می‌باشد (جدول ۵).

جدول ۴- نتایج تجزیه واریانس اثر ترکیبات تنظیم‌کننده رشد مختلف بر روی ریشه‌زایی

منابع تغییر	درجه آزادی	MS		
		طول ریشه اصلی	تعداد ریشه اصلی	تعداد ریشه فرعی
تیمار	۹	۲/۰۴**	۷/۱۶**	۴/۲۰ ns
خطا	۴۰	۰/۵۹	۰/۸	۲/۲۷

ns و **: به‌ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح ۰/۰۱

جدول ۵- مقایسه میانگین‌های عوامل رشد ریشه‌زایی تحت تأثیر محیط پایه کشت به روش دانکن

ردیف	نام تیمار ریشه‌زایی	تعداد ریشه اصلی	طول ریشه اصلی (cm)	تعداد ریشه فرعی
۱	۱ mgl^{-1}IBA	۲/۶ e	۲/۷ bc	۱/۴ ab
۲	۲ mgl^{-1}IBA	۳ de	۲/۹۷ abc	۱/۲ ab
۳	۳ mgl^{-1}IBA	۳ de	۳/۴۹ ab	۲/۶ a
۴	۱ mgl^{-1}NAA	۳/۲ cde	۲/۵ bc	۲/۸ a
۵	۲ mgl^{-1}NAA	۴/۲ bcd	۱/۸۹ c	۰/۲ b
۶	۳ mgl^{-1}NAA	۴/۴ bc	۲/۷ bc	۰ b
۷	۰/۵ mgl^{-1}NAA + ۰/۵ mgl^{-1}IBA	۴/۶ b	۲/۵۷ bc	۰/۸ ab
۸	۱/۵ mgl^{-1}NAA + ۱/۵ mgl^{-1}IBA	۴/۸ b	۲/۲ c	۱/۳ ab
۹	۰/۱ mgl^{-1}NAA + ۱ mgl^{-1}IBA	۶/۴ a	۱/۹ c	۱/۴ ab
۱۰	۰/۱ mgl^{-1}Kin + ۱ mgl^{-1}IBA	۲/۸ e	۳/۸۶ a	۰/۶ ab

میانگین تیمارهایی که دارای حروف یکسان می‌باشند بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۱ درصد تفاوت معنی‌داری با هم ندارند.

بهترین محیط برای ریشه‌زایی در شکل ۴- الف در محیط کشت پایه DKW به همراه ترکیب تنظیم کننده رشد ۱ mgl^{-1}IBA+۰/۱ mgl^{-1}NAA مشاهده شد. پس از ریشه‌زایی گیاهچه‌ها به گلدان منتقل گردید (شکل ۴- ب).

الف ب

شکل ۴- الف- ریشه‌زایی گیاه *M. communis* در محیط بهینه (MS+۱ mgl^{-1} IBA+۰/۱ mgl^{-1} NAA)، ب- مرحله انتقال به گلدان

بحث

محیط کشت پایه DKW تأثیر بیشتری بر روی تکثیر شاخه‌ها و رشد طولی گیاه *M. communis* داشت. یکی از عوامل تعیین کننده کارآیی محیط کشت، نوع املاح و مجموع قدرت یونی آن (McCown and Sellmer, 1987) می‌باشد. با توجه به اینکه قدرت یونی محیط کشت DKW بیشتر از قدرت یونی دیگر محیط‌های کشت پایه مورد بررسی در این تحقیق است (Mirjani *et al*., 2018)، در نتیجه *M. communis* نیاز به محیط کشتی با قدرت یونی بالا دارد. Simsekو همکاران (۲۰۱۷) در تحقیقی سه نوع محیط کشت MS، WPM و OM را بر ریزازدیادی و ریشه‌زایی مورد بررسی کردند و دریافتند که محیط کشت بهینه برای ریزازدیادی و ریشه‌زایی این گیاه، محیط WPM به همراه (به‌ترتیب) یک و یک میلی‌گرم در لیتر IBA بوده است.

بین تنظیم کننده‌های رشد مورد استفاده برای شاخه‌زایی بهترین ترکیب تنظیم کننده رشد یک میلی‌گرم در لیتر BA و یک میلی‌گرم در لیتر TDZ و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر IBA بود که تأثیر بیشتری در ضریب شاخه‌زایی در محیط کشت پایه DKW نشان داد. BA ازجمله تنظیم کننده‌های محرک رشد و تکثیر شاخه با قدرت ماندگاری بالاست و در غلظت‌های بالای این تنظیم کننده رشد، رشد شاخه‌های جانبی گیاه بدست می‌آید (Emam *et al*., 2015). همچنین پرآوری شاخه در محیط غنی از سیتوکنین اغلب نتیجه آزاد شدن جوانه جانبی از غلبه جوانه انتهایی است (Zamani *et al*., 2020) که با نتایج این آزمون همخونی دارد.

ŞAN و همکاران (۲۰۱۵) نیز اثر افزایشی تنظیم کننده رشد تیدیازرون را بر ضریب شاخه‌زایی مورد گزارش کرده بودند. در حالی‌که Scarpa و همکاران (۲۰۰۰) ترکیب تنظیم

کننده‌های رشد BA و NAA را بر میزان شاخه‌زایی مؤثرتر می‌دانستند. Khosh-Khui و همکاران نیز در محیط MS با ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر BA و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA شاخه‌زایی مناسب را بدست آوردند. Vincent و همکاران (۱۹۹۲) نشان دادند که ترکیب سیتوکینین‌ها، شاخه‌زایی *Thymus persicus* را از نمونه‌های سرشاخه‌ای بهبود می‌بخشد. بنابراین به نظر می‌رسد که این اختلاف در میزان تکثیر شاخه گیاه مورد، ناشی از تفاوت بین ژنوتیپ‌ها و همچنین فصل جمع‌آوری ریزنمونه باشد.

در بین تیمارهای استفاده شده در این تحقیق برای ریشه‌زایی محیط کشت پایه، DKW حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر IBA و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر NAA نسبت به سایر تیمارها اثر افزایشی بیشتری بر تعداد ریشه اصلی داشت. در گزارش‌های محققان دیگر نیز تنظیم کننده رشد اکسین ایندول بوتیریک اسید بیشترین تأثیر را در ریشه‌زایی داشته است (Scarpa *et al*., 2000, San *et al*., 2015, Ibrahim *et al*., 2017)

Khosh-Khui و همکاران (۱۹۸۴) نیز ریشه‌زایی مناسب گیاه مورد را با تنظیم کننده رشدهای ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BA و ۰/۴ میلی‌گرم در لیتر NAA بدست آوردند.

در این تحقیق ریزازدیادی گیاه مورد به‌طور کامل تا انتقال به گلخانه انجام شد. در حالی که هدف اصلی تکثیر درون‌شیشه‌ای مورد به‌عنوان منبع ترکیبات ثانویه برای بدست آوردن مواد مؤثره آن، در آزمایشگاه بدون آسیب به رویشگاه گیاه می‌باشد تا با توجه به اهمیت گونه مورد از لحاظ دارویی و اقتصادی بتوان آن را در اختیار صنایع داروسازی و غذایی قرار داد.

منابع مورد استفاده:

– Akcam oluk. E., Çakir, A., Yasa, I., Çapanlar, S. and Kirmizigul, S., 2013. Comparison of the antimicrobial activity and essential oil content of wild and micropropagated *Origanum sipyleum* L.: A medicinal herb native to Turkey. Journal of medicinal plant research, 7(6): 230-233.

– Akhondi, M., Makarian, K. and Shabani, S. 2010. Morphological study and medicinal properties of case plant (*Myrtus commenis* L.), National Conference on Medicinal Plants, Sari, University Jahad of Mazandaran Branch. (In Persian)

– Driver, J. A and Kuniyuki, H. 1984. In vitro propagation of Paradox walnut root stocks (*J. hindsii*× *J. regia*). Hort Science, 19:507-509.

– Emam, M., Mirjani, L., Naraghi, T. S. and Keneshloo, H. 2015. Effects of medium, genotype and plant growth regulators on micropropagation of *Jatropha curcas*. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research. 23(2).182-191. (In Persian)

– Ibrahim, M. A., Al-aradi, H. J., Muhsen, K. A. and Ibrahim, A. 2017. Effect of some growth regulators on proliferation of myrtle (*Myrtus communis* L. cv. Local) plant by *in vitro* culture, AAB Bioflux. 9(2), 97–101.

– Ismaeeli, A., Eisvand, H., Rezaei Nejad, A., Samiei, K. and Zabeti, S.M. 2012. Study of indices and characteristics of seed germination and seed germination of medicinal plants *Myrtus communis*. Journal of Lorestan University of Medical Sciences. 14 (2). 1-11. (In Persian)

– Khosh-Khui, M., Shekafandeh, A., Azarakhsh, H. 1984. Micropropagation of myrtle. Scientia Horticulturae. 22: 139–146

– Lloyd, G. and McCown, B. 1980. Commercially-feasibible micropropagation of mountain laurel, Kalmia latifolia, by use of shoot-tip culture. Proc. Int. Plant Propag. Soc. 30: 421-427.

– McCown, B.H.; Sellmer, J.C. 1987. General media and vessels suitable for woody plant microculture. In: Bonga, J.M.; Durzan, D.J., eds. Cell and tissue culture in forestry, Vol. 1. General principles and biotechnology. Dordrecht, The Netherlands: Martin us Nijhoff Publishers: 4-14.

– Mirazadi, Z and Pilehvar, B. 2013. The Effects of Some Ecological Factors on *Myrtus communis* Distribution in Lorestan Province. Ecology of Iranian Forests. 1(2).1-11. (In Persian)

– Mirjani, L., Salimi, A., Matinizadeh, M., Razavi, K., Shahbazi, M. 2018. Effective factors on micropropagation of medicinal plant of *Satureja khuzistanica* Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research, 26 (1). 53-62. (In Persian)

– Murashige, T. and Skooge, F., 1962. A revised Medium for rapid growth and bio- assays with tobacco Tissue Culture. Physiologia Plantarum, 15: 473-597.

– Ruffoni B., Mascarello C., Savona M. 2010. In Vitro Propagation of Ornamental Myrtus (*Myrtus communis*). In: Jain S., Ochatt S. (eds) Protocols for

Agriculture Research 3(10): 2454-1850.
– Vincent, K.A., Mathew, K. M. and Hariharan, M., 1992. Micropropagation of *Kaemferia galanga* L. A medicinal plant. Cell Tissue and Organ Culture, 28: 229–230.
– Zamani, E., Dehestani-Ardakani, M., and Kamali Aliabad, K. 2020. Determination of optimized culture medium for micro-propagation of old cypress of Abarkuh, (*Cupressus semprvirens* var. *horizontalis*), in Iran. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research. 27 (2). 240-250. (In Persian)
– Zargari, A. 2013. Medicinal plants, University of Tehran Press, Iran. Tehran. Eighth edition. Volume II. 302-306. (In Persian)
In Vitro Propagation of Ornamental Plants. Methods in Molecular Biology (Methods and Protocols), Vol 589. Humana Press. New York. pp 257-269.
– San, B., Karakurt, Y., Dnmez, F. 2015. Effects of thidiazuron and activated charcoal on in vitro shoot proliferation and rooting of myrtle (*Myrtus communis* L.). Tarım Bilimleri Dergisi .Journal of Agricultural Sciences. 21. 177-183
– Scarpa, G.M., Milia, M., Satta, M. 2000. The influence of growth regulators on proliferation and rooting of in vitro propagated myrtle. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 62: 175–179.
– Şimşek, Ö. Biçen, B., Dönmez, D., Kaçar, Y. A. 2017. Effects of Different Media on Micropropagation and Rooting of Myrtle (*Myrtus communis* L.) *In Vitro* Conditions. International Journal of Environmental &

Effective factors of growth regulators on micropropagation of medicinal plant of *Myrtus communis* L.

L. Mirjani[1] and M. Emam[2]

1-* Corresponding author. Ph.D. Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, I.R. Iran. E-mail: mirjani@rifr-ac.ir
2- Assist. Prof., Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, I.R. Iran.

Received: 20.05.2020 Accepted: 01.11.2020

Abstract

Myrtus communis L. is a valuable medicinal, economic and ornamental. In recent years, unfortunately, improper use of this plant by profiteers due to obtain pure extracts and active essential oil, was extincted of natural locality of this plant. For this reason, its reproduction, especially through micropropagation, is an important step in conservation of its locality. The aim of this research is the study of medium and regulators influence on Myrtle micro propagation. Plant seeds were collected from Hajiabad region of Hormozgan province. The best medium for shoot regeneration was obtained DKW medium with BA, TDZ and Kinitin in 1, 1 and 0.1 mgl^{-1}, respectively. The best medium for root regeneration was determined MS medium with 1 mgl^{-1}IBA and 0.1 mgl^{-1}NAA. It had the highest number of primary and secondary roots. Finally in this research the best micropropagation protocole of Myrtle was obtained.

Key Words: Myrtle, Plant growth regulator, In vitro regeneration and Medium