اثر تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی بر باززایی مستقیم ریزنمونه نوک شاخه در چهار ژنوتیپ از گیاه بابونه آلمانی (*Matricaria chamomilla* L.)

الهام مرادی پور [۱]، بهمن حسینی [۱*] و علیرضا پیرزاد [۲]

[۱] ارومیه، دانشگاه ارومیه، دانشکده کشاورزی، گروه علوم باغبانی

[۲] ارومیه، دانشگاه ارومیه، دانشکده کشاورزی، گروه زراعت

تاریخ دریافت: ۹۴/۴/۱۴ تاریخ پذیرش: ۹۴/۹/۱۶

چکیده

بابونه (*Matricaria chamomilla* L.)، گیاه دارویی مشهور خانواده آستراسه است که نام آن در دارونامه‌های ۲۶ کشور ذکر شده است. تحقیق حاضر به منظور شناسایی، بهترین نوع و ترکیب تنظیم‌کننده رشد در چهار ژنوتیپ بومی مورد مطالعه و همچنین تدوین دانش فنی کشت درون شیشه‌ای آن انجام گردید. در این آزمایش اثر دو نوع تنظیم‌کننده رشد شامل N_6- Benzyl amino purine (BAP) و Thidiazuron (TDZ) در غلظت‌های (۴/۴ و ۸/۸ میکرومولار) در ترکیب با ۲/۲ میکرومولار 3- Indol Acetic Acid (IAA) بر باززایی مستقیم شاخساره از ریزنمونه نوک شاخه در چهار ژنوتیپ بابونه آلمانی اصفهان، ارومیه، اشنویه و شاهین‌دژ بررسی شد. نتایج آنالیز داده‌ها نشان داد که بیشترین درصد باززایی در ژنوتیپ اصفهان (۹۲/۴۸ درصد)، در محیط کشت پایه MS حاوی ۴/۴ میکرومولار BAP در ترکیب با ۲/۲ میکرومولار IAA و حداکثر میانگین باززایی شاخساره در هر ریزنمونه (۲۵ شاخساره) در ژنوتیپ ارومیه، در تیمار ۴/۴ میکرومولار BAP در ترکیب با ۲/۲ میکرومولار IAA مشاهده گردید. ریشه‌زایی گیاهچه‌های باززایی شده، در محیط کشت پایه MS و MS ۱/۲ عاری از تنظیم کننده‌های رشد و همچنین در ترکیب با غلظت‌های ۰/۵ و ۱ میکرومولار IBA و ۰/۵ و ۱ میکرومولار IAA بررسی گردید. نتایج تجزیه واریانس نشان داد حداکثر درصد ریشه‌زایی (۱۰۰ درصد) در محیط‌های MS ۱/۲ (۱/۲ غلظت عناصر محیط MS) عاری از تنظیم‌کننده رشد و MS تکمیل شده با ۰/۵ و ۱ میکرومولار IBA قابل مشاهده می‌باشد. بیش از ۹۰ درصد گیاهچه‌ها به شرایط گلخانه سازگار شدند.

واژه های کلیدی: بابونه آلمانی، باززایی مستقیم، ژنوتیپ، BAP و TDZ.

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۴۴۳۲۷۷۵۰۳۵، پست الکترونیکی: b.hosseini@urmia.ac.ir

مقدمه

بابونه آلمانی با نام علمی *Matricaria chamomilla* L. گیاهی علفی، یک ساله و متعلق به تیره کاسنی است. اسانس گل‌های آن در صنایع داروسازی، آرایشی، بهداشتی و صنایع غذایی کاربرد فراوان دارد (۲ و ۶). منشأ اصلی این گیاه مدیترانه، ولی امروزه پراکندگی وسیعی در اروپا، آسیای غربی، آفریقای‌شمالی و آمریکای‌شمالی دارد (۴ و ۲۱). اسانس گل‌های بابونه آبی رنگ و مقدار آن بین ۰/۲ تا ۵/۹ درصد در گل‌ها متغیر می‌باشد (۲۳و ۲۹). در اسانس بابونه حدود ۴۰ نوع ترکیب شیمیایی شناسایی شده است که مهمترین آنها کامازولن، بیسابولول، بیسابولول‌اکسید، پاراسیمن، بتا اوسیمن، بتا–فارنزن می‌باشد که در مجموع ۷۵ درصد از ترکیب اسانس را به خود اختصاص داده‌اند (۱۱ و ۲۲). با توجه به اینکه امروزه روش‌های قدیمی و سنتی تکثیر و اصلاح گیاهان به تنهایی جوابگوی بسیاری

از نیازها نمی‌باشد، لازم است روش‌های جدیدتری جایگزین یا تکمیل‌کننده روش‌های قبلی، مورد استفاده قرار گیرد. یکی از وسیع‌ترین کاربردهای زیست فن‌آوری، در زمینه کشت بافت است (۹). از میان جنبه‌های مختلف کشت بافت، ریزازدیادی از اهمیت بسیار زیادی برخوردار می‌باشد. این تکنیک از نظر صرفه‌جویی در زمان، راندمان بیشتر، امکان تولید گیاهان عاری از بیماری و مواد تکثیر-شده خالص، بسیار کارآمد می‌باشد. همچنین این روش حفظ و انتقال ایمن‌تر ژرم پلاسم را بین کشورها، مطمئن و راحت‌تر کرده است (۱۳). در ارتباط با موفقیت تولید گیاهان در شرایط درون شیشه‌ای، فاکتورهای متعددی نظیر ژنوتیپ، نوع ریزنمونه، نوع و غلظت تنظیم‌کننده‌های رشد، مکمل‌های رشد و اسیدهای آمینه مؤثر می‌باشند (۳ و ۲۵). Rout و همکاران (۲۴) گزارش کردند که کاربرد غلظت-های پایین اکسین در ترکیب با سایتوکینین میزان تکثیر شاخساره را افزایش می‌دهد. پرآوری شاخساره بیشتر تحت تأثیر سایتوکینین است و نتایج نشان داده است که عدم حضور سایتوکینین‌هایی مانند BAP(N_6-benzylaminopurine)، Kin(Kinetin) و حضور IAA(Indol acetic acid) به تنهایی تأثیری در پرآوری شاخساره ندارد. نتایج اولیه Cellarova و همکاران (۱۹۸۲) نشان داد که جهت القای باززایی از کالوس‌های القاء شده بابونه در محیط کشت درون شیشه‌ای، حداکثر باززایی در محیط کشت حاوی ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر BAP ثبت گردید (۹). در گیاه دارویی نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.)، حداکثر میزان تولید شاخساره از نمونه گره-های کشت شده در محیط MS تکمیل شده با ۴/۴ میکرومولار BAP ۴۹/۸ درصد گزارش شده است (۳۰). در مطالعه دیگر جهت ازدیاد درون شیشه‌ای گیاه *Pentanema indicum* بهترین محیط تنظیم‌کننده رشدی ۴ میکرومولار BAP در ترکیب با ۱ میکرومولار IAA گزارش شد (۲۸). مطالعات Murck و همکاران (۲۰۰۰)، در بررسی اثر تنظیم‌کننده‌های رشد شامل BAP و TDZ(Thidiazuron) در ترکیب با IAA بر روی باززایی مستقیم گل راعی (*Perforatum Hyppericum*) گزارش گردید که بالاترین درصد باززایی شاخساره از ریزنمونه هیپوکوتیل در محیط کشت پایه MS حاوی ۵ میکرومولار TDZ به‌دست آمد (۱۸). برای باززایی مستقیم در گیاه *Arnebiae uchroma* بالاترین درصد باززایی شاخساره از ریزنمونه برگ در محیط حاوی ۵ میکرومولار TDZ مشاهده شد (۱۶).

دامنه وسیعی از ظرفیت تولیدمثلی در سلسله گیاهان وجود دارد. معمولا تولید مثل گیاهان دولپه‌ای نسبت به تک لپه-ای‌ها بهتر می‌باشد. بین گیاهان یک گونه نیز تفاوت‌های زیادی در تقسیم سلولی و توان تولیدمثلی وجود دارد (۳). در تحقیقی که به منظور بررسی اثرات ژنوتیپ و تنظیم-کننده‌های رشد در کشت ریزنمونه‌های زوفا (*Hyssopus officinalis*) انجام گرفته بود، نشان داده شد که در بین ژنوتیپ‌های موجود، ریزنمونه‌های ژنوتیپ‌های همدان و مشهد با ۸۶ درصد شاخساره‌زایی دارای بیشترین درصد باززایی می‌باشند (۷). نتایج این تحقیق مشخص ساخت که ترکیب‌های تنظیم‌کننده رشدی ۴/۴ و ۲/۲ میکرومولار در لیتر BAP به ترتیب برای ژنوتیپ‌های همدان و مشهد بهترین ترکیب برای باززایی شاخساره از ریزنمونه گره هستند. در ژنوتیپ شیراز، بهترین نتیجه (۸۰ درصد) با ترکیب تنظیم‌کننده رشدی BAP با غلظت ۴/۴ میکرومولار گزارش گردید.

ریشه‌زایی توسط عوامل مختلفی مانند وجود تنظیم‌کننده-های رشد در محیط، سن و مرحله نموی گیاه، ترکیب نمک‌های پایه، ژنوتیپ و شرایط کشت کنترل می‌شود (۳). اکثر گیاهان برای باززایی مؤثر ریشه به اکسین نیازمندند. برای ریشه‌دهی گیاهان علفی اغلب از اکسین ضعیف (IAA) در غلظت‌های بین ۱۰- ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر استفاده می‌شود. گیاهان چوبی نسبت به گیاهان علفی، به غلظت بالاتر اکسین نیازمندند. بهترین اکسین‌های مؤثر

IBA در غلظت‌های بین ۳- ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر و NAA در غلظت‌های بین ۱- ۰/۰۵ میلی‌گرم در لیتر هستند (۱۴). Pavendan و Rajasekaran (۲۰۱۱) گزارش کردند که در گیاه *Eugenia singampattiana* بالاترین درصد ریشه‌زایی (۹۸درصد) و بیشترین تعداد ریشه در هر ریزنمونه و طویل ترین ریشه در محیط MS شامل ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP مشاهده شد (۲۰).

با توجه به اهمیت گیاه بابونه و کاربرد روز افزون آن در صنایع داروسازی، آرایشی و بهداشتی، عطر سازی و تهیه چاشنی‌های غذایی و لزوم تولید کلون‌های یکنواخت با درصد بالای متابولیت‌های ثانویه از طریق ریزازدیادی، تحقیق حاضر به منظور شناسایی بهترین ژنوتیپ، نوع و ترکیب تنظیم‌کننده رشد و شرایط مناسب محیطی و همچنین تدوین دانش فنی کشت درون شیشه‌ای آن انجام گرفته است.

مواد و روشها

مواد گیاهی: در این پژوهش چهار ژنوتیپ گیاه بابونه آلمانی در پژوهشکده زیست فن‌آوری دانشگاه ارومیه مطالعه گردید. بذور ژنوتیپ اصفهان از شرکت پاکان بذر واقع در شهر اصفهان خریداری شد. بذور ژنوتیپ‌های ارومیه، اشنویه و شاهین دژ توسط دکتر علیرضا پیرزاد از زیستگاه‌های طبیعی (جدول ۱) جمع‌آوری گردید.

جدول ۱- مختصات جغرافیایی نمونه‌های جمع آوری شده

شهر	شمال	شرق	ارتفاع
ارومیه	36° 25′ 47"	46° 04′ 25"	۱۵۸۵
اشنویه	37° 09′ 01"	45° 08′ 15"	۱۶۵۰
شاهین‌دژ	36° 47′ 42"	45° 08′ 48"	۱۶۱۰

محیط کشت پایه و شرایط رشد: در این مطالعه از محیط کشت پایه MS (۱۷) حاوی ویتامین B_5 (نیکوتینیک اسید، تیامین و پیریدوکسین) شرکت زیست آرمان سبز استفاده گردید. ۳۰ گرم ساکارز و ۷ گرم آگار به محیط کشت پایه اضافه و pH محیط کشت بین ۵/۶ تا ۵/۸ تنظیم گردید. کلیه محیط‌های کشت و گیاهچه‌ها در اتاق رشد با دمای ۲۴±۲ درجه سانتی‌گراد و در شرایط دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی با شدت نور ۳۰۰۰ لوکس نگهداری شدند.

ضد عفونی و کشت بذرها: به‌منظور حذف آلودگی‌های سطحی بذرها در زیر آب جاری به‌مدت نیم ساعت قرار گرفتند و سپس جهت سترون‌سازی در زیر هود لامینارفلو از اتانول ۷۰ درصد به مدت ۱ دقیقه و هیپوکلریت سدیم (NaClO3) در غلظت ۵ درصد حجمی (v/v) به مدت ۱۰ دقیقه استفاده گردید و سپس سه مرتبه آبشویی با آب مقطر سترون انجام شد. بذرها در محیط کشت MS حاوی ویتامین‌های B5 درون پتری‌دیش کشت شدند. بذرها پس از ۹ روز جوانه زدند و بعد از گذشت ۳ هفته از کاشت بذور در شیشه، ریزنمونه نوک شاخه از گیاهچه‌ها تهیه شد.

بررسی اثر ترکیب‌های مختلف هورمونی بر باززایی شاخساره ۴ ژنوتیپ بابونه آلمانی: این آزمایش به صورت فاکتوریل و در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی در سه تکرار اجرا شد. تیمارهای آزمایش نوع ژنوتیپ در چهار سطح (اصفهان، ارومیه، اشنویه و شاهین دژ) و تنظیم‌کننده رشد در دو نوع (BAP و TDZ) و غلظت‌های مورد استفاده از TDZو BAP در دو سطح (۴/۴ و ۸/۸ میکرومولار در لیتر) به همراه ۲/۲ میکرومولار IAA در محیط کشت MS حاوی ویتامین‌های B5 بودند. پس از گذشت ۹ هفته و انجام ۳

بار واکشت، درصد و میانگین باززایی مستقیم شاخساره در هر ژنوتیپ در هر تیمار آزمایش و حداکثر شاخه‌زایی در هر تیمار ثبت گردید.

ریشه‌زایی: این آزمایش به‌منظور بررسی اثر تنظیم‌کننده‌های رشد IBA و IAA بر میزان ریشه‌زایی گیاهچه‌های باززایی شده ژنوتیپ اصفهان در آزمایشگاه انجام گرفت و سه ژنوتیپ باقی مانده مورد بررسی آزمایش ریشه‌زایی قرار نگرفتند. ریشه‌زایی گیاهچه‌های باززایی شده، در دو محیط پایه MS و MS ۱/۲ (حاوی نصف غلظت عناصر محیط MS) حاوی غلظت‌های ۰، ۰/۵ و ۱ میلی گرم در لیتر IBA و ۰، ۰/۵ و ۱ میلی گرم در لیتر IAA بررسی گردید. آزمایش فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد. در پایان واکشت‌ها درصد ریشه‌زایی و طول ریشه‌ها اندازه‌گیری گردید.

سازگاری

به‌منظور استقرار گیاهچه‌های ریشه‌دار شده ژنوتیپ اصفهان از مرحله باززایی، از بستر پرلیت اتوکلاو شده استفاده گردید. در ابتدا گیاهچه‌ها را داخل لیوان‌های پلاستیکی حاوی پرلیت قرار داده و سپس به منظور حفظ رطوبت، داخل جعبه پلاستیکی درب‌دار قرار داده و جعبه به گلخانه انتقال داده شد. برای آبیاری برگی گیاهچه‌های در حال سازگاری از محلول MS ۱/۲ استفاده شد و کف جعبه دو الی سه سانتی‌متر آب ریخته تا گیاه بتواند از کف جعبه آب جذب کند. روزانه دو الی سه ساعت درپوش جعبه پلاستیکی برداشته شد تا گیاه به شرایط گلخانه با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد با رطوبت نسبی ۹۰ درصد سازگار شود. سازگاری به تدریج و طی ۴ هفته صورت گرفت و گیاهچه‌ها از داخل جعبه به داخل گلدان حاوی خاک سبک منتقل و در فضای گلخانه با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و طول دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی استقرار یافتند.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها و نرم‌افزارهای مورداستفاده: تجزیه واریانس داده‌های آزمایش براساس امید ریاضی طرح پایه و با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS ورژن ۹/۱ و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۱ درصد انجام گرفت.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر غلظت‌های مختلف هورمون، ژنوتیپ و اثرات متقابل آن‌ها بر درصد باززایی شاخساره درسطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). این نتایج نشان داد که اختلاف معنی‌داری در بین ژنوتیپ‌های مورد استفاده جهت ازدیاد در شرایط درون شیشه وجود دارد.

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس باززایی گیاه بابونه آلمانی

منابع تغییرات	درجات آزادی	میانگین مربعات	
		درصد باززایی	میانگین باززایی
ژنوتیپ (a)	۳	۳۰۴/۶۹**	۳۴۷/۷۴۲**
تیمار هورمونی (b)	۴	۱۲۲۵۹/۳۴ **	۵۷۱/۸۲۲**
اثر متقابل (a×b)	۱۲	۴۹۳/۳۹**	۴۹/۵۷**
اشتباه آزمایشی		۴۰	۲/۴۷
ضریب تغییرات (درصد)		۶/۵۶۱	۱۱/۶۴

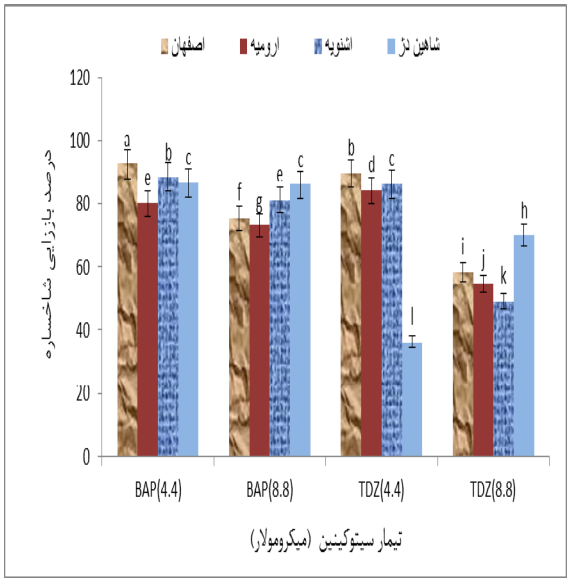
اثر ترکیب‌های هورمونی و نوع ژنوتیپ بر درصد باززایی شاخساره بابونه آلمانی: آنالیز داده‌ها نشان داد که ژنوتیپ‌های مورد استفاده از نظر میزان درصد باززایی دارای اختلاف معنی‌داری می‌باشند (جدول ۲ و ۳). حداکثر باززایی در ژنوتیپ اصفهان و حداقل باززایی در ژنوتیپ شاهین‌دژ ثبت گردید. در ژنوتیپ اصفهان بیشترین درصد باززایی ۹۲/۴۸ درصد و کمترین درصد باززایی ۵۸/۴۷ درصد به ترتیب در محیط کشت MS حاوی ۴/۴ میکرومولار BAP و محیط کشت MS حاوی ۸/۸ میکرومولار TDZ مشاهده گردید (شکل ۱). در ژنوتیپ ارومیه حداکثر درصد باززایی با ۸۴/۲۱ درصد در محیط MS تکمیل شده با ۴/۴ میکرومولار TDZ و کمترین درصد باززایی۵۴/۷۳ درصد در محیط MS حاوی ۸/۸ میکرومولار TDZ مشاهده گردید. در ژنوتیپ اشنویه بیشترین درصد باززایی با ۸۸/۳۲ درصد در محیط MS تکمیل شده با ۴/۴ میکرومولار BAP و کمترین مقدار آن ۴۹/۲۶ درصد در محیط کشت MS حاوی ۸/۸ میکرومولار TDZ به‌دست آمد. در ژنوتیپ شاهین‌دژ بیشترین درصد باززایی ۸۶/۵۵ درصد در محیط کشت حاوی ۴/۴ میکرومولار BAP و کمترین درصد باززایی ۳۶/۳۱ درصد در محیط MS حاوی ۴/۴ میکرومولار TDZ مشاهده گردید (جدول ۳).

اثر ترکیب‌های هورمونی و نوع ژنوتیپ بر میانگین باززایی شاخساره بابونه آلمانی: در بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه‌ژنوتیپ اشنویه با میانگین، ۱۶/۵ گیاهچه در هر ریزنمونه در مجموع ۴ تیمار هورمونی حداکثر شاخه‌زایی را در بین ژنوتیپ‌های مورد نظر نشان داد. ژنوتیپ‌های ارومیه، شاهین‌دژ و اصفهان به ترتیب با میانگین ۱۵/۱۳، ۱۱/۰۴ و ۶/۲۷ گیاهچه در هر ریزنمونه در ۴ تیمار آزمایش در رده‌های بعدی قرار گرفتند (شکل ۲).

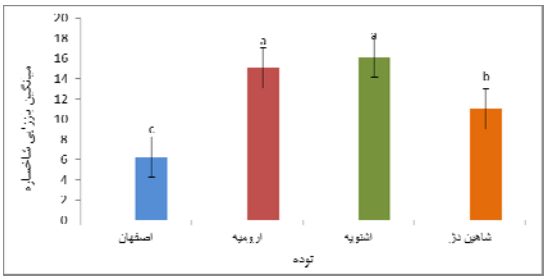
جدول ۳- بررسی اثر ژنوتیپ، نوع و غلظت تنظیم کننده های رشد بر میزان باززایی ریزنمونه نوک شاخه گیاه بابونه آلمانی.

غلظت تنظیم‌کننده‌های رشد در محیط کشت MS	ژنوتیپ	درصد باززایی شاخساره(٪)	میانگین باززایی شاخساره (گیاهچه در هر ریزنمونه)
۴/۴ BAP + ۲/۲ IAA	اصفهان	۹۲/۴۸ a	۱۰/۳۳d
۴/۴ BAP + ۲/۲ IAA	ارومیه	۸۰e	۲۳ab
۴/۴ BAP + ۲/۲ IAA	اشنویه	۸۸/۳۲b	۲۵a
۴/۴ BAP + ۲/۲ IAA	شاهین دژ	۸۶/۵۵c	۱۶/۵c
۸/۸ BAP + ۲/۲ IAA	اصفهان	۷۵/۴۲f	۸/۴۰e
۸/۸ BAP + ۲/۲ IAA	ارومیه	۷۳/۰۴g	۲۱b
۸/۸ BAP + ۲/۲ IAA	اشنویه	۸۱/۲۵e	۲۳ab
۸/۸ BAP + ۲/۲ IAA	شاهین دژ	۷۶/۰۶c	۱۴/۵cd
۴/۴ TDZ + ۲/۲ IAA	اصفهان	۸۹/۵۹b	۳/۸۳fg
۴/۴ TDZ + ۲/۲ IAA	ارومیه	۸۴/۲۱d	۱۰d
۴/۴ TDZ + ۲/۲ IAA	اشنویه	۸۶/۲۰c	۱۰/۵d
۴/۴ TDZ + ۲/۲ IAA	شاهین دژ	۳۶/۳۱l	۵/۱۵f
۸/۸ TDZ + ۲/۲ IAA	اصفهان	۵۸/۴۷i	۲/۵g
۸/۸ TDZ + ۲/۲ IAA	ارومیه	۵۴/۷۳j	۶/۵ef
۸/۸ TDZ + ۲/۲ IAA	اشنویه	۴۹/۲۶k	۶f
۸/۸ TDZ + ۲/۲ IAA	شاهین دژ	۷۰h	۸e

حروف غیر مشابه نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد می‌باشند.



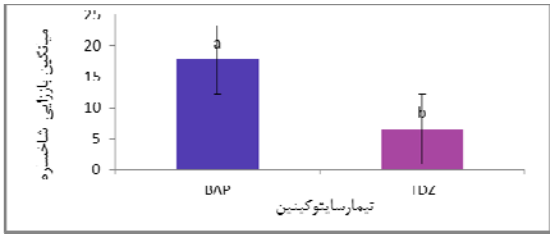
شکل ۱- تأثیر ژنوتیپ‌های مختلف و محیط هورمونی بر درصد باززایی شاخساره از ریزنمونه نوک شاخه بابونه آلمانی. حروف غیر مشابه نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد می باشد.



شکل ۲- تأثیر ژنوتیپ‌های مختلف بر میانگین باززایی شاخساره از ریزنمونه نوک شاخه گیاه بابونه آلمانی. حروف غیر مشابه نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد می باشند.

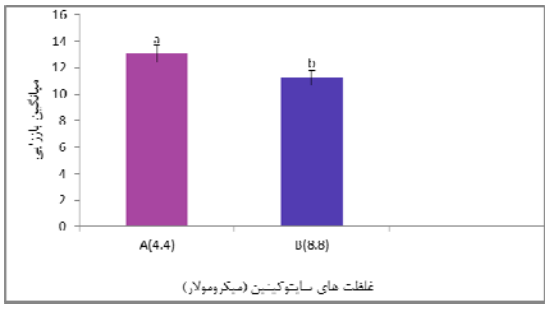
در میان دو نوع هورمون سیتوکینینی BAP و TDZ، بیشترین میانگین باززایی شاخساره با ۱۷/۷۲ گیاهچه در هر ریزنمونه به هورمون BAP اختصاص داشت. هورمون TDZ دارای میانگین ۶/۵۶ گیاهچه در هر ریزنمونه در تیمارهای مورد مطالعه بود (شکل ۳). این مطالعه آشکار ساخت که در بابونه آلمانی هورمون‌های مورد استفاده دارای اثرات متفاوت معنی‌دار در میانگین باززایی شاخساره می‌باشند.

اثر متقابل بین محیط کشت پایه، نوع و غلظت‌های مختلف تنظیم‌کننده رشدی بر درصد باززایی شاخساره در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود، اما اثر ژنوتیپ، نوع و غلظت‌های مختلف تنظیم‌کننده رشدی هر کدام به تنهایی بر میانگین باززایی شاخساره در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود.

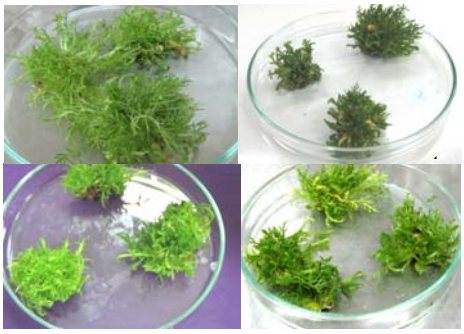


شکل ۳- مقایسه میانگین باززایی شاخساره ازریزنمونه نوک شاخه گیاه بابونه آلمانی تحت تاثیر سیتوکینین‌های BAP و TDZ. حروف غیر مشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد می‌باشند.

آنالیز غلظت‌های مختلف هورمونی نیز نشان داد که اختلاف معنی‌داری در بین غلظت‌های مورد استفاده برای دو هورمون مورد استفاده TDZ و BAP وجود دارد. غلظت ۴/۴ میکرومولار با ۱۳/۰۴ گیاهچه در هر ریزنمونه نسبت به غلظت ۸/۸ میکرومولار با ۱۱/۲۴ گیاهچه در هر ریزنمونه، غلظت بهینه جهت تولید شاخساره در بابونه آلمانی از ریزنمونه نوک شاخه مشخص گردید (شکل های ۴ و ۵).



شکل -۴ تأثیر غلظت‌های مختلف هورمونی بر میانگین باززایی شاخساره از ریزنمونه نوک شاخه گیاه بابونه آلمانی. A: غلظت ۴/۴ میکرومولار دو هورمون BAP و TDZ، B: غلظت ۸/۸ میکرومولار دو هورمون BAP و TDZ. حروف غیر مشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند.



شکل ۵- مقایسه باززایی ژنوتیپ‌های مختلف بابونه آلمانی در محیط MS حاوی۴/۴ میکرومولار BAP. الف: ژنوتیپ اصفهان ب: ژنوتیپ اشنویه ج: ژنوتیپ ارومیه د:شاهین دژ

جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل بین دو محیط MS و۱/۲ MS (غلظت نمک) و مقادیر مختلف تنظیم‌کننده رشدی IBA و IAA و اثر متقابل آن‌ها بر درصد ریشه‌زایی در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۴).

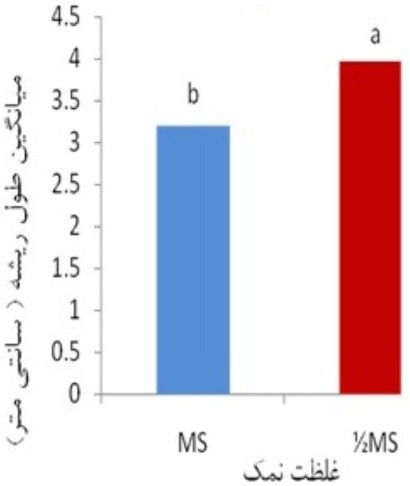
درصد ریشه‌زایی: مقایسه میانگین داده‌های آزمایش نشان داد که حداکثر درصد ریشه‌زایی ۱۰۰ درصد در محیط کشت MS، حاوی ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم در لیتر IBA و محیط کشت ۱/۲ MS فاقد هورمون و کمترین درصد ریشه‌زایی ۸۳ درصد در محیط کشت MS حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر IAA مشاهده شد (جدول ۵).

جدول ۴- تجزیه واریانس درصد ریشه‌زایی و طول ریشه در پاسخ به انواع غلظت نمک و تیمارهای تنظیم‌کننده رشد.

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات (MS)	
		درصدریشه زایی	میانگین طول ریشه(cm)
غلظت نمک(A)	۱	۱۴/۷۰ **	۴/۵۱۶ ns
غلظت هورمونی(B)	۵	۸۱/۶۴**	۰/۵۶۶ ns
A×B	۵	۱۳۳/۱۷**	۰/۵۰۶ ns
اشتباه آزمایشی	۲۰	۰/۷۰	۰/۶۹۴
برش دهی اثر متقابل(A×B)			
1/2 MS	۵	۴۹/۱۷۶ **	۰/۵۳۹ ns
MS	۵	۱۶۵/۶۳۶**	۰/۵۳۴ ns
ضریب تغییرات (CV%)		۰/۸۸۹	۲۳/۲۵۱

ns، **: به ترتیب نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد می‌باشد.

میانگین طول ریشه: جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثر تیمارهای مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد IBA و IAA و اثر متقابل آن با غلظت نمک‌های ماکرو و میکرو محیط کشت MS، بر طول ریشه‌های تشکیل شده در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار نمی‌باشد و تنها اثر غلظت نمک در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۴). میانگین طول ریشه در محیط 1/2 MS و MS به ترتیب ۳/۹۳ و۳/۱۲ سانتی‌متر گزارش شد (شکل های ۶ و ۷).



شکل ۶- مقایسه میانگین‌های طول ریشه تحت تأثیر غلظت نمک درگیاهچه‌های بابونه آلمانی ژنوتیپ اصفهان. حروف غیر مشابه نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد در بین میانگین‌ها می‌باشند.

سازگاری به شرایط گلخانه به تدریج و طی ۴ هفته صورت گرفت. بیش از ۹۰ درصد از گیاهچه‌ها در شرایط سازگاری زنده مانده و پس از انتقال به گلدان در شرایط گلخانه قرار گرفتند (شکل ۸).

شکل ۷- مقایسه محیط‌های مختلف از لحاظ ریشه زایی در گیاه بابونه آلمانی
الف: گیاهچه ریشه‌دارشده در محیط 1/2 MS پس از سه هفته ب: گیاهچه ریشه‌دار شده در محیط MS پس از سه هفته

شکل ۸- گیاهچه در حال سازگاری بابونه آلمانی ژنوتیپ اصفهان در شرایط سازگاری.

بحث

در ارتباط با موفقیت تولید گیاهان در شرایط درون شیشه-ای، فاکتورهای متعددی نظیر ژنوتیپ، نوع ریز نمونه، نوع تنظیم‌کننده‌های رشد و غلظت و ترکیب آنها، مکمل‌های رشد و اسیدهای آمینه مؤثر می‌باشند (۳). سیتوکینین‌ها باعث تسریع تقسیم سلولی، تشکیل اندام هوایی و ریخت-زایی می‌شوند. در حالی که اکسین‌ها برای القای رشد و طویل‌شدن در سلول و به شکل متداول برای ریشه‌زایی مورد استفاده قرار می‌گیرد. سیتوکینین‌های مورد استفاده اغلب کینتین یا BAP می‌باشند (۸).

جدول ۵- تأثیر غلظت نمک‌ها و تیمارهای مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد بر درصد ریشه‌زایی گیاهچه‌های بابونه آلمانی ژنوتیپ اصفهان.

	تیمار هورمونی	درصد ریشه زایی
MS	IAA_0	۸۸[c]
	$IAA_{0.5}$	۹۵[b]
	IAA_1	۸۳[d]
	IBA_0	۸۸[c]
	$IBA_{0.5}$	۱۰۰[a]
	IBA_1	۱۰۰[a]
1/2 MS	IAA_0	۱۰۰[a]
	$IAA_{0.5}$	۸۸[c]
	IAA_1	۹۵[b]
	IBA_0	۱۰۰[a]
	$IBA_{0.5}$	۹۵[b]
	IBA_1	۹۵[b]

حروف غیر مشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد در بین میانگین‌ها می‌باشند.

ترکیب‌های اکسین به‌طور متداول در ترکیب با سیتوکینین مورد استفاده قرار می‌گیرند. با اعمال تغییراتی در نوع و غلظت نسبی اکسین‌ها و سیتوکینین‌ها در محیط کشت، امکان القای رشدهای تمایز نیافته و با ریخت‌زایی فراهم می‌گردد (۱۰). هورمون‌های سیتوکینینی نظیر، BAP وKin در ترکیب با غلظت‌های خیلی کم از هورمون‌های اکسینی مانند، IAA و NAA برای شاخساره‌زایی تعداد بی‌شماری از گیاهان مورد استفاده قرار گرفته است (۱۲،۲۰و۳۳).

در این پژوهش بیشترین نرخ باززایی مستقیم شاخساره در محیط MS حاوی ۴/۴ میکرومولار BAP در ترکیب با ۲/۲ میکرومولار IAA و کمترین نرخ باززایی در محیط MS حاوی ۴/۴ میکرومولار TDZ در ترکیب با ۲/۲ میکرومولار IAA مشاهده شد. در ازدیاد درون شیشه‌ای گیاه علفی *Pentanema indicum*، بهترین محیط هورمونی ۴ میکرومولار BAP در ترکیب با ۱ میکرومولار IAA گزارش شد (۲۸). جهت باززایی مستقیم در گیاه *Centaurium eryyhraea* بالاترین درصد باززایی شاخساره از ریزنمونه مریستم انتهایی در محیط حاوی ۴/۴ میکرومولار BAP مشاهده شد که با نتایج این بررسی مطابقت داشت (۳۱). باززایی یک فرآیند فوق العاده پیچیده است که عوامل متعدد کمی و کیفی مانند خصوصیات ژنتیکی گیاه، موقعیت اولیه قلمه روی گیاه، سن قلمه، فصل، سال، میزان هورمون‌های درون‌زا، اندازه قلمه، مقدار مواد تنظیم‌کننده رشد و غیره بر آن تأثیر می‌گذارند هورمون BAP به عنوان یک هورمون سیتوکینی قوی در مطالعات شناخته شده است و در اغلب تحقیقات کشت بافت گیاهی جهت بهبود باززایی مستقیم مورد استفاده قرار می‌گیرد.

Murck و همکاران (۲۰۰۰)، در بررسی اثر تنظیم‌کننده‌های رشد شامل BAP، IAA و TDZ بر روی باززایی مستقیم گل راعی گزارش کردند که بالاترین درصد باززایی شاخساره از ریزنمونه هیپوکوتیل در محیط هورمونی حاوی ۵ میکرومولار TDZ به دست آمد (۱۸). TDZ نسبت به BAP و IAA در باززایی مؤثرتر بودکه با نتایج این مطالعه مغایرت داشت. جهت باززایی مستقیم در گیاه *Arnebia euchroma*، بالاترین درصد باززایی شاخساره از ریزنمونه برگ در محیط حاوی ۵ میکرومولار TDZ ثبت گردیدکه با نتایج این مطالعه مغایرت نشان داد (۱۶). این مغایرت عمدتا به تفاوت‌های ژنتیکی گیاهان مورد مطالعه میتواند مربوط باشد و اثر مهم ژنوتیپ در قابلیت باززایی در شرایط درون شیشه باشد. در تحقیقی که به‌منظور بررسی اثر TDZ بر روی پرآوری شاخساره از ریزنمونه گره گیاه علفی *Psoralea corylifolia* صورت گرفته بود از غلظت‌های مختلف (۰/۵, ۱,۲,۳,۵میکرومولار) TDZ استفاده شد. بیشترین تعداد شاخساره ۱۳/۶ در هر ریزنمونه در محیط حاوی ۲ میکرومولار TDZ مشاهده گردید که با نتایج ما مطابقت داشت (۱۵). یکی از فاکتورهای مؤثر بر روی رشدونمو در کشت درون شیشه‌ای، تأثیر مواد گیاهی به ویژه ژنوتیپ می‌باشد. دامنه وسیعی از ظرفیت تولیدمثلی در سلسله گیاهان وجود دارد. معمولا تولید مثل گیاهان دولپه‌ای نسبت به تک‌لپه‌ای‌ها بهتر می‌باشد. بین گیاهان یک گونه نیز تفاوت‌های زیادی در تقسیم سلولی و توان تولیدمثلی وجود دارد (۳). در ژنوتیپ اصفهان بیشترین درصد باززایی در محیط MS حاوی ۴/۴ میکرومولار BAP در ترکیب با ۲/۲ میکرومولار IAA به دست آمد. بیشترین درصد باززایی در ژنوتیپ ارومیه در محیط حاوی ۴/۴ میکرومولار TDZ در ترکیب با ۲/۲ میکرومولار IAA گزارش شد. بیشترین درصد باززایی در ژنوتیپ اشنویه در محیط ۴/۴ میکرومولار BAP در ترکیب با ۲/۲ میکرومولار IAA گزارش شد. در ژنوتیپ شاهین‌دژ بیشترین درصد باززایی در محیط حاوی ۴/۴ میکرومولار BAP در ترکیب با ۲/۲ میکرومولار IAA مشاهده شد. در همین راستا، اصغری (۱۳۸۹) نشان داد که اثر ژنوتیپ‌های مختلف ریحان (*Ocimum basilicum*) بر درصد و میانگین باززایی معنی‌دار می‌باشد که مشابه همین نتایج در این مطالعه نیز مشاهده گردید (۱). مطالعه ۴ ژنوتیپ مختلف از ریحان

شامل ارومیه، همدان، اردبیل و مجارستان در محیط MS تکمیل شده با غلظت‌های متفاوت BAP (صفر، ۲/۵، ۵ و ۷/۵ میلی‌گرم در لیتر) بیشترین درصد باززایی را در ژنوتیپ مجارستان و در غلظت ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP با ۹۰ درصد و میانگین ۷/۱ گیاهچه در هر ریزنمونه ثبت کردند. کالوس‌زایی در ریزنمونه های مختلف رز گالیکا نیز تحت تأثیر هورمونی تغییر یافت و بالاترین درصد کالوس زایی در تیمارهای حاوی ۳-۲ میلی‌گرم توفوردی مشاهده گردید (۵). در تحقیقی که به منظور بررسی اثرات ژنوتیپ و تنظیم‌کننده‌های رشد در کشت ریزنمونه‌های زوفا (*Hyssopus officinalis*) انجام گرفته بود، نشان داده شد که در بین ژنوتیپ‌های موجود، ریزنمونه‌های ژنوتیپ‌های همدان و مشهد با ۸۶ درصد شاخساره‌زایی دارای بیشترین درصد باززایی می‌باشند. نتایج این تحقیق مشخص ساخت که ترکیبات هورمونی ۴/۴ و ۲/۲ میکرومولار در لیتر BAP به ترتیب برای ژنوتیپ‌های همدان و مشهد بهترین ترکیب برای باززایی شاخساره از ریزنمونه گره هستند. در ژنوتیپ شیراز بهترین نتیجه (۸۰ درصد) با ترکیب هورمونی BAP با غلظت ۴/۴ میکرومولار BAP گزارش گردید که با نتایج این مطالعه مطابقت دارد (۷). به‌نظر می‌رسد وجود تفاوت-های ژنتیکی در بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه و تاثیر غیر قابل انکار ژن‌های دخیل در فرآیند باززایی باعث وجود تغییرات متنوع درصد باززایی در بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه باشد.

اکثر گیاهان برای القای مؤثر ریشه‌زایی به اکسین نیازمندند. برای ریشه‌دهی گیاهان علفی اغلب از اکسین ضعیف (IAA) در غلظت‌های بین ۱۰-۰/۱ میلی‌گرم در لیتر استفاده می‌شود. گیاهان چوبی نسبت به گیاهان علفی، به غلظت بالاتر اکسین نیازمندند. به‌منظور القای ریشه در گیاهان علفی IBA در غلظت‌های بین ۳-۰/۵ میلی‌گرم در لیتر و NAA در غلظت‌های بین ۱-۰/۰۵ میلی‌گرم در لیتر مؤثر هستند (۱۴).

بیشترین درصد ریشه‌زایی، در محیط‌های حاوی MS ۱/۲ فاقد هورمون ، MS حاوی ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم در لیتر IBA مشاهده شد. بین MS و MS ۱/۲ اختلاف معنی‌داری ملاحظه می شود. در مطالعه روی ریشه‌زایی گیاهچه‌های تولید شده کشت بافتی گیاه *Alpinia officinarum* با سه نوع هورمون IAA، NAA و IBA در محیط 1/2 MS مشخص گردید بیشترین درصد ریشه‌زایی مربوط به هورمون IBA با غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر بود که با نتایج ما مطابقت داشت (۲۶). در ریشه‌زایی گیاهچه‌های ریزازدیادی شده *Hemides musindicus* ، *Spilanthes acmella* و *Naringi crenulata*، محیط کشت 1/2 MS حاوی ۱ میکرومولار IBA استفاده شد که با نتایج ما مطابقت داشت (۱۹، ۲۵ و ۲۷). Pavendan و Rajasekaram (۲۰۱۱)،گزارش کردند که در گیاه *Eugenia singampattiana*، بالاترین درصد ریشه‌زایی (۹۸ درصد) و بیشترین تعداد ریشه در هر ریزنمونه (۱۱/۶ عدد) و بلندترین طول ریشه (۶/۳ سانتیمتر) در محیط کشت MS حاوی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP مشاهده شد(۲۰). در ریشه‌زایی گیاهچه‌های پرآوری شده *Hydrastis camadensis* از غلظت‌های مختلف هورمون IBA استفاده شد. نتایج نشان داد بیشترین میزان توسعه ریشه در محیط 1/2 MS تکمیل شده با ۱ الی ۲ میکرومولارIBA به دست آمد. بیشترین درصد ریشه‌زایی (۶۳/۵ درصد) در غلظت ۲ میکرومولار با حدود ۳/۸ ریشه در هر ریزنمونه با متوسط ۸/۴ میلی‌متر به دست آمد. غلظت بهینه IBA برای ریشه‌زایی در این گیاه ۱ میکرومولار با ۵۸/۲ درصد ریشه‌زایی و بیش از ۴ ریشه در هر ریزنمونه به طول متوسط ۱۳/۲ میلی‌متر بوده است که با نتایج این مطالعه مطابقت دارد (۲۷).

نتیجه‌گیری نهایی

نتایج این مطالعه نشان داد که هم ژنوتیپ‌های مورد مطالعه و هم نوع و غلظت هورمون‌های مورد استفاده از

نظردرصد، میانگین باززایی و القای ریشه دارای تفاوت معنی‌دار می‌باشند. در بین ژنوتیپ‌های مورداستفاده، ژنوتیپ اصفهان دارای حداکثر باززایی شاخساره وژنوتیپ شاهین‌دژ دارای حداقل باززایی شاخساره بودند. در بین ترکیب‌های مورد استفاده جهت القای باززایی نیز، ترکیب ۴/۴ میکرومولار BAP، دارای قابلیت باززایی بالاتری نسبت به سایر ترکیب‌های مورد استفاده می‌باشد. همچنین محیط کشت پایه MS حاوی هورمون IBA، بالاترین درصد ریشه‌زایی را درژنوتیپ اصفهان تولید نمود.

منابع

۱- اصغری، ف. ۱۳۸۹. بررسی اثر ژنوتیپ، ریزنمونه و ترکیب‌های هورمونی مختلف در باززایی گیاه ریحان (*Ocimum basilicum*). رساله کارشناسی ارشد. گروه باغبانی، دانشگاه ارومیه.

۲-امیدبیگی، ر. ۱۳۸۷. رهیافت‌های تولید و فرآوری گیاهان دارویی. جلد سوم. انتشارات آستان قدس رضوی، ۴۰۰ صفحه.

۳- باقری، ه. و آزادی، پ. ۱۳۸۱. کشت بافت گیاهی: تکنیک‌ها و آزمایش‌ها (تالیف رابرتا اچ. اسمیت). چاپ اول. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد، ۱۵۴,

۴- رضانژاد، ف. و طراحی ، ر. ۱۳۹۲. اثر نور و تنظیم کننده های رشد گیاهی بر کالوس‌زایی و تجمع آنتوسیانین در کالوسهای حاصل از جداکشت‌های مختلف در رز گالیکا. پژوهشهای گیاهی. ۲(۲۶): ۱۸۴-۱۹۵.

۵-صمصام شریعت، ه. ۱۳۸۲. پرورش و تکثیر گیاهان دارویی. انتشارات مانی، ۲۰۰ صفحه.

۶-عزیزی، م. ۱۳۸۵. مطالعه چهاررقم بابونه *Matricaria chamomilla* L.) اصلاح شده در شرایط آب و هوایی ایران. مجله تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۲۲(۴): ۳۹۴-۳۸۶.

۷- علیزاده، م. ۱۳۹۰. بررسی فاکتورهای مؤثر در باززایی درون شیشه-ای گیاه زوفا (*Hyssopus officinalis* L.). پایان نامه کارشناسی ارشد. گروه باغبانی، دانشگاه ارومیه.

۸- فارسی، م. و ذولعلی، ج. ۱۳۸۴. بیوتکنولوژی گیاهی. انتشارات دانشگاه مشهد، ۵۷۰ صفحه.

۹- مشایخی، ک. ۱۳۸۶. جنین زایی رویشی گیاهی. انتشارات فراغی. ۴۸۳ صفحه.

10- Čellárová, E., Greláková, K., Repčák, M. and Hončariv, R., 1982. Morphogenesis in callus tissue cultures of some *Matricaria Achillea* Species. Biologia Plantarum. 24(6): 430-433.

11- Cemek, M., Kaga, S., Simsek, N., Buyukokuroglu, M.E. and Konuk, M., 2008. Antihyperglycemic and antioxidative potential of *Matricaria chamomilla* L. in streptozotocin-induced diabetic rats. The Japanese Society of Pharmacognosy and Springer. 62(3): 284-293.

12- Chen, D.H., Ye, H.C. and Li, G.F., 2000. Expression of chimeric arnesyl diphophate synthase genes in *artemisia annua* transgenic plant via *Agrobacterium tumefaciens* mediated transformation. Plant Science. 155: 179-185.

13- Dixon, R.A. and Gonzales, R.A., 1996. Handbook of Plant Tissue and Cell culture. Department of Botany, Mehta, A. R. MS. Univesity, BARODA. Plant Cell Culture, 800.

14- Edwin, R.F. and Paul, D.S., 1984. Plant propagation by tissue culture. Handbook and Directory of commercial laboratories. Exegetics Ltd. Eversley, Basingstok, Hants. RG27OQY, England, 700.

15- Faisal, M. and Anis, M., 2006. Thidiazuron induced high frequency axillary shoot multiplication in *Psoralea corylifolia*. Biologia Plantarum. 50(3): 437-440.

16- Malik, S., Sharma, S.h., Sharma, M. and Singh, A P., 2010. Direct shoot regeneration from intact leaves of *Arnebiae uchroma* (Royle) Johnston using thidiazuron**.** Cell Biology International. 34: 537–542.

17- Murashige, T. and Skoog, F., 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiology Plant. 15: 473-497.

18- Murck, S.J., Choffe, K.L.,Victor, J.M.R., Slimmon, T.Y., KrishnaRaj, S. and Saxena, P.K., 2000. Thidiazuron-induced plant regeneration from hypocotyl cultures of St. John's wort (*Hypericum perforatum*. cv 'Anthos'). Plant Cell Reports. 19(6): 576-581.

19- Patnaik, J. and Debata, B. K., 1996. Micropropagation of *Hemides musindicus* (L.) R. Br. through axillary bud culture. Plant Cell Report. 15: 427– 430.

20- Pavendan, P. and Rajasekaran, C.S., 2011. Effect of Different Concentrations of Plant Growth Regulators for Micropropagation of *Eugeniasingam pattiana* Beddome Endangered Tree Species. Research Journal of Botany. 6: 122-127.

21- Pirkhezri, M., Hassani, M.E. and Hadian, J., 2010. Genetic Diversity in Different populations of *Matricaria chamomilla* L. Growing in Southwest of Iran, Based on Morphological and RAPD Markers. Research Journal of Medicinal plant. 4(1): 1-13.

22- Rezaie, A., Mohajeri, D., Zarkhah, A. and Nazeri, M., 2012. Comparative assessment of *Matricaria chamomilla* and zink oxid on healing of experimental skin wounds on rats. Annals of Biological Research. 3(1): 550-560.

23- Roberson, D., Cristiane, L., Francine, L., Henrique, K. and Marguerite, Q., 2005. Plant regeneration from cotyledonary explants of *Eucalyptus cammaldulensis*. Agricultural Science. 62: 406-.

24- Rout, G.R., Saxena, C., Samantaray, S. and Das, P., 1999. Rapid clonal propagation of *Plumbago zeylanica* L. Plant Growth Regulators. 28: 1-4.

25- Saritha, K.V. and Naidu, C.V., 2008. Direct shoot regeneration from leaf explants of *Spilanthesacmella*. Biologia Plantarum. 52(2): 334-338.

26- Selvakkumar,C., Balakrishnan, A. and Lakshmi,B., 2007. Rapid *in vitro* micropropagation of *Alpinia officinarum* Hance, an important medicinal plant, through rhizome bud explants. Academic Journals Inc, USA. 6(8): 1251-1255.

27- Shan-shan, H., Chun-zhao, L. and Praveen, S., 2007. Plant regeneration of an endangered medicinal plant *Hydrastis Canadensis* L. Scientia Horticulturae. 113: 82-86.

27- Singh, N., Meena, M.K. and Patni, V., 2011. Effect of plant growth regulators, explants type and efficient plantlet regeneration protocol through callus induction in *Naringi crenulata* (Roxb.) Nicolson and it biochemical investigation. African Journal of Biotechnology. 10(77): 17769-17777.

28- Sivanesan, I. and Jeong, B.R., 2007. Micropropagation and *in vitro* flowering in *pentanema indicum* ling. Plant Biotechnology. 24(5): 527-532. .

29- Sunil, B., Abdullah, J.O., Sreeramanan, S. and Karuthan, C., 2009. Shoots Induction from *Hibiscus Rosa-sinensis* Nodal Explant Using *N*6-benzyl amino purine (BAP), research Journal agriculture Biology Science. 5(4): 403–410.

30- Van Eck, J. M. and Kitto, S.L., 1992. Regeneration of peppermint and organ mint from leaf disks. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 30: 41-49.

31- Wyosokinsk, H. and Piatczak, E.2003. *In vitro* regeneration of *Centaurium eryyhraea* from shoot tips and other seedling explants. Acta Soietatis Botanicrum Poloniae. 72(4): 283-288.

Effects of Plant Growth Regulators on Direct Shoot Regeneration from Shoot Apical Explants in Four Genotypes of *Matricaria chamomillaL.*

Moradipour E[1] , Hosseini B.*[1] and Pirzad A. [2]

[1] **Horticulture Dept., Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, I.R. of Iran**

[2]**Agronomy Dept., Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, I.R. of Iran**

Abstract

Chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) is a well-known medicinal plant species from Asteraceae family mentioned in 26 countries pharmacopoeia. The aim of this research is to find the best landrace, explants, hormonal combination and environmental condition for the possibility of German chamomile regeneration under *in vitro* conditions. In this experiment the effect of different concentrations of BAP (4.4 and 8.8µM) and Thidiazuron (TDZ) (4.4 and 8.8µM) in combination with 2.2 µm IAA were evaluated with different landraces (Isfahan, Urumia, Oshnavieh and Shahindegh). The results indicated that Isfahan landrace had the highest regeneration rate (92.48%) on media supplemented with BAP (4.4 µm) in combination with IAA (2.2 µm). The maximum mean number of shoots (25 shoots per explants) obtained in genotype landrace on media containing BAP (4.4 µm) in combination with IAA (2.2 µm). For evaluating of Basal media and plant growth regulators on rooting of regenerated shoots, MS and 1/2 MS medium with (0.5, 1 mg/l) IBA and IAA were used. Result of rooting experiment showed that maximum rooting rate (100%) was occurred on hormone free 1/2 MS medium and MS medium supplemented with 0.5 1mg/l IBA. More than 90% of the regenerated plants were successfully acclimatized and transferred to the greenhouse.

Key words: German chamomile, direct regeneration, landrace, BAP, TDZ.