تأثیر سیتوکینین‌های مختلف بر ریزازدیادی گیاه اسطوخودوس (*Lavandula vera*)

مریم پیوندی*، لیلا کاظمی و احمد مجد

تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران- شمال، دانشکده علوم زیستی، گروه زیست‌شناسی

تاریخ دریافت: ۹۱/۱۰/۱۱ تاریخ پذیرش: ۹۲/۸/۱۲

چکیده

در این تحقیق سیتوکینین‌های مختلف بر سرعت ریزازدیادی اسطوخودوس بررسی شد. جداکشت‌های دو گره‌ای سترون شده از یک گیاه گلخانه‌ای یکساله در محیط کشت MS دارای هورمون‌های بنزیل آمینو پورین (BAP)، ۲- ایزوپنتنیل آدنین (2ip) و کینتین (Kin) به تنهایی یا در ترکیب با یکدیگر کشت شد. نتایج حاصل نشان داد که سرعت رشد ریز قلمه ها، تعداد گره‌ها و نوساقه‌های حاصل از هر جدا کشت در محیط کشت به نوع و غلظت هورمون بستگی دارد. بالاترین تعداد نوساقه/ جداکشت، تعداد گره/ جداکشت و طول ساقه در محیط کشت دارای BAP ($۲\ mgl^{-1}$) به‌دست آمد. در محیط کشت دارای هورمونهای 2ip و Kin ($۲\ mgl^{-1}$) فاصله میان گره ها افزایش معنی داری را نسبت به سایر تیمارها نشان داد. در محیط واکشت، بالاترین تعداد نوساقه، گره و طول ساقه در محیط کشت دارای BAP ($۱\ mgl^{-1}$)، و بالاترین میانگین طول میان گره در محیط دارای Kin ($۲mgl^{-1}$) حاصل شد. سایر نتایج مشابه مرحله کشت بود. ریشه‌زایی ریز قلمه ها با دو روش درون شیشه (*in vitro*) و برون شیشه (*ex vitro*) بررسی شد. در روش درون شیشه، ریزقلمه های تکثیریافته از مرحله واکشت، به محیط‌های کشت دارای غلظتهای مختلف IBA و BAP انتقال یافتند. در روش برون شیشه، انتهای ریز قلمه ها با روش سنتی با محلول IBA (mgl^{-1} ۳۰۰) به مدت ده دقیقه تیمار شدند. بالاترین تعداد ریشه، طول ریشه و درصد ریشه زایی در روش برون شیشه به‌دست آمد.

واژه‌های کلیدی: اسطوخودوس، ریزازدیادی، ریز قلمه، سیتوکینین

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۲۲۸۹۹۸۶۷ ، پست الکترونیکی: m_peyvandi@iau-tnb.ac.ir

مقدمه

اسطوخودوس از خانواده *Labiatea* می باشد. گونه‌های مختلف اسطوخودوس گیاهان نیمه خشبی چند ساله و مخصوص مناطق خشک و نیمه خشک هستند (۱۵، ۱۶). گل‌ها به صورت سنبله های دراز است. منشأ آنها جنوب اروپا در مناطق مدیترانه ای گزارش شده است (۹ ، ۱۱). تاکنون حدود ۴۸ گونه از این گیاه شناسایی شده است. ارتفاع این گیاه متفاوت و بین ۴۰ تا ۶۰ سانتی متر است. پیکر رویشی این گیاه حاوی مواد متفاوت ازجمله اسانس-ها می‌باشد. مهمترین ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس شامل اسید بوتیریک، کامفور، ژرانیول، لینالیل و لینالیل استات می باشند که در ترکیبات آرایشی، عطرسازی و داروسازی کاربرد دارند (۱۹،۳). از این گیاه لوسیونی تهیه می شود که در درمان زخم های دیر علاج و دردهای روماتیسمی و بعضی بیماریهای جلدی و پوست سر استفاده می شود. مصرف این گیاه در درمان آسم، سردرد، اختلالات کبد و طحال و ضعف اعصاب کاربرد دارد.

این گیاه در روشهای سنتی معمولا با ریشه‌دار کردن قلمه‌ها و یا توسط بذر تکثیر می شود که بسیار روند کندی دارد (۳، ۹).

روش کشت در شیشه این امکان را به وجود می آورد که گیاه با سرعت بیشتری رشد نماید. البته این روش به دلیل وجود فنل زیاد در گیاه همواره با مشکل مواجه بوده است، زیرا هنگام سترون کردن و قطعه نمودن نمونه‌ها، به دلیل

اکسیداسیون ترکیبات فنلی بافت‌ها سریع قهوه‌ای می‌شوند (۵، ۶). ریزازدیادی عمدتا شامل رشد جوانه‌های جانبی، اندام‌زایی و رویان‌زایی است (۱۰، ۱۸). رشد شاخه جانبی زمانی اتفاق می افتد که جوانه‌های جانبی از تسلط انتهایی آزاد گردند. این عمل عمدتا با استفاده از هورمون‌های شیمیایی (خصوصا سیتوکینین) در محیط کشت انجام می‌شود (۴، ۱۷). در واقع ریزازدیادی نوعی تکثیر رویشی است که به صورت تکثیر شاخه از جدا کشت‌های مختلف نظیر جوانه‌های جانبی یا انتهای ایجاد شاخه‌های نابجا به صورت مستقیم، یا رویان‌زایی از بافت یا اندام و یا رویان-های تخمی میسر است.

نقش نوع سیتوکینین‌ها در سرعت رشد و نوع اکسین‌ها بر ریشه‌زائی قلمه های ریزازدیاد شده در برخی ارقام اسطوخودوس نظیر *Lavandula dentate* مطالعه شده است (۱۸،۱۰).

هدف از این مطالعه ارزیابی اثرات تیمارهای هورمونی سیتوکینین و اکسین بر روی ریزازدیادی اسطوخودوس *Lavandula vera* در محیط کشت MS بود.

مواد و روشها

آزمایش‌ها در دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران – شمال، آزمایشگاه محمودیه انجام شد.

نمونه گیاهی: گیاه اسطوخودوس رقم *vera* از گیاه یکساله گلخانه‌ای برداشت شد.

محیط‌های کشت: محیط کشت MS Murashig, Skoog, (1962) (۱۴) دارای (۱-۲ mgl^{-1}) 2ip، Kin، BAP، IBA به تنهایی یا مخلوط با یکدیگر استفاده شد (جدول ۱). پس از افزودن هورمون‌ها و قبل از اضافه کردن آگار، pH محیط کشت ۵/۸ تنظیم شد و بعد در فشار ۱/۰۵ کیلو گرم بر سانتی متر مربع و دمای ۱۲۰ درجه سانتیگراد سترون شد. پس از سرد شدن محیط تا ۳۰ درجه سانتیگراد، محیط‌ها در زیر دستگاه لامینار ایرفلوکابینت به شیشه‌های سترون مخصوص کشت منتقل شدند.

کشت نمونه ها: شاخه‌های جوان از گیاه مادری جدا شد و پس از شستشو با آب جاری با کلرید جیوه (۰/۱٪) و شستشو با آب مقطر (۳ بار) سترون گردید. پس از حذف برگ‌ها و جوانه‌های انتهایی، بخش‌های دارای دو گره، در محیط کشت پایه MS دارای هورمون های BAP، kin، 2ip و مخلوط این هورمون ها کشت گردیدند (جدول ۱). نوساقه های سترون ۴۵ روزه حاصل برای مراحل بعدی استفاده شد.

واکشت نمونه‌ها: بخش‌های دارای دو گره از ساقه‌های سترون مرحله اول در محیط کشت مشابه با محیط کشت پایه اولیه واکشت شدند. سی روز پس از واکشت شاخص-های رشد بررسی شد.

در کلیه آزمایش‌ها نمونه‌ها در دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد در اتاق کشت نگهداری شدند.

ریشه‌دار نمودن ریزقلمه‌ها: نوساقه‌های حاصل از کشت در شیشه با روش‌های زیر ریشه‌دار شد:

الف) **ریشه‌زایی در شیشه (*in vitro*)**: ساقه های سترون حاصل از رشد جوانه های جانبی در محیط کشت دارای BAP (۲ mgl^{-1})، برای ریشه دار شدن به محیط کشتهای جدید دارای IBA با غلظت های(mgl^{-1} ۰/۵ ، ۱ ، ۲) به تنهایی یا همراه با هورمون BAP (۰/۱ mgl^{-1}) منتقل شدند.

ب) **ریشه‌زایی برون شیشه (*ex vitro*)**: انتهای ریز قلمه های حاصل از رشد در محیط کشت دارای BAP (mgl^{-1} ۲) پس از شستشو با آب شهر و زدودن آگار، با محلول IBA(mgl^{-1} ۳۰۰) سترون به مدت ۱۰ دقیقه تیمار شدند. سپس نمونه های تیمار شده در محیط کشت فاقد هورمون کشت شدند.

تجزیه آماری: برای تیمارهای سیتوکینین، هر تیمار حداقل با ۷ تکرار و در هر تکرار ۴ نمونه کشت شد. تعداد شاخه-ها، گره‌ها، طول میان گره و طول ساقه در هر جداکشت، ۳۰ روز پس از تیمار بررسی شد.

برای آزمایش‌های ریشه‌زایی، هر تیمار حداقل با ۴ تکرار و هر تکرار با ۴ نمونه انجام شد. ۳۰ روز پس از تیمار درصد ریشه‌زایی، تعداد و طول ریشه یادداشت شد.

داده ها براساس نرم افزار SPSS (ver.14) آنالیز شد. مقایسه میانگین داده ها بر اساس برنامه ANOVA و گروه بندی میانگین ها بر اساس آزمون دانکن در سطح اطمینان $p\leq 0/05$ انجام شد.

نتایج

نتایج استفاده از سیتوکینین‌های مختلف نشان داد که رشد نوساقه‌های اسطوخودوس، تعداد گره ها و تعداد نوساقه‌ها و برگ‌های جدید به ازای هر ریز نمونه و طول هر میان گره به نوع و غلظت هورمون‌های محیط بستگی دارد.

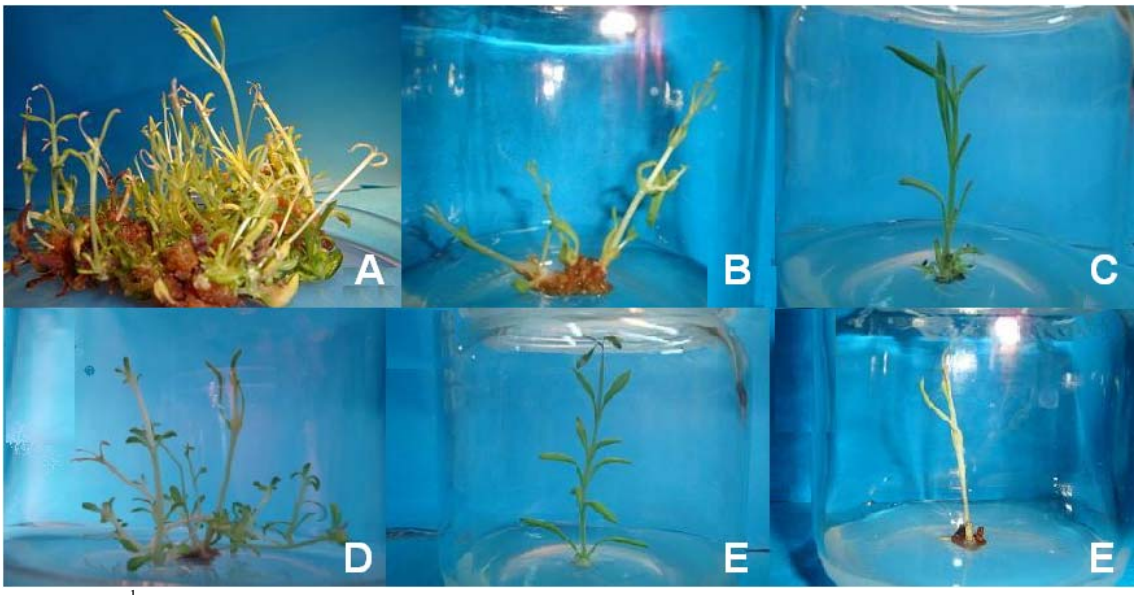
اثر انواع سیتوکینین بر روی میزان تکثیر:

مرحله کشت: سرعت رشد ریز نمونه‌ها در محیط کشت دارای BAP افزایش معنی داری را نشان داد، به‌طوری‌که بالاترین تعداد شاخه (۳/۸۶) و طول ساقه (۱۲/۰۱cm) در محیط کشت دارای هورمون BAP (mgl^{-1} ۲) بدست آمد. وجود BAP به تنهایی یا همراه سایر هورمون‌ها موجب افزایش در تعداد نوساقه‌ها و جدا کشت شد (شکل ۱)(جدول۱).

مرحله واکشت: نتایج نشان داد همانند مرحله کشت، حضور BAP موجب افزایش معنی داری در تعداد نوساقه ها/ جداکشت، طول ساقه و تعداد گره/جداکشت می گردد. به‌طوری‌که بیشترین تعداد نوساقه/جداکشت (۷/۲۳)، تعداد گره/جداکشت (۱۲/۹۷) و بیشترین میزان طول ساقه ها/جداکشت (۲۳/۷۳ cm) در محیط کشت دارای هورمون BAP (mgl^{-1} ۱) بدست آمد، اما فاصله میان گره‌ها در محیط کشت دارای Kin به تنهایی بیشتر از سایر محیط‌ها بود (شکل ۱)(جدول۲).

جدول۱- میانگین شاخص‌های رشد جوانه‌های جانبی گیاه مادری در محیط کشت پایه MS در تیمارهای متفاوت سیتوکینین در مرحله کشت، Mean±SE، (گروه‌بندی براساس آزمون دانکن ($P\leq ۰/۰۵$). حروف مشترک نشان‌دهنده معنی‌دار نبودن بین میانگین‌هاست).

هورمون mgl^{-1}			تعداد نوساقه/ جداکشت	تعداد گره/ جداکشت	طول میان‌گره	طول ساقه‌ها/ جداکشت
BAP	2ip	Kin				
۱	۰	۰	۳/۴۵±۰/۳۶ (ab)	۶/۲۱±۰/۶۶ (ab)	۱/۱۹±۰/۱۰ (cd)	۱۱/۸۲±۱/۵۴ (a)
۲	۰	۰	۳/۸۶±۰/۲۶ (a)	۷/۱۱±۰/۴۵ (a)	۱/۰۹±۰/۰۷ (cde)	۱۲/۰۱±۰/۹۸ (a)
۰	۱	۰	۲/۵۷±۰/۲۳ (bcd)	۴/۶۲±۰/۴۱ (c)	۱/۱۲±۰/۰۸ (cde)	۷/۷۹±۰/۶۷ (d)
۰	۲	۰	۲/۵۸±۰/۱۹ (bcd)	۴/۶۷±۰/۲۹ (c)	۱/۲۰±۰/۰۷ (cd)	۸/۸۲± ۰/۷۷(bcd)
۰	۰	۱	۲/۴۱±۰/۲۴ (cde)	۵/۰۷±۰/۴۷ (bc)	۱/۰۸±۰/۰۶ (cde)	۸/۱۰±۰/۷۴ (d)
۰	۰	۲	۲/۰۳±۰/۲۱ (de)	۵/۲۵±۰/۴۳ (bc)	۱/۲۸±۰/۰۶ (c)	۹/۲۲±۰/۷۸ (bcd)
۱	۰	۱	۳/۲۶±۰/۲۸ (ab)	۷/۵۲±۰/۵۶ (a)	۱/۰۴±۰/۰۵ (de)	۱۰/۹۶±۰/۷۶ (abc)
۲	۰	۲	۳/۱۷±۰/۱۹ (abc)	۶/۲۳±۰/۳۹ (ab)	۰/۹۴±۰/۰۶ (e)	۸/۳۳±۰/۵۸ (cd)
۱	۱	۰	۳/۷۶±۰/۳۵ (a)	۷/۴۴±۰/۷۵ (a)	۱/۰۱±۰/۰۸ (de)	۱۱/۴۲±۱/۱۰ (ab)
۲	۲	۰	۳/۲۴±۰/۲۶ (ab)	۶/۷۲±۰/۵۸ (a)	۰/۹۲±۰/۰۶ (e)	۹/۲۵±۰/۸۴ (bcd)
۰	۱	۱	۱/۹۲±۰/۱۴ (de)	۲/۹۲±۰/۲۸ (d)	۱/۵۳±۰/۱۰ (b)	۷/۳۷±۰/۷۲ (d)
۰	۲	۲	۱/۷۰±۰/۱۴ (e)	۲/۴۵±۰/۲۴ (d)	۱/۷۵±۰/۰۸ (a)	۶/۹۱±۰/۵۶ (d)



شکل ۱- رشد جداکشت‌های جوانه‌های جانبی در محیط‌های کشت و واکشت مختلف؛ A: در محیط کشت دارای هورمون BAP (mgl^{-1})، B: محیط دارای BAP ,Kin (mgl^{-1} ۱)، C: محیط دارای Kin (mgl^{-1} ۲)، D: رشد ریز قلمه‌های سترون در محیط واکشت مختلف دارای هورمون BAP (mgl^{-1} ۱)، E: رشد ریز قلمه‌های سترون در محیط واکشت دارای هورمون Kin (mgl^{-1} ۱)، F: رشد ریز قلمه‌های سترون در محیط واکشت دارای 2ip و Kin (mgl^{-1} ۲)

ریشه‌زایی: ریشه‌زایی در شیشه: ریز قلمه های رشد یافته در محیط کشت BAP (mgl^{-1} ۲) به محیط های دارای غلظتهای مختلف IBA به تنهایی یا همراه با Kin انتقال یافتند. ریشه‌زایی تنها در محیط کشت دارای IBA (mgl^{-1} ۲) و Kin (mgl^{-1} ۰/۱) (۱۶/۶۷٪) مشاهده شد(جدول۳).

جدول ۲- رشد جوانه‌های جانبی نوساقه‌های سترون در محیط کشت پایه MS در تیمارهای متفاوت سیتوکینین در مرحله واکشت، Mean±SE (گروه‌بندی براساس آزمون دانکن (P≤۰/۰۵). حروف مشترک نشان‌دهنده معنی‌دار نبودن بین میانگینهاست).

هورمون mgl^{-1}			تعداد نوساقه/جداکشت	تعداد گره/ جداکشت	طول میان‌گره	طول ساقه‌ها/ جداکشت
BAP	2ip	Kin				
۱	۰	۰	۷/۲۳±۰/۶۴ (a)	۱۲/۹۷± ۱/۱۶(a)	۱/۹۰±۰/۱۳ (cd)	۲۳/۷۳±۲/۲۷ (a)
۲	۰	۰	۶/۹۱±۰/۷۰ (a)	۱۱/۷۲±۱/۱۸ (a)	۱/۷۳±۰/۰۶ (d)	۱۹/۶۶± ۱/۹۵(b)
۰	۰	۱	۳/۹۸±۰/۲۹ (b)	۶/۷۴± ۰/۴۴(b)	۱/۷۹±۰/۱۰ (cd)	۱۰/۶۸±۰/۸۳ (c)
۰	۰	۲	۳/۷۶±۰/۲۸ (b)	۶/۵۷± ۰/۴۳(b)	۱/۷۹±۰/۱۰ (cd)	۱۰/۳۱±۰/۸۳ (c)
۰	۰	۱	۲/۹۶±۰/۲۷ (bcd)	۵/۵۹±۰/۴۸ (bc)	۱/۹۳±۰/۰۹ (cd)	۹/۳۰±۰/۸۳ (c)
۰	۰	۲	۲/۳۳±۰/۳۰ (cd)	۵/۸۷±۰/۶۰ (bc)	۲/۸۰±۰/۱۸ (a)	۱۰/۶۲±۱/۰۴ (c)
۱	۰	۱	۳/۴۸±۰/۲۸(bc)	۷/۸۴±۰/۵۸ (b)	۲/۳۶±۰/۱۱ (b)	۱۲/۵۵±۰/۸۳ (c)
۲	۰	۲	۳/۷۴±۰/۲۸ (b)	۷/۱۱±۰/۵۱ (b)	۱/۹۶±۰/۰۹ (cd)	۱۰/۵۸±۰/۷۸ (c)
۱	۱	۰	۳/۹۷±۰/۳۸ (b)	۷/۷۳±۰/۷۸ (b)	۱/۹۴±۰/۱۱ (cd)	۱۲/۸۵±۱/۲۴ (c)
۲	۲	۰	۳/۷۵±۰/۳۱ (b)	۷/۳۲±۰/۶۳ (b)	۲/۱۱±۰/۱۵ (bc)	۱۱/۰۸±۱/۰۰ (c)
۰	۱	۱	۲/۲۵±۰/۲۰ (d)	۳/۹۵±۰/۴۱ (cd)	۱/۷۶±۰/۱۲ (cd)	۱۰/۷۵±۱/۱۵ (c)
۰	۲	۲	۱/۹۶±۰/۲۰ (d)	۳/۱۵± ۰/۳۲(d)	۱/۶۶±۰/۰۸ (d)	۸/۹۵±۰/۷۲ (c)

جدول ۳- درصد ریشه‌زایی، میانگین طول و تعداد ریشه در تیمارهای مختلف، Mean±SE (گروه‌بندی بر اساس آزمون دانکن ($P\leq$۰/۰۵). حروف مشترک نشان‌دهنده معنی‌دار نبودن بین میانگین‌هاست.

تیمار	هورمون mgl^{-1}		درصد ریشه‌زایی	تعداد ریشه	طول ریشه (cm)
	IBA	Kin			
در شیشه	۱	۰	۰/۰۰±۰/۰۰(b)	۰/۰۰±۰/۰۰(b)	۰/۰۰±۰/۰۰(b)
در شیشه	۲	۰	۰/۰۰±۰/۰۰(b)	۰/۰۰±۰/۰۰(b)	۰/۰۰±۰/۰۰(b)
در شیشه	۰/۵	۰/۱	۰/۰۰±۰/۰۰(b)	۰/۰۰±۰/۰۰(b)	۰/۰۰±۰/۰۰(b)
در شیشه	۱	۰/۱	۰/۰۰±۰/۰۰(b)	۰/۰۰±۰/۰۰(b)	۰/۰۰±۰/۰۰(b)
در شیشه	۲	۰/۱	۱۶/۶۷±۱۱/۲۴(ab)	۰/۴۱±۰/۲۹(b)	۰/۶۲±۰/۴۳(ab)
برون شیشه	۳۰۰	۰	۳۰/۰۰±۱۰/۵۱(a)	۲/۵۰±۱/۰۷(a)	۱/۸۶±۰/۷۸(a)

ریشه‌زایی برون شیشه: ۳۰٪ نمونه های تیمار شده با اکسین، پس از انتقال به محیط کشت فاقد هورمون، ریشه دار شدند (جدول ۳).

بحث

در مطالعه حاضر اثرات هورمونی سیتوکینین ها و اکسین در محیط کشت MS بر روی تکثیر اندام هوایی و ریشه زایی اسطوخودوس ارزیابی شدند.

سیتوکینین‌ها در تقسیم سلولی و تحریک رشد در جوانه های جانبی، در مهار رشد ریشه و مهار پیری دخالت دارند. اگرچه نوع و غلظت این تنظیم کننده‌های رشد گیاهی در القا اندام‌زایی نیز نقش بسزایی دارد (۱، ۵، ۱۹).

نتایج این بخش از پژوهش نشان داد که در مرحله اول (مرحله کشت)، محیط کشت دارای BAP (۲ mgl^{-1}) باعث افزایش شاخه زایی، تعداد گره و طول ساقه شد و Kin (۲ mgl^{-1}) باعث افزایش رشد میانگین گره گردید. مقایسه نتایج مرحله کشت و واکشت نشان می دهد که در مرحله کشت BAP (۲ mgl^{-1}) و در مرحله واکشت، با افزایش سن ریز قلمه ها BAP (۱ mgl^{-1}) کارآمدتر می باشد.

تحقیقات نشان داده است که سرعت رشد ریز قلمه ها در گونه های مختلف اسطوخودوس به نوع و تراکم سیتوکینین استفاده شده وابسته است (۶، ۱۰). مطالعات Nobre (۱۹۹۶) بر ریزازیادی گیاه *Lavandula Stoechas* (۱۵)، Chishti و همکاران (۲۰۰۶) در گیاه *lavendua officinali*(۷)و .Dias و همکاران (۲۰۰۲) در گیاه *Lavandula viridis* (۹) نشان داده است که هورمون BAPمؤثرتر از Kin است. Andrade و همکاران (۱۹۹۹) تأثیر بنزیل‌آدنین (BA) و تیدیازورون (TDZ) را بر سرعت ریزازدیادی *Lavandula Vera* بررسی کردند (۳). نتیجه این تحقیق نشان داد که استفاده از BA و TDZ باعث افزایش تکثیر شاخه و رشد طولی ساقه می‌شود. همچنین Echeverrigarayو همکاران (۲۰۰۵) نشان دادند که هورمون BA به تنهایی یا همراه با تراکم کم IBA رشد را افزایش می‌دهد (۱۱).

هورمون اکسین و ترکیبات مشابه آن عامل مناسب برای ریشه زایی می باشند. این هورمون به راحتی سبب تحریک سلولهای دایره محیطی در بخشهای بالایی ناحیه تارهای کشنده می‌شود، این تحریک منتج به تقسیم سلولهای این منطقه و در نهایت تشکیل ریشه می‌گردد (۲، ۸، ۱۲، ۱۳). بررسی ها نشان داده است که اکسین به تنهایی یا همراه با سیتوکینین موجب تحریک ریز قلمه های گونه های مختلف اسطوخودوس می‌شود (۳، ۹).

در تحقیق حاضر ریشه‌زایی با استفاده از روش سنتی ریشه‌دار نمودن (تیمار ریز قلمه ها با محلول اکسین) بالاتر از ریشه‌زایی در شیشه بود.

منابع

۱- پیوندی، م.، مراد تهرانی، م. مجد، الف.، ۱۳۹۰. ریزازدیادی گیاه داوودی(.Chrysanthemum morifulium Ramat L). مجله زیست شناسی ایران، ۲۴ (۲): ۲۴۴-۲۳۹

۲- یاری، ف.، موسوی، الف.، مستوفی، ی.، سیدی، س.م.، زمانی، ذ.، لایمر، م.، ۱۳۹۲. اثر تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی و نوع کلات آهن بر پرآوری و ریشه زایی درون شیشه ای سه رقم گل سرخ شاخه بریده (.Rosa hybrid L) . مجله زیست شناسی ایران، ۲۶(۱): ۱۱۰-۹۹

3-Andrade, L.B., Echeverrigaray, S., Fracaro, F., Pauletti, G.F., Rota, L., 1996. The effect of growth regulators on shoot propagation and rooting of common lavender (Lavandula vera DC). Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 56: 76-83

4- Banthorpe, D. V., Branch, S. A., Njar, V. C.O., Osborne, M. G., Watson, D. G., 1986. Ability of plant callus cultures to synthesize and accumulate lower terpenoids. Phytochemistry, 25:629-636

5- Benková, E., Witters, E., Van Dongen, W., Kolá, J., Motyka, V., Brzobohatý, B., Van Onckelen, H. A., Machácková, I., 1999. Cytokinins in Tobacco and Wheat chloroplasts. Occurrence and Changes Due to Light/Dark Treatment. Plant Physiol, 121(1):245-252

6-Calvo, M. C., Segura, J., 1989.*In vitro* propagation of *Lavender*, HortScience 24(2), 375-376

7-Chishti, N.,Kaloo,Z. A.,Shawl, A. S.,Sultan,P.,2006,Rapid in vitro propagation of *lavendula officinalis* chaix.A Multipuruse plant of industrial importance,Pakistan J. Of Biological Sciences, 9(3),514-518

8- Davies, P.J. 1995. Introduction. In Plant Hormones, P.J. Davies, ed (Dordrecht, The Netherlands: Kluwer Academic Publishers), pp. 1–38

9-Dias, M.C., Almeida, R., Romano, A., 2002. "Rapid clonal multiplication of Lavandula viridis L'Hér through in vitro axillary shoot proliferation. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 68: 99-102

10- Dronne,S., Jullien, F.,Caissard G.C. and Faure, O.,1999, A simple and efficient method for in vitro shoot regeneration from leaves of lavandin (Lavandula××intermedia Emeric ex Loiseleur) ,Plant Cell Reports,18(5).429-433

11- Echeverrigaray, S., Basso, R., Andrade, L.B., 2005. "Micropropagation of Lavandula dentata from axillary buds of field-grown adult plants". Biologia Plantarum, 49:439-442

12- Hillman, J.R.,1984. Apical dominance. In Advanced Plant Physiology, M.B. Wilkins, ed (London: Pitman Publishing), pp. 127–148

13- Laskowski, M.J., Williams, M.E., Nusbaum, H.C., Sussex, I.M., 1995. Formation of lateral root meristems is a two-stage process. Development, 121:3303-3310

14-Murashige, T., Skoog, A.,1962. Revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures;. Plant Physiology,15: 473-97

15-Nobre, J., 1996. In vitro cloning ad micropropagation of Lavandula stoechas from field – grown plants. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 46:151- 155

16-Panizza, M., Tognoni, F., 1988. Clonal propagation, callus Formation and plant Regeneration of Lavandin. Scientia Horticulturae, 37: 157 – 163

17- Panizza, M., Tognoni, F., 1991. Micropropagation of lavandian(lavandula officinalis chaix × lavandula latifolia villas cv.grosso). In: Yps Bajaj (ed) Biotechnology in Agriculture & foresty, vol.19. High-Tech & micropropagation III

18- Quazi, M.H., 1980. In vitro multiplication of Lavandula spp.. Ann. Bot. 45:361-362

19- Sánchez-Gras, M.C., Del Carmen Calvo, M., 1996. Micropropagation of Lavandula latifolia through nodal bud culture of mature plants. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 45: 259- 261

Effect of different cytokinins on micropropagation of *Lavandula vera*

Peyvandi M., Kazemi L. and Majd A.

Biology Dept., Faculty of Biological Science, Islamic Azad University, Tehran-North Branch, Tehran, I.R. of Iran

Abstract

The effect of different cytokinins on the rate of micropropagation of *lavandula vera* was investigated. Two nodeal explants from a 1-year greenhouse plant were cultured in MS medium supplemented with benzyl aminopurine (BAP), 2-isopentenyl adenine (2ip), Kinetin solely (Kin) or in combination. The results indicated that shoot proliferation, number of nodes and new shoots depended on the type and concentration of the hormone used. The highest stem length and number of nodes and new shoots per explant and stem length was produced in the medium containing BAP (2 mgl^{-1}). Internodes significantly increased in the medium containing Kin and 2ip (1 mgl^{-1}) compared with the other treatments. In the subculture media, the highest stem length, number of nodes and new shoots per explant were obtained in the medium containing BAP (1 mgl^{-1}) and the maximum internode length was achieved in the medium containing Kin (2 mgl^{-1}). The shoots obtained from subculture were rooted *in vitro* and *ex vitro*. In *in vitro* method, the microshoots were cultured in the media supplemented with different concentrations of indole butyric acid (IBA) and Kin. In *ex vitro* method, the base of the microshoots was treated with IBA (300 mgl^{-1}). The highest number of roots, length of the roots and percentage of rooting was obtained in *ex vitro* rooting method.

Key words: *Lavandula vera*, micropropagation, microshoots, cytokinin