University of Tehran Press

Journal of Crops Improvement

Online ISSN: 2345-6957

Homepage: https://jci.ut.ac.ir/

Effects of Culture Media and Plant Growth Regulators on Micropropagation and Root Architecture of the Hyssop medicinal plant (*Hyssopus officinalis* L.) under in vitro Conditions

Mohammad Sadat-Hosseini[1]✉ | **Naser Askari**[2]

1. Corresponding author, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, University of Jiroft, Jiroft, Iran. E-mail: m.hosseini@ujiroft.ac.ir
2. Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, University of Jiroft, Jiroft, Iran. E-mail: Naser.askari@ujiroft.ac.ir

Article Info

Article type:
Research Article

Article history:
Received 6 August 2023
Received in revised form
7 May 2024
Accepted 11 May 2024
Published online 12 June 2024

Keywords:
Medicinal plant
Micropropagation
Plant growth regulator
Tissue culture

ABSTRACT

Objective: The present study was performed to study the effects of MS, WPM, B5 culture media and benzylaminopurine (BAP) hormone on hyssop proliferation, and to assess the effects of different concentrations of IBA and IAA hormones on rooting characteristics of hyssop.

Methods: The experiments were conducted as a factorial with a completely randomized design with three replications at the laboratory of tissue culture of the Faculty of Agriculture, University of Jiroft. To produce sterile seedlings, seeds were collected from mountainous regions of Kerman province and planted on the MS medium. The single-node explants were cultivated on MS, WPM, and B5 culture media containing the benzylaminopurine hormone with concentrations of 0, 1, and 2 mg/L. To induce rooting, the shoots were placed on the MS culture medium containing 0.5 and 1 mg/L of indole butyric acid and indole acetic acid. GiaRoots software was employed to analyze the architecture of the roots obtained.

Results: Based on the research results, the highest proliferation coefficient was obtained in the MS culture medium with a concentration of 2 mg/L of benzylaminopurine hormone. In addition, the results of root architecture analysis showed that IBA hormone with a concentration of 1 mg/L demonstrated the most effective treatment for rooting induction.

Conclusion: The adaptation test results demonstrated that 85% of the plants transferred to the greenhouse survived.

Cite this article: Sadat-Hosseini, M., & Askari, N. (2024). Effects of Culture Media and Plant Growth Regulators on Micropropagation and Root Architecture of the Hyssop medicinal plant (*Hyssopus officinalis* L.) under in vitro Conditions. *Journal of Crops Improvement*, 26 (2), 409-421. DOI: https://doi.org/10.22059/jci.2024.363422.2837

© The Authors.
Publisher: The University of Tehran Press.
DOI: https://doi.org/10.22059/jci.2024.363422.2837

انتشارات دانشگاه تهران

به زراعی کشاورزی

شاپا الکترونیکی: ۶۹۵۷-۲۳۴۵

Homepage: https://jci.ut.ac.ir/

تأثیر محیط کشت و هورمون‌های مختلف بر پرآوری و معماری ریشه گیاه دارویی زوفا (*Hyssopus officinalis* L.) در شرایط درون‌شیشه‌ای

محمد سادات حسینی[1]✉ | ناصر عسکری[2]

۱. نویسنده مسئول، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه جیرفت، جیرفت، ایران. رایانامه: m.hosseini@ujiroft.ac.ir

۲. گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه جیرفت، جیرفت، ایران. رایانامه: Naser.askari@ujiroft.ac.ir

اطلاعات مقاله

نوع مقاله: مقالهٔ پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۵/۱۵

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۰۲/۱۸

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۲/۲۲

تاریخ انتشار: ۱۴۰۳/۰۳/۲۳

کلیدواژه‌ها:

تنظیم‌کننده رشد

ریزازدیادی

کشت بافت

گیاه دارویی

چکیده

هدف: مطالعه حاضر به‌منظور بررسی اثر نوع محیط‌های کشت مختلف شامل MS، WPM و B5 و هورمون بنزیل آمینوپورین بر خصوصیات پرآوری و هم‌چنین اثر غلظت‌های مختلف هورمون‌های ایندول‌بوتیریک‌اسید و ایندول‌استیک‌اسید بر ریشه‌زایی گیاه زوفا انجام شد.

روش پژوهش: آزمایش‌ها به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در آزمایشگاه کشت بافت دانشکده کشاورزی دانشگاه جیرفت انجام شد. به‌منظور تولید گیاهچه‌های استریل بذرهای جمع‌آوری‌شده از مناطق کوهستانی استان کرمان بر روی محیط کشت MS کاشته شد. ریزنمونه‌های تک‌گره بر روی محیط‌های کشت MS، WPM و B5 با ترکیب هورمونی بنزیل آمینوپورین با غلظت‌های صفر، ۱ و ۲ میلی‌گرم بر لیتر قرار گرفتند. برای تولید ریشه شاخساره‌های تولیدشده بر روی محیط کشت MS با ترکیب هورمونی ایندول‌بوتیریک‌اسید و ایندول‌استیک‌اسید با غلظت‌های ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم در لیتر قرار گرفتند. در نهایت معماری ریشه‌های تولیدشده با استفاده از نرم‌افزار GiaRoots مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها: طبق نتایج پژوهش بهترین ضریب پرآوری در محیط کشت MS به‌همراه غلظت ۲ میلی‌گرم بر لیتر از هورمون بنزیل آمینوپورین به‌دست آمد. هم‌چنین نتایج مربوط به آنالیز معماری ریشه نیز نشان داد بهترین تیمار ریشه‌زایی استفاده از هورمون ایندول‌بوتیریک‌اسید با غلظت ۱ میلی‌گرم بر لیتر بود.

نتیجه‌گیری: نتایج مربوط به سازگاری نشان داد که ۸۵ درصد از گیاهان منتقل‌شده به گلخانه زنده ماندند.

استناد: سادات حسینی، محمد و عسکری، ناصر (۱۴۰۳). تأثیر محیط کشت و هورمون‌های مختلف بر پرآوری و معماری ریشه گیاه دارویی زوفا (*Hyssopus officinalis* L.) در شرایط درون‌شیشه‌ای. *به‌زراعی کشاورزی*، ۲۶ (۲)، ۴۲۱-۴۰۹.

DOI: https://doi.org/10.22059/jci.2024.363422.2837

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

© نویسندگان.

۱. مقدمه

زوفا (*Hyssopus officinalis* L.) گیاهی با خاصیت دارویی فراوان از خانواده نعناعیان می‌باشد که دائمی، خشبی و منشأ آن آسیای صغیر است (دزامیک[1] و همکاران، ۲۰۱۳). این گیاه در مناطق اروپا، مرکز و جنوب‌غربی آسیا، آمریکای شمالی، شمال آفریقا و شمال هند رشد می‌کند (بورلی[2] و همکاران، ۲۰۱۹). فرآورده‌های دارویی زوفا (عرقیات، شربت‌ها و عصاره‌ها) از زمان‌های قدیم در طب سنتی به‌عنوان ضدعفونی‌کننده، نفخ‌آور، معرق، خلط‌آور، شل‌کننده عضلات معده و مقوی مورداستفاده قرار می‌گرفته است. هم‌چنین در صنایع غذایی و آرایشی نیز به‌عنوان یک گیاه عطری مورداستفاده قرار می‌گیرد (وندیتی[3] و همکاران، ۲۰۱۵؛ جوزنتین[4] و همکاران، ۲۰۱۶). میزان اسانس در اندام‌های رویشی زوفا بین ۰/۳ تا ۱ درصد گزارش شده است که ترکیب غالب آن ایزوپینوکامفن به‌همراه دیگر ترکیبات از جمله پینوکامفن، بتا-پینن، ۱و ۸ سینول، لینانول، سابینن و متیل اژنول می‌باشد (هریستوو[5] و همکاران، ۲۰۱۵). علاوه بر اسانس، گیاه زوفا دارای انواعی از ترکیبات شامل تانن‌ها، فلاونوئیدها و اسیدهای فنولیک، لاکتون‌های دی‌ترپن و ترکیبات تری‌ترپنوئیدی مانند اسید اورسولیک و اولئانولیک نیز می‌باشد (ولاس[6] و همکاران، ۲۰۱۴).در طب سنتی نیز از این گیاه برای درمان استرس، التهاب، ویروس‌ها، زخم‌ها، آسم و دیابت استفاده می‌شود (ما[7] و همکاران، ۲۰۱۴؛ صالحی[8] و همکاران، ۲۰۱۷؛ میکوویک[9] و همکاران، ۲۰۲۱). با پیشرفت روش‌های بیوتکنولوژی در علوم زیست‌شناسی پژوهش‌گران به خاصیت توتی پتانسی (یعنی یک سلول تمامی اطلاعات ژنتیکی لازم برای تولید یک گیاه کامل را دارا می‌باشد) سلول‌ها پی بردند. بر پایه این اصل یکی از مهم‌ترین روش‌های ازدیاد گیاهان از طریق غیرجنسی یعنی کشت بافت ظهور پیدا کرد. این تکنیک دارای ویژگی‌هایی از جمله عدم وابستگی به فصل، مستقل از محیط، سرعت تکثیر بالا و حتی تولید ترکیبات جدید می‌باشد (موریناکا[10] و همکاران، ۲۰۲۳). علاوه بر ریزازدیادی از این تکنیک برای تولید گیاهان دورگه، گیاهان عاری از بیماری‌ها و ویروس‌ها، ایجاد بانک ژن به‌منظور جلوگیری از انقراض ژنتیکی برخی از گیاهان، تولید متابولیت‌های ثانویه و دارویی صنعتی نیز استفاده می‌شود (کاردوسو[11] و همکاران، ۲۰۱۹؛ بابیچ[12] و همکاران، ۲۰۲۰).از طرف دیگر تولید تجاری بسیاری از گیاهان دارویی بر پایه کشت بافت بنا نهاده شده است.

۲. پیشینه پژوهش

در سیستم‌های کشت درون‌شیشه‌ای جهت رسیدن به رشد زیاد و سریع ریزنمونه‌ها عواملی از جمله ترکیبات نمک‌های مختلف محیط کشت، نوع و غلظت هورمون‌ها بسیار مهم است (شوچوسکی[13] و بیاسی[14]، ۲۰۱۹). بنابراین درک مناسب

1. Džamić
2. Borrelli
3. Venditti
4. Judžentien
5. Hristova
6. Vlase
7. Ma
8. Salehi
9. Mićović
10. Morinaka
11. Cardoso
12. Babich
13. Schuchovski
14. Biasi

از اثرات متقابل ترکیبات محیط کشت می‌تواند به تهیه پروتکل‌های کارآمد جهت ازدیاد و بیوتکنولوژی گیاهان مختلف مفید باشد. پژوهش‌های مختلفی در خصوص کشت درون‌شیشه‌ای گیاهان دارویی خانواده نعناع انجام شده است. به‌عنوان مثال، در پژوهشی اثر نوع توده و غلظت‌های مختلف هورمون ۶- بنزیل آمینو پورین (BAP)[1] بر شرایط کشت درون‌شیشه‌ای زوفا موردبررسی قرار گرفت. پژوهش‌گران دریافتند که بین توده‌های مختلف و غلظت‌های مختلف هورمون در باززایی گیاهان کشت بافتی تفاوت معنی‌دار وجود دارد (علیزاده و حسینی، ۱۳۹۲). در پژوهشی دیگر اثر انواع هورمون‌های BAP، تیدیازورون (TDZ)[2] و نفتالین استیک‌اسید (NAA)[3] بر ریزازدیادی گیاه دارویی زوفا موردبررسی قرار گرفت، نتایج نشان داد که استفاده از هورمون‌های مختلف بر ساقه‌زایی و ریشه‌زایی درون‌شیشه‌ای گیاه تأثیر معنی‌دار دارد. در مطالعه‌ای اثر محیط‌های کشت MS، WPM[4] و B5 و هورمون‌های مختلف بر کشت بافت گیاه دارویی ریحان موردمطالعه قرار گرفت. نتایج این پژوهش نشان داد که اثر متقابل نوع محیط کشت و هورمون‌های مورداستفاده بر روی صفات تعداد نوساقه، طول نوساقه‌ها، وزن خشک ساقه و تعداد ریشه، طول ریشه و وزن خشک ریشه‌ها تفاوت معنی‌دار وجود دارد (منفورت[5] و همکاران، ۲۰۱۸). در پژوهشی دیگر اثر انواع هورمون‌های بنزیل آدنین، کینیتین و تیدیازورون بر رشد و متابولیت‌های ثانویه گیاه دارویی زوفا موردبررسی قرار گرفت و پژوهش‌گران نشان دادند که بیش‌ترین رشد رویشی و بالاترین غلظت متابولیت‌های ثانویه با به‌کاربردن هورمون تیدیازورون با غلظت ۲ پی‌پی‌ام به‌دست آمد (شجا[6] و شیشوانی[7]، ۲۰۲۱). در گزارشی اثر هورمون‌های مختلف بر ساقه‌زایی و ریشه‌زایی گیاه دارویی زوفا بر روی محیط کشت MS موردبررسی قرار گرفت و نتایج نشان داد که استفاده از ۱ میلی‌گرم بر لیتر هورمون ۶- بنزیل آمینوپورین به‌همراه ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتز هورمون ایندول‌بوتیریک‌اسید بالاترین میزان تعداد و طول ساقه و وزن تر و خشک ساقه را تولید می‌کند. هم‌چنین بهترین تیمار ریشه‌زایی نیز در زمان استفاده از ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر ایندول‌بوتیریک‌اسید به‌دست آمد (زایووا[8] و همکاران، ۲۰۱۸). ریشه‌های با توسعه بهتر در گیاهان کشت بافتی علاوه بر این‌که در جذب بهتر مواد غذایی توسط گیاه نقش دارد، سبب سازگاری بهتر گیاهان با شرایط گلخانه و مزرعه نیز خواهد شد (زائو[9] و همکاران، ۲۰۱۱). با توجه به اهمیت گیاه دارویی زوفا و نیاز این گیاه به داشتن پروتکل کشت بافتی برای تکثیر انبوه و کشت‌های درون‌شیشه‌ای برای تهیه دستورالعمل مناسب برای کشت سوسپانسون سلولی، مطالعه حاضر به‌منظور بررسی اثر نوع محیط‌های کشت مختلف شامل MS، WPM و B5 و غلظت‌های مختلف هورمون BAP بر خصوصیات پرآوری و هم‌چنین اثر غلظت‌های مختلف هورمون‌های ایندول‌بوتیریک‌اسید (IBA)[10] و ایندول‌استیک‌اسید (IAA)[11] بر ریشه‌زایی گیاه مذکور موردبررسی قرار گرفت. در نهایت برای اولین بار با استفاده از نرم‌افزار GiA Roots وضعیت معماری ریشه‌های تولیدشده در محیط کشت بافت موردبررسی قرار گرفت.

1. 6-benzylaminopurine
2. Thidiazuron
3. Naphthalene-acetic acid
4. Woody Plant *Medium*
5. Monfort
6. Shoja
7. Shishavani
8. Zayova
9. Xiao
10. Indol-3-butyric acid
11. *Indole-3-acetic acid*

۳. روش‌شناسی پژوهش

۳. ۱. مواد گیاهی و تهیه ریزنمونه‌های استریل

در مطالعه حاضر ابتدا بذر گیاه زوفا از مناطق کوهستانی استان کرمان مدتجمع‌آوری شد. به‌منظور تهیه ریزنمونه‌های اولیه ابتدا بذرها توسط آب معمولی به ۱۰ دقیقه شست‌وشو و سپس توسط اتانول ۷۰ درصد به ۱۲۰ ثانیه استریل و در مرحله بعدی توسط آب مقطر استریل آبکشی شدند. در نهایت بذور توسط هیپوکلرید سدیم ۲/۵ درصد حجمی به ۷ دقیقه استریل شدند و در آخرین مرحله سه بار با آب مقطر استریل آبکشی شدند (حسینی[1] و همکاران، ۲۰۱۶) . بذرهای استریل‌شده در پتری‌دیش‌های استریل‌شده کاشته و در ژرمیناتور در دمای ۲۶ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. دو هفته بعد از کاشت بذور جوانه زدند و بعد از رشد اولیه گیاهچه‌ها، ریزنمونه‌های یک سانتی‌متری حاوی جوانه‌های جانبی جدا شد و به ظروف جار حاوی ۱۵۰ میلی‌لیتر محیط کشت MS[2] بدون هورمون منتقل شدند. تمامی کشت‌ها به اتاقک رشد با دمای ۱±۲۶ درجه سانتی‌گراد منتقل و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی قرار گرفتند.

۳. ۲. اثر نوع محیط کشت بر پرآوری زوفا

سی روز پس از کاشت ریزنمونه‌ها بر روی محیط کشت MS بدون هورمون تعداد ریزنمونه کافی به‌دست آمد و مرحله بعدی یعنی پرآوری آغاز شد. برای این منظور قطعات یک سانتی‌متری حاوی جوانه جانبی بر روی سه محیط کشت MS (موراشیگ[3] و اسکوگ[4]، ۱۹۶۲) WPM (لیود[5] و ام سیکاون[6]، ۱۹۸۰) و B5 (گامبورج[7] و همکاران، ۱۹۶۸) قرار گرفتند، محیط‌های کشت شامل هورمون BAP با غلظت‌های صفر، ۱ و ۲ میلی‌گرم بر لیتر بودند. مدت ۲۸ روز پس از کاشت شاخص‌های مرتبط با پرآوری شامل تعداد شاخه، طول شاخه، تعداد جوانه و تعداد برگ اندازه‌گیری شدند.

۳. ۳. اثر هورمون IBA و IAA بر ریشه‌زایی و تجزیه تحلیل معماری ریشه‌ها

پس از به‌دست‌آوردن تعداد ریزنمونه کافی آزمایش‌های مرحله ریشه‌زایی شروع شد. به‌منظور بررسی بهترین تیمار ریشه‌زایی ساقه‌هایی با سه گره برش داده شد و در محیط کشت پایه MS کامل حاوی هورمون‌های IBA (۰/۵ و ۱ میلی‌گرم در لیتر) و IAA (۰/۵ و یک میلی‌گرم در لیتر) استفاده شد. مدت ۲۸ روز پس از کاشت نو ساقه‌ها ریشه آن‌ها از محل طوقه جدا شد. سپس برخی از شاخص‌های مرتبط با معماری ریشه از جمله تعداد ریشه[8]، طول اختصاصی ریشه[9]، نسبت عرض به عمق ریشه[10] و حجم شبکه ریشه[11] توسط نرم‌افزار GiA Roots (نسخه ۱) براساس روش گالکووسکی[12] و همکاران، ۲۰۱۲ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

---

1. Hosseini
2. Murashige and Skoog
3. Murashige
4. Skoog
5. Lloyd
6. McCown
7. Gamborg
8. Maximum number of roots
9. Specific Root Length
10. Network Width to Depth Ratio
11. Network area
12. Galkovskyi

۳. ۴. سازگاری گیاهان تولیدشده

به‌منظور سازگاری گیاهان ریشه‌دارشده ابتدا مخلوطی از کوکوپیت: ماسه بادی با نسبت ۱:۱ تهیه شد. در مرحله بعد گیاهان به داخل لیوان‌های یک‌بار مصرف حاوی کوکوپیت :پرلیت منتقل شدند و درب لیوان‌ها توسط پلاستیک‌های شفاف برای جلوگیری از پسابیدگی پوشیده شد. گیاهان به دو هفته در محیط آزمایشگاه نگهداری شدند و هر بار تعدادی سوراخ بر روی پلاستیک‌ها ایجاد شد در نهایت پلاستیک به‌طور کامل برداشته و گیاهان به گلخانه منتقل شدند.

۳. ۵. آنالیز واریانس داده‌های آماری

نتایج حاصل از مطالعه حاضر بصورت فاکتوریل برای پرآوری (دو فاکتور نوع محیط کشت در سه سطح و نوع غلظت هورمون BAP در دو سطح) و برای ریشه‌زایی (دو فاکتور هورمون IBA و IAA هرکدام در دو سطح) بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار (دو گیاه در هر تکرار) مورد تحزیه و تحلیل قرار گرفت. داده‌ها توسط نرم‌افزار SAS ۹/۴ (SAS 9.4; SAS Institute Inc., Cary, NC) آنالیز و مقایسه میانگین تیمارهای معنی‌دار شده با استفاده از روش توکی[1] در سطح احتمال یک و پنج درصد انجام شد. در نهایت نمودارها توسط نرم‌افزار اکسل (نسخه ۲۰۱۳) طراحی شد.

۴. یافته‌های پژوهش

جدول تجزیه واریانس نتایج نشان داد که اثر متقابل محیط‌های کشت (MS، WPM و B5) و غلظت‌های مختلف هورمون BAP بر شاخص تعداد شاخه در سطح احتمال پنج درصد و برای شاخص‌های طول شاخه، تعداد جوانه و تعداد برگ در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار است (جدول ۱).

جدول ۱. نتایج تجزیه واریانس اثرات نوع محیط کشت و غلظت هورمون BAP بر شاخص های پرآوری گیاه دارویی زوفا

منابع تغییرات	درجه آزادی	تعداد شاخه	طول شاخه	تعداد جوانه	تعداد برگ
نوع محیط کشت	۲	۱۵/۱۸**	۱۴/۵**	۲/۷**	۲۵/۱۵**
BAP	۲	۴۰/۱۴**	۱۵/۸۱**	۷/۲۵**	۱۸/۸۱**
نوع محیط کشت ×BAP	۴	۰/۹۲*	۱/۵۹**	۱/۵۳**	۸/۸**
خطا	۱۸	۰/۲۳	۲/۶۷	۰/۱۱	۰/۸۶
ضریب تغییرات (درصد)	–	۱۲/۷۲	۱۲/۶۷	۱۱/۸۴	۱۶/۱۱

** و * اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد.

۴. ۱. میانگین تعداد شاخه‌ها به‌ازای هر ریزنمونه

نتایج اثر متقابل نوع محیط کشت و هورمون BAP بر صفت تعداد شاخه گیاه زوفا نشان داد بیش‌ترین تعداد شاخه (۷/۶ عدد) در محیط کشت MS به‌همراه استفاده از هورمون BAP در غلظت دو میلی‌گرم بر لیتر به‌دست آمد. از طرف دیگر کم‌ترین تعداد شاخه در محیط کشت B5 بدون هورمون حاصل شد (یک عدد) (جدول ۲ و شکل ۱).

۴. ۲. میانگین طول شاخه

نتایج مربوط به بخش میانگین طول شاخه نشان داد که کم‌ترین میزان طول شاخه در محیط کشت B5 و بدون هورمون

1. Tukey

به‌دست آمد و از طرف دیگر بالاترین طول شاخه (۷/۶ سانتی‌متر) در تیمار مربوط به محیط کشت MS و استفاده از هورمون ۲ میلی‌گرم بر لیتر BAP حاصل شد (جدول ۲ و شکل ۱).

جدول ۲. اثر متقابل محیط کشت و غلظت‌های مختلف هورمون BAP بر تعداد شاخه و طول شاخه در گیاه دارویی زوفا

	WPM		MS		B5	
	تعداد شاخه	طول شاخه‌ها (سانتی‌متر)	تعداد شاخه	طول شاخه‌ها (سانتی‌متر)	تعداد شاخه	طول شاخه‌ها (سانتی‌متر)
BAP (صفر)	۱/۳۳de	۲c	۲/۳cde	۲c	۱e	۲c
BAP (یک میلی‌گرم بر لیتر)	۳c	۲/۳bc	۵/۶b	۳b	۲/۵cd	۲/۶bc
BAP (دو میلی‌گرم بر لیتر)	۵b	۳b	۷/۶a	۵/۲۹a	۴/۶b	۳b

میانگین دارای حروف مشابه در هر ستون فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد براساس آزمون توکی می‌باشند.

B5 **WPM** **MS**

شکل ۱. اثر ترکیب نوع محیط‌های کشت MS، WPM و B5 و ۲ میلی‌گرم بر لیتر هورمون BAP بر پرآوری گیاه زوفا

۴. ۳. تعداد جوانه و برگ

مقایسه تعداد جوانه و برگ در گیاه زوفا در محیط‌های کشت مختلف نشان داد که بیش‌ترین تعداد جوانه و برگ در محیط کشت MS به‌همراه هورمون BAP با غلظت ۲ میلی‌گرم بر لیتر به‌دست آمد. کم‌ترین تعدا جوانه در تیمارهای شاهد بدون هورمون به‌دست آمد و از طرفی در میزان تعداد برگ بین تیمار استفاده از هورمون ۲ میلی‌گرم بر لیتر با سایر تیمارها تفاوت معنی‌دار وجود دارد. به‌عبارت دیگر، سایر تیمارها فاقد اختلاف معنی‌دار با همدیگر هستند (جدول ۳ و شکل ۲).

جدول ۳. اثر متقابل محیط کشت و غلظت‌های مختلف هورمون BAP بر تعداد جوانه و تعداد برگ در گیاه دارویی زوفا

	WPM		MS		B5	
	تعداد جوانه	تعداد برگ	تعداد جوانه	تعداد برگ	تعداد جوانه	تعداد برگ
BAP (صفر)	۲c	۴/۶b	۲c	۴/۵b	۲c	۴b
BAP (یک میلی‌گرم بر لیتر)	۲/۳bc	۴b	۳b	۶/۶b	۲/۶bc	۶/۵b
BAP (دو میلی‌گرم بر لیتر)	۳b	۶b	۵/۲۸a	۱۰/۴a	۳b	۵/۳b

میانگین دارای حروف مشابه در هر ستون فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد براساس آزمون توکی می‌باشند.

MS **WPM** **B5**

شکل ۲. اثر ترکیب نوع محیط‌های کشت MS، WPM و B5 و ۲ میلی‌گرم بر لیتر هورمون BAP بر صفت تعداد جوانه و برگ گیاه زوفا

۴.۴. ریشه‌زایی

همان‌طور که در جدول تجزیه واریانس نشان داده شده است استفاده از هورمون‌های ایندول‌بوتیریک‌اسید و ایندول‌استیک‌اسید بر برخی از شاخص‌های مرتبط با معماری ریشه گیاه زوفا از جمله تعداد ریشه، طول اختصاصی ریشه، نسبت عرض به عمق ریشه و حجم شبکه ریشه تأثیر معنی‌دار داشته است (جدول ۴). از طرف دیگر، به‌کاربردن این هورمون‌ها بر روی دیگر صفات مرتبط با معماری ریشه از جمله میانگین قطر ریشه[1] فاقد اختلاف معنی‌دار بود.

مقایسه میانگین در خصوص صفات معنی‌دار مرتبط با معماری ریشه نشان داد که بالاترین تعداد ریشه (۲۴/۵) در استفاده از تیمار ۱ میلی‌گرم بر لیتر ایندول‌بوتیریک‌اسید و ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر ایندول‌استیک‌اسید به‌دست آمد (جدول ۵). از طرف دیگر، پایین‌ترین تعداد ریشه (۴/۲۵) در تیمار ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر از هورمون ایندول‌بوتیریک‌اسید و ایندول‌استیک‌اسید به‌دست آمد. در صفت طول اختصاصی ریشه نیز بالاترین طول ریشه (۵/۳۶) با کاربرد ۱ میلی‌گرم بر لیتر ایندول‌بوتیریک‌اسید و ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر ایندول‌استیک‌اسید به‌دست آمد (شکل ۳- الف)، اما در سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری در این صفت مشاهده نشد. در نهایت در دو صفت دیگر شامل نسبت عرض به عمق ریشه و حجم شبکه ریشه بهترین تیمار ۱ میلی‌گرم بر لیتر ایندول‌بوتیریک‌اسید و ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر ایندول‌استیک‌اسید بود و بین سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۵).

1. Average root width

جدول ٤. تجزیه واریانس اثرات نوع و غلظت هورمون IAA و IBA بر شاخص‌های معماری ریشه گیاه زوفا

منابع تغییرات	درجه آزادی	تعداد ریشه	طول اختصاصی ریشه	نسبت عرض به عمق ریشه	حجم شبکه ریشه
ایندول‌بوتیریک‌اسید	۱	۱۸۲/۲۵*	۰/۷۹۴*	۰/۰۹۸*	۱۶۸۹۵۱۱*
ایندول‌استیک‌اسید	۱	۱۰۰ns	۰/۳۲۶*	۰/۱۸۰**	۲۰۹۷۶۸*
ایندول‌بوتیریک‌اسید × ایندول‌استیک‌اسید	۱	۷۲۹**	۰/۲۱۸*	۰/۰۹۵*	۱۱۹۸۵۴**
خطا	۱۲	۴۱/۰۴	۱/۱۴۷	۰/۰۱۷	۳۳۴۹۳۸
ضریب تغییرات (درصد)	–	۲۱/۹۴	۱۹/۴۸	۲۲/۳۱	۱۸/۰۹

جدول ۵. اثر غلظت هورمون‌های مختلف اکسین بر صفات مختلف مرتبط با معماری ریشه در گیاه دارویی زوفا

نوع تیمار	تعداد ریشه	طول اختصاصی ریشه	نسبت عرض به عمق ریشه	حجم شبکه ریشه
(۰,۵) IBA+ (۰,۵) 1AA	۴/۲۵b	۳/۴۳b	۰/۵۴b	۲۲۲/۵۱b
(۰,۵) IBA + (۱) 1AA	۱۲/۷۵ab	۳/۳۸b	۰/۴۸b	۴۸۴/۴۶b
(۱) IBA + (۰,۵) IAA	۲۴/۵a	۵/۳۶a	۰/۸۵a	۸۳۰/۶۶a
(۱) IBA + (۱) IAA	۶b	۳/۵۹b	۰/۴۸b	۱۹۹/۸۵b

در هر ستون میانگین های داری حروف مشترک، فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد براساس آزمون توکی می باشند.

۴. ۵. سازگاری

پس از انتقال گیاهان خارج‌شده از ظروف کشت به مخلوط کوکوپیت و ماسه بادی روزانه وضعیت گیاهان در مرحله سازگاری کنترل شد. این گیاهان به ۱۴ روز در داخل آزمایشگاه نگه‌داری شدند سپس به گلخانه انتقال داده شدند. بالاتر از ۸۵ درصد گیاهچه های زوفا به‌دست‌آمده از مرحله تکثیر پس از انتقال به گلدان به‌خوبی با شرایط محیطی سازگار شده و زنده ماندند (شکل ۳- ب).

شکل ۳. ریشه‌زایی و سازگاری با محیط گیاه دارویی زوفا

۵. بحث

به‌طورکلی غلظت نمک‌های مختلف می‌تواند محرک رشد سلول‌های گیاهی در گیاهان مختلف باشد و یا به‌عبارت دیگر، رشد گیاهان باززایی‌شده از ریزنمونه را به‌شدت تحت تأثیر قرار دهد. بنابراین انتخاب محیط کشت مناسب برای استقرار و رشد سلول‌ها و اندام‌های مختلف در محیط کشت بافت ضروری است (ناگلا[1] و مورتی[2]، ۲۰۱۰). در پژوهشی اثر سه نوع محیط کشت MS، B5 و WPM بر روی رشد گیاه ریحان موردبررسی قرار گرفت (منفورت[3] و همکاران، ۲۰۱۸). پژوهش‌گران گزارش کردند که بهترین محیط کشت برای رشد ساقه‌ها MS بود، ازآنجاکه عنصر نیتروژن عامل اصلی ساخت اسیدهای آمینه و اسیدهای نوکلئیک می‌باشد و از طرفی به‌دلیل غلظت بالاتر این عنصر در محیط کشت MS (۶۰/۰۱ میلی‌مولار) نسبت به B5 (۲۶/۷۵ میلی‌مولار) و WPM (۱۴/۷۰ میلی‌مولار) چنین نتیجه‌ای به‌دست آمد، در پژوهش حاضر نیز بهترین محیط کشت برای پرآوری گیاه دارویی زوفا MS گزارش شد که با نتایج مطالعات قبلی همخوانی دارد. گزارش‌های مختلفی وجود دارد که نشان می‌دهد کاشت و ریز ازدیادی گیاهان در شرایط کشت بافت به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر فاکتورهای مهمی از جمله تنظیم‌کننده‌های رشدی به‌ویژه گروه‌های سیتوکنینی قرار دارد (زیووا[4] و همکاران، ۲۰۱۸: نذیر[5] و همکاران، ۲۰۲۲: موریناکا[6] و همکاران، ۲۰۲۳). در پژوهش حاضر بیش‌ترین میزان پرآوری در گیاه دارویی زوفا در با غلظت ۲ میلی‌گرم بر لیتر BAP نسبت به غلظت ۱ میلی‌گرم بر لیتر و شاهد به‌دست آمد. در پژوهشی مشابه نیز بالاترین تعداد شاخساره باززایی‌شده در گیاه دارویی زوفا در محیط کشت MS در غلظت ۴/۴ میکرومولار BAP نسبت به غلظت‌های پایین‌تر یعنی شاهد و ۲/۲ میکرومولار بر لیتر به‌دست آمد (علیزاده و حسینی، ۱۳۹۲)، هم‌چنین به‌طور مشابهی با نتایج پژوهش حاضر کم‌ترین میزان پرآوری در محیط کشت‌های بدون هورمون به‌دست آمد. پژوهش‌ها در خصوص ریزازدیادی دیگر گیاهان خانواده نعناعیان نیز نشان می‌دهد که استفاده از هورمون BAP سبب افزایش پرآوری در آن‌ها شده است. به‌عنوان مثال، در گزارشی مشخص شد که در گیاه بادرنجبویه بالاترین تعداد و طول شاخساره در استفاده از غلظت ۲ میلی‌گرم بر لیتر از هورمون BAP در مقایسه با غلظت‌های پایین‌تر به‌دست آمد (اتروشی[7] و مرادی[8]، ۲۰۱۱) . هم‌چنین، در پژوهشی دیگر بر روی ریزازدیادی گیاه دارویی اسطوخودوس بیش‌ترین تعداد برگ و تعداد ساقه در غلظت ۱۱/۱۱ میکرومول BAP نسبت به غلظت‌های ۸/۸۸ و ۴/۴۴ میکرومول به‌دست آمد (سلیمانی[9] و همکاران، ۲۰۲۰). وجود ریشه‌های با طول و حجم زیادتر در تکثیر درون‌شیشه‌ای گیاهان دارای مزایایی ازجمله افزایش ضریب پرآوری، تنومندترشدن گیاهچه‌ها و درنهایت سازگاری بهتر در شرایط گلخانه‌ای و مزرعه‌ای می‌باشد (نتیا[10] و همکاران، ۲۰۱۳). گزارش‌های متعددی وجود دارد که اکسین و غلظت آن بر القا و میزان ریشه‌زایی گیاهان تأثیر معنی‌دار دارد (نذیر[11] و همکاران، ۲۰۲۲). در مطالعات مشابه در خصوص کشت بافت گیاه زوفا گزارش شده است که بیش‌ترین میزان طول ریشه در محیط کشت MS کامل با استفاده از هورمون ایندول‌بوتیریک‌اسید به‌دست آمده

1. Nagella
2. Murthy
3. Monfort
4. Zayova
5. Nazir
6. Morinaka
7. Otroshy
8. Moradi
9. Slimani
10. Nathiya
11. Nazir

است (نانووا[1] و همکاران، ۲۰۰۷؛ حسینی[2] و همکاران، ۲۰۱۶). در پژوهشی دیگر بالاترین میزان ساقه‌زایی و ریشه‌زایی در استفاده از هورمون تیدیازورون در گیاه زوفا به‌دست آمد، هم‌چنین استفاه از هورمون‌های بنزیل‌آدنین و کینیتین نیز به‌طور معنی‌داری بر دو شاخص ساقه‌زایی و ریشه‌زایی این گیاه تأثیر داشت (شجا[3] و شیشاوان[4]، ۲۰۲۱). هم‌چنین مشابه نتایج مطالعه حاضر، در پژوهشی دیگر مشخص شد که بالاترین میزان ریشه‌زایی در گیاه زوفا در محیط کشت MS به‌همراه استفاده از هورمون ایندول‌بوتیریک‌اسید در غلظت ۹/۴۸ میکرومول حاصل شد (حسینی و همکاران، ۲۰۱۶). در پژوهشی دیگر، پژوهش‌گران گزارش کردند که استفاده از غلظت‌های مختلف هورمون ایندول‌استیک‌اسید تأثیر متفاوت و معنی‌داری بر میزان ریشه‌زایی گیاه زوفا دارد، به‌طوریکه غلظت ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر از این هورمون در مقایسه با دیگر غلظت‌ها بیش‌ترین درصد ریشه‌زایی را نشان داد (نانووا و همکاران، ۲۰۰۷). دیگر پژوهش‌های انجام‌شده بر روی ریشه‌زایی گیاهان خانواده نعناعیان نیز نتایج مشابهی با پژوهش حاضر گزارش شده است. به‌عنوان مثال، در پژوهشی مشخص شد که بالاترین تعداد ریشه و بیش‌ترین طول ریشه در گیاه دارویی آویشن باغی در محیط کشت MS کامل با به‌کاربردن هورمون ایندول‌بوتیریک‌اسید در غلظت یک میلی‌گرم بر لیتر به‌دست آمد (کوپلا[5] و همکاران، ۲۰۱۸). نتایج پژوهش حاضر نیز با مطالعات فوق همخوانی دارد، اما هیچ‌کدام از مطالعات انجام‌شده معماری ریشه گیاه در شرایط درون‌شیشه‌ای را گزارش نکرده‌اند.

۶. نتیجه‌گیری و پیشنهادها

به‌طور کلی نتایج پژوهش حاضر نشان داد که در مقایسه سه محیط کشت متفاوت شامل MS، WPM و B5 بهترین محیط کشت برای پرآوری گیاه دارویی زوفا محیط کشت MS می‌باشد. هم‌چنین در مقایسه بین استفاده از غلظت‌های مختلف هورمون بنزیل آمینوپورین نیز مشخص شد بهترین غلظت برای پرآوری این گیاه غلظت ۲ میلی‌گرم بر لیتر است. در خصوص مطالعه معماری ریشه با استفاده از نرم‌افزار GiaRoots نیز مشخص شد که بهترین تیمار ریشه‌زایی استفاده از غلظت ۱ میلی‌گرم بر لیتر از هورمون ایندول‌بوتیریک‌اسید می‌باشد. پیشنهاد می‌شود اثر سایر تنظیم‌کننده‌های رشدی از جمله کینتین، تیدیازورون بر میزان پرآوری گیاه دارویی زوفا موردبررسی و مطالعه قرار گیرد، هم‌چنین پیشنهاد می‌شود اثر هورمون‌های استفاده‌شده در پژوهش حاضر بر روی درصد مواد مؤثره گیاهان تولیدشده از سیستم کشت بافت این گیاه در مطالعات بعدی مورد تجزیه و تحلیل قرار گیرد.

۷. تشکر و قدردانی

از دانشگاه جیرفت به‌دلیل حمایت از پژوهش حاضر، تشکر و قدردانی می‌گردد.

۸. تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان وجود ندارد.

1. Nanova
2. Hosseini
3. Shoja
4. Shishavan
5. Kulpa

۹. منابع

علیزاده، مرتضی و حسینی، بهمن (۱۳۹۲). بررسی اثر نوع توده و تیمار هورمونی BAP بر باززایی درون‌شیشه ای گیاه دارویی زوفا (*Hyssopus officinalis* L.). نشریه علوم باغبانی. ۲۷ (۲)، ۲۰۷-۲۰۱.

References

Alizadeh, M., & Hosseini, B. (2013). Effect of population type and BAP treatments on In vitro regeneration of Hyssop (*Hyssopus officinalis* L.). *Journal of Horticultural Science*, *27*(2), 201-207. (In Persian).

Babich, O., Sukhikh, S., Pungin, A., Ivanova, S., Asyakina, L., & Prosekov, A. (2020). Modern trends in the in vitro production and use of callus, suspension cells and root cultures of medicinal plants. *Molecules*, *25*(24), 5805.

Borrelli, F., Pagano, E., Formisano, C., Piccolella, S., Fiorentino, A., Tenore, G. C., & Pacifico, S. (2019). *Hyssopus officinalis* subsp. aristatus: An unexploited wild-growing crop for new disclosed bioactives. *Industrial Crops and Products*, *140*, 111594.

Cardoso, J. C., Oliveira, M. E., & Cardoso, F. D. C. (2019). Advances and challenges on the in vitro production of secondary metabolites from medicinal plants. *Horticultura Brasileira*, *37*, 124-132.

Džamić, A. M., Soković, M. D., Novaković, M., Jadranin, M., Ristić, M. S., Tešević, V., & Marin, P. D. (2013). Composition, antifungal and antioxidant properties of *Hyssopus officinalis* L. subsp. pilifer (Pant.) Murb. essential oil and deodorized extracts. *Industrial Crops and Products*, *51*, 401-407.

Galkovskyi, T., Mileyko, Y., Bucksch, A., Moore, B., Symonova, O., Price, C. A., & Weitz, J. S. (2012). GiA Roots: software for the high throughput analysis of plant root system architecture. *BMC plant biology*, *12*(1), 1-12.

Gamborg, O. L., Miller, R., & Ojima, K. (1968). Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. *Experimental cell research*, *50*(1), 151-158.

Hosseini, B., Alizadeh, M., Hassani, A., Jafari, M., & Rahimi, A. (2016). High-frequency in vitro direct shoot regeneration from nodal explants of hyssop plant (*Hyssopus officinalis* L.). *Journal of Medicinal plants and By-product*, *5*(2), 187-193.

Hristova, Y., Wanner, J., Jirovetz, L., Stappen, I., Iliev, I., & Gochev, V. (2015). Chemical composition and antifungal activity of essential oil of *Hyssopus officinalis* L. from Bulgaria against clinical isolates of Candida species. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, *29*(3), 592-601.

Judžentien˙e, A. (2016). Hyssop (*Hyssopus officinalis* L.) Oil. In *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety*. Edited by Preedy, V. London: Academic Press, Elsevier.

Kulpa, D., Wesołowska, A., & Jadczak, P. (2018). Micropropagation and composition of essentials oils in garden thyme (*Thymus vulgaris* L.). *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, *46*(2), 525-532.

Lloyd, G., & McCown, B. (1980). Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel, Kalmia latifolia, by use of shoot-tip culture. *Combined Proceedings, International Plant Propagators' Society*, *30*, 421-427.

Ma, X., Ma, X., Ma, Z., Sun, Z., Yu, W., Wang, J., & Ding, J. (2014). The effects of uygur herb *Hyssopus officinalis* L. on the process of airway remodeling in asthmatic mice. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, *2014*, 710870.

Mićović, T., Topalović, D., Živković, L., Spremo-Potparević, B., Jakovljević, V., Matić, S., & Maksimović, Z. (2021). Antioxidant, antigenotoxic and cytotoxic activity of essential oils and methanol extracts of *Hyssopus officinalis* L. subsp. aristatus (Godr.) Nyman (Lamiaceae). *Plants*, *10*(4), 711.

Monfort, L. E. F., Bertolucci, S. K. V., Lima, A. F., de Carvalho, A. A., Mohammed, A., Blank, A. F., & Pinto, J. E. B. P. (2018). Effects of plant growth regulators, different culture media and strength MS on production of volatile fraction composition in shoot cultures of *Ocimum basilicum*. *Industrial Crops and Products*, *116*, 231-239.

Monfort, L. E. F., Bertolucci, S. K. V., Lima, A. F., de Carvalho, A. A., Mohammed, A., Blank, A. F., & Pinto, J. E. B. P. (2018). Effects of plant growth regulators, different culture media and strength MS on production of volatile fraction composition in shoot cultures of *Ocimum basilicum*. *Industrial Crops and Products*, *116*, 231-239.

Morinaka, H., Coleman, D., Sugimoto, K., & Iwase, A. (2023). Molecular mechanisms of plant regeneration from differentiated cells: approaches from historical tissue culture systems. *Plant and Cell Physiology*, *64*(3), 297-304.

Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia plantarum*, *15*(3), 473-497.

Nagella, P., & Murthy, H. N. (2010). Establishment of cell suspension cultures of *Withania somnifera* for the production of withanolide A. *Bioresource Technology*, *101*(17), 6735-6739.

Nanova, Z., Slavova, Y., Nenkova, D., & Ivanova, I. (2007). Microclonal Propagation propagation of Hyssop (*Hyssopus officinalis* L.). *Bulgarian journal of agricultural science*, *13*(2), 213.

Nanova, Z., Slavova, Y., Nenkova, D., & Ivanova, I. (2007). Microclonal Propagation of Hyssop (*Hyssopus officinalis* L.) *Bulgarian journal of agricultural science*, *13*(2), 213-219.

Nathiya, S., Pradeepa, D., Devasena, T., & Senthil, K. (2013). Studies on the effect of sucrose, light and hormones on micropropagation and in vitro flowering of *Withania somnifera* Var. JAWAHAR-20. *The Journal of Animal and Plant Sciences*, *23*(5), 1391-1397.

Nazir, U., Gul, Z., Shah, G. M., & Khan, N. I. (2022). Interaction effect of auxin and cytokinin on in vitro shoot regeneration and rooting of endangered medicinal plant *Valeriana jatamansi* jones through tissue culture. *American Journal of Plant Sciences*, *13*(2), 223-240.

Otroshy, M., & Moradi, K. (2011). Micropropagation of medicinal plant Dracocephalum kotschyi Boiss. via nodal cutting technique. *Journal of Medicinal Plants Research*, *5*(25), 5967-5972.

Salehi, A., & Setorki, M. (2017). Effect of *Hyssopus officinalis* essential oil on chronic stress-induced memory and learning impairment in male mice. *Bangladesh Journal of Pharmacology*, *12*(4), 448-454.

Schuchovski, C.S., & Biasi, L.A. (2019). In vitro establishment of 'Delite'rabbiteye blueberry microshoots. *Horticulturae*, *5*(1), 24.

Shoja, H., & Shishavani, H. (2021). Effects of different hormonal treatments on growth parameters and secondary metabolite production in organ culture of *Hyssopus officinalis* L. *BioTechnologia*, *102*(1), 33-41.

Slimani, C., Sqalli, H., Rais, C., Wafae, S., Lazraq, A., El Ghadraoui, L., & Echchgadda, G. (2020). Improvement of germination rate and in vitro multiplication of *Lavandula angustifolia*. *Journal of Applied Biology and Biotechnology*, *8*(2), 52-57.

Venditti, A., Bianco, A., Frezza, C., Conti, F., Bini, L. M., Giuliani, C., & Maggi, F. (2015). Essential oil composition, polar compounds, glandular trichomes and biological activity of *Hyssopus officinalis* subsp. aristatus (Godr.) Nyman from central Italy. *Industrial crops and products*, *77*, 353-363.

Vlase, L., Benedec, D., Hanganu, D., Damian, G., Csillag, I., Sevastre, B., & Tilea, I. (2014). Evaluation of antioxidant and antimicrobial activities and phenolic profile for *Hyssopus officinalis*, *Ocimum basilicum* and *Teucrium chamaedrys*. *Molecules*, *19*(5), 5490-5507.

Xiao, Y., Niu, G., & Kozai, T. (2011). Development and application of photoautotrophic micropropagation plant system. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, *105*, 149-158.

Zayova, E., Geneva, M., Stancheva, I., Dimitrova, L., Petrova, M., Hristozkova, M., & Salamon, I. (2018). Evaluation of the antioxidant potential of in vitro propagated hyssop (*Hyssopus officinalis* L.) with different plant growth regulators. *Medicinal Plants-International Journal of Phytomedicines and Related Industries*, *10*(4), 295-304.