

بررسی کالوس‌زایی و اندام‌زایی گیاه اسطوخودوس (*Lavandula vera DC.*)

* مریم پیوندی، لیلا کاظمی، احمد مجد

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

چکیده

اسطوخودوس گیاهی زینتی و داروئی است. یکی از روش‌های کارامد در ریز ازدیادی آن اندام‌زایی از کالوس می‌باشد. در این پژوهش تاثیر سیتوکینین‌های مختلف بر کالوس‌زایی و اندام‌زایی گیاه اسطوخودوس مطالعه شد. جداکشت‌های گره، در محیط کشت MS دارای غلظتها مختلف هورمونهای BAP (بنزیل آمینو پورین)، Kin (کیتین) و 2iP (ایزوپتیل آدنین) با غلاظت‌های ۱ تا ۲ میلی گرم بر لیتر، به تنهایی و یا در ترکیب با یکدیگر کشت شدند. نتایج نشان داد ده روز پس از کشت نمونه‌ها، کالوس زایی آغاز می‌شود. در هفته سوم روحی برخی از کالوس‌های سبز رنگ گرانولهای ایجاد شده که با گذشت زمان به جوانه و برگ یا ریشه تبدیل شدند. جوانه‌زنی از کالوس‌ها در محیط‌های کشت دارای BAP یا 2ip مشاهده شد. بیشترین جوانه‌زنی در محیط دارای BAP (۲ میلی گرم بر لیتر) به دست آمد. در تیمارهای BAP ۱ تا ۲ میلی گرم بر لیتر) و 1ip (۱ میلی گرم بر لیتر) همزمان با جوانه‌زنی، ریشه زایی نیز صورت پذیرفت، به طوریکه حداقل تعداد ریشه در محیط کشت دارای BAP (۱ میلی گرم بر لیتر) مشاهده شد. در مرحله بعد، کالوس‌های ۴۵ روزه در همان محیط کشت اولیه واکشت شدند. نتایج این مرحله نشان داد نمونه‌ها علاوه بر محیط‌های واکشت دارای BAP یا 2ip، در محیط کشت دارای دو هورمون Kin و BAP (۱ میلی گرم بر لیتر) نیز ساقه و برگ تولید می‌نمایند. اما در هیچ‌کدام از محیط‌های واکشت ریشه زایی دیده نشد.

کلمات کلیدی: اسطوخودوس، *Lavandula vera* کالوس، اندام زایی، ریشه‌زنی

مقدمه

باغها و پارکها کاشته می‌شود. انسان‌این گیاه یکی از ترکیبات اصلی برخی فراورده‌های بهداشتی و آرایشی را تشکیل می‌دهد و در تولید ادکلن، عطر، صابون، شامپو، خوشبو کننده‌های هوا و امثال آن کاربرد فراوانی دارد. انسان‌این گیاه نیز خاصیت شدید ضد باکتریایی دارد (زرگری، ۱۳۶۹).

در روش‌های سنتی معمولاً با ریشه دار کردن قلمه یا بذر تکثیر می‌شود. تکثیر با بذر بسیار طولانی مدت است و امکان ایجاد تنوع و تغییر در ویژگی‌های انسان‌آن زیاد است.

اسطوخودوس متعلق به تیره Lamiaceae می‌باشد.

گونه‌های مختلف اسطوخودوس گیاهان خشی چند ساله و مخصوص مناطق خشک و نیمه خشک هستند (Panizza & Tognoni, 1988,1991; Nobre, 1996). این گیاه از قرن سیزدهم نزد مردم اروپا شناخته شده بود و در مرکز اروپا گسترش زیادی داشته و موارد استعمال آن نیز فراوان بوده است. در حال حاضر اسطوخودوس به عنوان گیاه زینتی در

(*Lavandula angustifolia Mill* یا *Lavandula vera*) در محیط کشت MS بود.

مواد و روش ها

نمونه گیاهی

گیاه مورد نظر از گلخانه گلبرگ، واقع در کیلومتر ۱۹ جاده قدیم کرج خریداری شد.

محیط‌های کشت

این آزمایش پیرو دستورالعمل (Echeverrigaray et al., 2005; Andrade et al., 1996) و از محیط کشت MS به تنهایی یا در مخلوط با یکدیگر استفاده شد. 2ip (Murashig and Skoog, 1962) BAP, Kin (جدول ۱). pH محیط کشت (۵/۸)، قبل از اضافه نمودن آگار تنظیم شد و سپس در فشار ۱۰۵ 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 نمونه‌ها

شاخه‌های جوان از گیاه مادری جدا شد و پس از شستشو با آب جاری با کلرید جیوه (۱/۰ درصد) و شستشو با آب مقطر سترون (۳ بار) سترون گردید. پس از حذف برگ‌ها و جوانه‌های انتهایی، جداکشت‌های جوانه‌های براکتی (BAP)، در محیط کشت پایه MS دارای هورمون‌های 2ip و مخلوط این هورمون‌ها (جدول ۱) کشت گردیدند و نوساقه‌های سترون ۴۵ روزه حاصل برای مراحل بعدی استفاده شد.

واکشت نمونه‌ها

کالوس‌های حاصل از مرحله قبل در محیط‌های اولیه واکشت گردیدند (جدول ۲).

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.

همچنین به دلیل کندی رشد و سخت ریشه‌دار شدن قلمه‌های برخی از ارقام، تکثیر با ریشه‌دار کردن قلمه‌های خشی، روش کارآمدی نیست (Andrade et al., 1999; Dias et al., 2002). از این رو روش کشت در شیشه امکان افزایش سرعت تکثیر را فراهم می‌نماید.

با روش‌های کشت در شیشه می‌توان توده سلولی تمايز نیافته‌ای را از بافت‌های تمايز یافته به دست آورد و سپس تشکیل گیاه کامل را از سلولهای تمايز نیافته، حتی از یک سلول منحصر به فرد جدا شده شاهد بود (Leva, 2009) در مراحل کشت بافت گیاهی (رونده تمايز زدایی^۱،) سلولها به حالت مریستمی در آمده و امکان تقسیم شدن را پیدا می‌کنند، سپس توده سلولی که از تقسیمات سلول‌های مریستمی شده ایجاد شده‌اند، می‌توانند در مسیری کاملاً متفاوت از تمايز سلولهای کشت شده اولیه، تمايز یابند (Banthorpe et al., 1986). در این روش بافت‌ها تحت تاثیر هورمونهای سیتوکینین به اندام‌های هوائی تمايز می‌یافته و سپس توسط اکسین ریشه دار می‌شوند (Jame & Silva, 2003). روش کشت در شیشه در گیاه اسطوخودوس به دلیل وجود فنل زیاد در گیاه همواره با مشکل مواجه بوده است (Echeverrigaray et al., 2005). ریز ازدیادی اسطو خودوس عمدتاً با استفاده از روش‌های رشد جوانه‌های جانبی در محیط‌های کشت دارای سیتوکینین (Dias et al., 2002; Echeverrigaray et al., 2005) و اندامزایی (Tsuro et al., 2000; Bjowani, 1996).

نقش سیتوکینین‌ها در کالزالزایی و اندامزایی برخی ارقام اسطوخودوس نظیر *Lavandula dentate* توسط محققان مختلف از جمله Miguel و همکاران (۱۹۹۶) و Quazi و همکاران (۱۹۸۰) مطالعه شده است.

هدف از این مطالعه ارزیابی تیمارهای هورمونی سیتوکینی، بر کالزالزایی و اندامزایی گیاه اسطوخودوس

^۱. Dedifferentiation

(جدول ۲). در این مرحله هیچکدام از کالوس‌ها ریشه تولید نکردند.

بحث

در مطالعه حاضر اثرات هورمونی سیتوکینین‌ها در محیط کشت MS بر تکثیر اندام هوایی و ریشه‌زایی اسطوخودوس ارزیابی شدند.

سیتوکینین‌ها در تقسیم سلولی و تحریک رشد در جوانه‌های جانبی، مهار رشد ریشه و مهار پیری دخالت دارند. اگرچه نوع و غلظت این تنظیم کننده‌های رشد گیاهی در القا اندام‌زایی نیز نقش بسزایی دارد (Sanchez-Gras, 1996; Benkova et al., 1999).

نتایج این بخش از پژوهش نشان داد که در مرحله کشت، محیط کشت دارای BAP یا 2ip (۱ تا ۲ میلی گرم بر لیتر) باعث کالزالی و اندام‌زایی می‌شود. مقایسه نتایج دو مرحله آزمایش نشان می‌دهد، در مرحله کشت BAP (۱ میلی گرم بر لیتر) و در مرحله واکشت، BAP (۱ میلی گرم بر لیتر) کارآمدتر می‌باشد.

تحقیقات نشان داده است سرعت رشد کالوس‌ها و تولید ساقه و برگها در گونه‌های مختلف اسطوخودوس به نوع و تراکم سیتوکینین استفاده شده، وابسته است (Calvo & Segura, 1989; Dronne et al., 1999).

در مطالعه حاضر تاثیر سیتوکینین‌های مختلف بر میزان اندام‌زایی از کالوس‌های حاصل از جوانه‌های جانبی بررسی شد. همزمان با رشد جوانه‌های جانبی، کالوس‌های سبز با حجم بالا پس از ۱۰ روز ایجاد گردید. روی کالوس‌های سبز، بخش‌های گرانولی سبز تولید شد که پس از مدتی تبدیل به جوانه شدند و قسمت‌هایی از کالوس شاخه نابجا تولید نمود. همزمان با این روند ریشه زایی نیز مشاهده گردید. این نتایج Passiflora edulis با کالزالی و نمو شاخه‌های نابجا در گیاه Bias در مطالعه همکاران (۲۰۰۰) همخوانی دارد. در این تجربه کالهای حاصله به طور عموم سبز رنگ بودند. علت این امر می‌تواند دخالت سیتوکینین در رابطه با نمو کلروپلاست و سنتز کلروفیل باشد.

محاسبات آماری

برای تیمارهای سیتوکینین، هر تیمار حداقل با ۷ تکرار و در هر تکرار ۴ نمونه کشت شد. ۳۰ روز پس از هر تیمار درصد کالزالی، درصد جوانه‌زنی و ریشه زایی از کالوسها بررسی شد.

داده‌ها براساس نرم افزار SPSS(ver.14) آنالیز شد. مقایسه میانگین داده‌ها بر اساس برنامه ANOVA و گروه بندی میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن در سطح $P \leq 0.05$ انجام شد.

نتایج

نتایج استفاده از سیتوکینین‌های مختلف نشان داد، کالزالی و اندام‌زایی از هر کالوس به نوع و غلظت هورمون‌های محیط بستگی دارد.

اثر انواع سیتوکینین بر روی میزان کالزالی و اندام‌زایی مرحله کشت

جوانه‌های جانبی در محیط کشت‌های دارای سیتوکینین رشد کردند. ده روز پس از کشت، کالوس زائی در بخش‌هایی از بافت که در معرض محیط کشت بودند، مشاهده گردید. پس از گذشت سه هفته گرانول‌ها در سطح کالوس مشاهده شد که تعدادی از آنها به برگ، جوانه و تعدادی نیز به ریشه تمایز پیدا کردند. در تیمار BAP (۲ میلی گرم بر لیتر) بالاترین تعداد کالوسهای اندام زا به دست آمد.

در تیمارهای BAP (۱ تا ۲ میلی گرم بر لیتر) و 2ip (۱ میلی گرم بر لیتر)، همزمان با کالزالی ریشه‌زایی نیز مشاهده شد. به طوری که در محیط کشت دارای BAP (۱ میلی گرم بر لیتر) ماکریم ریشه‌زائی به دست آمد (جدول ۱، شکل‌های ۱ و ۲).

مرحله واکشت

نتایج به دست آمده نشان داد همانند مرحله کشت، حضور BAP موجب افزایش معنی دار در درصد جوانه‌زنی می‌باشد. جوانه‌زنی از کالوس‌ها در محیط‌های کشت دارای BAP (۱ تا ۲ میلی گرم بر لیتر) و 2ip (۱ تا ۲ میلی گرم بر لیتر) و ترکیب Kin و BAP (۱ میلی گرم بر لیتر) مشاهده شد

منابع

دیبا، ه، مجده، ا. (۱۳۸۵). اثر عوامل اقلیمی، اکولوژی و شرایط محیط کشت آزمایشگاه (کشت در شیشه) در ساختار تشریحی و برخی متابولیتهای ثانویه در گیاه گزنه دو پایه *Urtica diodica* L. پایان نامه کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم تحقیقات زرگری، ع. (۱۳۶۹). گیاهان دارویی، انتشارات دانشگاه تهران، چاپ سوم.

Andrade, L.B., Echeverrigaray, S., Fracaro, F., Pauletti, G.F., Rota, L. (1999). The effect of growth regulators on shoot propagation and rooting of common lavender (*Lavandula vera* DC). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 56: 79-83.

Bantherpe, 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.

Benkova, E., Witters, E., Van Dongen, W., Kola, J., Motyka, V., Brzobohaty, B., Van Onckelen, H. A., Machakova, I. (1999). Cytokinins in Tobacco and Wheat chloroplasts. Occurrence and Changes Due to Light/Dark Treatment. *Plant Physiology*, 121(1): 245-252.

Bias, L.A., Falco M.C., Rodriguez, A. P. M., Mendes, M.J. (2000). Organogenesis from internodal segments of yellow Passion fruit. *Scientia Agricola*, 57(4): 661-665.

Bjowani, S.S., Razdan, M.K. (1996). Plant tissue culture: theory and practice. *Developments in crop Science*, 25-32.

Bjowani, S.S., Razdan, M.K. (1990). Plant tissue culture theory and practice. *Developments in crop Science*, 25-32/

Blinstrubiene, A., Sliesaravicius, A., Burbulis, N. (2004). Factors affecting morphogenesis in tissue culture of linseedflax (*Linum usitatissimum* L.), *Acta Universities Latviensis, Biology*, 676: 149-152.

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

طبق گزارش Canas و همکاران (۱۹۸۸) در محیط دارای سیتوکینین بالا و اکسین پایین، جوانه زایی و برگ زایی انجام می شود و القاریسه، کالزالزایی و رویان زایی در محیط دارای اکسین بالا و سیتوکینین پایین انجام می شود. در پژوهش حاضر در محیط کشت، صرفا سیتوکینین استفاده شد. علت تولید همزمان ریشه، کالوس و اندام هوایی، وجود مقداری هورمون اکسین درون زا در قطعه جداکشت می باشد که بر هم کنشی با سیتوکینین برون زا ایجاد می کند. این یافته قابل مقایسه با نتایج دیبا (۱۳۸۵) در کشت بافت گزنه دو پایه می باشد.

آنچه مسلم است نوع جداکشت (جوان یا بالغ) و موقعیت جداکشت در گیاه، که نشان دهنده میزان هورمون های داخلی است، ژنوتیپ و نیز ترکیب محیط کشت، می توانند اثرات مهمی در فرآیند هایی نظیر تقسیم سلولی و تشکیل اندام و جنین داشته باشند (دیبا و مجده، ۱۳۸۵). امروز فرآیند تمایز زدایی و بازگشت تمایز در تعداد زیادی از گونه های گیاهی انجام می گیرد کترل فرآیندهای تمایز باید بستگی به حضور اکسین و سیتوکینین که دو دسته از تنظیم کننده های رشد گیاهی اند و توازن بین آنها تولید اندام هوایی و ریشه ها را از کالوس سبب می شود. گرچه میزان تنظیم کننده های خارجی به شدت به ژنوتیپ و مقدار هورمون های داخلی گیاه بستگی دارد (Bjowani & Razadan, 1990) حتی پتانسیل ریخت زایی به غلظت اجزایی چون ماکرو، میکرو و ویتامین ها ارتباط دارد (Blinstrubiene et al., 2004).

نتیجه گیری نهایی

نتایج حاصل از آزمایش نشان داد بهترین محیط کشت برای تولید اندام های هوایی از کالوس در مرحله کشت، محیط دارای BAP (۲ میلی گرم بر لیتر) و در مرحله واکشت، محیط دارای BAP (۱ میلی گرم بر لیتر) می باشد و بهترین محیط برای ریشه زایی، محیط BAP (۱ میلی گرم بر لیتر) می باشد.

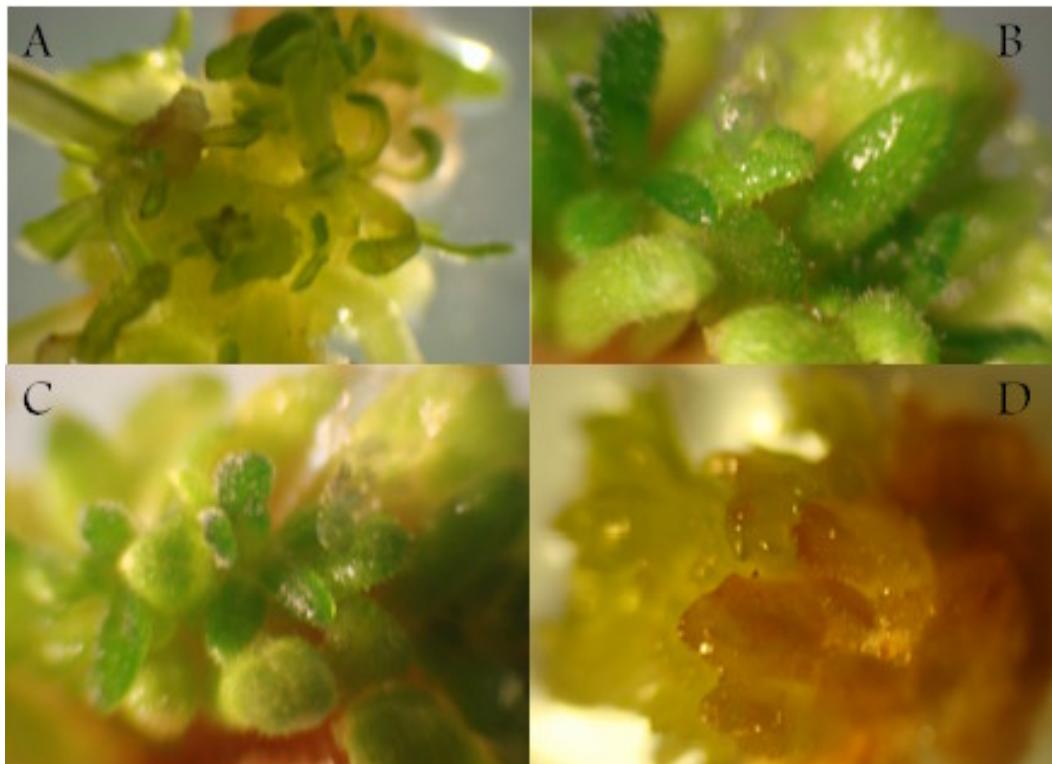
- Murashige, T., Skoog, A. (1962).** Revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Plant Physiology*, 15: 473-97.
- Nobre, J. (1996).** *In vitro* cloning ad micropropagation of *Lavandula stoechas* from field – grown plants. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 46:151- 155.
- Panizza, M., Tognoni, F. (1988).** Clonal propagation, callus Formation and plant Regeneration of *Lavandin*. *Scientia Horticulturae*, 37: 157 – 163.
- Panizza, M., Tognoni, F. (1991).** Micropropagation of *lavandian* (*lavandula officinalis chaix* × *lavandula latifolia villas* cv.*grossa*). In: Yps Bajaj (ed) Biotechnology in Agriculture & forestry, vol.19.
- Quazi, M.H. (1980).** *In vitro* multiplication of *Lavandula* spp. *Ann. Botany*, 45:361-362.
- Suro, M., Koda, M., and Inoue, M. (2000).** Efficient plant regeneration from multiple shoots formed in the leaf-derived callus of *Lavandula vera*, using the “open culture system, *Scientia Horticulturae*, 86(1): 81-88
- Sanchez-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.
- Canas, LA, Bendabis, A. (1988).** Plant regeneration from cotyledon fragments of olive tree (*Olea europaea* L.). *Plant Science*, 54: 65-74.
- Dias, M. C., Almeida, R. and Romano, A. (2002).** Rapid clonal multiplication of *Lavandula viridis* L'Hér through *in vitro* axillary shoot proliferation, *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 68(1): 99- 102
- Dronne, S., Jullien, F., Caillard 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.
- Echeverrigaray, S., Basso, R., and Andrade L.B. (2005).** Micropropagation of *Lavandula dentata* from axillary buds of field-grown adult plants, *Biologia Plantarum*, 49(3): 439-442.
- Jame, A., Teixeira da Silva. (2003).** *Chrysanthemum*: advances in tissue culture, cryopreservation, postharvest technology, genetics and transgenic biotechnology, *Biotechnology Advances*; 21(8): 715-766.
- Leva, A. (2009).** Morphological evaluation of olive plants propagated *in vitro* culture through axillary buds and somatic embryogenesis methods, *African Journal of Plant Science* Vol. 3 (3): 037-043

جدول ۱: میانگین شاخص‌های اندام زایی از کالوس‌های حاصل از جداکشتهای گره گیاه مادری در محیط کشت پایه MS در تیمارهای متفاوت سبتوکینین در مرحله واکشت، گروه‌بندی براساس آزمون دانکن ($P \leq 0.05$)

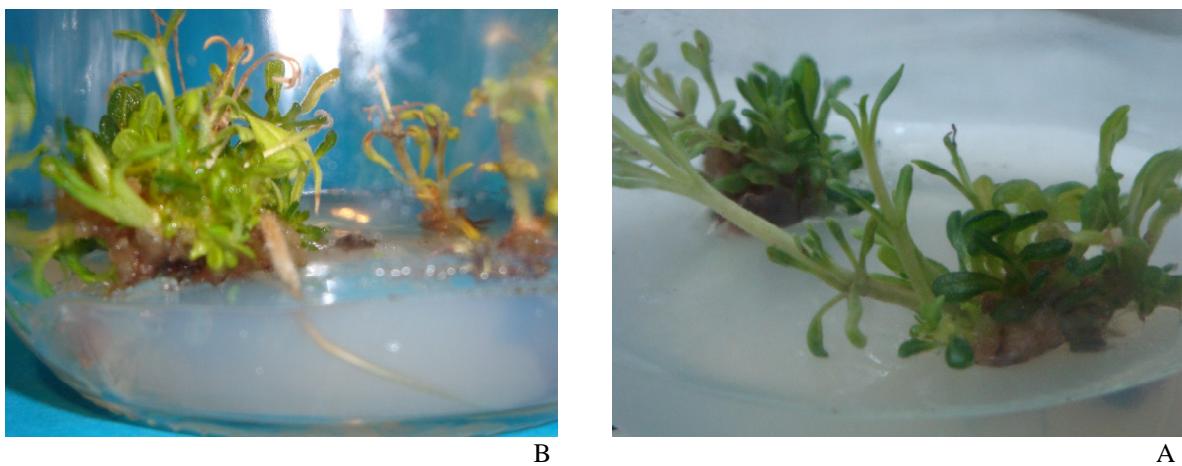
تیمار	هرمون/mg/l	درصد کالوس‌ Zahای			درصد تولید ریشه	جوانه‌های نابه جا	اندام‌زا
		Kin	2ip	BAP			
(a)۱۸/۱۸	(b)۶۱/۳۰	(b)۶۱/۳۰	.	.	۱	۱	
(b)۸/۰۱	(a)۴۳/۵۱	(a)۴۳/۵۱	.	.	۲	۲	
(c)۰	(c)۵/۲	(c)۵/۲	.	۱	۰	۳	
(b)۵/۰۰	(c)۱۰	(c)۱۰	.	۲	۰	۴	
(c)۰	(d)۰	(d)۰	۱	۰	۰	۵	
(c)۰	(d)۰	(d)۰	۲	۰	۰	۶	
(c)۰	(d)۰	(d)۰	۱	۰	۱	۶	
(c)۰	(d)۰	(d)۰	۲	۰	۲	۸	
(c)۰	(d)۰	(d)۰	.	۱	۱	۹	
(c)۰	(d)۰	(d)۰	.	۲	۲	۱۱	
(c)۰	(d)۰	(d)۰	۱	۱	۰	۱۲	
(c)۰	(d)۰	(d)۰	۲	۲	۰	۱۳	

جدول ۲: میانگین شاخص‌های اندام زایی از واکشت کالوسها در محیط کشت پایه MS در تیمارهای متفاوت سبتوکینین، گروه‌بندی براساس آزمون دانکن ($P \leq 0.05$)

تیمار	هرمون/mg/l	درصد کالوس Zahای			درصد تولید ریشه	جوانه‌های نابه جا	اندام‌زا
		Kin	2ip	BAP			
(a)۰	(b)۶۱/۳۰	(b)۶۱/۳۰	.	.	۱	۱	
(a)۰	(a)۴۳/۵۱	(a)۴۳/۵۱	.	.	۲	۲	
(a)۰	(c)۵/۲	(c)۵/۲	.	۱	۰	۳	
(a)۰	(c)۱۰/۰۰	(c)۱۰/۰۰	.	۲	۰	۴	
(a)۰	(d)۰	(d)۰	۱	۰	۰	۵	
(a)۰	(d)۰	(d)۰	۲	۰	۰	۶	
(a)۰	(d)۹/۶۷	(d)۹/۶۷	۱	۰	۱	۷	
(a)۰	(d)۰	(d)۰	۲	۰	۲	۸	
(a)۰	(d)۰	(d)۰	۰	۱	۱	۹	
(a)۰	(d)۰	(d)۰	۰	۲	۲	۱۱	
(a)۰	(d)۰	(d)۰	۱	۱	۰	۱۲	
(a)۰	(d)۰	(d)۰	۲	۲	۰	۱۳	



شکل ۱: تشکیل جوانه های نابجا بر روی کالوسهای حاصل از قطعات گره از گیاه مادری، ۳۰ روز پس از کشت
 (A) محیط کشت دارای BAP (۱ mg/l) (B) محیط کشت دارای BAP (۲ mg/l)
 (C) محیط کشت دارای ۲iP (۱ mg/l) (D) محیط کشت دارای ۲iP (۲ mg/l)



شکل ۲: رشد جوانه ها و ریشه ها بر روی کالوسهای حاصل از قطعات گره از گیاه مادری، ۴۵ روز پس از کشت؛
 A: محیط کشت دارای BAP (۲ mg/l) (B) محیط کشت دارای BAP (۱ mg/l)

Callogenesis and organogenesis of *Lavandula vera* DC.

Peyvandi, M., Kazemi, L., Majd, A.

Dep. Of Biology, Fac. Of Science, Islamic Azad Univ., Tehran-North Branch

Abstract

Lavender (*Lavandula vera* DC) is an important ornamental and aromatic plant. In vitro culture through callogenesis is proposed to be an alternative for vegetative propagation. The effects of different cytokinins were investigated on callogenesis and organogenesis of *Lavandula vera*. Nodal explants were cultured in the MS medium supplemented with different concentrations of cytokinins (benzyl amino purine (BAP), Kinetine (Kin) solely or in combination with each other. Ten days after culturing, callogenesis was observed. After 3 weeks some granular shapes were appeared on the calli which formed sprouts or roots. Calli which were grown in the medium with 2iP (1-2 mg/l) or BAP (1-2 mg/l) produced shoots. The maximum number of shoots was achieved in the medium supplemented with BAP (2 mg/l). The production of shoots and roots were occurred at the same time. The maximum level of root formation was gained in the medium with BAP (1 mg/l). Forty five old days calli were subcultured in the same culture media. Shoot formation was achieved in the media supplemented with 2iP (1-2 mg/l) or BAP (1-2 mg/l) and combination of BAP and Kin (1mg/l). In the subculture media root formation was not occurred.

Key Words: *Lavandula vera*, Callus, Organogensis, Root formation