نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۲۶، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۱، ص. ۴۳۹-۴۳۴
شاپا: ۴۷۳۰ - ۲۰۰۸

Journal of Horticultural Science
Vol. 26, No. 4, Winter 2013, P. 434-439
ISSN: 2008 - 4730

بررسی اثرات نوع ژنوتیپ و غلظت‌های مختلف بنزیل آدنین بر باززایی مستقیم شاخساره ریحان (*Ocimum basilicum*) در شرایط درون شیشه‌ای

فرهاد اصغری[۱]- عباس حسنی[۲*]- بهمن حسینی[۳]- جواد فرخی[۴]

تاریخ دریافت:۱۳۹۰/۱۰/۶
تاریخ پذیرش:۱۳۹۱/۶/۷

چکیده

ریحان (*Ocimum basilicum*) گیاهی علفی، یکساله و متعلق به خانواده نعناعیان است. از ریحان به عنوان گیاه دارویی، ادویه‌ای و همچنین به عنوان سبزی تازه استفاده می‌شود. یکی از بخش‌های مهم بیوتکنولوژی، کشت بافت می‌باشد که کاربردهای زیادی در زمینهٔ گیاهان داروئی، نظیر باززایی و تکثیر گیاهان در شرایط آزمایشگاهی و تولید داروهای گیاهی با کیفیت بالا دارد. مطالعه حاضر به منظور بررسی اثر نوع ژنوتیپ (۴ ژنوتیپ مختلف شامل ارومیه، اردبیل، همدان و مجارستانی) و محیط کشت (محیط MS تکمیل شده با بنزیل آدنین در چهار سطح صفر، ۲/۵، ۵ و ۷/۵ میلی‌گرم در لیتر) بر باززایی مستقیم شاخساره و مشخص نمودن بهترین نوع ژنوتیپ و تیمار هورمونی برای به دست آوردن بیشترین بازده در تولید گیاهچه‌های درون شیشه‌ای گیاه ریحان، در آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و در محیط کشت پایه MS انجام گردید. نتایج این آزمایش نشان داد که بین ژنوتیپ‌ها اختلاف معنی‌داری از لحاظ باززایی وجود دارد. حداکثر باززایی از نظر درصد و تعداد باززایی در ریزنمونه، در غلظت ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آدنین و در ژنوتیپ مجارستانی مشاهده گردید. همچنین با افزایش غلظت بنزیل آدنین ریشه‌زایی کاهش و درصد شیشه‌ای شدن نمونه‌ها افزایش یافت.

واژه های کلیدی: ریحان، بنزیل آدنین، باززایی، شیشه‌ای شدن، درصد ریشه‌زایی

مقدمه

ریحان (*Ocimum basilicum*) گیاهی علفی، یکساله و متعلق به خانوادهٔ نعناعیان (Lamiaceae) می‌باشد. منشأ این گیاه ایران، افغانستان و هند گزارش شده است (۱، ۳ و ۱۵). ریحان یک محصول مهم اقتصادی در سراسر جهان است که به عنوان گیاه داروئی، ادویه-ای و همچنین به عنوان سبزی تازه استفاده می‌شود (۱). پیکر رویشی ریحان حاوی اسانس (۰/۵ تا ۱/۵ درصد) است. تولید سالیانه اسانس این گیاه به ۱۰۰ تن و ارزش گلدانی آن به ۱۵ میلیون دلار در سال می‌رسد (۵). اگرچه ترکیبات تشکیل دهندهٔ اسانس ریحان متفاوت بوده و تیپ‌های شیمیایی متعددی از این گیاه شناسایی شده‌اند اما به طور کلی لینالول، متیل‌کاویکول، سیترال، اوژنول، سینئول، کامفور و متیل سینامات از اجزاء مهم اسانس بوده و در بازارهای جهانی اسانس، عطر، دارو و صنایع غذایی مورد مبادله هستند (۱، ۱۹ و ۲۳). پلی مورفیسم و سهولت دگرگرده افشانی در جنس ریحان باعث بوجود آمدن زیرگونه‌ها، واریته‌ها و فرمهای متعددی گردیده است که در عادت رشدی، رنگ و ترکیبات معطر فرق می‌کنند و این اختلافات باعث شده تا طبقه‌بندی صحیح آنها به لحاظ گیاهشناسی مشکل باشد (۱۱ و ۲۳). اگر چه این گیاه بطور معمول از طریق بذر تکثیر می‌شود اما دانهالهای حاصله تنوع زیادی را در اثر دگرگرده افشانی طبیعی گیاه نشان می‌دهند. واریته‌های تجاری فعلی ریحان تنوع بسیار زیادی را از لحاظ شکل برگ، رنگ گلها، ارتفاع و ساختارگیاه و اجزای مواد مؤثره نشان می‌دهند. ریزازدیادی درون شیشه‌ای یک روش مؤثر برای ازدیاد سریع گونه‌هاست که باعث تولید نتاجی با یکنواختی بالا می-شود. بنابراین ایجاد تکنیک‌های کشتی کارآمد و منطقی و فرموله کردن ترکیب محیط کشت مناسب برای اندام خاص بعنوان یک شرط لازم برای ازدیاد درون شیشه‌ای گیاه می‌باشد (۵).

ژنوتیپ‌های مختلف با داشتن سطوح مختلف هورمونهای داخلی اکسین و سیتوکینین پاسخ‌های مختلفی نسبت به شرایط محیط کشت

۱، ۲، ۳ و ۴- به ترتیب دانش آموختهٔ کارشناسی ارشد، دانشیار، استادیار و دانش آموختهٔ کارشناسی ارشد گروه علوم باغبانی، دانشکدهٔ کشاورزی، دانشگاه ارومیه
(★- نویسندهٔ مسئول: Email: horthasani@yahoo.com)

Archive of SID
www.SID.ir

نشان می‌دهند. در بسیاری از مطالعات انجام گرفته بر روی گیاهان متعلق به خانواده نعناعیان خصوصاً جنس ریحان، نشان داده شده است که بین ژنوتیپ‌های مختلف جنس ریحان اختلاف معنی‌داری از لحاظ پتانسیل باززایی وجود دارد. در آزمایشی که به منظور قابلیت باززایی شاخساره نابجا، در واریته‌های تجاری ریحان صورت گرفته، نشان داده شده است که بیشترین پتانسیل باززایی شاخساره نابجا (۸۵ درصد) برای واریته Sweet Dani lemon basil و در محیط حاوی ۱۶/۸ میکرومولار تیدیازورون (TDZ) بدست آمد در حالیکه واریته‌های Green purple Ruffles و Methylcinnamate به ترتیب دارای مقادیر باززایی ۳۶/۸ و ۲۸/۱ درصد بودند (۱۴). عکس العمل ریزنمونه به مقدار بهینه تنظیم کننده‌های رشد داخلی و بیرونی بستگی دارد. بگوم و همکاران (۵) گزارش کردند که استفاده از غلظت ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر BAP منجر به ۱۰۰ درصد پرآوری از نمونه‌های گره در گیاه ریحان می‌شود در حالیکه استفاده از غلظت ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر KIN باعث القای حداکثر ۷۵ درصد پرآوری از نمونه‌های گره گردید. در بررسی دیگری بر روی گونه‌ای از ریحان (*Ocimum gratissimum* L.)، گزارش شده است که حداکثر تعداد شاخساره (۱/۵±۱۴/۳) در محیط کشت MS حاوی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر IAA، ۴ هفته پس از کشت از ریزنمونه‌های گره، قابل مشاهده است (۸).

با توجه به اهمیت ریحان و تنوع بسیار بالا در این گیاه و با در نظرگرفتن این موضوع که ریحان دارای سیستم دگرگرده‌افشانی طبیعی بوده و به طور معمول با بذر تکثیر می‌گردد بنابراین جهت اجتناب از تنوع‌های ناخواسته و غیرمفید و حفظ ویژگی‌های مطلوب ارقام اصلاح شده یا توده‌های گزینش شده، می‌توان از روش‌های درون شیشه‌ای به عنوان یک روش مؤثر جهت تولید گیاهان برگزیده و یکنواخت در مدت زمان کوتاه استفاده کرد. در این راستا، تحقیق حاضر به منظور بررسی اثر نوع ژنوتیپ و محیط کشت در ازدیاد درون شیشه‌ای ریحان و همچنین تدوین دانش فنی کشت درون شیشه‌ای آن در ایران انجام گرفته است.

مواد وروش‌ها

ضدعفونی بذور

جهت ضد عفونی بذور از اتانول ۷۰ درصد به مدت ۱ دقیقه و هیپوکلریت سدیم در غلظت‌های ۱ و ۵ درصد در زمان‌های ۵ و ۱۰ دقیقه استفاده شد. همچنین در تمامی تیمارهای ضد عفونی از ماده توئین ۲۰، به مقدار ۱ الی ۲ قطره، به منظور تماس بهتر ماده ضدعفونی با پوشش بذر استفاده گردید.

کشت بذور

بذور ضدعفونی شده، در داخل محیط MS تکمیل شده با ۳ درصد ساکارز، ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر میواینوزیتول و ۰/۷ درصد آگار کشت شده و pH محیط کشت با هیدروکسید پتاسیم یک نرمال در ۵/۸ تنظیم گردید. در داخل هر فلاسک شیشه‌ای تعداد ۲۰ عدد بذر کشت گردید. بذرها پس از انتقال به فلاسک در دمای ۱±۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی در اتاق رشد نگهداری شدند.

کشت ریزنمونه

برای انجام این آزمایش از بذور ۴ ژنوتیپ مختلف ریحان شامل ارومیه، اردبیل، همدان و یک رقم اصلاحی تهیه شده از کشور مجارستان بنام کشکنی لولو استفاده گردید. دو هفته پس از کشت بذور، قطعات ۵ میلی‌متری گره جدا و بعنوان ریزنمونه مورد استفاده قرار گرفت. ریزنمونه‌ها در محیط کشت MS تکمیل شده با بنزیل آدنین (BAP) در چهار سطح صفر، ۲/۵، ۵ و ۷/۵ میلی‌گرم در لیتر و در ۳ تکرار کشت گردیدند. در تمام آزمایشات، محیط MS بدون هورمون بعنوان شاهد در نظر گرفته شد. کشت‌ها در اتاقک رشد در دمای ۱±۲۵ درجه سانتی‌گراد، تحت فتوپریود ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی به مدت ۸ هفته نگهداری شدند.

آزمایش به صورت فاکتوریل، در قالب طرح کاملاً تصادفی و با ۳ تکرار اجرا گردید. واکشت ریزنمونه‌ها پس از گذشت ۲ هفته انجام و نتایج پس از گذشت ۸ هفته یادداشت برداری گردید.

صفات مورد ارزیابی

فاکتورهای مورد اندازه‌گیری عبارت بودند از:

- درصد باززایی شاخساره
- میانگین تعداد شاخساره باززا شده
- درصد شیشه‌ای شدن شاخساره‌های باززا شده
- درصد ریشه‌زایی گیاهچه‌های جوان

تجزیه آماری داده‌ها و نرم افزارهای مورد استفاده

آنالیز آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار MSTATC و مقایسه میانگین تیمارها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن[1] (DMRT) انجام شد. نمودارها نیز توسط نرم افزار Excel رسم گردیدند.

نتایج

سترون سازی بذور

دو روز پس از کشت بذور، جوانه‌زنی بذور شروع گردید و تعداد گیاهچه‌های جوانه‌زده در تیمارهای مختلف سترون‌سازی شمارش

1- Duncan's Multiple Range Test

Archive of SID

www.SID.ir

گردید. در بین تیمارهای مختلف سترون‌سازی، بذور استریل‌شده با الکل ۷۰ درصد به مدت ۱ دقیقه به همراه هیپوکلریت‌سدیم ۵ درصد به مدت ۱۰ دقیقه هیچگونه علائم آلودگی نشان ندادند و دارای جوانه‌زنی ۱۰۰ درصد بودند.

جوانه‌زنی بذور

دو روز پس از کشت بذور، جوانه‌زنی بذور شروع گردید و تمامی گیاهچه‌ها دارای ریشه‌ها و شاخساره‌های نرمال بودند. گیاهچه‌ها بعد از گذشت ۲ هفته دارای ارتفاع ۱۴ سانتیمتر، و طول ریشهٔ ۴ سانتیمتر بودند. درصد جوانه‌زنی بذور ۱۰۰ درصد بود (شکل ۱).

شکل ۱- گیاهچه‌های ریحان پس از گذشت ۲ هفته

پس از انجام بررسی‌ها و اندازه‌گیری صفات مورد نظر داده‌های بدست آمده برای هر یک از این صفات بطور جداگانه مورد تجزیه واریانس قرار گرفته و میانگین‌های حاصله از طریق آزمون دانکن مورد ارزیابی قرار گرفتند که نتایج در جدول ۱ آورده شده است.

درصد باززایی شاخساره

نتایج تجزیه واریانس نشان می‌دهد که اثرات ساده بنزیل آدنین و ژنوتیپ در سطح احتمال ۱ درصد و اثرات متقابل آنها در سطح احتمال ۵ درصد بر درصد باززایی معنی‌دار بوده است (جدول ۱). از نتایج مقایسهٔ میانگین‌های مربوط به اثرات متقابل بنزیل آدنین و ژنوتیپ بر درصد باززایی شاخساره استنباط می‌شود که ژنوتیپ‌های مختلف در غلظت‌های مختلف بنزیل آدنین دارای باززایی متفاوتی بوده‌اند (جدول ۲). بیشترین درصد باززایی (۹۰ درصد) در ژنوتیپ مجارستانی و غلظت ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آدنین بدست آمد. ژنوتیپ‌های ارومیه، همدان و اردبیل در غلظت ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP و ژنوتیپ مجارستانی در غلظت ۵ میلی‌گرم در لیتر BAP، به ترتیب با درصد باززایی ۶۳/۳۳، ۶۶/۶۷، ۶۰ و ۶۰ درصد با اختلاف معنی‌دار در رتبه دوم قرار داشتند. کمترین درصد باززایی شاخساره (صفر درصد) در تیمار شاهد (فاقد هورمون) مشاهده گردید. در یک غلظت بهینه ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP، حداکثر باززایی مشاهده و با افزایش غلظت درصد باززایی کاهش یافت.

تعداد باززایی در هر ریزنمونه

بر اساس نتایج تجزیه واریانس، اثرات ساده بنزیل آدنین، ژنوتیپ و نیز اثرات متقابل آنها بر تعداد باززایی در هر ریزنمونه در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بوده است (جدول ۱). طبق نتایج مقایسه میانگین‌های مربوط به اثرات متقابل ژنوتیپ و بنزیل آدنین بیشترین میانگین تعداد باززایی در هر ریزنمونه (۷/۱ عدد) در ژنوتیپ مجارستانی و در غلظت ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آدنین بدست آمد (جدول ۲). ژنوتیپ‌های اردبیل، ارومیه و همدان به ترتیب با ۴، ۳/۵ و ۳/۳ عدد باززایی در هر ریزنمونه در رتبه‌های بعدی قرار داشتند. کمترین میانگین تعداد باززایی در تمام ریزنمونه‌ها (صفر عدد) در تیمارهای بدون کاربرد هورمون بنزیل آدنین بدست آمد.

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه تحت تأثیر ژنوتیپ و غلظت‌های مختلف بنزیل آدنین (BAP) در محیط کشت

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		درصد باززایی	تعداد باززایی در هر ریزنمونه	درصد نمونه شیشه‌ای شده	درصد تولید ریشه
بنزیل آدنین	۳	۱۱۷/۷۴۳**	۴۴۹۰/۵۰۰**	۴۳/۳۵۴**	۷۹/۸۰۶**
ژنوتیپ	۳	۶/۷۴۳**	۱۱۴۰/۰۵۶**	۶/۱۸۸**	۵/۵۸۳*
بنزیل آدنین×ژنوتیپ	۹	۲/۳۷۵*	۱۹۷/۹۶۳**	۱/۸۱۷**	۴/۹۳۵**
اشتباه آزمایشی	۳۲	۰/۸۴۶	۱۱/۳۴۳	۰/۱۷۴	۱/۲۷۲
ضریب تغییرات (٪)		۲۴/۶۶	۱۳/۱۲	۲۴/۶۹	۲۳/۶۹

* و **: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد

Archive of SID

www.SID.ir

در تمام تیمارهای کاربرد هورمون، بالاترین تعداد باززایی در هر ریزنمونه به ژنوتیپ مجارستانی تعلق داشت. همچنین صرف نظر از نوع ژنوتیپ با افزایش غلظت بنزیل آدنین تعداد باززایی در هر ریزنمونه کاهش یافت (جدول ۲).

درصد نمونه‌های شیشه‌ای شده

نتایج تجزیه واریانس بیانگر آن است که اثرات ساده بنزیل آدنین، ژنوتیپ و نیز اثرات متقابل آنها در سطح احتمال ۱ درصد، بر درصد نمونه‌های شیشه‌ای شده معنی‌دار بوده است (جدول ۱). مقایسه میانگین‌های مربوط به اثرات متقابل ژنوتیپ و بنزیل آدنین بر درصد نمونه‌های شیشه‌ای شده نشان دهندهٔ آن است که بالاترین درصد نمونه‌های شیشه‌ای شده (۴۶/۶۷ درصد) در دو ژنوتیپ مجارستانی و اردبیلی و در غلظت ۷/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP و پایین‌ترین مقدار صفت یاد شده (صفر درصد) در تیمارهای بدون کاربرد هورمون بنزیل آدنین در تمامی ژنوتیپ‌ها حاصل گردیده است (جدول ۲). با افزایش غلظت بنزیل آدنین در محیط کشت، درصد نمونه‌های شیشه‌ای شده افزایش یافت. همچنین در بین توده‌های ریحان، ژنوتیپ‌های مجارستانی و همدانی به ترتیب بیشترین و کمترین درصد شیشه‌ای شدن را نشان داده‌اند (جدول ۲).

درصد ریشه‌زایی نمونه‌ها

براساس نتایج تجزیه واریانس، اثر ساده بنزیل آدنین و اثرات متقابل بنزیل آدنین و ژنوتیپ در سطح احتمال ۱ درصد و اثر ساده ژنوتیپ در سطح احتمال ۵ درصد بر درصد ریشه‌زایی معنی‌دار بوده است (جدول ۱). بر اساس نتایج مقایسه میانگین‌های مربوط به اثرات متقابل بنزیل آدنین و ژنوتیپ، ژنوتیپ‌های مختلف در غلظت‌های مختلف بنزیل آدنین دارای درصد ریشه‌زایی متفاوتی بوده‌اند (جدول ۲). ژنوتیپ‌های ارومیه و مجارستانی که در تیمار بدون کاربرد هورمون دارای بالاترین درصد ریشه زایی (۱۰۰ درصد) بوده‌اند در تیمارهای کاربرد بنزیل آدنین از درصد ریشه‌زایی پایین تری نسبت به دو ژنوتیپ دیگر برخوردار می‌باشند. در مجموع با افزایش غلظت بنزیل آدنین در محیط کشت درصد ریشه‌زایی نمونه‌ها کاهش یافته است بطوری که بالاترین و پایین ترین درصد ریشه‌زایی نمونه‌ها به ترتیب در تیمارهای بدون کاربرد هورمون و غلظت ۷/۵ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آدنین مشاهده گردید.

بحث

از فاکتورهای مؤثر بر روی رشد و نمو در کشت درون شیشه‌ای، تأثیر مواد گیاهی بویژه ژنوتیپ و تنظیم کننده‌های رشد بویژه سیتوکینین‌ها می‌باشند (۶). انواع مختلفی از سیتوکینین‌ها مانند بنزیل آدنین، 2-ip، کینتین و تیدیازورون به منظور باززایی شاخساره در گیاه داروئی ریحان، مورد استفاده قرار گرفته است، اما بهترین نتیجه به بنزیل‌آدنین مربوط می‌گردد (۱۸). در این آزمایش، مشخص گردید که افزوده شدن BAP به محیط کشت و همچنین غلظت بهینه آن موجب افزایش پرآوری شاخساره‌ها در مقایسه با محیط فاقد هورمون می‌گردد. نتایج نشان می‌دهد که در محیط فاقد BAP باززایی صورت نگرفته و این نشان دهندهٔ نقش مشخص سیتوکینین‌ها در قابلیت تحریک، تکثیر و تقسیم سلولی در بافتهای ریزنمونه مورد کشت و در نتیجه تشکیل اندام (اندام‌زایی) در بافتهای تیمار شده می‌باشد. مشخص گردید که غلظت بهینه بنزیل آدنین برای تولید حداکثر پرآوری شاخساره‌ها، غلظت ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP، می‌باشد. نتایج این آزمایش در مورد مؤثرتر بودن غلظت ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP، نسبت به غلظت‌های پایین و بالاتر آن، مؤید نتایج بانو و همکاران (۴) در مورد سه ژنوتیپ از گیاه*Brassica juncea* می‌باشد. بر اساس گزارش آن‌ها، بین ژنوتیپ‌ها اختلاف معنی‌داری از لحاظ پتانسیل باززایی وجود دارد. همچنین نتایج آن‌ها نشان داد که BAP، در غلظت ۳ میلی‌گرم در لیتر، بیشترین تأثیر را در القای پتانسیل باززایی شاخساره در گیاه مذکور داشته است. نتایج حاصل از تحقیق حاضر با یافته‌های بیکادود و همکاران (۷) در مورد مؤثر بودن غلظت-های بالای BAP (۵ میلی‌گرم در لیتر)، در افزایش درصد باززایی شاخساره و افزایش تعداد شاخساره باززا شده گیاه ریحان *Ocimum basilicum*)، با استفاده از ریزنمونه کوتیلدون مطابقت ندارد، که این امر می‌تواند ناشی از متفاوت بودن نوع ریز نمونه مورد کشت باشد. دلیل این امر ممکن است ناشی از این مطلب باشد که ریز نمونه گره به دلیل داشتن جوانه‌های نهفته و مستعد، در غلظت‌های کمتر BAP، سریع تحریک شده و عکس العمل نشان می‌دهند. در حالیکه ریزنمونه کوتیلدون به غلظت بالاتری از BAP، جهت تشکیل جوانه نیاز دارد. عکس العمل ریزنمونه‌های مختلف بسته به نوع، مقدار و روابط هورمونی داخل اندام مورد کشت متفاوت می‌باشد. می‌توان نتیجه گرفت عکس العمل گیاهان مختلف، ژنوتیپ‌های مختلف گیاهان و نوع ریزنمونه به دلیل برخورداری از ساختار ژنتیکی متفاوت و خاص گیاه و اثرات شرایط مختلف محیطی در بیان و تظاهر عمل ژنهای خاص، متفاوت می‌باشد و مجموعه برآیند عوامل تأثیر گذار ذکر شده باعث عکس العمل خاص گیاه جهت رشد و نمو بهینه می‌شود (۱۰، ۱۳، ۱۷ و ۲۰). نسبت بهینه تنظیم کننده‌های رشد برای باززایی شاخساره بستگی به ژنوتیپ یا رقم دارد. در این تحقیق، با افزایش غلظت BAP در محیط کشت درصد نمونه‌های شیشه‌ای شده افزایش یافت. همچنین در بین توده‌های ریحان، ژنوتیپ‌های مجارستانی و همدانی به ترتیب بیشترین و کمترین میزان شیشه‌ای شدن را داشتند.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۲- مقایسه میانگین‌های مربوط به اثرات متقابل ژنوتیپ و بنزیل آدنین (BAP) بر صفات مورد مطالعه

ژنوتیپ	BAP (میلی‌گرم در لیتر)	درصد باززایی شاخساره	تعداد باززایی در هر ریزنمونه	درصد نمونه‌های شیشه‌ای شده	درصد ریشه-زایی نمونه‌ها
ارومیه	۰	۰f	۰h	۰e	۱۰۰a
	۲/۵	۶۳/۳۳b	۳/۵cd	۰e	۴۳/۳۳defg
	۵	۴۰cd	۲/۷ef	۲۶/۶۷bc	۲۳/۳۳ghi
	۷/۵	۳۰de	۱/۳g	۳۳/۳۳b	۶/۶۶i
مجارستانی	۰	۰f	۰h	۰e	۱۰۰a
	۲/۵	۹۰a	۷/۱a	۱۶/۶۷d	۵۰cdef
	۵	۶۰b	۵/۲b	۳۰bc	۳۳/۳۳fgh
	۷/۵	۳۶/۶۷d	۳/۳de	۴۶/۶۷a	۲۳/۳۳ghi
همدانی	۰	۰f	۰h	۰e	۷۳/۳۳b
	۲/۵	۶۶/۶۷b	۳/۳de	۰e	۵۶/۶۷bcde
	۵	۴۰cd	۲/۴f	۶/۶۶e	۳۰fgh
	۷/۵	۲۰e	۱/۶g	۲۳/۳۳cd	۱۳/۳۳hi
اردبیلی	۰	۰f	۰h	۰e	۷۰bc
	۲/۵	۶۰b	۴c	۰e	۶۳/۳۳bcd
	۵	۵۳/۳۳bc	۳/۴cde	۱۶/۶۷d	۴۶/۶۷def
	۷/۵	۲۶/۶۷de	۲/۹def	۴۶/۶۷a	۴۰efg

حروف مشابه در مقابل میانگین‌ها در هر ستون، نشان دهندهٔ عدم وجود اختلافات معنی‌دار در سطح ۵ درصد بین آنها است (آزمون دانکن).

شیشه‌ای شدن یا ویتریفیکاسیون[1] یکی از مسایل معمول در ریز ازدیادی درون شیشه‌ای می‌باشد. گیاهچه‌های دارای این عارضه، ظاهری آبکی و شفاف داشته و اغلب با ساقه و برگ باد کرده مشاهده می‌شوند. برگ‌ها فاقد بافت پارانشیم نردبانی مطلوب بوده ولی در عوض دارای مزوفیلی با فضای بین سلولی بزرگ می‌باشند. برگها دارای تعداد روزنه کمتری بوده و معمولاً کوتیکول آن خیلی نازک می‌باشد بعلاوه بسیاری از روزنه‌ها ممکن است کارآیی خود را نیز از دست داده باشند. گزارش‌های متعددی وجود دارند که نشان دهندهٔ تاثیر غلظت‌های بالای بنزیل آدنین در ظهور شیشه‌ای شدن است. غلظت‌های بالای بنزیل آدنین (۵ میلی‌گرم در لیتر) در کشت بافت فیلودندرون و موز منجر به شیشه‌ای شدن بافت‌ها شده است (۲۲). همچنین کورز و همکاران (۹) گزارش کردند که وجود BAP در محیط کشت میخک، باعث ظهور شیشه‌ای شدن بافتها می‌گردد. طبق نتایج این تحقیق، ژنوتیپ‌های مختلف در غلظت‌های مختلف بنزیل آدنین درصد ریشه‌زایی متفاوتی داشتند. در محیط فاقد هورمون BAP ژنوتیپ‌های ارومیه و مجارستانی بدون اختلاف معنی‌دار با یکدیگر با ۱۰۰ درصد ریشه‌زایی در رتبه اول قرار گرفتند. همچنین با افزایش غلظت بنزیل آدنین در محیط کشت درصد ریشه‌زایی نمونه‌ها در تمام ژنوتیپ‌ها کاهش یافت. ترابی گیگلو و همکاران (۲) در آزمایش خود بر روی تعیین مناسب‌ترین تنظیم کننده رشد در کشت درون شیشه‌ای انتهای شاخساره میخک دریافتند که تیمار بدون هورمون BAP، باعث القای ۱۰۰ درصد ریشه‌زایی می‌شود.

گزارش شده است که ریشه‌زایی توسط عوامل مختلفی مانند وجود تنظیم کننده‌های رشد در محیط (۶)، ترکیب نمک‌های پایه (۲۱)، ژنوتیپ (۱۶) و شرایط کشتی (۱۲) کنترل می‌شود. برای بیشتر گونه‌ها، وجود اکسین برای انگیزش ریشه‌زایی لازم است. با تغییر مقدار دو تنظیم کننده رشد اکسین و سیتوکینین در محیط کشت، می‌توان ریخت‌زایی در ریزنمونه‌ها را به میزان قابل توجهی کنترل نمود. نسبت اکسین به سیتوکینین جهت القاء و رشد ریشه مهم می‌باشد. با افزایش اکسین و کاهش سیتوکینین، ریشه‌ها تشکیل می‌شوند (۸). نتایج این آزمایش نشان می‌دهد که گیاه ریحان دارای پتانسیل ریشه‌زایی بالایی بوده بطوریکه در محیط کشت بدون هورمون BAP نیز براحتی ریشه می‌دهد. احتمالاً گیاه ریحان با برخورداری از اکسین درونی بالا براحتی قادر به تولید ریشه در محیط کشت مغذی می‌باشد. همچنین این گیاه بدلیل عدم داشتن حلقهٔ پیوسته اسکلرانشیمی که از ریشه‌زایی آسان ممانعت می‌کند دارای ریشه‌زایی بالایی بوده و در

1- Vitrification

Archive of SID

www.SID.ir

واقع در گروه گیاهان سهل ریشه‌زا طبقه بندی می‌شود.

نتیجه گیری

نتایج بدست آمده از آزمایش بررسی اثرات نوع ژنوتیپ و غلظت BAP بر میزان باززایی در گیاه ریحان نشان داد که بهترین باززایی از لحاظ درصد و تعداد باززایی در ریزنمونه، در غلظت ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آدنین و در ژنوتیپ مجارستانی بدست آمد. همچنین با افزایش غلظت بنزیل آدنین ریشه‌زایی کاهش و درصد شیشه‌ای شدن نمونه‌ها افزایش یافت.

منابع

۱- امیدبیگی ر. ۱۳۷۹. تولید و فرآوری گیاهان داروئی. جلد سوم. انتشارات آستان قدس رضوی، مشهد، ۳۹۷ صفحه.

۲- ترابی گیگلو م.، مسیحا س.، مجیدی ا.، خسرو شاهلی م. و ولیزاده م. ۱۳۸۰. تعیین مناسب ترین تنظیم کننده رشد در کشت درون شیشه‌ای انتهای شاخساره میخک .*Dianthus caryophyllus* L. مجله دانش کشاورزی، ۱۱: ۵۰-۴۱.

۳- زرگری ع. ۱۳۷۲. گیاهان داروئی. جلد چهارم. انتشارات دانشگاه تهران، تهران، ۹۷۰ صفحه.

4- Bano R., Khan M.H., Khan R.S., Rashid H., and Swati Z.A. 2010. Development of an efficient regeneration protocol for three genotypes of *Brassica juncea*. Pakistan Journal of Botany, 42(2): 963-969.

5- Begum F., Amin M.N., and Azad M.A.K. 2002. *In vitro* rapid clonal propagation of *Ocimum basilicum* L. Plant Tissue Culture, 12(1): 27-35.

6- Bhojwani S.S., and Razdan M.K. 1992. Plant tissue culture: Theory and practice. Elsevier, Amsterdam, London, New York, Tokyo.

7- Bicca Dode L., Bobrowski V.L., Braga E.J.B., Seixas F.K., and Schuch M.W. 2003. *In vitro* propagation of *Ocimum basilicum* L.(Lamiaceae). Acta Scientiarum Biological Sciences, 25(2): 435-437.

8- Gopi C., Nataraja Sekhar Y., and Ponmurugan P. 2006 . In vitro multiplication of *Ocimum gratissimum* L. through direct regeneration. African Journal of Biotechnology, 5(9): 723-726.

9- Keverse C., Prat R., and Gaspar T.H. 1987. Vitrification of carnation *in vitro*: Changes in cell wall mechanical properties, cellulose and lignin content. Plant Growth Regulation, 5: 59–66.

10- Khanna H.K., and Raina S.K. 1998. Genotype x culture media interaction effects on regeneration response of three indica rice cultivars. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 52: 145–153.

11- Marotti M., Piccaglia R., and Giovanelli E. 1996. Differences in essential oil composition of basil (*Ocimum basilicum* L.) Italian cultivars related to morphological characteristics. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 44: 3926-3929.

12- Murashige T., and Skoog F. 1977. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiologia Plantarum, 15: 437-497.

13- Pattnaik S., and Chand P.K. 1996. *In vitro* propagation of the medicinal herbs *Ocimum americanum* L. syn. *O. canum* Sims. (hoary basil) and *Ocimum sanctum* L. (holy basil). Plant Cell Reproduction, 15: 846-850.

14- Phippen W.B., and Simon J.E. 2000. Shoot regeneration of young leaf explants from basil (*Ocimum basilicum* L.). In Vitro Cellular and Developmental Biology, 36: 250-254.

15- Prakash, V. 1990. Leafy spices. CRC press. 114 p.

16- Rines M.W., and McCoy T.J. 1981. Tissue culture initiation and plant regeneration in hexaploid species of oats. Crop Science, 21: 837-842.

17- Sharzad A., and Siddiqui S.A. 2000. *In vitro* organogenesis in *Ocimum sanctum* L. A multipurpose herb. Phytomorphology, 50(1): 27-35.

18- Siddique I., and Anis M. 2008. An improved plant regeneration system and ex vitro acclimatization of *Ocimum basilicum* L. Acta Physiologiae Plantarum, 30: 493-499.

19- Simon J.E., Quinn J., and Murray R.G. 1990. Basil: A source of essential oil. pp. 484-489. In: Advances in new crops. Eds., Janick, J. and Simon, J.E., Timber press, Portland, DR.

20- Singh N.K., and Sehgal C.B. 1999. Micropropagation of 'Holy Basil' (*Ocimum sanctum* Linn.) from young inflorescences of mature plants. Plant Growth Regulation, 29: 161-166.

21- Skirvin R.M., and Chu M.C. 1979. In vitro propagation of ' Forever Yours' rose. HortScience, 14: 608-610.

22- Vardja R., and Vardja T. 2001. The effect of cytokinin type and concentration and the number of subculturs on the multiplication of some decorative plants. Proceedings of the Estonian Academy of Sciences: Biology and Ecology, 50: 22–32.

23- Vieira R.F., and Simon J.E. 2000. Chemical characterization of basil (*Ocimum* spp.) found in the markets and used in the traditional medicine in Brazil. Econamical Botanical, 54(2): 207-216.

Archive of SID

www.SID.ir