

مطالعه کشت بافت گیاه کنجد (*Sesamum indicum L.*)

فیروزه چلبیان*، سلین سینک، سایه جعفری

گروه زیست شناسی، دانشکده علوم زیستی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

تاریخ پذیرش: ۸۸/۴/۲۸

تاریخ دریافت: ۸۷/۱۲/۴

چکیده

مقدمه: گیاه کنجد به تیره *Pedaliaceae* تعلق دارد. این تیره شامل ۶۰ گونه می باشد. کشور اتیوپی احتمالاً به عنوان مبدا اصلی کنجد اهلی (*Sesamum indicum L.*) می باشد. گیاه کنجد یکی از گیاهان مهم روغنی، صنعتی و دارویی به شمار می رود.

هدف: بدست آوردن دانه رست سترون از بذر گیاه کنجد، کشت موفق اجزای مختلف دانه رست، تعیین محیط مناسب برای کال زایی و اندام زایی و مقایسه عوامل تنظیم کننده رشد بر تشکیل کال و اندام زایی می باشد. **روش بررسی:** در این پژوهش، کشت درون شیشه ایی گیاه کنجد در محیط کشت پایه MS با استفاده از هورمون های IAA، Kin و NAA بررسی شد. از قطعات ریشه، ساقه، برگ و جوانه رویشی دانه رست های سترون رشد یافته در محیط کشت پایه فاقد هورمون، به عنوان جداکشت استفاده گردید. از طرح بلوک کاملاً تصادفی با ۳ تکرار و در هر تکرار ۴ نمونه استفاده گردید.

نتایج: بهترین محیط کشت از بین محیط کشت های فوق جهت کال زایی، از نظر اندازه و پایداری کال ها محیط های کشت دارای IAA ۱۰، Kin ۲ و IAA ۱۰، Kin ۵ و NAA ۱۰، Kin ۵ و NAA ۱۰، Kin ۲۰ بر حسب میلی گرم بر لیتر تشخیص داده شد. از بین جدا کشت های مورد استفاده، جداکشت مریستم رأسی در محیط کشت دارای IAA ۲mg/l و Kin ۱۰mg/l بعد از تشکیل کال و اندام زایی، بیشترین میانگین تشکیل گیاه کامل داشت، این گیاهان دارای بیشترین پایداری در محیط کشت و سپس در محیط طبیعی نسبت به گیاهان نو پدید حاصل از جوانه رویشی در محیط های کشت با غلظت های متفاوتی از Kin/IAA و NAA/Kin بودند.

*عهده دار مکاتبات: ایمیل: Chalabian1969@yahoo.com

جداکشت برگی نیز در محیط کشت 10 mg/l IAA و 20 mg/l kin ، بعد از کال زایی به تشکیل گیاه کامل منتج شد. اندام زایی در کال های حاصل از جداکشت های ریشه و ساقه مشاهده نشد.

نتیجه گیری: از بین جداکشت های ذکر شده، جداکشت جوانه رویشی بهترین جداکشت برای باز تمایز گیاهک کامل بود و محیط کشت MS دارای 2 IAA و 10 Kin بهترین محیط برای باز تمایز گیاهک کامل از گیاه کنجد تشخیص داده شد.

واژه های کلیدی: کنجد (*Sesamum indicum L.*)، کشت بافت، تکثیر و مرستم

مقدمه

گیاه کنجد (*Sesamum indicum L.*) از راسته *Scrophulariales* تیره *Pedaliaceae* جنس *Sesamum* است. امروزه هند و چین یکی از بزرگترین تولید کنندگان کنجد در جهان هستند. (۱) دانه های کنجد از دانه های روغنی و خوراکی مهم در کشاورزی سنتی به شمار می رود و ظاهراً قدیمی ترین دانه روغنی در جهان است. (۲)

انتشار این گونه در ایران در بخش های مرکزی، شمال غربی، شمال شرقی، غرب و شرق گزارش شده است. کنجد گیاهی به ارتفاع ۱ تا ۱/۵ متر، کمی کرک دار و دارای ساقه منشعب است. (۳) برگ ها متقابل یا گاهی در بالا منفرد، بدون گوشوارک، دمبرگ دارمی باشد. (۴) جام گل مایل به قرمز و یا زرد فام و گاهی نیز سفید به طول ۲ تا ۲/۵ سانتی متر و دارای لبه های مدور است. (۳) گل ها نر ماده، منفرد، نامنظم و گل آذین محوری یا خوشه انتهایی است.

قسمت های مورد استفاده گیاه کنجد، دانه های آن است که از آن، روغن استخراج می گردد. (۵) برگ ها و دانه های آن بندآورنده خون هستند. (۶) عصاره الکلی گل کنجد خواص آنتی تومور (۸) و پپتید های دانه های روغنی کنجد خواص ضد میکروبی (۹) و هم چنین روغن آن خواص آنتی اکسیدانی دارد. (۱۰)

با توجه به خواص درمانی و صنعتی و خوراکی گیاه کنجد و از آنجایی که کشت این گیاه محدود به خاک های فقیر است و میزان محصول این گیاه را نسبت به سایر گیاهان روغنی کاهش می دهد، (۲) در این تحقیق بر آن شدیم تا از جداکشت های برگ، ساقه، ریشه، جوانه رأسی جدا شده از دانه رست های رشد یافته در محیط پایه MS با تیمار های هورمونی مختلف جهت کشت بافت گیاه کنجد استفاده کنیم.

مطالعه تاریخچه کشت بافت گیاه کنجد نشان داد که تحقیقات اولیه در زمینه کشت بافت گیاه کنجد توسط محققین زیر صورت گرفته است:

Taskin و همکاران (۱۹۸۷) با کشت جدا کشت های محور روی لپه واقع در محیط MS شامل AP با غلظت های ۱ و ۲ و ۴ و ۸ میلی گرم در لیتر و NAA با غلظت ۰/۱ میلی گرم در لیتر یا محیط فاقد NAA، بعد از تشکیل کالوس به اندام های هوایی در محیط های شامل BAP با غلظت ۴ میلی گرم در لیتر و NAA با غلظت ۰/۱

میلی گرم در لیتر یا BAP با غلظت ۸ میلی گرم در لیتر و NAA با غلظت ۰/۱ میلی گرم در لیتر بعد از ۶۵ روز دست یافتند.

Lee و همکاران (۱۹۸۵) با بررسی تکثیر گیاه کنجد از طریق کشت سر شاخه به بررسی اثر NAA و IAA و Kin و BA و 2,4-D، بر القای کالوس و اندام زایی از این جداکشت پرداختند. از بین هورمون های به کار رفته، Kin با غلظت ۲ میلی گرم در لیتر، در تشکیل اندام هوایی و NAA با غلظت ۰/۵ میلی گرم در لیتر، در تشکیل گیاه کامل، دارای بهترین اثر بودند.

Baskaran و همکاران (۲۰۰۶) به بررسی ریز ازدیادی گیاه کنجد از طریق کشت سر شاخه و القای کالوس در محور زیر لپه و روی لپه پرداختند. این محققین از BAP با غلظت های ۸/۸-۴/۴۴ میلی گرم در لیتر و Kin با غلظت ثابت ۴/۶ میکرو لیتر و Ads با غلظت ثابت ۲/۷ میکرو لیتر استفاده کردند. بیشترین تعداد اندام هوایی ۱/۵±۱/۴۱ در محیط شامل Kin با غلظت ۴/۶ و BAP با غلظت ۲/۶ میکرو لیتر حاصل شد. شاخه های تکثیر شده در محیط NAA با غلظت ۸ میکرو لیتر ریشه دار شدند. هورمون های 2,4-D و NAA در القای کالوس مؤثرتر عمل کردند.

مواد و روش ها

در این بررسی از محیط کشت پایه MS با نسبت های هورمونی ارائه شده در جدول ۱ و ۲ استفاده گردید. محیط های کشت در اتو کلاو و در فشار ۱/۰۵ کیلو گرم بر سانتی متر مربع و ۱۳۰ درجه سانتی گراد به مدت ۲۵ دقیقه سترون شدند. پس از سرد شدن محیط تا ۴۰ درجه سانتی گراد، محیط ها در زیر دستگاه لامینار ایر فلو کابینت در شیشه های سترون مخصوص کشت توزیع شدند. برای سترون کردن وسایلی مانند پنس، اسکالپل، ظرف های شیشه ای، از آون (oven) با دمای ۲۰۰ درجه سانتی گراد به مدت ۲ ساعت^(۱۱) و جهت سترون نمودن شیشه های مخصوص کشت با درب پلاستیکی (با قابلیت عبور نور) و آب مقطر، از اتوکلاو استفاده شد. بذر های گیاه کنجد از جهاد کشاورزی تهران تهیه و پس از سترون سازی بر روی محیط کشت MS بدون هورمون کشت شدند.

ترونی سازی بذرها به روش زیر صورت گرفت: اتانول ۷۰٪ به مدت ۱ دقیقه هیپوکلریت سدیم ۳۰٪ به مدت ۲۰ دقیقه^(۱۲) از جداکشت های برگ، ساقه، ریشه، جوانه رویشی دانه رست های ۱۰ روزه جهت کشت استفاده گردید. قطعات سترون شده به محیط های کشت یاد شده در بالا منتقل و در شرایط بهینه با درجه حرارت ۲۵±۲°C و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی قرار گرفتند. هر دو هفته یک بار جداکشت ها به محیط کشت تازه، واکشت گردیدند. هر طرح بلوک های کامل تصادفی با ۳ تکرار و در هر تکرار ۴ نمونه استفاده شد. گیاهک های کامل به منظور سازگاری با طبیعت به خاک پیت و پرلیت سترون منتقل شدند. جهت بررسی بیشتر و تجزیه و تحلیل آماری نتایج حاصل از کشت بافت و اندام زایی گیاه کنجد از نرم افزار SPSS؛ استفاده گردید. نمودارها به روش Excel رسم شدند.

نتایج و بحث

با توجه به ۱۶ محیط کشت یاد شده در قسمت مواد و روش ها؛ نتایج حاصل از کشت جدا کشت های مختلف گیاه کنجد به شرح زیر می باشد:

نتایج حاصل از کشت، جداکشت جوانه رأسی در محیط های با غلظت های متفاوتی از هورمون های IAA/Kin و NAA/Kin

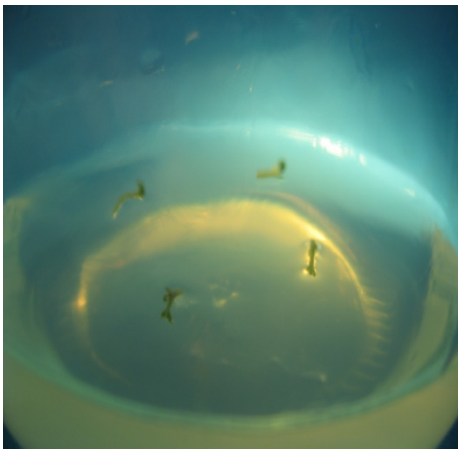
بر روی کال های حاصل از جداکشت های جوانه رأسی در کلیه محیط های کشت دارای IAA/Kin با غلظت های متفاوت، اندام زایی و در نهایت تشکیل گیاه کامل صورت گرفت.

جداکشت جوانه رأسی در محیط MS دارای IAA و Kin ۱۰ بر حسب میلی گرم بر لیتر بعد از یک هفته کال زایی بسیار مختصر، بعد از ۱۸ روز در واکشت دوم باز تمایز ریشه، ساقه و برگ، و در نهایت در هفته چهارم گیاهک کامل حاصل گردید. گیاهک های کامل باز زایی شده از جداکشت جوانه رأسی در محیط مذکور به منظور سازگاری با طبیعت به خاک پیت و پرلیت سترون منتقل شدند. گیاهک های باززایی شده در شرایط گلخانه ایی در آزمایشگاه، گیاهک های باز زایی شده به مدت ۳ ماه پایدار ماندند. این پایداری و رشد بیشتر گیاهان نوپدید بدلیل حساس بودن این گیاهان به شرایط نوری و رطوبتی مناسب نیاز دارد.

بیشترین میانگین تشکیل گیاه کامل و بالاترین سرعت رشد در محیط دارای IAA ۲ میلی گرم در لیتر و Kin ۱۰ میلی گرم در لیتر مشاهده گردید (شکل ۲، جدول ۱، نمودار ۴).

در محیط دارای NAA/Kin با غلظت های متفاوت، جداکشت جوانه رأسی در محیط دارای NAA ۵ میلی گرم در لیتر و Kin ۵ میلی گرم در لیتر، بیشترین میانگین تشکیل گیاه کامل بعد از کال زایی و بیشترین سرعت رشد گیاهان نوپدید را نشان داد (شکل ۳، جدول ۲، نمودار ۳).

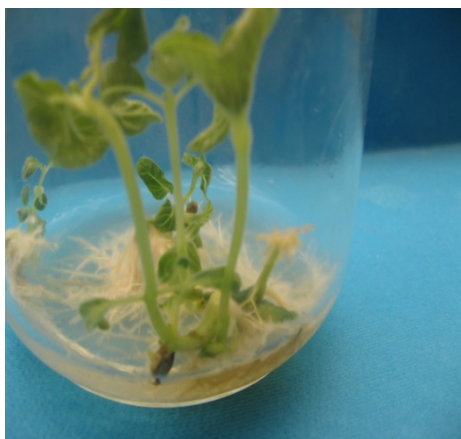
A



B



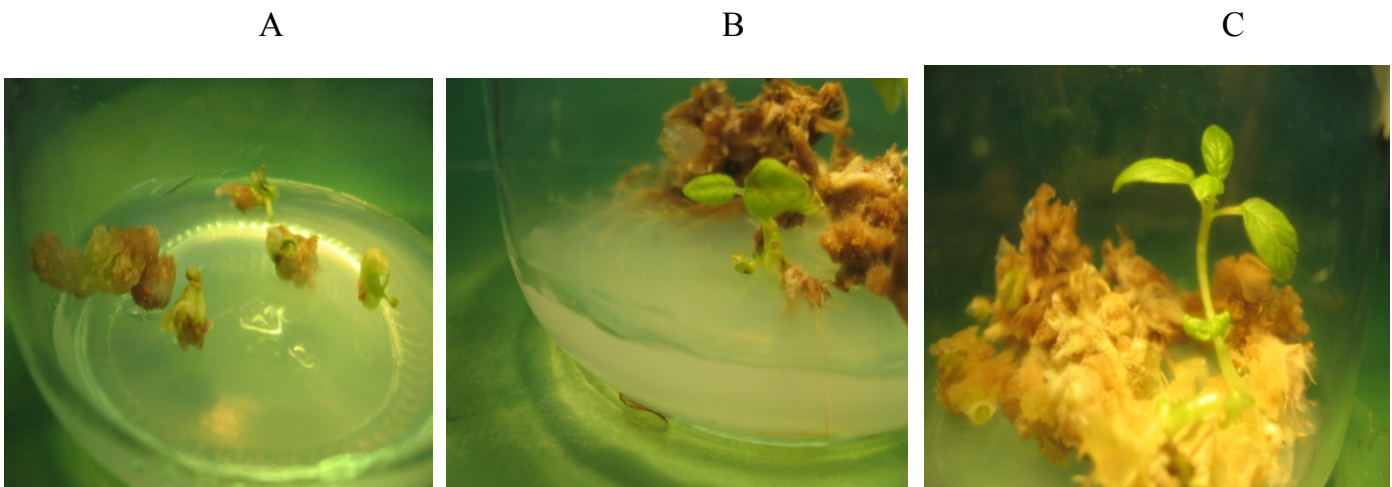
C



D



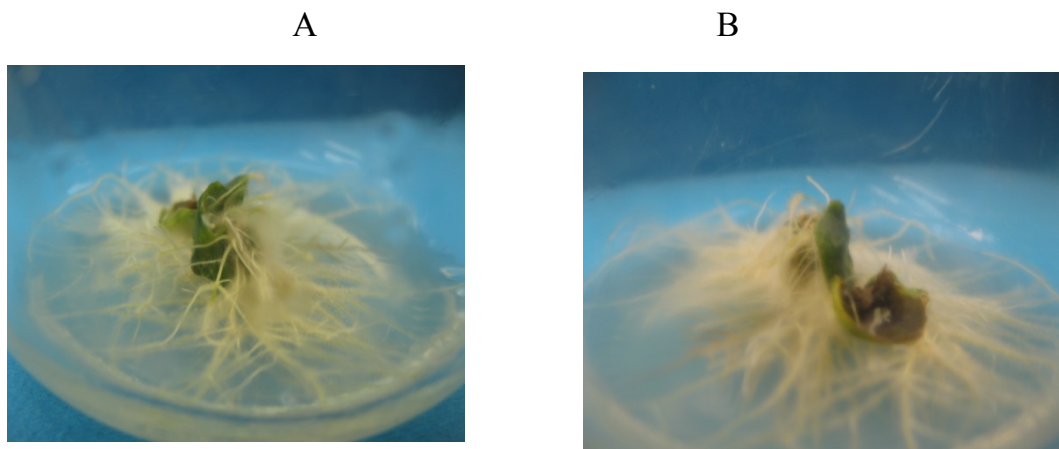
شکل ۲- A- جدا کشت های جوانه رأسی در محیط دارای IAA ۲ میلی گرم در لیتر و Kin ۱۰ میلی گرم در لیتر
B- تشکیل کال و اندام زایی، C- رشد گیاه بعد از ۷ هفته؛ D- انتقال گیاه نو پدید به خاک (مقیاس ۱/۴)



شکل ۳- A - کال زایی از جداکشت جوانه رأسی B- رشد اولیه ریشه و تشکیل اندام هوایی C- تشکیل گیاه کامل در محیط دارای ۵NAA میلی گرم در لیتر و ۵Kin میلی گرم در لیتر (مقیاس ۱/۴)

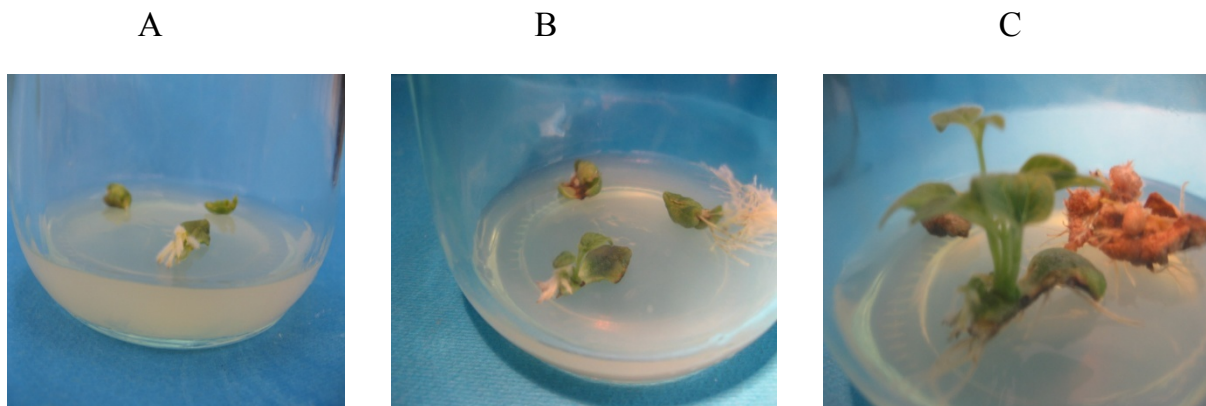
نتایج حاصل از کشت، جداکشت برگ در محیط های کشت با غلظت های متفاوتی از هورمون های IAA/Kin و NAA/Kin:

جداکشت برگی در کلیه محیط های کشت دارای IAA/Kin با غلظت های متفاوت، بعد از در کال زایی فقط ریشه زایی صورت گرفت. جداکشت برگ در دو محیط شامل ۱۰IAA، ۲Kin و ۱۰IAA، ۵Kin بر حسب میلی گرم بر لیتر، بعد از گذشت دو هفته و در همان واكشت اول کال زایی نمودند و در واكشت دوم محیط ۱۰IAA و ۲Kin بر حسب میلی گرم بر لیتر در روز ۱۶ باز تمایز ریشه و در محیط ۱۰IAA و ۵Kin در روز ۱۸ باز تمایز ریشه مشاهده گردید. دو محیط شامل ۱۰IAA میلی گرم در لیتر و ۲Kin میلی گرم در لیتر؛ ۱۰IAA میلی گرم در لیتر و ۵Kin میلی گرم در لیتر، بهترین محیط ها از لحاظ میانگین کال زایی و ریشه زایی بودند. (شکل ۴، جدول ۱، نمودارهای ۲ و ۶).



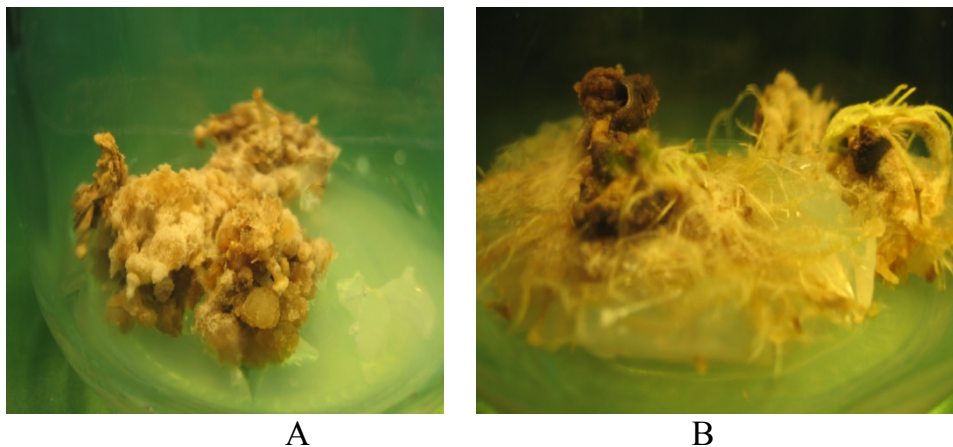
شکل ۴- A - کال زایی و ریشه زایی در محیط دارای ۱۰IAA میلی گرم در لیتر و ۲Kin میلی گرم در لیتر B - کال زایی و ریشه زایی در محیط دارای ۱۰IAA میلی گرم در لیتر و ۵Kin میلی گرم در لیتر (مقیاس ۱/۴)

بر روی کال های حاصل از جداگشت برگی در محیط دارای ۱۰ IAA میلی گرم در لیتر و ۲۰ Kin میلی گرم در لیتر بعد از ۱ هفته، ریشه زایی بعد از ۱ ماه تشکیل گیاه کامل صورت گرفت (شکل ۵، جدول ۱)



شکل ۵ - A - کال زایی و رشد اولیه ریشه، B - رشد بیشتر ریشه و تشکیل اندام هوایی، C - تشکیل گیاه کامل (مقیاس ۱/۲)

در محیط دارای NAA/Kin با غلظت های متفاوت، در جداگشت برگی بعد از دو هفته کال زایی و بعد از گذشت ۱۹ روز باز تمایز ریشه مشاهده گردید. بهترین محیط از نظر میانگین کال زایی، محیط دارای ۱۰ NAA میلی گرم در لیتر و ۲ Kin میلی گرم در لیتر (شکل ۶؛ جدول ۲؛ نمودار ۱) و بهترین محیط جهت ریشه زایی، محیط دارای ۵ NAA میلی گرم در لیتر و ۵ Kin میلی گرم در لیتر تشخیص داده شد. (شکل ۶؛ جدول ۲؛ نمودار ۵)



شکل ۶ - A - تشکیل کال از جداگشت برگی در محیط دارای ۱۰ NAA میلی گرم در لیتر و ۲ Kin میلی گرم در لیتر، B - تشکیل کال و ریشه زایی از جداگشت برگی در محیط دارای ۵ NAA میلی گرم در لیتر و ۵ Kin میلی گرم در لیتر (مقیاس ۱/۴)

نتایج حاصل از کشت جداگشت ساقه در محیط های کشت با غلظت های متفاوتی از هورمون های IAA/Kin و NAA/Kin

جداگشت ساقه در کلیه محیط های کشت دارای IAA/Kin با غلظت های متفاوت بعد از دو هفته کال

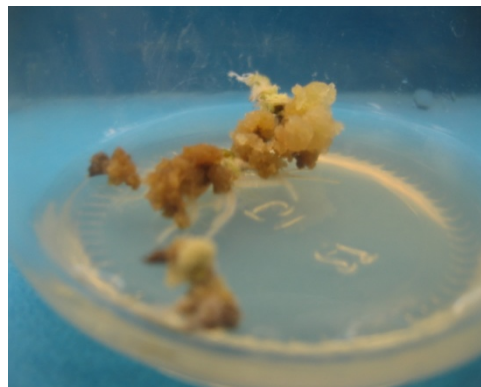
زایی کرد و هیچ گونه اندام زایی در کال های حاصل دیده نشد. از بین محیط های فوق، محیط های دارای ۱۰ IAA

میلی گرم در لیتر و ۲Kin میلی گرم در لیتر؛ ۱۰IAA میلی گرم در لیتر و ۵Kin میلی گرم در لیتر، بهترین محیط ها از نظر میانگین بزرگی کال ها بودند (شکل ۷، جدول ۱، نمودار ۲).

A



B



شکل ۷- A - کال زایی از جداکشت ساقه در محیط دارای ۱۰IAA میلی گرم در لیتر و ۲Kin میلی گرم در لیتر
B - کال زایی از جداکشت ساقه در محیط دارای ۱۰IAA میلی گرم در لیتر و ۵Kin میلی گرم در لیتر (مقیاس ۱/۲)

در محیط دارای NAA/Kin با غلظت های متفاوت، جداکشت ساقه بعد از دو هفته کال زایی کرد و در بین محیط های فوق، بهترین محیط ها جهت کال زایی، محیط دارای ۱۰NAA میلی گرم در لیتر و ۲Kin میلی گرم در لیتر، ۱۰NAA میلی گرم در لیتر و ۵Kin میلی گرم در لیتر، ۲۰NAA میلی گرم در لیتر و ۱۰Kin میلی گرم در لیتر تشخیص داده شد (شکل ۸، جدول ۲، نمودار ۱).

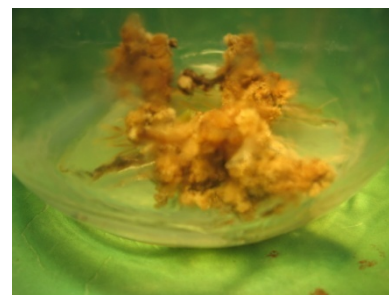
A



B



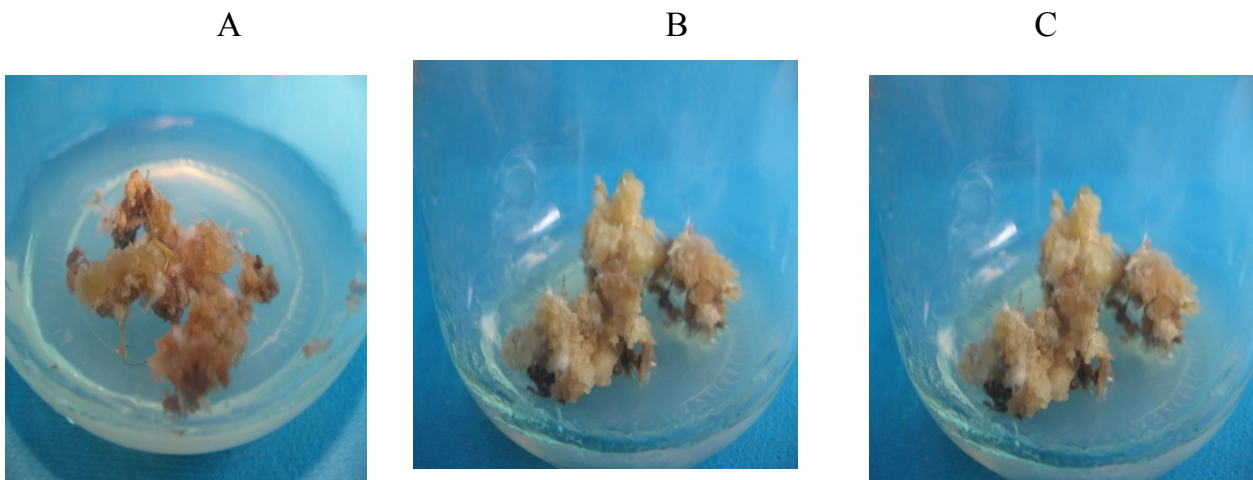
C



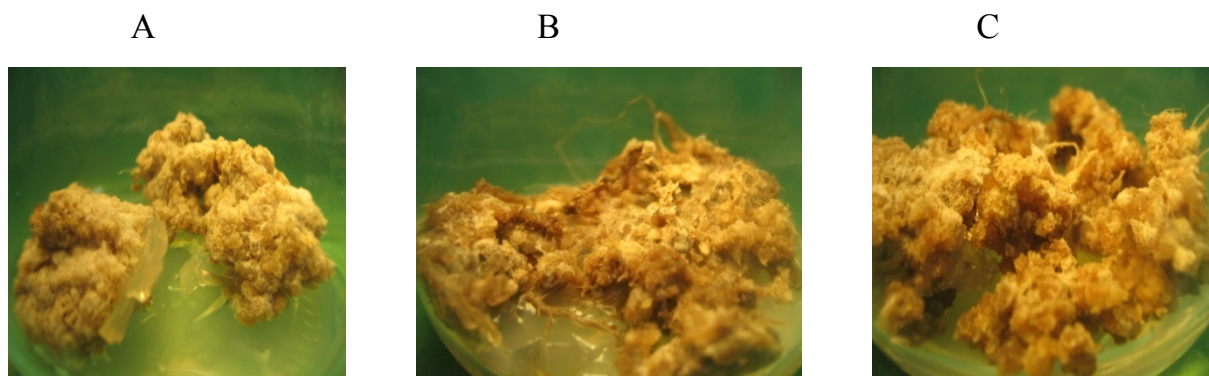
شکل ۸- A - کال زایی از جداکشت ساقه در محیط دارای ۱۰NAA میلی گرم در لیتر و ۲Kin میلی گرم در لیتر
B - کال زایی از جداکشت ساقه در محیط دارای ۱۰NAA میلی گرم در لیتر و ۵Kin میلی گرم در لیتر
C - کال زایی از جداکشت ساقه در محیط دارای ۲۰NAA میلی گرم در لیتر و ۱۰Kin میلی گرم در لیتر (مقیاس ۱/۴)

نتایج حاصل از کشت، جداکشت ریشه در محیط های کشت با غلظت های متفاوتی از هورمون های IAA/Kin و NAA/Kin

جداکشت ریشه در محیط های کشت دارای IAA/Kin با غلظت های متفاوت بعد از دو هفته کال زایی کرد هیچ گونه اندام زایی در کال های حاصل دیده نشد. بهترین محیط ها جهت کال زایی محیط های دارای IAA ۱۰ میلی گرم در لیتر و Kin ۲ میلی گرم در لیتر، IAA ۱۰ میلی گرم در لیتر و Kin ۵ میلی گرم در لیتر بودند. (شکل ۹، جدول ۱ نمودار ۲).



شکل ۹- A - کال زایی از جداکشت ریشه در محیط دارای IAA ۱۰ میلی گرم در لیتر و Kin ۲ میلی گرم در لیتر، B- کال زایی از جداکشت ریشه در محیط دارای IAA ۱۰ میلی گرم در لیتر و Kin ۵ میلی گرم در لیتر (مقیاس ۱/۴)



شکل ۱۰- A- کال زایی از جداکشت ریشه در محیط دارای NAA ۱۰ میلی گرم در لیتر و Kin ۲ میلی گرم در لیتر B- کال زایی از جداکشت ریشه در محیط دارای NAA ۱۰ میلی گرم در لیتر و Kin ۵ میلی گرم در لیتر C- کال زایی از جداکشت ریشه در محیط دارای NAA ۲۰ میلی گرم در لیتر و Kin ۱۰ میلی گرم در لیتر (مقیاس ۱/۴)

در محیط دارای NAA/Kin با غلظت های متفاوت، جداکشت ریشه در محیط دارای ۱۰NAA میلی گرم در لیتر و ۲Kin میلی گرم در لیتر؛ ۱۰NAA میلی گرم در لیتر؛ ۵ Kin میلی گرم در لیتر؛ ۲۰NAA میلی گرم در لیتر و ۱۰Kin میلی گرم در لیتر، بیشترین میانگین کال زایی را داشت و کال های بزرگی در این محیط ها حاصل شدند (شکل ۱۰، جدول ۲، نمودار ۱).

بر اساس نتایج آماری، از میان جداکشت ها، بهترین جداکشت برای باززایی گیاهک کامل، جداکشت جوانه رویشی و بهترین جداکشت جهت کال زایی، جداکشت ساقه و ریشه و بهترین جداکشت جهت باززایی ریشه، جداکشت برگ می باشد.

در بین ۸ محیط دارای غلظت های متفاوتی از Kin و IAA، در باززایی گیاهک کامل از جوانه رویشی، با افزایش غلظت سیتوکینین و بالا رفتن نسبت سیتوکینین به اکسین، شاهد افزایش میانگین تشکیل گیاهک کامل بودیم. به طوری که در محیط دارای IAA ۲ میلی گرم در لیتر و Kin ۱۰ میلی گرم در لیتر که نسبت سیتوکینین به اکسین ۵ برابر است، بیشترین میانگین تشکیل گیاهک کامل را مشاهده کردیم و این محیط تفاوت معنی داری با سایر محیط ها داشت. در محیط های کشت دارای NAA و Kin، جوانه رویشی، فقط کالزایی کرد و بعد از آن ما شاهد باززایی ریشه بودیم و گیاه کامل در محیط دارای NAA ۲ میلی گرم در لیتر و Kin ۱۰ میلی گرم در لیتر، نیز که نسبت سیتوکینین به اکسین ۵ برابر می باشد مشاهده گردید. در بین محیط های کشت دارای غلظت های متفاوتی از NAA/Kin، محیط دارای NAA ۵ میلی گرم در لیتر و Kin ۵ میلی گرم در لیتر دارای بیشترین اثر در تشکیل گیاهان کامل از جداکشت جوانه رأسی بود.

میانگین بزرگی کال های حاصل از جداکشت های ساقه و ریشه، با افزایش میزان اکسین نسبت مستقیم داشت و ما هیچ گونه اندام زایی را مشاهده نکردیم. محیط های IAA ۱۰ و Kin ۲؛ IAA ۱۰ و Kin ۵؛ NAA ۱۰ و Kin ۲، NAA ۱۰ و Kin ۵؛ NAA ۱۰ و Kin ۱۰ بر حسب میلی گرم در لیتر، بهترین محیط ها، جهت کال زایی از جداکشت های ریشه و ساقه بودند و تفاوت معنی داری با سایر محیط ها داشتند. NAA در مقایسه IAA جهت کال زایی بسیار مؤثر تر بوده و کال های بسیار پایدارتری با اندازه بزرگتر در محیط دارای NAA تشکیل گردیدند.

جداکشت برگی، در ۱۱ محیط به کار گرفته شده، بعد از کال زایی، ریشه زایی کردند. محیط های IAA ۱۰ و Kin ۲، IAA ۱۰ و Kin ۵، NAA ۵ و Kin ۵ بر حسب میلی گرم در لیتر، برای باز تمایز ریشه از جداکشت برگ، بهترین تأثیر را داشتند و تفاوت معنی داری با سایر محیط ها داشتند.

جدول ۱- نتایج حاصل از کشت قطعات اندام های گیاه *Sesamum indicum L.* در محیط کشت پایه MS دارای غلظت های

مختلفی از IAA و Kin بر حسب mg/l

نوع تیمار	جداکش ت	میانگین بزرگی و درصد کالوس	میانگین گسترش و درصد ریشه زایی از جداکش برگ	میانگین تشکیل گیاهک کامل از جداکش جوانه راسی	رنگ کالوس	پایداری کالوس
IAA2+10Kin	ب	0,0%	0,0%	-	-	-
	ر	0.3,30%	+	-	قهوه ای	+
	س	0,0%	-	-	روشن	-
	م	-	-	۱	-	+
IAA5+10 Kin	ب	0,0%	0,0%	0	قهوه ای	-
	ر	0.4,40%	-	0	-	+
	س	0,0%	-	0	قهوه ای	-
	م	-	-	0.8	روشن	+
IAA20+10 Kin	ب	0.8,80%	1.2,80%	0	قهوه ای	-
	ر	0.5,40%	-	0	قهوه ای	++
	س	0.7,60%	-	0	قهوه ای	+
	م	-	-	0.4	تیره	+
IAA10+2 Kin	ب	0.9,90%	2.7,90%	0	قهوه ای	+
	ر	3,100%	-	0	قهوه ای	++
	س	2.2,90%	-	0	قهوه ای	++
	م	-	-	0.2	قهوه ای	+
IAA10+5 Kin	ب	0.9,90%	2.3,90%	0	قهوه ای	+
	ر	3,90%	-	0	قهوه ای	++
	س	1.9,90%	-	0	قهوه ای	++
	م	-	-	0.4	سبز و روشن	+
IAA10+20 Kin	ب	0,0%	0,0%	0	-	-
	ر	0.4,40%	-	0	قهوه ای روشن	+
	س	0.2,20%	-	0	قهوه ای روشن	+
	م	-	-	0.8	قهوه ای	+
IAA10+10Kin	ب	0.3,30%	0.7,30%	0	قهوه ای	+
	ر	0.8,70%	-	0	قهوه ای روشن	+
	س	0.4,40%	-	0	قهوه ای تیره	+
	م	-	-	0.7	قهوه ای تیره	+
IAA5+5 Kin	ب	0,0%	0,0%	0	-	-
	ر	0.7,60%	-	0	قهوه ای روشن	+
	س	0.2,20%	-	0	قهوه ای روشن	+
	م	-	-	0.4	قهوه ای	+

جدول ۲- نتایج حاصل از کشت قطعات اندام های گیاه *Sesamum indicum L.* در محیط کشت پایه MS دارای غلظت های مختلف NAA و Kin بر حسب mg/l

نوع تیمار	جداکشت	میانگین بزرگی و درصد کالوس	میانگین گسترش و درصد ریشه زایی	میانگین تشکیل گیاهک کامل	رنگ کالوس	پایداری کالوس
1:NAA2+10Kin	ب	1.8,100%	0.2,20%	-	سبز روشن	++
	ر	1.8,70%	-	-	قهوه ای روشن	++
	س	1.6,80%	-	-	قهوه ای روشن	++
	م	-	-	0.5	قهوه ای	++
2:NAA5+10Kin	ب	2.1,100%	0.8,40%	-	قهوه ای روشن	++
	ر	2,70%	-	-	قهوه ای	++
	س	1.6,90%	-	-	قهوه ای	++
	م	-	-	-	سبز روشن	++
3:NAA20+10Kin	ب	2.5,100%	1.5,70%	-	قهوه ای روشن	+++
	ر	2.9,90%	-	-	قهوه ای	+++
	س	2.8,100%	-	-	سبز	+++
	م	-	-	-	قهوه ای روشن	+++
4:NAA10+2Kin	ب	3,100%	1.6,70%	-	قهوه ای روشن	+++
	ر	3.3,100%	-	-	قهوه ای روشن	+++
	س	3,100%	-	-	قهوه ای روشن	+++
	م	-	-	-	قهوه ای روشن	+++
5:NAA10+5Kin	ب	2.5,100%	1.6,70%	-	قهوه ای روشن	+++
	ر	3.4,100%	-	-	قهوه ای روشن	+++
	س	3,100%	-	-	قهوه ای روشن	+++
	م	-	-	-	قهوه ای روشن	+++
6:NAA10+20Kin	ب	2,100%	0.3,20%	-	قهوه تیره	+++
	ر	2,80%	-	-	قهوه اروشن	+++
	س	1.8,90%	-	-	قهوه تیره	+++
	م	-	-	-	سبز روشن	+++
7:NAA10+10Kin	ب	2.4,100%	0,0%	-	قهوه ای روشن	+++
	ر	1.7,80%	-	-	قهوه روشن	+++
	س	1.8,80%	-	-	قهوه تیره	+++
	م	-	-	-	قهوه ای روشن	+++
8:NAA5+5Kin	ب	1,100%	3.1,100%	-	سبز روشن سبز	+++
	ر	1.8,70%	-	-	روشن	+++
	س	1.4,80%	-	-	سبز روشن سبز	+++
	م	-	-	1	روشن	+++

در غلظت های متفاوت از دو هورمون در محیط دارای IAA ۲ و Kin ۱۰ بر حسب میلی گرم بر لیتر شاهد بیشترین میانگین تشکیل گیاهک کامل بودیم و در زمان سریع تری نسبت به سایر محیط ها باز تمایز گیاهک کامل صورت گرفت. در محیط دارای IAA ۱۰ و Kin ۲ بر حسب میلی گرم بر لیتر، شاهد باز تمایز ضعیف گیاهک کامل و میانگین پایین تشکیل گیاهک کامل بودیم، که این نشان می دهد که نسبت بالای سیتوکینین به اکسین در تشکیل

گیاهک موثر می باشد. این نتیجه با نتایج تحقیق صورت گرفته توسط Baskaran و همکاران (۲۰۰۶)^(۱)، Saravan و همکاران (۲۰۰۵)^(۱۵) بر روی گیاه کنجد که حضور غلظت بالای سیتوکینین در محیط راعاملی مؤثر در تکثیر جوانه محوری می دانند همسویی دارد. در محیط دارای IAA و Kin ۵ و ۱۰ شاهد تشکیل گیاهک کامل بودیم ولی میانگین تشکیل گیاهک کمتری را نسبت به محیط دارای IAA و Kin ۲ و ۱۰ نشان داد و دارای ماندگاری کمتری در محیط طبیعی (حدود یک هفته) بود. در محیط IAA و Kin ۱۰ و ۵ بر حسب میلی گرم بر لیتر، اندام زایی در کال های حاصل از جداکشت جوانه رأسی در مقایسه با محیط دارای IAA و Kin ۵ و ۱۰ بر حسب میلی گرم بر لیتر کمتر بود و دارای میانگین تشکیل گیاهک کمتری بود، که این امر بر تاثیر شدید Kin در محیط اشاره دارد.

در محیط پایه MS دارای NAA و Kin ۲ و ۱۰ بر حسب میلی گرم بر لیتر، باز زایی گیاهک کامل صورت گرفت. در مقایسه با محیط دارای IAA و Kin ۲ و ۱۰ بر حسب میلی گرم بر لیتر، این محیط از میانگین تشکیل گیاهک کمتری برخوردار بود که نشان از موثر تر بودن IAA در باز تمایز اندام هوایی در مقایسه با NAA دارد. در محیط دارای NAA و Kin ۵ و ۵ بر حسب میلی گرم بر لیتر، بر اساس نتایج آماری شاهد بیشترین میانگین درصد تشکیل گیاهک کامل بودیم. به نظر می رسد با وجود میزان کم Kin، NAA ممانعتی از تشکیل گیاهک کامل نکرده است ولی در محیط دارای NAA و Kin ۱۰ و ۱۰ بر حسب میلی گرم بر لیتر، NAA به دلیل دو برابر شدن از تشکیل اندام هوایی ممانعت کرده و باعث تشکیل کال شده است که نشان از تاثیر بیشتر NAA در کال زایی دارد.

در بین ۱۰ نوع محیط کشت مناسب برای باززایی گیاه، به نظر میرسد که IAA در مقایسه با NAA توانایی بیشتری در باز تمایز اندام هوایی و NAA توانایی بیشتری در باززایی ریشه دارد. که این نتیجه با نتایج Lee و همکاران (۱۹۸۵)^(۱۲) و Baskaran (۲۰۰۶)^(۲) که اکسین NAA را برای ریشه دهی کنجد مؤثر تر از سایر اکسین ها می دانند مطابقت دارد.

در بررسی انجام گرفته بر روی پایداری و اندازه کال های تشکیل شده مشخص گردید که دو هورمون IAA و NAA، پایداری و ظاهر متفاوتی را در کالوس های حاصل از جداکشت های مورد استفاده ایجاد کردند. از میان دو هورمون IAA و NAA، هورمون NAA در ایجاد کالوس مؤثر تر عمل کرد، که این نتیجه با نتایج Baskaran (۲۰۰۶)^(۲) همسویی دارد. در ضمن بزرگی و میانگین کال زایی در جداکشت های ساقه و ریشه با افزایش میزان اکسین و بالا رفتن نسبت اکسین به سیتوکینین نسبت مستقیم داشت که این نتیجه با نتایج Baskaran (۲۰۰۶)^(۲) و Saravan (۲۰۰۵)^(۱۶) که حضور نسبت بالای اکسین را در کال زایی جداکشت های ساقه مفید می دانند، مطابقت دارد. در هیچ یک از کالوس های حاصل از جداکشت های ساقه و ریشه، اندام زایی مشاهده نشد. این نتیجه با نتایج تحقیق H.Y. SEO و همکاران (۲۰۰۷)^(۱۶) بر روی قطعات ساقه و ریشه دانه رست های ۱ تا ۲ هفته ای مطابقت دارد. نتایج نشان می دهد که ارتباط بین مواد غذایی و سن جداکشت و ترکیبات هورمونی برای تشکیل ریشه و اندام هوایی از کال های ریشه و ساقه وجود دارد.

در کال حاصل از جداکشت برگ در محیط دارای IAA و Kin ۱۰ و ۲۰ بر حسب میلی گرم بر لیتر، شاهد باز تمایز ریشه، ساقه، برگ و در نهایت تشکیل گیاهک کامل بودیم و در هیچ کدام از ۸ نوع محیط کشت دارای NAA و Kin، تشکیل گیاهک کامل صورت نگرفت. این نتایج با نتایج Beatrice و همکاران (۲۰۰۶)^(۱۵) که اکسین IAA را نسبت به اکسین NAA در باز تمایز اندام هوایی در برگ لپه ای گیاه کنجد مؤثر تر می دانند مطابقت دارد. در باز تمایز ریشه از جداکشت برگ، نیز به نظر میرسد که، NAA از نظر کال زایی در جداکشت برگ مؤثر تر از IAA عمل می کند و هم چنین حضور IAA در محیط باعث ریشه زایی بیشتر جداکشت برگ می گردد.

References:

1. Oplinger Putnam, D.H., Kaminski, A.R., *Sesame Alternative Field Crops Manual*, (1990).
2. Baskaran, P., Jayabalan, N., *I. J. A. T.*, **2**(2), 226 (2006).
3. Ghahreman, A., *Iran' koromophits*, Markaze Nashre Daneshgahi, Tehran (1993).
4. Mozafarian, V., *Plant Classification*, Amir kabir publication, Tehran (2004).
5. Zargari, *Medicinal Plant*, Tehran University, Tehran (1993).
6. Bown, D., *Encyclopaedia of Herbs and their Uses*, Dorling Kindersley, London (1996)
7. Kariyone, T., *Atlas of Medicinal Plants*, Osaka, Takeda (2001).
8. XU, H., Yang, X., Yang, J., Qi, W., Liu., *IBIDS. J.*, 272 (2003)
9. Fabio, T., Simone, M.N., Carlos, B., and Oetario, L.F., *Science direct*, 162 (2003)
10. Yi, Yang Lee, Chaih, S.T., *Asia. Pac. J. Clin.*, **17**, 95 (2007).
11. Taskin, K.M., Turgut, K., *Turk. J. Bo.t*, **21**, 15 (1997).
12. Lee, J.I., Park, Y.H., Park, Y.S., and Kim, B.G., *I. J. P. B.*, **19**, 70 (1985).
13. Ehsanpoor, A., Amini, P.H., *Plant Cell and Tissue Culture*, Esfahan'Jahad Daneshgahi Publication, Esfahan (2003).
14. Hasan dokht, M.R., Ebrahimi, R., *Basis of Plant Cell and Tissue Culture*, Marze Danesh Publication, Tehran (2006).
15. Beatrice, A., Were, S., Gudu, Augustino, O., Onkware, Anders, S., *PCTOC. J.*, **85**, 235 (2006).
16. Saravanan, S., Nadarajan, N., *R. J. A. B. S. J.*, **1**, 98 (2005).
17. Seo, H.Y., Kim, Y.J., Park, T.I., Kim, H.S., Yun, S.J., Lee, Y.S., *Development Biology/Morpholoensis. J.*, **43**, 209 (2007).