دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی

# اثر نوع محیط کشت و ترکیب های هورمونی بر میزان کالزایی، باززایی و ریشه زایی ارقام کنجد (*Sesamum indicum* L.)

ر. حاتمی[1]، غ. ع. رنجبر[2] و س. ک. کاظمی تبار[2]

۱ و ۲- دانش آموخته کارشناسی ارشد و دانشیار دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

تاریخ دریافت: ۹۰/۴/۱۲ تاریخ پذیرش: ۹۰/۱۲/۱۵

**چکیده**

**در این آزمایش میزان کالزایی و باززایی چهار رقم کنجد (اولتان، یکتا، ورامین و ناز تک شاخه) در محیط های کشت مختلف با ترکیبات هورمونی متفاوت بررسی شد. به منظور بررسی کالزایی، بعد از ضدعفونی بذور، جنین های دیپلوئید جدا شده و روی دو محیط القاء کالوس MS و MS نیم قدرت حاوی ۱/۵، ۲، ۲/۵ و ۳ میلی گرم در لیتر هورمون 2,4-D، به همراه ۰/۱ گرم در لیتر کازئین هیدروزیلات به عنوان مکمل قرار داده شدند. بررسی درصد کالزایی نشان داد که رقم اولتان، ناز تک شاخه و یکتا به ترتیب با ۹۱/۳۸، ۹۰/۲۱ و ۸۹/۳۰ درصد بالاترین درصد کالزایی و ورامین با ۸۱/۴۷ درصد نسبت به سایر ارقام کمترین مقدار کالزایی را داشتند. به منظور القای اندام هوایی نمونه های کالوس جهت باززایی در محیط های کشت MS و MS نیم قدرت حاوی سطوح مختلف هورمونی NAA (۰/۱، ۰/۵ و ۱ میلی گرم در لیتر)، BAP (۱/۰ و ۱/۵ میلی گرم در لیتر) و kin (۱/۰ میلی گرم در لیتر)، کشت شدند. در محیط باززایی رقم ورامین بطور متوسط با ۲۵/۶ درصد باززایی، برتری معنی داری (P<۰/۰۱) را نسبت به سایر ارقام از خود نشان داد. بهترین پاسخ نسبت به باززایی مربوط به محیط MS نیم قدرت بود. همچنین ترکیب هورمونی ۰/۱ میلی گرم در لیتر از هورمون NAA به همراه ۱/۰ میلی گرم در لیتر از هورمون BA بهترین پاسخ را نشان داد. در محیط ریشه زایی بیشترین تعداد ریشه نیز مربوط به رقم اولتان بود. محیط MS نیم قدرت نسبت به محیط MS برتری معنی داری داشت، همچنین ترکیب هورمونی ۰/۵ میلی گرم در لیتر NAA به همراه ۱/۰ میلی گرم در لیتر هورمون IAA بهترین پاسخ را نشان داد.**

**واژه های کلیدی: کنجد، کالزایی، باززایی، ریشه زایی، کشت جنین بالغ**

[ Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-04-27 ]

**مقدمه**

کنجد (*Sesamum indicum* L.) از خانواده پدالیاسه گیاهی است یک ساله و از قدیمی‌ترین گیاهان دانه روغنی که سازگار به نواحی گرم و نیمه گرم است، ولی تولید ارقام مناسب موجب شده است که کشت آن در مناطق دیگر از جمله مناطق معتدل نیز گسترش یابد (۳۵). بذر کنجد دارای مواد غذایی زیادی است (۵۰٪ روغن و ۲۵٪ پروتئین) و روغن آن حاوی آنتی اکسیدان های طبیعی از قبیل سزامین و سزامول است (۷). روغن کنجد از روغن‌های نیمه خشک و دارای مرغوبیت بالایی می‌باشد (۸). روغن بذر کنجد جهت برطرف کردن چین و چروک و جلوگیری از سالخوردگی، و همچنین به صورت های گوناگونی از قبیل غذاهای سالم سنتی و وسایل آرایشی در سرتاسر جهان استفاده می‌شود (۱۰). سزامول (۳ و ۴- متیلن دی اکسی فنول)، مولفه عمده‌ای از آنتی اکسیدان‌های روغن بذر کنجد است و این گیاه به دلیل وجود آنتی اکسیدان زیاد می‌تواند به عنوان یک گیاه دارویی نیز معرفی شود (۳۴). علاوه بر این ریشه و برگ‌های کنجد نیز مصارف دارویی و آشپزی دارد. به عنوان مثال عصاره ریشه آن به روش‌های مختلف در بهبود آسم و سرفه به کار می رود و برگ های آن به صورت سبزی مصرف می شود (۱۷). اثرات مفید کنجد روی سلامتی بشر، اخیراً توجه به سمت این گیاه زراعی باستانی را زیاد کرده است. با وجود ارزش غذایی و تاریخی و اهمیت فرهنگی کنجد، تحقیقات بر روی کنجد اندک و کم بوده است (۲۰). نایار و مهرا (۲۳) بیان کردند که امکان القاء جنین های سوماتیکی مستقیما از سطح جنین های بذر کنجد در محیط کشت وجود دارد. همچنین می توان از روش های کشت بافت جهت آسان کردن تلاقی های دور استفاده نمود. براساس مطالعات ویر و همکاران (۳۶) نشان دادند که کنجد جهت باززایی درون آزمایشگاهی بسیار سرسخت است. هر چند باززایی شاخه نابجای غیرمستقیم از راس ساقه (۲۶)، گره (۱۳) و برگ (۳۱)، در محیط کشت انجام شده است، ولی واکشت هیپوکوتیل ها و یا لپه ها دارای فراوانی پایین بودند (۳۷). کشت جنین سابقا در بسیاری موارد در اصلاح گیاهان با هدف های مختلفی از قبیل غلبه بر موانع تولید مثلی در تولید دورگه های بین گونه ای، آزمایش های جوانه زنی یا تولید گیاهان عاری از ویروس استفاده شده است (۲۴). مهمترین جنبه کشت جنین، تعیین ترکیبات مناسب محیط کشت که تأمین کننده رشد جنین هایی است که در اندازه های مختلف کشت شده اند (۱۸). تعیین ترکیبات مناسب محیط کشت که تامین کننده رشد جنین های کشت شده باشد در گیاهان و ارقام مختلف به شدت متفاوت است (۱۸). با توجه به تنوعی که از نظر ارقام مختلف وجود دارد و همچنین امکان استفاده از محیط های کشت با غلظت های متفاوت،

[ Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-04-27 ]

می توان بهترین رقم و بهترین ترکیب محیط کشت را برای کشت جنین کنجد پیدا کرد تا بتوان این یافته ها را در پژوهشهای بعدی مورد استفاده قرار داد.

## مواد و روشها

این تحقیق در آزمایشگاه سیتوژنتیک دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۳ تکرار اجرا شد. در این تحقیق چهار رقم کنجد (اولتان، یکتا، ناز تک شاخه و ورامین) جهت بررسی کالزایی و باززایی مورد استفاده قرار گرفتند. بذر ارقام مختلف از موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر تهیه و با اتانول ۷۰٪ به مدت ۱ دقیقه و با هیپوکلریت سدیم ۳ درصد به مدت ۱۵ تا ۲۰ دقیقه ضدعفونی شده و سپس در داخل هود لامینار ایرفلو دو الی سه بار با آب مقطر استریل شستشو شده و جنین ها با احتیاط بسیار زیاد از بذرها جدا شدند. جنین های جدا شده روی محیط کشت القاء کالوس MS و MS نیم قدرت جامد تکمیل شده با چهار غلظت مختلف هورمون توفوردی (۱/۵، ۲، ۲/۵ و ۳ میلی گرم در لیتر)، ۰/۱ گرم در لیتر کازئین هیدروزیلات، ۳٪ ساکارز و ۰/۸٪ آگار کشت شدند. در هر پتری حاوی ۱۵ میلی لیتر محیط کشت ۱۵ عدد جنین بالغ قرار داده شد و درب پتری ها با پارافیلم بسته شدند. هر ۲ پتری به عنوان ۱ تکرار در نظر گرفته شد. نمونه ها جهت کالزایی در شرایط تاریکی و در دمای ۲۶±۱ درجه سانتی گراد در داخل ژرمیناتور قرار داده شدند. چهار هفته بعد از انکوباسیون، واکنش ژنوتیپ ها به کشت جنین بالغ ارزیابی و صفت درصد کالزایی اندازه گیری شد. حدود یک ماه پس از القاء کالوس، نمونه های کالوس جنین زای حاصل جهت ساقه دهی به محیط کشت باززایی حاوی تنظیم کننده های رشد NAA (۰/۱، ۰/۵ و ۱/۰ میلی گرم در لیتر) در ترکیب با BAP (۱ و ۱/۵ میلی گرم در لیتر) و Kin (۱/۰ میلی گرم در لیتر)، منتقل شدند. ابتدا نمونه های کالوس به مدت یک هفته در شرایط تاریکی و دمای ۲۴±۱ درجه سانتی گراد نگهداری و سپس به شرایط دمایی ۲۶±۱ درجه سانتی گراد با ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی انتقال یافتند. چهار هفته پس از انتقال کالوس ها به محیط باززایی، تعداد کالوس های باززایی شده به منظور ارزیابی درصد باززایی گیاهچه ها از کالوس ثبت گردید. به منظور القای ریشه از اندام هوایی باززایی شده، هورمون های NAA در دو سطح (۰/۱ و ۰/۵ میلی گرم در لیتر) و IAA در ترکیب با هم مورد استفاده قرار گرفتند. گیاهان باززایی شده به محیط ریشه زایی منتقل و تعداد ریشه های تولید شده مورد بررسی قرار گرفت. پس از تبدیل داده ها از طریق $\text{Arcsin}\sqrt{x}$، تمامی اطلاعات از طریق نرم افزارهای SAS و EXCEL تجزیه و مقایسه میانگین داده ها با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن صورت گرفت.

[ Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-04-27 ]

## نتایج و بحث

**کالزایی:** نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان داد که نوع رقم تأثیر معنی داری در سطح احتمال ۱٪ در تشکیل کالوس داشت، بطوریکه رقم اولتان، ناز تک شاخه و یکتا به ترتیب با داشتن ۹۱/۳۸، ۹۰/۲۱ و ۸۹/۳۰ درصد، بالاترین درصد کالزایی را داشته و در یک گروه قرار گرفتند و تنها ورامین با ۸۱/۴۷ درصد نسبت به سایر ارقام کمترین مقدار کالزایی را دارا بود (جدول ۲). اختلاف ارقام مورد آزمایش به لحاظ تولید کالوس در محیط های کشت مذکور مربوط به خصوصیات ژنتیکی هر یک از ارقام می باشد، این مشاهده اهمیت ژنوتیپ را به عنوان یکی از فاکتورهای موثر در کالزایی جنین بالغ تایید می کند. خانا و رینا (۱۹) اثر متقابل ژنوتیپ و محیط کشت را جهت کالزایی و باززایی مورد مطالعه قرار دادند و اظهار داشتند که باززایی گیاه از طریق فاکتور های ژنتیکی کنترل می شود. همچنین ماچی و همکاران (۲۱) گزارش دادند که دامنه تغییرات میزان کالزایی در غلظت های مختلف هورمون 2,4-D نسبت به ژنوتیپ های مختلف متفاوت است و بستگی به میزان و ترکیب هورمون های داخلی آن ریزنمونه دارد. همچنین هورمون 2,4-D تأثیر معنی داری در سطح احتمال ۵٪ در تشکیل کالوس داشت (جدول ۱)، بطوریکه غلظت ۳ و ۲/۵ میلی گرم در لیتر هورمون 2,4-D به طور متوسط با داشتن ۹۰/۷۱ و ۹۰/۱۶ درصد کالزایی، بیشترین میزان کالزایی را نشان دادند و تیمارهایی که حاوی ۱/۵ میلی گرم در لیتر 2,4-D بودند، کمترین میزان کالزایی را نشان دادند (جدول ۲). با توجه به نتایج ملاحظه می‌گردد که با افزایش غلظت هورمون درصد کالزایی نیز افزایش یافت. این نتایج با یافته های سراج و همکاران (۳۰) که بر نقش اکسین ها در کالزایی تاکید داشتند، مطابقت دارد (۳۰). اکسین به عنوان یکی از مهمترین تنظیم کننده های رشد برای شروع تمایز مجدد یا عدم تمایز در گیاهان مطرح می باشد (۳۰). گزارشهایی هم در رابطه با اثر بازدارندگی از رشد در غلظت بالای 2,4-D موجود است (۳ و ۶)، که در نمونه‌ای از کالوس‌های بدست آمده در این تحقیق نیز مشاهده شد (شکل ۱). همچنین محققان بیان داشتند که افزایش غلظت هورمونی بیشتر از میزان بهینه در محیط کشت اثر ممانعت کننده ای روی هورمون های داخلی ریزنمونه می گذارد و باعث کاهش میزان تولید کالوس می گردد (۱، ۴ و ۱۱). در بررسی حاضر اثر نوع محیط کشت و اثرات متقابل هیچ یک از فاکتورها معنی دار نشد (جدول ۱).

[ Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-04-27 ]

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر نوع محیط کشت، رقم و 2,4-D روی درصد کالزایی حاصل از کشت جنین بالغ

| منابع تغییر | درجه آزادی | میانگین مربعات |
|---|---|---|
| نوع محیط کشت | ۱ | ۰/۰۲۷$^{ns}$ |
| رقم | ۳ | ۰/۰۹۷$^{**}$ |
| 2,4-D | ۳ | ۰/۰۵۳$^{*}$ |
| رقم × 2,4-D | ۹ | ۰/۰۰۵$^{ns}$ |
| نوع محیط کشت × رقم | ۳ | ۰/۰۱۲$^{ns}$ |
| نوع محیط کشت × 2,4-D | ۳ | ۰/۰۲۳$^{ns}$ |
| نوع محیط کشت × رقم × 2,4-D | ۹ | ۰/۰۱۳$^{ns}$ |
| اشتباه آزمایشی | ۶۴ | ۰/۰۱۵ |
| ضریب تغییرات (درصد) | | ۱۰/۱۸ |

ns، * و **: به ترتیب اثر غیر معنی دار و معنی دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪ است.

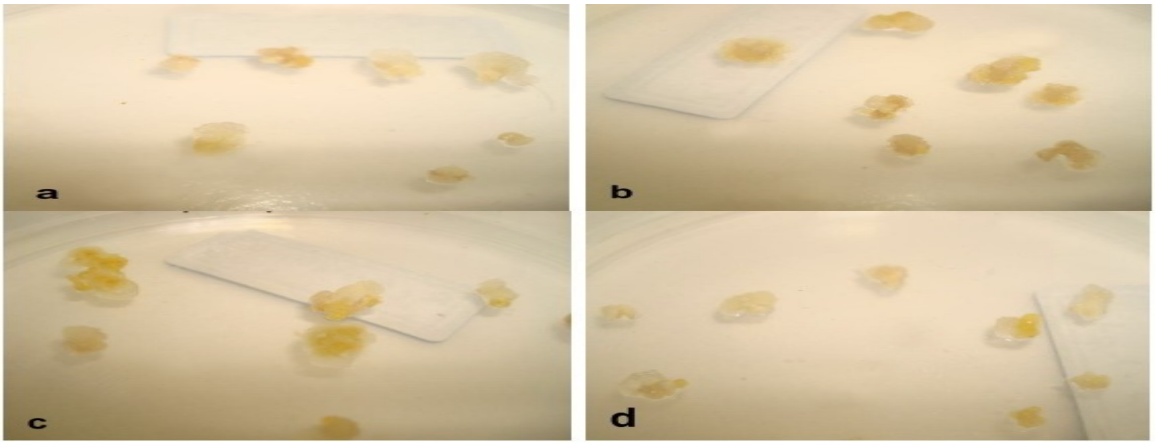
جدول ۲- مقایسه میانگین درصد کالزایی در سطوح مختلف 2,4-D در ارقام مورد مطالعه

| تیمار | درصد کالزایی |
|---|---|
| رقم | |
| ناز تک شاخه | ۹۰/۲۱$^{a}$ |
| یکتا | ۸۹/۳۰$^{a}$ |
| ورامین | ۸۱/۴۷$^{b}$ |
| اولتان | ۹۱/۳۸$^{a}$ |
| غلظت هورمون 2,4-D | |
| ۱/۵ میلی گرم در لیتر | ۸۴/۲۱$^{b}$ |
| ۲ میلی گرم در لیتر | ۸۷/۲۹$^{ab}$ |
| ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر | ۹۰/۱۶$^{a}$ |
| ۳ میلی‌گرم در لیتر | ۹۰/۷۱$^{a}$ |

حروف مشابه نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار بین میانگین هاست (براساس آزمون دانکن).

به منظور بررسی اثر غلظت های مختلف نمک دو نوع محیط کشت MS (حاوی غلظت بالای نمک) و محیط کشت MS نیم قدرت (محتوی غلظت پایین نمک) مورد استفاده قرار گرفتند. هر چند این دو نوع محیط کشت اختلاف معنی داری را نشان ندادند اما میزان رشد کالوس در محیط کشت MS نسبت به محیط کشت MS نیم قدرت بیشتر بود. پاسخ بهتر ریزنمونه ها به غلظت بالای نمک محیط MS را می‌توان دلیل کالزایی بیشتر ریزنمونه ها در این محیط دانست (۱۴).

[ Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-04-27 ]




شکل ۱- نمونه ای از کالوس های ایجاد شده از ریزنمونه های جنینی، a: کالوس ایجاد شده در تیمار ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D، b: کالوس ایجاد شده در تیمار ۲ میلی گرم در لیتر 2,4-D، c: کالوس ایجاد شده در تیمار ۲/۵ میلی گرم در لیتر 2,4-D، d: کالوس ایجاد شده در تیمار ۳ میلی گرم در لیتر 2,4-D.

**باززایی:** در اواخر هفته سوم کالوس‌های سبزرنگ شروع به تمایز نموده و با گذشت زمان شروع به تولید پریموردیای برگی و در نهایت تولید ساقه نمودند (شکل ۲). نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که نوع محیط کشت، رقم و غلظت های NAA و BA اثر معنی داری روی باززایی داشتند، اما در بین اثرات متقابل فاکتورها، فقط اثر متقابل NAA × BA معنی دار بود و سایر فاکتور ها اثر متقابل معنی داری نداشتند (جدول ۳). براساس نتایج بدست آمده BA اثر معنی داری در سطح احتمال ۱٪ بر درصد باززایی از کالوس های حاصل از ریزنمونه های جنینی داشت. هورمون NAA نیز در سطح احتمال ۱٪ معنی دار شد. بر اساس نتایج بدست آمده اثرات متقابل BA در NAA در سطح احتمال ۵٪ معنی دار شد و بیشترین میزان باززایی (۳۲/۵٪) از کالوس های با منشاء جنینی در ترکیبات هورمونی ۱ میلی گرم در لیتر BA به همراه ۰/۱ و ۰/۵ میلی گرم در لیتر NAA به ترتیب با ۳۲/۵ و ۳۱/۵ درصد بدست آمد. سایر مقادیر باززایی کمتری داشتند و اختلاف آنها در غلظت‌های مختلف معنی دار بود (جدول ۴). احمد و همکاران (۲) بیان کردند که درصد و فراوانی باززایی ساقه با افزایش غلظت BA تا ۱/۰ میلی گرم در لیتر (غلظت مطلوب برای حداکثر فراوانی تشکیل جوانه ساقه کنجد (۰/۱± ۲/۷) افزایش یافت. با این وجود، در غلظت بالاتر از تعداد ساقه در هر ریزنمونه کاسته شد. این پدیده، به دلیل تولید بیش از حد کالوس در غلظت های بالاتر سایتوکنین توسط ریزنمونه های نوک ساقه است که در بهبود راندمان چند شاخساری ناموفق عمل می کند (۲). نتایج حاصله با نتایج تحقیقات سانتکی و

[ Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-04-27 ]

همکاران (۳۳) و ساراوانان و نادارجان (۲۷) مشابهت دارد. آنها اظهار داشتند که ژنوتیپ های کنجد به غلظت های مختلف IAA، BA و Kin در طول مدت شاخساری پاسخ مثبتی می دهند. آنها بالاترین نسبت شاخساری معنی دار را در ترکیب ۱: ۱: ۱/۲۵ میلی گرم در لیتر به ترتیب برای هورمون های IAA، BA، Kin و همچنین ترکیبی از mg/ ۱: ۱/۵: ۱/۲۵ میلی گرم در لیتر به ترتیب برای هورمون های IAA، BA، Kin مشاهده کردند (۳۳ و ۲۷). این نتیجه با نتایج اسکوگ و میلر (۳۲) مبنی بر اینکه تشکیل شاخه از کالوس با استفاده از غلظت های پایین اکسین در ترکیب با غلظت های بالای سایتوکنین در محیط رشد القاء می گردد (۳۲)، مطابقت دارد. جدول ۳ نشان می دهد که نوع محیط کشت بر میزان باززایی از کالوس های حاصل از ریزنمونه های جنینی تأثیر بسزایی دارد، چنانکه اثر نوع محیط کشت در سطح احتمال ۱٪ معنی دار شد. بیشترین میزان باززایی در محیط MS نیم قدرت با ۲۸/۵ درصد باززایی مشاهده شد این در حالی بود که ۲۵/۲ درصد باززایی در محیط کشت MS مشاهده گردید (شکل ۳).

جدول ۳- تجزیه واریانس اثر نوع محیط کشت، رقم، NAA و BA بر درصد باززایی در حضور ۱ میلی گرم در لیتر کاینتین

| منابع تغییر | درجه آزادی | میانگین مربعات |
|---|---|---|
| نوع محیط کشت | ۱ | ۱۶۳/۴۸$^{**}$ |
| رقم | ۳ | ۸۵/۶۳$^{**}$ |
| NAA | ۲ | ۱۳۷/۴۵$^{**}$ |
| BA | ۱ | ۳۹۵/۹۶$^{**}$ |
| نوع محیط کشت × رقم | ۳ | ۲۷/۵۷$^{ns}$ |
| نوع محیط کشت × BA | ۱ | ۰/۰۹$^{ns}$ |
| نوع محیط کشت × NAA | ۲ | ۵/۷۸$^{ns}$ |
| رقم × BA | ۳ | ۸/۰۱$^{ns}$ |
| رقم × NAA | ۶ | ۲/۳۳$^{ns}$ |
| BA × NAA | ۲ | ۶۴/۴۸$^{*}$ |
| نوع محیط کشت × رقم × NAA | ۶ | ۳/۳۶$^{ns}$ |
| نوع محیط کشت × رقم × BA | ۳ | ۸/۲۳$^{ns}$ |
| نوع محیط کشت × BA × NAA | ۲ | ۰/۰۰۸$^{ns}$ |
| رقم × BA × NAA | ۶ | ۱۱/۲۱$^{ns}$ |
| نوع محیط کشت × رقم × BA × NAA | ۶ | ۱۶/۱۶$^{ns}$ |
| اشتباه آزمایشی | ۹۶ | ۱۷/۷۲ |
| ضریب تغییرات | | ۱۳/۵۵ |

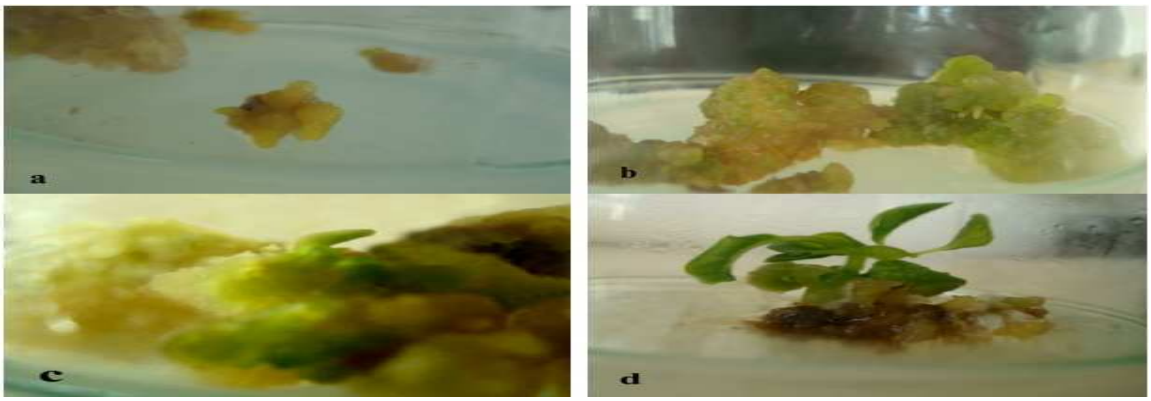
ns، * و **: به ترتیب اثر غیرمعنی دار و معنی دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪ است.

[ Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-04-27 ]

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر متقابل هورمون های BAP × NAA روی درصد باززایی ارقام مورد مطالعه

| | ۱ $mg.l^{-1}$ BAP | ۱/۵$mg.l^{-1}$ BAP |
|---|---|---|
| ۰/۱ $mg.l^{-1}$ NAA | ۳۲/۵۲$^{a}$ | ۲۵/۱۵$^{b}$ |
| ۰/۵ $mg.l^{-1}$ NAA | ۳۱/۵۵$^{a}$ | ۲۴/۳۹$^{b}$ |
| ۱ $mg.l^{-1}$ NAA | ۲۴/۳۸$^{b}$ | ۲۳/۶۱$^{b}$ |

حروف مشابه نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار بین میانگین هاست (براساس آزمون دانکن).

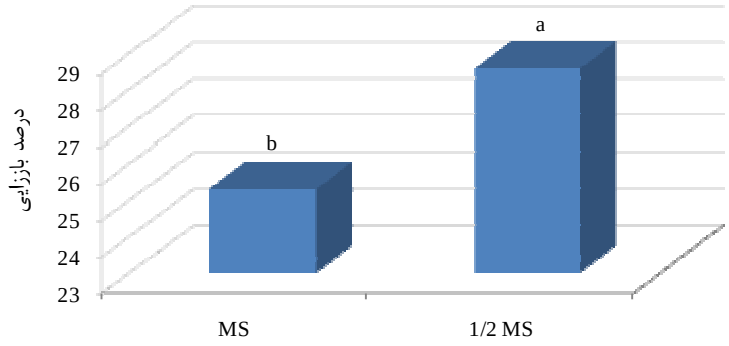



شکل ۲- باززایی از کالوس حاصل از ریزنمونه های جنینی، a: نمونه ای از کالوس جنین زا جهت باززایی، b: پیداش سبزینه روی کالوس، c: ظهور برگ اولیه روی کالوس، d: باززایی گیاه کامل از کالوس.

دلیل برتری محیط MS نیم قدرت نسبت به محیط MS را می توان در پایین تر بودن میزان نیتروژن کل و به خصوص $NH_4^+$ و همچنین پایین تر بودن غلظت نمک در محیط پایه MS نیم قدرت دانست. به طور معمول نیترات در محدوده غلظتی ۲۵ تا ۴۰ میلی مولار و آمونیم در محدوده غلظتی ۲ تا ۲۰ میلی مولار استفاده می شوند. گفتنی است که در بعضی موارد کاربرد آمونیم به تنهایی، یا در غلظت زیاد برای باززایی گیاه سمی است. واکنش نسبت به آمونیم، به نوع ریزنمونه و هدف کشت بستگی دارد و نقش آن از بازدارندگی تا ضرورت متفاوت است (۲۸). گامبورگ و شیلوک (۱۶) اعتقاد داشتند که غلظت بالای آمونیم در محیط MS از فعالیت آنزیم سنتتاز گلوتامات در کشت سوسپانسیون سویا جلوگیری می کند. میزان زیاد یون آمونیم سبب کاهش میزان اندام زایی در اکثر گیاهان می گردد (۱۶). مارگارا و لی دیکر (۲۲) نشان دادند که تشکیل شاخه اکتسابی از کالوس کلزا در محیط کشت حاوی ۳۰-۴۵ میلی مولار ازت کل مطلوب است. آنها همچنین بیان کردند که درصد تولید شاخه از ریزنمونه در محیط کشت حاوی مقادیر کمتر یا بیشتر نیتروژن (به عنوان مثال در محیط کشت) کاهش می یابد. و همچنین افزایش نسبت $NH_4^+$ به مجموع N از ۰/۲۰ به ۰/۳۳ در محیط

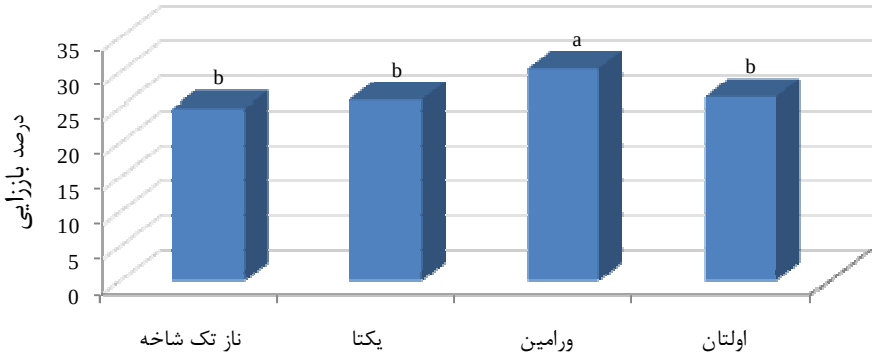
[ Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-04-27 ]

کشت مضر است. به طور مشابه، گرتسان (۱۵) نشان داد هنگامی که ازت کل در محیط کشت MS به ۷۵ میلی مولار افزایش یافته بود، تعداد شاخه کمی در بخش دمبرگ از *Senecio hybridus* بدست آمد، اما هنگامی که ازت کل به ۳۰ میلی مولار کاهش داده شد تعداد شاخه های تولید شده افزایش یافت (در حالی که نسبت $NH_4^+$ به $NO_3^-$ یکسان بود) (۱۵). به طور معمول مصرف نیتروژن محیط کشت در کشت های ساقه از آنچه برای کشت کالوس یا سوسپانسیون استفاده می شود کمتر است (۲۸). البته باید عنوان کرد که پاسخ در گیاه کنجد در آزمایش حاضر در مرحله ی اندام زایی با الگوی فوق الذکر مشابه بود و ممکن است پاسخ ریزنمونه ها در سایر مراحل و همچنین گیاهان دیگر کاملاً متفاوت باشد. در بررسی حاضر نقش ژنوتیپ تشکیل دهنده کالوس بر باززایی اندام هوایی تعیین گردید. تأثیر نوع ژنوتیپ بر میزان و درصد باززایی در سطح احتمال ۱٪ معنی دار شد (جدول ۳). رقم ورامین بطور متوسط با داشتن ۳۰/۴۷ درصد باززایی بیشترین درصد باززایی را نشان داد و سایر ارقام در رتبه های بعدی قرار گرفتند (شکل ۴). نتایج آزمایش حاضر در پاسخ ریزنمونه های کشت شده کنجد تحت تأثیر تنظیم کننده های رشدی مختلف با یافته های گانگوپادیای و همکاران (۱۳)، چاکرابورتی و باسیو (۹) و سئو و همکاران (۲۹)، در این زمینه مشابهت دارد.




شکل ۳- اثر ساده نوع محیط کشت در حضور هورمون کینتین بر میزان باززایی (٪) در گیاه کنجد.

[ Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-04-27 ]




شکل ۴- بررسی تأثیر رقم در حضور هورمون کاینتین بر میزان باززایی (٪) در گیاه کنجد.

اما همانطور که در آزمایش حاضر مشاهده شد، این پاسخ های طبیعی علاوه بر شرایط مورد مطالعه بطور معمول با ژنوتیپ نیز مرتبط بود. تفاوت رقم نیز در مطالعات گذشته در کنجد (۲۵ و ۱۳) گزارش شده است.

**ریشه زایی:** توانایی اکسین در توسعه و تشکیل ریشه شناخته شده است. نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که نوع محیط کشت در سطح احتمال ۵٪ و اثرات رقم، هورمون NAA و هورمون IAA در سطح احتمال ۱٪ بر تعداد ریشه تشکیل شده اثر معنی دار داشت (جدول ۵). بیشترین تعداد ریشه (۴/۷۹) در محیط MS نیم قدرت بدست آمد. اثر کاهنده بر ریشه زایی با افزایش غلظت نمک در محیط پایه و استفاده از NAA در ریشه زایی از شاخه های القاء شده در شرایط آزمایشگاهی توسط باسکاران و جایابالان (۵) گزارش شد. در بین ارقام مورد آزمایش، رقم اولتان با ۵/۲۴ عدد ریشه بیشترین تعداد ریشه و سپس رقم یکتا و رقم ناز تک شاخه بترتیب با ۴/۶۲ و۴/۲۶ عدد ریشه در رتبه های بعدی قرار گرفتند. در این بررسی همچنین اثرات متقابل رقم در NAA، رقم در IAA و NAA در IAA در سطح احتمال ۱٪ معنی دار شدند. بر این اساس رقم اولتان در ترکیب هورمونی ۰/۵ میلی گرم درلیتر هورمون NAA بیشترین تعداد ریشه را تولید نمود و سپس ارقام یکتا و ناز تک شاخه نیز در ترکیب هورمونی ۰/۵ میلی گرم در لیتر از این هورمون بیشترین تعداد ریشه را داشتند (جدول ۶). در ترکیب هورمونی ۱ میلی گرم در لیتر از هورمون IAA رقم اولتان با ۶/۴۵ ریشه بیشترین تعداد ریشه را تولید و ارقام یکتا و ورامین در رتبه های بعدی قرار گرفتند (جدول ۶). در بین ترکیبات هورمونی ممکن ترکیب هورمونی ۰/۵ میلی گرم در لیتر NAA به همراه ۱ میلی گرم در لیتر هورمون IAA بیشترین تأثیر را در افزایش تعداد ریشه داشت (شکل ۵). احمد و همکاران (۲) بیان کردند که در ریشه زایی

[ Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-04-27 ]

با محیط پایه بدون یا با اکسین های IBA و IAA موثرتر بود (۲).

جدول ۵- جدول تجزیه واریانس اثر نوع محیط کشت، رقم، NAA و IAA بر تعداد ریشه

| منابع تغییر | درجه آزادی | میانگین مربعات |
|---|---|---|
| نوع محیط کشت | ۱ | ۶/۱۲* |
| رقم | ۳ | ۶/۷۸** |
| NAA | ۱ | ۵۰/۳۹** |
| IAA | ۱ | ۴۵/۶۳** |
| نوع محیط کشت × رقم | ۳ | ۱/۶۲ns |
| نوع محیط کشت × IAA | ۱ | ۰/۰۰ns |
| نوع محیط کشت × NAA | ۱ | ۰/۵۰ns |
| رقم × IAA | ۳ | ۴/۱۸* |
| رقم × NAA | ۳ | ۳/۹۴* |
| IAA × NAA | ۱ | ۱۵/۸۳* |
| نوع محیط کشت × رقم × NAA | ۳ | ۰/۰۷ns |
| نوع محیط کشت × رقم × IAA | ۳ | ۲/۰۹ns |
| نوع محیط کشت × IAA × NAA | ۱ | ۰/۰۳ns |
| رقم × IAA × NAA | ۳ | ۳/۱۰ns |
| نوع محیط کشت × رقم × IAA × NAA | ۳ | ۱/۰۳ns |
| اشتباه آزمایشی | ۶۴ | ۱/۳۴ |
| ضریب تغییرات (درصد) | | ۲۵/۵۷ |

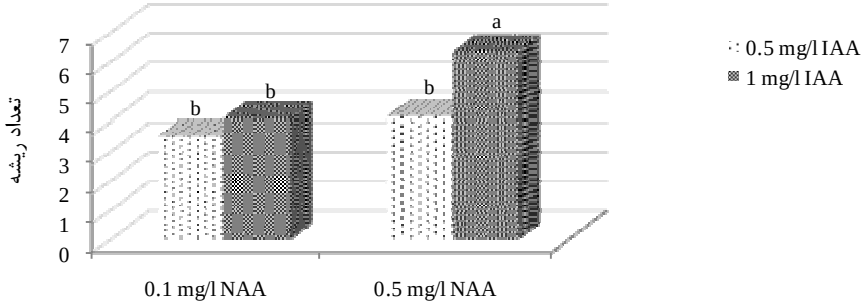
ns، * و **: به ترتیب اثر غیر معنی دار و معنی دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪ است.

جدول ۶- مقایسه میانگین اثرهای متقابل رقم × هورمون NAA و رقم × هورمون IAA

| هورمون | غلظت هورمونی ($mg.l^{-1}$) | ارقام کنجد | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | ناز تک شاخه | یکتا | ورامین | اولتان |
| NAA | ۰/۱ | ۳/۷۱c | ۴/۱۲bc | ۳/۵۲c | ۳/۹۲bc |
| NAA | ۰/۵ | ۴/۸۲bc | ۵/۱۲b | ۴/۵۳bc | ۶/۵۸a |
| IAA | ۰/۵ | ۴/۰۳c | ۳/۸۱c | ۳/۵۲c | ۴/۰۴c |
| IAA | ۱/۰ | ۴/۵۰bc | ۵/۴۴ab | ۴/۵۳bc | ۶/۴۵a |

حروف مشابه نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار بین میانگین هاست (براساس آزمون دانکن).

[ Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-04-27 ]




شکل ۵- اثر متقابل هورمون NAA در هورمون IAA.

دروارت و همکاران (۱۲) اظهار نمودند که برخی مشاهدات در سطوح طبیعی اکسین نشان می دهد که غلظت های پایین این هورمون موجب شروع ریشه زایی، اما غلظت های بالای آن موجب رشد ریشه همراه خواهد شد. به عنوان مثال، ساقه های در حال رشد سیب در شرایط آزمایشگاهی در غلظت کم فنل با القاء ریشه زایی، اما در غلظت بالا با افزایش رشد ریشه همراه است. که با نتایج بدست آمده در این آزمایش مطابقت دارد.

نتایج حاصله می رساند که در بین ارقام مورد آزمایش رقم اولتان جهت کشت درون شیشه ای نسبت به سایر ارقام مناسب تر است. محیط کشت MS نیم قدرت نیز اگر چه در مرحله کالزایی فاقد اختلاف معنی داری با محیط MS بود، ولی در مرحله اندام زایی برتری معنی داری نسبت به این محیط داشت. هورمون 2,4-D در مرحله القای کالوس برای تولید کالوس جنین زا مفید است. اگرچه در مطالعه حاضر غلظت ۳ میلی گرم در لیتر از این هورمون بیشترین درصد کالزایی را نشان داد ولی احتمال مناسب تر بودن غلظت های بالاتر نیز وجود دارد. جهت باززایی ترکیب هورمونی با نسبت ۱: ۰/۱ میلی گرم در لیتر به ترتیب برای هورمون‌های BA و NAA در حضور ۱ میلی گرم در لیتر هورمون Kin مناسب می‌باشد.

## منابع

1. Afshari poor, S. 1993. Basics of plant tissue culture. Research Department of Medical Science University of Esfahan. 351 pp.
2. Ahmad, M.M.M., E. Abdollatef and M.M. Khalafalla. 2008. In vitro multiple shoot induction and plant regeneration in elite sudanese sesame cultivars (*Seasmum indicum L*). American-Eurasian Journal of Sustainable Agriculture, 2(3): 308-314.
3. Anderson, E.J. and J.M. Al-Khayri. 1996. Effect of genotype and media components on callus induction and regeneration of rice. Reserch Series Arkansas Agriculture Expriment Station. 4(53): 222-227.

[ Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-04-27 ]

5. Baskaran, P. and N. Jayabalan. 2006. *In vitro* mass propagation and diverse callus orientation on *(Sesamum indicum* L.) an important oil plant. Journal of Agricultural Technology, 2(2): 259-269.
6. Basu, S., G. Gangopadhayay, B. Baran and S. Gupta. 1997. Plant regeneration of salt adapted callus of indica rice (var. Basmati 370) in saline conditions. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 1(50): 153-159.
7. Brar, G. and R. Ahuja. 1979. Sesame: its culture, genetics, breeding and biochemistry. Annu. Rev. Plant. Sci., 5(3): 285-313.
8. Brar, G.S. 1982. Variations and corre lations in oil content and fatty acid composition of sesame. Indian J. Agric. Sci., 5(2): 27-30.
9. Chakraborti, P. and A.K. Basu. 2006. *In vitro* culture for tolerance to NaCl against callus induction and root-shoot bud formation in sesame. Bangladesh J. genet. Biotechnol., 7(1): 79-82.
10. Charak, S. 1981. Sutrasthan. In: Sharma, P. (Ed.), Charak Samhita Varanasi, vol. 30. Chauk. Orient., India. 241pp.
11. Dixon, R.N. and R.A. Gonzales. 1996. Plant cell culture: A Practical Approach. Oxford University Press. 362 pp.
12. Druart, P., C. Kevers, P. Boxus and T. Gaspar. 1982. *In vitro* promotion of root formation by apple shoots through darkness effect on endogenous phenols and peroxidases. Z. Pflanzenphysiol. 10(8): 429-436.
13. Gangopadhyay, G., R. Poddar and S. Gupta. 1998. Micropropagation of sesame (*Sesamum indicum L.*) by *in vitro* multiple shoots production from nodle explants. Phytomorphology, 4(8): 83-90.
14. George, E.F., M.A. Hall and G.J.D. Klerk. 2008. Plant Propagation bay Tissue Culture. 3rd Edition. Springer. 504 pp.
15. Gertsson, U.E. 1988. Influence of macronutrient composition, TIBA and dark treatment on shoot formation and nitrogen content in petiole explants of *Senecio hybridus*. J. Hortic. Sci., 6(3): 497-502.
16. Gomborg, O.L. and J.P. Shyluk. 1970. The culture of plant cells with ammonium salts as a sole nitrogen source. Plant Physiol. 4(5): 598-600.
17. Health and Welfare Canada. 1990. Nutrition Recommendations. The Report of the Scientific Review committee. Department of Supply and Services, Cat., No. 49- 42/E, Ottawa, ON.
18. Hu, C.Y. and M.H.B. Zanettini. 1995. Embryo culture and embryo rescue for wide cross hybrids, Eds. O.L. Gamborg and G.C. Phillips, Plant Cell, Tissue and Organ Culture, Fundamental Methods, Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York. 1(11): 129-141.
19. Khanna, H.K. and S.K. Raina. 1998. Genotype x culture medium interaction effects on regeneration responses of three *indica* cultivars. Plant cell, Tiss. Org. Cult., 5(2): 145-153.
20. Laurentin, H.E. and P. Karlovsky. 2006. Genetic relationship and diversity in a sesame (*Sesamum indicum L.*) germplasm collection using amplified fragment length polymorphism (AFLP). BMC Genetics, 1(7): 10 pp.

[ Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-04-27 ]

21. Machii, H., H. Mizuno, T. Hrabayashi, H. Li and T. Hagio. 1998. Screening wheat genotypes for high callus induction and regeneration capability from anther and immature embryo culture. Plant Cell, Tiss. Org. Cult., 5(3): 67-74.
22. Margara, J. and M.T. Leydecker. 1978. Differents types dorganogenese observes chez le Colza, *Brassica napus* L. var. *Oleifera* Metzg. Compt. Rend. Acad. Sci., Paris 287D: 17-20.
23. Nayar, N.M. and K.L. Mehra. 1970. Sesame: Its uses; botany, cytogenetics, and origin. Econ. Bot., 2(4):20-31.
24. Ramming, D.W. 1990. The use of embryo culture in fruit breeding. Hort. Science, 25(4): 393-398.
25. Rao, K.R. and K. Vaidyanath. 1998. Somatic embryogenesis and regeneration from different explants of *Sesamum indicum* L. National Symp. Commercial aspects of plant tissue culture, Molecular Biology and Medicinal Plant Biotechnology, Jamia Hamdard, New Delhi. 421 pp.
26. Rao, K.R. and K. Vidyanath. 1997. Induction of multiple shoots from seedling shoot tips of different varieties of Sesamum. Indian J. Plant physiol., 2: 257-261.
27. Saravanan, S. and N. Nadarajan. 2005. Effect of media supplements on *in Vitro* response of sesame (*Sesamum indicum* L) genotypes. Resesarch Journal of Agriculture and Biological Sciences, 1(1): 98-100.
28. Sayed Tabatabaei, B.A. and M. Omidi. 2010. Tissue culture and plant cells. Tehran University publications. 368 pp.
29. Seo, H.Y., Y.J. Kim, T.I. Park, H.S. kim and S.J. Yun. 2007. High-frequency plant regeneration via adventitious shoot formation from deembryonated cotyledon explants of Sesamum indicum L. In vitro Cell. Dev. Boil. Plant, 4(3): 209-214.
30. Seraj, Z.I., A. Islam, M.O. Faruque, T. Devi and S. Ahmad. 1997. Identification of the regeneration potential of embryo derived calli from various indica rice varieties. Plant Cell, Tiss. Org. Cult., 4(8): 9-13.
31. Sharma, M. and L.K. Pareek. 1998. Direct shoot bud differentiation from different explants of *in vitro* regenerated shoots in sesame. J. Phytol. Res., 1(11): 161-163.
32. Skoog, F. and C. Miller. 1957. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissue cultured *in vitri*. Symp. Soc. Exptl. Biol., 10: 118-140.
33. Sontakey, P.Y., W.V. Belsore, R.D. Delotale, S.C. Takzure and S.Z. Wankhede. 1991. Relative influence of growth hormones on growth regulators. Ann. Plant Physiol., 1(3): 188-195.
34. Suja, K.P., A. Jayalakshmy and C. Arumugham. 2004. Free radical scavenging ehavior of antioxidant compounds of sesame (Sesamum inducum L) in DPPH system. J. Agric. Food Chem., 5(2): 912-915.
35. Weiss, E.A. 2000. Oil Seed Crop. Blackwell Science Ltd., UK. 321 pp.
36. Were, B.A., S. Gudu, A.O. Onkware, A.S. Carlsson and M. Welander. 2006. In vitro regeneration of sesame (*Sesamum indicum L.*) from seedling cotyledon and hypocotyl explants. Plant Cell, Tissue and Organ Culture., 8(5): 235-239.
37. Younghee, K. 2001. Effects of BA, NAA, 2,4-D and AgNO treatments on the callus induction and shoot regeneration from ypocotyls and cotyledon of sesame (*Sesamum indicum* L.). J. Korean Soc. Hort. Sci., 4(2): 70-74.

[ Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-04-27 ]

# Effect of Medium Type and Hormonal Compositions on Callus Induction, Plantlet Regeneration and Rooting of Sesame (*Sesamum indicum* L.) Cultivars

**R. Hatami[1], G.A. Ranjbar[2] and S.K. Kazemitabar[2]**

1 and 2- Former M.Sc. Student and Associate Professor of Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University

**Abstract**

In present experiment callus induction and plantlet regeneration of four sesame varieties (Oltan, Yekta, Varamin and Single Branch Naz) have been considered in different environments with different hormone combinations. In order to evaluate callus induction, after surface sterilization of seeds, diploid embryos were isolated and cultured on related media enriched with 1.5, 2, 2.5 and 3 mg $l^{-1}$ 2,4-D supplemented with 0.1 g $l^{-1}$ hydrosylate casein. In current study, comparison of percentage of callus induced showed that the highest callus percentage have been produced by Oltan (91.38%), Single-Branch Naz (90.21%) and yekta (89.30%) varieties, respectively. The poorest callus has induced in Varamin (81.47%) cultivar. Also, for shoot and plantlet regeneration, the callus samples were cultured on MS and half strength MS media supplemented with different concentrations of NAA (0.1, 0.5 and 1.0 mg.$l^{-1}$), BAP (1.0 and 1.5 mg.$l^{-1}$) and kin (1.0 mg.$l^{-1}$). Cultivar Varamin with 25.6% regeneration has demonstrated better result than the other cultivars. the best response was related to half strength MS. Also, the best response was belongs to hormonal Composition of 0.1 mg.$l^{-1}$ NAA and 1.0 mg.$l^{-1}$ BAP. In root induction media that Oltan produced the highest number of roots. Half-strength MS medium has demonstrated better result than MS medium. Also, the best response was belongs to hormonal Composition with 0.5 mg.$l^{-1}$ NAA and 1.0 mg.$l^{-1}$ IAA.

**Keywords:** Sesame, Callus induction, Regeneration, Rooting, Mature embryo culture

[ Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-04-27 ]