دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی

اثرات تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی بر کال‌زایی جوانه انتهایی رقم ناز تک‌شاخه کنجد (*Sesamum indicum* L.)

سینا قنبری[1] و سید کمال کاظمی‌تبار[2]

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، (نویسنده مسوول: sina_qanbari@yahoo.com)
۲- دانشیار، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
تاریخ دریافت: ۹۳/۱۲/۱۲ تاریخ پذیرش: ۹۴/۴/۲۳

چکیده

کنجد (*Sesamum indicum* L.) یکی از گیاهان قدیمی، قرن‌هاست که به دلیل دارا بودن آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی و خواص دارویی فراوان در طب سنتی مورد استفاده قرار می‌گیرد. بذرهای ارقام کنجد از ارزش غذایی زیادی برخوردار بوده و ژنوتیپ‌های مختلف پاسخ های متنوع به کشت جوانه انتهایی نشان می‌دهند. در این آزمایش میزان کال‌زایی و باززایی رقم ناز تک‌شاخه در محیط کشت MS با ترکیبات هورمونی متفاوت و با استفاده از یک آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار بررسی شد. به‌منظور کال‌زایی، هورمون 2,4-D در ۳ سطح و NAA در ۴ سطح اکسین استفاده گردید. در این مطالعه درصد، وزن‌تر و قطر کالوس در ترکیبات هورمونی مختلف مورد ارزیابی قرار گرفتند. بررسی‌ها نشان داد بالاترین درصد کالوس مربوط به هورمون ۰/۴ میلی‌گرم بر لیتر 2,4-D بود. از لحاظ وزن‌تر کالوس، بیشترین مقدار مربوط به ترکیب هورمونی ۰/۲ میلی‌گرم بر لیتر 2,4-D به همراه ۰/۱۶ میلی‌گرم بر لیتر NAA بود. هم‌چنین از لحاظ قطر هم بیشترین مقدار مربوط به ترکیب هورمونی ۰/۲ میلی‌گرم بر لیتر 2,4-D به همراه ۰/۱۲ میلی‌گرم بر لیتر NAA می‌باشد. بر اساس نتایج به دست آمده هورمون کاینتین (kin) تأثیر بسزایی در افزایش درصد باززایی داشت به‌طوریکه بهترین پاسخ مربوط به ترکیب هورمونی ۲ میلی‌گرم بر لیتر کینتین به همراه ۰/۴ میلی‌گرم بر لیتر NAA بود.

واژه‌های کلیدی: جوانه انتهایی، قطرکالوس، کال‌زایی، کنجد

مقدمه

کنجد (*Sesamum indicum* L.) از خانواده پدالیاسه[1] یکی از نباتات قدیمی است (۷). این گیاه محتوای بالایی از روغن خوراکی و پروتئین را داراست (۲۵) و دارای ارقام محلی زیادی بوده و در اغلب کشورها توسط خرده مالک و به صورت سنتی کشت و کار می‌شود (۲۷). بذور کنجد حاوی مواد غذایی زیادی است (۵۰ ٪ روغن و ۲۵ ٪ پروتئین) و به سبب وجود آنتی اکسیدان‌های طبیعی از قبیل سزامین و سزامول به‌طور سنتی برای مصرف مستقیم و به‌صورت منبعی از روغن با کیفیت عالی، استفاده می‌شود (۸). از طرفی دارای ۱۳/۵ درصد کربوهیدرات، ۵/۳ درصد خاکستر و ۵/۲ درصد رطوبت می‌باشد (۲۳). بعد از استخراج روغن، مواد غذایی باقی‌مانده شامل ۳۵ تا ۵۰ درصد پروتئین است که غنی از تریپتوفان و متیونین بوده و به‌صورت غذای طیور مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۰). معمولاً قابلیت تولید کنجد در مقایسه با سایر محصولات روغنی نسبتاً پایین است، زیرا کشت کنجد معمولاً در خاک‌های فقیر و دوره‌های کشت کوتاه انجام می‌شود (۱۵). 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 روی کنجد اندک و کم بوده است (۱۹). اخیراً تکنیک‌های کشت سلولی، برای به‌دست آوردن گونه‌های مفید از قبیل موتانت‌هایی با لیسین بالا، ارقام متحمل به شوری، سمیت آلومینیوم (۱۲) و علف‌کش‌هایی که می‌توانند منبع مفیدی از ژنوتیپ‌های متنوع را ارائه دهند، با موفقیت هرچه بیشتر در حال استفاده‌اند (۱۷). باسکاران و همکاران (۴) طی پژوهشی به بررسی ریز ازدیادی گیاه کنجد از طریق کشت سرشاخه و القای کالوس در محور زیرلپه و روی لپه پرداختند. این محققین از BAP با غلظت‌های ۸/۸۸-۴/۴۴ میلی‌گرم در لیتر و Kin با غلظت ثابت ۴/۶ میکرولیتر و Ads با غلظت ثابت ۲/۷ میکرولیتر استفاده کردند. بیشترین تعداد اندام هوایی ۱۱/۵±۱/۴۱ در محیط شامل Kin با غلظت ۴/۶ و BAP با غلظت ۲۶/۶ میکرولیتر حاصل شد. شاخه‌های تکثیر شده در محیط NAA با غلظت ۸ میکرولیتر ریشه‌دار شدند هورمون‌های 2,4-D و NAA در القای کالوس مؤثرتر عمل کردند. پاسخ بهتر ریزنمونه‌ها به غلظت بالای نمک محیط MS را می‌توان دلیل کال‌زایی بیشتر ریزنمونه‌ها در این محیط دانست (۱۴). نیر و مهرا (۲۱) بیان کردند امکان القاء جنین‌های سوماتیکی مستقیماً از سطح جنین‌های تخم کنجد در محیط کشت وجود دارد. هم‌چنین می‌توان از روش‌های کشت بافت برای آسان

1- Pedaliacea

کردن تلاقی‌های دور استفاده نمود. دو محیط کشتی که اساساً برای کشت‌های ریشه کرکین کنجد استفاده شده‌اند محیط کشت MS (۲۰) و B_5 گامبورگ (۱۳) بودند. هرچند، انتخاب نوع محیط کشت به منابع گیاهی بستگی دارد (۱۸). تشکیل ساختارهای شبه جنین از کالوس مشتق شده از هیپوکوتیل کنجد روی محیط کشت MS مایع یا جامد تکمیل شده با BAP ۱ mgl^{-1} و NAA ۰/۱ mgl^{-1} از سوی جورج و همکارانش گزارش شد (۱۶). ویر و همکاران (۲۸) گزارش کردند که محیط کشت موراشیک اسکوگ تغییر یافته (MS) با محیط کشت N_6 در حضور تیدیازورون (TDZ) به دو برابر شدن فراوانی باززایی ساقه کنجد به‌دست آمده با محیط کشت MS نیم قدرت منجر شد. هم‌چنین جیاماری و جیابالان (۲۲) گزارش کردند که در میان اکسین‌های مختلف تست شده، 2 ,4-D کلروفنوکسی استیک اسید بیش از همه مؤثر بود و بالاترین فراوانی از پاسخ‌دهی کشت‌ها و در هر پاسخ‌دهی کشت‌ها، بالاترین مقدار میانگین از جنین سوماتیکی را در کنجد نتیجه می‌دهد. راجا و همکاران (۲۴) در مطالعه خود روی گیاه کنجد افزایش کال‌زایی را با کاربرد ۰/۴ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D در ریز نمونه جوانه انتهایی و به دنبال آن تولید ساقه و ریشه در محیط باززایی اعلام کردند. در مطالعه حاضر، از دانه‌های رشد نیافته در محیط پایه MS با تیمارهای هورمونی مختلف برای کشت بافت کنجد استفاده شده است و هدف از انجام آن به‌دست آوردن بهترین ترکیب محیط کشت برای کال‌زایی و باززایی گیاه کنجد رقم ناز تک‌شاخه می‌باشد تا بتوان از آن در مطالعات بعدی استفاده کرد.

مواد و روش‌ها

بذرهای رقم ناز تک‌شاخه از طریق قرار دادن در الکل ٪۷۰ به مدت ۴۵ ثانیه ، هیپوکلریت سدیم ٪۵ به مدت ۵ دقیقه و بنومیل ٪۱ به مدت ۱ دقیقه و سپس چندین بار شست‌وشو با آب مقطر استریل، ضدعفونی شدند. این بذرها روی محیط کشت پایه MS[1] (که دارای ۳۰ گرم در لیتر ساکارز و ۸ گرم در لیتر آگار با pH معادل ۵/۸-۵/۶ بوده به‌منظور جوانه‌زنی قرار گرفتند. پس از ۱۸ روز از رشد گیاهچه‌ها در این شرایط، جوانه انتهایی جدا و به قطعه‌های ۵ میلی‌متری تقسیم و در داخل پتری دیش و روی محیط کشت پایه MS حاوی ۳۰ گرم در لیتر ساکارز و ۸ گرم در لیتر آگار با ۳ سطح (۰/۰، ۰/۲ و ۰/۴) میلی‌گرم در لیتر 2,4-D و ۴ سطح (۰/۰، ۰/۰۸، ۰/۱۲ و ۰/۱۶) میلی‌گرم بر لیتر NAA به‌منظور تولید کالوس کشت شدند. این کشت‌ها در شرایط ۸ ساعت روشنایی و ۱۶ ساعت تاریکی و در دمای ۲±۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته و هر دو هفته یک بار واکشت شدند. بعد از یک ماه میزان کال‌زایی بر اساس تولید و یا عدم تولید کالوس‌ها در ریز نمونه‌ها، ارزیابی شدند. پس از تشکیل کالوس، آنها را در شرایط کاملاً استریل روی محیط کشت MS و غلظت‌های متفاوتی از هورمون بنزیل آمینو پورین (BA) (۰/۵، ۱، ۱/۵، ۲ میلی‌گرم بر لیتر) به همراه غلظت ثابت هورمون α- نفتالین استیک اسید (NAA) (۰/۴ میلی‌گرم بر لیتر) و در آزمایش دوم غلظت‌های متفاوتی از هورمون کینتین (Kin) (۰/۵، ۱، ۱/۵، ۲ میلی‌گرم بر لیتر) به همراه غلظت ثابت هورمون α- نفتالین استیک اسید (NAA) (۰/۴ میلی‌گرم بر لیتر) تکمیل شده بود، قرار داده شدند. ترکیبات مختلف بین سطوح این هورمون‌ها در کنار محیط کشت MS که تیمار آزمایش محسوب می‌شود، مورد استفاده قرار گرفتند و در کل ۴ تیمار را در هر آزمایش تشکیل دادند. ضدعفونی با اتوکلاو صورت گرفت pH محیط کشت در دمای ۱۲۱ درجه‌ی سانتی‌گراد در فشار $1/5 kgcm^{-2}$ با استفاده از NaOH یک نرمال بین ۵/۸-۵/۶ تنظیم گردید. ریزنمونه‌ها در شیشه‌های مربا که محتوی محیط کشت باززایی بودند، کشت شدند. درب شیشه‌ها با پارافیلم مسدود شده و در دمای ۲±۲۵ درجه‌ی سانتی‌گراد در دوره‌ی نوری ۱۶-۸ ساعت روشنایی- تاریکی قرار گرفتند. این دو آزمایش به‌صورت طرح کاملاً تصادفی در ۳ تکرار (هر ۳ شیشه کشت بافت ۱ تکرار)، انجام شد. در این آزمایش‌ها سطوح مختلف هورمونی به‌عنوان تیمار در نظر گرفته شد و هورمون NAA با غلظت ثابت ۰/۴ میلی‌گرم بر لیتر به سطوح مختلف هورمونی BA و Kin اضافه شد. زمانی که ضخامت کالوس‌ها به اندازه ۴-۲ میلی‌متر رسید، پتری‌های محتوی این کالوس‌ها را به اتاقک کشت منتقل نموده و کالوس‌ها به وسیله پنس استریل شده به شیشه‌های مربا، محتوی محیط‌های کشت باززایی برای معرفی بهترین ترکیب محیط کشت باززایی انتقال داده شدند. شیشه‌های محتوی کالوس‌های کشت شده در ژرمیناتور، تحت شرایط دمایی ۲±۲۵ درجه سانتی‌گراد و ۸ ساعت تاریکی و ۱۶ ساعت روشنایی و با شدت نور ۳۰۰ لوکس قرار داده شدند. پس از یادداشت‌برداری، داده‌های آزمایشات در نرم‌افزار Excel وارد شدند. تمامی اطلاعات با نرم‌افزار آماری SAS آنالیز شد. آنالیز اطلاعات به‌صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی برای کال‌زایی و در ادامه برای باززایی اجرا و تجزیه آماری گردید. نهایتاً مقایسه میانگین داده‌های تمام آزمایشات بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن صورت گرفت.

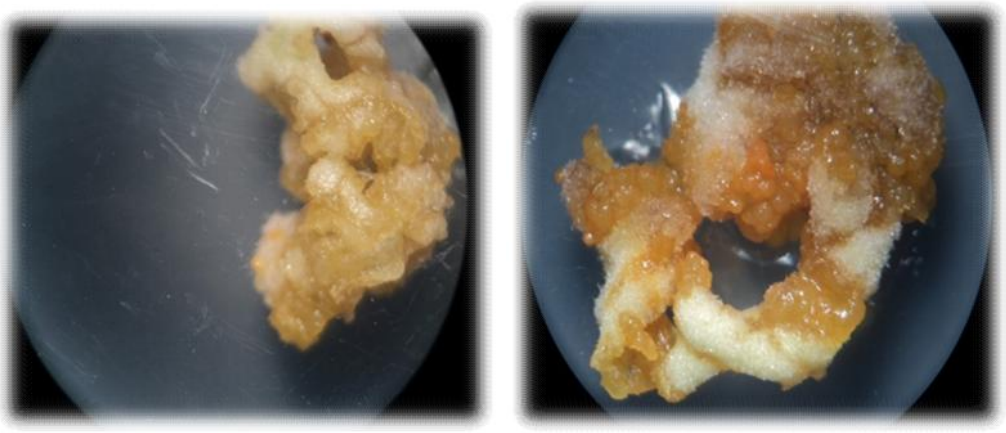
نتایج و بحث

ریزنمونه‌ها بعد از گذشت چند روز در محیط کال‌زایی، به‌تدریج متورم شدند. بعد از ۱۲-۱۱ روز ریزنمونه‌ها شروع به کال‌زایی نمودند. بر اساس نتایج مشاهده شده در هفته دوم در بعضی از نمونه‌ها، کال‌زایی مشاهده گردید و درصد کال‌زایی به‌تدریج افزایش یافت. در پایان روز سی‌ام به‌منظور مقایسه تیمارها، سه فاکتور درصد، وزن و قطر کالوس تشکیل شده در این تیمارها اندازه‌گیری شدند. نتایج نشان داد که در هیچ کدام از ترکیبات مربوط به غلظت‌های مختلف اکسین با سیتوکنین کال‌زایی انجام نشد، هم‌چنین در هیچ یک از سطوح غلظت‌های بالای ترکیب دو اکسین (2,4-D و NAA) هم کالوس تشکیل نشد، اما در سطوح بسیار پایین ترکیب این دو اکسین کال‌زایی اتفاق افتاد. نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان داد که نوع هورمون اثر معنی‌داری در سطح احتمال ۱٪ در تشکیل کالوس نقش داشتند به‌طوری‌که غلظت‌های ۰/۴ و ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر هورمون 2,4-D به‌ترتیب با ۶۰ و ۴۸ درصد کال‌زایی، بیشترین میزان کال‌زایی را نشان دادند (شکل ۱). از طرفی تیمارهای حاوی NAA کمترین میزان کال‌زایی را نشان دادند. نتایج نشان داد که هورمون 2,4-D و NAA در سطوح با غلظت پایین تأثیر معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد در تشکیل کالوس داشتند (شکل ۱). غلظت ترکیبی ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D با ۰/۱۶ میلی‌گرم در لیتر NAA با وزن ۲/۷۰ گرم، بیشترین میزان کال‌زایی را به خود اختصاص داد (نمودار ب). در این بررسی اثر هورمون 2,4-D و NAA در سطوح بالا و هم‌چنین اثر ترکیبی هورمون BA با NAA و 2,4-D هیچ‌گونه کال‌زایی اتفاق نیفتاد. نتایج هم‌چنین نشان داد که هورمون 2,4-D و NAA در سطوح با غلظت پایین تأثیر معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد در تشکیل کالوس داشتند. غلظت ترکیبی ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D با ۰/۱۲ میلی‌گرم در لیتر NAA با قطر ۱۸/۰۸، بیشترین میزان کال‌زایی را به خود اختصاص داد (نمودار الف). در این بررسی اثر هورمون 2,4-D و NAA در سطوح بالا و هم‌چنین اثر ترکیبی هورمون BA با NAA و 2,4-D هیچ‌گونه کالوسی شکل نگرفت.

جدول ۱- تجزیه واریانس حاصل از ترکیب هورمون‌های NAA و 2,4-D روی درصد، وزن و قطر کالوس حاصل از کشت جوانه انتهایی

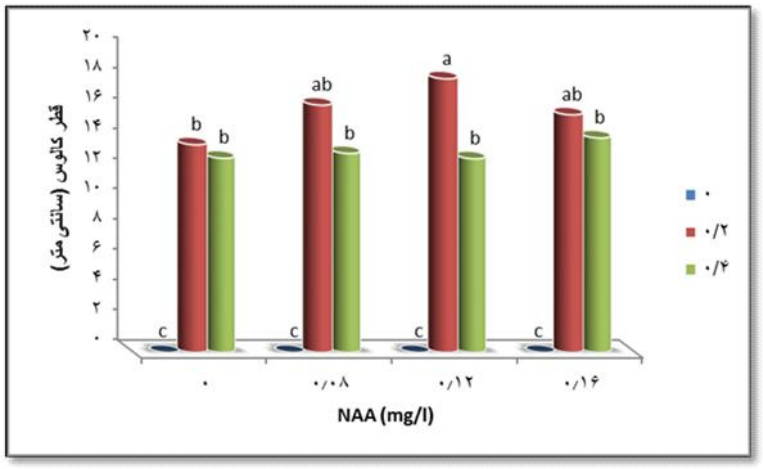
منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات		
		درصد کالوس	وزن کالوس	قطر کالوس
2,4-D	۲	۰/۴۰۵**	۱۸/۳۶**	۸۷۴/۸۰۰**
NAA	۳	۰/۰۸۱**	۰/۳۷۱**	۳/۴۴^{ns}
اثر متقابل NAA در 2 ,4-D	۶	۰/۰۳۴**	۱/۳۴۰**	۳/۷۶^{ns}
اشتباه	۲۴	۰/۰۰۸	۰/۱۰۸	۴/۰۷
ضریب تغییرات (٪)		۸/۷۵	۴/۷۰۷	۲۰/۷۴

** و ns: به‌ترتیب معنی‌دار در سطح ۱٪ و عدم تفاوت معنی‌دار.

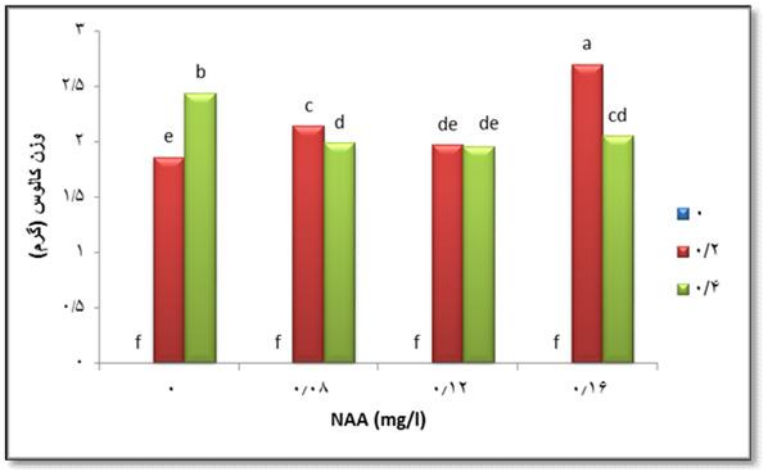


(a) (b)

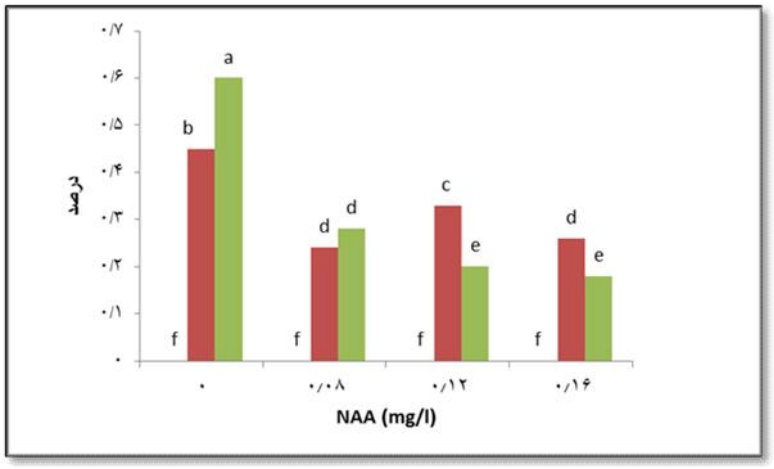
شکل ۱- نمونه‌ای از کالوس‌های ایجاد شده از ریز نمونه جوانه انتهایی، a: کالوس ایجاد شده از تیمار ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر هورمون 2,4-D، b: کالوس ایجاد شده از تیمار ۰/۴ میلی‌گرم در لیتر هورمون 2,4-D.



نمودار الف- اثر متقابل هورمون NAA در 2,4-D (میلی‌گرم در لیتر) روی قطر کالوس



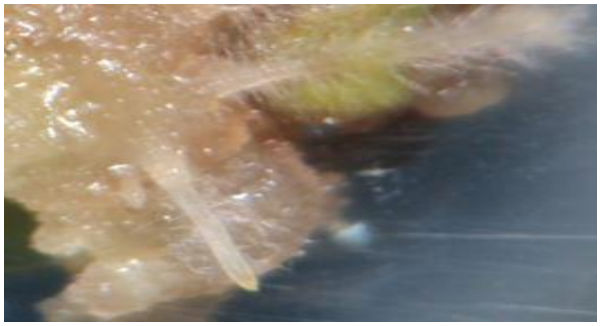
نمودار ب- اثر متقابل هورمون NAA در 2,4-D (میلی‌گرم در لیتر) روی وزن کالوس



نمودار ج- اثر متقابل هورمون NAA در 2,4-D (میلی‌گرم در لیتر) روی درصد کالوس

کالوس‌های تولید شده در این مرحله به رنگ قهوه‌ای روشن تا قهوه‌ای تیره نتیجه داد و در ضمن دارای بافت ترد بودند. کالوس‌های تولید شده پس از انتقال به محیط باززایی که حاوی ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ میلی‌گرم در لیتر Kin و BA به همراه غلظت ثابت ۰/۴ میلی‌گرم در لیتر NAA بود، پس از گذشت یک ماه از ترکیب غلظت‌های مختلف Kin در ترکیب ثابت ۰/۴ میلی‌گرم در لیتر NAA ساقه‌زایی و ریشه‌زایی صورت گرفت اما در هیچ یک از آن‌ها گیاهچه کامل تشکیل نشد (شکل ۲). از ترکیب غلظت‌های مختلف BA با غلظت ثابت ۰/۴ میلی‌گرم در لیتر NAA نیز باززایی صورت نگرفت و فقط تولید ریشه از کالوس‌ها ملاحظه شد (شکل ۳). راجا و همکاران (۱۸) در مطالعه خود روی گیاه کنجد افزایش کال‌زایی را با کاربرد ۰/۴ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D در ریز نمونه جوانه انتهایی و به دنبال آن تولید ساقه و ریشه در محیط باززایی اعلام کردندکه با نتایج به‌دست آمده از این تحقیق مغایرت دارد.

شکل ۲- رشد ریشه و ساقه از غلظت‌های مختلف Kin در غلظت ثابت ۰/۴میلی‌گرم در لیتر NAA.



شکل ۳- تشکیل و رشد ریشه از غلظت‌های مختلف BA در غلظت ثابت ۰/۴ میلی‌گرم در لیتر NAA.

بر اساس بررسی‌های صورت گرفته در این پژوهش اثر هورمون 2,4-D بر وزن و قطر کالوس معنی‌دار بود. با توجه به نتایج ملاحظه می‌شود که با افزایش غلظت این هورمون درصد کال‌زایی کاهش می‌یابد. در مورد وزن و قطر کالوس نیز با کاهش غلظت هورمون 2,4-D، متوسط وزن و قطر افزایش می‌یابد ولی با افزایش غلظت، وزن و قطر کالوس با روند کاهشی روبرو می‌شود. این نتایج با یافته‌های سراج و همکاران (۲۶) که بر نقش اکسین‌ها در کال‌زایی تاکید داشتند، اختلاف دارد. آن‌ها اظهار داشتند که اکسین یکی از مهم‌ترین تنظیم‌کننده‌های رشد برای تمایز مجدد و یا عدم تمایز در گیاهان می‌باشد. گزارش‌هایی هم در رابطه با اثر بازدارندگی از رشد در غلظت بالای 2,4-D وجود دارد (۵،۲). هم‌چنین افشاری‌پور (۱)، بجاج (۶)، دیکسون و گنزالس (۱۱) باقری و صفاری (۳) بیان داشتند که افزایش غلظت هورمون اکسین تا حدی باعث افزایش تشکیل کالوس شده و افزایش آن از یک حد بهینه در محیط کشت اثر ممانعت‌کننده‌ای روی هورمون‌های داخلی ریزنمونه می‌گذارد و باعث کاهش میزان تولید کالوس می شود. پاسخ بهتر ریزنمونه‌ها به غلظت بالای نمک محیط MS را می‌توان دلیل کال‌زایی بیشتر ریزنمونه‌ها در این محیط دانست (۱۴). ولی برخلاف انتظار در این تحقیق استفاده از هورمون BA هیچ‌گونه اندام‌زایی مشاهده نشد و نتیجه‌ای بسیار متفاوت حاصل شد که در سطوح مختلف هورمونی منجر به تولید ریشه شد که اختلاف بسیار زیاد با نتایجی که قبلا گزارش شده بود داشت که می‌توان گفت که احتمالاً میزان اکسین داخلی ارقام ایرانی نسبت به ارقام خارجی در

سطح بالاتری قرار دارد. در بررسی صورت گرفته در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BA به همراه ۰/۴ میلی‌گرم در لیتر NAA بیشترین ریشه‌زایی و هم‌چنین در غلظت دو میلی‌گرم در لیتر Kin به همراه ۰/۴ میلی‌گرم در لیتر NAA بیشترین ریشه‌زایی نتیجه داد. که می تواند بیان‌گر این باشد که افزایش هورمون Kin تا حدی اثرات اکسین داخلی گیاه رو مختل می‌کند و در نتیجه ریشه‌زایی بیشتری صورت گرفته، در حالی که هورمون BA اثر قوی‌تری نسبت Kin داشته و در غلظت کم توانسته اثرات اکسین داخلی را کم کند و به همراه ترکیب NAA به ریشه‌زایی منجر گردد.

منابع

1. Afsharipour, S. 1993. Introduction of Plant Tissue Culture. Department of medical science, Isfahan, 427 pp (In Persian).
2. Anderson, E.J. and J.M. Al-Khayri. 1996. Effect of genotype and media components on callus induction and regeneration of rice. Research Series Arkansas Agriculture Experiment Station, 453: 222-227.
3. Bagheri, A. and M. Safari. 2004. Introduction of Plant Tissue Culture. Ferdowsi University of Mashhad, 406 pp (In Persian).
4. Baskaran, P. and N. Jayabalan. 2005. Role of basal media, carbon sources and growth regulators in micro-propagation of *Ecliptaalba*-a valuable medicinal herb. Kmitl Science Journal, 5: 469-482.
5. 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, Tissue and Organ Culture, 50: 153-159.
6. Bajaj, Y.P.S. 1991. Biotechnology in Agriculture and Forest. 14: Rice. Springer, Verlag. Germany, 458 pp.
7. Bedigian, D. and J. Harlan. 1986. Evidence for cultivation on sesame in the ancient world. Economic Botany, 40: 137-154.
8. Brar, G. and A. Huja. 1979. Sesame: its culture, genetics, breeding and biochemistry. Annual Review of Plant Science, 285-313.
9. Bridgen, M.P. 1994. A review of plant embryo culture. Horticultural Science, 29: 1243-1246.
10. Choi, A.H., S.B. Lee, S.H. Cho, I. Hwang, C.G. Hur and M.C. Suh. 2008. Isolation and characterization of multiple abundant lipid transfer protein isoforms in developing sesame (*Sesamumindicum* L.) seeds. Plant Physiology and Biochemistry, 46: 127-119.
11. Dixon, R.N. and R.A. Gonzales. 1996. Plant Cell Culture: A Practical Approach. Oxford University Press, 278 pp.
12. Furlant, P.R. and R.B. Clark. 1981. Screening sorghum for aluminium tolerance in nutrient solution. Agronomy Journal, 73: 587-594.
13. Gamborg, O.L., R.A. Miller and K. Ojima. 1968. Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. Experimental Cell Research, 50: 8-151.
14. George, E.F., M.A. Hall and G.J.D. Klerk. 2008. Plant Propagation by Tissue Culture. 3rd Edition. Springer, 504 pp.
15. George, L., V.A. Bapat and P.S. Rao. 1987. In vitro multiplication of sesame (*Sesamum indicum* L.) Through tissue culture. Annals of Botany, 60: 17-21.
16. George, E.F., M.A. Bapat and P.S. Rao. 1989. Plant regeneration *in vitro* in different cultivars of sesame (*Sesamum indicum* L.). Proceeding of Indian Academy Science, 99: 135-137.
17. Haughn, G.W. and C. Somerville. 1986. Sulfonylurea-resistant mutants of Arabidopsis Thaliana. Molecular Genetics and Genomics, 204: 430-434.
18. Kim, Y.J., B.E. Wyslouzil and P.J. Weathers. 2002. Secondary metabolism of hairy root cultures in bioreactors. *In Vitro* Cellular and Developmental Biology, 38: 1-10.
19. 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, 7: 1-10.
20. Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. Phisiolplanta, 15: 97-473.
21. Nayar, N.M. and K.L. Mehra. 1970. Sesame: Its user; botany, cytogenetics and origin. Economic Botany, 24: 20-31.
22. Jeyamary, R. and N. Jayabalom. 1997. Influence of growth regulators on somatic embryogenesis in sesame. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 49: 67-70.
23. Johnson, L.A., T.M. Suleiman and E.W. Lucas. 1979. Sesame protein: a review and prospects. Journal of the American Oil Chemists' Society, 56: 463.
24. Raja, A. and N. Jyabalan. 2010. Callus induction and plantlet regeneration from leaf explants of sesame (CV. SVPR–1), The Journal of Swamy Botanical Club, 27: 93-98.
25. Salunkhe, D.K., J.K. Chavan, R.N. Adsule and S.S. Kadam. 1991. Sesame: in world oil seeds. History, 12-Technology and Utilization in New York. Van Nostrand Reinhold, 371: 402 pp.
26. 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, Tissue and Organ Culture, 48: 9-13.
27. Weise, E.A. 2000. Oilseed Crops. Blackwell Science Ltd., Osney Mead. Oxford, 364 pp.
28. Were, B.A.S., A.O. Guda, A.S. Onkwere Carlsson and M. Welandre. 2006. *In vitro* regeneration of sesame (*Sesamum indicum* L.) from seeding cotyledon and hypocotyl explants. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 85: 235-239.

Effects of Plant Growth Regulators on Callus Induction via Shoot Bud Meristems of Single Branch NazCultivar of Sesame (*Sesamumindicum* L.)

Sina Ghanbari[1] and Seyyed Kamal Kazemitabar[2]

1- Graduated M.Sc., Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University
(Corresponding author: sina_qanbari@yahoo.com)
2- Associate Professor, Sari Agriculture Sciences and Natural Resources University
Received: March 3, 2015 Accepted: July 14, 2015

Abstract

Sesame (*Sesamumindicum* L.) as an ancient plant has traditionally used for centuries as a medicinal plant due to its natural antioxidants and plenty of medicinal properties. Seeds from different cultivars of sesame have various nutritional values and different genotypes showing different response to mature shoot buds meristems. In present experiment callus induction and plant regeneration of sesame cultivar (Single Branch Naz) have been considered using different hormonal combinations in a factorial experiment based on completely randomized design with three replicates. In order to evaluate callus induction, 2,4-D in three levels and NAA in four levels were used as auxinsources. In current study, percentage, fresh weight and diameter of induced callus were compared. Results in different environments showed that the highest percentage of callus was obtained using 0.4 mgl^{-1} 2,4-D hormone. Also, in terms of fresh callus weight maximum result was belong to combination of 0.2 mgl^{-1} 2,4-D and 0.16 mgl^{-1}NAA hormones. Furthermore, in callus diameters the highest amount was allocated to combination 0.2 mgl^{-1} 2,4-D and 0.12 mgl^{-1} hormones. However, kinetin played a significant role in increasing the percentage of regeneration, so that. The best response was belonged to combination 2 mgl^{-1} Kin and 0.4 mgl^{-1} NAA hormones.

Keywords: Apical Meristems, Callus Induction, Callus Diameter, Sesame