دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی

"مقاله پژوهشی"

تاثیر ریزنمونه، نوع و غلظت تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی بر کال‌زایی و باززایی دو رقم کنجد (*Sesamum indicum* L.) ایرانی

نوشین فلاحی[۱]، زهرا طهماسبی[۲] و علیرضا زبرجدی[۳]

۱- دانشجوی دکتری اصلاح نباتات، مهندسی ژنتیک و ژنتیک مولکولی، دانشگاه ایلام
۲- دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، (نویسنده مسوول: z.tahmasebi@ilam.ac.ir)
۳- استاد گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی دانشکده کشاورزی، دانشگاه رازی، کرمانشاه
تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۴/۲۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۸/۱۱
صفحه: ۲۰۵ تا ۲۱۴

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: کنجد یک گیاه دانه روغنی قدیمی است که به دلیل داشتن لیگنان‌های مهم دارویی و همچنین روغن خوراکی با کیفیت شهرت دارد. در اکثر موارد بهینه‌سازی کشت بافت به منظور دست یافتن به میزان بالایی از باززایی، اولین گام برای انتقال ژن است. کنجد نسبت به کشت بافت بسیار سرسخت بوده و استفاده از روش‌های بیوتکنولوژی جدید برای بهبود ژنتیکی آن محدود شده است. بنابراین کنجد یکی از گیاهانی است که برای کشت بافت و باززایی موثر به پروتکل مناسب نیاز دارد.

مواد و روش‌ها: در ایـن پـژوهش میزان کالوس زایی و باززایی مستقیم سه ریز نمونه (کوتیلدون۱، کوتیلدون۲ و هیپوکتیل) دو رقم کنجد (دشتستان و داراب) در تنظیم‌کننده‌های رشدی متفاوت شامل BAP در پنج سطح (صفر، ۴/۵، ۵/۵، ۶/۵ و ۷/۵ میلی‌گرم در لیتر)، IAA در ۴ سطح (صفر، ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌گرم در لیتر) و Agno3 در غلظت ۵ میلی‌گرم در لیتر مورد بررسی قرار گرفت. شاخساره‌ها در محیط ریشه زایی کشت شدند. طرح آزمایشی مورد استفاده در این پژوهش، به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا" تصادفی و در سه تکرار بود.

یافته‌ها: طبق نتایج بدست آمده باززایی در ریزنمونه هیپوکتیل و کالوس زایی در ریزنمونه کوتیلدون ۱ و کوتیلدون۲ در هیچ یک از ژنوتیپ‌ها مشاهده نشد. نتایج نشان داد برای صفت وزن تر کالوس تیمار ۵/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP با ۱ میلی‌گرم در لیتر IAA، صفت وزن خشک کالوس تیمار ۶/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP با ۱ میلی‌گرم در لیتر IAA رقم دشتستان، صفت قطر کالوس تیمار ۵/۵ و ۶/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP با ۱ میلی‌گرم در لیتر IAA رقم دشتستان و صفت کالوس زایی تیمار ۵/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP با ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم در لیتر IAA رقم دشتستان دارای مقادیر بالاتر بودند.

نتیجه‌گیری: بیشترین میزان باززایی در ریزنمونه کوتیلدون ۱ با ۶/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۱ میلی‌گرم در لیتر IAA رخ داد. در نهایت، این محیط به عنوان یک محیط کارآمد برای باززایی این ارقام کنجد توصیه شد. پس از گذشت ۱۵ روز، تمامی شاخساره‌ها ریشه دادند و گیاهچه‌ها به گلدانی با بستر پرلیت و کوکوپیت منتقل شدند.

واژه‌های کلیدی: کالوس، کشت بافت، کوتیلدون، هیپوکتیل، BAP، IAA

مقدمه

کنجد (*Sesamum indicum* L.) به دلیل داشتن روغن بسیار مغذی برای مصرف انسان، اغلب به عنوان ملکه دانه‌های روغنی خوانده می‌شود. از این گیاه روغنی اغلب برای مصارف تغذیه‌ای، دارویی و صنعتی استفاده می‌گردد. کنجد گیاهی یکساله، خودگرده افشان و متعلق به خانواده پدالیاسه است (۸). دانه کنجد دارای پنجاه درصد روغن، بیست و پنج درصد پروتئین (۲۲) و غنی از مواد معدنی نظیر کلسیم، فسفر و ویتامینE میباشد (۱۲). روغن کنجد به خاطر دارا بودن آنتی اکسیدان‌های قابل حل در چربی نظیر سسامول، سامولین و سسامینول نقش بسزایی در تأمین سلامتی بشر ایفا می‌کند (۲۲،۱۹). اثرات مفید کنجد روی سلامتی اخیرا توجه انسان‌ها را به این گیاه زراعی باستانی بیشتر کرده است. با این وجود تحقیقات بر روی این گیاه پراهمیت و تاریخی اندک بوده است (۱۳).

مزایای فراوان استفاده از بیوتکنولوژی پیشرفته کشاورزی در بهبود ژنتیکی کنجد هنوز به طور جدی در ایران محقق نشده است. به همین دلیل تهیه یک دستورالعمل ریزازدیادی کارآمد می‌تواند از پرورش این محصول روغنی مهم پشتیبانی کند. باززایی کنجد بسیار سخت است به همین دلیل در طی دو دهه گذشته تلاش‌های بسیاری برای باززایی آزمایشگاهی در گیاه کنجد انجام شده است. تا کنون باززایی گیاه از گره، برگ، کوتیلدون گزارش شده ولی درصد باززایی آن بسیار اندک بوده است (۲۵،۲۳،۱۷).

باسکرنا و همکاران (۴) با استفاده از BAP[1] وNAA[2] موفق به القای کالوس در هیپوکتیل و ریز ازدیادی گیاه کنجد از طریق کشت سرشاخه شدند.

ساروانان و نادراجان (۱۷) ظهار داشتند که ژنوتیپ‌های کنجد به غلظت‌های مختلف IAA[3]، BA[4] و Kin[5] به باززایی پاسخ مثبت نشان دادند. آنها بالاترین نسبت باززایی را ۱/۲۵:۱/۵:۱ میلی‌گرم در لیتر بترتیب برای تنظیم‌کننده‌های رشدی IAA ، Kin و BA مشاهده کردند.

از آنجا که عملکرد کنجد در مقایسه با سایر محصولات دانه روغنی بسیار کم است، افزایش عملکرد و کیفیت روغن این محصول اهمیت بسیار زیادی دارد. محدودیت اصلی در زمینه دستیابی به این هدف اطلاعات ناکافی در مورد باززایی این گیاه است که منجر به عدم دستیابی به گیاهان تراریخته پایدار با استفاده از روش انتقال ژن به وسیله آگروباکتریوم می‌شود. با توجه به اینکه ثابت شده است که میزان باززایی در این گیاه به شدت متاثر از نوع ژنوتیپ است (۱) قطعا استفاده از روش‌های پژوهشی کشورهای دیگر نمی‌تواند روشی مطمئن برای دستیابی به باززایی حداکثری در ارقام ایرانی باشد. بنابراین هدف از انجام این پژوهش رسیدن به روشی برای دستیابی به درصد بالایی از باززایی ارقام کنجد ایرانی است که

1- Benzyl amino purine
2- Naphthalene acetic acid
3- Indole-3-acetic acid
4- Benzyl adenine
5- Kinetin

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-12-15]
[DOI: 10.52547/jcb.14.41.205]

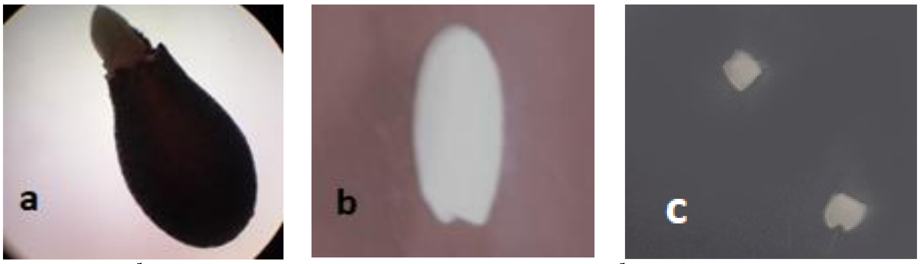
با استفاده از آن و به کمک روش‌های نوین بیوتکنولوژی، بتوان کیفیت روغن این گیاه را در بهبود بخشید.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در آزمایشگاه کشت بافت دانشگاه رازی به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی در ۳ تکرار اجرا شد. عامل‌ها شامل دو رقم بذر کنجد (داراب و دشتستان که از موسسه تحقیقات و اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج تهیه شد)، سه ریزنمونه (کوتیلدون۱، کوتیلدون۲ و هیپوکتیل)، BAP با غلظت‌های (صفر، ۴/۵، ۵/۵، ۶/۵و ۷/۵ میلی‌گرم در لیتر) IAA با غلظت‌های (صفر، ۰/۵، ۱، ۲ میلی‌گرم در لیتر) و AGNO3[1] در تمامی ترکیبات تنظیم کننده‌های رشدی با غلظت ثابت ۵ میلی‌گرم در لیتر بود. برای ریشه‌دار کردن گیاهان باززا شده نیز از محیط کشت MS با یک میلی‌گرم IAA استفاده شد.

در ابتدا بذور سالم انتخاب و به مدت ۲۴ ساعت با آب خیس شدند. در ادامه در زیر هود لامینار بوسیله آب مقطر شستشو و در الکل ۷۰ درصد به مدت ۲ دقیقه ضدعفونی گشتند. بعد از سه مرحله شستشوی ۵ دقیقه‌ای بذرها به مدت ۲۰ دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم ۲ درصد قرار گرفتند و سه مرتبه به مدت ۵ دقیقه با آب مقطر استریل مورد شستشو قرار گرفتند. بعد از این مرحله بذرها به دو قسمت تقسیم شدند

قسمت اول: پوشش و جنین بذرها توسط پنس و تیغ اسکالپل حذف و دو لپه بذور جدا گشتند (این کار به دقت بسیار زیادی نیاز دارند به طوری که نباید لپه‌ها آسیب ببینند). ریزنمونه‌های حاصل کوتیلدون۱ نام‌گذاری شدند. سپس لپه‌ها در محیط کشت حاوی ترکیباتی از تنظیم‌کننده‌های رشدی تعیین شده قرار گرفتند (شکل ۱).



شکل۱– a: بذر خیس شده در آب به مدت ۲۴ ساعت b: نحوه صحیح جدا کردن لپه c: لپه آسیب دیده

Figure 1- a: Seeds soaked in water for 24 hours b: How to properly separate the cotyledons c: Damaged cotyledons

قسمت دوم: بذرها در محیط آب و آگار کشت شدند و بعد از مدت ۷ روز از هیپوکتیل (با اندازه نیم سانتی‌متر) و کوتیلدون بذرهای سبز شده به عنوان ریزنمونه استفاده گردید. کوتیلدون حاصل از این قسمت کوتیلدون۲ نام‌گذاری شد. سپس ریزنمونه‌ها در محیط کشت حاوی غلظت‌های متفاوتی از تنظیم کننده‌های رشد تعیین شده قرار داده شدند.

در این تحقیق از محیط کشت پایه MS به همراه ۳۰ گرم در لیتر ساکارز و ۷ گرم در لیتر آگار به عنوان عامل منعقدکننده استفاده شد. محیط‌های کشت شده در شرایط بهینه با درجه حرارت ۲± ۲۵ درجه سانتی‌گراد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی نگه داری شدند. هر دو هفته یک بار ریزنمونه‌ها در محیط کشت تازه، واکشت گردیدند.

صفات مورد بررسی در این تحقیق شامل وزن تر کالوس، وزن خشک کالوس، قطر کالوس، درصد کالوس زایی و درصد باززایی بود.

بررسی نرمال بودن و تجزیه‌های آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار Minitab19 و SPSS 26 انجام شد. همچنین جهت رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel 2019 استفاده گشت.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که در ریزنمونه‌های کوتیلدون۱ و کوتیلدون۲ هیچ گونه کالوس زایی مشاهده نشد. بعد از گذشت دو تا سه هفته از قرار دادن ریزنمونه هیپوکتیل در محیط کشت انتخابی کالوس ها مشاهده شدند.

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که در تمامی صفات اندازه‌گیری شده کالوس، اثرات اصلی BAP و IAA در سطح یک درصد معنی‌دار شدند. نتایج حاکی از آن بود که در صفت وزن تر اثر متقابل دو عامل رقم در BAP و همچنین IAA در BAP در سطح یک درصد معنی‌دار شد. اثر متقابل سه عامل رقم در IAA درBAP برای صفات وزن خشک کالوس، قطر کالوس در سطح یک درصد و برای صفت درصد کال زایی در سطح ۵ درصد معنی‌دار شد (جدول ۱).

یک دستورالعمل کشت بافت کارآمد پیش شرط اساسی برای تغییرات ژنتیکی و همچنین القای جهش در شرایط آزمایشگاهی در گیاهان زراعی است. برخی محققین گزارش کردند که کنجد یک گونه سرسخت برای باززا شدن در شرایط آزمایشگاهی و تغییرات ژنتیکی است (۲۴،۱۹).

ملقان و همکاران (۱۲) گزارش دادند که سیتوکینین‌های (BAP, Kin, ZEA) اضافه شده به محیط رشد به تنهایی نمی‌توانند موجب پاسخ مناسبی به کالوس زایی شوند ولی با ترکیب اکسین رشد و تولید کالوس‌ها به طور قابل توجهی افزایش می‌یابند. قنبری و کاظمی تبار (۷) نیز اعلام کردند که هورمون BA هیچگونه نقشی در اندام زایی کالوس‌ها ندارد.

وجود اثرات متقابل آماری معنی‌دار بین ژنوتیپ و تنظیم‌کننده‌های رشد برای ریز نمونه هیپوکتیل، در گیاه کنجد به اثبات رسیده است (۱۴).

1- Silver nitrate

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-12-15]
[DOI: 10.52547/jcb.14.41.205]

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر رقم، BAP و IAA بر صفات مختلف کالوس در گیاه کنجد
Table 1. Analysis of variance of the cultivar, BAP, IAA effects on different Callus traits in Sesame

منبع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		وزن تر	وزن خشک	قطر	درصد کالوس‌زایی
رقم	۱	۰/۰۱۱^{ns}	۰/۰۱۲^{ns}	۲۵/۸۸^{ns}	۱/۴۷^{ns}
BAP	۴	۰/۵۱۵**	۰/۰۵۲*	۵۵۷/۳**	۶۴/۳۳**
IAA	۳	۰/۰۸۴*	۰/۰۷۴**	۲۴۴/۷۷**	۱۲/۹۸**
رقم× BAP	۴	۰/۵۷۷**	۰/۰۸۲**	۶۶۷/۸۶**	۶۳/۴۵**
رقم × IAA	۳	۰/۰۳۳^{ns}	۰/۰۱۱^{ns}	۲۵/۳۴^{ns}	۴/۵۶^{ns}
IAA× BAP	۱۲	۰/۰۸۰**	۰/۰۳۶*	۷۱/۹۶**	۵/۸۵*
رقم × IAA× BAP	۱۲	۰/۰۴۱^{ns}	۰/۰۴۰**	۳۴/۲۸**	۶/۳۰*
خطای آزمایشی	۸۰	۰/۰۲۷	۰/۰۱۶	۱۳/۴	۲/۷۰
ضریب تغیرات (درصد)		۱۱/۷۳	۹/۳	۳/۴	۲۹/۷

**، * و ns: به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد و غیرمعنی‌دار

در این پژوهش هیچکدام از کالوس‌های ایجاد شده از ریزنمونه هیپوکتیل تولید شاخساره و ریشه‌زایی نداشتند که نتیجه با تحقیقات سئو و همکاران (۱۹) که اعلام کردند در هیچ یک از کالوس‌های حاصل از هیپوکتیل ساقه‌زایی و ریشه زایی مشاهده نشد مطابقت داشت.

نتایج جدول تجزیه واریانس برای صفت درصد باززایی مستقیم نشان داد که اثرات اصلی ریزنمونه، رقم و BAP در سطح یک درصد معنی‌دار شدند. نتایج نشان‌دهنده این بود که برای دو ریزنمونه کوتیلدون۱ و کوتیلدون۲ بین اثر متقابل سه گانه ریزنمونه در رقم در BAP، ریزنمونه در رقم در IAA و همچنین ریزنمونه در IAA در BAP تفاوت معنی‌داری در سطح ۱ درصد وجود دارد (جدول ۲).

باززایی مستقیم گیاهان روشی سریع و به صرفه در وقت، برای بدست آوردن گیاهان است (۲۶).

تاکنون هیچ گزارشی درباره باززایی مستقیم از ریزنمونه هیپوکتیل در گیاه کنجد ارائه نشده است. گزارشاتی وجود دارد که فقط ریزنمونه‌های لپه به باززایی مستقیم و ارگانزایی پاسخ می‌دهند (۴).

یونقی (۲۵) اعلام کرد که موفقیت قابل توجهی برای باززایی گیاه این گیاه از طریق جنین‌زایی سوماتیکی با استفاده از هیپوکتیل یا لپه به عنوان ریزنمونه حاصل نشده است.

در چندین مطالعه انجام شده تایید شده که موثرترین سیتوکینین، برای تحریک القای شاخه در گیاه کنجد، BAP است (۲۴،۲۳،۴).

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر نوع ریزنمونه، رقم، BAP و IAA بر صفت درصد باززایی در گیاه کنجد
Table 2. Analysis of variance in effects of explants type, cultivar, BAP and IAA on regeneration in Sesame cultivars

منبع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات
ریزنمونه	۱	۵۲۲/۱۱**
رقم	۱	۲۲/۰۷**
BAP	۴	۱۰۸/۸۵**
IAA	۳	۰۰/۰۵^{ns}
ریزنمونه× رقم	۱	۱۴/۱۲**
ریزنمونه× BAP	۴	۱۱۶/۵۷**
ریزنمونه× IAA	۳	۲۳/۵۳**
رقم× BAP	۴	۸/۹۲**
رقم × IAA	۳	۲/۲۹^{ns}
IAA× BAP	۱۲	۴/۲۸**
ریزنمونه× رقم× BAP	۴	۷/۷۵**
ریزنمونه× رقم× IAA	۳	۱۲/۵۸**
ریزنمونه× IAA× BAP	۱۲	۴/۲۱**
رقم × IAA× BAP	۱۲	۲/۶۴^{ns}
ریزنمونه× رقم × IAA× BAP	۱۲	۲/۴۱^{ns}
خطای آزمایشی	۱۶۰	۱/۷۵
ضریب تغیرات(درصد)		۲۱/۹

**، * و ns: به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد و غیرمعنی‌دار

محققن اظهار داشتند که محیط کشت MS نسبت به ½MS محیط مناسب‌تری برای کالوس زایی در گیاه کنجد است (۱۰،۱۱). کالوس‌زایی موفقیت‌آمیز اساسی‌ترین مرحله در باززایی غیرمستقیم است که در آن باززایی ساقه بعد از القای کالوس اتفاق می افتد. ریزنمونه‌های پرکاربردی برای کالوس‌زایی در گیاهان وجود دارد که از جمله آن میتوان به هیپوکتیل‌ها، محور زیر لپه، بافت‌های لپه‌ای، ریشه‌ها و غیره اشاره کرد (۱۷).

ساویتا و همکاران (۱۸) اظهار داشتند که ریزنمونه هیپوکتیل بهترین ریزنمونه برای کال زایی در گیاه کنجد است. همچنین آنها اعلام کردند که القای تمایز در کالوس‌های ایجاد شده در ریزنمونه هیپوکتیل موفق نبود.

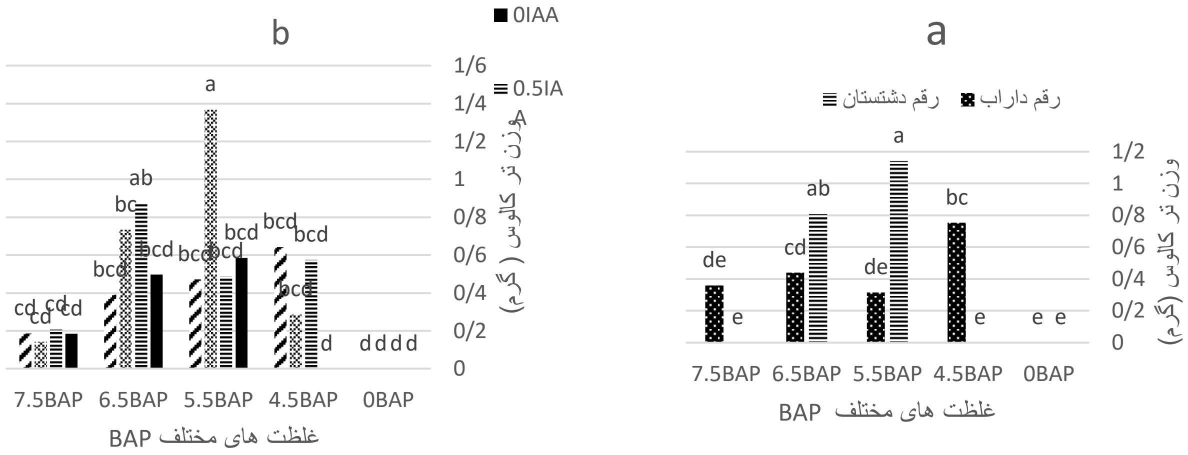
[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-12-15]

[DOI: 10.52547/jcb.14.41.205]

نتایج حاصل از مقایسه میانگین اثر متقابل رقم در BAP برای صفت وزن تر کالوس حاصل از ریزنمونه هیپوکتیل نشان داد که بالاترین مقدار (۱/۱۴g) متعلق به غلظت ۵/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP برای رقم دشتستان است (شکل a-۲) و همچنین رتبه‌بندی a (۱/۳۶ گرم) برای اثر متقابل IAA در BAP برای صفت وزن تر کالوس به‌۵/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP در ۱ میلی‌گرم IAA متعلق است (شکل ۲b). بالاترین میزان وزن خشک کالوس (۰/۵۴ گرم) متعلق به تیمار ۶/۵ میلی‌گرم BAP در ۱ میلی‌گرم در لیتر IAA رقم دشتستان بود (شکل ۳). مقایسه میانگین اثر متقابل BAP در IAA در رقم نمایانگر این بود که بالاترین میزان قطر کالوس با رتبه‌بندی a (۵۷۷ و ۶۲۰ میلی‌متر) متعلق به غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر IAA درغلظت‌های تیمار ۶/۵ و ۵/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP است که هر دو متعلق به رقم دشتستان بودند (شکل ۴). همچنین بیشترین میزان برای صفت درصد کالوس زایی (۴۹ و ۵۰ درصد) در تیمار۵/۵ میلی‌گرم BAP در غلظت‌های ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم در لیتر IAA، رقم دشتستان مشاهده شد (شکل ۵ و ۶).

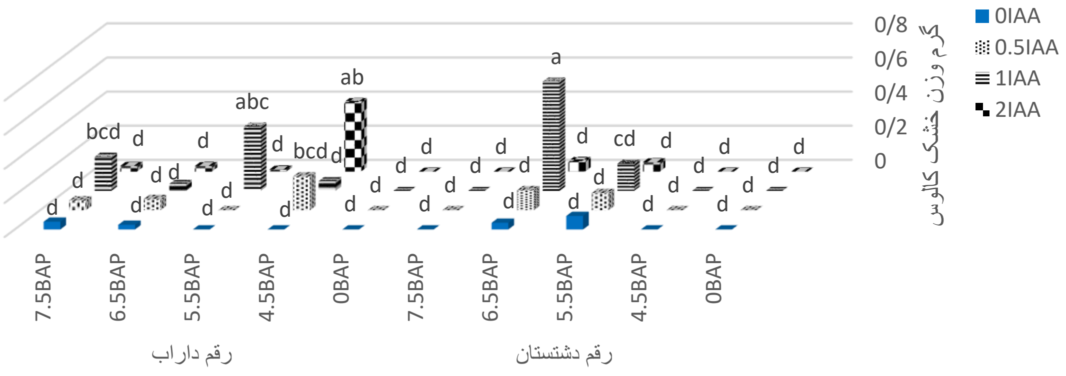
غلظت‌های بالاتر سیتوکینین‌ها در ترکیب با اکسین تأثیر مهمی بر پاسخ کالوس داشته‌اند (۲۳،۵).

رائو و همکاران (۱۶) نیز هیپوکتیل را بهترین ریزنمونه برای القا کالوس معرفی کردند. آنها اعلام کردند که القای کالوس در گیاه کنجد برای ریزنمونه هیپوکتیل کشت شده در محیط کشت پایه MS حاوی غلظت‌های مختلف اکسین (NAA ،IAA ،2,4-D) و سیتوکنین (BAP و Kin) امکان‌پذیر است. همچنین آنها اظهار داشتند از بین غلظت‌های مورد استفاده بهترین فراوانی برای القاء کالوس (۹۲ درصد) در ریز نمونه هیپوکتیل در غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر BAP به همراه ۱ میلی‌گرم در لیتر IAA رخ داده است. همچنین حیدری فر و همکاران (۱۱) اعلام کردند که در گیاه کنجد غلظت‌های متفاوتی از BAP و NAA در ریزنمونه هیپوکتیل باعث القای کالوس می‌گردد.



شکل ۲- a: مقایسه میانگین رقم در غلظت‌های متفاوت BAP برای صفت وزن تر کالوس در گیاه کنجد b: نمودار مقایسه میانگین غلظت‌های متفاوت IAA در BAP برای صفت وزن خشک کالوس در گیاه کنجد

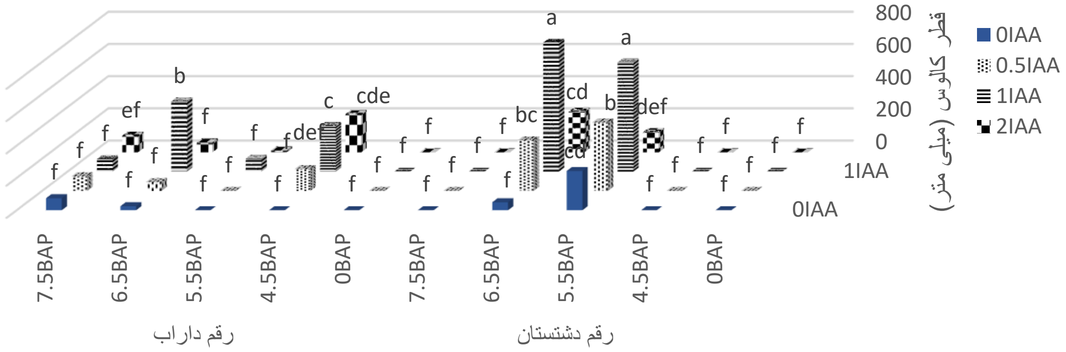
Figure 2. a: Mean comparison cultivars in different concentrations of BAP for callus wet weight in Sesame b: Mean comparison chart different concentrations of BAP and IAA for callus dry weight in Sesame



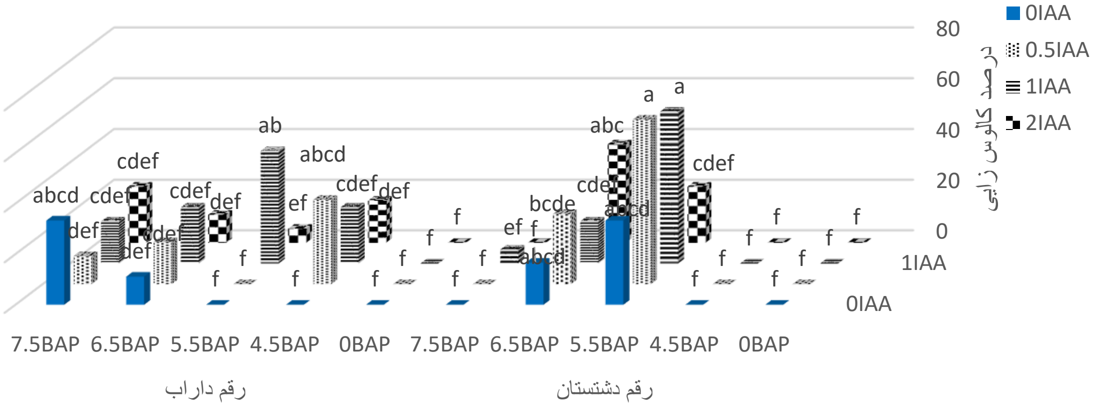
شکل ۳- مقایسه میانگین غلظت های متفاوت IAA در BAP در رقم برای صفت وزن خشک کالوس در گیاه کنجد

Figure 3. Mean comparison different concentrations of BAP and IAA in Cultivars for callus dry weight in Sesame

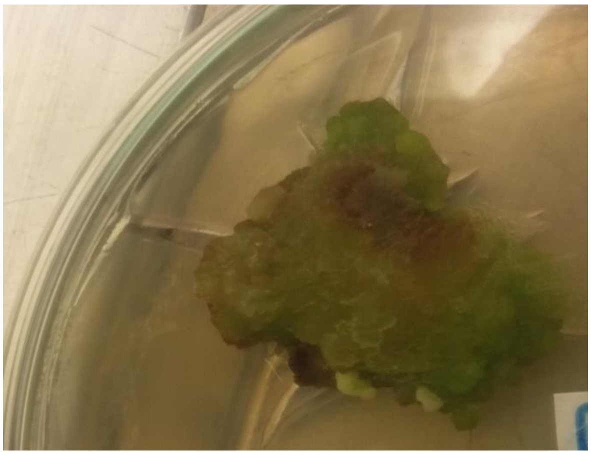
[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-12-15]
[DOI: 10.52547/jcb.14.41.205]



شکل ۴- مقایسه میانگین رقم در غلظت‌های متفاوت BAP در IAA برای صفت قطر کالوس در گیاه کنجد
Figure 4. Mean comparison cultivars in different concentrations of BAP and IAA for Callus diameter in Sesame



شکل ۵- مقایسه میانگین رقم در غلظت‌های متفاوت BAP در IAA برای صفت درصد کالوس زایی در گیاه کنجد
Figure 5. Mean comparison Cultivars in different concentrations of BAP and IAA for Callus induction in sesame



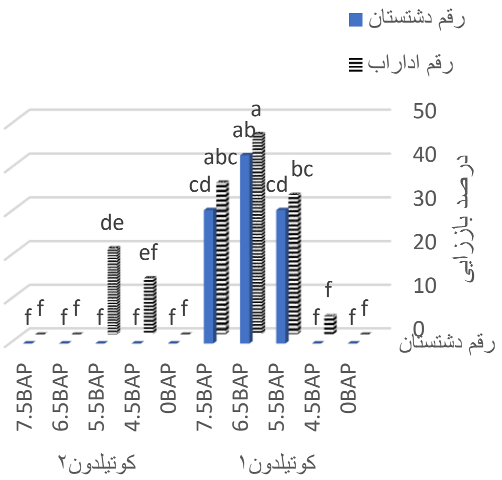
شکل ۶- کالوس زایی در ریزنمونه هیپوکتیل گیاه کنجد
Figure 6. Callus induction in hypocotyl explants of sesame

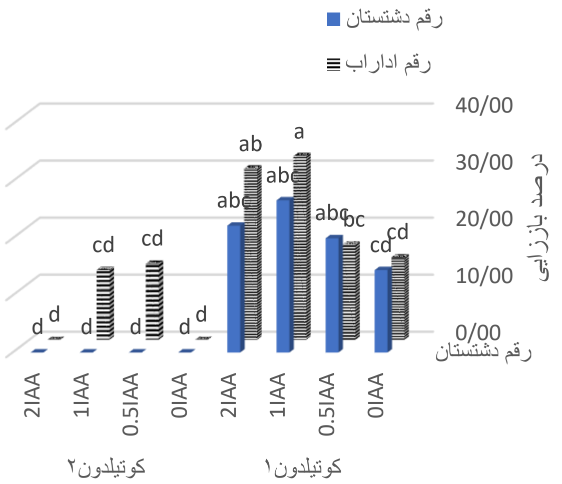
محققین گزارش داده اند که سن ریزنمونه‌های کوتیلدون۲ در گیاه کنجد تأثیر زیادی بر فراوانی القای شاخساره و باززایی دارد. پژوهش‌های زیادی برای استفاده از ریزنمونه‌های کوتیلدون کنجد با سن مختلف صورت گرفته است. لازم به ذکر است، که از کوتیلدون گیاه کنجد از ۱ تا ۲ روزه، ۳ تا ۴ روزه، ۸ تا ۱۰ روزه و۱۲ تا ۲۱ روزه فرکانس‌های مختلف باززایی گزارش شده است. به عنوان مثال کوتیلدون‌های ۱ تا ۲ روزه دچار پوسیدگی شدند و هرگز باززایی نداشتند (۱۹، ۲۰). در این پژوهش مشاهده شد که کوتیلدون‌هایی که هنوز زرد هستند (سن کم) و همچنین کوتیلدون‌های بسیار سبز (سن بالا) باززایی کمتری دارند. همچنین مشاهده شد که سن ریز نمونه‌های آماده برای القا باززایی در دو رقم متفاوت بود. به

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-12-15]
[DOI: 10.52547/jcb.14.41.205]

طوری که سن ریزنمونه کوتیلدون رقم داراب ۵ روز و ریزنمونه کوتیلدون رقم دشتستان ۷ روز بود.

نمودار مقایسه میانگین اثر متقابل ریزنمونه در رقم درBAP نشان داد که بالاترین درصد باززایی (۴۵ درصد) در رقم داراب با تیمار ۶/۵ میلی‌گرم BAP در ریزنمونه کوتیلدون۱ رخ داده است (شکل ۷a). اثر متقابل سه گانه رقم در ریزنمونه در IAA حاکی از آن بود ریزنمونه‌های کوتیلدون۱ در رقم داراب با غلظت یک میلی‌گرم در لیتر IAA در رتبه‌بندی a با میزان ۳۲ درصد، قرار گرفتند (شکل ۷b). نتایج مقایسه میانگین اثر سه گانه BAP در IAA در ریزنمونه نشان‌دهنده این بود که بالاترین درصد باززایی (۷۲ درصد) مربوط به غلظت ۶/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۱ میلی‌گرم IAA در ریزنمونه کوتیلدون۱ بود (شکل ۸).



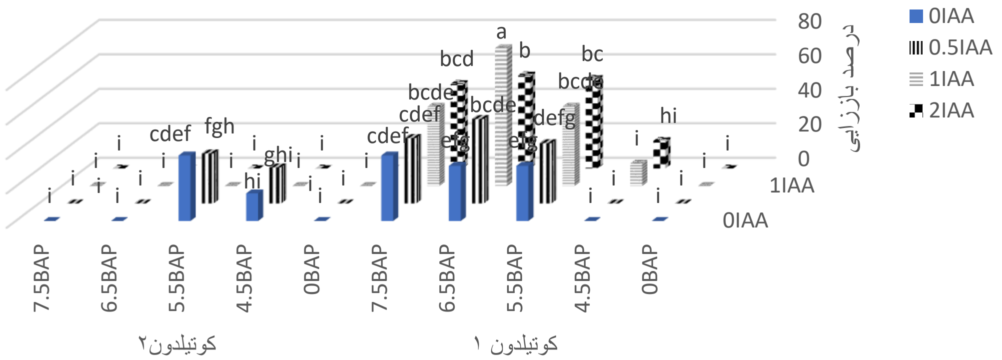


شکل ۷- a: مقایسه میانگین غلظت‌های مختلف BAP در ریزنمونه در رقم برای صفت درصد باززایی در گیاه کنجد b: مقایسه میانگین غلظت‌های مختلف IAA در ریزنمونه در رقم برای صفت درصد باززایی در گیاه کنجد

Figure 7-a: Mean comparison Cultivars in explants in different concentrations of BAP for regeneration in sesame b: Mean comparison explants in Cultivars in different concentrations of IAA for regeneration in sesame

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-12-15]

[DOI: 10.52547/jcb.14.41.205]



شکل ۸- اثر متقابل غلظت‌های مختلف BAP در IAA در رقم برای صفت درصد باززایی در گیاه کنجد
Figure 8. Mean comparison Cultivars in different concentrations of BAP and IAA for regeneration in sesame

بررسی‌های محققین نشان می‌دهد که فراوانی باززایی مستقیم گیاه کنجد از ۴/۵ تا ۸۸٪ متغیر است. دلیل اصلی تفاوت در باززایی این گیاه نوع ژنوتیپ است (۱). محققان اظهار داشتند هنگامی که گیاه کنجد در شرایط آزمایشگاهی در محیط کشت MS همراه با BAP و IAA به جای مکمل TDZ و IAA کشت داده شد باززایی مستقیم ریزنمونه‌های کوتیلدون بهتر بود. در پژوهشی مقدار ۷/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP به همراه ۳ میلی‌گرم در لیتر از IAA موجب باززایی مستقیم کوتیلدون‌ها شد. همچنین باززایی مستقیم کنجد توسط BAP + IAA در چندین پژوهش دیگر گزارش شده است (۱،۱۹،۲۴). آناندان و همکاران (۲) اعلام کردند که بازازایی مستقیم بالاتر۷۴ درصد در ریز نمونه ۷ روزه کوتیلدون رخ داده است. همچنین یاداو و همکاران راندمان باززایی مستقیم مناسبی را از ریزنمونه کوتیلدون هفت روزه گزارش دادند.

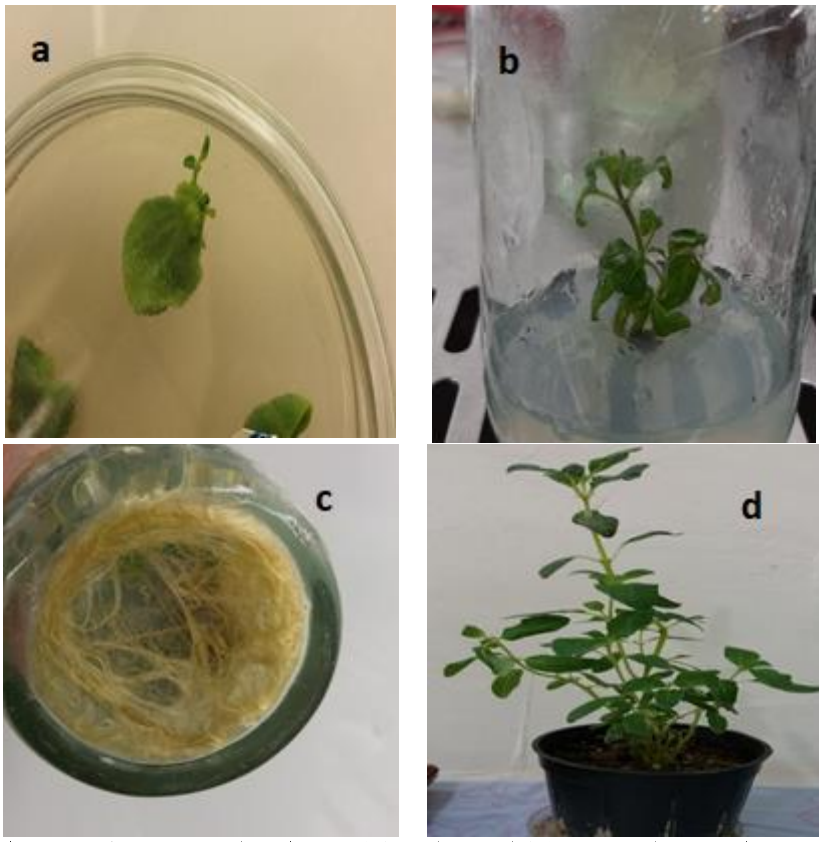
تا کنون گزارش‌هایی از اثر AgNO3 برای بهبود باززایی گیاهان از جمله کنجد در شرایط آزمایشگاهی ارائه شده است. به طوری که مشاهده شده که غنی سازی محیط MS با حدود ۵ میلی‌گرم در لیتر AgNO3 به همراه BAP و IAA فراوانی باززایی کوتیلدون‌ها را افزایش داد (۳،۱۱،۲۲).

در این پژوهش برای صفت درصد باززایی از بین دو رقم دشتستان و داراب رقم داراب از میزان باززایی بهتری برخوردار بود و همچنین ریزنمونه کوتیلدون۱، برتری بسیار بالاتری نسبت به ریزنمونه کوتیلدون۲ داشت. بهترین ترکیب از تنظیم کننده‌های رشدی نیز شامل ۵ میلی‌گرم AgNO3 و ۶/۵ میلی‌گرم BAP و ۱ میلی‌گرم IAA تشخیص داده شد. پس از دو مرحله واکشت (۳۰ روز)، ریزنمونه‌های کوتیلدون ۱ و ۲ به محیط MS با غلظت یک میلی‌گرم IAA منتقل شدند و تمامی آنها ۱۵روز بعد از استقرار در این محیط ریشه‌دار گشتند. سپس گیاهچه‌ها به منظور سازگار شدن به گلدان‌هایی با بستر پرلیت و کوکوپیت منتقل شدند (شکل ۹).

تشکر و قدردانی

شایسته است از جناب آقای دکتر دانیال کهریزی استاد محترم دانشگاه رازی و همچنین خانم افسانه نوری و آقای جمیل نوخاصی به دلیل مساعدتهایشان در اجرای این پژوهش نهایت سپاسگزاری و تشکر را داشته باشیم.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-12-15]
[DOI: 10.52547/jcb.14.41.205]



شکل ۹- a: باززایی مستقیم از ریزنمونه کوتیلدون در گیاه کنجد b: کشت گیاهچه باززا شده کنجد در محیط کشت ریشه‌زایی c: گیاهچه ریشه دار شده کنجد d: گیاه کنجد سازگار شده با محیط

Figure 9. a: Direct regeneration of cotyledon explants in sesame plant b: Placing the regenerated plantlet in the root culture induction medium in sesame plant c: Rooted sesame seedlings d: Sesame plant adapted to the environment

منابع

1. Al-Shafeay, A.F., A.S Ibrahim., M.R. Nesiem and M.S. Tawfik. 2011. Establishment of regeneration and transformation system in Egyptian sesame (*Sesamum indicum* L.) cv Sohag 1. GM Crops, 2: 182-192.
2. Anandan, R., K.V. Deepak, T. Deenathayalan, M. Vigesh, B. Priyadharshin, S. Murugan and M. Prakash.2018. Efficient in vitro organogenesis and plantlets regeneration in sesame (*Sesamum indicum* L.). Horticultural Biotechnology Research, 4: 1-5.
3. Ashwani, S., G.A. Ravishankar and P. Giridhar. 2017. Silver nitrate and 2-(N-morpholine) ethane sulphonic acid in culture medium promotes rapid shoot regeneration from the proximal zone of the leaf of Capsicum frutescens Mill. Plant Cell Tissue Org Cult, 129: 175-180.
4. Baskaarana, 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.
5. Chakraborti, P. and A. Gosh. 2010. Variation in Callus Induction and Root-Shoot Bud Formation Depend on Seed Coat of Sesame Genotypes. Research Journal of Botany, 5: 14-19.
6. De Jong A.J., E.T. Yakimova., V.M. Kapchina and E.J. Woltering. 2002. A critical role for ethylene in hydrogen peroxide release during programmed cell death in tomato suspension cells. Planta, 214: 537-545.
7. Ganbari, S. and S.K. Kazemitabar. 2015. Effects of Plant Growth Regulators on Callus Induction via Shoot Bud Meristems of Single Branch NazCultivar of Sesame (*Sesamumindicum* L.). Journal of Crop Breeding, 8: 231-237.
8. Hahm, T.S., S.J. Park and Y. Martin, Lo. 2009. Effects of germination on chemical composition and functional properties of sesame (*Sesamum indicum* L.) seeds. Bioresour. Technol, 100: 1643-1647.
9. Jayeoba, F.M. and O. Toyin Mustapha. 2014. Effect of hormones on in vitro culture of Sesame Sesamum indicum (L.) embryo. Biotechnology, 5(3): 21-27, 2014.
10. Hatami, R., GH.A. Rangbar and S.K. Kazemitabar. 2010. Effect of Medium Type and Hormonal Compositions on Callus Induction, Plantlet Regeneration and Rooting of Sesame (Sesamum indicum L.) Cultivars. Journal of Crop Breeding, 8: 15-29.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-12-15]

[DOI: 10.52547/jcb.14.41.205]

11. Heidarifar, M. and F. Dehghan Nayer. 2015. Estsblishment of callus and suspension culture in (*Sesamum indicum* L.). International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 7: 255-258. (In Persian).
12. Khalvati, M.A., Y. Hu. A. Mozafar and U. Schmidhalter. 2005. Quantification of water uptake by Arbuscular Mycorrhizal hyphae and its significance for leaf growth, water relations and gas exchange of barely subjected to drought stress. Plant Biol, 7: 706-712.
13. 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.
14. Malaghan, S.V., R. Lokesha, R. Savitha and A.R.G. Ranganatha. 2013. Adventitious shoot regeneration in Sesame (*Sesamum indicum* L.) (Pedaliaceae) via deembryonated cotyledonary explants. Research Journal of Biology, 1: 31-35.
15. Rajeswari, S., V. Thiruvcngadarn and N.M. Ramaswamy. 2010. Production of interspecific hybrids between Sesamum a/alum Thonn and *Sesamuin indicumL.* through ovule culture and screening for phyllody disease resistance. South African Journal of Botany, 76: 252-258.
16. Rao, S. and N. Havgeppa. 2011. Callus Induction and Organogenesis in *Sesamum indicumL.* CV. E 8. Current Trends in Biotechnology and Pharmacy, 5(4): 1462-1468.
17. 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.
18. Savitha, R., V. Shilpa and R. Malaghan Lokesha .2017. Callus Induction through Hypocotyls in Sesame (*Sesamum indicum* L.). Trends in Biosciences, 10(2): 845-849.
19. Seo, H.Y., Y.J. Kim, T.I. Park, H.S. Kim, S.J. Yun, K.H. Park, M.K. Oh, M.Y. Choi, C.H. Paik, Y.S. Lee and Y.E. Choi. 2007 Highfrequency plant regeneration via adventitious shoot formation from deembryonated cotyledon explants of *Sesamum indicum L.* In vitro Cellular and Developmental Biology-Plant, 43: 209-14.
20. Shenoy, V.V. and G.M. Kalagudi. 2011. Enhancing plant phosphorus use efficiency for sustainable cropping. Biotechnology Advances, 23: 501-513.
21. Taskin, K.M. and K. Turgut. 1997. In-vitro regeneration of sesame (*Sesamum indicum L.*). Turk J Bot, 21: 15-18.
22. Panigrahi, J., P. Dholu, J. Tanvi, T.J. Shah and S. Gantait. 2017. Silver nitrateinduced in vitro shoot multiplication and precocious flowering in Catharanthus roseus (L.) G. Don, a rich source of terpenoid indole alkaloids. Plant Cell Tissue Org Cult, 132: 579-584.
23. 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 Org Cult, 85: 235-239.
24. Yadav, M., D. Chaudhary, M. Sainger and P.K. Jaiwal. 2010. Agrobacterium tumefaciens-mediated genetic transformation of Sesame (*Sesamum indicum* L.). Plant Cell Tissue Org Cult, 103: 377-386.
25. 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.). Journal of Korean Society of Horticultural Science, 4(2): 70-74.
26. Zapata, C., M. Srivatanakul, S.H. Park, B.M. Lee, M.G. 1999. Salas and Smith RH. Improvements in shoot apex regeneration of two fiber crops: cotton and kenaf. Plant cell, tissue and organ culture, 56:185-91.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-12-15]

[DOI: 10.52547/jcb.14.41.205]

Effect of Explant, Type and Concentration of Hormone on Callus Induction and Regeneration of two Iranian Sesame (*Sesamum indicum* L.) Cultivars

Noushin Fallahi[1], Zahra Tahmasebi[2] and Alireza Zabarjadi[3]

1- PhD Student in Plant Breeding, Genetic Engineering and Molecular Genetics, Ilam University
2- Associate Professor, Department of Agriculture and Plant Breeding, Ilam University,
(Corresponding Author: z.tahmasebi@ilam.ac.ir)
3- Professor of Production Engineering and Plant Genetics, Razi University, Kermanshah
Received: 12 July, 2021 Accepted: 2 November, 2021

Extended Abstract

Introduction and Objective: Sesame is an ancient oilseed plant known for its medicinally important lignans and its high quality edible oil. ptimization of tissue culture in order to achieve high frequency regeneration is the first step for genetic transformation. the plant recalcitrant to plant tissue culture thus limiting the use of modern biotechnology for its genetic improvement. Therefore, sesame is one of the plants that need a suitable protocol for its Tissue culture and effective regeneration.

Material and Methods: In this study, the rate of callus induction and regeneration three explants (cotyledon1, cotyledon2, hypocotyls) two sesame cultivars (Darab, Dashtestan) tested in different hormones including BAP in five levels (0, 4.5, 5.5, 6.5 and 7.5 mg/l), IAA in four levels (0, 0.5, 1 and 2 mg/l), $Agno_3$ (5 mg/l). The shoots transferred to rooting media after regeneration. The experiment was conducted as a completely randomized design (CRD) with factorial arrangement and 3 replications.

Results: According to the results, regeneration induction in hypocotyls explants and callus induction in cotyledon 1 and cotyledon 2 explants were not observed in any of the genotypes. Results of means comparison revealed best result for traits (fresh weight, dry weight, diameter callus and callus induction) In MS medium containing supplement of 5.5 mg/l BAP and 1 mg/l IAA, 6.5 mg/l BAP and 1 mg/l IAA cultivar Dashtestan, 5.5 and 6.5 mg/l BAP in 1 mg/l IAA cultivar Dashtestan, 5.5 mg/l BAP in 0.5 and 1 mg/l IAA cultivar Dashtestan.

Conclusion: the highest rate of regeneration occurred in cotyledon1 explants with 6.5 mg / l BAP and 1 mg / l IAA. Finally, this medium is an efficient medium for the regeneration of these cultivars of sesame. All shoots formed roots after 15 days and Plantlets were transferred into pot with perlite and Cocopeat bed.

Keywords: BAP, Callus, Cotyledon, Hypocotyls, IAA, Tissue culture

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-12-15]

[DOI: 10.52547/jcb.14.41.205]