بررسی اثر هورمون‌های گیاهی در باززائی شاخساره از کالوس ریحان *Ocimum Basilicum* L. در شرایط درون شیشه‌ای

ماهرخ سپهوند [1]، محمد حسین دانشور [2]

1- دانشجوی کارشناسی ارشد علوم باغبانی، دانشگاه کشاورزی رامین اهواز. 2- دانشیار گروه باغبانی دانشگاه کشاورزی رامین اهواز.

چکیده

گیاه ریحان متعلق به خانواده نعناعیان می‌باشد. مطالعه حاضر جهت بررسی اثر تنظیم کننده‌های رشد گیاهی (NAA و BAP و IBA) بر باززائی از کالوس از ریزنمونه‌های مختلف به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با 12 تیمار و 3 تکرار انجام شده است. تیمارها شامل کالوس حاصل از ریزنمونه‌های هیپوکوتیل، کوتیلدون و ریشه و محیط MS حاوی 0/5 و 1 میلی‌گرم در لیتر هورمون BAP و 0/25 و 0/1 میلی‌گرم در لیتر هورمون IBA و 0/25 و 0/1 میلی‌گرم در لیتر NAA بود. نتایج نشان داد که نوع ریزنمونه، نوع محیط کشت و اثر متقابل ریزنمونه و محیط کشت اثر معنی‌داری در سطح ($p \leq 0,01$) بر تعداد شاخساره داشت. بالاترین تعداد شاخساره در محیط حاوی 0/5 میلی‌گرم در لیتر BAP + 0/1 میلی‌گرم در لیتر NAA با استفاده از ریز نمونه کوتیلدون به دست آمد. کمترین تعداد شاخساره نیز در محیط حاوی 1 میلی‌گرم در لیتر BAP + 0/1 میلی‌گرم در لیتر NAA و با استفاده از ریز نمونه ریشه ایجاد شد. بیشترین و کمترین طول شاخساره در محیط کشت 0/5 میلی‌گرم در لیتر BAP میلی‌گرم در لیتر+ 0/1 میلی‌گرم در لیتر NAA و از کالوس ریزنمونه هیپوکوتیل(8/92 سانتی‌متر) و از محیط کشت حاوی 1 میلی‌گرم در لیتر BAP + 0/1 میلی‌گرم در لیتر IBA و از کالوس ریزنمونه ریشه (0/54 سانتی‌متر) بدست آمد. بررسی حاضر نشان داد که تغییرات معنی‌داری در تعداد شاخساره و طول شاخساره با استفاده از کالوس حاصل از ریزنمونه‌های مختلف گیاه ریحان و غلظت‌های مختلف هورمون‌های NAA و BAP و IBA ایجاد شد.

کلمات کلیدی: ریز نمونه، ریحان، تنظیم‌کننده‌های رشدگیاهی و باززائی

مقدمه

گیاه ریحان با نام علمی .Ocimum Basilicum L از تیره نعناع یا Labiatae می‌باشد. ریحان قادر است با دیگر گیاهان هم جنس خودش دگر گرده افشانی انجام دهد ولی گیاهان شبیه به اصل تولید نخواهد شد و اگر تنوع ژنتیکی در گیاه پیش آید، مواد تشکیل دهنده گیاه نیز تغییر خواهند کرد. به خاطر همین مسئله کشت بافت به کار رفته و به حل این مشکل کمک می‌کند. از طریق کشت بافت، نسلی تولید می شود که شبیه گیاه مادری است. از عصاره کالوس جهت تولید متابولیت‌های ثانویه استفاده می‌شود رازدان،(2003). در یک بررسی توسط بانو و باری، (2007) باززائی شاخساره از کالوس هنگامی اتفاق افتاد که کالوس در محیط حاوی هورمون BAP قرار گرفت و بالاترین درصد باززائی شاخساره (90%)، در محیط حاوی 2 میلی‌گرم در لیتر BAP صورت گرفت. بررسی حاضر جهت تشخیص بهترین محیط کشت و بهترین کالوس جهت باززائی انجام شده است.

مواد و روش‌ها

جهت باززائی شاخساره از کالوس تشکیل شده از ریزنمونه‌های کوتیلدون، هیپوکوتیل و ریشه ریحان آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با 3 تکرار انجام شد. فاکتور اول، 4 نوع محیط کشت باززائی شامل:

1- محیط کشت MS + 0/5 میلی‌گرم در لیتر BAP + 0/25 میلی‌گرم در لیتر IBA

2- محیط کشت MS + 1 میلی‌گرم در لیتر BAP + 0/1 میلی‌گرم در لیتر IBA

3- محیط کشت MS + 1 میلی‌گرم در لیتر BAP + 0/25 میلی‌گرم در لیتر NAA

4- محیط کشت MS + 0/5 میلی‌گرم در لیتر BAP + 0/1 میلی‌گرم در لیتر NAA

و فاکتور دوم، شامل 3 نوع کالوس حاصل از ریزنمونه‌های کوتیلدون، هیپوکوتیل و ریشه بود.

تجزیه داده ها با استفاده از نرم افزار SAS و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح 5 درصد و رسم نمودارها با استفاده از نرم افزار Excel صورت گرفت.

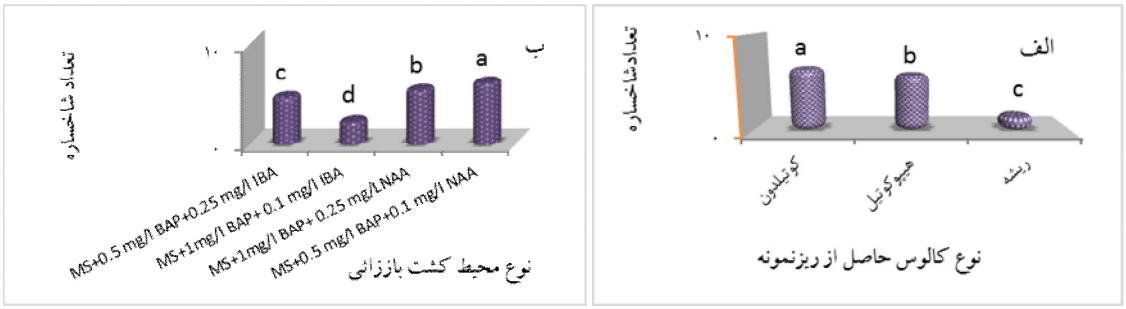
نتایج و بحث

جدول 1- تجزیه واریانس طول شاخساره و تعداد شاخساره باززائی شده از کالوس ریحان

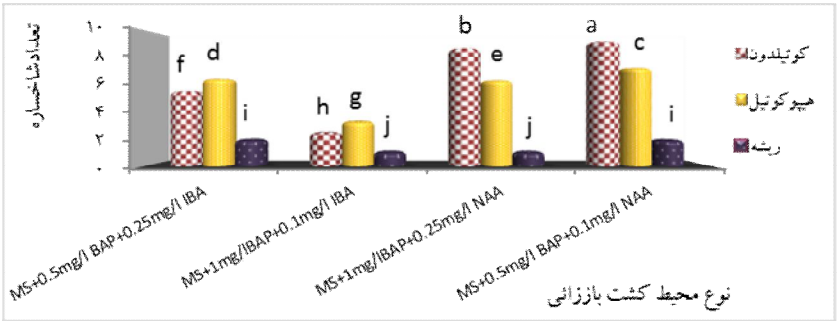
منابع تغییرات	درجه آزادی	طول شاخساره	تعداد شاخساره
نوع محیط کشت کالوس‌زا	3	**49/637	** 25/311
نوع کالوس	2	**38/987	**88/557
نوع محیط کشت x نوع کالوس	6	**4/982	**7/271
خطای آزمایش	24	0/001	0/001
ضریب تغییرات	-	0/95	0/76

* و **: بیانگر تفاوت معنی دار در سطح احتمال 5 و 1 درصد

نتایج نشان داد که نوع محیط کشت، نوع کالوس حاصل از ریز نمونه‌ها و اثر متقابل بین این دو فاکتور تأثیر معنی‌داری بر تعداد شاخساره ریحان داشت (جدول-1). در خصوص اثر متقابل نوع محیط کشت و نوع کالوس حاصل از ریز نمونه‌ها بر صفت تعداد شاخساره، کمترین مقدار در تمام محیط‌های کشت، از ریز نمونه ریشه بدست آمد. بیشترین و کمترین تعداد شاخساره به ترتیب در محیط کشت 0/5 میلی‌گرم در لیتر BAP + 0/1 میلی‌گرم در لیتر NAA، از ریز نمونه کوتیلدون به مقدار 9/24 شاخساره و در محیط کشت 1 میلی‌گرم در لیتر BAP + 0/1 میلی‌گرم در لیتر IBA، از ریز نمونه ریشه به مقدار 1/05 عدد بدست آمد. (نمودار 2)

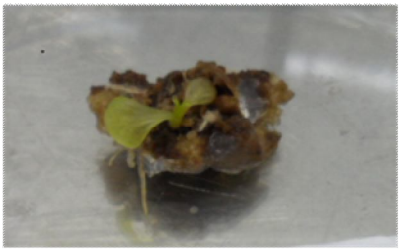


نمودار 1- الف اثر نوع کالوس ب اثر نوع محیط کشت باززائی



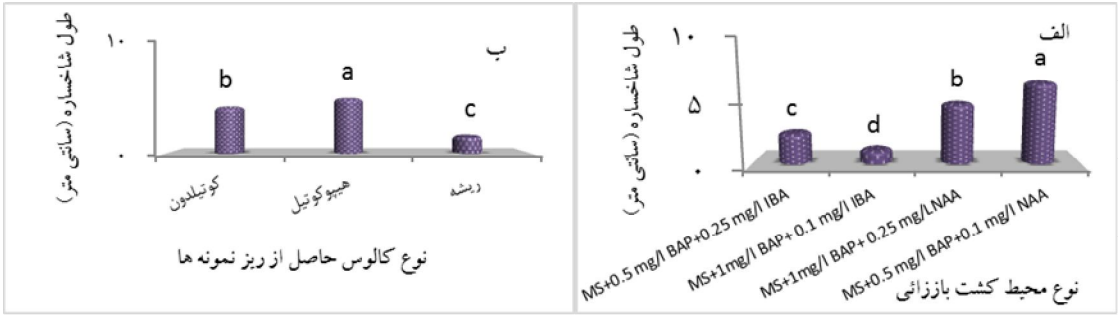
نمودار 2- اثر متقابل نوع کالوس و نوع محیط کشت باززائی

* میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک در سطح احتمال 1% آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند.

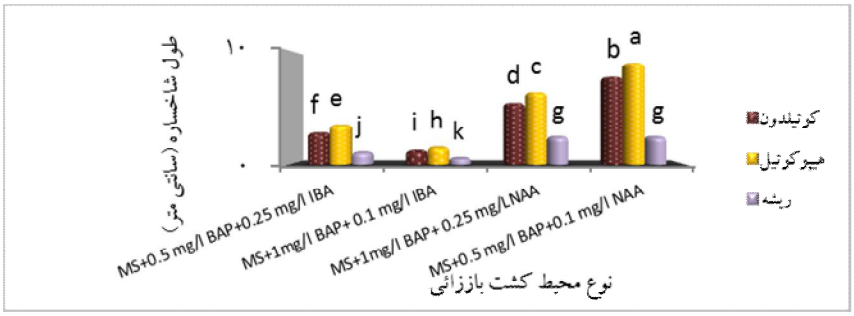


تصویر 1- باززائی شاخساره از کالوس ریحان

نتایج باززائی با مشاهدات بانو و همکاران،(1999) که از کالوس قطعات گره Ocimum Sanctum باززائی کردند و بگم و همکاران، (1999) و سیکاتا و چند، (1996) که باززائی شاخساره را در Ocimum Sanctum گزارش کردند، موافقت دارد. در یک بررسی باززائی از کالوس جنینی بعد از انتقال کالوس به محیط حاوی 0/5 میلی‌گرم در لیتر ۲،۴-D و 1 میلی‌گرم در لیتر BAP صورت گرفت (گوپی و پان موروگان، 2006). در یک بررسی که توسط آرچانا و همکاران، (2012) انجام شد، ماکزیمم تعداد شاخساره از کالوس جنینی در غلظت 2/5 میلی‌گرم در لیتر BAP، تولید شد و موافق با نتایج ما با افزایش غلظت هورمون BAP، تعداد شاخساره باززائی شده از کالوس کاهش یافت که با نتایج زیائو و همکاران، 2007، شائول و همکاران، 2006 و گادوی و همکاران، 2005 موافقت دارد.



نمودار 3- الف اثر نوع کالوس ب اثر نوع محیط کشت باززائی



نمودار 4- اثر متقابل نوع کالوس و نوع محیط کشت باززائی

بررسی حاضر نشان داد که نوع محیط کشت، نوع کالوس حاصل از ریز نمونه‌ها و اثر متقابل بین این دو فاکتور تأثیر معنی‌داری بر طول شاخه ریحان داشت. در خصوص اثر متقابل نوع محیط کشت و نوع کالوس حاصل از ریز نمونه‌ها بر شاخص طول شاخساره، بیشترین طول شاخساره در تمام محیط‌های کشت در بافت هیپوکوتیل بدست آمد. کمترین مقدار در تمام محیط‌های کشت نیز در

بافت ریشه بدست آمد. بیشترین و کمترین طول شاخساره در محیط کشت 0/5 میلی گرم در لیتر BAP + 0/1 میلی گرم در لیتر NAA و از کالوس حاصل از ریز نمونه هیپوکوتیل به مقدار 8/92 سانتی‌متر و از محیط کشت حاوی 1 میلی گرم در لیتر BAP + 0/1 میلی‌گرم در لیتر IBA و از کالوس حاصل از ریز نمونه ریشه به مقدار 0/54 سانتی‌متر بدست آمد. (نمودار 4). بررسی حاضر نشان داد وقتی غلظت هورمون BAP از 0/5 به 1 میلی‌گرم افزایش یافت طول شاخه باززائی شده کاهش یافت که با نتایج (بانو و باری، 2007) که مشاهده نمود با افزایش سطح هورمون BAP و ترکیب NAA و BAP طول شاخساره تشکیل شده از کالوس کاهش یافت موافق است.

منابع

Archana, S., S. Parshuram, and K. Manoranjan. 2012. Micropropagation and biochemical analysis of spear Mint (Mentha spicata) biotiful. Indian.J Innovations Dev. 1(7): 2277-5390.

Banu, L. A., M. A. Bari, and R. Islam. 1999. Callus induction and plant regeneration of ocimum Sanctum. Abstract. 3rd. International plant tissue culture conference. pp: 46.

Banoo, L. A, and M. A. Bari. 2007. Protocol establishment for multiplication and regeneration of Ocimum Sanctum L. an important medicinal plant with high religious value in Bangladesh. Journal of Plant Scienses. 2(5):530-537.

Begum, F., M. N. Amin, and M. A. K. Azad. 1999. In vitro clonal propagation of holy basil ocimum sanctum. Abstract. 3rd. International plant tissue culture conference. pp: 53.

Gody, L., E. Hector, B. Diaz, A. Chea , and A. Torres. 2005. The effect of growth regulators on the in vitro multiplication of mentha piperata and mentha citrata. Cultivos Tropicales. 26(1): 73-75.

Gopi, C, and P. Ponmurugan. 2006. Somatic embryogenesis and plant regeneration from leaf callus of ocimum basilicum L. J. Biotechnol. 126(2): 260-264.

Razdan, R. Z. 2003. Introduction to plant tissue culture. Science Publishers, USA.

Shawl, N. C., A. S. Kaloo, Z. A. Bhat, and M. A. P. Sultan. 2006. Clonal propagation of mentha arvensis L. Througt nodal explant. Pak. Jr. Biol. Sc. 9(8): 1416-1419.

Sitakanta, P. P, and K. Chand. 1996. In vitro propagation of the medicinal herbs ocimum americanum L. Syn, ocimum sanctum L. (holy basil). Plant Cell Rep. Abstract . 15: 846-850.

Xiao, L., D. CH. Zhi., H. W. Zhi., H. W. Chen, and R. Cong. 2007. Tissue culture and plantlet regeneration of penny mint (Menta pulegium). Jr. Northwest A. F. Univ-Nat. Sci. Edi. 35(1): 87-90

The effect of plant hormones on shoot regeneration from callus Ocimum basilicum L An in vitro

M. sepahvand1, M. H. Daneshvar1

Department of Horticulture, Ramin University of Agriculture and Natural Resources, Mollasani, Khoozestan, Iran

Email: Mahrokh_Sepahvand@yahoo.com

Abstract

Holy Basil belongs to Lamiaceae family. This study was to investigate the effect of plant growth regulators (NAA and BAP and IBA) on regeneration of callus from different explants. A factorial experiment in in the form

of randomized completely design with 12 treatments and 3 replications were carried out. The treatments consisted of callus produced by Hypocotile, Cotyledone and root explants and Murashig and Skoog(MS) media containing of (0,5, 1 mg/l) BAP, (0,25 , 0,1 mg/l) IBA and (0,25, 0,1 mg/l) NAA.The results showed that effect of explant on callus formation, culture media and the intraction of explant and media, on the number of shoots were significant (P≤0,01). Most shoot were obtained using Cotyldone explant in media containing 0,5 mg/l BAP+0,1 mg/l NAA. The lowest number of shoot were obtaied in MS medium contianing 1 mg/l BAP+0,01 mg/l NAA with using root as explant The most and the lowest length of shoot were obtained in media containing 0,5 mg/l BAP+0,1 mg/l NAA and from callus produced by of Hypocotile explant (8,92 cm) and from culture media containing 1 mg/l BAP+0,1 mg/l IBA and from callus of root explant (0,54 cm). the reasults showed that significant changes in number and length of shoot were occurred using callus of different explants of Basil and different concentrations of IBA, BAP and NAA hormones.
Keyword: Explant, Ocimum Basilicum L, Plant growth regulatores, regeneration.

.