مجله زیست فناوری گیاهان دارویی
سال سوم، شماره اول، بهار و تابستان ۱۳۹۶

اثر هورمون بنزیل آمینو پورین (BAP) و نوع واریته بر باززایی گیاه دارویی ریحان (*Ocimum basilicum*)

فرشته حیدر قلی نژاد[۱]، حسین مرادی[۲*]

چکیده

خاصیت آنتی اکسیدانی بالا و مواد معدنی نظیر کلسیم، آهن، روی و ویتامین‌هایی نظیر A و C باعث ارزش بالای گیاه دارویی ریحان شده است. اما تکثیر جنسی ریحان با بذر، تنوع و غیر یکنواختی زیادی را بوجود آورده است. به همین دلیل باززایی مستقیم ریحان از طریق کشت بافت، تولید گیاهانی با یکنواختی بالا را به همراه دارد. در این آزمایش ریزنمونه‌های گره از دو واریته ریحان بنفش و سبز در محیط موراشینگ اسکوک (MS) همراه با هورمون BAP در سه سطح ۰، ۱/۵ و ۲/۵ میلی گرم بر لیتر قرار گرفتند. صفات مورد بررسی شامل تعداد باززایی، تعداد ریشه، تعداد برگ، طول ریشه، وزن تر شاخساره، وزن خشک شاخساره، طول برگ و طول ساقه بود. اثر تیمار هورمونی در تمامی صفات در سطح ۱ درصد و اثر نوع واریته در صفات تعداد باززایی، وزن تر و وزن خشك شاخساره در سطح ۱ درصد و در سایر صفات در سطح ۵ درصد معنی‌دار شد. با توجه به نتایج بدست آمده ریحان بنفش واریته مناسبی برای این هدف بوده و هم چنین هورمون BAP در سطح ۱/۵ میلی گرم بر لیتر بر تمامی صفات بهترین تاثیر را داشت. استفاده از غلظت بالاتر میزان باززایی و صفات مربوط به آن را کاهش داد.

واژه‌های کلیدی: ریحان، باززایی مستقیم، BAP، دارویی

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی و ژنتیک مولکولی محصولات باغی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
۲*- استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری moradiho@yahoo.com

مقدمه

ریحان با نام علمی (*Ocimum basilicum*) گیاه علفی، یکساله و متعلق به خانواده نعناعیان (Lamiaceae) می‌باشد. بخش رویشی ریحان حاوی ۰/۵ تا ۱/۵ درصد اسانس است (Begum, 2002). ترکیبات اسانس ریحان در گونه‌ها و واریته‌های مختلف متفاوت است ولی ترکیبات اصلی آن شامل لینالول، سیترال، متیل کاویکول، اوژنول، کامفور، متیل سیانامات و سینئول می‌باشد (Vieira and Simon, 2000; Modello *et al*, 2002.; Singh *et al*,2011). این گیاه دارای ترکیبات فنلی گوناگونی است که ترکیبات فنلی ریحان خاصیت آنتی اکسیدانی بالایی دارند. در میان این ترکیبات رزمارینیك اسید بیش‌ترین مقدار را دارد (Javanmardi *et al*,2002;2003). ویتامین‌های A و C و مواد معدنی نظیر کلسیم، روی و آهن نیز در گیاه ریحان وجود دارد (Anbarasu and Vijayalakshmi, 2007). اسانس ریحان در درمان بیماری‌های گوناگونی نظیر برونشیت، سرفه، گلو درد و ...کاربرد دارد (Vieira and simon, 2000). هم چنین اسانس ریحان در صنایع غذایی، دارویی و بهداشتی به کار می‌رود (Bowes and Zheljazkov, 2004). گیاه ریحان با بذر تکثیر می‌شود و به دلیل دگر گرده افشانی تنوع زیادی در آن دیده می‌شود. با استفاده از کشت بافت می‌توان در مدت زمان کوتاه‌تر گیاهان سالم و بدون آلودگی و با یکنواختی بالا تولید کرد (Oladzade *et al*, 2012). سیتوکنین‌ها در القا و رشد شاخساره‌ها و تقسیم سلولی نقش مهمی دارند. در استفاده از هورمون سیتوکنین در کشت بافت نکته اساسی نوع سیتوکنین به کار رفته و غلظت آن می‌باشد. نوع و غلظت سیتوکنین دو فاکتور اصلی در باززایی و پرآوری در کشت گیاهان در شرایط درون شیشه‌ای است (Grattapalia and Machado,1998). سیتوکنین‌ها یکی از انواع تنظیم کننده‌های رشد هستند که باعث القاء تقسیم سلولی و سنتز پروتئین‌ها شده، هم چنین باعث تاخیر در پیری، تشکیل کلروپلاست، التیام زخم‌ها و جذب مواد می‌شوند (Jana *et al*, 2013). تاثیر سیتوکنین بنزیل آدنین(BA) بر اسطوخودوس (*Lavandula vera*) نشان داد، استفاده از این هورمون باعث افزایش تکثیر شاخه و رشد طولی ساقه می‌شود(Andrade *et al*, 1999). در گزارشی غلظت ۰/۲ میلی گرم بر لیتر ازهورمون BAP از ریزنمونه‌های گره در ریحان سبب ۱۰۰ درصد پرآوری شد در حالی که استفاده از همین سطح از هورمون کینیتین (KN) ۷۵ درصد پرآوری را سبب شده است (Begum, 2002). در گیاه (*Clitoria teranatea*) غلظت‌های مختلف BA برای تولید شاخساره و افزایش طول اندام‌های هوایی لازم بوده و استفاده از غلظت مناسب سیتوکنین درصد شاخه‌زایی را افزایش داده است (Rout, 2004). در ریزازدیادی گونه‌ای از اسطوخودوس (*Lavandula dentate*) کاربرد هورمون BA به تنهایی یا با مقدار اندکی از ایندول بوتریتیک اسید (IBA) پرآوری و تولید شاخساره را در این گیاه افزایش داد (Echeverrigaray *et al*, 2005). در باززایی مستقیم در عدس (*Lens culinaris medic*) هورمون BAP در غلظت ۳ میلی گرم بر لیتر بالاترین سطح باززایی شاخساره را سبب شد. سطوح ۳ و ۴ میلی گرم بر لیتر باعث افزایش باززایی شاخساره شد اما تعداد شاخه‌ها را کاهش داد و در نتیجه غلظت ۲ میلی گرم بر لیتر از هورمون BAP به عنوان بهترین سطح هورمونی در باززایی این گیاه بود (Omran *et al*, 2008). بالاترین تعداد باززایی در گیاه نعناع (*Mentha piperita*) در سطح هورمونی ۱/۵ میلی گرم بر لیترهورمون BAP از ریزنمونه گره بدست آمد (Sarwar *et al*, 2009). در باززایی گیاه گل انگشتانه (*Digitalis nervosa*) BAP بهترین هورمون در مقایسه با سیتوکنین های دیگر نظیر کینتین (KN) و ایزوپنتیل آدنین(2ip) در باززایی این گیاه بوده است . در گزارشی بالاترین تعداد شاخه در گیاه (*Musk melon*) در محیط حاوی ۲ میلی گرم بر لیتر BAP بدست آمد و تعداد شاخه‌ها با افزایش غلظت این هورمون به طور قابل توجهی کاهش یافت (Venkateshwarlu, 2012). در ریحان (*Ocimum*

gratissimum) تاثیر BAP بر رشد شاخساره‌ها بررسی شد، نتایج نشان داد ریزنمونه گره در محیط کشت MS همراه با ۰/۵ میلی گرم بر لیتر BAP بهترین تاثیر را بر ازدیاد این گیاه داشته است و تولید شاخه از ریزنمونه گره در این سطح هورمونی ۹۵ درصد گزارش شد (Mongo, 2014). در باززایی مستقیم از ریزنمونه گره در محیط MS در گیاه (*Toddalia asiatica* L.) بالاترین تکثیر شاخساره در ترکیب هورمونی ۲/۵ میلی گرم بر لیتر از هورمون BAP و ۰/۵ میلی گرم بر لیتر ایندول استیک اسید (IAA) بدست آمد (Anand *et al*, 2015). اصغری و همکاران (Asghari et al, 2012)، بیان داشتند باززایی در میان ژنوتیپ‌های مختلف ریحان متفاوت بوده و بیش‌ترین درصد باززایی در ژنوتیپ مجارستانی و غلظت ۲/۵ میلی گرم بر لیتر BAP از ریزنمونه گره به دست آمد. اثرات هورمون سیتوکنین تحت تاثیر فاکتورهایی نظیر نوع محیط کشت، سن ریزنمونه و نوع واریته می‌باشد (Dobranski *et al*, 2010). آزمایش فوق به منظور دست‌یابی به محیط مناسب باززایی در دو واریته مورد کشت و کار ریحان در ایران، انجام گرفته است تا غلظت مناسب هورمون BAP در ازدیاد این گیاه در شرایط کشت درون شیشه‌ای ارزیابی گردد.

مواد و روش‌ها

تحقیق پیش‌رو در مهر ماه سال ۱۳۹۴ در آزمایشگاه پژوهشی گروه باغبانی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری انجام شد. بذرهای دو نوع واریته بنفش و سبز ریحان از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه شد. برای ضدعفونی بذور ابتدا دراتانول ۷۰ درصد به مدت یك دقیقه غوطه‌ور شدند و سپس در هیپوکلرید سدیم ۵ درصد به مدت ۱۰ دقیقه همراه با ۲ تا ۳ قطره توبین ۲۰ قرار گرفتند. درنهایت در زیر لامینارهود سه بار با آب مقطر استریل شده شست و شو داده شدند. در مرحله اول جهت تهیه و آماده سازی ریزنمونه‌ها بذرهای ضدعفونی شده در محیط موراشینگ اسکوك (MS) همراه با ۳ درصد ساکارز، ۰/۷ درصد آگار و pH حدود ۵/۸ کشت شدند. سپس ریزنمونه جهت انجام آزمایش از بخش گره گیاهچه‌های کشت بافتی و ۲۰ روزه دو واریته ریحان تهیه شد. ریزنمونه‌ها در محیط MS همراه با BAP در سه سطح (۲/۵ و ۱/۵ ،۰) میلی گرم بر لیتر در ظروف شیشه‌ای قرار گرفتند. سپس در دمای محیط و در شرایط نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی نگهداری شدند. آزمایش به صورت فاکتوریل، در قالب طرح کاملا تصادفی و با سه تکرار انجام شد و در هر تکرار سه ریزنمونه کشت گردید. باززایی ریزنمونه‌ها پس از حدود ۲ ماه ارزیابی شد. صفات مورد ارزیابی شامل تعداد باززایی، تعداد ریشه، تعداد برگ، طول ریشه، وزن تر شاخساره، وزن خشک شاخساره، طول برگ و طول ساقه بود. داده‌ها ابتدا به روش تبدیل رادیکالی نرمال سازی شدند و تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS انجام شد. برای رسم نمودارها از نرم افزار اکسل استفاده شد و مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون حداقل اختلاف معنی دار (LSD) در سطح پنج درصد انجام شد.

نتایج

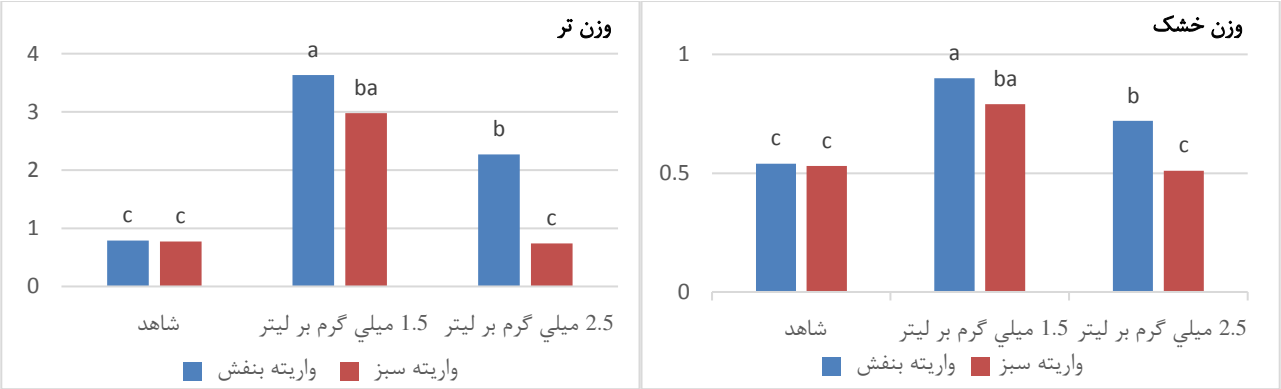
پنج روز پس از کشت، بذرهای هر دو واریته ریحان جوانه زدند و بذرها در هر دو واریته دارای جوانه‌زنی ۱۰۰ درصد بودند. گیاهچه‌ها پس از ۱۷ روز دارای ریشه‌ها و شاخساره های نرمال بودند. نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل واریته و تیمار هورمونی بر دو صفت وزن تر و وزن خشک شاخساره در سطح ۵ درصد معنی‌دار است (جدول۱، شکل۱). بالاترین میزان وزن تر و وزن خشک مربوط به ریحان بنفش در سطح هورمونی ۱/۵ میلی گرم بر لیتر از هورمون BAP بود. در بررسی اثر نوع واریته، صفات تعداد باززایی، وزن تر و وزن خشک شاخساره در سطح ۱ درصد معنی‌دار شد و در صفات تعداد ریشه، تعداد برگ، طول ریشه، طول برگ و طول ساقه در سطح ۵ درصد معنی‌دار شد. تعداد باززایی و صفات مربوط به آن در واریته بنفش نسبت به واریته سبز بیش‌تر بود (جدول۲). اثر تیمار هورمونی در تمامی صفات در سطح ۱ درصد معنی‌دار شد و بیش‌ترین تعداد باززایی و سایر صفات اندازه گیری شده مربوط به سطح هورمونی ۱/۵ میلی گرم بر لیتر از هورمون

BAP بوده است (جدول۲، شکل ۲). واریته بنفش در غلظت ۱/۵ میلی گرم بر لیتر BAP بیش‌ترین تعداد باززایی را با میانگین ۳/۱۷ نشان داد. واریته سبز در غلظت ۱/۵ میلی گرم بر لیتر BAP با میانگین ۱/۸۳ بعد از آن قرار گرفت.

در غلظت صفر (شاهد) باززایی در دو واریته ریحان دیده نشد. در غلظت ۲/۵ میلی گرم بر لیتر BAP در واریته سبز باززایی انجام نشد اما در واریته بنفش باززایی انجام شد و میانگین تعداد باززایی ۲/۸۲ بود.

جدول۱- نتایج تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه

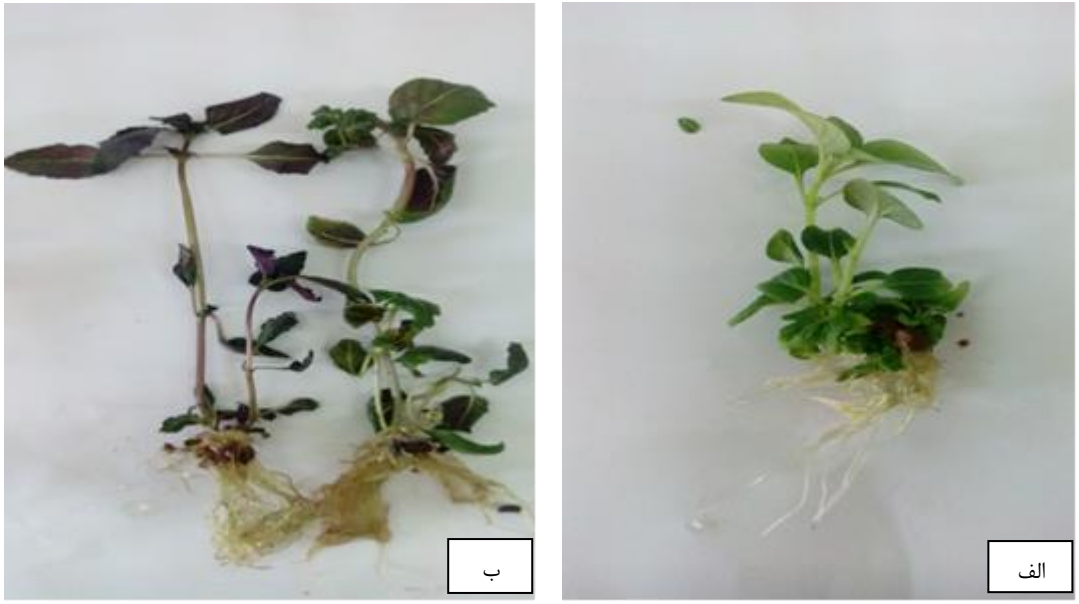
منابع تغییرات	درجه آزادی	تعداد باززایی	تعداد ریشه	تعداد برگ	طول ریشه	وزن تر شاخساره (گرم)	وزن خشک شاخساره (گرم)	طول برگ	طول ساقه
واریته	۱	۰/۴۰**	۱/۳۰*	۰/۱۹*	۰/۵۵*	۰/۳۶**	۰/۰۱۸**	۰/۰۹۱*	۱/۱۷*
تیمار	۲	۱/۱۷**	۱۱/۳۱**	۱/۱۸**	۶/۳۱**	۱/۳۶**	۰/۰۵۷**	۰/۵۹**	۵/۵**
واریته ×تیمار	۲	۰/۱۰۱ns	۰/۵۸ns	۰/۰۵۴ns	۰/۱۴۲ns	۰/۱۶*	۰/۰۰۵*	۰/۰۱۳ns	۰/۴۱۴ns
ضریب تغییرات(%)		۱۹/۸۳	۲۶/۴۵	۷/۲۱	۲۱/۳۹	۱۲/۲۲	۳/۹۱	۹/۵۰	۲۵/۰۴
خطا	۱۲	۰/۰۴۴	۰/۲۲	۰/۰۲۵	۰/۱۰۵	۰/۰۲۴	۰/۰۰۱	۰/۰۱۲	۰/۱۴



شکل ۱- اثر متقابل نوع واریته و تیمار هورمونی در دوصفت وزن تر و وزن خشک شاخساره.

جدول ۲ - مقایسه میانگین واریته و تیمارهورمونی در صفات بررسی شده

اثرات ساده	تعداد باززایی	تعداد ریشه	تعداد برگ	طول ریشه	وزن‌تر شاخساره (گرم)	وزن خشک شاخساره (گرم)	طول برگ	طول ساقه
واریته								
بنفش	۱/۵۱^{a}	۴/۴۱^{a}	۵/۳۸^{a}	۲/۹۶^{a}	۲/۰۶^{a}	۰/۷۰^{a}	۱/۵۷^{a}	۳/۲۰^{a}
سبز	۰/۸۷^{b}	۲/۵^{b}	۴/۴۷^{b}	۱/۹۰^{b}	۱/۳۳^{b}	۰/۶۰^{b}	۱/۲۴^{b}	۱/۶۵^{b}
تیمارهورمونی								
۰	۰/۵۳^{b}	۰/۷۱^{c}	۳/۸۳^{b}	۰/۵۹^{c}	۰/۷۸^{c}	۰/۵۴^{c}	۱/۱۱^{b}	۰/۶۳^{b}
۱/۵	۲/۴۴^{a}	۱۱/۲۷^{a}	۷/۴۲^{a}	۷/۲۳^{a}	۳/۳۰^{a}	۰/۸۵^{a}	۲/۳۸^{a}	۶/۶۴^{a}
۲/۵	۰/۹۱^{b}	۱/۹۴^{b}	۳/۸۶^{b}	۱/۵۲^{b}	۱/۴۱^{b}	۰/۶۲^{b}	۰/۹۲^{b}	۱/۶۴^{b}



شکل۲- باززایی در واریته بنفش و سبز در غلظت ۱/۵ میلی گرم بر لیتر BAP.

بحث

عوامل گوناگونی در باززایی مناسب دخیل هستند، از این عوامل می‌توان به محیط کشت، نوع ریزنمونه و ترکیبات هورمونی به کار رفته در محیط کشت اشاره نمود. سیتوکنین ها از مهم‌ترین تنظیم کننده‌های رشد برای باززایی گیاهان در شرایط کشت دورن شیشه‌ای می‌باشند. در این پژوهش از هورمون BAP (از گروه سیتوکنین) برای باززایی مستقیم از ریزنمونه گره استفاده شد. طبق نتایج بدست آمده از میان سه سطح هورمونی به کار رفته، غلظت ۱/۵ میلی گرم بر لیتر هورمون BAP بهترین تاثیر را بر باززایی و صفات بررسی شده داشته است. کاربرد غلظت ۲/۵ میلی گرم بر لیتر از هورمون فوق در واریته سبز مانع باززایی شده و در واریته بنفش باززایی کمتری را سبب شده است که نشان دهنده تاثیر مطلوب سطوح پایین تر از هورمون BAP بوده است و با نتایج گزارشی در گیاه ریحان که از سطوح بالای BAP در غلظت ۵ میلی گرم بر لیتر استفاده کرده بودند مطابقت ندارد (Dode, 2003). هم چنین در گزارش فوق از نفتالین استیک اسید (NAA) (به عنوان اکسین) در غلظت ۰/۲ میلی گرم بر لیتر استفاده شده بود، حضور این هورمون از تشکیل ریشه جلوگیری کرده و حتی استفاده ترکیبی از BAP و NAA نیز از ایجاد ریشه جلوگیری کرد که تاکیدی بر عدم نیاز حضور اکسین برای تشکیل ریشه در گیاه ریحان در کشت درون شیشه‌ای است. در تحقیق پیش رو نیز تنها از گروه سیتوکنین به منظور باززایی استفاده شد، بدون حضور اکسین ریشه‌زایی مناسبی در دو واریته ریحان سبز و ریحان بنفش دیده شد، تعداد ریشه و طول ریشه به ترتیب در ریحان بنفش ۱۲/۶۱ و ۸/۵۱ سانتی متر و در ریحان سبز ۱۰/۰۱ و ۶ سانتی متر بوده است که از لحاظ آماری در یک گروه قرار گرفتند. در گزارشی در گیاه ریحان بیان داشتند غلظت ۲/۵ میلی گرم بر لیتر از هورمون BAP غلظت مناسبی در باززایی بوده و استفاده از غلظت‌های بالاتر را که باعث شیشه‌ای شدن ریزنمونه‌ها شد مناسب ندانستند (Asghari *et al*, 2012). در تحقیق پیش رو غلظت کم‌تر از ۲/۵ میلی گرم بر لیتر به عنوان غلظت مناسب‌تر نشان داده شد و غلظت‌های بالای هورمون سیتوکنین را مطابق نتایج اصغری و همکاران در باززایی ریحان مناسب نمی داند. در تحقیق پیش رو با کاربرد BAP در سطح ۲/۵ میلی گرم بر لیتر شیشه‌ای شدن رخ نداد بلکه میزان باززایی در هر دو واریته ریحان کاهش یافت و تاثیر آن در واریته سبز بیش‌تر دیده شد، به طوری که فقط برگ‌های توده‌ای تشکیل شد و تشکیل ریشه و ساقه در واریته سبز دیده نشد. در BAP ۲/۵ میلی گرم بر لیتر، در واریته ریحان بنفش ریشه و ساقه تشکیل شد، اما میزان آن در مقایسه با غلظت ۱/۵ میلی گرم بر لیتر از هورمون BAP به طور چشم‌گیری کاهش یافت. در گزارش فوق نیز حضور اکسین را برای ریشه‌زایی ضروری ندانستند و بیان داشتند گیاه ریحان دارای اکسین درونی بالایی است و نیازی به حضور اکسین در باززایی این گیاه نبوده است که با نتایج بدست آمده در تحقیق حاضر مطابقت دارد و در غلظت ۱/۵ میلی گرم بر لیتر ریشه‌زایی در هر دو نوع واریته ریحان دیده شد. در باززایی از ریزنمونه گره تره تیزک باغی (*Cardamine hirsuta*) اثر نوع و غلظت‌های دو نوع هورمون KN و زآتین (از گروه سیتوکنین) در غلظت‌های مختلف ۵ و۱،۲،۳،۴ میلی گرم بر لیتر در محیط MS بر روی صفت‌های رشد نظیر تعداد شاخه‌ها، برگ‌ها و ریشه‌ها بررسی شد، نتایج نشان داد غلظت ۲ میلی گرم بر لیتر از هورمون زآتین بالاترین تعداد شاخه‌ها و برگ-ها و کم‌ترین تعداد ریشه را داشته است. بالاترین درصد تشکیل ریشه در محیط ۱ میلی گرم بر لیتر از هورمون KN بدست آمد. به طور کلی بیان داشتند غلظت۲ میلی گرم بر لیتر از هورمون زآتین اثر بیش‌تری در مقایسه با کینتین در باززایی داشته است (Hing thong *et al*, 2014). این آزمایش نیز تاکیدی بر استفاده از سطوح پایین‌تر سیتوکنین‌ها دارد و ریشه‌زایی در محیط فاقد اکسین و تنها در حضور سیتوکنین مشاهده شده است. در ریزازدیادی گیاه آجوگا (*Ajuga vestita bioss*) نیز به تاثیر منفی افزایش هورمون سیتوکنین (BAP, KN) در افزایش تعداد شاخه‌ها اشاره شده است، زمانی که غلظت سیتوکنین افزایش می‌یابد تعداد شاخه‌ها کم و زمانی که غلظت این هورمون کاهش

می‌یابد تعداد شاخه‌ها افزایش می‌یابد (Akbas *et al*, 2015) که مطابق نتایج تحقیق حاضر تاکیدی بر استفاده از غلظت-های پایین‌تر از هورمون سیتوکنین است. در گزارشی در میان تیمارهای مختلف هورمونی در گیاه ریحان مقدس (*Ocimum sanctum* L.) بهترین تیمار برای بالاترین طول شاخه (۶/۸) در ترکیب BA ۱ میلی گرم بر لیتر با IAA ۰/۵ میلی گرم بر لیتر بوده است. استقرار و تکثیر شاخه در محیط MS در غلظت‌های ۱ تا ۳ میلی گرم بر لیتر از سیتوکنین و غلظت کم‌تر اکسین (۲/۵-۰/۰) میلی گرم بر لیتر بدست آمد (Mishra, 2015)، این گزارش نیز بر استفاده از سطوح پایین‌تر از سیتوکنین‌ها در باززایی و تکثیر شاخساره اشاره دارد و در تحقیق پیش‌رو بالاترین طول ساقه با میانگین ۷/۹۸ سانتی متر در سطح هورمونی ۱/۵ میلی گرم بر لیتر BAP بدست آمده است. در گزارشی از مکبر و همکاران (Macbr *et al*, 2016) ، در باززایی مستقیم گیاه دارویی نجم آبی (*Scilla hyacinthine*) بالاترین تعداد شاخه (۱۳/۲) با میانگین طول ۶/۵ سانتی متر در محیط کشت حاوی ۱/۵ میلی گرم بر لیتر از هورمون تیدیازورون (TDZ) (نوعی سیتوکنین) بدست آمد، همانند گیاه ریحان غلظت ۱/۵ میلی گرم بر لیتر از هورمون سیتوکنین بهترین تاثیر را در باززایی مستقیم داشته است. با توجه به نکات بیان شده هورمون سیتوکنین نقش اصلی و مهم را در باززایی بر عهده داشته و نکته مهم‌تر استفاده از سطوح پایین‌تر از این هورمون است. طبق گزارشات بیان شده در بیش‌تر موارد به استفاده از غلظت پایین‌تر این هورمون اشاره شده و استفاده از سطوح بالا بنابر گزارشات پیشین باعث شیشه‌ای شدن و کاهش باززایی و صفات مربوط به آن می-شود.

نتیجه گیری کلی

بنابر نتایج بدست آمده در تحقیق پیش‌رو هورمون بنزیل آمینو پورین (BAP) از گروه سیتوکنین، هورمون موثر در باززایی گیاه ریحان شناخته شد. نکته اساسی غلظت به کار رفته از این هورمون در باززایی مستقیم ریحان می‌باشد که سطح ۱/۵ میلی گرم بر لیتر توانست بهترین باززایی را داشته باشد. افزایش غلظت این هورمون تا سطح ۲/۵ میلی گرم بر لیتر باززایی را در هر دو واریته ریحان کاهش داد. بنابر نتایج آزمایش فوق استفاده از سطوح پایین‌تر از هورمون BAP در باززایی مستقیم ریحان توصیه می‌شود.

منابع

Akbas, F., Kuru, I.S. and Karakus, P. (2015). The effects of BAP and KIN on micropropagtion of Ajuga vestita Boiss; a rare rndemic medicinal plant. On Advances In Enviroment, Agriculture and Medicinal Sciences.

Anad, S.P., Velmurugan, G. and Doss, A. (2015). In vitro direct regeneration from nodal explants of *Toddalia asiatica* L. Asia Journal of Plant Science and Research, 5(1):49-53.

Anbrasu, K. and Vijayalakshmi, G. (2007). Improves shelf life of protein rich tofu using *Ocimum sanctum* (tulsi) extracts to benefit. indian rural population. Journal of Food Science, 72(8): M300-305.

Andrade, L.B, Echeverrigaray, S., Fracaro, F. Pauletti, G.F and Rota L. (1999). The effect of growth regulator on shoot propagation and rooting on common lavender (*Lavander vera*). Plant cell, Tissue and Organ Culture, 5(2):79-83.

Asghari, F., Hosseini, A., Hosseini, B. and farokhi, J. (2012). Effect of type genotype and concentrations of Bazyle Adnine on direct regeneration of *Ocimum basilicum*. Journal of Horticultural Science, 26(4):434-439

Begum, F., Amin, N. and Azad, M.A.K. (2002). In vitro rapid clonal propagation of *Ocimum basilicum* L. Plant Tissu Culture, 12: 27-35.

Bowes, K. and Zeheljazkov valtcho, V. (2004). Factors affecting yields and essential oil quality of O.sancatum and O.basilicum L cultivars. Journal .AMBR. Society Horticulture Science, 129(6): 789-794.

Dobranski J. and Teixeira J.A. (2010). Micropropagation of apple- A review. Biotechnology Advances, 28(4):462-488.

Dode, L.B. (2003). In vitro propagation of *Ocimum basilicum* L. Acta Scientiacum Biological Sceinces Maringa, 25(2):435-437.

Echeverrigaray, S., Basso, R. and Andrade, L.B. (2005). MIcropropagation of *Lavandul dentata* from axillary buds of field-grow. Biological plantarum. 49(3):439-442.

Garshasbi, H., omidi, M., Torabi, S. and Davoudy, D. (2009). Effect of phytohormone and explant on callugenesis and regeneration of saifoin (*Onobrychis sativa* L.), 11(2): 101-108.

Grattapaglia, D., Machado, M.A.(1998). Micropropagation In culture de tecidos transformacao genetica de plantas. Embrapa-CNPH, Brasilia,1:183-247.

Hing thoug, W.and Madhialagan, K. (2014). Effect of cytikinins on in vitro regeneration of *Cardamine hirsute* from nodal explants. Journal of Life Sciences and Technologies, 2(2):74-77.

Jana, S., Sivanesan, I. and Jeong, B.R. (2013). Effect of cytokinin on in vitro multiplication of *Sophora tonkinensis*. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 3(7): 549-553.

Javanmardi, J., Khalighi, A., Kashi, A., Bais, H.P and Vivanco, J.M. (2002). Chemical characterization of basil (Ocimum basilicum L.) found in local accessions and used in traditional medicinies in Iran. Journal Agriculture Food Chem, 50(21): 5878-5883.

Javanmardi, J., Stushnoff, C., Locke, E. and Vivanco, J.M. (2003). Antioxidant activity and total phebolic content of Iranian ocimum accessions. Food Chemistry, 83(4): 547-550.

Karimi, M., Kazemitabar, S.K., Azadbakht, M. and Nematzade, G. (2014). Study tissue culture of *Digitalis nervosa* Staud and Hochst. Journal of Crop Breeding , 6(13): 18-28.

Macbr, J.F., Kamaleswari, K., Nandagopalan, V., and Lakshmi prabha, A. (2016). Effects of plant growth regulators on in-vitro regeneration of a potential medicinal plant *Scilla hyacinthine*. Journal of Applied Biology & Biotechnology,4(01):043-046.

Mishra T. (2015). Protocol establishment for multiplication and regeneration of Holy Basil (*Ocimum sanctum* Linn) an important medicinal plant with high religious value in India. Journal Medicinal Plants Studies, 3(4): 16-19.

Mondello, L., Zappia, G., Cotroneo, A., Bonaccorsi, I., Chowdhury J.U., Usuf, M. (2002). Studies on the chemical oil bearing plants of Bangladesh Part VIII. Composition of some ocimum oils *O.basilicum* L. var.prupurascens, *O.sanctum* L.green, *O.sanctum* L.purple,*O.americanum* L.,citral type, *O.americanum* L., camphor type. Flavour and Fragrance Journal, 17(5):335-340.

Monga S. (2014). Effect of 6-benzykl aminu purine on the shooting growth of *Ocimum gratissimum.*In International Research Journal of Pharmacy, 5(2):106-108.

Biotechnology, 8(18): 4667-4671.

Singh, S.K., Anand, A., Verma, S.K., Siddiqui, A.M., Mathur, A. and Saklani, S. (2011). Analysis of phytochemical and antioxidant potential of *Ocimum kilimand schaicum* Linn. International Current Pharmaceutical Research Journal, 3:40-46.

Venkateshwarlu, M. (2012). Direct multiple shoots proliferation of Musk melon (*cucumis melo* L.) from shoot tip explants. International Journal of Pharma and Bio Sciences, 3(2): 645-652.

Vieira, R.F. and Simon, J.E. (2000). Chemical characterization of Basil (Ocimum spp.) found in the markets and used in traditional medicine in Brazil. Economic Botany, 54(2): 207-216.

Oladzade, A., Ghaderi, A., Naghdibadi, H. and Zarekarizi, A. (2012). Rapid increasing of medicinal plant *Lippia citriodora* L. Journal Medicinal Plant, 11(42): 145-153.

Omran, V.G., Bagheri, A. and Moshtaghi, N. (2008). Direct in vitro regeneration of Lentil (*Lens culinaris* Medik). Pakistan Journal of Biological Sciences, 11(18): 2237-2242.

Rout G.R. (2004). Effect of cytokinins and auxin on micropropagation of clitoria ternatea. Biol.Lett. 41(1): 21-26.

Sarwar, S., Zia, M., Rehman, R., Fatimal, Z., Ahmad Sial, R. and ChaudharyM.F. (2009). In vitro regeneration in mint from different explants on half strength MS medium. African Journal of

Journal of Medicinal Plants Biotechnology

Vol 3, No 1, Spring & Summer 2017

Effect of benzylaminopurine (BAP) and variety on Basil regeneration

Fereshteh Heidargholinezhad [1], Hossein Moradi[2*]

[1] MSc. student in Biotechnology and Molecular Genetics of Horticultural Products, Sari Agriculture and Natural Resources University

[2*] Assistant Professor, Department of Horticulture, Faculty of Crop Science, Sari Agriculture and Natural Resources University

Corresponding author address: Mazandaran, Sari Agriculture and Natural Resources University, Postal Code: 578, moradiho@yahoo.com

Abstract

High antioxidant and minerals such as Ca, Fe, ZN and vitamins such as A, C was causing high value in Basil. But asexual reproduction basil by seeds it has diversity and high uniformity. for this reason direct regeneration basil by tissue culture it has production of plants with high uniformity. In this experiment nodal explants of two variety purpule and green Basil put in MS with BAP in three levels0, 1/5, 2/5 mg/L. Qualities investigated was contains number of regeneration, number of root, number of leaf, root length, shoot fresh weight, shoot dry weight, leaf length, shoot length. The effect of hormone treatment in all qualities in 1% was significant. Effect of varities in number of regeneration, fresh weight and dry weight in 1% and other qualities in 5% was significant. In examining the interactions of the variety and concentration hormons showed that was significant on fresh weight and dry weight in level 5%. The highest number of regeneration was obtained in purple Basil in 1/5 mg/L BAP with average regeneration 3/17. According to results purple Basil was suitable varity for tissue culture. Also BAP in 1/5 mg/L on all qualities had the best effect.

Key words: Basil, regeneration , Benzyl aminopurin, Basil, medicinal