فصلنامه

زیست شناسی تکوینی

سال اول، شماره ۴، پاییز ۱۳۸۸

تکثیر نیمه صنعتی گیاه بنفشه آفریقایی (*Saintpaulia inonata*) به روش ریزازدیادی

دکتر علیرضا ایرانبخش*[۱]، دکتر مصطفی عبادی[۲]، دکتر سید محمدمهدی حمدی[۳]

۱- دانشیار گروه آموزشی زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علی آبادکتول، علی آبادکتول، ایران

۲- استادیار گروه آموزشی زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان، دامغان، ایران

۳- استادیار گروه آموزشی زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرمسار، گرمسار، ایران

Iranbakhshar@yahoo.com

چکیده

بنفشه آفریقایی (*Saintpaulia inonata*) گیاهی زیبا و زینتی از تیره *Generiaceae* می باشد. این گیاه مهمترین گونه زینتی از میان ۲۰ گونه متعلق به جنس *Saintpaulia* است. بنفشه آفریقایی به صورت پرورش خانگی و همچنین در مقیاس وسیع به صورت تجاری تولید می‌شود. گیاه بنفشه آفریقایی فاقد بذر بوده و به طور معمول از طریق رویشی (غیرجنسی) تکثیر می‌گردد. در این پژوهش از جداکشت‌های دمبرگی جهت ریزازدیادی استفاده شد. در کلیه آزمایش‌های انجام شده محیط کشت پایه MS مورد استفاده قرار گرفت. در محیط کشت پایه MS از تیمارهای هورمونی BAP با مقادیر ۰، ۰/۰٤، ۰/۰۸ و ۰/۱۲ میلی‌گرم بر لیتر و NAA به میزان ۰، ۱، ۲، ۳ و ٤ میلی‌گرم بر لیتر طبق جدول مربع لاتین استفاده شد. نتایج نشان داد در غلظت‌های ثابت NAA با افزایش تدریجی BAP تعداد برگ های باززایی شده از نمونه‌های جداکشت افزایش معنی‌داری را نشان داده است. به نظر می رسد بهترین محیط القایی و بیشترین میزان باززایی برگ‌ها در مقادیر ۰/۰۸ میلی‌گرم بر لیتر BAP و NAA به میزان ۲ میلی‌گرم بر لیتر می‌باشد. در غلظت ثابت BAP با افزایش تدریجی غلظت NAA تعداد جوانه‌های برگی باززایی شده افزایش یافت اما در غلظت BAP به میزان ۰/۱۲ میلی‌گرم بر لیتر افزایش غلظت NAA کاهشی مشهود در تعداد برگ‌های باززایی شده را نشان داد. در این پژوهش، اثرات غلظت های گوناگون BAP و NAA بر وزن تر و وزن خشک برگ‌های باززایی شده گیاه بنفشه آفریقایی نیز بررسی شد. گیاهان باززایی شده به محیط گذر (ورمی کولیت و پرلیت) جهت سازگاری در شرایط گلخانه‌ای و سپس به درون خاک انتقال داده شدند و تا مرحله زایشی و تشکیل گل مورد حمایت قرار گرفتند.

واژه های کلیدی: ریزازدیادی، بنفشه آفریقایی، BAP و NAA

مقدمه

بنفشه آفریقایی گیاهی زیبا با نام علمی *Saintpaulia ionanta* H .wendland و از تیره *Gesneriaceae* است. بنفشه‌های جنس *Saintpaulia* کمیاب بوده و از جمله گیاهان در معرض خطر می باشد.

Saintpaulia inonata مهمترین گونه زینتی از میان ۲۰ گونه متعلق به جنس *Saintpaulia* است. این گیاه که در مقیاس وسیع بصورت تجاری و نیز خانگی تولید و پرورش داده می شود. تاکنون ۲۰۰۰۰ واریته آن توسط تکنیک‌های پیشرفته تولید شده و سالانه چند صد واریته جدید به آن اضافه می‌گردد. شکل‌رویشی، زمان گل‌دهی و دوره گل‌دهی آن در بنفشه آفریقایی مدرن بهبود یافته، ولی در روش‌های تکثیر سنتی با ژنوتیپ‌های

* عهده دار مکاتبات

Archive of SID

www.SID.ir

محدودی قادر به آمیزش است. از طریق انتقال ژن نیز موفق به داخل کردن مواد ژنتیکی به درون سلول های گیاه و تولید گیاهان تراریخته با ویژگیهای ممتاز زینتی همچون رنگ گلها یا ساختار کلی گیاه شده اند که این مهم با جداکشت‌های برگ‌ها و دمبرگ‌ها صورت گرفته است (7).

برای ازدیاد بنفشه آفریقایی می توان از سه روش کاشت بذر، قلمه برگ و تقسیم بوته استفاده کرد (۸). استفاده از فناوری کشت بافت برای تولید رویشی گیاهان، گسترده ترین کاربرد را در تکنولوژی دارد و برای تمام رده‌های گیاهی مورد استفاده قرار گرفته است (۱).

اولین و تا این تاریخ گسترده‌ترین کاربرد عملی تکنیک های کشت بافت و سلول در فرآورده‌های باغبانی تکثیر نیمه صنعتی و صنعتی گونه‌های زینتی است. در حال حاضر به صورت تجاری گونه‌های مختلف گیاهان زینتی از جمله بنفشه آفریقایی با این روش تکثیر می‌شوند. (۲).

ریزازدیادی، جایگزین مهمی برای شیوه های مرسوم تکثیر گیاه می باشد. این فناوری، فرآوری گیاهان را از بخش های خیلی کوچک گیاه، دربرمی‌گیرد که بطور سترون در ظروف کشت، و در محیط کنترل شده رشد می‌کنند. گیاهان حاصله، از نظر ژنتیکی، همانند گیاهان والدین می باشند (۳).

در روش ریز ازدیادی، برای تکثیر ریزنمونه ها، می‌تواند در ابتدا کالوس بدست آید و سپس به بخش‌های هوایی و ریشه باز تولید شود. تمایز اندام بوسیله نسبت تنظیم کننده‌های رشد از جمله سیتوکنین به اکسین کنترل می‌شود. این نسبت در کشت بافت و سلول بسیار مهم است ریزازدیادی یکی از روش های موفقیت آمیز جهت تولید تجاری این گیاه می باشد (۶).

در چگونگی انتخاب جداکشت های برگی بنفشه آفریقایی، تنوع در دوره گلدهی، تعداد گل برای هر گیاه و شکل های متفاوت گل مشاهده شد. تنوع سوماکلونال در باززایشی های کشت بافت بسیار گسترده است. گستردگی تنوع به عواملی چون ژنوتیپ، سن گیاه دهنده جداکشت، تغییرات سیتوژنتیک، متیلاسیون DNA، نوع جدا کشت و هورمون های گیاهی موجود در محیط کشت وابسته است. بر خلاف تغییرات اپی ژنتیکی، تنوع سوماکلونال که از تغییر بیان ژن صورت می گیرد معمولاً غیر قابل برگشت است. فقط تغییر در اطلاعات ژنتیکی منجر به ظهور لاین های پایدار ژنتیکی می گردد. تغییرات غیر ژنتیکی مکرراً ظاهر شده قابل بازگشت و قابل پیش بینی هستند (۱).

صفحات برگی بنفشه آفریقایی بر روی محیط کشت MS حاوی غلظت های متفاوت BA (بنزیل آمینوپورین) رشد داده شدند و بدون مرحله تشکیل کالوس، شاخه ها تولید شدند. شاخه ها در محیط کشت MS محتوی ۰/۵ میکرومول BA تحت شرایط ۳۵ میکرومول بر میلی متر مربع بر ثانیه شدت نور در دمای ۲۵ ^{o}C نگهداری شدند. سپس تمام گیاهچه‌های حاصله در گلدان های پلاستیکی پر شده با خاک استریل در شرایط گلخانه‌ای نگهداری شدند (۱۵). همچنین تحقیقات دیگر نشان داده شده که در سیستم کشت بافت امکان تولید انواع الگوهای ابلق و یا بافت ناهمسان برگی در جهت بهبود کیفیت صفات ظاهری گیاه در بنفشه آفریقایی وجود دارد (۴).

آزمایش‌های لو و همکاران نشان داد که صفحات برگی که از سمت پشتی بر روی محیط کشت قرار داده شده بودند بر روی محیط BM تنها، تولید جوانه نکردند. در صفحات کشت شده در محیط SIM جوانه ها در روز ۲۳ و ۲۵ (به ترتیب ظهور اولین جوانه پس ۵۰٪ آنها) ظاهر شدند. پیش کشت صفحات برگی بر روی محیط BM برای ۳ روز قبل از انتقال به SIM زمان ظهور اولین جوانه و ۵۰٪ جوانه ها را ۳ روز دیگر افزایش داد. پیش کشت‌های طولانی تر اثری بر کاهش دوره ظهور جوانه نداشت (9). در صفحات برگی کشت شده از سطح برگ اختلاف معنی داری در بر هم کنش تیمار و رقم در درصد و تعداد صفحات برگی تشکیل دهنده شاخه وجود نداشت. مدت قرار گرفتن در معرض هورمون اثر خطی معنی داری بر درصد صفحات برگی تشکیل دهنده شاخه نشان داد. برای هر سه رقم ۵۹٪ از صفحات برگی کشت شده در غیاب هورمون بیرونی تشکیل شاخه دادند. پس از ۶روز قرار گرفتن در محیط SIM (با هورمون) این رقم به ۸۹٪ رسید (۱۰).

طولانی‌تر کردن دوره قرار گرفتن در معرض هورمون سبب افزایش تعداد شاخه برای هر صفحه برگی شد. در

Archive of SID

www.SID.ir

صفحات برگی کشت شده از پشت برگ هیچ شاخه ای برروی محیط های کشت BM تشکیل نگردید. تقریباً ۶۰ ٪ صفحات برگی کشت شده پس از ۳ روز از هورمون دهی شاخه تشکیل دادند. درصد شاخه زایی حدود ۹۰٪ پس از ۹ روز از هورمون‌دهی افزایش یافت. همچنین مدت قرار گرفتن در معرض هورمون اثر معنی داری بر تعداد شاخه برای هر صفحه برگی نشان داد. بیشترین تعداد شاخه در صفحات برگی که در محیط SIM و ۱۲ روز در معرض هورمون بودند ظاهر شد (۱۰). تشکیل مراکز تقسیم سلولی (مریستموئید) منشاء تشکیل پریموردیوم‌های جوانه برگ‌زا بود (۱۱).

مواد و روش‌ها

گیاه بنفشه آفریقایی از مرکز گل و گیاه امام رضا (ع) واقع در کیلومتر ۵ جاده تهران- سمنان تهیه و در گیاهکده دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرمسار شناسایی و تائید شد. گیاهان تهیه شده در مراحل مختلف آزمایش مورد استفاده قرار گرفتند. گیاه بنفشه آفریقایی فاقد بذر بوده و به طور معمول از طریق رویشی (غیر جنسی) تکثیر می شود. در آزمایش های انجام شده، محیط کشت پایه MS مورد استفاده قرار گرفت. محیط MS مطابق با روش ارائه شده توسط Murashige و Skoog (۱۹۶۲) تهیه شد (12). این مواد شامل عناصر پرمصرف و کم مصرف می باشد که به صورت محلول های مادر در حجم های یک لیتری تهیه و در ظروف شیشه ای درب دار و در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شدند.در محیط MS از تیمارهای هورمونی NAA و BAP طبق جدول ۱ زیر برای مطالعه‌ی اثر آنها بر باززایی گیاهان بنفش آفریقایی استفاده شد. از دمبرگ‌ها به عنوان جداکشت‌ها بر روی محیط کشت MS استفاده شد. در هر تیمار هورمونی طبق جدول ۱، پنج تکرار در نظر گرفته شد.

جدول ۱- غلظت‌های هورمونی BAP و NAA به کار گرفته شد برحسب mgl^{-1}.

BAP / NAA	۰	۰/۰۴	۰/۰۸	۰/۱۲
۰	S1	S2	S3	S4
۱	S5	S6	S7	S8
۲	S9	S10	S11	S12
۳	S13	S14	S15	S16
۴	S17	S18	S19	S20

نتایج

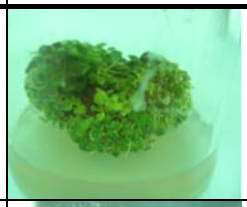
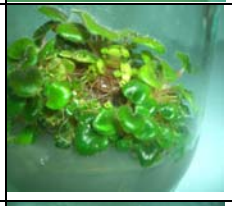
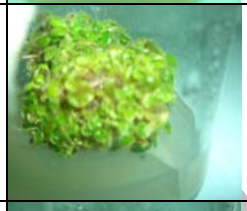
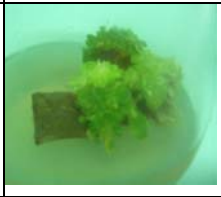
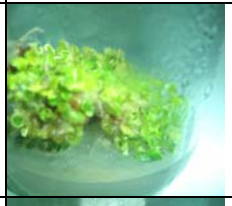
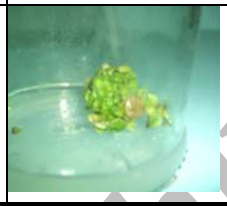
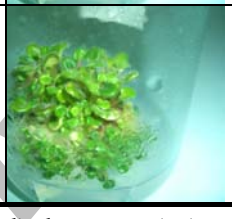
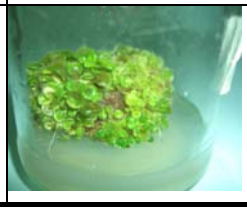
الف) اثرات غلظت‌های گوناگون BAP و NAA بر تعداد برگ‌های باززایی شده از جداکشت‌های برگی و دمبرگی

در غلظت ثابت NAA mgl^{-1}، با افزایش تدریجی BAP تعداد برگ‌های باززایی شده از نمونه‌های جداکشت افزایش معنی‌داری را تا سطح BAP mgl^{-1} ۰/۰۸ نشان داد (شکل ۱، ردیف ۱) (نمودار۱). در نبود NAA، افزایش غلظت BAP تا سطح mgl^{-1}۰/۱۲ افزایش معنی‌دار را بر تعداد برگ‌های تشکیل شده نداشت.

در غلظت ثابت NAA mgl^{-1} ۱ افزایش غلظت وجود BAP باعث افزایش تعداد برگ‌های باززایی شده از نمونه-های جداکشت گردید(شکل ۱، ردیف ۲). به گونه‌ای که در با افزایش غلظت BAP تا سطح BAP mgl^{-1} ۰/۰۴، تعداد برگ‌های باززایی شده افزایش آشکار و معنی‌داری را نسبت به محیط‌های بدون BAP نشان داد. در سطح غلظت ثابت NAA mgl^{-1} ۱ (نمودار۱)، افزایش BAP تا سطح ۰/۰۸ و نیز mgl^{-1} ۰/۱۲، باعث افزایش تعداد برگ‌های باززایی شده گردید اما این افزایش‌ها از نظر آماری معنی‌دار نبود.

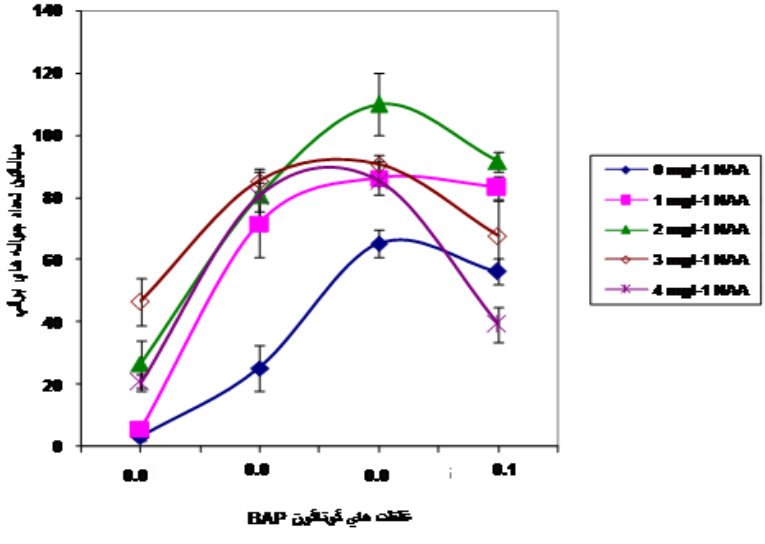
Archive of SID

www.SID.ir

BAP (mgl^{-1}) / NAA (mgl^{-1})	0	0.04	0.08	0.12
0				
1				
2				
3				
4				

شکل۱- باززایی جوانه‌های برگی در محیط‌های MS دارای تیمارهای هورمونی گوناگون از جداکشت دمبرگی گیاه بنفشه آفریقایی.

نمودار۱- اثرات غلظت‌های گوناگون BAP در هر یک از غلظت‌های ثابت NAA بر تعداد برگ‌های باززایی شده‌ی گیاه بنفشه آفریقایی از جداکشت‌های دمبرگی.



www.SID.ir

در غلظت ثابت NAA mgl^{-1} ۲ (شکل ۱، ردیف ۳)، روند افزایش تعداد برگ‌های تشکیل شده بر روی جداکشت، از شیب افزاینده خوبی برخودار است به گونه‌ای که با افزایش غلظت BAP از سطح صفر تا BAP mgl^{-1} ۰/۰۸، تعدا برگ‌های باززایی شده، افزایش معنی‌داری را از نظر آماری پیدا می‌کنند. با افزایش سطح BAP تا سطح BAP mgl^{-1} ۰/۱۲، کاهشی معنی‌دار در تعداد برگ‌های تشکیل شده مشاهده شد. به نظر می‌رسد بهترین محیط القایی، BAP mgl^{-1} ۰/۱۲ همراه NAA mgl^{-1} ۲ می‌باشد.

در غلظت ثابت NAA mgl^{-1} ۳ (شکل ۱، ردیف ۴) افزایش غلظت BAP تا سطوح mgl^{-1} ۰/۰۸-۰/۰۴، اثری افزاینده بر تعداد برگ‌های تشکیل شده داشت اما با افزایش غلظت BAP تعداد برگ‌های باززایی شده روندی کاهشی را نشان داد (نمودار۱). این کاهش به طور معنی-داری بیشتر از BAP mgl^{-1} ۰/۱۲ و NAA mgl^{-1} ۳ بود (نمودار ۱). به نظر می‌رسد در این شرایط القایی بهترین محیط‌های القایی BAP mgl^{-1} ۰/۰۸-۰/۰۴ و NAA mgl^{-1} ۳ بوده است.

در غلظت ثابت NAA mgl^{-1} ۴ (شکل ۱، ردیف ۴) (نمودار ۱)، با افزایش غلظت BAP، افزایش تعداد برگ‌های باززایی شده، روندی سینوسی خود را نشان داد. غلظت‌های بهینه در این شرایط، BAP mgl^{-1} ۰/۰۸-۰/۰۴ و NAA mgl^{-1} ۴ بود که همواره در مقایسه غلظت‌های ثابت mgl^{-1}۳ و NAA mgl^{-1} ۴، اثر افزایشی BAP بر تعداد برگ‌های باززایی شده از جداکشت‌ها کمتر بوده است.

در غلظت ثابت BAP mgl^{-1} (نمودار ۲)، با افزایش تدریجی غلظت NAA تعداد جوانه‌های برگی باززایی شده افزایش می‌یابد. کم‌ترین تعداد برگ‌های باززایی شده در غلظت NAA mgl^{-1}۰ (شکل ۱)، و با افزایش غلظت NAA، تعداد برگ‌ها باززایی شده افزایش معنی‌دار نشان داد و بیشترین تعداد آنها درNAA mgl^{-1} ۳ دیده شد. با افزایش غلظت NAA تا mgl^{-1} ۴ کاهشی معنی‌دار در تعداد برگ‌های باززایی مشاهده شده گردید.

در غلظت ثابت BAP mgl^{-1} ۰/۰۴ (شکل ۱)، روند افزایشی تعداد برگ‌های باززایی شده، نسبت به تیمار قبلی، با شیبی تند، تا غلظت NAA mgl-1 ۱، نشان داد (نمودار ۱). افزایش غلظت NAA افزایشی معنی‌داری را در تعداد جوانه های برگی نشان نداد، به گونه‌ای که از افزایش غلظت NAA از سطح ۱ تا mgl^{-1} ۴، روندی ثابت بدون تفاوت معنی‌دار را نشان داد.

در غلظت ثابت BAP mgl^{-1} ۰/۰۸ (شکل ۱)، افزایش غلظت NAAدر مجموع، بیشترین افزایش تعداد برگ‌های باززایی شده در مقایسه با دیگر تیمارها نشان داد و بیشترین تعداد جوانه‌های برگی در غلظت‌های mgl^{-1} BAP ۰/۰۸ و NAA mgl^{-1} ۲، مشاهده گردید. با افزایش غلظت NAA تا سطح NAA mgl^{-1} ۴ اثر کاهشی معنی‌داری را در باززایی برگ‌ها داشت.

در غلظت ثابت BAP mgl^{-1} ۰/۱۲ (شکل ۱)، افزایش غلظت NAA روندی همسان با تیماری قبلی، اما کاهشی مشهود در تعداد برگ‌های باززایی شده، نشان داد. اما اثرات غلظت‌های بالای هر دو هورمون BAP و NAA اثرات بازدارنده‌ی شدیدتری را باززایی گیاهان جدید نشان داد به گونه‌ای که شیب افت باززایی، پس از غلظت‌های BAP mgl^{-1} ۰/۱۲ و NAA mgl^{-1} ۲، بسیار مشهود و معنی‌دار است.

ب) اثرات غلظت‌های گوناگون BAP و NAA بر وزن تر و وزن خشک جداکشت‌ها باززایی شده

تغییرات وزن تر در هر یک از غلظت‌های ثابتBAP، در مجموع روندی افزایشی را نسبت به محیط بدون هورمون نشان می‌دهد (نمودار ۲). این تغییرات شباهت بسیاری به تغییرات تعداد گیاهان باززایی شده است اما تفاوت اشکار و معنی‌داری تنها در غلظت‌های mgl^{-1}۳ و NAA mgl^{-1} ۴ به همراه BAP mgl^{-1} ۰/۰۴ دید شد که در مقایسه با همین غلظت‌های NAA اما با BAP mgl^{-1}۰/۰۸، به روند افزایشی وزن تر خود ادامه می‌دهند که می‌تواند نشانگر افزایش ترکیبات محلول نمکی یا قندها جذب شده در آنها باشد. دیگر تیمارها روند تغییراتی همسان با تعداد گیاهان باززایی شده در گروه‌های مشابه دارند.

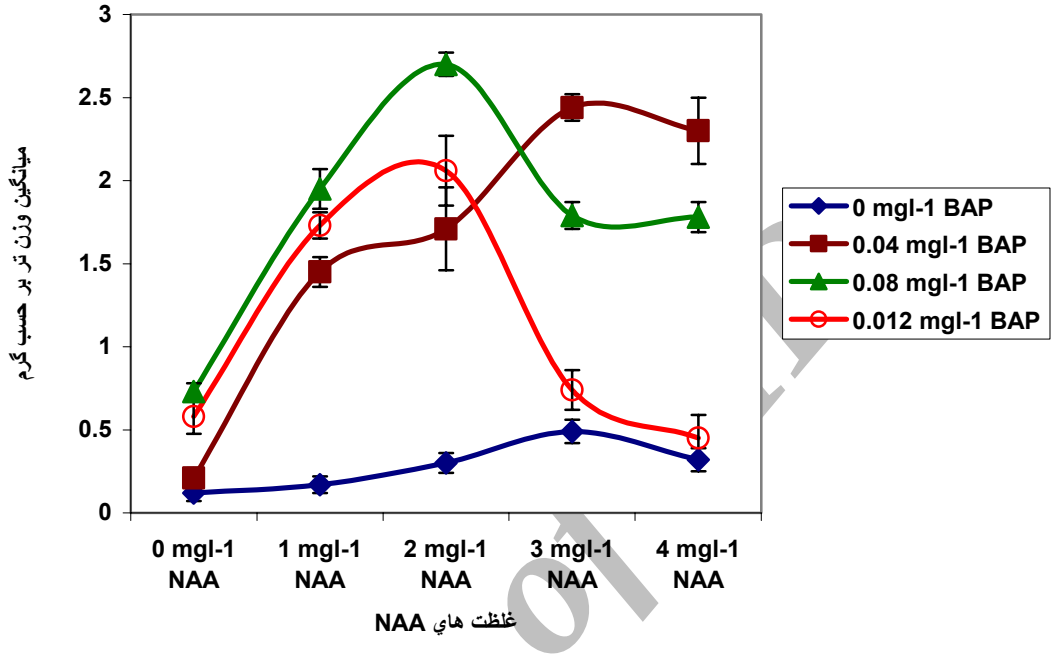
بیشترین کاهش وزن تر در غلظت‌های BAP mgl^{-1} ۰/۰۸ و ۰/۱۲ هنگامی مشاهده شد که غلظت‌های NAA به سطح NAA mgl^{-1} ۳ و mgl^{-1} ۴ رسید (نمودار ۲). این کاهش وزن در غلظت‌های ثابت ۰، ۱ و BAP mgl^{-1} ۲

Archive of SID

www.SID.ir

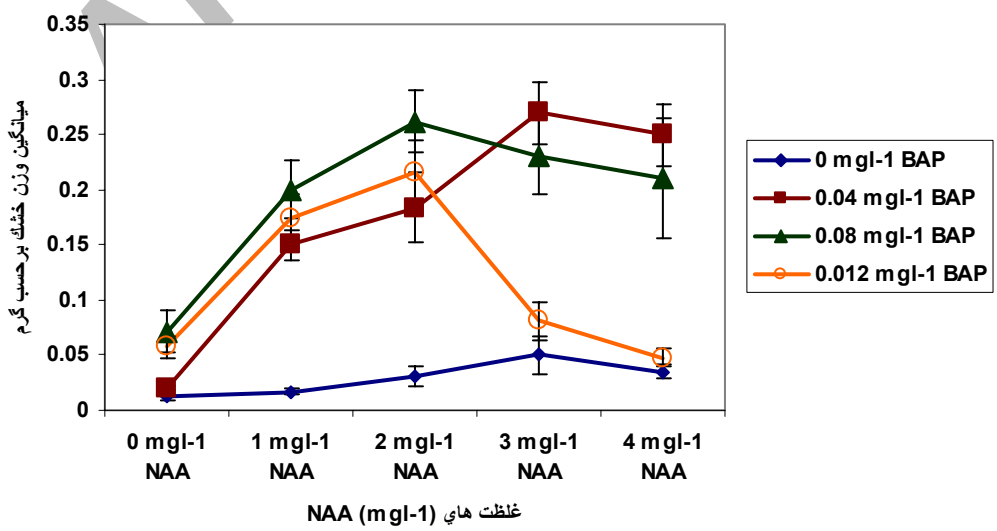
به اندازه‌ی دو تیمار قبلی که ذکر شد نمی‌باشد که می‌تواند نشانگر توانایی گیاهان این تیمار در جذب آب بیشتر و شادابی بیشتر آنها باشد.

نمودار ۲- اثرات غلظت‌های گوناگون NAA در هر یک از غلظت‌های ثابت BAP بر وزن تر برگ‌های باززایی شده‌ی گیاه بنفشه آفریقایی از جداکشت‌ها.



تغییرات وزن خشک همچون تغییرات وزن تر بود (نمودار ۳). در مجموع بیشترین وزن‌های در نمونه‌های دیده شد که تیمارهای هورمونی را دریافت داشته‌اند، اما ماده سازی در گیاهان باززایی شده در غلظت ثابت BAP ۰/۱۲ mgl^{-1}، همراه با غلظت‌های ۳ و ۴ mgl^{-1} NAA، به شدت کاهش از خود نشان داد (نمودار ۶).

نمودار ۳- اثرات غلظت‌های گوناگون NAA در هر یک از غلظت‌های ثابت BAP بر وزن خشک برگ‌های باززایی شده‌ی گیاه بنفشه آفریقایی از جداکشت‌ها.



Archive of SID
www.SID.ir

محیط انتقال به خاک

برای ریشه دار کردن جداشت‌های تکثیری، نمونه‌ها به محیط MS بدون هورمون انتقال داده شدند. پس از سه هفته، و با ظاهر شدن ریشه‌های نابجا، نمونه از شرایط درون‌شیشه‌ای خارج شدن، با شستن آگار موجود بر روی ریشه، گیاهان باززایی شده، جهت سازگاری برای زمانی نزدیک به ۲ هفته به محیط گذر (ورمی کولیت و پرلیت) در شرایط گلخانه‌ای و سپس به درون خاک انتقال داده شدند و تا مرحله زایشی و تشکیل گل مورد حمایت قرار گرفتند (شکل ۲).

شکل ۲- گیاه باززایی شده به روش کشت بافت در مرحله‌ی گلدهی.

بحث

Saintpaulia ionnata، نام علمی گیاه بنفشه آفریقایی و متعلق به خانواده ی Generiaceae است. این گونه دارای رقم‌های متنوع بسیار زیاد با رنگ‌ها مختلف گل و شکل‌ها و رنگ‌های متنوع برگی است. در جهان نزدیک به ۲۰۰۰ رقم با روش‌های اصلاحی مرسوم تولید شده است. این گیاه گیاهی خانگی با ظاهر زیبا مقاوم به شرایط سایه در خانه و توانایی گلدهی در برابر نور مصنوعی است وآسانی تجاری تکثیر رویشی برای سالهای متمادی است(۱۳). تا به امروز روش‌های ریزازدیادی برای تولید شمار زیادی گیاهان به کار گرفته شده است. بنفشه آفریقایی سامانه مناسبی برای باززایی در شرایط *in vitro* است زیرا توانایی باززایی بالایی دارد (۱۵و۱۴). افزایش گیاهان سالم مادری از طریق کشت بافت و حفظ پایه‌های حقیقی از اهمیت زیادی برای این گیاه برخوردار است. همانند دیگر گونه‌های گیاهی، تنظیم‌کننده‌های رشد در محیط کشت، فاکتور اصلی موثر بر باززایی شاخه‌های بنفشه آفریقایی در شرایط *in vitro* است(۱۵). باززایی اندام‌های فرعی از سلول‌های در حال تکثیر با توانایی بالایی در این گیاه رخ می‌دهد. اندام‌های نابجا از بافت اولیه (اندام‌زایی مستقیم) یا از طریق کالوس (اندام‌زایی غیرمستقیم) انجام می‌پذیرد. یافته‌های علمی نشان داده است که جداکشت‌های متنوع از بنفشه آفریقایی در محیط کشت MS، با به کارگیری آمیزه‌ای از تنظیم‌کننده‌های رشد NAA و BAP، IAA و BAP و نیز IAA و Kin انجام پذیرفته شده است. باززایی شاخه بر روی محیط MS در دیگر گیاهان چون میخک، بگونیا (۱۶) نیز انجام گرفته است. کشت *in vitro* بنفشه آفریقایی با استفاده از جداکشت‌های گوناگون چون برگ (۱۸و۱۷)، جوانه گل و بافت زیر اپیدرم (۱۵)، بساک، پروتوپلاست (۲۱و۲۰) انجام پذیرفته شده است.

در محیط‌های MS بدون هورمون اندام‌زایی بسیار ضعیف است و تعداد شاخه‌های باززایی شده در مقایسه با دیگر تیمارهای هورمونی بسیار اندک بود. NAA و BAP هر یک به تنهایی توانایی القاء اندام‌زایی مستقیم را از جداکشت‌های دمبرگی داشتند. در مجموعه BAP به تنهایی توانایی بیشتری نسبت به NAA در افزایش تعداد شاخه‌ها و برگ‌های تشکیل شده داشت. سطح مناسب علظت BAP بدون NAA برای اندام‌زایی mgl^{-1} ۰/۰۸-۰/۱۲ بود در حالی‌که NAA به تنهایی در غلظت mgl^{-1} ۳ اثر بهینه در اندام‌زایی از جداکشت‌های دمبرگی داشت.

وجود همزمان هر دو هورمون BAP و NAA اثرات مناسبی در القاء اندام‌زایی مستقیم داشت. در صورتی که در محیط کشت MS، BAP در محیط کشت وجود داشته باشد نیاز به NAA برای اندام‌زایی کاهش می‌یابد.

در غلظت ثابت BAP mgl^{-1} ۰/۰۴، افزایش NAA از صفر تا mgl^{-1} ۴ روند افزایش را در تعداد جوانه‌های برگی نشان می‌دهد و کاهش القاء شاخه‌زایی در غلظت‌های بالای NAA مشاهده نشد. در دیگر گروه‌های تیماری، روند افزایش القاء شاخه‌زایی شکل سینوسی از

Archive of SID

www.SID.ir

خود نشان داد. غلظت‌های بالای NAA و BAP، به ویژه غلظت‌های بالای NAA، اثر بازدارنده را بر شاخه‌زایی دارند. گمان می‌رود این غلظت‌های افراطی با اثر سمیت شاخه‌زایی را کاهش می‌دهند.

روند تغییرات وزن تر و خشک گیاهان باززایی شده در مجموع همسو با روند تعداد شاخه‌ها و برگ‌های باززایی شده است. اما باید گفت از نظر وزن تر بهترین محیط کشت ۲ mgl^{-1}NAA، و ۰/۰۴-۰/۰۸ mgl^{-1} BAP است. اثر غلظت‌های بالای ۳-۴ mgl^{-1}NAA، بر کاهش وزن تر بسیار شدید بود به گونه‌ای که از سطح ۲ mgl^{-1}NAA به بعد، روند کاهش وزن تر، روند نزولی شدید، با شیب تند را نشان می‌دهد. بالاترین وزن خشک در نمونه‌های باززایی شده در در محیط‌های کشت دارای ۳-۴ mgl^{-1}NAA، و ۰/۰۴-۰/۰۸ mgl^{-1} BAP، دیده شد. مقایسه میان تغییرات وزن تر و وزن خشک نمونه‌های باززایی شده نشانگر توانایی مناسب‌تر گیاهان در جذب آب از محیط کشت در غلظت‌های پایین‌تر NAA (۲ mgl^{-1}NAA) است.

افزایش غلظت ترکیب NAA و BAP از سطح بهینه، باززایی گیاه را کاهش داد. به گونه‌ای که در غلظت‌های ۳-۴ mgl^{-1}NAA، و ۰/۱۲ mgl^{-1} BAP، اندام‌زایی در مجموعه روندی کاهشی را از خود نشان می‌دهد. افزایش تدریجی BAP تعداد برگ‌های باززایی شده از نمونه‌های جداکشت افزایش معنی‌داری را تا سطح ۰/۰۸ mgl^{-1} BAP نشان داد. در نبود NAA، افزایش غلظت BAP تا سطح ۰/۱۲mgl^{-1} افزایش معنی‌دار را بر تعداد برگ‌های تشکیل شده نداشت. بهترین محیط القایی، ۰/۰۸ mgl^{-1} BAP همراه با ۲ mgl^{-1} NAA می‌باشد.در مجموع بیشترین وزن‌های تر در نمونه‌هایی دیده شد که تیمارهای هورمونی را دریافت داشته‌اند، اما ماده‌سازی در گیاهان باززایی شده در غلظت ثابت ۰/۱۲ mgl^{-1} BAP، کاهش از خود نشان می‌دهد.

BAP به شدت باززایی شاخه‌های فرعی را از دمبرگ بنفشه آفریقایی (22) مانند دیگر گونه‌ها چون میخک (Vasquez و Short، ۱۹۸۲)، ژربرا افزایش می‌دهد. تعادل اکسین/سیتوکینین یکی از فاکتورهای تعیین‌کننده‌ی موثر بر ریخت‌زایی از جداکشت‌های دمبرگی به منظور افزایش تعداد شاخه‌های رویشی است. این ترکیبات باعث برهم‌کنش‌هایی می‌شوند که روند پاسخ‌های ریخت‌زایی را تغییر می‌دهند. بنابراین، هنگامی‌که NAA به همراه BA به کار می‌رود، باززایی شاخه‌ها به طور معنی‌داری افزایش می‌یابد. باززایی مستقیم بنفشه آفریقایی از طریق کشت دمبرگ و برگ آسان‌تر انجام می‌پذیرد (۲۸). جداکشت‌های برگی بنفشه آفریقایی برای کال‌زایی به شدت به اکسین نیاز دارند. به گمان، اکسین‌ها در اندام شاخه‌ای ساخته شده به دیگر بخش‌ها چون برگ انتقال می‌یابد.

قطعات برگی و دمبرگی بنفشه آفریقایی توانایی باززایی بالایی (۱۰۰٪-۹۰٪) را بر روی محیط کشت MS دارند (22). افزودن هورمون‌ها به محیط MS با پاسخ‌های مناسب‌تر برای تکثیر شاخه‌های زیاد از جداکشت‌های گوناگون همراه است. گزارش‌های زیادی وجود دارد که نشان می‌دهند که بنفشه آفریقایی در محیط MS دارای NAA و BAP و ترکیبی از آنها به خوبی تکثیر می‌شوند (22). شاخه‌ها در سطح برش خورده‌ی دمبرگ‌های کشت شده بر روی محیط کشت، تشکیل شدند. شاخه‌زایی به طور مستقیم بدون کال‌زایی رخ می‌دهد که نشانگر مناسب بودن شرایط برای اندام‌زایی مستقیم و نامناسب بودن شرایط برای اندام‌زایی غیرمستقیم است. مشاهده‌ی باززایی شاخه از جداکشت‌های دمبرگی بر روی محیط کشت MS دارای اکسین و سیتوکینین نشان می‌دهد تعداد شاخه‌های تشکیل شده، به سطح هورمون‌ها در محیط کشت بستگی دارد. انواع گوناگون ترکیب اکسینی و سیتوکینینی از فاکتورهای تعیین کننده‌ی موثر بر اندام‌زایی است.

توانایی ریخت‌زایی می‌تواند توام با هورمون‌های درون‌زای موجود در جداکشت‌ها باشد. این احتمال می‌رود که اکسین درون‌زاد در شاخه‌ها ساخته شود و به دیگر بخش‌ها چون دمبرگ انتقال یابد. اکسین درون‌زاد را می‌توان با تامین NAA در محیط کشت جبران کرد. آمیزه‌ای از NAA و BAP برای القاء باززایی شاخه‌ها در بنفشه آفریقایی مورد نیاز است. برگ‌های تشکیل شده در گیاهان باززایی شده ضخیم، کرکی، بیضوی شکل، سبز روشن با اندازه‌ی کوچک بودند. آرایش برگی روزت بود و حاشیه برگ‌ها شبیه بگ‌های گیاه کامل ناهموار بود.

Archive of SID

www.SID.ir

منابع:

۱- **ایرانبخش. ع. ر، عبادی. م (۱۳۸۹).** کشت بافت و سلولی گیاهی. انتشارات دانشگاه آزاد اسلامی- واحد علی‌آباد کتول.

۲- **میر. م،** اهمیت بیوتکنولوژی گیاهی و حوزه های مختلف کاربرد آن ذکر شده در سایت bio.itan .ir

۳- **قائمی. ع.** (۱۳۷۵). ریزازدیادی بنفشه آفریقایی، سازمان پژوهش‌های علمی وصنعتی ایران، مقاله شماره ۱۰۳۵.

۴- **شجیعی. ک، نادری. ر، خلیقی. ا. (۱۳۸۵).** مطالعه و ارزیابی الگوهای ابلقی برگ و جهش یافته‌های کاستی کلروفیل بدست آمده از تنوعات کلونال در بنفشه آفریقایی، مجله علوم کشاورزی، جلد ۳۷ شماره ۱، صفحات ۳۲-۲۳

۵- **قائمی. ع.** (۱۳۷۵). ریزازدیادی بنفشه آفریقایی، سازمان پژوهش‌های علمی وصنعتی ایران، مقاله شماره ۱۰۳۵.

۶- **میر. م،** اهمیت بیوتکنولوژی گیاهی و حوزه های مختلف کاربرد آن ذکر شده در سایت bio.itan .ir

7- **Mercuri. A. (2000).** *Agrobacterium*-mediated transformation of African violet, *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 60: 39–46.

8- **Mithila. J, Hall. J. C, Victor. J. M. R. (2003).** Thidiazuron induces shoot organogenesis at low concentrations and somatic embryogenesis at high concentrations on leaf and petiole explants of African violet. *Plant Cell Rep.* 21:408–414.

9- **JAIN. S. M. (1997).** Micropropagation of selected somaclones of *Begonia* and *Saintpaulia*, *J. Biosci*, Vol. 22, pp 585–592

10- **Lo. K. H, Giles. K. L, Sawhney. V. K. (1997).** Histological changes associated with acquisition of competence for shoot regeneration in leaf discs of *Saintpaulia ionanta & confusa* hybrids (African violet) cultured *in vitro*, *Plant Cell Reports*.16: 421–425.

11- **Kolehmainen. J, Mutikainen. P. (2007).** Population stage structure, survival and recruitment in the endangered East African forest herb *Saintpaulia*. *Plant Ecol* 192:85–95.

12- **Murashige, T. and Skoog, F. (1962).** A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant. 15: 473-497

13- **Grout B. W. W. (1990).** African Violet. In: Ammirato P. V., Evans D. A., Sharp W. R., Bajaj Y. P. S. (Eds). Handbook of Plant Cell Culture, Vol 5. . McGraw-Hill Publishing. Company, New York: 181-205

14- **Lo. K. H, Giles. K. L, Sawhney. V. K. (1997).** Acquisition of competence for shoot regeneration in leaf discs of *Saintpaulia ionanta & confusa* hybrids (African violet) cultured *in vitro*. *Plant Cell Reports*.16: 416–420.

15- **Lo. K. H, Giles. K. L, Sawhney. V. K. (1997).** Histological changes associated with acquisition of competence for shoot regeneration in leaf discs of *Saintpaulia ionanta & confusa* hybrids (African violet) cultured *in vitro*, *Plant Cell Reports*.16: 421–425.

16- **Fonnesbech. M, (1974).** The influence Of NAA, BA and temperature on shoot and root development form Begonia x cheimantha petiole segments grown invitro. Physiol. Plant. 32 (1): 49-54.

17- **Smith, R. H, Norris, R. E. (1983).** *In vitro* propagation of African Violet chimeras. HortScience. 18(4): 436-437.

18- **Start, N. D, Cumming, B. G. (1976).** *In vitro* propagation of *Saintpaulia ionanta* Wendl., HortScience 11(3): 204-206.

19- **Bilkey, P. C. and Cocking, E. C. (1981).** Increased plant vigor by *in*

Archive of SID

www.SID.ir

vitro propagation of *Saintpaulia ionantha* Wendl., from subepidermal tissue. HortScience 16: 643-644.

20- Hoshino, Y, Nakano, M, Mii, M. (1995). Plant regeneration from cell suspension-derived protoplasts of *Saintpaulia ionantha* Wendl. Plant Cell Reports. 14: 341-344.

21- Yam. T. W, Arditti. J. (2009). Review History of orchid propagation: a mirror of the history of biotechnology, Plant Biotechnol Rep 3:1–56

22- Sunpui. W, Kanchanapoom. K. (2002). Plant regeneration from petiole and leaf of African violet (*Saintpaulia ionanta* Wendl.) cultured *in vitro.* Songklanakarin J. Sci. Technol. 24 (3). 45-50.

.

Archive of SID

www.SID.ir