



اثر میدان مغناطیسی بر اندام‌زایی مستقیم ریزنمونه بنفشه آفریقایی (*Saintpaulia ionantha*) در محیط فاقد و دارای تنظیم‌کننده‌های رشد

معصومه رحمتی‌نیا^۱، حسین مرادی^۲، ولی‌الله قاسمی عمران^۳ و مهدی حدادی نژاد^۴

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم باغبانی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
۲ و ۴- استادیاران گروه علوم باغبانی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، (نویسنده مسوول: moradiho@yahoo.com)
۳- استادیار، پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری کشاورزی طبرستان دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
تاریخ دریافت: ۹۵/۷/۲۵ تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۲/۸

چکیده

به منظور مطالعه تناوب زمان قرارگیری در معرض میدان مغناطیسی (۹/ میلی تسلا) بر باززایی مستقیم بنفشه آفریقایی از ریزنمونه برگ در محیط MS فاقد و دارای تنظیم‌کننده رشد دو آزمایش انجام شد. آزمایش اول بصورت طرح کاملاً تصادفی با اعمال سه سطح میدان مغناطیسی (۵ روز پیوسته، ۵ روز ناپیوسته و شاهد) در محیط کشت‌های فاقد تنظیم‌کننده رشد با ۶ تکرار انجام شد. آزمایش دوم بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. فاکتورهای آزمایش شامل دو نوع تنظیم‌کننده رشد اکسین و سائیتوکینین در دو سطح صفر، یک و سه میلی‌گرم و سه سطح میدان مغناطیسی (۵ روز پیوسته، ۵ روز ناپیوسته و شاهد) بودند. این آزمایش نیز با ۶ تکرار انجام شد. نتایج نشان داد ریزنمونه‌های قرار گرفته در معرض میدان ناپیوسته بیشترین (۷/۰۸) و در گروه شاهد (۲/۳۵) کمترین تعداد گیاهچه را تولید نمودند. میدان مغناطیسی در نبود تنظیم‌کننده‌های رشد اثر معنی‌داری بر طول گیاهچه نداشت اما این اثر در حضور تنظیم‌کننده‌ها بر طول ساقچه معنی‌دار بود. افزایش تعداد برگ نیز در اثر دریافت میدان مغناطیسی پیوسته (۴/۴) و ناپیوسته (۴/۷) در محیط فاقد تنظیم‌کننده‌های رشد تقریباً دوبرابر شاهد (۲/۷۷) و معنی‌دار شد. وزن تر و خشک در شرایط میدان مغناطیسی ناپیوسته (۰/۴۹، ۰/۳۳ میلی‌گرم) بطور معنی‌داری نتیجه بهتری را نسبت به پیوسته (۰/۳۵، ۰/۲۲ میلی‌گرم) در شرایط بدون تنظیم‌کننده‌های رشد نشان داد. نتایج نشان داد وقتی که ریزنمونه‌ها در محیط حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر تنظیم‌کننده‌های رشد، به مدت ۵ روز به صورت پیوسته در معرض میدان مغناطیسی قرار بگیرند از وزن تر و خشک بیشتری در مقایسه با محیط کشت حاوی ۳ میلی‌گرم در لیتر تنظیم‌کننده‌های رشد برخوردار خواهند بود. به نظر می‌رسد در این آزمایش میدان مغناطیسی به‌عنوان یک تنش غیرزیستی ملایم موجب تحریک در تقسیم و طول شدن سلول‌ها و در نتیجه رشد گیاه گردید.

واژه‌های کلیدی: ریزنمونه، تنش، وزن تر و خشک، بنفشه آفریقایی

مقدمه

و الکترومغناطیسی را افزایش داده است (۱). به‌طور کلی، روش‌های بیوفیزیکی با سطح بالای انرژی قادر به تاثیرگذاری بر فرایند رشد و نمو گیاهان هستند. این روش‌ها منجر به افزایش پتانسیل الکتریکی غشاء سلول و مقدار انرژی گیاه برای رشد بصورت مستقل از منشاء می‌گردند. روش‌های فیزیکی تحریک‌کننده، سمت و سوی فرآیندهای فیزیولوژیکی تحت کنترل ژنتیک گیاه را تغییر نمی‌دهند، به‌عبارت دیگر، آن‌ها بدون دستکاری ژنتیکی رشد و فرایندهای متابولیکی را تحریک می‌نمایند (۵). بررسی‌های متعدد نشان داده میدان مغناطیسی می‌تواند بر توسعه کشت بافت سلول اثر گذارد. میزان رشد شاخساره و ریشه گیاه *Paulownia* در شرایط کشت بافت تحت تاثیر میدان مغناطیسی (۲/۹ و ۵/۸ میکرو تسلا) به مدت ۲/۲، ۶/۶ و ۱۹/۶ ثانیه نسبت به شاهد بهبود یافته و افزایش داشته است (۱۷، ۲۶). نتایج بررسی اثر میدان مغناطیسی با شدت‌های ۲/۹ و ۴/۸ میلی‌تسلا با سرعت جریان یک متر بر ثانیه با دوره‌های زمانی صفر، ۲/۲، ۶/۶ و ۱۹/۸ ثانیه برای سه، پنج، هفت و ۱۴ روز روی کشت بافت گیاه *Paulownia tomentosa* و *Paulownia fortune* نشان داد تیمار میدان مغناطیسی در افزایش قابلیت و کاهش دوره ریزازدیادی گیاهان موثر است. بیست و هشت روز پس از

دریافت پرتوهای الکترومغناطیسی از سرچشمه‌های طبیعی زمینی و کیهانی سابقه دیرینه دارد. اما پایه‌گذاری عصر اطلاعات بر فیزیک امواج الکترومغناطیسی، منجر به این شده که افراد و گیاهان در پیرامون خود در معرض حجم گسترده‌ای از امواج مغناطیسی قرار گیرند. دامنه پراکندگی و اثرگذاری این امواج و میدان‌های مغناطیسی و الکترومغناطیسی آن‌ها، می‌تواند مفید یا تنش‌زا و فراتر از دانش کنونی بشر باشد (۱۱). عوامل تنش‌زای محیطی هم بر اکثر مراحل رشد گیاه تاثیر دارد (۱۶) و در این راستا نیازمند پژوهش‌های بیشتر است. آشنایی بشر با ماهیت الکتریسته و مغناطیس قدمتی چند صد ساله دارد و از آن زمان خواص و انرژی آن‌ها در جهت مقاصد مختلف به‌کار گرفته و بخشی از تمدن امروزی بر پایه استفاده از همین انرژی‌ها بنا شده است (۸). میدان‌های الکترومغناطیسی عامل محیطی اجتناب‌ناپذیری برای جانداران هستند که اخیراً تحقیقات زیادی برای بررسی اثر آن انجام شده است (۳). تاثیر میدان‌های مغناطیسی با شدت کم بر فرایندهای زیستی درون شیشه‌ای^۱ و برون شیشه‌ای^۲ مطالعه شده است. استفاده گسترده و سریع از دستگاه‌های متفاوت الکتریکی و الکترونیکی، پیدایش و ظهور فرکانس‌های میکروویو و رادیویی، میدان‌های مغناطیسی

دارند. در صورتی که بتوان با استفاده از میدان مغناطیسی در زمینه مصرف مواد شیمیایی ضروری صرفه جویی نمود، می‌توان امیدوار بود که هزینه تمام شده تولید نیز کاهش یابد. با توجه به ارزش تجاری بالای گیاه زینتی بنفشه آفریقایی و مزایای گیاه افزایی آن با کشت بافت این پژوهش با هدف ارزیابی امکان استفاده مطلوب از مزایای میدان مغناطیسی در محیط‌های کشت بافت فاقد و دارای هورمون این گیاه صورت پذیرفت.

مواد و روش‌ها تهیه نمونه‌ها

برای انجام این پژوهش از گیاهان بنفشه آفریقایی (*Saintpaulia ionantha*) یکی از شرکت‌های دانش بنیان پژوهش‌کننده ژنتیک و فناوری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری استفاده شد. برگ‌ها به مدت ۱۵ دقیقه زیر شیر آب شسته شده و در اتانول ۷۰ درصد برای مدت یک دقیقه استریل گردیدند. سپس بوسیله آب مقطر شستشو شده و جهت تکمیل استریل سطحی، به مدت ۱۵ دقیقه در محلول وایتکس ۵ درصد غوطه‌ور شدند. بعد از استریل شدن قطعه‌هایی به ابعاد ۰/۵ سانتی‌متر از برگ جدا و در محیط پایه موراشیگ و اسکوک (MS) حاوی مقدار ۳۰ گرم در لیتر ساکارز و هشت گرم در لیتر آگار کشت شدند.

دستگاه اعمال میدان مغناطیسی

دستگاه مولد میدان مغناطیسی برای اولین بار در این آزمایش (شکل ۱) به کار گرفته شد. در این دستگاه، میدان مغناطیسی حول لوله استوانه‌ای از جنس P.V.C به قطر ۲۵cm-۳۰ و طول ۳۵cm-۳۰ و از طریق ۱۲۰۰ دور سیم مسی به قطر یک میلی‌متر در چهار لایه پیچیده شده تولید می‌گردید. یک خروجی برای سیم لوله در نظر گرفته شده که به انتخاب‌گر هشت حالت متصل می‌گردد. طراحی مدار به گونه‌ای بود که می‌توانست میدان‌های AC (بدون استفاده از پل دیود) و DC (با استفاده از پل دیود) ایجاد نماید.

شروع کشت بافت، اثر مثبت میدان مغناطیسی بر وزن تر، تعداد برگ، طول و مقدار کلروفیل در ریزنمونه‌های حاصل از گره گیاهان مورد نظر مشاهده شد. اثر مدت زمان میدان مغناطیسی با یکدیگر متفاوت و نسبت به شاهد برتری داشت (۱۸). در پژوهشی دیگر تاثیر میدان الکترومغناطیسی با چهار شدت ۸۰۰، ۴۰۰، ۱۰۰ و ۱۵ میکرو تسلا و ۴ دوره زمانی را بر سرعت تکثیر جنسی گل زینتی آهار بررسی نمودند و دریافتند میدان مغناطیسی از طریق ایجاد تغییرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی منجر به جذب سریعتر آب و شدت بیشتر تنفس در زمان جوانه‌زنی بذر می‌شود (۱۹).

در بررسی اثر میدان روی فعالیت آنزیم پراکسیداز در کشت بافت سویا، ریزنمونه‌ها در معرض میدان با شدت‌های ۲/۹ و ۴/۶ با دوره زمانی ۲/۲ و ۱۹/۸ ثانیه قرار گرفتند. میزان تشکیل ساقچه و ریشه، وزن تر، مقدار کلروفیل، غلظت RNA و فعالیت آنزیم پراکسیداز در ساقه‌های باززایی شده مورد بررسی قرار گرفت (۴). نتایج بدست آمده از این تحقیق نشان داد میزان رشد و تشکیل ساقه در گروه شاهد ۲۸/۵۷ درصد بوده است که این مقدار در نمونه‌های تحت تیمار میدان تا ۹۴/۳۳ درصد و ۷۸/۱۸ درصد به ترتیب در دوره‌های زمانی ۲/۲ و ۱۹/۸ ثانیه افزایش داشته است. درصد تشکیل ریشه در گروه شاهد ۴/۷۶۵ درصد بوده در حالی که در همان دوره زمانی در گیاهان تحت تیمار میدان مغناطیسی به ترتیب به ۴۷/۱۷ درصد و ۵۴/۵۴ درصد افزایش نشان داده است. وزن تر گیاهچه‌های باززایی شده حاصل از تیمار میدان مغناطیسی نیز نسبت به شاهد افزایش داشت.

باززایی گیاه از طریق کشت بافت در حال حاضر یک فرآیند ضروری و اساسی در بیوتکنولوژی و اصلاح نباتات به‌شمار می‌رود. فصل، سن و وضعیت فیزیولوژیکی گیاه والد، محیط کشت پایه و ترکیب مناسب هورمون‌ها نیز در موفقیت اندام‌زایی در کشت‌های سلولی اهمیت دارند (۱۵).

از عواملی که باعث بالا رفتن هزینه‌های ریز ازدیادی گیاهانی همچون بنفشه آفریقایی می‌شود، هزینه‌های مربوط به عناصر غذایی و تنظیم‌کننده‌های رشد در محیط کشت می‌باشد که جزء مواد شیمیایی هستند و هزینه‌های بالایی

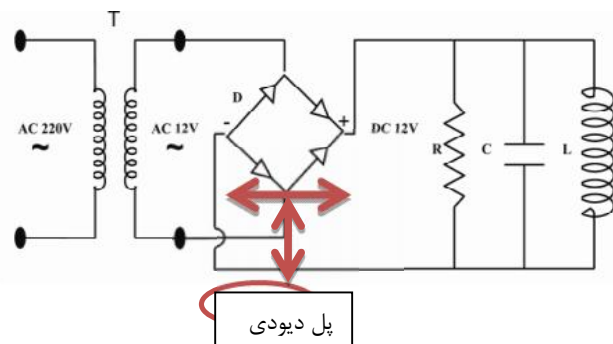


شکل ۱- دستگاه تولیدکننده میدان مغناطیسی و چیدمان کشت‌ها برای قرار گرفتن در معرض میدان (شیشه‌های زیرین نقش نگهدارنده دارند و جزو آزمایش نمی‌باشند)

Figure1. The device of magnetic field production and the arrangement of cultures for the magnetic field exposure (only upper jams used and the under jams was base for upper ones)

برای ایجاد هشت سطح متفاوت ولتاژ و شدت میدان مغناطیسی متفاوت که در شکل (۲) فقط سطح ولتاژ ۱۲ ولت نمایش داده شده است.

شکل (۲) مدار و نحوه تولید میدان مغناطیسی را نشان می‌دهد. عناصر تشکیل دهنده این مدار شامل یک ترانس اولیه با برق شهری (۲۲۰ ولت)، یک انتخابگر هشت حالت



شکل ۲- مدار تشکیل میدان مغناطیسی
Figure 2. Circuit formed magnetic field

آزمایش دوم جهت بررسی اثر میدان مغناطیسی بر باززایی در محیط دارای تنظیم‌کننده رشد

با مشخص شدن نتایج مرحله باززایی گام دوم پژوهش بصورت آزمایشی مجزا برای بررسی باززایی ریزنمونه‌های گرفته شده از برگ بنفشه آفریقایی در حضور تنظیم‌کننده‌های رشد، بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو محیط (حاوی یک میلی‌گرم در لیتر اکسین (IBA) و سائوکینین (BAP) و سه میلی‌گرم در لیتر اکسین (IBA) و سائوکینین (BAP) و سه نوع زمان اعمال میدان مغناطیسی (پنج روز پیوسته، پنج روز ناپیوسته و شاهد) با شش تکرار و نه واحد آزمایشی در شرایط کاملاً مساوی با آزمایش قبلی از لحاظ شدت جریان و شرایط ریزنمونه انجام شد و بعد از گذشت ۴۰ روز بعد از انجام تیمار، طول و تعداد گیاهچه‌های تولید شده، وزن تر و خشک گیاهچه‌های باززایی شده حاصل از ریزنمونه‌ها اندازه‌گیری شدند.

در پایان دو آزمایش، تجزیه و تحلیل داده‌ها انجام شد. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.1 مورد تجزیه قرار گرفت. همچنین مقایسه میانگین‌ها با روش دانکن در سطح احتمال ۰/۰۵ انجام و نمودارها به کمک نرم‌افزار Excell 2010 رسم شد.

نحوه اعمال میدان مغناطیسی به گیاهان

پس از تامین و استانداردسازی دستگاه مولد میدان مغناطیسی (شکل ۱) به شدت ۰/۹ میلی تسلا برای تکثیر گیاه زینتی و ظرفیت حداکثری دستگاه برای تولید جریان ثابت و استاندارد، ریزنمونه‌های برگ بنفشه آفریقایی کشت شده در محیط کشت‌های درون ظروف شیشه‌ای به تعداد شش ظرف برای هر تیمار که حاوی حداقل ۹ ریزنمونه بود، بطور کاملاً تصادفی در اطراف میدان بصورت مدور و با فاصله

در این پژوهش شدت میدان مغناطیسی توسط دستگاه تسلا متر اندازه‌گیری شد. همچنین اندازه‌گیری شدت میدان مغناطیسی می‌تواند از طریق محاسبات نیز انجام شود که در پژوهش حاضر مقدار بدست آمده شدت میدان از طریق محاسبات با مقدار بدست آمده از طریق اندازه‌گیری دستگاه مطابقت داشت. رابطه ذیل برای محاسبه جریان سیم‌ها بکار می‌رود.

$$B=4 \times 10^{-7} \frac{NI}{l}$$

که در این رابطه B چگالی شار بر حسب تسلا، N تعداد دور، I شدت جریان بر حسب آمپر، L طول سلونوئید بر حسب متر می‌باشد. نمونه‌ها بلافاصله پس از کشت شدن در محیط طی پنج روز به صورت پیوسته و ناپیوسته (به صورت یک روز در میان) خروج ظروف حاوی نمونه از پیرامون میدان و قرار دادن آن‌ها در کنار نمونه‌های شاهد) در معرض میدان الکترومغناطیسی ۰/۹ میلی‌تسلا قرار داده شدند بجز شاهد که این مدت را در شرایط آزمایشگاهی مشابه بدون میدان الکترومغناطیسی سپری نمود.

آزمایش اول جهت بررسی اثر میدان مغناطیسی بر باززایی در محیط فاقد تنظیم‌کننده رشد

آزمایش اول بصورت طرح کاملاً تصادفی با اعمال سه سطح میدان مغناطیسی (پنج روز پیوسته، پنج روز ناپیوسته و شاهد) ریزنمونه‌های گرفته شده از برگ بنفشه آفریقایی در محیط کشت فاقد تنظیم‌کننده رشد با شش تکرار و نه واحد آزمایشی (هر تکرار یک ظرف شیشه‌ای حاوی نه ریزنمونه) به مدت پنج روز انجام شد و بعد از گذشت ۴۰ روز بعد از انجام تیمار، طول گیاهچه‌های باززایی شده، تعداد برگ، تعداد گیاهچه‌های تولید شده، وزن تر و خشک گیاهچه‌های باززایی شده حاصل از ریزنمونه‌ها اندازه‌گیری شدند.

شد. برای اندازه‌گیری وزن‌تر، نمونه‌ها با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت یک هزارم گرم وزن شدند و همین گیاهان برای اندازه‌گیری وزن خشک نمونه‌ها در آن با دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت زمان ۴۸ ساعت خشک شدند و سپس وزن آن‌ها بر حسب میلی‌گرم اندازه‌گیری شد.

نتایج و بحث

آزمایش اول: باززایی در محیط فاقد تنظیم‌کننده‌های رشد

نتایج تجزیه واریانس داده‌های آزمایش اول حاکی از اختلاف معنی‌دار اعمال میدان مغناطیسی پیوسته و ناپیوسته بر همه صفات اندازه‌گیری شده به جز طول گیاهچه در سطح ۱٪ و نسبت به شاهد در محیط فاقد تنظیم‌کننده رشد بود (جدول ۱).

یکسان بر روی یکسری ظروف به‌عنوان پایه قرار داده شدند (شکل ۱). میدان مغناطیسی بصورت مداوم و با شدت ۰/۹ میلی‌تسلا جریان تولید می‌نمود که این جریان به‌مدت ۵ روز به صورت پیوسته به ظروف شیشه‌ای حاوی ریزنمونه‌ها اعمال می‌گردید برای ایجاد جریان ناپیوسته شش عدد از ظروف شیشه‌ای (مربوط به تیمار ناپیوسته) یک روز در میان از محل میدان خارج شده و در کنار نمونه‌های شاهد که در شرایط آزمایشگاه و بدور از هرگونه میدان مغناطیسی بودند، قرار داده می‌شدند (شکل ۱). ریزنمونه‌ها طی دوره ۴۰ روزه آزمایش پس از پنج روز تیمار در میدان مغناطیسی، در شرایط آزمایشگاه در دمای 23 ± 2 درجه سانتی‌گراد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنائی و ۸ ساعت تاریکی قرار گرفتند.

اندازه‌گیری صفات

چهل روز پس از اعمال میدان مغناطیسی، تعداد و طول گیاهچه، تعداد برگ، وزن تر و خشک هر گیاهچه‌ها مشخص

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر زمان‌های مختلف (پنج روز پیوسته و پنج روز ناپیوسته) اعمال میدان مغناطیسی (۰/۹ میلی‌تسلا) بر خصوصیات باززایی مستقیم بنفشه آفریقایی در محیط فاقد هورمون

Table 1. Analysis of variance for the effect of different magnetic field (0.9 mT) times (5 continuous days and 5 noncontinuous days) on the features of direct regeneration in African violets in a hormone-free medium

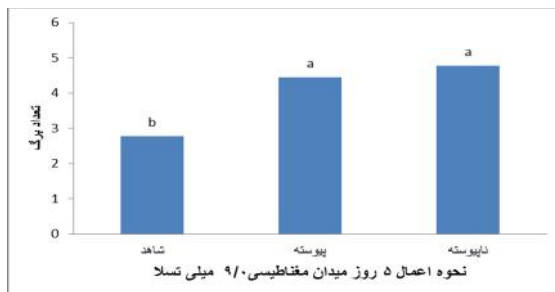
| منابع تغییرات | درجه آزادی | گیاه (تعداد) | طول گیاه (سانتی‌متر) | برگ (تعداد) | وزن تر (میلی‌گرم) | وزن خشک (میلی‌گرم) |
|---------------|------------|--------------|----------------------|-------------|-------------------|--------------------|
| تیمار | ۲ | ۵۱/۶۹** | ۱/۲۶ ^{ns} | ۱۰/۳۳** | ۰/۱۶** | ۰/۰۰۰۷** |
| خطا | ۱۵ | ۰/۷۲ | ۰/۵۳ | -/۳ | ۰/۰۰۲ | ۰/۰۰۰۲ |
| ضرب تغییرات | - | ۱۶/۳۳ | ۱۴/۱۸ | ۱۳/۸۱ | ۱۳/۰۴ | ۲۲/۹۱ |

** : به ترتیب معنی‌داری در سطوح احتمال ۰/۰۵ و ۰/۰۱
ns: عدم معنی‌داری

تعداد و طول گیاهچه

در شکل ۳ تعداد گیاهچه در بین تیمارهای مورد بررسی و همچنین شاهد مقایسه شد. تعداد گیاهچه‌های باززایی شده در شرایط اعمال میدان مغناطیسی در زمان پنج روز ناپیوسته (۷/۰۸) حدود دو برابر نسبت به تیمار پنج روز پیوسته (۴/۰۲) بود که در هر دو زمان اعمال میدان نسبت به شاهد (۲/۳۵) تعداد گیاهچه بیشتری را تولید نموده بودند (شکل ۵). اختلاف طول گیاهچه‌ها در تیمار تناوب زمانی اعمال میدان مغناطیسی

نسبت به شاهد (بدون اعمال میدان) معنی‌دار نشدند. اگرچه میدان در تعداد گیاهچه‌های تولید شده اثر می‌گذارد، اما در مرحله افزایش تعداد و طول سلول‌ها در جهت افزایش ارتفاع گیاهچه اثر معنی‌داری نداشت. بنابراین شاید بهتر باشد ابتدا در مرحله تکثیر گیاه با استفاده از میدان، تعداد زیادی گیاهچه بدست آورده شود و در ادامه برای افزایش ارتفاع از تیمارهای دیگر استفاده گردد.



شکل ۳- اثر زمان‌های مختلف (۵ روز متوالی و ۵ روز غیر متوالی) اعمال میدان مغناطیسی (۰/۹ میلی‌تسلا) بر تعداد برگ و گیاهچه بنفشه آفریقایی در محیط فاقد هورمون

Figure 3. The effect of different magnetic field (0.9 mT) times (5 continuous days and 5 noncontinuous days) magnetic field (0.9 mT) on the number of leaf and plantlet of African violets in a hormone-free medium

تعداد برگ

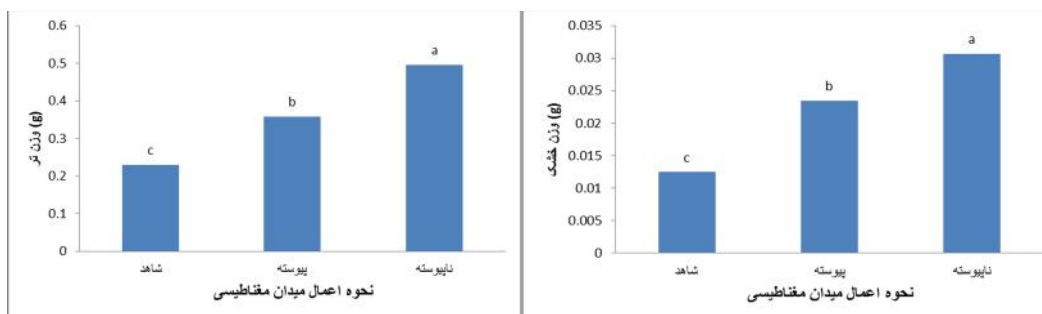
نتایج نشان داد میدان مغناطیسی باعث افزایش تعداد برگ ریزنمونه‌های تحت تیمار میدان مغناطیسی (۴/۷۷) نسبت به شرایط رایج در کشت بافت (شاهد ۲/۷۷) شد (شکل ۳). همچنین در این تیمار بین نوع مدت اعمال میدان مغناطیسی بر تعداد برگ تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد و به نظر می‌رسد اختلاف مدت زمان قرار داشتن در معرض میدان بر تعداد برگ اثری ندارد.

وزن تر و خشک گیاهچه‌ها در محیط کشت

در بین دو نوع اعمال میدان بر وزن تر گیاهچه‌های باززایی

شده، نوع ناپیوسته (۰/۴۹ mg) نسبت به پیوسته (۰/۳۵ mg) بیشترین افزایش را نشان داد و هر دو نوع اعمال میدان نسبت به گروه شاهد (۰/۲۳ mg) افزایش معنی‌داری در وزن تر داشتند (شکل ۴).

اعمال میدان مغناطیسی پیوسته بر ریزنمونه‌های بنفشه آفریقایی منجر به افزایش وزن خشک ریزنمونه‌ها (۰/۰۲۵mg) نسبت به شرایط ناپیوسته (۰/۰۳ mg) شد و این در حالی بود که هر دو حالت اعمال میدان مغناطیسی نیز نسبت به شاهد (۰/۰۱۲mg) افزایش معنی‌داری نشان دادند (شکل ۴).



شکل ۴- اثر تناوب زمانی (۵ روز متوالی و ۵ روز غیر متوالی) اعمال میدان مغناطیسی (۰/۹ میلی تسلا) بر وزن تر و خشک بنفشه آفریقایی در محیط فاقد هورمون

Figure 4. The effect of different magnetic field (0.9 mT) times (5 continuous days and 5 noncontinuous days) magnetic field (0.9 mT) on fresh and dry weight of African violets in a hormone-free medium



شکل ۵- اثر میدان مغناطیسی بر ریزنمونه‌های بنفشه آفریقایی در محیط فاقد هورمون
Figure 5. The effect of magnetic field on African violets explants in hormone-free medium

باززایی در محیط حاوی تنظیم‌کننده‌های رشد

باتوجه به موفقیت‌آمیز بودن بکارگیری میدان مغناطیسی در محیط بدون هورمون، این شرایط برای محیط حاوی هورمون نیز اعمال گردید. نتایج جدول تجزیه واریانس اثر زمان‌های مختلف (پنج روز پیوسته و پنج روز ناپیوسته) اعمال میدان مغناطیسی بر خصوصیات باززایی مستقیم بنفشه

آفریقایی در محیط کشت حاوی هورمون IBA و BAP نشان داد اثر ساده و متقابل میدان مغناطیسی و هورمون در تمام صفات مورد بررسی معنی‌دار گردیده است و تنها اثر ساده میدان بر وزن خشک ریزنمونه‌ها معنی‌دار نشده بود (جدول ۲).

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر زمان های مختلف (پنج روز پیوسته و پنج روز ناپیوسته) اعمال میدان مغناطیسی (۰/۹ میلی تسلا) بر خصوصیات باززایی مستقیم بنفشه آفریقایی در محیط کشت حاوی ۱ میلی گرم در لیتر هورمون IBA و BAP و ۳ میلی گرم در لیتر هورمون BAP و IBA

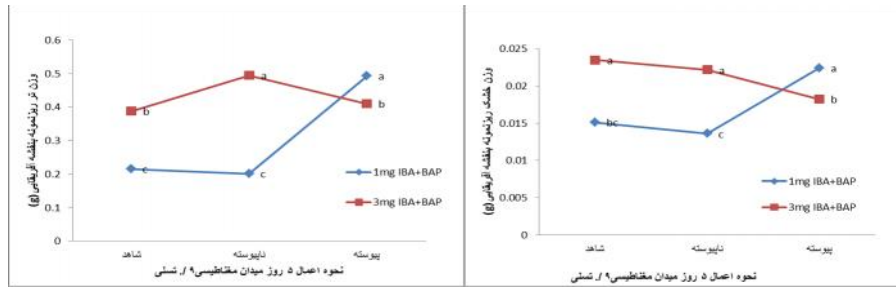
Table 2- Analysis of variance for the effect of different magnetic field (0.9 mT) times (5 continuous days and 5 noncontinuous days) on the features of direct regeneration in African violets in a medium Containing hormone (1 mg l⁻¹ IBA+ BAP and 3 mg l⁻¹ IBA+ BAP)

| میانگین مربعات | | | | | |
|--------------------|------------|--------------------|----------------------|-------------------|----------------------|
| منابع تغییرات | درجه آزادی | ساقه (تعداد) | طول ساقه (سانتی‌متر) | وزن تر (میلی گرم) | وزن خشک (میلی گرم) |
| غلظت هورمون | ۱ | ۴۷۷/۰۴** | ۰/۶۵* | ۰/۲۳** | ۰/۰۰۰۲** |
| زمان | ۲ | ۳۳۳/۶۱** | ۴/۰۰۸** | ۰/۱۰** | ۰/۰۰۰۲ ^{ns} |
| غلظت هورمون × زمان | ۲ | ۱۸/۵۹ [~] | ۴/۱۶ [~] | ۰/۱۶ [~] | ۰/۰۰۰۲ [~] |
| خطا | ۳۰ | ۵/۸۶ | ۰/۱۱ | ۰/۰۰۶ | ۰/۰۰۰۰۱ |
| ضریب تغییرات (%) | - | ۹/۰۶ | ۱۰/۸۳ | ۲۱/۹۷ | ۱۸/۹۳ |

** : به ترتیب معنی داری در سطوح احتمال ۰/۰۵ و ۰/۰۱ / ns: عدم معنی داری

حالت شاهد برخوردار شدند. اما در محیط کشت حاوی ۳ میلی گرم در لیتر هورمون IBA و BAP فقط بکارگیری میدان مغناطیسی ناپیوسته بود که منجر به افزایش معنی دار وزن تر ریزنمونه‌ها گردید (شکل ۶) و اثر متقابل بیشترین میزان هورمون (۳ میلی گرم هورمون) و بیشترین میزان دریافت میدان مغناطیسی منجر به کاهش معنی دار وزن خشک ریزنمونه‌ها نسبت به شاهد و شرایط ناپیوسته گردید.

بنابر نتایج، وزن تر ریزنمونه‌های باززایی شده شاهد در محیط کشت حاوی ۱ میلی گرم در لیتر هورمون IBA و BAP بطور میانگین ۰/۲ گرم بوده و زمانیکه مقدار هورمون مصرفی ۳ برابر شده، وزن تر ریزنمونه‌ها تا ۰/۳۸ گرم افزایش معنی داری یافته است. این در حالی بود که وقتی همین ریزنمونه‌ها (یک میلی گرم در لیتر هورمون‌ها) به صورت پیوسته برای مدت پنج روز در معرض میدان مغناطیسی با شدت ۰/۹ میلی تسلا قرار گرفتند، از وزن تری معادل ۲ برابر



شکل ۶- اثر تناوب زمانی (۵ روز متوالی و ۵ روز غیرمتوالی) اعمال میدان مغناطیسی (۰/۹ میلی تسلا) بر وزن تر و خشک بنفشه آفریقایی در محیط‌های حاوی ۱ و ۳ میلی گرم در لیتر IBA و BAP
Figure 6. The interaction of effect of different magnetic field (0.9 mT) times (5 continuous days and 5 noncontinuous days) magnetic field (0.9 mT) on fresh and dry weight of African violets in a mediums included 1 and 3 mg l⁻¹ IBA and BAP

دانست (۷۰/۱۰). بنابراین، نتایج متناقض مشاهده شده در مستندات موجود ممکن است به این گونه اختلافات مربوط باشد.

بررسی‌های آتاک و همکاران (۴) نشان داد در کشت بافت سویا میزان غلظت RNA نمونه‌های در معرض میدان مغناطیسی بیش از نمونه‌های شاهد بوده است و آنرا مرتبط با سنتز RNA و پروتئین دانسته‌اند. ایشان همچنین دریافتند فعالیت آنزیم پراکسیداز کاتیونی همراستا با رشد رویشی گیاهچه‌ها در معرض میدان مغناطیسی افزایش می‌یابد اما میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز آنیونی که در پاسخ به تنش‌های زیستی و غیر زیستی نقش دارد، کاهش می‌یابد. برخی از گزارش‌ها سازوکار اثر میدان‌های الکترو مغناطیسی را مربوط به اثر این میدان‌ها روی کانال‌های غشائی، بویژه کانال‌های انتقال کلسیم می‌دانند، بطوریکه با القای میدان الکتریکی و

مکانیسم فیزیکی اثر میدان‌های مغناطیسی، در سطوح اتمی و فرا اتمی به رزنانس میدان‌های هسته‌ای در بافت‌های زنده و اثرات آن بر وضعیت اسپین الکترونیکی^۱ و ارتباط آن‌ها با گروه‌های ویژه‌ای از واکنش‌های انتقال الکترونی مربوط می‌باشد. مطالعات نشان داده است که بین میدان‌های الکترومغناطیسی و بروز آثار بیولوژیکی رابطه‌ای وجود دارد که البته باید دخالت عوامل دیگر در ظهور این آثار را نیز در نظر داشت چراکه وجود آن‌ها سبب می‌شود در برخی مطالعات مشابه نتایج متفاوت و یا حتی کاملاً متضاد بدست آید (۱۴). گزارش‌های موجود نشان داده‌اند که گیاهان نسبت به میدان مغناطیسی حساسیت بالایی دارند و این گونه میدان‌ها در رشد و نمو گیاهان موثر می‌باشند. تاثیرهای مختلف ایجاد شده توسط میدان مغناطیسی بر گیاهان را می‌توان در ارتباط با شدت و نوع میدان، طول مدت تیماردهی و اندام گیاهی،

است (۱۹) و در نتیجه موجب افزایش کارایی گیاه و افزایش وزن خشک آن در محیط حاوی هورمون کمتر شده است. سازوکار تأثیر میدان‌های مغناطیسی بر سلول‌های زنده هنوز بطور دقیق مشخص نشده است، ولی باید گفت که اثر مهاری یا تحریکی میدان مغناطیسی بر رشد بافت‌ها، به‌عواملی نظیر گونه و اندام گیاهی، فرکانس و نوع میدان، مدت زمان تیمار و سایر عوامل تنش‌زا بستگی دارد (۷). در این پژوهش طی دو آزمایش اثر مدت زمان اعمال میدان مغناطیسی در حضور و عدم حضور تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی سنجیده شد. به‌طور کلی، زمان‌های مختلف اعمال میدان مغناطیسی بر گیاه بنفشه آفریقایی اثر مختلفی داشت؛ به‌طوری که در برخی از تیمارها تناوب زمانی اعمال میدان مغناطیسی نسبت به شاهد اثر مثبت و در برخی از تیمارها بی اثر و حتی منفی بود. تعداد برگ در گیاه زینتی بنفشه آفریقایی در زمان اعمال میدان مغناطیسی پیوسته و ناپیوسته بیشتر از شاهد بود، اما اندازه‌گیری وزن تر و خشک گیاهچه‌ها نشان داد در شرایط ناپیوسته بودن میدان مغناطیسی از بیشترین مقدار برخوردار بودند. این در حالی بود که تعداد گیاهچه‌ها نیز در زمان پنج روز اعمال میدان مغناطیسی ناپیوسته بهترین نتیجه را نسبت به گروه شاهد نشان داد. مدت زمان اعمال میدان مغناطیسی در نبود تنظیم‌کننده‌های رشد، اثری بر طول گیاهچه نداشت که با وجود معنی‌دار نبودن اثر آن، به دلیل معمول بودن رشد رشد رویشی گیاه بنفشه آفریقایی به صورت رزت و زینتی بودن گل، بنظر می‌رسد عدم افزایش ارتفاع با احتمال افزایش جلوه‌گری گل در بازارپسندی آن موثر باشد.

افزایش وزن تر و خشک ریزنمونه‌ها وقتی محیط حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر هورمون IBA و BAP به شدت ۵ روز به‌صورت پیوسته در معرض میدان مغناطیسی ۰/۹ میلی تسلا قرار بگیرد به‌طور معنی‌داری بیش از محیط کشت حاوی ۳ میلی‌گرم در لیتر هورمون IBA و BAP بود. هرچند اعمال میدان مغناطیسی بصورت پیوسته و در حضور مقدار بالاتر هورمون (۳ میلی‌گرم در لیتر) اثر منفی و معنی‌داری روی وزن خشک ریزنمونه‌ها داشت. بنابراین به نظر می‌رسد استفاده از میدان مغناطیسی می‌تواند بدون اثر منفی بر باززایی بنفشه آفریقایی منجر به کاهش مصرف تنظیم‌کننده‌های رشد در محیط کشت شود. بطور کلی می‌توان پیشنهاد نمود که در سایر آزمایشگاه‌ها و برای سایر گیاهان در شرایط کشت بافت از میدان مغناطیسی استفاده گردد تا علاوه بر روشن نمودن جنبه‌های نامعلوم آن، نسبت به بررسی امکان جایگزینی این روش با روش‌های مرسوم کشت بافت به جمع‌بندی نهایی رسید.

تشکر و قدردانی

از آقای مصطفی کرمانی از آزمایشگاه گروه مهندسی برق دانشکده فنی ابن‌حسام پسران بیرجند به جهت ساخت و در اختیار قرار دادن دستگاه مولد میدان مغناطیسی تقدیر بعمل می‌آید.

مغناطیسی به این کانال‌ها که دارای بار الکتریکی هستند این کانال‌ها باز شده و کلسیم درون سلولی افزایش می‌یابد. عملکرد کانال‌های یونی مبتنی بر اثر اختلاف غلظت و رانش یون‌ها بر اثر اختلاف پتانسیل است. بنابراین فرآیندی مانند تغییر ولتاژ، محرکی برای تغییر در روند عملکرد کانال‌های یونی با تحت تأثیر قرار دادن و باز و بسته شدن آن‌ها می‌شود (۱۲). با توجه به نتایج حاصل از پژوهش حاضر، چنین به نظر می‌رسد که میدان مغناطیسی موجب تغییر در غلظت یون کلسیم شده و باعث افزایش تعداد گیاهچه شده است که با پژوهش‌های بعدی این موضوع می‌تواند تأیید گردد.

با توجه به نتایج بدست آمده در این محیط فاقد هورمون، تعداد برگ در تیمار تناوب زمانی اعمال میدان مغناطیسی در دو زمان پنج روز پیوسته و ناپیوسته نسبت به شاهد افزایش نشان داد، که با نتایج ون و همکاران (۱۷) بر کشت بافت گیاه اسپاتی فیلوم و Alikamano lu و همکاران (۲) بر گیاه *Paulownia tomentosa* مطابقت داشت. به نظر می‌رسد تأثیر میدان‌های مغناطیسی خارجی بر بعضی فرایندهای زیستی در گیاه، از طریق تأثیر آن بر سرعت و جهت جایگزینی ذرات قطبی آلی و معدنی در گیاه انجام می‌گیرد (۹).

افزایش وزن تر و خشک را می‌توان به نظریه نوسان خودبخودی یون^{۲+} به‌عنوان یکی از تئوری‌هایی که برای توجیه اثرات مثبت میدان مغناطیسی ارائه شده مربوط دانست. براساس این نظریه شکل مناسبی از یک میدان مغناطیسی ممکن است بتواند با تشدید نوسان خودبخودی برخی یون‌ها یا مولکول‌های زیستی (مثل کانال‌ها، پمپ‌ها و ترانسپورترها) آن‌ها را به تحرک بیشتر وادار ساخته و از این طریق سبب تحریک رشد گردد (۱۱). از جمله مهم‌ترین این یون‌ها، یون Ca^{2+} می‌باشد و نتایج پژوهش‌ها نشان داده که Ca^{2+} -ICR یک ساز و کار بارز در درک میدان مغناطیسی در ترکیب با میدان الکترومغناطیسی می‌باشد (۱۳).

در پژوهشی Alikamano lu و همکاران (۲) اثرات میدان مغناطیسی را بر کشت بافت گیاه *Paulownia tomentosa* بررسی کردند که نسبت به شاهد افزایش در برخی خصوصیات از جمله وزن خشک و تعداد برگ اختلاف معنی‌داری داشت که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد.

وزن تر ریزنمونه‌های محیط حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر هورمون IBA و BAP که به‌مدت ۵ روز به‌صورت پیوسته در معرض میدان مغناطیسی ۰/۹ میلی تسلا قرار داشتند به‌طور معنی‌داری بیش از ریزنمونه‌های محیط حاوی ۳ میلی‌گرم در لیتر هورمون IBA و BAP بود و این موضوع در مورد وزن خشک ریزنمونه‌ها نیز مشابه بود. وزن خشک و تر گیاه می‌تواند رابطه مستقیم با هم داشته باشد در این آزمایش وزن خشک در محیط ۳ میلی‌گرم از هورمون در هر دو تیمار میدان مغناطیسی نسبت به شاهد کاهش داشته و در محیط ۱ میلی‌گرم نسبت به شاهد افزایش نشان داد. بنظر می‌رسد میدان مغناطیسی مناسب، جذب و آسیمیلایون عناصر غذایی را افزایش داده و فعالیت‌های فتوسنتزی گیاه را بهبود بخشیده

منابع

1. Abaszadeh, R., M. Masumiyan, S.H. Sarami, A. Zenuzi, A. Nouruziyan and F. Sadatmirsafi. 2014. Study the effects of electromagnetic fields on phenol the amount Production of *Aloe vera*. In proceedings of *The 3th conference of Electromagnetic engineered (COM) Iran*, 3-4 Des., Ministry of Science, Research and Technology scientific and industrial research organization in Iran, pp: 1-6 (In Persian).
2. Alikamano lu, S., O. Yaycılı, C. Atak and A. Rzakoulieva. 2007. Effect of magnetic field and gama radiation on *Paulownia tomentosa* tissue culture. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 21, 49-53, Retrieved 30 January 2016, from <http://dx.doi.org/10.1080/13102818.2007.10817412>.
3. Arbabian, S., A. Majd and S. Salaripour .2010. The effects of electromagnetic field (EMF) on vegetative organs, pollen development, pollen germination and pollen tube growth of *Glycine max* L. *Cell and Tissue Journal*, 1: 35-42 (In Persian).
4. Atak, C., O. Çelik, S. Alikamano lu and A. Rzakoulieva. 2007. Effect of magnetic field on peroxidase activities of soybean tissue culture. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 21(2): 166-171.
5. Atharinia, M., M. Nori and F. Ghanati. 2009. Effect of static magnetic field on certain physiological and biochemical features of *Cicer arietinum* in vegetative growth phase. *Pajouhesh & Sazandegi*, 80: 62-74 (In Persian).
6. Çelik, Ö., Ç. Atak and A. Rzakoulieva. 2008. Stimulation of rapid regeneration-by a magnetic field in *Paulownia* node cultures. *Journal of Central European Agriculture*, 9: 297-30412.
7. Kato, R., H. Kamada and M. Asashma.1989. Effect of high and very low magnetic field on the growth of hairy roots of *Daucus carotta* and *Atropa belladonna*. *Cell Physiology*, 30: 605-608.
8. Khoshokhan-Mozafar, M., F. Ghanati, H. Zare Maivan, P. Abdolmaleki, K.H. Khorrami Shad and M. Vaezadeh.2006. The effects of static magnetic field on the metabolism of certain phenolic compound in red cabbag (*Brassica oleracea* L. cv. *Staccato*). *Pajouhesh & Sazandegi*, 70: 63-69 (In Persian).
9. Kordas, L. 2002. The effect of magnetic field on growth, development and the yield of spring wheat. *Polish Journal of Environmental Studies*, 11: 527-530.
10. Liboff, A.R., B.R. McLeod and S.D. Smith.1989. Rotating magnetic fields and iron cyclotron resonance *Journal of Bioelectronics*, 8: 119-125.
11. Paez, A., F. Ghanati, M. Behmanesh, P. Abdolmaleki and B. Nahidian. 2012. Comparative study on the effect of static and electromagnetic fields on the some physiological properties at vegetative stage of wheat. In: *Proceedings of 1th national conference on plant stress (abiotic)*, Isfahan University, Isfahan, Iran, pp: 1-3.
12. Paul, A., F. Robert and M. Meisel. 2006. High magnetic field induced changes of gene expression in *Arabidopsis*. *Biomagnetic Research and Technology*, 14: 103-7.
13. Pazur, A. and V. Rassadina. 2008. Transient effect of weak electromagnetic fields on calcium ion concentration in *Arabidopsis thaliana*. *BMC Plant Biology*, Received: 26 November 2008, from <http://www.biomedcentral.com/1471-2229/9/47>.
14. Rajabbeigi, E., F. Ghanati, F. Sefidkon and P. Abdolmaleki. 2007. Investigating the changes of essential oil of *Ocimum basilicum* L. in response to electromagnetic field. *Iranian Journal of medicinal and Aromatic Plants*, 22(4): 341-350.
15. Sadeghian, S., Gh. Ranjbar and K. Kazemitabar. 2014. Consideration and selection of suitable Hormonal Composition for in vitro Shoot Regeneration and propagation of *Ocimum basilicum* L. *Journal of Crop Breeding*, 6(13): 40-48 (In Persian).
16. Tahmasbe, A., M.A. Asghari, O. Sofalian, H.R. Mohammaddoust, C. Abad and A. Rasoulzadeh. 2016. Effect of osmotic stress on some physiological characters of wheat cultivars. *Journal of Crop Breeding*, 8(19): 112-123 (In Persian).
17. Van, P.H., J. Silva, L. Ham and M. Tanaka. 2012. Effects of permanent magnetic fields on in vitro growth of *Cymbidium* and *Spathiphyllum* shoots. *In Vitro Cellular & Developmental Biology Plant*, 48: 225-232.
18. Yaycılı, O. and S. Alikamanoglu. 2005. The effect of magnetic field on *Paulownia* tissue cultures. *Plant Cell Tissue Organ Culture*, 83: 109-114.
19. Zamiran, A., M.R. Maleki and V.R. Safari. 2011. Effect of magnetic field on seed germination rate of *Zinnia*. In: *Proceedings of 1th national congress of modern science and technology of agriculture*, Zanjan University, Zanjan, Iran, pp: 1-4.

The Effect of Different Magnetic Field Duration on Direct Organogenesis of African Violets (*Saintpaulia Ionantha*) In Tissue Culture Medium with and Without Pgrs

Masumeh Rahmatinia¹, Hosein Moradi², Vali Allah Ghasemi Omran³ and Mehdi Hadadinejad⁴

1- Graduated M.Sc. Student of Department of Horticultural Sciences, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University

2 and 4- Assistant Professors of Department of Horticultural Sciences, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University (Corresponding Author: moradiho@yahoo.com)

3- Assistant professor of Genetic and Biotechnology Institute from Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University

Received: October 16, 2016

Accepted: February 26, 2017

Abstract

To study intermittence of duration of exposure to magnetic field or MF (0.9 mT) on direct organogenesis of African violet explant in medium with and without PGRs these experiments performed. First experiment performed as completely randomized design (CRD) with three level of MF exposure (control, 5 day continuous and 5 day discontinuous) in PGR- free medium included via 6 repeat. The second experiment performed as factorial in CRD. Factors included auxin and cytokinin as two PGRs in 1mg Lit and 3mg Lit IBA and BAP levels and 3 levels of MF exposure as well as first experiment with 6 repeat. The results showed that explants exposed to a discontinuous MF with and without PGRs produced the highest shoot number (7.08) and the lowest number was produced in the control (2.35). Plantlets length was not affected by the MF but it was affected inside of PGRs. The leaf number in the continuous (4.4) and discontinuous (4.7) magnetic field was approximately doubled in comparison with control (2.77). The fresh and dry weight revealed better values in the MF discontinuous (0.49 and 0.03 mg) than continuous (0.35 and 0.02 mg) in PGRs-free medium. Results showed the fresh weight of plantlets was significantly higher for 1mg l⁻¹ PGRs than 3 mg l⁻¹ PGRs, when exposed to 0.9 mT MF for 5 days continuously, as well as for dry weight. It seems that the MF as a light abiotic stress can simulate the cell division and elongation and eventually the plant growth.

Keywords: Explant, Fresh and dry weight, Stress, *Saintpaulia ionantha*