



اثر میدان مغناطیسی بر اندام‌زایی مستقیم ریزنمونه بنفسه آفریقا (Saintpaulia ionantha) در محیط فاقد و دارای تنظیم‌کننده‌های رشد

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

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

چکیده

به منظور مطالعه تناوب زمان قرارگیری در معرض میدان مغناطیسی (۹. میلی تسل‌الا) بر بازایی مستقیم بنفسه آفریقا (۹) از ریز نمونه 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 سایتوکینین در دو سطح صفر، یک و سه میلی گرم 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 قوارگرفته در معرض میدان ناپیوسته بیشترین (۷/۰۸) و در گروه شاده (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 ساقه چه معنی‌دار بود. افزایش تعداد برگ نیز در اثر دریافت میدان مغناطیسی پیوسته (۴/۴) و ناپیوسته (۷/۴) در محیط فاقد تنظیم‌کننده‌های رشد تقریباً دوبرابر شاهد (۲/۷۷) و معنی‌دار نشد. وزن تر و خشک در شرایط میدان مغناطیسی ناپیوسته (۴/۹، ۰/۰۳ میلی گرم) بطور معنی‌داری نتیجه بهتری را نسبت به پیوسته (۰/۳۵، ۰/۰۰۰ میلی گرم) در شرایط بدون تنظیم‌کننده‌ها رشد نشان داد. نتایج نشان داد وقتی که ریزنمونه‌ها در محیط حاوی ۱ میلی گرم 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 میلی گرم در لیتر تنظیم‌کننده‌های رشد برخوردار خواهند بود. به نظر می‌رسد در این آزمایش میدان مغناطیسی به عنوان یک تنش غیرزیستی ملایم موجب تحریک در تنسیم و طویل شدن سلول‌ها و در نتیجه رشد گیاه گردید.

واژه‌های کلیدی: ریزنمونه، تنش، وزن تر و خشک، بنفسه آفریقا

و الکترومغناطیسی را افزایش داده است (۱). به طور 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 می‌گردد. روش‌های فیزیکی تحریک کننده، سمت و سوی فرآیندهای فیزیولوژیکی تحت کنترل ژنتیک گیاه را تغییر نمی‌دهند، به عبارت دیگر، آن‌ها بدون دستکاری ژنتیکی رشد و فرآیندهای متabolیکی را تحریک می‌نمایند (۵). بررسی‌های متعدد نشان داده میدان مغناطیسی می‌تواند بر توسعه کشت بافت سلول اثر گذارد. میزان رشد شاسخاره و ریشه گیاه Paulownia در شرایط کشت بافت تحت تاثیر میدان مغناطیسی (۹/۲ و ۵/۸ میکرو تسل‌الا) به مدت ۲/۲ و ۶/۶ ثانیه نسبت به شاهد بهبود یافته و افزایش داشته است (۶/۱۹). نتایج بررسی اثر میدان مغناطیسی با شدت‌های (۷/۱۷، ۷/۲۶) برای جانداران هستند که اخیراً تحقیقات زیادی 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 گسترد و سریع از دستگاه‌های متفاوت الکتریکی و الکترونیکی، پیدایش و ظهور فرکانس‌های میکروویو و رادیویی، میدان‌های مغناطیسی

مقدمه
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 تنش زا و فراتر از داشت کنونی پسر باشد (۱۱)، عوامل تنش زای محيطی هم بر اکثر مراحل رشد گیاه تاثیر دارد (۱۶) و در این راستا نیازمند پژوهش‌های بیشتر است. آشنایی پسر با ماهیت الکتریسته و مغناطیسی قدمتی چند صد ساله دارد و از آن زمان خواص و انرژی آن‌ها در جهت مقاصد مختلف به کار گرفته و بخشی از تمدن امروزی بر پایه استفاده از همین انرژی‌ها بنا شده است (۸). میدان‌های الکترومغناطیسی عامل محيطی 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 گسترد 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 زیستی بنفسه آفریقایی و مزایای گیاه آفریقایی آن با کشت بافت این پژوهش با هدف ارزیابی امکان استفاده مطلوب از مزایای میدان مغناطیسی در محیط‌های کشت بافت فاقد دارای هورمون این گیاه صورت پذیرفت.

مواد و روش‌ها

تهیه نمونه‌ها

برای انجام این پژوهش از گیاهان بنفسه آفریقایی (Saintpaulia ionantha) یکی از شرکت‌های دانش بنیان پژوهشکده ژنتیک و فناوری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری استفاده شد. برگ‌ها به مدت ۱۵ دقیقه زیر شیر آب شسته شده و در اتابول 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 واکتس ۵ درصد غوطه‌ور شدند. بعد از استریل شدن قطمه‌هایی به ابعاد ۵/۰ سانتی‌متر از برگ جدا و در محیط پایه موراشیگ و اسکوک (MS)^۱ حاوی مقدار ۳۰ گرم در لیتر ساکاراز هشت گرم در لیتر آکار 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 ۲۰-۲۵cm و طول ۳۰-۳۵cm و از طریق ۱۲۰۰ دور سیم مسی به قطر یک میلی‌متر در چهار لایه پیچیده شده تولید می‌گردد. یک خروجی برای سیم لوله در نظر گرفته شده که به انتخاب گر هشت حالته 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 و ۱۵۰ میکرو تسللا 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 پراکسیسیداز 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 پراکسیسیداز در ساقه‌های بازیابی 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 ۴۳/۷ و ۵۴/۵۴ درصد افزایش نشان داده است. وزن تر گیاهچه‌های بازیابی شده حاصل از تیمار میدان مغناطیسی نیز نسبت به شاهد افزایش داشت.

بازیابی گیاه از طریق کشت بافت در حال حاضر یک فرآیند ضروری و اساسی در بیوتکنولوژی و اصلاح نباتات به شمار می‌رود. فصل، سن و وضعیت فیزیولوژیکی گیاه والد، محیط کشت پایه و ترکیب مناسب هورمون‌ها نیز در موقعیت اندازه‌ای در کشت‌های سلولی اهمیت دارند (۱۵). از عواملی که باعث بالا رفتن هزینه‌های ریز ازدیادی گیاهانی همچون بنفسه آفریقایی می‌شود، هزینه‌های مریبوط به عناصر غذایی و تنظیم کننده‌های رشد در محیط کشت می‌باشد که جزء مواد شیمیایی هستند و هزینه‌های بالایی

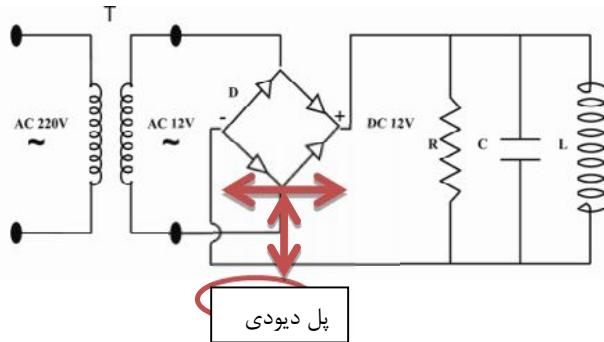


شکل ۱- دستگاه تولید کننده میدان مغناطیسی و چیدمان کشت‌ها برای قرار گرفتن در معرض میدان
(شیشه‌های زیرین نقش نگهدارنده دارند و جزو آزمایش نمی‌باشند)

Figure 1. 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 (۲۰۰ 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 بازیابی در محیط دارای تنظیم‌کننده رشد با مشخص شدن نتایج مرحله بازیابی گام دوم پژوهش بصورت آزمایشی مجزا برای بررسی بازیابی ریزنمونه‌های گرفته شده از برگ بنفسه آفریقایی در حضور تنظیم‌کننده‌های رشد، بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو محیط (حاوی یک میلی‌گرم در لیتر اکسین (IBA) و سایتوکین (BAP) و سه میلی‌گرم در لیتر اکسین (IBA) و سایتوکین (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 بازیابی 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 تسل‌برای تکثیر گیاه زیستی و ظرفیت حداکثری دستگاه برای تولید جریان ثابت و استاندارد، ریزنمونه‌های برگی بنفسه 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 تسلامتر 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 تسل، N تعداد دور، I شدت جریان بر حسب آمپر، L طول سلونوئید بر حسب متر می‌باشد. نمونه‌ها بلافضله 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 قراردادن آن‌ها در کنار نمونه‌های شاهد در معرض میدان الکترومغناطیسی ۰/۹ میلی تسل 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 بازیابی 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 بنفسه آفریقایی در محیط کشت فاقد تنظیم‌کننده رشد با شش تکرار و نه واحد آزمایشی (هر تکرار یک ظرف شیشه‌ای حاوی نه ریزنمونه) بهمدت پنج روز انجام شد و بعد از گذشت ۴۰ روز بعد از انجام تیمار، طول گیاهچه‌های بازیابی شده، تعداد برگ، تعداد گیاهچه‌های تولید شده، وزن تر و خشک گیاهچه‌های بازیابی شده حاصل از ریزنمونه‌ها اندازه‌گیری شدند.

شد. برای اندازه‌گیری وزن تر، نمونه‌ها با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقیقیت یک هزارم گرم وزن شدند و همین گیاهان برای اندازه‌گیری وزن خشک نمونه‌ها در آون با دمای ۶۰ درجه سانتی گراد به مدت زمان ۴۸ ساعت خشک شدند و سپس وزن آن‌ها بر حسب میلی گرم اندازه‌گیری شد.

نتایج و بحث

آزمایش اول: بازایی 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 به عنوان پایه قرار داده شدند (شکل ۱). میدان مغناطیسی بصورت مداوم و با شدت ۰/۹ میلی تسلا جریان تولید می‌نمود که این جریان به مدت 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 بدرو 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 سانتی گراد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی 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 میلی تسلا) بر خصوصیات بازایی مستقیم بنشه 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

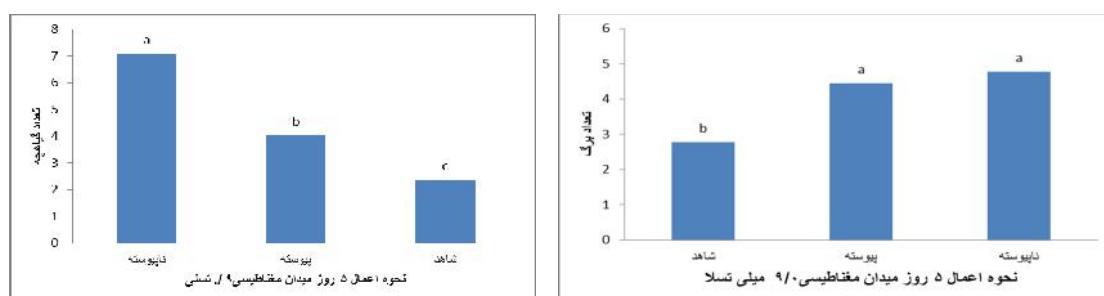
میانگین مریعات							منابع تغییرات
وزن خشک (میلی گرم)	وزن تر (میلی گرم)	برگ (تعداد)	طول گیاه (سانتی متر)	گیاه (تعداد)	درجه آزادی		
۰/۰۰۰۷**	۰/۱۶**	۱۰/۳۳**	۱/۴۶ ns	۵۱/۶۹**	۲	تیمار	
۰/۰۰۲	۰/۰۳	۰/۵۳	۰/۷۲	۱۵	خطا		
۲۲/۹۱	۱۳/۰۴	۱۳/۸۱	۱۴/۱۸	۱۶/۳۳	-	ضرب تغییرات	

***: به ترتیب معنی‌داری در سطوح اختلال ۰/۰۵ و ۰/۰۱.

ns: عدم معنی‌داری

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.

در شکل ۳ تعداد گیاهچه در بین تیمارهای مورد بررسی و همچنین شاهد مقایسه شد. تعداد گیاهچه‌های بازایی در شرایط اعمال میدان مغناطیسی در زمان پنج روز ناپیوسته (۷/۰/۸) حدود دو برابر نسبت به تیمار پنج روز پیوسته (۴/۰/۲) بود که در هر دو زمان اعمال میدان نسبت به شاهد تعداد گیاهچه بیشتری را تولید نموده بودند (شکل ۵). اختلاف طول گیاهچه‌ها در تیمار تناوب زمانی اعمال میدان مغناطیسی



شکل ۳- اثر زمان‌های مختلف (۵ روز متالی و ۵ روز غیر متالی) اعمال میدان مغناطیسی (۰/۹ میلی تسلا) بر تعداد برگ و گیاهچه بنشه آفریقایی

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

شده، نوع ناپیوسته ($0/0.35$ mg) نسبت به پیوسته ($0/0.49$ mg) بیشترین افزایش را نشان داد و هر دو نوع اعمال میدان نسبت به گروه شاهد ($0/0.23$ mg) افزایش معنی داری در وزن تر داشتند (شکل ۴).

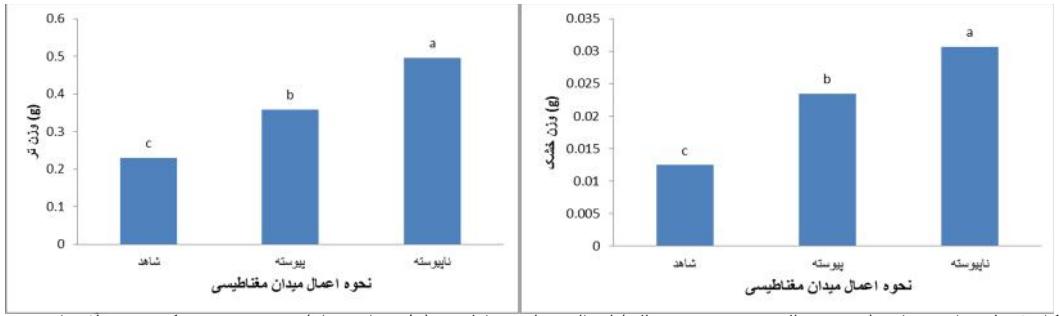
اعمال میدان مغناطیسی پیوسته بر ریزنمونه های بنفسه آفریقایی منجر به افزایش وزن خشک ریزنمونه ها ($0/0.25$ mg) نسبت به شرایط ناپیوسته ($0/0.12$ mg) شد و این در حالی بود که هر دو حالت اعمال میدان مغناطیسی نیز نسبت به شاهد ($0/0.07$ mg) افزایش معنی داری نشان دادند (شکل ۴).

تعداد برگ

نتایج نشان داد میدان مغناطیسی باعث افزایش تعداد برگ ریزنمونه های تحت تیمار میدان مغناطیسی ($3/0.77$) نسبت به شرایط رایج در کشت بافت (شاهد $2/0.77$ شد (شکل ۳). همچنین در این تیمار بین نوع مدت اعمال میدان مغناطیسی بر تعداد برگ تفاوت معنی داری مشاهده نشد و به نظر می رسد اختلاف مدت زمان قرار داشتن در معرض میدان بر تعداد برگ اثری ندارد.

وزن تر و خشک گیاهچه ها در محیط کشت

در بین دو نوع اعمال میدان بر وزن تر گیاهچه های بازیابی



شکل ۴- اثر تناوب زمانی (۵ روز متوالی و ۵ روز غیر متوالی) اعمال میدان مغناطیسی ($0/0.9$ میلی تسل) بر وزن تر و خشک بنفسه 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 بنفسه آفریقایی در محیط فاقد هورمون

Figure 5. The effect of magnetic field on African violets explants in hormone-free medium

بازیابی در محیط حاوی تنظیم کننده های رشد

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

باتوجه به موقیت آمیز بودن بکارگیری میدان مغناطیسی در محیط بدون هورمون، این شرایط برای محیط حاوی هورمون نیز اعمال گردید. نتایج جدول تجزیه واریانس اثر زمان های مختلف (پنج روز پیوسته و پنج روز ناپیوسته) اعمال میدان مغناطیسی بر خصوصیات بازیابی مستقیم بنفسه

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر زمان‌های مختلف (پنج روز ناپیوسته و پنج روز زمانی) اعمال میدان مغناطیسی (۰/۹ میلی تسل) بر خصوصیات بازیابی مستقیم بنشه آفریقایی در محیط کشت حاوی ۱ میلی گرم در لیتر هورمون IBA و ۳ میلی گرم در لیتر هورمون BAP و ۱ میلی گرم در لیتر هورمون BAP

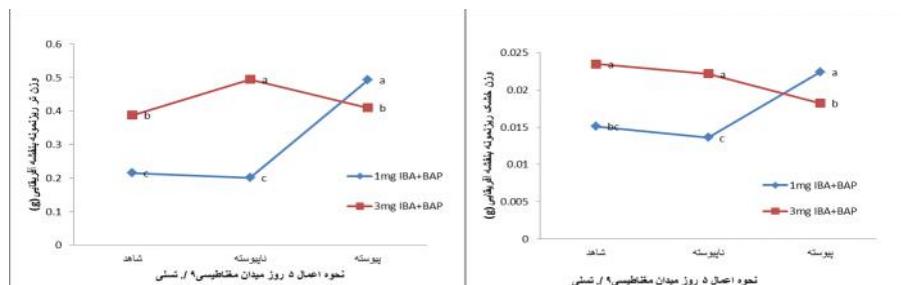
Table 2- Analysis of variance for the effect of different magnetic field (0.9 mT) times (5 continuous days and 5 noncontinuous days) on the features of direct regeneration in African violets in a medium Containing hormone (1 mg⁻¹ IBA+ BAP and 3 mg⁻¹ IBA+ BAP)

میانگین مربوط						
وزن خشک (میلی گرم)	وزن تر (میلی گرم)	طول ساقه (سانتی متر)	ساقه (تعداد)	درجه ازادی	منابع تغییرات	
۰/۰۰۰۲**	۰/۲۲**	۰/۶۵*	۴۷۷/۰۴**	۱	غلظت هورمون	
۰/۰۰۰۳ns	۰/۱۰**	۴/۰۰۸**	۲۳۳/۶۱**	۲	زمان	
۰/۰۰۰۲**	۰/۱۶**	۴/۱۶**	۱۱۸/۵۹**	۲	غلظت هورمون×زمان	
۰/۰۰۰۱	۰/۰۶	۰/۱۱	۵/۸۶	۳۰	خطا	
۱۸/۹۳	۲۱/۹۷	۱۰/۸۳	۹/۰۶	-	ضریب تغییرات (%)	

**: به ترتیب معنی داری در سطح 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 ریزنمونه ها 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 ریزنمونه ها نسبت به شاهد و شرایط ناپیوسته گردید.

بنابر نتایج، وزن تر ریزنمونه های بازیابی شده شاهد در محیط کشت حاوی ۱ میلی گرم در لیتر هورمون IBA و BAP بطور میانگین ۰/۰۴ گرم بوده و زمانیکه مقدار هورمون مصرفی ۳ برابر شده، وزن تر ریزنمونه ها تا ۰/۰۸ گرم افزایش معنی داری یافته است. این در حالی بود که وقتی همین ریزنمونه ها (یک میلی گرم در لیتر هورمون) به صورت پیوسته برای مدت پنج روز در معرض میدان مغناطیسی باشدت ۰/۰ میلی تسل 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 تسل) بر وزن تر و خشک بنشه آفریقایی در محیط‌های حاوی ۱ میلی گرم در لیتر IBA و ۳ میلی گرم در لیتر 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 medium included 1 and 3 mg⁻¹ IBA and BAP

دانست (۷،۱۰). بنابراین، نتایج متقابل مشاهده شده در مستندات موجود ممکن است به این گونه اختلافات مربوط باشد.

بررسی های آتابک و همکاران (۴) نشان داد در کشت بافت سویا میزان غلظت RNA نمونه های در معرض میدان مغناطیسی بیش از نمونه های شاهد بوده است و آن را مرتبط با سنتر RNA و پروتئین دانسته اند. ایشان همچنین دریافتند فعالیت آنزیم پراکسیداز کاتیونی هم راستا با رشد رویشی گیاهچه های در معرض میدان مغناطیسی افزایش می باید اما میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز آنیونی که در پاسخ به تنش های زیستی و غیر زیستی نقش دارد، کاهش می باید. برخی از گزارش ها سازو کار اثر میدان های الکترو مغناطیسی را مربوط به اثر این میدان ها روی کانال های غشاء ای، بویژه کانال های انتقال کلسیم می دانند، بطوریکه با القای میدان الکتریکی و

mekanisim fizyikي اثر میدان های مغناطیسی، در سطح اتمی و فرات اتمی به رزنانس میدان های هسته ای در بافت های زنده و اثرات آن بر وضعیت اسپین الکترونیکی^۱ و ارتباط آن ها با گروه های ویژه ای از واکنش های انتقال الکترونی مربوط می باشد. مطالعات نشان داده است که بین میدان های الکترو مغناطیسی و بروز آثار بیولوژیکی رابطه ای وجود دارد که البته باید دخالت عوامل دیگر در ظهور این آثار را نیز در نظر داشت چرا که وجود آن ها سبب می شود در برخی مطالعات مشابه نتایج متفاوت و یا حتی کاملاً متفاوت بدست آید (۱۴). گزارش های موجود نشان داده اند که گیاهان نسبت به میدان مغناطیسی حساسیت بالایی دارند و این گونه میدان ها در رشد و نمو گیاهان موثر می باشند. تاثیرهای مختلف ایجاد شده توسط میدان مغناطیسی بر گیاهان را می توان در ارتباط با شدت و نوع میدان، طول مدت تیماردهی و اندام گیاهی،

است (۱۹) و در نتیجه موجب افزایش کارآیی گیاه و افزایش وزن خشک آن در محیط حاوی هورمون کمتر شده است.

سازوکار تأثیر میدان‌های مغناطیسی بر سلول‌های زنده هنوز بطور دقیق مشخص شده است، ولی باید گفت که اثر مهاری یا تحریکی میدان مغناطیسی بر رشد بافت‌ها، به‌عواملی نظری گونه و اندام گیاهی، فرکانس و نوع میدان، مدت زمان تیمار و سایر عوامل تنفس را بستگی دارد (۲۰). در این پژوهش طی دو آزمایش اثر مدت زمان اعمال میدان مغناطیسی در حضور و عدم حضور تنظیم کننده‌های رشد گیاهی سنجیده شد. به‌طور کلی، زمان‌های مختلف اعمال میدان مغناطیسی بر گیاه بنشفه 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 بی‌اثر و حتی منفی بود. تعداد برگ در گیاه زیستی بنشفه آفریقایی در زمان اعمال میدان مغناطیسی پیوسته و ناپیوسته بیشتر از شاهد بود، اما اندازه‌گیری وزن تر و خشک گیاهچه‌ها نشان داد در شرایط تیماری 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 تنظیم کننده‌های رشد، اثری بر طول گیاهچه نداشت که با وجود معنی دار نبودن اثر آن، به دلیل معمول بودن رشد رشد رویشی گیاه بنشفه آفریقایی به صورت رزت و زیستی بودن گل، بنظر می‌رسد عدم افزایش ارتفاع با احتمال افزایش جلوه گری 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 به صورت پیوسته در معرض میدان مغناطیسی ۰/۹ میلی‌تسلا قرار بگیرد به‌طور معنی داری 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 معنی داری روی وزن خشک ریزنمونه‌ها داشت. بنابراین به نظر می‌رسد استفاده از میدان مغناطیسی می‌تواند بدون اثر منفی بر بازتابی بنشفه آفریقایی منجر به کاهش مصرف تنظیم کننده‌های 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 روش 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 این حسام پسران بیرون گردید به جهت ساخت و در اختیار قرار دادن دستگاه مولد میدان مغناطیسی تقدیر بعمل می‌آید.

مغناطیسی به این کanal‌ها که دارای بار الکترونیکی هستند این کanal‌ها باز شده و کلسیم درون سلولی افزایش می‌یابد. عملکرد کanal‌های یونی مبتنی بر اثر اختلاف غلظت و رانش یون‌ها بر اثر اختلاف پتانسیل است. بنابراین فرآیندی مانند تغییر ولتاژ، محركی برای تغییر در روند عملکرد کanal‌های یونی با تحت تأثیر قرار دادن و باز و بسته شدن آن‌ها می‌شود (۲۱)، 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 تایید 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 همکاران (۲۲) بر گیاه Alikamano lu Paulowinia tomentosa 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 (۲۳).

افزایش وزن تر و خشک را می‌توان به نظریه نوسان خودبخودی یون به عنوان 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 کanal‌ها، پمپ‌ها و ترانسپورت‌ها) آن‌ها را به تحریک و ادار ساخته و از این طریق سبب تحریک رشد گردد (۲۴). از جمله مهم‌ترین این یون‌ها، یون Ca^{2+} می‌باشد و نتایج پژوهش‌ها نشان داده که $\text{ICR}-\text{Ca}^{2+}$ یک ساز و کار باز در درک میدان مغناطیسی در ترکیب با میدان الکترومغناطیسی می‌باشد (۲۵).

در پژوهشی lu Alikamano و همکاران (۲۶) اثرات میدان Paulowinia tomentosa را بر کشت بافت گیاه بررسی کردند که نسبت به شاهد افزایش در برخی خصوصیات از جمله وزن خشک و تعداد برگ اختلاف معنی داری داشت که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد.

وزن تر ریزنمونه‌های محیط حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر هورمون IBA و BAP که به مدت ۵ روز به صورت پیوسته در معرض میدان مغناطیسی ۰/۹ میلی‌تسلا قرار داشتند به‌طور معنی داری 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 آسیمیلاتسیون عناصر غذایی را افزایش داده و فعالیت‌های فتوستنتزی گیاه را بهبود بخشیده

منابع

1. Abaszadeh, R., M. Masumian, S.H. Sarami, A. Zenuzi, A. Nouruziyan and F. Sadatmirsaifi. 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. Yaycili, 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. Celik, 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 carota* 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. Vaeszadeh.2006. The effects of static magnetic field on the metabolism of certain phenolic compound in red cabbage (*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.Yaycili, 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 1mgl-1 PGRs than 3 mgl-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*