



## بررسی وابستگی ژنوتیپی باززایی درون شیشه‌ای گیاه بنفشه آفریقایی

### Investigating the Genotype Dependency of *in vitro* Regeneration of African Violet

محمد احمدآبادی<sup>۱\*</sup>، مریم باقری بهل<sup>۲</sup>، لیلا داووروش<sup>۲</sup>

Mohammad Ahmadabadi<sup>1\*</sup>, Maryam Bagheri Bohl<sup>2</sup>, Leyla Davarvash<sup>2</sup>

۱-دانشیار و ۲- دانشجوی سابق، گروه بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز، ایران.

1. Associate professor and 2. former MSc student, Department of Biotechnology, Faculty of Agriculture, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz, Iran.

\*Corresponding Author, Email: [m.ahmadabadi@azaruniv.ac.ir](mailto:m.ahmadabadi@azaruniv.ac.ir) ; [ahmadabadiir@yahoo.com](mailto:ahmadabadiir@yahoo.com)

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۰/۲۵ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۲/۱۱ - تاریخ انتشار: ۱۴۰۳/۱۲/۲۵)

Received: 2025/01/14 | Accepted: 2025/03/01 | Published: 2025/03/15

#### Abstract

African violet is one of the popular ornamental plants with high diversity, that is propagated through asexual methods due to the lack of a proper sexual reproduction method. Despite the great genotypic diversity in this plant, no study has been reported on the genotype dependency of its *in vitro* regeneration. In this research, to evaluate *in vitro* regeneration potential, fifteen different African violet ecotypes with prominent phenotypic differences were cultured on the optimized regeneration medium. The results showed that all the studied genotypes have the ability to regenerate on this medium and, except for two ecotypes, the rest were placed in three statistical groups close to each other. These results prove the conservation of major factors involved in regeneration potential in different genotypes of African violets over time. This conservation can be related to the need of this plant for alternative reproduction methods due to the lack of an accurate sexual reproduction system. However, the number of regenerated seedlings from each explant was highly different in various ecotypes, which could be due to the interaction of other environmental conditions in addition to hormones in the activation of genetic and epigenetic factors necessary to prime cell fate towards plant regeneration through one of the mechanisms of somatic embryogenesis or organogenesis. In general, it can be concluded that in the African violet plant, regeneration mechanisms have been preserved in all genotypes, however, their activation in different genotypes to increase the number of regenerants per explant is dependent on optimizing environmental factors.

**Keywords:** African violet, genotype dependence, *in vitro* propagation, regeneration potential

#### چکیده

#### رفرنس دهی این مقاله Citation

Ahmadabadi M, Bagheri Bohl M, Davarvash L. (2025). Investigating the genotype dependency of *in vitro* regeneration of African violet. Genetic Engineering and Biosafety Journal, 13 (2) : 204-212. Doi: [10.61882/gebsj.13.2.5](https://doi.org/10.61882/gebsj.13.2.5)  
URL: <http://gebsj.ir/article-1-511-en.html>

احمدآبادی محمد، باقری بهل مریم، داووروش لیلا. ۱۴۰۳. بررسی وابستگی ژنوتیپی باززایی درون شیشه‌ای گیاه بنفشه آفریقایی. مهندسی ژنتیک و ایمنی زیستی. ۱۳ (۲): ۲۰۴-۲۱۲

Genetic Engineering and Biosafety Journal  
Volume 13, Number 2, 2025

## خلاصه

بنفشه آفریقایی یکی از گیاهان زینتی محبوب با تنوع بسیار بالا می‌باشد، که به دلیل عدم وجود سیستم تولیدمثل جنسی مناسب، تکثیر و تولید آن از روش‌های غیرجنسی انجام می‌شود. با وجود تنوع زیاد ژنوتیپی در این گیاه، مطالعه‌ای بر روی وابستگی باززایی آن در شرایط درون-شیشه‌ای به ژنوتیپ گزارش نشده است. در این پژوهش، پانزده اکوتیپ مختلف با تفاوت‌های برجسته ظاهری از نظر پتانسیل باززایی درون-شیشه‌ای روی محیط کشت بهینه، کشت شدند. نتایج نشان داد که همه ژنوتیپ‌های مورد بررسی قابلیت باززایی روی این محیط کشت را دارند که به جز دو اکوتیپ، بقیه در سه گروه نزدیک به هم قرار گرفتند. این نتایج حفظ شدن عوامل اصلی دخیل در پتانسیل باززایی را در ژنوتیپ‌های مختلف بنفشه آفریقایی در طول زمان اثبات می‌کند. این حفاظت می‌تواند به نیاز این گیاه به روش‌های تکثیر جایگزین به دلیل عدم وجود سیستم تولید مثل جنسی مناسب مرتبط باشد. با این حال، تعداد گیاهچه‌های باززا شده از هر ریزنمونه در اکوتیپ‌های مختلف به شدت متفاوت بود، که می‌تواند به اثر متقابل سایر شرایط محیطی علاوه بر هورمون‌ها در فعال‌سازی عوامل ژنتیکی و اپی‌ژنتیکی لازم برای هدایت سرنوشت سلول‌ها به سمت باززایی گیاه از طریق یکی از مکانیسم‌های جنین‌زایی سوماتیکی یا اندام‌زایی مربوط باشد. به‌طور کلی می‌توان گفت در گیاه بنفشه آفریقایی مکانیسم‌های باززایی گیاه در تمام ژنوتیپ‌ها حفظ شده است، با این حال، فعال‌سازی آنها در ژنوتیپ‌های مختلف برای افزایش تعداد گیاهچه‌ها در واحد سطح ریزنمونه به بهینه‌سازی عوامل محیطی وابسته است.

**کلیدواژه‌ها:** بنفشه آفریقایی، پتانسیل باززایی، تکثیر درون‌شیشه‌ای، وابستگی به ژنوتیپ

## مقدمه

## Introduction

تحت تأثیر چندین عامل درون‌زا و خارجی با اثرات تجمعی قرار می‌گیرد. پتانسیل جنین‌زایی/اندام‌زایی تنها در سلول‌هایی از ریزنمونه رخ می‌دهد که «شایستگی» پاسخ به جنین‌زایی یا اندام-زایی را کسب کرده باشند (Elhiti & Stasolla, 2011). ژنوتیپ به-عنوان مهم‌ترین عامل تعیین‌کننده کسب پتانسیل باززایی شناخته می‌شود که به راحتی با تنوع در پاسخ باززایی در بین ژنوتیپ‌های مختلف یک گونه قابل مشاهده است (Akasaka-Kennedy *et al.*, 2005; Shumilina *et al.*, 2020; Thengane *et al.*, 1994; Vijayan *et al.*, 2000). با توسعه ابزارهای مولکولی، تحقیقات گسترده‌ای برای شناسایی مکانیسم‌های ژنتیکی پاسخ به کشت بافت انجام شده است. با این وجود، در حال حاضر، پیش‌بینی محیط رشد و پروتکل دقیق باززایی گیاه از یک ریزنمونه خاص عملاً غیرممکن است. در پژوهش حاضر، برای بررسی اثر ژنوتیپ روی پتانسیل باززایی گیاه بنفشه آفریقایی، اکوتیپ‌های مختلفی که از نظر فنوتیپی تفاوت قابل‌ملاحظه‌ای از هم داشتند، در محیط باززایی

بنفشه آفریقایی با نام علمی *Saintpaulia ionantha* Wendl. یک گیاه زینتی مهم از نظر اقتصادی است که اکوتیپ‌های مختلفی با رنگ‌ها و اشکال مختلف دارد. رایج‌ترین روش سنتی برای تکثیر بنفشه آفریقایی استفاده از قلمه برگ است که بسیار زمان‌بر است و تنها تعداد محدودی گیاه از این طریق تولید می‌شود. بنابراین، توسعه روشی برای تکثیر سریع این گیاه، باعث پیشرفت اقتصادی زیادی در صنعت گیاهان زینتی خواهد شد. فناوری کشت بافت یا کشت درون‌شیشه‌ای یکی از روش‌هایی است که امکان تکثیر سریع گیاه را در زمان کوتاه و فضای محدود فراهم می‌کند. باززایی گیاه در کشت بافت به دو روش جنین‌زایی سوماتیکی و اندام‌زایی اتفاق می‌افتد (Hicks, 1994; Jia *et al.*, 2009). در فرآیند جنین‌زایی، ساختارهای دوقطبی که شبیه جنین‌های زیگوتی هستند، از سلول‌های سوماتیکی ایجاد می‌شوند. در اندام‌زایی، ابتدا پریموردیای تک قطبی تشکیل می‌شود که متعاقباً اندام ساقه یا ریشه از آن منشأ می‌گیرد. بطور کلی، باززایی درون‌شیشه‌ای فرآیندی پیچیده است که

بهینه‌شده کشت شده و از نظر پتانسیل بازرایی و تعداد گیاهچه‌های بازرایی شده ارزیابی شدند.

باززایی درون‌شیشه‌ای گیاهان یک ابزار مهم برای تکثیر تجاری گیاهان و اصلاح مولکولی آنها است. با این حال، فرآیند بازرایی گیاه کامل از یک سلول سوماتیکی که شامل جنین‌زایی سوماتیکی و یا اندام‌زایی ریشه و ساقه می‌شود، به عوامل متعددی از قبیل شرایط رشد گیاه مادری، ترکیب محیط و شرایط کشت و ژنوتیپ بستگی دارد (Yan *et al.*, 2023). در این میان، به نظر می‌رسد ژنوتیپ عامل مهم‌تری برای کارایی کشت درون‌شیشه‌ای باشد. برای مثال در کشت بساک گیاه آفتابگردان، ژنوتیپ تاثیر بسیار معنی‌داری در قابلیت جنین‌زایی سوماتیکی و بازرایی گیاهچه از جنین‌های القاء شده نشان داده است (Thengane *et al.*, 1994). در گیاه توت درختی نیز، تفاوت معنی‌داری در پاسخ به بازرایی گیاه از قطعات برگ ژنوتیپ‌های مختلف مشاهده شد (Vijayan *et al.*, 2000). در بررسی بازرایی از قطعات برگ ۴۸ ژنوتیپ گیاه کلزا، تنوع بسیار زیادی در قابلیت بازرایی ساقه (بین ۰ تا ۱۰۰٪) و تعداد جوانه شاخسار در هر ریزنمونه (از ۰ تا ۷/۵ عدد) مشاهده شد (Akasaka-Kennedy *et al.*, 2005). در یک مطالعه دیگر روی تاثیر ژنوتیپ در قابلیت جنین‌زایی و بازرایی گیاه از میکروسپورهای کلزا، نتایج مشابهی بدست آمد (Shumilina *et al.*, 2020) که نشان‌دهنده اثر معنی‌دار ژنوتیپ بر روی نرخ بازرایی از ریزنمونه‌های مختلف در یک گیاه می‌باشد. اثر ژنوتیپ روی قابلیت بازرایی می‌تواند ناشی از حضور یا عدم حضور ژن‌های کنترل‌کننده این فرآیند در ژنوم، و یا کنترل بیان این ژنها و تغییر آنها در جهت فعال‌سازی مسیرهای سیگنال‌دهی بازرایی باشد (Bull & Michelmore, 2022). در آزمایش‌های کشت بافت معمولاً اضافه کردن اکسین و سیتوکینین نقش عمده‌ای در تنظیم این مسیرها در مراحل اولیه بازرایی ایفا می‌کنند که با تغییر بیان ژنها در ژنوم همراه هستند. اینکه در یک گیاه بافت‌های مختلف به یک محیط کشت مشابه پاسخ متفاوتی می‌دهند نیز ناشی از تفاوت آنها در نقشه بیان ژن می‌باشد که در نتیجه، باعث تفاوت در مسیرهای سیگنال‌دهی ایجاد شده توسط عوامل تنظیم‌کننده رشد استفاده شده در محیط کشت می‌شود (Lardon & Geelen, 2020). در اکثر سیستم‌های بازرایی، مواد برگی به دلایل مختلف از قبیل سهولت تهیه از گیاهچه‌های سترون حاصل از جوانه‌زنی بذر در زمان کوتاه، به‌عنوان منبع ریزنمونه ترجیح داده می‌شود. تاکنون، بازرایی موفق گیاه از قسمت‌های مختلف بنفشه آفریقایی از جمله بافت زیر اپیدرمی (Bilkey & Cocking, 1981)، بساک (Weatherhead *et al.*, 1982)، پروتوپلاست (Hoshino *et al.*, 1995; Winkelmann & Grunewaldt, 1995)، دمبرگ (Mithila *et al.*, 2003; Saltveit & Hepler, 2004; Sunpui & Kanchanapoom, 2002) و جوانه های گل (Daud & Taha, 2008; Molgaard *et al.*, 1991) گزارش شده است. مطالعات زیادی نیز روی بازرایی گیاه بنفشه آفریقایی از ریزنمونه برگی (Cooke, 1977; Daud *et al.*, 2008; Mithila *et al.*, 2003; Shukla *et al.*, 2013; Smith & Norris, 1983; Start *et al.*, 2002; Cumming, 1976; Sunpui & Kanchanapoom, 2002) انجام شده است. با این وجود، تا کنون مطالعه‌ای روی میزان تنوع پاسخ-دهی ژنوتیپ‌های مختلف بنفشه آفریقایی به بازرایی درون‌شیشه‌ای گزارش نشده است. در این تحقیق، پاسخ ۱۵ ژنوتیپ بنفشه آفریقایی به بازرایی از ریزنمونه برگی روی محیط بهینه شده (Ghorbanzade & Ahmadabadi, 2014) ارزیابی گردید.

## Materials and Methods

آب مقطر استریل، نمونه‌ها در هیپوکلریت سدیم ۵ درصد (تجاری) به مدت ۱۵ دقیقه غوطه‌ور شدند. در نهایت قطعات گیاهی سه مرتبه با آب مقطر استریل شستشو داده شده و برای تهیه گیاهان مادری استریل روی محیط MS (Murashige & Skoog, 1962) پایه کشت داده شدند.

تهیه ریزنمونه‌های برگی و کشت آنها در محیط بازرایی

## مواد و روش‌ها

### تهیه اکوتیپ‌ها و ایجاد کشت‌های سترون

پانزده اکوتیپ مختلف بنفشه آفریقایی با شکل و رنگ بوته و گل-های متفاوت از استان‌های گیلان و آذربایجان شرقی جمع‌آوری و برای آزمایش‌ها استفاده شدند. برای ضدعفونی سطحی، ابتدا مواد گیاهی (قطعات برگ و دمبرگ) زیر آب جاری شسته شده و با اتانول ۷۰ درصد به مدت ۳۰ ثانیه تیمار شدند. پس از شستشو با

### نگهداری کشت‌ها در اتاق رشد

نمونه‌های کشت شده در اتاق رشد با چرخه روزانه ۱۶ ساعت نور  $25 \mu\text{E}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$  در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و سپس یک دوره تاریکی ۸ ساعته در دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند.

### یادداشت‌برداری و آنالیز داده‌ها

پس از ۴-۶ هفته (بدون واكشت) باززایی گیاهچه از ریزنمونه‌های برگ‌ی ارزیابی و داده‌ها ثبت شدند. طرح آزمایشی به صورت کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. مقایسه آماری به روش آنالیز واریانس یک طرفه توسط نرم افزار SPSS نسخه ۱۹/۰ انجام شده و میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن ( $P < 0.05$ ) مقایسه شدند.

## Results and Discussion

می‌رسد که جنین‌زایی سوماتیکی مکانیسم غالب در باززایی اکثر اکوتیپ‌های بنفشه آفریقایی می‌باشد.

بنفشه آفریقایی به دلیل تنوع در رنگ، شکل و سازگاری سریع آن به محیط مصنوعی، به یکی از گیاهان زینتی محبوب با تقاضای روزافزون تبدیل شده است. تولید مثل این گیاه در طبیعت بیشتر به دلیل عدم وجود سیستم مناسب گرده‌افشانی، ناموفق شناخته شده است (Kolehmainen J, 2006). حتی بنفشه‌های آفریقایی که گرده‌افشانی می‌شوند، معمولاً گل‌ها یا میوه‌های بارور شده خود را سقط می‌کنند (Kolehmainen J, 2006)، که باعث کاهش بسیار شدید تولید بنفشه آفریقایی در طبیعت می‌شود. با این حال، این گیاه در محیط آزمایشگاهی به راحتی قابل تکثیر است که نشان‌دهنده انعطاف‌پذیری بسیار بالای سلول‌های این گیاه برای تمایززدایی و تبدیل به سلول‌های مریستمی، انجام تقسیم سلولی و تمایز مجدد به گیاه کامل است. احتمال دارد که این پتانسیل به عنوان مکانیسمی برای جلوگیری از انقراض این گیاه به دلیل عدم وجود سیستم مناسب تولید مثل از طریق بذر ایجاد شده باشد. با دارا بودن این ویژگی، تکثیر این گیاه بصورت سنتی به راحتی از قلمه‌های برگ انجام می‌شود.

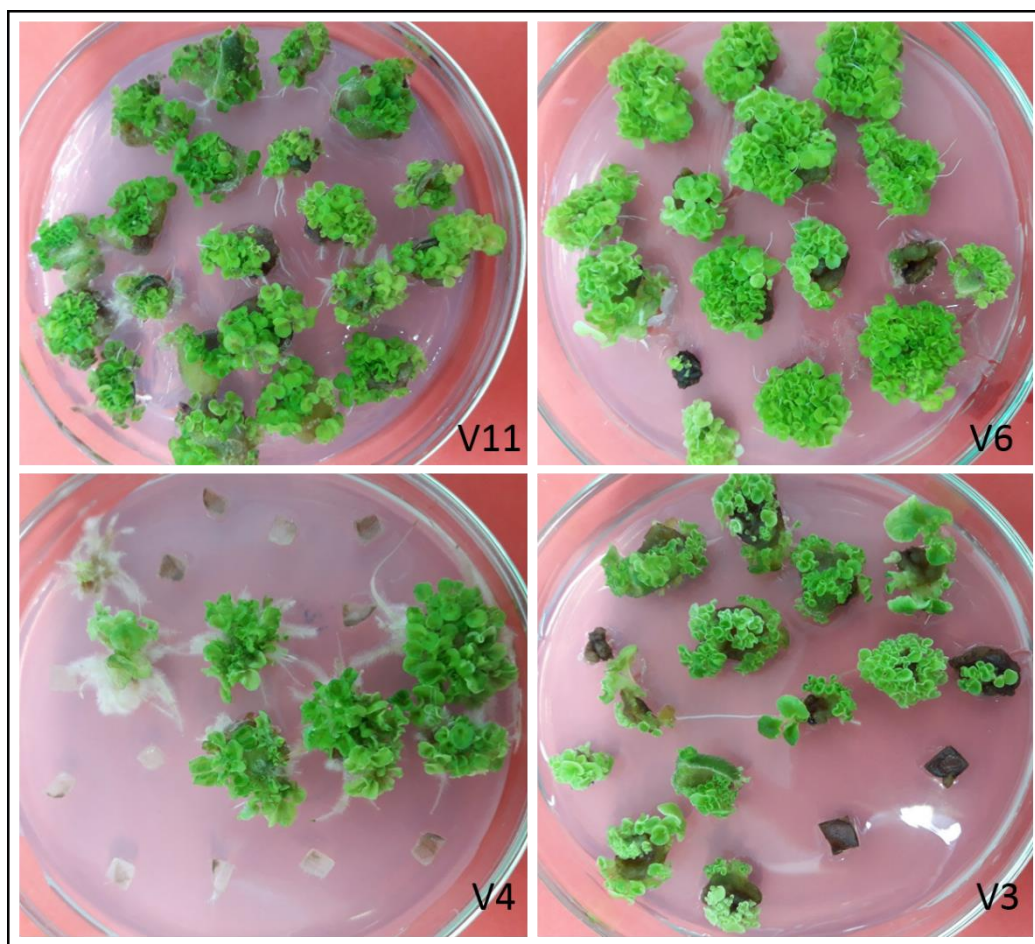
نمونه‌های برگ‌ی جوان با موقعیت مشابه از گیاهچه‌های استریل ۴ هفته‌ای جدا شده و بر روی پتری‌دیش حاوی کاغذ صافی مرطوب استریل به قطعات  $5 \times 5$  میلی‌متری برش داده شدند. سپس قطعات برگ به صورت تصادفی بر روی محیط کشت بهینه‌شده برای باززایی بنفشه آفریقایی (Ghorbanzade & Ahmadabadi, 2014) (LS) (Linsmaier & Skoog, 1965) حاوی ۳۰ گرم در لیتر ساکارز و  $1 \text{ mg/l}$  تیدیاژورون) کشت شدند. مقدار pH محیط کشت روی ۵/۸ تنظیم گردید و محیط کشت‌ها با افزودن ۷ گرم در لیتر آگار-آگار (HIMEDIA-India) جامد شدند. محلول ذخیره تیدیاژورون با گذراندن از فیلترهای سرسرنگی با قطر منافذ  $0.2 \mu\text{m}$  میکرومتر (Whatman, UK) استریل شده، و پس از اتوکلاو به محیط اضافه شد.

## نتایج و بحث

نتایج حاصل از بررسی باززایی ساقه از ریزنمونه برگ‌ی نشان داد که اکثر اکوتیپ‌ها دارای قابلیت بسیار بالایی برای باززایی (شکل ۱ و ۲). به غیر از یک اکوتیپ که حدود ۳۰ درصد باززایی نشان داد، میانگین باززایی ساقه در سایر اکوتیپ‌ها در محدوده ۷۵ تا ۱۰۰ درصد قرار گرفت (شکل ۲-الف). این نشان می‌دهد که دستورالعمل استفاده‌شده، برای باززایی اکثر اکوتیپ‌های بنفشه آفریقایی مناسب است و در واقع، اکوتیپ‌های مختلف بنفشه آفریقایی پتانسیل باززایی خود را تا حدود زیادی حفظ کرده‌اند.

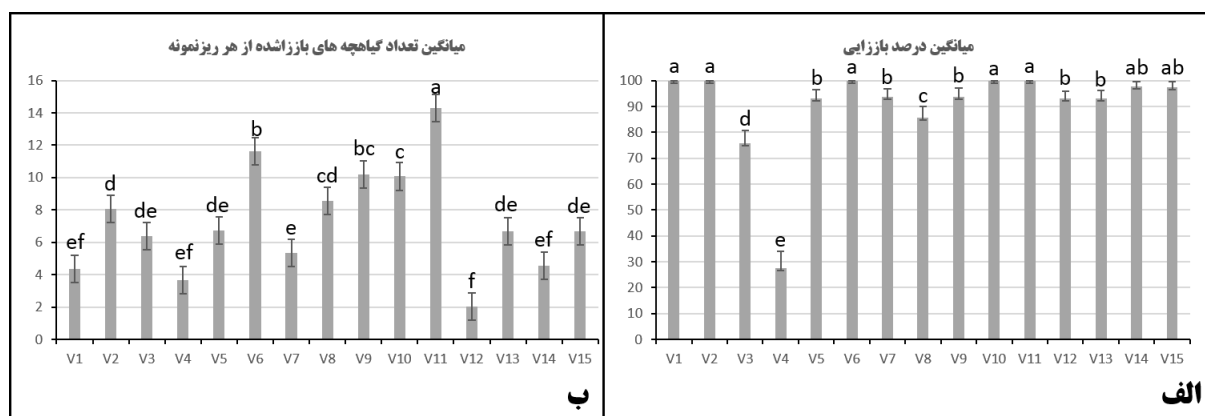
بررسی میانگین تعداد گیاهچه‌های باززا شده از هر ریزنمونه، که از ۱۴ تا ۲ گیاهچه متفاوت بود، نشان داد که اکوتیپ‌ها در این ویژگی تفاوت بیشتری با هم دارند (شکل ۲-ب). این نشان می‌دهد که با وجود حفظ پتانسیل باززایی در اکوتیپ‌های مختلف بنفشه آفریقایی، مکانیسم‌های کنترل تعداد گیاهچه‌های باززا شده در طول زمان دستخوش تغییرات بیشتری شده‌اند.

بررسی گیاهچه‌های باززا شده از قطعات برگ در اکوتیپ‌های مختلف نشان داد که هر دو مکانیسم جنین‌زایی سوماتیکی و اندام-زایی در باززایی گیاهچه‌ها دخیل هستند (شکل ۳). با این حال، از فراوانی جنین‌های سوماتیکی در اکوتیپ‌های مختلف چنین به نظر



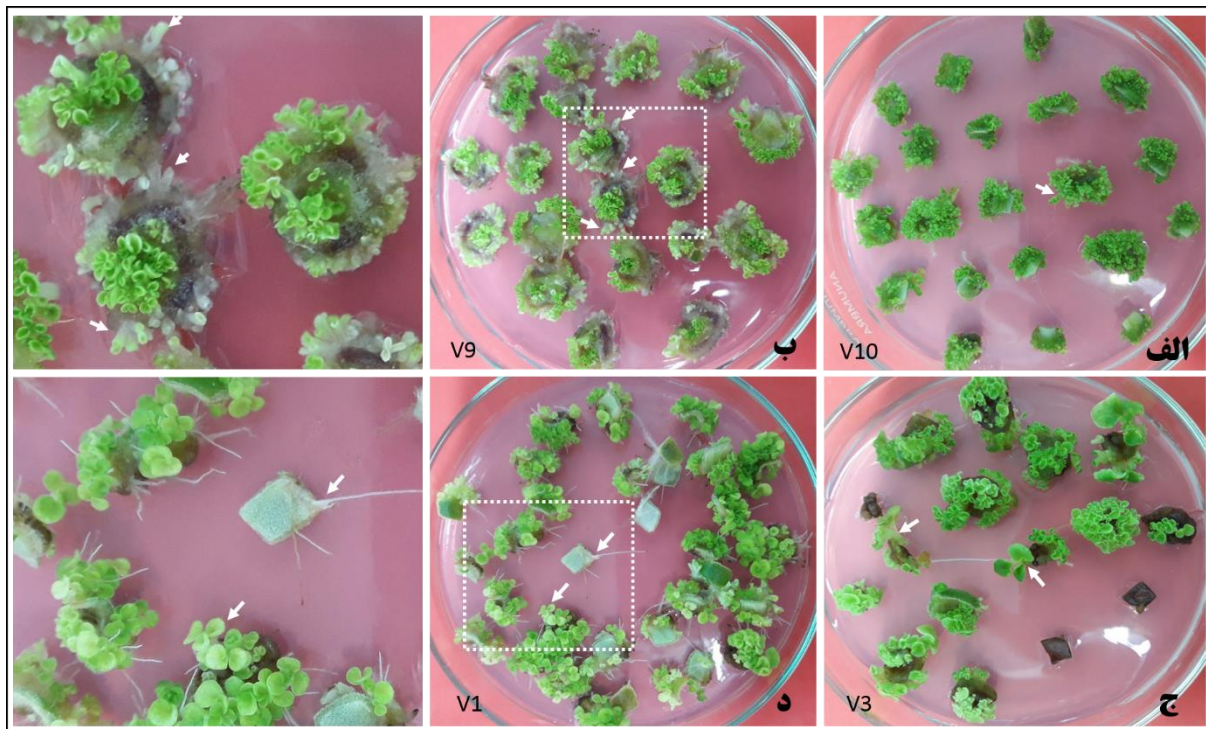
شکل ۱- تصویر باززایی تعدادی از اکوتیپ‌های (که با ۷ نمایش داده شده‌اند) بنفشه آفریقایی از قطعات برگ‌گی پس از ۴ هفته کشت.

**Figure 1.** Regeneration of a number of African violet ecotypes from leaf fragments after 4 weeks of *in vitro* culture.



شکل ۲- نمودار میانگین درصد باززایی (الف) و تعداد گیاهچه‌های باززاشده از هر ریزنمونه (ب) در اکوتیپ‌های مختلف گیاه بنفشه آفریقایی. حروف متفاوت بالای ستون‌ها نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار اکوتیپ‌ها در صفت مورد بررسی می‌باشد.

**Figure 2.** Graph of the average percentage of regeneration (a) and the number of regenerated seedlings from each explant (b) in different ecotypes of African violet. Different letters above the columns indicate significant differences between ecotypes in the studied trait.



شکل ۳- تصویر نمونه‌هایی از باززایی از طریق جنین‌زایی سوماتیکی (الف و ب) و اندام‌زایی ساقه و ریشه (ج و د). برای مشاهده بهتر، بزرگ‌نمایی از قسمت نشان‌داده شده در کادر سفید در سمت چپ هر کدام از شکل‌ها نمایش داده شده است.

**Figure 3.** Examples of regeneration through somatic embryogenesis (a and b) and stem and root organogenesis (c and d). For better illustration, a magnification of the area indicated in the white box is shown on the left side of each figure.

می‌باشد (Long *et al.*, 2022; Perez-Garcia & Moreno- (Risueno, 2018).

تعداد گیاهچه‌های باززا شده از هر ریزنمونه ویژگی مهمی برای تکثیر سریع درون‌شیشه‌ای گیاهان زینتی در سطح تجاری است. تنوع بالای این ویژگی در بین اکوتیپ‌ها می‌تواند نشان‌دهنده ایجاد تغییرات ساختاری یا بیانی زیاد در ژن‌های کنترل‌کننده این صفت باشد. باززایی گیاه در محیط درون‌شیشه‌ای از طریق دو نوع مکانیسم جنین‌زایی سوماتیکی و اندام‌زایی صورت می‌گیرد (Long *et al.*, 2022). در آزمایش‌های ما، باززایی گیاه بنفشه آفریقایی از هر دو نوع مکانیسم قابل مشاهده بود، با این حال، جنین‌زایی سوماتیکی مکانیسم غالب برای اکثر اکوتیپ‌ها بود.

در اکثر آزمایش‌های کشت بافت، باززایی بیشتر در محل زخم اتفاق می‌افتد، که نشان‌دهنده اهمیت تنش زخم برای راه‌اندازی مسیر سیگنالینگ باززایی است که بیشتر شامل تاثیر روی سنتز و فعالیت هورمون‌ها به‌ویژه اکسین و سیتوکینین است (Ikeuchi *et al.*, 2019);

همچنین، این گیاه در محیط درون‌شیشه‌ای نیز از ریزنمونه‌های مختلف از جمله برگ به راحتی تکثیر می‌شود که در تولید تجاری این گیاه زینتی عامه‌پسند نقش بسیار زیادی دارد. با وجود تنوع زیاد اکوتیپ‌های بنفشه آفریقایی و علی‌رغم توسعه دستورالعمل‌های متعدد برای باززایی این گیاه از ریزنمونه‌های مختلف، تا به حال گزارشی در زمینه تاثیر ژنوتیپ روی باززایی آن در یک محیط بهینه‌شده چاپ نشده است. در این تحقیق، باززایی چندین اکوتیپ بنفشه آفریقایی از قطعات برگ برای بررسی اثر ژنوتیپ روی میزان باززایی ارزیابی گردید. اکثر اکوتیپ‌های بررسی شده، پتانسیل باززایی مناسبی روی محیط بهینه نشان دادند که نشان‌دهنده حفظ پتانسیل باززایی در طول زمان است. بطور کلی، اکثر گیاهان توانایی قابل توجهی برای باززایی بافت‌ها از اندام‌های تمایز یافته دارند که نشان‌دهنده انعطاف‌پذیری بالای گیاهان برای بازسازی همه اندام‌ها از طریق تمایز زایی سلول‌ها و برنامه‌ریزی مجدد سرنوشت آنها

چندین عامل کلیدی رونویسی، سرنوشت سلول را به سمت باززایی از یکی از مسیرها هدایت می‌کند (Xu & Huang, 2014). عوامل ژنتیکی تنظیم‌کننده باززایی را می‌توان به دو دسته تقسیم کرد: (۱) تنظیم‌کننده‌های اصلی که بدون آن‌ها باززایی امکان‌پذیر نیست (از قبیل WUSCHEL و ژن‌های هومئوباکس مرتبط)، و (۲) تنظیم‌کننده‌های شرطی که نقش نسبی آنها به ریزنمونه و تنظیمات شرایط کشت بستگی دارد (Lardon & Geelen, 2020). با این حال، انتقال موفق سرنوشت سلول به یکی از مسیرهای باززایی، مستلزم تغییرات گسترده بیان ژن در ژنوم است که شامل تغییرات اپی‌ژنتیکی نیز می‌شود. به‌طور کلی، اثرات متقابل بین سیگنال‌دهی هورمونی، فاکتورهای رونویسی و عوامل اپی‌ژنتیکی در هدایت سلول به انواع مختلف مسیرهای باززایی گیاه دخیل است، که نشان می‌دهد مکانیسم‌های بسیار ظریف و پیچیده‌ای نوع باززایی در گیاهان را تحت شرایط مختلف کنترل می‌کنند.

نتایج ما نشان داد که اکثر ژنوتیپ‌های بنفشه آفریقایی پتانسیل باززایی از سلول‌های سوماتیکی را در طول زمان حفظ کرده‌اند، که می‌تواند ناشی از ضرورت تکثیر رویشی این گیاه به‌دلیل عدم وجود سیستم‌های کارآمد برای تکثیر جنسی از طریق بذر باشد. با این حال، قابلیت تولید جوانه‌های شاخسار در هر ریزنمونه برگی بسیار متفاوت بود. احتمال می‌رود این تفاوت به تاثیر عوامل محیطی در سازگاری ژنتیکی اکوتیپ‌های مختلف برای فعال کردن مکانیسم‌های باززایی خود در شرایط خاص مرتبط باشد. از این رو، بهینه‌سازی شرایط کشت از قبیل غلظت هورمون‌ها و محرک‌های رشد می‌تواند نقش مهمی در افزایش قابلیت تولید شاخسارها داشته باشد. اعتقاد بر این است که پتانسیل باززایی در گیاهان به‌صورت غالب به ارث می‌رسد، با این حال، مشخص نیست که چه تعداد ژن در این فرآیند درگیر هستند (Lardon & Geelen, 2020). آنچه مسلم است، فعال شدن این ژن‌ها و مکانیسم‌های ترمیم و باززایی در گیاهان تا حدود زیادی به شرایط محیطی و تنش‌های اطراف از جمله زخمی شدن گیاه بستگی دارد. شاید به همین دلیل نیز در اکثر آزمایش‌های کشت بافت، همانند آزمایش‌های ما، باززایی در نواحی زخم بیشتر دیده می‌شود، و بنابراین، شناسایی دقیق سیگنال‌های مرتبط با زخم می‌تواند یک هدف مهم برای تحقیقات آینده باشد.

(Momoko Ikeuchi et al., 2016). پاسخ‌های اولیه زخم شامل موارد متعددی از قبیل افزایش سریع  $Ca^{2+}$ ، دپلاریزاسیون غشای پلاسمایی، اختلال در ارتباطات سلولی، افزایش گونه‌های فعال اکسیژن و تجمع اسید جاسمونیک است؛ اگرچه اینکه چگونه این موارد به امواج رونویسی گسترده تبدیل می‌شوند، به خوبی درک نشده است (Ikeuchi et al., 2019).

یکی از عواملی که کنترل آن برای ارزیابی وابستگی ژنوتیپی گیاهان سخت است، منبع ریزنمونه می‌باشد. با توجه به انعطاف‌پذیری مورفولوژی گیاه و خطاهای نمونه‌برداری، اطمینان از اینکه همه متغیرهای جمعیت ریزنمونه از قبیل سن و شرایط فیزیولوژیکی کاملاً یکنواخت هستند، غیرممکن است. با این حال، ریزنمونه‌های جوان یکنواختی بیشتری نسبت به اندام‌های بالغ دارند و برای این مطالعات مناسب‌تر هستند (Ikeuchi et al., 2019). با این حال، انعطاف‌پذیری متفاوت ریزنمونه‌ها می‌تواند تا حدی در تغییرات پاسخ‌دهی به محیط کشت موثر باشد (Momoko Ikeuchi et al., 2016).

مطالعات نشان داده‌اند که غلظت داخلی هورمون‌ها در بافت‌های مشابه اکوتیپ‌های مختلف متفاوت است (Chatfield & Raizada, 2008; Lee et al., 2018). این عامل می‌تواند تا حدود زیادی تفاوت در میزان پاسخ‌دهی اکوتیپ‌های مختلف روی محیط کشت حاوی هورمون‌های خارجی به میزان مشابه را توجیه کند، چراکه تعادل هورمونی نقش کلیدی در هدایت سلول در مسیرهای تقسیم سلولی و باززایی دارد (Momoko Ikeuchi et al., 2016; Radhakrishnan et al., 2018). از طرف دیگر، تفاوت در ساختار مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی ریزنمونه در ژنوتیپ‌های مختلف نیز می‌تواند منشاء تنوع در قدرت باززایی باشد. برای مثال، در توت درختی، ژنوتیپ‌هایی که دارای برگ ضخیم‌تر و موم بیشتر بودند، قدرت باززایی کمتری نشان دادند (Vijayan et al., 2000)، که می‌تواند ناشی از تفاوت در قدرت جذب و انتقال مواد و تنظیم‌کننده‌های رشد، و یا دسترسی هورمون‌های موجود در محیط کشت به گیرنده‌های سطحی سلول‌های اپیدرمی، به‌عنوان منشاء سلولی اصلی برای باززایی (M. Ikeuchi et al., 2016)، باشد. مطالعات اخیر نشان می‌دهد که هورمون‌های گیاهی از طریق تاثیر روی

## References

- Akasaka-Kennedy, Y., Yoshida, H., & Takahata, Y. (2005). Efficient plant regeneration from leaves of rapeseed (*Brassica napus* L.): the influence of AgNO<sub>3</sub> and genotype. *Plant Cell Rep*, 24(11), 649-654. <https://doi.org/10.1007/s00299-005-0010-8>
- Bilkey, P. C., & Cocking, E. C. (1981). Increased plant vigor by in vitro propagation of *Saintpaulia ionantha* Wendl., from subepidermal tissue. *Hort Science*, 16, 643-644. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.16.5.643>
- Bull, T., & Michelmore, R. (2022). Molecular Determinants of in vitro Plant Regeneration: Prospects for Enhanced Manipulation of Lettuce (*Lactuca sativa* L.) [Review]. *Frontiers in Plant Science*, 13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.888425>
- Chatfield, S. P., & Raizada, M. N. (2008). Ethylene and shoot regeneration: hookless1 modulates de novo shoot organogenesis in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Rep*, 27(4), 655-666. <https://doi.org/10.1007/s00299-007-0496-3>
- Cooke, R. C. (1977). Tissue culture propagation of African Violet. *Hort Science* 12(6), 549. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.12.6.549>
- Daud, N., & Taha, R. M. (2008). Plant regeneration and floral bud formation from intact floral parts of African violet (*Saintpaulia ionantha* H. Wendl.) cultured in vitro [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Pak J Biol Sci*, 11(7), 1055-1058. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18810979>
- Daud, N., Taha, R. M., & Hasbullah, N. A. (2008). Studies on plant regeneration and somaclonal variation in *Saintpaulia ionantha* Wendl. (African violet) [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Pak J Biol Sci*, 11(9), 1240-1245. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18819532>
- Elhiti, M., & Stasolla, C. (2011). The use of zygotic embryos as explants for in vitro propagation: An overview. In T. A. Thorpe & E. C. Yeung (Eds.), *Plant embryo culture: methods and protocols* (pp. 229-255). Humana Press. [https://doi.org/10.1007/978-1-61737-988-8\\_17](https://doi.org/10.1007/978-1-61737-988-8_17)
- Ghorbanzade, Z., & Ahmadabadi, M. (2014). An improved system for rapid in vitro regeneration of *Saintpaulia ionantha*. *Plant Tissue Culture and Biotechnology*, 24, 37-45. <https://doi.org/10.3329/ptcb.v24i1.19194>
- Hicks, G. S. (1994). Shoot induction and organogenesis in vitro: a developmental perspective. In *Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 30, 10-15. <https://doi.org/10.1007/BF02632113>
- Hoshino, Y., Nakano, M., & Mii, M. (1995). Plant regeneration from cell suspension-derived protoplasts of *Saintpaulia ionantha* Wendl. *Plant Cell Reports*, 14, 341-344. <https://doi.org/10.1007/BF00238593>
- Ikeuchi, M., Favero, D. S., Sakamoto, Y., Iwase, A., Coleman, D., Rymen, B., & Sugimoto, K. (2019). Molecular mechanisms of plant regeneration. *Annual review of plant biology*, 70, 377-406. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-050718-100434>
- Ikeuchi, M., Ogawa, Y., Iwase, A., & Sugimoto, K. (2016). Plant regeneration: cellular origins and molecular mechanisms. *Development*, 143(9), 1442-1451. <https://doi.org/10.1242/dev.134668>
- Jia, H., Yu, J., Yi, D., Cheng, Y., Xu, W., Zhang, L., & Ma, Z. (2009). Chromosomal intervals responsible for tissue culture response of wheat immature embryos. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 97, 159-165. <https://doi.org/10.1007/s11240-009-9510-5>
- Kolehmainen J, M. P. (2006). Population stage structure, survival and recruitment in the endangered East African forest herb *Saintpaulia*. *Plant Ecology*, 192(1), 85-95. <https://doi.org/10.1007/s11258-006-9228-y>
- Lardon, R., & Geelen, D. (2020). Natural variation in plant pluripotency and regeneration. *Plants (Basel)*, 9(10). <https://doi.org/10.3390/plants9101261>
- Lee, S., L, I. S., & Vreugdenhil, D. (2018). Natural variation of hormone levels in *Arabidopsis* roots and correlations with complex root architecture. *J Integr Plant Biol*, 60(4), 292-309. <https://doi.org/10.1111/jipb.12617>
- Linsmaier, E. M., & Skoog, F. (1965). Organic growth factor requirements of tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 18, 100-127. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1399-3054.1965.tb06874.x>
- Long, Y., Yang, Y., Pan, G., & Shen, Y. (2022). New insights into tissue culture plant-regeneration mechanisms [Review]. *Frontiers in Plant Science*, 13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.926752>
- Mithila, J., Hall, J. C., Victor, J. M., & Saxena, P. K. (2003). Thidiazuron induces shoot organogenesis at low concentrations and somatic embryogenesis at high concentrations on leaf and petiole explants of African violet (*Saintpaulia ionantha* Wendl) [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Plant Cell Rep*, 21(5), 408-414. <https://doi.org/10.1007/s00299-002-0544-y>
- Molgaard, J. P., Roulund, N., Deichmann, V., Irgens-Moller, L., Andersen, S. B., & Farestveit, B. (1991). In vitro multiplication of *Saintpaulia ionantha* Wendl. by homogenization of tissue cultures. *Scientia Horticulturae*, 48, 285-292. [https://doi.org/10.1016/0304-4238\(91\)90137-N](https://doi.org/10.1016/0304-4238(91)90137-N)
- Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant*, 15, 473-497. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>
- Perez-Garcia, P., & Moreno-Risueno, M. A. (2018). Stem cells and plant regeneration. *Developmental Biology*, 442(1), 3-12. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2018.06.021>
- Radhakrishnan, D., Kareem, A., Durgaprasad, K., Sreeraj, E., Sugimoto, K., & Prasad, K. (2018). Shoot regeneration: a journey from acquisition of competence to completion. *Curr Opin Plant Biol*, 41, 23-31. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2017.08.001>

- Saltveit, M. E., & Hepler, P. K. (2004). Effect of heat shock on the chilling sensitivity of trichomes and petioles of African violet (*Saintpaulia ionantha*). *Physiol Plant*, *121*(1), 35-43. <https://doi.org/10.1111/j.0031-9317.2004.00288.x>
- Shukla, M., Sullivan, J. A., Jain, S. M., Murch, S. J., & Saxena, P. K. (2013). Micropropagation of African violet (*Saintpaulia ionantha* Wendl.) [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Methods Mol Biol*, *11013*, 279-289. [https://doi.org/10.1007/978-1-62703-074-8\\_22](https://doi.org/10.1007/978-1-62703-074-8_22)
- Shumilina, D., Korniyukhin, D., Domblides, E., Soldatenko, A., & Artemyeva, A. (2020). Effects of genotype and culture conditions on microspore embryogenesis and plant regeneration in *Brassica rapa* ssp. *Rapa L. Plants (Basel)*, *9*(2). <https://doi.org/10.3390/plants9020278>
- Smith, R. H., & Norris, R. E. (1983). *In vitro* propagation of African Violet chimeras. *Hort Science*, *18*(4), 436-437. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.18.4.436>
- Start, N. D., & Cumming, B. G. (1976). *In vitro* propagation of *Saintpaulia ionantha* Wendl. *Hort-Science*, *11*(3), 204-206. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.11.3.204>
- Sunpui, W., & Kanchanapoom, K. (2002). Plant regeneration from petiole and leaf of African violet (*Saintpaulia ionantha* Wendl.) cultured *in vitro*. *Songklanakarinn J. Sci. Technol.*, *24*(3), 357-364. DOI: <http://dx.doi.org/10.3923/pjbs.2008.1055.1058>
- Thengane, S. R., Joshi, M. S., Khuspe, S. S., & Mascarenhas, A. F. (1994). Anther culture in *Helianthus annuus* L., influence of genotype and culture conditions on embryo induction and plant regeneration. *Plant Cell Rep*, *13*(3-4), 222-226. <https://doi.org/10.1007/BF00239897>
- Vijayan, K., Chakraborti, S. P., & Roy, B. N. (2000). Plant regeneration from leaf explants of mulberry: influence of sugar, genotype and 6-benzyladenine. *Indian J Exp Biol*, *38*(5), 504-508. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11272418>
- Weatherhead, M. A., Grout, B. W. W., & Short, K. C. (1982). Increased haploid production in *Saintpaulia ionantha* Wendl., by anther culture. *Scientia Horticulturae*, *17*, 137-144. [https://doi.org/10.1016/0304-4238\(82\)90006-1](https://doi.org/10.1016/0304-4238(82)90006-1)
- Winkelmann, T., & Grunewaldt, J. (1995). Genotypic variability for protoplast regeneration in *Saintpaulia ionantha* (H. Wendl.). *Plant Cell Reports*, *14*, 704-707. <https://doi.org/10.1007/BF00232651>
- Xu, L., & Huang, H. (2014). Genetic and epigenetic controls of plant regeneration. *Current topics in developmental biology*, *108*, 1-33. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-391498-9.00009-7>
- Yan, T., Hou, Q., Wei, X., Qi, Y., Pu, A., Wu, S., An, X., & Wan, X. (2023). Promoting genotype-independent plant transformation by manipulating developmental regulatory genes and/or using nanoparticles. *Plant Cell Reports*. <https://doi.org/10.1007/s00299-023-03037-2>