گل و گیاهان زینتی (۱۳۹۹)، ۵ (۱): ۱ – ۱۲
مقاله پژوهشی
DOI: 10.52547/flowerjournal.5.1.1

# اندام زایی مستقیم از ریزنمونه‌های بخش‌های رویشی *Gerbera jamesonii* L. رقم Nilo

**مهدی ایزدی[۱]، نیما احمدی[۱*]، پژمان آزادی[۲*]**

۱. گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس، تهران

۲. بخش مهندسی ژنتیک و ایمنی زیستی، پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج

ahmadin@modares.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۸/۸/۲۰، تاریخ بازنگری: ۱۳۹۹/۹/۲۱، تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۰/۱۸

## چکیده

برای موفقیت استفاده از فنون انتقال ژن، دستیابی به روش کارآمد باززایی ضروری است. در این پژوهش در آزمایش نخست، اندام زایی مستقیم ژربرا از ریزنمونه‌های برگ کامل، دمبرگ، دمبرگ خراش‌دار و لایه یاخته ای نازک (TCL، Thin Cell Layer) و ترکیب تنظیم کننده رشد BAP (۰، ۱، ۲ و ۳ میلی گرم در لیتر)، TDZ ( ۰، ۰/۱، ۰/۵، ۰/۸ و ۱ میلی گرم در لیتر) و IAA با غلظت ۰/۱ میلی گرم در لیتر در دو حالت نوری (تاریکی به مدت یک ماه و ۱۶ ساعت روشنایی/۸ ساعت تاریکی) مورد ارزیابی قرار گرفت. همچنین در آزمایش دوم، باززایی سه برش اول ریزنمونه لایه یاخته‌ای نازک از انتهای دمبرگ متصل به گیاه در ترکیب هورمونی BAP (۰، ۱ و ۲ میلی گرم در لیتر)، TDZ ( ۰ و ۰/۵ میلی گرم در لیتر) و IAA (۰، ۰/۱ و ۰/۳ میلی گرم در لیتر) مورد ارزیابی قرار گرفت. در تمام آزمایش ها، محیط کشت MS استفاده شد. نتیجه‌ها نشان داد که بهترین محیط باززایی برای ریزنمونه‌های برگ کامل (۳۳/۲٪ باززایی، ۳/۶۶ شاخه)، دمبرگ ( ۸۶/۶۶٪ باززایی، ۳۳/۳۳ شاخه)، دمبرگ خراش دار (۵۳/۲٪ باززایی، ۱۰/۳۳ شاخه) محیط دارای ۲ میلی گرم در لیتر BAP در روشنایی و برای ریزنمونه TCL (۴۶/۶٪ باززایی، ۲۹ شاخه)، ۲ میلی گرم در لیتر BAP به همراه ۰/۵ میلی گرم در لیتر TDZ در تاریکی می‌باشد. در آزمایش دوم نیز بیشترین میزان اندام زایی در ریزنمونه‌های TCL از برش اول و در محیط کشت دارای ۲ میلی گرم در لیتر BAP، ۰/۵ میلی گرم در لیتر TDZ و ۰/۱ میلی گرم در لیتر IAA (۲۰٪ باززایی، ۱۸/۶۶ شاخه) به دست آمد.

**واژه‌های کلیدی:** اندام زایی، باززایی، تنظیم کننده‌های رشد گیاهی، لایه یاخته ای نازک.

## مقدمه

ژربرا یکی از مهم ترین گل‌های بریدنی به شمار می‌رود به طوری که در فهرست ۱۰ گل بریدنی پر فروش جهان قرار دارد (Azadi *et al.*, 2016). جنس *Gerbera* از نظر گیاهشناسی در تیره Asteraceae است که گیاهی دوگان، علفی، چند ساله، حساس به سرما و دارای حالت رشد بیساگ[۱] می‌باشد. این گیاه بومی نواحی گرمسیری آمریکای جنوبی، آفریقا و آسیا می‌باشد ولی امروزه با کمک تجهیزات گلخانه‌ای در دامنه گسترده‌ای از اقلیم‌ها کشت می‌شود (Sheela, 2006). ژربرا با

۱- Rosette

[ Downloaded from flowerjournal.org on 2026-10-31 ]
[ DOR: 20.1001.1.26765993.1399.5.1.1.2 ]
[ DOI: 10.52547/flowerjournal.5.1.1 ]

روش‌هایی مانند کشت دانه و تقسیم بوته افزایش می یابد، اما روش افزایش ریزافزایی آن از نظر تجاری مورد توجه قرار گرفته است. روش ریزافزایی افزون بر افزایش گیاه، برای باززایی یاخته پس از انتقال ژن به گیاه نیز به کار می‌رود (Teeri, 2006). افزون بر این، روش‌های گوناگون ریزافزایی در نگهداری ذخیره های ژنتیکی (Meyer *et al.*, 1988)، بررسی زیست ساخت متابولیت‌های ثانویه (Chakrabarty *et al*. 2008; Elomaa *et al.*, 2003)، انگیزش خودچارگانی و نیمگانی (Elomaa *et al.*, 1993; Korbin *et al.*, 2001; Nowak *et al.*, 1997) به کار گرفته می‌شود. با توجه به نیاز روز افزون به افزایش صفات برتر رقم‌های بازارپسند بدون تغییرهای ژنتیکی ناخواسته در ویژگی‌های ارزشمند آن ها، امروزه از روش‌های زیست فناوری برای انتقال ژن و ایجاد ویژگی‌های دلخواه استفاده می‌شود (Jauhar, 2006). به هر حال موفقیت انتقال ژن نیاز به استقرار سیستم مناسبی برای باززایی از ریزنمونه‌های مختلف دارد. ریزافزایی ژربرا نخستین بار در سال ۱۹۷۴ با استفاده از ریزنمونه نوک شاخه (Murashige *et al.*, 1974) و پس از آن در سال ۱۹۸۵ انجام شد (Huang and Chu, 1985). برای باززایی درون شیشه‌ای گل ژربرا از باززایی غیرمستقیم نیز استفاده شده است (Cardosa *et al.*, 2013). باززایی غیرمستقیم نیازمند تولید پینه و سپس انگیزش پینه به تولید گیاهان کامل است که این کار ممکن است باعث بی ثباتی ژنتیکی و افزایش گوناگونی بدن-همگروهی در گیاهان تولید شده شود (Bhatia *et al.*, 2009). در این پژوهش تلاش شد تا با کاربرد ترکیب تنظیم کننده‌های رشد اکسینی و سایتوکینینی روش کار مناسبی برای باززایی به ویژه باززایی مستقیم به دست آید. همچنین از آنجا که نسبت ترکیب‌های تنظیم کننده رشد با غلظت مناسب آن ها تعیین کننده مسیر رشد به سوی باززایی و یا پینه‌زایی از ریزنمونه‌های تهیه شده از قسمت‌های مختلف گیاه ژربرا می‌باشد، با استفاده از روش‌های ریزافزایی و همچنین مقایسه محیط‌های مناسب برای باززایی هر ریزنمونه، ترکیب مناسب تنظیم کننده رشد مورد بررسی قرار گرفت. دستور کار به دست آمده می تواند در بررسی های بهنژادی درون شیشه‌ای و انتقال ژن به این گیاه مورد استفاده قرار گیرد.

## مواد و روش‌ها

### پرآوری و افزایش

نمونه گیاهی از گیاهان استقرار یافته درون شیشه‌ای ژربرا[1] رقم Nilo به دست آمد. محیط کشت پایه برای پرآوری گیاهان درون شیشه‌ای شامل نمک‌ها و ویتامین‌های محیط MS به همراه ۳۰ گرم در لیتر سوکروز، ۷ گرم در لیتر آگار و تنظیم کننده رشد گیاهی ۰/۵ میلی گرم در لیتر BAP بود. نمونه‌ها در اتاق رشد با شرایط نور فلوئورسنت سرد با رژیم نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی، دمای ۱±۲۳ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۵±۳۵٪ قرار گرفتند. برای پرآوری، زیرکشت‌ها هر یک ماه یک بار انجام شد.

### باززایی

ریزنمونه‌ها از گیاهان پرآوری شده ۱ تا ۲ ماهه تهیه شدند. ریزنمونه برگ کامل، با جدا کردن برگ از محل اتصال دمبرگ به گیاه مادری به دست آمد و ریزنمونه دمبرگ نیز مانند برگ کامل تهیه شد با این تفاوت که پهنک آن حذف شد. نمونه دمبرگ خراش دار نیز با ایجاد خراش‌های سطحی در ریزنمونه دمبرگ تهیه شد. تهیه ریزنمونه TCL نیز به کمک چاقو و برش‌های

۱- *Gerbera jamesonii* L.



[ Downloaded from flowerjournal.org on 2026-10-31 ]
[ DOR: 20.1001.1.26765993.1399.5.1.1.2 ]
[ DOI: 10.52547/flowerjournal.5.1.1 ]

عرضی و نازک با ضخامتی حدود ۰/۵ میلی متر در قسمت اتصال دمبرگ به گیاه مادری انجام شد، که از هر دمبرگ حداکثر ۴ ریزنمونه TCL گرفته شد. محیط کشت پایه برای باززایی، مشابه محیط به کار رفته برای پرآوری بود. تنها تفاوت محیط‌های باززایی و پرآوری در ترکیب و میزان تنظیم کننده‌های رشد به شرح زیر بود:

**آزمایش ۱: مقایسه باززایی و پینه‌زایی ریزنمونه‌های مختلف در ترکیب تنظیم کننده‌های رشد گیاهی BAP و TDZ با غلظت‌های مختلف**

در این آزمایش از ۴ نوع ریزنمونه برگ کامل، دمبرگ، دمبرگ خراش دار و TCL استفاده شد. تنظیم کننده‌های رشد گیاهی به کار رفته در محیط کشت نیز شامل BAP در غلظت‌های ۰، ۱، ۲ و ۳ میلی گرم در لیتر، TDZ نیز در غلظت‌های ۰، ۰/۱، ۰/۵، ۰/۸ و ۱ میلی گرم در لیتر و IAA هم تنها در غلظت ۰/۱ میلی گرم در لیتر بود. هر تیمار دارای ۳ تکرار و هر تکرار شامل ۵ ریزنمونه از برگ کامل، دمبرگ، دمبرگ خراش دار و ۱۰ ریزنمونه از TCL بود. برای تمام تیمارها دو حالت روشنایی (۱۶ ساعت نور/۸ ساعت تاریکی) و تاریکی به مدت یک ماه در نظر گرفته شد.

**آزمایش ۲: مقایسه باززایی سه برش اول ریزنمونه TCL در ترکیب با سه تنظیم کننده رشد گیاهی BAP، TDZ و IAA**

در این آزمایش از سه برش اول ریزنمونه TCL از انتهای دمبرگ متصل به گیاه مادری استفاده شد، که برش‌های اول، دوم و سوم به صورت جداگانه در محیط کشت قرار داده شدند. همچنین تنظیم کننده‌های رشد به کار رفته شامل BAP در غلظت‌های ۰، ۱ و ۲ میلی گرم در لیتر، TDZ در غلظت‌های ۰ و ۰/۵ میلی گرم در لیتر و IAA نیز در غلظت‌های ۰، ۰/۱ و ۰/۳ میلی گرم در لیتر بودند. در این آزمایش نیز هر تیمار دارای ۳ تکرار و هر تکرار دارای ۱۰ ریزنمونه بود. شرایط نوری نیز در این آزمایش برای تمام تیمارها تاریکی به مدت دو هفته در ابتدای کشت بود و سپس شرایط ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی به کار رفت.

**شرایط اتاق رشد**

نمونه‌ها در اتاق رشد با دمای ۱±۲۳ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی بین ۳۰ تا ۴۰٪ قرار گرفتند.

**ویژگی های مورد ارزیابی**

در این پژوهش ویژگی‌هایی مانند میانگین درصد ریزنمونه‌های باززایی کرده و شمار شاخه به دست آمده در هر تیمار و تکرار مورد ارزیابی قرار گرفت. افزون بر این در ریزنمونه‌هایی که پینه تولید کردند، درصد پینه‌زایی و درجه پینه‌زایی (دامنه درجه بندی پینه‌زایی از ۰ تا ۳ در نظر گرفته شد) مورد بررسی قرار گرفت.

**واکاوی آماری**

این پژوهش در قالب طرح به طور کامل تصادفی انجام شد. برای واکاوی آماری داده‌ها از نرم افزار SAS نسخه ۹/۱ بهره گیری و مقایسه میانگین‌ها در سطح احتمال ۱٪ با آزمون LSD انجام شد.

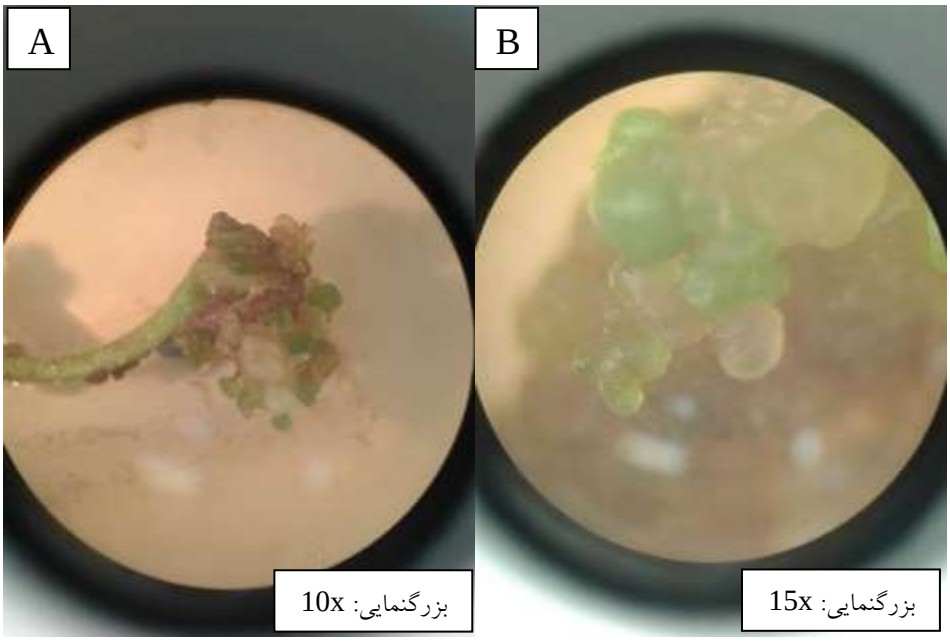
**نتایج و بحث**

**آزمایش ۱: مقایسه باززایی ریزنمونه‌های مختلف در ترکیب دو تنظیم کننده رشد گیاهی BAP و TDZ در غلظت‌های مختلف**



[ Downloaded from flowerjournal.org on 2026-10-31 ]
[ DOR: 20.1001.1.26765993.1399.5.1.1.2 ]
[ DOI: 10.52547/flowerjournal.5.1.1 ]

در این دسته از آزمایش‌ها نوع و غلظت تنظیم کننده‌های رشد گیاهی به کار رفته باززایی شاخه را در تمامی ۴ نوع ریزنمونه مورد پژوهش به میزان قابل توجهی زیر اثر قرار داد. ریزنمونه‌ها آغازه‌های جوانه شاخه را پس از ۲ تا ۳ هفته از کشت در محیط‌های دارای غلظت‌های مختلف BA، TDZ و ۰/۱ میلی گرم در لیتر IAA تشکیل دادند (شکل ۱) و رشد شاخه‌های باززایی کرده پس از ۶ هفته کامل شد (شکل ۲). بیشترین درصد باززایی و میانگین شمار شاخه به ترتیب از ریزنمونه‌های دمبرگ (۸۶/۶۶٪، ۳۳/۳۳ شاخه)، دمبرگ خراش دار (۵۳/۳۳٪، ۱۰/۳۳ شاخه) و برگ کامل (۳۳/۲٪، ۳/۶۶ شاخه) از تیمار ۲ میلی گرم در لیتر BAP در روشنایی به دست آمد که این نتیجه‌ها همسو با یافته‌های سایر پژوهشگران (Chung *et al.*, 2016; Shabanpour *et al.*, 2011) بود. اما شرایط برای ریزنمونه TCL متفاوت بود و بهترین درصد باززایی (۴۶٪/۶) و میانگین شمار شاخه (۲۹) از ترکیب ۲ میلی گرم در لیتر BAP به همراه ۰/۵ میلی گرم در لیتر TDZ به دست آمد (جدول های ۱ و ۲). همچنین در این پژوهش مشخص شد که حضور TDZ سبب کاهش باززایی در ریزنمونه‌های برگ کامل، دمبرگ و دمبرگ خراش دار شد. وجود TDZ در محیط کشت می‌تواند در باززایی از ریزنمونه‌های برگ کامل ژربرا مؤثر باشد (Orlikowska *et al.*, 1999). نتایج ما نشان داد که TDZ در ریزنمونه TCL سبب افزایش نرخ باززایی شد که همسو با یافته‌های پژوهشی دیگر (Reynoird *et al.*, 1993) بود. از سوی دیگر افزایش و یا کاهش غلظت BAP سبب کاهش درصد باززایی و شمار شاخه تولید شده شد (بدون در نظر گرفتن اثر IAA) (جدول های ۱ و ۲).

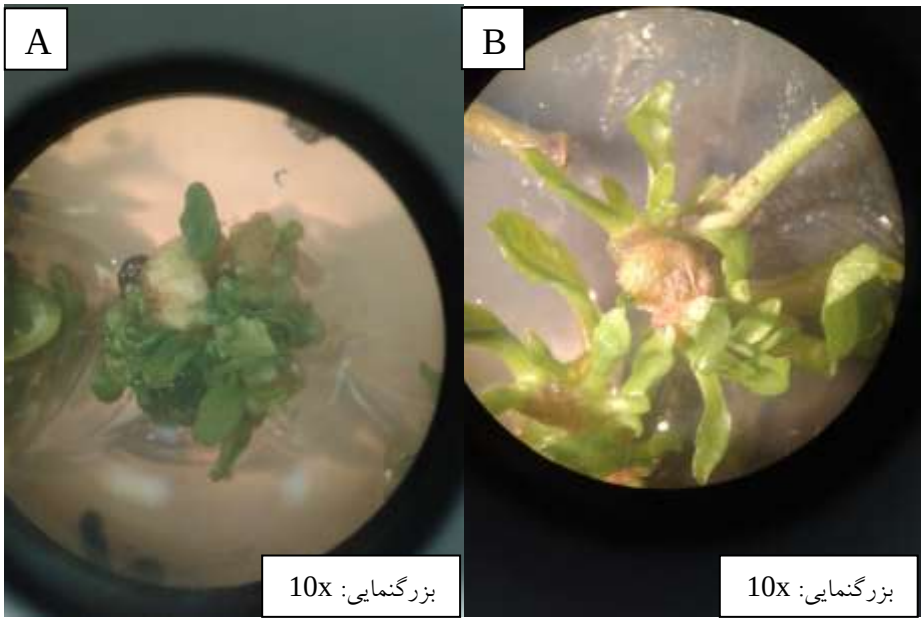



**شکل ۱- ایجاد آغازه‌های جوانه شاخه پس از ۲ تا ۳ هفته از کشت ریزنمونه دمبرگ (A: تیمار ۲ میلی گرم در لیتر BAP به همراه ۰/۱ میلی گرم در لیتر IAA) و TCL (B: تیمار ۲ میلی گرم در لیتر BAP به همراه ۰/۵ میلی گرم در لیتر TDZ و ۰/۱ گرم در لیتر IAA) ژربرا.**

**Figure 1- Shoot induction from petiole (A: 2 mg $L^{-1}$ BAP and 0.1 mg $L^{-1}$ IAA) and TCL (B: 2 mg $L^{-1}$ BAP, 0.5 mg $L^{-1}$ TDZ and 0.1 mg $L^{-1}$ IAA) explants of Gerbera 2 to 3 weeks after culture.**



[ Downloaded from flowerjournal.org on 2026-10-31 ]
[ DOR: 20.1001.1.26765993.1399.5.1.1.2 ]
[ DOI: 10.52547/flowerjournal.5.1.1 ]




**شکل ۲- باززایی شاخه از ریزنمونه‌های دمبرگ (A: تیمار ۲ میلی گرم در لیتر BAP همراه ۰/۱ میلی گرم در لیتر IAA) و TCL (B: تیمار ۲ میلی گرم در لیتر BAP به همراه ۰/۵ میلی گرم در لیتر TDZ و ۰/۱ گرم در لیتر IAA) ژربرا.**

**Figure 2- Shoot regeneration from petiole (A: 2 mg $L^{-1}$ BAP and 0.1 mg $L^{-1}$ IAA) and TCL (B: 2 mg $L^{-1}$ BAP, 0.5 mg $L^{-1}$ TDZ and 0.1 mg $L^{-1}$ IAA) explants of Gerbera.**

**آزمایش ۱: مقایسه پینه‌زایی ریزنمونه‌های مختلف در ترکیب دو تنظیم کننده رشد گیاهی BAP و TDZ در غلظت‌های مختلف**

نتایج این پژوهش نشان داد که در محیط‌های دارای ۰ و ۱ میلی گرم در لیتر BAP به همراه تمام غلظت‌های TDZ پینه‌زایی انجام شد و بهترین محیط کشت پینه‌زایی برای ریزنمونه برگ کامل ۰/۵ و ۰/۸ میلی گرم در لیتر TDZ، برای ریزنمونه دمبرگ ۰/۵ میلی گرم در لیتر TDZ، برای ریزنمونه دمبرگ خراش دار تمام غلظت‌های TDZ در ترکیب با ۰ یا ۱ میلی گرم در لیتر BAP و برای ریزنمونه TCL نیز ۰/۱ میلی گرم در لیتر TDZ بود (داده‌ها نشان داده نشده است) (شکل ۳). این نتایج نشان می‌دهد که وجود TDZ در محیط کشت برای پینه‌زایی ضروری است و غلظت مناسب آن برای ریزنمونه‌های مختلف متفاوت است. همچنین تیمار تاریکی منجر به افزایش پینه‌زایی شد. از سوی دیگر افزایش غلظت BAP سبب کاهش پینه‌زایی گردید. سایر پژوهشگران (Altaf et al., 2009; Reddy and Choudhary, 2002) BAP را برای پینه‌زایی ژربرا به کار بردند. در بین ریزنمونه‌های مورد آزمایش بهترین میزان پینه‌زایی در ریزنمونه دمبرگ خراش دار به دست آمد.

**آزمایش ۲: مقایسه باززایی سه برش اول ریزنمونه TCL در ترکیب با سه تنظیم کننده رشد گیاهی BAP، TDZ و IAA**

نتایج به دست آمده از این دسته از آزمایش‌ها نشان دهنده کاهش درصد باززایی و شمار شاخه تولید شده از برش اول تا برش سوم در نمونه‌های TCL است تا جایی که در برش سوم هیچ گونه باززایی انجام نشد (شکل های ۴ و ۵، جدول ۳). این موضوع نشان دهنده آن است که با فاصله گرفتن از محل اتصال به گیاه مادری در ریزنمونه دمبرگ تعداد یاخته‌های دارای قدرت باززایی کاهش می‌یابد. با این حال بهترین محیط باززایی برای برش اول و دوم ریزنمونه TCL یکسان بود و از تیمار ۲ میلی گرم در لیتر BAP به همراه ۰/۵ میلی گرم در لیتر TDZ و ۰/۱ میلی گرم در لیتر IAA به دست آمد، که با نتایج به دست



[ Downloaded from flowerjournal.org on 2026-10-31 ]
[ DOR: 20.1001.1.26765993.1399.5.1.1.2 ]
[ DOI: 10.52547/flowerjournal.5.1.1 ]

آمده در آزمایش ۱ برای ریزنمونه TCL همسو می‌باشد (هورمون IAA در آزمایش ۱ در تمام تیمارها در غلظت ثابت ۰/۱ میلی گرم در لیتر به کار رفت). در پژوهشی (Nhut *et al.*, 2007) روی برش های عرضی TCL نهنج گیاه ژربرا مشخص شد که بهترین محیط کشت باززایی دارای ۰/۰۲ میلی گرم در لیتر TDZ و ۰/۸ میلی گرم در لیتر ادنین می‌باشد، در حالی که نتایج پژوهش حاضر نشان داد که BAP نیز برای باززایی گیاهان جدید لازم می‌باشد.

جدول ۱- اثر غلظت‌های مختلف BAP و TDZ بر درصد باززایی در ریزنمونه‌های برگ کامل، دمبرگ، دمبرگ خراش‌دار و TCL از دمبرگ ژربرا در تیمارهای تاریکی یک ماهه یا روشنایی (۱۶ ساعت نور/۸ ساعت تاریکی).

**Table 1- The effect of different concentrations of BAP and TDZ on the regeneration percentage of intact leaf, petiole, scratched petiole and TCL of petiole explants of Gerbera under one-month dark or light (16/8) treatments.**

| لایه یاخته ای نازک TCL | | دمبرگ خراش دار Scratched petiole | | دمبرگ Petiole | | برگ کامل Intact leaf | | TDZ (mg $L^{-1}$) | BAP (mg $L^{-1}$) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| روشنایی Light | تاریکی Dark | روشنایی Light | تاریکی Dark | روشنایی Light | تاریکی Dark | روشنایی Light | تاریکی Dark | | |
| 0e | 0e | 0c | 0b | 0e | 0e | 0c | 0c | 0 | 0 |
| 0e | 0e | 0c | 6.6b | 0e | 13cde | 0c | 0c | 0.1 | 0 |
| 0e | 0e | 0c | 0b | 0e | 0e | 0c | 0c | 0.5 | 0 |
| 6.6de | 0e | 0c | 20ab | 26d | 46.6b | 0c | 0c | 0.8 | 0 |
| 0e | 0e | 0c | 0b | 0e | 0e | 13.2bc | 0c | 1 | 0 |
| 0e | 33.3b | 26.6b | 13.2b | 33cd | 46.6b | 0c | 0c | 0 | 1 |
| 0e | 10cd | 0c | 0b | 26d | 26.6b | 0c | 0c | 0.1 | 1 |
| 16.6c | 13.3c | 0c | 40a | 0e | 26cd | 0c | 0c | 0.5 | 1 |
| 0e | 0e | 0c | 0b | 0e | 0e | 0c | 0c | 0.8 | 1 |
| 0e | 0e | 26.6b | 0b | 40cd | 46.6b | 0c | 0c | 1 | 1 |
| 26.6b | 0e | 53.2a | 40a | 86.6a | 73.2a | 33.2a | 0c | 0 | 2 |
| 33.3ab | 26.6b | 33.2b | 40a | 66.6ab | 73.2a | 20ab | 40a | 0.1 | 2 |
| 36.6a | 46.6a | 26.6b | 0b | 40cd | 33bc | 0c | 0c | 0.5 | 2 |
| 26.6b | 26.6b | 0c | 0b | 0e | 26bcd | 0c | 0c | 0.8 | 2 |
| 0e | 6.6cde | 0c | 0b | 46bcd | 6.6de | 20ab | 26.6ab | 1 | 2 |
| 0e | 0e | 0c | 0b | 66.6ab | 0e | 0c | 0c | 0 | 3 |
| 0e | 6.6cde | 0c | 0b | 40cd | 0e | 0c | 20b | 0.1 | 3 |
| 0e | 0e | 0c | 13.2b | 53.2bc | 6.6de | 0c | 0c | 0.5 | 3 |
| 0e | 0e | 0c | 0b | 0e | 0e | 0c | 0c | 0.8 | 3 |
| 10cd | 3.3de | 0c | 0b | 33.2cd | 0e | 0c | 13.2bc | 1 | 3 |

* در هر ستون، میانگین‌هایی که دارای حروف یکسان هستند در سطح ۱٪ آزمون LSD تفاوت معنی داری با هم ندارند.

* In each column, means with the same letters are not significantly different at 1% level of the LSD test.



[ Downloaded from flowerjournal.org on 2026-10-31 ]
[ DOR: 20.1001.1.26765993.1399.5.1.1.2 ]
[ DOI: 10.52547/flowerjournal.5.1.1 ]

جدول ۲- اثر غلظت‌های مختلف BAP و TDZ بر شمار شاخه روی ریزنمونه‌های برگ کامل، دمبرگ، دمبرگ خراش‌دار و TCL از دمبرگ ژربرا در تیمارهای تاریکی یک ماهه یا روشنایی (۱۶ ساعت نور/۸ ساعت تاریکی).

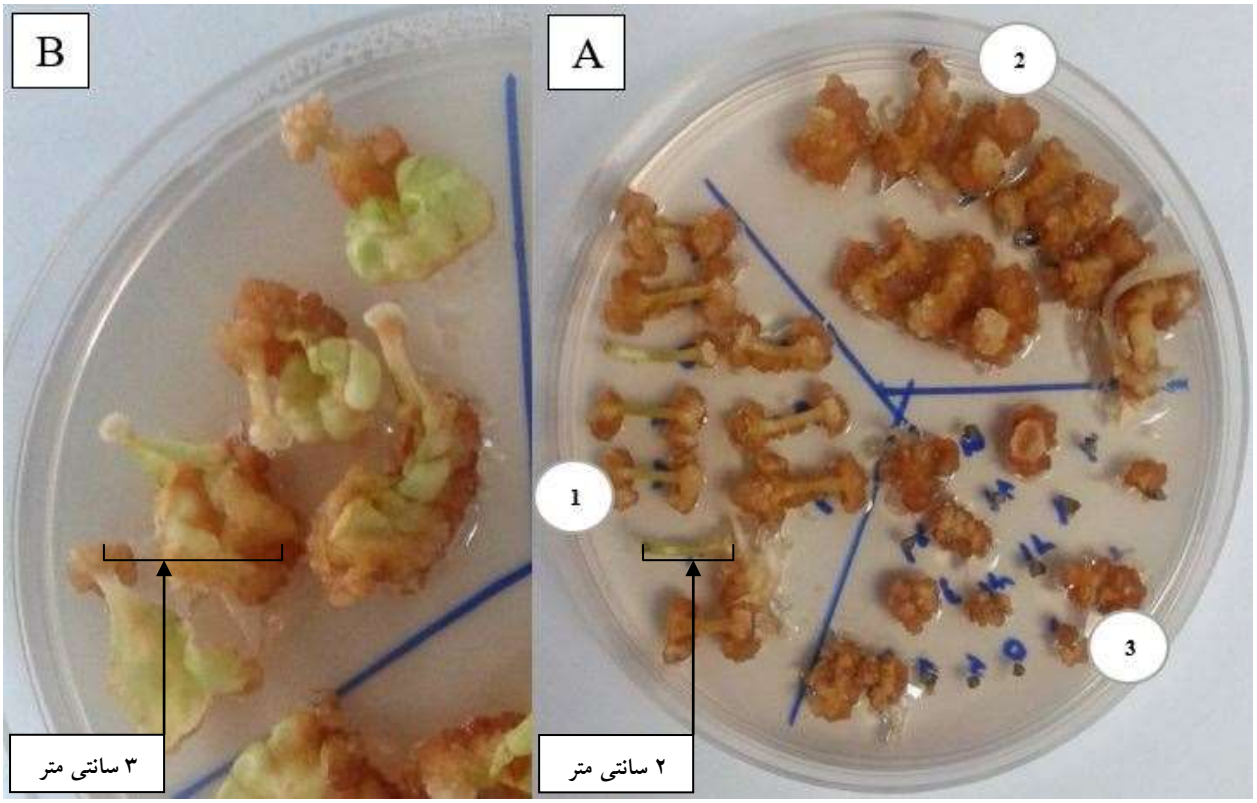
**Table 2 - Effects of different concentrations of BAP and TDZ on shoots number on whole leaf, petioles, scratched petioles and TCL of petioles explants of Gerbera under one-month dark or light (16/8) treatments.**

| لایه یاخته ای نازک TCL | | دمبرگ خراش دار Scratched petiole | | دمبرگ Petiole | | برگ کامل Intact leaf | | TDZ ($mg\ L^{-1}$) | BAP ($mg\ L^{-1}$) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| روشنایی light | تاریکی dark | روشنایی light | تاریکی dark | روشنایی light | تاریکی dark | روشنایی light | تاریکی dark | | |
| 0d | 0e | 0d | 0b | 0e | 0f | 0b | 0c | 0 | 0 |
| 0d | 0e | 0d | 0.33b | 0e | 0.66f | 0b | 0c | 0.1 | 0 |
| 0d | 0e | 0d | 0b | 0e | 0f | 0b | 0c | 0.5 | 0 |
| 1.33d | 0e | 0d | 1.33b | 1.6de | 3ef | 0b | 0c | 0.8 | 0 |
| 0d | 0e | 0d | 0b | 0e | 0f | 1b | 0c | 1 | 0 |
| 0d | 9.33c | 2.33cd | 1b | 9bc | 7.66c | 0b | 0c | 0 | 1 |
| 0d | 5.66cde | 0d | 0b | 3.3cde | 4de | 0b | 0c | 0.1 | 1 |
| 3.33d | 7.66cd | 0d | 4.33a | 0e | 2.6ef | 0b | 0c | 0.5 | 1 |
| 0d | 0e | 0d | 0b | 0e | 0f | 0b | 0c | 0.8 | 1 |
| 0d | 0e | 3bc | 0b | 3.3cde | 4.6cd | 0b | 0c | 1 | 1 |
| 10c | 0e | 10.33a | 5.33a | 33.33a | 23.3a | 3.66a | 0c | 0 | 2 |
| 20.6ab | 21.33b | 5.33b | 4.66a | 27a | 13.3b | 1.66ab | 3a | 0.1 | 2 |
| 24a | 29a | 3bc | 0b | 11b | 6.6cd | 0b | 0c | 0.5 | 2 |
| 17.33b | 11.66c | 0d | 0b | 0e | 1.6ef | 0b | 0c | 0.8 | 2 |
| 0d | 1.33de | 0d | 0b | 6bcde | 0.33f | 1.33b | 2.66ab | 1 | 2 |
| 0d | 0e | 0d | 0b | 28.33a | 0f | 0b | 0c | 0 | 3 |
| 0d | 1.66de | 0d | 0b | 12b | 0f | 0b | 2.33ab | 0.1 | 3 |
| 0d | 0e | 0d | 1b | 8bcd | 0.33f | 0b | 0c | 0.5 | 3 |
| 0d | 0e | 0d | 0b | 0e | 0f | 0b | 0c | 0.8 | 3 |
| 2.33d | 0.66e | 0d | 0b | 5.66bc | 0f | 0b | 1bc | 1 | 3 |

* در هر ستون، میانگین‌هایی که دارای حروف یکسان هستند در سطح ۱٪ آزمون LSD تفاوت معنی داری با هم ندارند.

* In each column, means with the same letters are not significantly different at 1% level of the LSD test.

[ Downloaded from flowerjournal.org on 2026-10-31 ]
[ DOR: 20.1001.1.26765993.1399.5.1.1.2 ]
[ DOI: 10.52547/flowerjournal.5.1.1 ]




**شکل ۳- پینه‌زایی در ریزنمونه‌های دمبرگ(A1)، دمبرگ خراش دار(A2)، TCL (A3) و برگ کامل(B) ژربرا در محیط دارای ۰/۵ میلی گرم در لیتر TDZ.**

**Figure 3- Callus induction from petiole ($A_1$), scratched petiole ($A_2$), TCL ($A_3$) and intact leaf (B) of Gerbera on the medium containing 0.5 mg $L^{-1}$ TDZ.**

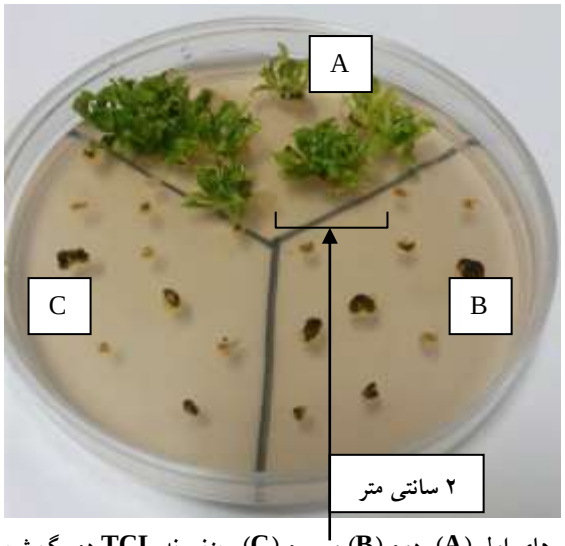


**شکل ۴- باززایی برش اول ریزنمونه TCL دمبرگ ژربرا در محیط دارای ۲ میلی گرم در لیتر BAP به همراه ۰/۵ میلی گرم در لیتر TDZ و ۰/۱ گرم در لیتر IAA.**

**Figure 4- Regeneration of the first slice of the TCL petiole-explants of Gerbera on the medium containing 2 mg $L^{-1}$ BAP , 0.5 mg $L^{-1}$ TDZ and 0.1 mg $L^{-1}$ IAA.**



[ Downloaded from flowerjournal.org on 2026-10-31 ]
[ DOR: 20.1001.1.26765993.1399.5.1.1.2 ]
[ DOI: 10.52547/flowerjournal.5.1.1 ]




**شکل ۵- تفاوت میزان باززایی در برش‌های اول (A)، دوم (B) و سوم (C) ریزنمونه TCL دمبرگ ژربرا در محیط دارای ۲ میلی گرم در لیتر BAP به همراه ۰/۵ میلی گرم در لیتر TDZ و ۰/۱ گرم در لیتر IAA.**

**Figure 5- Regeneration rate in the first (A), second (B) and third (C) slice of the TCL from petiole explants of Gerbera on the medium containing 2 mg $L^{-1}$ BAP , 0.5 mg $L^{-1}$ TDZ and 0.1 mg $L^{-1}$ IAA.**

## نتیجه گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که بهترین باززایی از ریزنمونه دمبرگ در مقایسه با دیگر ریزنمونه‌های مورد پژوهش به دست آمده است. با این حال باززایی دمبرگ تنها از ناحیه اتصال به گیاه مادری انجام می‌شود که تنها یک سطح تماس یاخته‌ای با محیط کشت دارد و احتمال دارد در فعالیت‌های انتقال ژن سبب کاهش نرخ و یا عدم انتقال ژن در ریزنمونه‌های مایه زنی شده شود. از دیگر سو با وجود باززایی کمتر ریزنمونه TCL نسبت به دمبرگ، این ریزنمونه دارای دو سطح تماس یاخته‌ای با محیط کشت است و این ممکن است سبب افزایش نرخ انتقال ژن شود. همچنین نشان داده شد که برش اول ریزنمونه TCL دارای بیشترین میزان باززایی است و در برش دوم کاهش باززایی و در برش سوم هیچ گونه باززایی مشاهده نشد، این اختلاف میزان باززایی به احتمال می‌تواند به سبب کاهش شمار یاخته های دارای توانایی باززایی گیاهان کامل با فاصله گرفتن از محل اتصال دمبرگ به گیاه مادری باشد. بنابراین پیشنهاد می‌شود که برای دست یابی به باززایی بیشتر از ریزنمونه TCL برش اول استفاده شود.



[ Downloaded from flowerjournal.org on 2026-10-31 ]
[ DOR: 20.1001.1.26765993.1399.5.1.1.2 ]
[ DOI: 10.52547/flowerjournal.5.1.1 ]

جدول ۳- اثر غلظت‌های مختلف BAP، TDZ و IAA بر درصد باززایی و شمار شاخه روی برش نخست، دوم و سوم ریزنمونه TCL از دمبرگ ژربرا.

**Table 3 - Effects of different concentrations of BAP, TDZ and IAA on regeneration percentage and number of shoots on the first, second and third disc of TCL explants from Gerbera petiole.**

| برش سوم Third disc | | برش دوم Second disc | | برش اول First disc | | IAA (mg $L^{-1}$) | BAP (mg $L^{-1}$) | TDZ (mg $L^{-1}$) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| تعداد شاخه Shoots number | درصد باززایی regeneration percentage | تعداد شاخه Shoots number | درصد باززایی Regeneration percentage | تعداد شاخه Shoots number | درصد باززایی Regeneration percentage | | | |
| - | 0 | 0b | 0b | 0c | 0b | 0 | 0 | 0 |
| - | 0 | 0b | 0b | 0c | 0b | 0.1 | 0 | 0 |
| - | 0 | 0b | 0b | 0c | 0b | 0.3 | 0 | 0 |
| - | 0 | 0b | 0b | 0c | 0b | 0 | 1 | 0 |
| - | 0 | 0b | 0b | 0c | 0b | 0.1 | 1 | 0 |
| - | 0 | 0b | 0b | 0c | 0b | 0.3 | 1 | 0 |
| - | 0 | 0b | 0b | 0c | 0b | 0 | 2 | 0 |
| - | 0 | 0b | 0b | 0c | 0b | 0.1 | 2 | 0 |
| - | 0 | 0b | 0b | 0c | 0b | 0.3 | 2 | 0 |
| - | 0 | 0b | 0b | 0c | 0b | 0 | 0 | 0.5 |
| - | 0 | 0b | 0b | 0c | 0b | 0.1 | 0 | 0.5 |
| - | 0 | 0b | 0b | 0c | 0b | 0.3 | 0 | 0.5 |
| - | 0 | 0b | 0b | 0c | 0b | 0 | 1 | 0.5 |
| - | 0 | 0b | 0b | 0c | 0b | 0.1 | 1 | 0.5 |
| - | 0 | 0b | 0b | 0c | 0b | 0.3 | 1 | 0.5 |
| - | 0 | 9a | 10a | 11ab | 13.3a | 0 | 2 | 0.5 |
| - | 0 | 8.66a | 10a | 18.66a | 20a | 0.1 | 2 | 0.5 |
| - | 0 | 1b | 3.3ab | 7.33bc | 13.3a | 0.3 | 2 | 0.5 |

* در هر ستون، میانگین‌هایی که دارای حروف یکسان هستند در سطح ۱٪ آزمون LSD تفاوت معنی داری با هم ندارند.

* In each column, means with the same letters are not significantly different at 1% level of the LSD test.

**منابع مالی**

این پژوهش قسمتی از پروژه پژوهشی باززایی و مهندسی ژنتیک گل ژربرا با شماره مصوب 9400217-05-05-9453 پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی بوده و با حمایت مالی آن انجام شد.

**منابع**

Altaf, N., Khan, A.R., Ali, L., Bhatti, I.A. (2009). Tissue culture of gerbera. *Pakistan Journal of Botany, 41*(1), 7-10.

Azadi, P., Bagheri, H., Nalousi, A.M., Nazari, F., Chandler, S.F. (2016). Current status and biotechnological advances in genetic engineering of ornamental plants. *Biotechnology Advances, 34*(6), 1073-1090.

Bhatia, R., Singh, K., Jhang, T., Sharma, T. (2009). Assessment of clonal fidelity of micropropagated gerbera plants by ISSR markers. *Scientia Horticulturae, 119*(2), 208-211.



[ Downloaded from flowerjournal.org on 2026-10-31 ]
[ DOR: 20.1001.1.26765993.1399.5.1.1.2 ]
[ DOI: 10.52547/flowerjournal.5.1.1 ]

Cardoso, J.C., da Silva, J.A.T. (2013). Gerbera micropropagation. *Biotechnology Advances, 31*(8), 1344-1357.

Chakrabarty, D., Datta, S.K. (2008). Micropropagation of gerbera, lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities during acclimatization process. *Acta Physiologiae Plantarum, 30*(3), 325-331.

Chung, M.-Y., Kim, M.B., Chung, Y.M., Nou, I.-S., Kim, C.K. (2016). In vitro shoot regeneration and genetic transformation of the gerbera (Gerbera hybrida Hort.) cultivar 'Gold Eye'. *Journal of Plant Biotechnology, 43*(2), 255-260.

Elomaa, P., Honkanen, J., Puska, R., Seppänen, P., Helariutta, Y., Mehto, M., Kotilainen, M., Nevalainen, L., Teeri, T.H. (1993). Agrobacterium-mediated transfer of antisense chalcone synthase cDNA to *Gerbera hybrida* inhibits flower pigmentation. *Nature Biotechnology, 11*(4), 508-511.

Elomaa, P., Uimari, A., Mehto, M., Albert, V.A., Laitinen, R.A., Teeri, T.H. (2003) Activation of anthocyanin biosynthesis in Gerbera hybrida (Asteraceae) suggests conserved protein-protein and protein-promoter interactions between the anciently diverged monocots and eudicots. *Plant Physiology, 133*(4), 1831-1842.

Huang, M.C., Chu, C.Y. (1985). A scheme for commercial multiplication of Gerbera (*Gerbera hybrida* Hort.) through shoot tip culture. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science, 54*(1), 94-100.

Jauhar, P.P. (2006). Modern biotechnology as an integral supplement to conventional plant breeding: the prospects and challenges. *Crop Science, 46*(4), 1841-1859.

Korbin, M., Podwyszynska, M., Komorowska, B., Wawrzynczak, D. 2001. Transformation of Gerbera plants with Tomato spotted wilt virus (TSWV) nucleoprotein gene. Paper presented at the XX International Eucarpia Symposium, Section Ornamentals, Strategies for New Ornamentals-Part II 572.

Meyer, H., Van Staden, J. (1988). The in vitro culture of *Gerbera aurantiaca*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 14*(1), 25-30.

Murashige, T., Serpa, M., Jones, J.B. (1974). Clonal multiplication of Gerbera through tissue culture. *Horticultural Science, 9*, 175-180.

Nhut, D.T., An, T.T.T., Huong, N.T.D., Don, N.T., Hai, N.T., Thien, N.Q., Vu, N.H. (2007). Effect of genotype, explant size, position, and culture medium on shoot generation of *Gerbera jamesonii* by receptacle transverse thin cell layer culture. *Scientia Horticulturae, 111*(2), 146-151.

Nowak, E., Rojek, Z., Kucharska, D., Orlikowska, T. (1997). Effect of initial explant on effectivity of Agrobacterium tumefaciens-mediated transformation of Gerbera hybrida. *Biotechnologia, 4*, 27-37.

Orlikowska, T., Nowak, E., Marasek, A., Kucharska, D. (1999). Effects of growth regulators and incubation period on in vitro regeneration of adventitious shoots from gerbera petioles. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 59*(2), 95-102.

Reddy, A.C., Choudhary, M. (2002). Rapid plant regeneration from *Gerbera jamesonii* Bolus callus cultures. *Acta Botanica Croatica, 61*(2), 125-134.

Reynoird, J.P., Chriqui, D., Noin, M., Brown, S., Marie, D. (1993). Plant regeneration fromin vitro leaf culture of several Gerbera species. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 33*(2), 203-210.

Shabanpour, K., Sharifi, A., Bagheri, A., Moshtaghi, N. (2011). Effect of genotypes and culture medium on shoot regeneration and proliferation of *Gerbera jamesonii*. *African Journal of Biotechnology, 10*(57), 12211-12217.



[ Downloaded from flowerjournal.org on 2026-10-31 ]
[ DOR: 20.1001.1.26765993.1399.5.1.1.2 ]
[ DOI: 10.52547/flowerjournal.5.1.1 ]

Sheela, V. (2006). Gerbera. *Advances in Ornamental Horticulture, 2,* 129-149.

Teeri, T.H., Elomaa, P., Kotilainen, M., Albert, V.A. (2006). Mining plant diversity: Gerbera as a model system for plant developmental and biosynthetic research. *BioEssays, 28*(7), 756-767.

[ Downloaded from flowerjournal.org on 2026-10-31 ]

[ DOR: 20.1001.1.26765993.1399.5.1.1.2 ]

[ DOI: 10.52547/flowerjournal.5.1.1 ]

Flower and Ornamental Plants (2020), 5(1): 1-12
Research article
DOI: 10.52547/flowerjournal.5.1.1

# Direct organogenesis from different vegetative explants of *Gerbera jamesonii* cv. Nilo

M. Eizadi[1], N. Ahmadi[1]*, P. Azadi[2*]

1. Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.
2. Department of Genetic Engineering, Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran (ABRII), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), P.O. Box 31535-1897, Karaj, Iran.
ahmadin@modares.ac.ir

Received: 2019/11/11, Revised: 2020/12/10, Accepted: 2021/01/07

**Abstract**

Developing a highly efficient protocol for plant regeneration is a prerequisite for successful gene transformation in plants. To gain these properties, several experiments were conducted on various explants to optimize the concentration of plant growth regulators in regeneration of Gerbera. In the first experiment, regeneration of Gerbera plant was investigated using different explants including intact leaf, petiole, scratched petiole and Thin Cell Layer (TCL). Moreover, combination of BAP (0, 1, 2 and 3 mg $L^{-1}$), TDZ (0, 0.1, 0.5, 0.8 and 1 mg $L^{-1}$) and IAA (0.1 mg $L^{-1}$) under 16/8 h light/darkness condition or one-month darkness were considered. In the second experiment, the regeneration potential of the first, second and third disc of TCL cut off from the end of the detached petioles were evaluated. Effect of different combination of BAP (0, 1 and 2 mg $L^{-1}$), TDZ (0 and 0.5 mg $L^{-1}$) and IAA (0, 0.1 and 0.3 mg $L^{-1}$) on regeneration was studied. In all experiments, the MS-basal medium was used. The results showed that the best regeneration medium for intact leaf (33.2% regeneration, 66.3 shoots), petiole (86.66% regeneration, 33.33 shoots) and scratched petiole (53.2% regeneration, 33.10 shoots) was MS medium containing 2 mg $L^{-1}$ BAP under 16/8 h light/darkness condition, and for TCL explants (46% regeneration, 29 shoots), 2 mg $L^{-1}$ BAP with 0.5 mg $L^{-1}$ TDZ in the darkness. In the second experiment, the highest rate of regeneration was obtained from the first disc of TCL explants on the MS medium containing 2 mg $L^{-1}$ BAP, 0.5 mg $L^{-1}$ TDZ and 0.1 mg $L^{-1}$ IAA.

**Keywords:** Organogenesis, Plant growth regulators, Regeneration, Thin Cell Layer.

[ Downloaded from flowerjournal.org on 2026-10-31 ]
[ DOR: 20.1001.1.26765993.1399.5.1.1.2 ]
[ DOI: 10.52547/flowerjournal.5.1.1 ]