گل و گیاهان زینتی (۱۴۰۳)، ۹(۲): ۲۵۱-۲۶۰
مقاله پژوهشی

اثرهای سطح های مختلف بنزیل آدنین بر باززایی و رشد درون شیشه‌ای ونوس حشره‌خوار (*Dionaea muscipula* Ellis.)

منیژه اسلامی، مهناز کریمی*، حسین مرادی

گروه علوم باغبانی، دانشکده علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری

karimi@sanru.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۲/۳۰، تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۷/۱۴، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۷/۲۷

چکیده

ونوس حشره‌خوار یک گیاه زینتی در حال نابودی است که مطالعه کمی بر ریزافزایی آن انجام شده است. سیتوکینین‌ها گروهی از هورمون‌های رشد گیاهی هستند که تقسیم یاخته ای، تمایز یاخته ای، آغاز ساقه‌دهی و رشد را در بسیاری از گیاهان تحریک می‌کنند. هدف از پژوهش حاضر، بررسی اثر غلظت‌های مختلف بنزیل آدنین بر باززایی و رشد ونوس حشره‌خوار بود. بدین منظور، آزمایشی به صورت طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار انجام شد. گیاهچه‌های کشت بافتی که به روش کشت اندام گیاهی افزایش یافت انتخاب شده و در محیط کشت موراشیگ و اسکوگ با غلظت‌های مختلف بنزیل آدنین (۰/۱، ۰/۳ و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر) کشت شدند. پس از گذشت ۱۵۵ روز برخی از صفات مورفولوژیک و بیوشیمیایی از جمله تعداد پینه‌های رویان‌زا، تعداد برگ، تعداد ریشه، درصد ریشه‌زایی، درصد باززایی و رنگیزه‌های فتوسنتزی مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس نتایج به‌دست آمده اثر غلظت‌های مختلف بنزیل آدنین بر درصد ریشه‌زایی، تعداد ریشه، درصد باززایی و تعداد برگ معنی‌دار بود. بیشترین درصد ریشه زایی با ۹۹/۹۷٪ در غلظت ۰/۱ میلی گرم در لیتر بنزیل آدنین و کمترین آن مربوط به غلظت ۰/۳ میلی‌گرم بر لیتر بود. بیشترین درصد باززایی، تعداد ریشه و تعداد برگ در غلظت ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آدنین ثبت شد. اثر غلظت‌های مختلف بنزیل آدنین بر نسبت کلروفیل کل و کارتنوئید در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار بود. با توجه به نتایج پژوهش حاضر غلظت ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آدنین تاثیر معنی‌داری در مقایسه با دو غلظت ۰/۳ و ۰/۵ میلی گرم در لیتر بر درصد باززایی، درصد ریشه‌زایی، تعداد ریشه، تعداد برگ، محتوای کلروفیل و کارتنوئید داشت. اگر هدف از کشت بافت گیاه ونوس حشره‌خوار تعداد پینه‌های رویان.زا بالا در مدت زمان کم باشد استفاده از غلظت ۰/۳ میلی‌گرم بر لیتر بهترین نتیجه را خواهد داشت.

واژه‌های کلیدی: سیتوکینین، کشت بافت، کلروفیل، گیاه زینتی.

مقدمه

گیاهان گوشت‌خوار در راسته گیاهان نهان‌دانه قرار دارند. این گیاهان حدود ۸۱۰ گونه از ۲۵۰۰۰۰ گونه گیاه گل‌دار در دنیا را تشکیل می‌دهند. بیشتر آنها متعلق به دو راسته Nepenthales و Lamiales می‌باشند (Mithöfer, 2022). گیاهان گوشت‌خوار

[Downloaded from flowerjournal.ir on 2025-04-04]

مستقیماً پروتئین حیوانی را با استفاده از آنزیم‌هایی که عملکرد آنها مشابه پپسین و سایر پروتئازها است حل می‌کنند (Darwin & Darwin, 1888; Ellison & Gotelli, 2009).

ونوس حشره‌خوار[1] تنها گونه این جنس، یک گیاه نیمه گرمسیری و در حال نابودی است (Horner *et al*., 2014). این گیاه قادر است مقادیر زیادی از ترکیبات فنلی مانند فنیل پروپانوئیدها، فلاونوئیدها و اسیدهای فنولیک را سنتز کند. این ترکیبات فنلی دارای خواص آنتی اکسیدانی و ضد باکتریایی قوی می‌باشند (Devi *et al*., 2016). ظاهر متمایز و عادت رشد ونوس حشره‌خوار سبب شده که به یک گیاه آپارتمانی محبوب تبدیل شود (Bergman, 2017).

ریزافزایی، یکی از کاربردی‌ترین روش‌های افزایش گیاهان زینتی است. ریزنمونه‌ها معمولاً در محیطی حاوی مواد مغذی تحت شرایط استریل کشت می‌شوند (Wijerathna-Yapa *et al*., 2023; Mehbub *et al*., 2022). تنظیم کننده‌های رشد گیاهی نقش بسیار بارزی در ریزافزایی دارند. در این میان سیتوکینین‌ها به طور گسترده‌ای به عنوان تنظیم کننده‌های اصلی رشد و نمو شاخه‌ها استفاده می‌شوند و در غلظت‌های بالا موجب تشکیل جوانه، تقسیم یاخته ای، رشد و تشکیل کالوس می‌شوند. این ترکیبات نقش مهمی بر عملکرد دستگاه فتوسنتزی نیز دارند (Dobránszki & Mendler-Drienyovszki, 2014). تحقیقات گسترده‌ای بر عملکرد این نوع تنظیم کننده در گیاهان مختلف انجام شده است و نتایج نشان داده است که یکی از مهم‌ترین عوامل برای تکثیر گیاه در شرایط کشت بافتی، نوع و غلظت سیتوکینین است (AL-Bakkar, 2022; García-Ramírez, 2024).

در پژوهشی اثرات نوع محیط کشت، غلظت محیط موراشیگ اسکوگ و انواع سیتوکینین، اکسین و اسیدیته محیط بر تکثیر اندام هوایی و تشکیل ریشه در گیاه ونوس حشره‌خوار مورد بررسی قرار گرفت. طبق نتایج به‌دست آمده، بیشترین پرآوری نمونه‌ها با استفاده از شاخساره‌های سه ماهه در محیط کشت MS $\frac{1}{3}$ با ۲/۳ میکرومولار کینتین در اسیدیته ۵/۵ بدست آمد. بهترین شرایط برای ریشه زایی محیط MS $\frac{1}{3}$ همراه با ۰/۵ میکرومولار ایندول بوتیریک اسید بود. همه شاخه‌های زیر کشت، پس از ۶-۵ هفته کشت، سیستم ریشه‌ای گسترده‌ای تولید کردند (Jang *et al*., 2003).

محققان آزمایشی بر روی سه گونه گیاه گوشت‌خوار دروزرا[2] در چند محیط کشت مختلف با ریز نمونه برگ با هورمون بنزیل آدنین[3] و نفتالین استیک اسید[4] انجام دادند. در این پژوهش دو محیط MS $\frac{1}{2}$ و VW[5] با دو هورمون BA و NAA به میزان ۰/۰۰۵ و ۰/۲ میکرومولار بهترین نتیجه را در باززایی از برگ این گیاه داشتند (Kawiak *et al*., 2003).

با توجه به اهمیت اکولوژیکی، اقتصادی، زینتی و دارویی گیاه ونوس حشره‌خوار و همچنین در معرض نابودی بودن این گیاه، هدف از مطالعه حاضر بررسی تأثیر سطوح مختلف بنزیل آدنین برتسریع در باززایی گیاه ونوس حشره‌خوار با استفاده از ریزنمونه گیاهچه در محیط کشت بافت در مدت زمان کمتر می‌باشد.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر به صورت طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار در سال ۱۴۰۲ در آزمایشگاه کشت بافت گروه علوم باغبانی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری اجرا شد. ابتدا گیاهان کشت بافتی خریداری شد و برای افزایش اولیه، در محیط

۱- *Dionaea muscipula* ۲- *Droser cuneifolia*، *Drosera binata* ،*Drosera anglica* ۳- BA ۴- NAA
۵- Vacin & Went

[Downloaded from flowerjournal.ir on 2025-04-04]

کشت بدون هورمون به مدت چهار هفته افزایش یافتند تا گیاهچه‌های یکسانی به‌دست آید. سپس گیاهچه‌ها در شرایط درون شیشه، با برگ غیر توسعه یافته و بدون ریشه (اندازه ۰/۳-۰/۲ میلی‌متر) به صورت تصادفی برای آزمایش انتخاب شدند. بدین منظور نمونه‌های افزایش یافته در محیط کشت موراشیگ و اسکوگ حاوی سه سطح بنزیل آدنین (۰/۱، ۰/۳ و ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر) همراه با ۳٪ ساکارز حجمی/ وزنی و ۰/۸درصد آگار کشت داده شدند. تمام محیط‌ها قبل از استریل در اتوکلاو در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس و ۱/۵ اتمسفر به مدت ۲۰ دقیقه، با HCl و NaOH یک نرمال در pH ۰/۲ ±۵/۸ تنظیم شدند. بعد از استریل و انتقال گیاهچه‌ها در زیر هود لامینار ایرفلو، همه کشت‌ها در دمای ۲ ± ۲۴ درجه سلسیوس زیر نور فلورسنت سفید خنک (۵۶ میکرومول در متر مربع بر ثانیه) با دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی قرار داده شدند. سپس به مدت ۲۲ هفته به نمونه‌ها اجازه رشد داده شد (شکل ۱). هر دو هفته نمونه‌ها جابجا شد تا شرایط برای تمام نمونه‌ها یکسان باشد. پس از گذشت ۱۵۵ روز صفاتی چون تعداد پینه‌های رویان‌زا، تعداد برگ، تعداد ریشه، درصد ریشه‌زایی، درصد باززایی (Pirooz *et al*., 2017)، کلروفیل و کارتنوئید مورد بررسی قرار گرفت.

شکل ۱- مراحل مختلف افزایش گیاهچه ونوس حشره خوار در محیط کشت MS (الف) استقرار اولیه گیاهان؛ (ب) شرایط نگهداری گیاه؛ ج) پاسخ گیاه به رشد و آلودگی و از بین رفتن گیاه (سیاه شدن بافت گیاه و عدم رشد در محیط)؛ (د) بررسی خصوصیات مورفولوژیک.

Fig. 1. Different stages of Venus plant micropropagation on MS medium: (a) Initial plant establishment; (b) Plant maintenance conditions; (c) Plant responses to growth and contamination; (d) Examination of morphological characteristics.

صفات مورد بررسی با شمارش و از طریق رابطه ۱ و ۲ محاسبه شدند.

$$\text{درصد ریشه زایی} = \frac{\text{تعداد ریشه تولید شده در هر نمونه}}{\text{تعداد کل نمونه انتخاب شده}} \times 100 \quad \text{(رابطه ۱)}$$

$$\text{درصد باززایی} = \frac{\text{تعداد نمونه های رشد یافته}}{\text{تعداد کل نمونه های کشت شده}} \times 100 \quad \text{(رابطه ۲)}$$

0

[Downloaded from flowerjournal.ir on 2025-04-04]

برای استخراج رنگدانه، نمونه‌ها در ۱۰ میلی‌لیتر متانول ۹۶٪ قرار گرفتند. سپس در تاریکی و به مدت ۲۴ ساعت نگهداری شدند. مواد رویی حاوی رنگدانه‌های استخراج‌شده جمع‌آوری شد و میزان جذب با اسپکتروفتومتر در ۴۷۰، ۶۶۵ و ۶۵۲ نانومتر قرائت شد. مقادیر جذب با استفاده از معادلات ۳ تا ۷ به محتوای کلروفیل a و b، نسبت کلروفیل a به b، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها تبدیل شدند (Lichtenthaler, 1987).

$$Chl_a = 16.72 * A_{665} - 9.16 * A_{652} \quad \text{(رابطه ۳)}$$

$$Chl_b = 34.09 * A_{652} - 15.28 * A_{665} \quad \text{(رابطه ۴)}$$

$$Chl(Total)_{(a+b)} = C_{\mathrm{a}} + C_{\mathrm{b}} \quad \text{(رابطه ۵)}$$

$$Chl\,{}^{a}/_{b}\ \text{Ratio} = {}^{C_{\mathrm{a}}}/_{C_{\mathrm{b}}} \quad \text{(رابطه ۶)}$$

$$C_{X+c} = (1000 * A_{470} - 1.63 * C_a - 104.96 * C_b)/221 \quad \text{(رابطه ۷)}$$

تجزیه واریانس و مقایسه میانگین داده ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS 9.1 و رسم نمودارها با نرم‌افزار Excel انجام شد.

نتایج و بحث

بر اساس نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) اثر غلظت‌های مختلف بنزیل آدنین بر درصد ریشه‌زایی و تعداد ریشه در سطح احتمال ۱٪ بر درصد باززایی، تعداد برگ و تعداد پینه رویان زا در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار بود. بیشترین درصد ریشه زایی با ۹۹/۹۷٪ در غلظت ۰/۱ میلی گرم در لیتر بنزیل آدنین و کمترین آن مربوط به غلظت ۰/۳ میلی‌گرم بر لیتر بود (جدول ۲). بیشترین درصد باززایی، تعداد ریشه و تعداد برگ به ترتیب با میانگین ۹۴/۷۴٪، ۳ عدد و ۳۳/۳ عدد در غلظت ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آدنین ثبت شد. بیشترین تعداد پینه رویان‌زا در تیمار ۰/۳ میلی‌گرم بر لیتر و کمترین آن در غلظت ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آدنین ثبت شد (شکل ۲).

جدول۱- تجزیه واریانس اثر غلظت‌های مختلف بنزیل آدنین بر صفات مورفولوژیکی گیاه ونوس حشره‌خوار .

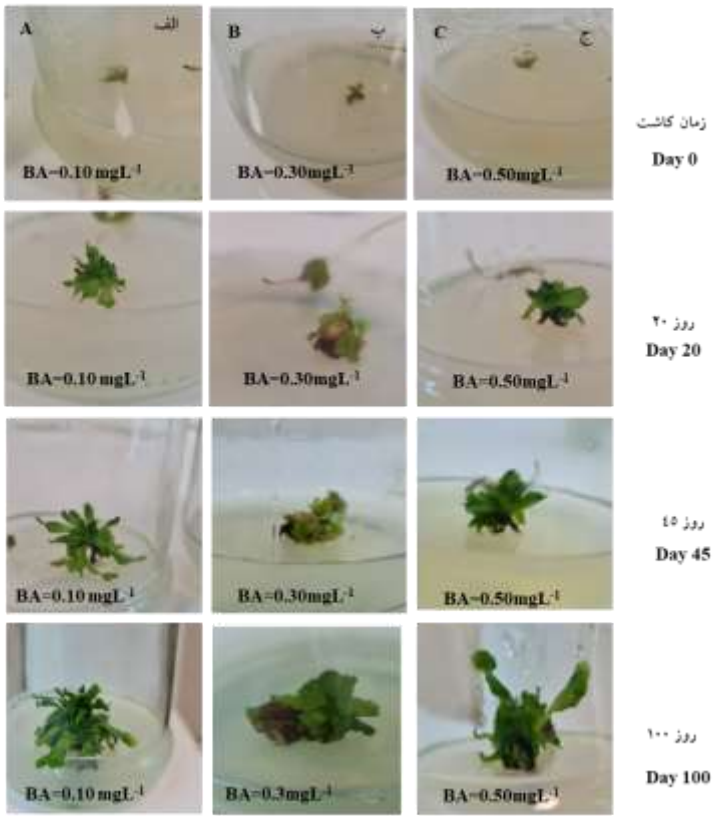
Table 1. Variance analysis of morphological characteristics in Venus flytrap plant under different levels of benzyl adenine.

منبع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	درصد ریشه زایی %Rooting	درصد باززایی Regeneration %	تعداد ریشه Number of roots	تعداد برگ Number of leaves	تعداد پینه رویان زا Number of callosum embryos
بنزیل آدنین (BA)	2	55.262	83.23	5.44	87.11	38.11
خطا (Error)	6	5.62**	0.46*	0.55**	0.66*	1.33*
ضریب تغییرات (%CV)		43/68	21/68	47/91	10/80	33/52

ns ، * و **: به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال پنج و ۱٪.

ns, * and ** are non-significant, significant at 5% and 1% probability levels, respectively.

[Downloaded from flowerjournal.ir on 2025-04-04]



شکل ۲- رشد گیاه ونوس حشره‌خوار بر روی محیط‌کشت MS حاوی سطوح مختلف بنزیل آدنین (الف- BA ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر،ب- BA ۰/۳ میلی‌گرم بر لیتر، ج- BA ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر).

Fig. 2. Growth of Venus plant on MS medium containing different levels of benzyladenine (A- BA 0.1 mgL^{-1}, B- BA 0.3 mgL^{-1}, C- BA 0.5 mgL^{-1}).

جدول ۲- مقایسه میانگین صفات مورفولوژیکی گیاه ونوس حشره‌خوار تحت سطوح مختلف بنزیل آدنین.

Table 2. Mean comparisons of morphological traits Venus flytrap plant under different levels of benzyl adenine.

بنزیل آدنین (میلی گرم در لیتر) BA (mgL^{-1})	**درصد** ریشه زایی **%**Rooting	**درصد باززایی** Regeneration **%**	تعداد ریشه Number of roots	تعداد برگ Number of leaves	تعداد پینه رویان زا Number of callosum embryos
0.1	99.97a	94.74a	3.00a	13.33a	0.30c
0.3	14.80c	68.12c	0.33b	2.66c	7.33a
0.5	48.10b	80.54b	1.33b	6.66b	2.66b

در هر ستون اعداد با حروف مشابه تفاوت معنی‌داری با همدیگر در آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵٪ ندارند

In each column, the numbers with the same letter are not significantly different from each other at the 5% level in Duncan's multiple range test

در پژوهش حاضر اثر غلظت‌های مختلف بنزیل آدنین بر درصد ریشه‌زایی، تعداد ریشه، درصد باززایی، تعداد برگ و تعداد پینه رویان‌زا معنی‌دار بود. گزارش شده است سایتوکنین‌ها با کاهش غالبیت انتهایی، در تحریک رشد و بزرگ شدن یاخته مؤثر می‌باشند. در بیشتر تحقیقات بنزیل آدنین به عنوان مؤثرترین تنظیم کننده رشد سایتوکنینی در پرآوری و افزایش شاخه‌زایی معرفی شده است (Azizi *et al*., 2020).

[Downloaded from flowerjournal.ir on 2025-04-04]

طبق نتایج آزمایش حاضر، با افزایش غلظت بنزیل آدنین از ۰/۱ تا ۰/۵ گرم در لیتر درصد بازرایی و ریشه‌زایی، تعداد ریشه و تعداد برگ کاهش یافت. در پژوهشی دیگر روی ریزنمونه ریزوم گیاه ونوس، با افزایش غلظت BA اثرات مضر بر رشد و کاهش کیفیت گیاهچه‌ها گزارش شده است (Parliman *et al*., 1982). در گیاه گوشت خوار دروزرا دو هورمون BA و NAA به میزان ۰/۰۰۵ و ۰/۲ میکرومولار بهترین نتیجه را در باززرایی از برگ این گیاه داشتند(Kawiak *et al*., 2003) . در پژوهشی ۱۲ گونه گیاهی در شرایط کشت بافت در غلظت‌های مختلف بنزیل آدنین کشت شدند. در این پژوهش بهترین تیمار برای شاخه‌دهی و رشد، غلظت بین ۰/۱ تا ۲/۵ میلی‌گرم بر لیتر BA معرفی شد (Norton & Boe, 1982). هم‌راستا با یافته‌های پژوهش حاضر، پژوهشگران بیان داشتند که تنظیم‌کننده رشد بنزیل آدنین تأثیر معنی‌داری بر درصد باززایی، درصد ریشه‌زایی، طول گیاهچه، تعداد ریشه و وزن خشک گیاهچه‌های لیلیوم داشت (Sharifi *et al*., 2017). بنزیل آدنین در غلظت مناسب، در تحریک رشد گیاهچه با تحریک تقسیم‌های یاخته‌ای و همچنین توسعه و رشد یاخته‌ها و نیز کمک در انتقال ترکیب‌های ذخیره‌ای اثر دارد. آنزیم‌های متابولیک سیتوکینین در بازسازی شاخساره شرکت می‌کنند (Viswanath *et al*., 2023).

جدول ۳-تجزیه واریانس محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی گیاه حشره‌خوار ونوس.

Table 3. Variance analysis of photosynthetic pigments content of Venus f lytrap plant.

منبع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	کلروفیلa Chl a	کلروفیل b Chl b	کلروفیل کل Chl Total (a+b)	نسبت کلروفیل a/b Chl a/b Ratio	کاروتنوئید Carotenoids
بنزیل آدنین (BA)	2	0.090	0.134	0.446	1.233	0.034
خطا (Error)	6	0.015^{ns}	0.001*	0.018*	0.124**	0.0013*
ضریب تغییرات %CV	-	19.007	10.35	13.24	18.06	10.01

ns، * و **: به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال پنج و ۱٪.

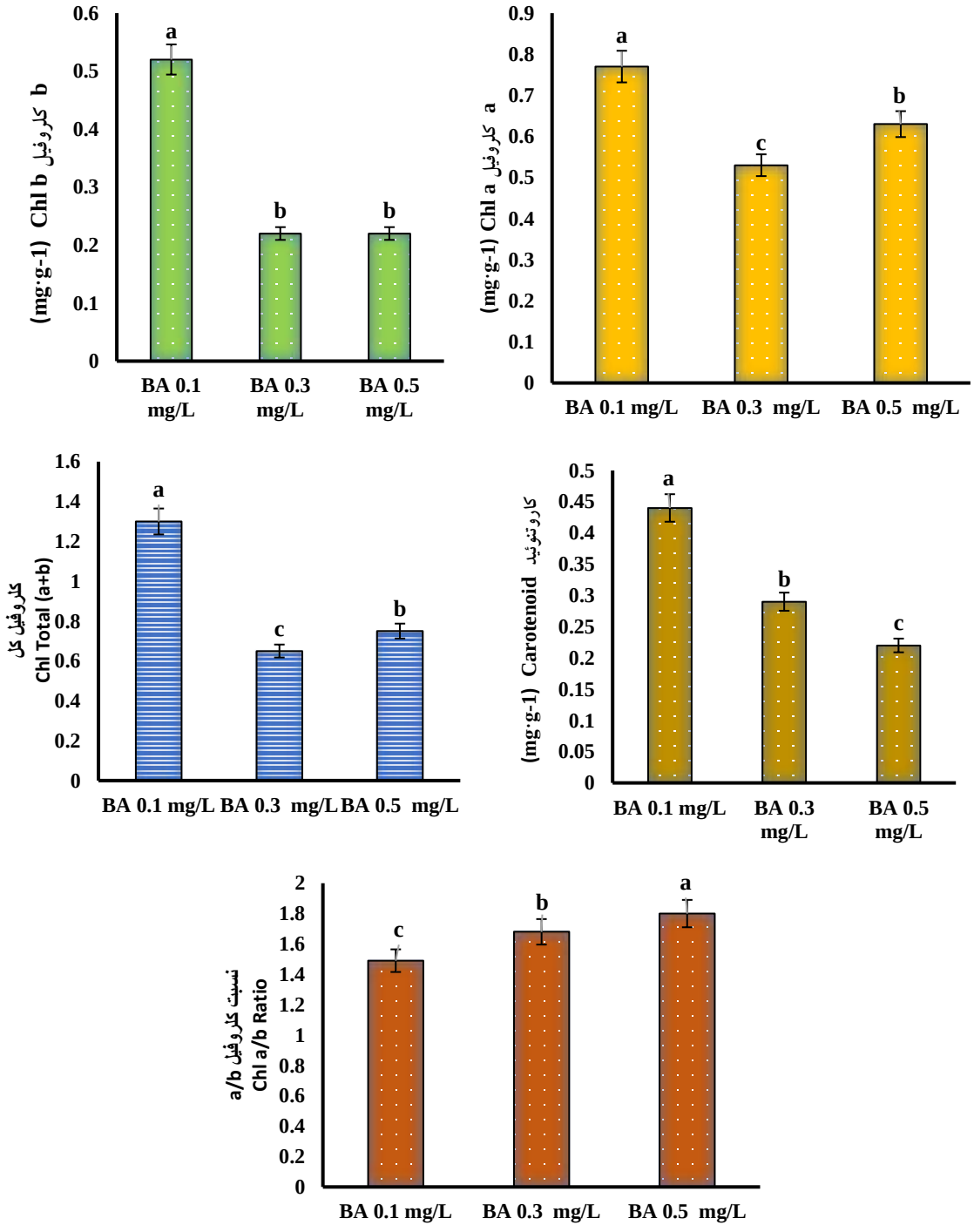
ns, * and ** are non-significant, significant at 5% and 1% probability levels, respectively.

طبق جدول تجزیه واریانس (جدول ۳) اثر غلظت‌های مختلف بنزیل آدنین بر نسبت کلروفیل a/b در سطح احتمال۱٪ و بر میزان کلروفیل b، کلروفیل کل و کارتنوید در سطح احتمال۵٪ معنی‌دار بود. بیشترین میزان کلروفیل b، کلروفیل کل و کارتنوئید در غلظت ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آدنین ثبت شد. بیشترین نسبت کلروفیل a/b در غلظت ۰/۵ میلی گرم در لیتر بنزیل آدنین بدست آمد (شکل ۳).

در گیاهان مختلف نشان داده شده است که در شرایط آزمایشگاهی نوع و غلظت هورمون گیاهی بر عملکرد و فعالیت فتوسنتزی تأثیر می‌گذارد (Dobránszki & Mendler-Drienyovszki, 2014). سیتوکینین‌ها در حمل و نقل و تجمع ترکیبات فتوسنتزی موثر می‌باشند. هنگامی که سیتوکینین‌ها سنتز می‌شوند، به بافت‌های گیاه منتقل شده و از طریق انتشار و انتقال فعال وارد یاخته می‌شوند و عملکرد کلروپلاست را تحت تاثیر قرار می‌دهند (Kudo *et al*., 2010). در راستای این پژوهش، اثرات

[Downloaded from flowerjournal.ir on 2025-04-04]

مخرب مشابه سیتوکنین‌ها بر فتوسنتز توسط دیگر پژوهش‌ها نیز نشان داده شد که با افزایش غلظت بنزیل آدنین کاهش معنی‌داری در غلظت کلروفیل ایجاد می‌شود (Aremu *et al*., 2012; Carimi *et al*., 2003).



شکل ۳- اثر سطوح مختلف بنزیل آدنین بر محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی در گیاه حشره‌خوار ونوس در شرایط درون شیشه‌ای. میانگین‌های دارای حروف یکسان از نظر آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵٪ تفاوت معنی‌داری ندارند.

Figure 3. Effect of different levels of benzyl adenine on the content of photosynthetic pigments in Venus flytrap plant under *in vitro* culture conditions. Means with the same letter are not significantly different according to Duncan's multiple range test at 5% level

[Downloaded from flowerjournal.ir on 2025-04-04]

در پژوهش حاضر بیشترین محتوای کارتنوئید در غلظت ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آدنین ثبت شد با افزایش غلظت بنزیل آدنین کاهش در میزان کارتنوئید مشاهده گردید. گزارش شده است که کاهش کارتنوئید ممکن است به تخریب کلروفیل کمک کند، که منجر به کاهش کارایی دستگاه فتوسنتزی می‌شود. در پژوهشی بر روی گیاهان مختلف خانواده بروملیاسه، در غلظت بالای سیتوکینین کاهش تراکم روزنه اتفاق افتاد و اثرات باقیمانده بنزیل آدنین در محیط کشت، سبب کاهش محتوای رنگدانه‌ها شد. این پژوهشگران بیان کردند که استفاده از بنزیل آدنین در طول رشد گیاه در شرایط آزمایشگاهی می‌تواند باعث ایجاد اختلال در عملکرد فتوسنتزی گیاهان شوند (Dewir *et al*., 2016; Gentile *et al*., 2017; Martins *et al*., 2018; Rosa *et al.*, 2018). در پژوهشی روی گیاه ونوس حشره‌خوار با افزایش غلظت بنزیل آدنین طول برگ و ساقه کاهش یافت (Jang *et al*., 2003). به طور کلی کاهش محتوای رنگدانه‌ها نشان‌دهنده اختلالات در دستگاه فتوسنتزی گیاهان کشت بافتی است که این اختلال بیانگر افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی به علت سیتوکینین خارجی است که در محیط باقی می‌ماند (Dakah *et al*., 2014).

نتیجه گیری

با توجه به نتایج پژوهش حاضر غلظت ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آدنین تاثیر معنی‌داری در مقایسه با دو غلظت ۰/۳ و ۰/۵ میلی گرم در لیتر بر درصد باززایی، درصد ریشه‌زایی، تعداد ریشه، تعداد برگ، محتوای کلروفیل و کارتنوئید داشت. اگر هدف از کشت بافت گیاه ونوس حشره‌خوار تعداد پینه رویان‌زا بالا در مدت زمان کم باشد استفاده از غلظت ۰/۳ میلی‌گرم بر لیتر توصیه می‌شود.

منابع

AL-Bakkar, A. H. A.Q. (2022). Effect of benzyl adenine on the vegetative and root growth of seedlings of *Myrtus communis* L.:A Review. *British Journal of Global Ecology and Sustainable Development*, *7*, 19-27.

Aremu, A. O., Bairu, M. W., Szüčová, L., Finnie, J. F., Van Staden, J. (2012). The role of meta-topolins on the photosynthetic pigment profiles and foliar structures of micropropagated 'Williams' bananas. *Journal of Plant Physiology, 169*(15), 1530–1541. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2012.06.006

Azizi, F., Samiei, L., Moghaddam, M. (2020). Assessment of the effect of plant growth regulators on micropropagation of Senna (*Cassia angustifolia* Vahl.) medicinal plant. *Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research*, *28*(1), 79-90. doi: 10.22092/ijrfpbgr.2020.342212.1362. (In Persian).

Bergman, C. M. (2017). The Vascular Flora of Lee County, Texas. *Lundellia*, *20*(1), 60-114. https://doi.org/10.25224/1097-993X-20.1.60

Carimi, F., Zottini, M., Formentin, E., Terzi, M., Lo Schiavo, F. (2003). Cytokinins: new apoptotic inducers in plants. *Planta, 216*(3), 413–421. https://doi.org/10.1007/s00425-002-0862-x

Darwin, C., Darwin, F. (1888). Insectivorous plants. J. Murray. 378p. https://doi.org/10.2307/4447054

Dakah, A., Zaid, S., Suleiman, M., Abbas, S., Wink, M. (2014). *In vitro* propagation of the medicinal plant *Ziziphora tenuior* L. and evaluation of its antioxidant activity. *Saudi Journal of Biological Sciences*, *21*(4), 317-323.

Devi, S.P., Kumaria, S., Rao, S.R. Tandon, P. (2016). Carnivorous plants as a source of potent bioactive compound: Naphthoquinones. *Tropical Plant Biology*, *9*, 267–279.

[Downloaded from flowerjournal.ir on 2025-04-04]

Dewir, Y. H., Murthy, H. N., Ammar, M. H., Alghamdi, S. S., Al-Suhaibani, N. A., Alsadon, A. A., Paek, K. Y. (2016). *In vitro* rooting of leguminous plants: Difficulties, alternatives, and strategies for improvement. *Horticulture, Environment, and Biotechnology*, *57*, 311-322.

Dobránszki, J., Mendler-Drienyovszki, N. (2014). Cytokinin induced changes in the chlorophyll content and fluorescence of *in vitro* apple leaves. *Journal of Plant Physiology*, *171*(16), 1472-1478. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jplph.2014.06.015

Ellison, A. M., Gotelli, N. J. (2009). Energetics and the evolution of carnivorous plants—Darwin's 'most wonderful plants in the world'. *Journal of Experimental Botany*, *60*(1), 19-42. https://doi.org/10.1093/jxb/ern179

García-Ramírez, Y. (2024). Morphological and physiological responses of proliferating shoots of bamboo to cytokinin. *Vegetos*, *37*(1), 6-15.

Gentile, A., Frattarelli, A., Nota, P., Condello, E., Caboni, E. (2017). The aromatic cytokinin meta-topolin promotes *in vitro* propagation, shoot quality and micrografting in *Corylus colurna* L. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, *128*, 693-703.

Horner, J. D., Hodcroft, E. B., Hale, A. M., Williams, D. A. (2014). Clonality, genetic variation, and the origin of isolated western populations of the carnivorous plant, Sarracenia alata1. *The Journal of the Torrey Botanical Society*, *141*(4), 326-337.

Jang, G. W., Kim, K. S., Park, R. D. (2003). Micropropagation of Venus fly trap by shoot culture. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, *72*(1), 95-98. https://doi.org/10.1023/A:1021203811457

Kawiak, A., Królicka, A., Lojkowska, E. (2003). Direct regeneration of *Drosera* from leaf explants and shoot tips. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, *75*, 175-178.

Kudo, T., Kiba, T., Sakakibara, H. (2010). Metabolism and long-distance translocation of cytokinins. *Journal of Integrative Plant Biology*, *52*(1), 53-60.

Lichtenthaler, H. K. (1987). Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. In Methods in enzymology (Vol. 148, pp. 350-382). Elsevier.

Martins, J., Santos, E., Rodrigues, L., Gontijo, A., Falqueto, A. (2018). Effects of 6-benzylaminopurine on photosystemII functionality and leaf anatomy of *in vitro* cultivated *Aechmea blanchetiana*. *Biologia Plantarum*, *62*, 793-800.

Mehbub, H., Akter, A., Akter, M. A., Mandal, M. S. H., Hoque, M. A., Tuleja, M., Mehraj, H. (2022). Tissue culture in ornamentals: cultivation factors, propagation techniques, and its application. *Plants*, *11*(23), 3208. https://www.mdpi.com/2223-7747/11/23/3208

Mithöfer, A. (2022). Carnivorous plants and their biotic interactions. *Journal of Plant Interactions, 17*(1), 333–343. https://doi.org/10.1080/17429145.2022.2038710

Norton, M. E., Boe, A. A. (1982). *In vitro* propagation of ornamental rosaceous plants. *HortScience*, *17*(2), 190-191. https://doi.org/10.21273/hortsci.17.2.190

Parliman, B. J., Evans, P. T., Rupert, E. A. (1982). Tissue culture of single rhizome explants of *Dionaea muscipula* Ellis, the venus flytrap, for rapid asexual propagation1. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, *107*(2), 305-310. https://doi.org/10.21273/JASHS.107.2.305

Pirooz, M., Amiri, H., Dostii, B. (2017). 'Callus induction and plant regeneration of Thymus daenensis Celak, *Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research, 32*(6), 958-967. https://doi.org/10.22092/ijmapr.2017.109312. (In Persian).

Rosa, W. S., Martins, J. P. R., Rodrigues, E. S., de Almeida Rodrigues, L. C., Gontijo, A. B. P. L., Falqueto, A. R. (2018). Photosynthetic apparatus performance in function of the cytokinins used during the *in vitro*

[Downloaded from flowerjournal.ir on 2025-04-04]

multiplication of *Aechmea blanchetiana* (Bromeliaceae). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*,*133*, 339-350.

Sharifi, A., Keykha, F., Yazdi, M., Bagheri, A. (2017). Effect of cultivar and plant growth regulators on *in vitro* regeneration of *Lilium* Spp. utilizing thin cell layer Explants. *Journal Of Horticultural Science*, *31*(3), 555-564. https://doi.org/10.22067/jhorts4.v31i3.55475. (In Persian).

Viswanath, M., Ravindra Kumar, K., Chetanchidambar, N., Mahesh, S. (2023). Regeneration mechanisms in plant tissue culture. *Journal of Pharmaceutical Innovation*, *12*, 2948-2952.

Wijerathna-Yapa, Akila, and Jayeni Hiti-Bandaralage. (2023). Tissue Culture—A Sustainable Approach to Explore Plant Stresses. *Life*, *13*(3), 780. https://doi.org/10.3390/life13030780

[Downloaded from flowerjournal.ir on 2025-04-04]

Flower and Ornamental Plants (2024), 9(2): 251-260
Research article

Effects of different levels of benzyl adenine on *in vitro* regeneration and growth of Venus flytrap (*Dionaea muscipula* Ellis.)

Manijhe Eslami, Mahnaz Karimi*, Hossein Moradi

Department of Horticultural Sciences, Faculty of Crop Sciences, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari

karimi@sanru.ac.ir

Received: 2024/05/19, Revised: 2024/10/05, Accepted: 2024/10/18

Abstract

The Venus flytrap (*Dionaea muscipula* Ellis.) is an endangered ornamental plant that has received limited research on its micropropagation. Cytokinins are a group of plant growth hormones that stimulate cell division, cell differentiation, stem initiation, and reproductive growth in many plants. This study aimed to investigate the effect of different concentrations of benzyl adenine on the regeneration and growth of Venus flytrap. An experiment was conducted as a completely randomized design with 3 replications. Tissue-cultured plantlets that were propagated using the organ culture method were selected and cultured in Murashige and Skoog medium with different concentrations of benzyl adenine (0.1, 0.3, and 0.5 mgL^{-1}). After 155 days, some morphological and biochemistry traits such as the number of callus-derived embryos, number of leaves, number of roots, rooting percentage, regeneration percentage, and photosynthetic pigments were investigated. Based on the results obtained, the effect of different concentrations of benzyladenine on percentage of rooting, number of roots, percentage of regeneration and number of leaves was significant. The highest percentage of rooting with 97.99% was obtained at a concentration of 0.1 mgL^{-1} benzyladenine. The highest percentage of regeneration, number of roots and number of leaves were recorded at a concentration of 0.1 mgL^{-1} benzyladenine. The effect of different concentrations of benzyladenine on total chlorophyll and carotenoids was significant at the 5% level of probability. According to the results of the present study, the concentration of 0.1 mgL^{-1}benzyladenine had a significant effect compared to two concentrations of 0.3 and 0.5 mgL^{-1}on the percentage of regeneration, percentage of rooting, number of roots, number of leaves, chlorophyll and carotenoid content. If the aim of tissue culture of Venus flytrap is to produce a high number of embryogenic callus in a short period of time, a concentration of 0.3 mgL^{-1}will give the best results.

Keywords: Cytokinin, Tissue Culture, Chlorophyll, Ornamental plant.

[Downloaded from flowerjournal.ir on 2025-04-04]