

مقایسه روش‌های ازدیاد درون‌شیشه‌ای و برون‌شیشه‌ای سه رقم بنفسه‌آفریقایی (*Saintpaulia ionantha H. Wendi.*)

محمود فتاحی فرادنبه^۱، مریم دهستانی اردکانی^{۲*}، کاظم کمالی علی آباد^۳

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم باگبانی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه اردکان، اردکان، ایران

۲. استادیار گروه علوم باگبانی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه اردکان، اردکان، ایران و عضو پژوهشکده گیاهان دارویی اردکان، اردکان، ایران

۳. استادیار گروه علوم خاک‌شناسی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه یزد، یزد، ایران

 *mdehestani@ardakan.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۳/۱۸، تاریخ بررسی مجلد: ۱۳۹۸/۰۵/۰۶، تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۶/۲۱

چکیده

بنفسه‌آفریقایی (*Saintpaulia ionantha H. Wendi.*) یکی از معروف‌ترین گیاهان زینتی با رنگ‌ها و اشکال متنوع گل است. در این پژوهش تکثیر درون و برون‌شیشه‌ای این گیاه با یکدیگر مقایسه شد. در تکثیر درون‌شیشه‌ای اثر پنج ریزنمونه (پهنک، دمبرگ، دمبرگ بدون اپیدرم، گل کامل و گل بدون گلبرگ) در سه رقم ('Cool Blue', 'Rondita' و 'Knight Rider') در محیط کشت MS حاوی ۰/۱ mg/l NAA و ۱ mg/l BA بررسی شد. در تکثیر برونشیله‌ای قلمه‌های برگ سه رقم بنفسه‌آفریقایی درون ظروف پلاستیکی دردار حاوی ۰/۷٪ پیت‌ماس و ۳۰٪ پرلیت کشت شدند. درنهایت سرعت تکثیر و تعداد جوانه گیاه در دو روش مقایسه شد. بررسی نتایج به دست آمده نشان داد که در هر رقم نوع ریزنمونه مناسب برای تکثیر گیاه متفاوت است. در رقم 'Cool Blue' هیچ‌کدام از پنج ریزنمونه‌های با یکدیگر در میزان باززایی، تولید جوانه و تعداد برگ گیاهچه‌های حاصله نشان ندادند. در رقم 'Rondita' ریزنمونه‌های پهنک (۹۱/۶۶٪)، دمبرگ (۹۱/۶۱٪) و دمبرگ بدون اپیدرم (۸۳/۳۳٪) و در رقم 'Knight Rider' ریزنمونه‌های برگ، گل کامل، گل بدون گلبرگ و دمبرگ (همگی ۱۰۰٪) بیشترین میزان باززایی را نشان دادند. در تکثیر قلمه برگی رقم 'Cool Blue' بیشترین (۸/۲۵ عدد) تعداد گیاهچه را تولید کردند. مقایسه طول دوره کشت در شرایط درون و برونشیله نشان داد که در هر سه رقم مورد بررسی، دوره زمانی از کشت تا گلدهی در شرایط درون‌شیشه‌ای (۱۸۰ تا ۲۳۰ روز) طولانی‌تر از برونشیله‌ای (۱۲۰ تا ۱۴۰ روز) بود، در حالی که تعداد جوانه تولید شده در کشت درون‌شیشه‌ای به‌طور معنی‌داری در مقایسه با تکثیر قلمه برگی بیشتر بود.

کلمات کلیدی: پرآوری، ریزنمونه، قلمه برگ، گلدهی، گیاهچه

مقدمه

گونه‌های وحشی سودمند باشد. بنفشه آفریقایی به صورت سنتی با قلمه برگ تکثیر می‌شود که در این روش مشکلاتی مانند ظهور گیاهان نامتقارن، نیاز به فضای زیاد جهت تکثیر و توسعه بیماری‌ها وجود دارد (Torres 1988). اندام‌زایی درون شیشه‌ای هر گیاه از جمله بنفشه آفریقایی تحت تاثیر نوع ریزنمونه، منبع و روش ضد عفنونی، محیط کشت (نوع و غلظت نمک‌ها، تنظیم کننده‌های رشد گیاهی، منبع کربن، عامل ژله‌ای کننده)، دما، فتوپریود، منبع و نوع نور قرار می‌گیرد (Teixeira da silva et al. 2016). اولین بار اندام زایی توسط Suszynska و Kukulczanka (۱۹۷۲) بررسی شد. آنها شاخصاره‌های نابجا را از ریزنمونه برگ *S. ionantha* var. *alba* کردند و تنها مطالعه مرفو‌لوزیک انجام دادند. تا امروز کشت درون شیشه‌ای بنفشه آفریقایی با موفقیت توسط ریزنمونه‌های مختلف شامل برگ (Smith & Molgaard 1991)، جوانه گل (Norris 1983)، بسک اپیدرم تحتانی (Bilkey & Cocking 1981)، (Weatherhead et al. 1982) و پروتوبلاست (Hoshino et al. 1995) صورت گرفته است. Vazquez و همکاران (۱۹۹۷) گزارش کردند که تخدمان دست نخورده و قطعات برگ در محیط کشت MS بدون تنظیم کننده‌های رشد گیاهی می‌تواند منجر به تولید شاخصاره‌های نابجا طی ۶۰ روز گردد، در حالی که کاسبرگ و گلبرگ هیچ علائمی از اندام‌زایی نشان ندادند. افزودن 0.2 mg/l BA توانست منجر به اندام زایی در ریزنمونه‌های کاسبرگ و گلبرگ گردد (Vazquez et al. 1997). بیشترین ریزنمونه‌های مورد استفاده در تولید بنفشه آفریقایی بر اساس برخی منابع مورد بررسی شامل گلبرگ گل، قطعات برگ شامل رگبرگ میانی و دمبرگ است. باززایی اغلب از طریق مستقیم یا فاز القای کالوس

Gesneriaceae متعلق به خانواده *Saintpaulia* است که گیاهان بوته‌ای و علفی زیادی در آن قرار دارند. این جنس دارای گل و برگ‌های جذاب می‌باشد. گل‌ها به صورت نامنظم یا زیگومورف با دو لوب در بالا و سه لوب در پائین در رنگ‌های متنوع وجود دارند. (Tatsuzawa & Hosokawa 2016; Teixeira de Silva et al. 2016). جنس *Saintpaulia* بومی کنیا و تانزانیا بوده و شامل ۲۵ گونه است (The Plant List, 2017). هشت گونه شامل *S. ionantha* در فهرست گیاهان در IUCN SSC 2014 قرار دارند (IUCN 2014). جمعیت‌های طبیعی این گونه به علت ازین رفتان جنگل‌ها برای توسعه کشاورزی در معرض خطر قرار دارند. *S. ionantha* H. Wendl. (Moore 1957) و یک گیاه محبوب تجاری و زیستی با ارقام زیاد می‌باشد. بازار گیاهان گل‌دانی آمریکا در سال ۲۰۱۴ ارزشی معادل ۷۸۸ میلیون دلار داشت (۸۱۰ میلیون دلار در سال ۲۰۱۵، USDA ۲۰۱۶) که ارزش بنفشه آفریقایی برابر با $4/07$ میلیون دلار ($4/16$ میلیون دلار در سال ۲۰۱۵، USDA ۲۰۱۶)، که نسبت به سال ۲۰۱۳ یک درصد افزایش نشان داد (USDA 2015). یکی از دلایل محبوبیت این گیاه تکثیر راحت آن است. در شرایط بروون شیشه‌ای، تنها زمانی که برگ‌ها یا دمبرگ در آب یا ماسه رودخانه قرار می‌گیرند، ریشه تشکیل می‌شود، در حالی که ارقام کمی با بذر تکثیر می‌شوند (Chen & Henny 2009). با وجود اینکه تصور می‌شود که ارقام بنفشه آفریقایی در صنعت گل‌کاری دارای ارزش و تقاضای بالایی هستند، برخی گونه‌های وحشی آن در معرض خطر انقراض قرار دارند (Eastwood et al. 1998). بنابراین، کشت درون شیشه‌ای این گیاه زیستی می‌تواند در حفظ و تکثیر

هدف از این مطالعه بررسی بهترین نوع ریزنمونه جهت تکثیر و پرآوری در سه رقم بنفشه آفریقایی و همزمان تکثیر برون شیشه‌ای این گیاهان با استفاده از قلمه برگی و در نهایت برای هر رقم، نوع ریزنمونه و روش مناسب جهت تکثیر معرفی گردد.

مواد و روش‌ها

در پژوهش حاضر از سه رقم بنفشه آفریقایی (‘S. ionantha’ H. Wendl.) با نام ‘Cool Blue’ (گل‌های آبی رنگ)، ‘Rondita’ (گل‌های صورتی رنگ) و ‘Knight’ (گل‌های فرفهای) استفاده شد. گیاهان از گلخانه‌ای از اصفهان تهیه و به گلخانه گروه علوم باگبانی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه اردکان با دمای $25 \pm 2^\circ\text{C}$ و رطوبت نسبی ۷۵ درصد متغیر شدند و تا زمان آغاز آزمایش در آنجا نگهداری شدند.

تمام مراحل ضدغونی در زیر هود لامینار و در شرایط کاملاً استریل انجام گرفت. ابتدا ریز نمونه‌ها به مدت دو دقیقه توسط آب مقطر شستشو داده شدند. سپس به مدت دو دقیقه در اسیدسیتریک ۰/۰۵ درصد و بعد در محلول کلرید جیوه ۰/۱ درصد + اسیدسیتریک ۰/۰۵ درصد استریل به مدت دو دقیقه ضدغونی شدند. در تمام مراحل ضدغونی ظرف حاوی ریزنمونه‌ها تکان داده شد تا مراحل ضدغونی بهتر صورت گیرد.

ریز نمونه‌های مورد استفاده در آزمایش شامل ۱- پهنک برگ که از برگ‌های سالم، جوان و توسعه یافته از قسمت مریستمی گیاه در ابعاد $1 \times 1 \times 1$ سانتی‌متری تهیه شد، ۲- دمبرگ (حاصل از برگ‌های سالم، جوان و کاملاً توسعه یافته با اندازه‌های 1×1 سانتی‌متری)، ۳- دمبرگ بدون اپیدرم که لایه اپیدرم رویی بافت دمبرگ توسط یک تیغ تیز برداشته شده بود در اندازه‌های 1×1 سانتی‌متری آماده شد، ۴- کاسبرگ (کاسبرگ کامل یا کاسه گل از گل‌ها جدا شد)،

صورت می‌گیرد (Len & Meng 1982, Hamey & Khan 1979, Shukla et al. 2013 و همکاران (۲۰۰۷) القای کالوس و بازیابی گیاه بنفشه آفریقایی و سازگاری گیاهان بازداشده را بررسی کردند. بیشترین القای کالوس در محیط کشت MS mg/l NAA ۰/۱ و بیشترین بازیابی شاخصاره و پرآوری در محیط MS mg/l BAP ۳ در میان ترکیبات مختلف گلدانی مورد استفاده دست آمد. در میان ترکیبات مختلف گلدانی مورد استفاده جهت سازگاری گیاهان ریشه‌دار شده، محیط کشت حاوی ۱۰۰٪ ماسه برتری نشان داد. SO (۱۹۸۳) گزارش کرد که MS mg/l BA ۱ در محیط کشت NAA ۰/۲۵ و BA ۱ mg/l بازیابی ترکیب برای القا و رشد شاخصاره‌های نابجا و همین‌طور تشکیل کالوس در بنفشه آفریقایی است. Pak و Kwack (۱۹۸۷) توجه کردند که محیط کشت MS حاوی ۱۰۰ mg/l مایواینو زیتول و ۸۸۰ mg/l کلسیم (در محیط کشت استاندارد MS مقدار آن دو برابر است) بیشترین تعداد شاخصاره و کالوس را تولید کردند. Lee (۱۹۸۶) بهترین ترکیب برای تشکیل شاخصاره و رشد کالوس را پیش تیمار با BA ۲۰۰ mg/l به مدت ۱۸ دقیقه سپس NAA ۰/۲ در محیط کشت MS معرفی کرد در حالی که NAA ۰/۲ mg/l با BA ۰/۲ در محیط کشت NAA ۰/۲ mg/l بازیابی را داشت. کاربرد مقادیر اندک TDZ (۰/۰۰۱-۰/۰۰۲ mg/l) به طور موثرتری شاخصاره را در ریزنمونه‌های دمبرگ و برگ القا نمود (Lee, 1992). امیری و همکاران (۱۳۹۳) بیشترین درصد شاخصاره‌زایی و پرآوری را در محیط کشت MS حاوی BA ۲ mg/l گزارش کردند. آنها نشان دادند که محیط پیت-پرلایت پودر شده بهترین شرایط را جهت ریشه‌زایی برون شیشه‌ای فراهم کرد.

جدید سازگار شدند. همه تیمارها در اتفاقک رشد با همان شرایط باززایی قرار گرفتند. برای مقایسه بهتر سعی شد تمامی گیاهچه‌ها یک‌دست و یک اندازه باشند. صفات مورد اندازه‌گیری شامل درصد نکروزگی (میزان زرد شدن)، درصد قهوه‌ای شدن (قهوه‌ای و سیاه شدن)، درصد باززایی، تعداد جوانه، تعداد برگ و شاخص نسبی کلروفیل بود که پس از چهار هفته مورد ارزیابی قرار گرفت. شاخص نسبی کلروفیل برگ با استفاده از دستگاه کلروفیل سنج مدل کلروفیل برگ با استفاده از دستگاه کلروفیل سنج مدل (CCM- 200) اندازه‌گیری شد. این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام گرفت.

جهت تکثیر برون شیشه‌ای از قلمه برگ حاوی دمبرگ با طول حدوداً سه سانتی‌متر استفاده شد. اندازه سطح برگ در هر رقم به صورت میانگین به شرح زیر بود: برگ رقم ۲۰/۳۲ cm² 'Rondita'، ۲۷/۸۳ cm² 'Cool Blue' و ۳۳/۴۰ cm² 'Knight Rider' گیری سطح برگ (leaf area meter) (مدل Winarea-UT-11، ساخت ایران) اندازه‌گیری شد. در این آزمایش جهت کشت قلمه برگ دمبرگدار از ظروف پلاستیکی دردار با ابعاد ۱۲ × ۲۲ سانتی‌متر و عمق ۷ سانتی‌متر حاوی ۷۰٪ پیت‌ماس - ۳۰٪ پرلیت استفاده شد (شکل ۷). با توجه به حساس بودن گیاه نسبت به آبیاری از بالا، آبیاری از زیر ظروف صورت گرفت. بدین ترتیب که با قرار دادن دو فتیله در هر ظرف و قرار دادن ظروف روی ظرف حاوی آب، آبیاری از پائین صورت می‌گرفت. درون هر ظرف چهار قلمه کشت شد و هر ظرف به عنوان یک تکرار در نظر گرفته شد. صفات مورد بررسی در این آزمایش شامل شاخص نسبی کلروفیل قلمه برگ و گیاهچه‌های حاصله، طول، عرض و تعداد برگ، طول ریشه و تعداد گل بود. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام گرفت. در پایان درصد باززایی و سرعت تکثیر گیاه در هر سه رقم مورد بررسی، در شرایط درون و برون شیشه مقایسه شد. بدین ترتیب که تعداد روز از زمان کشت تا جوانه‌زنی، تعداد

cm-۵ گل کامل که شامل گل‌های کاملاً بازشده و به اندازه ۲-۳ توسعه یافته بودند و بخش کوچکی از دمگل به آن متصل بود، ۶- گل بدون گلبرگ و ۷- گلبرگ (شامل کل جام گل که از دمگل جدا شده بود) بودند (شکل ۶-الف). لازم به ذکر است که ریزنمونه‌ها ابتدا ضدغونی و سپس به اندازه مورد نظر برش داده شدند. با توجه به اینکه ریزنمونه‌های کاسبرگ و گلبرگ در آزمایشات اولیه موفق به باززایی نشدند، در ادامه پنج ریزنمونه دیگر مورد ارزیابی قرار گرفتند.

Murashige & Skoog (MS) نمونه‌ها در محیط کشت (1962) حاوی ۱ mg/l BA، ۱ mg/l NAA، ۰/۱ mg/l میواینوزیتول، ۱ mg/l ۲۰۰ کاژئن هیدرولیزات، ۱/۵ g/l آگار و ۳۰ g/l ساکارز که pH آن روی ۵/۷ تنظیم شده بود و به مدت ۱۵ دقیقه در اتوکلاو با دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد استریل شد، کشت شدند. برای کشت نمونه‌ها از شیشه‌های مربایی به ارتفاع ۱۰ سانتی‌متر و قطر شمش سانتی‌متر استفاده شد و درون هر شیشه سه عدد ریزنمونه قرار گرفت. هر شیشه مربایی به عنوان یک تکرار در نظر گرفته شد. پس از کشت شیشه‌ها در اتفاقک رشد با دوره نوری ۸:۱۶ ساعت تاریکی/روشنایی، دمای ۲۵±۲ °C درجه سانتی‌گراد در دوره روشنایی و ۱۸±۲ °C در دوره تاریکی و شدت نور ۲۵۰۰ تا ۳۰۰۰ لوکس نگهداری شدند. ریزنمونه‌ها هر چهار هفت‌هه یک بار واکنشت شدند. زمانی که اکثریت گیاهچه‌ها به قطر تاج ۵-۱۰ mm رسیدند، به محیط ریشه‌زایی انتقال داده شدند. جهت ریشه‌زایی از محیط کشت MS بدون تنظیم-کننده‌های رشد استفاده شد. طول دوره کشت بر اساس نوع ریزنمونه متفاوت بود (جدول ۵).

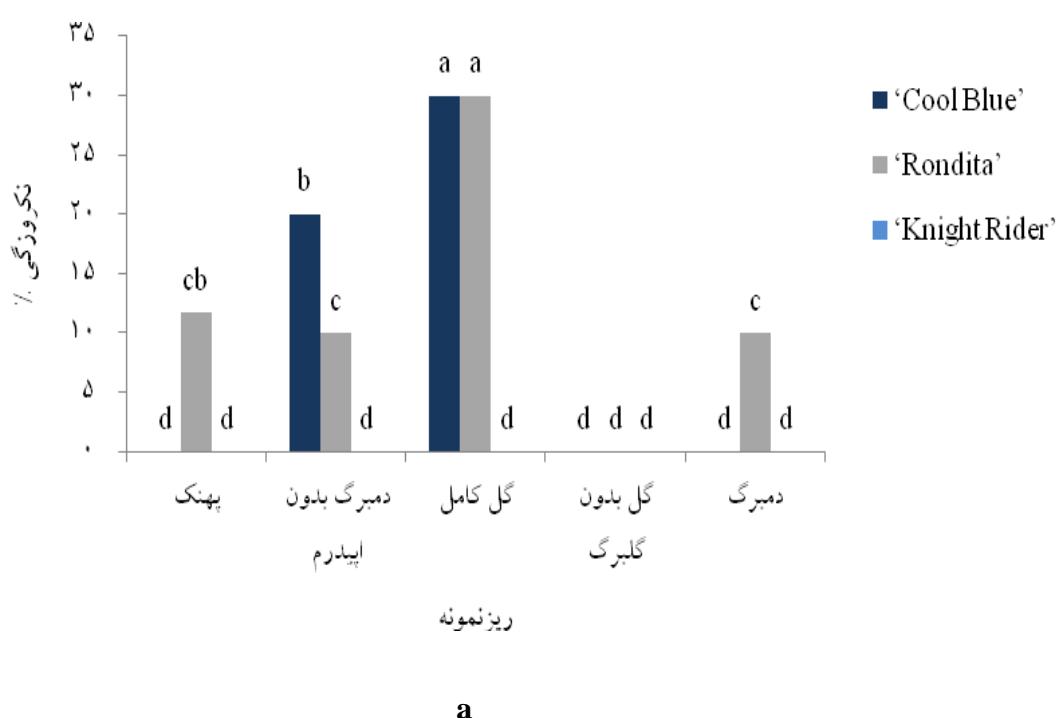
پس از ریشه‌زایی گیاهچه‌ها به گلدان‌های پلاستیکی با قطر دهانه ۷ cm که حاوی ترکیب ۷۰٪ پیت‌ماس - ۳۰٪ پرلیت استریل بودند، منتقل شدند (شکل ۷-ه). جهت حفظ رطوبت روی ظروف با پوشش‌های شفاف پلاستیکی پوشانیده شد و به تدریج با کاهش رطوبت نسبی با محیط

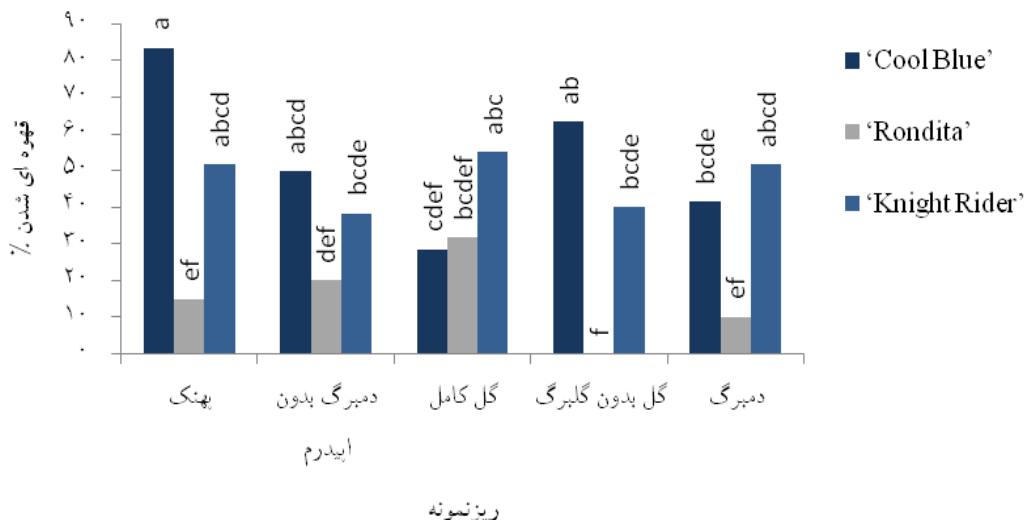
'Cool Blue' در ریزنمونه برگی و در رقم 'Rondita' مشاهده شد. کمترین میزان قهوهای شدن (صفر درصد) در ریزنمونه گل بدون گلبرگ در رقم 'Rondita' به دست آمد (شکل ۱-ب). بیشترین درصد بازیابی (۱۰۰ درصد) در ریزنمونه‌های پهنک، گل کامل، گل بدون گلبرگ و دمبرگ رقم 'Knight Rider' به دست آمد (شکل ۲). هر پنج ریزنمونه مورد بررسی در رقم 'Cool Blue' کمترین درصد بازیابی را نشان دادند (شکل ۲). در رقم 'Rondita' ریزنمونه‌های پهنک، دمبرگ و دمبرگ بدون اپیدرم نسبت به سایر ریزنمونه‌ها در این رقم بازیابی بیشتری نشان دادند (شکل ۲).

روز جوانهزنی تا انتقال و تعداد روز از انتقال تا گلدهی مورد ارزیابی قرار گرفت. داده‌های آزمایش ابتدا نرمال شدند و تجزیه و تحلیل آن‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.1 و مقایسه میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد.

نتایج و بحث

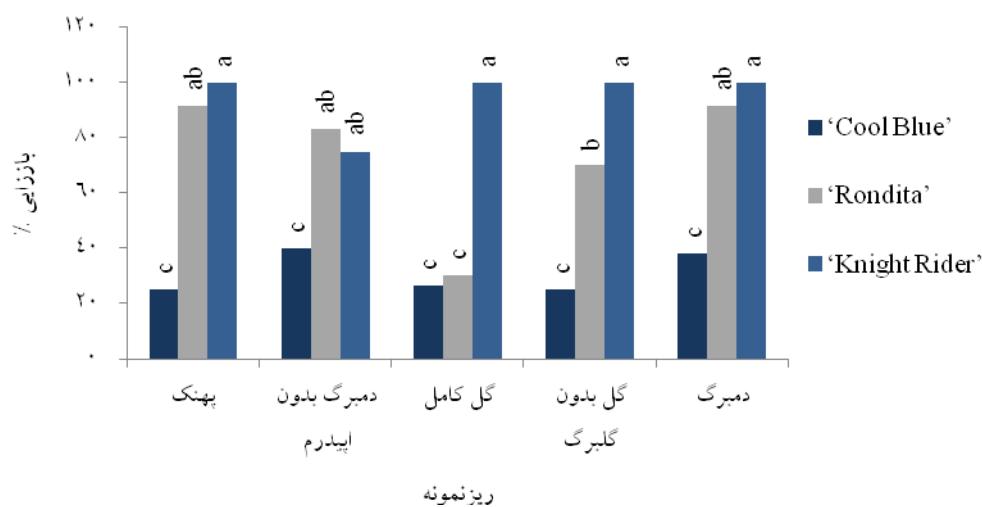
بیشترین میزان نکروزه شدن (۳۰٪) در ریزنمونه‌های گل کامل در دو رقم 'Cool Blue' و 'Rondita' مشاهده شد و در تمام ریزنمونه‌های مورد بررسی 'Knight Rider' هیچ‌گونه نکروزه شدن مشاهده نشد. همچنین ریزنمونه گل بدون گلبرگ در هر سه رقم مورد مطالعه نکروزگی نشان نداد (شکل ۱-الف). بیشترین میزان قهوهای شدن ۸۳/۳۳٪





شکل ۱- مقایسه میانگین اثر متقابل رقم و نوع ریزنمونه بر a) درصد نکروزه شدن و b) قهوهای شدن سه رقم بنفسه آفریقا

Fig 1. Mean comparison of interactive effect of cultivar and explant type on a) percent of necrosis and b) browning of three cultivars of African violet



شکل ۲- مقایسه میانگین اثر متقابل رقم و نوع ریزنمونه بر درصد باززایی سه رقم بنفسه آفریقا

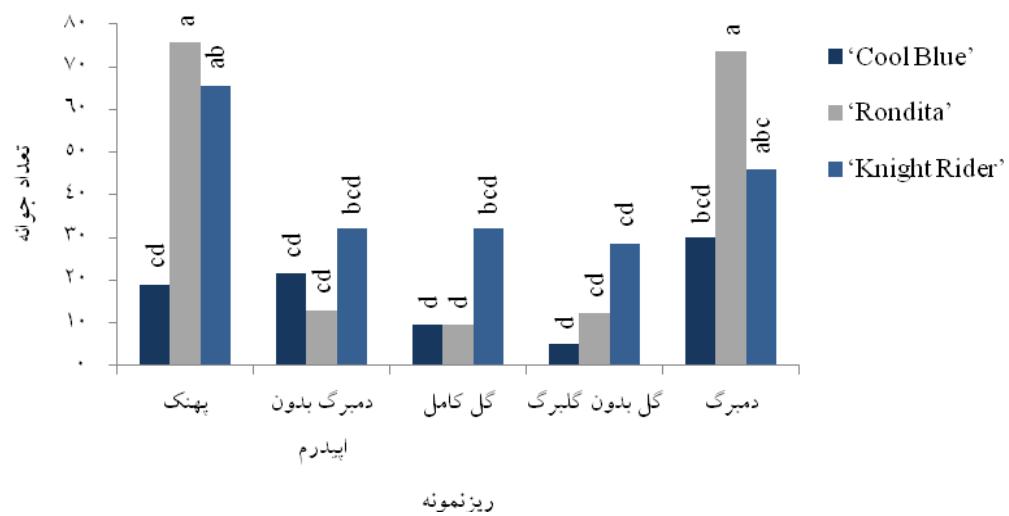
Fig 2. Mean comparison of interactive effect of cultivar and explant type on regeneration percentage of three cultivars of African violet

بود. در ریزنمونه‌های پهنهک و دمبرگ به ترتیب رقم تعداد برگ را تولید کردند. در حالی که در ریزنمونه‌های گل کامل، گل بدون گلبرگ و دمبرگ بدون اپیدرم بیشترین تولید برگ در رقم 'Knight Rider' مشاهده شد و 'Cool Blue' و 'Rondita' تفاوت معنی‌دار با یکدیگر نشان ندادند. به طور کل در میان ارقام مورد بررسی رقم 'Knight Rider' نسبت به دو رقم دیگر در همه ریزنمونه‌های مورد مطالعه به طور معنی‌داری تعداد برگ بیشتری تولید کرد (شکل ۴).

بر اساس نتایج اثر رقم در سطح احتمال یک درصد و اثر ریزنمونه و اثر متقابل ریزنمونه و رقم بر شاخص کلروفیل در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود. بیشترین میزان کلروفیل (۷۴) در برگ‌های حاصل از باززایی ریزنمونه گل کامل در رقم 'Cool Blue' مشاهده شد (شکل ۵). میزان کلروفیل در سایر ریزنمونه‌ها و ارقام با یکدیگر تفاوت معنی‌داری نشان نداد (شکل ۵).

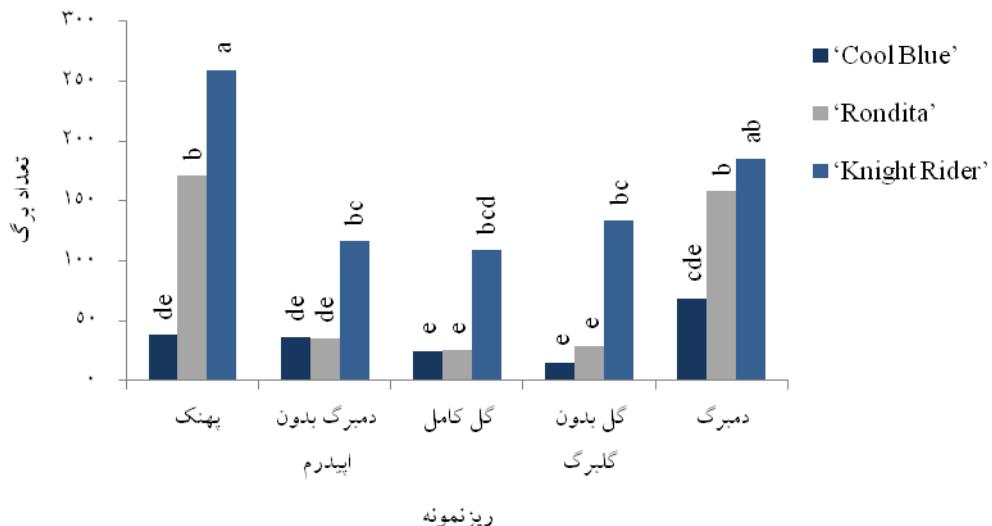
بیشترین میزان تولید جوانه (۷۵/۶۶ و ۷۳/۶۶ عدد) در ریزنمونه‌های پهنهک و دمبرگ رقم 'Rondita' به دست آمد. کمترین میزان تولید جوانه در ریزنمونه گل کامل در ارقام 'Cool Blue' و 'Rondita' و گل بدون گلبرگ در رقم 'Cool Blue' حاصل شد. بر اساس نتایج، تعداد تولید جوانه در هر رقم بر حسب نوع ریزنمونه متفاوت بود برای مثال در ریزنمونه‌های پهنهک و دمبرگ به ترتیب رقم 'Cool Blue'، 'Rondita' و 'Knight Rider' بیشترین تعداد جوانه را تولید کردند. در حالی که در ریزنمونه دمبرگ بدون اپیدرم بیشترین تولید جوانه به ترتیب در رقم 'Cool Blue'، 'Knight Rider' و 'Rondita' آمد (تفاوت معنی‌دار نبود) (شکل ۳).

بیشترین تعداد برگ (۲۵۹/۶۷ عدد) در ریزنمونه برگ رقم 'Knight Rider' به دست آمد. کمترین میزان برگ در ریزنمونه‌های گل کامل و گل بدون گلبرگ ارقام 'Cool Blue' و 'Rondita' حاصل شد. بر اساس نتایج، تعداد تولید برگ در هر رقم بر حسب نوع ریزنمونه متفاوت



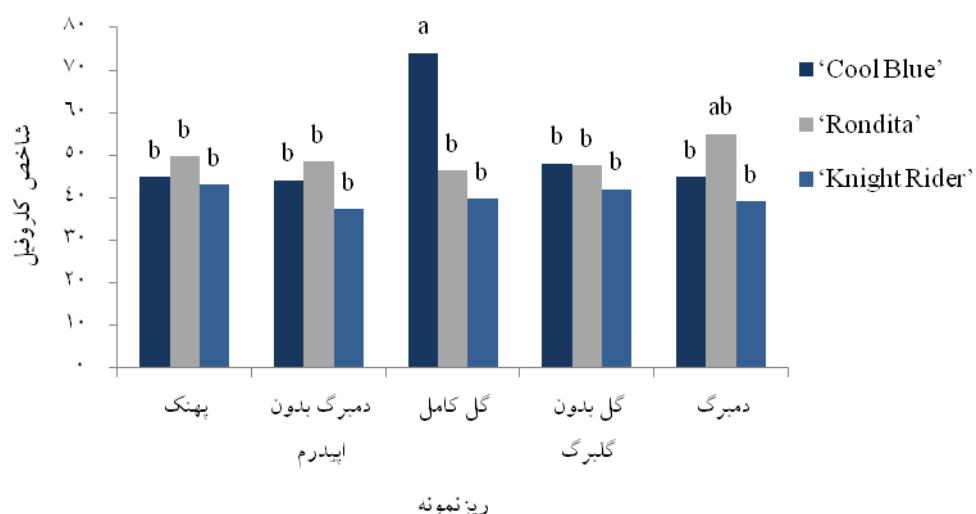
شکل ۳- مقایسه میانگین اثر متقابل رقم و نوع ریزنمونه بر تعداد جوانه سه رقم بنفسه آفریقا

Fig 3. Mean comparison of interactive effect of cultivar and explant type on number of buds in three cultivars of African violet



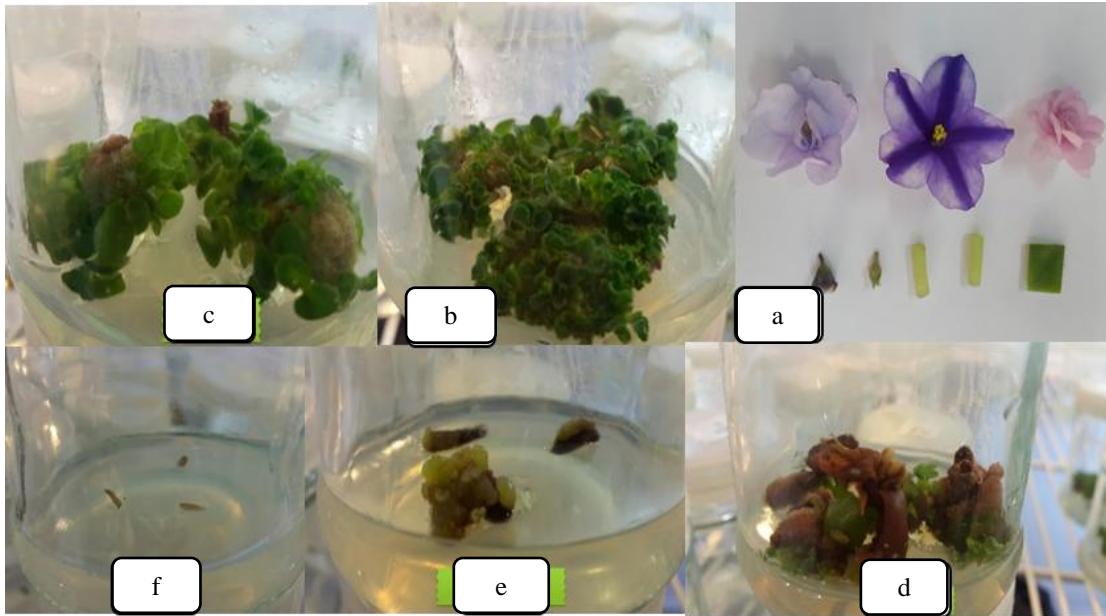
شکل ۴- مقایسه میانگین اثر متقابل رقم و نوع ریزنمونه بر تعداد برگ سه رقم بنفسه آفریقاوی

Fig 4. Mean comparison of interactive effect of cultivar and explant type on number of leaves of three cultivars of African violet



شکل ۵- مقایسه میانگین اثر متقابل رقم و نوع ریزنمونه بر شاخص کلروفیل سه رقم بنفسه آفریقاوی

Fig 2. Mean comparison of interactive effect of cultivar and explant type on chlorophyll content of three cultivars of African violet



شکل ۶- (a) ریزномونه‌های مورد استفاده جهت کشت درون شیشه‌ای سه رقم بنفسه آفریقایی با رنگ گل صورتی ('Rondita')، فرفهای ('Cool Blue') و آبی ('Knight Rider') شامل گل کامل، پهنک برگ، دمبرگ، گل بدون اپیدرم و گل بدون گلبرگ، (b) بازیابی ریزномونه‌های برگ (c) دمبرگ، (d) گل کامل، (e) دمبرگ بدون اپیدرم و (f) کاسبرگ

Fig 6. a) Explant types (whole inflorescence, leaf blade, petiol, petiole without epidermis, and flower without petals) used at *in vitro* culture of three cultivars of African violet with pink flower ('Rondita'), pinwheel ('Knight Rider') and blue ('Coll Blue') , b) regenarartion of leaf explants, c) petiol d) whole inflorescence, e) petiole without epidermal and f) calyx

تولید اولین جوانه در رقم 'Knight Rider' ۹۰ روز به طول انجامید در حالی که در دو رقم دیگر این دوره ۷۰ روز بود (جدول ۲). در واقع بیشترین اختلاف زمانی در مقایسه کشت درون و بروون شیشه در این مرحله مشاهده شد (جدول ۲). به طوری که در دو رقم 'Rondita' و 'Knight Rider' طول این دوره ۴۰ روز و در رقم 'Rondita' Rider' ۶۰ روز نسبت به کشت بروون شیشه‌ای طولانی تر بود. میانگین زمانی از هنگام جوانهزنی تا انتقال نمونه‌ها در هر دو شرایط درون و بروون شیشه در هر سه رقم ۴۰ روز بود (جدول ۲). تنها در رقم 'Rondita' و در شرایط بروون شیشه طول دوره ۶۰ روز بود (جدول ۲). پس از انتقال

بیشترین میزان کلروفیل قلمه برگ (برگ مادری) و برگ گیاهچه به ترتیب در ارقام 'Cool Blue', 'Rondita' و 'Knight Rider' به دست آمد. بیشترین طول، عرض، تعداد برگ و تعداد گیاهچه در رقم 'Cool Blue' و کمترین میزان آن در رقم 'Knight Rider' حاصل شد (جدول ۱). طول ریشه در دو رقم 'Cool Blue' و 'Rondita' به طور معنی‌داری بیشتر از رقم 'Knight Rider' بود. بیشترین تعداد گل نیز در رقم 'Rondita' به دست آمد هرچند تفاوت آماری با سایر ارقام نشان نداد (جدول ۱). طول دوره زمانی از کشت تا جوانهزنی در هر سه رقم در شرایط بروون شیشه یکسان و ۳۰ روز بود. در حالی که این دوره در شرایط درون شیشه طولانی تر بود. از زمان کشت تا

بالا بودن تعداد جوانه تولیدی می‌تواند توجیه مناسبی جهت توصیه این روش باشد.

بحث

در پژوهش حاضر ریزنمونه‌های مختلف جهت تکثیر و پرآوری سه رقم بنفسه آفریقایی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که در هر رقم نوع ریزنمونه مناسب برای تکثیر گیاه متفاوت است. هیچیک از پنج ریزنمونه مورد استفاده در رقم 'Cool Blue' تفاوت معنی‌داری با یکدیگر در میزان باززایی، تولید جوانه و تعداد برگ گیاه‌های حاصله نشان ندادند. بنابراین استفاده از هر کدام از این ریزنمونه‌ها در تکثیر و پرآوری گیاه ارزشمند است. در رقم 'Rondita' ریزنمونه‌های برگ، دمبرگ و دمبرگ بدون اپیدرم بیشترین درصد باززایی را نشان دادند و ریزنمونه‌های برگ و دمبرگ بیشترین تعداد جوانه و برگ را تولید کردند. در رقم 'Knight Rider' بیشترین میزان باززایی (۱۰۰٪) در ریزنمونه‌های برگ، گل کامل، گل بدون گلبرگ و دمبرگ حاصل شد. بیشترین میزان برگ و جوانه نیز در ریزنمونه‌های برگ و دمبرگ به دست آمد. در کشت قطعات پهنه‌ک برگ، تورم پهنه‌ک برگ و کالوس دو هفته پس از کشت، در محل تماس نمونه با محیط کشت به خصوص در ناحیه رگبرگ اصلی مشاهده شد که نتایج به دست آمده با امیری و همکاران (۱۳۹۳) مطابقت داشت. با توجه به یکسان بودن تیمار و غلظت تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی در این آزمایش، تفاوت مشاهده شده در رابطه با ریزنمونه، به احتمال مرتبط با اختلاف بین ارقام بنفسه آفریقایی است. گزارش شده است که رقم در مقایسه با نوع محیط کشت، تأثیر بیشتری

گیاه‌چه‌ها به گلدان تا گلدهی آنها در رقم 'Rondita' ۶۰ روز و در دو رقم 'Cool Blue' و 'Knight Rider' ۷۰ روز در شرایط برون شیشه طول کشید (جدول ۲). این دوره در شرایط درون شیشه طولانی‌تر بود، به طوری‌که در رقم 'Cool Blue' ۷۰ روز، رقم 'Rondita' ۸۰ روز و در رقم 'Knight Rider' ۹۰ روز به طول انجامید (جدول ۲). به طور کلی مقایسه طول دوره کشت در شرایط درون و برون شیشه نشان داد که در هر سه رقم مورد مطالعه، دوره زمانی از کشت تا گلدهی در شرایط درون شیشه‌ای بیشتر از برون شیشه‌ای بود. در مجموع کوتاه‌ترین زمان طول دوره پرورش تا گلدهی در رقم 'Rondita' در شرایط برون شیشه و طولانی‌ترین آن در رقم 'Knight Rider' و در شرایط درون شیشه به دست آمد (جدول ۲). در مجموع رقم 'Rondita' در هر دو شرایط درون و برون شیشه (به ترتیب با ۱۸۰ و ۱۲۰ روز) کوتاه‌ترین طول دوره پرورش را نشان داد. طولانی‌ترین دوره پرورش در شرایط برون شیشه متعلق به رقم 'Knight Rider' (۲۳۰ روز) بود (جدول ۲).

با مقایسه تعداد جوانه در کشت درون و برون شیشه‌ای مشخص شد که در هر سه رقم مورد بررسی میزان تولید جوانه به طور معنی‌داری نسبت به کشت برون شیشه‌ای (قلمه برگی) بیشتر بود (جدول ۳). در میان سه رقم مورد مطالعه، رقم 'Rondita' با تولید ۷۵/۶۶ جوانه بیشترین جوانه‌زایی و رقم 'Cool Blue' با تولید ۲۱/۶۶ جوانه کمترین میزان را در شرایط درون شیشه‌ای نشان دادند. رقم 'Knight Rider' با تولید ۴/۷۵ عدد جوانه کمترین میزان جوانه‌زایی را در شرایط برون شیشه و با تکثیر برگی نشان داد. بنابراین علی‌رغم پائین بودن سرعت کشت درون شیشه،

باشد (Kaul *et al.*, 1990). در واقع بازایی در نتیجه تأثیر توأم بیان ژن هورمون‌های درونی گیاه و پاسخ‌دهی به محرك خارجی است. در یک نژادگان خاص، تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی مشخص ممکن است تأثیر مختلفی بر پایه نوع ریزنمونه نشان دهد (Annadana *et al.*, 2000).

کشت بافت، متداول‌ترین تکنیک تولید مواد گیاهی سالم در کوتاه‌ترین زمان و سودآورترین روش است. منابع متعددی در مورد استفاده از تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی جهت ریشه‌زاوی قلمه برگ بنفسه آفریقایی وجود دارد (Hartmann *et al.*, 1997). بر اساس نتایج Ghasemi و همکاران (2012) رابطه مثبتی میان غلظت NAA و تعداد ریشه‌های تشکیل شده بنفسه آفریقایی وجود دارد. بنفسه آفریقایی گیاهی است که به راحتی با قلمه برگی تکثیر می‌شود (Stork *et al.*, 2002). Ghorbanzade و همکاران (2014) بیان کردند که تکثیر بنفسه آفریقایی با روش سنتی قلمه برگ بسیار زمان‌گیر است. Streck (2004) بیان کرد که لازم است زمان تکثیر تا گلدهی گیاه کاهش یابد تا سریع‌تر وارد بازار شود. اگرچه مطالعات زیادی در مورد بهبود تکثیر بنفسه آفریقایی صورت گرفته است، بیشتر آنها در شرایط درون شیشه با هزینه بالا انجام شده است. در مطالعه حاضر با بررسی سرعت تکثیر سه رقم بنفسه آفریقایی در شرایط درون و برون شیشه مشخص شد که در هر سه رقم سرعت تکثیر قلمه برگی بالاتر است و از طرف دیگر هزینه‌های لازم جهت تکثیر بسیار پائین‌تر می‌باشد. از طرف دیگر با بررسی تعداد جوانه‌های تولیدی، مشخص شد که در کشت درون شیشه‌ای تعداد جوانه‌های تولیدی به‌طور معنی‌داری بالاتر از کشت برون شیشه (قلمه برگی) بود. Ghasemi و همکاران (2012) نشان دادند که زمانی که گیاهچه‌های ریشه‌دار شده به ترکیب پیت‌ماس-پرلیت (به نسبت ۱:۳) تحت نور ۵۰۰۰ لوکس و رطوبت نسبی ۸۰-۹۰ درصد متقل شوند، بیش از ۹۵ درصد گیاهان زنده مانده و به رشد

بر بازایی در داودی داشته است (De Jong *et al.*, 1990).

بیشترین میزان قهوه‌ای شدن (۸۳/۳۳ درصد) در ریزنمونه برگی و در رقم 'Cool Blue' مشاهده شد. قهوه‌ای شدن ریزنمونه‌ها و محیط کشت به علت اکسیداسیون ترکیبات فنلی رها شده در محیط کشت در نتیجه زخمی شدن بافت در زمان آماده سازی ریزنمونه و کشت بافت بود که در نمونه‌های بالغ ممکن است مانع استقرار اولیه نمونه‌های گیاهی در محیط‌های کشت شود (Mansseri-Lamrioui *et al.*, 2011).

در منابع مختلف بر حسب نوع رقم مورد استفاده، گزارشات متفاوتی در مورد بهترین ریزنمونه وجود دارد. Ghasemi و همکاران (2012) از میان دو ریزنمونه پهنک برگ و دمبرگ، بیشترین تعداد و طول شاخساره‌های نابجا را در ریزنمونه پهنک به دست آوردند که با نتایج این پژوهش مطابقت نداشت چراکه این دو ریزنمونه تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نشان ندادند. Khan و همکاران (2007) ریزنمونه برگی را جهت تکثیر بنفسه آفریقایی مناسب اعلام کردند. در گزارشی Sunpui و Kanchanapoon (2002) دمبرگ را جهت کشت بافت این گیاه توصیه کردند. در پژوهش حاضر ریزنمونه‌های برگ، دمبرگ و دمبرگ بدون اپیدرم بیشترین درصد بازایی را در مقایسه با سایر ریزنمونه‌ها در هر سه رقم از خود نشان دادند. تفاوت موجود در پاسخ بین ریزنمونه‌های مختلف از نظر حجم پینه تولیدی و چگونگی اندام‌زایی می‌تواند انعکاس دهنده سطوح متفاوت هورمون‌های درونی گیاه در بافت‌های مختلف آن باشد که می‌تواند بر بروز واکنش نسبت به هورمون‌های خارجی تأثیرگذار

- ۱- متناسب با نوع رقم بفسنه آفریقایی، ریزنمونه مناسب جهت تکثیر درون شیشه‌ای متفاوت است.
- ۲- استفاده از ریزنمونه پهنک و دمیرگ در تمام ارقام مورد استفاده نتیجه مطلوبی در تکثیر درون شیشه‌ای دارد.
- ۳- در صورت وجود شرایط مطلوب (نور، دما و رطوبت) سرعت تکثیر قلمه برگی در شرایط برون شیشه بیشتر از سرعت تکثیر درون شیشه‌ای خواهد بود.
- ۴- در همه ارقام تعداد جوانه تولیدی در کشت درون شیشه‌ای به مراتب بیشتر از قلمه برگی است.

خود ادامه می‌دهند که با نتایج حاصل از این پژوهش مطابقت داشت. به طور کلی بر اساس نتایج حاصل از پژوهش حاضر، با توجه به رقم، ریزنمونه مناسب جهت تکثیر درون شیشه‌ای متفاوت خواهد بود. همچنین جهت تسريع در تکثیر گیاه، روش قلمه برگی با پروتکلی که در این آزمایش مورد استفاده قرار گرفته توصیه می‌گردد، چراکه در زمان کوتاه‌تر و با هزینه کمتر تعداد گیاه بیشتری حاصل می‌گردد، اما در صورت نیاز به دستیابی تعداد گیاه بیشتر، کشت درون شیشه‌ای توصیه می‌شود.

دستورالعمل ترویجی:

جدول ۱- مقایسه میانگین اثر رقم بر برخی خصوصیات مرغولوژیک سه رقم بفسنه آفریقایی در زمان تکثیر (با قلمه برگ) برون شیشه‌ای

Table 2. Mean comparison of interactive effect of cultivar on some morphological characteristics during the *in vivo* propagation of three cultivars of African violet (leaf cutting)

رقم	کلروفیل برگ برگ مادری	طول برگ گیاهچه	عرض برگ (mm)	تعداد برگ گیاهچه	تعداد تعداد گل	طول ریشه (mm)
^a ۳۱/۷۷ 'Cool Blue'	^a ۲۲/۹۵	^a ۲۰/۰۰	^a ۲۵/۰۰	^a ۸/۲۵	^a ۱۳/۴۲	^a ۱/۵۰
^b ۲۳/۴۷ 'Rondita'	^b ۱۲/۸۰	^{ab} ۱۸/۲۵	^a ۲۴/۷۵	^{ab} ۷/۰۰	^a ۱۳/۱۲	^a ۵/۰۰
^c ۷/۰۲ 'Knight Rider'	^c ۶/۰۲	^b ۱۶/۳۲	^b ۱۴/۱۲	^b ۱۸/۰۰	^b ۸/۰۰	^a ۱/۰۰

ستون‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک می‌باشند در سطح معنی‌داری پنج درصد آزمون دانکن با هم اختلاف معنی‌دار ندارند.

جدول ۲- مقایسه طول دوره کشت در شرایط درون و برون شیشه‌ای در سه رقم بفسنه آفریقایی

Table 2. Comparing the *in vitro* and *in vivo* cultue periods in three cultivars of African violet

‘Rondita’	کشت درون شیشه			کشت برون شیشه			طول دوره کشت
	‘Cool Blue’	‘Knight Rider’	‘Rondita’	‘Cool Blue’	‘Knight Rider’	‘Rondita’	
۷۰	۷۰	۹۰	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰	تعداد روز از کشت تا جوانه زنی
۴۰	۴۰	۴۰	۳۰	۴۰	۴۰	۴۰	تعداد روز از جوانه زنی تا انتقال
۷۰	۸۰	۱۰۰	۶۰	۷۰	۷۰	۷۰	تعداد روز از انتقال تا گلدهی
۱۸۰	۱۹۰	۲۲۰	۱۲۰	۱۴۰	۱۴۰	۱۴۰	مجموع طول دوره کشت (روز)

منابع

- Amiri, A., Taghizadeh, M., Shoor, M., Nemati, S.H., Tehranifar, A. (2014). Investigation of aspects of in vitro regeneration in African violet (*Saintpaulia ionantha* Wendl.) and its in vivo rooting. *Journal of Plant Production Technology*, 6(1), 121-131.
- Annadana, S., Rademaker, W., Ramanna, M., Udayakumar, M., de Jong, J. (2000). Response of stem explants to screening and explant source as a basis for methodical advancing of regeneration protocols for *Chrysanthemum*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 62, 47-55.
- Bilkey, P.C., Cocking, E.C. (1981). Increased plant vigor by *in vitro* propagation of *Saintpaulia ionantha* Wendl. from sub-epidermal tissue. *Scientia Horticulture*, 16, 643-644.
- Chen, J., Henny, R.J. (2009). Cultural Guidelines for Commercial Production of African Violets (*Saintpaulia ionantha*) ENH 1096. Environmental Horticulture Department, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida, USA, pp. 1-4.
- De Jong, J., van Wordragen, M.F., Rademaker, W. (1990). Early transformation events in *Dendranthema grandiflora*. In: Proceedings of EUCARPIA (Section Ornamentals): Integration of *in vitro* techniques in ornamental plant breeding, Wageningen, pp. 156-161.
- Eastwood, A., Bytebier, B., Tye, H., Tye, A., Robertson, A., Mauder, M. (1998). The conservation status of *Saintpaulia*. *Curtis's Botanical Magazine*, 21, 462-471.
- Ghasemi, Y., Nematzade, G.A., Omran, V.G., Dehestani, A., Hosseini, S. (2012). The effects of explant type and phytohormones on African violet (*Saintpaulia ionantha* H. Wendl.) micropropagation efficiency. *Biharean Biologist*, 6 (2), 73-76.
- Ghorbanzade, Z., Ahmadabadi, M. (2014). An Improved System for Rapid in vitro Regeneration of *Saintpaulia ionantha*. *Plant Tissue Culture and Biotechnology*, 24(1), 37-45.
- Grout, B.W.W. (1990). African violet. In: Ammirato, P.V., Evans, D.A., Sharp, W.R., Bajaj, Y.P.S. (Eds.), *Handbook of Plant Cell Culture* vol. 5. McGraw-Hill, Inc., pp. 181-205.
- Harney, P.M., Knap, A. (1979). A technique for the *in vitro* propagation of African violets using petioles. *Canadian Journal of Plant Science*, 59, 263-266.
- Hoshino, Y., Nakano, M., Mii, M. (1995). Plant regeneration from cell suspension-derived protoplasts of *Saintpaulia ionantha* Wendl. *Plant Cell Reports*, 14, 341-344.
- IUCN (2014). SSC East African Plants Red List Authority. *Saintpaulia ionantha*. The IUCN Red List of Threatened Species 2014: e.T158153A763135 (<http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2014-1.RLTS.T158153A763135.en>), last accessed: 30 March, 2017).
- Kaul, V., Miller, R.B., Hutchinson, J.F., Richards, D. (1990). Shoot regeneration from stem and leaf explants of *Dendranthema grandiflora* Tzvelev (syn. *Chrysanthemum morifolium* Ramat.). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 21, 21-30.
- Khan, S., Naseeb, S., Ali, K. (2007). Callus induction, plant regeneration and acclimatization of African violet (*Saintpaulia ionatha*) using leaves as explants. *Pakistan Journal of Botany*, 39 (4), 1263-1268.
- Kukulczanka, K., Suszyńska, G. (1972). Regenerative properties of *Saintpaulia ionantha* Wendl. leaves cultured *in vitro*. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, 41, 503-510.
- Lee, J.W. (1992). The Effect of Thidiazuron on In Vitro Culture of *Saintpaulia*. (MS thesis). Chonbuk National University, Chonju, Korea, pp. 1-24.
- Lee, Y.H. (1986). Effects of BAP pretreatments and media constituents on organogenesis *in vitro* from leaf segments of *Saintpaulia ionantha* Wendl. (MS thesis). Kyungsan National University, Jinju, Korea, pp. 1-39.
- Len, L.H.C., Meng, L.S. (1982). Micropropagation of *Saintpaulia* at Singapore Botanic Garden. *Gardens' Bulletin Singapore*, 35, 73-81.
- Mansseri-Lamrioui, A., Louerguioui, A., Bonaly, J., Yakoub-Bougdal, S. (2011). Proliferation and rooting of wild cherry, The influence of cytokinin and auxin types and their concentration. *African Journal of Biotechnology*, 10(43), 8613-8624.
- 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 Horticulture*, 48, 285-292.
- Moore, H.E. (1957). African Violets, Gloxinias and their Relatives, a Guide to the Cultivated Gesneriads. The MacMillan Co., New York (323 pp.).
- Murashige, T., Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures.



- Physiologia Plantarum*, 15, 473-497.
- Pak, C.H., Kwack, B.H. (1987). Effect of Ca, Mg, myo-inositol and pectin on organogenesis of *Saintpaulia ionantha* Wendl. Cultured in vitro. *Journal of Korean Society of Horticultural Science*, 28, 255-268 (in Korean with English abstract).
- Shukla, M., Sullivan, J.A., Jain, S.M., Murch, S.J., Saxena, P.K. (2013). Micropropagation of African violet (*Saintpaulia ionantha* Wendl.). In: Lambardi, M., Ozudogru, E.A., Jain, S.M. (Eds.), *Protocols for Micropropagation of Selected Economically-Important Horticultural Plants, Methods in Molecular Biology*. Springer, New York, pp. 161-177.
- Smith, R.H., Norris, R.E. (1983). *In vitro* propagation of African violet chimeras. *HortScience*, 18(4), 436-437.
- So, I.S. (1983). Studies on the in vitro culture of *Saintpaulia ionantha* Wendl. - I. Effects of various combinations of growth regulators on organogenesis of *Saintpaulia ionantha* Wendl *Journal of Korean Society of Horticultural Science*, 24, 86-91 (in Korean with English abstract).
- Sunpui, W., Kanchanapoom, K. (2002). Plant regeneration from petiole and leaf of African violet (*Saintpaulia ionantha*) cultured *In vitro*. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 24(3), 257-264.
- Tatsuzawa, F., Hosokawa, M. (2016). Flower colors and their anthocyanins in *Saintpaulia* cultivars (Gesneriaceae). *The Horticulture Journal*, 85, 63-69.
- Teixeira da Silva, J.A., Dewir, Y.H., Wicaksono, A., Kher, M.M., Kim, H.H., Hosokawa, M., Zeng, S. (2016). Morphogenesis and developmental biology of African violet (*Saintpaulia ionantha* H. Wendl.). *Journal of Plant Development*, 23, 15-25.
- The Plant List (2017). *Saintpaulia*. <http://www.theplantlist.org/tpl1.1/search?q=Saintpaulia> (last accessed: 30 March, 2017).
- Torres, K. (1988). *In vitro* Propagation of African Violets. pp. 80-85. In: Torres, K. (ed.), *Tissue Culture Techniques for Horticultural Crops*. Van Nostrand Reinhold Co.
- USDA (2015). Floriculture crops: 2014 summary. 59 pp. <http://usda.mannlib.cornell.edu/usda/current/FlorCrop/FlorCrop-06-04-2015.pdf> (last accessed: 30 March, 2017).
- USDA, 2016. Floriculture crops: 2015 summary. 59 pp. <http://www.usda.gov/nass/PUBS/TODAYRPT/floran16.pdf> (last accessed: 30 March, 2017).
- Vazquez, A.M., Davey, M.R., Short, K.C. (1977). Organogenesis in culture of *Saintpaulia ionantha*. *Acta Horticulture*, 78, 249-258.
- Weatherhead, M.A., Grout, B.W.W., Short, K.C. (1982). Increased haploid production in *Saintpaulia ionantha* Wendl., by anther culture. *Scientia Horticulturae*, 17, 37-144.

Comparison of the *in vitro* and *in vivo* culture of three cultivars of African violet (*Saintpaulia ionantha* H. Wendi.)

Mahmoud Fatahi Faradonbe¹, Maryam Dehestani Ardakani^{1*}, Kazem Kamali Aliabad²

1. Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture & Natural Resources, Ardakan University, P.O. Box 184, Ardakan, Iran

2. Assistant Professor, Department of Soil Science, Faculty of Agriculture & Natural Resources, Yazd University, Yazd, I.R. Iran

 *mdehestani@ardakan.ac.ir

Abstract

African violet (*Saintpaulia ionantha* H. Wendi.) is an important ornamental plant due to its diverse colors and shapes. The present study was conducted to compare *in vitro* and *in vivo* propagation of this plant. In *in vitro* culture, effect of five types of explants (leaf blade, petiole, petiole without epiderm, whole inflorescence and flower without petals) in three cultivars ('Cool Blue', 'Rondita' and 'Knight Rider') on MS culture medium contained 0.1 mg/l NAA and 1 mg/l BA were investigated. In *in vivo* culture, leaf cuttings of three cultivars were cultured in wrapped plastic dishes contained 70% peat-moss and 30% perlite. Finally, length of propagation time and number of buds in both methods were investigated. Results showed that in each cultivar, type of suitable explants for propagation is different. In cv. 'Cool Blue' none of five explants did show significant difference in regeneration percentage, bud production and number of leaves. In cv. 'Rondita' leaf blade 91.66%, petiole 91.66% and petiole without epiderm 83.33% of explants and in cv. 'Knight Rider' leaf blade, whole inflorescence, flower without petals and petiole explants 100% of explants showed the highest regeneration percentage. By leaf cutting propagation method, cv. 'Cool Blue' showed the maximum (8.25) number of plantlets. Comparison of growing period length of *in vitro* and *in vivo* methods showed that in all the cultivars, period of culture to flowering time in *in vitro* culture method was longer (180 to 230 days) than *in vivo* culture (120 to 140 days). However, the number of produced buds in *in vitro* culture were significantly higher than *in vivo* culture.

Keywords: Proliferation, Explant, Leaf cutting, Flowering, Plantlet.