در
زراعت و باغبانی شماره ۷۳، زمستان ۱۳۸۵
پژوهش و سازندگی

اثر تنظیم‌کننده‌های رشد و نوع ریز نمونه درکالزایی و باززایی گیاه (*Anthurium andreanum* Var.Tropical)

• **محمد ابراهیم‌زاده،** عضو هیأت علمی دانشگاه آزاد اسلامی ورامین
• **حسین شاکر و • فرانسواز برنارد،** عضو هیات علمی‌دانشگاه شهید بهشتی
• **رمضانعلی خاوری‌نژاد،** عضو هیات علمی‌دانشگاه تربیت معلم

تاریخ دریافت: آبان ماه ۱۳۸۴ تاریخ پذیرش: خرداد ماه ۱۳۸۵

Email : ebrahimzadeh _ MD@yahoo.com

چکیده

گیاه *Anthurium andreanum* Var.Tropical از تیره آراسه یکی از زیباترین گلها در جهان می‌باشد. در گذشته این گیاه از طریق بذر و کاشت جوانه‌های نابجای ریشه‌دار تکثیر می‌شده است لیکن امروزه به دلایل متعدد این روش‌ها منسوخ شده است. واریته تروپیکال با داشتن گل‌هایی با اسپات قرمز درخشان همواره مورد توجه بوده است . در این تحقیق کشت درون شیشه‌ای ریز نمونه‌های برگ مورد مطالعه قرار گرفت. آلودگی سطحی برگ‌ها با استفاده از پیش تیمار ppm ۴۰۰۰ بنومیل به مدت ۲۰ دقیقه و اتانول ۷۰ درصد و هیپوکلریت کلسیم ۱٪به‌ترتیب با زمان‌های ۱۵ ثانیه و ۲۰ دقیقه بر طرف گردید . قطعات پهنک از راس برگ و قسمت‌های دارای رگبرگ اصلی تهیه و جداگانه روی محیط‌های دارای دو هورمون سیتوکینینی Kin و BA در ترکیب با D- ۲,۴ در غلظت‌های مختلف کشت شدند. بیشترین حجم کالوس با استفاده از دو هورمون Kin (۴ mg/l) و D(۱mg/l)-۴و۲ به میزان ۳/۷۵ سانتیمتر مکعب در تاریکی بدست آمد. بیشترین تعداد باززایی جوانه‌های رویشی با متوسط ۱۹عدد بر بافت کالوس نیز در غلظت ۲ میلی گرم بر لیتر Kin و ۰/۲۵ میلی گرم بر لیتر IAA در روشنایی حاصل گردید.

کلمات کلیدی: کشت درون شیشه‌ای ، آنتوریوم ، تنظیم کننده‌های رشد، باززایی

Pajouhesh & Sazandegi No: 73 pp: 169-176

Effect of hormons and explant in callus induction and plant regeneration in tissue culture of *Anthurium andreanum* var. Tropical

By: M. Ebrahimzadeh,Ph.D Student of Science & Research Unit,Tehran,Iran, H. Shaker, and F. Bernard,Scientific Member,Biology Department,Shahid Beheshti University,Tehran, Iran.,R. Khavarinezhad,Scientific Member,Biology Department Tarbiat Moalem University,Tehran, Iran

Anthurium andreanum var. Tropical from araceae family is one of the most beautiful flowers of the world. This plant was increased by seeds and planting of adventitious bud in the past but today these methods are not useful any more. In this research *in vitro* culture of leaf explant has been studied. Infection of leaves surface controlled by pre-treatment of

www.SID.ir

Benomyl 4000ppm, for 20 minutes and treatment of alcohol 70% and sodium hypochlorite 1% for 15 seconds and 20 minutes respectively. Different parts of leaves have been chosen and were planted on the Pierik medium containing BA and Kin in presence of 2,4-D with various concentration. The most amount of callus produced in medium containing Kin (4 mg/l) and 2,4-D (1mg/l) in darkness. The highest number of plantlet over the callus resulted in Pierik medium with concentration of Kin (2 mg/l) and IAA (0.25 mg/l) in light condition.

Key words: Tissue culture, *Anthurium andreanum* Var.Tropical, Plant growth regulator, Regeneration

مقدمه

ارقـام مختلـف گونه‌های متفـاوت آنتوریوم به لحاظ داشـتن گل‌هـای بزرگ با رنگ‌های متنـوع از نظر اقتصـادی اهمیت زیادی دارند. واریته تروپیکال از فراوانترین ارقام کشت شده این گل در جهان می‌باشـد(۱۲). به‌دلیل نیاز روزافزون کشورمان به واردات این رقم از کشـورهای خارجی لزوم انجام این تحقیق ضروری به نظر می‌رسید. در گذشـته آنتوریوم‌ها معمولاً از طریق بذر و پاجوش تکثیرمی‌شدند. هر گیاه معمولاً در دوره زندگی خود به تعداد دفعات گلدهی می‌تواند مقادیر زیادی بذر تولید نماید. میوه‌های سته آنتوریوم حاوی بذرهای هسـتند که خواب نداشـته و می‌توانند بلافاصله کشـت و جوانه‌زنی نمایند ولی به‌دلیل تفرق صفات زیاد ناشی از کشت بذور ارزش تولید با این روش به شـدت کاهش یافته است. ازدیاد به‌طریق پاجوش نیز بدلیل سـرعت کم تکثیر و امکان آلوده شدن گیاه به عوامل میکروبی و ویروسـی عمـلاً اعتبار خود را بـرای تکثیر با این روش از دسـت داده اسـت. لذا از روش‌های ریـز ازدیادی درون شیشـه‌ای به‌عنوان جایگزین مطلوب در سال‌های اخیر استفاده می‌شود. در پژوهش‌های انجام شـده روی ریز ازدیادی ارقام مختلف آنتوریـوم، برگ به‌عنوان مطلوب‌ترین قطعه جدا کشت معرفی شده است. امروزه تحقیقاتی نیز به منظور تکثیر برخی از واریته‌ها از طریق اسـپات و اسـپادیکس در حال انجام می‌باشد. در این پژوهش از ریزنمونه‌های برگی برای شروع کشت استفاده شده است.

مواد و روش‌ها

برگ‌هـای واریته تروپیکال آنتوریوم پس از برداشـت از گیـاه مادر به آزمایشگاه منتقل و با آب به دقت شستشو شدند. سپس به مدت ۲۰ دقیقه در محلـول ۴۰۰۰ppm بنومیل به همراه چند قطره مایع ظرفشـویی قرار داده شـدند. پس از خارج نمودن از محلول پیش تیمـار به مدت ۱۵ ثانیه در الکل ۹۶ درصد قرار داده و بلا فاصله به محلول هیپوکلریت کلسـیم ۱٪ منتقل شـدند. پس از ۲۰دقیقه برگ‌ها از محلول خارج شـده و در شـرایط سترون ۳ بار با آب مقطر سترون شستشو شدند. در مرحله بعد حاشیه‌های آسـیب دیده برگ‌ها حذف شده و پس از تقسیم شدن به قطعات کوچک‌تر (حدود۱×۰/۵ سـانتی متـر) روی محیط‌های پایه Pierik حاوی سـاکارز به میزان ۳۰g/l و تنظیم کننده‌های رشـد شـامل BA , Kin و 2,4-D در نسـبت‌ها و غلظت‌های مختلف کشـت شـدند.pH محیط‌ها نیز روی ۵/۷ تنظیم شده بود. با اضافه نمودن آگار به میزان ۷ گرم درلیتر محیط‌ها جامد شـده و بوسـیله اتوکلاو در دمای ۱۲۱درجه سانتی گراد به مدت ۱۵دقیقه استریل شدند(جداول ۱و۲).

محیط‌های کشـت شده در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد در اتاق رشد در دو شـرایط تاریکی ممتد و دارای دوره نوری (۱۶ساعت روشنایی،۸ ساعت تاریکی) تحت تابش لامپ‌های فلور سـنت قـرار گرفتند. هر هفته باز بینی نمونه‌ها انجام شـده و در صورت آلودگی از اتاق رشد خارج شدند. به فرض طبیعی بودن داده‌ها نتایج حاصل با استفاده از نرم افزارSPSS مورد بررسی قرار گرفته، در هر مورد میانگین آماری و خطای میانگین هر نمونه محاسبه شـد. سپس به کمک آزمون تحلیل واریانس معنی دار بودن نتایج در سطح احتمال ۰/۰۵بررسـی شـد. برای تفسـیر نهایی نیز از آزمون‌های تکمیلی اسـتفاده گردید.آزمایش‌ها به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سـه تکـرار انجام گرفت.تیمارهـای مورد آزمایش نـوع و غلظت تنظیم کننده‌های رشـد، شـرایط محیطی و محـل تهیه ریز نمونه بودنـد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با اسـتفاده از نرم افزارMSTATC و مقایسـه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام گرفت.

در گام بعد از کال‌های تشـکیل شـده در بهترین محیط کالزایی برای مرحله اندام‌زایی اسـتفاده گردید.بدین منظور محیط‌های کشـت باززایی با ترکیب و غلظت تنظیم‌کننده‌های رشـد (جدول ۳) تهیه گردید. در تمامی محیط‌ها از سـاکارز بـه میزان ۳۰گرم در لیتر و pH=۵/۷ اسـتفاده شـده و نمونه‌ها در دو شـرایط تاریکی ممتد و فتوپریود ۱۶ سـاعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی در دمای ۲۵درجه سانتیگراد قرار گرفتند.

نتایج

تقریبـاً تمامی نمونه‌هـای برگی که بدون پیش تیمار بـا بنومیل برای سترون سازی کشت شده بودند، یک هفته پس از کشت آلوده شدند .

کمتریـن درصد آلودگـی از ریز نمونه‌هایی که در غلظـت ۴۰۰۰ppm بنومیل مرحله پیش سـترون سـازی را گذرانـده بودند مشـاهده گردید. استفاده از غلظت‌های بالاتر بنومیل بی تاثیر بود(نمودار ۱).

بر اسـاس نتایـج تجزیه واریانس، اثرسـطوح مختلـف Kin و 2,4-D همچنین BA و 2,4-D بر حجم و وزن‌تر کالوس‌های تشکیل شده در سطح

Archive of SID
www.SID.ir

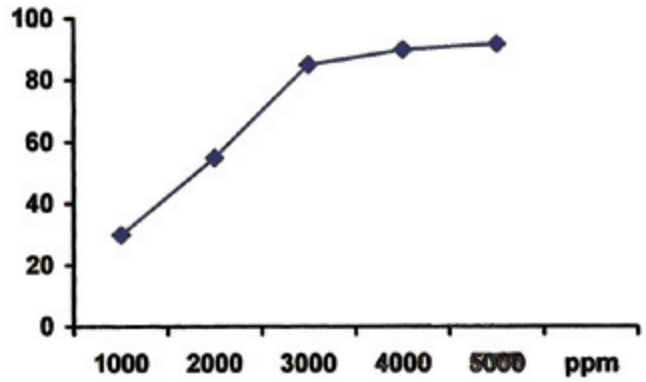
جدول-۱ غلظت و ترکیب تنظیم کننده‌های رشد در محیط کشت کالزایی(تمامی مقادیر ذکر شده در جدول بر حسب میلی‌گرم بر لیتر می‌باشد)

Kin \ ۴،۲و D-	۰	۰/۵	۱	۲	۴
۰	۰ B۱ ۰	۰/۵ B۲ ۰	۱ B۳ ۰	۲ B۴ ۰	۴ B۵ ۰
۰/۵	۰ B۶ ۰/۵	۰/۵ B۷ ۰/۵	۱ B۸ ۰/۵	۲ B۹ ۰/۵	۴ B۱۰ ۰/۵
۱	۰ B۱۱ ۱	۰/۵ B۱۲ ۱	۱ B۱۳ ۱	۲ B۱۴ ۱	۴ B۱۵ ۱
۲	۰ B۱۶ ۱	۰/۵ B۱۷ ۱	۱ B۱۳ ۱	۱ B۱۴ ۱	۱ B۱۵ ۱
۴	۰ B۲۱ 4	۰/۵ B۲۲ 4	۱ B۲۳ 4	۲ B۲۴ 4	۴ B۲۵ 4
۶	۱ B۲۶ ۶	۰/۵ B۲۷ ۶	۱ B۲۸ ۶	۲ B۲۹ ۶	۴ B۳۰ ۶

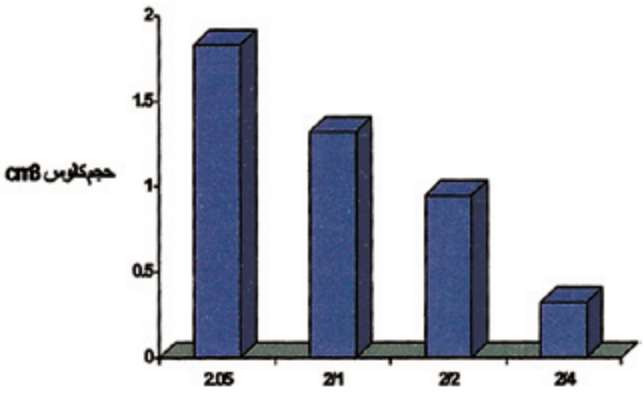
جدول شماره ۲- غلظت و ترکیب تنظیم کننده‌های رشد در محیط کشت کالزایی (مقادیر بر حسب میلی گرم در لیتر می‌باشد).

BAP \ ۴،۲ -D	۰	۰/۵	۱	۲	۴
۰	۰ A۱ ۶	۰/۵ A۲ ۶	۱ A۳ ۶	۲ A۴ ۶	۴ A۵ ۰
۰/۵	۰ A۲۶ ۰/۵	۰/۵ A۷ ۰/۵	۰ A۲۶ ۰/۵	۰ A۲۶ ۰/۵	۰ A۲۶ ۰/۵
۱	۰ A۱۱ ۱	۰ A۱۲ ۱	۰ A۱۳ ۱	۲ A۱۴ ۱	۰ A۱۵ ۱
۲	۰ A۱۶ ۲	۰ A۱۷ ۲	۰ A۱۸ ۲	۰ A۱۹ ۲	۰ A۲۰ ۲
۴	۰ A۲۱ ۶	۰ A۲۲ ۶	۰ A۲۳ ۶	۰ A۲۴ ۶	۰ A۲۵ ۶
۶	۰ A۲۶ ۶	۰/۵ A۲۷ ۶	۱ A۲۸ ۶	۲ A۲۹ ۶	۴ A۳۰ ۶

www.SID.ir



نمودار۱: درصد ریزنمونه‌های سالم پس از پیش تیمار با بنومیل



نمودار۱: تغییرات حجم کالوس درمحیط‌های دارای Kin ۲mg/l و غلظت‌های متغیر D- ۲,۴

۱٪ معنی‌دار بود. نتایج بدست آمده از کشت ریز نمونه (قطعات برگ) با توجه به داشتن رگبرگ اصلی در قطعه جدا کشت نشان داد که نوع ریز نمونه بر حجم و وزن ترکالوس اثر معنی‌داری درسطح۵٪ دارد به‌طوری‌که قطعات دارای رگبرگ اصلی قابلیت بسیار بیشتری در تولید کالوس از خود نشان دادند. اثرات متقابلBA و ۲,۴-D و نوع ریز نمونه در سطح ۵٪ اختلاف معنی‌دار داشت(جدول شماره ۱).

اثر سطوح مختلف BA بر صفات اندازه‌گیری شده

بررسی مقایسه میانگین حجم و وزن تر کالوس با آزمون دانکن نشان داد که بدون توجه به غلظت اکسین هر چه غلظت BA از ۰/۵ به سمت ۴ میلی‌گرم بر لیتر افزایش می‌یابد، شاخص‌های مورد سنجش از جمله دوام قطعه جدا کشت افزایش می‌یابد. بیشترین میزان آن که حکایت از تقسیم سلولی و تشکیل کالوس دارد. بیشترین کالزایی در محیط کشت کالزایی با غلظت ۴ میلی گرم بر لیتر BA بدست آمد. افزایش و یا کاهشBA باعث ممانعت ازانجام تقسیم سلولی و تولید کالوس می‌گردد.

اثر سطوح مختلف D- ۲,۴ در تعامل با BA

مشاهدات در بین تمامی تیمارها نشان داد تنها غلظتی از ۲,۴-D که موجب پیدایش تقسیمات سلولی می‌گردد، بدون توجه به غلظت سیتوکینین، مربوط به غلظت ۲ میلی گرم بر لیتر ۲,۴-Dمی‌باشد. در این سری از تیمارها بدلیل ناسازگاری هورمون سیتوکینینی BA با ۲,۴-D در القاء کالوس عملاً تنها در یک غلظت هورمونی (A۲۴) تورم سلولی کمی در حاشیه برگها مشاهده گردید. این تقسیمات حتی با واکشت بر محیط جدید ادامه نیافت.

اثر سطوح مختلف Kin

بررسی مقایسه حجم کالوس با آزمون دانکن نشان می‌دهد که حداکثر میزان تولید کالوس در تیمار B۲۳ (D۱mg/l -۴و۲ و Kin ۴mg/l) با میانگین ۳/۷۵سانتیمتر مکعب بدست می‌آید. با افزایش یا کاهش غلظت Kin از مقدار ۴ میلی گرم بر لیتر مقدار کالوس تشکیل شده کاهش نشان داد. در تیمارهای بدون تنظیم کننده رشد یا فقط دارای یک هورمون

شکل۱:حداکثر باززایی جوانه رویشی در محیط دارای۰/۲۵ mg/lIAAو Kin ۲ mg/l

شکل ۲: حداکثر رشد طولی در محیط دارای ۱mg/l وIAA و Kin ۱mg/l

Archive of SID
www.SID.ir

هیچ گونه تقسیم سلولی و تشکیل کالوسی مشاهده نگردید. کمترین حجم کالوس تشکیل شده در تیمار B۷ بدست آمد(جدول شماره۴).

اثر سطوح مختلف 2,4-D در تعامل با Kin

مقایسه میانگین حجم کالوس با آزمون دانکن نشان داد در هر تیماری که غلظت 2,4-D از غلظت Kin بیشتر باشد نه تنها از میزان کالوس تشکیل شده کاسته می‌گردد بلکه در مراحل بعدی نیز این کالوس‌ها توانایی اندام‌زایی را از دست می‌دهند. مقادیر متوسط کالوس در تیمار B۱۷ بدست آمد که معادل ۱/۸۳ سانتیمتر مکعب بود. در این غلظت مقدار هورمون 2,4-D در ترکیب ۰/۲۵ مقدار سیتوکنین می‌باشد. در محیط B۲۳ (D۱mg/l و Kin ۴mg/l) که مقدار Kin نسبت به محیط A۱۷ دو برابر شده است و همچنان غلظت 2,4-D به نسبت ۰/۲۵ غلظت Kin وجود دارد بیشترین حجم کالوس حاصل می‌شود، که در کلاس a قرار می‌گیرد. مقادیر ۲و۸ برابر Kin نسبت به 2,4-D هنگامی که غلظت Kin ۴ میلی گرم بر لیتر می‌باشد نیز مقادیر متوسطی از تولید کالوس یعنی ۲/۶۴ و ۲/۳۵ سانتیمتر مکعب را تولید می‌کند.

اثر نوع جدا کشت بر صفات اندازه‌گیری شده

مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که قطعات پهنک دارای رگبرگ اصلی با میانگین ۱/۷۳ سانتیمتر مکعب مقادیر بیشتری کالوس در مقایسه با قطعات بدون رگبرگ اصلی تولید نمودند.

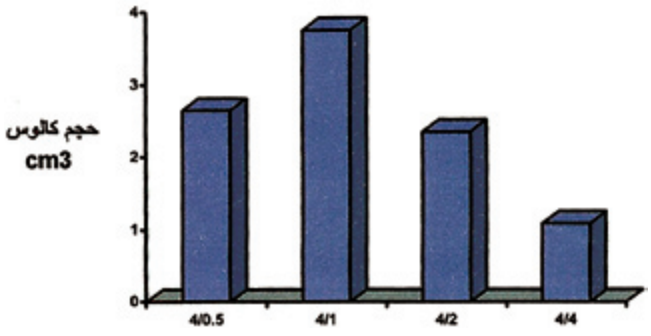
اثر تاریکی بر صفات اندازه‌گیری شده

پس از بررسی مشاهدات مشخص گردید که تاریکی اثر تعیین کننده بر فعالیت‌های تقسیم سلولی و تشکیل کالوس در ریزنمونه‌های کشت شده دارد به‌طوری‌که صرف‌نظر از نوع و غلظت هورمونی و نوع قطعه جداکشت تمامی نمونه‌هایی که درمعرض فتوپریود ۱۶ساعت روشنایی و۸ ساعت تاریکی قرار داشتند،کوچک‌ترین نشانه‌ای از تقسیم سلولی در آنها مشاهده نگردید.

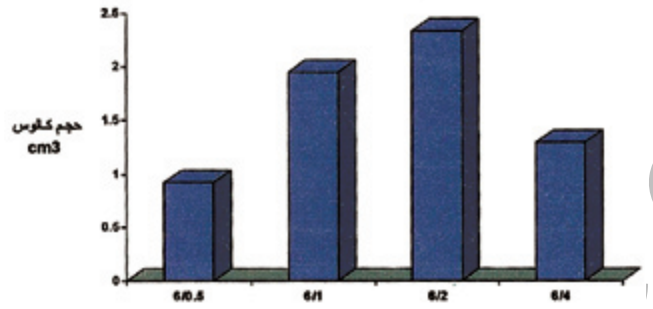
اثر سطوح مختلف Kin بر اندامزائی

پس از انتقال کالوس‌های بدست آمده از مرحله کال‌زایی به تیمارهای هورمونی جدول - ۳ نتایج زیر در رابطه با اثر Kin بر روند اندام‌زایی بدست آمد. در محیط‌های فاقد Kin یا دارای تنها IAA هیچ‌گونه نشانه‌ای از تمایز مشاهده نشد و رشد متوقف گردید. همچنین استفاده از Kin به تنهایی نیز اندام‌زایی را در پی نداشت و رشد کالوس‌های کشت شده با این تیمارها با شدت کمتری نسبت به محیط کالزایی ادامه یافت. بررسی مقایسه میانگین تعداد جوانه رویشی تشکیل شده با آزمون دانکن نشان می‌دهد که حداکثر تعداد جوانه در تیمار C۳۳(Kin۲mg/l) با میانگین ۱۹ عدد بدست می‌آید. با افزایش غلظت Kin تعداد جوانه رویشی کاهش یافت، این تاثیر در حجم زیتوده نیز مشاهده گردید. کمترین تعداد جوانه رویشی در غلظت ۱ میلی‌گرم بر لیتر Kin با تعداد ۱ جوانه رویشی بود. در غلظت‌های کمتر Kin هیچ‌گونه جوانه‌ای پدیدار نگردید.

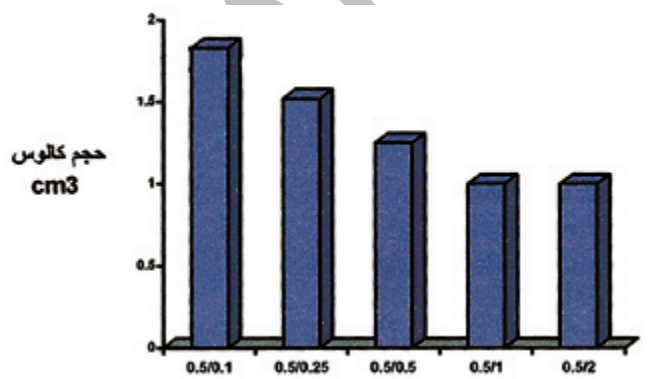
بیشترین حجم زیتوده در محیط C۳۳ با ۳/۲۴ سانتی متر مکعب بدست آمد. با افزایش و یا کاهش غلظت Kin حجم زیتوده نیز کاهش یافت.



نمودار ۲: تغییرات حجم کالوس در محیط‌های Kin ۴mg/I و غلظت‌های متغیر 2,4-D

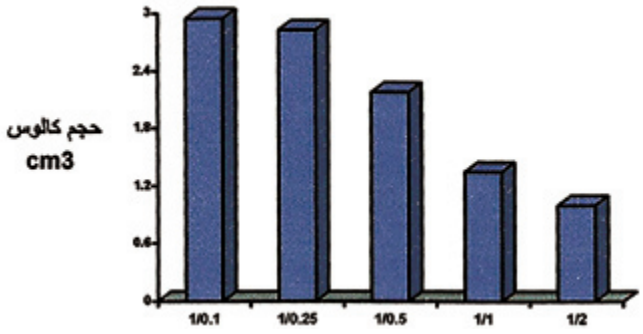


نمودار۳: تغییرات حجم کالوس درمحیط‌های Kin ۶mg/I و غلظت‌های متغیر 2,4-D

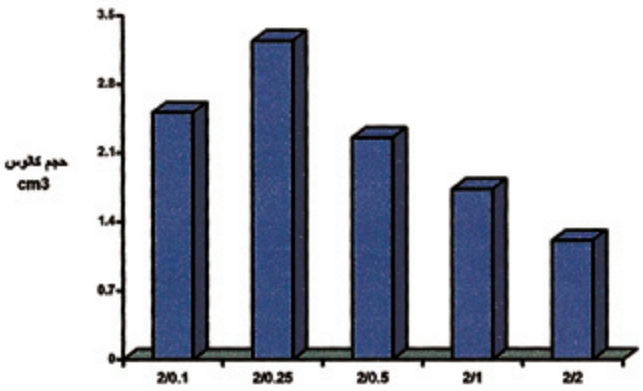


نمودار۴: تغییرات حجم زیتوده درمحیط‌های دارای kin ۲mg/I و غلظت‌های متغیرIAA

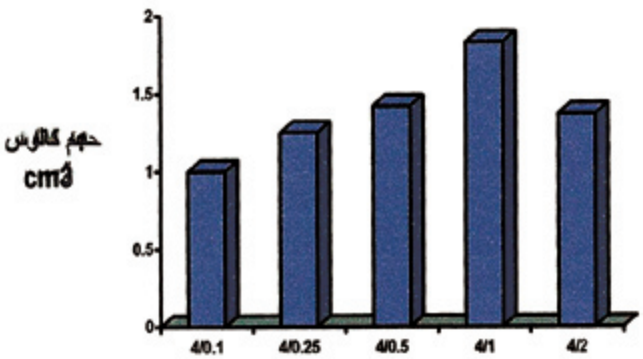
Archive of SID
www.SID.ir



نمودار۵ : تغییرات حجم زیتوده در محیط‌های Kin ۲mg/l و غلظت‌های متغیر IAA



نمودار۶: تغییرات حجم زیتوده در محیط‌های Kin ۲mg/l و غلظت‌های متغیر IAA



نمودار ۷: تغییرات حجم زیتوده در محیط‌های Kin ۴mg/l و غلظت‌های متغیر IAA

کمترین رشد حجمی زیتوده در غلظت ۴ میلی گرم بر لیتر Kin (C۴۲) حاصل شد. حداقل و حداکثر طول ریز ساقه نیز به ترتیب در غلظت ۰/ ۵ و ۱ میلی‌گرم بر لیتر بدست آمد.

اثر سطوح مختلف IAA بر اندام‌زایی

در مشاهدات مبتنی بر تیمارهای جدول ۳ مشخص گردید که IAA به تنهایی نمی‌تواند اندام‌زایی را در کالوس‌های واکشت شده القاء نماید. مقایسه میانگین تعداد جوانه با آزمون دانکن نشان داد که حداکثر تعداد جوانه در محیط دارای ۰/۲۵ میلی‌گرم بر لیتر IAA بدست می‌آید و با افزایش یا کاهش آن از تعداد جوانه رویشی به شدت کاسته می‌گردد. البته در غلظت Kin.۲mg/l و IAA ۰/۲۵mg/l اگر میزانIAa به ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر افزایش می‌یافت با کاسته شدن از تعداد جوانه‌های رویشی ، بر طول ریز ساقه افزوده می‌گردید. کمترین تعداد جوانه رویشی در غلظت ۲ میلی گرم در لیتر IAA بدست آمد و درغلظت ۰/۲۵ و ۱ میلی‌گرم بر لیتر به ترتیب حداقل و حداکثر طول ریز ساقه مشاهده گردید.

اثر نور بر اندام‌زایی

قطعات جداکشتی که در مرحله اندام‌زایی در تاریکی قرار گرفتند بدون در نظر گرفتن غلظت هورمونی و نوع ریز نمونه، هیچ‌گونه نشانه‌ای از اندام‌زایی نشان ندادند و در برخی تیمارها کال‌ها با شدت کمتر نسبت به محیط‌های کال‌زایی رشد نمودند و اندام‌زایی تنها در کالوس‌های تحت تاثیر نور صورت گرفت.

بحث و نتیجه‌گیری

هاگ‌های قارچی از جمله عوامل آلوده کننده کشت‌های بافت گیاهی می‌باشند. غلظت ۴۰۰۰ppm بنومیل با کاهش این آلودگی‌ها، حداقل بازدارندگی رشد را بر قطعات جدا کشت باعث می‌شود. در این پژوهش تیمار با بنومیل در ۲۰ دقیقه مناسب تشخیص داده شد. موفقیت در پیش تیمار بنومیل در کنار غلظت به حساسیت‌های مختلف عوامل آلوده کننده و میزبان به این قارچ کش, همچنین زمان اثر آن بستگی دارد(۷).

در قطعات جدا کشت برگی بدون توجه به نوع آن که از راس یا قاعده برگ باشد وجود یا عدم وجود رگبرگ اصلی عامل موثر در کال‌زایی می‌باشد. احتمالاً می‌توان محتوای هورمونی درون آوندها را در بروز این پدیده موثر دانست. همواره در کال‌زایی مجموع سطوح هورمونی درون زادو برون زاد در القاء این پدیده تأثیر گذارند که در نتایج بدان اشاره شده است(۹،۳). همچنین درمنابع متعددی به اثر تاریکی بر کال‌زایی آنتوریوم اشاره شده است که از آن جمله می‌توان به کارهای Pierik و همکاران و همچنین Pierek و Steegmans اشاره کرد(۱۱،۱۰). نور با تحریک سنتز کلروفیل عملاً مانع از تمایز زدایی سلول‌های برگی شده و بر پدیده کال‌زایی اثر ممانعت کننده دارد.

نتایج حاصل از تیمارهای مختلف BAP و ۲,۴-D در کال‌زایی قطعات برگی، اثر مثبت این دو هورمون را در تعامل با یکدیگر نشان نداد. اگر چه در بعضی از تیمارها قطعات نکروزه نشده و بقاءخود را تا مدت‌ها

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۳ : غلظت تنظیم کننده‌های رشد در محیط‌های اندام‌زایی

IAA / Kin	۰	۰/۱	۰/۲۵	۰/۵	۱	۲
۰	۰ C۱ ۰	۰/۱ C۲ ۰	۰/۲۵ C۳ ۰	۰/۵ C۴ ۰	۱ C۵ ۰	۲ C۶ ۰
۱	۰ C۷ ۰/۱	۰/۱ C۸ ۰/۱	۰/۲۵ C۹ ۰/۱	۰/۵ C۱۰ ۰/۱	۱ C۱۱ ۰/۱	۲ C۱۲ ۰/۱
۰/۲۵	۰ C۱۳ ۰/۲۵	۰/۱ C۱۴ ۰/۲۵	۰/۲۵ C۱۵ ۰/۲۵	۰/۵ C۱۶ ۰/۲۵	۱ C۱۷ ۰/۲۵	۲ C۱۸ ۰/۲۵
۰/۵	۰ C۱۹ ۰/۵	۰/۱ C۲۰ ۰/۵	۰/۲۵ C۲۱ ۰/۵	۰/۵ C۲۲ ۰/۵	۱ C۲۳ ۰/۵	۲ C۲۴ ۰/۵
۱	۰ C۲۵ ۱	۰/۱ C۲۶ ۱	۰/۲۵ C۲۷ ۱	۰/۵ C۲۸ ۱	۱ C۲۹ ۱	۲ C۳۰ ۱
۲	۰ C۳۱ ۲	۰/۱ C۳۲ ۲	۰/۲۵ C۳۳ ۲	۰/۵ C۳۴ ۲	۱ C۳۵ ۲	۲ C۳۶ ۲
۴	۰ C۳۷ ۴	۰/۱ C۳۸ ۴	۰/۲۵ C۳۹ ۴	۰/۵ C۴۰ ۴	۱ C۴۱ ۴	۲ C۴۲ ۴

تمامی مقادیر ذکر شده در جدول بر حسب میلی گرم بر لیتر می‌باشد

جدول شماره۴ :تجزیه واریانس داده‌های حاصل از تیمارهای هورمونی محیط‌های کالزایی

منابع تغییر / درجه آزادی / تنظیم کننده رشد Kin	مربع میانگین مربعات صفات اندازه‌گیری شده		
	وزن تر	حجم کالوس	
تنظیم کننده رشد D-۲,۴	۲	۵۸/۱۴**	۰/۳۴**
نوع ریز نمونه	۱	۱۳/۳۴*	۰/۱۳**
Kin × ۲,۴-D	۴	ns ۰۷/۱۵	۰/۰۷*
Kin × نوع ریز نمونه	۲	ns ۸۷/۱	ns ۰۷/۰
۲,۴-D نوع ریز نمونه	۲	ns ۵۲/۱	ns ۰۶/۰
Kin × ۲,۴-D نوع ریز نمونه	۴	ns ۷۳/۱	۰/۰۶
خطای آزمون	۳۶	۰/۶	۰/۰۰۸
کل	۵۳		
C.V ٪		۳۴/۵۳	۱۴/۳۵

** معنی‌دار بودن میانگین ها در سطح ۱درصد ×معنی دار بودن میانگین هادر سطح ۵درصد

nsغیرمعنا دار بودن میانگین ها

www.SID.ir

حفـظ کردند. ولی کالزایی موفق مشـاهده نگردید. همچنیـن کالوس‌های اندک تشـکیل شـده درمحیط‌هـای با غلظـت۴ میلی گرم بر لیتـر BAP و ۲ میلـی گـرم بر لیتـرD-۲,۴ در انتقال به محیط‌هـای اندام‌زایی جواب مثبـت ندادند. اثر منفی تعامل دو هورمـون D-۲,۴ با نتایج محققین کاملاً همسـو می‌باشـد(۱۴،۴). این محققین معتقدند اگر چه هورمـون D-۲,۴ درکالزایی آنتوریوم موثر اسـت ولی بر همکنش آن باBAP اثرمنفی به‌دنبال خواهد داشـت. از طرفی نتایج بدسـت آمده با اظهارات Teng و Teng مغایر می‌باشد(۱۳).

اثر Kin و D-۲,۴

Kin در مقایسـه با BAP به‌طور چشم‌گیری تقسیم سلول در قطعات برگی آنتوریوم را بهبود بخشـید. اثرات متفاوت BAP در تعامل با D-۲,۴ برای تشکیل کالوس ممکن اسـت به علت تفاوت‌های فیزیولوژیکی،مراحل رشدی،سـن برگ‌ها به عنوان ریز نمونه و همچنیـن متفاوت بودن ژنوتیپ باشـد. بنابرایـن در کال‌زایـی آنتوریـوم نمی‌توان عـدم سـازگاری BAP وسـازگاری Kin را بـه همـه گونه‌هـا و واریته‌ها تعمیـم داد. زیـرا میزان سـیتوکینین موجود در هر قسـمت از برگ و به‌طور کلی بافت‌های مختلف به عوامل متعددی بسـتگی دارد اثر مثبت Kin و D-۲,۴ در روند کال‌زایی آنتوریوم توسط(Kuehnle و Sugii)ذکر شده است که با نتایج حاصل از این پژوهش همسو می‌باشد(۶).

اثـر Kin و IAA بر اندام‌زایـی هر چند اثر Kin در تعامل با D-۲,۴ در روند کالزایی به اثبات رسـید، در قسمت دوم پژوهش نیز اثر مثبـت Kin در تعامل با IAA در اندام‌زایی مشـاهده گردید. عموماً در پدیـده اندام‌زایـی کالوس در بسـیاری از موارد. در کنـار غلظت نمک‌هـای معدنـی محیـط هورمون‌های بـه کار رفته نقش اساسـی دارند. به‌طوری‌که در بیشـتر مـوارد اندام‌زایی گاهی به‌صورت اتفاقی و بـدون برنامه‌ریزی و یا در حضور مقادیر کم هورمون و یا بدون آن رخ می‌دهـد. که می‌توان با تعدیـل غلظت هورمون‌هـای موجود در محیط به این مهم دسـت یافت. همچنین اشـاره شـده است که مواد معدنـی نیـز در رویان‌زایی دارای اهمیـت فوق‌العاده‌ای می‌باشـند. به‌طور مثال هر چند غلظت بالای نمک‌ها با بالا بردن فشـار اسـمزی محیط در بسـیاری از موارد مانع از رشـد می‌شـوند، ولی می‌توانند شاخه‌زایی را روی کالوس تحریک نمایند(۲، ۵، ۸).

آنچـه می‌توان در ترکیب تیمارهای هورمونـی مورد توجه خاص قرار داد اینسـت که هر چه غلظت هورمون IAA در تیمارهای مختلف افزایش می‌یابـد تمایز یابی جوانه رویشـی محدودتر می‌گردد. ایـن نتیجه با نظر Geier همسو می‌باشد(۳). هنگامی‌که نسبت Kin به IAA به۸ برابر برسد تمایز یابی بیشـتر به سـمت تشکیل جوانه رویشی پیش می‌رود، در حالی که وقتی این نسـت به دو برابر کاهش می‌یابد، حداکثر رشـد طولی را در جوانه‌ها القاء می‌کند.

منابع مورد استفاده

۱ - باقری،ع. م، صفاری. ۱۳۷۶؛ مبانی کشـت بافت‌های گیاهی. دانشگاه فردوسی مشهد.

۲ - خوشـخوی،م.۱۳۷۷؛ فنون کشت بافت گیاهی برای گیاهان باغبانی. انتشارات دانشگاه شیراز.

3-Geier,T.1986; Factors effecting plant regeneration from leaf segment of *Anthurium scherzerianum* (Araceae)cultivated *in vitro*. Plant-Cell-Tissue-Organ-Culture,6(2):115-125

4-Jaruwan,Ch.;K. Boonyuen 1985; Factors influencing shoot differentiation from callus of anthurium(*Anthurium andrianum*).cv. Duang samorn.Proceding of the 23rd national conference,p.311-316

5-Kuehnle,A.R.; F.C. Chen,and N. Sugii .1992; Somatic embrogenesis and plant regeneration in *Anthurium andrianum* hybrids.Plant cell reports, 11(9):438-442

6-Kuehnle,A.R.; N. Sugii .1991; Callus induction and plantlet regeneration in tissue culture of Hawaiian anthurium. Hortscience, 26(7):919-921

7-Kunisaki,J.1980; *In vitro* propagation of *Anthurium andrianum* lind. Hortscience, 15(4):508-509

8-Leffering,I.; J. Hoogstrate,and M. Braster .1976;Tissue culture of anthurium: Research into improved methods. Vakblad-Voor-de-Bloemiserij, 31:9-17.

9-Liu,C.M.; Z.H. Xu .1992; An efficient procedure for micropropagation of *Anthurium scherzerianum* schott.Chines Journal of Botany, 4(1):49-55

10-Pierik,RLM.; HHM. Steegmens .1976; Vegetative propagation of *Anthurium scherzerianum* schott through callus culthure.Scientia Horticulthure, 4(3):291-292

11-Pierik,RLM.; HHM. Steegmens,and JAJ. wan-der.Meys .1974; Plantlet formation in callus tissue of *Anthurium andrianum* lind. Scientia-Horticulthure, 2(2):193-198

12-Sunlarp,S.; P. Pranom .1983; Stady on tissue culthure of anthurium (*Anthurium andrianum* lind). Kasetsort Uni. Bangkok Research Report,p.123

13-Teng,W.; W.L. Teng .1997; Regenaration of *Anthurium adventitious* shoots using liquid or raft culthure. Plant-Cell-Tissue-and-Organ-Culthure, 49(2):153-156

14-Yu,K.J.; K.Y. Pack .1995; Micropropagation of Anthurium spp. Through shoot tip and callus culthure. Journal of The Korean Society for Horticulthural Science, 36(5):684-694

Archive of SID

www.SID.ir