

مطالعه ریز ازدیادی گل آنتوریوم اندرانوم از طریق کشت بافت

غلامرضا بخشی خانیکی^{۱*}، مینا قاسمی^۲، ابراهیم بیرامی زاده^۳

^۱استاد، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد پرند، تهران- ایران
^۲کارشناس ارشد، علوم گیاهی دانشگاه پیام نور واحد محلات
^۳مرئی پژوهشی، ایستگاه تحقیقات گل و گیاه محلات

چکیده

سابقه و هدف: آنتوریوم یک گیاه علفی چند ساله و مهم ترین جنس اقتصادی خانواده آراسه است. کشت بافت آنتوریوم به عنوان روش نهایی برای تکثیر سریع در کوتاه مدت پیشنهاد می شود.

مواد و روش ها: رقم مورد استفاده در این پژوهش، رقم صورتی بود. در آزمایش کالوس زایی ریز نمونه استفاده شده، قطعات برگ می باشد که پس از تقسیم به قطعات 1×1 سانتی متری در پتری دیش کشت شد. جهت ضد عفونی از هیپوکلریت سدیم ۱ درصد به مدت ۲۰ دقیقه استفاده شد. برای کالوس زایی محیط کشت پایه MS همراه با هورمون های IAA در ۳ سطح (۰/۱ تا ۰/۴ میلی گرم بر لیتر) و هورمون BA در ۴ سطح (۰/۲۵ تا ۱/۵ میلی گرم بر لیتر) همراه با ۸ گرم در لیتر آگار و ۳۰ گرم در لیتر ساکارز در شرایط تاریکی استفاده گردید. طرح آزمایشی مورد استفاده در این آزمایش، فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۸ تکرار می باشد. برای باززایی شاخساره از کالوس های بدست آمده، محیط کشت پایه MS و $1/2$ MS بدون هورمون مورد استفاده قرار گرفت. شاخساره ها در محیط ریشه زایی کشت شدند.

یافته ها: نتایج آزمایش نشان داد که تیمار هورمونی $0/2$ میلی گرم در لیتر IAA همراه با ۱ میلی گرم در لیتر BA بهترین جواب دهی را داشتند و وجود یا عدم وجود رگبرگ در ریز نمونه بر درصد کالوس زایی در این رقم بی تاثیر است. در مرحله باززایی شاخساره محیط کشت پایه $1/2$ MS بهترین گیاهچه ها را از لحاظ تعداد، طول و قوی بودن گیاهچه دارا می باشد. محیط پایه MS $1/2$ بدون تنظیم کننده رشد همراه با زغال فعال بهترین محیط ریشه زایی معرفی می گردد.

نتیجه گیری: همه شاخساره ها بعد از ۳۰ روز ریشه دار شدند و گیاهچه ها پس از کشت در بستر پرلایت پس از مراحل سازگاری به گلخانه تحقیقاتی منتقل شدند.

کلمات کلیدی: آنتوریوم، تنظیم کننده رشد، کالوس زایی، باززایی، ریشه زایی

مقدمه

هتروزیگوسی بالا باعث غیر یکنواختی گیاهان حاصل می شود. از این رو استفاده از روش کشت بافت گیاهی آنتوریوم، بهترین راه برای دستیابی به تعداد زیادی گیاه با ساختار ژنتیکی یکسان است که ضمن کاهش هزینه های تولید امکان برنامه ریزی از نظر زمان بندی و تعداد تولیدات را دارا می باشد (مرادی و همکاران، ۱۳۸۳).

Martin و همکاران در پژوهشی روی باززایی مستقیم شاخساره از ریز نمونه های برگ در ۲ رقم مختلف آنتوریوم مطالعه کردند که بهترین محیط کشت القاء مستقیم شاخساره محیط پایه ی MS $1/2$ همراه با $0/1$ μM IAA، $0/4$ μM kin بود. بهترین محیط پر آوری شاخساره محیطی

آنتوریوم بومی مناطق گرمسیری کارائیب و آمریکای مرکزی و جنوبی است و با حدود ۱۰۰۰ گونه بزرگترین جنس خانواده آراسه (Araceae) به شمار می آید. امروزه آنتوریوم به دلیل ماندگاری، زیبایی و تنوع رنگ از اهمیت خاصی برخوردار است. استفاده از روش های سنتی غیر جنسی وقت گیر و کم بازده بوده و تکثیر جنسی این گیاه نیز به واسطه دگرگرده افشانی و

آدرس نویسنده مسئول: گروه زیست شناسی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد پرند
Email: bakhshi@pnu.ac.ir
تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۰/۰۴/۰۴
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۰۷/۰۹

در محیط پایه ی Nitsh همراه با هورمون های ۱ میلی گرم در لیتر BA و ۰/۱ میلی گرم در لیتر 2,4-D با کاهش غلظت نیترات سدیم به ۲۰۰ میلی گرم در لیتر سریع ترین جواب دهی را داشت. همچنین باززایی شاخساره در محیط ۰/۵ میلی گرم در لیتر BA و غلظت ۷۲۰ میلی گرم در لیتر نیترات سدیم بسیار مطلوب بود و محیط ریشه زایی شاخساره ها، محیط Nitsh همراه با ۱ میلی گرم در لیتر IBA بود که حضور ۰/۰۴٪ زغال فعال در این محیط کشت نقش به سزایی در میزان ریشه دهی داشت (Puchooa., 2005).

Nhut و همکاران طی پژوهشی روی تاثیر ژنوتیپ بر القاء کالوس از ریزنمونه برگ و همچنین باززایی و ریشه زایی ۱۰ رقم آنتوریوم مطالعه کردند و نشان دادند که اثر ژنوتیپ در کالوس زایی موثر است، اما در باززایی و ریشه زایی نقش چندانی ندارد. محیط کشت پایه MS همراه با ۱ میلی گرم در لیتر BA و ۰/۰۸ میلی گرم در لیتر 2,4-D محیط مناسبی جهت القاء کالوس زایی معرفی کردند. بهترین محیط کشت باززایی شاخساره در این آزمایش، محیط کشت MS ۱/۲ بود که نیترات آمونیوم آن ۰/۲۰۶ گرم در لیتر همراه با ۱ میلی گرم در لیتر BA بود و محیط کشت MS ۱/۴ با ۱ گرم در لیتر زغال فعال بدون تنظیم کننده ی رشد را به عنوان بهترین محیط کشت ریشه زایی معرفی کردند (Nhut et al., 2006).

Bejoy و همکاران روی باززایی آنتوریوم از کشت برگ مطالعه کردند. بهترین محیط با بیشترین درصد کالوس زایی محیط MS ۱/۲ همراه با هورمون ۱ میلی گرم در لیتر BA و ۰/۵ میلی گرم در لیتر 2,4-D بود. در این بررسی برگ های سبز رنگ نسبت به برگ های قهوه ای برخلاف سایر مقالات جواب دهی بهتری نشان دادند. همچنین وجود رگبرگ در ریز نمونه به کالوس زایی بیشتر کمک شایانی می کند (Bejoy et al., 2008). بیرامی زاده و همکاران روی اندام زایی و جنین زایی Anthurium andraenum رقم Tera مطالعاتی انجام دادند که بهترین محیط برای اندام زایی در رقم مذکور محیط MS ۱/۲ همراه با ۱ میلی گرم در لیتر BA و ۰/۰۸ میلی گرم در لیتر 2,4-D بود و محیط MS بدون تنظیم کننده ی رشد به عنوان بهترین محیط باززایی

بود که غلظت BA در آن به ۰/۴۴ μM کاهش داده شد. همچنین محیط MS ۱/۲ کشت همراه با ۰/۵۴ μM NAA و ۰/۹۳ μM Kin را به عنوان محیط ریشه زایی مطلوب معرفی کردند (Martin et al., 2003).

Te-chato و همکاران طی پژوهشی اثر رقم، نوع ریز نمونه، محیط کشت و نقش ایجاد خراش در ریزنمونه ی برگ بر القاء کالوس زایی را در جنین زایی و اندام زایی آنتوریوم بررسی کردند. نتایج به این صورت است که اثر ژنوتیپ در کالوس زایی بسیار موثر است. از نظر نوع ریز نمونه بین گره، برگ و میان گره، میان گره، در هر سه رقم انتخاب شده بیشترین کالوس زایی را نشان داده است. اما در مورد محیط کشت پایه بین محیط های MMS, MS, WPM و NN (همراه با ۰/۵ میلی گرم در لیتر BA و ۰/۵ میلی گرم در لیتر TDZ) در ریز نمونه ی گره محیط کشت MMS و در ریز نمونه ی برگ، هر دو محیط MS و MMS بیشترین درصد کالوس زایی را داشتند. در مورد ریز نمونه های خراش داده شده و سالم ریز نمونه های خراش داده شده در هر سه رقم بیشترین درصد کالوس زایی را به خود اختصاص دادند (Techato et al., 2006).

Vargas و همکاران روی باززایی گیاه آنتوریوم مطالعه کردند. شروع تحقیقات با کشت بذرهای اسپادیکس در محیط کشت MS با ۲/۲ μM BA همراه بود. پس از جوانه زنی، ریز قلمه ی گیاهچه ها روی محیط MS همراه با ۴/۴ μM MBA و ۰/۰۵ μM NAA قرار گرفتند و در نهایت به طور متوسط از هر ریز نمونه ۳/۶ شاخساره بوجود آمد. گیاهچه ها در این محیط در پایه ساقه کالوس قرار گرفتند که از کالوس های منتقل شده به محیط حاوی ۸/۹ μM BA و ۲/۷ μM NAA پس از ۶ هفته به ازای هر سانتی متر مربع ۴۳/۸ عدد گیاهچه بوجود آمد (Vargas et al., 2004).

Puchooa روی سه واریته Anthurium andraenum مطالعه کرد و از طریق کشت برگ های جوان گیاهچه هایی به دست آورد. او گزارش کرد در هر سه واریته جدا از دوره زمانی القاء کالوس، اختلاف دیگری بین واریته ها دیده نشد. کالوس زایی

که بیشترین تعداد شاخساره را در برداشت معرفی گردید. در مورد جنین زایی سوماتیکی بیشترین درصد جنین زایی در محیط MS 1/2 حاوی 0/33 میلی گرم در لیتر Kin و 3 میلی گرم در لیتر 2,4-D مشاهده شد. هدف از پژوهش حاضر بررسی اثر تنظیم کننده های رشد بر کالوس زایی و ریشه زایی رقم صورتی آنتوریوم آندرانوم می باشد.

مواد و روش ها

در این آزمایش از قطعات برگ های جوان گیاه *A. andreanum* رقم صورتی رشد یافته در شرایط هیدروپونیک به عنوان ریز نمونه استفاده گردید. جهت ضد عفونی برگ ها پس از اضافه کردن چند قطره مایع ظرفشویی به مدت 30 دقیقه در زیر جریان آب قرار گرفتند. نمونه های شسته شده در هیپوکلریت سدیم 1 درصد درون ظروف درب آبی به مدت 20 دقیقه غوطه ور شدند. سپس زیر دستگاه لامینار ایرفلو هیپوکلریت سدیم از درون ظرف تخلیه و نمونه ها سه بار با زمان بندی 5، 10 و 15 دقیقه با آب مقطر استریل شستشو گردید، محیط کشت پایه آزمایش کالوس زایی، محیط MS بود که همراه با هورمون های IAA در 3 سطح (0/1، 0/2 و 0/4 میلی گرم بر لیتر) و هورمون BA در 4 سطح (0/25، 0/5، 1 و 1/5 میلی گرم بر لیتر) مورد بررسی قرار گرفت. پس از تقسیم برگ ها به قطعات 1x1 cm، در هر پتری دیش 4 قطعه کشت شد. ریز نمونه های کشت شده بلافاصله به اطاقک رشد منتقل شدند. شرایط محیطی برای نگهداری ریز نمونه ها دمای

25±1 درجه سانتی گراد و رطوبت 50 درصد در شرایط تاریکی کامل بود. در این آزمایش درصد کالوس زایی و تاثیر وجود یا عدم وجود رگبرگ در کالوس زایی مورد بررسی قرار گرفت. آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی مورد استفاده قرار گرفت. ریز نمونه ها پس از 12 هفته تولید کالوس نمودند و این کالوس ها در زیر دستگاه لامینار ایرفلو از ریز نمونه برگ جدا و بر روی محیط های پایه شامل تیمارهای MS و MS 1/2 بدون تنظیم کننده ی رشد در شیشه مربایی قرار گرفتند. کالوس های کشت شده جهت باززایی در اطاق رشد با دمای 25±1 درجه سانتی گراد و در شرایط نوری 16 ساعت روشنایی و 8 ساعت تاریکی قرار گرفتند. در این آزمایش صفت تعداد شاخساره های باززایی شده در دو دوره زمانی 40 و 70 روز پس از کشت در هر تیمار مورد ارزیابی قرار گرفت. شاخساره های حاصل از باززایی شاخساره پس از رشد کافی (ارتفاع حدود 3 سانتی متر) به محیط ریشه زایی با تیمارهای ذکر شده در (جدول 1) منتقل شدند. محیط پایه برای همه ی تیمارهای ریشه زایی محیط MS 1/2 بود. شاخساره ها در مدت 30 روز ریشه دار شدند. در این آزمایش صفات تعداد ریشه، طول ریشه، ارتفاع گیاهچه و وضعیت گیاهچه به طور دقیق مورد ارزیابی قرار گرفت. در نهایت گیاهچه های ریشه دار شده به بستر پرلایت منتقل گردید.

جدول 1- تیمارهای ریشه زایی آنتوریوم آندرانوم رقم صورتی

تیمار	kin (1/mg)	NAA(1/mg)	IAA (1/mg)	زغال فعال (g/l)
T1 (شاهد)	-	-	-	-
T2	-	-	-	1
T3	-	-	0/2	-
T4	0/1	0/1	-	-
T5	0/2	0/1	-	-
T6	0/3	0/1	-	-

یافته ها

نتایج آزمایش نشان داد که تیمار هورمونی ۰/۲ میلی گرم در لیتر IAA همراه با ۱ میلی گرم در لیتر BA بهترین جواب دهی را داشتند و وجود یا عدم وجود رگبرگ در ریزنمونه بر درصد کالوس زایی در این رقم بی تاثیر است. در مرحله باززایی شاخساره محیط کشت پایه MS ۱/۲ بهترین گیاهچه ها را از لحاظ تعداد، طول و قوی بودن گیاهچه دارا می باشد. محیط پایه MS ۱/۲ بدون تنظیم کننده رشد همراه با زغال فعال بهترین محیط ریشه زایی معرفی می گردد. تنظیم کننده ی رشد IAA و BA طبق جدول تجزیه واریانس بر روی صفت درصد کالوس زایی معنی دار و در مورد صفت موقعیت ریز نمونه معنی دار نگردید (جدول ۲).

همچنین اثر متقابل IAA و BA بر روی صفت درصد کالوس زایی معنی دار شد و بر روی موقعیت ریزنمونه معنی دار نگردید. نتایج بدست آمده از کالوس زایی ریزنمونه ها، حاکی از معنی دار بودن اثر غلظت IAA در سطح ۰/۰۰۱ است (جدول ۲). همچنین مقایسات میانگین داده ها توسط آزمون دانکن انجام شد. بنابر نتایج بدست آمده از جدول مقایسه میانگین دانکن از بین سه غلظت استفاده شده IAA در این آزمایش غلظت ۰/۱ mg/l بیشترین درصد کالوس زایی (۵۵/۵۰ درصد) را نشان داده است. همان طور که در نمودار ۱ مشاهده می شود با افزایش غلظت IAA از ۰/۱ به ۰/۴ میلی گرم کالوس زایی کاهش می یابد.

جدول ۲- مطالعه ریزآزادپادی گل آنتوریوم آندرانوم از طریق کشت بافت

میانگین مربعات		درجه آزادی	منابع تغییرات
وجود رگبرگ در ریزنمونه	درصد کالوس زایی		
۰/۳۷۵ ^{ns}	۷۸۲۵/۰۷۳***	۲	IAA
۰/۱۳۹ ^{ns}	۳۰۸۸/۲۷۸***	۳	BA
۰/۰۱۴ ^{ns}	۳۲۵۸/۱۴۲***	۶	IAA×BA
۰/۲۷۱ ^{ns}	۳۷۸/۴۲۹	۸۴	اشتباه

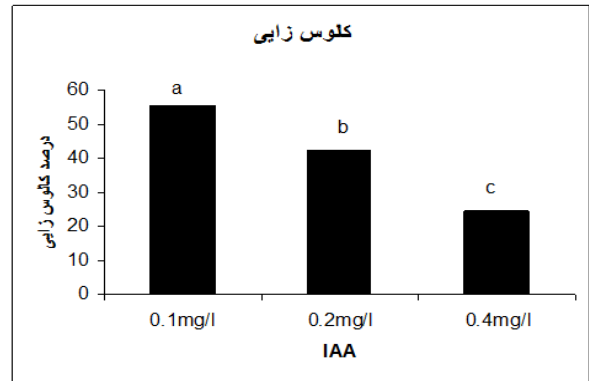
***معنی دار در سطح ۰/۰۰۱ ns غیر معنی دار

بحث

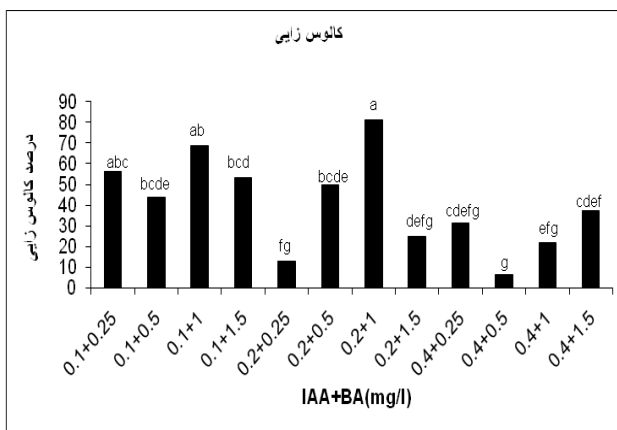
تاثیر ژنوتیپ بر القاء کالوس از ریزنمونه برگ و همچنین باززایی و ریشه زایی ۱۰ رقم آنتوریوم مطالعه کردند و نشان دادند که اثر ژنوتیپ در کالوس زایی موثر است اما در باززایی و ریشه زایی نقش چندانی ندارد. محیط کشت پایه MS همراه با ۱ میلی گرم در لیتر BA و ۰/۰۸ میلی گرم در لیتر 2,4-D محیط مناسبی جهت القاء کالوس زایی معرفی کردند (Nhut et al., 2006). بهترین محیط کشت باززایی شاخساره در این آزمایش، محیط کشت ۱/۲MS بود که نیترات آمونیوم آن ۰/۲۰۶ گرم در لیتر همراه با ۱ میلی گرم در لیتر BA بود و محیط کشت ۱/۴MS با ۱ گرم در لیتر زغال فعال بدون تنظیم کننده ی رشد را به عنوان بهترین محیط کشت ریشه زایی معرفی کردند.

Vargas و همکاران روی باززایی گیاه آنتوریوم مطالعه کردند. شروع تحقیقات با کشت بذرها ی اسپادیکس در محیط کشت MS با BA ۲/۲ μM همراه بود. پس از جوانه زنی ریزقلمه ی گیاهچه ها روی محیط MS همراه با BA ۴/۴ μM و NAA ۰/۰۵ μM قرار گرفتند و در نهایت به طور متوسط از هر ریزنمونه ۶/۳ شاخساره بوجود آمد (Vargas et al., 2004). گیاهچه ها در این محیط در پایه ساقه کالوس قرار گرفتند که از کالوس های منتقل شده به محیط حاوی BA ۹/۸ μM و NAA ۲/۷ μM پس از ۶ هفته به ازای هر سانتی متر مربع ۴۳/۸ عدد گیاهچه بوجود آمد. Nhut و همکاران طی پژوهشی روی

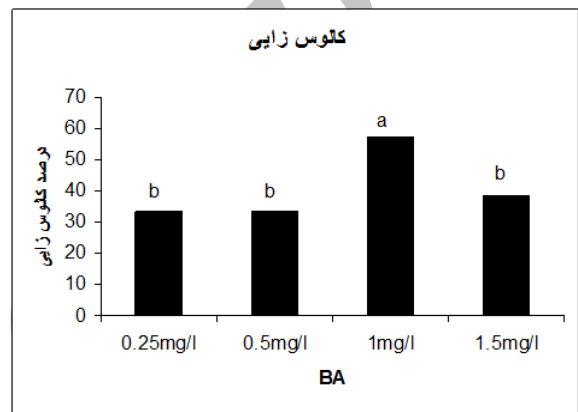
غلظت های مختلف IAA و BA بر روی درصد کالوس زایی در سطح ۰/۰۱ نشان می دهد. نتایج به دست آمده از جدول مقایسه میانگین دانکن نیز بیانگر آن است که تیمار محتوی ۰/۲ mg/l IAA و ۱ mg/l BA بیشترین درصد کالوس زایی (۸۱/۲۵ درصد) را نشان می دهد و در این آزمایش بهترین تیمار جهت القاء کالوس زایی به شمار می آید. همچنین تیمار حاوی ۰/۱ mg/l IAA و ۱ mg/l BA نیز با ۶۸/۷۵ درصد کالوس زایی رتبه دوم را به خود اختصاص داده است (نمودار ۳).



نمودار ۱- اثر سطوح مختلف IAA بر درصد کالوس زایی ریزنمونه برگ آنتوریوم آندرانوم رقم صورتی.



نمودار ۳- اثر متقابل IAA و BA بر درصد کالوس زایی در ریزنمونه برگ آنتوریوم آندرانوم رقم صورتی.



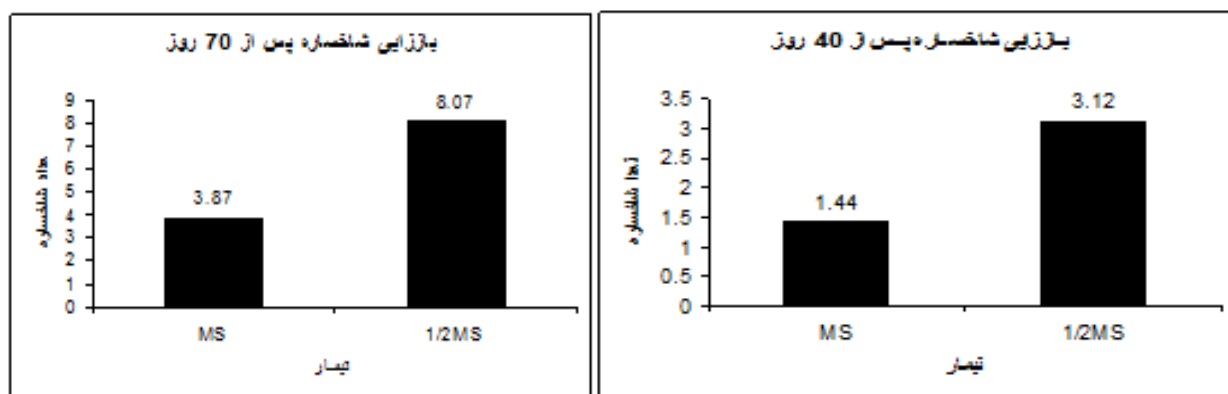
نمودار ۲- اثر سطوح مختلف BA بر درصد کالوس زایی ریزنمونه برگ آنتوریوم آندرانوم رقم صورتی.

جدول تجزیه واریانس (جدول ۲) اثر هورمون های IAA و BA و اثر متقابل آن ها بر موقعیت رگبرگ در ریز نمونه معنی دار نبوده است. این بیانگر آن است که وجود یا عدم وجود رگبرگ در ریز نمونه بر میزان کالوس زایی آنتوریوم بی تاثیر است که با سایر پژوهش ها مغایرت دارد. در این آزمایش اثر محیط های پایه MS و MS ۱/۲ بر روی صفت تعداد شاخساره های باززایی شده در دو دوره زمانی ۴۰ و ۷۰ روز پس از کشت در محیط باززایی، مورد بررسی و مطالعه قرار گرفت. بنا بر نتایج به دست آمده از جدول مقایسه میانگین دانکن تیمار MS پس از طی ۴۰ روز پس از کشت نسبت به تیمار MS ۱/۲ تعداد شاخساره ی کمتری را تولید کرد (نمودار ۴). این اختلاف بین دو تیمار پس از ۷۰ روز آشکارتر شد. به طوری که تعداد شاخساره های باززایی شده در تیمار MS ۱/۲ به بیش از

جدول تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان داد که اثر غلظت BA بر درصد کالوس زایی در سطح ۰/۰۱ معنی دار است. مقایسه میانگین با روش دانکن (نمودار ۲) که به مقایسه اثرات اصلی هورمون BA بدون در نظر گرفتن اثر IAA می پردازد، بیانگر آن است که بین چهار غلظت استفاده در این آزمایش از نظر درصد کالوس زایی اختلاف معنی داری وجود دارد به طوری که غلظت ۱ میلی گرم در لیتر BA، بالاترین درصد کالوس زایی (۳۳/۵۷ درصد) را به خود اختصاص داده است و کمترین غلظت BA (۰/۲۵ mg/l) با ۳۳/۴۱ درصد کمترین میزان کالوس زایی را ایجاد نمود. افزایش و کاهش غلظت BA از ۱ میلی گرم در لیتر باعث کاهش درصد کالوس زایی شد که با نتایج بدست آمده توسط سایر محققان مطابقت دارد. جدول تجزیه واریانس (جدول ۲) وجود اثر متقابل معنی داری را بین

ریشه، طول ریشه، ارتفاع گیاهچه و وضعیت گیاهچه مورد تجزیه و تحلیل از نظر آماری قرار گرفت. نتایج جدول تجزیه واریانس نشان می دهد که بین شش تیمار ریشه زایی از نظر صفات تعداد ریشه، طول ریشه، ارتفاع گیاهچه و وضعیت گیاهچه اختلاف معنی داری وجود دارد (جدول ۳).

دو برابر نسبت به تیمار محیط کشت کامل MS می رسد (نمودار ۴). در نتیجه تیمار MS ۱/۲ محیط کشت مطلوبی جهت باززایی معرفی می شود. که با نتایج بیرامی زاده و همکاران (سال ۲۰۰۸) مطابقت دارد. شایان ذکر است که محیط کشت پایه MS ۱/۲ جهت باززایی شاخساره توسط سایر پژوهشگران مورد استفاده قرار گرفته است.



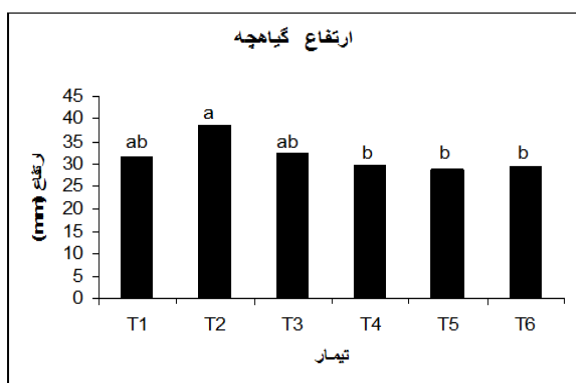
نمودار ۴- قایسه اثر تیمار بر تعداد شاخساره باززایی شده پس از ۴۰ و ۷۰ روز در آنتوریوم رقم صورتی.

جدول ۳- جدول تجزیه واریانس اثر تیمارهای آزمایش ریشه زایی در آنتوریوم رقم صورتی

میانگین مربعات				درجه آزادی	منابع تغییرات
وضعیت گیاهچه	ارتفاع گیاهچه	طول ریشه	تعداد ریشه		
۱۱/۳۴***	۲۰۱/۶۹**	۸۷۲/۲۲۳***	۷۸/۱۷۱***	۵	تیمار
۰/۴۰۸	۵۳/۶۵	۱۹/۰۲۱	۱/۴۰۸	۸۴	اشتباه

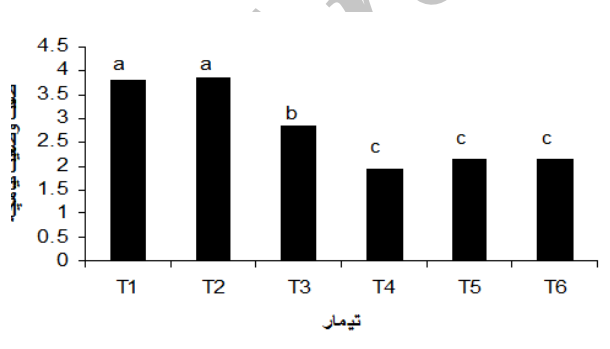
** معنی دار در سطح ۰/۰۱، *** معنی دار در سطح ۰/۰۰۱

۱/۲ MS بدون تنظیم کننده ی رشد محیط بسیار مطلوبی جهت ریشه زایی در شرایط *in vitro* محسوب می شود. با توجه به (نمودار ۷) مشاهده می شود که تیمار ۲ (MS ۱/۲) همراه با ۱ g/l (زغال فعال) بالاترین ارتفاع گیاهچه (۳۸/۶۶ mm) را به خود اختصاص داده است. همچنین تیمارهای ۱ (MS ۱/۲) بدون تنظیم کننده ی رشد) و ۳ (MS ۱/۲ همراه با ۰/۲ mg/l IAA) بعد از تیمار ۲ بالاترین ارتفاع را به ترتیب با ۳۱/۶۶ mm و ۳۲/۳۳ mm در بین سایر تیمارها دارا بودند.



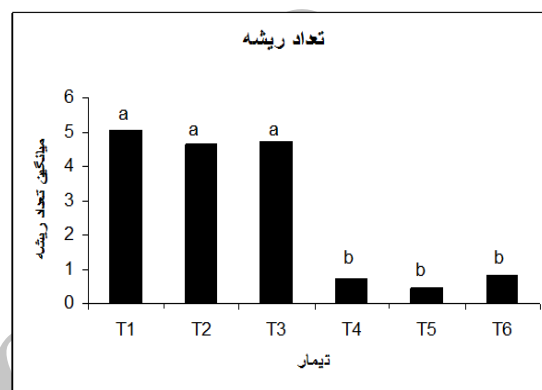
نمودار ۷- مقایسه اثر تیمارهای ریشه زایی بر صفت ارتفاع گیاهچه در آنتوریوم رقم صورتی.

همان طور که در نمودار شماره ۸ مشاهده می شود می توان به این موضوع اشاره کرد که گیاهچه های آنتوریوم در تیمار ۱ و ۲ در بهترین وضعیت (رشد کافی و قوی بودن گیاهچه) می باشند. اگر چه در تیمار ۳ نیز وضعیت مطلوبی دیده می شود.



نمودار ۸- مقایسه اثر تیمارهای ریشه زایی بر صفت وضعیت گیاهچه در آنتوریوم رقم صورتی.

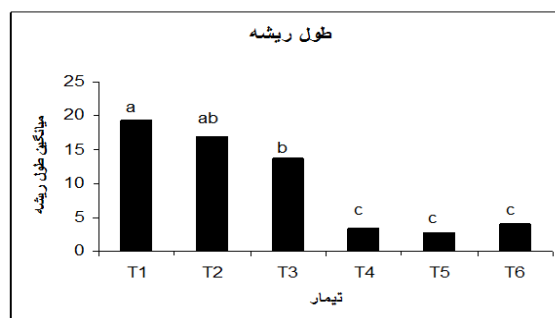
نمودار ۵ نشان می دهد که تیمارهای ۱ (MS ۱/۲ بدون تنظیم کننده ی رشد)، ۲ (MS ۱/۲ همراه با ۱ g/l (زغال فعال) و ۳ (MS ۱/۲ همراه با ۰/۲ mg/l IAA) به ترتیب با ۴/۶۶۷، ۵/۰۶۷ و ۴/۷۳۳ عدد بیشترین تعداد ریشه را در بین سایر تیمارها نشان داده اند و می توان نتیجه گرفت که استفاده از ترکیب دو هورمون NAA و Kin جواب دهی مطلوبی به همراه نداشته است که با نتایج Martin و همکاران مغایرت داشت.



نمودار ۵- اثر تیمارهای ریشه زایی از نظر صفت تعداد ریشه در آنتوریوم رقم صورتی.

اثر تیمارهای ریشه زایی بر صفت طول ریشه

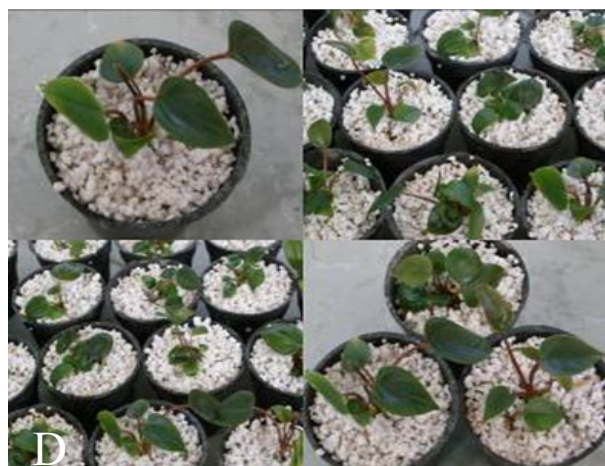
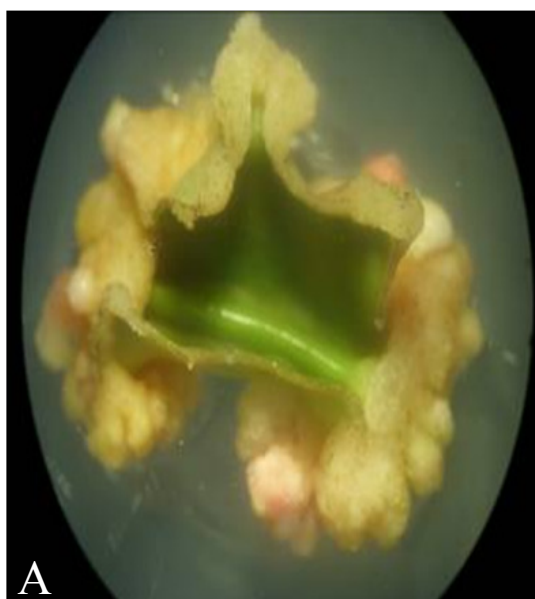
با توجه به نمودار شماره ۶، تیمار ۱ (MS ۱/۲ بدون تنظیم کننده ی رشد) بیشترین طول ریشه (۱۹/۴۰ mm) را به خود اختصاص داده است. این در حالی است که تیمار ۲ (MS ۱/۲ همراه با ۱ g/l (زغال فعال) نیز از نظر طول بعد از تیمار ۱ بالاترین طول ریشه (۱۷/۰۰ mm) را داراست. در مجموع می توان نتیجه گرفت که در بررسی این صفت محیط کشت



نمودار ۶- مقایسه اثر تیمارهای ریشه زایی بر صفت طول ریشه در آنتوریوم رقم صورتی.

پایه MS ۱/۲ تعیین گردید. همچنین نتایج آزمایش ریشه زایی نشان می دهد که تیمار حاوی IAA ۰/۲ mg/l و BA ۱ mg/l بهترین تیمار هورمونی معرفی می شود و وجود یا عدم وجود رگبرگ بر میزان کالوس زایی تاثیری نداشته است. در آزمایش باززایی، بهترین محیط کشت پایه برای باززایی کالوس های حاصل از آزمایش کالوس زایی محیط

به طور کلی نتایج حاصل از آزمایش کالوس زایی نشان می دهد که تیمار حاوی IAA ۰/۲ mg/l و BA ۱ mg/l بهترین تیمار هورمونی معرفی می شود و وجود یا عدم وجود رگبرگ بر میزان کالوس زایی تاثیری نداشته است. در آزمایش باززایی، بهترین محیط کشت پایه برای باززایی کالوس های حاصل از آزمایش کالوس زایی محیط



شکل ۱- A- الفاء کالوس از ریزنمونه برگ در تیمار حاوی 1mg/l BA و 2mg/l IAA. شاخساره های باززایی شده در محیط باززایی شاخساره در آنتوریوم رقم صورتی C. مقایسه شش تیمار ریشه زایی در آنتوریوم رقم صورتی D- مرحله سازگاری گیاهچه های آنتوریوم رقم صورتی با محیط برون شیشه ای.

منابع

- مرادی پ ب، واعظ لیواری و، بررسی تکثیر و تولید آنتوریوم آندرانوم از طریق سیستم کشت بافت، اولین سمینار ملی گل های شاخه بریده ایران، ۱۳۸۳.
- ابراهیم زاده م، شاکر ح، برنارد ف، خاوری نژاد ر. اثر تنظیم کننده های رشد و نوع ریزنمونه در کالزایی و باززایی گیاه (*Var. tropical Anthurium andreaeanum*). پژوهش و سازندگی، ۱۳۸۵؛ شماره ۷۳: ۳۴-۳۸.
- بیرامی زاده ا، آزادی پ. بررسی اثر تنظیم کننده های رشد بر شاخساره زایی. پژوهش و سازندگی، ۱۳۸۶؛ شماره ۷۶: ۶۳-۷۰.
- Bejoy M, Sumitha VR and Anish NP. Foliar regeneration in *Anthurium andraeanum* Hort. cv. Agnihothri. *Biotechnology*, 2008; 7(1): 134-138.
- Beyramizadeh E, Azadi P and Mii M. Optimization of factors affecting organogenesis and somatic embryogenesis of *Anthurium andraeanum* Lind. *Compendium of Propagation of ornamental plants*, 2008; 198-203.
- Geier T, *Anthurium*. In: Ammirato PV, Evahns DA, Sharp WR, Bajaj XPS (eds) *Handbook of plant cell and tissue culture Vo15. Ornamental species*, 1990; Ms Graw- Hill, New York.
- Kuehnle AR and Sugii N. Callus induction and plantlet regeneration in tissue cultures of Hawaiian *Anthurium*. *Hort Science*, 1991; 26: 919-921.
- Kunisaki JT. *In vitro* propagation of *Anthurium andraeanum* Lind. *Hort science* 1980; 15(4): 508-509.
- Martin KP, Joseph D, Madssery J and Philip VY. Direct shoot regeneration from lamina explant of two commercial cut flower, cultivars of *Anthurium andraeanum* Lind. *Hort Biol Plant*, 1993; 39:500-504.
- Nhut DT, Duy NV, Khue CD, Khiem DV and Vinch DN. Impact of *Anthurium* SPP. Genotype on callus induction driven from leaf explants, and root regeneration capacity from callus. *J App Hort*, 2006; 8(2): 135-137.
- Puchooa D *In vitro* mutation breeding of *Anthurium* by Gamma radiation. *Inter J Agri and Biotech*, 2005; 9(2): 130-136.
- Puchooa D. and Sookun D. Induced mutation and *in vitro* culture of *Anthurium andraeanum*. *Food and Agricul Res Council*, 2003; 12: 17-27.
- Te-chato S, Susanon T and Sontikun Y. Cultivar explant type and culture medium fluencing embryogenesis and organogenegenesis in *Anthurium*. *Organic Biochem*, 2004; 28(4):717-22.
- Vargas T E, Mejias A, Oropeza M and Garcia E. Plant regeneration of *Anthurium andraeanum* cv Rubrun. *Electronic J Biotech*, 2004; 7:285-289.

Study of Micropropagation of Anthurium Andreanum Using Tissue Culture

Bakhshi Khaniki G^{1*}, Ghasemi M², Bairamizadeh E³

¹*Department of Biology, Faculty of Sciences, Islamic Azad University, Parand Branch, Tehran, Iran*

²*Mahallat Payam e Noor University, Markazi, Iran*

³*Mahallat Research Station of plant and flower, Markazi, Iran*

Abstract

Aim and Background. Anthurium andreanum is a perennial herbaceous plant, and an economically important genus of Araceae. Tissue culture of Anthurium andreanum offers an alternative tool for rapid multiplication in a short period.

Materials and Methods. Leaf plate explants of pink cultivar were used. The leaves were cut into 1×1 cm sections. Segments of leaf were sterilized with 1% NaClO for 20 minutes. Explants were cultured on MS medium fortified with IAA (0.1- 0.4 mg/l) and BA (0.25 -1.5 mg/l), 30 g/l sucrose and 8 g/l Agar for callus induction in dark conditions. The experiment was conducted as a completely randomized design (CRD) with factorial arrangement and 8 replications. Callus was cultured on MS and ½ MS without hormones base media for shoot induction in light condition. The shoots transferred to rooting media after regeneration.

Results. Best result for callus induction was obtained from MS medium containing supplement of 0.2 mg/l IAA and 1 mg/l BA. Also the ½ MS media showed the best result for a number of shoots. The Best result for rooting in vitro was in ½ MS medium with 1g/l activated charcoal without hormones.

Conclusion. All shoots formed roots after 30 days and Plantlets were transferred into pot with perlite bed and grown in the greenhouse.

Key words. Anthurium, Growth regulator, Callus induction, regeneration, rooting

*Corresponding Author:

Address: Department of Biology, Faculty of Science, Islamic Azad University, Parand Branch.

Email: Bakhshi@pnu.ac.ir