بررسی پرآوری آنتوریوم گلدانی با استفاده از غلظت‌های مختلف بنزیل آدنین و نفتالن استیک اسید

رضوان قاسم نژاد [*۱]، هدایت زکی زاده [۲] ، یونس مهدوی فیکجور [۳]، رضا شیرزادیان خرم‌آباد [۴]
[*۱] دانشجوی کارشناسی ارشد علوم باغبانی گرایش گیاهان زینتی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان
[۲] استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان
[۳] دانشجوی دکتری علوم باغبانی گرایش گیاهان زینتی، دانشگاه آزاد واحد علوم تحقیقات تهران
[۴] استادیار گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان
*نویسنده مسئول: ghasemnezhadrezvan@yahoo.com

چکیده

در بسیاری از موارد به‌منظور افزایش میزان و یکنواختی تولید، به کشت درون شیشه‌ای به همراه یک پروتکل موفق جهت پرآوری نیاز می‌باشد. در این تحقیق اثرات غلظت‌های مختلف بنزیل آدنین (BA) و نفتالن استیک اسید (NAA) بر پرآوری گیاه آنتوریوم گلدانی رقم Solara در محیط کشت موراشیگ و اسکوگ (MS) مورد بررسی قرار گرفت. گیاه مادری که گیاهچه آن منشأ وارداتی داشته از گلخانه‌ای خریداری و به آزمایشگاه منتقل شد. پس از تیمار با قارچ‌کش از قطعات برگ و دمبرگ ریز نمونه تهیه شده و به‌منظور دستیابی به کالوس با سدیم هیپوکلریت استریل گردید و در محیط MS قرار داده شدند. در طول سه مرحله باز کشت برای به دست آوردن حداکثر ریز نمونه تنظیم‌کننده‌های رشد مختلف به محیط کشت اضافه شدند. در نهایت نمونه‌ها برای به حداقل رسیدن هورمون‌های داخلی به مدت یک ماه در محیط MS بدون تنظیم‌کننده رشد قرار داده شدند. برای به دست آوردن بهترین محیط کشت شاخه‌زایی از BA در پنج غلظت (۰، ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ میلی‌گرم در لیتر) و NAA در دو غلظت (۰ و ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر) در محیط MS استفاده شده است. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۱۰ تیمار و در هر تیمار ۳ تکرار و در هر تکرار با سه نمونه گیاهی انجام شد. ۹۰ روز بعد از اعمال تیمارها صفاتی چون تعداد شاخساره، طول شاخساره تشکیل شده و همچنین وزن تر مورد ارزیابی قرار گرفتند. بلندترین طول ساقه به ارتفاع ۲۰ میلی‌متر مربوط به تیمار محیط MS دارای $BA_{0.5}+NAA_{0.01}$ بود. بیشترین تعداد شاخساره (۱۴ عدد) مربوط به تیمار محیط MS دارای $BA_{1.5}+NAA_{0.01}$ بود و بیشترین وزن تر (۰/۷۹ گرم) نیز متعلق به تیمار $BA_{1.5}+NAA_{0.01}$ می‌باشد.

کلمات کلیدی: شاخه‌زایی، طول ساقه، کشت درون شیشه‌ای، محیط کشت، وزن تر

مقدمه

آنتوریوم با نام علمی *Anthurium andreanum* L. گیاهی تک‌لپه‌ای از خانواده آراسه یا شیپوری می‌باشد که دارای حدود ۱۵۰۰ گونه است. این گیاه در طبیعت به‌صورت اپی‌فیت روی درختان و صخره‌ها یا روی زمین و خاک می روید (Desai *et al.*, 2015). امروزه پرورش گل و گیاهان زینتی به‌عنوان یک حرفه در زیرمجموعه بخش کشاورزی جایگاه و ارزش خاصی دارد و آنتوریوم به‌عنوان یکی از زیباترین و گران‌ترین گل تولید شده در دنیا با داشتن ارقام متنوع و همچنین عملکرد بالا یکی از بهترین محصولات جهت سرمایه‌گذاری و جایگزینی به‌جای محصولات کم بازده و یا محصولاتی با تقاضای کم می‌باشد (Hassanpour Asil *et al.*, 2010). در سطح جهانی، میزان فروش این گیاه رتبه

دوم را بعد از ارکیده به خود اختصاص داده است به‌طوری‌که در سال ۲۰۱۳، بیش از ۲۰ میلیون گلدان آنتوریوم فقط در کشور چین به فروش رسید (Da Silva *et al*., 2015).

آنتوریوم را می‌توان با قلمه زدن، تقسیم بوته، کشت بذر و کشت بافت ازدیاد نمود. با توجه به اینکه برای تولید تجاری و صادراتی زمان و یکنواختی تولید اهمیت ویژه‌ای دارد، استفاده از روش‌های سنتی وقت‌گیر و کم بازده بوده و گیاهان تولید شده نیز از یکنواختی لازم برخوردار نخواهند بود ازاین‌رو استفاده از ریز ازدیادی آنتوریوم بهترین راه برای دست‌یابی به تعداد زیاد گیاه با ساختار ژنتیکی یکسان است، که کاهش هزینه‌های تولید و امکان تولید مداوم و سریع را در پی دارد (Bakhshi Khaniki *et al*., 2011).

اولین کشت بافت آنتوریوم توسط پیریک در سال ۱۹۷۴ انجام شد و امروزه برای کشت بافت این گیاه می‌توان از قسمت‌های مختلف گیاه از جمله برگ، دمبرگ، اسپات، اسپادیکس، بذر، جوانه جانبی و نوک ساقه استفاده کرد (Hamidah *et al*., 1997). Nhut و همکاران (2006) در پژوهشی بیان کردند که تأثیر ژنوتیپ بر القای کالوس مؤثر است، اما در باززایی و ریشه‌زایی نقش چندانی ندارد و محیط کشت MS ½ دارای ۱ میلی‌گرم در لیتر BA را بهترین محیط برای شاخه‌زایی معرفی کردند. خرمی راد و همکاران (۲۰۱۱) اعلام کردند که بیشترین تعداد گیاهچه در محیط MS دارای ۱ میلی‌گرم در لیتر BA و ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر NAA به دست می‌آید (Khorrami Raad, 2011).

هدف از بررسی حاضر استفاده از دو تنظیم‌کننده رشد BA و NAA در محیط کشت MS و نیز تعیین بهترین غلظت آن‌ها برای پرآوری آنتوریوم گلدانی رقم سولارا می‌باشد.

مواد و روش‌ها

گیاه آنتوریوم گلدانی رقم سولارا که گیاهچه آن منشأ وارداتی داشت از گلخانه‌ای در ورامین تهیه و به گلخانه‌ی تحقیقاتی منتقل گردید. پس از استقرار اولیه، جهت نابودی امراض قارچی گیاه با قارچ‌کش مورد تیمار قرار گرفت. سپس به‌منظور انتخاب و گندزدایی نمونه‌های برگ، ابتدا گیاه به آزمایشگاه منتقل گردید. در ادامه برگ‌های جوان به مدت ۱۵ دقیقه با آب شهری شستشو شده و سپس به مدت ۳۰ ثانیه در اتانول ۷۰٪ و ۱۰ دقیقه در سدیم هیپوکلریت ۱٪ ضدعفونی شدند. نمونه‌ها پس از ۴ بار آبکشی با آب مقطر استریل، به محیط کشت MS (Murashige and Skoog, 1962) منتقل شدند.

پس از ۱۰ روز در صورت عدم بروز آلودگی، نمونه‌ها به محیط MS دارای تنظیم‌کننده‌های رشد بنزیل آدنین (BA) و تو فور دی (2,4-D) به‌صورت ترکیب با هم، جهت کالوس زایی و باززایی منتقل شده و بعد از باززایی شاخساره از کالوس و کمی طویل‌تر شدن شاخساره‌ها، جهت افزایش ریز نمونه آن‌ها را قطع و به محیط جدید MS دارای تنظیم‌کننده‌های رشد BA با غلظت‌های (۰، ۰/۵، ۱ و ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر) و 2,4-D با غلظت‌های (۰، ۰/۱ و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر) به‌صورت ترکیب با هم، انتقال داده شد و باز کشت تا ۳ دوره ادامه یافت. سپس ریز نمونه‌ها قبل از اعمال تیمار برای شاخه‌زایی، برای صفر شدن یا به حداقل رسیدن هورمون‌های داخلی به مدت یک ماه به محیط MS بدون تنظیم‌کننده رشد منتقل شدند. بعد این مرحله جهت دست‌یابی به بهترین محیط کشت شاخه زایی از BA در ۵ غلظت (۰، ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ میلی‌گرم در لیتر) و NAA در ۲ غلظت (۰ و ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر) در محیط MS استفاده گشت و از شاخساره‌های درون شیشه‌ای نیز به‌عنوان ریز نمونه در این آزمایش استفاده شد.

این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۱۰ تیمار و در هر تیمار ۳ تکرار و هر تکرار نیز دارای ۳ ریز نمونه گیاهی، که شامل شاخساره‌های درون شیشه‌ای بود انجام گرفت. ۹۰ روز بعد از اعمال تیمار، صفاتی چون طول بلندترین شاخساره، تعداد شاخساره، و وزن تر شاخساره مورد ارزیابی قرار گرفتند. در نهایت اطلاعات بدست آمده با استفاده از نرم‌افزار SAS بر اساس طرح فاکتوریل در قالب کاملاً تصادفی تجزیه و تحلیل شد. مقایسه میانگین‌ها در سطح ۵٪ با استفاده از آزمون توکی انجام شد.

نتایج و بحث

تجزیه واریانس داده‌ها حاکی از آن است که اثرات ساده و همچنین اثرات متقابل بنزیل آدنین و نفتالن استیک اسید بر بلندترین طول شاخساره در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار می‌باشد (جدول ۱). همچنین مقایسات میانگین نشان داد که تیمار $BA_{0.5}+NAA_{0.01}$ دارای بلندترین طول شاخساره بود، درحالی‌که کوتاه‌ترین طول ساقه در تیمار $BA_1+NAA_{0.01}$ مشاهده شد (جدول ۲). در بررسی صورت گرفته توسط Rodrigues و همکاران (2017) جهت بررسی اثر غلظت‌های مختلف BA و NAA روی ارتفاع گیاه ارکیده (*Cattleya labiata*) مشخص شد که با افزایش غلظت NAA و کاهش غلظت BA ساقه‌ها بلندتر می‌شوند.

جدول ۱- جدول تجزیه واریانس مربوط به اثر تیمارهای بنزیل آدنین و نفتالن استیک اسید بر طول بلندترین شاخساره، تعداد شاخساره و وزن تر شاخساره گیاه آنتوریوم (*Anthurium andreanum* 'Solara') کشت شده در محیط MS.

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات		
		طول بلندترین شاخساره	تعداد شاخساره	وزن تر
بنزیل آدنین	۴	۰/۶۵۳ **	۱۱۵/۱ **	۰/۱۳۶ **
نفتالین استیک اسید	۱	۰/۹۱۵ **	۲/۹ ns	۰/۲۰۷ **
بنزیل آدنین × نفتالین استیک اسید	۴	۰/۳۹۲ **	۹/۸ **	۰/۰۳۷ **
خطای آزمایشی	۲۰	۰/۰۱۶	۰/۸	۰/۰۰۲
ضریب تغییرات	-	۱۴/۶۰	۱۳/۵۷	۱۴/۹۵

ns و ** به ترتیب عدم معنی‌داری و معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد.

جدول ۲- مقایسه میانگین مربوط به اثر تیمارهای بنزیل آدنین و نفتالن استیک اسید بر طول بلندترین شاخساره، تعداد شاخساره و وزن تر شاخساره گیاه آنتوریوم (*Anthurium andreanum* 'Solara') کشت شده در محیط MS.

تیمارها	طول بلندترین شاخساره (میلی‌متر)	تعداد شاخساره	وزن تر (گرم)
$BA_0 + NAA_0$ (شاهد)	۸/۶ c*	۱/۲۲ e	۰/۰۷۸ e
$BA_0 + NAA_{0.01}$	۱۴/۴ b	۱/۷۴ de	۰/۱۶ de
$BA_{0.5} + NAA_0$	۷/۳ c	۴/۳۳ c	۰/۱۵ de
$BA_{0.5} + NAA_{0.01}$	۱۸/۱ a	۳/۸۶ cd	۰/۲۳ cd
$BA_1 + NAA_0$	۶/۱ cd	۷/۵۳ b	۰/۱۸ cde
$BA_1 + NAA_{0.01}$	۳/۳ d	۲/۶۶ cde	۰/۳۰ bc
$BA_{1.5} + NAA_0$	۶/۲ cd	۱۰/۷۷ a	۰/۲۸ c
$BA_{1.5} + NAA_{0.1}$	۷/۷ c	۱۲/۷۷ a	۰/۷۳ a
$BA_2 + NAA_0$	۶/۶ cd	۱۰/۶۶ a	۰/۳۰ bc
$BA_2 + NAA_{0.01}$	۸/۸ c	۱۰/۳۳ a	۰/۴۰ b

* در هر ستون، حروف مشترک نشان دهنده عدم معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد آزمون tukey می‌باشد.

بر اساس جدول ۱، اثر ساده بنزیل آدنین و نیز اثر متقابل بنزیل آدنین × نفتالن استیک اسید در سطح احتمال ۱ درصد بر تعداد شاخساره معنی‌دار بود اما اثر ساده تیمار نفتالن استیک اسید معنی‌دار نبود. مطابق جدول مقایسه میانگین داده‌ها، بیشترین تعداد شاخساره در محیط کشت دارای $BA_{1.5}+NAA_{0.01}$ مشاهده گردید که با تیمارهای $BA_{1.5}+NAA_0$، BA_2+NAA_0 و $BA_2+NAA_{0.01}$ اختلاف معنی‌داری نداشت. همچنین کمترین تعداد ساقه در محیط

بدون تنظیم کننده رشد مشاهده شد(جدول ۲). Vargas و همکاران (2004) پس از کشت بذر آنتوریوم در محیط MS و جوانه‌زنی آن‌ها، ریز قلمه گیاهچه‌ها را در محیط MS دارای BA و NAA کشت نمودند و نتایج مناسبی برای شاخه زایی حاصل گردید.

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثرات ساده بنزیل آدنین و نفتالن استیک اسید و نیز اثرات متقابل آن‌ها در سطح احتمال ۱ درصد بر میزان وزن تر گیاه آنتوریوم معنی‌دار می‌باشد (جدول ۱). نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها نشان دهنده آن است که بیشترین وزن تر نیز مربوط به تیمار $BA_{1.5}+NAA_{0.01}$ می‌باشد و پس از آن تیمار $BA_2+NAA_{0.01}$ بیشترین وزن تر را به خود اختصاص داده است (جدول ۲). همچنین کمترین وزن تر نیز در تیمار بدون تنظیم کننده رشد به دست آمد. افزایش تعداد شاخساره و وزن تر در تیمار $BA_{1.5}+NAA_{0.01}$ حاکی از آن است که افزایش تعداد شاخساره با افزایش وزن تر می‌تواند رابطه مستقیم داشته باشد. سایتوکنین‌ها ازدیاد شاخه و تقسیم سلولی را تحریک کرده و افزودن آن‌ها به محیط سبب افزایش تعداد شاخه شده و از این طریق می‌توانند وزن تر را نیز بالا ببرند (Jain *et al.*, 2001).

بلندترین طول ساقه به ارتفاع ۲۰ میلی‌متر مربوط به تیمار $BA_{0.5}+NAA_{0.01}$ و کمترین مربوط به تیمار $BA_1+NAA_{0.01}$ به ارتفاع ۳ میلی‌متر بود. بیشترین تعداد شاخساره برابر با ۱۴ که مربوط به تیمار با $BA_{1.5}+NAA_{0.01}$ و کمترین تعداد شاخساره مربوط به تیمارBA_0+NAA_0 برابر با ۱ بود و بیشترین وزن تر نیز در تیمار $BA_{1.5}+NAA_{0.01}$ با ۰/۷۹ گرم بدست آمد و همچنین کمترین آن مربوط به تیمار BA_0+NAA_0 برابر با ۰/۰۷۶ گرم می‌باشد.

منابع

Bakhshi Khaniki, G., Ghasemi, M. and Bairamizadeh, E. 2011. Study of micropropagation of *Anthurium andreanum* using tissue culture. New Cellular and Molecular Biotechnology Journal; 1(4): 79-88. (in Persian).

Da Silva, J.A.T., Dobranszki, J., Winarto, B. and Zeng, S. 2015. *Anthurium* in vitro: a review. Scientia Horticulturae; 186: 266-298.

Desai, C., Inghalihalli, R. and Krishnamurthy, R. 2015. Micropropagation of *Anthurium andraeanum*-An important tool in floriculture .Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry; 4(3): 112-117.

Hamidah, M., Abdul Karim, A.G. and Debergh, P. 1997. Somatic embryogenesis and plant regeneration in *Anthurium scherzerianum.* Plant Cell, Tissue and Organ Culture; 48(3): 189-193.

Hassanpour Asil, M., Karimi, M. and Moghaddas, M. 2010. Anthurium. Publication of Poya, Tehran, Iran.

Jain, A., Kantia, A. and Kothari, S.L. 2001. De novo differentiation of shoot buds from leaf callus of *Dianthus caryophyllus* L. and control of hyperhydricity. Scientia Horticulturae; 87(4): 319-326.

Khorrami Raad, M., Shoor, M., Hamidoghli, Y., Tehranifar, A., Nemati, S.H. and Salehifar, M. 2011. Effects of growth regulators on *in vitro* micropropagation of two commercial varieties of *Anthurium andraeanum*. Journal of Horticultural Science; 25(2): 137-146. (in Persian).

Murashige, T. and Skoog, F., 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiologia Plantarum; 15: 473-497.

Nhut, D.T., Duy, N., Vy, N.N. H., Khue, C.D., Khiem, D.V. and Vinh, D.N. 2006. Impact of *Anthurium* spp. genotype on callus induction derived from leaf explants, and shoot and root regeneration capacity from callus. Journal of Applied Horticulture; 8(2): 135-137.

Rodrigues, A.A.J., Santos, E.O., Takane, R.J. and Carvalho, A.C.P.P. 2017. Artificial light and growth regulators on the *in vitro* etiolation of *Cattleya labiata*. Revista Ciência Agronômica; 48(2): 296-302.

Vargas, T.E., Mejias, A., Oropeza, M. and De Garcia, E. 2004. Plant regeneration of *Anthurium andreanum* cv Rubrun. Electronic Journal of Biotechnology; 7(3): 285-289.

Investigation on Proliferation of Potted Anthurium by Application of Different Concentrations of Benzyladenine and Naphthaleneacetic Acid

Rezvan Ghasemnezhad[1*], Hedayat Zakizadeh[2], Younes Mahdavi-Fikejvar[3], Reza Shirzadian-Khorramabad[4]

[1*] MSc. student of Horticultural Sciences, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan,
[2] Assistant Professor, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan,
[3] PhD. student, Department of Horticultural Sciences in Ornamental Plants branch, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran,
[4] Assistant Professor, Department of Agricultural Biotechnology, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan,
[*]*Corresponding Author: ghasemnezhadrezvan@yahoo.com*

Abstract

In order to increase the production and uniformity, usually the in vitro culture with a successful protocol for proliferation is required. In this study, the effects of different concentrations of benzyladenine (BA) and naphthaleneacetic acid (NAA) on proliferation of *Anthurium* potted plant 'Solara' using MS media were investigated. The mother plant which had imported to Iran, was purchased from a greenhouse and transferred to the laboratory. After treatment with fungicide, the explants were prepared from plant leaf and petiole and to obtain callus, explants were surface sterilized using sodium hypochlorite and were then placed on MS media. During 3 stages of sub-culture, in order to obtain the maximum proliferation, different plant growth regulators were added to the culture media. Finally explants were placed for one month on PGR-free MS media to minimize the internal hormones. To obtain the best shoot regeneration BA at five concentrations (0, 0.5, 1, 1.5 and 2 mg L^{-1}) and NAA at two concentrations (0, 0.01 mg L^{-1}) were used. This experiment was conducted based on a completely randomized design with 10 treatments, 3 replications in each treatment and 3 samples in each replication. 90 days after treatment, characteristics such as shoot number, the length of regenerated shoots and fresh weight were evaluated. The highest shoot length with 20 mm was obtained on MS media containing $BA_{0.5}$+$NAA_{0.01}$. The highest shoot number was 14 on $BA_{1.5}$+$NAA_{0.01}$ and the highest fresh weight was obtained using MS media containing $BA_{1.5}$+$NAA_{0.01}$.

***Keywords*: Shoot regeneration, Stem length, In vitro culture, Culture media, Fresh weight**