بررسی اثر نوع ریز نمونه در میزان پینه زایی
Anthurium andreanum cv Tennessee

زهرا مشیری (۱)، رحیم حداد (۲) و رامین حسینی (۲)

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشگاه بین المللی امام خمینی (ره)، ۲- گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشگاه بین المللی امام خمینی (ره)، قزوین

چکیده

در این تحقیق به منظور بررسی اثر نوع ریزنمونه در ریزازدیادی آنتوریوم از سه ریز نمونه برگ، دمبرگ و اسپات مربوط به رقم Tennessee استفاده شد. ریز نمونه اسپات ١٤ تا ٢٠ روز پس از کشت، علی رغم انجام باز کشت و اضافه کردن اسید آسکوربیک (80 mg/lit) به محیط، نکروزه و قهوه ای شد، اما ریزنمونه های برگ و دمبرگ، سبزی و شادابی خود را حفظ کردند. محیط پینه زایی دارای نمک پایه 1/2 MS ، ساکارز ۳٪ و غلظت های مختلف اکسین (NAA, 2,4-D) و سیتوکینین (TDZ, BA) بود. پس از ۸ تا ۱۰ هفته، برگ‌ها در سطوح بریده شده ریز نمونه و پس از ۱۲ هفته دمبرگ ها در دو سوی ریز نمونه شروع به پینه زایی کردند. پینه‌ها در هر دو ریزنمونه سبز مایل به زرد و شبه جنین زا بودند. بیشترین میزان پینه زایی در تیمار هورمونی TDZ (1.5 mg/lit) به دست آمد که درصد پاسخگویی در برگ ٨٤٪ و در دمبرگ ۷۰٪ بود، این میزان پاسخگویی نسبت به دیگر تیمارهای هورمونی به طور معنی داری بالاتر بود، بنابراین ریز نمونه برگ به عنوان بهترین ریز نمونه در القا پینه زایی انتخاب شد.

مقدمه

به طور کلی به کشت سلول ها، بافت ها و اندام های استریل، تحت شرایط مطلوب فیزیکی و شیمیایی آزمایشگاهی، کشت بافت گیاهی اطلاق می شود(۱). در دنیا ریزازدیادی یا کشت بافت گیاهی به یک صنعت مهم تبدیل شده و جایگاه ویژه ای در تجارت بین المللی پیدا کرده است. امروزه می توان برای کشت بافت گیاهی، اهداف بسیار خاص و متنوعی در نظر گرفت: ۱- کشت بذر ۲- کشت جنین ۳- کشت اندام ٤- کشت پینه ٥-کشت سلول ٦- کشت پروتوپلاسم ۷- ذخیره ی طولانی مدت ژرم پلاسم به منظور حفظ گونه های گیاهی. بیشترین میزان تولید کشت بافت مربوط به گیاهان زینتی می باشد که اروپائیان در مقام اول قرار دارند (۳). آنتوریوم از خانواده ی شب بوئیان و از جمله گل های زینتی زیبا و گران قیمت است که از نظر بازار پسندی در مقام پنجم گل های شاخه بریده قرار دارد، بنابراین توانایی تولید انبوه این گیاه در مدت زمان کوتاه تر و با یکنواختی بیشتر از نظر اقتصادی بسیار با اهمیت است. روش سنتی تکثیر این گیاه از طریق تقسیم بوته و جدا کردن پاگیاه همراه با مقداری ریشه از گیاه مادری در بهار است، البته از طریق بذر نیز می توان این گیاه را تکثیر کرد که علاوه بر این که ۳ سال طول می کشد. گیاهان دارای یکنواختی ژنتیکی نیز نیستند، بنابراین ریزازدیادی یکی از راه های مناسب در تولید گیاهان زینتی بخصوص آنتوریوم است

مواد و روش‌ها

گلدان های رقم Tennessee پس از خریداری در گلخانه تحقیقاتی در شرایط مناسب از نظر نور، دما و رطوبت قرار گرفتند. از اسپات های شاداب و برگ ها و دمبرگ ها ی جوان (دارای رنگ سبز روشن)، به عنوان ریز نمونه استفاده شد. به

منظور ضدعفونی، پس از شستشوی سطحی ریز نمونه با آب روان، آنها به مدت ۳۰ ثانیه در الکل ۷۰٪ قرار داده شده و سپس برگ ها و اسپات ها به مدت ۵ دقیقه و دمبرگ ها به مدت ۲۰ دقیقه در هیپوکلریت سدیم ۱٪ قرار گرفته و در پایان سه بار با آب مقطر استریل شستشو داده شدند. ریز نمونه های ضد عفونی شده به منظور القا پینه زایی، در محیط کشتی دارای نمک پایه MS ½ ، ساکارز ۳٪ و ژل رایت (g/lit ۲) قرار داده شدند و تیمارهایی با ترکیبی از اکسین و سیتوکینین به آنها اعمال گردید. ریز نمونه های برگ حاوی رگبرگ اصلی بوده و سطح آنها پس ضد عفونی، عمود بر رگبرگ اصلی برش داده شد. پتری های کشت شده درشرایط تاریکی در دمای 25±1˚C قرار داده شدند. pH محیط کشت ۵,۸ و اتوکلاو در دمای 121˚C به مدت ۲۰ دقیقه انجام شد.

نتایج و بحث

میزان بازدهی روش ضد عفونی در ریز نمونه های مختلف متفاوت بود (برگ = ۹۵٪، اسپات = ۷۰٪ ودمبرگ=٥٤٪). اگرچه آلودگی اسپات ها کنترل شده بود، اما از آنجا که این ریز نمونه حدود ١٤ تا ٢٠ روز پس از کشت اولیه، علی رغم بازکشت و اضافه کردن اسید آسکوربیک به محیط کشت نکروزه و سیاه شد ه و از بین می رفتند، بنا بر این از ادامه کار با این ریزنمونه صرف نظر شد. برگ ها و دمبرگ ها به دلیل حفظ شادابی و سبزینگی به میزان بالا در فواصل دو هفته ای بازکشت می شدند. برگ ها پس از ۸ تا ۱۰ هفته در نواحی بریده شده روی ریز نمونه و دمبرگ ها حدود ۱۲ هفته پس از کشت اولیه در دو سوی ریز نمونه تولید پینه کردند. برگ ها سریع تر و بیشتر از دمبرگ ها تولید پینه کردند. تیمار های هورمونی مختلف بر روی هر دو ریز نمونه ی برگ و دمبرگ مربوط به رقم Tennessee اعمال شد که هر دو ریز نمونه در تیمار هورمونی TDZ (1.5 mg/lit) بهترین نتیجه را دادند، لذا مکررا ریز نمونه برگ نسبت به ریز نمونه دمبرگ پاسخگویی برتری نشان داد (برگ:٨٤٪ دمبرگ:٧٠٪).بنا بر این در این تحقیق، میزان تولید پینه به طورمعنی داری به نوع ریز نمونه وابسته بود. نتایج مشابه در آزمایشات انجام شده توسط Te-Chato و همکاران نیز مشاهده شده است (٦).

منابع

۱- معینی. احمد، کهریزی. دانیال، (ترجمه). (۱۳۸۲). کشت بافت گیاهی. (نویسندگان: اکرم. م. تاجی، ویلیام. ا. داد، ریچارد ا. ویلیامز،). تهران. سازمان بسیج دانشجویی.

2-Hamidah M, Abdul karim A Gh and Debergh P. (1999). "Somatic embryogenesis and plant regeneration in *Anthurium scherzerianum*". *Plant Cell Tissue and Organ Culture* **48** : 189-193.

3-Indrak V and Trevor AT. (1994). "Plant Cell and Tissue Culture". Published by kluwer academic publisher. Netherland. Pp.561-573.

4-Joseph D, Martin Kp, Madassery J and Philip VJ. (2003). "*In vitro* propagation of three commercial cut flower cultivars of *Anthurium andreanum* Hort". *Indian Journal Experimental Biology* **41**(2): 154-159.

5-Kuehnle AR, Chen F Ch and Sugii N. (1992). "Somatic embryogenesis and plant regeneration in *Anthurium andreanum* hybrids*". Plant Cell Reports* **11** : 438-442.

6– Te-Chato S, Susanon T and Sontikun Y. (2006). "Cultivar, explant type and culture medium influencing embryogenesis and organogenesis in *Anthurium* SPP". *Science Technology* **28**(4): 717-722.

Influence of explant type in callus formation of *Anthurium andreanum*

Mshiri, Zahra; Haddad, Raheem; Hoseini, Ramin.
Agricultural Biotechnology Department, Imam Khomeini International University, Qazvin, Iran, P. O. Box: 34149-288.

Abstract

In this experiment three different explants including of leaf, petiole and spathe were employed to study effect of explants type in micropropagation of *Anthurium andreanum* cv Tenessee. Spathe explants were changed into black and necrotic in callus induction medium, in spite of subculturing and supplementing with ascorbic acid (80 mg/lit), 14 to 20 days after culture. While leaf and petiole explants were remained green and fresh. Callus induction medium was consisted of half-strength Murashige and Skoog (MS) and 3% sucrose supplemented with different combinations of auxins (NAA, 2,4-D) and cytokinins (BA, TDZ). Explants were produced to calli after about 8 to 10 weeks for leaf and after about 12 weeks for petiole. Calli of leaf explants were started to develop at the cut regions and expanded to cover the whole leaf surface with the process of age. Calli of petiole explants were only observed on the both explants extremities. Also, calli of both of the forementioned explants were appeared to yellowish green color and embryogenesis-like dome. According to these results, leaf explants were chosen as one of the best explants to induce callus. The highest callus formation was produced in medium supplemented with TDZ (1.5 mg/lit). In such medium, explant responsiveness were 84% and 70% significantly different for leaf and petiole explants, respectively.

Key words: *Anthurium*, Explant, Callus, Hormone.