

بررسی اثر تیمارهای مختلف هورمونی در ریزازدیادی *Anthurium andeanum* cv Tennessee

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

۱- گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشگاه بین المللی امام خمینی، ۲- دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشگاه بین المللی امام خمینی

چکیده

تحقیق حاضر به منظور مطالعه تکثیر آنتوریوم آندرانوم رقم Tennessee به روش کشت بافت با استفاده از ریز نمونه برگ، تحت تیمارهای مختلف هورمونی انجام گرفته است. محیط های پینه زایی در میزان نمک پایه (MS ۱/۲) و ساکارز ۳٪ مشترک بودند ولی در میزان و نوع هورمون های به کار برده شده متفاوت بودند. ترکیب های به کار برده شده شامل BA و 2,4-D و TDZ ، BA ، NAA و Kinetin ، Kinetin و 2,4-D متفاوت بود. بالاترین فراوانی پینه زایی به ترتیب در تیمارهای TDZ (۰.۳ mg/lit) ، TDZ (۱.۵ mg/lit) و 2,4-D = BA مشاهده شد. پینه ها به رنگ سبز مایل به زرد و شبه جنین زا بودند. پس از حدود ۳ ماه، قطعات پینه به محیط القا ساقه زایی منتقل شدند. این محیط ها در میزان نمک پایه MS ۱/۲، ساکارز ۴٪ و گلوکز ۲٪ مشترک بوده و دارای BA و TDZ در غلاظت های پایین (۰.۳ mg/lit) می باشند که در محیط دارای BA ریز نمونه ها در مدت ۶ تا ۸ هفته تولید ساقه و برگ کردند. بنا بر مشاهدات انجام شده مشخص شد که تیمار هورمونی در فراوانی تشکیل کالوس و میزان القا ساقه به صورت معنی داری موثر می باشد.

مقدمه

به کشت سلول های ایزوله بافت و اندام گیاهی بر روی محیط کشت، در شرایط *in vitro* و عاری از هر گونه میکروارگانیسم، کشت بافت گیاهی اطلاق می شود. امروزه کشت بافت گیاهی از اهمیت بسیار زیادی برخوردار است و در سطح وسیعی از آن استفاده می شود. یکی از مهم ترین کاربردهای کشت بافت گیاهی در تکثیر گیاهان زیستی می باشد و این صنعت در سال های اخیر در حال گسترش بوده است. *Anthurium andeanum* که برای تولید گل شاخه بریده پرورش داده می شود، مقام چهارم کشت بافت گیاهی در اروپا را دارا می باشد (۲).

آنتوریوم از خانواده Araceae و دارای بیش از ۵۰۰ گونه است. مبدأ این گل زیستی زیبا نواحی گرمیزیری و نیمه گرمیزیری جنوب آمریکا می باشد. این گیاه که با نام های گیاه فلامینگو یا گیاه دم خروک نیز نامیده می شود، گیاه گرمیزیری زیبایی است که در سال ۱۸۲۹ به وسیله طبیعی دانی به نام اسکات شناسایی شد. آنتوریوم شامل دو گروه مجزا از هم است، یکی گونه های گلدار است که به خاطر اسپات های جالب‌شان و دیگری گونه های برگی است که به خاطر برگ های با شکوه و زیبایشان معروفیت دارند. *A. andeanum* جزء گونه های گلدار است (۳). ازدیاد آنتوریوم با پاجوش های دارای ریشه های هوایی از ساقه اصلی و یا قلمه های حاوی ۲ تا ۳ برگ که از انتهای گیاه گرفته می شود صورت می گیرد. این گیاه را می توان با بذر نیز تکثیر کرد که البته تا مرحله گلدهی ۳ سال طول خواهد کشید و از سویی گیاهان مذکور دارای یکنواختی نخواهند بود. بنابراین کوتاه ترین و اقتصادی ترین راه که دارای نتاج یکنواختی نیز می باشد، کشت بافت گیاهی است.

مواد و روش ها

گلدان های گیاه آنتوریم آندرانوم رقم Tennessee پس از خریداری در گلخانه ی تحقیقاتی در شرایط مناسب از نظر نور و رطوبت (دمای 25°C و رطوبت ۷۵٪) نگهداری شدند و از برگ های جوان به عنوان ریز نمونه استفاده شد. به منظور ضد عفونی، برگ ها پس شستشوی سطحی با آب روان، به مدت ۳۰ ثانیه در الکل ۷۰٪ قرار گرفتند و سپس به مدت ۵ دقیقه در هیپو کلریت سدیم ۱٪ قرار داده شدند. بازده روش ضد عفونی برای برگ ها ۹۵٪ بود. به منظور بررسی میزان پینه زایی از محیطی با نمک پایه ی MS $\frac{1}{2}$ ، ساکارز ۳٪ و با ترکیبی از غلظت های مختلف BA و D، 2,4-D، TDZ و BA، Kinetin و NAA و TDZ استفاده شد. پینه زایی در تاریکی و در دمای $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ انجام گرفت. برای ساقه زایی از محیط داری نمک پایه ی MS $\frac{1}{2}$ ، ساکارز ۴٪ و گلوکز ۲٪ استفاده شد. در این مرحله اکسین از تمامی محیط ها حذف و از سیتوکینین (TDZ و BA) با غلظت پایین (0.3 mg/lit) استفاده گردید. همچنین نمونه ها در فتوپریود ۱۶/۸ (تاریکی/روشنایی) قرار داده شدند. تمام مراحل آزمایش در محیط کشت جامد شده با ژل رایت به میزان ۲ g/lit و pH: 5.8 انجام شده و شرایط اتوکلاو نیز 121°C به مدت ۲۰ دقیقه بود.

نتایج و بحث

نتایج به دست آمده در رقم Tennessee در مرحله پینه زایی در نتیجه به کار بردن تیمارهای مختلف هورمونی قابل توجه بود. به گونه ای که در رقم یاد شده در مدت ۱۰ هفته میزان پینه زایی در تیمارهای پاسخگو به طور میانگین برابر ۵۰٪ بوده است. Te-chato و همکاران (۲۰۰۶) در تحقیق بر روی چند رقم مختلف آنتوریوم دریافتند که نوع رقم بر میزان پینه زایی موثر است. بیشترین میزان پینه در تیمار TDZ (1.5 mg/lit) مشاهده شد که برابر با ۸۴٪ بود. پس از آن بیشترین پینه زایی در تیمار هورمونی TDZ (2mg/lit) به میزان ۷۰٪ و در تیمار BA=2,4-D (1 mg/lit) به میزان ۶۳٪ به دست آمده. پینه ها به رنگ سبز ملایم و شبیه جنین زا بودند. پس از حدود ۳ ماه قطعات پینه با ابعاد $0.5\text{cm} \times 0.5\text{cm}$ به محیط ساقه زایی که دارای نمک پایه ی MS $\frac{1}{2}$ با غلظت بیشتر قند (ساکارز ۴٪ و گلوکز ۲٪) و فقط دارای سیتوکینین، منتقل شدند. در این مرحله از دو تیمار هورمونی (TDZ (0.3 mg/lit) و BA (0.3 mg/lit) استفاده شد که در این ترکیب، تیمار BA مناسب تر بوده و لذا قطعات پینه در این محیط، تمایز یافته و تولید ساقه و برگ کردند. در حالی که پینه ها در محیط دارای TDZ اشکال دفرمه تولید کردند. بنابر این می توان نتیجه گیری کرد که BA سیتوکینین مناسب تری برای تمایز پینه ها است. اثر تاثیر هورمون در مرحله اندام زایی توسط Kuehnle و همکاران (1991) نیز ذکر شده است (۵). هنگامی که ساقه ها و برگ ها قدری بزرگ تر و مستحکم تر شدند، می توان آنها را به محیط ریشه زایی که محیط بدون هورمون و یا محیط دارای اکسین پایین است منتقل و سپس اقدام به سازگاری کرد که مراحل پایانی ذکر شده در این مطالعه در دست انجام می باشد.

منابع

- آزادی. پژمان، باقری. هدایت. (ترجمه). (۱۳۸۲). اصلاح گیاهان با استفاده از کشت درون شیشه ای. (نویسندها: اکرم. م. تاجی، پراکاش. پی. کومار، پراکاش. لاکشمنان). همدان. انتشارات بو علی سینا.
- بیرامی زاده. ابراهیم، زارعی. رقیه. (۱۳۸۶). خلاصه مقالات پنجمین کنگره علوم باگبانی.
- متغی. حسین. (۱۳۸۶). گل ها و گیاهان آپارتمانی - گونه ها و هیرید های گلدار- برگ سبز- برگ رنگی. سروش هدایت.

- ۴ – Joseph D, Martin Kp, Madassery J and Philip VJ. (2003). “*In vitro* propagation of three commercial cultivars of *Anthurium andeanum* Hort”. *Indian Journal Experimental Biology* 41(2): 154-159.
- ۵ – Kuehnle AR and Sugi N. (1991). “Callus induction and plantlet regeneration in tissue culture of Hawaiian *Anthurium*”. *Hortscience* 26(7): 919-921.
- ۶ – Monte S, Morales C and Bell E. (2004). “Plant regeneration of *Anthurium andeanum* Lind through *in vitro* culture”. *Cultivos tropicales* 25(3): 5-7.
- ۷ – 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 Different Hormone Combinations in Micropropagation of *Anthurium andeanum*

Haddad, Raheem; Moshiri, Zahra; Hoseini, Ramin

Abstract

In the present research project, leaf explants of *Anthurium andeanum* (cv Tennessee) were used to study effect of different hormone combinations *in vitro*. All callus induction media were shared a basal composition of half strength MS (Murashige and Skoog) and 3% sucrose. The hormone combinations were differed as follows: BA & 2,4-D, TDZ & BA, 2,4-D & Kinetin, NAA & Kinetin, BA & NAA and TDZ alone. The best range of callus formation was obtained in TDZ (1.5 mg/lit), TDZ (2 mg/lit) and BA = 2,4-D (1 mg/lit of each) respectively. Calli were yellowish green and embryogenic-like. Segments of approximately 0.5×0.5 cm of such calli were transferred into shoot induction medium three months later. These media were shared in half strength MS, sucrose 4%, and glucose 2% supplemented with low concentrations of BA and/or TDZ (0.3 mg/lit of each). Calli segments produced shoots and leaves in the media containing BA after 6 to 8 weeks. According to such observations, results indicated that hormone combinations are significantly effective on abundance of callus formation and shoot induction.