Iranian Journal of Horticultural Science
Vol 49, No 1, Spring 2018 (245-254)
DOI: 10.22059/ijhs.2017.226968.1177

علوم باغبانی ایران
دورۀ ۴۹، شمارۀ ۱، بهار ۱۳۹۷ (ص ۲۵۴-۲۴۵)

باززایی، پرآوری و افزونش تجاری آنتوریوم آندرانوم رقم صورتی (*Anthurium andraeanum* cv Pink) به‌روش ریزازدیادی

میترا اعلایی[1*]، هاجر نریمانی[2]، عباس بهاری[3] و جعفر محمدی[1]
۱ و ۲. استادیار، دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان
۳. استادیار گروه بیوتکنولوژی، پژوهشکدۀ فناوری‌های نوین زیستی، دانشگاه زنجان
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۱/۱۷ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹٦/٤/۱۸)

چکیده

ارائۀ یک دستورکار افزونش انبوه درون شیشه‌ای برای توسعه و افزونش گل‌های زینتی ارزشمند همچون آنتوریوم یکی از مهم‌ترین فرایندها و هدف‌های اصلی در صنعت گل‌کاری است. در همین زمینه با هدف ارائۀ دستورکار تجاری افزونش انبوه درون شیشه‌ای آنتوریوم، تأثیر بنزیل آدنین (BA)[1] و نفتالین استیک اسید (NAA)[2] بر قابلیت باززایی و پرآوری آنتوریوم و قابلیت افزونش درون شیشه‌ای و همچنین ویژگی‌های کمی و کیفی آنتوریوم رقم صورتی با اعمال تیمارهای مختلف بررسی شد. ریزنمونه‌های جوانۀ جانبی در محیط کشت ۲/ MS حاوی غلظت‌های متفاوتی از بنزیل آدنین (۰/۳، ۰/۱، ۰ میلی‌گرم بر لیتر) و نفتالین‌استیک اسید (۰/۲۳، ۰/۰۷، ۰،۰/۰٤ میلی‌گرم بر لیتر) کشت شد. بیشترین طول شاخساره (با میانگین ۲۳/٤٦ میلی‌متر) در محیط کشت حاوی ۰/۲۳ میلی‌گرم بر لیتر NAA به دست آمد. بیشترین شمار جوانه در محیط کشت حاوی ۰/۲۳ میلی‌گرم بر لیتر NAA به همراه ۰/۳ میلی‌گرم بر لیترBA تولید شد. در مورد صفت شمار ریشه بیشترین میزان مربوط به تیمار ۰/۲۳ میلی‌گرم بر لیتر NAA بود. بیشترین درصد باززایی در تیمار ۰/۲۳ میلی‌گرم بر لیتر NAA + ۰/۳ میلی‌گرم بر لیتر BA و کمترین درصد باززایی در تیمار شاهد مشاهده شد. ترکیب‌بندی (فرمولاسیون) سادۀ به‌دست‌آمده می‌تواند به‌آسانی برای افزونش انبوه گیاهان سالم و بدون بیماری آنتوریوم به‌کار رود.

واژه‌های کلیدی: افزونش انبوه، بنزیل‌آدنین، کشت درون شیشه‌ای، نفتالین‌استیک اسید.

Regeneration, proliferation and commercialized micro propagation of *Anthurium andraeanum* cv. Pink

Mitra Aelaei[1*], Hajar Narimani[2], Abbas Bahari[3] and Jafar Mohammadi[1]
1, 2. Assist Professor and Former M.Sc. Student, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Iran
3. Assistant Professor, Institute of Biological Technologies
(Received: Feb. 5, 2017 - Accepted: Jul. 9, 2017)

ABSTRACT

A standard *in vitro* mass propagation protocol for development and propagation of valuable flowers such as Anthurium is one of the major procedures and goals in flower industry. Towards developing a commercialized propagation recipe for *A. andraeanum* cv. Pink, effects of BA and NAA were investigated on regeneration, proliferation and *in vitro* mass propagation efficiency of cultivar Pink, as well as quantitative and qualitative characteristics. The lateral buds were established in 1/2MS contains different concentrations of BA (0, 0.1, 0.3 mg/l) and NAA (0, 0.04, 0.07, 0.23 mg/l). The longest shoots (average of 23.46 mm), was obtained in 1/2MS containing 0.23 mg/l NAA .The highest number of buds were produced in medium containing 0.23 NAA plus 0.3mg/l BA. The highest root number was emerged in 0.23 mg/l NAA. The highest percentage of regeneration rate obtained in the media containing 0.23mg/l NAA+ 0.3mg/l BA compared to the control. Obtained protocol can be simply used for in vitro mass propagation of healthy Anthurium plants.

Keywords: Benzyl adenine, *In vitro* culture, mass propagation, naphthalene acetic acid, proliferation.

* Corresponding author E-mail: mitraaelaei@gmail.com
1. 6-Benzylaminopurine
2. α-Naphthaleneacetic acid

مقدمه

آنتوریوم یک جنس جالب‌توجه و دوست‌داشتنی از خانوادهٔ شیپورسانان (Araceae) است که به علت جذابیت گل‌آذین‌های بلند و بادوام (Hamidah *et al*., 1995; Zeng *et al*., 2004) و عمر گلجایی طولانی (Elibox & Umaharan, 2010) به‌عنوان یک گیاه زینتی شاخه بریده و گلدانی در مقیاس تجارتی تولید و استفاده می‌شود. میزان فروش آنتوریوم در جهان در رتبهٔ دوم پس از ارکیده‌ها قرار دارد (Dufour *et al*., 2008; Rikken, 2010; Hua, 2014). آنتوریوم بومی مناطق گرمسیری آمریکای مرکزی و جنوبی است و با بیش از ۱۰۰۰ گونه بزرگ‌ترین جنس خانوادهٔ Araceae به شمار می‌آید (Moradi *et al*., 2004; Gantait *et al*., 2011). این گیاه دوجنسی و پروتوژنز بوده و ازآنجاکه اول پایهٔ گل‌آذین (اسپادیکس) مادهٔ تولید و پایهٔ گل‌آذین نر یک ماه پس‌ازآن ایجاد می‌شود، این حالت خودگرده‌افشانی گل‌ها را کاهش و دگرگرده‌افشانی را با یک فراوانی (فرکانس) بالا تحریک می‌کند (Callotte, 2004). افزونش این گیاه زینتی ارزشمند همیشه از جمله بزرگ‌ترین چالش‌های تولیدکنندگان آن به شمار می‌آید. استفاده از روش‌های افزونش غیرجنسی وقت‌گیر و کم بازده بوده و افزونش جنسی این گیاه نیز به‌واسطهٔ دگرگرده‌افشانی و ناخالصی (هتروزیگوتی) بالا باعث غیریکنواختی گیاه حاصل می‌شود (Moradi *et al*., 2004). ازاین‌رو استفاده از روش کشت بافت گیاهی آنتوریوم، بهترین راه برای دستیابی به شمار زیادی گیاه با ساختار ژنتیکی یکسان است که ضمن کاهش هزینه‌های تولید، امکان برنامه‌ریزی ازنظر زمان‌بندی و شمار تولید را دارد (Moradi *et al*, 2004). افزونش آنتوریوم به‌روش کشت بافت نخست توسط Pierik *et al.* (1974) انجام شد و آنگاه تحقیقات دیگری با استفاده از بافت‌های مختلف شامل جوانه‌های جانبی (Kunisaki, 1980)، جوانه‌های نابجا (Can *et al*., 1993)، اسپادیکس (Geier, 1983)، برگ و دمبرگ و جنین‌زایی بدنی یا سوماتیک (Kuehnle *et al*., 1992) صورت گرفت. تحقیقات صورت گرفته روی باززایی آنتوریوم در شرایط کشت بافت بیشتر بر پایهٔ باززایی غیرمستقیم از راه پینه (کالوس) بوده (Ajdarbin *et al*., 2015; Beyramizade *et al*., 2008; Khorrami Raad *et al*., 2012) و تحقیقات بر پایهٔ باززایی مستقیم (Islam *et al*., 2010; Martin *et al*., 2003) کمتر گزارش شده است. Martin *et al.* (2003) در پژوهشی در باززایی مستقیم شاخساره از ریزنمونه‌های برگ در دو رقم مختلف آنتوریوم در نتایج بررسی‌های خود گزارش کردند، بهترین محیط کشت القای مستقیم شاخسارهٔ محیط پایهٔ MS/۲ همراه با ۱/۴ میکرومولار IAA، ۱/۱ میکرومولار BA، ۰/۴۶ میکرومولار کینتین بود. همچنین آنان در نتایج بررسی‌های خود گزارش کردند، بهترین محیط پرآوری شاخساره محیطی بود که در آن BA به ۰/۴۴ میکرومولار کاهش یافت. همچنین محیط کشت MS/۲ همراه با ۰/۵۴ میکرومولار NAA و ۰/۹۳ میکرومولار Kinetin را به‌عنوان محیط ریشه‌زایی مطلوب معرفی کردند.

Nhut *et al.* (2006) در پژوهشی روی تأثیر نژادگان (ژنوتیپ) بر القای پینه از ریزنمونه‌های برگ و همچنین باززایی و ریشه‌زایی ۱۰ رقم آنتوریوم بررسی و نشان دادند، نژادگان بر پینه‌زایی مؤثر است، اما در باززایی و ریشه‌زایی نقش چندانی ندارد. بهترین محیط کشت باززایی شاخساره در این آزمایش، محیط کشت MS/۲ که نیترات آمونیوم آن ۰/۲۰۶ گرم بر لیتر همراه با ۱ میلی‌گرم بر لیتر BA بود و محیط کشت MS ۱/۴ با ۱ گرم بر لیتر زغال فعال بدون تنظیم‌کننده‌های رشد به‌عنوان بهترین محیط کشت ریشه‌زایی معرفی کردند. دستیابی به شیوه‌ای (هایی) سریع و مؤثر در کشت بافت برای ریزازدیادی آنتوریوم و همچنین دیگر گیاهان زینتی مهم تجاری بسیار اهمیت دارد و کاربرد موفق این شیوه‌ها و کشت بافت گیاهان بسیار تحت تأثیر ترکیب‌های محیط کشت است (Atak *et al*., 2012).

هدف از این بررسی، ارزیابی تأثیر غلظت‌های مختلف NAA و BA بر ریزازدیادی و پرآوری گیاه آنتوریوم رقم صورتی (*Anthurium andraeanum* cv. Pink) و افزونش انبوه درون شیشه‌ای آن به‌منظور ارائهٔ یک شیوه‌نامهٔ تجاری افزونش آنتوریوم بود.

مواد و روش‌ها

جوانه‌های جانبی آنتوریوم رقم صورتی (*Anthurium andraeanum* cv. Pink) به‌عنوان ریزنمونه استفاده شد. آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی با دوازده تیمار و سه تکرار انجام شد. ریزنمونه‌ها پس از ضدعفونی در محیط کشت MS/۲ به همراه ترکیبی از تنظیم‌کننده‌های رشد شامل سه سطح از BA (۰/۳، ۰/۱، ۰ میلی‌گرم بر لیتر) و چهار سطح از NAA (۰/۲۳، ۰/۰۷، ۰/۰۴، ۰ میلی‌گرم بر لیتر) کشت شدند. محیط کشت حاوی ۰/۸ درصد آگار و ۳ درصد سوکروز بود. اسیدیتهٔ (pH) محیط کشت روی ۵/۸-۵/۶ تنظیم شد. ریزنمونه‌ها در آغاز با آب مقطر به مدت ۳۰ دقیقه شستشو داده شدند پس از آن با قارچ‌کش بنلیت ۱ میلی‌گرم در لیتر به مدت ۳۰ دقیقه ضدعفونی شدند. سپس ۳۰ ثانیه در الکل اتیلیک ۷۰ درصد گندزدایی شدند و درنهایت با آب مقطر سترون (استریل) اتوکلاوشده سه بار هر بار به مدت ۳ دقیقه آبکشی شدند. محیط‌های کشت در اتوکلاو با دمای ۱۲۱ درجهٔ سلسیوس و فشار ۱ اتمسفر به‌مدت ۱۵ دقیقه ضدعفونی شدند. محیط‌های کشت حاوی ریزنمونه‌ها در اتاق رشد با دورهٔ نوری (فتوپریود) ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی، دمای ۲۵ درجهٔ سلسیوس و رطوبت نسبی ۸۰-۷۵ درصد نگهداری شدند. پس از ۷۵ روز، صفات طول شاخساره، شمار جوانه، طول برگ، شمار و طول ریشه و همچنین درصد باززایی اندازه‌گیری شد. برای سازگاری، در آغاز گیاهچه‌های رشد یافته از جوانهٔ جانبی را پس از اندازه‌گیری درون مخلوطی از پرلایت و پیت‌ماس به نسبت یک‌به‌یک کاشته و دوباره درون اتاق رشد به مدت یک هفته قرار داده تا سازگاری لازم را کسب کنند و پس از یک هفته به خارج از محیط آزمایشگاهی انتقال شدند تا به شرایط بیرون از آزمایشگاه عادت کنند. سازگاری گیاهچه‌های تولیدشده در شرایط درون شیشه‌ای به شرایط برون شیشه‌ای حدود ۳ هفته به طول انجامید.

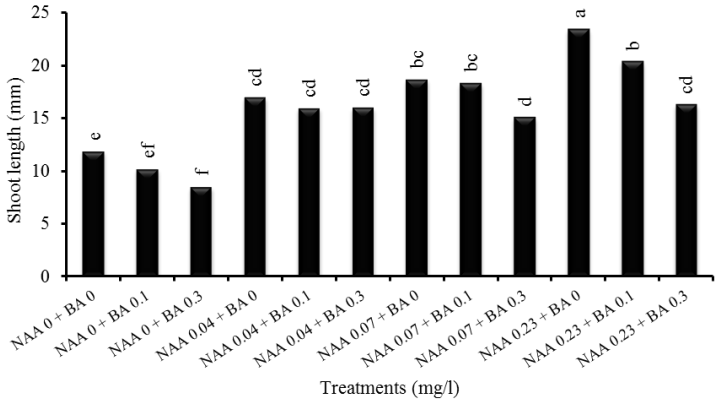
تجزیه‌وتحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS و آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۱درصد و رسم نمودارها با برنامهٔ Excel انجام گرفت.

نتایج و بحث

در راستای بهینه‌سازی محیط کشت باززایی و پرآوری برای افزونش انبوه آنتوریوم رقم صورتی، مقایسه‌های میانگین صفات نشان داد، بیشترین طول شاخسارهٔ آنتوریوم مربوط به تیمار ۰/۲۳ میلی‌گرم بر لیتر NAA بدون BA با میانگین ۲۳/۴۶ میلی‌متر و کمترین طول شاخساره در حضور تیمار ۰/۳ میلی‌گرم بر لیتر BA بدون NAA با میانگین ۸/۴۹ میلی‌متر بود (شکل۱). نتایج تجزیهٔ واریانس نشان داد، اثر متقابل NAA و BA بر طول شاخساره در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار است (جدول۱). استفاده از اکسین NAA در محیط کشت، افزایش طول شاخساره را باعث شد و تأثیر بیشتری نسبت به BA داشت. همان‌طور که در نتایج مشاهده می‌شود، طول اندام‌های هوایی تحت تأثیر هر دو هورمون سیتوکنین و اکسین قرار گرفت. به‌صورت یک قاعدهٔ کلی، اکسین‌ها در تقسیم یاخته‌ای، بزرگ شدن آن و در ساخت دیوارهٔ یاخته‌ای دخالت دارند که مهم‌ترین نقش اکسین‌ها تحریک رشد طولی یاخته‌ها است. در بعضی موارد اضافه کردن اکسین، سبب تسریع رشد شاخساره می‌شود، ولی در غلظت‌های بالا موجب اختلال‌های شدید رشد و یا توقف کامل رشد می‌شود. افزون بر این، مشاهده شد که با افزایش غلظت BA طول شاخساره کاهش یافت. با توجه به نتایج بررسی‌های انجام‌شده، کاهش طول شاخساره در محیط‌های حاوی BA احتمال دارد به‌دلیل تأثیر این هورمون بر افزایش شمار جوانه‌های نابه‌جا روی ریزنمونه و افزایش رقابت بین جوانه‌ها باشد، درحالی‌که در محیط کشت‌های بدون BA شاخساره‌ها به‌صورت تکی و یا با شمارکمی شاخساره جانبی آغاز به رشد می‌کند و رقابت کمتری بین شاخساره‌ها مشاهده می‌شود (Hedayat & Khoshkhoy, 2005). بنابر نتایج Bairamizadeh & Azadi (2007)، محیط کشت بدون BA به همراه محیط کشت‌های محتوای ۰/۲، ۰/۴ و ۰/۶ میلی‌گرم بر لیتر BA بلندترین طول شاخساره‌ها را داشتند و افزایش هورمون (۱-۰/۸ میلی‌گرم بر لیتر) سبب کاهش ارتفاع شد. همچنین در مرحلهٔ باززایی شاخساره، محیط کشت MS/۲ بهترین گیاهچه‌ها را از

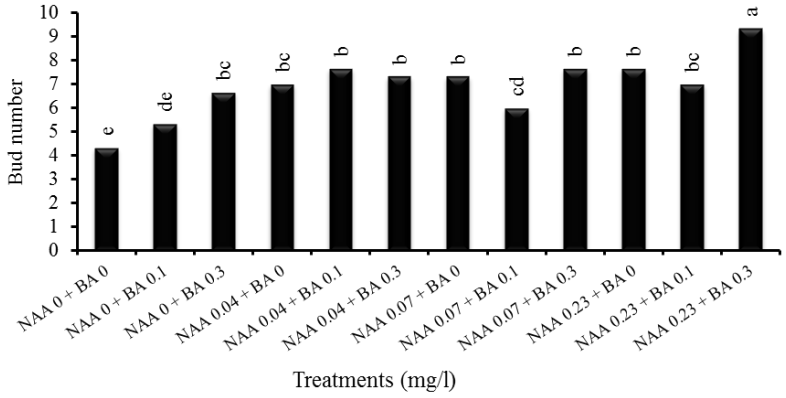
لحاظ شمار، طول و قوی بودن گیاهچه داشتند (Bakhshi Khaniki & Ghasemi, 2011).

مقایسهٔ میانگین صفات نشان داد، بیشترین میانگین شمار جوانهٔ تولیدشده (۹/۳۳ عدد در گیاه) مربوط به تیمار ۰/۲۳ میلی‌گرم بر لیتر NAA همراه با ۰/۳ میلی‌گرم بر لیتر BA و کمترین شمار جوانه‌ها (۴/۳۳ عدد در گیاه) در تیمار شاهد (بدون NAA و BA مشاهده شد (شکل۲). اثر متقابل NAA و BA در سطح احتمال ۱درصد معنی‌دار بود. به‌عبارت‌دیگر در گیاه آنتوریوم القای اندام‌های هوایی به مقادیر هورمون NAA و BA وابسته است همچنان که Kapchina & Yakimova (1997) در نتایج بررسی‌های خود بیان کردند، کاربرد هورمون سیتوکنین در محیط کشت باعث فعال شدن جوانه‌های جانبی می‌شود و افزایش آن منجر به از بین رفتن غالبیت انتهایی می‌شود. بررسی روی ریزازدیادی دیگر گیاهان زینتی، اهمیت سیتوکنین به‌ویژه BA را نشان داده است.



شکل ۱. تأثیر غلظت‌های مختلف نفتالین استیک اسید و بنزیل آدنین روی طول شاخساره

Figure 1. Effects of different NAA and BA concentrations on shoot length



شکل ۲. تأثیر غلظت‌های مختلف NAA و BA بر شمار جوانه

Figure 2. Effects of different NAA and BA concentrations on number of buds

جدول ۱. تجزیهٔ واریانس صفات بررسی‌شده در گیاه آنتوریوم آندرانوم

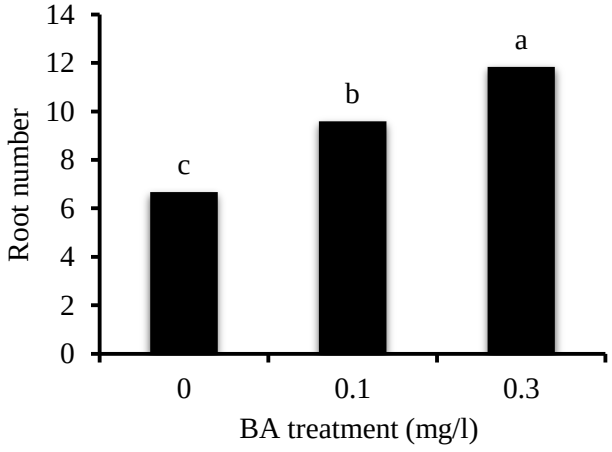
Table 1. The variance decomposition of evaluated characteristics of *Anthurium andraeanum*

SOV	df	Mean of squares				
		Shoot length	Bud number	Root number	Root length	Regeneration rate
NAA	3	15.5354**	10.556**	99.583**	1875.989**	1055.56**
BA	2	43.2543**	5.861**	80.528**	2616.664**	586.11**
NAA*BA	6	5.5047**	1.750**	2.528	720.704**	175.00*
Error	24	1.2328	0.229	2.389	696168	50.00
CV		6.94	6.89	16.59	12/52	

**, *: Significantly differences at 1 and 5% probability levels, respectively. ** و *: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد و ۵ درصد است.

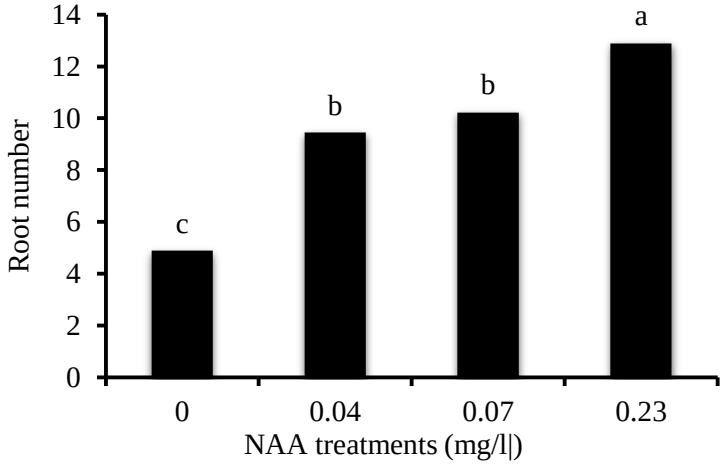
Norton & Boe (1982) در نتایج بررسی‌های خود افزونش سرشاخه را در میان ۱۲ گونه گیاه زینتی با استفاده از BA و بدون اکسین نشان داد. Gomes *et al.* (2010) دریافتند، NAA قادر به اصلاح میزان افزونش نیست و بهترین نتایج روی محیط‌های کشت بدون NAA به‌دست آمدند. این بررسی‌ها نشان داد، با افزایش غلظت BA روند تولید جوانه نیز بیشتر شده، هرچند محیط‌های کشت حاوی BA به‌همراه NAA هم تأثیر چشمگیری داشتند. نتیجهٔ تجزیهٔ واریانس داده‌ها نشان داد، اثر سادهٔ NAA و BA بر میانگین شمار ریشه در سطح احتمال ۱درصد معنی‌دار بوده است درحالی‌که اثر متقابل آن‌ها معنی‌دار نشد.

مقایسهٔ تأثیر غلظت‌های مختلف NAA بر میانگین شمار ریشه، نشان داد که کمترین میانگین شمار ریشهٔ تولیدشده (۴/۸۹ عدد در گیاه) در تیمار شاهد و بیشترین میانگین شمار ریشه (۱۲/۸۹ عدد در گیاه) در تیمار ۰/۲۳ میلی‌گرم بر لیتر NAA دیده شده است. همچنین، در مقایسهٔ اثر غلظت‌های مختلف BA بر میانگین شمار ریشه، کمترین میانگین شمار ریشه (۶/۶۷ عدد در گیاه) مربوط به تیمار شاهد و بیشترین میانگین (۱۱/۸۳ عدد در گیاه) مربوط به تیمار ۰/۳ میلی‌گرم بر لیتر BA است. بر پایهٔ مشاهده‌های انجام‌شده، غلظت ۰/۲۳ میلی‌گرم بر لیتر NAA شمار بیشتری ریشه داشت و قابل توصیه است (شکل‌های ۳ و ۴).



شکل ۳. تأثیر غلظت‌های مختلف BA بر شمار ریشه

Figure 3. Effects of different concentrations of BA on root numbers



شکل ۴. تأثیر غلظت‌های مختلف NAA بر شمار ریشه

Figure 4. Effects of different concentrations of NAA on root numbers

در پژوهشی روی آنتوریوم با توجه به ثابت بودن غلظت هورمون Kin در همهٔ محیط‌های کشت ریشه‌زایی (۰/۲میلی‌گرم بر لیتر) و متغیر بودن غلظت هورمون‌های NAA و IBA نتیجه گرفته شد، محیط با ۰/۲ میلی‌گرم بر لیتر Kin و ۱ میلی‌گرم بر لیتر IBA می‌تواند محیط بهینه برای ریشه‌زایی باشد زیرا در غلظت‌های بالاتر و پایین‌تر IBA (به‌ترتیب ۰/۵ و ۲ میلی‌گرم بر لیتر) ریشهٔ کمتری به‌دست آمده، و نتیجه همین پژوهش نشان داد، تیمار ۰/۲۵ میلی‌گرم بر لیتر NAA و ۰/۲ میلی‌گرم بر لیتر Kin ، بهترین نتیجه را نسبت به غلظت‌های بالاتر و پایین‌تر (۰/۱ و ۰/۰۵ میلی‌گرم بر لیتر NAA) داشت (Khorrami Raad & Shoor, 2011). در نتایج پژوهشی توسط Ata *et al.* (1998)، ریشه‌زایی گیاهچه‌های آنتوریوم در محیط کشتی که حاوی ۰/۲۵ میلی‌گرم بر لیتر IBA بود ۶۴ درصد موفق بود. در نتایج تحقیقی دیگر، توسط Jahan *et al.* (2009)، بهترین گسترش ریشه در محیط MS حاوی ۱ میلی‌گرم بر لیتر IBA مشاهده شد. در بررسی دیگری مشاهده شد، در محیط حاوی NAA، ۷۶درصد از گیاهچه‌ها ریشه‌دار شدند، درحالی‌که در محیط IBA، ۹۰ درصد از گیاهچه‌ها ریشه‌دار شدند. پژوهشگران علت ظهور ریشه در شاهد را بالا بودن سطح اکسین درونی ریزنمونه دانستند؛ به‌عبارت‌دیگر در چنین مواردی استفاده از NAA یک عامل تشدیدکننده یا تسریع‌کنندهٔ ریشه‌زایی است (Lee & Thomas, 1985).

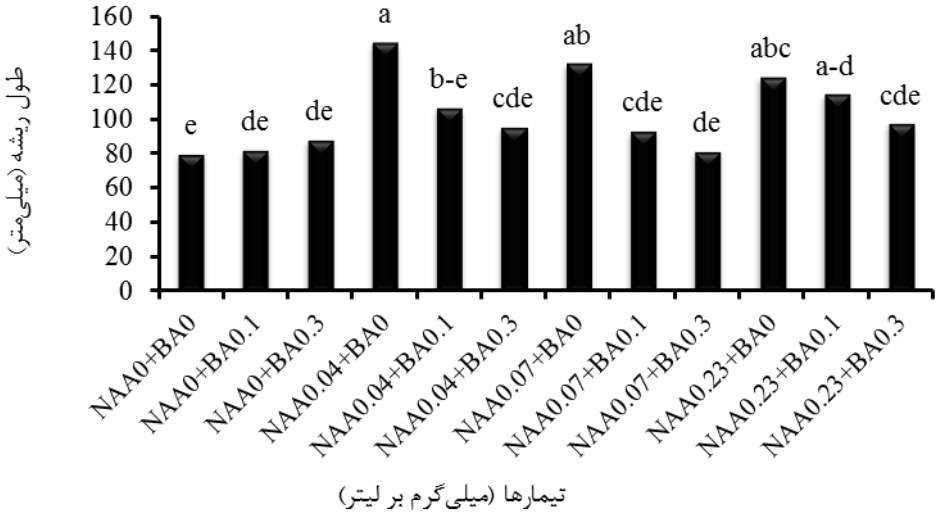
برخی از محققان بر این باورند، سیتوکتین در غلظت پایین سبب ریشه‌زایی و در غلظت بالا از ریشه‌زایی جلوگیری می‌کند. نقش سیتوکنین در ریشه‌زایی در حقیقت بیشتر به‌دلیل نقش محافظتی آن است تا نقش مستقیم آن در ریشه‌زایی (Staden & Van Harty, 1989).

جدول مقایسهٔ میانگین صفات نشان می‌دهد، بیشترین طول ریشه (با میانگین ۱۴۵/۰۵ میلی‌متر) مربوط به تیمار ۰/۰۴ میلی‌گرم بر لیتر NAA (بدون BA) و کمترین طول ریشه (با میانگین ۸۰/۲۶ میلی‌متر) مربوط به تیمار شاهد (بدون NAA و BA) است (شکل ۵). یافته‌های محققان نشان داد، افزودن NAA به محیط کشت، در غلظت‌های بالا برای افزایش طول ریشه‌ها مؤثر نبود و بهترین نتیجه در ترکیب غلظت‌های کم BA و NAA به دست می‌آید. به استناد نتایج بررسی‌های انجام‌شده، طول ریشه‌ها ممکن است با افزایش غلظت NAA کاهش پیدا کند. این کاهش طول در غلظت‌های بالای NAA به علت وجود زیاد سرآغازه‌های ریشه و درنتیجه رقابت بیشتر برای رشد ریشه ایجاد می‌شود. درحالی‌که غلظت‌های پایین NAA موجب کاهش سرآغازه‌های ریشه می‌شود، بنابراین رقابت بین ریشه‌ها برای رشد و جذب مواد غذایی کاهش‌یافته و باعث افزایش میانگین ریشه‌ها می‌شود (Hedayat & Khoshkhoy, 2005). ریشه‌زایی یک مرحلهٔ بحرانی برای موفقیت ریزازدیادی است. برخی بررسی‌های دیگر، تأثیر سیتوکنین‌ها را برای ریشه‌زایی مثبت ارزیابی کردند (Gomes *et al*., 2010; Jain & Ochatt, 2010). برخی محققان حضور مقادیر کم اکسین برای القای ریشه و نه برای رشد آن را توصیه کرده‌اند (Hartmann *et al*., 1997; Kapchina & Yakimova, 1997)، که با نتایج به‌دست‌آمده همخوانی داشت.

نتایج تجزیهٔ واریانس نشان داد، اثر متقابل NAA و BA در رابطه با درصد باززایی در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود. بیشترین درصد باززایی در تیمار ۰/۲۳ میلی‌گرم بر لیتر NAA + ۰/۳ میلی‌گرم بر لیتر BA و کمترین درصد باززایی در تیمار شاهد (بدون NAA و BA) رخ داد (شکل۶). باززایی در این پژوهش به‌صورت مستقیم انجام شد که از لحاظ زمانی بسیار سریع‌تر از روش رویان‌زایی بدنی است، زیرا در آن، پینه‌زایی حذف می‌شود و به‌طور مستقیم تولید ساقه و سپس ریشه می‌کند. به استناد تحقیقات انجام‌گرفته و نتایج به‌دست‌آمده از این پژوهش، سیتوکنین‌ها با اثر تحریک‌کنندگی رشد تأثیر بیشتری بر باززایی گیاهان در شرایط درون شیشه‌ای دارند؛ زیرا این هورمون برای بیان ژن‌های مناسب تمایزیابی ضروری است (Ho & Vasil, 1983). Sedaghati *et al.* (2015) در نتایج بررسی‌های خود گزارش کردند، بیشترین درصد باززایی در غلظت ۱ میلی‌گرم بر لیتر BA و کمترین درصد باززایی در غلظت ۰/۲۵ میلی‌گرم بر لیتر BA مشاهده شد. Kunisaki (1980)، از غلظت‌های مختلف BA (۰/۲

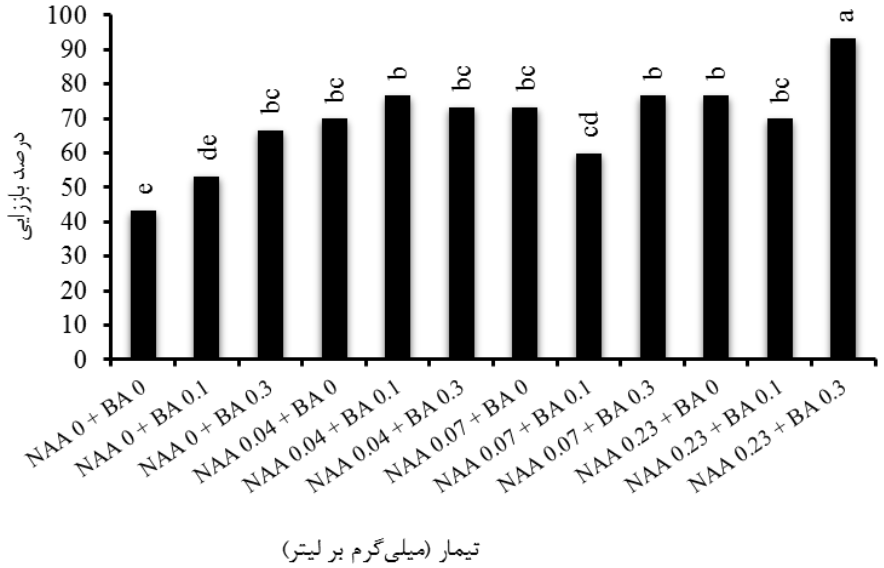
تا ۱ میلی‌گرم بر لیتر) برای باززایی *A. andraeanum* استفاده کرد و گزارش داد، باززایی در غلظت ۰/۲ میلی‌گرم بر لیتر نسبت به دیگر غلظت‌ها بهتر انجام شد که با این نتایج همخوانی داشت.

پس از پرآوری (شکل ۷-A,B) و ریشه‌زایی (شکل ۷-C) گیاهچه‌های ریشه‌دارشده به اتاق سازگاری و درنهایت به گلخانه منتقل شدند (شکل ۷-D). درمجموع ۹۸ درصد از گیاهچه‌ها بقا داشتند و در شرایط گلخانه رشد کردند. این گیاهچه‌ها ازنظر ریخت‌شناختی (مورفولوژیکی) همانند گیاه مادری بودند. مخلوطی از خاک سبک (پرلایت و پیت ماس به نسبت یک‌به‌یک) برای سازگاری گیاه آنتوریوم استفاده شد. برای سازگاری در آغاز گلدان‌های حاوی گیاهچه‌ها (همراه با پوششی از جنس پلاستیک روی گلدان‌ها) به مدت ۵ روز درون اتاقک رشد قرار گرفتند و پس از ۵ روز پوشش پلاستیک روی گلدان‌ها برداشته شد و ۵ روز دیگر در اتاقک رشد باقی ماندند و پس‌ازاین مدت به محیط گلخانه انتقال یافتند.



شکل ۵. مقایسهٔ میانگین اثر متقابل NAA و BA بر طول ریشه در آنتوریوم

Figure 5. Mean comparison of NAA and BA interactions on root length in *Anthurium*



شکل ۶. اثر متقابل NAA و BA بر درصد باززایی آنتوریوم رقم صورتی

Figure 6. Interaction of NAA and BA on regeneration rate of *A. andraeanum* cv. Pink

شکل ۷. (A) پرآوری آنتوریوم رقم صورتی در تیمار بدون هورمون (شاهد) و (B) محیط حاوی ۰/۲۳ میلی‌گرم بر لیتر NAA + 3/0 میلی‌گرم بر لیتر BA، (C) ریشه‌زایی ریزنمونه‌های پرآوری‌شده (D) سازگاری گیاهچه‌ها در محیط پیت و پرلیت گلخانه

Figure 7. Proliferation of *A. andraeanum* cv. Pink in control media (A) and in presence of 0.23mg/l NAA+ 0.3mg/l BA (B). (C) Rooting of proliferated explants (D) Acclimation of plants in peat and perlite.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج به‌دست‌آمده از این پژوهش نشان داد، تأثیر تنظیم‌کننده‌های مختلف رشد در ریزازدیادی گیاه آنتوریوم به‌عنوان یک گیاه کند رشد معنی‌دار است. بنابراین می‌توان گفت بین غلظت‌های سایتوکینین مورد استفاده و شمار جوانه یک رابطهٔ خطی وجود دارد؛ با افزایش غلظت سایتوکینین تا حد بهینه شمار جوانه‌ها افزایش می‌یابد. انجام واکشت و سپری شدن زمان منجر به باززایی شاخساره‌های جدید از پینه می‌شود، اما ازآنجاکه هدف از این آزمایش پرآوری و تولید گیاهچه‌های همسان والدین بود؛ بنابراین تولید پینه یک عامل منفی است. بررسی نتایج نشان می‌دهد، کاربرد NAA تأثیری در پرآوری گیاهچه‌ها نداشت و استفاده از آن به‌ویژه همراه با غلظت‌های بالا از سایتوکینین‌ها در درازمدت سبب تحریک تولید پینه می‌شود. از این پینه‌ها شاخساره‌های زیادی باززایی می‌شود ولی ازآنجایی‌که منشأ این شاخساره‌ها بافت تمایز نیافتهٔ پینه است بنابراین امکان تنوع در گیاهچه‌های تولیدی وجود دارد. ایجاد تنوع در کشت بافت و به‌ویژه در باغبانی در افزایش گیاهان با هدف تولید نتاج همانند هم، یک عامل منفی به شمار می‌آید. استفاده از NAA با غلظت ۰/۲۳ میلی‌گرم بر لیتر و بدون هورمون BA منجر به رشد طولی بیشتر شاخساره‌ها شد و از تولید گیاهچه‌هایی با میانگره‌های کوتاه جلوگیری کرد و اضافه شدن به غلظت BA باعث کاهش رشد طولی گیاهچه‌ها شد. به‌طورکلی بهترین ترکیب برای پرآوری این گیاه در این پژوهش محیط کشت ۱/۲MS حاوی ۰/۲۳ میلی‌گرم بر لیتر NAA + ۰/۳ میلی‌گرم بر لیتر BA بود. با توجه به اهمیت این گل در صنعت گل‌کاری این پژوهش گام کوچکی در تولید انبوه گیاهان سالم و بدون بیماری و توسعهٔ کشت این گیاه است. شیوه‌نامه به‌دست‌آمده به همراه ترکیب هورونی ارزیابی‌شده در مرحلهٔ استقرار و پرآوری می‌تواند به‌عنوان یک الگو برای افزونش تجاری و انبوه این گیاه استفاده شود.

REFERENCES

1. Ajdarbin, M., Kafi, M., Mirmasoumi, M. & Azadi, P. (2015). Indirect Shoot Regeneration in *Anthurium andreanum* 'Clisto' from Leaf Explant. *Journal of Ornamental Plants*, 5(3), 159-166.
2. Atak, Ç. & Çelik, Ö. (2012). Micropropagation of Anthurium spp. pp. 241-254. In: Dhal, N.K. and S.C. Sahu (eds.). *Plant science*. In Tech Press, Rijeka, Croatia. Doi: 10.5772/51426.
3. Atta-Alla, H. M. C., Alister, B. G. & Van Staden, J. (1998). In vitro culture and establishment of *Anthurium parvispathum South African journal of Botany*, 64, 296-298.
4. Bakhshi Khaniki, Gh. & Ghasemi, M. (2011). Micropropagation of Anthurium study through tissue culture. *Cell-Molecular Biotechnology News*, (4). (in Farsi)
5. Bairamizadeh, E. & Azadi, P. (2007). The effect of growth regulators on shoot formation in *Anthurium Andreanum*. *Research and Construction*, (76), 63-70. (in Farsi)
6. Bairamizadeh, E., Azadi, P. & Mii, M. (2008) Optimization of factors affecting organogenesis and somatic embryogenesis of Anthurium andreanum Lind. 'TERA'. *Propagation of Ornamental Plants*, 8(4), 198-203.
7. Callotte, V. (2004). *Anthurium aristocracy*. *New Zealand Garden Journal*, 7(1), 3-5.
8. Cen, Y. Q., Jiang, R. M., Deng, Z. L. & Ni, D. X. (1993).In vitro propagation of *Anthurium andreanum.* Morphogenesis and effects of physical and chemical factors. *Acta Horticulturae Sinica*, 20, 187-192. (in Chinese with English abstract).
9. Dufour, L. & Guerin, V. (2008). Growth developmental feature and flower production of *Anthurium andreanum* Lind. in tropical condition. *Scientia Horticulturae*, 98, 25-35.
10. Gantait, S. & Sinniah, U. R. (2011). Morphology, flow cytometry and molecular assessment of ex-vitro grown micropropagated anthurium in comparison with seed germinated plants. *African Journal of Biotechnology*, 10(64), 13991-13998.
11. Elibox, W. & Umaharan, P. (2010). Cultivar differences in the deterioration of vase-life in cut-flowers of Anthurium andraeanum is determined by mechanisms that regulate water uptake. *Scientia Horticulturae*, 124(1), 102-108.
12. Gantait, S. & Sinniah, U. R. (2011). Grown micropropagated anthurium in comparison with seed germinated plants. *Journal of Biotechnology*, 10(64), 13991-13998.
13. Geier, T. (1982). Morphogenesis and plant regeneration from spadix frag-ments of *Anthurium scherzerianum* cultivated in vitro. *5th Int. Cong. Plant Tiss. Cell Culture*, Tokyo. pp. 137-138.
14. Geier, T. (1982). Morphogenesis and plant regeneration from spadix fragments of Anthurium scherzerianum cultivated in vitro. In Plant tissue culture 1982: proceedings, *5th International Congress of Plant Tissue and Cell Culture held at Tokyo and Lake Yamanake, Japan*, July 11-16, 1982/edited by Akio Fujiwara. Tokyo: Japanese Association for Plant Tissue Culture, [1982?].
15. Gomes, F., Simoes, M., Lopes, M. L. & Canhoto, J. M. (2010). Effect of plant growth regulators and genotype on the micropropagation of adult trees of *Arbutus unedo* L. (strawberry tree). *New Biotechnology*, 27(6), 882-892.
16. Hartmann, H. T., Kester, D. E., Davies, F. T. & Geneve, R. L. (1997). *Plant propagation: principles and practices* (No. Ed. 6). Prentice-Hall Inc.
17. Hamidah, M., Debergh, P. C. & Abdul Karim, A. G. (1995). Somatic embryogenesis of *Anthurium scherzerianum* Schott. *Mededelingen-Faculteit Landbouwkundige en Toegepaste Biologische Wetenschappen Universiteit Gent (Belgium)*, 60(4a), 1671-1673.
18. Hedayat, M. & Khoshkhoy, M. (2005). Effect of culture media and growth regulators on micropropagation of Pyrethrum. *Journal of Horticultural Science and Technology*, (6), 171-182. (in Farsi)
19. Ho, W. & Vasil, I. K. (1983). Somatic embryogenesis in sugarcane (*Sancharrum officinarum* L.). I. The morphology and ontogeny of somatic embryos. *Protoplasma*, 118, 169-180.
20. Hua, X. (2014). Flower market research report in Chinese New Year in 2013. *China Flowers Hortic*, 13, 24-28.
21. Jahan, M. T., Islam, M. R., Khan, R., Mamun, A. N. K., Ahmed, G. & Hakim, H. (2009). In vitro clonal propagation of Anthurium (*Anthurium andraeanum*) using callus culture. *Plant Tissue Culture and Biotechnology*, 9(1), 61-69.
22. Jain, S. M. & Ochatt, S. J. (2010). *Protocols for In Vitro Propagation of Ornamental Plants*. Springer Protocols, Humana Press. New York.
23. Kapchina, V. & Yakimova, E. (1997). Effect of puring and phenylurea cytokinins on peroxidase activity in relation to apical dominance of in vitro cultivated *Rosa hybrid* L. *Bulgarian Journal of Plant Physiology*, 23, 40-48.
24. Khalighy, A. (2007). *Check micropropagation and somatic emberyogenesis in the Alstromeria flower cultivar Fuego*. M. Sc.thesis.Univ.Tehran. 49-58.

25. Khorrami Raad, M. & Shoor, M. (2011). The effect of growth regulators on the micropropagation two commercial cultivars *Anthurium andraeanum* in vitro. *Journal of Horticultural Science*, 25(2), 137-146. (in Farsi)
26. Khorrami Raad, M., Bohluli Zanjani, S., Ramezani Sayyad, A., Maghsudi, M. & Kaviani, B. (2012). Effect of Cultivar, Type and Age of Explants, Light Conditions and Plant Growth Regulators on Callus Formation of *Anthurium*. *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Science*, 12(6), 706-712.
27. Kuehnle, A. R. & Sugii, N. (1991). Callus induction and plantlet regeneration in tissue cultures of Hawaiian Anthuriums. *HortScience*, 26(7), 919-921.
28. Kunisaki, J. T. (1980). In vitro propagation of *Anthurium andreanum*. *HortScience*, 15, 508-509.
29. Lee, C. W. & Thomas, J. C. (1985). Tissue culture propagation of buffalo gourd. *HortScience*, 20, 218-219.
30. Martin, K. P., Joseph, D., Madassery, J. & Philip, V. J. (2003). Direct shoot regeneration from lamina explants of two commercial cut flower cultivars of *Anthurium andraeanum* Hort. *In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant*, 39(5), 500-504.
31. Moradi, B. P. & Vaez livari, V. (2004). Proliferation and production of *Anthurium andreanum* through tissue culture system. *The First National Seminar of Cut Flowers*. (in Farsi)
32. Nhut, D. T., Duy, N., Vy, N. N. H., Khue, C. D., Khiem, D. V. & 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.
33. Norton, M. E. & Boe, A. A. (1982). In vitro propagation of ornamental *rosa ceous* plants. *HortScience*, 17, 190-191.
34. Rikken, M. (2010). *The European Market for Fair and Sustainable Flowers and Plants. Trade for Development Centre*, Belgian Development Agency, Belgium, pp. 63.
35. Sedaghati, B. & Babaian Jelodar, N. (2015). Effect of leaf Explants types and various levels of 2,4-D on callus induction and plant regeneration in *Anthurium andraeanum*. *Journal of Crop Breeding*, (16). (in Farsi)
36. Xilin, H. (1992). Effect of different cultivars and hormonal conditions on strawberry anther culture in vitro. *Journal of Nanjing Agriculture University*, 15, 21-28.
37. Zeng, S. J., Yu, Z. M. & Ke, X. Y. (2004). *Foliage Plant of Araceae*. (pp.48-52.) China Forestry PublishingHouse.