بررسی تاثیر تنظیم کننده های رشد گیاهی BA ، 2,4-D و NAA بر تولید کالوس در گیاه *Anthurium scherzerianum* در شرایط *In Vitro*

احمد نوروزی[۱] ، عبدالرضا باقری[۲] ، نسرین مشتاقی[۲] ، احمد شریفی[۳]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد گروه بیوتکنولوژی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

۲- هیات علمی گروه بیوتکنولوژی و بهنژادی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

۳- عضو هیات علمی گروه بیوتکنولوژی گیاهان زینتی، جهاد دانشگاهی مشهد

Email: ahmad.noroozi@stu.um.ac.ir

چکیده

آنتوریوم(*Anthurium scherzerianum*) از خانواده گل شیپوری (Araceae) و بومی منطقه مرکزی و جنوبی آمریکا می باشد. ازدیاد سنتی آنتوریوم شامل جدا کردن پاجوش و قلمه زدن می باشد. امروزه کشت بافت به علت تکثیر سریع و حذف بیماریها اهمیت خاصی دارد. پژوهش حاضر با هدف مطالعه فاکتورهای مختلفی نظیر نوع و غلظت تنظیم کننده های رشد و نوع ریزنمونه بر القا و تشکیل کالوس انجام شد. در این پژوهش از ریزنمونه برگ و دمبرگ استفاده شد که پس از تقسیم به قطعات۱×۱ سانتی متر کشت گردید. برای ضدعفونی ریزنمونه ها از هیپوکلریک سدیم ۱/۵ درصد به مدت ۱۵ دقیقه استفاده شد. برای القای کالوس از محیط کشت MS حاوی سطوح هورمونی BA در سه سطح(۰/۵، ۱/۲۵، ۲) در ترکیب با 2,4-D در سه سطح(۰/۵، ۱، ۲) و NAA در سه سطح (۰/۵، ۱/۲۵، ۲) استفاده شد. ریزنمونه ها تحت شرایط تاریکی و در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد نگهداری شدند. این آزمایش بصورت فاکتوریل با طرح پایه کاملا تصادفی در ۱۲ تکرار مورد بررسی قرار گرفت. نتایج آزمایش نشان داد در ریزنمونه دمبرگ بیشترین درصد کالوس زایی(۹۰٪)، بیشترین درصد زنده مانی(۹۵٪)، بیشترین حجم کالوس($۵mm^3$) و سرعت کالوس زایی(۸۸٪) در ترکیب هورمونی ۲ میلی گرم در لیتر ازBA در ترکیب با ۰/۵ میلی گرم در لیتر 2,4-D تولید شد. همچنین نتایج آزمایش نشان داد در ریزنمونه برگ نیز بیشترین درصد کالوس زایی(۶۰٪)، بیشترین درصد زنده مانی(۵۸٪)، بیشترین حجم کالوس($۴mm^3$) و سرعت کالوس زایی(۶۱٪) در ترکیب هورمونی۲ میلی گرم در لیتر ازBA در ترکیب با ۰/۵ میلی گرم در لیتر 2,4-D تولید شد.

کلمات کلیدی: آنتوریوم، کشت بافت، تکثیر، کالوس

مقدمه

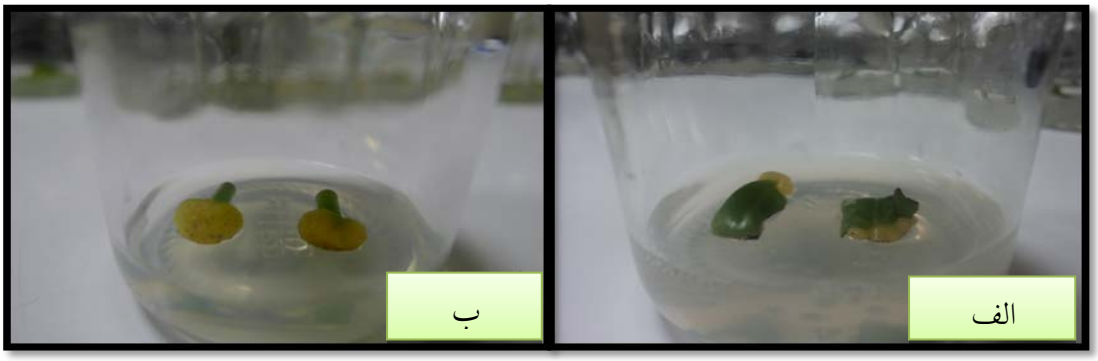
گیاه آنتوریوم گلدانی(*Anthurium scherzerianum*) از مهمترین گونه های جنس آنتوریوم است که به جهت دارا بودن گل های بسیار زیبا و جذاب با طول عمر مفید، زیاد مورد بهره برداری قرار می گیرد[1]. اهمیت و جایگاه گل آنتوریوم در میان گیاهان زینتی به لحاظ قیمت بالای آن در حدی است که لزوم استفاده از روش های نوین جهت نیل به اهداف اقتصادی را ایجاب می کند. روش سنتی افزایش آنتوریوم از طریق تقسیم بوته پاجوش های کوچک اطراف گیاه مادری و انتقال قلمه های انتهایی دو یا سه برگ و ریشه دار کردن آنها در شرایط مه افشان می باشد. راندمان تولید در این روش پایین است و سالانه حداکثر ۸ گیاه از یک گیاه مادری قابل تولید است، افزایش از طریق بذر نیز موجب تفرق صفات در نتاج گردیده و گیاهان حاصل نیز برای به گل رفتن به سه سال وقت نیاز دارند. بواسطه اینکه برای تولید تجاری و صادراتی، زمان و یکنواختی تولید اهمیت ویژه ای دارد، از این رو استفاده از روش های کشت بافت گیاهی و یا ریزازدیادی آنتوریوم بهترین راه برای دستیابی به تعداد زیاد گیاه با ساختار ژنتیکی یکسان است، که کاهش هزینه های تولید و امکان تولید مداوم و سریع را در پی خواهد داشت[2]. کشت بافت آنتوریوم برای اولین بار در سال ۱۹۷۴ توسط پیریک و همکارانش گزارش شد. محیط کشت مورد استفاده در پژوهش پیریک و همکاران، MS حاوی عناصر کم مصرف و $MS\frac{1}{2}$ حاوی عناصر پر مصرف همراه با ۳ درصد ساکارز و ۰/۷ درصد آگار بود. کالوس زایی و واکشت آن در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد و در تاریکی انجام گرفت. ریزازدیادی آنتوریوم با استفاده از ریز نمونه های مختلفی مانند برگ، دمبرگ، اسپادیکس، اسپاد، بذر، جوانه جانبی و نوک ساقه انجام شده است[3]. در پژوهشی، مونتز و همکاران از الکل ۷۰ درصد و سپس هیپوکلریت سدیم (NaClo) برای ضدعفونی ریز نمونه‌های برگ استفاده کردند، که بازده این روش ضدعفونی بیش از ۹۰ درصد بود. معمولاً برای جنین‌زایی سوماتیکی *A. andraeanum* از سطوح بالاتر اکسین به ستیوکینین استفاده می‌شود. در بین اکسین‌ها از 2,4-D و در بین سیتوکینین از Kin استفاده شده است[6]. در سال ۱۹۸۰، کونیساکی کشت درون شیشه ای *A. andraeanum* را از قطعات میانگره ساقه گزارش داد، در آزمایش آنها محیط کشت MS مورد استفاده قرار گرفت. گییر(۱۹۸۶)، بیان کرد که سن و ژنوتیپ در باززایی گیاه آنتوریوم نقش موثری دارد وی همچنین تاثیر نیترات آمونیوم(NH_4NO_3) را در کالوس زایی ریزنمونه های بافت برگ جوان مورد بررسی قرار داد[4]. تی‌چاتو و همکاران طی پژوهشی اثر رقم، نوع ریزنمونه، محیط کشت و نقش ایجاد خراش در ریزنمونه‌ی برگ را بر القای کالوس در جنین‌زایی و اندام‌زایی آنتوریوم بررسی کردند. نتایج آزمایش نشان داد که اثر ژنوتیپ در کالوس‌زایی بسیار موثر است. از نظر نوع ریزنمونه نیز بین گره، برگ و میان گره، در هر سه رقم انتخاب شده، برگ بیشترین کالوس‌زایی را نشان داده است. اما در مورد محیط کشت پایه بین محیط کشت های NN, MMS, MS, WPM (همراه با ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BA و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر TDZ) در ریزنمونه‌ی گره محیط کشت MMS و در ریزنمونه برگ، هر دو محیط کشت MS و MMS بیشترین درصد کالوس‌زایی را داشتند. در مورد ریزنمونه‌های خراش داده شده و سالم ریزنمونه‌های خراش داده شده در هر سه رقم بیشترین درصد کالوس‌زایی را به خود اختصاص دادند[5]. نتایج نشان می‌دهد که نسبت بالای یک سیتوکینین مثل BA با غلظت‌های پایین یک اکسین مثل NAA می‌تواند بهترین نتیجه را در پینه‌زایی برگ‌های آنتوریوم داشته باشد. وجود یک اکسین مانند 2,4-D NAA IBA, و یا IAA برای تحریک پینه‌زایی در ریز نمونه‌های برگ ضروری به نظر می‌رسد. برهمکنش NAA و BA اثر بهتری بر پینه‌زایی داشته است که شدت این برهمکنش متأثر از نسبت هورمون‌های مذکور است[2]. هدف از این پژوهش مطالعه و بررسی کالوس زایی در ریزنمونه های برگ و دمبرگ گیاه آنتوریوم در شرایط درون شیشه ای بود. همچنین بهترین محیط کشت برای کالوس زایی و تعیین سطوح مطلوب تنظیم کننده های رشد برای آن نیز می تواند گامی موثر در جهت تولید انبوه این گیاه از طریق کشت بافت باشد.

مواد و روش ها

برای اجرای تحقیق ۱۲ گلدان گیاه آنتوریوم(*Anthurium scherzerianum*)از بازار گل مشهد تهیه شد و در گلخانه تحقیقاتی جهاد دانشگاهی مشهد با شرایط محیطی و تغذیه مناسب نگهداری شدند. برگ های گیاه آنتوریوم از گیاه مادری جدا شد، به آزمایشگاه منتقل شد. برگ ها در زیر جریان آرام آب ملایم به مدت۳۰ دقیقه قرار گرفتند و سپس به مدت۱۵دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم ۱/۵درصد به همراه ۲ تا ۳ قطره توین ۲۰ ضدعفونی شدند. در نهایت ۳ بار شستشو با آب مقطر استریل به فاصله ۵ دقیقه انجام شد. در مرحله بعد حاشیه های آسیب دیده برگ ها حذف شده و پس از تقسیم شدن به قطعات کوچک تر روی محیط کشت های پایه حاوی ساکارز به میزان ۳۰ گرم بر لیتر و تنظیم کننده های رشد شامل سطوح هورمونی BA در سه سطح(۰/۵، ۱/۲۵، ۲) در ترکیب با 2,4-D در سه سطح(۰/۵، ۱، ۲) و NAA در سه سطح (۰/۵، ۱/۲۵، ۲) درpH معادل۵/۷ کشت شدند. ریزنمونه ها تحت شرایط تاریکی و در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد نگهداری شدند. محیط های کشت شده در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد در اتاق رشد در شرایط تاریکی قرار گرفتند. بازبینی نمونه ها هر هفته انجام شده و در صورت آلودگی از اتاق رشد خارج شدند. این آزمایش بصورت فاکتوریل با طرح پایه کاملا تصادفی در ۱۲ تکرار مورد بررسی قرار گرفت. صفات درصد کالوس زایی، درصد زنده مانی، حجم کالوس و سرعت کالوس زایی به طور دقیق مورد ارزیابی و یادداشت برداری قرار گرفت. آنالیز نتایج داده ها با استفاده از نرم افزار SAS و مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۰/۰۱ و ۰/۰۵ انجام شد.

نتایج و بحث

اثر نوع ریزنمونه: در این آزمایش فاکتورهای مختلفی نظیر ریزنمونه(برگ، دمبرگ، اسپاد، اسپادیکس)، سطوح مختلفی از هورمون NAA,BA و2,4-D همچنین شرایط تاریکی و روشنایی بررسی شد. با توجه به نتایج بدست آمده مشخص شد که تیمار هورمونی و نوع ریزنمونه در تشکیل کالوس موثر است. پس از بررسی مشاهدات مشخص گردید که تاریکی اثر تعیین کننده بر فعالیت های تقسیم سلولی و تشکیل کالوس در ریزنمونه های کشت شده دارد به طوری که صرف نظر از نوع و غلظت هورمونی و نوع قطعه جداکشت تمامی نمونه هایی که در معرض فتوپریود ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی قرار داشتند، کوچکترین نشانه ای از تقسیم سلولی در آنها مشاهده نگردید، همچنین به دلیل اینکه ریزنمونه های اسپاد و اسپادیکس، علی رغم کنترل آلودگی در محیط نکروزه شده و از بین می رفتند و تمهیدات بازکشت های متوالی نیز سود بخش نبود. بنابراین از ادامه کار با ریزنمونه های اسپاد و اسپادیکس و روشنایی به دلایل گفته شده صرف نظر شد.



شکل۱: ریزنمونه برگ(الف) و ریزنمونه دمبرگ(ب)

اثر غلظت BA بر کالوس زایی

آنالیز واریانس نشان داد که غلظت متفاوت BA (۰/۵، ۱/۲۵، ۲ میلی گرم در لیتر) تاثیر معنی داری روی القاء و تشکیل کالوس در ریزنمونه دمبرگ و برگ گیاه آنتوریوم داشته است. بر اساس نتایج تجزیه واریانس، اثر سطوح مختلف BA بر حجم کالوس در ریزنمونه دمبرگ در سطح ۰/۰۱معنی دار بود، اما در ریزنمونه برگ معنی دار نشد. با کاهش غلظت BA از مقدار۲میلی گرم بر لیتر مقدار کالوس تشکیل شده کاهش نشان داد. همچنین تجزیه واریانس نشان داد که اثر غلظت BA بر روی درصد زنده مانی و سرعت کالوس زایی در سطح۰/۰۱معنی دار است(جدول۱).

اثر غلظت 2,4-D بر کالوس زایی

نتایج بدست آمده نشان داد اثر سطوح 2,4-D (۰،۱/۵، ۲) بر درصد کالوس زایی ریزنمونه های دمبرگ و برگ در سطح۰/۰۱ معنی دار است. تجزیه واریانس اثر معنی دار غلظت 2,4-D را بر حجم کالوس و درصد زنده مانی در سطح ۰/۰۱ نشان می دهد. تجزیه واریانس نشان داد که غلظت متفاوت 2,4-D (۰،۱/۵، ۲ میلی گرم در لیتر) تاثیر معنی داری روی سرعت کالوس زایی در ریزنمونه دمبرگ و برگ گیاه آنتوریوم *Anthurium scherzerianum* داشته است(جدول۱).

اثر متقابلBA و2,4-D بر کالوس زایی

آنالیز واریانس وجود اثر متقابل معنی داری را بین غلظت BA و 2,4-D بر روی درصد کالوس زایی در سطح ۰/۰۵ در ریزنمونه دمبرگ نشان می دهد اما در ریزنمونه برگ اثر معنی داری نداشت(شکل۲). همچنین تجزیه واریانس وجود اثر متقابل معنی داری را بین غلظت BA و 2,4-D بر روی درصد زنده مانی در ریزنمونه دمبرگ در سطح۰/۰۱نشان می دهد اما در ریزنمونه برگ اثر معنی داری نداشت(جدول۱). نتایج تجزیه واریانس نشان می دهد که اثر متقابل بین غلظت BA و 2,4-D تاثیر معنی داری روی حجم کالوس در ریزنمونه دمبرگ و برگ گیاه *Anthurium scherzerianum* نداشته است. بررسی مقایسه حجم کالوس با آزمون دانکن نشان می دهد که حداکثر میزان تولید کالوس در ترکیب هورمونی۲ میلی گرم در لیتر ازBA در ترکیب با ۰/۵ میلی گرم در لیتر 2,4-D تولید شد و به دلیل ظرفیت بالای آن در کالوس با حجم بزرگتر، سرعت کالوس زایی، درصد زنده مانی و درصد کالوس زایی بالا به عنوان سطح هورمون مناسب برای القاء کالوس زایی بر روی ریزنمونه دمبرگ گونه *Anthurium scherzerianum* شناخته شد(شکل۳). در کشت بافت آنتوریوم (*Anthurium scherzerianum*) ریزنمونه های دمبرگ نسبت به ریزنمونه های برگ نتیجه بهتری در کالوس زایی نشان دادند، با توجه به نتایج بدست آمده مشخص می گردد که تیمار هورمونی و نوع ریزنمونه در تشکیل کالوس موثر است، نتایج مشابه توسط تی چاتو و همکاران به دست آمده است. تی چاتو و همکاران(۲۰۰۶) گزارش کردند که در سه رقم(پلیو، سانیت و والنتینو) گیاه *A. andraeanum* ریزنمونه میانگره رقم والنتینو بیشتر از ریزنمونه های گره و برگ ارقام دیگر در محیط کشت MS حاوی TDZ (۵/. میلی گرم در لیتر) به همراه BA (۵/. میلی گرم در لیتر) کالوس زایی نشان دادند[5].

اثر غلظت NAA بر کالوس زایی

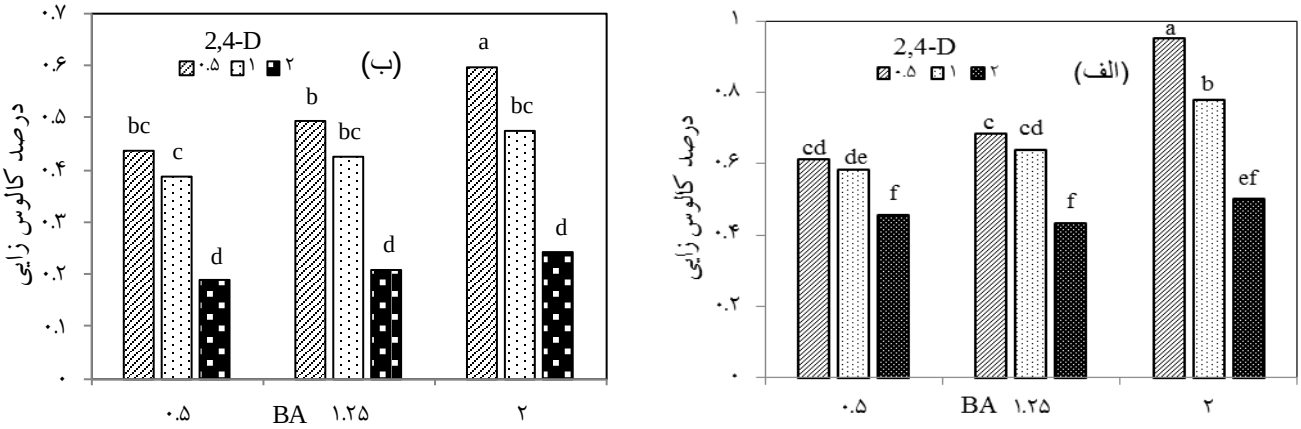
آنالیز واریانس نشان داد که غلظت متفاوت NAA (۰/۵، ۱/۲۵، ۲ میلی گرم در لیتر) تاثیر معنی داری روی القاء و تشکیل کالوس در ریزنمونه دمبرگ و برگ گیاه آنتوریوم داشته است. بر اساس نتایج تجزیه واریانس، اثر سطوح مختلف NAA بر حجم کالوس در ریزنمونه دمبرگ و برگ معنی دار نشد. همچنین تجزیه واریانس نشان داد که اثر غلظت BA بر روی درصد زنده مانی و سرعت کالوس زایی در سطح۰/۰۱معنی دار است(جدول۲).

اثر غلظت BA بر کالوس زایی

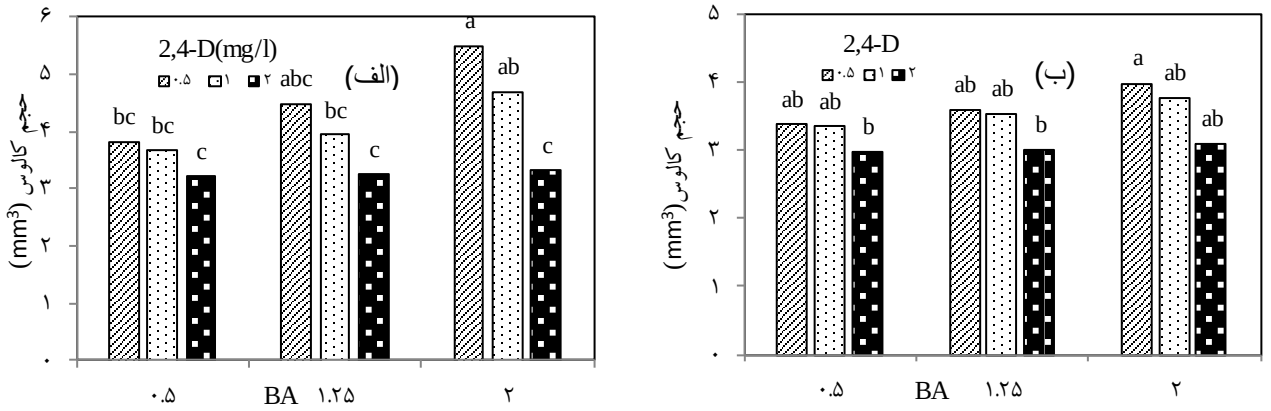
آنالیز واریانس نشان داد که غلظت متفاوت BA (۰/۵، ۱/۲۵، ۲ میلی گرم در لیتر) تاثیر معنی داری روی القاء و تشکیل کالوس در ریزنمونه دمبرگ و برگ گیاه آنتوریوم داشته است. بر اساس نتایج تجزیه واریانس، اثر سطوح مختلف BA بر حجم کالوس در ریزنمونه دمبرگ و برگ معنی دار نشد. همچنین تجزیه واریانس نشان داد که اثر غلظت BA بر روی درصد زنده مانی و سرعت کالوس زایی در سطح۰/۰۱معنی دار است(جدول۲).

اثر متقابلBA و NAA بر کالوس زایی

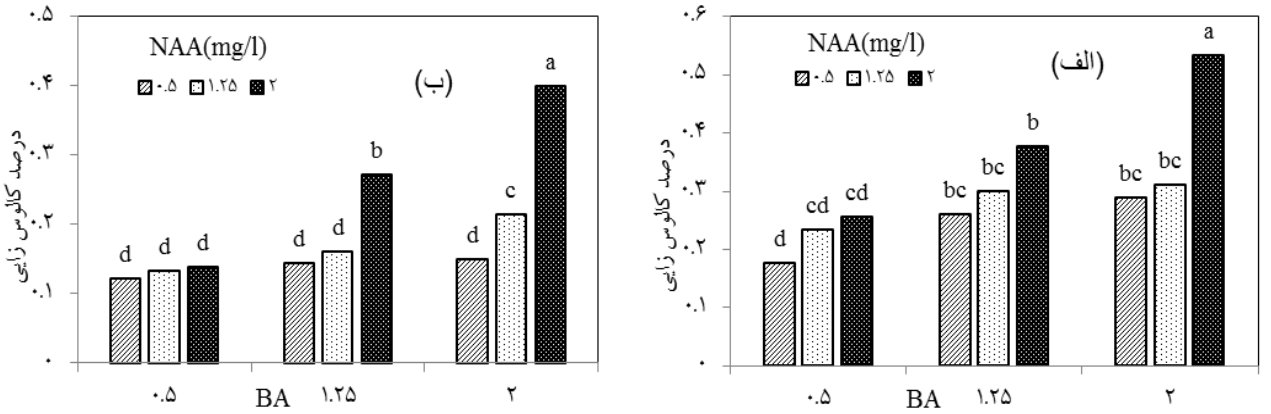
آنالیز واریانس وجود اثر متقابل معنی داری را بین غلظت BA و NAA بر روی درصد کالوس زایی در سطح ۰/۰۵ در ریزنمونه برگ نشان می دهد اما در ریزنمونه دمبرگ اثر معنی داری نداشت(شکل۴). همچنین تجزیه واریانس وجود اثر متقابل معنی داری را بین غلظت BA و NAA بر روی درصد زنده مانی در ریزنمونه دمبرگ و برگ در سطح۰/۰۱نشان می دهد(جدول۲). نتایج تجزیه واریانس نشان می دهد که اثر متقابل بین غلظت BA و NAA تاثیر معنی داری روی حجم کالوس در ریزنمونه دمبرگ و برگ گیاه *Anthurium scherzerianum* نداشته است. نتایج نشان داد که افزایش همزمان غلظت دو هورمون BA و NAA سبب افزایش میزان تولید کالوس و سرعت تولید کالوس شده است(شکل۵). بررسی مقایسه حجم کالوس با آزمون دانکن نشان می دهد که حداکثر میزان تولید کالوس در ترکیب هورمونی۲ میلی گرم در لیتر ازBA در ترکیب با ۲ میلی گرم در لیتر NAA تولید شد. با توجه به زیبایی، تنوع و طول عمر زیاد گل های آنتوریوم، تقاضای آن در سال های اخیر رو به افزایش است. ازدیاد *Anthurium scherzerianum* از طرق تقسیم بوته و قلمه به دلیل تولید محدود گیاه در مدت زمان طولانی و گسترش بیماری های ویروسی کمتر مورد توجه است. امروزه تولید تجاری آن در دنیا از روش کشت درون شیشه ای انجام می شود. لذا ضرورت تحقیق و توصیه روش مناسب جهت ریزازدیادی و کشت بافت این گیاه در داخل کشور احساس می شود. در کشت بافت آنتوریوم ریزنمونه های دمبرگ نسبت به ریزنمونه های برگ نتیجه بهتری در کالوس زایی نشان دادند.



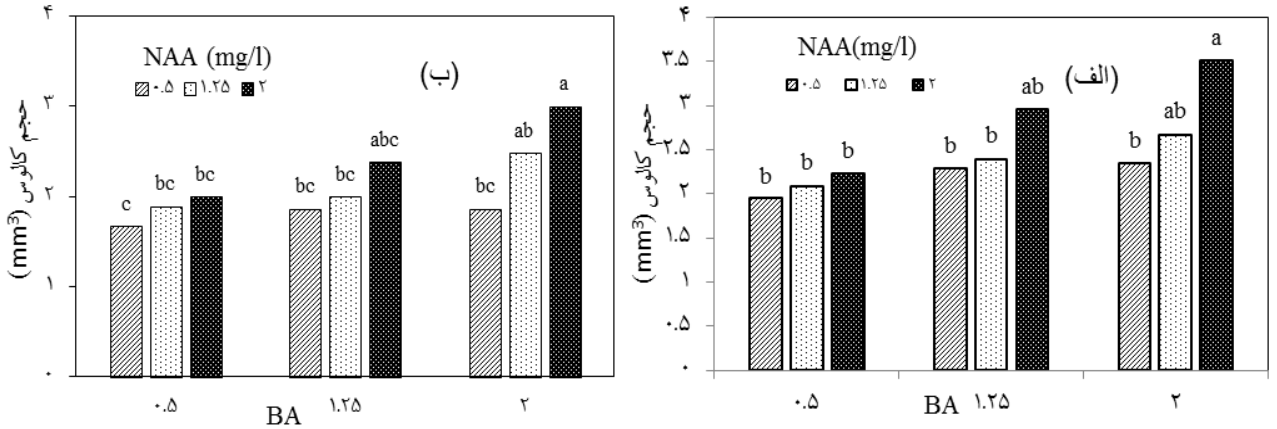
شکل۲: تاثیر ترکیب هورمونی در صفت درصد کالوس زایی در ریزنمونه دمبرگ(الف) برگ(ب) در گونه*Anthurium scherzerianum*



شکل۳: تاثیر ترکیب هورمونی در صفت حجم کالوس در ریزنمونه دمبرگ(الف) برگ(ب) در گونه*Anthurium scherzerianum*



شکل٤: تاثیر ترکیب هورمونی در صفت درصد کالوس زایی در ریزنمونه دمبرگ(الف) برگ(ب) در گونه*Anthurium scherzerianum*



شکل٥: تاثیر ترکیب هورمونی در صفت حجم کالوس در ریزنمونه دمبرگ(الف) برگ(ب) در گونه*Anthurium scherzerianum*

جدول ۱: اثر متقابل ریزنمونه و ترکیب هورمونی بر صفات درصد کالوس زایی، درصد زنده مانی و حجم کالوس در گونه *Anthurium scherzerianum*

نوع ریزنمونه	تیمارهای مورد بررسی (mg/l)	صفات اندازه گیری شده		
		درصد کالوس زایی	درصد زنده مانی	حجم کالوس (mm^3)
دمبرگ	۰/۵BA + ۰/۵ 2,4-D	۰/۶۱cd	۰/۶۳cd	۳/۸bc
	۰/۵BA + ۱ 2,4-D	۰/۵۸de	۰/۵۹de	۳/۶bc
	۰/۵BA + ۲ 2,4-D	۰/۴۵f	۰/۴۶f	۳/۲c
	۱/۲۵BA + ۰/۵ 2,4-D	۰/۶۸c	۰/۶۸c	۴/۵abc
	۱/۲۵BA + ۱ 2,4-D	۰/۶۳cd	۰/۶۴cd	۳/۹bc
	۱/۲۵BA + ۲ 2,4-D	۰/۴۳f	۰/۴۴f	۳/۲۵c
	۲BA + ۰/۵ 2,4-D	۰/۹۵a	۰/۹۵a	۵/۵a
	۲BA + ۱ 2,4-D	۰/۷۷b	۰/۷۸b	۴/۷ab
	۲BA + ۲ 2,4-D	۰/۵ef	۰/۵۱ef	۳/۳c
برگ	۰/۵BA + ۰/۵ 2,4-D	۰/۴۲bc	۰/۴۳bc	۳/۳۸ab
	۰/۵BA + ۱ 2,4-D	۰/۳۸c	۰/۳۹c	۳/۳۶ab
	۰/۵BA + ۲ 2,4-D	۰/۱۸d	۰/۲d	۳b
	۱/۲۵BA + ۰/۵ 2,4-D	۰/۴۷bc	۰/۴۸b	۳/۶ab
	۱/۲۵BA + ۱ 2,4-D	۰/۴۳bc	۰/۴۴bc	۳/۵ab
	۱/۲۵BA + ۲ 2,4-D	۰/۲۱d	۰/۲۲d	۳/۰۲b
	۲BA + ۰/۵ 2,4-D	۰/۶a	۰/۶۱a	۴a
	۲BA + ۱ 2,4-D	۰/۴۹b	۰/۵b	۳/۷ab
	۲BA + ۲ 2,4-D	۰/۲۴d	۰/۲۵d	۳b

جدول ۲: اثر متقابل ریزنمونه و ترکیب هورمونی بر صفات درصد کالوس زایی، درصد زنده مانی و حجم کالوس در گونه *Anthurium scherzerianum*

نوع ریزنمونه	تیمارهای مورد بررسی (mg/l)	صفات اندازه گیری شده		
		درصد کالوس زایی	درصد زنده مانی	حجم کالوس (mm^3)
دمبرگ	۰/۵BA + ۰/۵ NAA	۰/۱۷d	۰/۱۸d	۱/۹۵b
	۰/۵BA + ۱/۲۵ NAA	۰/۲۶cd	۰/۲۶cd	۲/۲۷b
	۰/۵BA + ۲ NAA	۰/۲۸bc	۰/۲۹c	۲/۳b
	۱/۲۵BA + ۰/۵ NAA	۰/۲۳cd	۰/۲۴cd	۲/۰۸b
	۱/۲۵BA + ۱/۲۵ NAA	۰/۳bc	۰/۳۱bc	۲/۳۸b
	۱/۲۵BA + ۲ NAA	۰/۳۱bc	۰/۳۲bc	۲/۶ab
	۲BA + ۰/۵ NAA	۰/۲۵cd	۰/۲۶cd	۲/۲b
	۲BA + ۱/۲۵ NAA	۰/۳۷b	۰/۳۸b	۲/۹ab
	۲BA + ۲ NAA	۰/۵۳a	۰/۵۴a	۳/۵a
برگ	۰/۵BA + ۰/۵ NAA	۰/۱۲d	۰/۱۲d	۱/۶۶c
	۰/۵BA + ۱/۲۵ NAA	۰/۱۴d	۰/۱۵d	۱/۸۸bc
	۰/۵BA + ۲ NAA	۰/۱۵d	۰/۱۵d	۲bc
	۱/۲۵BA + ۰/۵ NAA	۰/۱۳d	۰/۱۳d	۱/۸۶bc
	۱/۲۵BA + ۱/۲۵ NAA	۰/۱۶d	۰/۱۶d	۲bc
	۱/۲۵BA + ۲ NAA	۰/۲۱c	۰/۲۲c	۲/۳abc
	۲BA + ۰/۵ NAA	۰/۱۳d	۰/۱۴d	۱/۸۶bc
	۲BA + ۱/۲۵ NAA	۰/۲۷b	۰/۲۷b	۲/۴ab
	۲BA + ۲ NAA	۰/۴a	۰/۴۱a	۳a

منابع

1 - Kuehnle A.R. and Sugii N. 1991; Callus induction and plantlet regeneration in tissue culture of Hawaiian anthurium. Hort Science, 26: 919-921

2 -Vargas,T. E. Mejias, A. Oropeza, M.and E.Garcia.2004;Plant regeneration of Anthurium andreanum cv Rubrun.Electronic Journal of Biotechnology. Electronic J Biotech, 2004; 7:285-289.

3- Pierik, RLM and Steegmans H. 1976; Vegetative propagation of Anthurium scherzerianum schott. Through callus cultures.Scientia Horticulture 4: 219-222.

4 - Geier T. 1986. Anthurium scherzerianum and tissue culture. Deatscher-Gartenbau. V. 40(43):2030-2033.

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

6 - Monthes S., Hernandes M.M., and Varela M. 1999. Tissue culture of Anthurium andraeanum.Plant Physiology communications(china)27(6):51-54.

7 - Teng W.L. 1997. Regeneration of Anthurium adventitious shoots using liquid or solid culture. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 49(2):153-156.