گل و گیاهان زینتی (۱۳۹۹)، ۵(۱): ۱۳-۱۸

مقاله پژوهشی

DOI: 10.52547/flowerjournal.5.1.13

انگیزش پینه و اندام‌زایی در شیپوری گلدانی (*Zantedeschia* spp. cv Orania)

الهه هاشمی دهکردی[۱]، سید نجم‌الدین مرتضوی[۱]، پژمان آزادی[۲،۳*]

۱. گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان

۲. پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی ایران، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی (ABRII)، کرج

۳. پژوهشکده گل و گیاهان زینتی، موسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی (AREEO) محلات

azadip22@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۳/۸، تاریخ بازنگری: ۱۳۹۹/۸/۱۳، تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۸/۱۶

چکیده

شیپوری از گیاهان زینتی تک‌لپه به شمار می‌رود که هم به‌عنوان گیاه گلدانی و هم گل بریدنی در سراسر دنیا مشهور است. در این پژوهش، برای بررسی باززایی غیرمستقیم، از ریزنمونه‌های مختلف شیپوری گلدانی رقم Orania استفاده شد. برای تولید پینه، ریزنمونه‌های جوانه ژوخه، مریستم، و نوک شاخساره های کشت بافتی و برش‌های نازک یاخته‌ای ساقه در محیط پایه MS دارای غلظت‌های مختلف BAP و NAA کشت شدند. همچنین اثر کاربرد اسیدآمینه ال-گلوتامین و آدنین سولفات بر میزان باززایی بررسی شد. بیشترین درصد پینه‌زایی (۳/۷۳ درصد) از ریزنمونه مریستم در محیط کشت دارای ۱ میلی‌گرم در لیتر BAP به همراه ۵/۱ میلی‌گرم در لیتر NAA به‌دست آمد. با توجه به کیفیت مناسب پینه به دست آمده از مریستم، این ریزنمونه به محیط کشت MS دارای BAP و آدنین‌سولفات و ال-گلوتامین برای باززایی منتقل شد. بالاترین درصد باززایی (۳/۷۸ درصد)، بیشترین میانگین شمار شاخه (۴/۱۳ عدد) و میانگین طول شاخه (۰۶/۵۱ میلی‌متر) در تیمار ۱ میلی‌گرم در لیتر BAP به همراه ۲۰ میلی‌گرم در لیتر آدنین‌سولفات و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر ال-گلوتامین دیده شد. افزودن زغال فعال به میزان ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر به محیط ریشه‌زایی دارای ۲۵/۰ و ۵/۰ میلی‌گرم بر لیتر IAA سرعت و کیفیت ریشه‌زایی را افزایش داد. با توجه به اینکه شیپوری از گیاهان سخت‌کار در زمینه کشت بافت به شمار می‌رود، کاربرد ال-گلوتامین (۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و آدنین سولفات (۲۰ میلی‌گرم در لیتر) موجب افزایش کیفیت و شمار گیاهچه‌های باززایی شده شد. ریشه‌زایی بهینه شیپوری در محیط MS با غلظت ۵/۰ میلی‌گرم بر لیتر IAA به همراه ۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر زغال فعال صورت گرفت. گیاهچه‌های با طول مناسب به محیط کشت ریشه‌زایی منتقل شدند و در محیط کشت MS دارای ۵/۰ میلی‌گرم در لیتر IAA و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر زغال فعال بیشترین درصد ریشه‌زایی (۳/۸۸ درصد) دیده شد. گیاهچه‌های ریشه‌دار شده در گلدان‌های دارای پرلایت و کوکوپیت به نسبت حجمی مناسب و در شرایط گلخانه با موفقیت (بیش از ۷۰ درصد) سازگار شدند.

واژه‌های کلیدی: ریزافزایی، شیپوری گلدانی، پینه، گیاه سوخوار.

[Downloaded from flowerjournal.ir on 2025-05-24]

[DOR: 20.1001.1.26765993.1399.5.1.4.5]

[DOI: 10.52547/flowerjournal.5.1.13]

[Downloaded from flowerjournal.ir on 2025-05-24]

[DOR: 20.1001.1.26765993.1399.5.1.4.5]

[DOI: 10.52547/flowerjournal.5.1.13]

مقدمه

گل‌ها و گیاهان زینتی بخش بسیار مهمی از باغبانی را تشکیل می‌دهند که به دنبال آن اثر بسزایی در بازارهای بین‌المللی دارند (Azadi *et al.*, 2016). شیپوری با نام علمی *Zantedeschia* spp. گیاه بسیار جذابی از تیره شیپوریان، بومی آفریقای جنوبی بوده و به‌عنوان گل بریدنی و گیاه گلدانی، در آب و هوای معتدل تا نیمه گرمسیری رشد کرده و بسیار پرطرفدار است (Wei *et al.*, 2017). انواع شیپوری‌های سفید (*Zantedeschia aethiopica* L.) دارای نیساگ‌های ضخیم و انواع رنگی آن (*Zantedeschia* spp.) دارای ژوخه و دمگل قوی و بلند هستند (Zhang *et al.*, 2011). بر اساس آمار سال ۲۰۱۷ در کشور هلند گردش مالی گل گلدانی شیپوری ۲/۱۹ میلیون یورو بوده است و این گل رتبه پانزدهم را در بین ۲۵ گل موجود در بازار هلند داشته است (Hubner, 2017). شیپوری با بذر و تقسیم اندام زیرزمینی افزوده می شود، اما با توجه به اینکه افزایش بذری افزون بر گوناگونی صفات، موجب می‌شود که این گیاه پس از ۲ تا ۳ سال به گل رود، در حال حاضر افزایش تجاری شیپوری به روش تقسیم ژوخه صورت می‌گیرد. این روش، افزون بر این که نیاز به مهارت بالایی دارد، باعث گسترش بیماری پوسیدگی نرم ناشی از باکتری نیز می‌شود (Chang *et al.*, 2003; El-Shamy *et al.*, 2009). به‌دلیل نبود دانش فنی افزایش با کارایی بالا در این گل، سالانه چندین میلیارد تومان برای واردات این گیاه هزینه می‌شود. از این رو، تولیدکنندگان شیپوری به دنبال روشی برای کاهش این مشکل ها و تولید با کیفیت هستند. در سال‌های اخیر، استفاده از فن کشت بافت به‌عنوان ابزاری مفید برای بهنژادی گیاهان افزایش یافته است که افزایش رویشی گیاهان مهم‌ترین کاربرد این روش است (Dobranszki & Teixeira da Silva, 2010). امروزه کشت بافت گیاهی در بخش گلکاری از اهمیت بسیار زیادی برخوردار است و در سطح گسترده ای از آن استفاده می‌شود و می‌تواند به‌طور مستقل و یا به عنوان مکمل روش‌های کشت سنتی نقش داشته باشد. این صنعت در سال‌های گذشته در حال گسترش بوده، به‌طوری که تا سال ۲۰۰۶م در آزمایشگاه‌های تجاری سراسر جهان حدود ۱۵۶ جنس از گیاهان زینتی به روش کشت بافت افزایش می‌یافته است (Rout *et al.* 2006). از مهم‌ترین سودمندی‌های کشت بافت به‌صورت تجاری می‌توان به افزایش سریع ارقام، افزایش ظرفیت تولید در زمان کوتاه، تولید گیاه بدون بیماری، سرعت بخشیدن به برنامه‌های بهنژادی و تولید چند نسل در سال اشاره کرد (Azadi & Khosh-Khui, 2007). در نتیجه، کاربرد روش کشت بافت برای تولید انبوه گیاهان افزون بر صرفه‌جویی در وقت و انرژی، موجب خودکفایی صنعت گل و گیاه شده و از خروج ارز از کشور پیشگیری کرده و در کاهش خسارت و افزایش کیفیت اثرگذار می‌باشد (Chang *et al.*, 2003). روی هم رفته، کشت بافت گیاهی ابزار مناسبی برای دستیابی به هدف هایی است که در شرایط طبیعی بسیار زمان بر و یا پرهزینه است. اگرچه کاربرد موفق روش کشت بافت در افزایش شیپوری به طور گسترده گزارش شده است (Chang *et al*., 2003; Koech *et al*., 2005; Kozak & Stelmaszczuk, 2009; Sanchez *et al*., 2011; Kulpa, 2016) تا کنون گزارشی درباره باززایی غیرمستقیم (از روش تولید پینه) از شیپوری گلدانی ارائه نشده است. بنابراین، هدف این پژوهش دستیابی به دستورکار بهینه باززایی غیرمستقیم شیپوری گلدانی با استفاده از ریزنمونه‌های مختلف بود.

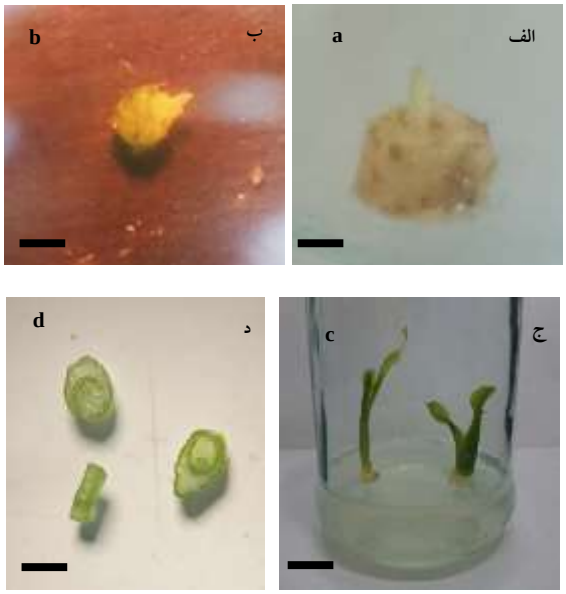
مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

این پژوهش در آزمایشگاه کشت بافت گیاهی پژوهشکده گل و گیاهان زینتی محلات انجام شد. ژوخه‌های سالم و یکسان شیپوری گلدانی رقم Orania (پس از گذراندن دوره خفتگی در پایان تابستان) گزینش شدند. پس از حذف آلودگی‌های ظاهری، جوانه‌ها از ژوخه هایی که به طول ۲-۳ میلی‌متر رشد کرده بودند برای گندزدایی جدا شدند. افزون بر این، ریزنمونه مریستم گیاهچه‌های کشت بافتی (که در آزمایشگاه کشت بافت پژوهشکده گل و گیاهان زینتی تهیه شدند)، نوک شاخساره کشت بافتی و برش های نازک یاخته‌ای[1] ساقه نیز مورد بررسی قرار گرفتند (شکل ۱).

گندزدایی

پس از حذف آلودگی ظاهری و پوسته خارجی ژوخه‌ها، جوانه‌های ژوخه جدا شدند (شکل ۱- الف) و به مدت ۳۰ دقیقه زیر آب جاری قرار گرفتند. سپس ریز نمونه‌ها در زیر هود لامینار با محلول اتانول ۷۰ درصد به مدت ۱ دقیقه و هیپوکلریت سدیم ۱/۵ درصد (۱۰ دقیقه) گندزدایی شدند. در پایان برای حذف مواد گندزدا، ریز نمونه‌ها چهار بار پی در پی و هر بار به مدت ۲ دقیقه با آب مقطر گندزدایی شده شستشو داده شدند.



شکل ۱- ریزنمونه‌های مختلف شیپوری گلدانی. الف) جوانه ژوخه، ب) مریستم، ج) نوک شاخساره کشت بافتی، و د) برش نازک یاخته‌ای ساقه (TCL). Bar: 10 mm.

Figure 1. Different explants of pot calla lily. (a) Tuber bud; (b) Meristem; (c) Tissue cultured shoot-tip; and (d) Stem thin cell layer (TCL). Bar: 10 mm.

1- Thin cell layer

[Downloaded from flowerjournal.ir on 2025-05-24]
[DOR: 20.1001.1.26765993.1399.5.1.4.5]
[DOI: 10.52547/flowerjournal.5.1.13]

[Downloaded from flowerjournal.ir on 2025-05-24]

[DOR: 20.1001.1.26765993.1399.5.1.4.5]

[DOI: 10.52547/flowerjournal.5.1.13]

پینه‌زایی

گیاهچه‌های کشت بافتی جوان در زیرکشت سوم تا پنجم (در محیط کشت MS) برای تهیه مریستم از محل رشد جوانه مورد استفاده قرار گرفتند. به این صورت که مریستم‌هایی به طول ۵ میلی‌متر در زیر بینوکولار و با استفاده از اسکالپل از گیاهچه‌ها جدا شدند (شکل ۱- ب). افزون بر این، از نوک شاخساره های کشت بافتی که در شرایط مطلوب رشد قرار داشتند، استفاده شد (شکل ۱- ج). برای تهیه برش‌های نازک یاخته‌ای، ساقه گیاهچه‌های کشت بافتی به کار رفت. به این صورت که با استفاده از اسکالپل در زیربینوکولار، برش نازک یاخته‌ای به ضخامت ۵-۶ میلی‌متر و قطر ۱۰ میلی‌متر از قطعه های ساقه جدا شده و به‌عنوان ریزنمونه به کار رفت (شکل ۱- د).

برای بررسی میزان تولید پینه، ریزنمونه‌های مختلف در محیط پایه MS (Murashige & Skoog, 1962) به همراه غلظت‌های مختلف BAP (۰، ۵/۰ ، ۱، ۵/۱ و ۲ میلی‌گرم در لیتر) و NAA (۰، ۱، ۵/۱ و ۲ میلی‌گرم در لیتر) کشت شدند. پس از گذشت یک ماه، درصد پینه‌زایی ریزنمونه‌های مختلف با رابطه (۱) محاسبه شد.

رابطه ۱: $$\text{درصد پینه زایی} = \frac{\text{تعداد پینه تشکیل شده}}{\text{تعداد کل ریز نمونه کشت شده}} \times ۱۰۰$$

باززایی

پینه‌های افزایش یافته برای باززایی روی محیط کشت پایه MS با غلظت‌های مختلف BAP (۰، ۵/۰، ۷۵/۰ و ۱ میلی‌گرم در لیتر) به همراه ۲۰ میلی‌گرم در لیتر آدنین‌سولفات و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر ال-گلوتامین کشت شدند. پس از گذشت ۴۰-۵۰ روز شمار و طول شاخه اندازه گیری و همچنین درصد باززایی براساس رابطه ۲، محاسبه شد.

رابطه ۲: $$\text{درصد باززایی} = \frac{\text{تعداد پینه باززایی شده}}{\text{تعداد پینه‌های انتقال داده شده}} \times ۱۰۰$$

ریشه‌زایی

شاخه‌های پرآوری شده با طول حدود ۶۰ میلی‌متر برای ریشه‌زایی به صورت جداگانه در محیط پایه MS با غلظت‌های مختلف IAA (۰، ۲۵/۰ و ۵/۰ میلی‌گرم در لیتر) و زغال فعال (۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر) کشت شدند. پس از دو هفته، شمار و طول ریشه اندازه گیری شد و درصد ریشه‌زایی از رابطه ۳ به دست آمد.

رابطه ۳: $$\text{درصد ریشه زایی} = \frac{\text{تعداد شاخه‌های ریشه دار شده}}{\text{تعداد شاخه‌های انتقال داده شده}} \times ۱۰۰$$

[Downloaded from flowerjournal.ir on 2025-05-24]

[DOR: 20.1001.1.26765993.1399.5.1.4.5]

[DOI: 10.52547/flowerjournal.5.1.13]

شرایط نگهداری

شرایط نگهداری ریز نمونه‌ها در مراحل مختلف کشت شامل ۱۶ ساعت نورگاه ($۶۰\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$) زیر نور لامپ سفید فلورسنت، در دمای ۲±۲۶ درجه سلسیوس بود. زیرکشت ریز نمونه‌ها به فاصله زمانی دو هفته یک بار انجام شد.

سازگاری

پس از خارج کردن گیاهچه‌ها از محیط کشت برای حذف آگار، ریشه‌ها با آب جاری شسته شدند. سپس گیاهچه‌ها در ترکیب گندزدایی شده کوکوپیت و پرلایت (۱:۱) کشت شده و روی گیاهچه‌ها برای حفظ رطوبت پوشش پلاستیکی قرار داده شد. پس از گذشت ۳ هفته، گیاهان به گلدان بزرگ‌تری منتقل شدند. گیاهچه‌ها در گلخانه در شرایط محیطی کنترل شده با دمای ۲±۲۵ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۱۰±۶۰٪ نگهداری شدند.

واکاوی آماری

این پژوهش در قالب طرح به طور کامل تصادفی در سه تکرار انجام شد. تجزیه داده‌های به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS 9.1 و مقایسه میانگین به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام گرفت.

نتایج و بحث

پینه‌زایی

به تقریب، دو هفته پس از کشت آغازین، پینه‌زایی در ریزنمونه‌ها آغاز شد. در تیمار MS بدون تنظیم‌کننده‌های رشد، در هیچ یک از ریز نمونه‌ها پینه دیده نشد. بیشترین میزان پینه‌زایی ریزنمونه مریستم در تیمار ۱ میلی‌گرم در لیتر BAP به همراه ۵/۱ میلی‌گرم در لیتر NAA (۳/۷۳ درصد) به دست آمد. بیشترین میزان پینه‌زایی ریزنمونه‌های جوانه (۳/۵۳ درصد) و ریزنمونه برش نازک یاخته‌ای (۶/۶۶ درصد) در ترکیب تیماری ۲ میلی‌گرم در لیتر BAP به همراه ۱ میلی‌گرم در لیتر NAA نشان داده شد. ریزنمونه گیاهچه‌های کشت بافتی در ترکیب ۱ میلی‌گرم در لیتر BAP به همراه ۲ میلی‌گرم در لیتر NAA بیشترین درصد پینه‌زایی (۶/۶۱ درصد) را نشان دادند (جدول ۱). بر اساس نتایج، پینه به دست آمده از ریزنمونه مریستم که از نظر کیفیت و حجم نسبت به سایر تیمارها بهتر بود، گزینش و برای مرحله باززایی به کار برده شد (شکل ۲). اگرچه گیاهان سوخوار به دلیل چندساله و تک‌لپه بودن از ریزنمونه‌های رویان، مریستم یا جوانه، پینه‌زایی بهتری دارند (Nesi *et al.*, 2009)، اما بر اساس بررسی ما، تاکنون هیچ گزارشی درباره انگیزش پینه در شیپوری گلدانی ارائه نشده است. تولید پینه از عوامل اصلی برای انجام برنامه‌های بهنژادی درون شیشه‌ای به کمک مهندسی ژنتیک یا جهش‌زایی می‌باشد (Yip *et al.*, 2007)، به همین سبب تولید پینه برای انجام سایر پژوهش ها ضروری است.

باززایی

پس از حدود ۴۰-۴۵ روز انگیزش شاخساره در ریزنمونه‌ها نمایان شد. اثر معنی‌دار استفاده از آدنین‌سولفات و همچنین ال-گلوتامین در افزایش شمار گیاهچه‌های حاصل از باززایی دیده شد. به‌طوری‌که در محیط MS بدون تنظیم‌کننده‌های رشد و

آمینواسید باززایی مشاهده نشد ولی با افزودن این ترکیب‌ها به محیط کشت MS همراه با BAP درصد باززایی افزایش یافت. بیشترین درصد باززایی (۳/۷۸ درصد) (شکل ۳)، بیشترین شمار شاخساره (۴/۱۳ عدد) (شکل ۴) و طول شاخساره (۰۶/۵۱ میلی‌متر) (شکل ۵) در تیمار ۱ میلی‌گرم در لیتر BAP به همراه ۲۰ میلی‌گرم در لیتر آدنین‌سولفات و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر ال-گلوتامین به دست آمد (شکل ۶). پژوهش ها نشان می‌دهد که یاخته‌های گیاهی برای ساخت مولکول‌هایی مانند نوکلئوتیدها، آمینواسیدها و ویتامین‌ها نیاز به نیتروژن دارند (Ageel & Elmeer, 2011). ال-گلوتامین به‌عنوان منبع نیتروژن، از مهم‌ترین اسیدهای آمینه است که نقش‌های زیادی را در سوخت و ساز یاخته‌ای ایفا می‌کند (Melvin *et al.*, 2018). اثر افزودن این اسید آمینه به محیط کشت در بهبود باززایی از ریزنمونه‌های مختلف در گونه‌های مختلف گیاهی گزارش شده است (Haque *et al.*, 2015). همچنین آدنین‌سولفات نقش مهمی در افزایش ایجاد شاخه در گیاهان باززا شده به‌عنوان یک تنظیم‌کننده رشد ایفا می‌کند (Kumar *et al.*, 2014). اثرهای مفید آدنین‌سولفات هنگامی که در ترکیب با BAP استفاده می‌شود، گزارش شده است (Bhuiyan, 2013).

جدول ۱- اثر ترکیب‌های تیماری مختلف بر پینه‌زایی ریزنمونه‌های مختلف شیپوری رقم Orania.

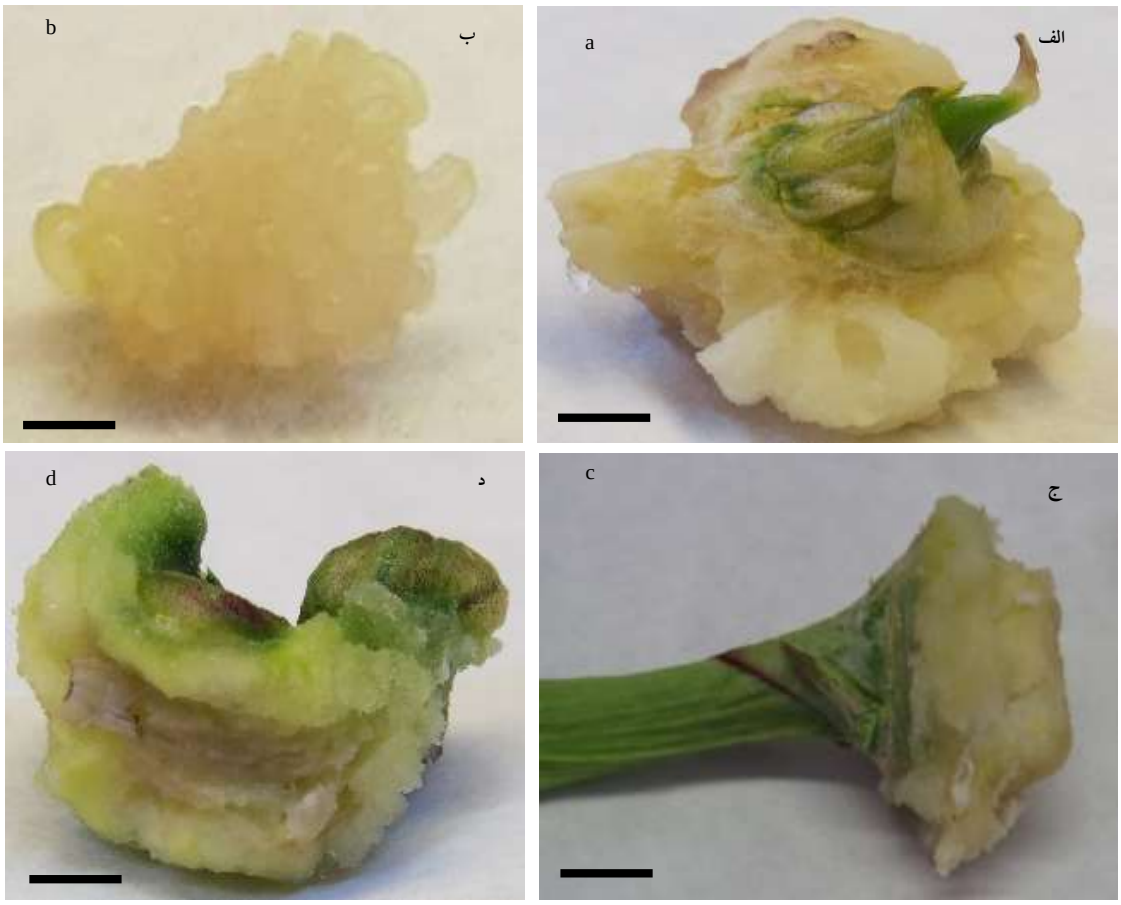
Table 1. Effect of different treatment combinations on callus formation in different explants of calla lily cv. Orania.

ترکیب‌های تیماری (میلی‌گرم در لیتر)		ریزنمونه‌های مختلف شیپوری گلدانی			
Treatment combinations (mg L^{-1})		Different explants of pot calla lily			
بنزیل آمینوپیورین	نفتالن استیک اسید	جوانه ژوخه	مریستم	نوک شاخساره کشت بافتی	برش نازک یاخته‌ای ساقه
BAP	NAA	Tuber bud	Meristem	Tissue cultured shoot-tip	Stem Thin Cell Layer
0	0	0±0 i	0±0 g	0±0 h	0±0 j
0.5	1	10.0±0.1 h	8.3±1.6 f	25.0±1.6 g	16.6±1.5 i
1	1	13.3±1.6 gh	10.0±0.2 f	30.0±1.7 fg	25.0±0.4 h
1.5	1	16.6±3.3 fg	25.0±0 e	26.6±1.6 g	36.6±1.4 e-g
2	1	53.3±1.6 a	25.0±1.9 e	36.6±2.7 ef	66.6±0.7 a
0.5	1.5	43.3±1.7 b	31.6±1.8 d	46.6±0.9 cd	46.6±0.9 bc
1	1.5	43.3±0.7 b	73.3±2.8 a	43.3±0.8 de	51.6±0.2 b
1.5	1.5	36.6±1.1 c	58.3±1.3 b	41.6±0.2 de	43.3±0.3 c-e
2	1.5	36.6±1.2 c	50.0±0.9 c	51.6±0.1 bc	41.6±0.6 c-f
0.5	2	26.6±1.6 de	50.0±0.7 c	53.3±0.5 bc	35.0±0.0 fg
1	2	21.6±0.9 ef	48.3±0.2 c	61.6±0.6 a	30.0±0.3 gh
1.5	2	30.0±2.1 d	58.3±0.4 b	55.0±0.3 ab	38.3±0.5 d-f
2	2	38.3±1.8 bc	58.3±0.8 b	53.3±0.8 bc	45.0±0.6 b-d

حروف مشابه در هر ستون نبود تفاوت معنی‌دار را در آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۱٪ نشان می‌دهد. تمام داده‌ها به صورت میانگین ± خطای استاندارد ارائه شده‌اند.

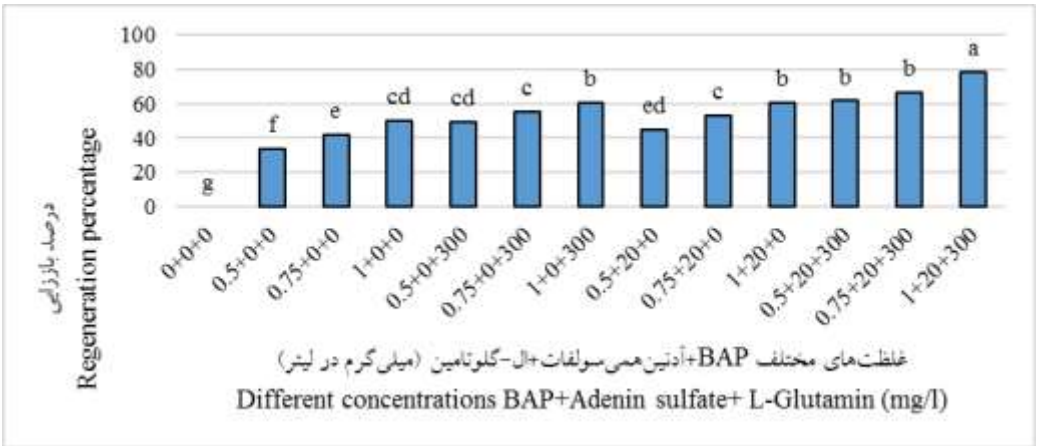
Similar letters show no significant difference in Duncan's multiple range test at the level of 1%. All data has been calculated with ± Standard error.

[Downloaded from flowerjournal.ir on 2025-05-24]
[DOR: 20.1001.1.26765993.1399.5.1.4.5]
[DOI: 10.52547/flowerjournal.5.1.13]



شکل ۲- پینه‌زایی ریزنمونه‌های مختلف شیپوری گلدانی. (الف) جوانه ژوخه، (ب) مریستم، (ج) نوک شاخساره کشت بافتی، و (د) برش نازک یاخته‌ای ساقه (TCL). Bar: 10 mm.

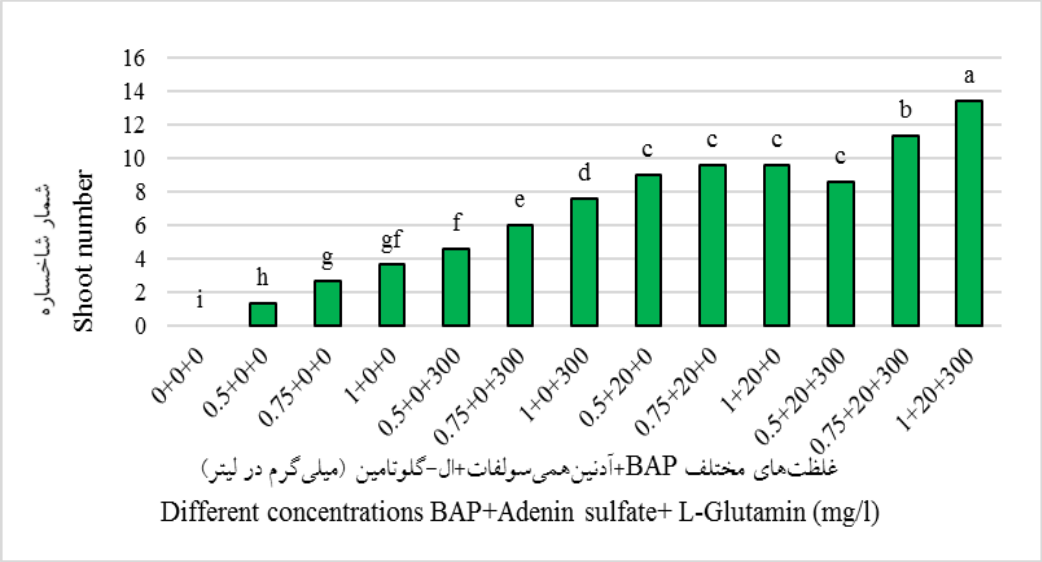
Figure 2. Callogenesis on different explants of pot calla lily. (a) Tuber bud, (b) Meristem, (c) Tissue cultured shoot-tip, and (d) Stem thin cell layer (TCL). Bar: 10 mm.



شکل ۳- اثر ترکیب‌های مختلف بر درصد باززایی شیپوری رقم **Orania**. میانگین‌های دارای حروف یکسان از نظر آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۱٪ تفاوت معنی‌داری ندارند.

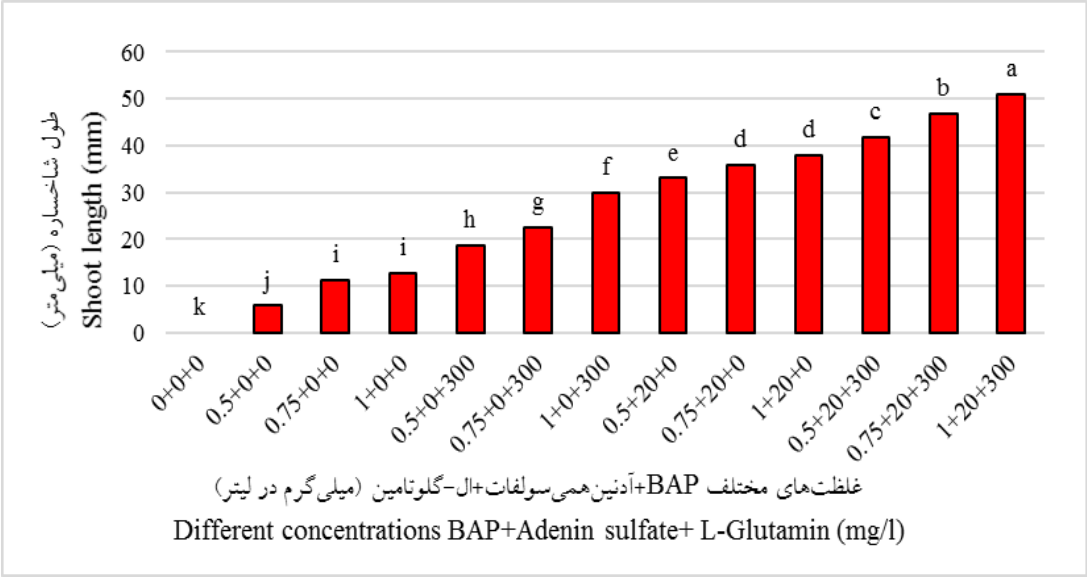
Figure 3. Effect of different treatment combinations on regeneration percentage of calla lily cv. Orania. Means with the same letters are not significantly different according to Duncan's multiple range test (1%).

[Downloaded from flowerjournal.ir on 2025-05-24]
[DOR: 20.1001.1.26765993.1399.5.1.4.5]
[DOI: 10.52547/flowerjournal.5.1.13]



شکل ۴- اثر ترکیب‌های مختلف بر شمار شاخساره باززایی کرده شیپوری رقم **Orania**. میانگین‌های دارای حروف یکسان از نظر آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۱٪ تفاوت معنی‌داری ندارند.

Figure 4. Effect of different treatment combinations on regenerated shoot number of calla lily cv. Orania. Means with the same letters are not significantly different according to Duncan's multiple range test (1%)



شکل ۵- اثر ترکیب‌های مختلف بر طول شاخساره باززایی کرده شیپوری رقم **Orania**. میانگین‌های دارای حروف یکسان از نظر آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۱٪ تفاوت معنی‌داری ندارند.

Figure 5. Effect of different treatment combinations on regenerated shoot length of calla lily cv. Orania. Means with the same letters are not significantly different according to Duncan's multiple range test (1%)

[Downloaded from flowerjournal.ir on 2025-05-24]
[DOR: 20.1001.1.26765993.1399.5.1.4.5]
[DOI: 10.52547/flowerjournal.5.1.13]

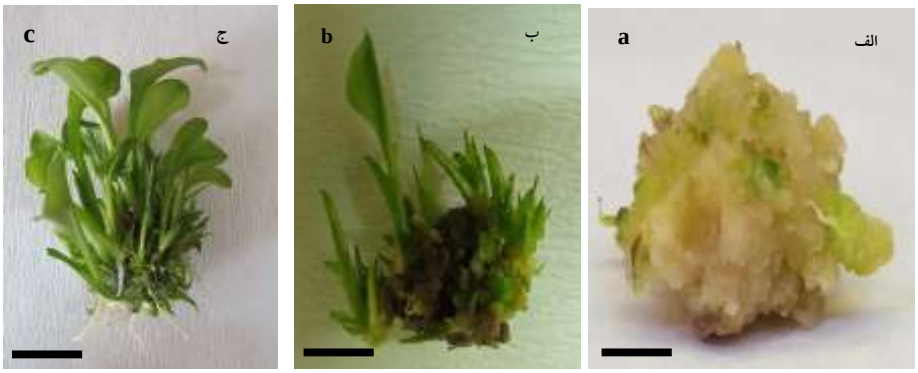
[Downloaded from flowerjournal.ir on 2025-05-24]

[DOR: 20.1001.1.26765993.1399.5.1.4.5]

[DOI: 10.52547/flowerjournal.5.1.13]

اثر IAA و زغال فعال بر ریشه‌زایی

ترکیب تیمارهای مختلف IAA و زغال فعال با غلظت‌های مختلف اثر معنی‌داری بر ریشه‌زایی گیاهچه‌های شیپوری داشت. به طور کلی پس از ۱۰ -۱۴ روز، ریشه‌زایی در گیاهچه‌ها دیده شد. در محیط MS بدون تنظیم‌کننده رشد IAA و زغال فعال کمترین درصد ریشه‌زایی، شمار و طول ریشه مشاهده شد. بیشترین درصد ریشه‌زایی (۳/۸۸ درصد)، بیشترین شمار ریشه (۶/۵) و بیشترین طول ریشه (۳۱ میلی‌متر) در تیمار ۵/۰ میلی‌گرم در لیتر IAA و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر زغال فعال به دست آمد (جدول ۲). تولید گیاهچه‌هایی با ریشه مطلوب مرحله بسیار مهمی در گیاهان باززایی کرده می‌باشد (Chandra *et al*., 2010). برای ایجاد یک سیستم ریشه‌ای مناسب، وجود اکسین و زغال فعال از عوامل اثرگذار گزارش شده است (Nagaraju *et al*., 2002). زغال فعال با ایجاد تاریکی در انتهای ساقه گیاه در محیط کشت باعث بهبود ریشه‌زایی می‌شود (Pawan *et al*., 2012). در این پژوهش گیاهچه‌های ریشه‌دار شده با موفقیت سازگار شده و به گلخانه با شرایط کنترل شده منتقل شدند (شکل ۷).



شکل ۶- مراحل اولیه انگیزش شاخه از پینه مریستمی (الف)، باززایی شاخه در محیط دارای ۷۵/۰ میلی‌گرم بر لیتر BAP+ ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر آدنین سولفات+۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر ال-گلوتامین (ب)، باززایی کامل شاخه در شیپوری در محیط دارای ۱ میلی‌گرم بر لیتر BAP+ ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر آدنین سولفات+۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر ال-گلوتامین (تیمار بهینه) (ج). Bar: 10 mm.

Figure 6. Early stages of shoot induction from meristematic callus (a), regeneration of shoots on the medium containing 0.75 mg L^{-1} BAP+20 mg L^{-1} Adenine sulfate +300 mg L^{-1} L-glutamine (b), complete regeneration of calla lily shoots on the medium containing 1 mg L^{-1}BAP+20 mg L^{-1}Adenine sulfate +300 mg L^{-1} L-glutamine (optimum treatment) (c). Bar: 10 mm.

جدول ۲- اثر غلظت‌های مختلف IAA و زغال فعال بر ریشه‌زایی شیپوری رقم Orania.

Table 2. Effect of different concentrations of IAA and activated charcoal on rooting of calla lily cv. Orania.

Treatment combinations		Root traits		
ایندول استیک اسید IAA	زغال فعال Activated charcoal	ریشه‌زایی (درصد) Rooting (%)	شمار ریشه Root number	طول ریشه (میلی‌متر) Root length (mm)
0	0	25.0±0.8 d	2.3±0.3 c	17.66±0.3 d
0.25	250	48.3±0.6 c	2.4±0.2 c	21.0±0.5 c
0.5	250	60.0±1.7 b	4.0±0 b	23.0±0.6 b
0.25	500	85.0±1.6 a	5.4±0.1 a	29.0±0.9 a
0.5	500	88.3±1.4 a	5.6±0.1 a	31.0±0.2 a

حروف مشابه در هر ستون نبود تفاوت معنی‌دار را در آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۱٪ نشان می‌دهد. تمام داده‌ها به‌صورت میانگین ± خطای استاندارد می باشند.

Similar letters show no significant difference in Duncan's multiple range test at the level of 1%. All data has been calculated with ± Standard error.

شکل ۷- ریشه‌زایی گیاهچه باززا شده شیپوری رقم Orania (راست)، گیاهچه‌های سازگار شده در ترکیب کوکوپیت و پرلایت (۱:۱) (چپ). Bar: 10 mm.

Figure 7. Rooting of regenerated plantlets of calla lily cv. Orania (right), Plantlets adapted in the mixture of coco-peat and perlite (left) (1:1). Bar: 10 mm.

نتیجه گیری

با توجه به این که شیپوری از گیاهان سرسخت در زمینه کشت بافت به شمار می‌رود، استفاده از اسیدآمینه ال-گلوتامین (۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) و آدنین سولفات (۲۰ میلی‌گرم بر لیتر) موجب افزایش کیفیت و شمار گیاهچه‌های حاصل از باززایی می‌شود. ریشه‌زایی بهینه گیاه شیپوری در محیط MS با غلظت ۵/۰ میلی‌گرم بر لیتر IAA به همراه ۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر زغال فعال ایجاد می‌شود.

سپاسگزاری

نگارندگان بر خود لازم می‌دانند از پژوهشکده گل و گیاهان زینتی محلات (OPRC) و ستاد توسعه زیست‌فناوری (شماره کمک مالی ۹۵۱۰۰۶) برای حمایت مالی در انجام این پژوهش سپاسگزاری نمایند.

منابع

Ageel, S., Elmeer, P. (2011). Effects of casein hydrolysates and glutamine on callus and somatic embryogenesis of date palm (*Phoenix dactylifera*). *New York Science Journal*, *4*, 121–12.

Azadi, P., Bagheri, H., Molaahmad Nalousi, A., Nazari, F., Chandler, S.F. (2016). Current status and biotechnological advances in genetic engineering of ornamental plants. *Biotechnology Advances*, *34*, 1073-1090.

Azadi, P., Khosh-Khui, M. (2007). Micropropagation of *Lilium ledebourii* (Baker) Boiss as affected by plant growth regulator, sucrose concentration, harvesting season and cold treatments. *Electronic Journal of Biotechnology*, *10*, 1-10.

Bhuiyan, F.R. (2013). In vitro meristem culture and regeneration of three potato varieties of Bangladesh. *Research of. Biotechnolnology*, *4*, 29-37.

Chandra, S., Bandopadhyay, R., Kumar, V., Chandra, R. (2010). Acclimatization of tissue cultured plantlets: From laboratory to land. *Biotechnology Letters*, *32*, 1199–1205.

Chang, H.S., Chakrabarty, D., Hahn, E.J., Paek, K.Y. (2003). Micropropagation of calla lily (*Zantedeschia albomaculata*) via *in vitro* shoot tip proliferation. *In Vitro Cellular and Developmental Biology- Plant*, *39*, 129-134.

[Downloaded from flowerjournal.ir on 2025-05-24]
[DOR: 20.1001.1.26765993.1399.5.1.4.5]
[DOI: 10.52547/flowerjournal.5.1.13]

Dobranszki, J., Teixeira da Silva, J.A. (2010). Micropropagation of apple — A review. *Biotechnology Advances, 28*(4), 462-488

El-Shamy, M.A., El-Feky, A.H.M., Eliwa, N.Y.L. (2009). Propagation of calla lily (*Zantedeschia aethiopica* Spreng) plants by tissue culture technique. *Bulletin of Faculty of Agriculture, Cairo University, 60*, 99-105.

Haque, M., Siddique, A.B., Islam, S.S. (2015). Effect of silver nitrate and amino acids on high frequency plants regeneration in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Plant Tissue Culture and Biotechnology*, *25*, 37–50.

Hubner, S. (2017). International statistics of flowers and plants (Compilation). *International Association of Horticultural Producers (AIPH*). www.aiph.org/statistical-yearbook. *65*, 2313-7126.

Ikeuchi, M., Sugimoto, K., Iwase, A. (2013). Plant callus: mechanisms of induction and repression. *The Plant Cell*, *25*, 3159–3173.

Koech, A.A., Isutsa, D.K., Wu, Q. (2005). Explants, hormones and sucrose influence *in vitro* shoot regeneration and rooting of calla lily (*Zantedeschia albomaculata* L. Spreng.) 'Black Magic'. *Agriculture Science Technology*, *7*, 53-66.

Kozak, D., Stelmaszczuk, M. (2009). The effect of benzyladenine on shoot regeneration *in vitro* of *Zantedeschia aethiopica* 'Green Goddess'. *Annals of UMCS, Horticultura*, *19*, 14-18.

Kulpa, D. (2016). Micropropagation of calla lily (*Zantedeschia rehmannii*). *Folia Horticulturae*, *28*, 181-186.

Kumar, V., Rashmi, D., Banerjee, M. (2014). Callus induction and plant regeneration in *Solanum tuberosum* L. cultivars (*Kufri Chipsona* 3 and MP-97/644) via leaf explants. *International Research Journal of Biological Science*, *3*, 66-72.

Melvin, A.D., Host, R., Antony, S., Ramakrishnan, M., Duraipandiyan, V., Lgnacimuthu, S., Dhabi, N.A. (2018). Effect of L-glutamine and casein hydrolysate in the development of somatic embryos from cotyledonary leaf explants in okra (*Abelmoschus esculentus* L. Monech). *South African Journal of Botany*, *114*, 223-231.

Murashige, T., Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue culture. *Physiologia Plantrum*, *15*, 473- 497.

Nagaraju, V., Howmik, G., Parthasarathy, V.A. (2002). Effect of paclobutrazol and sucrose on in vitro cormel formation in gladiolus. *Acta Botanica Croatica*, *61*, 27–33.

Nesi, B., Trinchello, D., Lazzereschi, S., Grassott, A. (2009). Production of lily symptomless virus-free plants by shoot meristem tip culture and in vitro thermotherapy. *HortScience, 44*, 217–219.

Pawan, S., Trivedi, R., Purohit, S. (2012). Activated charcoal improves rooting in in vitro derived *Acacia leucophloea* shoots. *International Journal of Plant Developmental Biology*, *6*, 47-50.

Rout, G.R., Mohapatra, A., Mohan Jain, S. (2006). Tissue culture of ornamental pot plants: A critical review on present scenario and future prospects. *Biotechnology Advances*, *24*, 531–560

Sanchez, J., Daquinta, M., Capote, I., Silva, J.T. (2011). Shoot propagation of *Zantedeschia* spp. in a temporary immersion system- Effect of culture parameters on plant proliferation and quality. *Floriculture and Ornamental Biotechnology*, *5*, 78-80.

Wei, Z., Zhang, H., Wang, Y., Li, Y., Xiong, M., Wang, X., Zhou, D. (2017). Assessing genetic diversity and population differentiation of colored calla lily (*Zantedeschia* Hybrid) for an efficient breeding program. *Genes*, *8*, 168.

Yip, M.K., Huang, H.E., Ger, M.J., Chiu, S.H., Tsai, Y.C., Lin, C.L., Feng, T.Y. (2007). Production of soft rot resistant calla lily by expressing a ferredoxin-like protein gene (*pflp*) in transgenic plants. *Plant Cell Reports*, *26*, 449-57.

Zhang, X., Wu, Q., Li, X., Zheng, S., Wang, S., Guo, L., Zhang, L., Custers, J. (2011). Haploid plant production in *Zantedeschia aethiopica* 'Hong Gan' using anther culture. *Scientia Horticulturae*, *129*, 335-342.

[Downloaded from flowerjournal.ir on 2025-05-24]
[DOR: 20.1001.1.26765993.1399.5.1.4.5]
[DOI: 10.52547/flowerjournal.5.1.13]

Flower and Ornamental Plants (2020), 5(1):13-18
Research article
DOI: 10.52547/flowerjournal.5.1.13

[Downloaded from flowerjournal.ir on 2025-05-24]

[DOR: 20.1001.1.26765993.1399.5.1.4.5]

[DOI: 10.52547/flowerjournal.5.1.13]

Callus production and organogenesis in pot calla lily (*Zantedeschia* spp. cv. Orania)

Elaheh Hashemidehkordi[1], Seyed Najmmaddin Mortazavi[1], Pejman Azadi [2,3*]

1. Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan.
2. Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran (ABRII), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj.
3. Ornamental Plants Research Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Mahallat.

azadip22@gmail.com

Received: 2020/05/28, Revised: 2020/11/03, Accepted: 2020/11/06

Abstract

Calla lily (*Zantedeschia* spp.) is one of the monocotyledonous ornamental plants that is famous as pot plant and cut flower in the world. In the present study, in order to investigate indirect regeneration, different explants of calla lily cv. Orania were used in a Completely Randomized Design (CRD). In order to produce callus, explants of tuber buds, meristem, shoot-tip from tissue cultured plantlets and thin cell layer of stem were cultured on MS medium with different concentrations of BAP and NAA as treatment combination. Afterwards, the effect of using amino acid L-glutamine and adenine sulfate on increasing the shoot induction percentage was investigated. The highest percentage of callus formation (73.3%) was obtained from meristem explant on the MS medium containing 1 mg L^{-1} BAP along with 1.5 mg L^{-1} NAA. Due to the good quality of calli induced from the meristem explants, this explant was transferred to MS medium containing BAP, adenine sulfate and L-glutamine for regeneration. Highest regeneration percentage (78.3%), highest average number of shoots (13.4) and average shoot length (51.6 mm) were obtained on the media containing 1 mg L^{-1} BAP with 20 mg L^{-1} adenine sulfate and 300 mg L^{-1} L-Glutamine. Considering that calla lily is a recalcitrant plant in tissue culture, adding 500 mg L^{-1} activated charcoal to the rooting medium containing 0.25 and 0.5 mg L^{-1} IAA increased both rooting percentage and number of roots per plantlet. Furthermore, using amino acid L-glutamine (300 mg L^{-1}) and adenine sulfate (20 mg L^{-1}) increased the quality and number of plantlets produced from regeneration. Regenerated plantlets with proper length were transferred to the MS medium containing 0.5 mg L^{-1} IAA with 500 mg L^{-1} activated charcoal as rooting medium with the highest percentage of root induction (88.3%). Rooted plants were adapted (more than 70%) successfully in the perlite and cocopeat mixture (1:1) under greenhouse condition.

Keywords: Micropropagation, Pot calla lily, Callus, Bulbous plant.

.