



## تأثیر نوع ریزنمونه برگی و غلظت‌های مختلف تنظیم‌کننده‌های رشدی بر کالوس‌زایی و باززایی گیاه آنتوریوم (*Anthurium andraeanum* Var. Fire)

بهنام صدقاتی<sup>۱</sup>، نادعلی بابائیان جلودار<sup>۲</sup>، نادعلی باقری<sup>۳</sup> و حامد صالحیان آقبلاغ<sup>۴</sup>

۱- کارشناس ارشد، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، (نویسنده مسوول: behnam.sedaghati@yahoo.com)

۲، ۳، ۴- استاد، استادیار و کارشناس ارشد، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

تاریخ دریافت: ۹۰/۶/۲۹ تاریخ پذیرش: ۹۱/۲/۳

### چکیده

در ریزازدیادی درون شیشه‌ای آنتوریوم القای کالوس از ریزنمونه یکی از مراحل مهم و حساس می‌باشد. این آزمایش بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تکرار در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری در سال ۱۳۸۸ انجام گرفت. رقم مورد استفاده در این پژوهش فایر و ریزنمونه‌های مورد استفاده قطعات برگی دارای رگبرگ اصلی و فاقد رگبرگ اصلی بود. برای کالوس‌زایی محیط کشت موراشیک و اسکوک تغییر یافته (mMS) حاوی ۳ درصد ساکارز، ۰/۷ درصد آگار، همراه با تنظیم‌کننده رشدی 2,4-D، در سطوح صفر، ۰/۰۴، ۰/۰۸، ۰/۱۲، ۰/۱۶، ۰/۲۴ و ۰/۲۴ میلی‌گرم در لیتر و بنزیل آدنین (BA) به میزان ۱/۰ میلی‌گرم در لیتر مورد استفاده قرار گرفت. برای باززایی نیز از محیط کشت mMS محتوی ۲ درصد ساکارز، ۰/۷ درصد آگار، ۲۰۶ میلی‌گرم  $NH_4NO_3$ ، همراه با تنظیم‌کننده رشدی BA در سطوح ۰/۲۵، ۰/۵، ۰/۷۵ و ۱/۰ میلی‌گرم در لیتر استفاده شد. ۴ هفته پس از کشت، ریزنمونه‌های دارای رگبرگ اصلی شروع به کالوس‌زایی نمودند. بدون در نظر گرفتن غلظت 2,4-D، ریزنمونه‌های برگی دارای رگبرگ اصلی بیشترین درصد کالوس‌زایی (۴۸/۳ درصد) را داشتند. بیشترین درصد کالوس‌زایی (۸۳/۷ درصد) در ریزنمونه برگی دارای رگبرگ اصلی و در غلظت ۰/۱۶ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D و کمترین درصد کالوس‌زایی (۱۲/۵ درصد) در ریزنمونه برگی فاقد رگبرگ اصلی و در محیط کشت بدون 2,4-D مشاهده گردید. بهترین سطح BA برای باززایی سطح ۱/۰ میلی‌گرم در لیتر بود. بیشترین درصد باززایی (۲۰/۸۲ درصد) در غلظت ۱/۰ میلی‌گرم در لیتر BA و کمترین درصد باززایی (۸/۳ درصد) در غلظت ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر BA مشاهده شد.

واژه‌های کلیدی: آنتوریوم، ریزازدیادی، کالوس‌زایی، ریزنمونه، 2,4-D

### مقدمه

است و همچنین با این روش تعداد محدودی گیاه تولید می‌شود. با توجه به زمان طولانی مورد نیاز برای به گل رفتن از طریق کشت بذر و تفرق صفات آن و یا تعداد گیاهان کم حاصل از تکثیر رویشی، کشت بافت گیاهی و یا ریزازدیادی آنتوریوم بهترین راه برای دستیابی به تعداد زیاد گیاه با ساختار ژنتیکی یکسان است که به این ترتیب هم هزینه تولید هر گیاه کمتر می‌شود و هم با تولید مرتب و برنامه‌ریزی شده می‌توان در بازارهای جهانی حضور یافت.

پیریک (۸)، از محیط کشت موراشیک و اسکوک تغییر یافته با ترکیب هورمونی ۱/۰ میلی‌گرم در لیتر BA و ۰/۰۸ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D برای کالوس‌زایی گیاه *Anthurium andraeanum* استفاده نمود. وی کشت بافت ۳۸ رقم مختلف آنتوریوم را انجام داد که در ۳۱ رقم موفق به تولید کالوس گردید، کالوس در چهار رقم در مرحله واکنش از بین رفت و سه رقم نیز کالوس ندادند. ریزنمونه‌های مورد استفاده در آزمایش پیریک، قطعات برگی بودند که بعد از ۳ ماه کالوس تولید نمودند. وارجاس و همکاران (۱۱)، شیوه جدیدی برای ریزازدیادی

آنتوریوم گیاهی تک لپه‌ای از خانواده‌ی شیپوری‌ها می‌باشد و دارای گل‌های زینتی و با دوام است که معمولاً به خاطر گل‌های زیبا و جالب توجه‌اش پرورش داده می‌شود. در گیاه زینتی آنتوریوم گل‌ها دوام زیادی دارند حتی از گل‌های به منظور گل شاخه بریده استفاده می‌شود. البته اندامی که به عنوان گل شناخته شده از نظر گیاه‌شناسی گل نیست بلکه اندام تغییر شکل یافته‌ای است که براکته یا اسپات نامیده می‌شود. گل‌های واقعی آن اندام فترمانندی است که از داخل براکته‌ها رشد می‌کند و اصطلاحاً اسپادیکس نامیده می‌شود (۵). روش سنتی افزایش آنتوریوم تقسیم بوته از طریق جدا کردن پاجوش‌های کوچک اطراف گیاه مادری و انتقال آنها به گلدان‌های جدید و یا جداسازی قلمه انتهایی همراه با دو یا سه برگ و ریشه‌دار کردن آنها در زیر مه افشان می‌باشد. اما راندمان تولید با این روش پایین است و سالانه حداکثر ۸ گیاه از یک گیاه مادری قابل تولید است. برای تولید تجاری و صادراتی، یکنواختی تولید اهمیت فراوانی دارد. تکثیر از طریق بذر، قلمه و تقسیم بوته وقت‌گیر و هزینه‌بر

(جدول ۱) حاوی سطوح مختلف تنظیم‌کننده رشدی 2,4-D (صفر، ۰/۰۴، ۰/۰۸، ۰/۱۲، ۰/۱۶، ۰/۲۰ و ۰/۲۴ میلی‌گرم در لیتر) و ۱/۰ میلی‌گرم در لیتر BA، ۳۰ گرم در لیتر ساکارز و pH برابر ۶/۰±۰/۱ کشت شدند. ریزنمونه‌های کشت شده جهت کالوس‌زایی تحت شرایط تاریکی، دمای ۱±۲۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۷۵ درصد در انکوباتور نگهداری شدند. کالوس‌ها در داخل ارلن (۲۰۰ میلی‌لیتری) حاوی ۵۰ میلی‌لیتر محیط کشت mMS (جدول ۱) محتوی سطوح مختلف BA (۰/۲۵، ۰/۵، ۰/۷۵ و ۱/۰ میلی‌گرم در لیتر)، ۲۰۶ میلی‌گرم در لیتر NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>، ۲۰ گرم در لیتر ساکارز، ۷ گرم در لیتر آگار و pH برابر ۶/۰±۰/۰۵ کشت شدند. نمونه‌ها تحت شرایط ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی، دمای ۱±۲۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۵۰ درصد در داخل فایتوتورون نگهداری شدند. این آزمایش بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تکرار و ۲۰ ریزنمونه در هر تکرار انجام شد. داده‌ها به صورت درصد بود که جهت تجزیه واریانس از فرمول  $ASIN\sqrt{X} + 0.01$  برای تبدیل داده‌ها استفاده شد (۱)، داده‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SAS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و برای مقایسه میانگین از آزمون چند دامنه‌ای دانکن استفاده شد (جدول ۱).

#### نتایج و بحث

ریزنمونه‌ها سه هفته بعد از کشت در محیط القای کالوس، شروع به کالوس‌زایی کردند (شکل ۱). نتایج نشان داد که اثر نوع ریزنمونه روی درصد کالوس‌زایی در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). به طوری که ریزنمونه‌های دارای رگبرگ اصلی قابلیت بیشتری در تولید کالوس از خود نشان دادند. بدون در نظر گرفتن غلظت 2,4-D، بیشترین درصد کالوس‌زایی (۴۸/۳ درصد) در ریزنمونه دارای رگبرگ اصلی و کمترین میزان کالوس‌زایی (۲۷/۵ درصد) در ریزنمونه بدون رگبرگ اصلی مشاهده گردید. در مجموع از نتایج چنین بر می‌آید که وجود رگبرگ اصلی در ریزنمونه باعث افزایش کالوس‌زایی می‌شود که احتمالاً محتوای هورمونی درون آن‌ها در بروز این پدیده موثر است. این نتیجه با نتیجه به دست آمده توسط ابراهیم زاده و همکاران (۳) مطابقت دارد.

*A. andraeanum* ابداع کردند، آنها پس از جدا کردن بذور از اسپادیکس، بذرها را در محیط کشت حاوی ۲/۲ میکرومول BA و در شرایط نور مداوم کشت دادند، گیاهچه‌های حاصل به منظور تهیه ریزنمونه مورد استفاده قرار گرفتند. بعد از کشت، کالوس‌زایی و باززایی از کالوس‌ها صورت گرفت و به طور میانگین ۴۳/۷ گیاهچه از هر ۱ cm<sup>2</sup> کالوس به دست آمد. جوزف و همکاران (۶)، محیط کشت 1/2 MS به همراه ۰/۸۸ میکرومول BA و ۰/۹ میکرومول 2,4-D، ۰/۴۶ میکرومول کینتین با pH برابر ۵/۵ را به عنوان بهترین محیط کشت برای کالوس‌زایی ریزنمونه‌های پهنک برگ و دم‌برگ آنتوریوم معرفی کردند. آنها اعلام کردند که تاثیر NAA (به میزان ۰/۵۴ میکرومول) در ریشه‌زایی بیشتر از سایر تنظیم‌کننده‌های رشد اکسینی بود و توانستند در عرض ۷ ماه، از یک برگ بیش از ۵۰۰ گیاه به دست بیاورند.

هدف از این مطالعه بررسی القای کالوس از ریزنمونه‌های برگی گیاه زینتی آنتوریوم در رقم فایر و همچنین ارزیابی اثر وجود رگبرگ در این ریزنمونه‌ها و تاثیر هورمون 2,4-D بر درصد کالوس‌زایی بود. قابلیت باززایی کالوس‌های به دست آمده و عوامل موثر بر آن نیز مورد مطالعه قرار گرفت.

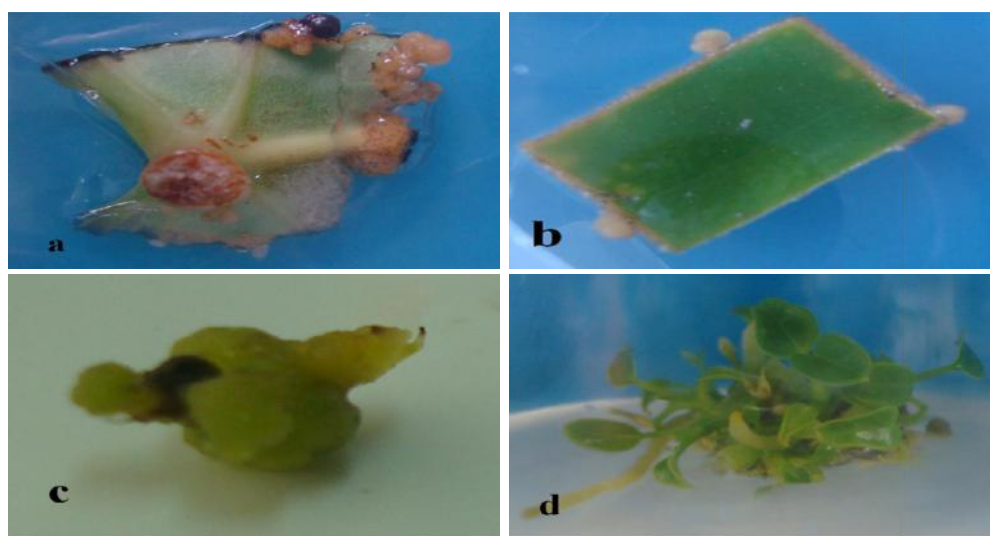
#### مواد و روش‌ها

در این آزمایش گیاه *A. andraeanum* رقم Fire از گلخانه مهندس قلی‌زاده واقع در کیلومتر ۶ جاده آمل- سرخورد تهیه و با گلدان به آزمایشگاه بیوتکنولوژی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری منتقل شد. به منظور انتخاب و ضدعفونی ریزنمونه‌ها، ابتدا برگ‌ها با آب معمولی شستشو داده شدند، سپس در زیر اتاقک کشت به مدت ۳۰ ثانیه در اتانول ۷۰٪ قرار داده شدند (الکل ۹۶٪ باعث دهیدراته شدن ریزنمونه‌ها می‌گردد) و بلافاصله به محلول هیپوکلرید سدیم ۱/۵ درصد حاوی چند قطره توین ۸۰ به مدت ۳۰ دقیقه منتقل شدند و در نهایت در شرایط استریل ۳ بار با آب دو بار تقطیر سترون شده شستشو داده شدند. در مرحله بعد حاشیه آسیب دیده برگ‌ها حذف گردیده و با قیچی یا اسکالپل به قطعات کوچکتر (۱×۱ سانتی‌متر) تقسیم شدند. بر اساس محل تهیه ریزنمونه از برگ، ریزنمونه‌های برگی دارای رگبرگ اصلی (a<sub>1</sub>) و فاقد رگبرگ اصلی (a<sub>2</sub>) مورد استفاده قرار گرفتند. سپس ریزنمونه‌ها در محیط کشت MS

جدول ۱- ترکیبات و غلظت عناصر بر حسب میلی‌گرم در لیتر در محیط کشت mMS

ترکیبات	محیط کشت شاخساره‌زایی (mg/l)	محیط کشت کالوس‌زایی (mg/l)
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	۲۰۶/۰	۸۲۵/۰
KNO <sub>3</sub>	۹۵۰/۰	۹۵۰/۰
CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	۲۲۰/۰	۴۴۰/۰
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	۱۸۵/۰	۳۷۰/۰
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	۸۵/۰	۸۵/۰
FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	۲۵/۰	۲۵/۰
NaEdta.2H <sub>2</sub> O	۲۵/۰	۲۵/۰
Sucrose	۲۰۰۰۰/۰	۳۰۰۰۰/۰
BA	C	۱/۰
2,4-D	۱/۰	B
Agar	۷۰۰۰/۰	۷۰۰۰/۰

B (۰/۲۴، ۰/۲۰، ۰/۱۶، ۰/۱۲، ۰/۰۸، ۰/۰۴، ۰/۰۰)؛ C (۱/۰، ۰/۷۵، ۰/۵۰، ۰/۲۵)



شکل ۱- (a) کالوس‌زایی در ریزنمونه دارای رگبرگ اصلی، (b) کالوس‌زایی در ریزنمونه فاقد رگبرگ اصلی، (c) شروع باززایی، (d) باززایی در *A. andreanum* Var Fire.

2,4-D به میزان ۰/۱۶ میلی‌گرم در لیتر و کمترین میزان کالوس‌زایی (۱۲/۵ درصد) در ریزنمونه بدون رگبرگ اصلی و محیط کشت فاقد 2,4-D مشاهده گردید (نمودار ۱). با توجه به نتایج چون در محیط فاقد 2,4-D نیز کالوس‌زایی صورت گرفت می‌توان گفت برای کالوس‌زایی در آنتوریوم وجود یک منبع اکسین مانند BA کافی است ولی با این وجود اثر 2,4-D روی درصد کالوس‌زایی معنی‌دار بوده و تکمیل‌کننده‌ی اثر BA بود. کالوس‌ها دو ماه پس از کشت در محیط باززایی، تغییر رنگ داده و شروع به باززایی کردند (شکل ۱). سیاه شدن کالوس در محیط باززایی که یک صفت نامطلوب می‌باشد، در رقم Fire قابل مشاهده بود. نتایج نشان داد با افزایش غلظت BA درصد باززایی افزایش یافت. بیشترین درصد باززایی (۲۰/۸۳ درصد) در غلظت ۱/۰ میلی‌گرم در لیتر BA و کمترین درصد باززایی

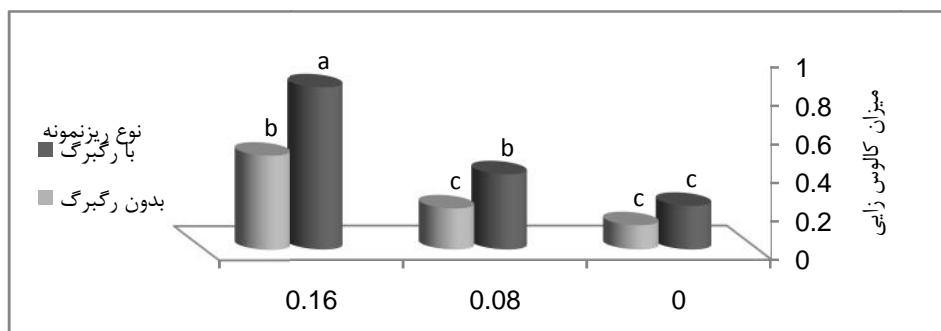
با افزایش غلظت 2,4-D درصد کالوس‌زایی نیز افزایش یافت به طوری که بیشترین میزان کالوس‌زایی (۶۶/۲ درصد) در غلظت ۰/۱۶ میلی‌گرم در لیتر و کمترین میزان کالوس‌زایی (۱۷/۵ درصد) در غلظت صفر میلی‌گرم در لیتر صورت گرفت. این نتیجه با نتیجه به دست آمده توسط بیرامی‌زاده و آزادی (۲) مطابقت و با نتایج به دست آمده توسط پیریک (۸) و ناث و همکاران (۹) مغایرت داشت که احتمالاً به دلیل تفاوت در ژنوتیپ مورد مطالعه و یا اختلاف در شرایط رشد گیاه مادری که به عنوان منبع ریزنمونه استفاده شده، می‌باشد. جدول تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان داد که اثر متقابل بین غلظت 2,4-D و نوع ریزنمونه روی کالوس‌زایی در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار است. به طوری که بیشترین میزان کالوس‌زایی (۸۳/۷ درصد) در ریزنمونه دارای رگبرگ اصلی و سطح

۸/۳ درصد) در غلظت ۰/۲۵ میلی گرم در لیتر BA مشاهده شد (نمودار ۲). اندازه کالوس نقش موثری در باززایی کالوس ایفا می کند و به نظر می رسد کالوس های بزرگتر از پتانسیل بالایی برای باززایی برخوردار باشند. اندازه کالوس های کشت شده در این تحقیق ۲ تا ۴ میلی متر بود.

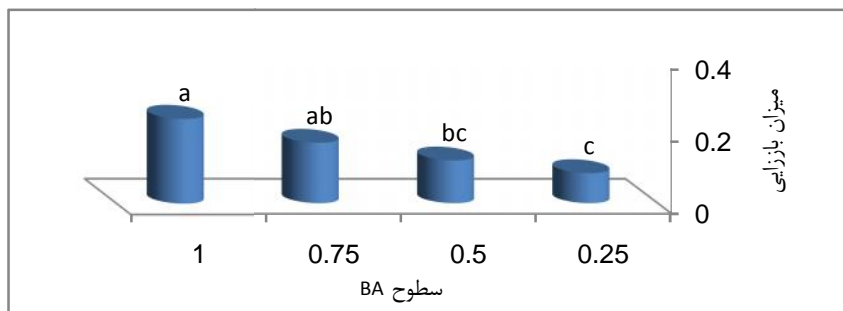
جدول ۲- بررسی اثر ریزنمونه دارای رگبرگ روی درصد کالوس زایی *A. andraeanum* رقم Fire

منابع تغییرات	درجه آزادی	SS	MS	F
ریزنمونه (A)	۱	۰/۲۶۰۴	۰/۲۶۰۴**	<۰۰۱
غلظت 2, 4-D (B)	۲	۱/۰۲۵۸	۰/۵۱۲۹**	<۰۰۱
A×B	۲	۰/۰۶۵۸	۰/۰۳۲۹*	۰/۰۴۷
خطا	۱۸	۰/۱۶۲۵	۰/۰۰۹۰	
ضریب تغییرات (/)			۲۵/۱	

\*\* و \*: به ترتیب در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد معنی دار می باشد.



نمودار ۱- اثر متقابل نوع ریزنمونه و 2,4-D بر کالوس زایی *A. andraeanum* رقم Fire

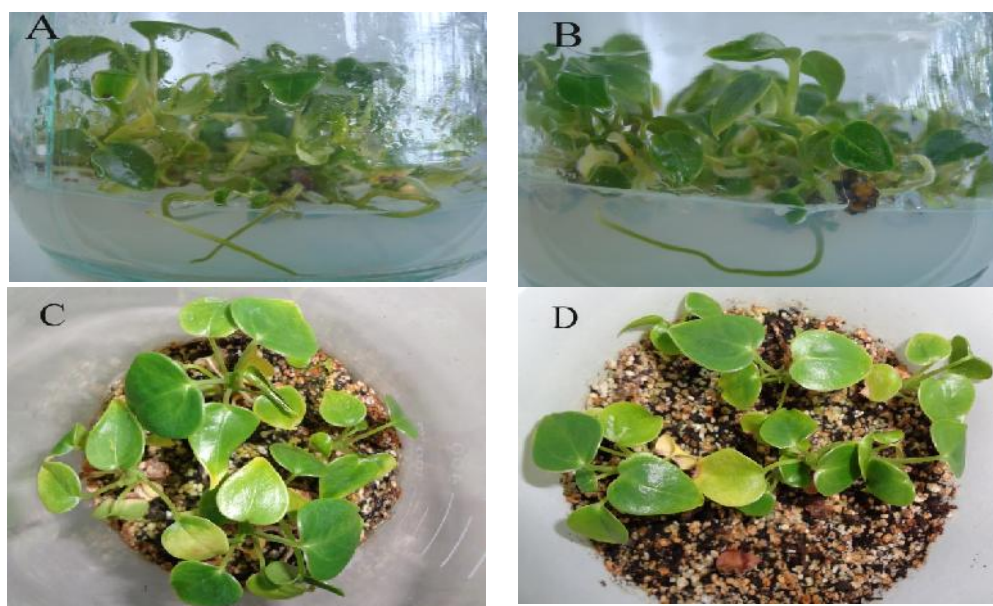


نمودار ۲- اثر غلظت BA بر باززایی آنتوریوم

برخوردار هستند و افزایش میزان BA سبب رشد بیشتر کالوس ها در محیط باززایی می شود. کوناسیکی (۷)، از غلظت های مختلف BA (۰/۲ تا ۱/۰ میلی گرم در لیتر) جهت باززایی کالوس *A. andraeanum* استفاده کرد و گزارش داد که باززایی در غلظت ۰/۲ میلی گرم در لیتر BA نسبت به دیگر غلظت ها بهتر انجام گردید. این اختلاف نظر احتمالاً ناشی از تفاوت در ژنوتیپ مورد مطالعه و یا اختلاف در اندازه اولیه کالوس می باشد. با توجه به اینکه همزمان در محیط باززایی، ریشه زایی نیز صورت گرفت از تیمار خاصی جهت ریشه زایی استفاده

کالوس ها در محیط کشت حاوی ۱/۰ میلی گرم در لیتر BA در مقایسه با سایر محیط کشت ها از سرعت رشد بیشتری برخوردار بودند به طوری که بعد از ۲ هفته اندازه آنها به چندین برابر اندازه اولیه رسید. با کاهش غلظت BA رشد کالوس ها کمتر شد به طوری که در محیط کشت حاوی ۰/۲۵ میلی گرم در لیتر BA رشد کالوس ها خیلی کند بود. احتمالاً غلظت بیشتر BA باعث رشد بیشتر کالوس ها شده و از این طریق بر باززایی کالوس ها تاثیر داشته است. بیرامی زاده و همکاران (۲)، گزارش دادند که کالوس ها در محیط کشت فاقد BA از رشد کمتری

نگردید و گیاهچه‌های باززایی شده خود به خود ریشه‌دار گردیدند (شکل ۲).



شکل ۲- A و B، ریشه‌زایی همزمان با باززایی، C و D، گیاهان انتقال داده شده به خاک گلدان.

آمده توسط سریلاتها و همکاران (۱۰)، وایجاس و همکاران (۱۲)، جییر (۴)، یو و همکاران (۱۳) و بیرامی‌زاده و آزادی (۲)، مطابقت داشت.

سریلاتها و همکاران (۱۰) گزارش دادند که محیط کشت خاصی برای ریشه‌زایی شاخساره‌های *A. andraeanum* مورد نیاز نیست چرا که شاخساره‌ها در محیط باززایی، خود به خود ریشه‌دار می‌شوند. این نتیجه با نتایج به دست

#### منابع

1. Bagheri, N.A., N.A. Babaeian and A. Ghanbari. 2008. Diallel analysis study of yield and yield-related traits in rice genotypes. International Journal of Agricultural Research. 3: 386-396. (In Persian)
2. Beiramzadeh, E. and P. Azadi. 2007. Effect of growth regulators on shoot formation of *Anthurium andraeanum* Lind. Pajouhesh & Sazandegi. 76: 179-184. (In Persian)
3. Ebrahimzadeh, M., H. Shaker, F. Bernard and R.A. Khavarinejad. 2006. Effect of hormones and explant in callus induction and plant regeneration in tissue culture of *Anthurium andraeanum* Var. Tropical. Pajouhesh & Sazandegi. 73: 169-176. (In Persian)
4. Geier, T. 1988. Ploidy variation in callus and regeneration plants of *Anthurium scherzerianum* schott. Acta Horticulture. 226: 293-298.
5. Higaki, T., S. Joanne and D. Moniz. 1995. Anthurium culture in Hawaii. Press University of Hawaii. 23 pages.
6. Joseph, D., K.P. Martin, J. Madassery and V.J. Philip. 2003. *In vitro* propagation of three commercial cut flower cultivars of *Anthurium andraeanum* Hort. Indian Journal of Experimental Biology. 41: 154-159.
7. Kunisaki, J.T. 1980. *In Vitro* Propagation of *Anthurium andraeanum* Lind. Hortscience. 15: 508-509.
8. Pieriek, R.L.M. 1976. *Anthurium andraeanum* plants produced from callus tissues cultivated *in vitro*. Physiology Plant. 37: 80-82.
9. Nhut, D.T., N. Duy, N.N.H. Vy, C.D. Khue, D.V. Khiem, T.T. Hang and D.N. Vinh. 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: 135-137.
10. Sreelatha, U., S.R. Nair and K. Rajmohan. 1998. Factors affecting somatic organogenesis from leaf explants of *Anthurium* species. Journal of Ornamental Horticulture New Series. 1: 48-54.
11. Varargas, T.E., A. Mejias, M. Oropeza and E. Garica. 2004. Plant regeneration of *Anthurium andraeanum* C.V. Rubrun. Electronic Journal of Biotechnology. 7: 285-289.
12. Viegas, J., M.T.R. Rocha and I. Ferreira-Moura. 2006. *Anthurium andraeanum* (Linden ex Andre) Culture: *In Vitro* and *Ex Vitro*. Floriculture and Ornamental Biotechnology. 1: 61-15.
13. Yu, L.I.U., L.I.U. Juan and W. Jing. 2009. Plant regeneration by callus-mediated protocorm-like body induction of *Anthurium andraeanum* Hort. Agricultural Sciences in China. 8: 572-577.

## Effect of Leaf Explants Types and Various Levels of 2, 4-D on Callus Induction and Plant Regeneration in *Anthurium andraeanum*

Behnam Sedaghati<sup>1</sup>, Nadali Babaeian<sup>2</sup>, Nadali Bagheri<sup>3</sup> and Hamed Salehian Aghblaq<sup>4</sup>

1- M.Sc., Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University

(Corresponding author: behnam.sedaghati@yahoo.com)

2, 3 and 4- Professor, Assistant Professor and M.Sc., Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University

Received: September 20, 2011 Accepted: April 23, 2013

### Abstract

In micropropagation of *Anthurium* the most important and sensitive stage, is callus induction from explant. This experiment was conducted in a completely randomized design with factorial arrangement in 4 replications in Sari Agriculture Sciences and Natural Resources University (SANRU) in 2010. The cultivar used in this study is Fire and leaf segments with and without main nervure, were used as explants. Explants were cultured on mMS media with 2, 4-D (0.0, 0.04, 0.08, 0.12, 0.16, 0.20 and 0.24 mgL<sup>-1</sup>) and BA (1 mgL<sup>-1</sup>), 30% sucrose and 7% agar for callus induction. Calli were cultured in mMS media with BA (0.25, 0.5, 0.75 and 1 mgL<sup>-1</sup>), 206 mgL<sup>-1</sup> NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>, 20% sucrose and 7% agar for shoot regeneration. Four weeks after inoculation, callus induction initiated in explants with nervure. Regardless of 2, 4-D concentrations, leaf explants with the main nervure, showed highest callus induction (48.3%). The leaf explants with main nervure in mMS medium contain 0.16 mgL<sup>-1</sup> 2, 4-D showed the highest callus induction (83.7%) and the leaf explant without main nervure in mMS medium without 2, 4-D showed the lowest callus induction (12.5%). The best rate of BA for shoot regeneration (20.83%) was 1 mgL<sup>-1</sup>. The callus on mMS medium containing 1 mgL<sup>-1</sup> BA showed the highest shoot regeneration (20.83 %) and the callus in mMS medium containing 0.25 mgL<sup>-1</sup> BA showed the lowest shoot regeneration.

**Keywords:** Anthurium, Micropropagation, Callus Induction, Explant, 2, 4-D