

## بررسی اثر محیط‌های کشت پایه و تیمارهای هورمونی مختلف بر ریزازدیادی گل محمدی (*Rosa damascene* Mill.)

فاطمه قلی زاده، لیلا غلامی و خدیجه کیارستمی\*

تهران، دانشگاه الزهراء، دانشکده علوم پایه، گروه زیست‌شناسی

تاریخ دریافت: ۸۹/۶/۳۰ تاریخ پذیرش: ۹۱/۵/۱۵

### چکیده

در این پژوهش، اثر سه محیط کشت مختلف (MS، WP و QL) بر تکثیر در شیشه‌ی گل محمدی از طریق کشت قطعات جداگشت گره واجد جوانه‌ی جانبی بررسی شد و اثر این محیط‌های پایه بر تکثیر نوشاخه و قهوه‌ای شدن محیط کشت پایه ارزیابی شد. به‌منظور تکثیر نوشاخه، قطعات جداگشت گره واجد جوانه‌ی جانبی به محیط‌های کشت فوق، واجد BAP یا Kin (۱ و ۳ میلی‌گرم در لیتر) منتقل شدند. بیشترین تعداد شاخه و تعداد برگ سبز در قطعه‌ی جداگشت در محیط کشت QL در تیمار BAP ۳mg/l به‌دست آمد. به‌علاوه نوشاخه‌های تشکیل شده در محیط QL شاداب‌تر بوده و پایداری بیشتری داشتند. بنابراین محیط اخیر برای ریزازدیادی گل محمدی از سایر محیط‌ها مناسب‌تر بود. در بررسی ریشه‌زایی، شاخه‌های پرآوری شده در محیط کشت WP حاوی ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر NAA ریشه‌دار شدند.

واژه‌های کلیدی: ریزازدیادی، قهوه‌ای شدن، گل محمدی، محیط‌های پایه

\* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۲۱-۸۸۰۵۸۹۱۲، پست الکترونیکی: su\_kiarostami@alzahra.ac.ir

### مقدمه

تکثیر می‌شود. روش‌های معمول تکثیر با مشکلاتی مانند کم بودن سرعت تکثیر، کم یا در دسترس نبودن گیاهان مادری و طولانی بودن زمان تکثیر همراه است. در صورتی که بتوان گیاه را به‌روش کشت در شیشه تکثیر نمود ضمن کاهش هزینه، تکثیر با سرعت بیشتری انجام خواهد شد. به‌علاوه، به کمک این روش می‌توان گیاهان مطلوب و عاری از پاتوژن را در مقیاس وسیع تولید نمود و گیاهانی یکسان به‌دست آورد که از نظر تولید گلاب و سایر فرآورده‌ها تنوعی نشان ندهند. گزارش‌های چندی از تکثیر در شیشه‌ی گل محمدی از طریق قطعات گره واجد جوانه‌ی جانبی وجود دارد، از جمله شاخه‌زایی مستقیم از جداگشت‌های برگ (۲۶)، تشکیل کالوس از برگ و قطعات ساقه برای برخی از ارقام گل محمدی (۸، ۲۱ و ۳)، کشت نوشاخه‌ها در محیط MS در حضور TDZ (۱۵)،

گل محمدی، از مشهورترین گیاهان در تاریخ باغبانی است که به‌علت رایحه‌ی فوق‌العاده و تنوع ارقام در بسیاری از نقاط دنیا کشت می‌شود. گل محمدی، علاوه بر این که یک گیاه زینتی است مصارف دارویی متعددی نیز دارد. اسانس حاصل از این گیاه، برای درمان افسردگی، فشارهای عصبی، جریان خون پائین، آسم، سرفه، کم‌خونی و آگزما استفاده می‌شود. گلاب مهم‌ترین فرآورده حاصل از این گیاه است که علاوه بر اثرات دارویی در صنایع غذایی نیز کاربرد دارد. میوه‌ی آن، حاوی ویتامین C است و در تولید چای و نوشابه‌های میوه‌ای به‌عنوان طعم‌دهنده کاربرد دارد (۶).

به‌رغم اهمیت اقتصادی این گونه برای کشور ایران، تکثیر و بهره‌برداری از آن با مشکلات چندی همراه است. این گیاه، به‌طور معمول از طریق خوابانیدن، قلمه‌زدن و پاجوش

Murashige and Skoog (MS) و Liouyl and Cown (WP) و Quoirin and Lepoivre (QL)

به تعداد ۴-۵ عدد در هر پتری کشت شد. کشت‌ها در دمای  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  در دوره‌ی نوری ۸ ساعت تاریکی و ۱۶ ساعت روشنایی با شدت نور ۴۰۰۰ لوکس قرار گرفتند. به‌منظور کاهش اثر ترکیبات فنلی، کشت‌ها حداقل به مدت ۳ روز در تاریکی قرار گرفتند. ۲۱ روز پس از انتقال به محیط شاخه‌زایی، وضعیت نمونه‌ها از نظر تعداد برگ، ارتفاع گیاه، تعداد شاخه و سایر پارامترها بررسی شد.

همچنین با استفاده از دستگاه کلروفیل متر، عدد کلروفیل متر برگ‌ها در دو محیط کشت QL و WP اندازه‌گیری شد. سپس با استفاده از فرمول  $(\mu\text{mol m}^{-2}) = 10^{(M \times 0.265)}$  میزان کلروفیل محاسبه شد (۱۸)

**ریشه‌زایی:** الف: برای ریشه‌زایی از محیط‌های  $1/2\text{MS}$ ،  $1/2\text{QL}$  یا محیط کامل MS، QL و WP به همراه غلظت‌های مختلف NAA (۰/۱، ۰/۲ و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر) استفاده شد.

ب: روش quick dip: به‌منظور ریشه‌زایی گیاهچه‌ها، ته گیاهچه‌های حاصل از مرحله شاخه‌زایی در محلول‌های استریل IAA و IBA با غلظت‌های ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر به مدت ۱۰ ثانیه قرار گرفت و بعد گیاهچه‌ها به محیط کشت MS و QL بدون هورمون منتقل شدند.

ج: همچنین برای بررسی ریشه‌زایی شاخه‌های تازه تولید شده در محیط QL حاوی  $2/5 \text{ mg/L D-4}$  و ۲، به مدت ۲ هفته قرار گرفتند و بعد نمونه‌ها به محیط  $1/2\text{QL}$  فاقد هورمون منتقل شدند.

بعد از سه هفته گیاهچه‌های ریشه‌دار شده از محیط کشت خارج شدند. پس از شستشوی آگار ریشه‌ها، گیاهچه‌ها به خاک استریل شده، شامل مخلوطی از کود گیاهی و پرلیت با نسبت ۱:۱ منتقل شدند.

مقایسه‌ی محیط مایع و محیط جامد (۱۶ و ۲۶)، همچنین حذف یا کاهش میزان آمونیوم در محیط MS (۱۱ و ۱۹)، بررسی اثر منابع مختلف نور و عامل ژله‌ای بر ریزازدیادی گل محمدی (۱۶)، استفاده از ترکیبات آنتی‌اکسیدان یا قرار دادن کشت‌ها در تاریکی (۱۷). باوجوداین کشت گل محمدی بر روی محیط MS با غلظت‌های مختلف IAA، Kin، BA، TDZ و NAA چندان موفقیت‌آمیز نبوده است. کلروز برگ‌ها، قهوه‌ای شدن محیط و نکروزه شدن جداکشت‌ها در نتیجه اکسیداسیون پلی‌فنل‌ها، فراوانی کم شاخه‌زایی، موفقیت کم در ریشه‌دار کردن نوشاخه‌ها و وابسته بودن پاسخ جداکشت‌ها به ژنوتیپ، برخی از عمده‌ترین عوامل کاهش موفقیت در ریزازدیادی این گیاه هستند (۱۷، ۲۸ و ۳). بنابراین پژوهش حاضر بر اثر محیط‌های پایه‌ی و هورمون‌های مختلف بر ریزازدیادی گل محمدی متمرکز شده است.

## مواد و روشها

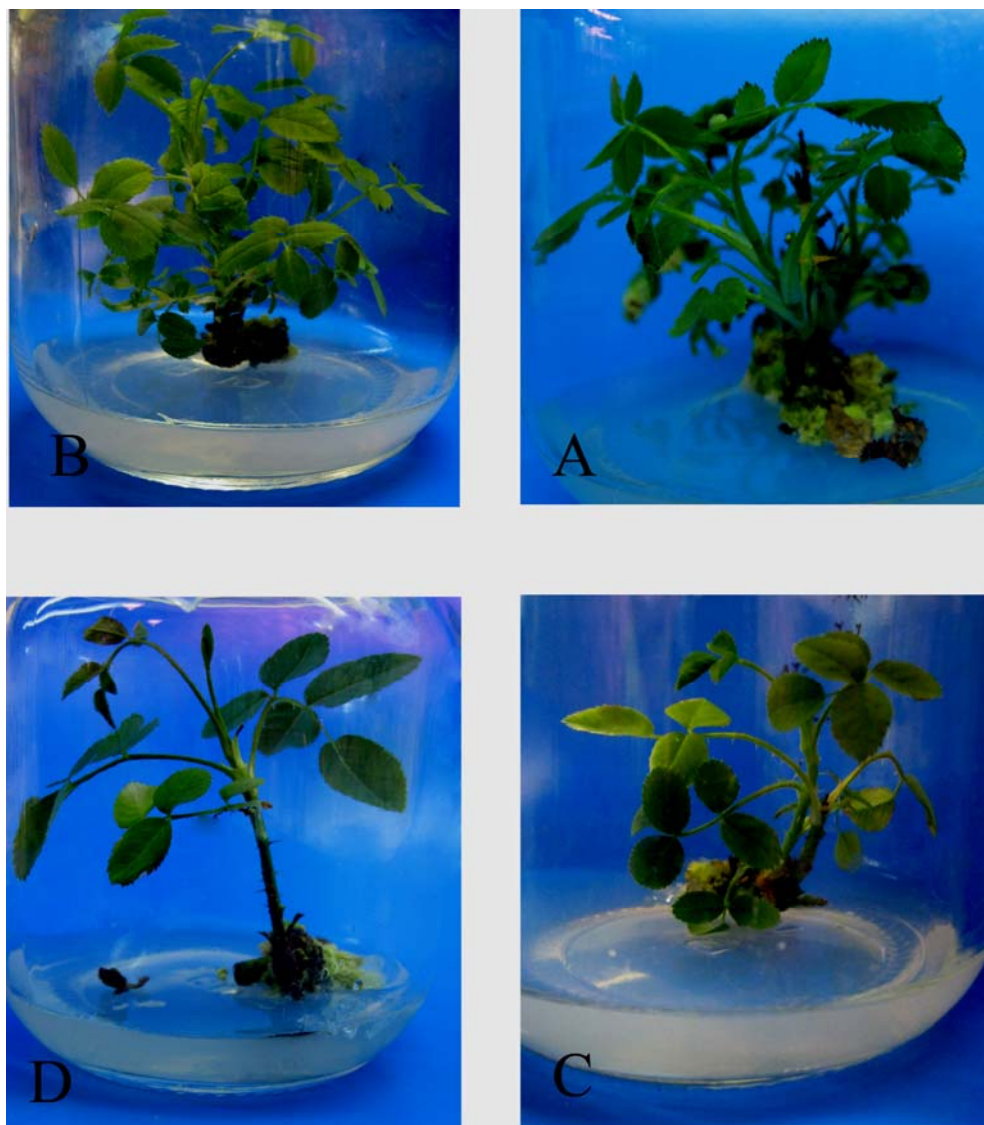
**تهیه‌ی نمونه-** نمونه‌های مورد نظر از پایه‌های کشت شده-ی گل محمدی در محوطه دانشگاه الزهراء(س) تهیه شد.

**سترون‌سازی جداکشت‌ها:** نو شاخه‌های جوان، پس از برداشت و انتقال به آزمایشگاه ابتدا با صابون مایع و آب جاری شستشو داده شدند و پس از سترون‌سازی برای کشت مورد استفاده قرار گرفتند. به این منظور، پس از جدا کردن برگ‌ها و دمبرگ‌ها از شاخه، قطعات ۱-۱/۵ سانتیمتری از نمونه‌ها تهیه شدند. جهت سترون‌سازی، نمونه‌ها به مدت ۲ دقیقه در الکل ۷۰ درجه قرار گرفتند. سپس به مدت ۱۵ دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم ۱/۲٪ قرار داده شدند؛ و در پایان ۳-۴ مرتبه با آب مقطر سترون، شستشو داده شده و برای کشت مورد استفاده قرار گرفتند.

**کشت-** قطعات جداکشت ساقه، دارای جوانه‌ی جانبی پس از سترون‌سازی در محیط‌های پایه

مقایسه شدند و داده‌ها به کمک نرم افزار SPSS ۱۱/۵ آنالیز شدند. رسم نمودارها توسط نرم‌افزار Excel انجام شد.

بررسی‌های آماری: آزمایش در قالب طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی با ۴ تکرار انجام شد. میانگین‌ها به روش دانکن



شکل ۱- شاخه‌زایی قطعات جداگشت گره واجد جوانه جانبی در محیط‌های کشت واجد سیتوکینین. **A**. نوشاخه پرآوری شده در محیط کشت QL واجد  $3 \text{ mg/l}$  BAP. **B**. برگ‌زایی در محیط کشت QL محتوی  $3 \text{ mg/l}$  BAP. **C**. نوشاخه پرآوری شده در محیط کشت MS حاوی  $3 \text{ mg/l}$  BAP. **D**. شاخه‌زایی در محیط کشت WP واجد  $3 \text{ mg/l}$  BAP

ترکیبات فنلی، رشد نکردند.  $81/60$  درصد از قطعات جداگشت در محیط پایه WP قهوه‌ای شده و از بین رفتند. در حالی که فقط  $21$  درصد از قطعات جداگشت در محیط پایه QL قهوه‌ای شدند و بیشتر جوانه‌های جداگشت‌ها رشد کرده و تولید برگ نمودند. برگ‌های حاصل در این

## نتایج

بررسی درصد قهوه‌ای شدن قطعات جداگشت: دو هفته پس از کشت، درصد قطعات جداگشت واجد جوانه جانبی متأثر از ترکیبات فنلی (قهوه‌ای شده) بررسی شد.  $85$  درصد از این قطعات در محیط پایه MS تحت تأثیر

کشت MS، QL و WP محتوی هورمونهای BAP یا Kin (۱ و ۳ میلی‌گرم در لیتر) انتقال یافت. بررسی‌های آماری نشان داد، میانگین رشد طولی در دو تیمار Kin<sup>۳</sup>mg/l و BAP<sup>۱</sup>mg/l در محیط MS تفاوت معنی‌داری با سایر تیمارها داشت. تعداد شاخه‌ها در تمام محیط‌های کشت با هورمون BAP<sup>۳</sup>mg/l از سایر تیمارهای هورمونی بهتر بود. بیشترین تعداد برگ سبز در محیط QL با هورمون BAP<sup>۳</sup>mg/l مشاهده شد. براساس نتایج به‌دست آمده، میانگین طول برگ تفاوت معنی‌داری را بین محیط‌های کشت و تیمارهای هورمونی مختلف نشان نداد. در بررسی میانگین تعداد برگچه‌ها، تفاوت معنی‌داری در دو تیمار Kin<sup>۱</sup>mg/l و Kin<sup>۳</sup>mg/l در محیط MS مشاهده شد. نتایج میانگین طول برگچه‌ها، تنها در تیمار Kin<sup>۱</sup>mg/l در محیط QL، تفاوت معنی‌داری را نشان داد (جدول ۲). این مشاهدات پیشنهاد می‌کند که محیط کشت QL واجد هورمون BAP<sup>۳</sup>mg/l برای ریزازدیادی گل محمدی است و در مقایسه با محیط‌های MS و WP مناسب‌تر است (شکل ۱).

محیط کشت، درشت‌تر، سبزتر و شاداب‌تر از برگ‌های تولید شده در سایر محیط‌های پایه بودند. از نظر درصد برگ‌زایی و کاهش اثر ترکیبات فنلی بین این محیط و سایر محیط‌های پایه تفاوت معنی‌دار در سطح اطمینان ۰/۰۱ وجود داشت (جدول ۱).

جدول ۱- اثر محیط‌های کشت مختلف بر میانگین درصد برگ‌زایی و درصد قهوه‌ای شدن قطعات جداکشت گره واجد جوانه جانبی (گروه- بندی داده‌ها براساس آزمون دانکن ( $P < 0/05$ ) صورت گرفته است).

محیط کشت	میانگین درصد برگ	میانگین درصد جداکشت- های قهوه‌ای شده
MS	۵/۸ d	۸۳/۳۳a
QL	۴۷/۶۷ a	۲۰/۹ c
WP	۱۱/۶۷ c	۸۱/۶۷ a

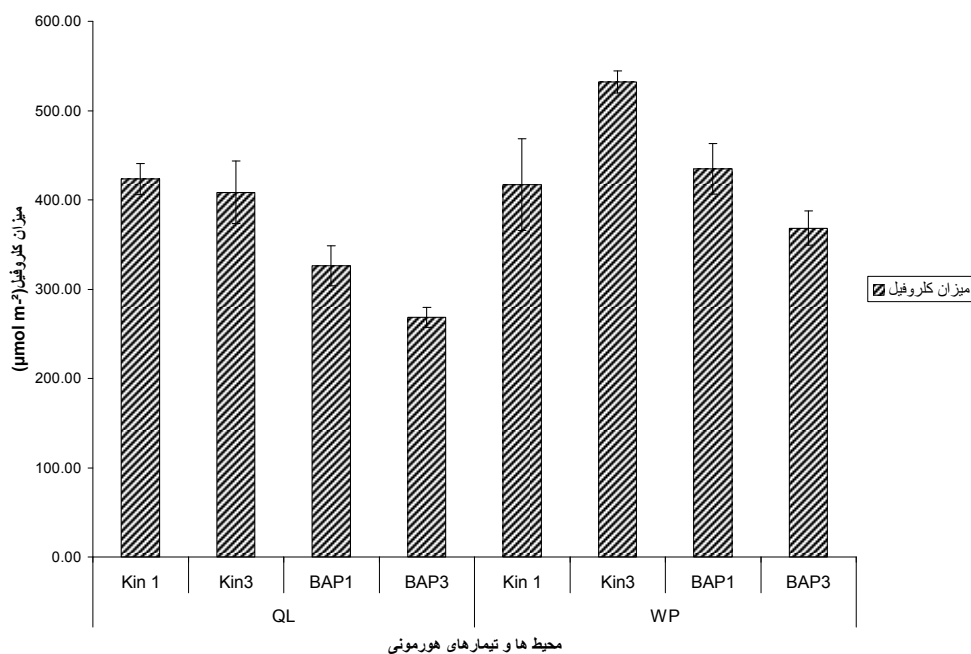
حروف مشابه در هر ستون بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد.

اثر هورمون سیتوکینین بر رشد و شاخه‌زایی: سه هفته پس از انتقال قطعات جداکشت، ساقه‌ی رشد کرده در محیط MS، QL و WP پایه بدون هورمون به محیط‌های

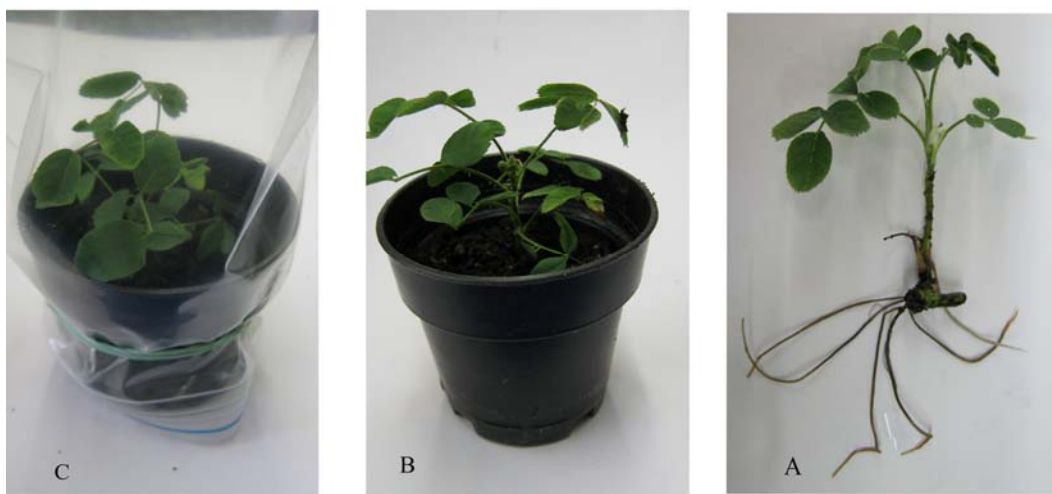
جدول ۲- اثر محیط‌های کشت مختلف بر رشد طولی، تعداد شاخه، تعداد برگچه، تعداد برگ سبز، طول ساقه، طول برگ و طول برگچه حاصل از قطعات جداکشت واجد جوانه جانبی (گروه‌بندی داده‌ها براساس آزمون دانکن ( $P < 0/05$ ) صورت گرفته است).

محیط کشت	تیمار هورمونی	رشد طولی گیاه	تعداد شاخه	طول ساقه	تعداد برگ سبز	طول برگ	تعداد برگچه	طول برگچه
MS	Kin 1	۴/۵۰a	۱/۲۵ cd	۲/۲۵ ab	۳/۲۵cd	۲/۶۳ab	۳/۷۵b	۰/۸۸abc
	Kin 3	۲/۶۹ c	۱/۶۳ bcd	۳/۰۰ a	۱/۰۰e	۳/۳۸a	۳/۰۰c	۰/۶۵d
	BAP 1	۳/۲۵ bc	۱/۵۰ bcd	۱/۴۴bcd	۲/۶۳cde	۱/۸۸b	۴/۵۰a	۰/۷۵cd
	BAP 3	۳/۸۸ ab	۲/۰۰ bc	۲/۲۵ab	۲/۸۸cde	۲/۵۶ab	۴/۵۰a	۰/۸۳bcd
QL	Kin 1	۴/۸۳ a	۱/۰۰ d	۱/۲۱ cd	۱/۸۹de	۳/۵۶a	۴/۷۸a	۱/۰۶a
	Kin 3	۴/۵۰ a	۱/۰۰ d	۱/۳۰bcd	۲/۰۰cde	۳/۱۰a	۵/۰۰a	۰/۹۴abc
	BAP 1	۴/۸۰ a	۱/۸۰ bcd	۱/۸۴ bc	۳/۰۰cd	۲/۹۶a	۵/۰۰a	۰/۹۶ab
	BAP 3	۴/۵۶ a	۴/۲۵ a	۱/۷۵bcd	۱/۷۵a	۲/۷۵ab	۵/۰۰a	۰/۷۹bcd
WP	Kin 1	۳/۹۲ ab	۱/۰۰ d	۰/۷۸ d	۲/۶۷cde	۳/۰۳a	۵/۰۰a	۰/۹۳abc
	Kin 3	۳/۶۱ abc	۱/۰۰ d	۰/۹۲ cd	۲/۵۶cde	۲/۵۶ab	۴/۷۸a	۰/۷۹bcd
	BAP 1	۴/۵۴ a	۱/۰۰ d	۱/۲۹bcd	۳/۹۲bc	۳/۱۳a	۴/۸۳a	۰/۸۸abc
	BAP 3	۳/۶۴ abc	۲/۱۹ b	۰/۹۲ cd	۵/۱۹b	۲/۵۶ab	۵/۰۰a	۰/۸۳bcd

حروف مشابه در هر ستون بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد.



نمودار ۱- مقایسه اثر محیط کشت و تیمارهای مختلف بر میزان کلروفیل قطعات جداگشت گره حاوی جوانه جانی



شکل ۲- A. ریشه‌زایی در محیط کشت WP حاوی  $0.2 \text{ mg/l}$  NAA سه هفته پس از انتقال به محیط ریشه‌زا. شکل B و C انتقال گیاهان ریشه‌دار به خاک

بررسی میزان کلروفیل در دو محیط QL و MS : مقایسه‌ی میانگین میزان کلروفیل نشان می‌دهد، میزان کلروفیل در محیط کشت WP با تیمار هورمونی  $3 \text{ mg/l}$  Kin بیشتر از سایر محیط‌ها بود (جدول ۳). در محیط کشت

بررسی میزان کلروفیل در دو محیط QL و MS : مقایسه‌ی میانگین میزان کلروفیل نشان می‌دهد، میزان کلروفیل در محیط کشت WP با تیمار هورمونی  $3 \text{ mg/l}$  Kin بیشتر از سایر محیط‌ها بود (جدول ۳). در محیط کشت

می‌شود. قهوه‌ای شدن محیط کشت نتیجه اکسیداسیون ترکیبات فنلی خارج شده از سطح برش جداکشت‌ها است که می‌توان به وسیله‌ی افزودن موادی مثل PVP (پلی وینیل پیرولیدین)، سیتریک اسید، آسکوربیک اسید یا انجام واکنش‌های مکرر و یا نگهداری کشت‌ها به مدت یک یا دو روز در تاریکی مطلق این مشکل را کاهش داد (۲۵). در این پژوهش، نگهداری کشت‌ها در تاریکی تأثیر مثبتی بر بقا و استقرار جداکشت‌های گره واجد جوانه داشت، زیرا نور موجب القای فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز و افزایش تأثیر ترکیبات فنلی می‌شود (۲۳ و ۲۲). به رغم اثر مثبت برخی از عوامل مذکور بر کاهش اثر ترکیبات فنلی، میزان بقا و استقرار جداکشت‌ها به دلیل وجود ترکیبات فنلی پائین بود؛ اما نوع محیط پایه‌ی به کار رفته بر میزان قهوه‌ای شدن مؤثر بود. کمترین میزان اثرات ترکیبات فنلی در محیط QL و بیشترین میزان اثرات، در محیط MS مشاهده شد. بنابراین با استفاده از این محیط کشت و قرار دادن کشت‌ها در تاریکی می‌توان اثر منفی ترکیبات فنلی را به میزان زیاد کاهش داد که به دنبال آن بقا و پایداری جداکشت‌ها افزایش می‌یابد.

چندین عامل تکثیر در شیشه را در رز تحت تأثیر قرار می‌دهند. از مهمترین این عوامل می‌توان به ژنوتیپ و نوع هورمون‌های به کار رفته اشاره کرد (۱۷). Bressan و همکاران در ریزازدیادی دو رقم *R. hybrida* در حضور BAP پاسخ متفاوتی مشاهده نمودند (۷). به عنوان مثال در غلظت‌های پایین BAP (بین ۰/۰۳ تا ۰/۳ میلی‌گرم در لیتر) نمو جوانه‌های جانبی در کولتیوار Gold Glow تحریک شد اما کولتیوار Improved Blaze تحت تأثیر قرار نگرفت. در گل محمدی نیز تکثیر به ژنوتیپ وابسته است (۱۷، ۲۸ و ۳).

Rout و همکاران گزارش کردند که تکثیر اندام هوایی و ازدیاد رز به طور عمده در محیط‌های کشت دارای سیتوکینین انجام می‌شود (۲۵). همچنین Kornova و

میزان کلروفیل تفاوت معنی‌داری میان دو محیط WP و QL با تیمارهای هورمونی مختلف وجود داشت (جدول ۳).

جدول ۳- اثر محیط‌های کشت مختلف بر میزان کلروفیل در قطعات جداکشت گره حاوی جوانه جانبی (گروه‌بندی داده‌ها براساس آزمون دانکن ( $P < 0.05$ ) صورت گرفته است).

میزان کلروفیل ( $\mu\text{molm}^{-2}$ )	تیمار هورمونی	محیط کشت
۴۲۳/۳۴b	Kin 1	QL
۴۰۸/۵۵ bc	Kin3	
۳۲۶/۲۵ cd	BAP1	
۲۶۸/۵۲ d	BAP3	
۴۱۷/۱۱ b	Kin 1	WP
۵۳۲/۰۹ a	Kin3	
۴۳۴/۷۳ b	BAP1	
۳۶۸/۳۶ bc	BAP3	

حروف مشابه در هر ستون بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد.

**اثر محیط‌های کشت و هورمون‌های مختلف بر ریشه‌زایی:** استفاده از محیط‌های کشت مختلف (MS، 1/2MS، QL، 1/2QL و WP) با غلظت‌های مختلفی از اکسین نتایج رضایت‌بخشی ایجاد نکرد؛ البته تعداد کمی از گیاهچه‌ها ریشه‌دار شدند. ریشه‌های حاصل کوتاه و تعداد آنها کم بود.

به همین ترتیب تولید ریشه‌ها (با روش quick-dip) با به کار بردن ۲۰۰۰ - ۰ mg/l محلول اکسین (IAA و IBA) استریل شده نیز موفق نبود.

سرانجام، در میان محیط‌های کشت مختلف با تیمارهای هورمونی مختلف، محیط کشت WP حاوی mg/l ۲/۰ NAA باعث ریشه‌دار شدن گیاهچه‌ها شد (شکل ۲).

## بحث

مشکل اثر ترکیبات فنلی بر محیط کشت، معمولاً در طی ریزازدیادی گیاهان چند ساله چوبی رخ می‌دهد که منجر به تجمع مواد بازدارنده‌ی رشد به‌ویژه در مراحل اولیه کشت

MS بود. همچنین میانگین تعداد برگ و تعداد برگچه در هر قطعه جدا کشت، طول برگچه‌ها و درصد و مدت بقا در محیط کشت QL بیشتر از محیط کشت WP و MS بود. به عبارتی بهترین نتایج برای رشد ساقه و تازه و سبز ماندن آنها از محیط QL حاصل شد.

زرد شدن برگ و نکروزه شدن اندام‌های هوایی را می‌توان با دو برابر نمودن یون کلسیم کنترل نمود (۲۴). با توجه به این‌که محیط کشت QL دارای محتوی میزان کلسیم بیشتری است شاید دلیل سبز ماندن برگ‌ها وجود کلسیم در این محیط کشت باشد. در بررسی‌های انجام شده استفاده از یونفورهای کلسیم باعث افزایش تعداد جوانه‌ها در قطعات کشت شده گل محمدی شد (۱۱). در محیط کشت QL میزان آمونیوم کاهش یافته است. کاهش آمونیوم در محیط کشت موجب سبزتر شدن برگ‌ها می‌شود (۱۱) و شاید بقای بیشتر نوشاخه‌ها در محیط کشت QL کاهش قابل توجه میزان آمونیوم، افزایش کلسیم و حذف تقریباً کامل کلر از محیط کشت باشد. از محیط کشت QL در ریزازدیادی گل محمدی تاکنون به‌طور معمول استفاده نشده است. این محیط کشت برای ممانعت از شیشه‌ای شدن در *Rosa hybrida* استفاده شده است و به رز اختصاص دارد. گزارش‌هایی در استفاده از این محیط در سایر گونه‌ها وجود دارد. به گزارش Freire و همکاران استفاده از این محیط برای ریزازدیادی گل‌ابی موجب افزایش میزان نمو و وزن نوشاخه‌ها شد (۹). براساس نتایج این مطالعه محیط کشت QL برای ریزازدیادی گل محمدی نسبت به سایر محیط‌هایی که تا به حال آزمون شده‌اند، محیط کشت بسیار مناسب‌تری است و به‌نظر می‌رسد در صورتی که این محیط در تلفیق با سایر عوامل مؤثر بر بقای نوشاخه‌های گل محمدی آزمون شود به نتایج بهتری منجر شود.

نتایج ریشه‌زایی شاخه‌ها نشان داد که ریشه‌زایی گل محمدی به سختی صورت می‌گیرد. محققان در تحقیق با

Michailova بهترین نتایج رشد ساقه و شاداب و سبز ماندن آن را در محیط کشت MS توسط هورمون BAP به‌دست آوردند (۱۴). در این پژوهش از یک رقم استفاده شد اما پاسخ نسبت به هورمون‌های مختلف یکسان نبود و بهترین پاسخ برای تکثیر اندام هوایی در حضور BAP با غلظت (۳mg/l) مشاهده شد که بالاترین میانگین تعداد شاخه در هر جداکشت (در محیط QL) را ایجاد نمود که مؤید مطالعات قبلی است. Bressan و همکاران با مقایسه‌ی اثر BAP و 2-ip در تکثیر رز بیشترین اثر تحریک‌کنندگی را برای BAP گزارش نمودند (۷). براساس نتایج به‌دست آمده توسط پیوندی و همکاران هورمون BAP مناسب‌ترین هورمون برای ریزازدیادی *Chrysanthemum morifolium* Ramat L. می‌باشد (۱).

محیط کشت MS متداول‌ترین محیط کشت مورد استفاده برای تکثیر رز است. Davies گزارش نمود که محیط کشت MS استاندارد بهترین القاء‌کننده در تکثیر اندام هوایی در ارقام مختلف رز است (۸). استفاده از سایر محیط‌های کشت نیز گزارش شده است (۱۷). Pittet و Moncousin از محیط کشت LS (LinsmairL, skoog) با تیمار ۱/۰/۱ mg/l IBA و BAP mg/l ۰/۵ برای القای نوشاخه استفاده نمودند (۲۲). Norton و Boe نیز از محیط LS استفاده کردند و تکثیر با سرعت بالاتر را با (BAP ۲/۱ mg/l - ۲/۵) به‌دست آوردند (۲۰). محیط‌های کشتی مانند Lee و Gamborg و محیط کشت de Fossaoil توسط Alekhno و Vysotskii نیز استفاده شدند (۵). محیط کشت QL (Quorine and Lepoiver) و WPM (Woody Plant) برای ریز ازدیادی *R.hybrida* با رقم Moneyway مورد استفاده قرار گرفتند (۱۷). اما برای گل محمدی از محیط‌های کشت محدودتری استفاده شده است (۲۷ و ۶).

براساس نتایج به‌دست آمده در این پژوهش رشد طولی گیاه، تعداد برگ‌های تولید شده، اندازه برگ‌ها و مدت بقا گیاه در محیط کشت QL بهتر از محیط‌های کشت WP و

ریشه در سایر محیط‌ها را می‌توان به تیمار هورمونی به‌کار رفته یا تیمار هورمونی مرحله شاخه‌زایی ارتباط داد. به گزارش Huetteman و Preece محیط پایه بر روی ریشه-زایی اثر دارد (۱۰). Huetteman و Preece عنوان کردند که امکان دارد ریشه‌زایی شاخه‌هایی که تحت تأثیر TDZ هستند به‌سختی صورت بگیرد که این نتیجه با نتایج ما مطابقت دارد. بنابراین برای افزایش توان ریشه‌زایی پیشنهاد می‌شود که تیمارهای هورمونی در مرحله شاخه‌زایی نیز مد نظر قرار گیرد.

ژنوتیپ‌های مختلف این نتیجه را گزارش کردند (۱۲ و ۴). Sink و Khush-Khui بیان کردند که ریشه‌زایی رزهای قدیمی از جمله گل محمدی از رزهای جدید مشکل‌تر می‌باشد (۱۳).

در بین محیط‌های آزمون شده برای ریشه‌زایی تنها در محیط کشت WP حاوی  $0.2 \text{ mg/l}$  NAA ریشه تشکیل شد (۲۵٪). شرفی و همکاران برای ریشه‌دار کردن گیاه *Artemisia annua* از هورمون NAA استفاده کردند که نتایج رضایت‌بخشی را به‌دست آوردند (۱). عدم تشکیل

### منابع

۱. پیوندی، م.، مراد تهرانی، م. و مجلد، ا.، ۱۳۹۰. ریزازدیادی گیاه داوودی *Chrysanthemum morifolium* Ramat L. مجله زیست‌شناسی ایران. ۲۴(۲): ۲۳۹-۲۴۴.
۲. شرفی، ع.، هاشمی سهی، ه. و جورابچی، ع. ۱۳۸۷. بهینه‌سازی شرایط باززایی گیاه دارویی *Artemisia annua* مجله زیست‌شناسی ایران. ۲۱(۴): ۵۶۵-۵۷۳.
۳. طبائی عقداغی، س.ر.، میرجانی، ل.، امام، م.، عصاره، م و قمری زارع، ع. ۱۳۸۶. تأثیر ژنوتیپ و تنظیم‌کننده‌های رشد بر کال‌زایی
5. Alekhno, G.D., Vysotskii, A.V., 1989, Clonal micropropagation of Roses, Fiziol Biokhim Kult Rast. 18(5):489-93.
6. Boomsiri, C and Masomboon, N., 2003, Multiple shoot induction and plant regeneration of *Rosa damascena*. Sil. Uni. Inter. J. 3(2):229-237
7. Bressan, P.H., Kim, Y.J., Hyndman S.E., Hasegawa, P.M., Bressan, R.A., 1982. Factors affecting in vitro propagation of rose, J Am Soc Horticult Sci 107:979-90.
8. Davies, D.R., 1980. Rapid propagation of roses, in vitro. Sci Horticult, 13:385-9.
9. Freire, I.C.G., Coelho, C.P.S., Barros, M.T.F., 2002. Improved culture media for the in vitro establishment of pear from nodal cuttings. Act. Horticult. 596:457-761.
10. Huetteman, C.A. and Preece, J.E. 1993; Thidiazuron: A potent cytokinin for woody plant tissue culture, cell, tissue and organ culture, 33:105-119.
11. Ishioka, N., Tanimoto, Sh., 1990. Plant regeneration from Bulgarian rose callus. Plant cell tissue and organ culture, 22:3:197-199.
12. Jabbarzadeh, Z. and Khosh-Khui, M., 2005; Factor affecting tissue culture of *Damask Rose (Rosa damascena Mill.)*, Scientia Horticulturae, 105:475-48
13. Khosh-khui, M., Sink, K.C., 1982a. Micropropagation of new and old rose species. J. Hort. Sci, 57:315-319.
14. Kornova, K.M., Michailova, J., 1994. Study of the in vitro rooting of Kazanlak oil bearing rose (*Rosa damascena Mill.*) J. Essen. oil. Res., 6(5):485-492.
15. Kumar, A., Sood, A., Palni, U.T., Gupta, A.K and Palni, L.M.S., 2001. Micropropagation of *Rosa damascena Mill* from mature bushes using thidiazuron. J. Hort. Sci. Biotech, 76(1): 30-34.
16. Kumar, A., Palni, L. M.S., Nandi, S. K., 2003. The effect of light source and gelling agent on micropropagation of *Rosa damascena*. J Hort. Sci and Bio, 78(5): 786-792.



17. Kumar, P., Prasad, S., Sharma, M., Sood, A and Ahuja, S., 2006. In vitro propagation of *rose* a review. *Biotech.Adv*, 24:94-114.
18. Markwell, J., Osterman, J., Mitchell, J., 1995. Calibration of the Minolta SPAD-502 leaf chlorophyll meter. *Photosynthesis Research*, 46: 467-472.
19. Nikbakht, A., Kafi, M., Mirmasoumi, M., Babalar, M. 2005. Micropropagation of Damask rose genotypes from East and West Azarbaygan provinces. *Inter. J. Agri. Biol*, 7(4):535-538.
20. Norton, ME., Boe,AA., 1982. In vitro propagation of ornamental Rosaceous plants. *Hortic Sci*, 17:190-1
21. Pati, P.K., Sharma, M., Ahuja,P.S., 2001. Micropropagation protoplast culture and its implications in the improvement of scented *rose*. *Act.Hor*, 547:147-158.
22. Pittet, H., Monocousin, C., 1981. Multiplication novella due rosier. *Rev Hortic Suisse*, 54:169-73.
23. Pittet.H., Moncousin, C., 1982. Rose in vitro micropropagation .*Rev Hortic Suisse*, 55(3):67-9.
24. Podwyszynska, M., Olszewski, T., 1995. Influence of gelling agents on shoot multiplication and the uptake of macroelements by in vitro culture of rose. *Sci Hortic*, 64:77-84.
25. Rout, G.R., Samantaray, S., Mottley, J., Das, P., 1999. Biotechnology of the rose: a review of recent progress. *Scien .Hort*, 81:201-228.
26. Sharma, M., Kumar, P., Sood, A and Ahuja, S., 2004. Direct shoot regeneration from leaf explants of *Rosa damascene*. In vitro cell .develop. *Biol-plant*, 40(2): 192-195.
27. Theo, P.M.Van der salm., Caroline G.G.Van der Toorn., CharlotteH. Hanisch ten Cate., Lidwien A.M. Dubois., Dik p.De Vries and Hanvs J.M.Dond., 1994. Importance of the iron chelate formula for micropropagation of *Rosa Hybrida*. *Plant cell tissue and organ culture*. 37(1):73-77.
28. Zare, A.G., Assare, M.H., Shahrzad, S and Mamaghani, B.A., 2006. Culture of two Damask rose genotypes from East and West Azarbayjan provinces. *Ind.J.pl.Br. gen. Res*, 14(3):155-162.

## **The effect of basal media and hormonal treatment on Damask rose (*Rosa damascene* Mill.) micropropagation.**

**gholizadeh F., Golami L. and Kiarostami Kh.**

**Biology Dept., Faculty of Science, Alzahra University, Tehran, Iran**

### **Abstract**

*In vitro* propagation of *Damask rose* via single nod explants was investigated on 3 different basal media, Murashige and Skoog (MS), Lioyl and Cown (WP) and Quoirin and Lepoivre(QL). The effect of different basal media on shoot proliferation and media browning was studied. The highest percentage of proliferation was achieved on QL medium. Explants grown in the above media were transferred to the same media supplemented with BAP and Kn (1.3 mg/l) for shoot proliferation. The highest shoot proliferation response and shoot growth was recorded when shoots were cultured in QL medium with 3 mg/l BAP. Comparison of different media (MS, WP, QL) based on number of shoot, leaves, leaflet number and shoot length indicate that QL medium was the best compared to other media for Damask rose *in vitro* micropropagation. Rooting of the regenerated shoots was induced on WP medium supplemented with 0.2 mg/l NAA.

**Key words:** Damask rose, micropropagation, basal media, browning