# اثر تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی و نوع کلات آهن بر پرآوری و ریشه زایی درون شیشه ای سه رقم گل سرخ شاخه بریده (*Rosa hybrida* L.)

فتانه یاری[۱و۲]، امیر موسوی*[۲]، یونس مستوفی*[۱]، سید مهدی سیدی[۲]، ذبیح اله زمانی[۱] و مارگیت لایمر[۳]

[۱] کرج، دانشگاه تهران، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی

[۲] تهران، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فنآوری

[۳] اطریش، وین، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی

تاریخ دریافت: ۸۹/۱۰/۲۶ تاریخ پذیرش: ۸۹/۱۲/۴

## چکیده

شیوه کشت درون شیشه‌ای علاوه بر اینکه روش مناسبی برای تکثیر رقمهای تجاری گل سرخ با یکنواختی بسیار بالا و در مدت زمان کم می‌باشد، امروزه به عنوان راه گشای مطلوبی در جهت اصلاح از طریق دست ورزی ژنتیکی به شمار می‌رود. جوانه های کشت بافتی سه رقم گل سرخ شاخه بریده تجاری به منظور تکثیر و پرآوری در ترکیب با چهار تنظیم کننده رشد BA (۴/۴۴-۱/۵۹-۰ میکرو مولار) ، NAA (۰/۵۴- ۰/۲۷- ۰/۲۱- ۰ میکرو مولار) ، IBA (۰/۱۴- ۰ میکرو مولار) و $GA_3$ (۰/۲۹-۰ میکرو مولار) ارزیابی شدند. محیط کشت پایه MS حاوی کلات آهن FeEDTA یا FeEDDHA بود. برای القای ریشه در رقمهای مورد مطالعه، تیمار ترکیبی شامل ۹/۹ میکرو مولار IBA و ۵/۷ میکرو مولار IAA اعمال شد. نرخ پرآوری در ترکیبهای تیماری بسته به رقم متغیر بود. تیمار ۱/۵۹ میکرو مولار BA و ۰/۱۴ میکرو مولار IBA در همه رقمها از بیشترین درصد پرآوری و رشد برخوردار بود. درصد ریشه زایی، میانگین تعداد ریشه و طول ریشه بسته به نوع رقم تفاوت معنی داری نشان داد. نوع کلات آهن بر میانگین شاخساره تولیدی مؤثر بوده ولی از نظر سایر صفات مورد بررسی در تیمار های پرآوری و ریشه زایی تأثیر قابل ملاحظه‌ای نداشت.

**واژه های کلیدی**: پرآوری، ریشه زایی، کلات آهن، گل سرخ

* نویسندگان مسئول، تلفن : ۴۴۵۸۰۳۶۸-۰۲۱ پست الکترونیکی: m-amir@nigeb.ac.ir و ymostofi@ut.ac.ir

## مقدمه

ارزش تجاری و زینتی رقمهای شاخه بریده در گل سرخ از دیرباز سبب محبوبیت این گل بوده و جهانی شدن بازار گل نیز روز به روز بر شهرت آن افزوده است. امروزه ریز ازدیادی، راه‌گشای تکثیر انبوه گیاهچه‌های مرغوب شده و همین امر صنعت گلکاری را در تولید و عرضه گل سرخ متحول نموده است. شایان ذکر است که کشت بافت دریچه‌ای جدید بر روی اصلاح و معرفی رقمهای جدید نیز در دنیا گشوده است، خصوصاً در مورد گل سرخ، که شیوه های اصلاح کلاسیک آن با مشکلات زیادی مواجه است (۱۹). جنس گل سرخ از تیره Rosaceae بیش از ۱۰۰ گونه را در برداشته (۱۴) که بالغ بر ۲۰ هزار رقم تجاری گل سرخ تا کنون تنها بر پایه ۸ گونه وحشی اصلاح شده و به دنیا معرفی شده‌اند (۱۸).

کشت بذر، قلمه، خوابانیدن و پیوند زدن روشهای تکثیری سنتی گل سرخ همچنان مورد استفاده بسیاری از پرورش دهندگان است. این در حالی است که تکثیر جنسی با بذر همواره منجر به بروز تنوع زیاد و سایر شیوه‌های تکثیری با بازدهی کند می باشند. در عین حال بروز هتروزیگوسیتی،



Archive of SID
www.SID.ir

محدودیت منابع ژنتیکی سازگار در دورگ گیری جنسی و پیچیدگی ساختار ژنومی گل رز، بهسازی آن را از طریق روشهای اصلاح کلاسیک محدود نموده است (۱۹). به همین جهت لزوم ارائه روشی جایگزین، کارآ و پرسرعت همچون ازدیاد درون شیشه ای را نمی‌توان نادیده گرفت. اجزای محیط کشت خصوصاً تنظیم‌کننده‌های رشد عامل اساسی در چگونگی پاسخ رقمها به کشت درون شیشه‌ای می‌باشند. در عین حال، تأثیر نوع ژنوتیپ نیز در موفقیت این روشها بی‌اثر نبوده است (۱، ۸، ۱۴، ۳۳ و ۳۸).

پتانسیل مطلوب کشت و سازگاری رقمهای گل رز شاخه بریده در ایران مشوق بهینه‌سازی تکثیر و استفاده از آن در مسیر اصلاح و معرفی رقمهای جدید می باشد. لذا هدف پژوهش حاضر، بررسی برهمکنش تنظیم کننده‌های رشد گیاهی مختلف و ترکیب محیط کشت بر روی رشد، تکثیر و ریشه زایی شاخساره‌ها در سه رقم تجاری شاخه بریده گل سرخ در ایران بوده است.

## مواد و روشها

**ضد عفونی و استقرار ریزنمونه‌ها** : قطعه های ۲ سانتیمتری ساقه جوانه دار (Nodal stem segment) گیاهان سالم و قوی، سه رقم تجاری گل سرخ شاخه بریده به نامهای Orange Juice, Roulette and Vendetta پس از ۵ دقیقه ضد عفونی سطحی با محلول اتانول ۷۰ درصد (v/v) و سپس ۲۰ دقیقه محلول هیپوکلریت سدیم ۵۰ درصد همراه با ۳-۴ قطره Tween 80 ، با آب مقطر سترون شستشو و در محیط کشت MS حاوی ۴/۴۴ میکرو مولار BA، ۰/۵۴ میکرو مولار NAA و کلات آهن FeEDDHA ( اتوکلاو شده به مدت ۲۰ دقیقه تحت دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس و فشار یک اتمسفر)، کشت شدند. ریزنمونه‌های (Explants) کشت شده، تحت شرایط ۱۶ ساعت طول روز در دمای ۲±۲۳ درجه سلسیوس قرار گرفتند.

جدول ۱- نوع و غلظت تنظیم کننده های رشد مورد استفاده در محیطهای کشت پرآوری

| محیط کشت | BA (µM/l) | NAA (µM/l) | $GA_3$ (µM/l) | IBA (µM/l) |
|---|---|---|---|---|
| ۱ | ۰/۰ | ۰/۰ | ۰/۰ | ۰/۰ |
| ۲ | ۴/۴۴ | ۰/۰ | ۰/۰ | ۰/۰ |
| ۳ | ۴/۴۴ | ۰/۵۴ | ۰/۰ | ۰/۰ |
| ۴ | ۴/۴۴ | ۰/۲۷ | ۰/۰ | ۰/۰ |
| ۵ | ۴/۴۴ | ۰/۲۱ | ۰/۲۹ | ۰/۰ |
| ۶ | ۱/۵۹ | ۰/۰ | ۰/۰ | ۰/۱۴ |

جدول۲- تجزیه واریانس اثر تیمارهای تنظیم کننده های رشد بر پرآوری ریز نمونه ها در صفات اندازه گیری شده

| منابع تغییر | درجه آزادی | میانگین مربعات | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | درصد پرآوری ریزنمونه‌ها | درصد تولید کالوس در ته ریزنمونه ها | درصد رشد ریزنمونه ها | میانگین تعداد شاخساره‌های تولیدی | میانگین ارتفاع شاخساره اصلی (mm) |
| رقم | ۲ | ۰/۹** | ۰/۶** | ۰/۰۲** | ۰/۰۸** | ۵۱/۳۶** |
| تیمار | ۵ | ۱/۵** | ۶/۲** | ۰/۱۳** | ۰/۱۱** | ۷۵/۴۷** |
| رقم × تیمار | ۱۰ | ۰/۱۳** | ۰/۵۴** | ۰/۰۱** | ۰/۰۰۳ ns | ۶۰/۷۱** |
| خطا | ۳۶ | ۰/۰۰۸ | ۰/۰۰۶ | ۰/۰۰۵ | ۰/۰۰۲ | ۳/۰۸ |
| ضریب تغییرات | — | ۳/۲ | ۴/۷ | ۲/۳ | ۴/۰۲ | ۱۷/۸ |

* اختلاف در سطح احتمال ۵ درصد ** اختلاف در سطح احتمال ۱ درصد ns عدم اختلاف معنی‌دار



Archive of SID
www.SID.ir

**پرآوری ریزنمونه ها:** جهت بررسی اثر تنظیم کننده های رشد بر پرآوری شاخساره ها (Shoot proliferation)، پس از گذشت دو هفته جوانه های رشد یافته روی ریزنمونه ها جدا و به محیطهای پرآوری (جدول ۱) حاوی کلات آهن FeEDDHA منتقل شد. شاخساره های رشد نموده در ۱۶ ساعت طول روز در دمای ۲±۲۳ درجه سلسیوس، به صورت ماهانه در محیط کشت تازه واکشت گردید. صفات درصد پرآوری، درصد رشد ریزنمونه‌ها، میانگین تعداد شاخساره های تولیدی و میانگین طول شاخساره و میزان تولید کالوس در ته(Proximal end) ریزنمونه‌های انتقال یافته، اندازه گیری شد. این آزمایش در قالب فاکتوریل با طرح پایه کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد. پس از بررسی و انتخاب محیط برتر پرآوری، اثر این ترکیب تیماری بر شاخساره های حاصل از همان تیمار، در محیط MSحاوی کلات آهن FeEDTA یاFeEDDHA مورد ارزیابی مجدد قرار گرفت.

**القای ریشه در شاخساره ها:** شاخساره هایی قوی با ارتفاع تقریبی ۱ سانتیمتر از بین تیمار های مرحله قبل انتخاب و به منظور القای ریشه به محیط کشت ریشه زایی (½ MS salt+ full MS vitamins حاوی ۹/۹ میکرو مولار IBA و ۵/۷ میکرو مولار IAA) منتقل شدند. این آزمایش در قالب فاکتوریل با طرح پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار و ۵ الی ۷ ریزنمونه در هر ظرف کشت، انجام گرفت. پس از ۲ هفته، شاخساره ها به محیط عاری از هورمون و ۱۶ ساعت طول روز منتقل و پس از گذشت دو هفته دیگر، درصد ریشه زایی، میانگین تعداد ریشه تولیدی، میانگین طول ریشه و درصد رشد شاخساره رقمهای مورد مطالعه اندازه گیری شد. نمونه ها در دمای ۲±۲۳ درجه سلسیوس نگهداری شدند.

**محاسبات آماری:** پس از ثبت داده ها در نرم افزار EXCEL و تبدیل داده به روش جذری، تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از نرم افزار SAS و مقایسه میانگینها به روش دانکن انجام شد.

## نتایج و بحث

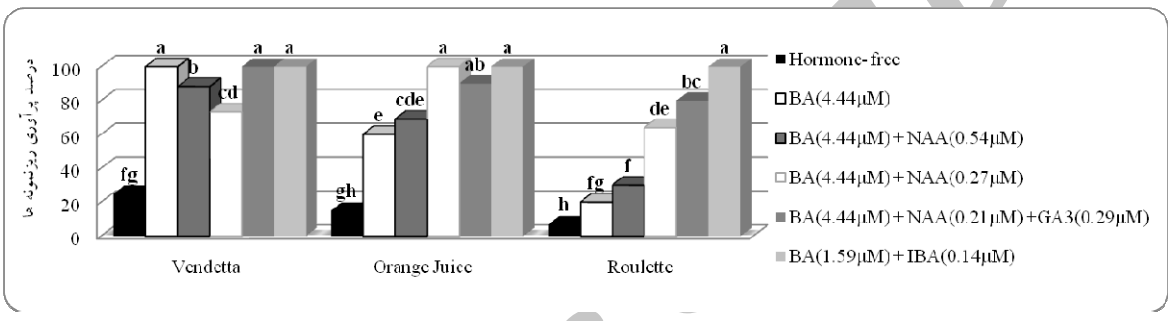
**اثر تنظیم کننده های مختلف رشد بر تکثیر و پرآوری ریز نمونه‌ها: درصد پرآوری ریزنمونه ها:** نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که پاسخ رقمها به تنظیم کننده‌های رشد مختلف، متفاوت بوده و نحوه برهمکنش و غلظت تنظیم کننده های رشد نیز تأثیر به سزایی بر آن دارد. در عین حال اثر متقابل رقم × تیمار نیز در سطح ۱درصد معنی‌دار بود (جدول۲ و شکل ۱). درصد پرآوری در تمامی رقمها با کاربرد تنظیم کننده‌های رشد نسبت مستقیم داشت و کمترین درصد پرآوری، در محیط عاری از هورمون به دست آمد. اگر چه واکنش رقمها به تیمار های یکسان از تنظیم‌کننده‌های مختلف رشد، می تواند حاکی از نقش مؤثر ژنوتیپ در چگونگی پاسخ باشد (۱۴، ۲۶ و ۲۷)، ولی محیط محتوی مقادیر بسیار کم دو هورمون BA و IBA به طور یکسان بهترین واکنش را به همراه داشت. در مورد رقم Vendetta کاربرد NAA در کلیه غلظتها پرآوری را کاهش داد، مگر در صورتی که با $GA_3$ به طور همزمان مورد استفاده قرار گرفت. رقم Orange Juice به تعادل مناسب بین این دو هورمون واکنش بهتری نشان داد و در رقم Roulette ، همان طور که مشاهده می‌شود، غلظت NAA و تعادل بین آن با BA در حضور $GA_3$ بیشترین تأثیر را در پرآوری ریزنمونه ها داشت. با درنظر گرفتن نقش شناخته شده اکسین ها، سایتوکنین ها و جیبرلین ها در رشد و تقسیم سلولی (۱۱) و نتایج بی شمار کاربرد تیمار های هورمونی که از طریق تأثیر گذاری بر غلظتهای هورمونهای درونی (۹ و۱۰) نقش خود را ایفاء می کنند، می توان چنین اظهار نظر کرد که هر ژنوتیپ دارای مقادیر خاصی از هورمونهای درونی بوده (۹ و۱۰) و غلظت تیمارهای به کار گرفته شده بیشترین تأثیر را در چگونگی عملکرد و واکنش هورمونهای درونی نسبت به



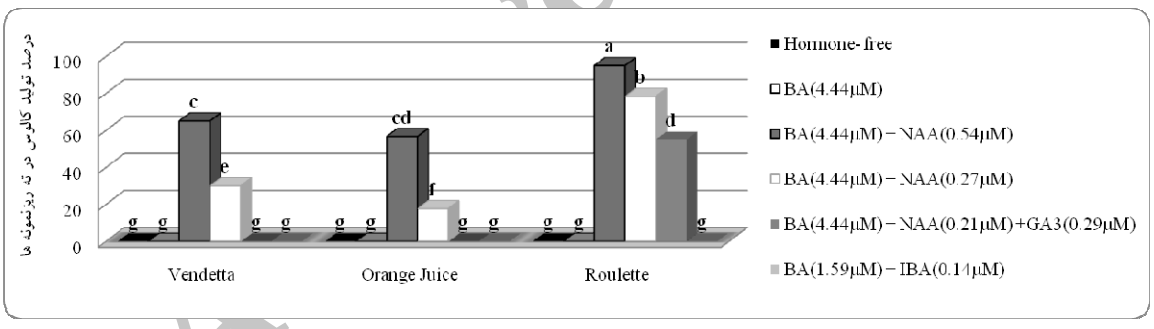
Archive of SID
www.SID.ir

آنها دارد. با توجه به اینکه، یکی از روشهای حفظ تعادل متابولیسمی گیاهان در غلظتهای بالا ، ممانعت از عمل و یا حتی تجزیه هورمون می باشد (۱۱)، اثر قطعی برهمکنش اکسین ها و سایتوکنین ها با سایر هورمونهای درونی در مراحل پایانی رشد و نمو، همانند اسید آبسزیک، اتیلن و جیبرلین‌ها، به اثبات رسیده است (۱۰). هنگام آغاز رشد جوانه‌های جانبی، غلظت برخی سایتوکنین‌ها در گل سرخ، افزایش و برخی دیگر کاهش یافته و سپس مقادیر سایتوکنین‌ها افت کرده که بیانگر اثر مثبت و کنترل کننده آنها در رشد جوانه های جانبی است (۵). در عین حال، به نظر می رسد که اکسین‌ها می توانند تا حدودی ذخیره سایتوکنینی گیاه را کنترل نموده و از سنتز آن بکاهند (۲۴).

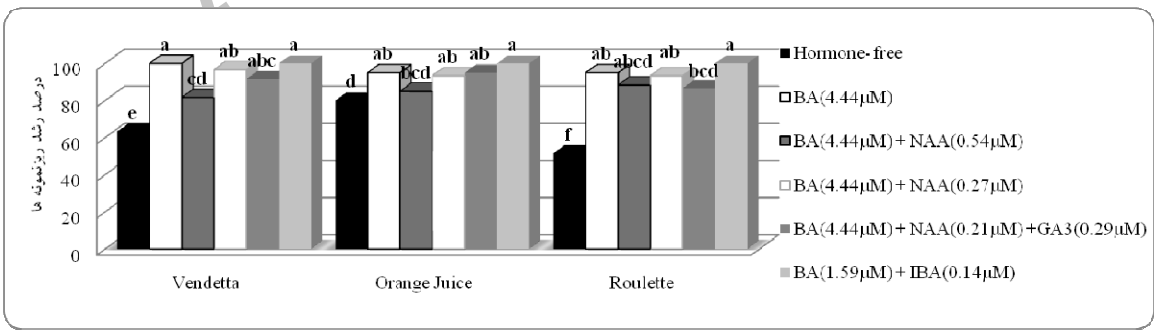
BAنسبت به سایر سایتوکنین‌ها بیشتر بر روی رشد شاخساره‌های جانبی اثر گذاشته (۶، ۱۳ و ۴۳) و مقادیر کمتر آن بهترین اثر را در نمو شاخساره دارد. در عین حال، غلظتهای بالای آن حتی بازدارنده نیز می باشد (۱۸، ۳۲). چنین می‌توان گفت که هورمون BA مؤثرترین هورمون در این مرحله بوده و حتی غلظتهای ناچیز آن برای القای رشد در جوانه ها ضروری است. بنابراین تنظیم کننده های رشد در مقادیر کم، اثر بخشی مطلوبی دارند.




شکل ۱- نمودار مقایسه میانگین اثر متقابل رقم×تنظیم کننده های رشد بر درصد پرآوری ریزنمونه ها




شکل ۲- نمودار مقایسه میانگین اثر متقابل رقم× تنظیم کننده های رشد بر درصد تولید کالوس در ته ریزنمونه ها




شکل ۳- نمودار مقایسه میانگین اثر متقابل رقم× تنظیم کننده های رشد بر درصد رشد ریزنمونه ها



www.SID.ir

**درصد تولید کالوس در ریزنمونه ها:** انتهای ریز نمونه ها در مجاورت تنظیم کننده های مختلف رشد، مقادیر متفاوت کالوس زایی را نشان دادند که بسته به رقم و اثر متقابل رقم با تنظیم کننده های رشد، اندازه و میزان این کالوسها متغیر بود (جدول ۲). رقم Roulette با ۳۸ درصد تولید کالوس نسبت به دو رقم دیگر اختلاف معنی داری نشان داد. میزان تولید کالوس نسبت مستقیم با غلظتهای اکسین و سایتوکنین داشته (۱۱) به طوری که در تیمارهای صرف سایتوکنین، فاقد هورمون یا مقدار اندک آنها، تولید کالوس متوقف شد (شکل ۲). ترکیب هورمون NAA و BA سبب القای تولید کالوس شده و این صفت با افزایش غلظت آنها رابطه مستقیم داشت. تفاوت بین رقمها بیانگر نقش مؤثر ژنوتیپ می‌تواند باشد (۱۴، ۲۶ و ۲۷) و همان طور که مشاهده می‌شود تأثیر $GA_3$ در رقم Roulette بسیار ناچیز بوده در صورتی که در دو رقم دیگر مانع تولید کالوس شده است. ترکیب هورمون IBA و BA با غلظت کم در هر سه رقم تولید کالوس را به همراه نداشت. در واقع تولید کالوس در ته شاخساره اصلی ناشی از تجمع اکسین و مشتقات آن می‌تواند باشد (۴۵).

**درصد رشد ریزنمونه ها** : میزان رشد ریزنمونه‌ها در محیطهای مختلف کشت، تحت تأثیر رقم، تیمار و اثر متقابل آنها قرار گرفت (جدول ۲). هورمون BA در رشد شاخساره‌ها بیشترین تأثیر را داشت (۶، ۱۳ و ۴۳) و با کاهش میزان آن، رشد نیز کاهش یافت. در عین حال، واکنش رقمهای مختلف نسبت به ترکیب هورمونی را نمی‌توان نادیده گرفت (شکل ۳). حضور تنظیم کننده‌های رشد برای رشد مطلوب ضروری است، اگر چه تعادل بین هورمون‌ها و غلظت‌های آنها در واکنش به رقم عامل تعیین کننده اصلی است (۱۵، ۲۶، ۲۷ و ۳۲). افزایش غلظت هورمون NAA در ترکیب با سایر تنظیم‌کننده‌های رشد بسته به رقم، رشد را کاهش داده است. تأثیر $GA_3$ نسبت به دو تنظیم کننده دیگر را می‌توان نادیده گرفت. ترکیب IBA و BA در مقادیر کم بسیار تأثیرگذار بوده است (۱۸).

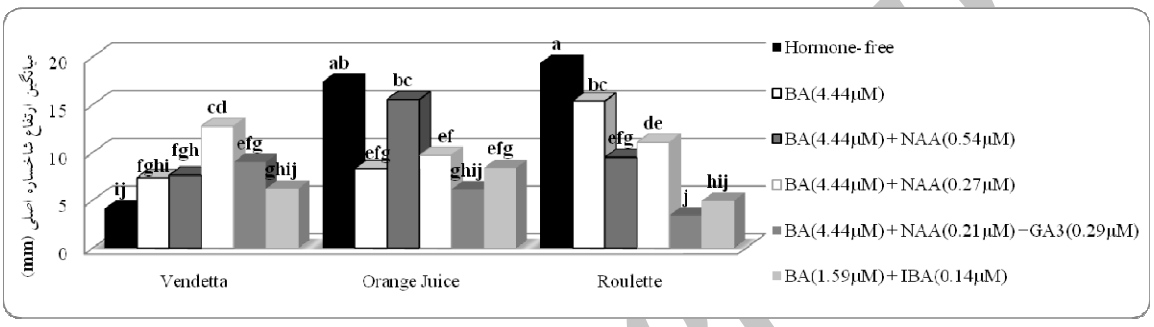
**میانگین ارتفاع شاخساره اصلی:** میانگین رشد طولی شاخساره‌های اولیه بین رقمهای مختلف و تیمارهای متفاوت، متغیر بود (جدول ۲). اگر چه پاسخ رقمها متفاوت می‌باشد، رقم Vendetta به تیمار ترکیب هورمونی ۴/۴۴ میکرو مولار BA و ۰/۲۷ میکرو مولار NAA بهترین پاسخ را داد (شکل ۱۲). واکنش رقمها به تیمارهای به کاربرده شده، نشانگر تأثیر ژنوتیپ در کنترل این فرآیند می‌باشد( ۲۶ و ۲۷). تعادل و ترکیب تنظیم کننده‌های رشد در مرتبه‌بعدی اهمیت قرار دارد(۱۸). محیطهای کشت عاری از هورمون و یا حاوی مقدار بیشتر BA، بیشترین تأثیر را در رشد طولی شاخساره‌ها داشتند (شکل ۴). با در نظر گرفتن نقش سایتوکنین ها در رشد طولی ساقه و تعادل مناسب بین نسبت اکسین به سایتوکنین (۱۱ و ۲۴) می توان نتیجه گرفت که غلظتهای بالای سایتوکنین ها مهمترین عامل القای رشد طولی است و در عین حال، تیمار عاری از هورمون درصد پرآوری بسیار کمی را نشان می‌دهد چرا که پتانسیل جوانه صرف رشد طولی می شود. مشخص شده است که تیمار مواد ضد اکسینی بر پرآوری و ارتفاع شاخساره ها اثر مثبت داشته و احتمالاً از طریق تعدیل نسبت اکسین به سایتوکنین عمل می نماید (۳۴ و ۴۵). ترکیب هورمونی حاوی $GA_3$ و بر همکنش آن با سایر هورمونها بر رشد طولی شاخساره چندان مؤثر نبود که می تواند ناشی از غلظت کم این تنظیم کننده رشد در محیط و چگونگی عملکرد آن در تعادل با غلظتهای بالای سایتوکنین‌ها باشد (۱۱). از آنجایی که تعادل مناسب بین هورمونها پاسخگوی واکنش بافتها می باشد لذا، این مقادیر در ترکیب باهم، عملکرد مناسبی در تقویت رشد طولی شاخساره ها نداشتند.

**میانگین تعداد شاخساره تولیدی** : تأثیر رقم و تیمارهای به کار رفته، بر تعداد شاخساره‌های پرآوری شده معنی‌دار بود، در حالی که تعامل بین این دو بر این صفت تاثیر گذار نبود (جدول ۲). در بین تیمارهای بکار برده شده، ترکیب

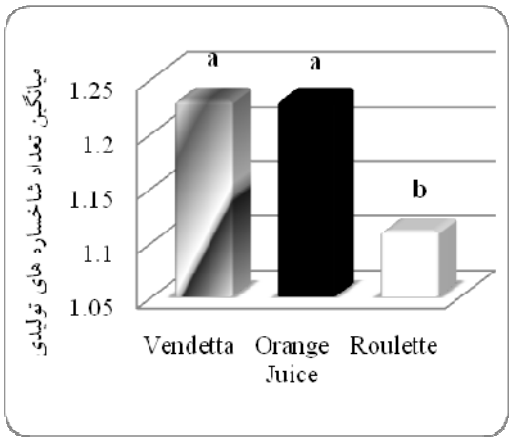


Archive of SID
www.SID.ir

غلظت کم BA با اکسین، بیشترین تأثیر را بر میزان تولید شاخساره داشته و افزودن $GA_3$ به محیط کشت در تعامل با دو هورمون دیگر اثر مستقیم بر این صفت گذاشت. به طوری که، در تیمارهای ترکیبی سایتوکنین بالا با غلظتهای متفاوت اکسین، تعداد شاخساره تولیدی کاهش نشان داد، هر چند که واکنش ارقام کاملاً یکسان نبود (جدول ۲ و شکل ۵). حفظ تعادل مناسب تنظیم کننده های رشد در محیط، اثر مطلوب تری دارد و تفاوت رویش شاخساره های جدید، در محیطهای حاوی تنظیم کننده ها، نسبت به محیط عاری از هورمون معنی دار است (شکل ۶). مشاهده شده که ترکیب غلظتهای بالای هورمونهای IAA و NAA با BA سبب کاهش تعداد شاخساره تولیدی شده و ترکیب مقادیر بالای هر دو هورمون اکسین و سایتوکنین تأثیر معکوس بر تعداد شاخساره تولیدی داشته و این اثر مجزا از اثر ژنوتیپ و سن ریزنمونه بوده است (۱۵)، که با نتایج به دست آمده قبلی همخوانی دارد (۷ و ۱۸).




شکل ۴- نمودار مقایسه میانگین اثر متقابل رقم× تنظیم کننده های رشد بر میانگین ارتفاع شاخساره اصلی

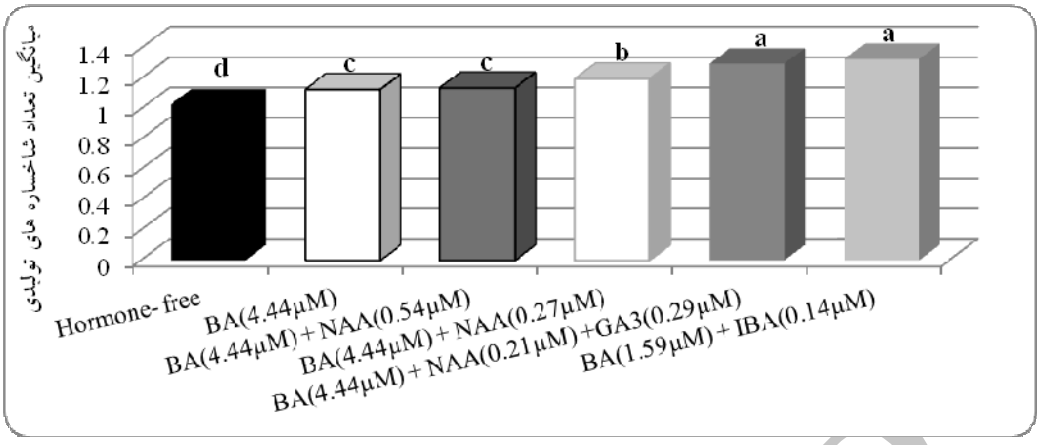



شکل ۵- نمودار مقایسه میانگین اثر رقم بر میانگین تعداد شاخساره های تولیدی

با در نظر گرفتن تمامی موارد، می‌توان گفت که ژنوتیپ نقش به سزایی را در پرآوری شاخساره‌ها، ایفاء می‌کند (۱۴). اثر مستقیم ژنوتیپ بر تکثیر درون شیشه ای گل سرخ، با عملکرد ژنومی مرتبط است و به تازگی حضور برخی از ژنها در جهت افزایش تعداد آغازنده های جوانه و پرآوری شاخه به اثبات رسیده است (۲۶، ۲۷) اگرچه گزارشهای قبلی مبنی بر ترکیب مؤثرتر NAA با BA در القای شاخساره نسبت به IAA و IBA می باشد (۴۱). IBA از طریق تبدیل به فرم فعال IAA بر روی بافت گیاهی تأثیر گذاشته (۴ و ۲۰) و توسط ناقلهای IAA به سلول وارد می شود در صورتی که، NAA این توانایی را در برقراری ارتباط با ناقل ندارد (۲۱). تأثیر بهتر ترکیب IBA با BA نسبت به NAA را شاید بتوان مرتبط با اتصال بهتر آن به گیرنده و اثر بخشی بهتر آن دانست. لذا، می‌توان چنین نتیجه گرفت که تاثیر ژنوتیپ و در عین حال ترکیب هورمونی، بر تقویت رشد و پرآوری ریزنمونه‌ها امری واضح است (۳، ۶، ۸، ۱۲، ۲۸-۳۱، ۳۵-۳۸).



Archive of SID
www.SID.ir



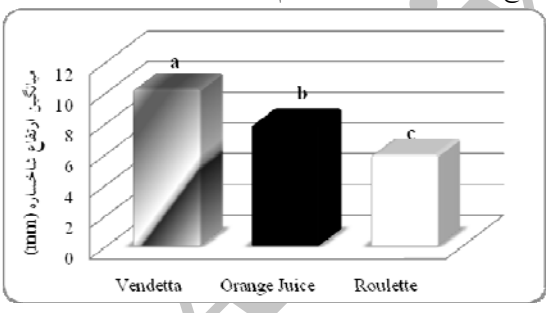

شکل ۶- نمودار مقایسه میانگین اثر تیمارهای تنظیم کننده های رشد بر میانگین تعداد شاخساره های تولیدی

جدول۳- تجزیه واریانس اثر تیمار برتر پرآوری و نوع کلات آهن بر صفات اندازه گیری شده

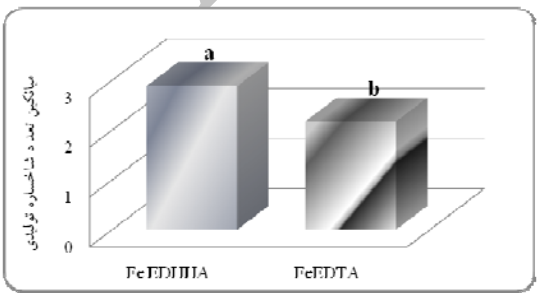
| منابع تغییر | درجه آزادی | میانگین مربعات | |
|---|---|---|---|
| | | میانگین تعداد شاخساره‌ها | میانگین ارتفاع شاخساره (mm) |
| رقم | ۲ | ۱/۴ **ns** | ۲۷/۷ ** |
| کلات آهن | ۱ | ۲/۲ * | ۰/۳۷ **ns** |
| رقم × کلات آهن | ۲ | ۰/۰۴ **ns** | ۳/۰۸ **ns** |
| خطا | ۱۲ | ۰/۳۸ | ۱/۲ |
| ضریب تغییرات | — | ۲۴/۶ | ۱۳/۹ |

*اختلاف در سطح احتمال ۵ درصد، **اختلاف در سطح احتمال ۱ درصد، **ns** عدم اختلاف معنی‌دار

**اثر نوع کلات آهن بر پرآوری شاخساره ها** : رقمها در هر دو نوع کلات آهن، از درصد پرآوری و رشد مطلوب و کاملاً یکسان برخوردار بودند. نوع کلات آهن بر ارتفاع شاخساره در رقمهای مختلف مؤثر نبود و تفاوتها ناشی از خود رقم بود (شکل ۷). تنها، صفت میانگین تعداد شاخساره تحت تأثیر نوع کلات آهن قرار گرفت (جدول ۳ و شکل ۸). شاخسار ها در محیطهای حاوی FeEDDHA قدرت رشد رویش جوانه های بیشتری را نشان دادند، اگرچه تاثیر این کلات در جذب بهتر آهن از محیط توسط گل سرخ، عدم کلروز و رشد بهتر ریزنمونه ها در محیط پایه MS به اثبات رسیده است (۴۰). در این تحقیق، شاخساره‌های پرورش یافته در این کلات سبز تر بنظر می‌رسیدند و واکشت طولانی شاخساره ها در محیط حاوی FeEDTA کلروز و نکروز را به همراه داشت (داده ها ارئه نشده‌اند).




شکل ۷- نمودار مقایسه میانگین اثر رقم بر میانگین ارتفاع شاخساره




شکل ۸- نمودار مقایسه میانگین اثر نوع کلات آهن بر میانگین تعداد شاخساره های تولیدی

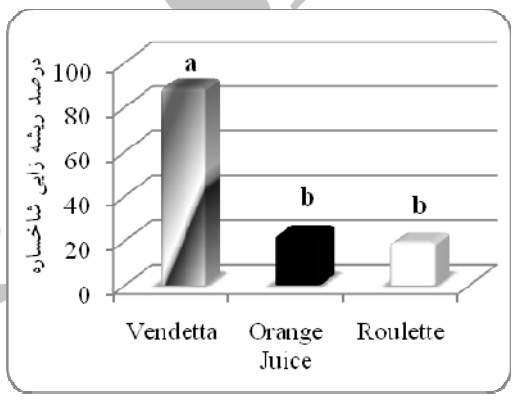


Archive of SID
www.SID.ir

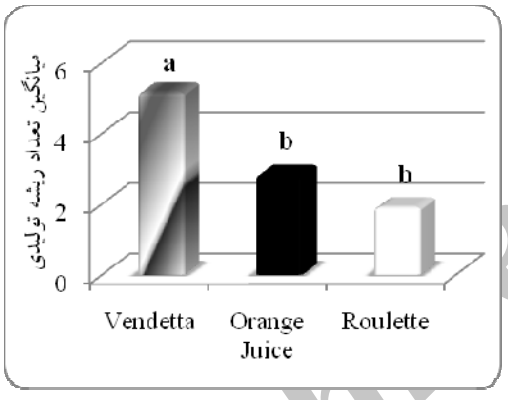
جدول۴- تجزیه واریانس اثر تیمار القای ریشه و نوع کلات آهن بر صفات اندازه گیری شده

| منابع تغییر | درجه آزادی | میانگین مربعات | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | درصد ریشه زایی شاخساره‌ها | درصد رشد شاخساره‌ها | میانگین تعداد ریشه | میانگین طول ریشه (mm) |
| رقم | ۲ | ۹۱۷۰/۸** | ۷۲۹/۶ ns | ۲۱/۲** | ۹۱۰/۵** |
| کلات آهن | ۱ | ۷/۲ ns | ۷۰/۴ ns | ۰/۰۲ ns | ۰/۰۵ ns |
| رقم × کلات آهن | ۲ | ۲۵/۰۵ ns | ۱۸/۷ ns | ۰/۲۳ ns | ۰/۳۴ ns |
| خطا | ۱۲ | ۸۹/۷ | ۲۰۰/۸ | ۰/۷ | ۶/۷ |
| ضریب تغییرات | ــ | ۲۱/۷ | ۱۶/۱۶ | ۲۶/۹ | ۲۴/۸ |

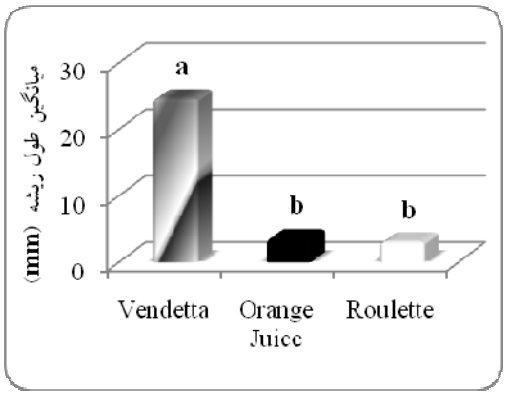
*اختلاف در سطح احتمال ۵ درصد، **اختلاف در سطح احتمال ۱ درصد، ns عدم اختلاف معنی‌دار




شکل ۹- نمودار مقایسه میانگین اثر رقم بر درصد ریشه زایی




شکل ۱۰- نمودار مقایسه میانگین اثر رقم بر میانگین تعداد ریشه تولیدی




شکل ۱۱- نمودار مقایسه میانگین اثر رقم بر میانگین طول ریشه



Archive of SID
www.SID.ir

شکل۱۲ – مراحل استقرار، پرآوری و ریشه زایی در شاخساره های گل سرخ شاخه بریده‌ی رقم **"Vendetta"**. ۱) جوانه های رشد یافته چهارده روز پس از استقرار، ۲) محیط برتر پرآوری، ۳) تولید کالوس در ته شاخساره، ۴) پرآوری نامطلوب و ارتفاع کم شاخساره، ۵) رشد مطلوب شاخساره ها برای انتقال به محیط ریشه زایی، ۶) ریشه زایی شاخساره ها.

نتایج حاصل از دو کشت متوالی، تأثیر معنی داری نشان ندادند. قدرت رویش جوانه ها، رابطه مستقیم با تغذیه مطلوب ریزمغذیها به خصوص نوع کلات آهن در گونه گل سرخ دارد(۴۰) که می تواند بیانگر جذب بهتر آهن و نقش مؤثر آن در ساختمان کلروفیل و فتوسنتز بهتر، در این شاخساره ها باشد.

**القای ریشه در شاخساره ها** : نوع رقم بر ریشه‌زایی تأثیر مستقیم داشته و رقم Vendetta با توجه به رشد بهتر و تولید شاخساره‌های قوی‌تر، در محیط ریشه‌زایی واکنش مطلوبی نشان داد. درصد ریشه زایی و میانگین طول ریشه و تعداد ریشه تولیدی در این رقم با دو رقم دیگر اختلاف معنی دار داشت. در عین حال، نوع کلات آهن بر ریشه‌زایی تأثیر به سزایی نداشت (جدول۴ و شکل ۹-۱۱). احتمالاً Orange Juice و Roulette جزء دسته ارقام سخت ریشه‌زا هستند که به تیمارهایی با غلظت بالای هورمونهای ریشه زایی نیاز دارند. تولید ریشه در گیاهان تحت تأثیر سنتز، متابولیسم، انتقال و مسیرهای انتقال علائم اکسین می باشد (۱۱). گزارش شده است که تیمار سلولهای گیاهی با اکسین سبب تنظیم کننده های پیش برنده ( Up regulation) یا کاهنده (Down regulation) بیان ژنها می شود (۴۲). اغلب نتایج، بیانگر تأثیر مثبت IAA در ترکیب با NAA و IBA در غلظت کمتری از نمکها، بر ریشه زایی گلهای سرخ می باشد (۲، ۱۳، ۱۷، ۲۹، ۳۹ و ۴۴).

## نتیجه گیری کلی

تکثیر و پرآوری و ریشه زایی شاخساره های گل سرخ در کشت درون شیشه ای، تحت تأثیر عوامل زیادی از جمله گونه، ژنوتیپ، رقم، محیط کشت، نمکهای معدنی، مواد آلی، کربوهیدرات‌ها، تنظیم کننده های رشد و شرایط محیطی قرار می‌گیرند (۲۶ و ۲۷) که از این بین، نقش نسبت اکسین به سایتوکنین از همه مهم تر است (۲۸). در این تحقیق نیز اهمیت ژنوتیپ و تنظیم کننده های رشد در بررسیها، احتمالاً بیانگر نقش ژنها و بیان متفاوت آنها در پاسخ به تیمارهای به کار رفته، محتوای متفاوت هورمونهای درونی در رقمها و تعامل بین تنظیم کننده های



Archive of SID
www.SID.ir

رشد و هورمونهای درونی می باشد.

**قدردانی و تشکر:** نویسندگان لازم می‌دانند که از پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری به خاطر فراهم نمودن امکان این تحقیق (طرح پژوهشی ۳۳۵) و معاونت محترم پژوهشی دانشگاه تهران مراتب سپاسگذاری خود را به جا آورند.

## منابع


۱. میرزایی اصل، الف. معینی، الف. سلمانیان، ع.ه. و جلالی جوران، م. ۱۳۸۸. بررسی اثر پیش تیمارهای هورمونی و ژنوتیپ در تشکیل نوساقه های نابجای مستقیم روی برگ های چغندرقند (*Beta vulgaris* L.) در شرایط درون شیشه ای. مجله زیست شناسی ایران ۲۲(۴)، ۷۱۹-۷۲۸.

2. Arnold, N.P., Binns, M.R., Cloutier, C.D., Barthakur, N.N., Pellerin, R., 1995. Auxins, salt concentrations and their interactions during in vitro rooting of winter-hardy and hybrid tea roses. Hort Sci. 30, 1436-1440.
3. Asadi, A. A., Vedadi, C., Rahimi, M., Naserian, B., 2009. Effect of plant growth hormones on root and shoot regeneration in Rose (*Morrasia*) under in-vitro conditions. Bioscience Research. 6(1), 40-45.
4. Bethany, K. Z., Yoder, A., Bartel, B., 2000. Genetic analysis of indole-3-butyric acid responses in *Arabidopsis thaliana* reveals four mutant classes. Genetics. 156, 1323–1337.
5. Bredmose, N., Kristiansen, K., Norbaek, R., Christensen, L.P., Hansen-Moller, J., 2005.Changes in concentrations of cytokinins (CKs) in root and axillary bud tissue of miniature rose suggest that local CK biosynthesis and zeatin-type CKs play important roles in axillary bud growth. J Plant Growth Regul. 24, 238–250.
6. 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. Hort. Sci. 107, 979-990.
7. Carelli, B.P., Echeverrigaray, S., 2002. An improved system for the in vitro propagation of rose cultivars. Sci Hortic .92, 69–74.
8. Davies, D.R., 1980. Rapid propagation of roses in vitro. Sci. Hortic. 13, 385-389.
9. Gaspar, T., Kevers, C., Faivre-Rampant, O., Cre`vecoeur, M., Penel, C., Greppin, H., Dommes, J., 2003. Changing concepts in plant hormone action. In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant .39, 85–105.
10. Gaspar, T., Kevers, C., Penel, C., Greppin, H., Reid, D. M., Thorpe, T. A., 1996. Plant hormones and plant growth regulators in plant tissue culture. In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant. 32, 272–289.
11. George, E. F. et al.2008. Plant Propagation by Tissue Culture 3rd Edition, (eds.), 175–281. Springer.
12. Hasegawa, P.M., 1979. In vitro propagation of rose. Hort. Sci. 14, 610-612.
13. Hasegawa, P.M., 1980. Factors affecting shoot and root initiation from cultured rose shoot tips. J. Am. Soc. Hort. Sci. 105, 216-220.
14. Horn, W.A.H., 1992. Micropropagation of rose. In: Bajaj, Y.P.S. (Ed.), Biotechnology in Agriculture and Forestry, vol. 4. Springer, Germany, pp. 320-324.
15. Jaskani, M. J., Qasim, M., Shehrani, J., Husain, Z., Abbas, H., 2005. Effect of growth hormones on shoot proliferation of rose cultivars. Pak. J. Bot. 37(4), 875-881.
16. Khosh-Khui, M., Sink, K.C., 1982a. Micropropagation of new and old world rose species J. Hort. Sci. 57, 315-319.
17. Khosh-Khui, M., Sink, K.C., 1982c. Rooting enhancement of Rosa hybrida for tissue culture propagation, Sci. Hortic. 17, 371-376.
18. Kim, C.K., J.Y. Oh, S.O. Jee and J. D. Chung. 2003b. *In vitro* micropropagation of *Rosa hybrida* L. J. Plant Biotechnology. 5(2), 115-119.
19. Korban, S. S., 2005. Somatic Embryogenesis in Rose: Gene Expression and Genetic Transformation. Plant Cell Monogr (2), 247-257. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
20. Lucia, C. S., Hendrickson Culler, A., Cohen, J. D., Bartel, B., 2010. Conversion of Endogenous Indole-3-Butyric Acid to Indole-3-Acetic Acid Drives Cell Expansion in Arabidopsis Seedlings. Plant Physiology, Vol. 153, pp. 1577–1586.
21. Marchant, A., J. Kargul, S. T. May, P. Muller, A. Delbarre *et al.*, 1999 AUX1 regulates root gravitropism in *Arabidopsis* by facilitating auxin uptake within root apical tissues. EMBO J. 18:2066–2073.
22. Mederos, S., Enriguez, M.J.R., 1987. In vitro propagation of `Golden Times' roses. Factors




Archive of SID

www.SID.ir

affecting shoot tips and axillary bud growth and morphogenesis. Acta Hortic. 212, 619-624.
23. Murashige, T., Skoog, F., 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Plant Physiol. 15, 473-497.
24. Nordstrom, A., Tarkowski, P., Tarkowska, D., Norbaek, R., Astot, C and others. 2004. Auxin regulation of cytokinin biosynthesis in Arabidopsis thaliana: a factor of potential importance for auxin-cytokinin-regulated development. Proc Natl Acad Sci USA. 101, 8039–8044.
25. Ohkawa, K., 1984. Effects of benzyladenine on bud break of roses. Sci. Hortic. 24, 379-383.
26. Pati, P. K., Rath, S. P, Sharma, M., Ahuja, P.S., 2005. Micropropagation, protoplast culture and its implications in the improvement of scented rose. Acta. Hortic. 547, 147-158.
27. Pati, P. K., Rath, S. P, Sharma, M., Sood, A., Ahuja, P.S., 2005. In vitro propagation of rose – a reiew. Biotechnology Advances. Available online at www.sciencedirect.com.
28. Rout, G. R., Samantaray, S., Mottley, J., Das, P., 1999. Biotechnology of the rose: a review of recent progress. Sci. Hortic. 81, 201-228.
29. Rout, G.R., Debata, B.K, Das, P., 1989a. In vitro mass-scale propagation of Rosa hybrida cv. Landora. Curr. Sci. 58, 876-878.
30. Rout, G.R., Debata. B.K., Das, P., 1989b. Micropropagation of *Rosa hybrida* cv. Queen Elizabeth through in vitro culture of axillary buds. Orissa J. Hort. 16, 1-9.
31. Rout, G.R., Samantaray, S., Das, P., 1992a. Chloropromazine induced in vitro bud break in *Rosa hybrida* cv, Landora. Orissa J. Hort. 20, 8-16.
32. Shabbir, A., Hameed, N., Ali, A., Bajwa, R., 2009. Effect of different cultural conditions on micropropagation of rose (*Rosa Indica* L.) Pak. J. Bot. 41(6), 2877-2882.
33. Short, K.C., Roberts, A.V., 1991. Rosa spp. (Roses): In vitro culture, micropropagation and production of secondary products. In: Bajaj, Y.P.S. (Ed.), Biotechnology in Agriculture and Forestry, vol. 15. Medicinal and Aromatic Plants III. Springer, Berlin, pp. 376-397.
34. Singh, S. K., Syama,l, M. M., 2000. Anti-auxin enhance *Rosa Hybrida* L. Micropropagation. Biologia Plantarum. 43(2), 279-281.
35. Skirvin, R.M., Chu, M.C., 1979. In vitro propagation of `Forever Yours' rose. Hort. Sci. 14, 608-610.
36. Skirvin, R.M., Chu, M.C., 1984. The effect of light quality on root development on in vitro grown miniature roses. Hort. Sci. 19, 575 (Abstr.).
37. Skirvin, R.M., Chu, M.C., Walter, J.C., 1984. Tissue culture of the rose. Am. Rose Ann. 69, 91-97.
38. Skirvin, R.M., Chu, M.C., Young, H.J., 1990. Rose. In: Ammirato, P.V., Evans, D.R., Sharp, W.R., Bajaj, Y.P.S. (Eds.), Handbook of Plant Cell Culture, vol. 5. McGraw Hill, New York, Springer.
39. Tian, Q., Uhlir, N. J., Reed, J. W., 2002. Arabidopsis SHY2/IAA3 inhibits auxin-regulated gene expression. Plant Cell. 14, 301-319.
40. Van der Salm, T. P. M., Van der Toorn, C. J. G., Hanisch ten Cate, C. H., Dubois, L. A. M., De Vries, D. P., Dons, H. J. M., 1994. Importance of the iron chelate formula for micropropagation of *Rosa Hybrida* L "Money way". Plant Cell Tissue Organ Cult. 37, 73 – 7.
41. Vijaya, N., Satyanarayana, G., Prakash, J., Pierik, R. L. M., 1991. Effect of culture media and growth regulators on vitro propagation of rose. Curr. Plant Sci. Biotech. Agric. 12, 209-214.
42. Weijers, D., Ju¨rgens, G., 2004. Funneling auxin action: specificity in signal transduction. Current Opinion in Plant Biol, 7, 687–693.
43. Wulster, G., Sacalis, J., 1980. Effects of auxins and cytokinins on ethylene evolution and growth of rose callus tissue in sealed vessels. Hort. Sci. 15, 736-737.
44. Yamamoto, M., and K. T. Yamamoto, 1998 Differential effects of 1-naphthaleneacetic acid, indole-3-acetic acid and 2,4-dichloro-phenoxyacetic acid on the gravitropic response of roots in an auxin-resistant mutant of Arabidopsis, *aux1*. Plant Cell Physiol. 39, 660–664.
45. Yoshimatsu, K., Shimomura, K., 1994. Plant Regeneration on cultured root segments of. *Cephalis ipecacuanha* A. Richard. Plant Cell Rep. 14, 98-101.



Archive of SID
www.SID.ir

# Effect of plant growth regulators along with iron-chelate on *in vitro* multiplication and root induction of three cut rose cultivars (*Rosa hybrida* L.)

**Yari F.[1,2], Mousavi A.[2], Mostofi Y.[1], Seyyedi S.M.[2], Zamani Z.A.[1] and Limer M.[3]**

[1]**College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, I.R. of IRAN**

[2] **National Institute for Genetic Engineering and Biotechnology, Tehran, I.R. of IRAN**

[3] **University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Wien, Austria**

## Abstract

*In vitro* propagation has facilitated rapid and mass multiplication of diseases-free plants and acts as a new tool for modern breeding through genetic manipulation. Three commercial cut rose cultivars (Orange Juice, Roulette and Vendetta) were used and evaluated in this study. Newly established plantlets were transferred to the proliferation media on MS medium supplemented with various concentration of BA (0, 1.59, 4.4 µM), NAA (0, 0.21, 0.27, 0.54 µM), IBA (0, 0.14 µM) and $GA_3$ (0, 0.29 µM). Different iron-chelates, FeEDDHA and FeEDTA were used. Two types of auxins, IAA (0, 5.7 µM) and IBA (0, 9.9 µM) were tested for root induction. Genotype influence was obvious on multiplication rate with significant differences in response to plant growth regulators. All cultivars showed maximum multiplications on 1.59 µM BA and 0.14 µM IBA combination. A significant difference was apparent between cultivars and their response to different root induction treatments. Iron-chelate type had not significant effect on any shoot proliferation or root induction characteristics except for the means of the new shoots.

**Keywords:** Multiplication, Root induction, Iron-chelate, Rose

Archive of SID



www.SID.ir