

تأثیر ژنوتیپ و تنظیم کننده‌های رشد بر کالزالزایی در گل محمدی

سیدرضا طبایی عقدایی^۱، لیلا میرجانی^۱، میترا امام^۱، محمدحسن عصاره^۱ و عباس قمری‌زارع^۱

۱- مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، تهران، صندوق پستی: ۱۱۶-۱۳۱۸۵

E-mail:tabaei@rifr.ac.ir

چکیده

گل محمدی (*Rosa damascena* Mill.) به عنوان مهمترین گیاه معطر جهان و نیز بهترین گونه رزهای تولیدکننده اسانس در ایران و بسیاری از کشورها بشمار می‌آید. در این بررسی، میزان کالزالزایی در گل محمدی مناطق مختلف و تحت ترکیب‌های مختلف هورمونی با استفاده از یک آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی ارزیابی گردید. کشت ریزنمونه‌ها روی محیط MS نیمه جامد حاوی یک یا چند نوع تنظیم کننده رشد انجام گرفت. از غلطتهای مختلف D (۲, ۴, ۳, ۲, ۵ و ۶ میلی‌گرم در لیتر)، IBA (۰/۱ میلی‌گرم در لیتر)، NAA (۵ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر)، PCPA (۳, ۵, ۷, ۹ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر)، Kinetin (۱ و ۲ میلی‌گرم در لیتر) و BAP (۰/۱ و ۱ میلی‌گرم در لیتر) استفاده گردید. میزان کالزالزایی در اولین روزهای مشاهده کالوس و نیز کل میزان کالزالزایی در هر ژنوتیپ اندازه‌گیری شد. بر اساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها، ژنوتیپ‌ها اختلاف معنی‌داری ($P < 0.01$) را در میزان کالزالزایی نشان دادند. همچنین، بیشترین میزان کالزالزایی در ژنوتیپ اصفهان ۱۰ و با استفاده از یک میلی‌گرم در لیتر Kinetin و ۵ میلی‌گرم در لیتر PCPA بدست آمد. نتایج حاصل از این تحقیق بر تأثیر ژنوتیپ، نوع و غلظت تنظیم کننده‌های رشد بر کالزالزایی و پراوری در گل محمدی تأکید دارند.

واژه‌های کلیدی: گل محمدی (*Rosa damascena* Mill.), کالزالزایی، ژنوتیپ و تنظیم کننده‌های رشد.

مقدمه

عطرسازی و آرایشی و عطر درمانی مورد استفاده قرار می‌گیرد.

از آنجا که تنوع قابل کنترل توسط ژنهای از ضروریات برنامه‌های بهنژادی برای رسیدن به صفات مطلوب می‌باشد، تنوع ژنتیکی در گل محمدی برخی از مناطق کشور مورد بررسی قرار گرفته است (طبایی عقدایی و رضایی، ۱۳۸۱ و ۱۳۸۲). ژنوتیپ‌های این گیاه از نظر مورفو‌لوژی، عملکرد و سایر خصوصیات گل تنوع خوبی نشان دادند (طبایی عقدایی و همکاران، ۱۳۸۳). ارزیابی تنوعات موجود و شناسایی ژنوتیپ‌هایی با پتانسیلهای مورد نظر، کشت و بهره‌برداری انبوه این گیاه را فراهم می‌سازد.

گل محمدی گونه‌ای از جنس *Rosa* در تیره Rosaceae و مهمترین گیاه معطر است که در برخی از نقاط جهان و در شرایط مختلف آب و هوایی ایران پرورش می‌یابد. همچنین کشور ما نیز به عنوان منشأ این گیاه شناخته شده است (Chevallier, 1996)، اما از آنجا که گل محمدی اولین بار از دمشق به اروپا آورده شده است، رز دمشقی نام گرفته است (Gault & Syngle, 1971; Pal, 1991).

محصولات بدست آمده از گل محمدی بهویشه اسانس، گلاب و گل خشک علاوه بر مصرف داخل کشور، از اقلام مهم صادراتی نیز می‌باشند. اسانس گل محمدی نیز در صنایع

(Chi-ni & Schuyler, 1996, درون شیشه‌ای مؤثر دانسته‌اند, Marchant, et al. 1996, Kintzios, et al. 1999, Sarasan, et al. 2001, Castillon and Kamo, 2002, and Li, et al. 2002).

مواد و روشها

در این پژوهش، گل محمدی (*Rosa damascena* Mill.) جمع‌آوری شده از ۵ نقطه کشور و کشت شده در مزرعه گل محمدی واقع در مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور در ۱۵ کیلومتری شمال غربی تهران به طول جغرافیایی ۵۱ درجه و ۱۰ دقیقه شرقی، عرض جغرافیایی ۳۵ درجه و ۴۴ دقیقه شمالی و ارتفاع ۱۳۳۰ متر از سطح دریا، مورد مطالعه قرار گرفت. اکسشنها آشرق ۱ (از استان آذربایجان غربی)، آذربایجان شرقی)، آذربایجان غرب ۱ (از استان آذربایجان غربی)، اردبیل (از استان اردبیل) و اصفهان ۹ و اصفهان ۱۰ (از استان اصفهان) می‌باشد. ریزنمونه‌ها (Explant) از ۱۰ جوانه جانبی نزدیک به جوانه رأسی در القا کالوس (callus induction) انتخاب شدند.

جداکشتها در مرحله پیش تیمار سترون‌سازی، با مایع ظرفشویی شستشو شده و پس از چندین بار آبکشی به قسمتهای کوچکتر بریده شده و سپس جهت کاهش مواد فنلی در محلول اسید اسکوربیک قرار گرفتند. برای سترون کردن جوانه‌ها از محلول کلورو مركوریک ۰/۱ درصد در زمانهای مختلف (از ۰/۵ تا ۵ دقیقه) استفاده شد. ریزنمونه‌ها حاوی یک جوانه به ابعاد ۱ تا ۲ سانتیمتر بودند که قبل از قرار دادن روی محیط کشت ۱ تا ۲ میلیمتر از انتهای قاعده آنها قطع گردید و خراشهای نیز روی پوست ساقه آنها داده شد. از محیط کشت MS (Murashige & Skoog, 1962) حاوی چهار ترکیب مختلف هورمونی استفاده گردید (جدول ۱).

همچنین، کشت بافت و سلول ابزار قادر تمند بیوتکنولوژی در مطالعات بنیادی و کاربردی بهویژه در علوم گیاهی بشمار می‌آید.

گزارش‌های متعددی در ارتباط با تولید کالوس و جنین‌زایی سوماتیکی در جنس رز وجود دارد که تنوع زیادی را در میان ژنوتیپها و نوع ریزنمونه شامل بذر، گلبرگ، دمبرگ، گره، جوانه انتهایی، بافت برگی در شرایط طبیعی (In vitro) و کشت درون شیشه‌ای (In vivo) نشان می‌دهند (Kunitake et al., 1993; Arene et al., 1993; Matthews et al., 1994; Marchant et al., 1996; Chi-ni & Schuyler, 1996; Kintzios et al., 1999; Uzunova, 2000; Sarasan et al., 2001; Castillon & Kamo, 2002 and Li et al., 2002) برخی از کالوسها قادر به جنین‌زایی بوده و در برخی دیگر این امر مشکل بوده است (De Wit et al., 1990; Rout et al., 1991 and Chi-ni & Schuyler., 1996). بیشتر دستاوردهای بدست آمده تکرارپذیر نبوده و یا فقط برای ژنوتیپهای خاصی مفید بوده و یا با درصد پایینی اتفاق می‌افتد (Canli, 2003).

مطالعاتی در مورد عوامل مؤثر بر میزان کالزایی کالوس صورت گرفته است. Canli (۲۰۰۳) نیز به اهمیت تیمار تاریکی برگها بر شکل‌گیری کالوس در برگ رزها پی برده است. همچنین گزارش‌هایی در مورد ایجاد کالوسهای جنین‌زای با استفاده از ریزنمونه برگ (De Wit et al., 1990) و ریزنمونه میله پرچم (Noriega & Sondahl, 1991) داده شده است. کالوسهای ریشه‌زای (Rhizogen) زیادی نیز از بافت‌های سوماتیک cut rose و رزهای مینیاتوری بدست آمده است (Chi-ni & Schuyler, 1996).

در مطالعات انجام گرفته در مورد کشت درون شیشه‌ای، ژنوتیپ نیز از جمله عوامل مهم و مؤثر بشمار آمده و محققان بسیاری تفاوت‌های ژنوتیپی را در ظرفیت جنین‌زایی

جدول ۱- ترکیب‌های مختلف هورمونی مورد استفاده در محیط کشت MS بکار گرفته شده در القای کالوس در ۵ ژنوتیپ مختلف گل محمدی (*Rosa damascena* Mill.)

ردیف	ترکیب‌های هورمونی	علامهای اختصاری
۱	MS + ۱ mg/l Kin + ۵ mg/l PCPA	5ck
۲	MS + ۱ mg/l Kin + ۹ mg/l PCPA	9ck
۳	MS + ۳ mg/l 2,4D + ۰/۱ mg/l BA + ۱۰ mg/l NAA	DNB
۴	MS + ۴ mg/l 2,4D	4D

نتایج

نتایج تجزیه واریانس میزان کالزایی بعد از ۲۰ روز اختلاف معنی‌داری ($P < 0.01$) را بین ترکیب‌های هورمونی مختلف و همچنین بین ژنوتیپها نشان دادند (جدول ۲).

همچنین برای حذف ترشحات فنلی ریزنمونه‌ها $0/۰۱$ گرم در لیتر pvp به محیط کشت اضافه شد. میزان کالزایی در اولین روزهای مشاهده کالوس و هم کل میزان کالزایی در هر ژنوتیپ اندازه‌گیری شد. داده‌های حاصل در یک آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی مورد تجزیه واریانس و مقایسه میانگینها با استفاده از آزمون دانکن قرار گرفتند.

جدول ۲- تجزیه واریانس میزان کالزایی گل محمدی بعد از ۲۰ روز در ۵ منطقه کشور

F	میانگین مربعات (MS)	مجموع مربعات (SS)	درجه آزادی (df)	منبع تغییرات
۲/۸۹*	۳۸/۵۶	۷۷/۰۹	۲	تکرار
۱۶۹/۰۲**	۲۲۵۶/۰۳	۹۰۲۴/۱۲	۴	ژنوتیپ
۳۶/۵۳***	۴۸۷/۶۱	۱۴۲۶/۸۴	۳	ترکیب هورمونی
۲۶/۵۰***	۳۵۳/۷۰	۴۲۴۴/۴۷	۱۲	ژنوتیپ * ترکیب هورمونی

* و ** به ترتیب عبارتند از اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ و ۱ درصد.

تأثیر ژنوتیپ و نیز اثر متقابل ژنوتیپ و ترکیب هورمونی بر میزان کل کالزایی بسیار معنی‌دار ($P < 0.01$) بود.

اما از نظر میزان کل کالزایی (جدول ۳) بین ترکیبات هورمونی اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید، در حالی که

جدول ۳- تجزیه واریانس میزان کل کالزایی گل محمدی در ۵ منطقه مختلف کشور

F	میانگین مربعات (MS)	مجموع مربعات (SS)	درجه آزادی (df)	منبع تغییرات
۲/۵۹ns	۱۹۱/۵۵	۳۸۳/۱۰	۲	تکرار
۶۲/۷۵**	۴۶۳۲/۸۵	۱۸۵۳۱/۴۴	۴	ژنوتیپ
۰/۹۷ns	۷۱/۲۲	۲۱۳/۶۷	۳	ترکیب هورمونی
۹/۱۹**	۶۷۸/۲۴	۸۱۳۸/۸۳	۱۲	ژنوتیپ * ترکیب هورمونی

ns و ** به ترتیب عبارتند از عدم اختلاف معنی‌دار و اختلاف معنی‌دار در سطح ۱ درصد.

مقایسه میانگینهای ترکیبیهای مختلف هورمونی بر اساس میزان کالزایی بعد از ۲۰ روز، ترکیب هورمونی (جدول ۴).

جدول ۴- مقایسه میانگینهای ترکیبیهای هورمونی برای میزان کالزایی در گل محمدی ۵ منطقه کشور

میانگین	ترکیب هورمونی
۱۵/۶a	MS + ۱ mg/l Kin + ۵mg/l PCPA
۱۴/۰۹a	MS + ۱ mg/l Kin + ۹mg/l PCPA
۱۲/۸۴a	MS +۳ mg/l 2,4D + ۰/۱ mg/l BA + ۱۰ mg/l NAA
۳b	MS +۴ mg/l,4D

اکسشنها آ غرب ۱ و آ شرق ۱ در گروه دیگر قرار گرفتند (جدول ۵).

براساس نتایج مقایسه میانگین اکسشنها برای میزان کالزایی بعد از ۲۰ روز، اکسشنها اصفهان ۹ و اصفهان ۱۰ در یک گروه و اکسشن اردبیل در دو میں گروه و

جدول ۵- گروه‌بندی میانگین اکسشنها (با روش دانکن) بر اساس میزان کالزایی بعد از ۲۰ روز در گل محمدی ۵ منطقه کشور

میانگین میزان کالزایی (%)	مبدأ ژنوتیپ	ژنوتیپ
۲۶/۷۷a	استان اصفهان	۱۰ اصفهان
۲۵/۷۶a	استان اصفهان	۹ اصفهان
۴/۳۷ b	استان اردبیل	۱ اردبیل
۰c	استان آذربایجان غربی	۱ آ غرب
۰c	استان آذربایجان شرقی	۱ آ شرق

گروه مجزا قرار گرفتند. همچنین اکسشن آ غرب ۱ از نظر صفت فوق با اکسشن اردبیل ۱ در یک گروه قرار گرفتند.

مقایسه میانگینهای اکسشنها برای میزان کل کالزایی (جدول ۶) نیز نشان داد که اکسشنها اصفهان ۹ و اصفهان ۱۰ اکسشنها آ شرق ۱ و آ غرب ۱ نیز در یک

جدول ۶- دسته بندی گل محمدی ۵ منطقه کشور بر اساس میانگین میزان کل کالزایی (با روش دانکن)

میانگین میزان کالزایی (%)	مبدأ ژنوتیپ	ژنوتیپ
۵۰/۱۸a	استان اصفهان	۱۰ اصفهان
۳۱/۴۵b	استان اصفهان	۹ اصفهان
۱۴/۴۳c	استان اردبیل	۱ اردبیل
۷/۹۵cd	استان آذربایجان غربی	۱ آ غرب
۱/۷۶d	استان آذربایجان شرقی	۱ آ شرق

جداگانه اختلاف معنی‌داری ($P < 0.01$) را میان تیمارهای مورد بررسی نشان داد. در نتیجه، هر یک از ترکیب‌های هورمونی اثر متفاوتی بر ژنوتیپها مختلف داشتند.

نتایج تجزیه واریانس میزان کالزاوی بعد از ۲۰ روز (جدول ۷) و میزان کل کالزاوی (جدول ۸) بر اساس اثر نوع ترکیب هورمونی بر هر کدام از ژنوتیپها به طور

جدول ۷- مجموع مربعات حاصل از تجزیه واریانس تیمارها بر اساس اثر ترکیب هورمونی بر هر کدام از ژنوتیپها به طور

جداگانه در میزان کالزاوی بعد از ۲۰ روز

F	میانگین مربعات (MS)	مجموع مربعات (SS)	درجه آزادی (df)	منبع تغییرات
۵۸/۰۹***	۷۷۵/۳۹	۱۴۷۳۱/۴۳	۱۹	تیمار
		۷۷/۰۹	۲	تکرار

جدول ۸- مجموع مربعات حاصل از تجزیه واریانس تیمارها بر اساس اثر نوع ترکیب هورمونی بر هر کدام از ژنوتیپها به

طور جداگانه در میزان کل کالزاوی

F	میانگین مربعات (MS)	مجموع مربعات (SS)	درجه آزادی (df)	منبع تغییرات
۱۹/۰۹***	۱۴۱۴/۰۵	۲۶۸۶۶/۹۷	۱۹	تیمار
۲/۶۱ns	۱۹۳/۰۴	۳۸۶/۰۸	۲	تکرار

جدول ۹- دسته‌بندی میانگینهای اثر متقابل ژنوتیپ و ترکیب هورمونی برای میزان درصد کالزاوی بعد از ۲۰ روز (با روش دانکن)

میانگین	نوع تیمار
۵۱/۳۳a	9ck*G5
۴۰/۶۷b	DNB*G4
۳۵bc	5ck*G4
۳۳c	5ck*G5
۱۹/۳۳d	DNB*G5
۱۵/۸ed	9ck*G4
۱۱/۶e	4D*G4
۱۰ef	5ck*G3
۴/۱۷gf	DNB*G3
۳/۴g	4D*G5
۳/۳g	9ck*G3

۱۰: G5 و G4 و G3: به ترتیب اکسیشنهای اردبیل ۱، اصفهان ۹ و اصفهان ۱۰

نتایج مقایسه میانگینهای اثر متقابل ژنوتیپ و ترکیب هورمونی برای کالزاوی (جدول ۹) بیشترین میزان کالزاوی بعد از ۲۰ روز را در اکسشن اصفهان ۱۰ کشت شده بر روی محیط کشت MS حاوی ۹ mg/l PCPA و ۱ mg/l Kin بود (شکل ۱) و پس از آن در اکسشن اصفهان ۹ بر روی محیط کشت MS حاوی ۲,۴D + ۰/۱ mg/l BA + ۱۰ mg/l NAA دادند (شکل ۲).

از نظر میزان کل کالزایی نیز وجود اختلاف معنیدار ($P<0.01$) بین ژنوتیپها و نیز اثر متقابل ژنوتیپ و ترکیب هورمونی بیانگر واکنش متفاوت ژنوتیپهای مورد مطالعه نسبت به ترکیبهای هورمونی میباشد (جدول ۳).

مقایسه میانگینهای ترکیبها متفاوت هورمونی مختلف بر اساس میزان کالزایی بعد از ۲۰ روز نشان می دهد که $2,4D + 4mg/l$ MS کمترین تأثیر را بر میزان کالزایی داشته است (جدول ۴). نتیجه این آزمون مغایر با گزارش Dohm و همکاران (۲۰۰۱) که بهترین ترکیب هورمونی را استفاده از $2,4D$ در افزایش کالوس دانسته اند، میباشد.

مقایسه میانگینهای اکسشنها برای میزان کالزایی بعد از ۲۰ روز و میزان کل کالزایی نشان می دهد که بیشترین میزان کالزایی بعد از ۲۰ روز، مربوط به ژنوتیپهای اصفهان ۹ و اصفهان ۱۰ میباشد که هر دو از منطقه کاشان در استان اصفهان و کمترین آن مربوط به ژنوتیپهای آغرب ۱ و آشرق ۱ از استانهای آذربایجان غربی و شرقی میباشند. نتایج این پژوهش با یافته های Yalin (۲۰۰۶) مبنی بر نوع کولتیوار به عنوان مهمترین تیمار کالزایی در رز مطابقت می نماید. بیشترین میزان کل کالزایی نیز مربوط به ژنوتیپ اصفهان ۱۰ و کمترین آن هم مربوط به ژنوتیپ آغرب ۱ بوده است. بنابراین میتوان گفت که ژنوتیپهای منطقه کاشان در استان اصفهان دارای بیشترین پتانسیل کالزایی و ژنوتیپهای استانهای آذربایجان شرقی و غربی دارای کمترین پتانسیل کالزایی میباشند (جدولهای ۵ و ۶).

اختلاف معنیدار ($P<0.01$) بین ترکیبات هورمونی و همچنین بین اکسشنها برای میزان کالزایی بعد از ۲۰ روز نشان دهنده تأثیر ترکیبات مختلف هورمونی و ژنوتیپ بر سرعت کالزایی است (جدول ۲).

کل کالزایی (جدول ۸) نشان دهنده نقش مؤثر

بر اساس نتایج مقایسه میانگینهای اثر متقابل ژنوتیپ و ترکیب هورمونی برای میزان کل کالزایی (جدول ۱۰) نیز اکسشن اصفهان ۱۰ نشان می دهد که در سطح ۵ درصد بیشترین میزان درصد کالزایی بر روی محیط MS حاوی $1 mg/l Kin + 5mg/l PCPA$ داشته است (شکل ۳).

جدول ۱۰- دسته بندی میانگینهای اثر متقابل ژنوتیپ و ترکیب هورمونی برای میزان کل درصد کالزایی (با روش دانکن)

نوع تیمار	میانگین
$5ck^*G5$	$67/55a$
$9ck^*G5$	$53/67ab$
$4D^*G4$	$50/17b$
DNB^*G5	$46/83bc$
$5ck^*G4$	$38/53bc$
$4D^*G5$	$32/67dc$
DNB^*G1	$31/82dc$
$4D^*G5$	$31/72dc$
DNB^*G4	$21/69de$
$9ck^*G3$	$20/63de$
$9ck^*G4$	$15/43ef$
$5ck^*G3$	$5/53f$
$5ck^*G2$	$3/7f$
$9ck^*G2$	$3/33f$

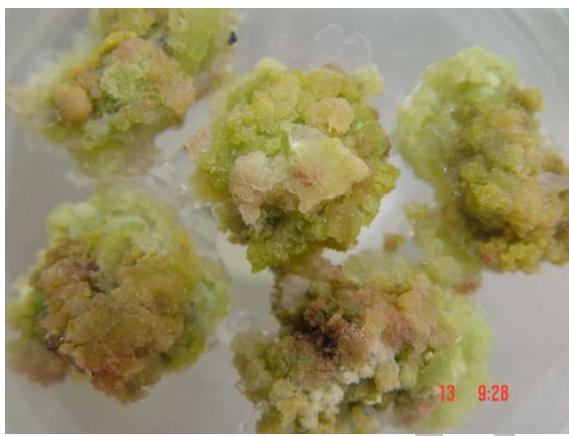
G1، G2، G3، G4 و G5: به ترتیب اکسشنهای آشرق ۱، آغرب ۱، اردبیل ۱، اصفهان ۹ و اصفهان ۱۰

بحث

اختلاف معنیدار ($P<0.01$) بین ترکیبات هورمونی و همچنین بین اکسشنها برای میزان کالزایی بعد از ۲۰ روز نشان دهنده تأثیر ترکیبات مختلف هورمونی و ژنوتیپ بر سرعت کالزایی است (جدول ۲).



شکل ۱- ژنوتیپ قمصر کشت شده بر روی محیط کشت
۱ mg/l Kin و ۹ mg/l PCPA حاوی MS



شکل ۲- ژنوتیپ کامو در محیط کشت MS حاوی
۳ mg/l BA، ۱۰ mg/l NAA و ۰/۱ mg/l ۴D



شکل ۳- ژنوتیپ قمصر در محیط کشت MS حاوی
۱ mg/l Kin و ۵ mg/l PCPA

ترکیبیهای هورمونی بر کالزایی گل محمدی مناطق مختلف کشور می‌باشد. تأثیر متفاوت هورمونهای مختلف در القای کالوس از ریزنمونه‌های دیگر گل محمدی نظیر بساک و حتی در گونه‌های دیگر رز (R. hybrida) Tabaeenezadeh (1981) مشاهده شده است که نتایج مطالعات ما با گزارش آنها همسوی نشان می‌دهد. این یافته‌ها با پاسخ متفاوت به هورمونهای مختلف در روز در واکنش به تکثیر درون شیشه‌ای نیز در گزارش‌های Kumar و همکاران (1982) و نیز Bressan همکاران (2001) هم جهت می‌باشند. همچنین با توجه به تفاوت اکسشنهای گل محمدی تحت تیمارهای مختلف (جدول ۹) ژنوتیپ عامل مهمی در کالزایی این گیاه بشمار می‌آید. دو ژنوتیپ اصفهان ۹ و اصفهان ۱۰ از استان اصفهان از بیشترین سرعت و میزان کالزایی برخوردار بوده و به رغم اختلاف معنی‌داری که در میزان کل کالزایی دارند، در مقایسه با گل محمدی مناطق دیگر کشور قابلیت بالایی را در خصوصیات فوق دارا می‌باشند. اختلافهای ژنوتیپی یاد شده بیانگر واگرایی قابل ملاحظه در جمعیتهای گل محمدی کشور در واکنش به کشت و تکثیر در شرایط درون شیشه‌ای می‌باشد. ارزیابی قابلیتهای یاد شده و اختلافهای موجود در توده‌های مختلف گل محمدی کشور از نظر صفات فوق می‌تواند در ایجاد و بهره‌گیری از تنوع در جهت اصلاح ارقام مناسب و تولید مواد مؤثره و متابولیتهای ثانویه در بیوراکتورها مورد استفاده قرار گیرد.

- Kintzios, S., Manos, C. and Makri, O., 1999. Somatic embryogenesis from mature leaves of rose (*Rosa* sp.). *Plant Cell Rep.* 18:6, 467-472.
- Kumar, A., Sood, A.T., Panil, U.K., Gupta, A. and Palni, L.M., 2001. Micropagation of *Rosa damascena* Mill. From mature bushes using thidiazuron. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 76(1): 30-34.
- Kunitake, H., Imamizo, H. and Masahiro, M., 1993. Somatic Embryogenesis and plant regeneration from immature seed derived calli of rugosa rose (*Rosa rugosa* Thunb.). *Plant Cell*, 90(2):187-194.
- Kunitake, H., Imamizo, H. and Mii M., 1993. Somatic embryogenesis and plant regeneration from immature seed callis of rugosa rose (*Rosa rugosa* Thunb.). *Plant Science*, 90: 187-194.
- Li, X., Krasnyanski, S.F. and Korban, S.S., 2002, Somatic embryogenesis, secondary somatic embryogenesis and shoot organogenesis in *Rosa*. *J. Plant Physiology*, 159: 313-319.
- Marchant, R., Davey, M.R., Lucas, J.A. and Power, J.B., 1996. Somatic embryogenesis and plant regeneration in Floribunda rose (*Rosa hybrida* L.) cvs. Trumpeter and Glad Tidings. *Plant Science*, 120: 95-105.
- Matthews, D., Mottley, J., Yokoya, K. and Roberts, A.V., 1994. Regeneration of plants from protoplasts of *Rosa* Species. In Biotech. Agric. For., YPS. Bajaj (ed.)
- Noriega, C. and Sondahl, M.R., 1991. Somatic embryogenesis in hybrid tea roses. *Bio/Technology*. 9:991-993.
- Pal, B.P., 1991. The rose in India. Indian Council of Agricultural Research, Delhi, pp 389.
- Rout, G.R., Debata, B.K. and Das, P., 1991. Somatic embryogenesis in callus cultures of *Rosa hybrida* L. cv. Landora. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 27:65-69.
- Sarasan, V., Roberts, A.V., Rout, G.R., 2001. Methyl laurate and 6-benzyl-adanine promote the germination of somatic embryos of a hybrid rose. *Plant Cell Reports*, 20: 183-186.
- Tabaeenezadeh, Z. and Khosh-Khui, M., 1981. Anther culture of *Rosa*. *Scientia Horticulturae*, 15(1): 61-66.
- Uzunova, K.M., 2000. Regeneration and possibility for genetic transformation of rose. *Biotechnology and Biotechnological Equipments*, 14: 71-74.
- Yalin, Y., 2006. Factors in callus induction and differentiation on *Rosa*. *Ceps*, 5(15): 223: 223-227.

منابع مورد استفاده

- طبایی عقدایی، س.ر.، صاحبی، م.، جعفری، ع.ا. و رضایی، م.ب.، ۱۳۸۳. استفاده از روش‌های آماری چند متغیره در ارزیابی عملکرد گل و خصوصیات ظاهری ۱۱ ژنوتیپ (*Rosa damascena* Mill.). *فصلنامه تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران*, ۲۰(۲): ۱۹۲-۲۱۱
- طبایی عقدایی، س.ر.، رضایی، م.ب. و جایمند، ک.، ۱۳۸۲. ارزیابی تنوع در اجزاء گل و اسانس ژنوتیپ‌های گل محمدی (*Rosa damascena* Mill.) کاشان. *فصلنامه پژوهشی تحقیقات ژنتیکی و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران*, ۱۱: ۲۱۴-۲۳۴.
- طبایی عقدایی، س.ر. و رضایی، م.ب.، ۱۳۸۱. ارزیابی تنوع موجود در ژنوتیپ‌های گل محمدی (*Rosa damascena* Mill.) در کاشان از نظر عملکرد گل. *تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران*, ۹: ۹۹-۱۱۱
- Arene, L., Pellegrino, C., Gudin, S., 1993. A comparison of somaclonal variation level of *Rosa hybrida* L. cv Meirutral plants regenerated from callus of direct induction from different vegetative and embryonic tissues. *Euphytica*. 71: 83-90.
- Bressan, P.H., Kim, Y.J., Hyndman, S.E., Hasegawa, P.M. and Bressan, R.A. 1982. Factors affecting *in vitro* propagation of rose. *Journal of American Society of Horticultural Sciences*, 107: 979-990.
- Canli, F.A., 2003. Effect of Dark and TDZ on Callus Formation of *Rosa* Leaf Explant. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 6(19):1672-1674.
- Castillon, J. and Kamo, K., 2002. Maturation and conversion of somatic embryos of three genetically diverse rose cultivars. *Hort Sci. Vol. 36 (6)*: 973-977.
- Chevallier, A., 1996. *The encyclopedia of medicinal plants*. Dorling Kindersley, London, pp 336.
- Chi-ni, H. and Schuyler S., Korban, S., 1996. Organogenesis and somatic embryogenesis in callus cultures of *Rosa hybrida* and *Rosa chinesis* minima. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 44:1-6.
- De Wit, J.C., Esendam, H.F., Honkanen, J.J. and Tuominen, U., 1990. Somatic embryogenesis and plant regeneration of flowering plants in rose. *Plant Cell Reports*, 9:456-458.
- Dohm, A., Ludwig, C., Nehring, K. and Debener, T., 2001. Somatic embryogenesis in roses. *Acta Horticulturae*, 547: 341-347.
- Gault, M. and Syngle, P.M., 1971. *The dictionary of roses in color*, Rainbird Reference books, London, PP 191.

Effects of genotype and growth regulators on callus induction in *Rosa damascena* Mill.

S.R.Tabaei-Aghdaei¹, L. Mirjani¹, M. Emam¹, M.H. Assareh¹ and A. Ghamari-Zare¹

1- Research Institute of Forests and Rangelands, P.O. Box 13185-116, Tehran, Iran, E-mail:tabaei@rifr.ac.ir

Abstract

Rosa damascena Mill. as a most important aromatic plants is the best commercial species of the fragrant roses in Iran and many countries. To study callus induction and proliferation in *Rosa damascena* Mill., axillary buds of five genotypes collected from different parts of Iran was used as explants. These were cultured on MS medium supplemented with growth regulator(s) and solidified with 0.7% (w/v) agar, at 25±1 °C. Different concentrations of 2,4-D (2, 3, 4, 5, 6 mg/l), IBA (0.1 mg/l), NAA (5, 10 mg/l), PCPA (3, 5, 7, 9, 10 mg/l) Kinetin (0.1, 1 mg/l) and BAP(1, 2mg/l) were used. Genotypes showed significant differences ($P<0.01$) for callus induction, Also, highest callus induction was observed in genotypes of Kashan cultured on MS cultured medium contained 1 mg/l Kinetin and 5 mg/l PCPA. The results emphasized on genotype, kind and concentration of growth regulators as key factors in callogenensis and proliferation of *Rosa damascena*.

Key words: Callus induction, explant, PCAP (p-choloro phenoxy acetic acid) and *Rosa damascena* Mill.