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 جداکشت 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 جداکشت 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 جداکشت 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: ۸۸۰۵۸۹۱۲-۰۲۱ ، پست‌الکترونیکی: su_ kiarostami@alzahra.ac.ir

مقدمه

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 اگزما 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 تکثیر می‌شود. روش‌های معمول تکثیر با مشکلاتی مانندکم 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 گل‌محمدی از طریق قطعات گره واجد جوانه‌ی جانبی وجود دارد، ازجمله شاخه‌زایی مستقیم از جداکشت‌های 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)،

Archive of SID
www.SID.ir

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 آنتی اکسیدان 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 پلی فنل‌ها، فراوانی کم شاخه‌زایی، موفقیت کم در ریشه‌دار کردن نوشاخه‌ها و وابسته بودن پاسخ جداکشت‌ها به ژنوتیپ، برخی از عمده-ترین 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 الزهرا(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 به‌مدت ۲ دقیقه در الکل ۷۰ درجه قرار گرفتند. سپس به مدت ۱۵دقیقه 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 پـایه Murashige and Skoog (MS)، Lioyl and Cown (WP) و Quoirin and Lepoivre (QL)

به تعداد ۴–۵ عدد در هر پتری کشت شد. کشت‌ها در دمای ۲۵±۲°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 به‌مدت 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 کلروفیـل متـر برگ‌ها در دو محیط کشت QL و WP اندازه‌گیری شد. سپس با استفاده از فرمول $(\mu mol\ m^{-2}) = 10^{(M^{\wedge}0/265)}$, میزان کلروفیل محاسبه شد(۱۸)

ریشه‌زایی: الف: برای ریشه زایی از محیط‌های ½MS، ½QL 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.

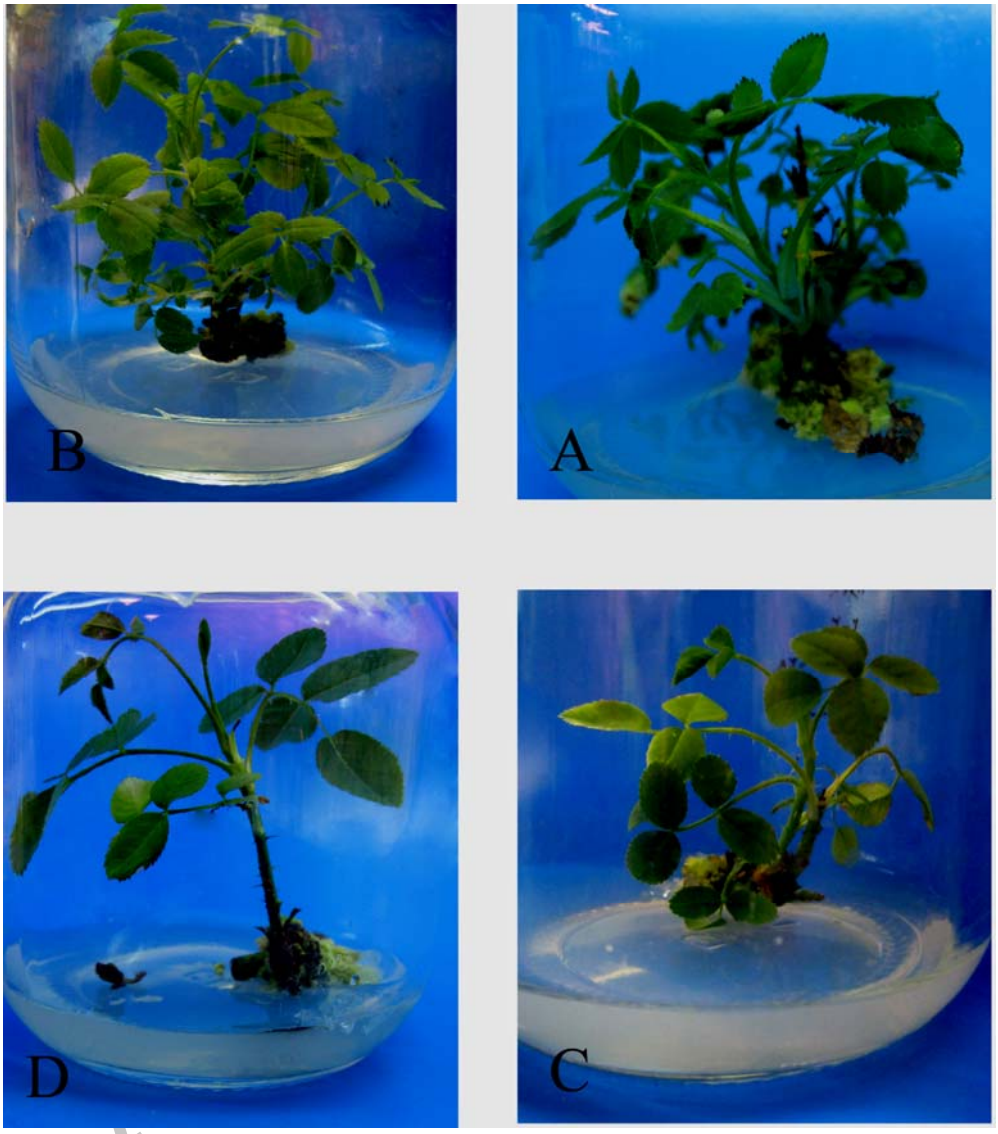
ج: همچنین برای بررسی ریشه‌زایی شاخه‌های تازه تولید شده در محیط QL حاوی ۲/۵ mg/L D–۴ و۲، به‌مدت ۲ هفته قرار گرفتند و بعد نمونه‌ها به محیط ½QL فاقد هورمون منتقل شدند.

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.

Archive of SID

www.SID.ir

بررسی‌های آماری: آزمایش در قالب طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی با ۴ تکرار انجام شد. میانگین‌ها به‌روش دانکن مقایسه شدند و داده‌ها به‌کمک نرم افزار SPSS ۱۱/۵ آنالیز شدند. رسم نمودارها توسط نرم‌افزار Excel انجام شد.



شکل ۱- شاخه‌زایی قطعات جداکشت گره واجد جوانه جانبی در محیط‌های کشت واجد سیتوکینین. **A**. نوشاخه پرآوری شده در محیط کشت QL واجد BAP ۳ mg/l. **B**. برگ‌زایی در محیط کشت QL محتوی BAP ۳ mg/l . **C**. نوشاخه پرآوری شده در محیط کشت MS حاوی BAP3 D mg/l. شاخه‌زایی در محیط کشت WP واجد BAP3 mg/l

نتایج

بررسی درصد قهوه‌ای شدن قطعات جدا کشت: دو هفته پس از کشت، درصد قطعات جداکشت واجد جوانه جانبی متأثر از ترکیبات فنلی (قهوه‌ای شده) بررسی شد. ۸۵ درصد از این قطعات در محیط پایه MS تحت تأثیر ترکیبات فنلی، رشد نکردند. ۸۱/۶۰ درصد از قطعات جداکشت در محیط پایه WP قهوه‌ای شده و از بین رفتند. در حالی که فقط ۲۱ درصد از قطعات جداکشت در محیط پایه QL قهوه‌ای شدند و بیشتر جوانه‌های جداکشت‌ها رشد کرده و تولید برگ نمودند. برگ‌های حاصل در این

www.SID.ir

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 (جدول۱).

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<۰/۰۵) صورت گرفته است).

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

حروف مشابه در هر ستون بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار می-باشد.

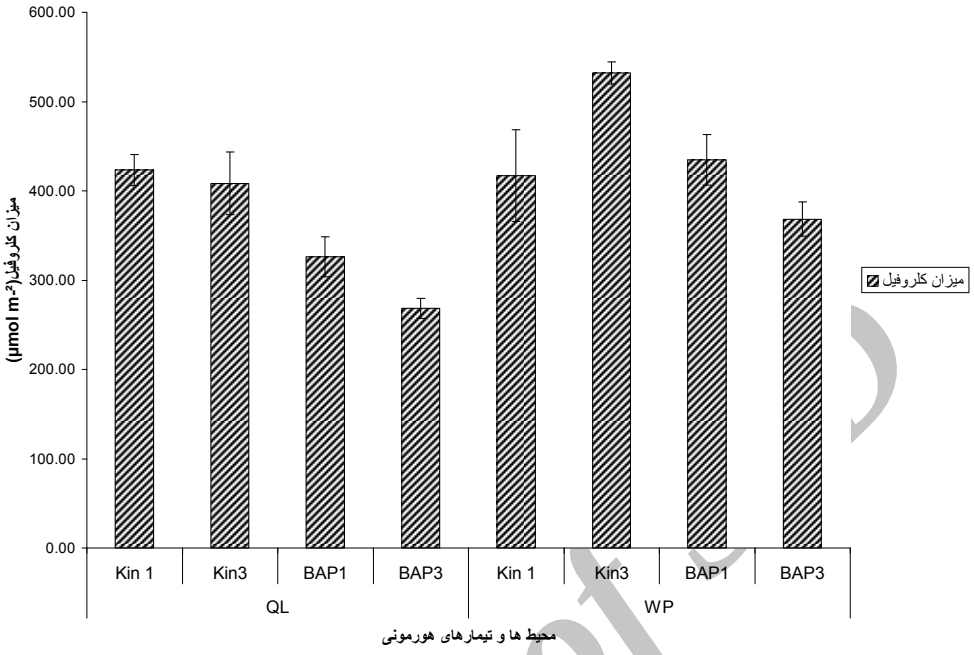
اثر هورمون سیتوکینین بر رشد و شاخه‌زایی: سه هفته پس از انتقال قطعات جداکشت، ساقه‌ی رشد کرده در محیط MS، QL و WP پایه بدون هورمون به محیط‌های کشت MS، QL وWP محتوی هورمونهای BAP یا Kin (۱ و ۳ میلی‌گرم در لیتر) انتقال یافت. بررسی‌های آماری نشان داد، میانگین رشد طولی در دو تیمار Kin۳mg/l و BAP۱mg/l در محیط MS تفاوت معنی‌داری با سایر تیمارها داشت. تعداد شاخه‌ها در تمام محیط‌های کشت با هورمون BAP۳mg/l از سایر تیمارهای هورمونی بهتر بود. بیشترین تعداد برگ سبز در محیط QL با هورمون BAP۳mg/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 Kin۱mg/l و Kin۳mg/l در محیط MS مشاهده شد. نتایج میانگین طول برگچه‌ها، تنها در تیمار Kin۱mg/l در محیط QL، تفاوت معنی‌داری را نشان داد (جدول ۲). این مشاهدات پیشنهاد می‌کند که محیط کشت QL واجد هورمون BAP۳mg/l برای ریزازدیادی گل محمدی است و در مقایسه با محیط‌های MS و WP مناسب‌تر است (شکل ۱).

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	۱۴/۷۵a	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.

Archive of SID
www.SID.ir



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

شکل ۲- A. ریشه‌زایی در محیط کشت WP حاوی NAA ۰/۲ mg/l 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 Kin۳mg/l بیشتر از سایر محیط‌ها بود (جدول ۳). در محیط کشت QL حاوی BAP۳mg/l کمترین میزان کلروفیل به‌دست آمد. در سایر محیط‌های کشت، تفاوت چندانی مشاهده نشد (جدول ۳). بررسی‌های آماری نشان داد که از نظر

www.SID.ir

میزان کلروفیل تفاوت معنی‌داری میان دو محیط WP و QL با تیمارهای هورمونی مختلف وجود داشت (جدول۳).

جدول۳- 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).

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

حروف مشابه در هر ستون بیانگر عدم وجود اختلاف معنی دار می باشد.

اثر محیط‌های کشت و هورمون‌های مختلف بر ریشه-زایی: استفاده از محیط‌های کشت مختلف (MS، ½MS، QL، ½QL 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 mg/l – ۰ 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 NAA۰/۲ 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 می‌شود. قهوه‌ای شدن محیط کشت نتیجه اکسیداسیون ترکیبات فنلی خارج شده از سطح برش جداکشت‌ها است که می‌توان به‌وسیله‌ی افزودن موادی مثل PVP (پلی وینیل پیرولیدن)، سیتریک اسید، آسکوربیک اسید یا انجام واکشت‌های مکرر و یا نگهداری کشت‌ها به‌مدت 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). به‌رغم 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 به‌کار 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 به‌دنبال آن بقا و پایداری جداکشت‌ها افزایش می‌یابد.

چندین عامل تکثیر در شیشه را در رز تحت تأثیر قرار می-دهند. از مهمترین این عوامل می‌توان به ژنوتیپ و نوع هورمون‌های به‌کار رفته اشاره کرد (۱۷). Bressan و همکاران در ریزازدیادی دو رقم *R.hybrida* در حضور BAP پاسخ متفاوتی مشاهده نمودند (۷). به‌عنوان مثال در غلظت‌های پایینBAP (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 به‌طور عمده در محیط‌های کشت دارای سیتوکینین انجام می‌شود (۲۵). همچنین Kornova و

Archive of SID
www.SID.ir

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 ۱۰/۱ mg/l IBA و ۱۰/۵ mg/l BAP برای القای نوشاخه استفاده نمودند (۲۲). Norton و Boe نیز از محیط LS استفاده کردند و تکثیر با سرعت بالاتر را با (۲/۱mg/l BAP– ۲/۵) به‌دست آوردند(۲۰). محیط‌های کشتی مانند Gamborg و Lee و محیط کشت de Fossaol 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 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 یونوفورهای 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 ۱۹). 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

www.SID.ir

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

در بین محیط‌های آزمون شده برای ریشه‌زایی تنها در محیط کشت WP حاوی ۰/۲ 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 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.

منابع

۱. پیوندی، م.، مراد تهرانی، م. و مجد. ا.، ۱۳۹۰. ریزازدیادی گیاه داوودی *Chrysanthemum morifolium* Ramat L. مجله زیست شناسی ایران. ۲۴(۲): ۲۳۹-۲۴۴.

۲. شرفی، ع.، هاشمی سهی، ه. و جورابچی، ع. ۱۳۸۷. بهینه‌سازی شرایط باززایی گیاه دارویی *Artemisia annua*. مجله زیست شناسی ایران. ۲۱(۴): ۵۶۵-۵۷۳.

۳. طبائی عقدائی، س.ر.، میرجانی، ل.، امام، م.، عصاره، م و قمری زارع، ع.۱۳۸۶. تأثیر ژنوتیپ و تنظیم کننده‌های رشد بر کال‌زائی در گل محمدی *Rosa damascene* Mill. . فصلنامه‌ی تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران. ۱۵(۳): ۲۳۰- ۲۲۲.

۴. کافی، م.، نیکبخت، ع.، بابالار، م. و میرمعصومی، م.، ۱۳۸۳. اثر تنظیم کننده‌های رشد گیاهی بر شاخص‌های رشدی گل محمدی در شرایط درون شیشه‌ای. مجله علوم و فنون باغبانی، ۵(۳): ۱۶۶-۱۵۷.

5. Alekhno,GD., Vysotskii, AV., 1989, Clonal micropropagation of Roses, Fiziol Biokhim Kul't Rast. 18(5):489-93.

6. Boomsiri,C and Masomboon,N., 2003, Multiple shoot induction and plant regeneration of *Rosa damascene*.Sil.Uni.Inter.J, 3(2):229-237

7. Bressan, PH., Kim, YJ., Hyndman SE., Hasegawa, PM., Bressan , RA.,1982. Facrors affecting in vitro propagation of rose , J Am Soc Hortic Sci 107:979-90.

8. Davies, DR., 1980.Rapid propagation of roses, in vito.Sci Hortic, 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. Hortic. 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.Hor.Sci, 57:315-319.

14. Kornova, K.M., Michailova,J., 1994. Study of the in vitro rooting of Kazanlak oil bearing rose (*Rosa damascene* 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 damascene* 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 damascene*. J Hort.Sci and Bio, 78(5): 786-792.

Archive of SID

www.SID.ir

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.

Archive of SID

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

www.SID.ir