

کشت درون شیشه‌ای گل محمدی (Rosa damascena Mill.) ژنوتیپ‌های استانهای آذربایجان شرقی و غربی

عباس قمری زارع^۱، محمد حسن عصاره^۱، مدلقا قربانلی^۲، شکوفه شهرزاد^۱ و بهاره الهوردی ممقانی^۳

۱- مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع، تهران ص. پ. ۱۱۶-۱۳۱۸۵،

۲- دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان

۳- دانشگاه پیام نور تهران

چکیده

تکثیر گل محمدی به طور معمول به دلیل عدم تشکیل ریشه‌های نابجا به سختی صورت می‌گیرد. کشت درون شیشه‌ای، روش جایگزینی برای تکثیر ژنوتیپ‌های مذکور است. در این پژوهش تکثیر شاخه و ریشه‌زایی درون شیشه‌ای دو ژنوتیپ گل محمدی منطقه آذربایجان بررسی شد. تکثیر شاخه در محیط کشت MS صورت پذیرفت. در میان غلظت‌های مختلف TDZ و TDZ و اکسین بیشترین ضریب تکثیر (۱/۳۳) و در ژنوتیپ آذربایجان غربی در تیمار حاوی ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر TDZ و ۰/۰۵ میلی‌گرم در لیتر IBA بود. در حالی که ژنوتیپ آذربایجان شرقی بیشترین ضریب تکثیر (۲/۳۳) را در تیمار حاوی ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر TDZ و ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر IAA نشان داد. در تیمارهای حاوی BAP و Kin و در ژنوتیپ آذربایجان غربی بالاترین تکثیر شاخه (۲) در غلظت ۵ میلی‌گرم در لیتر BAP بدست آمد. در ژنوتیپ آذربایجان شرقی بیشترین پرآوری شاخه (۳/۲) در غلظت ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP مشاهده شد. به منظور ریشه‌زایی شده در شرایط درون شیشه‌ای به محیط کشت MS تغییر یافته همراه با غلظت‌های مختلف هورمون NAA منتقل شدند. شاخه‌های ژنوتیپ آذربایجان شرقی و آذربایجان غربی به ترتیب در محیط کشت MS تغییر یافته (یک سوم و نیمه قدرت) حاوی ۰/۱ و ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر NAA ریشه‌دار شدند. در مجموع ژنوتیپ آذربایجان شرقی نسبت به ژنوتیپ آذربایجان غربی در محیط‌های مورد آزمون پاسخ بهتری داد.

واژه‌های کلیدی: گل محمدی، ریزازدیادی، تنظیم کننده‌های رشد گیاهی و ضریب ازدیاد

مقدمه

گونه در مناطق مختلف ایران همچون آذربایجان، اصفهان، چهار محال و بختیاری، سمنان، شیروان، کرمان، کرمانشاه، همدان، بزد و ... کشت می‌شود (صاحبی، ۱۳۸۲). صفات موردنظر در انتخاب ژنوتیپ‌های برگزیده شامل طول دوره گله‌ی، عملکرد گل، درصد و کیفیت اسانس بیشتر است. ژنوتیپ‌های منطقه آذربایجان صفات بهتری را از نظر گله‌ی نسبت به سایر ژنوتیپ‌های منطقه غرب کشور نشان داده‌اند. ژنوتیپ با منشا آذربایجان غربی بیشترین عملکرد گل و طول دوره گله‌ی را دارد (طبایی عقدایی و همکاران، ۱۳۸۳a و ۱۳۸۳b).

گل محمدی با نام علمی (Rosa damascena Mill.) یکی از مهمترین رزهای معطر است. از نظر خصوصیات مورفولوژیکی، درختچه‌ای چند ساله است و شاخه‌هایی با انشعاب زیاد و خاردار دارد. دارای گلهای چندتایی و بسیار معطر است. ارتفاع گیاه معمولاً ۱ تا ۲ متر است. شاخه‌ها به رنگ سبز متمایل به خاکستری و پوشیده از انبوهی از خارهای قهوه‌ای متمایل به قرمز است. خارها دارای نوک متمایل به پایین هستند. دارای گل آذین دیهیم با ۳ تا ۹ گل و گاهی بیشتر است (Carins, 2003). این

در زیر هود و تحت شرایط استریل صورت گرفت. به منظور سترون‌سازی سطحی ریزنمونه‌ها از کلرید مرکوریک ۱٪ درصد و در زمانهای متفاوت استفاده شد. پس از آن هر ریزنمونه حاوی یک جوانه جانبی به شیشه‌های کوچک (ویال) محتوى ۱۰ میلی‌لیتر محیط کشت منتقل شدند. به منظور اضافه کردن مواد حساس به حرارت همچون ویتامین‌ها و آنتی‌بیوتیک، مواد فوق فیلتر استریل شد و پس از سترون‌سازی محیط کشت و هنگامی که دمای محیط کشت ۴۰ درجه سانتی‌گراد بود و تحت شرایط استریل به محیط کشت اضافه شد. پس از یک ماه (۳۰ روز) ۵ شاخه با اندازه برابر به شیشه‌های بزرگتر حاوی ۵۰ میلی‌لیتر محیط کشت منتقل شدند. (Murashige & SKoog 1962 پایه) محیط کشت MS (Murashige & SKoog 1962 پایه) همراه با کمپلکس ویتامینی کلسیم پتوتنات و آنتی‌بیوتیک سفوتاکسیم (cefotaxim) با غلظت ۱۰۰ ppm (به منظور حذف آلوودگی نهان) انتخاب گردید. اثرات تنظیم کننده‌های رشد شامل TDZ (tidiazouron) (۰/۰۱ و ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر)، IAA (indolacetic acid) (۰/۰۱ و ۰/۰۵ میلی‌گرم در لیتر)، IBA (Indolbutiric acid) (۰/۰۱ و ۰/۰۵ میلی‌گرم در لیتر) (در این تیمارها BAP با غلظت ۵ میلی‌گرم در لیتر) ثابت در نظر گرفته شد. بر ضریب ازدیاد، رشد طولی، درصد برگ سبز، زرد و نکروزه مطالعه شد. همچنین اثر هورمون‌های BAP (kinetin) (6-benzylaminopurine) و (2, ۲/۵, ۵) میلی‌گرم در لیتر TDZ با غلظت ۰/۰۵ میلی‌گرم در لیتر IBA با غلظت ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر ثابت در نظر گرفته شد) بر ضریب ازدیاد و طول شاخه بررسی شد. در تیمارهای فوق درصد برگ سبز، زرد و نکروزه اندازه‌گیری نشد که به دلیل حفظ نمونه‌ها و انتقال آنها به مرحله ریشه‌زایی بود. به منظور تحریک ریشه‌زایی ریزشاخه‌ها از محیط کشت MS تغییر یافته حاوی ۱/۲ NAA ۱/۴، ۱/۳ عناصر مacro همراه با غلظت‌های مختلف NAA (Naphthalenacetic acid) (۰/۰۱، ۰/۰۲، ۰/۰۵، ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر) استفاده شد. pH محیط کشت بین ۵/۷±۰/۱ تنظیم

(۱۳۸۲) نشان دادند که ترکیب‌های عمده موجود در اسانس گل محمدی همچون سیترونول (citronellol)، ژرانیول (geraniol) و ان نونادکان (N-nonadecan) در ژنوتیپ (geraniol) با منشا آذربایجان شرقی بیشتر است. روش‌های کلاسیک تکثیر گل محمدی شامل پاجوش، قلمه و پیوند است. این روشها علاوه بر زمان بر بودن با مشکلاتی همچون محدودیت پایه مادری و عدم تشکیل ریشه‌های نابجا در قلمه‌ها همراه است. استفاده از روش‌های کشت بافت و تکنیک ریازادیادی روش جایگزینی برای تکثیر ژنوتیپ‌های برتر گل محمدی است. Jabbarzadeh (۲۰۰۵) نشان دادند که ۲/۵ تا ۳ میلی‌گرم در لیتر BAP همراه با ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر IBA بهترین تیمار هورمونی برای تکثیر گل محمدی است. Kumar و همکاران (۲۰۰۳) گزارش کردند ضریب تکثیر شاخه و طول شاخه در محیط کشت حاوی فیتاژل و نور فتوستراتر (photosynthetically active radation) (PAR) بیشتر است. آنها همچنین عنوان کردند که برگها در محیط کشت حاوی آگار و تحت تابش نور سفید (CFL) (cool fluorescent light) قهوه‌ای و نکروزه می‌شوند. در این پژوهش اثر تنظیم کننده‌های رشد بر صفات شاخه‌زایی و نیز ریشه‌زایی درون شیشه‌ای ژنوتیپ‌های استان آذربایجان شرقی (آذربایجان شرقی) و استان آذربایجان غربی (آذربایجان غربی) مطالعه شد.

مواد و روشها

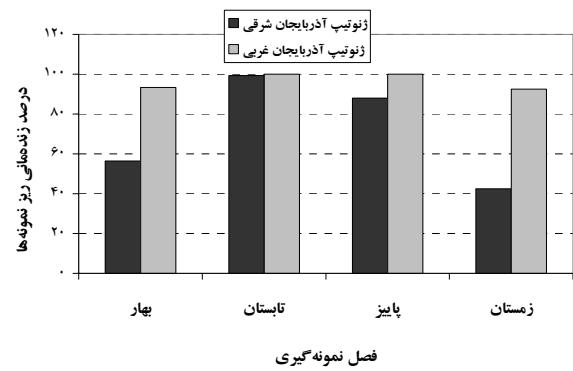
مواد گیاهی شامل قطعات گرهی حاوی جوانه جانبی بود که از پایه‌های بالغ ژنوتیپ‌های آذربایجان شرقی و غربی کاشته شده در مزرعه تحقیقاتی گل محمدی گروه تحقیقات زیست‌فناوری منابع طبیعی مؤسسه تحقیقات جنگلهای و مراتع، تهران جمع آوری شد. پیش سترون‌سازی ریزنمونه‌ها با استفاده از آب و مایع ظرفشویی (دی‌ترزن)، قرار دادن در زیر آب جاری به مدت ۱ ساعت و نیز شستشو با اتانول ۷۰٪ انجام شد. سترون‌سازی ریزنمونه‌ها

سفوتاکسیم در غلظت ۱۰۰ ppm استفاده شد. این آنتیبیوتیک اثرات مثبتی را در حذف آلدگی‌های نهان باکتریایی نشان داد. در هر دو ژنوتیپ اگرچه در کل اختلاف معنی‌داری در بین غلظت‌های متفاوت TDZ و اکسین مشاهده نشد، لیکن هورمون‌ها اثرات متفاوتی را بر صفات مذکور داشتند (جدول ۱ و ۲). در ژنوتیپ آذربایجان غربی از نظر ضریب افزایش در تیمارهای مختلف پاسخ یکسانی مشاهده شد (جدول ۲). بیشترین رشد طولی در تیمار حاوی ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر TDZ و ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر IBA بود (جدول ۱). در ژنوتیپ آذربایجان شرقی بیشترین ضریب افزایش در تیمار حاوی ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر TDZ و ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر IAA مشاهده شد (جدول ۲). از نظر رشد طولی تیمارهای مختلف هورمونی پاسخ یکسانی را نشان دادند (جدول ۲). در ژنوتیپ آذربایجان غربی از نظر درصد برگ سبز، زرد و نکروزه تفاوت معنی‌داری در بین غلظت‌های متفاوت TDZ و اکسین‌ها مشاهده نشد (جدول ۱). اما در ژنوتیپ آذربایجان شرقی از نظر درصد برگ نکروزه تفاوت معنی‌داری در بین غلظت‌های متفاوت TDZ و اکسین‌ها وجود داشت (جدول ۲). بیشترین درصد برگ نکروزه در تیمارهای حاوی ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر TDZ و ۰/۰۵ میلی‌گرم در لیتر IBA و کمترین درصد برگ نکروزه در تیمار حاوی ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر TDZ و ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر BAP مشاهده شد (جدول ۲).

گردید. ظرفهای محتوی کشت در اتاق رشد و فتوپریود ۱۶ ساعت روشنایی با دمای ۲۵ درجه سانتیگراد و ۸ ساعت تاریکی با دمای ۱۹ درجه سانتیگراد نگهداری شدند. تمام تیمارها در سه تکرار و هر تکرار با ۵ ریزنمونه در قالب طرح پایه بلوکهای کامل تصادفی انجام گرفت. تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS و آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد.

نتایج

استفاده از کلرید مرکوریک ۰/۱ درصد منجر به حذف آلدگی‌های سطحی شد. بیشترین درصد زنده‌مانی ریزنمونه‌ها در هر دو ژنوتیپ فصل تابستان و پاییز بود (شکل ۱).



شکل ۱- رابطه فصل و درصد استقرار ریزنمونه‌ها در ژنوتیپ آذربایجان غربی و شرقی

به منظور حذف آلدگی‌های نهان که پس از بازکشت نمونه‌ها در محیط کشت مشاهده شد، از آنتیبیوتیک

جدول ۱- بررسی اثر متقابل اکسین و TDZ بر میانگین صفات مورد مطالعه در ژنوتیپ آذربایجان غربی

تیمار	۰/۱ میلی‌گرم در لیتر TDZ							
	۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر TDZ				۰/۰۵ میلی‌گرم در لیتر TDZ			
IAA (میلی‌گرم بر لیتر)	IBA (میلی‌گرم بر لیتر)							
۰/۰۵	۰/۱	۰/۰۵	۰/۱	۰/۰۵	۰/۱	۰/۰۵	۰/۱	
۱/۰۶a	۱/۳۳a	۱a	۱a	۱/۲۶a	۱a	۰/۹۳a	۰/۹۳a	
۰/۵۶b	۱/۱۳a	۱/۲۳a	۰/۵۶b	۰/۷۶ab	۰/۹۲ab	۰/۷۸ab	۰/۷۸ab	
۳۶/۷۴a	۳۸/۰۹a	۳۷/۱۰a	۳۳/۷۷a	۳۹/۹۰a	۲۷/۴۶a	۲۸/۱۷a	۲۸/۱۷a	
۲۳/۵۲a	۸/۲۹a	۱۰/۲۸a	۱۳/۰۷a	۱۲/۲۳a	۲۰/۱۴a	۱۳/۰۵a	۱۳/۰۵a	
۳۹/۷۲a	۵۳/۵۳a	۵۲/۶۱a	۵۲/۸۸a	۵۰/۳۴a	۵۲/۳۹a	۵۸/۴۳a	۵۸/۴۳a	

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

در کلیه تیمارها از ۵ میلی‌گرم در لیتر BAP استفاده شده است.

جدول ۲- بررسی اثر متقابل اکسین و TDZ بر میانگین صفات مورد مطالعه در ژنوتیپ آذربایجان شرقی

TDZ ۰/۰ میلی گرم در لیتر				TDZ ۱/۰ میلی گرم در لیتر				تیمار
IAA	IBA	IAA	IBA	(میلی گرم در لیتر)	(میلی گرم در لیتر)	(میلی گرم در لیتر)	(میلی گرم در لیتر)	
۰/۵	۰/۱	۰/۵	۰/۱	۰/۵	۰/۱	۰/۵	۰/۱	
۱/۶۹abc	۲/۳۳a	۱/۲۶bc	۱/۶۶abc	۱/۸abc	۱/۲c	۲/۰۶abc	۲/۲ab	ضریب ازدیاد
۱/۷۵a	۱/۸۲a	۱/۴۴a	۱/۶۶a	۱/۸۲a	۱/۴۲a	۱/۸۹a	۱/۸۶a	رشد طولی (سانتیمتر)
۸۶/۹۷a	۶۲/۵۱a	۸۶/۱۱a	۶۹/۸۷a	۷۵/۳۳a	۶۶/۳۱a	۶۸/۱۶a	۷۰/۶۹a	برگ سبز٪
۲/۵۸a	۲/۴۳a	۲/۰۸a	۱/۸a	a	a	a	a	برگ زرد٪
۱۰/۴۲bc	۱۰/۴۲c	۱۱/۸bc	۲۸/۳۰a	۲۹/۸۱ab	۳۲/۰۱a	۳۱/۶۶a	۲۹/۳a	برگ نکروزه٪

در کلیه تیمارها از ۵ میلی گرم در لیتر BAP استفاده شده است.

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

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر BAP و Kin بر ضریب ازدیاد و رشد طولی در ژنوتیپ آذربایجان شرقی

رشد طولی (سانتیمتر)	ضریب ازدیاد	تیمار
۱/۵۲bc	۲/۶a	BAP (5 mgL⁻¹)
۲/۱۹a	۳/۲a	BAP (2.5 mgL⁻¹)
۱/۸۷ab	۲/۷۳a	BAP (2mgL⁻¹), Kin(2 mgL⁻¹)
	۰/۵۲b	Kin (2.5 mgL⁻¹)
۲a	۰/۴۶b	Kin (5 mgL⁻¹)

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

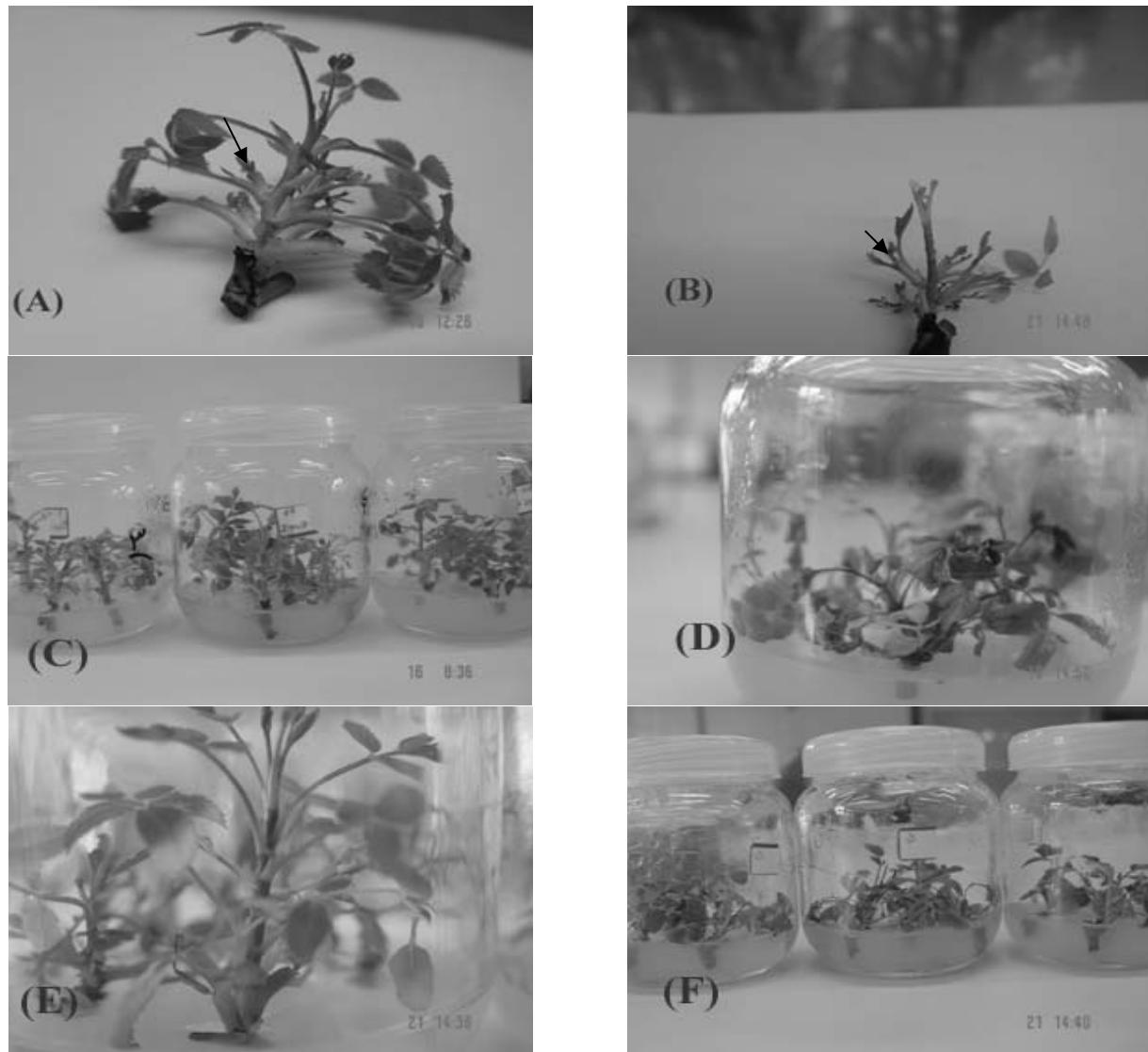
اگرچه اختلاف معنی داری در میان غلظت‌های مختلف BAP مشاهده نشد، اما بیشترین ضریب ازدیاد در ژنوتیپ آذربایجان غربی در غلظت ۵ میلی گرم در لیتر و در ژنوتیپ آذربایجان شرقی و در غلظت ۲/۵ میلی گرم در لیتر مشاهده شد (جداول ۳ و ۴). مقایسه بین هورمون‌های BAP و Kin نشان داد که در هر دو ژنوتیپ و در تیمارهای هورمونی حاوی Kin ضریب ازدیاد کاهش یافته است (جداول ۳ و ۴). کیفیت شاخه‌های رشد یافته در تیمارهای حاوی Kin پس از بازکشت کاهش یافت. رشد و تکثیر شاخه متوقف شد، جوانه انتهایی نکروزه شد و درصد بالایی از برگها با طولانی شدن زمان بازکشت نکروزه شدند (شکل ۲ و F).

تجزیه واریانس اثر BAP و kin در هر دو ژنوتیپ نشان داد که از نظر ضریب ازدیاد و رشد طولی تفاوت معنی داری در بین تیمارهای مختلف وجود دارد (جداول ۳ و ۴). بیشترین ضریب ازدیاد و رشد طولی در دو ژنوتیپ آذربایجان شرقی و آذربایجان غربی در تیمار حاوی ۲/۵ میلی گرم در لیتر BAP بدست آمد (جداول ۳ و ۴) و (شکل A و B).

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر BAP و Kin بر ضریب ازدیاد و رشد طولی در ژنوتیپ آذربایجان غربی

رشد طولی (سانتیمتر)	ضریب ازدیاد	تیمار
۱/۵۸ab	۲a	BAP (5 mgL⁻¹)
۱/۶۴a	۱/۷۳a	BAP (2.5 mgL⁻¹)
۱/۴۵abc	۱/۸۶a	BAP (2mgL⁻¹), Kin(2 mgL⁻¹)
۰/۴c	۰/۷۳b	Kin (2.5 mgL⁻¹)
۱/۰۳bc	۰/۷۳b	Kin (5 mgL⁻¹)

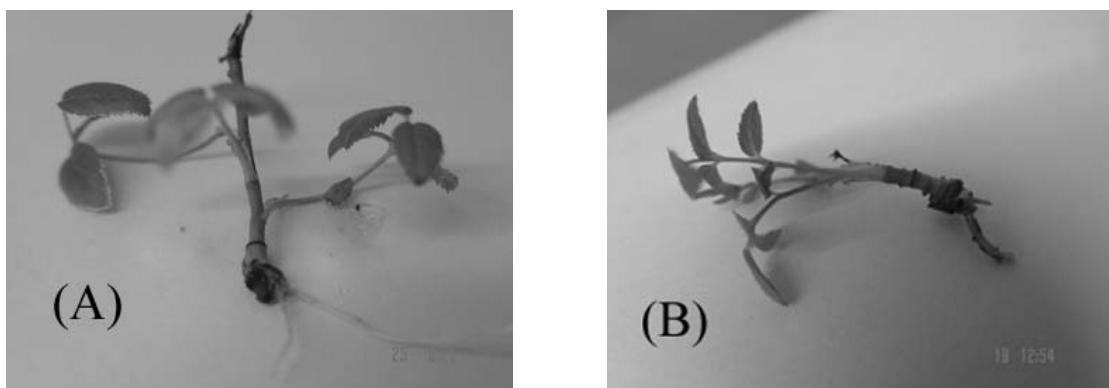
حروف مشابه در هر ستون بیانگر عدم وجود اختلاف معنی دار می باشد.



شکل ۲-۲: A: پر آوری شاخه در ژنوتیپ آذربایجان غربی، B: پر آوری شاخه در ژنوتیپ آذربایجان شرقی، C و D: مقایسه تیمارهای حاوی kin و BAP در ژنوتیپ آذربایجان شرقی، E و F: مقایسه تیمارهای حاوی BAP و Kin در ژنوتیپ آذربایجان غربی.

(شکل ۳-A). ژنوتیپ آذربایجان غربی در محیط کشت MS تغییر یافته حاوی نیم غلظت عناصر ماکرو و همراه با هورمون NAA و با غلظت $0/2$ میلی گرم در لیتر ریشه دار شدند (شکل ۳-B).

ریشه زایی شاخه های تولید شده در شرایط درون شبیه های به سختی صورت گرفته و تا حدی وابسته به ژنوتیپ است. در ژنوتیپ آذربایجان شرقی، ۲۵٪ شاخه ها در محیط کشت MS تغییر یافته (حاوی $1/3$ عناصر ماکرو) و $0/1$ میلی گرم در لیتر NAA ریشه دار شدند



شکل ۳- A: ریشه‌زایی در ژنوتیپ آذربایجان شرقی، B: ریشه‌زایی در ژنوتیپ آذربایجان غربی

وجود ندارد. اگر چه ترکیب سیتوکینین‌های TDZ و BAP وجود ندارد. منجر به پرآوری بهتری در هر دو ژنوتیپ شد. Preece و Huetteman (۱۹۹۹) نیز اعلام کردند ترکیب سیتوکینین‌های مختلف منجر به بهبود تکثیر شاخه می‌شود. از نظر درصد برگ سبز، زرد و نکروزه نمی‌توان نتیجه‌گیری کلی کرد، اما به نظر می‌رسد که تقریباً کاهش میزان هورمون TDZ منجر به کاهش درصد برگ نکروزه و افزایش درصد برگ سبز شده است (جدول ۴). ژنوتیپ‌ها در تیمارهای هورمونی یکسان BAP ضریب ازدیاد متفاوتی را نشان دادند (جداول ۳ و ۴). Arnold و همکاران (۱۹۹۲) در بررسی اثر غلظت‌های متفاوت هورمون BAP بر تکثیر درون شیشه‌ای ارقام متفاوت رز اعلام داشتند که این ارقام ضریب ازدیاد متفاوت را در غلظت‌های یکسان هورمون BAP نشان می‌دهند. Kin اثر بازدارنده بر ضریب ازدیاد در هر دو ژنوتیپ داشت (جدول ۳ و ۴). Carelli و Echeverrigaray (۲۰۰۲) نتیجه گرفتند که BAP منجر به تحریک شاخه‌زایی بهتری از هر ریز نمونه در مقایسه با سایر هورمون‌های سیتوکینینی همچون 2iP و Kin می‌شود. نتایج ریشه‌زایی شاخه‌ها نشان داد که ریشه‌زایی ژنوتیپ‌های مختلف گل محمدی به سختی صورت می‌گیرد که توسط محققان دیگر (Jabbarzadeh & Khush-khui, 2005) و همکاران (۱۹۹۵) نیز گزارش کردند اگرچه TDZ به طور معنی‌داری بر طول شاخه، تعداد شاخه و سطح برگ اثر دارد، اما تفاوت معنی‌داری در بین غلظت‌های مختلف TDZ و NAA داشت.

بحث

پس از حذف نمونه‌های آلوده در مرحله استقرار، ریزنمونه‌های پاک به محیط کشت شاخه‌زایی منتقل شدند. اما پس از چند بازکشت آلودگی باکتریایی در نمونه‌ها مشاهده گردید که به صورت ترشحات شیری رنگ از قاعده ریزنمونه‌ها خارج می‌شد. کلونی باکتریایی موجود در ظرفهای کشت مانع از رشد و نمو گیاهان می‌شوند. آنها با مسدود کردن آوند چوبی مانع از نفوذ آب و موادغذایی به گیاهان می‌شوند (Kumar, 2003). به منظور حذف آلودگی از آنتی بیوتیک سفوتابکسیم به میزان ppm ۱۰۰ استفاده شد که اثر بخشی مثبتی در از بین بردن آلودگی داشت. Ordas و Humara (۱۹۹۹) نشان دادند که سفوتابکسیم در غلظت ۲۵۰ میکروگرم در لیتر هیچ اثر سمی در محیط کشت نداشت و باززایی و نمو جوانه را در گونه *Pinus pinea* L. تحریک کرد. آنتی بیوتیک سفوتابکسیم اثر کمی بر سلول‌های یوکاریوتی دارد و در غلظت‌های اندک مؤثر است (Mathias & Boyd, 1986). از نظر ضریب ازدیاد و رشد طولی با استفاده از غلظت‌های مختلف TDZ، IAA و IBA تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (جداول ۱ و ۳). Rosu و همکاران (۱۹۹۵) نیز گزارش کردند اگرچه TDZ به طور معنی‌داری بر طول شاخه، تعداد شاخه و سطح برگ اثر دارد، اما تفاوت معنی‌داری در بین غلظت‌های مختلف TDZ و NAA داشت.

- پژوهشی تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان جنگلی و مرتتعی ایران، جلد ۱۲ شماره ۲، ۲۰۳-۲۲۰. ۱۳۸۳. اثر کافی، م.، نیکبخت، ع.، بابالار، م. و میرمعصومی، م.، ۱۳۸۳. اثر تنظیم کننده‌های رشد گیاهی بر ساخته‌های رشدی گل محمدی در شرایط درون شیشه‌ای. مجله علوم و فنون باگبانی، جلد ۵، شماره ۳، ۱۵۷-۱۶۶.
- Arnold, N.P., Binns, M. R., Barthakur, N. and Clouter D.C., 1992. A study of growth regulator and time of plantlet harvest on the *in vitro* multiplication rate of hardy and hybrid tea Rose, Journal of Horticulture Science, 67 (6): 727-735.
- Carelli, B.P. and Echeverrigaray, S., 2002. An improvement system for the *in vitro* propagation of rose cultivar. Scientia Horticulture. 92: 69-74.
- Carins, T., 2003. Horticultural classification Schemes, 117-124. In: Robertes A.V., Debener T. and Gudin S. (Eds.). Encyclopedia of Rose Science. Elsevier Academic press.
- Hasegawa, P.M., 1980. Factor affecting shoot and root initiation from culture rose shoot tip. Journal of American Society for Horticultural Science, 115: 216-220.
- Huetteman, C.A. and Preece J.E., 1993. Thidiazuron: A potent cytokinin for woody plant tissue culture, Plant Cell Tissue and Organ Culture, 33: 105-119.
- Humara, J.M. and Ordas, R.J., 1999. The toxicity of Antibiotics and herbicides on *in vitro* Adventitious Shoot formation on *Pinus pinea* L. Cotyledones, *In vitro* Cellular and developmental biology –plant. 35: 339-343.
- Jabbarzadeh, Z. and Khush-Khui, M., 2005. Factor affecting tissue culture of damask Rose (*Rosa damascena* Mill.), Scientia Horticulturae 105: 475-482.
- Kumar, A., paini, L. M. S. and Nandi, S. K., 2003. The effect of light source and gelling agent in micropropagation of *Rosa damascena* Mill. And *Rhynchosystylis retusa* L., The journal of Horticulture Science and Biotechnology, 78 (6): 786-792.
- Kumar, U., 2003. Methodes in Plant Tissue Culture. Agrobios press.
- Mathias, R.J. and Boyd, L.A. 1986 Cefotaxime stimulates callus growth , embryogenesis and regeneration in hexaploid bread wheat (*Triticum aestivum* L. em Thell). Plant Science.46:217-223
- Murashige, T., and Skoog, F., 1962. Revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture, Physiologia Plantarum,15: 473-479.
- Rosu, A.R.M., Skirvin, B. A., Kushad, N.M.A and Otterbacher, M.A.G.,1995. The development of putative adventitious shoots from chimeral thornless rose (*Rosa multiflora* Thunbexjmur). Journal of Horticulture Science. 70 (6): 901-9

پاسخ به شرایط محیطی یکسان پاسخ‌های متفاوتی را نشان دادند. Hasgawa (۱۹۸۰) اعلام کرد که تفاوت در ریشه‌زایی شاخه‌های رز ناشی از تفاوت در ژنوتیپ‌ها است. استفاده از روش‌های مختلف ریشه‌زایی درون شیشه‌ای و همچنین کاهش هورمون‌های سیتوکینینی در مرحله شاخه‌زایی و انتقال آنها به محیط کشت ریشه‌زایی نتیجه مطلوبی را در پر آوری ریشه‌های نابجا نداشت. پیشنهاد می‌گردد که روش‌های برون شیشه‌ای (*Ex vitro*) و درون شیشه‌ای (*In vitro*) به منظور افزایش توان ریشه‌زایی شاخه‌ها آزمون گردد. در هر حال در مجموع ژنوتیپ آذربایجان شرقی نسبت به ژنوتیپ آذربایجان غربی در محیط‌های شاخه‌زایی مورد آزمون پاسخ بهتری داد.

منابع مورد استفاده

- رضایی، م. ب.، جایمند، ک.، طبایی عقدایی، ر.، برازنده، م. و مشکی‌زاده، س.، ۱۳۸۲. بررسی انسانس گل محمدی (Rosa damascena Mill.) مناطق مرکزی و شمال غربی کشور. فصلنامه پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، جلد ۱۹، شماره ۴. ۳۴۶-۳۳۹.
- صاحبی، م.، ۱۳۸۲. بررسی تنوع ژنتیکی نمونه‌های گل محمدی برخی مناطق ایران با استفاده از خصوصیات سیتوژنتیکی و مورفولوژیکی. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد بروجرد.
- طبایی عقدایی، س.ر.، سلیمانی، ا. و جعفری، ع.ا.، ۱۳۸۳a. بررسی تنوع موجود در دوره گلدهی و مورفولوژی ژنوتیپ گل محمدی (Rosa damascena Mill.).
- فصلنامه پژوهشی تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان جنگلی و مرتتعی ایران: جلد ۱۲، شماره ۳، ۲۶۵-۲۸۱.
- طبایی عقدایی، س.ر.، سلیمانی، ا.، جعفری، ع.ا. و رضایی، م.ب.، ۱۳۸۳b. ارزیابی عملکرد و صفات مورفولوژیکی ژنوتیپ‌های گل محمدی (Rosa damascena Mill.).
- غرب کشور با روش‌های آماری چند متغیره. فصلنامه

***In vitro* culture of two Damask rose genotypes
from East and West Azarbayjan provinces****A. Ghamari Zare¹, M.H. Assareh¹, M. Ghorbanli², S. Shahrzad¹ and B. Allahverdi Mamaghani³**

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

2-Gorgan Azad Islamic University, Gorgan, Iran.

3-Payame Noor University, Tehran, Iran.

Abstract

Conventional propagation of *Rosa damascena* is limited attributed to low adventitious root formation on cutting. *In vitro* culture has become an alternative method for propagation of this plant species. Shoot proliferation and *in vitro* rooting of two Azarbayjan genotypes using different concentration of growth regulators. West Azarbayjan genotype needed 0.01 mg l^{-1} TDZ, 0.5 mg l^{-1} IBA to attain proliferation of only 1.33, while east Azarbayjan genotype required 0.01 mg l^{-1} TDZ, 0.1 mg l^{-1} IAA to obtain a maximum shoot multiplication (2.33). Among different concentration of BAP and Kin, the highest multiplication rate (2) in west Azarbayjan genotype was found at 5 mg l^{-1} BAP. East Azarbayjan genotype reached to its maximum shoot multiplication (3.2) at 2.5 mg l^{-1} BAP. In order to root regeneration, *in vitro* propagated shoots were transferred into modified MS medium supplement with different concentration of NAA. East Azarbayjan and west Azarbayjan produced shoots rooted on modified MS medium containing 0.1 and 0.2 mg L^{-1} NAA, respectively. However, in this research East Azarbayjan genotype had better responses than West Azarbayjan.

Key words: *Rosa damascena* Mill., Propagation, Plant growth regulators and Proliferation