نشریه علمی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران | شناسه دیجیتال (DOI): 10.22092/ijmapr.2020.126120.2673
جلد ۳۶، شماره ۳، صفحه ۵۲۲-۵۰۹ (۱۳۹۹) | شناسه دیجیتال (DOR): 98.1000/1735-0905.1398.36.509.101.3.1576.1610

بهینه‌سازی تکثیر پایه‌های گل‌محمدی (*Rosa damascena* Mill.) در شرایط درون شیشه‌ای

علی صارمی‌راد[1*] و عبداله محمدی[2]

۱*- نویسنده مسئول، دانشجوی دکترای تخصصی، گروه زراعت و اصلاح نباتات، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، باشگاه پژوهشگران و نخبگان جوان، کرج، ایران
پست الکترونیک: Asaremirad@gmail.com

۲- دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران

تاریخ دریافت: آذر ۱۳۹۸ | تاریخ اصلاح نهایی: فروردین ۱۳۹۹ | تاریخ پذیرش: خرداد ۱۳۹۹

چکیده

گل‌محمدی (*Rosa damascena* Mill.) ازجمله گیاهان مهم در صنعت دارویی و عطرسازی می‌باشد. این پژوهش به‌منظور دستیابی به یک دستورالعمل باززایی کارا و مؤثر، برای بکارگیری در برنامه‌های به‌نژادی در شرایط آزمایشگاهی این گیاه با ارزش از نظر اقتصادی انجام شد. بدین‌منظور از دو ژنوتیپ گل‌محمدی در دو محیط کشت MS و WPM استفاده شد. در مرحله پرآوری اثر تنظیم‌کننده رشد بنزیل‌آمینوپورین (BAP) در شش سطح صفر (شاهد)، ۱، ۲، ۳، ۴ و ۵ میلی‌گرم در لیتر و در مرحله ریشه‌زایی تأثیر غلظت‌های صفر (شاهد)، ۰/۰۱، ۰/۰۵، ۰/۱ و ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر از تنظیم‌کننده رشد ایندول بوتیریک اسید (IBA) بررسی گردید. براساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های پرآوری، از نظر تعداد شاخساره ژنوتیپ کاشان در محیط MS (۲/۷۲) و ژنوتیپ اصفهان در محیط WPM (۲/۵۰) دارای بیشترین تعداد شاخه‌زایی بود. بیشترین میزان شاخه‌زایی در محیط MS با ۵ میلی‌گرم در لیتر BAP حاصل شد. ژنوتیپ کاشان در محیط MS با غلظت ۵ میلی‌گرم در لیتر BAP بالاترین میانگین طول شاخساره (۲/۹۳ سانتی‌متر) را به‌خود اختصاص داد. از نظر وزن تر گیاه، ژنوتیپ اصفهان در محیط WPM با غلظت ۵ میلی‌گرم در لیتر از تنظیم‌کننده رشد BAP بیشترین وزن را داشت؛ اثر متقابل ژنوتیپ × محیط کشت × BAP روی وزن خشک معنی‌دار نبود. بیشترین تعداد و میانگین طول ریشه در هر دو ژنوتیپ اصفهان و کاشان در محیط کشت WPM دارای ۰/۲ میلی‌گرم بر لیتر IBA مشاهده شد. شاخساره‌های ریشه‌دار شده، به گلدان‌های حاوی مخلوطی از خاک باغبانی، پیت‌ماس و پرلیت با نسبت حجمی یکسان (۱:۱:۱) انتقال داده شدند و براساس مشاهدات ضریب زنده‌مانی گیاهچه‌های ریشه‌دار کشت شده هر یک از ژنوتیپ‌ها بیش از ۸۰٪ برآورد شد.

واژه‌های کلیدی: ریزازدیادی، گل‌محمدی (*Rosa damascena* Mill.)، بنزیل‌آمینوپورین، ایندول بوتیریک اسید.

مقدمه

در خانواده Rosaceae، زیر خانواده Rosoideae، جنس *Rosa* بیش از ۲۰۰ گونه و ۱۸۰۰۰ رقم شناسایی شده است (Gudin, 2000). گونه‌های متعلق به این خانواده اکثراً به‌صورت درختچه با برگ‌های پایا و خزان‌کننده می‌باشند که در نواحی معتدل نیمکره شمالی پراکنش دارند (Horn, 1992).

گل‌محمدی با نام علمی *Rosa damascena* Mill. متعلق به خانواده Rosaceae، از جنس *Rosa* و گونه *R. damascena* است و از مهمترین گونه‌های رز محسوب می‌شود. به نظر می‌رسد که گل‌محمدی نوعی دورگه حاصل از گونه‌های *R. galica* و *R. canina* است. طی مطالعه‌ای که در سال ۲۰۰۰ در ژاپن انجام شد، سه گونه *R. moschata*، *R. gallica* و *R. fedschenkoana* را والدین گل‌محمدی معرفی کردند. گونه‌های وحشی رزها معمولاً دیپلویید (2n=2x=14) و ارقام زراعی آن به‌صورت گسترده تتراپلویید (2n=4x=48) هستند (Rout *et al*., 1999). این گل به‌صورت درختچه‌ای چندساله با شاخه‌های منشعب و خاردار است. ارتفاع این گیاه بین ۱ تا ۲ متر با شاخه‌های سبز مایل به خاکستری پوشیده شده با خارهای به رنگ قهوه‌ای متمایل به قرمز است. گل‌آذین این گیاه دیهیم با ۳ تا ۹ گل و بعضی مواقع بیشتر می‌باشد و یک‌بار در سال گل می‌دهد (Carins, 2003). گل‌محمدی در اغلب استان‌ها و مناطق کشور ازجمله اصفهان، آذربایجان، کرمان و فارس کشت می‌شود. از این گل برای تهیه اسانس، گلاب، مربا و همچنین در طراحی فضای سبز استفاده می‌شود. گل‌محمدی خواص درمانی بسیاری نیز دارد، ازجمله خواص درمانی آن شامل ضدالتهاب بودن، مسکن ملایم، ضدافسردگی، کاهنده میزان کلسترول خون، قابض ملایم، خواص ضدباکتریایی و میکروبی، درمان اسهال، گلودرد، دردهای ناشی از روماتیسم و ناهنجاری‌های خونی می‌توان اشاره کرد، همچنین از این گیاه در صنعت عطرسازی، آرایشی و بهداشتی نیز استفاده می‌شود (Mahmood *et al*., 1996؛ Jabbarzadeh, 2003).

به‌منظور تکثیر گل‌محمدی از روش‌های مختلفی شامل خوابانیدن، پیوندزدن، تکثیر از طریق پاجوش‌های ریشه‌دارشده و قلمه‌زدن استفاده می‌شود؛ اما این روش‌ها دارای مشکلاتی اعم از ضریب تکثیر پایین، ناتوانی در ریشه‌زایی قلمه‌ها، وابستگی به فصل تکثیر، محدودیت زمانی و مکانی و هزینه بالا می‌باشند. در سال‌های اخیر با بکارگیری تکنیک‌های کشت سلول و بافت، بسیاری از مشکلات مربوط به تکثیر کلاسیک گیاهان مرتفع شده است. امروزه تکنیک‌های کشت سلول و بافت گیاهی تبدیل به ابزار قدرتمندی در اصلاح، حفظ و نگهداری ذخایر ژنتیکی گیاهی شده است. مطالعات اندکی در زمینه ریزازدیادی گل‌محمدی در شرایط درون شیشه‌ای (*in vitro*) وجود دارد که در ادامه به برخی از آنها اشاره می‌شود.

طی پژوهشی برای بررسی ۷ ژنوتیپ رز، کشت جوانه جانبی، میزان هورمون‌ها و شرایط محیط کشت مورد آزمایش و ارزیابی قرار گرفت و در نهایت محیط کشت MS غنی‌شده با تنظیم‌کننده‌های رشدی ۱ میلی‌گرم در لیتر NAA و ۲ میلی‌گرم در لیتر BAP به‌عنوان بهترین محیط کشت معرفی شد (Davies, 1980). در آزمایشی دیگر که روی ۱۱ رقم رز انجام شد، نشان داده شد که میزان بالای هورمون‌های سیتوکنین و جیبرلین باعث باززایی نوساقه روی کالوس ایجاد شده در محیط کشت می‌شود (Khosh-Khui & Sink, 1982a) و طی آزمایش دیگری (Khosh-Khui & Sink, 1982b) که به‌منظور بررسی گونه‌های رزهای قدیم و جدید انجام دادند، اعلام کردند با توجه به اینکه گل‌محمدی جزء گونه‌های رز قدیمی می‌باشد، با استفاده از جوانه جانبی و انتهایی، پرآوری بهتری دارد.

Jabbarzadeh و Khush-Khui (۲۰۰۵) بیان کردند که غلظت ۳-۲/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP به همراه ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر IBA مطلوب‌ترین ترکیب تنظیم‌کننده‌های رشد برای شاخه‌زایی در گل‌محمدی می‌باشد. Kafi و همکاران (۲۰۰۴) با توجه به آزمایشی که انجام دادند، بهترین پرآوری شاخه را در محیط مایع MS با تیمار تنظیم‌کننده رشدی ۱ تا ۲ میلی‌گرم در لیتر BAP،

۱ میلی‌گرم در لیتر GA و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر NAA را برای رقم آذران و بدون NAA را برای رقم قمصر بدست آوردند. بیشترین میانگین شاخه‌زایی در هر دو رقم ۲/۶۶ شاخساره بود. در آزمایشی که روی گل‌محمدی انجام شد، بهترین نتایج ریشه‌زایی در محیط کشت MS ¼ همراه با ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر NAA و ۱۲۶ میلی‌گرم در لیتر فلوروگلوسینول در حضور نور حاصل شد (Kornova & Michailova, 1994).

Kumar و همکاران (۲۰۰۱) در تکثیر درون شیشه‌ای گل‌محمدی اثر TDZ و BAP را مطالعه کردند و بیان نمودند، ریزقلمه‌هایی که در محیط حاوی TDZ رشد کرده‌اند به راحتی ریشه‌دار می‌شوند. همچنین اثر ماده ژله‌ای‌کننده و نور را در تکثیر درون شیشه‌ای گل‌محمدی ارزیابی و بیان کردند که افزایش رشد و تکثیر شاخه در محیط حاوی فیتاژل و پرتو فعال فتوسنتز بهتری انجام می‌دهد. (Kumar *et al*., 2003)

طی سال‌های گذشته بکارگیری تکنیک‌های نوین ازجمله کشت سلول و بافت گیاهی رشد چشمگیری داشته و توانسته است تا حدودی در مرتفع نمودن موانع موجود در اصلاح و تکثیر گیاهان، ثمربخش واقع شود. شناسایی و تعیین بهترین ترکیب‌های محیط کشت گیاهی در دست‌ورزی ژنتیکی به‌منظور تولید واریته‌های با صفات جدید و اصلاح شده، یک نیاز اساسی و مهم تلقی می‌گردد. طی سالیان اخیر پژوهش‌ها و مطالعاتی در زمینه تکثیر درون شیشه‌ای گونه‌های مختلف رز انجام شده است؛ اما با توجه به تنوع بالای این خانواده محیط کشت بهینه‌ای برای ریزازدیادی در شرایط آزمایشگاهی با استفاده از تکنولوژی کشت سلول و بافت گیاهی ارائه نشده است. بنابر آنچه بیان شد، این پژوهش با هدف تعیین محیط کشت مطلوب و کارآمد برای ریزازدیادی گل‌محمدی که از هر لحاظ دارای اهمیت فراوانی است، پایه‌ریزی و انجام شد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش، سال ۱۳۹۷ در آزمایشگاه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج انجام گردید. مواد گیاهی مورد بررسی شامل دو ژنوتیپ گل‌محمدی با منشأ استان‌های اصفهان و کاشان بودند که پس از تهیه در گلخانه نگهداری شدند. شاخه‌های حاوی جوانه‌های جانبی جداسازی و به آزمایشگاه منتقل گردید. بعد از حذف قسمت‌های اضافی از شاخه‌ها، تک‌گره‌های حاصل حاوی جوانه جانبی تحت شستشو و مراحل استریلیزاسیون قرار گرفتند. بدین‌منظور ابتدا تک‌گره‌ها با استفاده از آب و مایع ظرف‌شویی به‌مدت ۱۰ دقیقه شستشو شدند و بعد از آن یک ساعت در معرض آب جاری قرار گرفتند. سپس به مدت ۲ دقیقه با الکل ۷۰٪ استریل و بعد از آن به‌مدت ۱۵ دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم قرار داده شدند. در نهایت پس از آبشویی با آب مقطر استریل، ریزنمونه‌های ضدعفونی‌شده در محیط کشت WPM و MS حاوی تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی، کشت گردیدند. شاخساره‌ها پس از کشت به اتاقک رشد با دمای ۲±۲۴ درجه سانتی‌گراد و طول روز ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و شدت نور ۳۰۰۰ لوکس انتقال یافتند. قبل از کشت ریزنمونه‌ها، تمامی محیط‌های کشت در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱/۲ اتمسفر به‌مدت ۲۰ دقیقه اتوکلاو شدند. اثر غلظت‌های مختلف سایتوکنین‌ها و دیگر تنظیم‌کننده‌های رشد بر تکثیر پایه‌های ریزنمونه‌های استقرار یافته مورد بررسی قرار گرفتند. بدین‌منظور برای مقایسه سطوح مختلف هورمون BAP (صفر (به‌عنوان شاهد)، ۱، ۲، ۳، ۴ و ۵ میلی‌گرم در لیتر) در دو محیط کشت پایه WPM و MS حاوی ۳۰ گرم در لیتر ساکارز و ۷ گرم در لیتر آگار با pH=۵/۷-۵/۸ پرداخته شد. ویژگی‌های مورد نظر در تعیین کارآمد بودن تیمارهای مورد بررسی، شامل تعداد شاخساره، طول شاخساره، وزن تر گیاه و وزن خشک گیاه (با قرار دادن شاخساره‌ها در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت بدست آمد) بود. به‌منظور ریشه‌دار کردن ریزنمونه‌ها از سطوح مختلف تیمار ریشه‌زایی (صفر (به‌عنوان شاهد)، ۰/۰۱، ۰/۰۵، ۰/۱ و ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر هورمون

ایندول بوتیریک اسید) در دو محیط کشت WPM و MS آزمایش شد. صفات مورد بررسی در ریشه‌زایی از قبیل تعداد ریشه و میانگین طول ریشه اندازه‌گیری و یادداشت‌برداری شد.

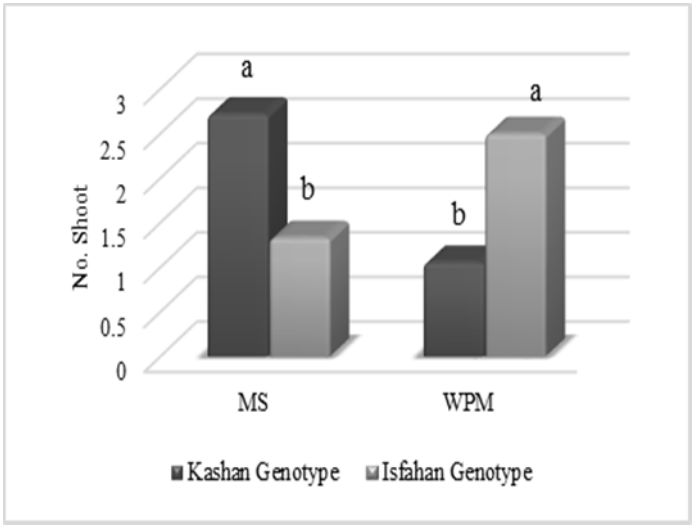
در نهایت گیاهچه‌های ریشه‌دار شده به‌منظور سازگاری در گلدان‌های متشکل از مخلوط خاک باغبانی، پیت‌ماس و پرلیت (۱:۱:۱) قرار گرفتند و به گلخانه مرطوب منتقل شدند. پیش از انتقال گیاهچه‌ها به بستر کشت ابتدا گیاهچه‌هایی که دارای ریشه‌های مناسب و رشد مطلوبی بودند از محیط کشت خارج شدند و با آب روان به‌منظور حذف بقایای محیط کشت، تحت شستشو قرار گرفتند. گیاهان در زمان اعمال تیمار در دمای ۲±۲۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۷۰٪ با دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی نگهداری شدند. یک‌بار در ماه اقدام به تغذیه گیاه با محلول هوگلند گردید و آبیاری‌ها هر هفته دو مرتبه انجام شد. پس از سازگاری گیاهچه‌ها، میزان زنده‌مانی (درصد) هر یک از ژنوتیپ‌ها برآورد گردید.

بررسی نرمال بودن داده‌ها به‌وسیله نرم‌افزار Minitab 17 انجام شد. برای تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌های حاصل از این پژوهش، از نرم‌افزار SAS نسخه 9.1 با دستورالعمل آزمایش فاکتوریل با سه عامل ژنوتیپ (در دو سطح)، محیط (در دو سطح) و تنظیم‌کننده رشد (در مرحله شاخه‌زایی در ۶ سطح و در مرحله ریشه‌زایی در ۵ سطح) در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار در هریک از مراحل پرآوری و ریشه‌زایی استفاده شد. مقایسه میانگین اثرهای اصلی و متقابل با استفاده از نرم‌افزار Mstat-C به روش چند دامنه‌ای دانکن (Duncan) در سطح احتمال ۱٪ انجام گردید. نمودارها با استفاده از محیط Excel و براساس نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها رسم شد.

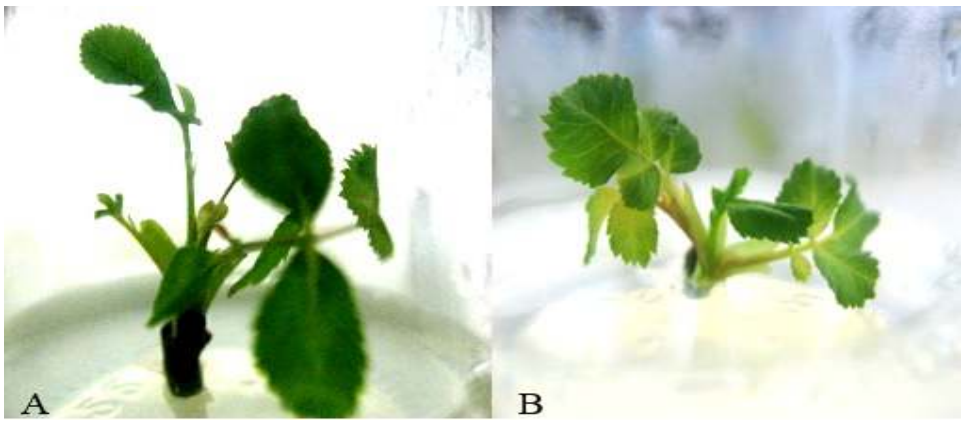
نتایج

پس از بررسی نرمال بودن داده‌های حاصل و تأیید آن، تجزیه‌وتحلیل‌های مربوطه انجام و نتایج تجزیه واریانس در جدول ۱ ارائه گردید. طبق نتایج بدست‌آمده، نوع ژنوتیپ بر همه ویژگی‌های ارزیابی شده جز تعداد شاخساره معنی‌دار بود. نوع محیط کشت‌های مورد مطالعه غیر از ویژگی وزن تر گیاه بر سایر ویژگی‌ها تأثیر معنی‌داری داشت. غلظت‌های مختلف تنظیم‌کننده رشد BAP همانند نوع ژنوتیپ روی سه ویژگی طول شاخساره، وزن تر و وزن خشک گیاه تأثیرگذار بود اما بر تعداد شاخساره‌ها اثر معنی‌داری نداشت و تفاوتی در تعداد تولید شاخساره ایجاد نکرد. اثر متقابل دو جانبه ژنوتیپ × محیط کشت و محیط کشت × BAP بر کلیه ویژگی‌های ارزیابی شده معنی‌دار بود اما اثر متقابل ژنوتیپ × محیط کشت تنها بر دو صفت طول شاخساره و وزن تر گیاه در سطح احتمال ۱٪ ($P<0.01$) اثر معنی‌دار داشت. اثر متقابل سه جانبه ژنوتیپ × محیط کشت × تنظیم‌کننده رشد برای کلیه صفات به‌جز صفت تعداد شاخساره در سطح احتمال ۱٪ ($P<0.01$) معنی‌دار شد. این موضوع نشان می‌دهد که هر یک از اثرهای ژنوتیپ، محیط کشت و تنظیم‌کننده رشدی روی یکدیگر تأثیر داشته است و سبب تغییر در ویژگی‌های مرتبط با صفات مورد مطالعه می‌شود. با توجه به معنی‌دار شدن اثرهای متقابل به مقایسه میانگین اثرهای برهم‌کنش معنی‌دار شده هر یک از صفات پرداخته می‌شود.

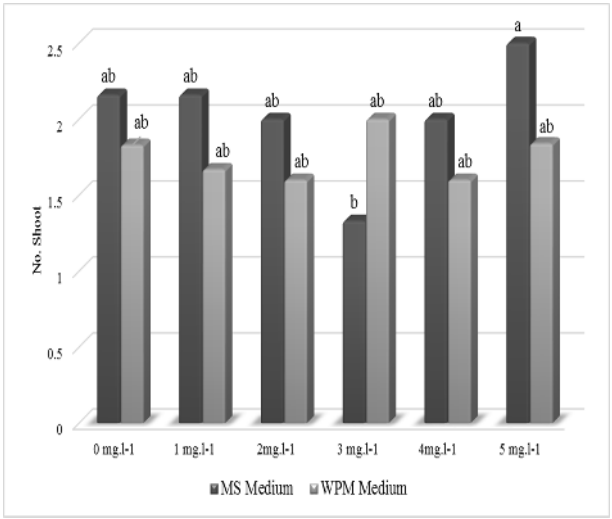
با مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپ و محیط کشت مشخص گردید که بیشترین تعداد شاخساره متعلق به ژنوتیپ کاشان در محیط کشت MS (با میانگین ۲/۷۲) و ژنوتیپ اصفهان در محیط کشت WPM (با میانگین ۲/۵۰) است (شکل ۲). کمترین تعداد شاخساره به‌ترتیب با میانگین ۱/۳۳ و ۱/۰۵ در ژنوتیپ اصفهان در محیط کشت MS و ژنوتیپ کاشان در محیط کشت WPM مشاهده گردید (شکل ۱). در مورد اثر متقابل محیط کشت و BAP (شکل ۳)، با بررسی نتایج مقایسه میانگین مشخص گردید که بیشترین تعداد شاخساره در محیط کشت MS با ۵ میلی‌گرم در لیتر BAP حاصل شده است.



شکل ۱- تأثیر اثر متقابل ژنوتیپ‌های گل‌محمدی × محیط‌های کشت MS و WPM بر شمار شاخساره‌ها



شکل ۲- A: شاخه‌زایی ژنوتیپ کاشان روی محیط کشت MS و B: شاخه‌زایی ژنوتیپ اصفهان روی محیط کشت WPM



شکل ۳- تأثیر اثر متقابل محیط کشت × BAP بر شمار شاخساره‌های گل‌محمدی

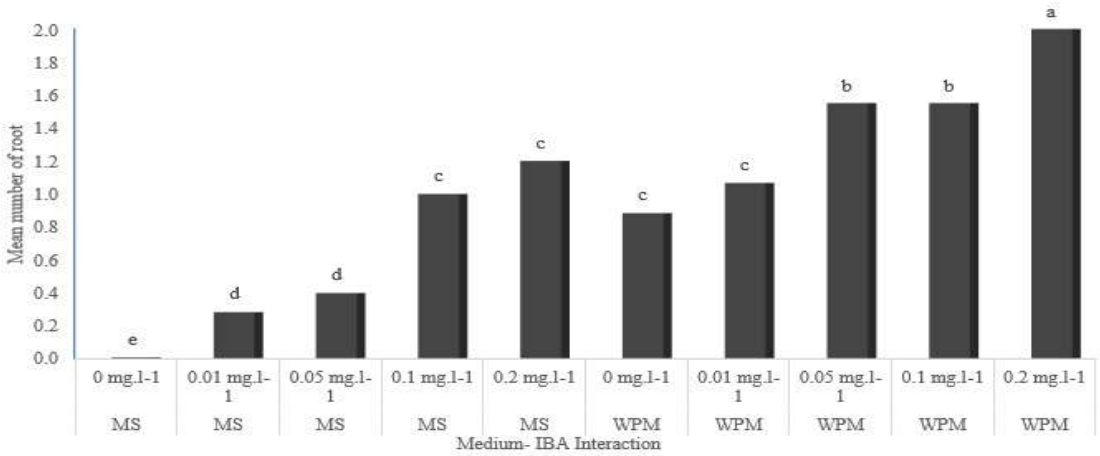
واکنش ژنوتیپ‌ها از لحاظ ویژگی میانگین طول شاخساره نسبت به عامل‌های مطالعه شده (محیط کشت و تنظیم‌کننده رشد) متفاوت بود، به‌عبارت دیگر سطوح مختلف عامل‌ها روی یکدیگر تأثیر گذاشته و سبب تغییر در میانگین طول شاخساره‌ها گردید. با بررسی مشاهدات و نتایج حاصل در مورد اثر متقابل سه جانبه، می‌توان چنین بیان کرد که ژنوتیپ کاشان در محیط کشت پایه MS با ۵ میلی‌گرم در لیتر BAP دارای بیشترین رشد طولی شاخساره (۲/۹۳ سانتی‌متر) بود. پس از آن بالاترین رشد طولی با میانگین ۲/۷۳ سانتی‌متر دوباره مربوط به ژنوتیپ کاشان در محیط کشت پایه MS اما با کاهش ۱ میلی‌گرم در لیتر تنظیم‌کننده رشد یعنی در ۴ میلی‌گرم در لیتر BAP بود. ژنوتیپ کاشان در محیط کشت پایه WPM غنی شده با ۴ میلی‌گرم در لیتر BAP رشد طولی مطلوبی نداشت و با میانگین طول شاخساره ۰/۴۵ سانتی‌متر نامناسب‌ترین رشد طولی را به‌خود اختصاص داد (جدول ۳).

نتایج وزن تر شاخساره‌ها نشان داد که با کنش و واکنش هر یک از عوامل ارزیابی شده، این ویژگی (وزن تر شاخساره) تحت تأثیر قرار می‌گیرد. به‌طوری که بالاترین میزان وزن تر (۰/۰۶ گرم) در ژنوتیپ اصفهان قرار گرفته روی محیط کشت پایه WPM با غلظت ۵ میلی‌گرم در لیتر BAP حادث شد. وزن تر شاخساره‌های ژنوتیپ کاشان به‌ترتیب در محیط کشت WPM با غلظت تنظیم‌کننده رشد ۴ میلی‌گرم در لیتر (۰/۰۸۳ گرم) و عاری از تنظیم‌کننده رشد (۰/۰۸۶ گرم) پایین‌ترین واکنش را داشت. پس از اندازه‌گیری و یادداشت‌برداری وزن تر، نمونه‌ها به داخل آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. بعد از سپری شدن ۴۸ ساعت، اقدام به توزین نمونه‌ها به‌منظور تعیین وزن خشک شاخساره‌ها گردید. با توجه به معنی‌دار بودن تأثیر اثر متقابل سه جانبه ژنوتیپ × محیط کشت × تنظیم‌کننده رشد در جدول تجزیه واریانس (جدول ۱)، مقایسه میانگین اثر متقابل سه جانبه به روش چند دامنه‌ای دانکن در سطح اطمینان ۹۹٪ انجام شد و نتایج آن در جدول ۲ ارائه گردید. براساس این نتایج، اختلاف آماری معنی‌داری میان ترکیب‌های اثر متقابل ژنوتیپ × محیط کشت × تنظیم‌کننده رشد از نظر ویژگی وزن خشک شاخساره مشاهده نشد.

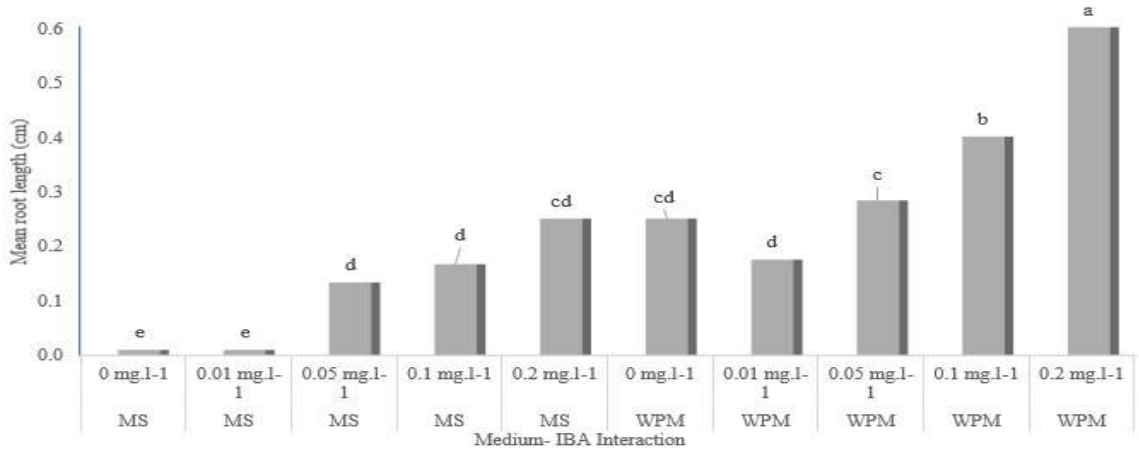
ریشه‌زایی

نتایج حاصل از تجزیه واریانس مرحله ریشه‌زایی در جدول ۳ ارائه شده است. اثر ژنوتیپ بر ویژگی‌های میانگین تعداد ریشه و میانگین طول ریشه تأثیر معنی‌داری نداشت، به بیان بهتر، تنوع ژنتیکی خصوصیات ریشه‌زایی متفاوتی ایجاد نکرد. نوع محیط کشت‌های مورد مطالعه هریک از صفات را تحت تأثیر قرار داد و تغییرات قابل ملاحظه‌ای را در روند ریشه‌زایی موجب شد. غلظت‌های مختلف تنظیم‌کننده رشد همانند نوع محیط کشت روی هر دو ویژگی تأثیر معنی‌داری داشت. در میان اثرهای متقابل میان عوامل مورد مطالعه، فقط اثر متقابل محیط کشت–IBA در سطح احتمال ۱٪ ($P<0.01$) معنی‌دار بود. این موضوع نشان می‌دهد که هریک از تیمارهای محیط کشت و تنظیم‌کننده رشدی روی یکدیگر تأثیرگذار بوده است و سبب تغییر در ویژگی‌های مورد مطالعه شده است. با توجه به معنی‌دار شدن برهم‌کنش‌ها، به مقایسه میانگین اثرهای برهم‌کنش معنی‌دار شده هر یک از صفات پرداخته شد.

با مقایسه میانگین اثر متقابل محیط کشت– IBA مشخص گردید که محیط کشت WPM بر محیط کشت MS برتری دارد، به‌نحوی‌که هر دو ژنوتیپ در محیط کشت پایه WPM با غلظت ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر IBA ریشه‌دار شدند (شکل ۴). در هر دو محیط کشت مورد مطالعه با بالا بردن غلظت IBA تعداد ریشه در مقایسه با غلظت پایین افزایش یافت. بنا بر آنچه گفته شد می‌توان بیان نمود که بکارگیری تنظیم‌کننده رشدی IBA باعث خروج تعداد بیشتر ریشه می‌شود (شکل ۶). در ارتباط با میانگین طول ریشه، با بررسی نتایج مقایسه میانگین مشخص شد که شاخساره‌های قرار گرفته در محیط کشت WPM با غلظت ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر IBA رشد طولی بالایی داشتند. با افزایش غلظت IBA از صفر به غلظت ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر میزان رشد طولی ریشه‌ها به‌صورت صعودی بود (شکل ۵).



شکل ۴- نتایج مقایسه میانگین تأثیر اثر متقابل محیط کشت- IBA برای ویژگی میانگین تعداد ریشه

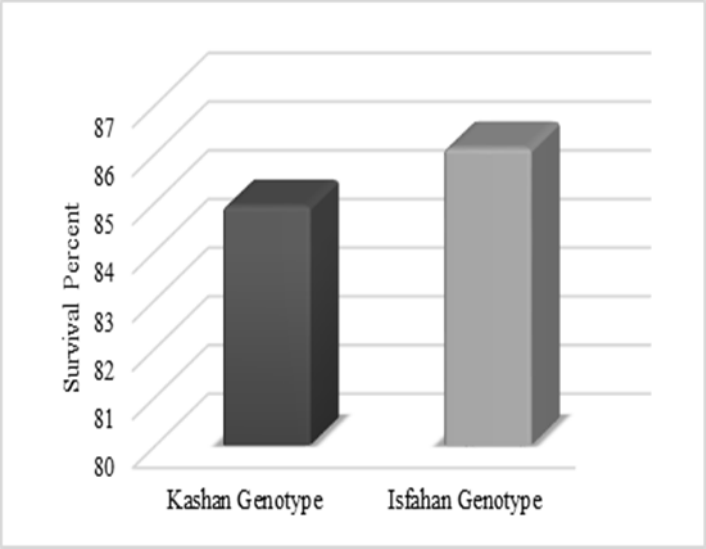


شکل ۵- نتایج مقایسه میانگین تأثیر اثر متقابل محیط کشت- IBA برای ویژگی میانگین طول ریشه

شکل ۶- ریشه‌زایی در گیاهچه‌های گل‌محمدی

سازگاری

در آخرین مرحله که یکی از حیاتی‌ترین مراحل کشت بافت به‌دلیل تلفات گیاهچه‌ها به‌شمار می‌رود، شاخساره‌های ریشه‌دار شده به گلدان‌های حاوی مخلوطی از خاک باغبانی، پیت‌ماس و پرلیت با نسبت حجمی یکسان (۱:۱:۱) انتقال داده شدند (شکل ۸). براساس نتایج ارائه شده در شکل ۷ میزان زنده‌مانی ژنوتیپ‌های کاشان و اصفهان روی بستر کشت خاک باغبانی، پیت‌ماس و پرلیت به‌ترتیب ۸۴/۹۲ ٪ و ۸۶/۱۱٪ برآورد شد.



شکل ۷- تأثیر بستر کشت خاک، پیت و پرلیت بر زنده‌مانی گیاهچه‌های گل‌محمدی

شکل ۸- سازگاری در گیاهچه‌های گل‌محمدی

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس تأثیر ژنوتیپ، محیط کشت، تنظیم‌کننده رشد BAP و برهم‌کنش آنها بر صفات مربوط به شاخه‌زایی

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		تعداد شاخساره	طول شاخساره	وزن تر گیاه	وزن خشک گیاه
ژنوتیپ	۱	۰/۰۱۳ns	۰/۸۷۵**	۰/۰۰۲**	۰/۰۰**
محیط کشت	۱	۱/۱۲۵*	۴/۹۹۲**	۰/۰۰ns	۰/۰۰**
بنزیل‌آمینوپورین	۵	۰/۳۱۳ns	۰/۷۹۹**	۰/۰۰۰۶**	۰/۰۰**
برهم‌کنش ژنوتیپ × محیط	۱	۳۶/۱۲۵**	۱۸/۸۷۰**	۰/۰۰۶**	۰/۰۰**
برهم‌کنش ژنوتیپ × بنزیل‌آمینوپورین	۵	۰/۳۸۰ns	۰/۳۰۰**	۰/۰۰۰۱**	۰/۰۰ns
برهم‌کنش محیط × بنزیل‌آمینوپورین	۵	۰/۶۲۵**	۰/۳۳۳**	۰/۰۰۰۳**	۰/۰۰**
برهم‌کنش ژنوتیپ × محیط × بنزیل‌آمینوپورین	۵	۰/۰۹۱ns	۰/۶۲۲**	۰/۰۰۰۳**	۰/۰۰**
خطای آزمایش	۴۸	۰/۱۶۶	۰/۰۲۲	۰/۰۰۰۰۱	۰/۰۰
ضریب تغییرات (٪)		۲۱/۴۵	۸/۶۳	۱۳/۲۰	37/5

*، ** و ns: معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪ و غیر معنی‌دار

بحث

گونه‌های مختلف رز در محیط کشت MS دارای بهترین شاخه‌زایی هستند (Davies, 1980)، اما همان‌طور که در این مطالعه اشاره شد از دو ژنوتیپ مورد بررسی، ژنوتیپ کاشان در محیط MS و ژنوتیپ اصفهان در محیط WPM بیشترین تعداد شاخساره را تولید کردند. تفاوت میان دو محیط مورد مطالعه در میزان یون‌های آنها است که در محیط MS نسبت به محیط WPM به‌ویژه مقادیر یون نیترات بیشتر می‌باشد. بنابر آنچه گفته شد، می‌توان چنین استنباط نمود که ژنوتیپ کاشان برای شاخه‌زایی نیاز به قدرت یونی بالایی (به‌ویژه یون نیترات) در مقایسه با ژنوتیپ اصفهان دارد. با مطالعه‌ای که در گذشته انجام شد، مشخص گردید گونه *R. multiflora* در محیط کشت MS نسبت به محیط کشت WPM دارای رشد و نمو بیشتری است و این به دلیل غلظت بالای یون نیترات است (Van der salm *et al*., 1994).

نتایج حاصل از تحقیقات انجام شده به‌منظور تعیین تنظیم‌کننده رشدی مناسب برای افزایش تعداد شاخه، نشان داد که غلظت‌های ۱ تا ۱۰ میلی‌گرم در لیتر BAP نقش مهمی در شکست رکود جوانه‌ها، تکثیر و ازدیاد نوشاخه‌ها دارد (Carelli & Echeuerrigaray, 2002؛ Hasegawa, 1980). محیط کشت پایه MS با تنظیم‌کننده رشدی BAP سبب رشد و نمو ساقه‌ها، شادابی و ثبات در میزان سبزینه (کلروفیل) می‌گردد (Kornova & Michailova, 1994). در مطالعه‌ای که توسط Asareh و همکاران (۲۰۰۶) با هدف تعیین محیط کشت و تنظیم‌کننده رشد مناسب برای تکثیر گل‌محمدی انجام شد، عنوان شد که از لحاظ ویژگی تعداد شاخه‌زایی (افزایش در تعداد نوشاخه) محیط کشت MS بر WPM برتری دارد و مطلوب‌ترین تنظیم‌کننده رشد، BAP با غلظت ۵ میلی‌گرم در لیتر و TDZ با غلظت ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر می‌باشد. این نتایج تأییدی بر نتایج بدست‌آمده از این پژوهش در افزایش تعداد شاخساره بود.

جدول ۲- نتایج حاصل از مقایسه میانگین اثر برهم‌کنش سه جانبه ژنوتیپ × محیط کشت × تنظیم‌کننده رشد بر ویژگی‌های طول شاخساره، وزن تر و وزن خشک گیاه

ژنوتیپ	محیط کشت	بنزیل‌آمینوپورین (BAP mg.l^{-1})	طول شاخساره (سانتی‌متر)	وزن تر گیاه (گرم)	وزن خشک گیاه (گرم)
Kashan	MS	۰	۲/۲۶۷cdef	۰/۰۳۲ cde	۰/۰۰۱۱ a
		۱	۲/۴۸۷ bc	۰/۰۳۲ cde	۰/۰۰۱۰۶۷ a
		۲	۲/۰۶۷defg	۰/۰۲ fg	۰/۰۰۱ a
		۳	۱/۹ fg	۰/۰۱۴ ghi	۰/۰۰۱۰۳۳ a
		۴	۲/۷۳۳ ab	۰/۰۴۰۳ c	۰/۰۰۱۱ a
		۵	۲/۹۳۳ a	۰/۰۵۵ b	۰/۰۰۱۲۳۳ a
	WPM	۰	۰/۹۳۳ hi	۰/۰۰۸۶ i	۰/۰۰۱ a
		۱	۱ h	۰/۰۱۷ gh	۰/۰۰۱۱ a
		۲	۱/۰۳۳ h	۰/۰۱۲ ghi	۰/۰۰۱۱ a
		۳	۰/۶ ij	۰/۰۱۵ ghi	۰/۰۰۱۱ a
		۴	۰/۴۵ j	۰/۰۰۸۳ i	۰/۰۰۱ a
		۵	۱/۰۶۷ h	۰/۰۱۳ ghi	۰/۰۰۱۰۶۷ a
Esfahan	MS	۰	۲/۳۸۷ cd	۰/۰۲۷ ef	۰/۰۰۱۱ a
		۱	۱/۱۴ h	۰/۰۳۶ cd	۰/۰۰۱۱۳۳ a
		۲	۱/۹۶ fg	۰/۰۲۶ ef	۰/۰۰۱۰۶۷ a
		۳	۱ h	۰/۰۱ hi	۰/۰۰۱ a
		۴	۰/۹ hi	۰/۰۱۴ ghi	۰/۰۰۱۰۶۷ a
		۵	۲/۱۷۳ cdefg	۰/۰۳ de	۰/۰۰۱۱۳۳ a
	WPM	۰	۱/۸۵ g	۰/۰۳۳ cde	۰/۰۰۱۱ a
		۱	۲ efg	۰/۰۳۹ c	۰/۰۰۱۲۶۷ a
		۲	۲/۲ cdefg	۰/۰۴ c	۰/۰۰۱۳۶۷ a
		۳	۲/۱۸۳ cdefg	۰/۰۴۹ b	۰/۰۰۱۴ a
		۴	۱/۹۶۷ fg	۰/۰۲۸ def	۰/۰۰۱۲۳۳ a
		۵	۲/۳۵ cde	۰/۰۶۶ a	۰/۰۰۱۵۶۷ a

در هر ستون اعداد دارای حروف مشترک، تفاوت معنی‌داری براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن با هم ندارند.

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس تأثیر ژنوتیپ، محیط کشت، تنظیم‌کننده رشد IBA و برهم‌کنش آنها بر صفات مرتبط با ریشه‌زایی

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات	
		میانگین تعداد ریشه	میانگین طول ریشه
ژنوتیپ	۱	۰/۰ns	۰/۰ns
محیط کشت	۱	۳/۵*	۰/۲*
ایندول بوتیریک اسید	۴	۶/۸**	۰/۸**
برهم‌کنش ژنوتیپ- محیط	۱	۰/۰ns	۰/۰ns
برهم‌کنش ژنوتیپ- ایندول بوتیریک اسید	۴	۰/۱ns	۰/۰ns
برهم‌کنش محیط- ایندول بوتیریک اسید	۴	۲/۰**	۱/۰**
برهم‌کنش ژنوتیپ- محیط- ایندول بوتیریک اسید	۴	۰/۵ns	۰/۰ns
خطای آزمایش	۴۰	۰/۳	۰/۰۳

*، ** و ns: معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪ و غیرمعنی‌دار

استفاده از محیط کشت WPM در مقایسه با محیط کشت MS به‌علت اینکه از میزان نمک‌های آمونیوم کمتری برخوردار است باعث افزایش طول شاخساره‌ها (نوساقه‌ها) می‌شود، زیرا مقادیر بالای آمونیوم بر فعالیت نیترات ردوکتاز و گلوتامات سنتاز که در ساخت اسیدهای آمینه شرکت دارند تأثیر منفی گذاشته و باعث کاهش فعالیت آنها می‌شود. این امر سبب ایجاد اختلال در رشد نوساقه‌ها شده و کاهش در طول شاخساره‌ها را در پی خواهد داشت (Shirdel *et al.*, 2013)؛ اما این نتایج با نتایج بدست‌آمده از این پژوهش مغایرت داشت. در این پژوهش بیان شد که محیط کشت MS پاسخ مطلوب‌تری نسبت به محیط WPM از لحاظ میانگین طول شاخساره‌ها داشت، علت این مغایرت در نتایج را می‌توان به تأثیری که سطوح مختلف عامل‌ها بر یکدیگر دارند، نسبت داد. در تکثیر درون شیشه‌ای رز عوامل مختلفی (گونه، ژنوتیپ، محیط کشت، نمک‌های معدنی، مواد آلی، کربوهیدرات‌ها، تنظیم‌کننده‌های رشد و شرایط محیطی) حضور دارند که باعث ایجاد پاسخ‌های متفاوت می‌شوند (George *et al.*, 2008b؛ George *et al.*, 2008a؛ Pati *et al.*, 2006؛ Pati *et al.*, 2005). ازجمله این عوامل که از اهمیت ویژه‌ای برخوردارند، ژنوتیپ و تنظیم‌کننده‌های رشدی هستند (Kumar *et al.*, 2006). طبق گزارش Rout و همکاران (۱۹۹۹) تکثیر اندام هوایی در رز به‌طور قابل ملاحظه‌ای متأثر از مقادیر سیتوکنین بکار برده شده در محیط کشت می‌باشد. به‌عنوان مثال سیتوکنین BA به‌دلیل توانایی تحریک بافت‌های گیاهی به سوخت‌وساز هورمون‌های طبیعی درون‌زا و نیز تولید سایر مجموعه‌های هورمونی طبیعی دخیل در القای شاخه‌زایی از اهمیت بالایی برخوردار است (Ahmed & Anis, 2014). در پرآوری دو رقم *R. hybrid*، غلظت‌های پایین BAP نمو جوانه‌های جانبی را در رقم Gold Glow تحریک کرد اما اثری بر رقمImproved Blaze نداشت (Ghamari Zare *et al.*, 2006؛ Kumar *et al.*, 2006). با در نظر گرفتن تمامی موارد ارزیابی شده در مرحله پرآوری، می‌توان اذعان نمود که تنوع ژنتیکی میان ژنوتیپ‌ها نقش مؤثر و کارایی بر ویژگی‌های این مرحله ایفاء می‌نماید.

محیط‌های کشت پایه MS و WPM با غلظت‌های مختلف تنظیم‌کننده رشدی IBA (صفر (به‌عنوان شاهد)، ۰/۰۱، ۰/۰۵، ۰/۱ و ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر تنظیم‌کننده رشد ایندول بوتیریک اسید) برای ریشه‌زایی دو ژنوتیپ اصفهان و کاشان استفاده شد. ریزنمونه‌ها قبل از قرار گرفتن در

تیمارهای ریشه‌زایی، به‌منظور القای ریشه‌زایی در ریزنمونه‌ها، به مدت یک هفته در محیط کشت حاوی ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر 2,4-D قرار داده شدند. تیمارهای بررسی شده نتایج رضایت‌بخشی را در پی نداشتند. در تعداد محدودی از تیمارها ریشه‌زایی انجام شد اما دارای طول کوتاه و تعداد اندکی بودند که علت همین مقدار ضعیف ایجاد ریشه در این ریزنمونه‌ها را می‌توان به قرار دادن در محیط القای ریشه‌زایی نسبت داد. در میان تیمارهای مؤثر بر ریشه‌زایی، نوشاخه‌های هر دو ژنوتیپ در محیط کشت پایه WPM با غلظت ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر IBA ریشه‌دار شدند. ریشه‌زایی در گل‌محمدی دشوار می‌باشد و این موضوع توسط محققان مختلف (Jabbarzadeh & Khosh-Khui, 2005؛ Kafi *et al*., 2004؛ Gholizadeh *et al*., 2014) تأیید شده است. این مرحله تحت تأثیر عوامل مختلفی مانند سنتز، متابولیسم، انتقال و نیز مسیرهای انتقال علائم اکسین قرار دارد (George *et al*., 2008c). تیمار گیاهان با اکسین تنظیمات پیش‌برنده و یا کاهنده بیان ژن‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Weijers & Ju¨rgens, 2004) و سبب ایجاد واکنش‌های متفاوت در ژنوتیپ‌ها می‌شود. زمینه ژنتیکی ژنوتیپ تأثیر مستقیم و به‌سزایی بر ریشه‌زایی دارد. به‌نحوی که ارقامی که دارای رشد و نمو مطلوبی هستند علاوه‌بر اینکه توانایی تولید شاخساره‌های بهتری دارند، توانایی تولید ریشه‌های مناسب‌تری را نیز در پی دارد. در این بررسی هر دو ژنوتیپ کاشان و اصفهان نسبت به تیمار ریشه‌زایی واکنش مشابهی نشان دادند و این موضوع می‌تواند متأثر از عوامل مختلفی باشد که یکی از آنها امکان قرابت ژنتیکی ژنوتیپ‌هاست.

یکی از مهمترین عوامل محیطی که میزان بقای گیاهان تولید شده از طریق کشت بافت را در زمان سازگاری تحت تأثیر قرار می‌دهد، تنش آب است. پیت‌ماس می‌تواند تا ۲۰ برابر وزن خود آب جذب نماید و در اختیار گیاه قرار دهد. پرلیت باعث افزایش نفوذپذیری، تهویه مناسب و نیز حفظ رطوبت می‌شود. ترکیب این مواد با یکدیگر برای تهیه بستر کشت گیاهان حاصل از کشت بافت به‌منظور سازگاری، به‌دلیل کاهش تنش آب باعث افزایش زنده‌مانی گیاهان گردید و نتایج بهتری را در پی داشت.

به‌عنوان نتیجه‌گیری کلی و با توجه به نتایج حاصل می‌توان بیان کرد که محیط‌های کشت MS و WPM اثر یکسانی به‌عنوان محیط پایه بر پرآوری و ریشه‌زایی شاخساره‌های ژنوتیپ‌های مختلف گل‌محمدی ندارند. البته استفاده از تنظیم‌کننده رشد BAP برای داشتن پرآوری بالا از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است، به‌نحوی که با مقایسه شاهد و بقیه محیط‌های حاوی BAP مشخص شد که حتی وجود مقدار اندکی BAP، سبب پرآوری بیشتری نسبت به محیط بدون تنظیم‌کننده رشد می‌شود. غلظت ۵ میلی‌گرم در لیتر BAP پاسخ مطلوبی را در پی داشت. در مرحله ریشه‌زایی از شاخساره‌های گل‌محمدی مشخص شد که تنظیم‌کننده رشد IBA در سطوح مورد مطالعه بر ریشه‌زایی گل‌محمدی چندان مؤثر نیست. در مرحله سازگاری، بستر کشت خاک، پیت و پرلیت تأثیر به‌سزا و یکسانی بر زنده‌مانی شاخساره‌های ریشه‌دار هر دو ژنوتیپ مورد مطالعه داشتند.

منابع مورد استفاده

- Asareh, M.H., Ghorbanli, M., Allahverdi-Mameghani, B., Ghamari-Zare, A. and Shahrzad, Sh., 2006. Effects of culture media and plant growth regulators on proliferation in vitro Rose (*Rosa damascene* Mill.). Research and Development in Agriculture and Horticulture, 72: 45-51. (In Persian)
- Ahmed, R. and Anis, M., 2014. Rapid in vitro propagation system through shoot tip cultures of *Vitex trifolia* L. an important multipurpose plant of the Pacific traditional Medicine. Physiology and Molecular Biology of Plants, 20(3): 385-392.
- Carelli, B.P. and Echeuerrigaray, 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 Aacademic press, 1200p.
- Davies, D.R., 1980. Rapid propagation of roses in vitro. Scientia Horticulturae, 13(4): 385-389.
- George, E.F., Hall, M.A. and Klerk, G.J.D., 2008a. The components of plant tissue culture media I: macro- and micro-nutrients. in plant propagation by

tissue culture: 65-113. In: George, E.F., Hall, M.A. and Klerk, G.J.D., (Eds.). Plant Propagation by Tissue Culture (Vol. 1). Springer Netherlands, 501p.
- George, E.F., Hall, M.A. and Klerk, G.J.D., 2008b. The components of plant tissue culture media II: organic additions, osmotic and pH effects, and support systems: 115-173. In: George, E.F., Hall, M.A. and Klerk, G.J.D., (Eds.). Plant Propagation by Tissue Culture (Vol. 1). Springer Netherlands, 501p.
- George, E.F., Hall, M.A. and Klerk, G.J.D. 2008c. Plant growth regulators i: introduction; auxins, their analogues and inhibitors: 175-204. In: George, E.F., Hall, M.A. and Klerk, G.J.D., (Eds.). Plant Propagation by Tissue Culture (Vol. 1). Springer Netherlands, 501p.
- Ghamari Zare, A.G., Assare, M.H., Shahrzad, S. and Allahverdi Mamaghani, B., 2006. In vitro culture of two Damask rose genotypes from East and West Azarbayjan provinces. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research, 14(3):155-162.
- Gholizadeh, F., Gholami, L. and Kiarostami, Kh., 2014. The effect of basal media and hormonal treatment on Damask rose (*Rosa damascene* Mill.) micropropagation. Journal of Plant Researches, 27(1): 121-129.
- Gudin, S., 2000. Rose: genetics and breeding. Plant Breeding Reviews, 17: 159-189.
- 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.
- Horn, W., 1992. Micropropagation of roses: 320-342. In: Bajaj, Y.P.S., (Ed.). Biotechnology in Agriculture and Forestry Vol. 20, High-Tech and Micropropagation IV. Springer-Verlag, Germany. 517p.
- Jabbarzadeh, Z., 2003. Effective factors on micropropagation of Damask rose. M.Sc. Thesis, Shiraz University, Shiraz, Iran.
- Jabbarzadeh, Z. and Khush-Khui, M., 2005. Factor affecting tissue culture of damask Rose (*Rosa damascena* Mill.). Scientia Horticulturae, 105: 475-482.
- Kafi, M., Nikbakht, A., Babalar, M. and Mir-Masoumi, M., 2004. Effect of plant growth regulators on growth indexes of Damascena Rose in *in vitro* conditions. Iranian Journal of Horticultural Science and Technology, 5(3): 157-166.
- Khosh-Khui, M. and Sink, K.C., 1982a. Callus induction and culture of *Rosa*. Scientia Horticulturae, 17: 361-370.
- Khosh-Khui, M. and Sink, K.C., 1982b. Micropropagation of new and old world rose species. Journal of Horticultural Science, 57: 315-319.
- Kornova, K.M. and Michailova, J., 1994. Study of the *in vitro* rooting of Kazanlak oil bearing rose (*Rosa damascene* Mill.). Journal of Essential Oil Research, 6(5): 485-492.
- 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 *Rhynchostylis retusa* L. The Journal of Horticulture Science and Biotechnology, 78(6): 786-792.
- Kumar, A., Sood, A., Palni, U.T., Gupta, A.K. and Palni, L.M., 2001; Micropropagation of *Rosa damascena* Mill. from mature bushes using tidiazuron. The Journal of Horticulture Science and Biotechnology, 1: 30-34.
- Kumar, P., Prasad, S., Sharma, M., Sood, A. and Ahuja, S., 2006. In vitro propagation of rose a review. Biotechnology Advances, 24: 94-114.
- Mahmood, N., Piacente, S., Pizza, C., Barke, A., Khan, I.A. and Haj, A.J., 1996. The anti-HIV activity and mechanisms of action of puru compounds isolated from *Rosa damascena*. Biochemical and Biophysical Research Communications, 229: 73-79.
- Pati, P.K., Rath, S.P., Sharma, M. and Ahuja, P.S. 2005. Micropropagation, protoplast culture and its implications in the improvement of scented rose. Acta Horticulturae, 547: 147-158.
- Pati, P.K., Rath, S.P., Sharma, M., Sood, A. and Ahuja, P.S., 2006. *In vitro* propagation of rose-a review. Biotechnology Advances, 24(1): 94-114.
- Rout, G.R., Samantaray, S., Mottley, J. and Das, P., 1999. Biotechnology of the rose: a review of recent progress. Scientia Horticulturae, 81: 201-228.
- Shirdel, M., Motallebi-Azar, A., Matloobi, M. and Zaare-Nahandi, F., 2013. Effects of nodal position and growth regulators on *in vitro* growth of Dog Rose (*Rosa canina*). Journal of Ornamental and Horticultural Plants, 3(1): 9-17.
- Van der salm, T.P.M., Van der torn, C.J.G. and Hanischtencate, C.H., 1994. Importance of iron chelate formula for micropropagation of *Rosa hybrid* L. money way. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 37: 73-77.
- Weijers, D. and Ju¨rgens, G., 2004. Funneling auxin action: specificity in signal transduction. Current Opinion in Plant Biology, 7: 687-693.

Optimizing the propagation of Damask rose (*Rosa damascena* Mill.) rootstocks under *in vitro* conditions

A. Saremi-rad[1*] and A. Mmohammadi[2]

1*- Corresponding author, Ph.D. student, Department of Agronomy and Plant Breeding, Young Researchers and Elite Club, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran, E-mail: Asaremirad@gmail.com
2- Department of Agronomy and Plant Breeding, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran

Received: December 2019 Revised: April 2020 Accepted: June 2020

Abstract

Damask rose (*Rosa damascena* Mill.) is one of the most important plants in the pharmaceutical and perfumery industry. The present study was carried out to achieve an efficient and effective regeneration instruction for use in breeding programs under laboratory conditions of this economically valuable plant. For this purpose, two damask rose genotypes were used in MS and WPM media. In the proliferation stage, the effect of growth regulator 6-benzylaminopurine (BAP) at six levels of 0 (control), 1, 2, 3, 4 and 5 $mg.l^{-1}$, and in the rooting stage, the effect of growth regulator indole-3-butyric acid (IBA) at five levels of 0 (control), 0.01, 0.05, 0.1 and 0.2 $mg.l^{-1}$ were investigated. Based on the ANOVA results of proliferation data, genotypes Kashan in MS medium (2.72) and Isfahan in the WPM medium (2.50) had the highest number of shoots. The highest amount of shooting was obtained in MS medium containing 5 $mg.l^{-1}$ BAP. Genotype Kashan in MS medium containing 5 $mg.l^{-1}$ BAP had the highest mean shoot length (2.93 cm). In terms of shoots fresh weight, genotype Isfahan had the highest weight in the WPM medium containing 5 $mg.l^{-1}$ BAP. The interaction effect of genotype × medium × BAP on dry weight was not significant. The highest number and mean root length in both genotypes Isfahan and Kashan were observed in the WPM medium containing 0.2 $mg.l^{-1}$ IBA. Rooted shoots were transferred to the pots containing a mixture of horticultural soil, peat, and perlite with the same volume ratio (1: 1: 1), and based on observation, the survival coefficient was more than 80%.

Keywords: Micro Propagation, Damask Rose (*Rosa damascena* Mill.), 6-benzylaminopurine, indole-3-butyric acid.