جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

پژوهش و سازندگی
شماره ۷۲، پاییز ۱۳۸۵
در زراعت و باغبانی

اثر محیط کشت و تنظیم کننده‌های رشد بر تکثیر درون شیشه‌ای گل‌محمدی (*Rosa damascena* Mill.)

• **محمدحسن عصاره**، عضو هیأت علمی مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، تهران
• **مه لقا قربانلی**، عضو هیأت علمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان
• **بهاره الهوردی ممقانی**، دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه پیام نور تهران
• **عباس قمری زارع**، عضو هیأت علمی مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، تهران و
• **شکوفه شهرزاد**، کارشناس مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، تهران

تاریخ دریافت: آبان‌ماه ۱۳۸۴ تاریخ پذیرش: اسفندماه ۱۳۸۵

Email: asareh@rifr-ac.ir

چکیده

از نظر اقتصادی گل‌محمدی مهمترین گیاه دارویی و معطر ایران است ریزازدیادی این گیاه از نظر ایجاد گلستان‌هایی با درصد مشخصی از ماده موثره و همچنین در برنامه‌های اصلاحی از اهمیت زیادی برخوردار است. بنابراین به منظور بررسی تکثیر درون شیشه‌ای گل‌محمدی اثر دو محیط کشت MS و WPM، همچنین غلظت‌های متفاوت سیتوکینین‌های BAP و TDZ و اکسین شامل IBA و IAA بر تکثیر درون شیشه‌ای گل‌محمدی مورد آزمایش قرار گرفت. نتایج حاصل از سترون‌سازی ریزنمونه‌ها نشان داد که بهترین زمان نمونه‌گیری تابستان و پاییز است. در فصل تابستان و پاییز بهترین تیمار سترون‌سازی استفاده از کلرید مرکوریک ۰/۱٪ به مدت زمان ۵ دقیقه بود. در مرحله شاخه‌زایی محیط کشت MS بر WPM برتری داشت.بهترین ترکیب تنظیم‌کننده رشد، BAP با غلظت ۵ میلی‌گرم در لیتر و TDZ با غلظت ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر بود. در صورتی که استفاده از هورمون‌های IAA و IBA با غلظت‌های متفاوت تاثیری کمی بر شاخه‌زایی داشتند. این تحقیق روش ریز ازدیادی شاخه گل‌محمدی از طریق کشت بافت و با ضریب ازدیاد ۵/۹ را از جوانه‌های شاخه ارائه نمود.

کلمات کلیدی: TDZ، ضریب ازدیاد، تکثیر درون شیشه‌ای شاخه و گل محمدی (Rosa damascena Mill.)

Pajouhesh & Sazandegi No:72 pp: 45-57

Effects of culture media and plant growth regulators on *in vitro* shoot proliferation of Damask rose(*Rosa damascena* Mill.)

By: M.H. Assareh,Research Institute of Forests and Ranglands, Tehran, Iran., M. Ghorbanli,Scientific Board Member of Gorgan Azad Islamic University, Gorgan, Iran., B. Allahverdi Mamaghani.,Master of Science Student of Payame Noor University, Tehran, Iran. A. Ghamari Zare,Research Institute of Forests and Ranglands, Tehran, Iran.and S. Shahrzad,Research Institute of Forests and Ranglands, Tehran, Iran.

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

Damask rose is the most important medicinal and aromatic plant from economical point of view. Micropropagation of theis species is important for orchard establishment with known amount of essential oil and for breeding purposes. Therefore, effects of basic culture media (MS and WPM) and different concentrations of cytokinin and auxin hormones on *in vitro* propagation of Damask rose were investigated. Summer and Autumn were the best time to Collect explant. The most proper sterilization method was using cholorid mercuric 0.1% solution for five minutes. All explants were sterilized with above described method. Shoot proliferation was superior on MS than in WPM media. The best growth regulator combination were 5 and 0.1 mgl^{-1} respectively. IAA and IBA had less effect on shoot proliferation. This research developed the method of shoot proliferation with 5.9 multiplication rate in Damask rose through auxillary buds.

Key words: TDZ, Multiplication rate, *in vitro* shoot propagation , *Rosa damascena* Mill.

مقدمه

گل‌محمدی متعلق به جنس Rosa و از خانواده Rosaceae است. این گونه یکی از مهمترین رزهای معطر است که در ایران، هند، ترکیه، بلغارستان و در برخی از کشورهای شمال آفریقا کشت می‌شود (۱۹). در گلبرگ‌های آن محل ساخت و ذخیره بوده اسانس که ماده اصلی صنایع عطرسازی و آرایشی است (۱۲). از نظر پزشکی این اسانس دارای خاصیت تقویت اعصاب است که برای درمان افسردگی و اضطراب به کار می‌رود. عصاره محلول در آب و متانول آن دارای فعالیت ضد ویروس HIV است و از فعالیت پروتئازهای ویروسی جلوگیری می‌کند (۱۶). اسانس، گلاب و گل خشک از محصولاتی است که علاوه بر مصرف داخل کشور به خارج از کشور نیز صادر می‌گردد (۱). به‌علاوه غنچه خشک شده گل‌محمدی طرفداران زیادی در خارج از کشور دارد. این گونه از سالیان دور در مناطق مختلف کشور کشت و کار می‌شود و از ایران به‌عنوان منشا این گیاه یاد شده است (۶) اما از آنجا که برای اولین بار از دمشق به اروپا رفته است رز دمشقی نام گرفته است (۸). با توجه به بومی بودن این گونه و اهمیت اقتصادی آن در ایران نیاز به پرورش و توسعه گل‌محمدی در کشور وجود دارد. تکثیر گل‌محمدی با استفاده از روش‌های معمول ازدیاد غیرجنسی همچون قلمه و پاجوش به دلیل مشکل بودن پرآوری ریشه‌های نابجا و زمانبر بودن آن به سختی صورت می‌گیرد. استفاده از تکنیک کشت بافت و ریزازدیادی روش جایگزینی برای تکثیر ژنوتیپ‌های برتر گل‌محمدی است. از طریق این روش انتقال ویژگی‌های ارزشمند ژنتیکی به صورت دست نخورده به نسل‌های بعدی امکان‌پذیر است (۲).

مروری بر مطالعات گذشته نشان می‌دهد که بیشتر کارهای انجام شده در زمینه تکثیر درون شیشه‌ای، بر روی ارقام زینتی رزها انجام شده است. Kumar اثر TDZ[1] و BAP[2] را در تکثیر درون شیشه‌ای گل‌محمدی بررسی کرد و نشان داد که ریزقلمه‌هایی که در محیط حاوی TDZ رشد کرده‌اند به آسانی ریشه‌دار می‌شوند(۱۳). همین محقق اثر عامل ژله‌ای کننده[3] و نور را در ریزازدیادی گل‌محمدی بررسی کرد و نشان داد که افزایش رشد و تکثیر شاخه در محیط حاوی فیتاژل و اشعه فعال فتوسنتزی (PAR)[4] بهتر انجام گرفت(۱۴) Jabbarzadeh Khoush-khui نشان دادند که محیط کشت MS[5] همراه با ۳-۲/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر IBA[6] مناسب‌ترین تیمار برای پرآوری شاخه در گل‌محمدی است(۱۱). کافی و همکاران نشان دادند که غلظت ۲-۱ میلی‌گرم در لیتر BAP همراه با ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر NAA[7] و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر GA_3[8] برای رقم قمصر و بدون حضور NAA برای رقم آذران و در محیط کشت MS بهترین تیمار بودند(۳). در این پژوهش نوع محیط کشت و اثر تنظیم کننده‌های رشد بر تکثیر درون شیشه‌ای گل‌محمدی مورد بررسی قرار می‌گیرد.

مواد و روش‌ها

تک گره‌های حاوی جوانه جانبی از پایه‌های بالغ گل‌محمدی ژنوتیپ M6 (پیشتر نهال‌های آن از قمصر کاشان جمع‌آوری شده است.) از مزرعه تحقیقاتی گل‌محمدی موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع، واقع در شمال غرب تهران با طول جغرافیایی ۵۱ درجه و ۱۰ دقیقه شرقی، عرض جغرافیایی ۳۵ درجه و ۴۴ دقیقه شمالی و ارتفاع ۱۳۲۰ متر از سطح دریا جمع‌آوری شد (۱).

پیش سترون‌سازی با قرار دادن ریزنمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در محلول آب و مایع ظرفشویی و سپس قراردادن آنها به مدت یک ساعت در زیر آب جاری انجام شد. آنگاه ریزنمونه‌ها[9] با الکل ۷۰ درصد و به مدت ۳۰ ثانیه استریل شدند. سترون‌سازی در زیر هود و تحت شرایط استریل صورت گرفت. بر حسب فصل نمونه‌گیری ابتدا از هیپوکلرید سدیم ۲۵٪ و پس از آن با افزایش میزان آلودگی از کلرید مرکوریک ۰/۱٪ و در زمان‌های متفاوت (۱، ۴ و ۵ دقیقه) استفاده شد. پس از آن ریزنمونه‌ها سه بار با آب مقطر استریل شسته شدند. هر ریزنمونه که حاوی یک جوانه جانبی بود در شیشه‌های کوچک محتوی ۱۰ میلی‌لیتر محیط کشت کاشته شد. بعد از مرحله استقرار شاخه‌های تولید شده به شیشه‌های حاوی ۵۰ میلی‌لیتر محیط کشت منتقل گردیدند. ابتدا در آزمایشات اولیه اثر محیط کشت پایه MS و محیط کشت (۱۶) WPM همراه با هورمون‌های BAP با غلظت‌های (۱/۵، ۲/۵ و ۵ میلی‌گرم در لیتر) و IBA (۰/۱میلی‌گرم در لیتر) بر ضریب ازدیاد (تعداد شاخه تقسیم بر تعداد ریزنمونه)، طول شاخه، درصد برگ سبز و زرد بررسی شد. سپس بهترین تیمار، محیط کشت MS همراه با ۵ میلی‌گرم در لیتر BAP انتخاب گردید و اثر تنظیم کننده‌های رشد TDZ (۰/۱ و ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر)، IAA (۰/۱ و ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر)

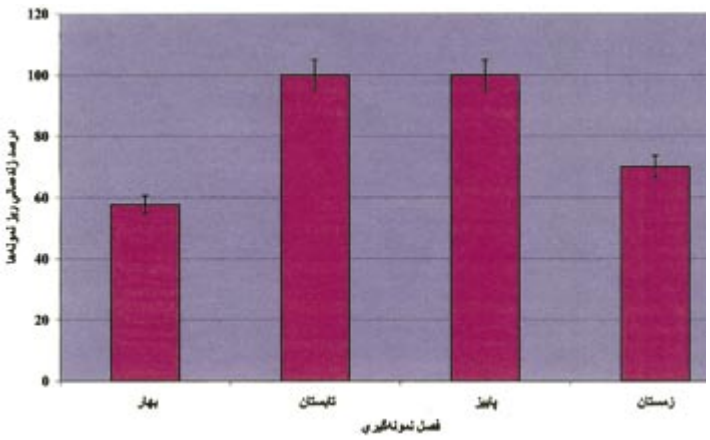
جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

و IBA (۰/۱ و ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر) ضریب ازدیاد، طول شاخه، وزن‌تر، وزن خشک، درصد برگ سبز، زرد و نکروزه بررسی شد. pH محیط کشت بین ۵/۸-۵/۷ تنظیم گردید ظروف 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. بازکشت نمونه‌ها هر چهار هفته یک بار انجام شد. تیمارهای محیط کشت MS و WPM همراه با تیمارهای تنظیم‌کننده رشد شامل BAP با (۱/۵، ۲/۵ و ۵ میلی‌گرم در لیتر) در قالب طرح کرت‌های خرد شده (Split plot) با طرح پایه بلوک‌های کاملاً تصادفی و تیمارهای تنظیم‌کننده رشد به تنهایی شامل TDZ (۰/۱ و ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر)، IAA (۰/۱ و ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر) و IBA (۰/۱ و ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر) در قالب طرح پایه بلوک‌های کاملاً تصادفی انجام گرفت. کلیه تیمارها در سه تکرار و هر تکرار با ۵ ریزنمونه اجرا شد. تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS و آزمون چند دامنه‌ای دانکن و رسم نمودارها با نرم‌افزار Excel انجام گرفت.

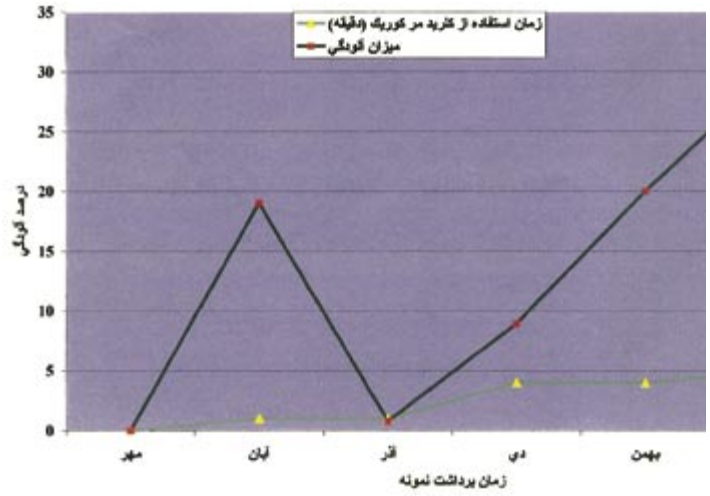
نتایج

مرحله استقرار: مهمترین آلودگی ریزنمونه‌های گل‌محمدی آلودگی باکتریایی بود که به صورت ترشحات شیری رنگ از قاعده ریزنمونه ترشح می‌شود. استفاده از هیپوکلرید سدیم ۲۵٪ به مدت ۱۰ دقیقه و کلرید جیوه ۰/۱٪ در زمان‌های (۱/۵، ۴ و ۵ دقیقه) در فصل پاییز و زمستان نشان داد که هرچه زمان سپری می‌شد، میزان آلودگی حتی با افزایش زمان استفاده از کلرید مرکوریک افزایش یافت. در اوایل پاییز ۱۰۰٪ ریزنمونه‌ها فاقد آلودگی بودند، در حالی که در اواخر زمستان میزان آلودگی تا ۳۰ درصد افزایش یافت (نمودار ۱). نتایج حاصل از فصل نمونه‌گیری در میزان آلودگی ریزنمونه‌ها نشان داد که استفاده از کلرید مرکوریک ۰/۱٪ به مدت ۵ دقیقه در فصل تابستان و پاییز منجر به استقرار کلیه ریزنمونه‌ها شد. در حالی که دربهار ۵۷/۶۹٪ و در زمستان ۷۰٪ ریزنمونه‌ها بدون آلودگی بودند (نمودار ۲).

مرحله شاخه‌زایی: در این پژوهش اثر محیط کشت و تنظیم کننده‌های رشد بر شاخه‌زایی گل‌محمدی مورد بررسی قرارگرفتند. در مرحله شاخه‌زایی از دو محیط کشت MS و WPM و سه نوع ترکیب هورمونی شامل ۵، ۲/۵ و ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP استفاده شد. اگر چه در کلیه تیمارهای فوق تفاوت معنی‌داری از نظر ضریب ازدیاد مشاهده نشد (a=۰/۰۱) (جدول ۱)، لیکن محیط کشت MS پایه همراه با ۵ میلی‌گرم در لیتر BAP بیشترین درصد برگ سبز و



نمودار ۱: بررسی رابطه بین زمان نمونه‌گیری و تیمار استریل بر میزان آلودگی ریزنمونه‌ها در ژنوتیپ M6



نمودار ۲: درصد استقرار ریزنمونه‌ها بر حسب فصل نمونه‌گیری در ژنوتیپ M6

جدول ۱: تجزیه واریانس اثر محیط کشت بر صفات مورد مطالعه در ژنوتیپ M6

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		ضریب ازدیاد	رشد طولی (سانتیمتر)	درصد برگ سبز	درصد برگ زرد
تیمار	۵	۰/۲ ns	۰/۲۶**	۸۷۳/۴۸**	۹۸۳/۱۴**
ضریب تغییرات		۳۰/۰۲	۱۳/۸۲	۱۳/۹۷	۵۲/۷۶

*، ** و ns به ترتیب نشان دهنده معنی‌دار بودن در سطح ۵٪، ۱٪ و معنی‌دار نبودن می‌باشد.

جدول ۲: مقایسه میانگین ضریب ازدیاد، رشد طولی، درصد برگ سبز و درصد بزگ زرد تحت تاثیر محیط کشت و هورمون در ژنوتیپ M۶

محیط	ضریب ازدیاد	رشد طولی (سانتیمتر)	درصد برگ سبز	درصد برگ زرد
MS+BAP (۵mgl⁻¹)+ IBA ۰/۱ (mgl⁻¹)	۱/۶۶a	۱/۲۴c	۹۷/۳۳a	۲/۶۶b
Ms+BAP (۲/۵ mgl⁻¹)	۱/۴۶a	۱/۴۴bc	۸۸/۵۷ab	۳/۶۴b
MS+BAP (۱/۵ mgl⁻¹)+2iP (۱mgl⁻¹)	۱/۳a	۱/۴۴a	۸۷/۷۸ab	۱۲/۹b
WPM+BAP (۵ mgl⁻¹)	۱/۵۳a	۱/۳۸bc	۸۷/۹۵ab	۱۱/۹۹b
WPM+BAP (۲,۵mgl⁻¹)	۱/۲a	۱/۷۷a	۵۱/۷۳c	۴۸/۲۷a
WPM+BAP (۱/۵ mgl⁻¹)+2iP (۱ mgl⁻¹)	۱/۴۶a	۱/۲۲c	۶۷/۳۹bc	۳۲/۶a

در کلیه تیمارها از ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر IBA استفاده شده است. حروف مشابه در هر ستون بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد

جدول ۳: تجریه واریانس اثرمتقابل اکسین و TDZ بر صفات مورد مطالعه در ژنوتیپ M۶

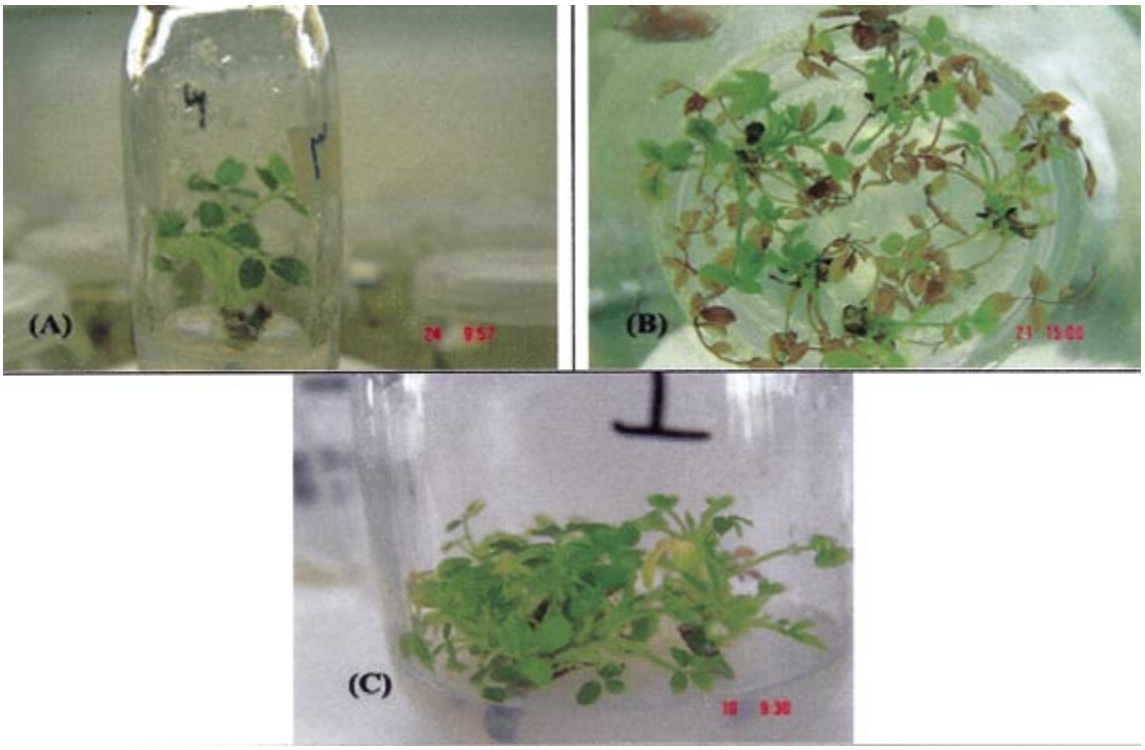
منبع تغییرات	درجه‌آزادی	میانگین مربعات					
		ضریب‌ازدیاد	رشد طولی (سانتیمتر)	درصد برگ سبز	درصد برگ نکروزه	وزن تر (گرم)	وزن خشک (گرم)
تیمار	۷	۱/۰۹^{ns}	۰/۰۴^{ns}	۲۴۲/۳۴^{ns}	۳۱۸/۳۹^{ns}	۰/۰۱^{ns}	۰/۰۰۰۸^{ns}
تکرار	۲	۰/۶^{ns}	۰/۰۰۳^{ns}	۶۶/۷۲^{ns}	۷۳/۹۸^{ns}	۰/۰۱۷^{ns}	۰/۰۰۰۰۶^{ns}
ضریب تغییرات		۲۰/۳۱	۱۱/۰۹	۲۱/۱۶	۴۶/۹۹	۱۳/۱۰	۴/۷۴

*، ** و ns به ترتیب نشان دهنده معنی‌دار بودن در سطح ۵٪ ، ۱٪ و معنی‌دار نبودن می‌باشد.

جدول ۴: بررسی اثر متقابل اکسین و TDZ بر میانگین صفات مورد مطالعه در ژنوتیپ M۶

تیمار	۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر TDZ				۰/۰۱ میلی‌گرم بر لیتر TDZ			
	IBA (میلی‌گرم بر لیتر)		IAA (میلی‌گرم بر لیتر)		IBA (میلی‌گرم بر لیتر)		IAA (میلی‌گرم بر لیتر)	
	۰/۱	۰/۵	۰/۱	۰/۵	۰/۱	۰/۵	۰/۱	۰/۵
ضریب ازدیاد	۵/۹a	۵ab	۵/۲ab	۴/۴ab	۵/۱ab	۵/۴ab	۴/۶ab	۳/۷b
رشد طولی (سانتیمتر)	۱/۱۱c	۱/۲۳bc	۱/۳۶abc	۱/۳۴abc	۱/۳۳abc	۱/۴۷ab	۱/۳۶abc	۱/۵۵a
درصد برگ سبز	۸۳/۳۷a	۶۵/۸۳a	۶۰/۸۹a	۶۵/۶۲a	۶۵/۶۲a	۶۸/۶۵a	۶۹/۲۰a	۵۳/۶۹a
درصد برگ نکروزه	۴/۰۷c	۲۵/۹۵abc	۲۷/۸۵ab	۳۰/۳۱ab	۳۰/۳۱ab	۲۴/۲abc	۲۲/۴۷abc	۴۳/۳۹a
وزن تر (گرم)	۱/۸۳a	۱/۷۶a	۱/۷۸a	۱/۷۲a	۱/۷۲a	۱/۸۵a	۱/۸۲a	۱/۴۴a
وزن خشک (گرم)	۰/۳۴a	۰/۳۳a	۰/۳۲a	۰/۳۶a	۰/۳۱a	۰/۳۳a	۰/۳۱a	۰/۳۵a

حروف مشابه در هر ستون بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد. در کلیه تیمارها از ۵میلی‌گرم در لیتر BAP استفاده شده است.



شکل ۱:A : محیط کشت استقرار، B: محیط کشت C، WPM محیط کشت MS

کمترین درصد برگ نکروزه را نشان داد. مقایسه میانگین صفات نشان داد که از نظر رشد طولی محیط کشت MS حاوی ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۱ میلی‌گرم در لیتر 2iP بهترین بود (جدول ۲). افزایش زمان باز کشت منجر به کاهش کیفیت ریزنمونه‌ها (شامل نکروزه شدن جوانه انتهایی و برگ‌ها) در محیط کشت WPM شد در حالی‌که در محیط کشت MS ریزنمونه‌ها از کیفیت بهتری بر خوردار بودند. بنابراین محیط کشت MS به عنوان محیط پایه انتخاب گردید (شکل ۳). همچنین در آزمایشات مشاهداتی مقدماتی هورمون سیتوکینینی TDZ به همراه BAP اثر مطلوبی در افزایش ضریب ازدیاد داشت، لذا در آزمایشات اصلی مقادیر مختلف TDZ در دو سطح (۰/۱و ۰/۰۱) و IBA و IAA هر یک در دو سطح (۰/۱ و ۰/۵)و جمعاً ۸ تیمار هورمونی (جدول ۴) بر ضریب ازدیاد، رشد طولی، درصد برگ سبز، درصد برگ نکروزه، وزن‌تر و وزن خشک ریزنمونه بررسی شد. گرچه در کل اختلاف معنی‌داری در بین ۸ تیمار مذکور در صفات مورد مطالعه مشاهده نگردید (جدول ۳) لیکن هورمون‌ها اثرات متفاوتی بر صفات مذکور داشتند. بیشترین ضریب ازدیاد (۵/۹) در غلظت ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر TDZ و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر IBA مشاهده شد و کمترین ضریب ازدیاد (۳/۷) در تیمار ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر TDZ و ۰/۵میلی‌گرم در لیتر IAa بود. از نظر رشد طولی بیشترین طول شاخه در غلظت ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر TDZ همراه با ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر IAa به دست آمد و کمترین طول شاخه در غلظت ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر TDZ و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر IBA بود. کمترین درصد برگ نکروزه در غلظت ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر TDZ و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر IBA و بیشترین درصد برگ نکروزه در غلظت ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر TDZ همراه با ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر IAA مشاهده شد. از نظر درصد برگ سبز، وزن تر و وزن خشک تفاوتی در بین تیمارها مشاهده نشد (جدول ۴).

بحث

بهترین شاخه‌زایی ارقام مختلف رز در محیط کشت MS استاندارد گزارش گردید (۷). در این تحقیق نیز محیط کشت MS بر محیط کشت WPM برتری داشت (جدول‌های ۱ و ۲) (شکل ۱- B و C) که می‌توان آن را ناشی از بالاتر بودن قدرت یونی محیط کشت MS نسبت به WPM دانست. همچنین میزان یون نیترات در محیط کشت MS بیشتر از محیط کشت WPM است. Van der salm و همکاران (۲۵) نشان دادند گرچه شاخه‌های گونه *R. multiflora* در محیط WPM رشد می‌کنند ولی نسبت به محیط کشت MS از نمو کمتری برخوردارند. آنها نشان دادند که رشد سریع شاخه‌ها وابسته به غلظت نیترات است.

تک گره‌های حاوی جوانه جانبی در مرحله استقرار در محیط کشت MS حاوی هورمون‌های BAP و IBA بعد از یک هفته شروع به رشد کرده و پس از چهار هفته یک شاخه شامل چند برگ تولید کردند (شکل ۱-A). پس از بازکشت نمونه‌ها و انتقال به محیط جدید برگ‌های اولیه نکروزه شدند و شاخه‌های جدید تشکیل گردیدند. که نشان دهنده تشکیل پریموردیوم‌های جدید شاخه تحت تاثیر هورمون‌های محیط کشت است. غلظت ۵-۱/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP همراه با ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر IBA منجر به سبز شدن جوانه جانبی و تکثیر بعدی در شرایط

شکل ۲: اثر TDZ در فعال کردن جوانه‌های جانبی

درون شیشه شد. Hasegawa گزارش کرد که BAP با غلظت ۱۰-۱ میلی‌گرم در لیتر برای شکست جوانه و تکثیر شاخه در ارقام مختلف *R. hybrida* ضروری است(۹). Carelli و Echeuerrigaray نشان دادند که تعداد شاخه با افزودن غلظت BAP در محیط کشت افزایش می‌یابد(۵). هیچگونه آثاری از شیشه‌ای شدن و بد شکلی با افزایش میزان BAP در نمونه‌ها مشاهده نشد که با نتایج Arnold و همکاران (۴) مطابقت دارد. استفاده از TDZ در غلظت‌های پایین و همراه با BAP منجر به فعال شدن خروج جوانه جانبی و افزایش قطر ساقه در نمونه‌ها شد (شکل ۲). ترکیب TDZ همراه با BAP منجر به پرآوری شاخه جانبی در *Pyrus communis* L، *Fraxinus Americana* L، *Acer fremanii* و *Vitis rotundifolia* شد (۱۰). بیشترین ضریب ازدیاد در سطوح بالا (۰/۱ میلی‌گرم در لیتر) بدست آمد (جدول ۴). Rosu و همکاران نشان دادند که بیشترین میانگین تعداد شاخه در *R. multiflora* و به ازای هر بازکشت در سطوح حد واسط و بالا (۱ و ۱/۵ میکرومول) مشاهده شد(۲۰). غلظت‌های خیلی کم TDZ پرآوری شاخه جانبی را در گیاهان چوبی تحریک می‌کند. Huettman و Preece پیشنهاد کردند که مولکول‌های گیرنده TDZ میل ترکیبی بالایی به این هورمون دارند(۱۰).

نتایج این تحقیق نشان داد که تکثیر درون شیشه‌ای شاخه گل‌محمدی با استفاده از اثرات متقابل هورمون‌های سیتوکینینی TDZ وBAP با ضریب ازدیاد ۵/۹ قابل توجه است و تولید گیاهچه‌های گل‌محمدی از طریق کشت بافت امکان‌پذیر است.

پاورقی‌ها

1- Tidiazouron
2- 6-benzylaminopurine
3- Gelling agent
4- Photosynthetic Active Radiation
5-Murashige and Skoog medium
6- Indol butyricacid
7- Naphthalene acetic acid
8- Gibberlic acid
9-Micropropagation
10- Explants

منابع مورد استفاده

۱- طبایی عقدایی، س. ر. رضایی، م. ب. و جبلی، م. ۱۳۸۳؛ بررسی عملکرد گل و صفات مورفولوژیکی در تعدادی از ژنوتیپ‌های گیاه *Rosa damascena* Mill. فصلنامه پژوهشی گیاهان دارویی و معطر ایران، ۲۰: ۱۲۲-۱۱۱.

۲- عصاره، م.ح. ۱۳۷۹؛ بررسی جنین‌زایی بدنی در برخی از گونه‌های اکالیپتوس. فصلنامه پژوهشی تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران، (۳)، ص. ۱۱-۱.

۳- کافی، م. نیکبخت، ع. بابالار، م. و میرمعصومی، م. ۱۳۸۳؛ اثر تنظیم کننده‌های رشد گیاهی بر شاخص‌های رشدی گل‌محمدی در شرایط درون شیشه‌ای. مجله

علوم و فنون باغبانی جلد ۵، شماره۳، ص. ۱۶۶-۱۵۷.
4-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.
5- Carelli, B.P. and Echeuerrigaray, S. 2002; An improvement system for the *in vitro* propagation of rose cultivar. Scientia Horticulture, 92: 69-74.
6-Chevallier, A. 1996; The Encyclopedia of medicinal plant. Dorling Kindersely, London, pp. 336.
7- Davis, D.R. 1980; Rapid propagation of roses *in vitro*. Scientia Horticulture, 13: 385-389.
8-Gault, M.P. and Synge, M. 1971; The Dictionary of roses in colour. Rainbird refrense book, London, pp. 191.
9- 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.
10-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.
11- Jabbarzadeh, Z. and Khush-Khui, M. .2005; Factor affecting tissue culture of Damask Rose (*Rosa damascena* Mill.), 105:475-482.
12-Kornova, K.M. and Michailova, J. 1994; Study of *in vitro* rooting of Kazanlak oil-Bearing *Rosa damascena* Mill.). Journal of Essential oil Research, 6: 485-492.
13-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.
14-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.
15-Mahmood, N., Piacente, S., Pizza, C., Burke, A., Khan, A.I. and Hay, A.J. 1996; The anti-HIV activity and mechanisms of action of pure compounds isolated from *Rosa damascena* Mill. Biochemistry and Biophysics Research Communication, 229 (1): 73-79.
16-Mc Cown, B.H. and Sellmer, J.C. 1982; Media and physical environment 4-17. In: Bonga and Durzoon, D.J, Cell and Tissue Culture in Forestry. Vol. 1, General Principle and Biotechnology. Martinus Nijh of Publishers, Pordrecht, 422.
17-Murashige, T. and Skoog, F. 1962; Revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. Physiologia Plantarum, 15: 473-479.
18-Rosu, A.R.M., Skirvin, B.A., Kushad, N.M.A. and Otierbacher, M. A.G. 1995; The development of putative adventitious shoots from chimeral thornless rose (*Rosa multiflra* Thunbexjmur). Journal of Horticulture Science, 70 (6): 901-907.
19-Steen, N., 1966; The Charm of old roses. Kyodo Printing Co. LT.
20 -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 hybridaL. Money Way. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 37: 73-77.