مجله علمی ـ پژوهشی زیست‌فناوری گیاهان زراعی
سال هفتم، شماره هیجدهم، تابستان ۱۳۹۶ (۹۳-۱۰۲)

Crop Biotech.
Summer (2017) 18: 93-102.

ریزازدیادی *Rosa canina* با استفاده از مریستم جانبی

ابراهیم بیرامی‌زاده[۱]، رقیه زارعی[۲]، زهره حاجی‌برات[۳]، زهرا حاجی‌برات[۳]، عباس سعیدی[۳*]

۱. موسسه ملی گیاهان زینتی (NIOP)، تحقیقات علوم باغبانی، تحقیقات کشاورزی، آموزش و توسعه، محلات

۲. گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

۳. گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده علوم و فناوری زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۲/٤ - تاریخ تصویب: ۱۳۹٦/٦/۱۱)

Micropropagation of *Rosa canina* Through Axillary bud

Ebrahym Beiramizadeh [1], Roghayeh Zarei[2], Zohreh Hajibarat[3], Zahra Hajibarat[3], Abbas Saeidi[3*]

1. National Insititute of Ornamental Plants (NIOP), Research Horticultural Science, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Mahllat. Iran
2. Department of Biology, Payame Noor University, Tehran, Iran
3. Department of Plant Sciences and Biotechnology, Faculty of Life Sciences and Biotechnology, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran.

(Received: Feb. 23, 2017 - Accepted: Sep. 2, 2017)

چکیده

شیوه کشت درون شیشه‌ای روش مناسبی برای تکثیر رقم‌های تجاری گل سرخ با یکنواختی بسیار بالا و عاری از بیماری می‌باشد، امروزه به عنوان راه‌گشای مطلوبی در جهت اصلاح از طریق دست‌ورزی ژنتیکی به‌شمار می‌رود. در این مطالعه قابلیت ساقه‌زایی و ریشه‌زایی نسترن در شرایط درون شیشه‌ای بررسی گردید. از جوانه‌های جانبی به عنوان ریز نمونه کشت استفاده شد. آزمایش ساقه‌زایی با استفاده از فاکتوریل بر پایه طرح کاملا تصادفی انجام شد. محیط کشت مورد استفاده در مرحله ساقه زایی غلظت‌های مختلف تنظیم کننده‌های کینتین (۰،۰/۵ میلی‌گرم در لیتر) و بنزوئیک اسید (۰/۵-۱-۱/۵-۲ میلی گرم در لیتر) بود. تجزیه واریانس برای صفات تعداد شاخساره و طول گیاهچه در سطح ۱٪ اختلاف معنی‌داری را نشان دادند. بیشترین تعداد شاخساره با غلظت‌های تنظیم کننده رشد (۱ میلی‌گرم در لیتر) بنزوئیک اسید همراه با (۰/۵ میلی‌گرم در لیتر) کینتین مشاهده شد. بیشترین طول گیاهچه با استفاده از تنظیم‌کننده-های رشد (۰/۵ میلی‌گرم در لیتر) BA و همراه با (۰/۵ میلی‌گرم در لیتر) Kin به‌دست آمد. صفات تعداد ریشه، نسبت تعداد ریشه/طول ریشه و طول ریشه تفاوت معنی‌داری را در پاسخ به تیمارهای مختلف ریشه زایی نشان دادند. علاوه بر این، بهترین تیمار ریشه‌زایی در غلظت میلی گرم در لیتر ۱/۲ ایزوبنزوئیک اسید به‌دست آمد. تمامی گیاهچه‌ها سازگار شده و به گلخانه تجاری رز منتقل گردید.

واژه‌های کلیدی: نسترن، ریزازدیادی، جوانه جانبی، ریشه‌زایی.

Abstract

In vitro propagation has proven a suitable method for mass multiplication of uniform and diseases-free plants and acts as a new tool for modern breeding through genetic manipulation. This experiment was conducted to study the in vitro effects of growth regulators on proliferation and rooting ability of *Rosa canina*. Auxiliary buds were used as explant in this experiment. The stem formation was tested using completely randomized factorial design. MS medium for shoot proliferation was supplemented with various concentrations of BA (0.5, 1, 1.5, 2 mgl^{-1}) and Kin (0, 0.5 mgl^{-1}). Analysis of variance showed that shoot number and shoot height were highly significant at 1% level. The most shoot proliferation was observed at 1 mgl^{-1} BA with 0.5 mgl^{-1} Kin. Maximum plantlet length was obtained with 0.5mgl^{-1} BA and 0.5mgl^{-1} Kin in combination. Number of roots, ratio of root number to root length and root length showed statistically significant difference in response to different root induction treatments. Furthermore, best root regeneration was obtained at 1.2 mgl^{-1} IBA in *R. canina*. All hardened plantlets were transferred to commercial rose greenhouse.

Keywords: *Rosa canina*, Micropropagation, Auxiliary bud, Rooting.

* نویسنده مسئول: عباس سعیدی

E-mail: abbas.saidi@gmail.com

مقدمه

نسترن با نام علمی *Rosa canina* L. از خانواده *Rosaceae* است. زیستگاه آن در اروپا، چنوب غربی آفریقا و غرب آسیا است. تولید این گیاه تجاری است و از درختان آن به عنوان پایه دیگر درختان میوه استفاده می‌شود (Sharafi, 2010). جنس رز بیش از ۲۰۰ گونه دارد که ۱۴ گونه وحشی آن در ایران است (Wissemann, 2003). کشت بذر، قلمه، خوابانیدن و پیوند زدن روش‌های تکثیری سنتی گل سرخ همچنان مورد استفاده بسیاری از پرورش دهندگان گل است. این در حالی است که تکثیر جنسی با بذر همواره منجر به بروز تنوع زیاد و سایر شیوه‌های تکثیری با بازدهی کند است. در عین حال بروز هتروزیگوسیتی، محدودیت منابع ژنتیکی سازگار در دورگ‌گیری جنسی و پیچیدگی ساختار ژنومی گل رز، بهسازی آن را از طریق روش‌های اصلاح کلاسیک محدود نموده‌است (Korban, 2005). با توجه به این‌که این روش‌های تکثیر زمان‌بر و خسته‌کننده می‌باشد و تکثیر با این روش‌ها به کندی و با مشکلات زیادی صورت می‌گیرد (Norton & Boe, 1982). به این دلیل تکثیر مرسوم برای واریته‌های تجاری با مشکل روبروست. تکنیک کشت درون شیشه‌ای روش جایگزین برای تکثیر گیاهان بوده و درسال‌های اخیر ریزازدیادی گیاهان با استفاده از شرایط درون شیشه‌ای در تجارت تحولاتی ایجاد کرده‌است (Pierik, 1991). موفقیت در ریزازدیادی عمدتا وابسته به تولید کیفیت مناسب ریشه‌ها می‌باشد (DeKlerk *et al*., 1999). روش‌های ریزازدیادی رز معمولاً با استفاده از سیستم تکثیر ساقه[1] با جوانه‌های جانبی یا شاخساره‌ها که به‌طور منظم واکشت می‌شود، انجام می‌گیرد (Marcolis & Scholten, 1995). ریزازدیادی رزها با استفاده از مریستم‌های جانبی و انتهایی توسط محققان زیادی گزارش شده‌است (Pati *et al*., 2005). تولید گیاهان با استفاده از جوانه‌های جانبی به‌طور کلی روشی قابل استفاده برای میزان تکثیر بالا و روش قابل اعتماد برای حفظ و نگهداری کلنی‌ها می‌باشد (Ngezahayo & Liu, 2014). بسیاری از گیاهان زینتی تجاری با کشت در محیط کشت شامل اکسین و سیتوکینین تکثیر شدند (Preil, 2003; Rout & Jain, 2004). اگرچه وجود سیتوکینین اغلب همیشه لازم بوده، اما میزان مطلوب شاخساره‌زایی با ترکیب اکسین و سیتوکینین صورت می‌گیرد (George, 1993). BA و KIN در بیشتر موارد برای ازدیاد گیاهان زینتی از جمله رز استفاده شده‌است (Khosh-Khui & Teixeira da Silva 2006; Jain & Ochatt, 2010). مطالعه انجام شده نشان داد که ۵ میکرومولار BA برای تکثیر شاخساره در *R. damascena* و*R. Bourboniana* مناسب می‌باشد (Pati *et al*., 2001). اکسین به عنوان القا کننده ریشه زایی و استفاده اکسین‌هایی از جمله IBA باعث افزایش بیوسنتز ایندول‌استیک اسید (IAA) شود (Dixon & Gonzales, 1993). تأثیر معنی‌دار NAA برروی طول و تعداد ریشه‌های رز گزارش گردید (Taiz & Ziger, 2000). هدف از این مطالعه ریزازدیادی نسترن با استفاده از مریستم جانبی بود.

مواد و روش‌ها

سترون‌سازی و استقرار ریزنمونه‌ها

در این آزمایش ساقه‌های نسترن به طول ۵۰ سانتی‌متر در شرایط گلخانه تهیه گردید و بعد از قطع جوانه‌های بالایی و پایینی از جوانه‌های جانبی ساقه استفاده گردید. ریز نمونه‌هایی به طول ۲ سانتی‌متر حاوی تک جوانه جدا شده و برگ‌ها از محل اتصال به ساقه قطع و تیغ‌های روی سطح ساقه قطع گردید. ابتدا ریزنمونه‌ها در آب جاری به مدت ۲۰ دقیقه

1. Multiple shoot formation

شستشو داده و با استفاده از اتانول ۷۰ درصد نمونه‌ها را به مدت۳۰ ثانیه ضدعفونی نموده و سپس در هیپوکلریت سدیم ۲٪ (V/V) به مدت ۲۰ دقیقه استریل و ظرف حاوی ریز نمونه، با آب مقطر استریل سه مرتبه شستشو گردید.

ساقه‌زایی ریزنمونه‌ها

جهت بررسی اثر تنظیم‌کننده‌های رشد بر پرآوری شاخساره‌ها، پس از گذشت دو هفته جوانه‌های رشدیافته روی ریزنمونه‌ها جدا و به محیط‌های پرآوری منتقل شد. محیط کشت پایه مورد استفاده در این آزمایش محیط MS (Murashige & Skoog, 1962) و غلظت‌های تنظیم‌کننده‌های استفاده شده در جدول ۱ آورده شده‌است. تنظیم‌کننده BA در سطوح (۰/۵، ۱، ۱/۵، ۲) میلی‌گرم در لیتر و تنظیم‌کننده Kin در سطوح (۰/۵، ۰) میلی‌گرم در لیتر به صورت طرح فاکتوریل با طرح کامل تصادفی صورت گرفت. محیط کشت به مدت ۲۰ دقیقه در اتوکلاو در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱/۲bar استریل گردید. ریز نمونه‌های (Explant) کشت شده، تحت شرایط ۱۶ ساعت طول روز و در دمای ۲±۲۴ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. طول گیاهچه و تعداد شاخساره اندازه‌گیری شد. آزمایش اول در قالب طرح فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد.

القای ریشه در شاخساره‌ها

شاخساره‌هایی قوی با ارتفاع تقریبی۱ سانتی‌متر از بین تیمارهای مرحله قبل انتخاب و به‌منظور القای ریشه به محیط کشت ریشه‌زایی منتقل گردید. تیمارهای به کار برده شده در محیط کشت ریشه‌زایی شامل محیط‌هایی با تیمار شاهد (بدون تنظیم‌کننده اکسین) و تنظیم‌کننده IAA در سطوح (۰/۲۵، ۰/۵۰، ۱) میلی‌گرم در لیتر و NAA در سطوح (۱/۵، ۱/۰، ۰/۲۵، ۰/۵۰) میلی‌گرم در لیتر و IBA در سطوح (۰/۳، ۰/۶۰، ۱/۲، ۱/۸) میلی‌گرم در لیتر در جدول ۱ آورده شده‌است. در آزمایش دوم از طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار استفاده گردید پس از ۲ هفته، شاخساره‌ها به محیط عاری از تنظیم‌کننده و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی منتقل گردید و طول ریشه، تعداد ریشه، نسبت تعداد ریشه به طول ریشه رقم مورد مطالعه اندازه‌گیری شد.

سازگاری گیاهچه‌ها

بعد از مرحله ریشه‌زایی گیاهچه‌های ریشه‌دار شده به مدت ۲ هفته در گلخانه پلاستیکی در بستر مخلوط پرلیت: کوکوپیت (۱: ۱) کشت گردیدند. گیاهچه‌ها در اتاق کشت تحت شرایط نوری ۴۰۰۰ لوکس قرار گرفتند و در دمای ۲±۲۴ درجه نگهداری شدند.

محاسبات آماری

صفات اندازه‌گیری شده در نرم‌افزار (Excel) ثبت گردید و تجزیه تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS10 و مقایسه میانگین داده‌ها به روش دانکن صورت گرفت.

جدول ۱. نوع و غلظت تنظیم‌کننده‌های رشد مورد استفاده در محیط‌های کشت

ردیف	آزمایش ریشه‌زایی			آزمایش ساقه‌زایی	
	نفتالین استیک اسید (NAA) mgl^{-1}	ایندول بنزوییک اسید (IBA) mgl^{-1}	ایندول استیک اسید (IAA) mgl^{-1}	کینتین (Kin) mgl^{-1}	بنزیل آدنین (BA) mgl^{-1}
1	0.25	0.6	0.25	0	0.5
2	0.5	0.6	0.5	0.5	1.0
3	1.0	1.2	1.0		1.5
4	1.5	1.8	1.5		2

نتایج و بحث

اثر تنظیم‌کننده‌های مختلف رشد بر تکثیر و ساقه‌زایی

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که اثر تنظیم کننده‌های رشد BA و Kin بر روی صفت طول گیاهچه و تعداد شاخساره در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). بیشترین طول گیاهچه به میزان ۲۵ سانتی‌متر در مرحله ساقه‌زایی با سطح غلظت صفر میلی‌گرم در لیتر Kin به‌دست آمد (شکل ۱). حروف مشترک (a,a) نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بین تیمارها بود. محیط کشت مورد استفاده در این آزمایش MS بود. محیط (MS) رایج‌ترین محیط برای تکثیر رزها بوده و این محیط بیشترین اثرات بر میزان ساقه‌زایی شاخساره در کولتیوارهای مختلف رز را داشته است (Davies, 1980). اگرچه استفاده از محیط‌های دیگر نیز گزارش شده است (Sharafi, 2010).

بیشترین تعداد شاخساره به‌میزان ۳ عدد در سطح غلظت (۰/۵ میلی گرم در لیتر) Kin به‌دست آمد. کمترین تعداد شاخساره در غلظت (۰ میلی‌گرم در لیتر) Kin به مقدار (۲/۸۵) بود. کمترین طول گیاهچه با استفاده از تنظیم کننده رشد Kin در غلظت (۰/۵ میلی‌گرم در لیتر) به میزان (۲۳/۲ سانتی‌متر) به‌دست آمد. بیشترین طول گیاهچه و تعداد شاخساره به ترتیب (۲۶ سانتی‌متر) و ۳ عدد در غلظت (۰/۵ میلی‌گرم در لیتر) BA به‌دست آمد. کمترین تعداد شاخساره در غلظت (۰/۵ میلی‌گرم در لیتر) BA به مقدار (۲/۴) بود. کمترین طول گیاهچه با استفاده از تنظیم‌کننده رشد BA در غلظت (۱/۵ میلی‌گرم در لیتر) به میزان (۲۱/۶ سانتی‌متر) بود. BA نسبت به‌سایر سایتوکنین‌ها بیشتر بر روی رشد شاخساره‌های جانبی اثر گذاشته است و مقادیر کمتر آن بهترین اثر را در نمو شاخساره داشته است (Carelli *et al.*, 2002). در عین حال، غلظت‌های بالای آن اثر بازدارنده دارد (Shabbir *et al.*, 2009). تنظیم‌کننده BA مؤثرترین تنظیم‌کننده در این مرحله بوده و حتی غلظت‌های ناچیز آن برای القای رشد جوانه‌ها ضروری بوده و بنابراین تنظیم‌کننده‌های رشد در مقادیر پایین، اثر بخشی بهتری دارند. در مرحله ساقه‌زایی (۱ میلی‌گرم در لیتر) BA همراه با (۰/۵ میلی‌گرم در لیتر) Kin بالاترین تعداد شاخساره به میزان ۳/۴ عدد را نشان داد و پایین‌ترین تعداد شاخساره به غلظت‌های تنظیم‌کننده رشد (۰/۵ میلی‌گرم در لیتر) Kin و (۰/۵ میلی‌گرم در لیتر) BA به میزان (۲ عدد) تعلق داشت (شکل ۲). بهترین غلظت تنظیم‌کننده رشد (۰/۵ میلی‌گرم در لیتر) BA و همراه با (۰/۵ میلی‌گرم در لیتر) تنظیم‌کننده Kin بیشترین طول گیاهچه را به‌میزان (۲۶/۸۳سانتی‌متر) سبب گردید و حداقل طول گیاهچه با (۰/۵ میلی‌گرم در لیتر) تنظیم‌کننده‌های رشد Kin و همراه با (۲ میلی‌گرم در لیتر) BA به میزان (۲۱ سانتی‌متر) برآورد گردید (شکل۲). مطالعات گذشته نشان داد که وجود تنظیم‌کننده رشد BA برای ایجاد ساقه‌زایی ضروری است (Carelli *et al.*, 2002). غلظت‌های مختلف BA و IAA به تنهائی در ترکیب‌های مختلف مورد بررسی قرار گرفت و مشخص گردید که وجود BA به تنهائی و در غلظت (۲و ۱میلی گرم در لیتر) باعث ایجاد بیشترین درصد رشد جوانه و متوسط تعداد شاخساره‌های ایجاد شده توسط هر ریزنمونه می‌باشد (Mederos *et al.*, 1987).

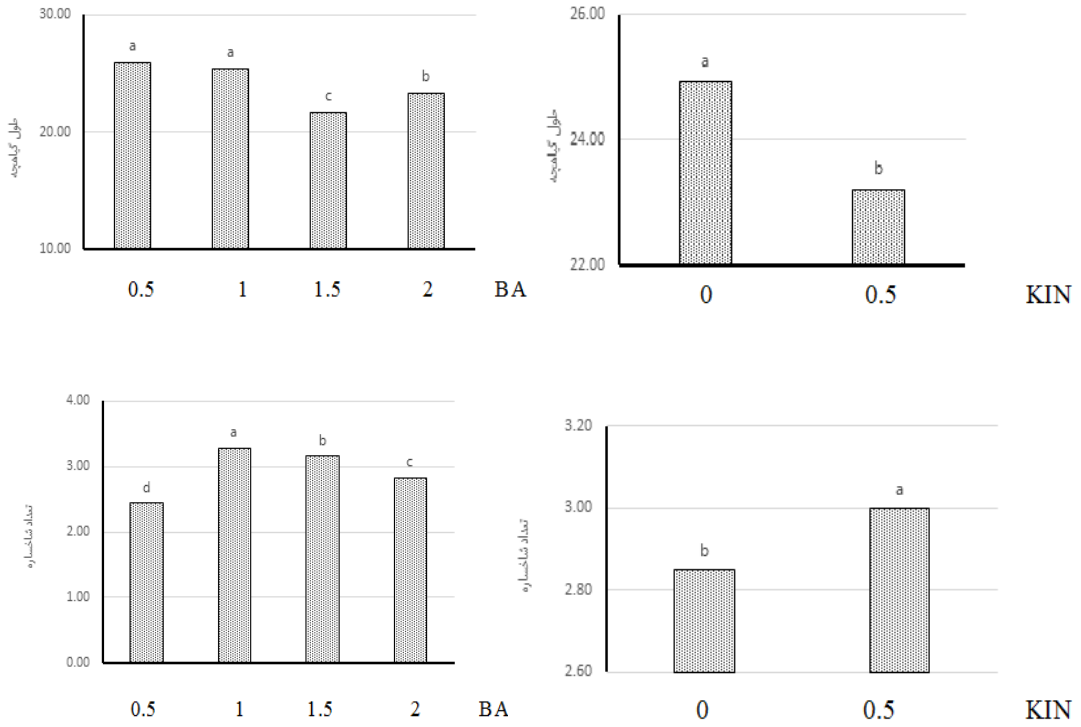
مطالعه محققان نشان داد که BA در غلظت ۵ میکرومولار برای ساقه‌زایی شاخساره در *R. damascena* و *R. bourboniana* غلظت مناسبی می‌باشد (Pati *et al.*, 2001). استفاده از غلظت‌های بالای (۵-۷ میلی‌گرم در لیتر) BA اگرچه باعث افزایش ساقه‌زایی می‌شود اما اندازه شاخساره را کاهش می‌دهد. اگرچه در اکثر گزارشات ارائه شده

غلظت‌های پائین BA باعث ساقه‌زایی مناسب می‌شود و طبق بعضی از گزارشات غلظت‌های بالای BA علیرغم ساقه‌زایی بیشتر باعث کاهش معنی‌دار طول گیاهچه و مانع طویل شدن شاخساره شد (Mederos *et al*., 1987; Valles & Boxus, 1987). افزایش شاخساره در شرایط درون شیشه‌ای به فرمول محیط کشت که شامل BAP به‌عنوان تنظیم‌کننده مؤثر در ترکیب با غلظت پایین NAA مرتبط است (Xing *et al*., 2010). نتایج این تحقیق با نتایج این گزارش نیز مطابقت داشت (Carelli *et al*., 2002). در گزارشاتی نشان داده شد که محیط MS همراه با (۲/۵ تا ۳ میلی‌گرم بر لیتر) BAP و (۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر) IBA مناسب‌ترین تیمار برای ساقه زایی در گل سرخ است (Khosh-Khui *et al*., 2009).

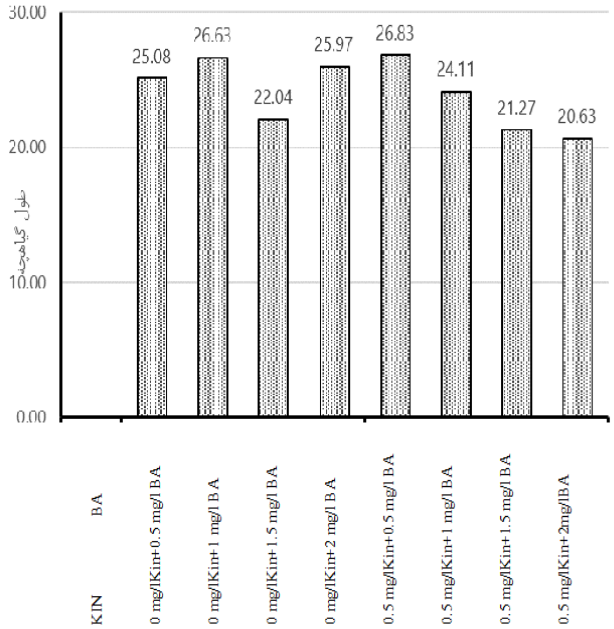
جدول ۲. تجزیه واریانس اثرات تنظیم‌کننده‌های رشد در محیط کشت برروی برخی صفات در مرحله ساقه‌زایی

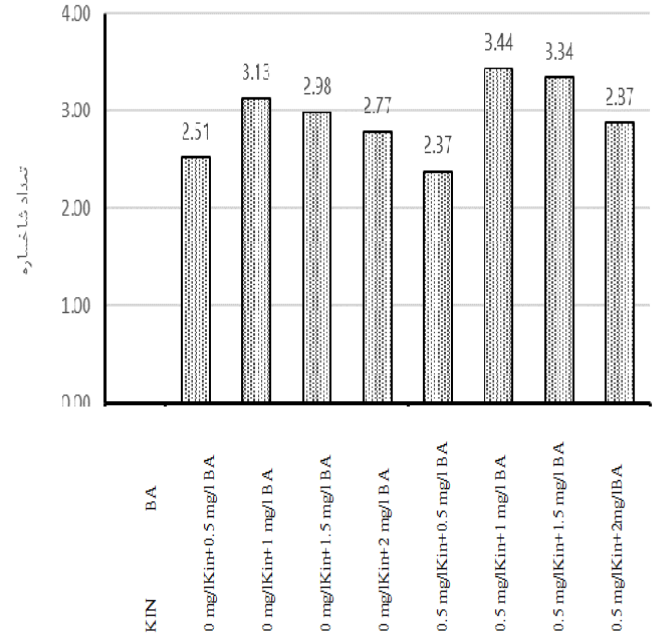
منبع واریانس	درجه آزادی	میانگین مربعات	
		طول گیاهچه	تعداد شاخساره
کینتین (Kin)	1	23.63**	0.2**
بنزیل آدنین (BA)	3	31.12**	1.15**
بنزیل × کینتین (B×K)	3	79.17**	0.11**
خطا (E)	24	1.3	0.01
ضریب تغییرات٪ (CV)		4.74	2.44

** اختلاف معنی‌دار درسطح احتمال یک درصد.



شکل ۱. مقایسه اثر سطوح مختلف BA و Kin (میلی‌گرم در لیتر) برای تعداد شاخساره و طول گیاهچه *R. canina*





شکل ۲. مقایسه اثر سطوح مختلف اثر متقابل BA×Kin (میلی‌گرم در لیتر) برای تعداد شاخساره و طول گیاهچه *R. canina*

در این پژوهش استفاده از محیط حاوی BA به همراه NAA باعث افزایش معنی‌دار ساقه‌زایی نسبت به محیط حاوی BA به تنهایی بود. تکثیر، پرآوری و ریشه‌زایی شاخساره‌های گل سرخ در کشت درون شیشه‌ای، تحت تأثیر عوامل زیادی از جمله گونه، ژنوتیپ، رقم، محیط کشت، نمک‌های معدنی، مواد

آلی، کربوهیدرات‌ها، تنظیم‌کننده‌های رشد و شرایط محیطی قرار می‌گیرند (Pati *et al*., 2005). از بین این عوامل، نقش اکسین نسبت به سایتوکنین بالاترین اهمیت را دارد (Rout *et al*., 1999).

اثر تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی بر ریشه‌زایی

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که اثر تنظیم‌کننده‌های رشد بر روی صفات تعداد ریشه و طول ریشه و طول ریشه/تعداد ریشه در سطح ۱درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). تنظیم‌کننده IBA با سطح ۲/۱ میلی‌گرم بر لیتر دارای بیشترین تعداد ریشه و نسبت طول ریشه/ تعداد ریشه به‌ترتیب به میزان (۱۶/۸۴) و (۱۶/۳۰) بود و تنظیم‌کننده IAA با سطح تنظیم‌کننده (۰/۲۵ میلی‌گرم بر لیتر) دارای کمترین تعداد ریشه و نسبت طول ریشه / تعداد ریشه به‌ترتیب (۵) و (۲) بود (جدول ۴). بالاترین طول ریشه مربوط به تنظیم‌کننده IAA با سطح (۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر) به میزان (۵ سانتی‌متر) و کوتاهترین طول ریشه به تیمار IBA با سطح (۱/۲ میلی‌گرم در لیتر) به میزان (۱/۱سانتی‌متر) اختصاص یافت که بالاترین تعداد ریشه را داشت (جدول ۴). بنابراین می‌توان گفت که بین تعداد ریشه با طول ریشه اثر متقابل وجود دارد. نتایج این تحقیق با دیگر نتایج مطابقت داشت (Yan *et al*., 1996). درپژوهشی گزارش شد که بالاترین درصد ریشه‌زایی به دلیل غلظت مناسب IBA است (Haq *et al*., 2009; Valles & Boxus, 1987) در گزارشی نشان داده شد که غلظت پایین IBA برای ریشه‌زایی مؤثرتر می‌باشد که با نتایج پژوهش مربوطه مغایرت داشت (Bhatt & Tomar, 2010). در تحقیقی مشاهده شد که توانایی ریشه‌زایی *R. canina* و *R. damascena* در مقایسه با *R. hybrida* پایین‌تر می‌باشد و همچنین اثرات غلظت‌ها و ترکیبات مختلف اکسین بر ریشه‌دهی *R. hybrida* را بررسی کردند و مشاهده شد که ترکیب ۰ تا ۰/۱ IAA و NAA میلی‌گرم در لیتر کاملاً بر القای ریشه‌دهی مؤثر بود (Khosh-Khui & Sink, 1982). ساقه‌زایی (a) و ریشه‌زایی (b) *R. canina* در شکل ۳ آورده شده است.

نتایج آزمایشات مختلف نشان داد که برای ریشه‌زایی گیاهچه‌های حاصل از کشت درون‌شیشه‌ای، استفاده از اکسین و غلظت‌های نمک و یا ترکیبی از این دو مؤثر بوده‌است. ریشه‌زائی موفقیت‌آمیز شاخساره‌های کشت شده و استقرار بعدی تحت شرایط درون شیشه‌ای، برای بهره‌برداری تجاری از ریز ازدیادی ضروری است. ساقه‌زایی و تکثیر برگی در شرایط درون شیشه‌ای به فرمول محیط کشت و نسبت بالاتر سیتوکنین به اکسین مرتبط است (Kim *et al*., 2003). اکسین یک تنظیم‌کننده ریشه‌زایی بوده و IBA بیوسنتز ایندول استیک اسید (IAA) را بالا می‌برد. بهترین تیمار برای ریشه‌زایی رز معطر در محیط حاوی 2, 4-D (۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر) + (۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر) IBA بود (Khosh-Khui *et al*., 2009). نتایج ما نشان داد که تنظیم‌کننده‌های IBA در مقایسه با تنظیم‌کننده NAA برای ریشه‌زایی رز وحشی از اهمیت بیشتری برخوردار است و در گزارشی پیشنهاد شد که اکسین، اتیلن را القا نموده که تأثیری در تشکیل ریشه‌زایی نابجا دارد (Mudge *et al*., 1989). نتایج این تحقیق با نتایج سایر پژوهشگران نیز مطابقت دارد (Rout *et al*., 1999; Mederos & Enriquez-Rodriguez, 1987). غلظت پایین اکسین دلیل افزایش رشد ریشه بوده اما غلظت بالای اکسین مانع رشد ریشه می‌باشد و علت کاهش رشد ریشه تولید اتیلن در غلظت بالای اکسین بوده است (Taiz & Zeiger, 2000). تولید ریشه در گیاهان تحت تأثیر سنتز، متابولیسم و مسیرهای انتقال علایم اکسین می‌باشد (George *et al*., 2008c). در دو رقم *R. damascena* و *R. bourboniana* ریشه‌زایی در دو مرحله صورت گرفت. مرحله اول در محیط MS با غلظت ۱۰ میکرومولار IBA و در مرحله دوم بدون

تنظیم‌کننده انتقال پیدا کردند (Pati *et al*., 2005). سازگاری *R. canina* در زیر آورده شده‌است (شکل۴).

(a) (b)

شکل ۳. ساقه‌زایی (a) و ریشه‌زایی (b) *R. canina*

جدول ۳. تجزیه واریانس اثرات تنظیم‌کننده‌های رشد بر روی برخی صفات در مرحله ریشه زایی

منبع واریانس (S.O.V)	درجه آزادی (df)	طول ریشه / تعداد ریشه	طول ریشه (cm)	تعداد ریشه
تیمار	12	0.05**	0.02**	0.2**
خطا (E)	65	0.02	0.005	0.013
ضریب تغییرات		10.49	6.38	5.79

** اختلاف معنی‌دار درسطح احتمال یک درصد و n.s: غیر معنی‌دار.

جدول ۴. مقایسه میانگین انواع و غلظت‌های تنظیم‌کننده‌های رشد بر روی صفات ریشه‌زایی

تیمار (mgl^{-1})	طول ریشه / تعداد ریشه	طول ریشه (cm)	تعداد ریشه
شاهد	10.17^{bc}	5.09^{a}	2.23^{c}
0.25IAA	5.33^{e}	3.51^{ab}	2.2^{c}
0.5IAA	10.5^{b}	3.09^{bc}	5.42^{bc}
1.0IAA	8.5^{bcd}	1.38^{bc}	8.79^{abc}
1.5IAA	9.33^{bcd}	2.32^{bc}	7.55^{bc}
0.28NAA	7.5^{de}	1.45^{bc}	6.72^{bc}
0.56NAA	7.33^{de}	1.33^{bc}	5.86^{bc}
1.2NAA	8.17^{cd}	1.77^{bc}	4.57^{bc}
1.6NAA	10.17^{bc}	1.69^{bc}	8.11^{abc}
0.3IBA	10.33^{bc}	1.82^{bc}	11.33^{ab}
0.6IBA	5.67^{e}	1.42^{bc}	5.84^{bc}
1.22IBA	16.83^{a}	1.06^{c}	16.31^{a}
1.8IBA	5.83^{e}	2.76^{bc}	2.8^{bc}

میانگین‌هایی، در هر ستون، که دارای حروف مشابه می‌باشند بر اساس آزمون چند دامنه‌ایی دانکن در سطح ۵٪ تفاوت معنی‌دار ندارند.

شکل ۴. سازگاری *R. canina*

REFERENCES

Bhatt BB, Tomar YK (2010) Effects of IBA on rooting performance of *Citrus auriantifolia* Swingle (Kagzi-lime) in different growing conditions. Nat. Sci. 8: 8-11.

Carelli BP, Echeverrigaray S (2002) An improved system for the *in vitro* propagation of rose cultivars. Sci. Hortic. 92: 69-74.

Davies DR (1980) Rapid propagation of roses *in vitro*. Sci. Hortic. 13: 385-9.

DeKlerk GJ, Van WM, Krieken Der, de Jong JC (1999) The formation of adventitious roots: new concepts, new possibilities. *In vitro* Cell. Dev. Biol. Plant, 35: 189-199.

Dixon RA, Gonzales RA (1993) Plant Cell Culture. A practical approach. 2nd Edn. Plant Biology division. The Samuel Roberts Noble Foundation. Ardmore, Oklahoma 73402, USA (At Oxford University Press. Oxford, New York Tokyo).

George Edwin F (1993) Plant propagation by tissue culture. Part. Exegetics ltd., endigton, Wilts. BAI34QG, England.

George EF, Hall MA, Klerk GJD (2008c) Plant Growth Regulators I: Introduction; Auxins, their Analogues and Inhibitors. In Plant Propagation by Tissue Culture, 175-204 (Eds E. F. George, M. A. Hall and G.-J. D. Klerk). Springer Netherlands.

Haq IU, Ahmad T, Hafiz IA, Abbasi NA (2009) Influence of microcutting sizes and IBA concentrations on *in vitro* rooting of olive cv. ‘dolce agogia’. Pak. J. Bot. 41: 1213-1222.

Jain SM, Ochatt SJ (Eds.). (2010) Protocols for in vitro propagation of ornamental plants. Humana Press.

Khosh-Khui M, Sink KC (1982) Micro propagation of New and Old World rose species. J. Hortic. Sci.57:315-319.

Khosh-Khui M, Teixeira da Silva JA (2006) *In vitro* culture of the Rosa species. Floriculture, Ornamental and Plant Biotechnology Vol. II. Global Science Books, UK.

Khosh-Khui M, Honarvar M, Javidnia K (2009) The First Report on *in vitro* Culture of Musk Rose. Acta. Hort. 870:213-218.

Kim CJU, Jee SO, Chung JD (2003) *In vitro* micropropagation of Rosa hybrid L. J. Plant Biotech. 5: 115-119.

Korban S (2005) Somatic Embryogenesis in Rose: Gene Expression and Genetic Transformation. Plant Cell Monogr (2), 247- 257. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.

Marcolis VA, Scholten MJ (1995) Development of axillary buds of Rose in vitro. Sci. Hortic. 63:47-55.

Mederos S, Enriquez-Rodriguez MJ (1987) In vitro propagation of ‘Golden Times’roses, factors affecting shoot tips and axillary buds growth and morphogenesis. Acta Hort. 212: 619-624.

Mudge MW (1989) Effect of ethylene on

rooting. In: Adventitious root formation in cuttings, ds., T.D. Davis; B.E. Haissing and N. Sankhla. Dioscorides Press. Portland, DR, pp. 150-161.

Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiologia Plantarum. 15: 97-473.

Ngezahayo F, Liu B (2014) Axillary bud proliferation approach for plant biodiversity conservation and restoration. International Journal of Biodiversity. 2014: 1-9.

Norton ME, Boe AA (1982) In vitro propagation of ornamental Rosaceous plants. Scientia Horticalturae. 17: 190-191.

Pati PK, Sharma M, Ahuja PS (2001) Micropropagation, Protoplast Culture and Its Implications in the Improvement of Scented Rose. ISHS. Acta. Hort. 547: 147-158.

Pati PK, Sharma M, Sood A, Ahuja PS (2005) Micropropagation of *Rosa damascena* and *R. bourboniana* in liquid cultures. In: Hvoslef Eide AK, Preil W, editors. Liquid systems for in vitro mass propagation of plants. Neth Kluwer Academic Publishers.

Pierik RLM (1991) Horticulture new technologies and applications Proceeding of the international seminar on new frontiers in horticulture. Curr. Plant Sci. Biotechnol. Agric. 12: 141-53.

Preil W (2003) Micropropagation of ornamental plants. In: Laimer M, Rucker W, editors. Plant tissue culture 100 years since Gottlieb Haberlandt. New York: Springer-Verlag. pp. 115-133.

Rout GR, Samantaray S, Mottley J, Das P (1999) Biotechnology of the rose: a review of recent progress. Sci Hortic. 81: 28-201.

Rout GR, Jain, SM (2004) Micropropagation of ornamental plants cut flowers. Propagation of Ornamental Plants, 4: 3-28.

Shabbir A, Hameed NA, Bajwa R (2009) Effect of different cultural conditions on micropropagation of rose (*Rosa Indica* L.). Pak. J. Bot. 41: 2877-2882.

Sharafi Y (2010). Suitable in vitro medium for studying pollen viability in some of the Iranina hawthorn genotypes. African Journal of Medicinal Plant Research. 4: 1967-1970.

Taiz L, Zeiger E (2000). Plant physiology. Sinauer Associate. U.S.A.

Valles M, Boxus P (1987) Micropropagation of several Rosa hybrida L cultivars. Acta. Hort. 212: 611-617.

Wissemann V (2003) Classification. In: Roberts, A.V., Debener, T. and Gudin, S. (Ed). Encyclipedia of rose science. Oxford: Elsevior Academic Press, P. 111-117.

Xing W, Boa M, Qin H, Ning G (2010) Micropropagation of Rosa rugosa through axillary shoot proliferation. Acta Biologica Cracoviensia. Ser. Bot. 52: 69-75.

Yan J, Xue Q, Zhu J (1996) Genetics studies of another culture ability in rice (*Oryza sativa* L). Plant Cell Zhou H, Zheng Y, Konzak CF. 1991. Osmotic potential of media effecting green plant percentage in wheat anther culture. Plant Cell Report. 10: 63-66.