اثر تنظیم کننده های رشد گیاهی و نوع محیط کشت بر ریشه زایی درون شیشه ای *Rosa canina*

محبوبه داودی پهنه کلایی [۱]، لیلا سمیعی [۲*]، علی تهرانی فر [۳]، محمود شور [٤]

۱- دانشجوی دکتری گیاهان زینتی، گروه باغبانی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد. ۲- عضو هیئت علمی گروه گیاهان زینتی (استادیار)، پژوهشکده علوم گیاهی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد. ۳- عضو هیئت علمی گیاهان زینتی (استاد)، گروه باغبانی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد.۴- عضو هیئت علمی گیاهان زینتی (دانشیار)، گروه باغبانی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد.

* نویسنده مسئول: samiei@um.ac.ir

چکیده

جوانه های جانبی *Rosa canina* به عنوان ریزنمونه برای پرآوری مورد استفاده قرار گرفتند. گیاهچه های *Rosa canina* پس از مرحله پرآوری در محیط کشت VS با غلظت ۲ میلی گرم در لیتر BAP و ۰/۱ میلی گرم در لیتر NAA به منظور ریشه زایی در دو ترکیب مختلف IBA (۰، ۰/۳، ۰/۶ و ۰/۹ میلی گرم بر لیتر) و NAA (۰، ۰/۳، ۰/۶ و ۰/۹ میلی گرم بر لیتر) در دو محیط کشت VS و VS ½ ارزیابی شدند. صفات مورد بررسی درصد ریشه زایی، میانگین تعداد ریشه و طول ریشه بودند که تفاوت معنی داری را نشان دادند. با توجه به نتایج تیمار مناسب برای ریشه زایی *Rosa canina* در شرایط درون شیشه ای غلظت ۰/۳ میلی گرم بر لیتر IBA در محیط کشت VS ½ می باشد.

کلمات کلیدی: ریشه زایی، محیط کشت، *Rosa canina*، تنظیم کننده های رشد.

مقدمه

رز گیاهی است از خانواده گل سرخیان (*Rosaceae*) که در بخش های وسیعی از کره زمین با شرایط آب و هوایی بسیار متفاوت از مناطق سرد شمالی تا مناطق نیمه گرمسیری پراکنده می باشند. رزها در فرم های مختلف بوته ای، درختچه ای، بالارو و رونده و بصورت های خزان پذیر و بی خزان وجود دارند. همچنین رزها بیشترین تنوع را در شکل و نوع، حالت گل، اندازه، رنگ و رایحه دارند (ویو و همکاران، ۲۰۰۶). رزها در زمره یکی از مهمترین گیاهان زینتی جهان می باشند. این گیاهان علاوه بر اینکه یک گیاه باغچه ای بسیار بااهمیت می باشند، برای تولید گل های شاخه بریده ، تولید پایه های مقاوم و همچنین به عنوان منبعی برای تولید اسانس رز کاربرد دارند. (Jain & Ochat, 2010. Xing, 2010.). بررسی اثر TDZ و BAP در تکثیر درون شیشه ای گل محمدی نشان داد که ریز قلمه هایی که در محیط حاوی TDZ رشد کرده اند به آسانی ریشه دار می شوند (Kumar et al., 1998). نتایج ریزازدیادی بهینه *Rosa hybrida* cv. Heritage در شرایط درون شیشه ای که در آن ریزنمونه ها در محیط کشت MS همراه با غلظت های مختلفی از هورمون های TDZ (۰، ۰/۰۵، ۰/۱ میلی گرم بر لیتر)، Kin (۰، ۰/۲ mg/L)و NAA (۰، ۰/۱ mg/L) کشت شدند و در مرحله ریشه زایی نیز از سه محیط MS, ½ MS, ¼ MS استفاده شد حاکی از آن است که بیشترین پرآوری شاخه در تیمار 0.05 mg/L TDZ +0.7 mg/L Kin +0.5 mg/L NAA بدست آمد. با افزایش غلظت TDZ در محیط کشت و حذف NAA باززایی شاخه کاهش یافت. همچنین محیط MS ½ نسبت به سایر تیمارها برای ریشه زایی مناسب تر بود (Ozel et al., 2006. Vardeja et al., 1995).

مواد و روش ها

الف: مرحله ضدعفونی:

در مرحله ضدعفونی شاخه ها به قطعات تک گره برش داده شدند و پس از یک ساعت آبشویی با آب جاری، به مدت ۳۰ ثانیه در اتانول ۷۰ درصد و ۱۵ دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم ۲/۵ درصد (با درصد کلر فعال ۵ درصد) قرار داده شدند. سپس ۳ بار شستشو با آب مقطر استریل ۲ بار تقطیر صورت گرفت و ریزنمونه ها آماده کشت در محیط شدند. در زمان کشت ریزنمونه ها به طول ۱ سانتی متر همراه با یک جوانه جانبی برش داده شدند. ریزنمونه ها درون محیط کشت موراشیگ اسکوگ (MS) با غلظت ۲ میلی گرم بر لیتر بنزیل آدنین (BAP) و ۰/۲ میلی گرم بر لیتر ایندول بوتیریک اسید (IBA) برای رشد جوانه های جانبی و تهیه ریزنمونه های بیشتر برای مرحله پرآوری و نیز کنترل و کاهش آلودگی قرار داده شدند. از شاخساره های بدست آمده در این مرحله به عنوان ریزنمونه برای مرحله پرآوری استفاده شد. در این مرحله طرح آزمایشی پایه ریزی نشد و صرفاً برای تهیه ریزنمونه برای مرحله پرآوری بوده است.

ب) مرحله پرآوری (شاخه زایی):

در این مرحله از شاخساره های رشد یافته در مرحله استقرار برای تهیه ریزنمونه استفاده شد. ریزنمونه ها دارای ۳ جوانه جانبی و بطول تقریبی ۱ سانتی متر تهیه و در محیط کشت VS (Van der salm, 1994) (محیط کشت پایه MS در ترکیب با کلات آهن FeEDDHA) در ترکیب با ۲ میلی گرم بر لیتر BA و ۰/۱ میلی گرم بر لیتر NAA قرار داده شدند. سپس ریزنمونه های کشت شده در اتاق کشت با دمای ۲۴ درجه سانتی گراد و فتوپریود ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی قرار داده شدند. واکشت ریزنمونه ها به فاصله هر ۴ هفته صورت گرفت و در زمان واکشت، برگ های زرد و کالوس های تولید شده در انتهای ریزنمونه جدا گردید. در این مرحله صفات تعداد شاخه، تعداد برگ، طول شاخه (سانتی متر) و درصد شاخه زایی اندازه گیری شد. اندازه گیری طول شاخه با استفاده از خط کش صورت گرفت.

ج) مرحله ریشه زایی:

در این مرحله گیاهچه های بدست آمده در مرحله پرآوری مورد بررسی قرار گرفتند. گیاهچه هایی که به اندازه کافی رشد یافته و دارای ارتفاع ۲ تا ۳ سانتی متر بودند به مرحله ریشه زایی انتقال یافتند. در مرحله ریشه زایی طرح آزمایشی فاکتوریل (۲ x ۴) با ۲ عامل نوع تنظیم کننده رشد (۲ سطح) و غلظت اکسین (۴ سطح) در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۵ تکرار صورت گرفت (در این آزمایش نیز داده های تیمارهای شاهد (دارای غلظت صفر میلی گرم در لیتر) برای هر هورمون، میانگین گرفته شده و بصورت یک تیمار شاهد در جداول نشان داده شده است). در این مرحله از محیط کشت VS ½ در ترکیب با هورمون های NAA (0, 0.3, 0.6, 0.9 mg/L) و IBA (0, 0.3, 0.6, 0.9 mg/L) استفاده شد. گیاهچه ها پس از کشت در محیط ریشه زایی در اتاقک رشد قرار داده شدند. مرحله ریشه زایی به مدت یک ماه به طول انجامید و صفات تعداد ریشه، طول ریشه (سانتی متر) و درصد ریشه زایی اندازه گیری شدند. اندازه گیری طول ریشه با استفاده از خط کش صورت گرفت.

نتایج و بحث

تجزیه واریانس داده ها و بررسی نتایج در مرحله ریشه زایی نشان داد که اثر نوع محیط کشت بر تعداد ریشه، طول ریشه و درصد ریشه زایی در سطح احتمال یک درصد معنی دار بوده است. همچنین اثر نوع اکسین بر تعداد ریشه و درصد ریشه زایی نیز در سطح احتمال ۵ درصد معنی دار بوده است اما بر طول ریشه اثر معنی داری نداشته است. بررسی نتایج تجزیه واریانس در اثر غلظت اکسین بر صفات ذکر شده نتایج مشابهی با اثر نوع اکسین را نشان داد. با توجه به جدول تجزیه واریانس اثر غلظت، نوع اکسین و نوع محیط کشت بر تعداد ریشه، درصد ریشه زایی و طول ریشه معنی دار نبوده است. جدول مقایسه میانگین داده ها نشان داد که بیشترین میانگین تعداد ریشه (۲/۱۴) و درصد ریشه زایی (۲۳/۰۸٪) در غلظت ۰/۶ و ۰/۹ میلی گرم در لیتر بدست آمد (جدول 1). جدول مقایسه میانگین داده ها در بررسی اثر نوع اکسین بر طول ریشه در این مرحله نشان می دهد که بین دو ماده IBA و NAA و تیمار شاهد تفاوت معنی داری وجود ندارد بنابراین حضور تنظیم کننده رشد در محیط کشت چندان تأثیری بر افزایش طول ریشه ندارد. اما نوع محیط کشت در این مورد اهمیت دارد (جدول 2) بنابراین ترکیب نمک های محیط کشت نسبت به نوع اکسین تأثیر بیشتری بر افزایش طول ریشه دارد. عناصر غذایی در گیاهان، نقش های متعدد مهمی را بر عهده دارند در مواردی آن ها به عنوان کوآنزیم عمل کرده و در فعال کردن بسیاری از آنزیم های مهم، نقش داشته و در ساختار اسیدهای آمینه، کلروفیل، مواد آلی، اسیدهای نوکلئیک و بسیاری از مواد دیگر به کار می روند (احسان پور و امینی، ۱۳۸۰). با توجه به نقش غلظت مواد معدنی به نظر می رسد که کاهش غلظت آن ها با کاهش رشد رویشی شرایط مناسبی را برای رشد ریشه فراهم می کند. به نظر می رسد کاهش غلظت عناصر سبب کاهش فشار اسمزی شده و در نتیجه خروج ریشه راحت تر صورت می گیرد (صالحی نجف آبادی و همکاران، ۱۳۷۵). مقایسه میانگین درصد ریشه زایی و نوع اکسین نشان می دهد که بین دو ماده IBA و NAA بر افزایش درصد ریشه زایی تفاوت معنی داری وجود ندارد اما بین آن ها و تیمار شاهد که فاقد تنظیم کننده رشد است اختلاف معنی داری وجود دارد (جدول 3). بنابراین حضور تنظیم کننده رشد در محیط کشت نسبت به عدم حضور آن در افزایش درصد ریشه زایی و تعداد ریشه نقش مؤثری دارد.

جدول۱. مقایسه میانگین اثر غلظت اکسین بر میانگین برخی خصوصیات *R. canina* در مرحله ریشه زایی.

غلظت تنظیم کننده رشد (میلی گرم در لیتر)	تعداد ریشه	طول ریشه (سانتی متر)	درصد ریشه زایی
۰	۰/۷۷ b	۱/۴۲ a	۱۲/۲۹ b
۰/۳	۱/۴ ab	۱/۲۷ a	۱۷/۷۸ ab
۰/۶	۲/۱۴ a	۱/۳۸ a	۲۳/۰۸ a
۰/۹	۱/۸۴ a	۱/۴۸ a	۲۰/۸۶ a

میانگین های دارای حروف مشابه در هر ستون بر اساس آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی داری ندارند.

جدول ۲. مقایسه میانگین اثر نوع محیط کشت بر میانگین برخی خصوصیات *R. canina* در مرحله ریشه زایی.

نوع محیط کشت	تعداد ریشه	طول ریشه (سانتی متر)	درصد ریشه زایی
Vs	۱/۰۱ b	۰/۹۹۲ b	۱۴/۰۴ b
½ Vs	۲/۲۸ a	۱/۸۵ a	۲۴/۷۵ a

میانگین های دارای حروف مشابه در هر ستون براساس آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی داری ندارند.

جدول ۳. مقایسه میانگین اثر نوع اکسین بر میانگین برخی خصوصیات *R. canina* در مرحله ریشه زایی.

نوع تنظیم کننده رشد	تعداد ریشه	طول ریشه (سانتی متر)	درصد ریشه زایی
IBA	۱/ ۸ a	۱/۴۷ a	۲۰/۵۸ a
NAA	۱/۷۸ a	۱/۲۹ a	۲۰/۵۷ a
شاهد	۰/۷۷۴ b	۱/۴۲ a	۱۲/۲۹ b

میانگین های دارای حروف مشابه در هر ستون براساس آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح ۵ درصد اختلاف معنی داری ندارند.

نتایج مرحله سازگاری

در این مرحله، گیاهچه هایی که ریشه دار شده و جهت انتقال به محیط خاکی شرایط مناسبی داشتند، انتخاب شدند. گیاهچه های انتقال داده شده بصورت روزانه مورد بررسی و در صورت نیاز آبیاری شدند. از بین گیاهان انتقال یافته به مرحله سازگاری حدود ۹۵ درصد آنها این مرحله را با موفقیت گذراندند. کاهش رطوبت نسبی، افزایش شدت نور و نیز کاهش شرایط استریل نسبت به شرایط درون شیشه ای از عوامل مهم در سازگاری گیاهچه های ریشه دار شده است. از بین عوامل ذکر شده، تنش آبی نقش مهمتری دارد که در اثر تبخیر زیاد از سطح برگ یا جذب ناکافی آب از ریشه است. کوتیکول و روزنه از مسیرهای اولیه از دست دادن آب است. بررسی کوتیکول سطح برگ در گیاهان حاصل از کشت بافت و مقایسه آن ها با گیاهان گلخانه ای نشان می دهد که کوتیکول آن ها بسیار نرم و لطیف و سطح آن بسیار نازک است (Pawlowsca et al., 2011).

منابع

۱. احسان پور، ع. ا.، امینی، ف. ۱۳۸۰. کشت سلول و بافت گیاهی. انتشارات جهاد دانشگاهی اصفهان.

۲. صالحی نجف آبادی، ح. ۱۳۷۵. کشت درون شیشه ای ارقام رز مینیاتور. تحقیقات کشاورزی ایران، (۱۵): ۵۱ تا ۶۷.

3. Jain, S.M. Ochatt, S.J. 2010. *Protocols for in vitro propagation of ornamental plants*, Methods in molecular Biology. Hamana Press, INC, USA.

4. Kumar, R., Tiwari, J. P., Singh, R. 1998. *In – vitro* clonal propagation of *Philodendron pertusum*. *Indian journal of Horticulture, 55: 340 – 343.*

5. Ozel, C., Arslan, O. 2006. Efficient Micropropagation of English Shrub Rose Heritage under in vitro conditions. *International journal of Agriculture and Biology, 8: 626 – 629.*

6. Pawlowska, B. 2011. The effect of BA and GA_3 on the shoot multiplication of *in vitro* cultures of Polish wild roses. *Folia Horticulturae, 23: 145 – 149.*

7. Singh, S. K., Syamal, M. M.1999. Critical studies on the effect of growth regulators on *in vivo* shoot proliferation in *Rosa hybrid* L. ev. Sonia for micropropagation. *Journal of Applied Horticulture, Lucknow, 1: 91 – 93.*

8. Van der Salm, T., Van der Toorn, C., Haniseh ten Cate, C., Dubios, L., De Vries, D., Dons, H. 1994. Importance of the iron chelate formula for micropropagation of *Rosa hybrida* L. Moneyway. *Plant Cell Tissue and Organ Culture, 37: 73 – 77.*

9. Vardja, R. Vardja, T. 1995. Mass propagation of the dwarf rose culture victory parade. *Easti Teaduste Akademia Toimetised Biologia* 44: 119-123.

10. Xing, W., Bao, M., Qin, H., Ning, G. 2010. Micropropagation of *Rosa rugosa* through axillary shoot proliferati on. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica, 52: 69 – 75.*

Effect of plant growth regulators and culture medium on rooting of *Rosa canina in vitro* culture

M. Davoudi Pahnekolayi [1], L. samiei [2*], A. Tehranifar [3], M. Shoor [4]

1- Phd student of Ornamental plants, Horticulture department, Ferdowsi university of Mashhad, Mashhad. 2- Faculty member of Ornamental department (Assistant Professor), Plant Research Center, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad. 3-Faculty member of Ornamental plants (Professor), Horticulture department, Ferdowsi university of Mashhad, Mashhad. 4- Faculty member of Ornamental plants (Associate Professor), Horticulture department, Ferdowsi university of Mashhad, Mashhad.

*Correspomding author: samiei@um.ac.ir

Abstract

Axillary buds of *Rosa canina* were used as explants at proliferation stage. Plantlets of *Rosa* this plant were placed at rooting stage in VS and ½ VS medium with different concentrations of IBA and NAA at 4 levels (0, 0.3, 0.6 and 0.9 mg/L) after prolefrated in VS medium with 2 mg/L BAP and 0.1 mg/L NAA. Investigated characters were rooting percentage, root number and root length which showed significant difference. According to the results, the best treatment for in vitro rooting of *rosa canina* was 0.3 mg/L IBA in ½ VS medium.

Keywords: rooting, culture medium, *Rosa canina*, plant growth regulators (PGRs).