نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۲۹، شماره ۱، بهار ۱۳۹۴، ص. ۱۱۸-۱۱۱
شاپا: ۴۷۳۰ - ۲۰۰۸

Journal of Horticultural Science
Vol. 29, No. 1, Spring 2015, P. 111-118
ISSN: 2008 - 4730

تاثیر BAP و TIBA بر روی پرآوری شاخساره در کشت درون شیشه ای رز رقم فول هاوس

سمیه حاجیان[1]- سعداله علیزاده اجیرلو[2]*- فریبرز زارع نهندی[3]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۰۶/۱۰
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۰۹/۰۵

چکیده

ریزازدیادی روشی مناسب برای تکثیر سریع و انبوه ارقام و پایه‌های رز مورد نیاز بالای بازار گل است. بعد از چند واکشت، میزان پرآوری شاخساره به شدت کاهش پیدا می‌کند و تنظیم کننده های رشد تاثیر مهمی در مرحله کلیدی پراوری این محصول دارند. در این تحقیق اثرات BAP و ضداکسین TIBA بر کمیت و کیفیت شاخه‌های تولید شده رقم فول هاوس رز مورد مطالعه قرار گرفت و در آن BAP و TIBA هر کدام در سه غلظت ۰، ۲/۲ و ۸/۸ میکرومولار در مرحله پرآوری استفاده شدند. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار اجرا شد. پس از دو ماه قرارگیری شاخساره‌ها در مرحله‌ی پرآوری، پارامترهای درصد پرآوری، درصد زنده‌مانی شاخساره‌ها، تعداد شاخساره‌های جانبی، میزان رشد شاخساره‌ی اصلی، متوسط طول شاخساره‌های جانبی، تعداد برگ سبز در شاخساره‌ی اصلی، متوسط تعداد برگ سبز شاخساره‌های جانبی، متوسط تعداد برگ کلروز و نکروز شاخساره‌ها، متوسط قطر قاعده شاخساره‌های جانبی، وزن تر شاخساره‌ها و تعداد شاخساره‌های با نوک نکروزه شده اندازه‌گیری شدند. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که BAPروی تعداد برگ سبز شاخساره‌ی اصلی و تعداد شاخساره‌های با نوک نکروزه شده اثر معنی‌داری نداشت ولی سایر پارامترهای اندازه‌گیری شده را بهبود بخشید. غلظت ۸/۸ میکرو مولار BAP اثرات بهبوددهنده‌ی بیشتری نسبت به ۲/۲ میکرومولار آن داشت. غلظت بالای TIBA، تعداد شاخساره‌های با نوک نکروزه شده را به طور معنی‌داری افزایش داد. این آنتی‌اکسین روی وزن تر شاخساره‌ها اثر منفی داشت ولی سایر پارامترهای اندازه‌گیری شده را به طور معنی‌داری تحت تأثیر قرار نداد.

واژه‌های کلیدی: رز، ریزازدیادی، BAP، TIBA

مقدمه

ایران با برخورداری از شرایط متنوع آب‌وهوایی، داشتن نیروی کار ارزان، نور کافی و نزدیکی به بازارهای مصرف منطقه، برای تولید و صادرات گل‌های شاخه بریده رز بسیار مساعد است. سالانه شمار فراوانی بوته‌های رز از ارقام مختلف برای تولید گل‌های شاخه بریده وارد کشور می‌شوند و در گلخانه‌های تجاری مورد استفاده قرار می‌گیرند. برای ورود این میزان بوته‌ی رز، ارزقابل توجهی از کشور خارج می‌شود. از طرف دیگر واردات بوته‌های گل رز عامل اصلی ابتلای گلخانه‌ها به آفات و بیماری‌ها است. بنابراین تولید داخلی بوته‌های رز عاری از آفات و امراض، نه تنها می‌تواند از خروج ارز از کشور و آلودگی گلخانه‌ها به آفات جدید جلوگیری کند بلکه قادر است اشتغال‌زایی بالایی ایجاد نماید (۱). با توجه به مزایای تکثیر درون‌شیشه‌ای رز از جمله تکثیر انبوه و سریع ارقام با ویژگی‌های مطلوب (۱۳)، تولید گیاهان سالم و عاری از بیماری، یکنواختی ژنتیکی گیاهان حاصل، تولید ماده ازدیادی در سراسر سال، ایجاد خصوصیات جدید توسط تغییر ژنتیکی، همزمانی گل‌دهی و آسان شدن برداشت، شاخه‌دهی بهتر و عملکرد گل بالاتر در ارقام مناسب برای گل بریده و شاخه‌دهی بیشتر، رشد و گل‌دهی سریع‌تر در ارقام مناسب برای گیاه گلدانی (۲) انجام مطالعات بیشتر در زمینه بهینه‌سازی تکثیر درون‌شیشه‌ای ارقام مختلف رز ضروری به نظر می‌رسد.

بعد از چند واکشت مکرر در ریزازدیادی، میزان پرآوری شاخساره به شدت کاهش پیدا می‌کند (۱۹). از آنتی‌اکسین‌ها در کشت بافت گیاهی با هدف حذف غالبیت انتهایی، خنثی کردن اکسین تجمع یافته در بافت در پی واکشت‌های مکرر، کمک به ایجاد نسبت بهینه سایتوکینین به اکسین در داخل بافت‌های گیاهی و افزایش میزان و

---

[1] و ۳- دانش آموخته کارشناسی ارشد و استادیار گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

[2]- استادیار گروه مهندسی فضای سبز، دانشگاه تبریز

(*- نویسنده مسئول: Email: azajirlo@tabrizu.ac.ir)

کیفیت پاسخ‌های ریخت‌زایی استفاده می‌شود.ترکیبات ضد اکسین تجاری به دو دسته کلی تقسیم می‌شوند؛ دسته اول شامل برخی ترکیبات طبیعی هم‌چون کوورستین[1] و گنیستین[2] و ترکیبات مصنوعی مثلTIBA، NPA، CA، PBA و HFCA می‌باشند که از انتقال قطبی اکسین جلوگیری می‌کنند و دسته دوم آنتی‌اکسین‌های واقعی مانند PCIB و 2,4,6-T هستند که از عمل اکسین جلوگیری می‌کنند (۱).

افزودن ۱ و ۳ میلی‌گرم در لیترTIBAبه محیط کشت دارای BAP و NAA، در شاخساره‌های سربرداری نشده رز هیبرید چای رقم دکتر ورهاگ، توانست تعداد شاخساره‌های جانبی را افزایش دهد به طوری که حتی شاخساره‌ی جانبی بیشتری نسبت به شاخساره‌های سربرداری شده تولید کرد. ولی در غلظت‌های بالاتر (۱۰، ۳۰ و ۱۰۰ میلی گرم در لیتر)، اثرات مفید این آنتی‌اکسین کاهش یافت. به طور کلی کاربرد همه‌ی غلظت‌های TIBA در شاخساره‌های سربرداری نشده، نسبت به محیط‌کشت فاقد TIBA، شاخساره جانبی بیشتری تولید کرد (۲۴).

در ارقام سونیا و سوپراستار از هیبرید چای، پس از واکشت‌های مکرر روی محیط کشت دارای BAP و NAA، میزان پرآوری شاخساره به شدت کاهش پیدا کرد که کشت دو هفته‌ای روی محیط کشت دارای ۲ و ۴ میکرو مولار TIBA و یا ۰/۳۹ و ۱/۰۶ میکرو مولار 2,4,6-T، موجب افزایش میزان پرآوری، طول شاخساره، ضخامت قاعده‌ی شاخساره، تعداد برگ و محتوای کلروفیل a+b برگ گردید. البته اثرات TIBA روی پارامترهای ذکر شده بیش از 2,4,6-T بود (۱۶ و ۱۹).

هدف از انجام این تحقیق بررسی اثرات BAP و TIBA روی صفات کیفی و کمی شاخساره‌ها در رز رقم فول‌هاوس و به‌دست آوردن غلظت بهینه BAPو TIBAجهت رفع غالبیت انتهایی و تولید تعداد زیادی شاخساره‌ی جانبی با کیفیت بالا است.

مواد و روش‌ها

تهیه‌ی مواد گیاهی: ریزنمونه‌ها از شاخه‌های گل‌دار رز رقم فول‌هاوس(*Rosa hybrida*cv. Full house) از گیاهان مادری چندساله‌ی رشد کرده در گلخانه‌ای واقع در محلات تهیه شدند.

تهیه‌ی محیط کشت: جهت استقرار ریزنمونه‌ها، از محیط‌کشت پایه MS بدون هورمون تکمیل شده با ۳۰ گرم در لیتر ساکارز، ۸ گرم در لیتر آگار و ۱۰۰ میلی گرم در لیتر آنتی‌بیوتیک سفوتاکسیم و برای مرحله پرآوری از محیط‌کشت پایه VS تکمیل شده با ۳۰ گرم در لیتر ساکارز، ۸ گرم در لیتر آگار، ۱/۴۴میکرو مولاراسید جیبرلیک و تنظیم‌کننده‌های رشد BAP و TIBA هر کدام در سه غلظت ۰، ۲/۲ و ۸/۸ میکرو مولار در قالب طرح فاکتوریل استفاده شد. pH محیط‌کشت‌ها در ۵/۷ تنظیم شده و در دمای ۱۲۱ درجه سانتیگراد و فشار ۱/۵ کیلوگرم بر سانتی‌متر مربع به مدت ۲۰ دقیقه اتوکلاو شدند.بنزیل‌آدنین، قبل از اتوکلاو کردن به محیط های کشت اضافه شد اما TIBA، GA_3 و آنتی‌بیوتیک سفوتاکسیم پس از اتوکلاو شدن محیط‌کشت و بوسیله فیلترکردن افزوده شدند.

ضدعفونی و استقرار ریزنمونه‌ها: بعد از حذف برگ‌ها و تیغ‌ها از روی شاخه، قطعات ساقه دارای جوانهٔ جانبی به طول تقریبی ۲ الی ۳ سانتی‌متر از بخش میانی شاخه برش داده شدند و پس از شستشو با مایع ظرف‌شویی خانگی، به مدت نیم ساعت با آب جاری شسته شدند. ضدعفونی ریزنمونه‌ها ابتدا با اتانول ۷۰ درصد به مدت ۵ دقیقه و سپس با سفیدکننده تجاری (میزان کلر فعال در زمان تولید ۵ درصد) ۴۰ درصد به مدت ۳۰ دقیقه انجام شد. به‌منظور حذف باقیمانده مواد ضدعفونی کننده، ریزنمونه‌ها حداقل سه بار با آب مقطر استریل شسته شدند. برای تأثیر بهتر اتانول و سفیدکننده، چند قطره مایع ظرف‌شویی به آن‌ها افزوده شد. پس از حذف دو انتهای برش‌خورده‌ی ریزنمونه‌ها که در اثر مواد ضدعفونی‌کننده، سفید شده بودند، با رعایت قطبیت جوانه، به‌صورت عمودی و به تعداد ۴ عدد در هر ظرف شیشه‌ای بر روی محیط‌کشت مرحله استقرار کشت شدند.

از شاخساره‌های رشد کرده از جوانه‌های جانبی در مرحله استقرار، شاخساره‌هایی با ۴-۳ برگ سبز و طول ۱۵-۱۰ میلی‌متر که دارای جوانه انتهایی شاخه بودند به مرحله پرآوری منتقل شدند. یک ماه بعد از کشت در مرحله پرآوری، ریزنمونه‌ها به محیط‌کشت جدید با همان ترکیب منتقل شدند. کشت‌ها در اتاق رشد با دمای ۲±۲۳ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۷۵ تا ۸۰ درصد، شدت نور ۷۰ تا ۸۰ میکرومول بر متر مربع در ثانیه حاصل از لامپ‌های فلورسنت سفید و فتوپریود ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی نگهداری شدند.

اندازه‌گیری صفات مورد نظر:پس از دو ماه قرارگیری شاخساره‌ها در مرحله پرآوری، درصد ریزنمونه‌هایی که شاخساره جانبی تشکیل دادند (درصد پرآوری)، درصد زنده‌مانی شاخساره‌ها، تعداد شاخساره‌های جانبی، رشد شاخساره‌ی اصلی، متوسط طول شاخساره‌های جانبی، تعداد برگ سبز شاخساره‌ی اصلی، متوسط تعداد برگ سبز شاخساره‌های جانبی، متوسط تعداد برگ کلروز و نکروز شاخساره‌ها، متوسط قطر قاعده‌ی شاخساره‌های جانبی، وزن تر شاخساره‌ها، تعداد شاخساره‌های با نوک نکروز شده اندازه‌گیری شدند.

تجزیه آماری داده‌ها: این تحقیق به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تکرار و ۲ ریزنمونه در هر تکرار اجرا شد.

---

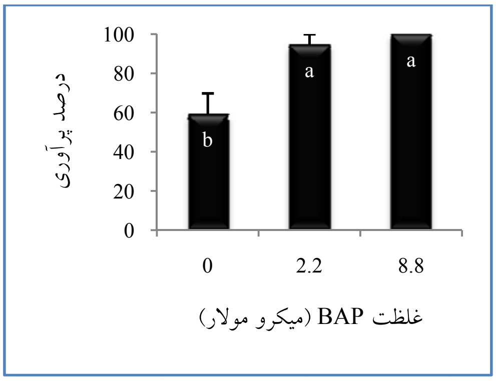
[1] -quercetin

[2] -genistein

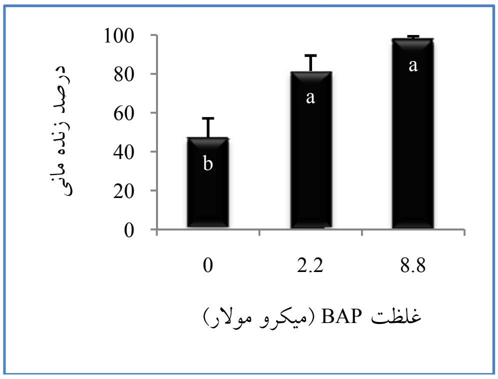
جدول ۱- مقایسه میانگین صفات مورد بررسی در غلظتهای مختلف BAP بر پرآوری شاخساره رز رقم فول هاوس در کشت درون شیشه ای

غلظت‌های مختلف BAP (میکرومولار)	پراوری (درصد)	زنده‌مانی شاخساره‌ها (درصد)	تعداد شاخساره‌های جانبی	رشد طولی شاخساره اصلی (میلی متر)	متوسط طول شاخساره‌های جانبی (میلی متر)	متوسط تعداد برگ سبز شاخساره‌های جانبی	متوسط تعداد برگ کلروز و نکروز شاخساره‌ها	متوسط قطر قاعده‌ی شاخساره‌های جانبی (میلی متر)
۰	۵۹/۵۱b	۴۷/۶۹ b	۰/۹۲ c	b۱/۷۸	۱/۳۸ b	۰/۵۵ c	۳/۳۸ b	۰/۵۱ b
۲/۲	۹۵/۲۱ a	۸۲/۳۱ a	۲/۴۲ b	۷/۶۳ a	۷/۴۲ a	۳/۰۲ b	۳/۸ b	۱/۱۷ a
۸/۸	۹۹/۵۱ a	۹۸/۳۴ a	۴/۱۶ a	۶/۷۱ a	۸/۳ a	۴/۲۳ a	۱/۷۷ a	۱/۳۳ a

میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر ستون تفاوت معنی داری ندارند.



شکل ۱- درصد پرآوری در غلظت‌های مختلف BAPشکل



شکل ۲- درصد زنده‌مانی شاخساره‌ها در غلظت‌های مختلف BAP

فاکتورهای این آزمایش BAP و TIBA بودند. تجزیه واریانس داده‌ها، به کمک نرم‌افزارSPSS نسخه ۱۶ صورت گرفت. برای مقایسه میانگین تیمارها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد استفاده شد و نمودارها با نرم افزار Excel ترسیم شدند. لازم به ذکر است که در کلیه‌ی نمودارها، اشتباه استاندارد میانگین تیمار مورد نظر به عنوان مقدار عددی بار روی هر ستون منظور گردید.

نتایج و بحث

بررسی نتایج ضدعفونی ریزنمونه‌ها در مرحله استقرار: در این تحقیق ضدعفونی ریزنمونه‌ها با اتانول ۷۰ درصد به مدت ۵ دقیقه سپس سفیدکننده‌ی تجاری ۴۰ درصد به مدت ۳۰ دقیقه و استقرار روی محیط‌کشت MS بدون هورمون، میزان آلودگی باکتریایی بسیار بالایی بر جای گذاشت. با افزایش مدت زمان استفاده از اتانول و سفیدکنندهٔ تجاری، میزان آلودگی تا حدودی کاهش پیدا کرد ولی تعداد زیادی از جوانه‌ها صدمه دیده و از بین رفتند. هم‌چنین میزان ترکیبات فنلی ترشح شده از انتهای ریزنمونه‌ها به شدت افزایش یافت. استفاده از محلول آنتی‌بیوتیک به غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر به مدت ۵ دقیقه پس از ضدعفونی ۵ دقیقه‌ای با اتانول ۷۰ درصد و ۳۰ دقیقه‌ای با سفیدکننده تجاری ۴۰ درصد، میزان آلودگی باکتری را تا حدودی کاهش داد. افزودن ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر از این آنتی‌بیوتیک به محیط‌کشت، توانست تعداد زیادی کشت‌های عاری از آلودگی ایجاد نماید. تکمیل محیط‌کشت با غلظت‌های کمتر از ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر آنتی‌بیوتیک سفوتاکسیم، نقش مؤثری در کنترل آلودگی باکتریایی نداشت.

ارزیابی رشد شاخسارها از جوانه‌های جانبی در مرحله استقرار و پرآوری: پس از ۴۰ روز قرارگیری جوانه‌های جانبی در مرحله استقرار ، هر ریزنمونه به طور متوسط، ۱/۲ شاخه با ۱/۱ سانتی متر طول، ۵/۸ برگ سبز (شکل ۷) و ۲/۱ برگ کلروز و نکروز تولید کرد. همچنین، تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که بین تیمارهای مختلف مرحله پرآوری، از نظر تعداد برگ و طول شاخساره‌ها در زمان کشت، هیچ گونه تفاوت معنی‌داری وجود ندارد.

درصد ریزنمونه‌هایی که شاخساره‌ی جانبی تشکیل دادند (درصد پرآوری): در این آزمایش اثر BAP روی درصد پرآوری معنی‌دار (p<۰/۰۱) بود ولی TIBA و BAP×TIBAتاثیر معنی‌داری (p<۰/۰۵) نداشتند. کمترین درصد پرآوری در محیط‌کشت بدون BAP مشاهده شد که تنها ۶۰ درصد از ریزنمونه‌ها، شاخساره‌ی جانبی تولید کردند و شاخساره‌های جانبی تولید شده ضعیف بودند و رشد و زنده‌مانی پایین تری داشتند. با افزودن دو غلظت BAP به محیط‌کشت، درصد پرآوری به طور معنی‌داری افزایش پیدا کرد و از

این نظر بین دو غلظت BAP، تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۱، شکل ۱).مشابه با نتایج به‌دست آمده در این بررسی، مطالعات درون‌شیشه‌ای روی ارقام مختلف هیبرید چای و گونه‌های جنس رز نشان داد که با افزایش غلظت BAP، درصد پرآوری همچنین تعداد شاخساره‌های جانبی و کیفیت شاخساره‌های تولید شده افزایش می‌یابد ولی غلظت BAP را تا حدی می‌توان افزایش داد؛ استفاده از غلظت BAP بالاتر از بهینه، به تعداد زیادی شاخساره با خصوصیات کیفی ضعیف منجر می شود که در مراحل بعدی، رشد و زنده‌مانی پایین دارند (۵، ۹، ۱۱، ۱۲، ۱۴ و ۱۸). همچنین به علت سریع بودن جذب سایتوکینین‌ها توسط ریزنمونه‌ها، محتوای سایتوکینین داخلی گیاه افزایش چشم‌گیری پیدا می‌کند و بافت گیاهی مازاد سایتوکینین را عمدتاً از طریق اکسیداسیون حذف می‌نماید که فرآیندی برگشت‌ناپذیر است. بنابراین بهتر است در مرحله پرآوری به همراه سایتوکینین‌ها از موادی استفاده شود که به استفاده از غلظت کمتر BAP، بهبود پاسخ پرآوری و افزایش کیفیت شاخساره‌های تولید شده کمک نمایند. کاربرد آنتی‌اکسین‌ها در برخی از گیاهان، توانسته است این اهداف را تأمین نمایند. برای مثال در توت (*Morus alba* L. cv. Ichinose)، افزودن ۰/۱ میکرو مولار TIBA به محیط‌کشت دارای سایتوکینین (۱۰ میکرو مولار TDZ یا BAP)، درصد ریزنمونه‌های برگ دارای پتانسیل باززایی را نسبت به محیط‌کشت دارای سایتوکینین (۱۰ میکرو مولار TDZ یا BAP) افزایش داد ولی استفاده از TIBA بدون حضور سایتوکینین در محیط‌کشت، قادر به القای جوانه نبود (۲۲ و ۲۳). بر عکس نتایج به دست آمده در توت، در این بررسی در رز رقم فول هاوس، آنتی‌اکسین TIBA هیچ گونه تأثیری روی درصد پرآوری نداشت. این پدیده به تفاوت در ژنوتیپ، نوع ریزنمونه و غلظت آنتی‌اکسین استفاده شده مربوط است.

در بسیاری از مطالعات درون‌شیشه‌ای، آنتی‌اکسین‌ها توانستند میزان و کیفیت پاسخ‌های ریخت‌زایی را افزایش دهند. در آماریلیس (*Hippeastrum*× *hybridum* hort)، آنتی‌اکسین‌های PCIB، TIBA،HFCA و NPA توانستند تولید پیازچه را بهبود بخشند (۱۵). در چغندر قند، افزایش باززایی شاخه در اثر TIBAگزارش شده است (۲۵). استفاده از BAP در محیط‌کشت جنین‌زایی *Abies nordmanniana*، موجب ایجاد جنین‌های با تعداد لپهٔ کاهش یافته شد. افزودن PCIB به محیط‌کشت، توانست تعداد زیادی جنین‌های بالغ با کیفیت بالا ایجاد نماید ولی TIBA در این گیاه، تأثیر مثبتی روی بلوغ جنین‌ها نداشت (۸).

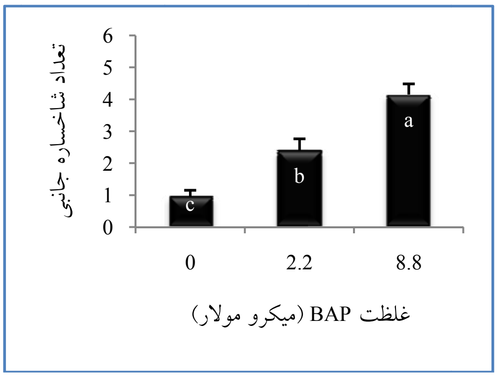
دلیل احتمالی بهبود ویژگی‌های کیفی و کمی در موارد ذکر شده یا موارد مشابه دیگر این است که TIBA، با جلوگیری از انتقال رو به پایین اکسین، نسبت بهینه سایتوکینین به اکسین که برای فعالیت ریخت‌زایی خاص مورد نیاز است را فراهم می‌نمایند(۱۶،۲۱). همچنین مشخص شده است که دو هورمون اکسین و سایتوکینین در سطح متابولیکی برهم‌کنش داشته و میزان اکسین مقدار سایتوکینین را در گیاه کنترل می‌کند.

درصد زنده‌مانی شاخساره‌ها: اثر BAP روی درصد زنده‌مانی شاخساره‌ها معنی‌دار (p<۰/۰۱) بود. در محیط‌کشت بدون BAP، کمتر از نیمی از شاخساره‌ها زنده ماندند. با افزودن ۲/۲ میکرو مولار BAP به محیط‌کشت، درصد زنده‌مانی به طور معنی‌دار افزایش پیدا کرد و در غلظت ۸/۸ میکرو مولار BAP، تقریباً ۱۰۰ درصد ریزنمونه‌ها زنده ماندند (جدول۱، شکل ۲ و ۸). این بررسی نشان می‌دهد که رز در حالت درون‌شیشه‌ای که از منبع عمده بیوسنتز سایتوکینین‌ها یعنی ریشه جداست برای زنده ماندن به حضور سایتوکینین خارجی وابسته است. فقدان سایتوکینین خارجی یا عاملی که موجب کاهش قابل توجه در محتوای داخلی این هورمون گردد نتیجه‌ای جز مرگ گیاه را به دنبال نخواهد داشت. مشابه با نتایج بدست آمده در این تحقیق، در برخی از مطالعات ریزازدیادی رز، شاخساره‌ها در غیاب سایتوکینین، از بین رفتند (۴ و ۵).

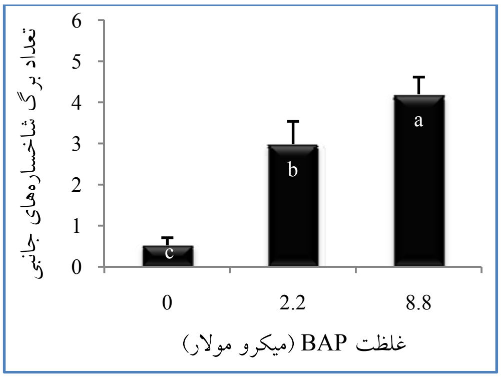
TIBA و BAP×TIBA روی درصد زنده‌مانی شاخساره‌ها غیرمعنی‌دار بود (p<۰/۰۵).در تکثیر درون‌شیشه‌ای سیب‌زمینی شیرین(*Ipomoea batatas* L. cv. Jewel)، عملکرد TIBA روی رشد و زنده‌مانی به غلظت آن بستگی داشت. غلظت ۰/۰۱ میکرو مولار از این آنتی‌اکسین به عنوان تحریک‌کننده رشد عمل کرد؛ غلظت ۰/۱ میکرو مولار از این آنتی‌اکسین اثری روی رشد نداشت؛ غلظت‌های ۱ تا ۱۰ میکرو مولار بازدارنده رشد بود و غلظت ۱۰۰ میکرو مولار TIBA، برای ریزنمونه‌های جوانه‌ی جانبی این گیاه کشنده بود (۱۰).

تعداد شاخساره‌های جانبی: اثر BAPروی تعداد شاخساره‌های جانبی معنی‌دار (p<۰/۰۱) بود. در محیط‌کشت بدون BAP، شاخساره‌های جانبی بسیار کمی تشکیل شد و با افزایش غلظت BAP، تعداد شاخساره‌های جانبی به طور معنی‌داری افزایش پیدا کرد (جدول۱، شکل ۳). مشابه این پدیده در سایر ارقام هیبرید چای و گونه‌های جنس رز نیز مشاهده شده است (۴، ۵، ۹، ۱۱، ۱۲ و ۱۸) پارامترهای تعداد شاخساره جانبی، درصد پرآوری و درصد زنده‌مانی به خوبی نشان دادند که گیاه رز در حالت درون‌شیشه‌ای برای زنده‌مانی و ایجاد پرآوری مناسب، نیازمند سایتوکینین است.

اثرات TIBA و BAP×TIBA روی تعداد شاخساره جانبی در رز رقم فول هاوس غیر معنی‌دار (p<۰/۰۵) بود. افزودن ۱ میلی گرم در لیتر TIBAبه محیط‌کشت دارای BAP و NAA، در شاخساره‌های سربرداری نشده رز هیبرید چای رقم دکتر ورهاگ، توانست تعداد شاخساره‌های جانبی را افزایش دهد به طوری که حتی تعداد شاخساره‌ی جانبی بیشتری نسبت به شاخساره‌های سربرداری شده تولید کرد.



شکل ۳- تعداد شاخساره‌های جانبی در غلظت‌های مختلف BAP



شکل ٤- متوسط تعداد برگ سبز شاخساره‌های جانبی در غلظت‌های مختلف BAP

با افزودن ۳ میلی گرم در لیتر TIBA اثرات بهبود دهنده‌ی بیشتری مشاهده شد (۲۴). در ارقام سونیا و سوپر استار از هیبرید چای، پس از ۱۰ واکشت متوالی روی محیط‌کشت دارای BAP و NAA، میزان پرآوری به شدت کاهش پیدا کرد. قرارگیری شاخساره‌ها به مدت ۲ هفته روی محیط‌کشت دارای TIBA (۲ یا ۴ میکرو مولار) و یا 2,4,6-T (۰/۳۹ یا ۱/۰۶ میکرو مولار)، سپس واکشت روی محیط‌کشت بدون NAA، موجب افزایش میزان پرآوری گردید. البته اثر TIBA بیشتر از 2,4,6-T معنی‌دار بود (۱۹).

رشد طولی شاخساره‌ی اصلی: اثر BAP روی رشد طولی شاخساره‌ی اصلی (p<۰/۰۱) معنی‌دار بود. کمترین رشد طولی شاخساره‌ی اصلی در محیط‌کشت فاقد BAP مشاهده شد و با افزودن ۲/۲ میکرو مولار BAP به محیط‌کشت، رشد طولی شاخساره‌ی اصلی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. در غلظت ۸/۸ میکرو مولار BAP، رشد طولی شاخساره‌ی اصلی کاهش غیرمعنی‌داری را نسبت به غلظت ۲/۲ میکرو مولار BAP نشان داد. از آنجایی که سایتوکینین‌ها محرک تقسیم سلولی و رشد در گیاهان می‌باشند بنابراین در محیط‌کشت فاقد BAP، رشد طولی شاخساره اصلی بسیار کند بود و با افزودن BAP به محیط‌کشت، رشد شاخساره‌ی اصلی تحریک شد. در غلظت ۸/۸ میکرو مولار BAP، تعداد شاخساره‌ی جانبی بیشتری نسبت به غلظت ۲/۲ میکرو مولار BAP تولید شده بود (جدول۱) بنابراین شاخساره‌ی اصلی توان کمتری برای رشد داشت و طول کمتری پیدا کرد.

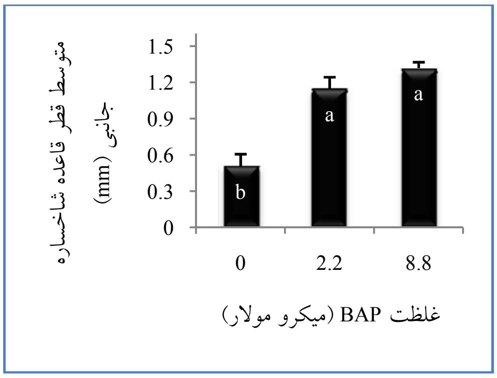
TIBA و BAP×TIBA روی رشد طولی شاخساره‌ی اصلی در رز رقم فول هاوس اثر معنی‌داری (p<۰/۰۵) نداشت. استفاده از غلظت‌های ۲ و ۴ میکرو مولار TIBAدر ارقام سونیا و سوپر استار از هیبرید چای، طول شاخساره‌ها را افزایش داد (۱۹). با توجه به موارد ذکر شده اثرات TIBA، به غلظت آنتی‌اکسین به کار رفته و محتوای اکسین داخلی گیاه بستگی دارد که در اثر تقابل این دو عامل ممکن است TIBA اثرات افزاینده، کاهنده و یا بی‌اثر داشته باشد. TIBA در دو غلظت استفاده شده در این بررسی هیچ اثری روی رشد طولی شاخساره اصلی نداشتند. تفاوت در نتیجه این آزمایش با نتایج حاصل شده در ارقام رز سونیا، سوپر استار شاید به علت تفاوت محتوای اکسین داخلی در اثر تغییر ژنوتیپ و یا کوتاه بودن دوره تیمار با آنتی‌اکسین در ارقام سونیا و سوپر استار باشد.

متوسط طول شاخساره‌های جانبی: BAP اثر معنی‌داری را روی متوسط طول شاخساره‌های جانبی (p<۰/۰۱) داشت. در این آزمایش متوسط طول شاخساره‌های جانبی در محیط‌کشت فاقد BAP، کمترین مقدار را داشت. در واقع در این محیط‌کشت، شاخساره‌ها، تعداد کمی پرآوری با رشد ضعیف تشکیل دادند. با افزودن ۲/۲ و ۸/۸ میکرو مولار BAP به محیط‌کشت، متوسط طول شاخساره‌های جانبی افزایش معنی‌داری پیدا کرد(جدول ۱). TIBA و اثرات متقابل آن با BAP روی متوسط طول شاخساره‌های جانبی غیرمعنی‌دار (p<۰/۰۵) بود.

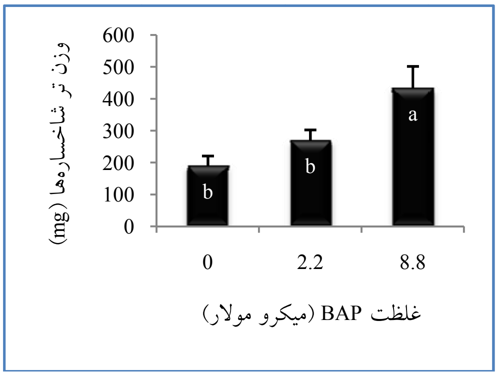
تعداد برگ سبز شاخساره‌ی اصلی:BAP، TIBA و BAP×TIBA، اثر معنی‌داری (p<۰/۰۵) روی تعداد برگ سبز در شاخساره‌ی اصلی نداشت.

متوسط تعداد برگ سبز شاخساره‌های جانبی: BAP اثر معنی‌داری روی متوسط تعداد برگ سبز شاخساره‌های جانبی (p<۰/۰۱) داشت. در این آزمایش کمترین تعداد برگ سبز در شاخساره‌های جانبی در محیط‌کشت بدون BAP بود. با افزایش غلظت BAP، برگ سبز بیشتری در شاخساره‌های جانبی تولید شد (جدول۱، شکل ۴).

این پدیده به علت نقش سایتوکینین‌ها در تحریک رشد و تولید برگ‌های جدید است. به طور مشابه در رقم آیسبرگ از هیبرید چای، با افزایش غلظت BAP تا ۴ میکرو مولار، تعداد پرآوری و میانگین تعداد برگ افزایش یافت ولی در غلظت بالاتر از ۴ میکرو مولار در هر دو پارامتر کاهش مشاهده شد (۱۱).



شکل ۵- متوسط قطر قاعده‌ی شاخساره‌های جانبی در غلظت‌های مختلف BAP



شکل ٦- وزن تر شاخساره‌ها در غلظت‌های مختلف TIBA

اثر TIBA و اثرات متقابل این آنتی‌اکسین با BAP، روی متوسط تعداد برگ سبز شاخساره‌های جانبی غیرمعنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$). کاربرد آنتی‌اکسین‌های TIBA و 2,4,6-T در ارقام سونیا و سوپر استار از هیبرید چای، تعداد برگ را افزایش داد (۱۹).TIBA در غلظت‌های ۲/۲ و ۸/۸ میکرو مولار TIBA در رز رقم فول هاوس هیچ گونه اثری روی متوسط تعداد برگ سبز شاخساره‌های جانبی نداشت.

متوسط تعداد برگ کلروز و نکروز شاخساره‌ها: یکی از مشکلات کشت بافت رز، زرد شدن برگ‌ها است (۱۷). BAP دارای اثر معنی‌داری ($p<۰/۰۱$) روی متوسط تعداد برگ کلروز و نکروز شاخساره‌ها بود. در محیط‌کشت فاقد BAP، تقریباً ۳/۵ برگ در هر شاخساره، دچار کلروز و نکروز شده بود. افزودن غلظت ۲/۲ میکرو مولار BAP، متوسط تعداد برگ کلروز و نکروز شاخساره‌ها را به طور غیرمعنی‌داری نسبت به محیط‌کشت فاقد BAP افزایش داد. این پدیده شاید بدین علت باشد که BAP، رشد و تولید برگ را افزایش می‌دهد که برخی از این برگ‌های تولید شده، دچار کلروز و نکروز شدند. ولی در محیط‌کشت دارای ۸/۸ میکرو مولار BAP، متوسط تعداد برگ کلروز و نکروز شاخساره‌ها به طور معنی‌داری کاهش پید ا کرد (جدول۱). از طرفی متوسط تعداد برگ سبز در شاخساره‌ی جانبی افزایش یافته بود که نشان دهنده‌ی نقش سایتوکینین‌ها در به تأخیر انداختن پیری برگ‌ها می‌باشد.

TIBA و BAP×TIBA اثر معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) روی متوسط تعداد برگ کلروز و نکروز شاخساره‌ها نداشتند. در برخی از مطالعات، کاربرد TIBA موجب افزایش کلروفیل شده است برای مثال کاربرد ۲ و ۴ میکرو مولار TIBA در محیط‌کشت ارقام سونیا و سوپر استار از هیبرید چای، محتوای کلروفیل a+b برگ‌ها را افزایش داد (۱۶ و ۱۹).

متوسط قطر قاعده‌ی شاخساره‌های جانبی: اثر BAP روی متوسط قطر قاعده‌ی شاخساره جانبی معنی‌دار ($p<۰/۰۱$) بود ولی TIBAو BAP×TIBA اثر معنی‌داری روی این پارامتر نداشتند ($p<۰/۰۵$). در محیط‌کشت فاقد BAP، شاخساره‌های جانبی بسیار نازک و ضعیف بودند با افزودن BAP به محیط کشت، شاخساره‌های جانبی با قاعده‌ی ضخیم‌تر تولید شد (جدول۱، شکل ۵). سینگ و سیام (2001) بیان کردند که شاخساره‌های با قاعده‌ی ضخیم، آغازه‌های ریشه را سریع‌تر تشکیل می‌دهند در حالی که شاخساره‌های نازک، در انتهای بریده شده، توده کالوس تشکیل می‌دهند که ریشه‌دهی را به تأخیر می‌اندازد(۲۰). استفاده از TIBA و 2,4,6-T موجب افزایش ضخامت قاعده‌ی شاخساره‌های جانبی در ارقام سونیا و سوپر استار از رز هیبرید چای شد (۱۹). ولی در این بررسی TIBA در غلظت‌های مورد بررسی روی متوسط قطر قاعده‌ی شاخساره جانبی اثری نداشت که ممکن است به علت تفاوت در ژنوتیپ و مدت در معرض بودن باشد.

شکل ۷- شاخساره‌های رشد کرده از جوانه‌های جانبی

وزن تر شاخساره‌ها: BAP اثر معنی‌داری روی وزن تر شاخساره‌ها ($p<۰/۰۱$) داشت. کمترین وزن تر شاخساره‌ها در محیط‌کشت فاقد BAP بود و در غلظت ۲/۲ میکرو مولار وزن تر شاخساره‌ها، افزایش کمی پیدا کرد. غلظت ۸/۸ میکرو مولار BAP، وزن تر شاخساره‌ها را به طور معنی‌داری افزایش داد.

اثر TIBA روی وزن تر شاخساره‌ها معنی‌دار ($p<۰/۰۱$) بودولی

اثر BAP×TIBA غیرمعنی‌دار (p<۰/۰۵) بود. در محیط‌کشت فاقد TIBA، شاخساره‌ها بیشترین وزن تر را داشتند ولی با افزودن غلظت‌های ۲/۲ و ۸/۸ میکرو مولار TIBA به محیط‌کشت، وزن تر به طور معنی‌داری کاهش پیدا کرد (شکل ۶). نتایج این آزمایش و شواهد دیگر که در بالا اشاره شد نشان دهنده‌ی اثرات مفید TIBA در غلظت‌های کم و اثرات مضر آن در غلظت‌های بالا روی فرآیندهای فتوسنتزی گیاه است. کاهش وزن تر شاخساره‌ها در این بررسی نشان می‌دهد که غلظت‌های ۲/۲ و ۸/۸ میکرو مولار TIBA برای رز رقم فول هاوس بالاست.

تعداد شاخساره‌های با نوک نکروز شده: یکی از مشکلات کشت بافت رز، نکروزه شدن نوک شاخساره است که به تدریج موجب از بین رفتن کل شاخساره می‌شود. علت نکروزه شدن نوک شاخساره‌ها کمبود عنصر کلسیم بیان شده است (۱۷). در این آزمایش اثر TIBA روی نکروزه شدن نوک شاخساره‌ها معنی‌دار (p<۰/۰۵) بود ولی اثرات BAP و BAP×TIBA روی این صفت غیرمعنی‌دار (p<۰/۰۵) بود. در محیط‌کشت فاقد TIBA و دارای ۲/۲ میکرو مولار TIBA، تعداد شاخساره با نوک نکروزه شده کم بود و تفاوت معنی‌داری با هم نداشتند ولی در غلظت ۸/۸میکرو مولار از این آنتی‌اکسین، تعداد شاخساره‌های با نوک نکروزه شده به طور معنی‌داری افزایش یافت؛ TIBA که یک بازدارنده از انتقال قطبی اکسین است تعداد شاخساره‌های با نوک نکروزه شده را افزایش داد.

در کل آنتی‌اکسین‌ها در غلظت‌های مناسب، می‌توانند با جلوگیری از انتقال رو به پایین اکسین یا جلوگیری از عمل اکسین، به ایجاد نسبت مناسب سایتوکینین به اکسین که برای رشد جوانه‌ی جانبی، تشکیل جوانه نابجا یا پاسخ ریخت‌زایی خاص کمک نمایند. غلظت مناسب آنتی‌اکسین به محتوای اکسین داخلی بافت بستگی دارد. در واقع انتقال قطبی اکسین تنها یک روش برای انتقال اکسین نیست بلکه بسیاری از فرآیندهای نموی گیاه مثل انتقال رو به بالای کلسیم، تقسیم سلولی، تمایزیابی دستجات آوندی، طویل شدن ساقه، تقارن برگ و گرایش‌ها را نیز کنترل می‌نماید بنابراین بازدارنده‌های انتقال قطبی اکسین در غلظت‌های بالا با جلوگیری بیش از حد از انتقال رو به پایین اکسین می‌توانند این فرآیندها را مختل نمایند. بازدارنده‌های انتقال قطبی اکسین، TIBA، HFCA و CA موجب تشکیل برگ‌های غیرنرمال در ریزنمونه‌های *Orychophragmus vilaceus* و *Nicotiana tabacum* و *Brassica chinensis* شدند. تعداد برگ‌های غیرطبیعی تشکیل شده، به غلظت این بازدارنده‌ها در محیط‌کشت بستگی داشت (۳). همچنین TIBA موجب ایجاد جنین‌های بد شکل در گندم (۷) و *Elutherococcus senticosus* (۶) شد. در تکثیر درون‌شیشه‌ای رز به علت نیاز ریزنمونه‌ها به سایتوکینین، بهتر است از آنتی‌اکسین‌ها به همراه سایتوکینین استفاده شود تا نتایج بهتر حاصل گردد. نتایج بدست آمده در این بررسی نشان داد که در تکثیر درون شیشه‌ای رز رقم فول هاوس، آنتی‌اکسین TIBA در غلظت‌های ۲/۲ و ۸/۸ میکرو مولار نه تنها اثرات مفیدی به دنبال نداشت بلکه اثرات مضری هم بر جای گذاشت.

شکل ۸- شاخساره‌های رشد کرده در محیط‌کشت حاوی ۲/۲ میکرو مولار BAP (الف) و ۸/۸ میکرو مولار BAP(ب)

منابع

۱- بی نام. ۱۳۹۰. آمار دفتر امور سبزی، گیاهان زینتی و دارویی معاونت تولیدات گیاهی وزارت جهاد کشاورزی. انتشارات وزارت جهاد کشاورزی

۲-فتحی ق. و اسماعیل‌پور ب. ۱۳۷۹. مواد تنظیم کننده رشدگیاهی. اصول وکاربرد (ترجمه). چاپ دوم. انتشارات جهاددانشگاهی مشهد.

3-An N.D., Wang L.J., Xu Z.H., and Xia Z.A. 1999. Foliar modifications induced by inhibition of polar transport of auxin. Cell Research, 9: 27-35.

4-Azadi P., Khosh-Khui M., Beyramizadeh E., and Bagheri H. 2007. Optimization of Factors Affecting *in vitro* Proliferation and Rooting of *Rosa hybrida* L. cv. ‘Rafaela’. International Journal of Agricultural Research, 2(7): 626-631.

5-Carelli B.P., and Echeverrigaray S. 2002. An improved system for the in vitro propagation of rose cultivars. ScientiaHorticulturae, 92: 69-74.

6-Choi Y.E., Katsumi M., and Sano H. 2001.Triiodobenzoic acid, an auxin polar transport inhibitor, suppresses somatic

embryo formation and postembryonic shoot/root development in *Eleutherococcussenticosus*. Plant Science, 160(6): 1183-1190.

7-Christiane F., and Neuhaus G. 1996. Influence of auxin on the establishment of bilateral symmetry in monocots. The plant Journal,9(5): 659-669.

8-Find J., Graceb L., and Krogstrup P. 2002. Effect of anti-auxins on maturation of embryogenic tissue cultures of Nordmanns fir (*Abies nordmanniana*). Physiologia Plantarum, 116: 231–237.

9-Jabbarzadeh Z., and Khosh-Khui M. 2005. Factors affecting tissue culture of Damask rose (*Rosa damascena* Mill.).Scientia Horticulturae, 105: 475-482.

10-Jarret R.L. 1997. Effects of chemical growth retardants on growth and development of sweetpotato (*Ipomoea batatas*(L.) Lam.) *in vitro*. Journal of Plant Growth Regulation, 16: 227-231.

11-Khosravi P., Kermani M.J., Nematzadeh G.A., and Bihamta M.R. 2007. A protocol for mass production of *Rosa hybrida* cv. Iceberg through *in vitro* propagation. Iranian Journal of Biotechnology, 5(2): 100-104.

12-Ma Y., Byrne D.H., and Chen J. 1996. Propagation of rose species *in vitro.* In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant, 32: 103-108.

13-Martin C. 1985. Plant breeding in vitro. Endeavour, 9:81-86

14-Nikbakht A., Kafi M., Mirmasoudi M. and Babalar M. 2005. Micropropagation of Damask rose (*Rosa damascena*) cvs Azaran and Ghamsar. International Journal of Agriculture and Biology, 4: 535-538.

15-Okubo H., Huang C.W., and Kishimoto F. 1999 .Effects of anti-auxins and basal plate on bulblet formation in scale propagation of amaryllis (*Hippeastrum* × *hybridum* hort.). Japanese Society for Horticultural Science, 68(3): 513-518.

16-Pietryczuk1 A., Czerpak R., Grabowska M. and Wolski T. 2009. The Effect of Sodium Amidotrizoate on the Growth and Metabolism of *Wolffiaarrhiza* (L.) Wimm. Polish J. of Environ. Stud. Vol. 18, No. 5: 885-891

17-Podwyszynska M. and Goszczynska D.M. 1998. Effect of inhibitors of ethylene biosynthesis and action, as well as calcium and magnesium on rose shoot rooting, shoot tip necrosis and lesf senescence *in vitro*. Acta Physiologiae Plantarum, 20(1): 91-98.

18-Shabbir A., Hameed N., Ali A. and Bajwa R. 2009. Effect of different cultural conditions on micropropagation of rose (*Rosa indica* L.). Pakistan Journal of Botany, 41(6): 2877-2882.

19-Singh S.K. and Syamal M.M. 2000. Anti-auxinenhance*Rosa hybrida* L. micropropagation. Biologia Plantarum, 43(2): 279-281.

20-Singh S.K., and Syamal M.M. 2001. A short pre-culture soak in thidiazuron or forchlorfenuron improves axillary shoot proliferation in rose micropropagation. Scientia Horticulturae, 91: 169-177.

21-Sreevidya V.S., Hernandez-Oane R.J., Gyaneshwar P., Lara-Flores M., Ladha J.K., and Reddy P.M. 2010. Changes in auxin distribution patterns during lateral root development in rice. Plant Science 178: 531–538

22-Sugimura Y., Adachi T., Kotani E. and Furusawa T. 1998. Shoot bud formation and plantlet regeneration from the basal tissue of mulberry leaves. Journal of Sericultural Science of Japan, 67(5): 421-424.

23-Sugimura Y., Adachi T., Kotani E., and Furusawa T. 1999. Efficient induction of shoot organogenesis from leaves of mulberry seedling using 2,3,5-triiodobenzoic acid. Plant Biotechnology, 16(2): 123-127.

24-Voyiatzi C. and Voyiatzis D.G. 1988. Shoot proliferation of the rose cv. (H.T) Dr. Verhage as influenced by apical dominance regulating substances. Acta Horticulture, 226: 671-674.

25-Zhang C.L., Chen D.F., Elliott M.C., and Slater A. 2004. Efficient procedures for callus induction and adventitious shoot organogenesis in sugar beet (*Beta vulgaris* L.) breeding lines. In vitro Cellular and Developmental Biology-Plant, 40: 475-481.