

مقاله پژوهشی

ریز ازدیادی رز (*Rosa hybrid. cv. Maurossia*) و مقایسه تشریحی اندام‌های رویشی در گیاهان باززایی شده و زراعی

مهسا امین صالحی^۱، پریسا جنوبی^{۱*}، خدیجه رضوی^۲، معصومه زینی پور^۱

^۱ گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران.

^۲ پژوهشکده بیوتکنولوژی و مهندسی ژنتیک، تهران.

* Email: Jonoubi@khu.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۸/۰۳/۰۹ تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۷/۰۲

چکیده

گل رز (*Rosa hybrid L.*) از مهم‌ترین گیاهان زینتی و اقتصادی است که یکی از روش‌های نوین در تولید انبوه این گیاه کشت بافت است. در این تحقیق بعد از بهینه مراحل ضدعفونی سطحی ریزنمونه‌ها با هیپوکلریت سدیم، از محیط کشت MS به همراه غلظت‌های مختلف BA جهت استقرار ریزنمونه‌های استفاده شد. این طرح در سه تکرار و هر تکرار شامل ۵ ریزنمونه به صورت طرح کاملاً تصادفی اجرا گردید. بیشترین درصد استقرار در غلظت $0.2 \text{ mg l}^{-1} \text{ BA}$ مشاهده شد. سپس گیاهچه‌ها به منظور پرآوری به محیط کشت MS دارای غلظت‌های مختلف هورمون‌های BA، NAA و IAA انتقال یافتند. همچنین در بررسی اندام‌زایی غیرمستقیم، ریزنمونه‌های برگ به همراه دمبرگ به محیط کشت MS به همراه هورمون‌های BA و NAA با غلظت‌های مختلف به کار برده شدند. پس از آن گیاهچه‌ها به محیط ریشه‌زایی MS و $MS/2$ با هورمون‌های IBA و فلوروگلوکوسینول انتقال داده شدند و نتایج ثبت گردید. نتایج نشان داد بهینه میانگین شاخه در غلظت $2 \text{ mg l}^{-1} \text{ BA}$ و $0.5 \text{ mg l}^{-1} \text{ IAA}$ به دست آمد. بهینه درصد اندام‌زایی در غلظت $2 \text{ mg l}^{-1} \text{ BA}$ و $1 \text{ mg l}^{-1} \text{ NAA}$ مشاهده شد. بهینه ریشه‌زایی در گیاهچه‌های انتقال یافته به محیط $MS/2$ و با غلظت هورمونی $1 \text{ mg l}^{-1} \text{ BA}$ و $0.2 \text{ mg l}^{-1} \text{ PhI}$ مشاهده شد. همچنین با توجه به اهمیت ریخت‌شناسی خانواده *Rosaceae* مطالعات تشریحی- تکوینی اندام‌های رویشی در ۲ نمونه باغی و درون شیشه مقایسه و نتایج نشان داد که ساختارهای کلی در هر دو نمونه شباهت بسیاری دارند.

کلیدواژه‌ها: جوانه جانبی، رزاسه، ریزنمونه، ساختار تشریحی، کشت درون شیشه‌ای.

مقدمه

گیاهان این خانواده به صورت علفی، درخت یا درختچه‌ای هستند. رز دارای گل‌های مشخص، منظم، دوجنسی و گاهی تک‌جنسی است که گلبرگ‌ها در آن آزادند، برگ‌های گل رز متناوب و ساقه‌های آن

رزها به عنوان مهم‌ترین گیاهان زینتی در سراسر جهان شناخته می‌شوند. گل رز بانام علمی *Rosa hybrid L.* متعلق به خانواده گل‌سرخیان هست.

همکاران (۱۳۸۵) در مطالعه‌ای روی کشت بافت گل محمدی بیان کردند که محیط کشت MS بر WPM ارجحیت دارد و کشت استاندارد MS بهترین میزان رشد و پرآوری را در بین رقم‌های مختلف رز القا می‌کند.

افزودن هورمون بنزیل آدنین ($1-10 \text{ mg l}^{-1}$) در محیط پرآوری شاخه برای شکست رکود جوانه و پرآوری شاخه‌ها در رقم‌های گل رز ضروری به نظر می‌رسد. اغلب اساسی‌ترین مرحله در اجرای موفق شیوه‌های گوناگون بیوتکنولوژی در برنامه‌های بهسازی، باززایی درون شیشه‌ای است. القای شاخه‌های نابجا و باززایی از کالوس‌های کشت‌شده به‌منظور ایجاد تنوع سوماکلونال همواره اهمیت داشته و در برنامه‌های اصلاحی به کار گرفته شده است [۸].

در آزمایشی که Pourhosseini و همکاران (۲۰۱۳) در بررسی باززایی مستقیم و غیرمستقیم در چند رقم رز انجام دادند، برتری زمانی و مناسب بودن روش اندام‌زایی مستقیم را نسبت به غیرمستقیم و رویان‌زایی پیکری گزارش کردند. برخی از محققان از ۲ محیط القایی و محیط شاخه‌دهی به‌منظور اندام‌زایی مستقیم استفاده کردند که محیط القایی شامل TDZ، NAA یا IBA بود [۱۵].

توانایی ریشه دهی در شرایط آزمایشگاهی به‌طور گسترده‌ای در میان ارقام مختلف گیاهی متفاوت است. به‌کارگیری تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی نظیر اکسین‌های طبیعی یا مصنوعی، پیش‌نیازی برای القای ریشه نابجا روی ساقه است. اغلب پژوهشگران موفق به ریشه‌دار کردن شاخه‌های پرآوری شده کشت بافتی در محیط‌های حاوی غلظت‌های کم IAA، IBA یا NAA شده‌اند [۹، ۸].

تیغ دارند که البته انواع اصلی و قدیمی دارای ساقه‌های بسیار پرتیغ بوده‌اند. در این گل ۵ عدد کاسبرگ و ۱۵ عدد یا بیشتر پرچم وجود دارد و دانه‌های بدون آلبومن هستند [۲۲]. فناوری کشت بافت به‌عنوان یک روش پایه‌ای و یک ابزار محوری بسیار عالی در تکثیر و به‌نژادی نژاد گونه‌های گیاهی مهم، موقعیت ویژه‌ای را کسب کرده است. طی سال‌های گذشته پژوهش‌هایی مبنی بر تکثیر درون شیشه‌ای رز به نگرارش درآمده است. در چندین سال اخیر کشت درون شیشه‌ای ریز ازدیادی مناسب تولید گل‌های شاخه بریده بوده و شاخه دهی بیشتر، بهتر و در برخی موارد عملکرد گلدهی آن‌ها نیز بالاتر است [۱]. ریزازدیادی گل رز با استفاده از کشت جوانه انتهایی و جانبی توسط محققین زیادی گزارش شده است [۳۲]. متداول‌ترین ریزنمونه مورد استفاده، قطعات جوانه‌دار ساقه (Nodal stem Segment) بوده و جوانه‌های جانبی آن‌ها استعداد تولید شاخه‌های چندتایی را دارا می‌باشند [۲۳].

برای داشتن کشت‌هایی عاری از آلودگی داشتن اطلاعات در مورد صفات فیزیولوژیکی هرگونه و حساسیت آن‌ها به انواع آلودگی‌ها لازم و ضروری هست [۲۳]. در رز مطالعاتی در مورد ضدعفونی سطحی انجام شده است. در بیشتر ریزنمونه‌ها شیوه متداول ضدعفونی سطحی اولیه با اتانول ۷۰ درصد به مدت ۳۰-۲۰ ثانیه و سپس شستشو با کلرید جیوه ۰/۱٪ به مدت ۷ دقیقه و سپس آبکشی با آب مقطر سترون است [۲۶].

یکی از مهم‌ترین عوامل رشد و ایجاد ریخت‌زایی در کشت بافت گیاهی، مواد تشکیل‌دهنده محیط کشت هست. محیط کشت [MS۲۱]. یکی از پرمصرف‌ترین محیط‌های پایه برای اکثر گیاهان هست. عصاره و

Tween80 به مدت ۴۵ دقیقه شستشو داده شدند و سپس در داخل هود استریل در محلول اتانول ۷۰٪ (v/v) به مدت ۳۰ ثانیه روی شیکر قرار گرفته و پس از شستشو با آب مقطر سترون، نیمی از جوانه‌ها با استفاده از هیپوکلریت سدیم ۲/۵٪ به مدت ۲۰ دقیقه و نیمی دیگر در کلرید جیوه ۰/۱٪ به مدت ۸ دقیقه قرار گرفتند. در ادامه ریزنمونه‌ها ۳ مرتبه با آب مقطر سترون آبکشی شدند و پس از برش مجدد انتهایی، در محیط کشت سترون MS حاوی ۴ غلظت ($0.5, 1, 1.5, 2 \text{ mg l}^{-1}$) BA مطابق جدول ۲ کشت و تحت شرایط ۱۶ ساعت طول روز در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. در هر ظرف کشت ۵ الی ۷ ریز نمونه کشت شد. پس از گذشت یک هفته درصد جوانه‌های عاری از آلودگی و تعداد ریزنمونه‌های رشد کرده شمارش شدند. این پژوهش در قالب فاکتوریل با طرح پایه کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد.

پراوری شاخساره‌ها

جهت بررسی اثر تنظیم‌کننده‌های رشد بر پراوری شاخساره‌ها، تیمارهای مختلف شامل غلظت‌های مختلف ($1, 2, 3, 4 \text{ mg l}^{-1}$) BA به همراه NAA ($0.3, 0.5 \text{ mg l}^{-1}$) و برهم‌کنش هورمون BA ($1, 2, 3, 4 \text{ mg l}^{-1}$) IAA ($0.3, 0.5 \text{ mg l}^{-1}$) به همراه ۴ mg l^{-1} مورد بررسی قرار گرفتند. شاخساره‌های سالم رشد نموده در محیط کشت استقرار پس از ۴ هفته قرارگیری در ۱۶ ساعت طول روز در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، به محیط‌های کشت پراوری منتقل شده و هر ۳-۴ هفته در محیط کشت تازه واگشت شدند و پس از ۶۰ روز درصد پراوری مورد بررسی قرار گرفت (جدول ۳).

توسعه دانش زیست‌شناسی تکوینی و بررسی چگونگی اندام‌های رویشی برای حفظ گیاهان از جمله گیاهان مهم در بخش کشاورزی بسیار حائز اهمیت است [۵].

طی سال‌های گذشته گزارش‌هایی مبنی بر ریزازدیادی گل رز از طریق کشت بافت منتشر شده است، با این وجود، یک روش یکسان و خاص در این زمینه با توجه به تنوع رقم‌ها و ژنوتیپ‌ها، قابل‌ارائه نبوده است. از سویی، با توجه به اهمیت این گل در ایران و اهمیت گل رز به‌عنوان ملکه گل‌ها، حفظ و تکثیر این رقم‌ها از اهمیت بسیاری برخوردار است. در این پژوهش در ابتدا به استقرار ریزنمونه‌های عاری از پاتوژن پرداخته شده و سپس مراحل ریزازدیادی شامل پراوری، شاخه‌زایی، باززایی و ریشه‌زایی مورد بررسی قرار گرفت همچنین با توجه به بررسی‌های مرجع شناختی انجام شده اطلاعات دقیقی در زمینه تشریحی و تکوینی گیاه رز در دسترس نیست، بنابراین یکی از اهداف این پژوهش مقایسه بررسی ساختارهای رویشی گیاه رز در شرایط باغی و درون شیشه است که نشانگر اجتناب از ایجاد تنوع سوماکلونال هست.

مواد و روش‌ها

گل رز (*Rosa hybrid L.*) رقم *Maurossia* از مرکز تحقیقات گل و گیاه محلات تهیه گردید.

ضدعفونی و استقرار جوانه‌ها

قطعه‌هایی از جوانه‌های کناری به طول ۲ الی ۳ سانتی‌متر از ساقه جوانه‌دار گیاهان سالم پس از حذف برگ‌ها، تحت دو تیمار ضدعفونی قرار گرفتند. بدین‌صورت که ابتدا در آب جاری به همراه با ۳%

کالوس زایی و اندام‌زایی غیرمستقیم

از آنجایی که در برنامه‌های اصلاحی و انتقال ژن باززایی گیاهان از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است و گزارش‌های متعددی از باززایی مستقیم و غیرمستقیم رز در دسترس نیست، اقدام به القای کالوس و باززایی غیرمستقیم در رز گردید. بدین منظور پس از پرآوری، ریزنمونه قسمت پایینی برگچه‌ها به‌عنوان منبع برای مرحله باززایی مورد آزمایش قرار گرفتند. در این طرح از اندام‌زایی غیرمستقیم جهت باززایی گیاهان استفاده شد. در این بررسی ریزنمونه‌های برگ به همراه دم‌برگ پس از جداسازی از سطح پشتی خود بر روی محیط قرار گرفتند. به‌منظور بهینه‌سازی محیط اندام‌زایی غیرمستقیم از تیمارهای متفاوت هورمون‌های مختلف BA به میزان 2 mg l^{-1} به‌تنهایی و نیز به‌همراه ۴ غلظت NAA ($0.2, 0.4, 0.6, 0.8 \text{ mg l}^{-1}$) استفاده شد. ظروف کشت به مدت یک هفته در اتاق رشد و در شرایط تاریکی و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. سپس شیشه‌های کشت به شرایط ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی منتقل شدند و پس از واکنش درصد اندام‌زایی ریزنمونه‌ها ارزیابی و گزارش شد.

القای ریشه در شاخساره‌ها

شاخساره‌هایی قوی با ارتفاع تقریبی ۱ سانتی‌متر از بین تمامی تیمارهای مرحله قبل انتخاب و در

محیط کشت ریشه‌زایی MS غنی‌شده با غلظت‌های $\text{IBA} (1, 2, 3 \text{ mg l}^{-1})$ همراه یا بدون به‌کارگیری $\text{Phl} 0.2 \text{ mg l}^{-1}$ کشت شدند. پس از ۱ هفته نیمی از شاخساره‌ها به محیط $1/2\text{MS}$ بدون هورمون منتقل شدند پس از گذشت دو هفته دیگر، درصد ریشه‌زایی مورد مطالعه اندازه‌گیری شد. نمونه‌ها در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (جدول ۱).

بررسی مقایسه‌ای ساختار تشریحی گیاهان باززایی شده و زراعی

نمونه‌های گیاهی تحت آزمایش رز شامل ساقه، برگ و دم‌برگ برای بررسی‌های قسمت‌های رویشی مورد مطالعه قرار گرفتند. بدین منظور نمونه‌ها در فیکساتور مناسب (الکل-گلیسرین ۱:۱) نگهداری شدند و سپس برش‌های نازک دستی از آن‌ها گرفته شد. پس از عبور از آب‌ژاول و اسید استیک و شستشو با آب مقطر، رنگ‌آمیزی مضاعف (متیلن بلو- کارمن زاجی) انجام شد و برش‌ها با میکروسکوپ نوری عکس‌برداری شدند.

محاسبات آمار کلیه آزمایش‌ها به‌صورت فاکتوریل و بر پایه طرح کامل تصادفی بوده است. تجزیه داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS23 استفاده شد. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد استفاده گردید.

جدول ۱. محیط کشت ریشه‌زایی با غلظت‌های مختلف IBA و Phl

Treatment number	MS		Treatment number	MS/2	
	Phl mg l^{-1}	IBA mg l^{-1}		Phl mg l^{-1}	IBA mg l^{-1}
1	0	1	8	0	1
2	0	2	9	0	2
3	0	3	10	0	3
4	0.2	0	11	0.2	0
5	0.2	1	12	0.2	1
6	0.2	2	13	0.2	2
7	0.2	3	14	0.2	3

ضد عفونی و استقرار جوانه‌ها

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر دو روش استریل در سطح احتمال $P \leq 0.001$ بر درصد زنده ماندن معنی‌دار بود. مقایسه میانگین داده‌ها با آزمون دانکن نشان داد که بیشترین درصد زنده ماندن ریزنمونه‌ها در تأثیر روش استریل، اثر هیپوکلریت سدیم (۱۰۰٪) به دقت آمد در حالی که در تیمار کلرید جیوه ۹۱٪ درصد زنده‌مانی مشاهده شد. همچنین تجزیه واریانس داده‌ها تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال $P \leq 0.001$ در سطوح مختلف BA بر درصد استقرار جوانه‌ها نشان داد. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین استقرار جوانه از به‌کارگیری غلظت 0.2 mg l^{-1} BA با میزان ۹۳/۳۳٪ حاصل شد و کمترین درصد استقرار جوانه از کاربرد 1.5 mg l^{-1} BA به دست آمد. (جدول ۲).

جدول ۲. تأثیر غلظت‌های مختلف BA بر درصد استقرار گل

رز رقم ماروسیا	
BA (mg l^{-1})	Rate of Establishment (%)
0.2	93.33
0.5	80
1	46.66
1.5	46.66

پرآوری شاخساره‌ها

نتایج نشان می‌دهد در هر غلظت BA افزایش غلظت IAA موجب افزایش میزان شاخه‌زایی می‌شود،

ولی در غلظت 4 mg l^{-1} BA با افزایش غلظت IAA کاهش در میزان شاخه دهی مشاهده گردید. بیشترین میزان شاخه‌زایی مربوط به غلظت 2 mg l^{-1} BA به همراه 0.5 mg l^{-1} IAA مشاهده شد. همچنین نتایج حاکی از آن است که در هر غلظت از BA افزایش غلظت NAA کاهش تعداد شاخه را به دنبال دارد به طوری که در غلظت 4 mg l^{-1} BA به همراه 0.3 mg l^{-1} NAA مشاهده شد، در حالی که کمترین تعداد شاخه مربوط به تیمار 3 mg l^{-1} BA و 0.5 mg l^{-1} NAA به دست آمد (جدول ۳).

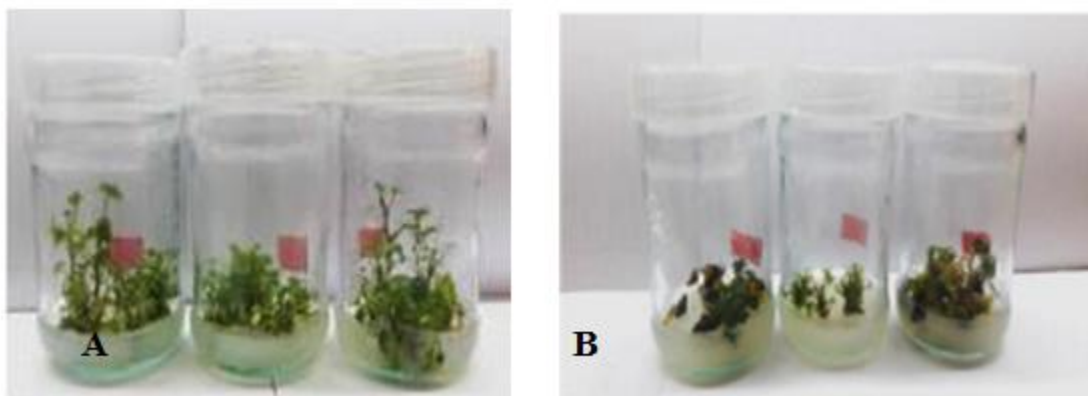
کالوس‌زایی و باززایی شاخه

تجزیه واریانس داده‌های درصد باززایی در غلظت‌های مختلف هورمونی در ارقام رز نشان داد که در رقم ماروسیا به‌کارگیری هورمونی BA، NAA و اثر متقابل $BA \times NAA$ در سطح احتمال $P \leq 0.01$ تفاوت معنی‌داری نشان دادند. همچنین نتایج حاکی از آن شد که استفاده از هورمون BA به همراه NAA منجر به افزایش کالوس‌زایی و اندام‌زایی غیرمستقیم در این رقم از گل رز می‌شود ولی آن با توجه به میزان استفاده از هورمون متفاوت است به طوری که بیشترین درصد اندام‌زایی ۶۶/۶۶٪ در غلظت 2 mg l^{-1} IBA و 0.8 mg l^{-1} INAA مشاهده شد (جدول ۴)

جدول ۳. تأثیر غلظت‌های مختلف BA+IAA و BA+NAA بر القای شاخه در ریزنمونه‌های گل رز رقم ماروسیا

MS			MS		
BA	IAA	Shoot number (Mean \pm SE)	BA	NAA	Shoot number (Mean \pm SE)
(mg l^{-1})			(mg l^{-1})		
0.3	1	19.33 \pm 0.15 b	0.3	1	7.00 \pm 0.10 ab
0.5	1	17.33 \pm 0.21 c	0.5	1	7.00 \pm 0.16 ab
0.3	2	9.00 \pm 0.18 e	0.3	2	6.33 \pm 0.15 cd
0.5	2	21.00 \pm 0.10 a	0.5	2	6.00 \pm 0.21 cd
0.3	3	9.66 \pm 0.11 e	0.3	3	7.33 \pm 0.13 ab
0.5	3	14.66 \pm 0.19 d	0.5	3	5.00 \pm 0.18 d
0.3	4	14.00 \pm 0.17 d	0.3	4	8.66 \pm 0.10 a
0.5	4	9.33 \pm 0.19 e	0.5	4	5.66 \pm 0.14 cd

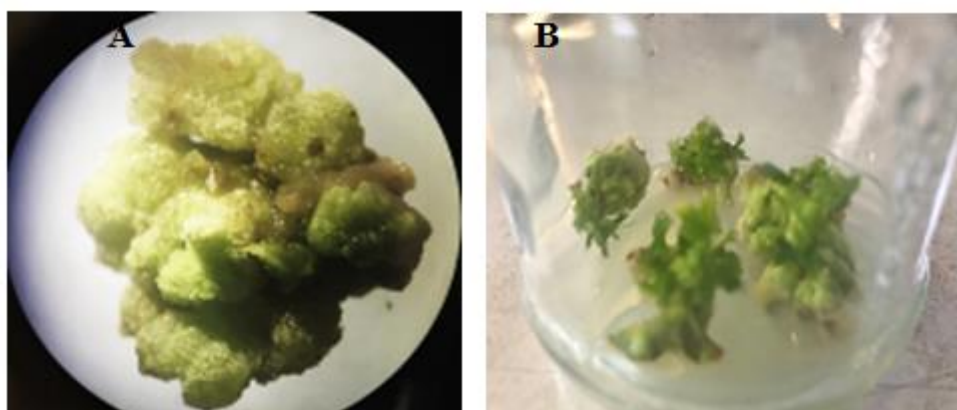
حروف مشابه در هر ستون بر اساس آزمون دانکن نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌داری ($p \leq 0.001$)



شکل ۱: نمونه‌هایی از پرآوری شاخساره‌ها در حضور $2 \text{ mg l}^{-1} \text{ BA}$ و $0.5 \text{ mg l}^{-1} \text{ IAA}$ (A)؛ نمونه‌هایی از پرآوری شاخساره‌ها در حضور $3 \text{ mg l}^{-1} \text{ BA}$ و $0.5 \text{ mg l}^{-1} \text{ NAA}$ (B)

جدول ۴: تأثیر غلظت‌های مختلف BA و NAA به تنهایی و با یکدیگر بر اندام‌زایی غیرمستقیم در ریزنمونه‌های گل رز رقم ماروسیا

MS		Rate of organogenesis (%)
BA (mg l^{-1})	NAA (mg l^{-1})	
0	2	53.33
0.2	2	0.0
0.4	2	0.0
0.6	2	18.66
0.8	2	66.66



شکل ۲: A. تشکیل کالوس در تیمار $2 \text{ mg l}^{-1} \text{ BA}$ و $0.4 \text{ mg l}^{-1} \text{ NAA}$ ؛ B. باززایی شاخه بر روی کالوس‌های تشکیل یافته در محیط حاوی $2 \text{ mg l}^{-1} \text{ BA}$ و $0.8 \text{ mg l}^{-1} \text{ NAA}$

نمک‌های MS در مقایسه با به‌کارگیری غلظت‌های نصف نمک‌های محیط (MS/2) موجب القای ریشه‌زایی به میزان تقریباً ۲ برابری شد. به‌نحوی که در

القای ریشه در شاخساره‌ها در مقایسه اثر غلظت نمک‌های محیط کشت پایه MS مشخص گردید که به‌کارگیری غلظت کامل

هم‌زمان 2 mg l^{-1} IBA و 0.2 mg l^{-1} Phl نسبت به شاهد مشاهده گردید.

بررسی ساختار تشریحی اندام‌های رویشی

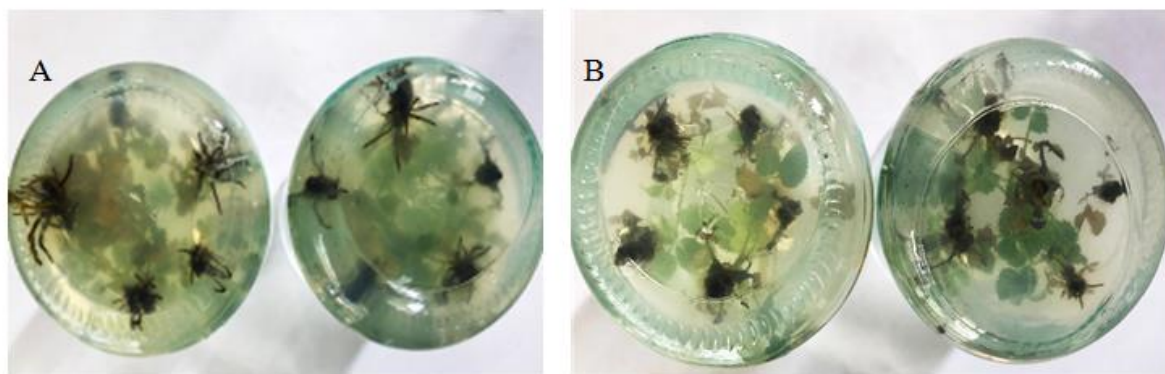
دربرش عرضی ساقه نمونه باغی و نمونه در شیشه در خارجی‌ترین لایه سلول‌های اپیدرمی (E) به شکل مکعبی یا مستطیلی قرار دارد. بلافاصله در زیر اپیدرم، سلول‌های کلانشیمی گوشه‌دار (Col) قرار دارد که باعث استحکام مکانیکی ساقه در حال رشد می‌شوند که در چند ردیف موازی قرار گرفته‌اند. سپس، منطقه پارانشیم پوست (Pc) دیده می‌شود، سلول‌های پارانشیمی در چندلایه مشاهده شد که دارای دیواره

غیاب هورمون‌های اکسین میزان ریشه‌زایی در محیط MS/2 حدود ۸۰٪ بود، درحالی‌که در محیط MS بدون هورمون فقط ۶/۶٪ شاخه‌ها موفق به ریشه‌زایی شدند. در محیط MS کامل به‌کارگیری فلوروگلوکوسینول موجب افزایش ۱۰ برابر میزان شاخه‌زایی شد، به‌نحوی‌که با بکارگیری 0.2 mg l^{-1} Phl میزان ریشه‌زایی از ۶/۶٪ در محیط MS به ۶۲/۲۲٪ رسید. به‌کارگیری هم‌زمان Phl و IBA در محیط MS موجب کاهش میزان ریشه‌زایی گردید، درحالی‌که استفاده از IBA و Phl به‌تنهایی نسبت به محیط MS افزایش ریشه‌زایی مشاهده شد. در محیط MS/2 به‌کارگیری IBA و Phl به‌صورت تنها یا حتی برهم‌کنش تأثیر معنی‌داری بر میزان ریشه‌زایی نداشت، فقط کاهش چشمگیری در کاربرد

جدول ۵. تأثیر غلظت‌های مختلف فلوروگلوکوسینول و IBA به‌تنهایی و با یکدیگر بر القای ریشه در ریزنمونه‌های

گل رز رقم ماروسیا در دو محیط MS و MS/2

MS			MS/2		
Phl (mg l^{-1})	IBA	Rate of root induction (%)	IBA	Phl (mg l^{-1})	Rate of root induction (%)
0	1	46.66	0	1	83.33
0	2	46.66	0	2	63.33
0	3	30	0	3	80
0.2	0	62.22	0.2	0	77.77
0.2	1	20	0.2	1	73.33
0.2	2	26.66	0.2	2	86.66
0.2	3	33.33	0.2	3	53.33

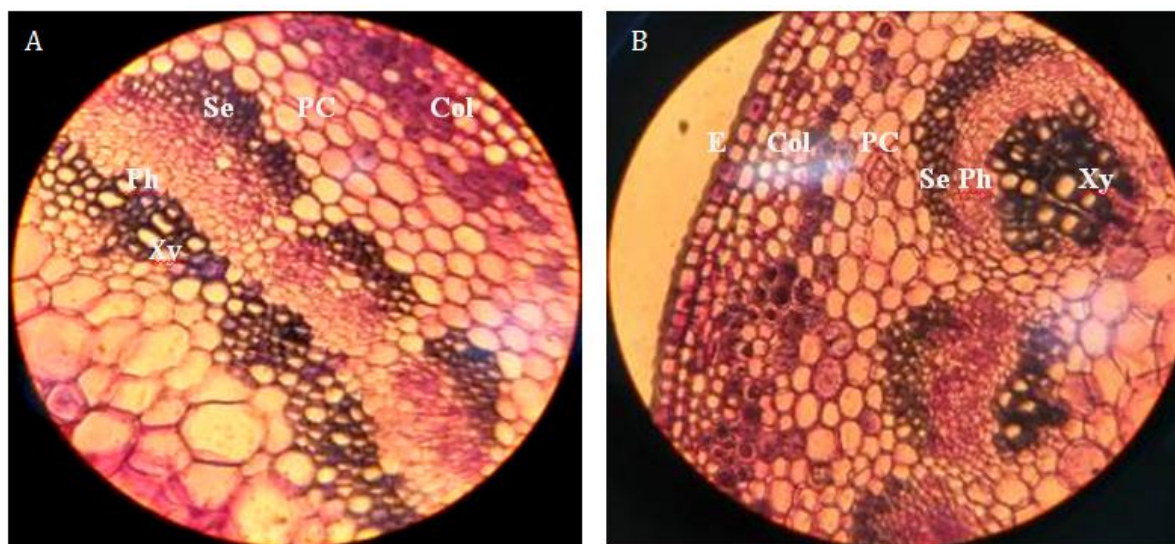


شکل ۵. A. نمونه‌هایی از ریشه‌زایی در تیمار 0 mg l^{-1} Phl و 3 mg l^{-1} IBA در محیط MS/2

B. نمونه‌هایی از ریشه‌زایی در تیمار 0 mg l^{-1} Phl و 1 mg l^{-1} IBA در محیط MS

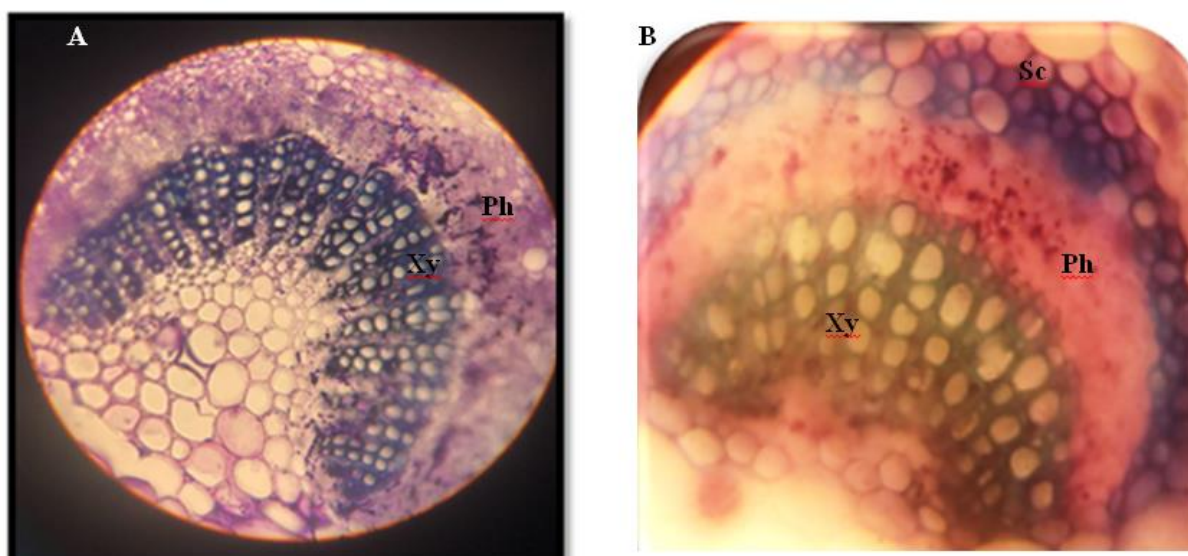
در برش عرضی دمبرگ نمونه‌های باغی و نمونه‌های کشت بافت شده، دمبرگ هلالی شکل کاملاً مشخص بود. دربرش عرضی هر دو نمونه باغی و در شیشه دمبرگ ابتدا اپیدرم (E) وجود دارد. سپس چند ردیف سلول‌های کلانشیمی زاویه‌دار (Col) دیده می‌شود که با توجه به شکل ضخامت آن در همه‌جا یکسان نیست و در قسمت‌های برآمده ضخامت سلول‌ها بیشتر است. در زیر آن، بافت زمینه‌ای یا پارانشیم پوست (Pc) با چند ردیف سلول‌های مدور که دسته‌های آوند آبکش و چوب در زیر آن دیده می‌شود که همان‌طور که از برش‌ها پیداست نسبت به سلول‌های پارانشیم رنگ‌پذیری کمتری دارد. در هر دو نمونه باغی و در شیشه دستجات آوندی دارای آرایش Collateral است. لایه بافت اسکلرانشیمی (Se) در خارج دسته‌های آوندی دیده می‌شود. دستجات آوندی شامل آوند آبکش (Ph) که به صورت Collateral آوندی چوب (Xy) را در برمی‌گیرند، در مرکز دیده می‌شوند (شکل ۵).

نازک و قطر کم‌ویش یکسان هستند. فیبر اسکلرانشیمی (Se) به شکل قطعاتی هلالی شکل در بیرون دستجات آوندی در هر دو نمونه مشاهده می‌شود با این تفاوت که در نمونه باغی از حالت هلال کمی خارج شده و می‌توان گفت در اواخر ساختار نخستین است. دستجات آوندی روی یک حلقه قرار گرفته‌اند که استوانه آوندی از لایه پریسیکل آغاز شده، آبکش (Ph) در دو طرف چوب قرار داشت و نوع دستجات آوندی از نوع Collateral مشاهده شد. که اطراف چوب (Xy) را به صورت بی‌کولترال دربرمی‌گیرد. در قسمت میانی جوان مغز (Pi) رؤیت شد که از سلول‌های پارانشیمی ساخته شده است. در مقایسه ساقه درون شیشه و باغی می‌توان گفت هر دو در هر دو نمونه مشاهده می‌شود با این تفاوت که در نمونه باغی ساختار تقریباً مشابه بود با این تفاوت که در نمونه باغی دستجات آوندی در حال اتصال بودند که نشان‌دهنده ورود به ساختار پسین است (شکل ۴).



شکل ۴. برش عرضی ساقه: A: نمونه باغی. B: نمونه در شیشه.

E: اپیدرم؛ Col: کلانشیم؛ Pc: پارانشیم پوست؛ Se: اسکلرانشیم؛ Ph: آوند آبکش؛ Xy: آوند چوب



شکل ۵. برش عرضی از دستجات آوندی دمبرگ A: نمونه باغی. B: نمونه در شیشه.

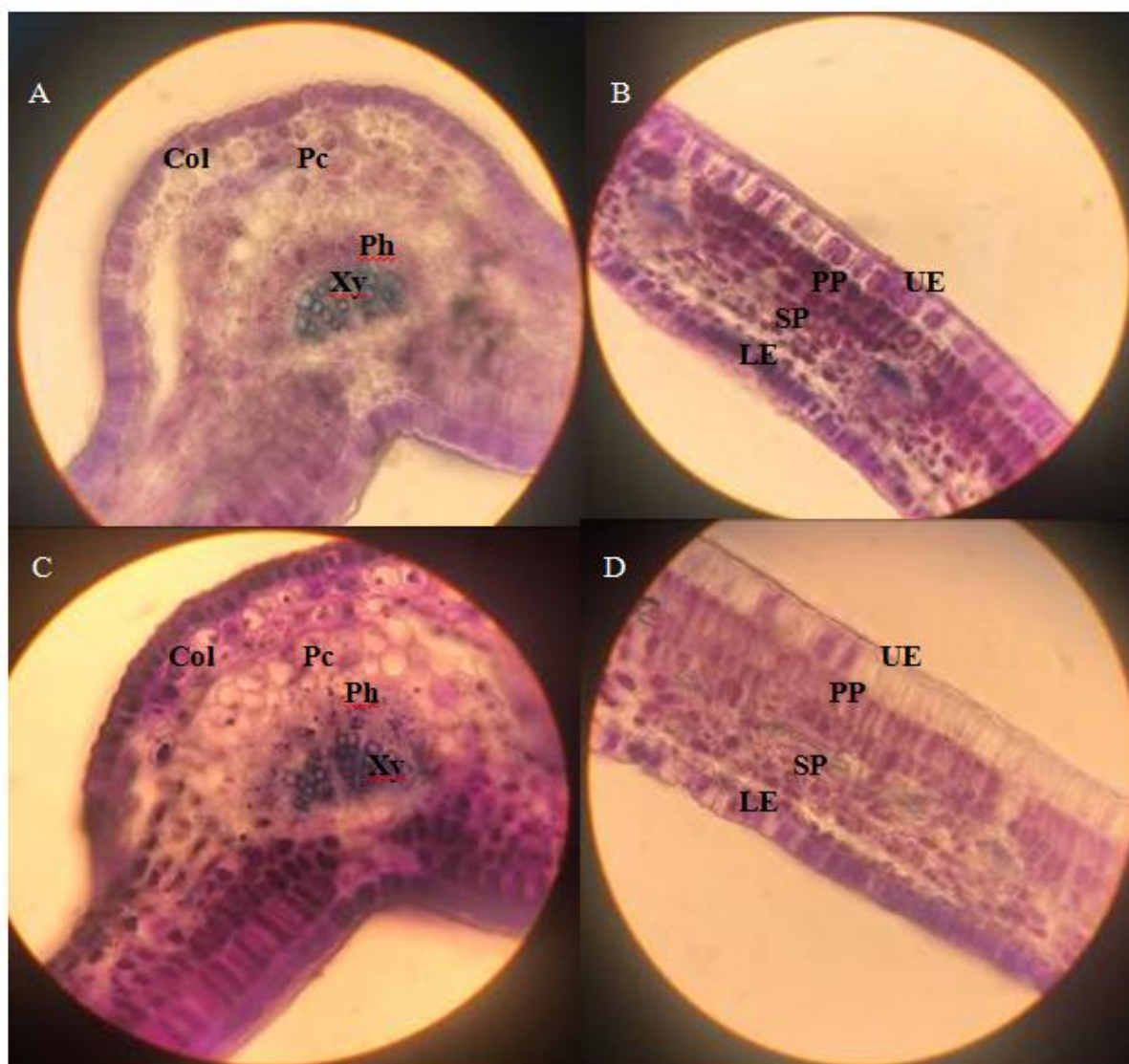
E: اپیدرم؛ Col کلانشیم؛ PC: پارانشیم پوست؛ Ph: آوند آبکش؛ Xy: آوند چوب

بافت پارانشیم را در بر گرفته‌اند. به ترتیب از خارج به بافت اپیدرم، در زیر اپیدرم بافت کلانشیمی (Col) که به صورت مماسی در چند ردیف سلولی قرار گرفته‌اند و تشکیل دهنده بافت استحکامی هستند که در نقاط مختلف رگبرگ یکسان دیده نمی‌شوند (شکل ۶، A، C). در زیر این لایه بافت پارانشیمی (PC) به صورت سلول‌های مدور قرار گرفته‌اند که در هر دو نمونه باغی و در شیشه قابل مشاهده است. نحوه قرارگیری دستجات آوندی یک‌جانبه یا روی هم است.

بحث

یکی از اساس کشت بافت گیاهی شناسایی حساسیت گونه‌های گیاهی به آلودگی پاتوژن‌های مختلف است. مواد مختلفی از جمله هیپوکلریت سدیم به میزان ۱ تا ۵ درصد، اتانول ۷۰ درصد، و کلرید جیوه در غلظت‌های متفاوت و زمان تیمار از چند ثانیه تا چند دقیقه با توجه به بافت گیاهی به منظور ضدعفونی سطحی و استقرار ریز نمونه‌ها تاکنون

دربرش عرضی پهنک در هر دو نمونه در شیشه و باغی دو بافت اپیدرم تحتانی (LE) و اپیدرم فوقانی (UE) بافت مزوفیل را در بر می‌گیرند. ضخامت اپیدرم فوقانی بیشتر از اپیدرم تحتانی است. همان‌طور که از شکل مشخص است سلول‌های هر دو بافت اپیدرم مکعبی شکل ولی سلول‌های بافت اپیدرم تحتانی کوچک‌تر از سلول‌های بافت اپیدرم فوقانی هست (شکل ۶، B، D). در سمت اپیدرم فوقانی پارانشیم نرده (PP) ای یک‌لایه‌ای و در زیر آن بافت پارانشیم اسفنجی (SP) در سه تا چهار لایه قرار دارد که به صورت نامظم قرار گرفته‌اند و دارای فضاهای بسیاری هستند، در صورتی که سلول‌های نردبانی بسیار منظم مشاهده می‌شود. بین سلول‌های پارانشیم حفره‌ای فضاهای بزرگی وجود دارد که باعث سست شدن اتصالات آن‌ها با یکدیگر شده و در هر دو نمونه باغی و در شیشه قابل مشاهده است (شکل ۶، B، D). در محل رگبرگ اصلی اپیدرم فوقانی (UE) و تحتانی (LE) از خارج به سمت داخل قرار دارند که



شکل ۶. برش عرضی از برگ A و B: نمونه باغی C و D: نمونه در شیشه.

UE: اپیدرم فوقانی؛ LE: اپیدرم تحتانی؛ Col: کلانشیم؛ Pc: پارانسیم پوست؛ Ph: آوند آبکش؛ Xy: آوند چوب؛ PP: پارانسیم نرده‌ای؛ SP: پارانسیم اسفنجی

می‌یابد [۱۸]. طبق نتایج حاصل از این پژوهش به نظر می‌رسد استفاده از الکل به همراه هیپوکلریت سدیم بر از بین بردن پاتوژن‌ها اثر مثبت دارد، چراکه مطالعات نشان داده است هیپوکلریت سدیم بیشتر اجزای اصلی سلول، از جمله لیپیدها، پروتئین‌ها و DNA را تحت تأثیر قرار می‌دهد [۱۶، ۲۹]. علاوه بر این امر، اتانول ماده‌ای دهیدراته بوده و واسرشته شدن سریع پروتئین‌ها، تخریب غشای سلولی، و در نهایت موجب

مورد بررسی قرار گرفته‌اند [۶].

مطالعات نشان داده است در خانواده *Rosaceae* ژنوتیپ نقش مهمی در چگونگی تأثیر مواد ضد عفونی سطحی دارد که این امر وابسته به میزان واکس سطحی، کوتیکول، خار و کرک روی برگ‌ها و ساقه است، و هر قدر میزان کرک و یا واکس سطحی در رقمی کمتر باشد سطح تماس مواد ضد عفونی سطحی افزایش یافته و اثرگذاری آن‌ها نیز بهبود

که به محیط MS و QL اضافه می‌شوند [۲۳] که با بهینه استفاده از هورمون BA در رقم ماروسیا همسو است. همچنین افزودن IAA به این محیط درصد شاخه زایی را افزایش می‌دهد که با نتایج حاصل از این پژوهش در رقم ماروسیا که بهترین نوع تیماردهی در تیمار $2 \text{ mg l}^{-1} \text{ BA}$ و $0.5 \text{ mg l}^{-1} \text{ IAA}$ همسو است.

در این پژوهش غلظت‌های متفاوتی از NAA به همراه غلظت $2 \text{ mg l}^{-1} \text{ BA}$ به‌عنوان تیمارهای اندام‌زایی در نظر گرفته شد. همچنین در این تحقیق ریزنمونه قسمت پایینی برگچه که روی محیط کشت قرار گرفته بود، به‌عنوان ریزنمونه برای اندام‌زایی در نظر گرفته شد و بیشترین میزان اندام‌زایی ۱۰ درصد و در رقم ماروسیا مشاهده شد. ضرورت حضور سیتوکینین‌ها برای آغاز شاخه دهی به‌خوبی اثبات شده است. سیتوکینین‌ها نقش مهمی در دستگاه‌های زیستی گیاهان دارند [۱۹]. همچنین در مطالعه ویشلکی و همکاران (۱۳۸۹) که با عنوان بررسی امکان باززایی در رز بود، نتایج حاکی از آن بود که استفاده از NAA در محیط کشت منجر به باززایی می‌شود. همچنین نتایج حاصل از این پژوهش در استفاده از هورمون‌های BA و NAA در اندام‌زایی غیرمستقیم با نتایج Safdari و Kazemitabar (۲۰۱۰) در باززایی مستقیم رز و مطالعات Pourhoseini و همکاران (۲۰۱۳) در باززایی رز رقم Apollo همسو است.

قابلیت ریشه‌زایی ریزنمونه مهم‌ترین شرط موفقیت در تکثیر درون شیشه‌ای است. IBA یکی از هورمون‌های رایج در القای ریشه است، این هورمون به‌ویژه در غلظت‌های پایین در بسیاری از گیاهان اکسین مناسب تلقی می‌گردد [۱۰]. در این پژوهش تیمار IBA به تنها و به همراه Phl به‌عنوان تیمار

از بین بردن متابولیسم سلول می‌شود. پس می‌توان نتیجه گرفت که کاربرد متناوب این دو ماده سبب تحریک بهتر سلول باکتری‌ها و پاتوژن‌ها می‌شود [۲۰]. در رابطه با سترون‌سازی جوانه‌ها Dejempor و همکاران (۲۰۰۷) ارائه کردند بهترین روش استریل ریزنمونه‌های جنس *Pranus sp.* استفاده از هیپوکلریت سدیم است که کمترین آلودگی را دارد.

در تعدادی از تحقیقات انجام شده روی جنس رز همانند تحقیق حاضر محیط پایه MS را به‌عنوان محیط پایه مناسب برای تکثیر تشخیص داده‌اند که این امر بسیار وابسته به ژنو تیپ است. علاوه بر محیط پایه اثر تنظیم‌کننده‌های رشدی در محیط پایه در جوانه‌زنی ریز نمونه غیرقابل‌انکار است. تنظیم‌کننده رشد بنزیل آدنین (BA) در غلظت‌های کم در برخی از رقم‌های گل رز سبب تحریک نمو جوانه‌های جانبی و در برخی دیگر بی‌تأثیر است. نتایج ما با نتایج درودی و همکاران (۱۳۹۵) در استفاده از هورمون BA در جوانه‌زنی رز ساناز همخوانی دارد. در این پژوهش بیشترین درصد استقرار مربوط به غلظت $0.2 \text{ mg l}^{-1} \text{ BA}$ بوده است و با افزایش آن از درصد استقرار کاسته شده است. به نظر می‌رسد در این گیاه کاربرد زیاد BA اثرات بازدارنده در استقرار جوانه‌ها دارد. گزارش‌ها مختلفی در مورد تکثیر شاخه دهی رز ارائه شده است. Pati و همکاران (۲۰۰۶) نشان دادند که وجود BA در محیط پرآوری شاخه برای شکست رکود جوانه و پرآوری شاخه‌ها در رقم‌های گل رز ضروری است. در این تحقیق بیشترین درصد پرآوری مربوط به غلظت $2 \text{ mg l}^{-1} \text{ BA}$ و $0.5 \text{ mg l}^{-1} \text{ IAA}$ است که معادل ۸۴ درصد است. یکی از هورمون‌های مناسب برای تکثیر شاخه استفاده از هورمون BA به میزان 2 mg l^{-1} است

مشاهدات انجام شده در این زمینه همخوانی داشت. در زیر اپیدرم سلول‌های بافت کلانشیم در چند ردیف مماسی که بافتی مقاوم را تشکیل می‌دهند مشاهده شد و سلول‌های پارانشیم پوست نیز در چند ردیف و به صورت چندوجهی دیده می‌شوند. در دسته‌های آوندی درون برگ، آوند چوب به سمت اپیدرم فوقانی و آوند آبکش به سمت اپیدرم تحتانی قرار دارد. صفات تشریحی برگ در خانواده *Rosaceae* و جنس‌های مختلف آن از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است که تاکنون بررسی‌های معدودی در این زمینه وجود دارد [۳۰].

در برش عرضی پهنک‌برگ نمونه باغی در محل رگبرگ اصلی به ترتیب بافت‌های اپیدرم، کلانشیم گوشه‌دار، پارانشیم مزوفیل و بافت آوندهای چوب و آبکش مشاهده شد، سیستم آوندی در آوندهای اصلی و فرعی گسترش پیدا کرده بود و دسته‌های آوندی به شکل نیم‌دایره در وسط رگبرگ اصلی قرار گرفته بودند که با گزارش‌های بیگم فقیر و همکاران (۱۳۹۶) هم سویی داشت. همچنین اپیدرم در دو سطح فوقانی و تحتانی در منطقه رگبرگ میانی قرار دارد که با مشاهدات ما مطابقت دارد. مطالعات گذشته نشان داده است که ۲ نوع پارانشیم در مزوفیل مشاهده می‌شود، بافت پارانشیم نردبانی با سلول‌های کشیده که زیر اپیدرم فوقانی برگ قرار دارد و بافت پارانشیم حفره‌ای که در زیر پارانشیم نردبانی و در طرف دیگر برگ قرار دارد [۱۷]. در پارانشیم حفره‌ای در بین سلول‌ها حفره‌های بزرگی وجود دارد. بافت آوندی شامل دستجات آبکش در خارج و دستجات چوب به سمت داخل است [۱۳]. که با نتایج ارائه شده در این پژوهش مطابقت دارد.

ریشه‌زایی در نظر گرفته شد. بهترین درصد ریشه‌زایی مربوط به تیمار 1 mg l^{-1} IBA به همراه 0.2 mg l^{-1} فلوروگلوکوسینول هست که معادل $86/66$ درصد ریشه‌زایی مشاهده شد. همچنین نتایج این پژوهش نشان داد در ریشه‌زایی رز کاربرد هم‌زمان IBA و Phl توصیه نمی‌گردد. کاهش غلظت نمک‌ها از MS به MS/2 میزان القای ریشه را به شدت افزایش داد. در مطالعه‌ای در ریز ازدیادی رز رقم *Rosa Damascena* در شرایط کشت درون شیشه‌ای در تیمارهای هورمونی مختلف بیشترین درصد ریشه‌زایی در محیط MS/2 به همراه 1.5 mg l^{-1} IBA مشاهده شد [۳۱]، که با نتایج این پژوهش در استفاده از این هورمون و انتخاب محیط MS/2 به عنوان محیط بهینه ریشه‌زایی همسو است.

Ruedell و همکاران (۲۰۱۳) ارائه کردند که IBA منجر به افزایش میزان کربوهیدرات ریشه می‌شود. وجود مقادیر زیاد اسیدهای آمینه، ذخایر نیتروژنی و افزایش تنفس در قسمت تحتانی ساقه‌های تیمار شده با ایندول بوتریک اسید سبب انگیزش ریشه‌های نابجا و افزایش تعداد پیش‌آغازیده‌های ریشه و تا حدودی طولی شدن ریشه می‌گردد. Tabesh و همکاران (۲۰۱۳) در پژوهشی که برکشت بافت رز رقم (*Rosa hybrid L. cv. Ispahan*) انجام دادند، کاهش غلظت نمک‌های محیط کشت MS را با به‌کارگیری هورمون IBA بهترین تیمار ریشه‌زایی معرفی کردند. همچنین کاهش غلظت نمک‌ها در محیط کشت، منجر به سهولت انتقال گیاه به خاک می‌شود.

در برش عرضی ساقه بسیاری از نهاندانگان مثل اسپیره از خانواده *Rosaceae* توسط حسین زاده و همکاران (۱۳۹۳) ارائه شد که در خارجی‌ترین لایه سلول‌های اپیدرم حالت مکعبی دارند، این گزارش با

در بافت دمبرگ نمونه باغی نیز کلانشیم از نوع گوشه‌دار و فیبر اسکلرانسیم بود. برش عرضی تهیه شده از ساقه نشان داد که ساختار کلی ساقه در دو نمونه باغی و در شیشه شبیه هم بود و کشت *in vitro* ساختار تشریحی خیلی زیاد تحت قرار نداده است و فقط ساختار حفاظتی و استحکامی ضعیف‌تر شده است.

سپاسگزاری

نویسندگان از معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه خوارزمی به جهت تأمین تسهیلات انجام این تحقیق، کمال قدردانی و سپاسگزاری را دارند.

منابع

[۵] طهماسبی، س.، مجد، الف.، مهرآفری، ع.، جنوبی، پ. ۱۳۹۵. بررسی مقایسه تکوین اندام‌های زایشی (پرچم و تخمک) در مرزنجوش وحشی *Origanum vulgare*. فصلنامه زیست‌شناسی تکوینی. دوره ۸، شماره ۲. صفحه ۵۶-۴۱.

[۶] عصاره، م.، قمری زارع، ع.، قربانی، م.، الهوردی، ب.، شهرزاد، ش. ۱۳۸۵. اثر محیط کشت و تنظیم کننده های رشد بر کشت درون شیشه‌ای گل محمدی. مجله پژوهش و سازندگی در زراعت و باغبانی. دوره ۵۱، شماره ۴. صفحه ۴۵-۷۲.

[۷] ویشلقی، ن.، جلالی جواران، م.، معینی، احمد. ۱۳۸۹. باززایی رز مینیاتوری هفت رنگ (*Rosa hybrida*, cv 'Tanbakeda') از جنین‌های سوماتیکی. نشریه علوم باغبانی ایران. دوره ۴۱، شماره ۲. صفحه ۳۵۷-۳۴۷.

[8] Alagumanian S., Perumal V.S., Balachandar R.K., Rameshkannan M., Rao V. 2004, Plant regeneration from leaf and stem explants of *Solanum trilbatum*. Current Science, 86: 1478-1480.

[9] Asadi, A., C. Vedadi, M. Rahimi, and B. Naserian. 2009. Effect of plant growth hormones on root and shoot regeneration in rose under in-vitro conditions. Bioscience Research 6(1): 40-45.

[10] Azadi, P., Khosh-Khui M., Beyramizadeh E., Bagheri H. 2009, Optimization of factors affecting in vitro proliferation and rooting of *Rosa hybrida* L. cv. 'Rafaella'. International Journal of Agricultural Research 2(7): 626-631.

[11] Debener, T., Hibrand-Saint Oyant L. 2009, Genetic Engineering and tissue culture of Roses. Folta KM, Gardiner SE (eds) Genetic and Genomic of Rosaceae, Plant Genetic and Genomics: Crops and Models 6.

[۱] امید، م.، یداللهی، ع.، احمدی، ف.، بیرانوند، ف. ۱۳۹۵. بهینه سازی مراحل افزایش درون شیشه‌ای ژنوتیپ‌های گل محمدی. مجله علوم باغبانی ایران. دوره ۴۷، شماره ۴. صفحه ۷۸۴-۷۷۳.

[۲] بیگم فقیر، م.، عاشوری، ف.، مهرمنش. ع. ۱۳۹۶. تشریح مقایسه‌ای و ریزریخت‌شناسی برگ و دمبرگ جنس *Geum* از تیره *Rosaceae* در ایران. نشریه زیست‌شناسی گیاهی. دوره نهم، شماره ۱. صفحه ۵۸-۴۵.

[۳] حسین زاده، ز.، کلیچ، ص.، محمودی، الف.، زارع، ح. ۱۳۹۳. مقایسه ساختار تشریحی ۲ گونه *Spiraea Crenata* و *Spiraea Hypericifolia* دومین همایش ملی گیاهان دارویی و کشاورزی پایدار. ۱۲ صفحه.

[۴] درودی، م.، واعظی، م.، صفی پور افشار، الف. ۱۳۹۵. اثر نوع هورمون و غلظت محیط پایه بر جوانه‌زنی و پرآوری ریز نمونه‌های رز ساناز

- [12] Dejempor, G., Garigoriyan V., Majidi A., Asgharzadeh N.A. 2007, Sterilization, establishment and proliferation of some *Prunus* interspecific hybrids for in vitro culture. *J. Hort. Sci. Technol.* 8: 3. 164-174.
- [13] Evert, R.F. 2006, Esau's plant anatomy. Meristems, cells, and tissues of the plant body: their structure, function, and development. 3rd edition, John Wiley & Sons Inc., New Jersey. 99(4): 785-786.
- [14] Fuches. R, 2001. Root regeneration of rose plants as influenced by applied auxins. *International Symposium of the Research and Cultivation of Roses.* 189: 101-108.
- [15] Ibrahim, R., Debergh P.C. 2001, Factors controlling high efficiency adventitious bud formation and plant regeneration from *in vitro* leaf explant of roses (*Rosa hybrid* L.). *Sci Horti* 88:41-57.
- [16] Jang, H. H., Ann S.H., Kim M.D., Kim C.W. 2008, Use of hydrogen peroxide as an effective disinfectant to *Actinobacillus ureae*. *Process Biochemistry* 43: 225-228.
- [17] Ivanova, L. A. Pyankov V.I. 2002, Structural adaptation of the leaf mesophyll to shading. *Russian Journal of Plant Physiology* 49(3): 419-431.
- [18] Korban, S .2006, Somatic Embryogenesis in rose: Gene Expression Genetic Transformation. In *Somatic Embryogenesis*, Vol. 2, 247-257.
- [19] Kiba, T., Takei K., Kojima M., Sakakibara H. 2013, Side-chain modification of cytokinins controls shoot growth in *Arabidopsis* *Developmental Cell*.155.
- [20] Loubaud, M. Van Doorn W.G. 2004, Wound-induced and bacteria-induced xylem blockage in roses, *Astible*, and *Viburnum*. *Postharvest Biology and Technology* 32(3): 281-288.
- [21] Murashige, T. Skoog F. 1962, A revised medium for rapid growth and bio- assays with tobacco tissue culture. *Physiologia Plantarum.* 15: 473-597.
- [22] Ogata, J., Kanno Y., Itoh Y., Tsugawa H. Suzuki M. 2005, Plant biochemistry anthocyanin biosynthesis in roses. *Nature* 435: 757-8.
- [23] Pati, P. K., Rath S.P., Sharma M., Sood A., Ahuja P.S. 2006, In vitro propagation of rose - a review. *Biotechnology Advances* 24(1): 94-114.
- [24] Pourhosseini, L., Habashi A.K., Kermani M.J., Khalighi A., Tahmasebi Z. 2013, Efficiency of direct and indirect shoot organogenesis in different genotypes of *Rosa hybrid*. *Plant Cell Tissue Organ Culture.* Issue 1, pp 101-108.
- [25] Rosu, A., Skirvin Bein R.M.A., Noprton M.A., Kushad M., Otterbacher A.G.1995, The development of putative adventitious shoot from a chimerical thornless rose (*Rosa multiflora* thumb.) in vitro. *J. Horticulture. Sci.*, 70: 901-7.
- [26] Rout, G. R., Debata B.K., Das P. 1990, In vitro clonal multiplication of roses proceeding of the National Academy of Sciences 60: 311-318.
- [27] Ruedell, C.M., De Almeida M.R., Schwambach J., Posenato C., Fett-Neto A.G. 2013, Pre and post-severance effects of light quality on carbohydrate dynamics and microcutting adventitious rooting of two eucalyptus species of contrasting recalcitrance. *Plant Growth Regul.* 69: 235 245.
- [28] Safdari, Y., Kazemitabar K. 2010, direct shoot regeneration, callus induction and plant regeneration from callus tissue in Mose Rose. *Plant Omics Journal.* 3 (2):47-51.
- [29] Sana, B., Ghosh D., Saha M., Mukherjee J. 2006, Purification and characterization of a salt, solvent, detergent and bleach tolerant protease from a new gamma-Proteobacterium isolated from the marine environment of the Sundarbans. *Process Biochemistry* 41(1): 208-215.
- [30] Saquaro, A. 2005, Leaf morphology and anatomy of the *Ficus* plant. *African Journal of Biotechnology* 5(10):331-346.
- [31] Tabesh, F., Jafarkhani Kermani M., Khayam Nekouei M., Mousavi A., Khalighi A. 2013, In vitro propagation of damask rose (*Rosa damascena* cv. Ispahan). *Annals of Biological Research,* 4: 134-138.
- [32] Yan, M., Byrne D.H., Jing C. 1996, Propagation of rose species in vitro. *In vitro Cellular and Development Biology – Plant* 32(2): 103-108.

Micro propagation of (*Rosa hybrida* L. cv. Maurossia) and Comparative anatomy of vegetative organs in vivo and in vitro plants

Aminsalehi M.¹, Jonoubi P.^{1*}, Razavi Kh.², Zeynipoor M.¹

¹ Department of Plant Sciences, Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran

² Agriculture Biotechnology Institute, National Institute of Genetic Engineering and Biotechnology, Tehran, Iran

* Email: Jonoubi@khu.ac.ir

Received: 30 May 2019

Accepted: 25 August 2019

Abstract

Rosa hybrid L. is one of the most important ornamental plants that one of the modern methods of micropropagation of *Rosa hybrid* Cv. Maurossia is tissue culture. In this research, after optimizing of sterilization of explants with sodium hypochlorite, MS culture medium with various concentrations of BA was used for the establishment. The highest growth rate was observed in 0.2 mg l⁻¹ BA. Then, explants were transferred to MS medium with different concentrations of BA, NAA and IAA. The results showed the optimal branch regenerated was obtained at 2 mg l⁻¹ BA and 0.5 mg l⁻¹ IAA. In indirect organogenesis, the part of the leaf with the petioles was used and the optimum percentage was observed in 2 mg l⁻¹ BA with 1 mg l⁻¹ NAA. Then, explants transferred to the rooting induction medium of MS and MS/2 with IBA and Phloroglucinol. The most rooting induction was observed in MS/2 medium with 1 mg l⁻¹ BA and 0.2 mg l⁻¹ Phl (Phloroglucinol). Also, due to the importance of the morphology of the *Rosacea* family, the anatomical studies of the vegetative organs were compared in two samples of in vivo and in vitro plants and the results showed that the general structures in both samples are similar.

Keywords: Anatomical structure, explant, in vitro culture, lateral buds, *Rosaceae*.