



بررسی تلاقی پذیری و برخی ویژگی های دانهال های به دست آمده از تلاقی ورد وحشی ایرانی

(*Rosa iberica* Stev.) با گل محمدی و برخی رقم های تجاری ورد

حبیب حسینی^{۱*}، بهمن زاهدی^۱، ابولفضل جوکار^۲، مریم جعفرخانی کرمانی^۳، اکبر کرمی^۲

۱. بخش علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان

۲. بخش علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز

۳. بخش کشت بافت و سلول پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران، البرز

تاریخ دریافت: ۹۹/۸/۸، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۲/۱۳

✉Zahedik2000@yahoo.com

چکیده

یکی از ۱۴ گونه ورد وحشی بومی ایران، *Rosa iberica* می باشد. این گیاه دارای گل ها و برگ های معطر است. بنابراین، یکی از مهم ترین هدف های این پژوهش بررسی قابلیت تلاقی پذیری این ورد بومی ایران با گل محمدی و چند رقم تجاری ورد و همچنین بررسی تنوعی رویان و برخی ویژگی های ریخت شناسی نتاج آن ها بود. این پژوهش برای بررسی امکان تلاقی پذیری *R. iberica* با گل محمدی و ۳ رقم تجاری ورد *Red One*، *Avalanch* و *Dolce Vita* در قالب طرح بلوک به طور کامل تصادفی برای بخش دورگه گیری و طرح به طور کامل تصادفی برای بخش نجات رویان در ۵ تکرار انجام شد. نتیجه های به دست آمده از این پژوهش نشان داد که بیشترین درصد تشکیل وردبر (میوه ورد) و بیشترین میانگین شمار بذر در هر وردبر از تلاقی *R. iberica* با گل محمدی به ترتیب ۳۴٪ و ۱۳/۴۰٪ به دست آمد. همچنین *R. iberica* به عنوان والد گرده دهنده در تلاقی با والد بذری گل محمدی متفاوت بود و وردبر و بذر کمی تولید کرد. نتیجه های به دست آمده از تلاقی ها نشان داد که بیشترین ارتفاع، میانگین شمار برگ و درصد سبزی برگ و میزان کلروفیل مربوط به نژادگان Id5 بود. تنها تلاقی بین *R. iberica* به عنوان والد گرده دهنده و رقم *Red One* به عنوان والد مادری موفق نبود و وردبرها چند روز پس از تلاقی روی بوته خشک شدند و ریزش کردند. در تلاقی بین *R. iberica* با رقم *Avalanch* و همچنین *R. iberica* با رقم *Dolce Vita* میانگین شمار بذر در هر وردبر به ترتیب ۱۰/۲۰٪ و ۶/۸۰٪ به دست آمد. در تلاقی بین *R. iberica* به عنوان والد گرده دهنده با رقم *Avalanch* به عنوان والد مادری و همچنین *R. iberica* به عنوان والد گرده دهنده با رقم *Dolce Vita* به عنوان والد مادری شمار زیادی از گیاهچه های تولیدی در مراحل اولیه رشد در محیط کشت MS از بین رفتند. در تلاقی *R. iberica* با *Avalanch* و *Dolce Vita* نتاج به دست آمده بیشترین بد شکلی گیاه را نشان دادند که می توان این نتیجه ها را به نبود سازگاری گامتوفیتیک، ناهنجاری های میوزی و تجمع ژن های مغلوب زیان آور یا تفاوت در سطح چندگانی نتاج به دست آمده نسبت داد. یافته های این پژوهش نشان داد که *R. iberica* با تولید بیشترین شمار وردبر و میانگین تولید بذر بالا برای گزینش



به عنوان والد مادری بسیار مناسب است و همچنین نژادگان به دست آمده در بیشتر واسنجه ها از والد ها برتر بود که می تواند برای برنامه بهنژادی پیش رو برای بررسی ویژگی های گل، عطر گل و برگ نوید بخش باشد.

واژه های کلیدی: تلاقی پذیری، ورد بومی، گل محمدی، *R. iberica*.

مقدمه

تیره وردسانان یکی از تیره های بزرگ گیاهی، دارای ۱۱۵ جنس و حدود ۳۲۰۰ گونه می باشد. امروزه، استفاده از ورد به صورت یک گیاه باغچه ای، گل گلدانی و بریدنی و همچنین استفاده در صنایع عطرسازی، دارویی و مصارف خوراکی، این گیاه را به عنوان یکی از مهم ترین گیاهان زینتی در جهان مطرح ساخته است. در جنس ورد شمار یک دسته کروموزم یک گان ۷ عدد است و بیشتر گونه های آن دوگان ($2n=2x=14$) می باشند. زیرجنس های ورد شامل *Platyrrhodon*، *Hesperhodos* و *Hulthemia* و *Eu* است که دامنه ای از دوگان ($2n=2x=14$) تا هشتگان ($2n=8x=56$) دارند (Aabdolmohammadi et al., 2014; Yokoya et al., 2000). رقم های نوین ورد، *Rosa hybrida* L. چارگان هستند که از تلاقی های پیچیده بین گونه ای، بین وردهای اروپایی و وردهای آسیایی به وجود آمده اند (Gudin, 2000). بیش از ۹۵٪ گونه های ورد در زیرجنس *Eu* قرار دارند. این زیرجنس ورد دارای بیش از ۱۳۰ گونه است که تنها ۷ تا ۱۰ گونه از آن ها در برنامه های بهنژادی وردهای نوین استفاده شده اند و منابع بسیار گسترده ژنتیکی ورد در سراسر جهان به صورت بهره برداری نشده باقی مانده است (Zlesak, 2006).

به وسیله دورگه گیری، ایجاد ترکیب های جدید ژنی برای وفور نسبی نژادگان های مطلوب امکان پذیر است. این دورگه ها به طور مؤثر برای انتقال ژن های مطلوب از گونه های وحشی به رقم های تجاری ایجاد می شوند. مشکل اصلی که بیشتر بهنژادگران در تلاش برای ورود ژن های جدید از دیگر وردها به وسیله گرده افشانی با آن رو به رو می شوند، به سترونی یعنی ناتوانی در گرده افشانی برای تولید بذرها F_1 ، ناتوانی نژادگانی یا تفاوت در سطوح چندگانی والدین و کاهش قدرت باروری نسبت داده می شود (De Vries, 1983). تولید و تنژگی بذر در گل ورد بسیار کمتر از محصول های دیگر می باشد. تنژگی اغلب کمتر از ۳۰٪ و شمار بذر درون وردبر بین ۱ تا ۳۰ عدد می باشد (Giovannini, 2009). سطح باروری وردهای جدید با والدین چندگانه اغلب پایین است. دلیل این مشکل ناهنجاری های میوزی و تجمع ژن های مغلوب زیان آور است که حاصل تلاقی های هتروزیگوس می باشد (Zlesak, 2006). ضعف توانایی زندهمانی گرده در ورد باعث کاهش تولید بذر شده و حتی زیر شرایط مناسب با انجام گرده افشانی مصنوعی، یک ورد دورگه چای ممکن است تنها ۱ تا ۱۵ عدد بذر تولید کند (de Vries and Dubois, 1983). انجام چندین بار گرده افشانی پی در پی می تواند تولید بذر را در وردبرهای ورد افزایش دهد. پس از انجام گرده افشانی ۱۲ تا ۲۴ ساعت زمان برای رشد لوله گرده لازم است تا به تخمک رسیده و یاخته تخمزا را بارور کند (Jacob and Ferreo, 2003). ظرفیت شمار بذری که در یک وردبر می تواند تولید شود به شمار کلالة موجود در یک گل بستگی دارد (Gudin, 2000). موفقیت تلاقی به فاصله گیاهشناسی بین و درون گونه ها و تفاوت بین سطوح چندگانی والدین وابسته است. برای ایجاد دورگه جدید، تلاقی جنسی باید در شمار زیادی گل صورت گیرد تا شمار کافی بذر برای تنژگی و گزینش دورگه جدید به دست آید. این کار با استفاده از روش های قدیمی بسیار مشکل بوده و به سال های زیادی زمان نیاز دارد تا یک



رقم جدید ورد معرفی شود (De Vries, 1983; De Vries and Dubois, 2001). مشکل اصلی در بیشتر برنامه‌های بهنژادی ورد، سقط رویان‌های نابالغ در برخی بذرها با نبود تنژگی و یا با توانایی تنژگی بسیار کم می‌باشد، که به شدت هتروزیگوسیتی در وردها نسبت داده می‌شود و این عامل باعث کاهش کارایی برنامه‌های بهنژادی و بررسی‌های ژنتیکی ورد می‌گردد (Gudin, 1996). همچنین نبود تنژگی به موانع مکانیکی مانند فرابر چوبی که اطراف رویان را در برگرفته است و از رشد و نمو آن جلوگیری می‌کند و یا خفتگی شیمیایی همچون بازدارنده‌های رشد که داخل بافت‌های در بر گیرنده رویان قرار دارند نسبت داده می‌شود (Jackson, 1963). امروزه استفاده از روش‌های زیست فناوری یک بخش مهم و ضروری بهنژادی ورد تلقی شده و می‌تواند گامی کارا در پیشبرد و سرعت بخشیدن به برنامه‌های بهنژادی به شمار آید. یکی از این روش‌ها نجات رویان می‌باشد، که روشی برای کاشت رویان، زیر شرایط گندزدایی شده، روی محیط غذایی در شرایط درون شیشه‌ای می‌باشد. کشت رویان برای کوتاه کردن چرخه‌های بهنژادی و به‌عنوان روشی مؤثر برای چیرگی بر موانع موجود بر تنژگی بذر و تولید موفق گیاهان دورگه به کار گرفته می‌شود. اولین نتیجه‌های منتشر شده از نجات رویان در تیره وردسانان به سال ۱۹۳۳ بر می‌گردد که بین گیللاس و هلو انجام شد. در ورد، نجات رویان با بذره‌های بالغ برای اولین بار در سال ۱۹۴۶ انجام شد. اما نتیجه‌های استفاده از رویان‌های نابالغ در سال ۱۹۹۶ منتشر شد (Gudin, 1996). همچنین برخی از عامل‌های فنی مانند هتروزیگوسیتی بالا و سطوح چندگانی متعدد، مشکل بزرگی برای بررسی‌های ژنتیکی در ورد ایجاد کرده است (Gudin, 2000). اصلی‌ترین هدف صنعت گل و گیاه گسترش ویژگی‌های جدید مانند رنگ گل، شکل و رایحه که از نشانه‌های اصلی در گزینش مصرف کننده است، می‌باشد.

یکی از ۱۴ گونه وحشی بومی ایران، *R. iberica* است که در شمال کشور پراکنده است. این گیاه دارای گل‌ها و برگ‌های معطر است و یک گیاه پنج‌گانه ($2n=5x=35$) می‌باشد (Jowkar and Karami, 2018; Koobaz et al., 2001). گل محمدی یک از گل‌های بومی ایران با گل‌های فراوان می‌باشد و چون بسیار متحمل به خشکی است، هم به صورت طبیعی و هم در باغ‌ها در بسیاری از نقاط ایران وجود دارد. مناطق تولید عمده گل محمدی در ایران، کاشان، فارس، آذربایجان و کرمان است (Boskabady et al., 2011)، که هر ساله مقادیر زیادی گلاب و اسانس از آن گرفته می‌شود (Ozkan et al., 2004; Setzer, 2009). با توجه به اهمیت ورد در دنیا و تقاضای پی در پی از سوی پرورش دهنده‌گان، ذخایر ژنتیکی وردهای موجود به دلیل انجام تلاقی در طی سال‌های پی در پی بین شمار اندکی از گونه‌های ورد محدود شده است. پس لازم است تا با انجام دورگه گیری بین گونه‌های وحشی ورد با رقم‌های جدید، نژادگان‌های جدید که دارای منابع ژنتیکی غنی وردهای وحشی هستند به ذخایر ژنتیکی موجود وارد شود و در چرخه بهنژادی، برای دست یابی به رقم‌های جدید ورد با ویژگی‌های مطلوب، مورد استفاده قرار گیرند. از اهداف مهم بهنژادی ورد، بهبود ارزش زینتی گل و به ویژه افزایش عطر آن می‌باشد (De Vries and Dubois, 2001). از آنجایی که این گونه ورد بومی دارای عطر بسیار قوی و مطلوبی هست، می‌تواند به عنوان یک گزینه مناسب در دورگه گیری بین گونه‌ای با دیگر وردهای بومی و تجاری مدنظر قرار گیرد و سبب گسترش رقم‌های تجاری در برنامه‌های بهنژادی گردد. بنابراین، یکی از مهمترین هدف‌های این پژوهش بررسی قابلیت تلاقی پذیری *R. iberica* با گل محمدی و رقم‌های تجاری ورد *Dolce Vita*، *Avalanch* و *Red One* و همچنین بررسی تنژگی رویان و برخی از ویژگی‌های مورفولوژیک نتاج آن‌ها بود.



مواد و روش ها

ماده گیاهی و محل پژوهش

این پژوهش در قالب طرح به طور کامل تصادفی در ۵ تکرار در مزرعه پژوهشی و آزمایشگاه‌های دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز انجام شد. گونه ورد وحشی *R. iberica* از منطقه چالوس (ارتفاع از سطح دریا ۱۹۵۳ متر و طول و عرض جغرافیایی به ترتیب (35°55'N, 51°05'E) در شمال ایران جمع‌آوری و در کلکسیون گل ورد دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز کشت شده و سپس با گل محمدی در مزرعه و رقم‌های تجاری ورد *Dolce Vita*، *Avalanch* و *Red One* در گلخانه تلاقی داده شد. در تلاقی *R. iberica* با گل محمدی ۶۰ گل و در تلاقی *R. iberica* با هر یک از رقم‌های تجاری، ۴۰ گل گرده‌افشانی شدند و سپس بذردهی وردبرها، میانگین شمار بذر در وردبرها، شمار بذرها استفاده شده برای تنژگی و درصد رویان تنژیده در درون شیشه و ویژگی‌های مورفولوژیک نتاج پس از دورگه‌گیری ثبت شدند.

جدول ۱- والدین استفاده شده در تلاقی.

Table 1. The parents used in the crossing.

والد پدری	والد مادری	کد نتاج
Male parent	Female parent	Offspring's code
♂	♀	
<i>R. iberica</i>	<i>R. damascena</i>	di1
<i>R. iberica</i>	<i>R. damascena</i>	di5
<i>R. iberica</i>	<i>R. damascena</i>	di8
<i>R. iberica</i>	<i>R. damascena</i>	di9
<i>R. damascena</i>	<i>R. iberica</i>	id5

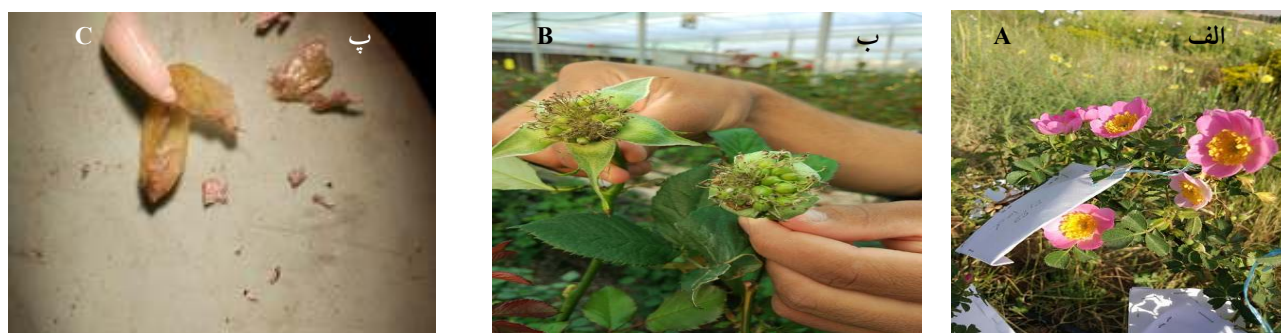
i: iberica, d: damascena

چگونگی انجام گرده‌افشانی

گرده‌افشانی وردها بر اساس روش (Abdolmohammadi *et al.* (2014 صورت گرفت. دورگه‌گیری و بذرگیری به صورت دستی و در فصل بهار انجام شد. در زمان بازشدن دو سوم غنچه‌ها، گلبرگ‌ها حذف شدند. برای پیشگیری از خود گرده‌افشانی یا گرده‌افشانی ناخواسته، بساک‌ها پیش از انتشار گرده جمع‌آوری شده و غنچه با یک کیسه ضد آب پوشانده شده و بساک‌های جمع‌آوری شده در یک پتری دیش در دمای اتاق قرار داده شدند. پس از ۲۴ ساعت، دانه گرده جمع‌آوری گردید. انجام دورگه‌گیری در ساعت‌های آغازین صبح (۵ تا ۶ صبح) با قرار دادن گرده بر روی کلاله با یک قلم مو انجام شد. برای اطمینان از باروری گل‌ها، گرده‌افشانی به فاصله دو روز از گرده‌افشانی اول برای هر گل تکرار شد. برای شناسایی خود گرده‌افشانی کلاله ۵ غنچه بدون انجام گرده‌افشانی با کیسه ضد آب پوشانده و نشان‌دار شد (شکل ۱). پوشش‌ها پس از ۴ روز برداشته شده، پس از دیده شدن تغییر رنگ (۷-۸ هفته پس از گرده‌افشانی)، وردبرها جمع‌آوری و به آزمایشگاه برای ادامه کار انتقال یافتند (شکل ۱). کلاله‌هایی که گرده‌افشانی در آن‌ها انجام نشده بود تولید وردبر نکردند که نشان دهنده این



است که خود گرده افشانی در آن‌ها صورت نگرفته است. وردبرها در مایع شوینده خانگی پریل ۱٪ قرار داده شده و سپس به مدت ۱۰ دقیقه زیر آب جاری شستشو داده شدند و به دنبال آن در اتانول ۷۰٪ به مدت ۱ دقیقه فرو برده شدند. سپس وردبرها در محلول هیپوکلریت سدیم ۲/۵٪ به مدت ۳۰ دقیقه قرار گرفته و در پایان با آب مقطر گندزدایی شده شسته شدند. زیر شرایط به طور کامل گندزدایی شده در زیر هود کشت بافت و در زیر بینوکولار با استفاده از یک چاقو برش عرضی در سطح فرابر ایجاد شد. سپس با استفاده از چاقو پوشش زرد رنگ و نازک روی رویان برداشته شد (شکل ۱). به دنبال آن رویان‌ها درون پتری دیش‌های حاوی محیط کشت موراشیگی و اسکوگ (MS) کشت شدند. به محیط ۰/۱ میلی گرم بر لیتر IBA و ۱ میلی گرم بر لیتر BA افزوده شد. pH محیط کشت روی ۵/۷-۵/۸ تنظیم شد. برای جامد نمودن محیط کشت ۷ گرم آگار به یک لیتر محیط افزوده شد و سپس محلول به دست آمده اتوکلاو گردید. هر تیمار شامل ۵ تکرار و هر تکرار شامل ۵ رویان بود. پس از ۵ هفته درصد تنوگی رویان ثبت گردید. سپس گیاهان به محیط ریشه‌زایی منتقل و ۵ هفته بعد ریشه دار شدند. پس از آن گیاهان به محیط سازگاری انتقال یافتند.



شکل ۱- مراحل انجام آزمایش. الف - تلاقی *R. iberica*، ب- موفقیت در تلاقی، پ- نجات رویان.

Figure 1- Steps to perform the test. A- Crossing of the *R. iberica*; B. Success at the crossing; C. Embryo rescue.

سطح برگ و میزان کلروفیل

سطح برگ والدین و نتاج به دست آمده از تلاقی به کمک دستگاه اندازه‌گیری سطح برگ (مدل Lpi210 ساخت کشور انگلستان) اندازه‌گیری شد. میزان کلروفیل برگ‌ها با استفاده از دی متیل سولفوکساید^۲ (Hicox *et al.*, 1979) اندازه‌گیری شد. مقدار ۱۰۰ میلی گرم از تکه‌های برگ تازه (بدون رگبرگ) درون ارلن قرار داده شده و مقدار ۷ میلی لیتر DMSO روی آن‌ها ریخته شد و در دستگاه انکوباتور به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۶۵ درجه سلسیوس قرارداده شدند. سپس عصاره صاف شده و بافت‌های برگ دور ریخته شده و با افزودن DMSO حجم عصاره به ۱۰ میلی لیتر رسانده شد. در پایان با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Spectronic 20D ساخت ژاپن) جذب عصاره در طول موج‌های ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر خوانده شد. از DMSO به عنوان شاهد دستگاه استفاده شد. سپس میزان کلروفیل (میلی‌گرم در گرم وزن تازه برگ) با استفاده از فرمول‌های زیر محاسبه شد (Shoaf *et al.*, 1976).



$$\begin{aligned}\text{Chl. a (mg g}^{-1} \text{ F.W.)} &= [12.25(A663) - 2.79 (A645) \times V / (W \times 1000)] \\ \text{Chl. b (mg g}^{-1} \text{ F.W.)} &= [21.50 (A645) - 5.10 (A663) \times V / (W \times 1000)] \\ \text{Total Chl. (mg g}^{-1} \text{ F.W.)} &= [20.2 (A645) + 8.02 (A663) \times V / (W \times 1000)]\end{aligned}$$

اندازه‌گیری درصد تنژگی

درصد تنژگی از فرمول زیر محاسبه گردید به طوری که G شمار بذره‌های تنژیده و N شمار کل بذره‌های در نظر گرفته شده است (Copeland et al., 1995).

$$GP = \sum G/N \times 100$$

ارتفاع گیاه، طول میانگره و قطر ساقه

ارتفاع گیاه و طول میانگره برحسب سانتی متر با استفاده از خط‌کش و قطر ساقه بر حسب میلی متر با کولیس اندازه‌گیری شد.

درصد بدشکلی و شیشه‌ای شدن

با تشخیص چشمی ظاهر گیاه بررسی شد و سپس درصد بدشکلی محاسبه گردید.

واکاوی داده‌ها

واکاوی آماری داده‌ها با استفاده نرم افزار SAS انجام گرفت و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون LSD در سطح ۵٪ استفاده شد.

نتایج و بحث

پس از انجام تلاقی بین والدین انتخاب شده، داده‌ها شامل شمار گل‌های گرده‌افشانی شده، درصد وردبر، و میانگین شمار بذر در هر وردبر، به دست آمد (جدول ۲).

درصد تشکیل وردبر و میانگین شمار بذر

جدول مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیشترین درصد تشکیل وردبر و بیشترین میانگین شمار بذر در هر وردبر از تلاقی *R. iberica* با گل محمدی به ترتیب ۳۴٪ و ۱۳/۴۰٪ به دست آمده است. همچنین نشان داده شد که *R. iberica* با تولید بیشترین شمار وردبر و میانگین تولید بذر بالا برای گزینش به عنوان والد بذری بسیار مناسب است. همچنین *R. iberica* به عنوان والد گرده در تلاقی با والد بذری گل محمدی متفاوت بود و وردبر و بذر کمی تولید کرد. تلاقی بین *R. iberica* و رقم Red One موفق نبود و وردبرها چند روز پس از تلاقی روی بوته خشک شده و ریزش کردند (شکل ۲). تفاوت مشاهده شده را می‌توان به نژادگان وردها نسبت داد. افزون بر این، پژوهش‌های پیشین نشان داده که چندین دلیل برای شکست تلاقی در برنامه به‌نژادی وجود دارد. به نظر می‌رسد که ریزش وردبرها بیشتر در پاسخ به دمای بالا رخ می‌دهد، زیرا زنده ماندن گامت‌ها به شدت زیر تأثیر شرایط محیطی، به ویژه دما است (Visser et al., 1977). زنده ماندن گامت‌ها زیر تأثیر فرآیندهای فیزیولوژیکی داخلی در مدت گرده‌افشانی و باروری قرار می‌گیرد (Gudin, 1992). تفاوت در وضعیت باروری، ممکن است به دلیل عوامل ژنتیکی زیادی از جمله ژن‌های کشنده و اثرهای مضر آن‌ها، ناهنجاری‌های میتوزی و ناسازگاری گامت‌ها باشد (Ogiliv et al., 1991). درصد پایین تشکیل وردبر در این آزمایش را می‌توان به ناسازگاری بین والدین (وجود ناسازگاری گامتوفیتیک) و نابرابری سطح چندگانی نسبت داد (Morey, 1959; Rajapakse et al, 2001; Zlesak, 1998).



جدول ۲- بررسی تشکیل وردبر و میانگین بذر گونه وحشی ورد در تلاقی با گل محمدی و وردهای تجاری.

Table 2- Investigating of hip formation and seed average of wild rose species in crossing with *R. damascena* and commercial roses.

والد بذری	والد گرده دهنده	شمار گل‌های گرده‌افشانی شده	درصد وردبرها	میانگین شمار بذر در هر وردبر
Seed parent	Pollinator parent	Number of pollinated flowers	Percentage of hips	Average number of seeds/hip
<i>R. iberica</i>	<i>R. damascena</i>	60	34.00 ^{a†}	13.40 ^a
<i>R. damascena</i>	<i>R. iberica</i>	60	15.00 ^d	3.80 ^d
Dolce Vita	<i>R. iberica</i>	40	19.50 ^c	6.80 ^c
Avalanche	<i>R. iberica</i>	40	23.50 ^b	10.20 ^b

†در هر ستون، میانگین‌ها در سطح احتمال ۰.۰۵٪ آزمون LSD تفاوت معنی‌دار دارند.

† In each column, means are significantly different at 5% level of probability, using LSD test.



شکل ۲- نبود موفقیت تلاقی بین *R. iberica* و رقم Red One (الف) و خشک شدن وردبر.

Figure 2- Failure of the cross between *R. iberica* and Red One cultivar (A) and drying of the hip.

درصد تنژگی

بیشترین رویان تنزیده در شرایط درون شیشه ای به میزان ۶۶٪ از تلاقی *R. iberica* با گل محمدی به‌دست آمد. درصد تنژگی دوره‌های گرده‌افشانی شده با *R. iberica* متفاوت بود (جدول ۳).

جدول ۳- بررسی قابلیت تنژگی بذرها به‌دست آمده از تلاقی *R. iberica* با گل محمدی و وردهای تجاری.

Table 3- Investigation on germination ability of seeds obtained from the crossing of *R. iberica* with *R. damascena* and commercial roses.

والد بذری	والد گرده دهنده	تعداد بذرها استفاده شده	درصد رویان‌های تنزیده	درصد بدشکلی (نابهنجاری)
Seed parent	Pollinator parent	شده برای تنژگی	تنزیده	Percentage of abnormality
		Number of seeds used for germination	Percentage of germinated embryos	
<i>R. iberica</i>	<i>R. damascena</i>	20	66.00 ^{a†}	0
<i>R. damascena</i>	<i>R. iberica</i>	20	33.00 ^b	0
Dolce Vita	<i>R. iberica</i>	20	26.00 ^{bc}	24.66 ^b
Avalanche	<i>R. iberica</i>	20	24.00 ^c	39.33 ^a

†در هر ستون، میانگین‌هایی که دارای حرف(های) مشترک هستند، در سطح احتمال ۰.۰۵٪ آزمون LSD تفاوت معنی‌داری ندارند.

† In each column, means with the same letter(s) are not significantly different at 5% of probability, using LSD test.



نتیجه‌های به‌دست آمده از پژوهش انجام شده روی دورگه‌های جدید ورد نشان داد، که تشکیل میوه و تنژگی بذر کمتر از ۵۰٪ است. همچنین Gudrin (۲۰۰۰) گزارش کرد، شمار بذر درون هر میوه ۱-۳۰ عدد بوده و زیر تأثیر نژادگان می‌باشد که این نتیجه‌ها با یافته‌های پژوهش حاضر همسو می‌باشد. نتیجه‌های برخی از پژوهش‌های صورت گرفته روی رقم‌های تجاری ورد حاکی از این است که تولید گرده با قدرت زنده‌مانی کم به دلیل موانع پیش و یا پس از تقسیم میوز می‌باشد (Jacob and Ferreo, 2003). پیش از این هم گزارش شده که قدرت زنده‌مانی پایین دانه گرده باعث تولید کم بذر می‌شود (De Vries, 1996). در گونه‌های وحشی ورد، گل‌ها شمار زیادی گرده با قدرت زنده‌مانی بالا تولید می‌کنند. همچنین وردهای وحشی نسبت به وردهای دورگه تجاری شمار بیشتری وردبذر تولید کرده و شمار بذر بیشتری داخل هر وردبذر به وجود می‌آورد که با نتیجه‌های به‌دست آمده از این پژوهش همخوانی دارد. تفاوت بین تلاقی‌های مختلف ورد در تولید وردبذر و بذر بستگی زیادی به نژادگان، سطح چندگانی و فاصله گیاهشناسی والدین از یکدیگر دارد. گونه *R. canina* دارای سطح چندگان پنج‌گان است. وقتی که در تلاقی به عنوان والد گرده به‌کار برده می‌شود مانند گیاهان دوگان رفتار کرده و دانه گرده یک‌گان تولید می‌کند اما به خاطر داشتن دانه گرده با قدرت زنده‌مانی پایین، در تلاقی موفق نبوده و لقاح کمتر مشاهده می‌شود که با نتیجه‌های حاضر در یک راستا می‌باشد (Mokadem et al., 2003). گزارش شده شمار بذر در گرده‌افشانی کنترل شده وردهای بریدنی و باغی به طور متوسط ۴ بذر در هر وردبذر است. از دیگر مشکلات تشکیل بذرهای دورگه در وردها، اختلال‌های میوزی و نبود جفت شدن کروموزوم‌ها عنوان شد. همچنین اختلاف سطح کروموزومی موجب اختلال در رشد اندوسپرم و رویان شده و سقط رویان دورگه را در پی خواهد داشت، اما در برخی موارد به تولید نتاج سه‌گان منجر می‌شود (Movahed et al., 2017). از تکنیک نجات رویان در تلاقی‌ها به دلیل مشکل سقط رویان و نبود تنژگی استفاده می‌شود. موفقیت در تولید گیاهچه با استفاده از روش نجات رویان تا حدود زیادی به مرحله نمو و بلوغ رویان بستگی دارد (Sharma et al., 1996). همچنین نتیجه‌های به‌دست آمده از این پژوهش در برخی از تلاقی‌ها مانند *R. iberica* با رقم Avalanch و *R. iberica* با رقم Dolce Vita منجر به تشکیل گیاهان با نمای نامناسب شد که در ادامه رشد نکرده و از بین رفتند که این را می‌توان به دلیل نبود سازگاری بین والدین نسبت داد که با نتیجه‌های (Caser et al., 2017) در یک راستا می‌باشد.

ارتفاع و طول میانگره

شمار زیادی از گیاهچه‌های تولیدی در تلاقی‌های مختلف به‌ویژه در تلاقی *R. iberica* با رقم Avalanch، همچنین *R. iberica* با Dolce Vita در مراحل نخستین رشد از بین رفتند که می‌توان به نبود سازگاری یا تفاوت در سطح چندگانی نتاج به‌دست آمده نسبت داد. به‌طوری‌که فقط یک گیاه از تلاقی *R. iberica* با گل محمدی و چهار گیاه از تلاقی گل محمدی با *R. iberica* زنده ماندند. این گیاهان یک ماه پس از رشد و قرار گرفتن در محیط سازگاری مورد بررسی قرار گرفتند. جدول مقایسه میانگین نشان داد که اختلاف معنی داری بین گیاهان والد با نتاج وجود دارد، به‌طوری‌که بیشترین ارتفاع و طول میانگره مربوط به نتاج Id5 به‌دست آمده از تلاقی *R. iberica* با گل محمدی بود و کمترین ارتفاع و طول میانگره به ترتیب مربوط به والد *R. iberica* و گل محمدی بود (جدول ۴). همچنین نتیجه‌ها نشان داد که قطر ساقه بین والدین و Id5 اختلاف



معنی داری ندارد اما با دیگر نتایج دارای اختلاف معنی داری بود. این احتمال وجود دارد که افزایش رشد به خاطر قدرت جذب بیشتر مواد غذایی از محیط باشد.

جدول ۴- بررسی ویژگی های ریخت شناسی والدین و دانهال ها.

Table 4- Investigation on morphological characteristics of parents and seedlings.

والدین و دانهال ها Parents and seedlings	ارتفاع گیاه (سانتی متر) Plant height (cm)	قطر ساقه (میلی متر) Stem diameter (mm)	طول میانگره (سانتی متر) Internode length (cm)
<i>R. iberica</i> parent (Ib) والد گل محمدی	3.58 ^{ef}	2.52 ^{ab}	0.73 ^c
<i>R. damascena</i> parent (Da) دانهال	4.46 ^e	2.15 ^{bc}	1.08 ^c
Seedling (di1) دانهال	9.60 ^d	1.56 ^e	1.95 ^b
Seedling (di5) دانهال	31.9 ^b	1.73 ^{de}	2.88 ^a
Seedling (di8) دانهال	25.40 ^c	1.76 ^{de}	2.96 ^a
Seedling (di9) دانهال	22.43 ^c	2.07 ^{cd}	2.21 ^b
Seedling (id5) دانهال	39.43 ^a	2.57 ^a	3.20 ^a

†در هر ستون، میانگین هایی که دارای حرف (های) مشترک هستند، در سطح احتمال ۵٪ آزمون LSD تفاوت معنی داری ندارند.

‡In each column, means with the same letter(s) are not significantly different at 5% of probability, using LSD test.

بررسی درصد برگ سبز، زرد و کلروفیل a و b

جدول مقایسه میانگین نشان داد، که بیشترین درصد برگهای سبز مربوط به نتایج در id5 به دست آمده از تلاقی گل محمدی با *R. iberica* بود و کمترین درصد برگهای سبز مربوط به گل محمدی بود (جدول ۵). همچنین بیشترین درصد برگهای زرد به ترتیب مربوط به گل محمدی و کمترین درصد برگهای زرد مربوط به Di9 و id5 بود که با یکدیگر اختلاف معنی داری نشان ندادند. از لحاظ میانگین شمار برگ والد *R. iberica* با نتایج اختلاف معنی داری نشان داد (جدول ۴). همچنین از لحاظ میزان کلروفیل بین والدین و نتایج اختلاف معنی داری مشاهده شد که بیشترین کلروفیل a و b مربوط به نتایج id5 به دست آمده از تلاقی گل محمدی با *R. iberica* بود و کمترین کلروفیل a و b مربوط به Ib بود (جدول ۵). گزارش شده که با افزایش سطح چندگانگی در گیاه ریحان میزان کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل نیز به طور معنی داری افزایش می یابد (Abdolmohammadi et al., 2014). همچنین میزان کلروفیل افزون بر عوامل ژنتیکی به عوامل محیطی و شرایط نور، تغذیه و دیگر عوامل بستگی دارد. تنظیم کننده های رشد گیاهی طیف گسترده ای از فرایندهای رشد و نمو را تنظیم می کنند. سایتوکینین هورمون گیاهی مهمی است که مراحل مختلف رشد و گسترش گیاهان مانند تمایز و تقسیم یاخته ای، افزایش سطح برگ و تحرک بخشی مواد غذایی را بر عهده دارد (Hosseini et al., 2014). سایتوکینین ها ساخت پروتئین های فتوسنتزی را تسریع و



باعث گسترش یاخته‌ها در بافت‌ها و اندام‌ها می‌شوند. در واقع تسریع رشد با سیتوکنین شبیه به افزایش طول یاخته ساقه به وسیله اکسین است. اما به نظرمی رسد که سایتوکنین مانند اکسین قابلیت شکل پذیری را با اسیدی نمودن دیواره یاخته‌ای افزایش نمی‌دهد. سایتوکنین‌ها همچنین از تخریب کلروفیل جلوگیری، جذب اسیدهای آمینه و نگهداری پروتئین‌ها را در گیاه تقویت و با تحریک تقسیم یاخته‌ای در گیاهان باعث جلوگیری از پیری می‌شود. می‌توان چنین دریافت کرد که نوع گونه و رقم مورد مطالعه می‌تواند در میزان کلروفیل در سطوح متفاوت چندگانی و جذب مواد غذایی تاثیر داشته باشد (Andersson, 2009). این احتمال وجود دارد که گیاهانی که درصد سبز ماندن برگ بیشتری دارند توانایی جذب سایتوکنین بیشتری را از محیط داشته‌اند. نتیجه‌های این پژوهش با پژوهش انجام شده روی گل محمدی که کاربرد سایتوکنین‌ها باعث کاهش زردی و افزایش سبزیگی می‌شود در یک راستا می‌باشد (Assareh et al., 2005; Moradian et al., 2015).

جدول ۵- بررسی ویژگی‌های ریخت‌شناسی و زیست‌شیمیایی والدین و دانه‌ها در محیط کشت MS همراه با کاربرد

تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی IBA و BA.

Table 5- Investigation on morphological and biochemical characteristics of parents and seedlings in MS culture medium with application of plant growth regulators BA and IBA.

والدین و دانه‌ها Parents and seedlings	میانگین شمار برگ Average number of leaves	درصد برگ‌های سبز Percentage of green leaves	درصد برگ‌های زرد Percentage of yellow leaves	کلروفیل کل Chl. a (mg g ⁻¹ F.W.)	کلروفیل کل Chl. b (mg g ⁻¹ F.W.)	کلروفیل کل Total Chl. (mg g ⁻¹ F.W.)
<i>R. iberica</i> parent (Ib)	8.66 ^{df}	61.11 ^c	38.88 ^a	0.82 ^f	0.33 ^d	1.15 ^f
والد گل محمدی <i>R. damascena</i> parent (Da)	11.66 ^c	59.95 ^c	40.04 ^a	1.64 ^c	0.48 ^{cd}	2.12 ^c
دانه‌ها Seedling (di1)	13.33 ^{bc}	62.73 ^{bc}	37.26 ^a	1.44 ^d	0.46 ^{cd}	1.90 ^{cd}
دانه‌ها Seedling (di5)	16.33 ^a	63.13 ^{bc}	36.88 ^a	1.18 ^e	0.52 ^c	1.70 ^{de}
دانه‌ها Seedling (di8)	15 ^{ab}	64.18 ^{bc}	35.81 ^a	2.23 ^b	0.80 ^b	3.03 ^b
دانه‌ها Seedling (di9)	16 ^a	75.45 ^{ab}	18.66 ^b	1.08 ^e	0.35 ^d	1.43 ^{ef}
دانه‌ها Seedling (id5)	13.66 ^b	80.40 ^a	19.59 ^b	3.33 ^a	1.11 ^a	4.44 ^a

†در هر ستون، میانگین‌هایی که دارای حرف(های) مشترک هستند، در سطح ۵٪ آزمون LSD تفاوت معنی‌داری ندارند.

†In each column, means with the same letter(s) are not significantly different at 5% of probability, using LSD test.



نتیجه گیری

در پژوهش حاضر برای برطرف کردن مهم‌ترین مانع موجود در برنامه‌های بهنژادی ورد از راه تلاقی، که درصد پایین تنژگی بذرها می‌باشد، از روش نجات رویان استفاده شد. همچنین نتیجه‌های این پژوهش به‌طور کلی مشخص کرد که تلاقی بین *R. iberica* و رقم Red One موفق نبود و وردبرها چند روز پس از تلاقی روی بوته خشک شدند و ریزش کردند. همچنین شمار زیادی از گیاهچه‌های تولیدی در تلاقی‌های مختلف به‌ویژه در تلاقی *R. iberica* با رقم Avalanch، همچنین *R. iberica* با رقم Dolce Vita در مراحل نخستین رشد از بین رفتند که آن را می‌توان به ناسازگاری گامتوفیتیک، ناهنجاری‌های میوزی و تجمع ژن‌های مغلوب زیان‌آور یا تفاوت در سطح چندگانی نتاج به‌دست آمده نسبت داد، به‌طوری‌که فقط یک گیاه از تلاقی *R. iberica* با گل محمدی و چهار گیاه از تلاقی گل محمدی با *R. iberica* زنده ماندند. این پژوهش نشان داد *R. iberica* با تولید بیشترین شمار وردبر و میانگین تولید بذر بالا برای گزینش به عنوان والد بذری (ماده) بسیار مناسب‌تر است. همچنین نژادگان به‌دست آمده در بیشتر واسنجه‌ها از والد برتری داشته که می‌تواند برای برنامه بهنژادی پیش رو برای بررسی ترکیب‌های عطر گل و برگ و ساختار ریخت‌شناسی گل نوید بخش باشد.

References

- Aabdolmohammadi, M., Kermani, M.J., Zakizadeh, H., Hamidoghli, Y. (2014). *In vitro* embryo germination and interploidy hybridization of rose (*Rosa* sp). *Euphytica*, 198, 255-264.
- Andersson, S.C. (2009). Carotenoids, tocochromanols and chlorophylls in sea buckthorn berries (*Hippophae rhamnoides*) and rose hips (*Rosa* sp.). Ph.D. Thesis, Swedish University of Agricultural Sciences, Alnarp, Sweden.
- Assareh, M.H., Mamaghani, B.A., Zare, A.Gh., Shahrzad, S. (2005). Effects of culture media and plant growth regulators on in vitro shoot proliferation of Damask rose (*Rosa damascena* Mill.). *Pajouhesh & Sazandegi*, 72 pp: 45-57 (In Persian).
- Boskabady, M.H., Shafei, M., Saberi, N.Z., Amini, S. (2011). Pharmacological effects of *Rosa damascena*. Iran. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 14, 295-307.
- Caser, M., Ballardini, M., Cassetti, A., Ghione, G.G., Mansuino, A., Giovannini, A., Scariot, V. (2017). In vitro culture to improve breeding activities in *Rosa hybrida*. *Acta Horticulturae*, 141-148.
- Copeland, L.O., Mc Donald, M.B. (1995). Principles of Seed Science and Technology. Third Edition, *Chapman and Hall, New York*, 236pp.
- De Vries, D.P., Dubois, L.A. M.D. (1996). Rose breeding: Past, present, prospects. *Acta Horticulturae*, 424, 241-248.
- De Vries, D.P., Dubois, L.A.M. (1983). Pollen and pollination experiments. X. the effect of repeated pollination on fruit and seed set in crosses between the hybrid tea rose cvs. Sonia and Ilona. *Euphytica*, 32, 685-689.
- De Vries, D.P., Dubois, L.A.M. (2001). Developments in breeding for horizontal and vertical fungus resistance in roses. *Acta Horticulturae*, 552, 103-112.
- Giovannini, A., Mascarello, C., Gaggero, L., Pipino, L., Mansuino, A. (2009). Hybrid-Tea rose breeding: approaches to increase seed production and germination. *Proceedings of the 53rd Society of Agricultural Genetics Annual Congress* Torino, Italy.
- Gudin, S. (1992). Influence of bud chilling on subsequent reproductive fertility in roses. *Horticulture Science*, 51, 139-144.
- Gudin, S. (2000). Rose: Genetics and Breeding. Chapter 17. In: Janick, ed. *Plant Breeding Reviews*. John Wiley and Sons, Inc, 159-189.



- Gudin, S., Mouchotte, J. (1996). Integrated research in rose improvement. A breeder experience. *Acta Horticulturae*, 424, 285-292.
- Hiscox, J.D. Israelstam, G.F. (1979). A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. *Canadian Journal of Botany*, 57, 1332-1334.
- Hosseini, H., Farahmand, H., Saffari, V.R. (2014). Effects of foliar application of ascorbic acid, thiamine and GA3 on growth, flowering and some biochemical characteristics of marigold. *Iranian Journal of Horticultural Science and Technology*, 15 (1), 85-96 (In Persian).
- Jackson, G.A.D. Blundell, J.B. 1963. Germination in *Rosa*. *Journal of Horticultural Science*, 38, 310-320.
- Jacob, Y., Ferreo., F. (2003). Pollen Grain and Tubes. In: A V Roberts, T. Debener, S. Gudin (eds.). *Encyclopedia of Rose Science*. Elsevier, 518-523.
- Jowkar, A., Karami, A. (2018). Characterization of volatile organic compounds from leaves of *Rosa iberica* Stev. *Acta Horticulturae*, 1190, 141-144.
- Koobaz, P., Kermani, M.J., Hosseini, Z., Jowkar, A., Khatamsaz, M. (2011). Biosystematic study of *Rosa* (Sect. *Pimpinellifoliae*) and described *R. iberica* (Rosaceae) as a new species from Iran, *Rostaniha* (In Persian). 12, 51-62.
- Mohammadian, M.A., Kasmaei, P.R., Omid, Z., Ghanati, F., Tarang, A. (2012). Morphologic and physiologic effects on polyploidy induction in *Citrus aurantifolia*. *Journal of Plant Biology*, 12, 13-24 (In Persian).
- Mokadem, H., Meynet, J., Jacob, Y., Gudin, S. (2000). Utilization of parthenogenetic diploid plants of *Rosa hybrida* L. in interspecific hybridizations. Proc. 19th international symposium improvement ornamental plants. *Acta Horticulturae*, 508, 185-190.
- Moradian M., Bagheri A.R., Marashi S.H., Nemati S.H., Sharifi, A. (2015) Effect of media composition and plant growth regulators on in vitro regeneration of *Rosa canina* and *Rosa beggeriana*. *Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology)*, 32, 1-13 (In Persian).
- Morey, D. (1959). Observations on the genetics of doubleness in roses. *American Rose Annual*, 44, 113-116.
- Movahed, Gh., Ahmadi, N., Moieni, A., Nasiri, A. (2017). Assessment of farming and microscopic of self and cross-incompatibility in tow valuable Damask rose ecotypes. *Journal of Crops Improvement (Journal of Agriculture)*, 19, 505-516 (In Persian).
- Ogilvie, I., Cloutier, D., Arnold, N., Jui, P.Y. (1991). The effect of gibberellic acid on fruit and seed set in crosses of garden and winter hardy *Rosa* accessions. *Euphytica*, 52, 119-123.
- Ozkan, G.O., Sagdic, N., Baydar, G., Baydar, H. (2004). Note: Antioxidant and antibacterial activities of *Rosa damascena* flower extracts. *Food Science and Technology International*, 10, 277-281.
- Setzer, W.N. (2009). Essential oils and anxiolytic aromatherapy. *Natural Product Communications*, 4, 1305-1316.
- Sharma, D.R., Kur, R., Kumar, K. (1996). Embryo rescue in plants – a review. *Euphytica*, 89, 325-337.
- Visser, T., de Vries, D.P., Scheurink, J.A.M. Welles, G.W.H. (1977). Hybrid tea-rose pollen. II. Inheritance of pollen viability. *Euphytica*, 26, 729-732.
- Shoaf, W.T., Lium, B.W. (1976). Improved extraction of chlorophyll a and b from algae using dimethylsulfoxide. *Limnology and Oceanography*, 21, 926-928.
- Yokoya, K., Roberts, A.V., Mottley, J., Lewis, R., Brandham, P.E. (2000). Nuclear DNA amounts in roses. *Annals of Botany*, 85, 557-561.
- Zlesak, D.C. (1998). Inbreds of 'Carefree Beauty'. *Rose Hybridizers Association Newsletter*, 28, 16.
- Zlesak, D.C. (2006). *Rosa hybrida* L. In: Anderson N.O. (ed.), *Flower Breeding and Genetics: Issue, Challenges, and opportunities for the 21st century*. Springer. Dordrecht, 695-738.





Investigations on cross-breeding and some characteristics of seedlings obtained from the crossing of wild Iranian rose (*Rosa iberica* Stev.) with Damask rose and some commercial rose cultivars

H. Hosseini¹, B. Zahedi¹, A. Jowkar², M. Jafarkhani Kermani³, A. Karami²

1. Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorramabad, Iran

2. Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Shiraz University, Iran

3. Department of Tissue Culture and Gene Transformation, Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran (ABRII)

Abstract

Rosa iberica Stev. is one of the 14 wild rose species native to Iran. This plant has fragrant flowers and leaves. Therefore, one of the most important objectives of this study was to investigate the crossability of *R. iberica* with *R. damascena* and commercial cultivars of Dolce Vita, Avalanch and Red One, as well as embryonic germination and some morphological characteristics of their offspring. This study was conducted to investigate the possibility of crossbreeding of *R. iberica* with *R. damascena* and 3 commercial cultivars of Rose Avalanch, Red One and Dolce Vita in a completely randomized block design for hybridization and a completely randomized design for embryo rescue in 5 repeats performed. The results of this study showed that the highest percentage of hip formation and the highest average number of seeds per hip from the intersection of *R. iberica* with *R. damascena* was 34% and 13.40%, respectively. Also, *R. iberica* as a pollinating parent was different from *R. damascena* seed parent and produced few hips and seeds. The results of crosses showed that the highest height, average number of leaves and green leaf percentage and chlorophyll content were belonged to id5 genotype. The only cross between *R. iberica* as the pollinating parent and the Red One cultivar as the parent was not successful, and the hips dried up and fell off the plant a few days after the crossing. In the crossings of *R. iberica* with Avalanch cultivar and also *R. iberica* with Dolce Vita cultivar, the average number of seeds per hip was 10.20% and 6.80%, respectively, and in the crossings between *R. iberica* as the pollinating parent with Avalanch cultivar as mother parent and also *R. iberica* as pollinator parent with Dolce Vita cultivar as mother parent, a large number of seedlings produced in the early stages of growth on MS culture medium were died, and in crossing of *R. iberica* with Avalanch and Dolce Vita resulted in the highest number of offspring. It can be attributed to gametophytic incompatibility, meiotic abnormalities and accumulation of recessive genes or differences in the ploidy levels of the resulting offspring. Findings of this study showed that *R. iberica* with production of the highest number of hips and high average seed production is very suitable for selection as a parent and also the resulting genotype is superior to the parent in most parameters studied, which can be used in upcoming breeding program for the traits of flowers, the aroma of flowers and leaves.

Keywords: Crossability, Native rose, *R. damascena*, *R. iberica*.