

## بررسی اثرات نوع محیط کشت و غلظت تنظیم کننده‌های رشد بر شاخه‌دهی و ریشه‌زایی گل

### محمدی رقم کاشان ۲

کیوان شجاعی<sup>۱</sup>، ابراهیم گنجی مقدم<sup>۲</sup> و وحید جاجرمی<sup>۳\*</sup>

#### چکیده

به منظور تعیین بهترین محیط کشت و ترکیب هورمونی جهت شاخه زایی و ریشه زایی ریزنمونه‌های گل محمدی آزمایشی به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۵ تکرار در آزمایشگاه کشت بافت گیاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد بندرود در سال ۱۳۹۵ انجام شد. در مرحله اول آزمایش باززایی شاخصاره‌ها در پاسخ به ترکیب محیط کشت و ترکیب هورمونی آنها مورد بررسی قرار گرفت. فاکتورهای مورد بررسی شامل: سطوح مختلف تنظیم کننده‌های رشد BAP در ۵ سطح (۰، ۰/۵، ۱/۵ و ۲ میلی گرم در لیتر) و NAA در سه سطح (۰، ۰/۵ و ۰/۱ میلی گرم در لیتر) و محیط کشت (MS و WPM) بود، به همین منظور از قطعات تک گره ساقه گیاهان پرورش یافته در گلخانه به منظور تهیه ریزنمونه استفاده شد. نتایج نشان داد که تفاوت معنی داری بین محیط‌های کشت مورد استفاده و غلظت‌های مختلف تنظیم کننده رشد در رابطه با ویژگی‌های باززایی شاخصاره وجود داشت. بیشترین طول شاخصاره در محیط کشت WPM مشاهده و درصد باززایی و تعداد شاخصاره در هردو محیط یکسان بود. اثر متقابل دو تنظیم کننده رشد نشان داد تیمار ۲ میلی گرم BAP و بدون NAA دارای بیشترین طول شاخصاره بود. بهترین تیمار جهت طول شاخصاره محیط کشت WPM به همراه غلظت هورمونی ۱/۵ میلی گرم در لیتر BAP با ۰/۵ میلی گرم در لیتر NAA بود و با تیمار محیط کشت به همراه غلظت هورمونی ۲ میلی گرم در لیتر BAP با ۰/۱ میلی گرم در لیتر NAA تفاوت معنی داری نداشت. بیشترین تعداد شاخصاره در محیط کشت WPM به همراه تیمار هورمونی ۲ میلی گرم در لیتر BAP و ۰/۱ میلی گرم در لیتر NAA بود که با تیمار محیط کشت MS با ۲ میلی گرم BAP، بدون مصرف NAA در یک سطح اماری بود. کاربرد تنظیم کننده رشد NAA در محیط کشت باعث کاهش درصد باززایی شاخصاره شد. بیشترین درصد باززایی شاخصاره در غلظت ۲ میلی گرم در لیتر BAP بدون هورمون NAA در محیط WPM و محیط MS با ۱ میلی گرم BAP و بدون NAA مشاهده شد. در مرحله دوم آزمایش واکنش محیط‌های کشت به غلظت‌های مختلف تنظیم کننده IBA (۱، ۲ و ۳ میلی لیتر) به منظور ریشه زایی شاخصاره‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت و نتایج نشان داد که محیط MS حاوی ۱ میلی گرم IBA دارای بیشترین شاخص‌های ریشه زایی بود.

**واژه‌های کلیدی:** گل محمدی، ریزازدیادی، تنظیم کننده رشد، محیط کشت، باززایی

<sup>۱</sup> گروه کشاورزی، واحد سبزوار، دانشگاه آزاد اسلامی، سبزوار، ایران

<sup>۲</sup> دانشیار پژوهش بخش تحقیقات نهال و بذر مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی

<sup>۳</sup>\* نویسنده مسئول، استادیار گروه کشاورزی، واحد بندرود، دانشگاه آزاد اسلامی، بندرود، ایران. ایمیل: Vahid\_jajarmii@yahoo.com

## مقدمه

محیط کشت WP با تیمار ۰/۰ میلی گرم بر لیتر NAA بهترین نتایج را نشان داد. در بررسی تعیین بهترین محیط کشت و سطح هورمونی به منظور ریشه دار کردن نو ساقه های ۳ ژنوتیپ گل محمدی، گزارش شد بیشترین میزان پرآوری در سطح ۲ میلی گرم بر لیتر از BAP بوده است (امیدی قلعه محمدی، ۱۳۹۳). اثر توده و غلظت BAP بر درصد و میانگین بازیابی گیاه ریحان معنی دار بود و بیشترین درصد بازیابی شاخصاره در توده مجارستان و در غلظت ۲/۵ میلی گرم در لیتر BAP ثبت گردید (اصغری، ۱۳۹۱). این تحقیق با هدف بررسی اثرات نوع محیط کشت و غلظت تنظیم کننده های رشد بر شاخه دهی و ریشه زایی گل محمدی در شرایط درون شیشه ای (کشت بافت) انجام شد.

## مواد و روش‌ها

این آزمایش به روش کشت درون شیشه ای و در ۲ مرحله اجراء گردید. در مرحله اول آزمایش، بازیابی شاخصاره از ریزنمونه های حاصل از قلمه های تک گره ساقه و در مرحله دوم، ریشه زایی درون شیشه ای شاخصاره ها، در واکنش به ترکیب هورمونی و محیط های کشت بود. هر ۲ مرحله آزمایش به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۵ تکرار اجرا گردید. پایه های گیاهی مناسب مورد نیاز در این آزمایش (پیرو نتایج تحقیقات انجام شده و نتایج مقدماتی از اجرای بازیابی برخی از ژنوتیپ های مورد آزمایش در آزمایشگاه دانشگاه آزاد بجنورد) در سال ۱۳۹۵ از پایه های ارقام مناسب و پرگل گل محمدی، بومی باغات کاشان (که در این آزمایش بعنوان کاشان ۲ گزارش شده است) تهیه گردید و پس از انتقال به گلدان در گلخانه دانشگاه آزاد اسلامی بجنورد نگهداری شد. غلظت های تنظیم کننده رشد شامل: BAP در ۵ سطح (۰، ۰/۱، ۱، ۱/۵ و ۲ میلی گرم در لیتر) و NAA در سطح (۰، ۰/۱ و ۰/۵ میلی گرم در لیتر) و محیط کشت (WPM و MS) بود، ساقه های جوان از بوته های موجود در گلخانه جدا شده و جهت تهیه ریزنمونه به آزمایشگاه منتقل گردیدند. در آزمایشگاه ابتدا برگ ها از ساقه جدا

گل محمدی (*Rosa damascena*) یکی از مهمترین گونه های معطر رز می باشد که به صورت درختچه ای و چند ساله است. ارزشمند ترین بخش قابل مصرف در این گیاه گل آن می باشد، که به اشکال مختلف نظیر گل خشک، مرiba و گلاب در غذای انسان به مصرف می رسد. محصولات بدست آمده از گل محمدی شامل گل خشک، گلاب و اسانس هستند که علاوه بر مصرف داخل کشور از اقلام مهم صادراتی نیز می باشد. از اسانس گل محمدی در صنایع عطر سازی، آرایشی و عطر درمانی نیز استفاده می شود. روش های کلاسیک و متداول تکثیر گل محمدی پاچوش، قلمه و پیوند زدن است. از بذر ها نیز معمولاً برای تکثیر گونه ها و ارقام جدید و برای تولید پایه ها استفاده می شود. اگرچه تکثیر به وسیله اندام های رویشی یک تکیک غالب در تکثیر اغلب رز ها می باشد اما با این حال هنوز سلامتی و عاری از بیماری بودن گیاهان حاصل از این روش ها قابل تأیید نیست. علاوه بر این وابستگی فصلی، هزینه های بالای تکثیر، کار پر زحمت و سرعت آهسته در تکثیر از دیگر محدودیت های موجود در روش های سنتی تکثیر می باشد. برجسته ترین خصوصیت روش های تکثیر درون شیشه ای، قدرت تکثیر بسیار زیاد در فاصله زمانی اندک، تولید گیاهان عاری از بیماری با محتواهای ژنتیکی یکسان و کیفیت یکنواخت می باشد. طی پژوهشی (قاسمی و همکاران، ۱۳۹۱) تأثیر تیمارهای هورمونی بر میزان ساقه زایی و ریشه زایی در ۲ گونه گیاه درمنه را مورد مطالعه قرار دارند. بیشترین میزان ساقه زایی در گونه *absinthium* به دست آمد. در هر ۲ گونه *absinthium* و *annua* بیشترین تعداد ساقه در تیمار هورمونی ۰/۱ میلی گرم در لیتر NAA به همراه ۰ میلی گرم در لیتر BAP مشاهده شد. در پژوهشی که توسط قلیزاده و همکاران (۱۳۹۳) بر روی گل محمدی انجام شد گزارش کردند که از میان محیط های کشت (MS,WP,QL) برای تکثیر ساقه، نو ساقه و طول ساقه، محیط کشت QL و به جهت تکثیر ریشه و طول ریشه،

شده است که سیتوکنین ها باعث افزایش رشد و تقسیم سلولی در کشت بافت گیاهی شده و در پرآوری ساقه، با کاهش غالبیت انتهایی، رشد جوانه های جانبی را در کشت نوساقه افزایش می دهند (زارعی و همکاران، ۱۳۹۲). اثر متقابل دو تنظیم کننده رشد نشان داد تیمار ۲ میلی گرم BAP در سطح ۰/۱ و یا بدون NAA دارای بیشترین طول شاخصاره بود. بررسی اثر متقابل سه گانه (BAP، محیط کشت و NAA) نشان داد، بهترین تیمار جهت طول شاخصاره محیط کشت WPM به همراه غلظت هورمونی ۱/۵ میلی گرم در لیتر BAP با ۰/۵ میلی گرم WPM در لیتر NAA می باشد که با تیمار محیط کشت به همراه غلظت هورمونی ۲ میلی گرم در لیتر BAP با ۰/۱ میلی گرم در لیتر NAA تفاوت معنی دار نداشت. (شکل ۱).

با توجه به نتایج تجزیه واریانس، تأثیر محیط کشت بر تعداد شاخصاره در ریز نمونه معنی دار نبود. اثر غلظت تنظیم کننده رشد BAP بر تعداد شاخصاره در ریز نمونه در سطح آماری ۱ درصد معنی دار بود و افزایش غلظت در محیط کشت باعث افزایش تعداد شاخصاره در BAP مشاهده شد. افزایش تعداد شاخصاره در ریز نمونه در واکنش به مصرف BAP بیانگر نفس مشخص سیتوکنین ها در قابلیت تحرك، تکثیر و تقسیم سلولی در بافتهای ریز نمونه مورد کشت و در نتیجه تشکیل اندام در بافتهای تیمار شده می باشد. ریز نمونه گره، دارای جوانه های نهفته و مستعدی است که مصرف سیتوکنین سبب تحریک تعداد بیشتری از آنها شده و تعداد شاخصاره در ریز نمونه را افزایش می دهد (اصغری و همکاران، ۱۳۹۱).

در بررسی اثر تنظیم کننده های رشد در گیاهان دارای بافت چوبی گزارش شد که استفاده از سیتوکنین ها موجب افزایش ضریب پرآوری در روزها می شود (Huettelman, 1993)

بیشترین تعداد شاخصاره در اثر متقابل دوگانه محیط کشت و تنظیم کننده رشد، متعلق بود به محیط کشت

شده و ساقه ها با قلمه های تک گره، برش خوردن. مراحل گندزدایی ریز نمونه ها به مدت ۳۰ دقیقه با استفاده از آب جاری و مایع ظرف شویی انجام و سپس، نمونه ها به مدت ۳ دقیقه با محلول کلرید جیوه ۰/۱ درصد ضد عفونی و پس از آن ۳ مرحله آب شویی با آب مقطر استریل انجام و سپس ۱ دقیقه با الکل ۷۰ درصد و دوباره ۳ مرحله با آب مقطر آب شویی گردیدند. پس از کشت کلیه تیمار ها، ظروف کشت به اتفاق رشد، با شرایط دمایی ۲۵ درجه سانتی گراد و شدت نور ۳۰۰۰ لوکس با دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی منتقل شدند. پس از گذشت ۴۵ روز، کلیه تیمارها در رابطه با باز زایی شاخصاره مورد بررسی قرار گرفته و خصوصیاتی نظیر درصد باز زایی، طول شاخصاره و تعداد شاخصاره در هر ریز نمونه تعیین گردید. اثر غلظت هورمون (۱،۰ و ۳ میلی لیتر) و محیط های کشت MS و WPM بر ریشه زایی شاخصاره های تولید شده در مرحله قبل از مایش مورد بررسی قرار گرفت. ریز نمونه های ریشه دار شده پس از گذشت ۴۵ روز از محیط کشت خارج گردید. تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از نرم افزار کامپیوتری SAS انجام شد و نمودارها با استفاده از نرم افزارهای Word و Excel ترسیم گردیدند. مقایسه میانگین داده ها با روش دانکن صورت گرفت.

## نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده های آزمایش نشان داد که تفاوت معنی داری بین غلظت های مختلف تنظیم کننده های رشدی و محیط های کشت و اثر متقابل آنها در برخی ویژگی های باز زایی شاخصاره وجود داشت به طوریکه تأثیر محیط کشت بر طول شاخصاره در سطح ۱ درصد معنی دار بود و بیشترین طول شاخصاره در محیط WPM مشاهده شد. افزایش غلظت BAP تا ۲ میلی گرم در لیتر، طول شاخصاره را افزایش داد و تفاوت آماری معنی داری بین غلظت های ۱ و ۰/۵ میلی گرم در لیتر NAA از نظر طول شاخصاره وجود نداشت. سیتوکنین ها باعث تورم بافت ها، تحریک نمو جوانه های جانبی ناجا و تحریک تقسیم سلولی می شوند. امروزه به خوبی مشخص

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده های آزمایش نشان داد که تفاوت معنی داری بین غلظت های مختلف تنظیم کننده رشد IBA در محیط های کشت متفاوت در رابطه با ریشه زایی شاخصاره وجود داشت. طول ریشه، تعداد ریشه و درصد باززایی ریشه در محیط MS نسبت به محیط کشت WPM بیشتر بود و با افزایش غلظت IBA تا ۱ میلی گرم در لیتر، طول و تعداد ریشه را افزایش داد، اما با افزایش غلظت آن به ۲ و ۳ میلی گرم در لیتر باعث کاهش طول ریشه نسبت به غلظت ۱ میلی گرم در لیتر گردید. بیشترین و کمترین میانگین طول و تعداد ریشه به ترتیب در غلظت ۱ و ۰ میلی گرم در لیتر IBA در محیط کشت MS مشاهده شد (شکل ۴). اکسین ها در ریشه زایی مؤثرند و غلظت هایی از اکسین که در رشد ساقه مؤثرند در رشد ریشه اثر بازدارنده دارند ولی در عین حال دز بالای اکسین با فعال ساختن تقسیم یاخته های دایره محیطیه، ایجاد ریشه ها را تحریک می کنند. جهت ریشه دار کردن نو ساقه های *R. miniatur* از محیط کشت پایه MS با تیمار های ۰/۰۵ و ۰/۱۰ میلی گرم بر لیتر IBA استفاده شد و گزارش شد که بهترین تیمار جهت ریشه زایی ۰/۱ میلی گرم بر لیتر بود (Farah, 2012). در آزمایشی که به منظور تعیین بهترین سطح هورمونی IAA و IBA بر روی *R. hybrida* انجام شد، بهترین درصد ریشه زایی در تیمار ۲ میلی گرم بر لیتر IBA در محیط MS بدست آمد (Attia and Adel, 2012).

جدول تجزیه واریانس داده ها نشان داد که اثر متقابل نوع محیط کشت، نوع و غلظت تنظیم کننده های رشدی بر تعداد شاخصاره در سطح آماری ۵ درصد معنی دار است. می توان نتیجه گرفت که محیط کشت WPM به همراه تیمار هورمونی ۲ میلی گرم در لیتر BAP و ۰/۵ میلی گرم در لیتر NAA بهترین تیمار هورمونی جهت افزایش سریع تعداد شاخه های ریزنمونه گل محمدی می باشد (شکل ۵).

WPM و غلظت ۲ میلی گرم BAP و ۰/۵ میلی گرم NAA در محیط MS. در بررسی اثر متقابل سه گانه می توان نتیجه گرفت که محیط کشت WPM به همراه تیمار هورمونی ۲ میلی گرم در لیتر BAP و ۰/۱ میلی گرم در لیتر بهترین تیمار هورمونی جهت افزایش سریع تعداد شاخه های ریزنمونه گل محمدی می باشد که با تیمار محیط کشت MS با ۲ میلی گرم BAP بدون مصرف NAA در یک سطح اماری بود. غلظت های ضعیف اکسین (NAA) در حضور سیتوکینین (BAP) آغاز طرح ریزی جوانه ها را امکان پذیر می سازند. غلظت های بالاتر، نمو این طرح های اولیه را متوقف می کند مثلاً در مورد سیب زمینی، به منظور جلوگیری از نمو زودرس جوانه ها، در طی حمل و نقل و یا ذخیره کردن، اکسین به کار می برند (فرشادیفر و بخشی خانیکی، ۱۳۹۱). بنابراین نظر می رسد برای افزایش تعداد شاخه می توان فقط از تنظیم کننده BAP به میزان ۲ میلی گرم به تنها بی استفاده کرد.

بیشترین میزان درصد باززایی در تیمار ۲ میلی گرم BAP بدست آمد. بررسی اثر متقابل NAA و محیط کشت نشان داد که بیشترین درصد باززایی شاخصاره در تیمار عدم مصرف NAA و در محیط MS بدست آمد. کاربرد اکسین ها در کشت بافت باعث رشد طولی ساقه، تورم بافت ها تقسیم سلولی و تشکیل ریشه های نابجا می شوند، اما معمولاً از تشکیل شاخه های نابجا ممانعت و در نتیجه میزان درصد باززایی را کاهش می دهد. با این وجود واکنش به حضور اکسین در شرایط کشت بافت به عوامل متعددی از جمله نوع و غلظت اکسین و همچنین ژنتیک بستگی دارد (باقری و صفاری، ۱۳۸۸). بررسی اثر NAA نشان داد که با افزایش غلظت NAA از میزان درصد باززایی در هر دو محیط کشت کاسته شد (شکل ۲). بررسی اثر متقابل سه گانه نشان داد بیشترین درصد باززایی شاخصاره در محیط کشت WPM و با ۲ میلی گرم BAP بدون NAA و محیط MS با ۱ میلی گرم BAP و بدون NAA مشاهده شد (شکل ۳).

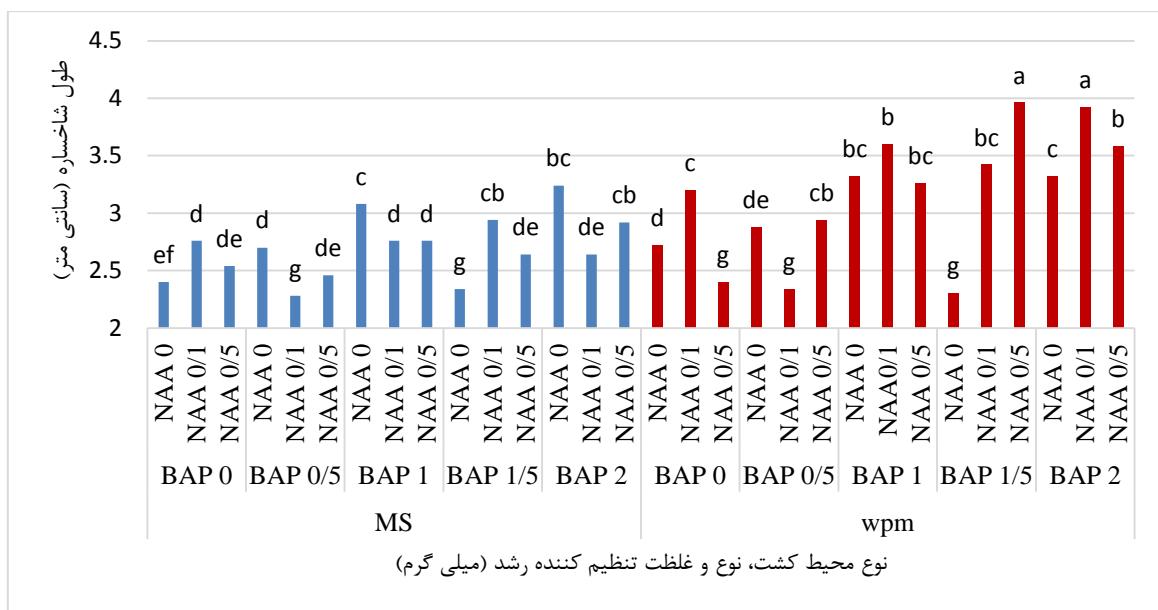
داد که غلظت تنظیم کننده رشد BAP در محیط WPM تأثیر معنی داری بر ویژگی های بازیابی شاخصاره داشت. بیشترین درصد بازیابی شاخصاره در غلظت ۲ میلی گرم در لیتر BAP بدون هورمون و بیشترین تعداد شاخصاره در ریزنمونه و میانگین طول شاخصاره به ترتیب NAA، ۱/۵ میلی گرم در لیتر BAP به همراه ۰/۵ میلی گرم در لیتر NAA در محیط کشت WPM مشاهده گردید. کاربرد هورمون NAA در محیط کشت باعث کاهش درصد بازیابی شاخصاره شد. در تیمار ریشه زایی نیز محیط کشت MS به همراه ۱ میلی گرم در لیتر IBA دارای بیشترین مقدار درصد ریشه زایی، طول ریشه و تعداد ریشه بود.

## انتقال و سازگاری

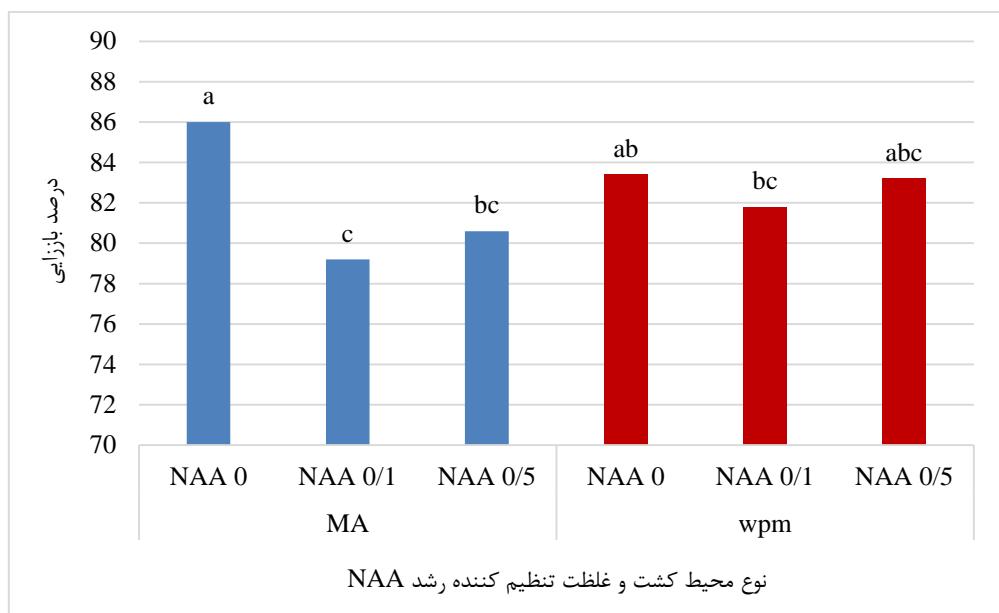
در این مرحله از پژوهش روند کار طبق انتظارات نبود، در بررسی های صورت گرفته توسط سایر محققین درصد سازگاری نمونه ها بالا اعلام شده بود و همین امر میزان توقع از سازگاری گیاهچه های این پژوهش را افزایش داده بود. در حالی که در این طرح ما شاهد سازگاری نسبی نمونه ها (۵۰٪ درصد سازگاری) با محیط طبیعی بودیم. در بررسی اثر هورمون های رشدی بر کشت درون شیشه ای گیاه گل محمدی توسط طهرانی (۱۳۹۵) اعلام کرد که گیاهچه های حاصل از ریزازدیادی در شرایط کشت بافت با موفقیت سازگار گردیدند.

## نتیجه گیری

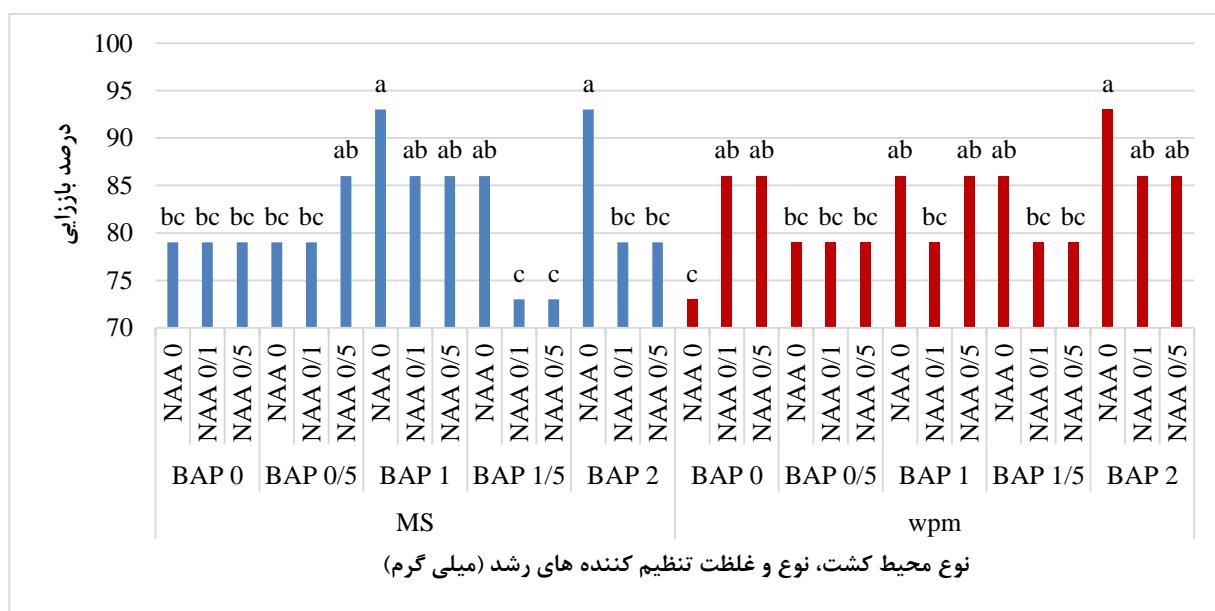
نتایج حاصل از بررسی اثر نوع محیط کشت و غلظت تنظیم کننده های رشد بر ریزازدیادی گل محمدی نشان



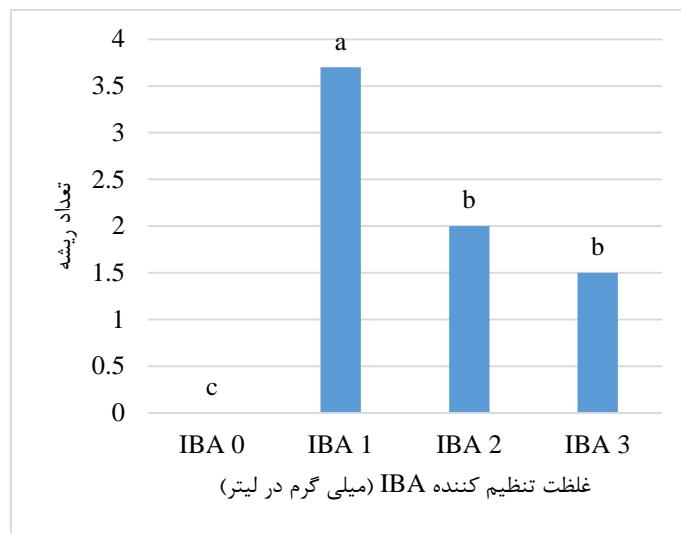
شکل ۱- اثر متقابل نوع محیط کشت، نوع و غلظت تنظیم کننده های رشد بر طول شاخصاره گل محمدی رقم کاشان ۲



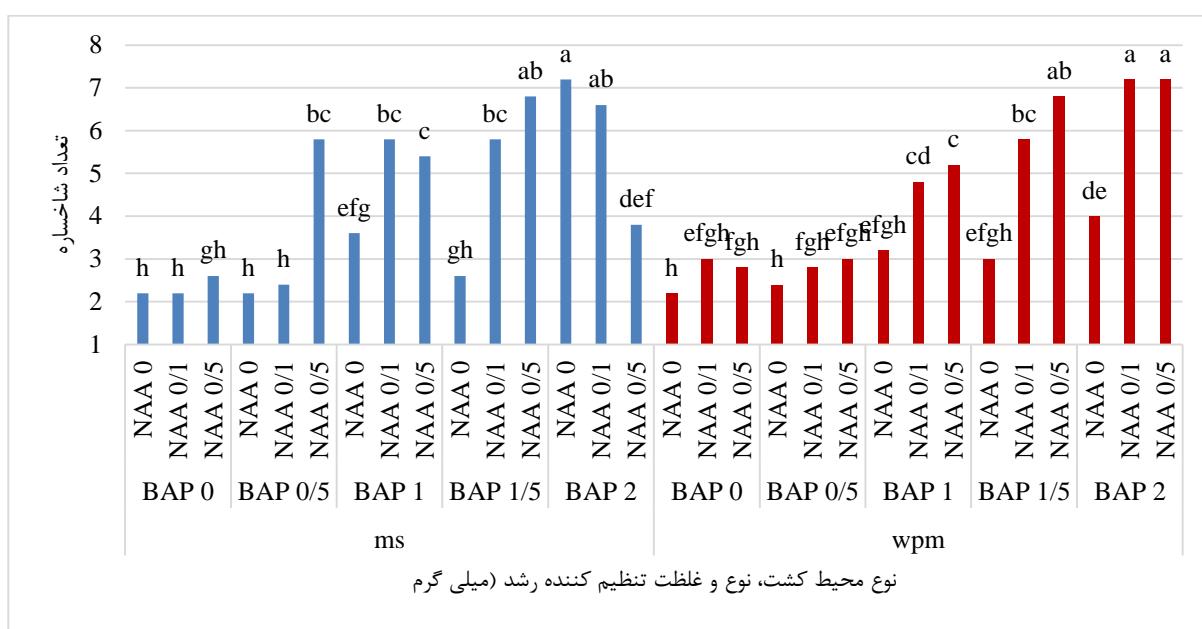
شکل ۲- اثر نوع محیط کشت و غلظت تنظیم کننده رشد NAA بر درصد باززنی شاخصاره گل محمدی رقم کاشان ۲



شکل ۳- اثر متقابل نوع محیط کشت، نوع و غلظت تنظیم کننده های رشد بر درصد باززنی شاخصاره گل محمدی رقم کاشان ۲



شکل ۴- اثر غلظت تنظیم کننده رشد IBA بر تعداد ریشه در شاخصاره گل محمدی رقم کاشان ۲



شكل ۵- اثر متقابل نوع محیط کشت، نوع و غلظت تنظیم کننده های رشدی بر تعداد شاخصاره گل محمدی رقم کاشان ۲

## منابع

- فرشادیفر، م. و خشی خانیکی، غ. (۱۳۹۱). مبانی بیوتکنولوژی و کشت بافت گیاهی. انتشارات دانشگاه پیام نور تهران قاسمی، ب.، حسینی، ر. و دهقان نیری، ف. (۱۳۹۱). بررسی تأثیر تیمارهای هورمونی بر میزان ساقه زایی و ریشه زایی در ۲ گونه گیاه درمنه. سومین همایش ملی بیوتکنولوژی کشاورزی ایران. دانشگاه فردوسی مشهد
- قلیزاده، ف.، غلامی، ل. و کیارستمی، خ. (۱۳۹۳). بررسی اثر محیط کشت‌های پایه و تیمارهای هورمونی مختلف بر ریزازدیادی گل محمدی (*Rosa damascena* Mill). مجله پژوهش‌های گیاهی (مجله زیست‌شناسی ایران)، ۲۵، ۱۲۵.
- Farah, F. (2012). Propagation and growth from cultured single node explants of rosa (*Rosa miniature*). African Journal of Plant Science, 6(10), 221-232.
- Hutteman, C.A. and Preece, J.E. (1993). Thidiazuron a potent cytokinin for woody plant tissue culture cell. Tissue and organ culture, 33, 105-119
- اصغری، ف.، حسینی، ع.، حسینی، ب. و فرخی، ج. (۱۳۹۱). بررسی اثرات نوع ژنتیپ و غلطت‌های مختلف بنزیل آدنین بر باززایی مستقیم شاخصاره ریحان در شرایط درون شیشه‌ای. نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)، ۴۳۹-۴۳۴
- امیدی قلعه محمدی، م.، یداللهی، ع.، احمدی، ن. و بیرانوند، ف. (۱۳۹۳). تأثیر محیط‌های مایع و جامد بر پرآوری درون شیشه‌ای ژنتیپ‌های برتر گل محمدی. اولین کنگره ملی گل و گیاهان زینتی ایران، کرج.
- باقری، ع. و صفاری، م. (۱۳۸۸). مبانی کشت بافت گیاهی. تألیف آر، آل، ام پیریک. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد.
- زارعی، م.، گروسی، ق.، نظامی، ا.، حسینی، ر. و احمدی، ج. (۱۳۹۲). تأثیر محیط کشت، منبع کربن و طیف نور در نوساقه زایی و شیوه تیمار کربن در ریشه زایی پایه رویشی Gisela 6. مجله سلول و بافت، ۴(۲)، ۱۸۵-۱۶۹.

## Investigation effects of culture media and growth regulators concentration on proliferation and rooting of *Rosa damascena* Mill cv "Kashan 2"

Keyvan Shojaiee<sup>1</sup>, Ebrahim Ganji Moghadam<sup>2</sup> and Vahid Jajarmi<sup>3\*</sup>

### Abstract

In order to investigation effects of culture media and growth regulators concentration on proliferation and rooting of *Rosa damascena* Mill cv "Kashan 2" an exprimment was conducted in factorial completely random design with five replication in Bojnourd branch, isalmic azad university in 2017. In the first stage, regeneration of shoots was investigated in response to the composition of the culture medium and hormonal composition. The factors included: levels of BAP in 5 levels (0, 0.5 , 1, 1.5, 2 mg/l) and NAA in three levels (0, 0.1, 0.5 mg/l) and medium culture (MS and WPM). The results showed that there was a significant difference between the culture of media and concentrations of growth regulator. The highest shoot length was observed in WPM medium. There is no significant difference between medium culture (MS and WPM) for regeneration and number of shoot. The interaction of two growth regulators showed that the highest shoot length belonged 2 mg / 1 of BAP and 0 NAA. The highest shoot length was obsereve in WPM culture medium and 1.5 mg/l BAP with 0.5 mg/l NAA. The highest number of shoots belonged to WPM and 2 mg/l BAP and 0.1 mg/l NAA. NAA growth regulator reduced the percentage of shoot regeneration. The highest percentage of shoot regeneration was observed at 2 mg/l BAP without NAA hormone in WPM medium and MS medium with 1 mg/l BAP and 0 NAA. In the second stage, the reaction of culture media to levels of IBA regulator (1.2 and 3 ml) investigated. The results showed that the highest indices of rooting belonged to MS medium and 1 mg IBA .

**Keywords:** *Rosa damascena*, In vitro culture, Regeneration, Growth regulators

<sup>1</sup> Department Agronomy, Bojnourd Branch, Islamic Azad University, Bojnourd, Iran

<sup>2</sup> Associate Professor, Khorasan Razavi Agricultural and Natural Resources Research Center, Bojnourd, Iran

<sup>3\*</sup> Correspondingauthor, Department Agronomy, Bojnourd Branch, Islamic Azad University, Bojnourd, Iran. Email: vahid\_jajarmii@yahoo.com