تأثیر غلظت‌های مختلف توفوردی و محیط‌کشت MS بر کالوس‌زایی قطعات گره‌دار *Rosa canina* L.

محبوبه رحیمی[1*]، وحید روحی[2]، عبدالرحمان محمد خانی[2]، علی اکبر فدایی تهرانی[3]، عباس یداللهی[4]

[1*] دانشجوی دکتری علوم‌باغبانی دانشگاه تربیت مدرس، تهران

[2] دانشیار گروه علوم باغبانی دانشگاه شهرکرد، شهرکرد

[3] دانشیار گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه شهرکرد، شهرکرد

[4] دانشیار گروه علوم باغبانی دانشگاه تربیت مدرس، تهران

[*] نویسنده مسئول mahrahimi8@gmail.com

چکیده

به منظور بهینه‌سازی گیاه دارویی نسترن وحشی (*Rosa canina* L.) به‌عنوان مهم‌ترین پایه گل رز و نیز با هدف دست‌یابی سریع به کالوس مناسب جهت استفاده از مزایای ویژه‌ی آن، تحقیق حاضر انجام پذیرفت. بدین منظور، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با دو فاکتور محیط‌کشت (1/2 MS و 1/4 MS) و غلظت‌های مختلف توفوردی (۰، ۱، ۲/۵، ۴ و ۵/۵ میلی‌گرم در لیتر)، در چهار تکرار انجام شد. قطعات گره‌دار ۱/۵ سانتی‌متری از قسمت میانی شاخه‌های فرعی میانه تاج درختچه‌ای در مرحله میوه‌دهی تهیه شدند. ارزیابی نتایج، یک‌ماه پس از کشت، بر اساس تغییر شکل (آمادگی برای ورود به مرحله تولید کالوس) و کالوس‌زایی ریزنمونه‌ها صورت پذیرفت. نتایج نشان داد که بیشترین درصد ریزنمونه تغییر شکل یافته مربوط به 1/2 MS بوده است. غلظت چهار میلی گرم در لیتر توفوردی، بیشترین درصد ریزنمونه تغییر شکل‌یافته در ناحیه اطراف جوانه و غلظت ۲/۵ میلی گرم در لیتر آن، بیشترین درصد ریزنمونه تغییر شکل‌یافته در دو سر و سرتاسر ریزنمونه را نشان دادند. هم‌چنین، بیشترین درصد ریزنمونه کالوس‌زا در یک سر و دو سر ریزنمونه در تیمار فاقد هورمون مشاهده شد. بیشترین وزن تازه و خشک کالوس متعلق به غلظت‌های بیشینه توفوردی و تیمار 1/2 MS حاوی ۲/۵ میلی گرم در لیتر بود. پدیدار شدن کالوس در قاعده برگچه‌های متصل به محور برگ گیاهچه‌های درون شیشه‌ای (هم‌زمان با زرد شدن برگ) مستقر بر ریزنمونه تنها متأثر از کاربرد توفوردی نبود. ظهور این پدیده به احتمال زیاد حاکی از اهمیت غلظت ترکیبات محیط‌کشت (آلی و معدنی) و زمان اخذ ریزنمونه (تعیین‌کننده تعادل هورمون‌های درونی و میزان ذخیره کربوهیدرات) می‌باشد.

کلمات کلیدی: برگچه، ریزنمونه، زرد شدن، گیاه دارویی، هورمون.

مقدمه

نسترن وحشی (*Rosa canina* L.)، مهم‌ترین پایه گل رز و گیاهی دارویی است. بیوتکنولوژی برای اصلاح روش‌های بیوسنتز متابولیت‌های زیست دارویی و انتقال ژن در این گیاه برنامه‌هایی را آغاز نموده است. اما انتقال ژن نیازمند دستور کارهای معتبر و قابل اطمینانی برای کشت درون شیشه‌ای می‌باشد. در روش کشت بافت، کالوس‌زایی یکی از بهترین روش‌ها جهت تعیین کلونی‌های برتر برای پایه‌های رویشی است. کالوس می‌تواند در تهیه پروتوپلاست، تولید جنین سوماتیک، ریشه و ساقه مورد استفاده قرار گیرد. هم‌چنین، از کشت کالوس رزها برای بررسی وقایع فیزیولوژیکی و تولید متابولیت ثانویه نظیر روغن‌های ضروری و ترکیبات دارویی استفاده می‌شود. انتخاب محیط کشت مناسب برای موفقیت در کشت‌بافت و سلول هر گونه‌ی گیاهی امری ضروری است. محیط کشت MS، متداول‌ترین محیط‌کشت برای ریزازدیادی انواع رز از جمله نسترن وحشی می‌باشد (Shirdel *et al.*, 2013). توفوردی به‌عنوان یک اکسین قوی، برای تحریک کالوس‌زایی کاربرد زیادی دارد. با توجه به سهم عمده *Rosa canina* در ژنتیک و اصلاح رزهای مدرن و به منظور بهره‌مندی از مزایای ویژه‌ی کالوس آن، تحقیق حاضر به بررسی اثر سطوح مختلف محیط کشت MS (1/2 و 1/4) و توفوردی پرداخته‌است.

IrHC2019

مواد و روش‌ها

این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی، با دو فاکتور سطوح مختلف محیط کشت MS (1/2 و 1/4) و غلظت‌های مختلف توفوردی (صفر، یک، ۲/۵، چهار و ۵/۵ میلی‌گرم بر لیتر) در چهار تکرار (هر تکرار شامل دو ریزنمونه) انجام‌پذیرفت. قطعات گره‌دار ۱/۵ سانتی‌متری، از قسمت میانی شاخه‌های فرعی میانه‌ی تاج درختچه‌ای (رشد یافته در منطقه شهرکرد) در مرحله‌ی میوه‌دهی (در اواسط فصل پاییز) تهیه و توسط محلول‌های اتانول ۷۰ درصد به‌مدت یک دقیقه و هیپوکلریت سدیم تجاری ۱۰ درصد (حاوی ۵/۲۵ درصد ماده مؤثره) به‌مدت ۱۵ دقیقه ضدعفونی گردیدند. در ضمن، دو غلظت یک‌دوم و یک‌چهارم محیط‌کشت MS بر اساس دستور کار تهیه شدند. برای هر دو غلظت محیط کشت MS، ۲۰ گرم ساکارز در لیتر، هشت گرم آگار در لیتر، pH ۵/۷ و مقدار ۴۰ میلی‌لیتر محیط‌کشت در هر ظرف کشت، در نظر گرفته شد. محیط کشت‌ها، توسط اتوکلاو تحت دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد در مدت‌زمان ۲۰ دقیقه استریل شدند. ریزنمونه‌ها در شرایط کاملاً استریل به صورت افقی کشت‌گردیدند. سپس در اتاقک رشد تحت دمای ۲۳ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد و دوره فتوپریودی ۱۶ ساعت روشنایی و هشت ساعت تاریکی نگه‌داری شدند. پس از گذشت یک ماه و بدون انجام هیچ‌گونه واکشت، آزمایش متوقف گردید. وزن تازه‌ی کالوس‌ها با انتقال به ورق آلومینیومی وزن شده، سریع اندازه‌گیری شد. وزن خشک پس از گذشت ۴۸ ساعت قرارگیری در آون، تحت دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد ثبت گردید. درصد صفات مورد آزمون (ریزنمونه‌های تغییر شکل یافته (اطراف جوانه، یک‌سر، دو سر و سرتاسر ریزنمونه)، ریزنمونه‌های کالوس‌زا (یک سر و دو سر ریزنمونه) و کالوس‌زایی در قاعده برگچه‌ها) از طریق رابطه شماره یک محاسبه-گردید (حسندخت و ابراهیمی، ۱۳۸۵). در این رابطه، GP درصد صفت مورد آزمون است که در آن N تعداد کل ریزنمونه و n تعداد ریزنمونه‌ی دارای صفت مورد نظر می‌باشد.

$$GP= (n/N)\times 100 \quad (۱$$

به منظور تبدیل داده‌های کیفی به کمّی، بنابر کل حالات پیش‌آمده، به شاخص‌هایی که به‌صورت درصد بیان شده‌اند، بر اساس دید بصری امتیاز تعلق گرفت. داده‌های صفر و کوچک‌تر از ۱۰، از طریق رابطه شماره دو و نیز درصدها از طریق رابطه شماره سه نرمال‌سازی شدند (یزدی صمدی و همکاران، ۱۳۷۹).

$$Y= \sqrt{(X+0.5)} \quad (۲$$

$$Y = \text{Arc sin}\sqrt{X} \quad (۳$$

تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS® (version 9.2) و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از برنامه MSTAT-C و توسط آزمون LSD ($P<0.05$) انجام پذیرفت.

نتایج و بحث

بر اساس نتایج تجزیه‌واریانس (جدول ۱)، سطوح مختلف محیط‌کشت MS بر درصد ریزنمونه‌های کالوس‌زا در یک‌سر ریزنمونه، اثر معنی‌دار و بر سایر شاخص‌های مورد آزمون (به‌غیر از وزن‌تازه کالوس) اثر بسیار معنی‌دار داشت.

هم‌چنین، اثر توفوردی و اثرات‌متقابل محیط‌کشت و توفوردی نیز بر کلیه‌صفات مورد آزمون بسیار معنی‌دار بود.

با توجه به نتایج مقایسه میانگین‌ها (جدول ۲)، کاهش غلظت نمک‌ها به یک چهارم غلظت محیط‌کشت MS، باعث افزایش درصد ریزنمونه‌های تغییر شکل‌یافته و کالوس‌زا در یک سر ریزنمونه گردید. در حالی‌که، از میزان سایر شاخص‌های مورد آزمون (وزن خشک کالوس، درصد ریزنمونه‌های تغییر شکل‌یافته در اطراف جوانه، دو سر و سرتاسر ریزنمونه و هم‌چنین، درصد ریزنمونه‌های کالوس‌زا در دو سر ریزنمونه و در محل قاعده برگچه‌ها) کاسته شد.

با توجه به جداول (۲ و۳)، مشاهده می‌شود که با افزایش غلظت توفوردی، بر میزان وزن تازه و خشک کالوس افزوده شده است. توفوردی به‌عنوان یک اکسین قوی به‌سهولت جذب گیاه می‌شود، به سرعت درون گیاه به سایر قسمت‌ها انتقال می‌یابد و به‌ویژه بر مریستم‌ها (قاعده برگچه‌ها) تأثیر می‌گذارد و کالوس‌زایی را تحریک می‌نماید.

IrHC2019

جدول «۱» تجزیه واریانس اثر سطوح مختلف محیط‌کشت MS و توفوردی بر کالوس‌زایی نسترن وحشی

منابع تغییرات	درجه آزادی	درصد ریزنمونه‌های تغییر شکل یافته				وزن کالوس		درصد ریزنمونه‌های کالوس‌زا		
		یک سر	دو سر	اطراف جوانه	سرتاسر	تازه	خشک	ریزنمونه یک‌سر	ریزنمونه دو سر	قاعده برگچه
محیط (A)	۱	۳۴/۵۲**	۳/۳۶**	۱۰/۱۵**	۱۰/۸۴**	۰/۲ns	۰/۱۷**	۰/۲۸*	۹/۱۷**	۵۹/۳۸**
توفوردی (B)	۴	۳۵/۶۴**	۴/۰۲**	۲۲/۰۰**	۴۰/۴۹**	۱۳/۲۲**	۱/۰۵**	۱۹/۲۳**	۳/۴۴**	۴۴/۳۱**
(A) × (B)	۴	۷/۷۱**	۹/۱۰**	۱۸/۳۶ **	۵/۱۴**	۵/۷۴**	۰/۵۷**	۵/۰۷ **	۳/۴۴**	۲۳/۸۸**
خطا	۳۰	۰/۳۶	۰/۰۶	۰/۰۴	۰/۵۵	۰/۴۹	۰/۰۰۹	۰/۰۵	۰/۰۶	۰/۰۵
CV (%)		۱۴/۸۳	۱۷/۶۳	۵/۸۹	۲۳/۲۴	۲۰/۲۲	۷/۵۲	۱۴/۱۰	۲۱/۹۳	۵/۴۶

ns فاقد اختلاف معنی‌دار، ** اختلاف معنی‌دار در سطح یک درصد و * اختلاف معنی‌دار در سطح پنج درصد

جدول «۲» مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف محیط‌کشت MS و توفوردی بر کالوس‌زایی نسترن وحشی

تیمارها		درصد ریزنمونه‌های تغییر شکل‌یافته				وزن کالوس (میلی‌گرم)		درصد ریزنمونه‌های کالوس‌زا		
		یک سر	دو سر	جوانه	سرتاسر	تازه	خشک	یک سر ریزنمونه	دو سر ریزنمونه	قاعده برگچه
محیط‌کشت	1/2MS	۱۱/۲۵ b	۴/۳۷ a	۱۹/۷۵ a	۱۷/۱۹ a	۱۵/۲۰ a	۱/۶۰ a	۵/۲۵ a	۳/۷۵ a	۳۱/۸۱ a
	1/4MS	۳۱/۸۷ a	۱/۸۷ b	۱۲/۱۲ b	۱۲/۸۷ b	۱۲/۷۵ a	۱/۲۰ b	۴/۳۷ b	۰/۰۰ b	۱۸/۱۲ b
توفوردی (میلی‌گرم بر لیتر)	صفر	۰/۰۰ c	۰/۰۰ b	۰/۰۰ e	۰/۰۰ d	۰۲/۳۷ c	۰/۰۰ c	۱۸/۵۹ a	۴/۶۹ a	۰۳/۹۱ e
	۱/۰۰	۱۹/۵۳ b	۴/۶۹ a	۱۷/۸۱ b	۰۶/۲۵ c	۰۸/۳۷ b	۱/۰۰b	۰/۰۰ c	۰/۰۰ b	۰۵/۹۴ d
	۲/۵۰	۱۸/۷۵ b	۶/۲۵ a	۱۱/۸۷ d	۳۶/۸۷ a	۲۳/۵۰ a	۲/۰۰ a	۰۵/۴۷ b	۰/۰۰ b	۳۰/۹۴ c
	۴/۰۰	۱۹/۵۳ b	۰/۰۰ b	۲۵/۶۲ a	۲۶/۵۶ b	۱۷/۱۲ a	۲/۰۰ a	۰/۰۰ c	۴/۶۹ a	۲۵/۳۱ b
	۵/۵۰	۵۰/۰۰ a	۴/۶۹ a	۲۴/۳۷ c	۰۵/۴۷ c	۱۸/۵۰ a	۲/۰۰ a	۰/۰۰ c	۰/۰۰ b	۵۸/۷۵ a

*: حروف مشابه در هر ستون بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون LSD در سطح ۰/۰۵ می‌باشد.

جدول «۳» مقایسه میانگین اثرات متقابل سطوح مختلف محیط‌کشت MS و توفوردی بر کالوس‌زایی نسترن وحشی

تیمارها		درصد ریزنمونه‌های تغییر شکل یافته				وزن کالوس (میلی‌گرم)		درصد ریزنمونه‌های کالوس‌زا		
محیط کشت	توفوردی (میلی‌گرم بر لیتر)	یک سر	دو سر	اطراف جوانه	سرتاسر	تازه	خشک	یک سر ریزنمونه	دو سر ریزنمونه	قاعده برگچه
1/2 MS	صفر	۰/۰۰ e	۰/۰۰ c	۰/۰۰ d	۰/۰۰ d	۰/۰۰ f	۰/۰۰ c	۲۶/۲۵ a	۹/۳۷ a	۷/۸۱ e
	۱/۰۰	۱۴/۰۶ cd	۹/۳۷ b	۱۱/۸۷ c	۱۲/۵۰ c	۷/۷۵ de	۱/۰۰ b	۰/۰۰ c	۰/۰۰ b	۱۱/۸۷ d
	۲/۵۰	۱۲/۵۰ d	۱۲/۵۰ a	۱۱/۸۷ c	۳۴/۳۷ ab	۳۷/۰۰ a	۳/۰۰ a	۰/۰۰ c	۰/۰۰ b	۶۱/۸۷ b
	۴/۰۰	۱۴/۰۶ cd	۰/۰۰ c	۲۶/۲۵ b	۲۸/۱۲ ab	۱۴/۲۵bcd	۱/۰۰ b	۰/۰۰ c	۹/۳۷ a	۳۸/۱۲ c
	۵/۵۰	۱۵/۶۲ c	۰/۰۰ c	۴۸/۷۵ a	۱۰/۹۴ c	۱۷/۰۰ bc	۳/۰۰ a	۰/۰۰ c	۰/۰۰ b	۳۹/۳۷ c
1/4 MS	صفر	۰/۰۰ e	۰/۰۰ c	۰/۰۰ d	۰/۰۰ d	۴/۷۵ e	۰/۰۰ c	۱۰/۹۴ b	۰/۰۰ b	۰/۰۰ f
	۱/۰۰	۲۵/۰۰ b	۰/۰۰ c	۲۳/۷۵ b	۰/۰۰ d	۹/۰۰ de	۱/۰۰ b	۰/۰۰ c	۰/۰۰ b	۰/۰۰ f
	۲/۵۰	۲۵/۰۰ b	۰/۰۰ c	۱۱/۸۷ c	۳۹/۳۷ a	۱۰/۰۰cde	۱/۰۰ b	۱۰/۹۴ b	۰/۰۰ b	۰/۰۰ f
	۴/۰۰	۲۵/۰۰ b	۰/۰۰ c	۲۵/۰۰ b	۲۵/۰۰ b	۲۰/۰۰ b	۳/۰۰ a	۰/۰۰ c	۰/۰۰ b	۱۲/۵۰ d
	۵/۵۰	۸۴/۳۷ a	۹/۳۷ b	۰/۰۰ d	۰/۰۰ d	۲۰/۰۰ b	۱/۰۰ b	۰/۰۰ c	۰/۰۰ b	۷۸/۱۲ a

*: حروف مشابه در هر ستون بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون LSD در سطح ۰/۰۵ می‌باشد.

به طور کلی، رشد کالوس‌ها در ماه اول چندان زیاد نبود. ایجاد کالوس در برخی ریزنمونه‌های تغییر شکل یافته، حاکی از توانایی کلیه تغییر شکل‌ها برای تولید کالوس بود. منحنی رشد کالوس یک منحنی سیگموئیدی (به صورت

IrHC2019

حرف S) است و دارای پنج مرحله می‌باشد: کمون و یا فاز تأخیری، تصاعدی، خطی، کند شدن و سکون، که در این فاز تعداد سلول و اندازه آنها ثابت باقی می‌ماند (سادات نوری و همکاران، ۱۳۹۰).

در پژوهش حاضر، در هر ظرف کشت دو ریزنمونه وجود داشت. در اکثر تیمارها، یکی از ریزنمونه‌ها، در ابتدا وارد فاز رویشی و تولید شاخ و برگ، و ریزنمونه دیگر، وارد مرحله کمون و فاز فعالیت نهفته‌ی کالوس‌دهی می‌شد. با توجه به این‌که همه قطعات گره‌دار شرایط یکسانی از لحاظ سن، طول و قطر داشتند، لذا این گونه استنباط می‌شود که به‌دلیل ایجاد رقابت غذایی بین دو ریزنمونه، آن که در رقابت قویتر بوده، عناصر لازم برای رشد را زودتر جذب و مصرف نموده است. بدین‌ترتیب؛ پس از مدتی علائم کمبود در ریزنمونه‌ی دارای گیاهچه به صورت زرد شدن برگ‌ها نمایان شد. هم‌زمان با آغاز کلروز برگ، کالوس در قاعده برگچه‌های (نواحی مریستمی) گیاهچه‌های مستقر بر قطعات ساقه، نیز پدیدار شد.

بنابراین، در مجموع هر دو ریزنمونه وارد فاز کالوس‌زایی شدند. کالوس در محل اتصال برگچه با محور برگ، تنها متأثر از توفوردی نبود. بلکه، در تیمار فاقد توفوردی نیز این نوع کالوس‌زایی پدیدار شد (جداول ۲ و ۳).

در رابطه با تفسیر علل یا عوامل رخداد پدیده کالوس‌زایی در قاعده برگچه‌های برگ‌های کلروزه گیاهچه‌های مستقر بر قطعات ساقه نسترن وحشی در شرایط درون شیشه‌ای، باید توجه داشت که سرعت رشد قطعات گره‌دار این گیاه تحت تأثیر منبع کربوهیدرات قرار می‌گیرد (Shirdel *et al.*, 2013.). البته این ذخایر در ابتدا و انتهای فصل رشد بیشتر می‌باشند (سادات نوری و همکاران، ۱۳۹۰). هم‌چنین، همان‌طور که در قسمت مواد و روش‌ها نیز بیان شد، به منظور افزایش کالوس‌زایی ریزنمونه، برای هر دو غلظت محیط‌کشت MS، قند (ساکارز) دو درصد به‌کار گرفته شد (حسندخت و ابراهیمی، ۱۳۸۵ و سادات نوری و همکاران، ۱۳۹۰). در ضمن، انتقال توفوردی که اثر هورمون مانند روی گیاه دارد، از نزدیک با جریان قندها مربوط است (لسانی و مجتهدی، ۱۳۸۱).

با توجه به این‌که در شرایط درون شیشه‌ای، ترکیبات محیط‌کشت در طول زمان کشت، تغییر می‌کنند، بنابراین، زردی برگ تحت تأثیر عوامل دیگری نیز قرار می‌گیرد. به‌عنوان مثال؛ بعضی از عناصر، سریع‌تر از عناصر دیگر مصرف شده و از محیط کشت حذف می‌شوند. بر این اساس، تعادل عنصری محیط کشت تغییر می‌یابد. آمونیوم به سرعت از محیط کشت حذف می‌شود. البته مقدار و سرعت مصرف آن، به ژنوتیپ و محیط کشت مورد استفاده بستگی دارد.

بنابراین، با حذف آمونیوم از محیط‌کشت، pH محیط کاهش می‌یابد که در بعضی موارد نکروزه شدن را به دنبال دارد (سادات نوری و همکاران، ۱۳۹۰). از سویی، کنترل pH محیط تنها دلیل استفاده هم‌زمان از نیترات و آمونیوم در محیط کشت نیست، بلکه تعادل مناسب بین نیترات و آمونیوم محرک ریخت‌زایی نیز می‌باشد (سید طباطبایی و امیدی، ۱۳۹۰). اگر میزان نیترات بیشتر از آمونیوم باشد، طول شاخه و تعداد گره افزایش و تعداد برگ‌های کلروزه نسترن وحشی کاهش می‌یابد (Shirdel *et al.*, 2011). با این‌حال، به‌طور معمول، مصرف نیتروژن محیط‌کشت در کشت‌های ساقه از آنچه برای کشت کالوس استفاده می‌شود، کمتر است (سید طباطبایی و امیدی، ۱۳۹۰).

به احتمال زیاد، پدیده مذکور در ارتباط با عاملی است که کاهش یا عدم وجود آن در محیط‌کشت یا در ریزنمونه، کالوس‌زایی را تحریک می‌نماید و موجب از بین رفتن سبزینگی و زرد شدن برگ‌ها می‌شود. البته هنگامی که غلظت نمک‌ها زیاد باشد، گیاه با کمبود آب مواجه می‌شود. افزودن اکسین و کمبود آب هر دو زردی و ریزش برگ را تحریک می‌نمایند (لسانی و مجتهدی، ۱۳۸۱ و کافی و همکاران، ۱۳۷۹).

در پژوهش حاضر، علائم زردی برگ، ابتدا از برگ‌های مسن شروع شد. بنابراین، به احتمال زیاد، پدیده مذکور به یک عنصر ضروری متحرک مربوط می‌باشد. با توجه به این‌که در پژوهش دیگری پیرامون ریزازدیادی نسترن وحشی نیز، یکی از دلایل کلروز برگ‌های درون شیشه‌ای این گیاه، کاهش نیترات گزارش شده است (Shirdel *et al.*, 2011)، برگ‌های جوان‌تر در شروع، علامت کمبود را در خود نشان نمی‌دهند، زیرا ازت از برگ‌های پیرتر به طرف آنها منتقل می‌شود (کافی و همکاران، ۱۳۷۸).

IrHC2019

با توجه به نتایج آزمایش، به‌طور کلی، به‌نظر می‌رسد؛ کاهش غلظت محیط‌کشت MS تا یک چهارم غلظت آن، باعث کاهش و کاربرد هورمون توفوردی، موجب افزایش میزان کالوس‌زایی ریزنمونه‌ها می‌گردد. در مجموع می‌توان گفت؛ بهترین محیط‌کشت جهت کالوس‌زایی قطعات گره‌دار نسترن وحشی، کاربرد 1/2 MS به همراه ۲/۵ میلی‌گرم بر لیتر توفوردی می‌باشد.

منابع

حسندخت م. و ابراهیمی ر. ۱۳۸۵. مبانی کشت‌بافت گیاهی. انتشارات مرز دانش. تهران.

سادات نوری س. ا.، میرمعصومی س. م. و میر باقر ن. ۱۳۹۰. اصول کشت سلول و بافت گیاهی. تهران.

سید طباطبایی ب. ا. و امیدی م. ۱۳۹۰. کشت‌بافت و سلول گیاهی. مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

لسانی، ح. و مجتهدی، م. ۱۳۸۱. مبانی فیزیولوژی گیاهی. چاپ ششم. دانشگاه تهران. ۷۲۶ صفحه.

کافی، م.، لاهوتی، م.، زند، ا.، شریفی، ح. و گلدانی، م. ۱۳۷۸. فیزیولوژی‌گیاهی. جلد ۱. جهاد دانشگاهی مشهد.

کافی، م.، زند، ا.، کامکار، ب. ،شریفی، ح. و گلدانی، م. ۱۳۷۹. فیزیولوژی‌گیاهی. جلد ۲. جهاد دانشگاهی مشهد.

یزدی‌صمدی، ب.، رضایی، ع. و ولی‌زاده، م. ۱۳۷۹. طرح‌های آماری در پژوهش‌های کشاورزی. دانشگاه تهران.

Shirdel, M., Motallebi-Azar, A., Masiha, S., Mortazavi, N., Matloobi, M. and Sharafi, Y. 2011. Effect of inorganic nitrogen source and NH_4^+: NO_3^- ratio on proliferation of dog rose (*Rosa canina*). Journal of Medical Plant Research, 5(18): 4605-4609.

Shirdel, M., Motallebi-Azar, A., Matloobi, M. and Zaare-Nahandi, A. 2013. Effects of nodal position and growth regulators on in vitro growth of dog rose (*Rosa canina*). Journal of Ornamental and Horticultural Plants, 3(1): 9-17.

Effect of different concentrations of MS medium and 2,4-D on callus induction in nodals of *Rosa canina* L.

M. Rahimi[1*], V. Rouhi[2], A. MohammadKhani[2], A. fadaei-Tehrani[3], A. Yadollahii[4]

[1] PhD Student Dept. of Horticultural Sciences, Tarbiat modares University, Tehran- Iran.
[2] Associate Professor Dept. of Horticultural Sciences, Shahrekord University, Shahrekord- Iran.
[3] Associate Professor Dept. of Plant Protection Sciences, Shahrekord University, Shahrekord- Iran.
[4] Associate Professor Dept. of Horticultural Sciences, Tarbiat modares University, Tehran- Iran.
[*]*Corresponding Author: mahrahimi8@gmail.com*

Abstract

This research carried out to optimize the micro propagation of medicinal plants dog rose, one of the rose rootstock, for quick access to get suitable callus. A factorial experiment conducted based on a completely randomized design with two factors, medium (1/2 MS and 1/4 MS) and different concentrations of 2,4-D (0, 1, 2.5, 4, and 5.5 mg L^{-1}), with four replications. Explants prepared from middle of axillary stem during the fruiting stage in 1.5 cm length with nodal. The results evaluated based on deformation (ready to enter the callus production phase) and callugenesis ability after one month of planting. Results showed that the highest percentage of explants deformation related to 1/2 MS. The highest percentage of deformation in the bud area, and head and whole explants related to four and 2.5 mg L^{-1} 2,4-D concentration, respectively. In addition, the highest percentage of callugenesis observed in one and two sides of explants. The highest fresh and dry weight of callus obtained from the high peak of 2,4-D and 1/2 MS containing 2.5 mg L^{-1} 2,4-D. Callus produce in meristematic regions of leaflets base that attached to the axis of the explants (along with yellowing leaves) was not only influenced by 2,4-D. But also, this probably related to the importance of the high concentrations of medium nutrition time of taking explants (relating on the internal hormone balance and the amount of stored carbohydrates).

***Keywords*:** leaflets, explant, yellowing, medicinal plant, hormone.

IrHC2019