فصلنامه مطالعات محیط زیست، منابع طبیعی و توسعه پایدار
سال ششم، شماره ۴ (پیاپی: ۲۲)، زمستان ۱۴۰۱
ISSN: 2588-4255

بررسی اثر ترکیب سطوح مختلف D-۲،٤ و BAP در محیط‌کشت ٤/۱ MS بر برخی خصوصیات رویشی قطعات گره‌دار شاخه فرعی وسطی نسترن وحشی

محبوبه رحیمی[1*]، وحید روحی[2]، عبدالرحمان محمدخانی[2]، علی اکبر فدایی تهرانی[3]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۰/۲۵
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۲/۰۳
کد مقاله: ۱۸۲۵۶

چکـیده

پژوهش‌حاضر در راستای دست‌یابی به روش‌مناسب ریزازدیادی گیاه‌دارویی نسترن‌وحشی (Rosa canina L.) به‌عنوان مهم‌ترین پایه‌گل‌رز انجام‌پذیرفت. آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه‌کاملاً تصادفی با دو فاکتور BAP با غلظت‌های (صفر، ۰/۷۵، ۱/۵، ۲/۲۵ و ۳ میلی‌گرم بر لیتر) و D-۲،۴ با غلظت‌های (صفر، ۱/۵، ۲/۵، چهار و ۵/۵ میلی‌گرم بر لیتر) در محیط‌کشت MS (یک چهارم) در چهار تکرار (هر تکرار شامل دو ریزنمونه) انجام شد. نمونه‌ها در اواسط فصل پاییز از قسمت‌میانی ساقه‌های‌فرعی میانی درختچه‌ای واقع در مرحله میوه‌دهی (قرمز پررنگ) تهیه‌شدند، قطعات‌گره‌دار ۱/۵ سانتی‌متری پس‌از ضدعفونی با اتانول ۷۰ درصد به‌مدت یک‌دقیقه، هیپوکلریت‌سدیم ۱۰ درصد به‌مدت ۱۵ دقیقه ضدعفونی و آب‌شویی در شرایط کاملاً استریل به‌صورت افقی کشت‌گردیدند. سپس در اتاق‌رشد تحت دمای ۲۳ تا ۲۵ درجه‌سانتی‌گراد و دوره فتوپریودی ۱۶ ساعت روشنایی و هشت ساعت تاریکی نگه‌داری‌شدند. پس‌از گذشت سه‌ماه از تاریخ‌کشت و بدون‌انجام هیچ‌گونه واکشتی، آزمایش متوقف‌گردید. نتایج نشان‌داد هر دو فاکتور D-۲،۴ و BAP و هم‌چنین اثرات‌متقابل آن‌ها، اثر بسیار معنی‌داری بر کلیه شاخص‌های مورد آزمون (ارتفاع، وزن‌تازه و خشک‌گیاهچه، تعداد برگ، طول‌ساقه و تعداد جوانه جدید) داشته‌اند. تیمار دارای یک میلی‌گرم بر لیتر D-۲،۴ به‌علاوه ۲/۲۵ میلی‌گرم بر لیتر BAP بهترین‌تیمار این ترکیب‌هورمونی برای افزایش ارتفاع‌گیاهچه، طول ساقه، وزن‌تازه و وزن‌خشک‌گیاهچه بوده‌است. تیمار دارای ۲/۵ میلی‌گرم بر لیتر D-۲،۴ به‌همراه غلظت‌های ۰/۷۵ میلی‌گرم بر لیتر BAP بهترین‌تیمار برای افزایش ارتفاع‌گیاهچه، وزن‌خشک‌گیاهچه و تیمار دارای ۲/۵ میلی‌گرم بر لیتر D-۲،۴ به‌همراه غلظت‌های ۱/۵ میلی‌گرم بر لیتر BAP بهترین‌تیمار برای افزایش وزن‌خشک‌گیاهچه، تعداد برگ وتشکیل جوانه‌جدید بوده‌است.

واژگـان کلـیدی: ارتفاع‌گیاهچه، تعداد برگ، طول‌ساقه، وزن‌تازه، وزن‌خشک.

۱- مقدمه

نسترن‌وحشی (*Rosa canina* L.)، مهم‌ترین پایه‌گل رز و گیاهی‌دارویی است. شش- بنزیل آمینو پورین (BAP) نوعی سیتوکینین‌مصنوعی است (Davies. 1980) که در ساختمان اساسی خود حلقه پورین (دو حلقه) دارد. با توجه به این که BAP تا حدی ارزان و مقاوم به شرایط اتوکلاو است، بیشترین کاربرد را در کشت‌بافت دارد. توفوردی (دو و چهار- دی کلرو فنوکسی اسید استیک) به‌عنوان یک اکسین‌قوی کاربرد زیادی دارد. سیتوکینین‌ها و اکسین‌ها آثار متقابلی دارند. اگر غلظت مناسب سیتوکینین‌ها همراه با اکسین‌ها در یک محیط‌کشت مورد استفاده قرارگیرد، تقسیم سلولی را به‌همراه خواهد داشت. شایان‌ذکر است که نوع، غلظت و نسبت تنظیم کننده‌های رشد (افزون بر هورمون‌های موجود در ریزنمونه)، کنترل کننده واکنش ریزنمونه کشت‌شده است. نوع و غلظت مناسب تنظیم‌کننده‌های رشد از گونه‌ای به گونه‌ای دیگر متفاوت است (سید طباطبایی و امیدی، ۱۳۹۰). لذا پژوهش- حاضر به منظور بررسی اثر ترکیبی BAP و 2,4-D در محیط‌کشت 1/4MS انجام گرفت.

۲- مواد و روش‌ها

آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح‌پایه کاملاً تصادفی با دو فاکتور BAP با غلظت‌های (صفر، ۰/۷۵، ۱/۵، ۲/۲۵ و ۳ میلی‌گرم بر لیتر) و 2,4-D با غلظت‌های (صفر، ۱/۵، ۲/۵، چهار و ۵/۵ میلی‌گرم بر لیتر) در محیط‌کشت MS (یک‌چهارم) در چهار تکرار (هر تکرار شامل دو ریزنمونه) انجام‌پذیرفت. نمونه‌ها در اواسط فصل پاییز از قسمت میانی ساقه‌های‌فرعی‌میانی درختچه‌ای واقع در مرحله‌میوه‌دهی (قرمز پررنگ) تهیه‌شدند، قطعات‌گره‌دار ۱/۵ سانتی‌متری (Azadi *et al*., 2007) توسط محلول‌های‌اتانول ۷۰ درصد به‌مدت یک‌دقیقه و هیپوکلریت سدیم ۱۰ درصد (۵/۲۵ درصد ماده مؤثره) به‌مدت ۱۵ دقیقه ضدعفونی و در نهایت سه بار با آب مقطر استریل آب‌شویی شدند.

در ضمن، همه محیط‌کشت‌ها دارای pH ۵/۷–۵/۸ بودند. جهت تنظیم pH از سود یک دهم نرمال و اسید هیدروکلریک یک نرمال استفاده شد. برای هر ظرف شیشه‌ای (جنس و حجم یکسان)، مقدار ۴۰ میلی‌لیتر محیط‌کشت در نظر گرفته‌شد که پس‌از توزیع محیط‌کشت‌ها توسط اتوکلاو تحت دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱/۲ اتمسفر در مدت ۲۰ دقیقه استریل‌شدند. ریزنمونه‌ها در شرایط کاملاً استریل به‌صورت افقی کشت گردیدند. سپس در اتاق رشد تحت دمای ۲۳ تا ۲۵ درجه‌سانتی‌گراد و دوره فتوپریودی ۱۶ ساعت روشنایی و هشت ساعت تاریکی نگه‌داری‌شدند. پس‌از گذشت سه‌ماه از تاریخ‌کشت و بدون‌انجام هیچ‌گونه واکشتی، آزمایش متوقف‌گردید. شاخص‌هایی نظیر؛ وزن‌تازه و خشک‌گیاهچه و کالوس، ارتفاع‌گیاهچه، تعداد برگ، طول‌ساقه و تعداد جوانه‌جدید اندازه‌گیری‌شد. طول‌ساقه و ارتفاع گیاهچه با خط‌کش میلی‌متری اندازه‌گیری‌شد. طول‌ساقه، پس‌از جدا نمودن برگ‌ها تا آخرین برگ نیم سانتی‌متری محاسبه‌شد. وزن‌تازه با انتقال به ورق‌آلومینیومی وزن‌شده، سریع اندازه‌گیری‌شد. وزن‌خشک پس‌از گذشت ۴۸ ساعت قرارگیری در آون، تحت دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد ثبت گردید.

داده‌های صفر و کوچک‌تر از ۱۰، از طریق رابطه شماره یک نرمال‌سازی شدند (یزدی صمدی و همکاران، ۱۳۷۹).

$$Y= \sqrt{(X+0.5)} \qquad (۱$$

تجزیه‌آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS® (version 9.2) و مقایسه‌میانگین‌ها با استفاده از برنامه MSTAT-C و توسط آزمون LSD ($P<0.05$) انجام پذیرفت.

۳- نتایج و بحث

هر دو فاکتور 2,4-D و BAP و هم‌چنین اثرات‌متقابل‌آن‌ها، اثر بسیار معنی‌داری بر کلیه‌شاخص‌های‌موردآزمون (ارتفاع، وزن- تازه و خشک‌گیاهچه، تعداد برگ، طول‌ساقه و تعداد جوانه جدید) داشته‌اند (جدول ۱).

طبق جدول مقایسه میانگین داده‌ها (جدول ۲)؛ با افزایش غلظت 2,4-D از میزان وزن تازه گیاهچه کاسته شده است. بیشترین و کمترین وزن تازه گیاهچه به‌ترتیب متعلق به غلظت یک و ۵/۵ میلی‌گرم بر لیتر 2,4-D بوده است. هم‌چنین، افزایش غلظت 2,4-D موجب کاهش وزن خشک گیاهچه گردید. به‌طوری‌که بیشترین وزن خشک گیاهچه در دو غلظت یک و ۲/۵ میلی‌گرم بر لیتر 2,4-D (فاقد تفاوت معنی‌دار) و کمترین مقدار آن در غلظت ۵/۵ میلی‌گرم بر لیتر 2,4-D به‌دست آمده است. بیشترین و کمترین تعداد برگ به‌ترتیب با کاربرد غلظت ۲/۵ و ۵/۵ میلی‌گرم بر لیتر 2,4-D تشکیل شده است. در ضمن، در رابطه با این صفت، از لحاظ آماری بین دو غلظت یک و چهار میلی‌گرم بر لیتر 2,4-D اختلاف معنی‌دار وجود نداشت. با افزایش غلظت 2,4-D از ارتفاع گیاهچه و طول ساقه کاسته شده است. بیشترین اندازه دو شاخص مذکور در دو غلظت یک و ۲/۵ میلی‌گرم بر

لیتر (بدون وجود تفاوت معنی‌دار) و کمترین اندازه آن شاخص‌ها در غلظت ۵/۵ میلی‌گرم بر لیتر اندازه‌گیری شده است. بیشترین و کمترین تعداد جوانه جدید تشکیل شده نیز به‌ترتیب مربوط به غلظت ۲/۵ و چهار میلی‌گرم بر لیتر 2,4-D بوده است.

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر ترکیب سطوح مختلف 2,4-D و BAP در محیط‌کشت 1/4 MS بر برخی از خصوصیات رویشی قطعات گره‌دار شاخه فرعی وسطی نسترن وحشی پس از گذشت سه ماه

منابع تغییرات	درجه آزادی	وزن تازه گیاهچه	وزن خشک گیاهچه	تعداد برگ	ارتفاع گیاهچه	طول ساقه	تعداد جوانه جدید
(A) 2,4-D	۳	۴۴/۶۲ **	۱۱/۹۲ **	۷/۳۵ **	۰/۵۸ **	۰/۳۰ **	۱/۳۱ **
(B) BAP	۳	۰۷/۰۷ **	۰/۹۰ **	۱/۸۳ **	۰/۱۹ **	۰/۰۳ **	۰/۷۷ **
(A) × (B)	۹	۹/۹۴ **	۱/۳۹ **	۱/۷۱ **	۰/۰۸ **	۰/۰۰۸ **	۰/۵۹ **
خطا	۴۸	۰/۰۵	۰/۱۴	۰/۰۲	۰/۰۱	۰/۰۰۵	۰/۰۰۵
CV (%)		۰۴/۹۱	۲۰/۹۳	۰۵/۶۲	۰۹/۳۵	۰۸/۱۲	۰۷/۴۲

**** اختلاف بسیار معنی‌دار در سطح یک درصد**

طبق جدول مقایسه میانگین داده‌ها (جدول ۲)؛ بیشترین و کمترین وزن تازه گیاهچه به‌ترتیب متعلق به غلظت ۲/۲۵ و سه میلی‌گرم بر لیتر BAP بوده است. بیشترین وزن‌خشک‌گیاهچه در دو غلظت ۰/۷۵ و ۲/۲۵ میلی‌گرم بر لیتر BAP (فاقد اختلاف معنی‌دار) و کمترین‌مقدار این شاخص در سایر غلظت‌های‌مورد آزمون BAP به‌دست آمده است. بیشترین تعداد برگ در دو غلظت ۰/۷۵ و ۲/۲۵ میلی‌گرم بر لیتر BAP (فاقد اختلاف معنی‌دار) و کمترین تعداد آن در غلظت سه میلی‌گرم بر لیتر BAP پدیدار شده است. بیشترین ارتفاع گیاهچه در غلظت ۰/۷۵ میلی‌گرم بر لیتر BAP و کمترین اندازه این شاخص در دو غلظت ۱/۵ و سه میلی‌گرم بر لیتر BAP (فاقد اختلاف معنی‌دار) اندازه‌گیری شده است. بلندترین و کوتاه‌ترین طول‌ساقه به‌ترتیب مربوط به غلظت ۲/۲۵ و سه میلی‌گرم بر لیتر BAP بود. از نظر تعداد جوانه جدید تشکیل شده بین سه غلظت ۱/۵، ۲/۲۵ و سه میلی‌گرم بر لیتر BAP اختلاف معنی‌دار وجود نداشت. در ضمن، در غلظت ۰/۷۵ میلی‌گرم بر لیتر BAP جوانه‌جدید پدیدار نشد.

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر ترکیب سطوح مختلف 2,4-D و BAP در محیط‌کشت 1/4 MS بر برخی از خصوصیات رویشی قطعات گره‌دار شاخه فرعی وسطی نسترن وحشی پس از گذشت سه ماه

تیمارها		وزن تازه گیاهچه (mg)	وزن خشک گیاهچه (mg)	تعداد برگ	ارتفاع گیاهچه (cm)	طول ساقه (cm)	تعداد جوانه جدید
2,4-D (mg L^{-1})	۱/۰۰	۳۹/۳۷ a	۰۵/۷۵ a	۰۷/۸۱ b	۰۱/۴۹ a	۰/۵۸ a	۰۱/۰۰ b
	۲/۵۰	۳۵/۸۱ b	۰۶/۳۱ a	۰۹/۱۹ a	۰۱/۲۹ a	۰/۵۹ a	۰۱/۵۶ a
	۴/۰۰	۲۱/۹۴ c	۰۲/۵۶ b	۰۸/۱۲ b	۰/۷۵ b	۰/۳۸ b	۰/۵۰ c
	۵/۵۰	۰۷/۰۰ d	۰/۰۰ c	۰۲/۲۵ c	۰/۴۹ c	۰/۲۱ c	۰/۰۰ d
BAP (mg L^{-1})	۰/۷۵	۲۶/۳۱ b	۰۴/۲۵ a	۰۷/۹۴ a	۰۱/۳۲ a	۰/۵۰ ab	۰/۰۰ b
	۱/۵۰	۲۱/۱۲ c	۰۲/۸۷ b	۰۵/۸۱ b	۰/۸۵ c	۰/۴۰ bc	۰۱/۰۰ a
	۲/۲۵	۳۴/۸۱ a	۰۵/۰۰ a	۰۸/۴۴ a	۱/۱۱ b	۰/۵۳ a	۰۱/۰۰ a
	۳/۰۰	۲۱/۸۷ d	۲/۵۰ b	۰۵/۱۹ c	۰/۷۳ c	۰/۳۴ c	۰۱/۰۶ 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 ترکیب سطوح مختلف 2,4-D و BAP در محیط‌کشت 1/4 MS بر برخی از خصوصیات رویشی قطعات گره‌دار شاخه فرعی وسطی نسترن پس از گذشت سه ماه

تیمارها		وزن تازه گیاهچه (mg)	وزن خشک گیاهچه (mg)	تعداد برگ	ارتفاع گیاهچه (cm)	طول ساقه (cm)	تعداد جوانه جدید
2,4-D ($mg\ L^{-1}$)	BAP ($mg\ L^{-1}$)						
۱/۰۰	۰/۷۵	۱۹/۰۰ e	۰۳/۵۰ bc	۰۷/۰۰ d	۱/۷۰ ab	۰/۵۵ ab	۰/۰۰ b
۱/۰۰	۱/۵۰	۲۰/۵۰ e	۰۳/۰۰ bcd	۰۴/۷۵ e	۱/۰۲ cde	۰/۵۰ b	۲/۰۰ a
۱/۰۰	۲/۲۵	۶۶/۵۰ a	۱۱/۵۰ a	۱۲/۲۵ ab	۲/۰۷ a	۰/۷۵ a	۰/۰۰ b
۱/۰۰	۳/۰۰	۵۱/۵۰ b	۰۵/۰۰ b	۰۷/۲۵ d	۱/۱۶ cd	۰/۵۲ ab	۲/۰۰ a
۲/۵۰	۰/۷۵	۴۴/۷۵ c	۰۸/۵۰ a	۱۰/۵۰ c	۱/۸۱ a	۰/۶۵ ab	۰/۰۰ b
۲/۵۰	۱/۵۰	۴۸/۰۰ bc	۰۸/۵۰ a	۱۳/۵۰ a	۱/۳۲ bc	۰/۶۰ ab	۲/۰۰ a
۲/۵۰	۲/۲۵	۳۲/۵۰ d	۰۵/۲۵ b	۰۶/۲۵ d	۱/۲۴ c	۰/۶۰ ab	۳/۰۰ a
۲/۵۰	۳/۰۰	۱۸/۰۰ e	۰۳/۰۰ bcd	۰۶/۵۰ d	۰/۷۸ def	۰/۵۲ ab	۲/۰۰ a
۴/۰۰	۰/۷۵	۳۰/۵۰ d	۰۵/۰۰ b	۱۱/۲۵ bc	۱/۰۷ cde	۰/۵۰ b	۰/۰۰ b
۴/۰۰	۱/۵۰	۰۵/۰۰ g	۰/۰۰ e	۰۲/۰۰ g	۰/۳۵ g	۰/۲۰ c	۰/۰۰ b
۴/۰۰	۲/۲۵	۳۴/۲۵ d	۰۳/۲۵ d	۱۲/۲۵ ab	۰/۵۷ fg	۰/۵۲ ab	۲/۰۰ a
۴/۰۰	۳/۰۰	۱۸/۰۰ e	۰۲/۰۰ cd	۰۷/۰۰ d	۱/۰۰ cde	۰/۳۰ cd	۰/۰۰ b
۵/۵۰	۰/۷۵	۱۱/۰۰ f	۰/۰۰ e	۰۳/۰۰ f	۰/۷۰ ef	۰/۳۰ cd	۰/۰۰ b
۵/۵۰	۱/۵۰	۱۱/۰۰ f	۰/۰۰ e	۰۳/۰۰ f	۰/۷۰ ef	۰/۳۰ cd	۰/۰۰ b
۵/۵۰	۲/۲۵	۰۶/۰۰ g	۰/۰۰ e	۰۳/۰۰ f	۰/۵۵ fg	۰/۲۵ cd	۰/۰۰ b
۵/۵۰	۳/۰۰	۰/۰۰ h	۰/۰۰ e	۰/۰۰ h	۰/۰۰ h	۰/۰۰ d	۰/۰۰ b

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

سیتوکینین موجب انگیزش‌شاخه‌های‌نابجا می‌شود. شاخه‌های‌نابجا با شاخه‌های‌به‌دست‌آمده از جوانه‌جانبی رقابت‌می‌کنند. این رقابت غالباً پدیده‌ای‌نامطلوب به‌شمار می‌آید. زیرا شاخه‌های‌نابجا می‌توانند باعث ایجاد تغییرات سوماکلونی شوند (آروین، ۱۳۸۱). BAP بر رشد شاخه‌های‌فرعی و جوانه‌های‌جانبی رز مؤثر است (Yakimova *et al.*, 2000). سیتوکینین به‌تنهایی و یا در حضور آذنین باعث ایجاد تمایز جوانه می‌شود (سادات نوری و همکاران، ۱۳۹۰). بنابراین، به‌نظر می‌رسد در تیمارهایی که دارای جوانه‌جدید هستند، اثر BAP بر 2,4-D غالب شده‌است.

نحوه‌عمل سیتوکینین به‌درستی شناخته نشده است (کافی و همکاران، ۱۳۷۹). کنترل تقسیم یاخته‌ای توسط سیتوکینین‌ها از راه تحریک تولید اسیدهای نوکلئیک انجام می‌پذیرد (قربانی قوژدی، ۱۳۹۰). نقش بنزیل آمینوپورین (BAP) تحریک بیوسنتز سیتوکینین طبیعی در بافت‌هایی از گیاه می‌باشد (Mok *et al.*, 1979). سیتوکینین‌ها باعث تحریک تقسیم سلولی و ازدیاد نوساقه‌ها و رشد بافت‌های کامبیومی ساقه می‌شوند (سادات نوری و همکاران، ۱۳۹۰). البته با افزایش غلظت سیتوکینین تعداد شاخه افزایش و طول شاخه و تعداد برگ کاهش می‌یابد (Azadi *et al.*, 2007). هم‌چنین، بر مرحله طویل یا بزرگ شدن رشد تأثیر می‌گذارند (لسانی و مجتهدی، ۱۳۸۱). رشد یاخته‌ای حاصل از کاربرد سیتوکینین‌ها در تمام جوانب انجام می‌گیرد (قربانی قوژدی، ۱۳۹۰).

در مجموع طبق جداول ۲ و ۳، تیمار دارای یک میلی‌گرم بر لیتر 2,4-D به‌علاوه ۲/۲۵ میلی‌گرم بر لیتر BAP بهترین‌تیمار این ترکیب‌هورمونی برای افزایش ارتفاع‌گیاهچه، طول ساقه، وزن‌تازه و وزن‌خشک‌گیاهچه بوده‌است. تیمار دارای ۲/۵ میلی‌گرم بر لیتر 2,4-D به‌همراه غلظت‌های ۰/۷۵ میلی‌گرم بر لیتر BAP بهترین‌تیمار برای افزایش ارتفاع‌گیاهچه، وزن‌خشک‌گیاهچه و تیمار دارای ۲/۵ میلی‌گرم بر لیتر 2,4-D به‌همراه غلظت‌های ۱/۵ میلی‌گرم بر لیتر BAP بهترین‌تیمار برای افزایش وزن‌خشک‌گیاهچه، تعداد برگ وتشکیل جوانه‌جدید بوده‌است.

منابع

۱. آروین م. ج. ۱۳۸۱. کشت بافت درختان چوبی. انتشارات دانشگاه شهید باهنر کرمان.

۲. سادات‌نوری س. ا. میرمعصومی س. م. میرباقر ن. ۱۳۹۰. اصول کشت‌سلول و بافت‌گیاهی. انتشارات‌جهاد دانشگاهی تهران.

۳. سید طباطبایی ب. ا. و امیدی م. ۱۳۹۰. کشت بافت و سلول گیاهی. انتشارات دانشگاه تهران.

۴. قربانی قوژدی ح. ۱۳۹۰. درس‌نامه جامع‌فیزیولوژی‌گیاهی. چاپ اول. انتشارات مرز دانش. ۳۸۹ صفحه.

۵. کافی م. زند ا. کامکار ب. شریفی ح. گلدانی م. ۱۳۷۹. فیزیولوژی گیاهی (تایز و زایگر). جلد دوم. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد. ۳۷۹ صفحه.

۶. لسانی ح. مجتهدی م. ۱۳۸۱. مبانی فیزیولوژی گیاهی. چاپ ششم. انتشارات دانشگاه‌تهران. ۷۲۶ صفحه.

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

8. Azadi P. Khosh-Khui M. Beyramizadeh E. and Bagheri H. 2007. Optimization of Factors Affecting in vitro Proliferation and Rooting of *Rosa hybrida* L. cv. 'Rafaela'. International Journal of Agricultural Research 2: 626-631.
9. Davies D.R. 1980. Rapid propagation of roses in vitro. Scienthia Horticulture 13: 385-389.
10. Mok M.C. Kin S.G. Armstrong D.J. and Mok D.W. 1979. Induction of cytokinin autonomy by N, N'-diphenylurea in tissue cultures of *Phaseolus lunatus* Proc. Natl. Acad. Sci. USA 76: 3880-3884.
11. Yakimova E. Kapnchina-Toteva V. Groshkoff I. and Ivanova D. 2000. Effect of BA and CPPU on protease and a-amylase activity of in vitro culyured explants of *Rosa hybrida* L. Bulg. J. Plant Physiol 26(1-2): 39-47.

Investigating the effect of combination of different levels of 2,4-D and BAP on a medium culture of 1/4 MS on some vegetative characteristics of nodal segment of Dog rose

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

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. **Corresponding Author: mahrahimi8@gmail.com*

Abstract

The present study was carried out in order to obtain a suitable micro propagation method of *Rosa canina* L. as the most important rootstock for roses. The experiment was a factorial based on a completely randomized design with two concentrations of BAP (0, 0.75, 1.5, 2.5 and 3 mg/l) and 2,4-D concentrations (0, 1.5, 2.5, 4 and 5.5 mg/l) were cultured in MS medium (one quarter) in four replicates (each replicate included two samples). Samples were prepared in the middle of the season in the middle part of the middle shoots of the shrubs located in the fruit stage (red), pieces of 1.5 cm after disinfection With 70% ethanol for one minute, 10% sodium hypochlorite for 15 minutes was cultured horizontally and purification under sterile conditions. The room was then kept under a temperature of 23°C to 25°C and a photoperiod of 16 hours of light and eight hours of darkness. After the three months and without any replanting, the experiment was stopped. Results indicated that both the 2,4-D and BAP factors, as well as their interactions, had a very significant effect on all the test characters (height, weights and shoot length, number of leaves, length of stem and number of new bud). The treatment has 1 mg/l 2,4-D plus 2.25 mg/l BAP, is the best treatment of this combination is to increase seedling height, stem length, weigh weight, and shoot weight. The treatment was 2.5 mg/l 2,4-D with concentrations of 0.75 mg/l BAP, the best treatment for increasing height, weight, and the treatment with 2.5 mg/l 2,4-D with concentrations of 1.5 mg/l BAP is the best treatment for increasing weight, leaf number and new bud.

Keywords: Height, Leaf number, Stem length, Fresh weight، Dry weight.