



پایان‌نامه‌ی کارشناسی ارشد: هوشنگ کردی تمندانی، ۱۳۹۶

## اثر کیتوسان بر القای کالوس و باززایی شاخساره در گل راعی

به منظور بررسی اثر غلظت کیتوسان بر القای کالوس و باززایی شاخساره در گل راعی، دو آزمایش جداگانه به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی با 3 تکرار در آزمایشگاه بیوتکنولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد سبزوار انجام شد. ابتدا، اثر غلظت‌های مختلف کیتوسان (صفر، 10، 20، 40 و 60 میلی‌گرم در لیتر) و تنظیم‌کننده رشد NAA (صفر، 0/5 و 1 میلی‌گرم بر لیتر) بر القای کالوس در ریزنمونه‌های ساقه گل راعی مورد بررسی قرار گرفت. پس از تعیین بهترین ترکیب محیط کشت جهت القای کالوس در ریزنمونه‌های ساقه گل راعی، اثر غلظت‌های مختلف کیتوسان (صفر، 10، 20، 40 و 60 میلی‌گرم در لیتر) و تنظیم‌کننده رشد BAP (صفر، 0/5 و 1 میلی‌گرم در لیتر) بر ویژگی‌های باززایی شاخساره از کالوس مورد بررسی قرار گرفت. محیط کشت مورد استفاده در هر دو آزمایش، محیط کشت MS حاوی 30 گرم در لیتر ساکارز بود. نتایج نشان داد که کاربرد تنظیم‌کننده رشد NAA باعث افزایش درصد القای کالوس، قطر کالوس و وزن تر کالوس گردید. بیشترین درصد القای کالوس، قطر و وزن تر کالوس در غلظت 0/5 میلی‌گرم در لیتر NAA مشاهده شد که از افزایش معنی‌دار نسبت به تیمار شاهد برخوردار بود. کاربرد کلیه غلظت‌های کیتوسان در محیط کشت، باعث افزایش معنی‌دار درصد القای کالوس، قطر و وزن تر کالوس در مقایسه با شرایط عدم مصرف کیتوسان گردید. تفاوت معنی‌داری بین غلظت‌های 10، 20، 40 و 60 میلی‌گرم در لیتر کیتوسان در رابطه با درصد القای کالوس مشاهده نشد. غلظت 40 میلی‌گرم در لیتر کیتوسان بالاترین قطر و وزن تر کالوس را تولید نمود که تفاوت معنی‌داری با غلظت 60 میلی‌گرم در لیتر نداشت. در شرایط عدم استفاده از تنظیم‌کننده رشد BAP، هیچگونه باززایی شاخساره در کالوس‌ها انجام نشد. استفاده از تنظیم‌کننده رشد BAP در محیط کشت، باعث باززایی شاخساره در ریزنمونه‌های کالوس گردید. بیشترین درصد باززایی شاخساره، تعداد شاخساره در ریزنمونه و طول شاخساره در غلظت 1 میلی‌گرم در لیتر BAP مشاهده شد که از افزایش معنی‌دار نسبت به غلظت 0/5 میلی‌گرم در لیتر برخوردار بود. در شرایط استفاده از تنظیم‌کننده رشد BAP، کاربرد غلظت‌های 20 و 40 میلی‌گرم در لیتر کیتوسان باعث افزایش معنی‌دار درصد باززایی شاخساره نسبت به شرایط عدم مصرف و غلظت‌های 10 و 60 میلی‌گرم در لیتر کیتوسان گردید. استفاده از غلظت‌های 10، 20، 40 و 60 میلی‌گرم در لیتر کیتوسان باعث افزایش معنی‌دار تعداد شاخساره در ریزنمونه و طول شاخساره در مقایسه با شرایط عدم مصرف کیتوسان گردید. بالاترین تعداد و طول شاخساره در غلظت 20 میلی‌گرم در لیتر کیتوسان بدست آمد. تفاوت معنی‌داری بین غلظت‌های 20 و 40 میلی‌گرم در لیتر کیتوسان در رابطه با طول شاخساره وجود نداشت. با توجه به نتایج، استفاده از محیط کشت MS حاوی 0/5 میلی‌گرم در لیتر NAA و 40 میلی‌گرم در لیتر کیتوسان جهت القای کالوس از ریزنمونه‌های ساقه گل راعی توصیه می‌شود. همچنین استفاده از محیط کشت MS حاوی 1 میلی‌گرم در لیتر BAP و 20 میلی‌گرم در لیتر کیتوسان جهت تولید بیشترین شاخساره در شرایط درون‌شیشه‌ای قابل توصیه می‌باشد.



کلیدواژه‌ها: گل راعی، کالوس، باززایی شاخساره، ریزنمونه، اکسین، سیتوکنین، کیتوسان.

شماره‌ی پایان‌نامه: ۱۲۷۵۰۳۲۲۹۴۲۰۰۶

تاریخ دفاع: ۱۳۹۶/۰۶/۳۰

رشته‌ی تحصیلی: مهندسی کشاورزی

دانشکده: کشاورزی و دامپزشکی

استاد راهنما: دکتر متین جامی‌معینی

### **M.A. Thesis:**

## The effect of chitosan on callus induction and shoot regeneration in *Hypericum perforatum* L.

To evaluate the effect of concentration of chitosan on callus induction and shoot regeneration in St. John'swort, two separate factorial experiments based on completely randomized design with 3 replications were carried out in biotechnology laboratory of Islamic Azad University of Sabzevar. At the first, effect of different concentrations of chitosan (0, 10, 20, 40 and 60 mg/l) and NAA (0, 0.5 and 1 mg/l) on callus induction in stem explants of *Hypericum perforatum* L. was evaluated. After selection of the best medium composition for callus induction in stem explants, effect of different concentrations of chitosan (0, 10, 20, 40 and 60 mg/l) and BAP (0, 0.5 and 1 mg/l) on shoot regeneration from callus were studied. The MS medium containing 30 g/l sucrose was used in both experiments. The results showed that NAA application increased callus induction percentage, callus diameter and callus fresh weight. The highest percentage of callus induction, callus diameter and fresh weight were observed at 0.5 mg/l NAA concentration, which had a significant increase compared to control treatment. The application of all chitosan concentrations in the culture medium significantly increased the callus induction percentage, callus diameter and fresh weight compared to the non-use of chitosan. There was no significant difference between the concentrations of 10, 20, 40 and 60 mg/l of chitosan in relation to the percentage of callus induction. Concentration of 40 mg/l of chitosan produced the highest diameter and callus fresh weight, which did not have a significant difference with the concentration of 60 mg/l. In the absence of BAP growth regulator in culture media, no shoots regeneration was performed in calluses. The use of BAP in the culture medium caused shoots regeneration in callus explants. The highest percentage of shoot regeneration, number of shoots in explants and shoot lengths were observed at 1 mg/l BAP concentration, which was significantly higher than the concentration of 0.5 mg/l. In the culture media containing BAP, application of 20 and 40 mg/l chitosan increased the percentage of shoot regeneration compared to concentrations of 0, 10 and 60 mg/l of chitosan. Using the concentrations of 10, 20, 40 and 60 mg/l of chitosan significantly increased the number of shoots in the explant and shoot length compared to the non-use of chitosan. The highest number and length of shoots were obtained at a concentration of 20 mg /l of chitosan. There was no significant difference



between the concentrations of 20 and 40 mg/l of chitosan in relation to shoot length. According to the results, the use of MS medium containing 0.5 mg/l NAA and 40 mg/l chitosan is recommended for induction of callus in stem explants of *Hypericum perforatum*. Also, use of MS medium containing 1 mg/l BAP and 20 mg/l chitosan is recommended for producing the highest shoots number under in vitro conditions.