DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.2.9.5
مقاله پژوهشی

بررسی تأثیر کیتوسان بر باززایی و متابولیت‌های ثانویه دو گونه گل سوسن

مهسا خلفی، یونس پوربیرامی هیر*، اسماعیل چمنی و حسن ملکی لجایر

ایران، اردبیل، دانشگاه محقق اردبیلی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، گروه علوم باغبانی.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۸/۰۴ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۰/۲۴

چکیده

گل سوسن با پتانسیل بالای اقتصادی، یکی از مهمترین گل‌ها در بین محصولات باغبانی و زینتی در سراسر جهان بوده و چهارمین جایگاه را در بین گل‌ها به خود اختصاص داده است. به منظور بررسی اثرات غلظت‌های مختلف کیتوسان (صفر (شاهد)،۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر) بر باززایی و تولید متابولیت‌های ثانویه دو گونه سوسن (*L. dandie* و *L. ledebouri*) در محیط کشت پایه MS، آزمایشی به صورت طرح کاملاً تصادفی با ۱۰ تکرار انجام شد. نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تأثیر تیمار کیتوسان بر صفات مورفولوژیکی مثل وزن‌تر، ارتفاع گیاه، تعداد ریشه، تعداد پیازچه، درصد باززایی، کلروفیل a, b و کل و متابولیت‌های ثانویه فنل در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود. تأثیر کیتوسان بر روی فلاونوئید نیز در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود. نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها نیز نشان داد که بیش‌ترین وزن‌تر و تعداد پیازچه از گونه چلچراغ در محیط کشت حاوی ۲۰۰ پی‌پی‌ام کیتوسان حاصل شد. بیش‌ترین ارتفاع گیاهچه، تعداد ریشه، درصد باززایی، کلروفیل a، b، فنل کل و فلاونوئید کل نیز تأثیر از گونه دندیه با غلظت ۲۰۰ پی‌پی‌ام حاصل گردید. در کل نتایج نشان داد که کیتوسان می‌تواند تأثیر مثبتی بر باززایی برخی از گونه‌های سوسن داشته باشد.

واژه های کلیدی: درصدباززایی، کشت بافت، کیتوسان، گل سوسن، متابولیت ثانویه،

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۴۱۵۶۸۰۵۳ ، پست الکترونیکی: Younes_ph62@uma.ac.ir

مقدمه

در حال حاضر نزدیک ۴۰۰ هزار گونه گیاهی شناسایی شده، که بخشی از آن به عنوان گیاهان زینتی مورد استفاده قرار می‌گیرد. و گل سوسن در زمره مهمترین گل‌های شاخه بریده، در جایگاه چهارم زینتی پس از رز، میخک و داوودی قرار دارد و تولید آن بیش از ۳۰۰ میلیون شاخه گل است بنابراین گیاهان زینتی جزئی جدا نشدنی زندگی ما انسانهاست باید هرچه بیشتر و بهتر درشناخت، حفظ و ازدیاد آنها بکوشیم (۳۸). سوسن‌ها را می‌توان با روش‌های جنسی و غیرجنسی تکثیرکرد. بیشتر ارقام از نظرتجاری، از طریق روش‌های رویشی، یعنی سوخک‌ها و پاجوش‌ها و پیازچه‌های نابجا و فلس‌های پیازی و کشت بافت تکثیر می‌شوند (۱۷).

گل سوسن چلچراغ یکی از گونه‌های بسیار زیبای جنس لیلیوم از تیره سوسن‌سانان می‌باشد. این گیاه بومی شمال کشور و لنکران جمهوری آذربایجان است این گونه در معرض خطر، امروزه به دلیل زینتی بودن و برداشت بی‌رویه، نسل آن در حال انقراض است (۷ و ۳۹). گل سوسن دندیه یک گونه جدید از هیبرید آسیایی است. گل آن نارنجی قرمز است. پیازهای این گونه خوراکی است. طعم آن شیرین بوده و نه تنها ارزش تغذیه‌ای بالایی دارد بلکه حاوی مقادیر زیادی از مواد فعال زیستی است (۴۱).

استفاده از تکنیک کشت بافت کنترل بیشتری از شرایط بیرون دارد و می‌توان تعداد زیادی از گیاهان را در فضایی محدود ارزیابی کرد و امکان انجام آزمایش‌ها در شرایط

DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.2.9.5
مقاله پژوهشی

یکسان در تمام طول سال امکان‌پذیر است. بسیاری از عکس العمل‌های فیزیولوژی و مورفولوژی و بیوشیمیایی گیاه در شرایط کشت بافت قابل اندازه‌گیری است (۳۳).

کیتوسان مشتق اصلی کیتین و فرم داستیله شده آن می‌باشد که در نتیجه داستیلاسیون آلکالین کیتین حاصل می‌شود. همچنین کیتوسان به‌طور طبیعی در برخی از قارچ‌ها تولید می‌گردد که میزان آن بسیار کمتر از میزان کیتین می‌باشد (۱۴). آزمایش تأثیر کیتوسان بر شاخص‌های بیوشیمیایی و مورفوفیزیولوژیکی در گیاه دارویی شیرین برگ مورد بررسی قرار گرفته است و بر اساس نتایج به دست آمده محلول پاشی کیتوسان با غلظت مناسب به عنوان یک محرک زیستی باعث بهبود در صفات مورفوفیزیولوژیکی گیاه شیرین برگ شده است، همچنین بر اساس نتایج حاصل، کیتوسان از طریق تحریک ترکیبات شیمیایی و افزایش فعالیت آنزیم‌های کلیدی به عنوان یک محرک کارآمد در تولید متابولیت‌های ثانویه گیاه شیرین برگ مانند رباديوزيد A تأثیرگذار می‌باشد (۲۶). در بررسی اثر محرک کیتوسان بر گیاه دارویی پونه نیز گزارش شده که با مصرف محرک کیتوسان صفات مورفولوژیکی مانند وزن‌تر و ارتفاع گیاه افزایش یافت (۱۸). همچنین گزارش شده که غلظت‌های مناسب کیتوسان درصد باززایی گیاهان ارکیده را به طور معنی‌دار تحت تأثیر قرار داده است (۲۹). جامی و همکاران (۲) نیز در بررسی اثر کیتوسان بر شاخص‌های مورفولوژیکی گیاه نوروزک مشاهده کردند که اثر کیتوسان بر ارتفاع گیاه نوروزک معنی‌دار بوده است و ارتفاع گیاه نوروزک به طور معنی‌دار نسبت به شاهد افزایش داشته است. هنگ و همکاران (۱۹) اثر محرک کیتوسان بر گیاه دارویی پونه را بررسی نموده و گزارش کردند که ارتفاع گیاهچه با مصرف محرک کیتوسان افزایش یافت. دزینگ و همکاران (۱۵) نیز افزایش ارتفاع گیاه قهوه در غلظت ۶۰ پی‌پی‌ام کیتوسان را گزارش کردند.

استفاده از گیاهان زینتی در جوامع مختلف معمول شده است. در کشور ما نیز عامه مردم به منظور زیبایی و طراوت بخشیدن به زندگی، از گل‌ها و گیاهان زینتی استفاده می‌نمایند. امروزه استفاده از گل سوسن کاربرد گسترده‌ای به‌عنوان گل بریده و گیاه گلدانی دارد لذا دست یافتن به روش‌های مؤثر برای تکثیر بهینه با توجه به طولانی بودن زمان گلدهی در تکثیر با بذر، ازدیاد آن با روش غیرجنسی نظیر کشت‌بافت سبب تسریع در گلدهی می‌گردد در بسیاری از موارد تولید متابولیت ثانویه می‌تواند به وسیله تیمار با محرک‌ها افزایش یابد. محرک‌ها بر اساس منبع تولید به محرک‌های درون‌زا و برون‌زا (مانند کیتوسان) طبقه‌بندی می‌شوند در همین راستا در پژوهش حاضر از کیتوسان به عنوان محرک به منظور باززایی و تولید متابولیت‌های ثانویه دو گونه سوسن در شرایط درون شیشه‌ای استفاده شد.

مواد و روشها

این پژوهش در آزمایشگاه کشت بافت و بیوتکنولوژی گروه باغبانی و فضای سبز دانشگاه محقق اردبیلی انجام گردید. برای انجام این پژوهش ابتدا سوخ دو گونه مختلف از گل سوسن با اسامی علمی *L. ledebourii, L. dandie* تهیه و سپس به منظور پرآوری درون شیشه‌ای، فلس آنها کشت گردید. جهت ضدعفونی ریزنمونه از اتانول ۷۰ ٪ به مدت ۶۰ ثانیه و هیپوکلریت سدیم ۲/۵ ٪ به مدت ۲۰ دقیقه استفاده شد، سپس ریزنمونه‌ها سه بار با آب مقطر استریل به مدت ۲، ۵ و ۱۵ دقیقه شستشو داده شدند. پس از ضدعفونی ریز نمونه‌ها با استفاده از یک پنس استریل زیر هود لامینار روی محیط کشت پایه MS بدون تنظیم کننده‌های رشد انتقال یافتند. پس از استقرار ریزنمونه‌ها در محیط کشت، درب ظروف کشت توسط فویل الومینیومی و پارافیلم بسته شد. پس از باززایی نمونه‌ها واکشت انجام شد تا پیازچه‌های درون شیشه‌ای به اندازه مناسب برسند و فلس‌های پیازچه درون شیشه‌ای جهت اعمال تیمارها استفاده شدند. بدین منظور فلس هر یک از گونه‌ها را بطور

DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.2.9.5
مقاله پژوهشی

جداگانه در محیط‌های کشت جامد حاوی کیتوسان در پنج سطح صفر (شاهد)،۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر کشت شدند. همچنین در محیط کشت یاد شده ۳۰ گرم در لیتر ساکارز به عنوان منبع کربوهیدرات و ۸ گرم در لیتر آگار برای جامد کردن محیط کشت به کار برده شد. قبل از افزودن آگار pH محیط کشت در۵/۷ تنظیم شد. پس از توزیع محیط کشت در شیشه مربایی حاوی ۲۰ میلی-لیتر محیط کشت جامد پایه MS و با ۱۰ تکرار و چهار فلس در هر تکرار به عنوان واحد آزمایشی در نظر گرفته شد. جهت ضدعفونی محیط کشت در دمای ۱۲۱ درجه سانتی گراد و فشار ۱/۲ کیلوگرم بر سانتی‌متر مربع اتوکلاو شدند. سپس نمونه‌ها نمونه‌ها در یک اتاقک رشد با ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی در روز، شدت نور ۲۰۰۰ لوکس و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. پس از انتقال نمونه‌های کشت شده به اتاقک رشد و ژرمیناتور، کنترل روزانه به منظور بررسی تغییرات در رشد و نمو و باززایی نمونه‌ها و همچنین حذف کشت‌های آلوده انجام گردید.

اندازه‌گیری صفات

وزن‌تر گیاهچه: بعد از خارج نمودن گیاهچه‌ها از محیط کشت، ابتدا محیط کشت اطراف آن‌ها را به صورت کامل تمیز نموده و سپس با استفاده از ترازوی با دقت یک هزارم، وزن‌تر اندازه‌گیری شد.

ارتفاع گیاهچه: بعد از خارج کردن گیاهچه‌ها از محیط کشت و تمیز نمودن ژل اطراف آن‌ها ارتفاع گیاهچه‌ها با استفاده از خط‌کش اندازه‌گیری شد.

تعداد ریشه و پیازچه: تعداد ریشه، پیازچه، بعد از خارج کردن گیاهچه‌ها از محیط کشت و تمیز نمودن ژل اطراف آن‌ها شمارش گردید.

درصد باززایی: درصد باززایی با مشاهده میزان رشد یک واحد آزمایشی تعیین شد.

میزان کلروفیل: اندازه‌گیری کلروفیل با استفاده از روش اسپکتروفتومتری و در دو طول موج ۶۶۳ و ۶۴۵ نانومتر انجام گرفت. مقدار کلروفیل‌های a و b و کلروفیل کل بر طبق معادله خطی‌های زیر به دست آمد.

$$\text{کلروفیل a} = (19.3\times A_{663} - 0.86\, A_{645})\ V/100W$$

$$\text{کلروفیل b} = (19.3\times A645 - 3.6\times A663)\ V/100W$$

$$\text{کلروفیل کل} = \text{کلروفیل a} + \text{کلروفیل b}$$

اندازه گیری میزان فنل کل: بر اساس روش اسلینکرد و سینگلتون (۳۶) با کمی تغییر و با استفاده از معرف فولین سیوکالتیو محاسبه گردید غلظت فنل بر مبنای مقادیر ناشی از واکنش عصاره با معرف فولین سیوکالتیو و بر اساس مقایسه آن با محلول‌های استاندارد اسید گالیک با غلظت-های صفر، ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰، ۱۰۰، ۱۲۰، ۱۸۰ و ۲۰۰ میلی-گرم بر لیتر تهیه شد و بر طبق معادله خط رو به رو از منحنی استاندارد اسید گالیک به دست آمد.

$$Y = 0.0028\ X + 0.1652$$

اندازه‌گیری فلاونوئیدکل: اندازه‌گیری فلاونوئید به روش رنگ سنجی آلومینیوم کلرید و با روش کومار و شارما (۲۱) انجام شد. محاسبه غلظت فلاونوئید بر اساس مقایسه آن با محلول‌های استاندارد کوئرستین با غلظت‌های صفر، ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر تهیه شد و بر طبق معادله خط به دست آمده زیر از منحنی استاندارد کوئرستین به دست آمد.

$$Y = 0.0053\ X - 0.092$$

تجزیه و تحلیل داده‌ها: داده‌ها با استفاده از نرم افزار آماریSPSS تجزیه و تحلیل شدند. مقایسه میانگین با آزمون چند دامنه‌ای دانکن و نمودارها نیز با استفاده از Excel رسم گردید.

نتایج

بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف کیتوسان بر صفات

DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.2.9.5
مقاله پژوهشی

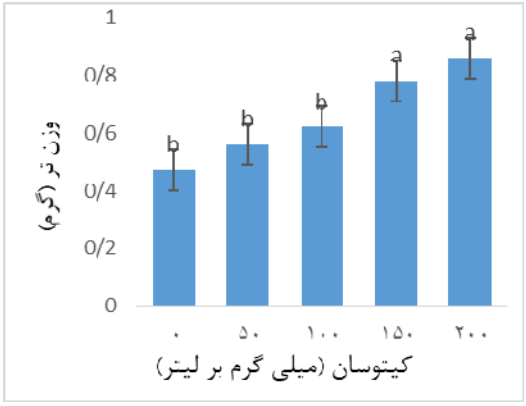
مورفولوژیکی دو گونه گل سوسن: وزن تر گیاهچه: نتایج به دست آمده از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد اثرات اصلی در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود اما اثر متقابل گونه و غلظت‌های مختلف کیتوسان معنی‌دار نبود (جدول ۱). مقایسه میانگین داده‌ها نیز نشان داد که بیشترین وزن تر متعلق به گونه چلچراغ بود (نمودار ۱). بین مقادیر مختلف کیتوسان نیز غلظت ۲۰۰ پی‌پی‌ام بیشترین تأثیر را در افزایش وزن‌تر داشت و پس از آن غلظت ۱۵۰ پی‌پی‌ام قرار داشت که با سایر غلظت‌ها اختلاف معنی‌داری را نشان دادند کمترین تأثیر نیز در غلظت ۰ میلی گرم در لیتر کیتوسان مشاهده شد (نمودار ۲).

جدول ۱- تجزیه واریانس تأثیر گونه و کیتوسان برصفات مورفولوژیکی گل سوسن

منابع تغییرات	درجه آزادی (df)	میانگین مربعات(MS)				
		وزن تر	ارتفاع گیاهچه	تعداد ریشه	درصد باززایی	تعداد پیازچه
گونه	۱	۰/۰۱^{ns}	۴۱۰/۹**	۱/۰۷^{ns}	۸۳۴۱/۴**	۵۴۵/۸**
کیتوسان	۴	۰/۵۱**	۴/۸^{ns}	۶/۸۱**	۲۰۰۰/۵**	۳۱/۱**
گونه×کیتوسان	۴	۰/۷۸ ^{ns}	۰/۹۳^{ns}	۲/۳^{ns}	۱۱۱۰/۱**	۱۳/۵**
خطا	۸۹	۰/۰۵	۱/۵۵	۱/۶۷	۲۳/۲۲	۳/۰۵
ضریب تغییرات		۳۴/۱۹	۳۵/۳۳	۳۰/۶۹	۲۲/۳۱	۳۹/۹۴

*,**و ns به ترتیب نشان دهنده معنی داری در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪ وعدم اختلاف معنی‌دار می‌باشد

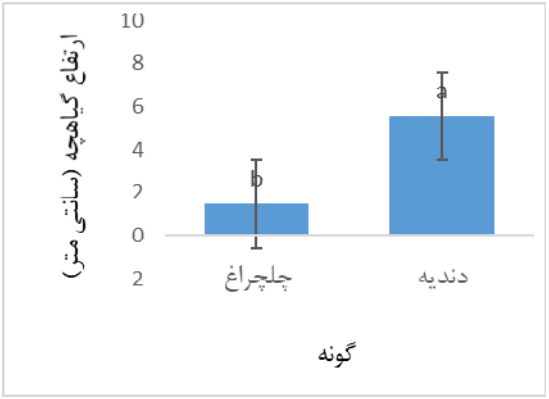
نمودار ۱- تأثیر نوع گونه بر وزن تر گیاهچه



نمودار ۲- تأثیر غلظت‌های مختلف کیتوسان بر وزن تر گیاهچه

ارتفاع گیاهچه: با توجه به نتایج به دست آمده از تجزیه واریانس داده‌ها مشخص شد که تأثیر اثرات اصلی (کیتوسان و گونه) بر ارتفاع گیاهچه در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود (جدول ۱). مقایسه میانگین داده‌ها نیز نشان داد که بین گونه‌های مختلف بیشترین ارتفاع گیاهچه در گونه دندیه بود (نمودار ۳) همچنین با افزایش مقدار کیتوسان تا غلظت ۱۵۰ پی‌پی‌ام ارتفاع گیاهچه‌ها افزایش نشان داد و بعد از آن کاهش یافت هر چند این اختلاف معنی‌دار نبود (نمودار ۴).

DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.2.9.5
مقاله پژوهشی

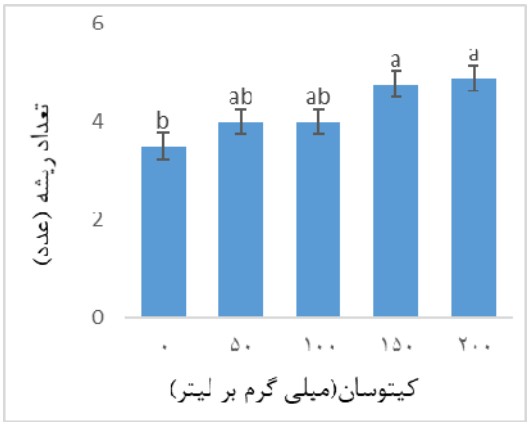


نمودار۳- تأثیر نوع گونه بر ارتفاع گیاهچه

نمودار۴- تأثیر غلظت‌های مختلف کیتوسان بر ارتفاع گیاهچه

تعداد ریشه: نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تأثیر نوع گونه و کیتوسان بر شاخص تعداد ریشه در سطح احتمال ۱ ٪ معنی‌دار بود (جدول ۱). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین تعداد ریشه از گونه دندیه بدست آمد (نمودار ۵). غلظت ۲۰۰ پی‌پی‌ام کیتوسان‌ها نیز بیشترین تعداد ریشه را داشت و کمترین تعداد ریشه در تیمار شاهد (۰ میلی گرم در لیتر) مشاهده شد (نمودار ۶).

نمودار ۵- تأثیر نوع گونه بر تعداد ریشه



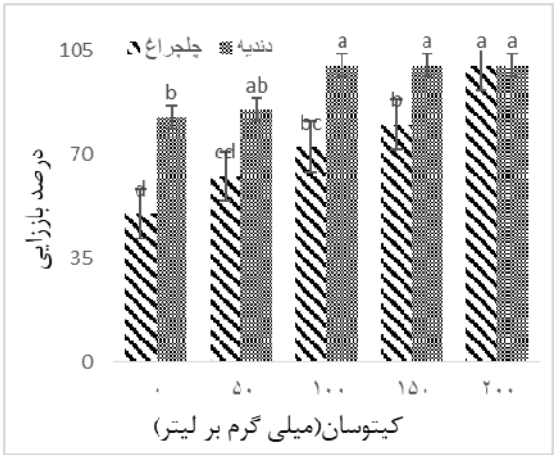
نمودار ۶- تأثیر غلظت‌های مختلف کیتوسان بر تعداد ریشه

درصد باززایی: تجزیه واریانس درصد باززایی نشان داد اثرات متقابل گونه و کیتوسان در سطح احتمال ۱٪ معنی-داری می‌باشد اثرات اصلی آن نیز در سطح احتمال ۱٪ معنی دار بود (جدول ۱). نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن نشان داد که بیشترین درصد باززایی در هر دو رقم از غلظت ۲۰۰ پی-پی‌ام کیتوسان بدست آمد و کمترین میزان نیز در هر دو گونه در تیمار شاهد (۰ میلی گرم در لیتر کیتوسان) مشاهده شد هر چند درصد باززایی در گونه دندیه بیشتر از گونه چلچراغ بود (نمودار ۷ و شکل ۱).

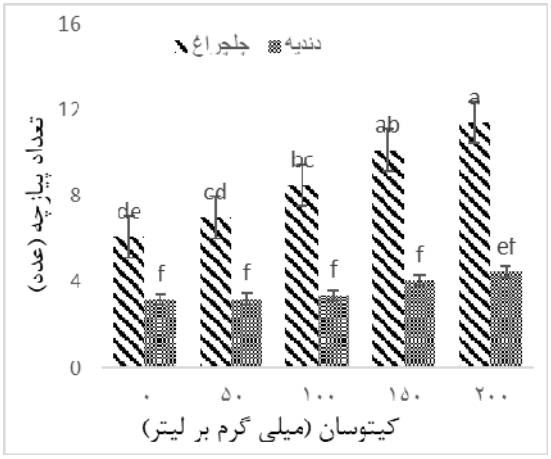
تعداد پیازچه: نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر متقابل گونه و کیتوسان اعمال شده و اثرات اصلی آن بر تعداد پیازچه در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود (جدول ۱). مقایسه میانگین داده‌ها نیز نشان داد که بیشترین

DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.2.9.5
مقاله پژوهشی

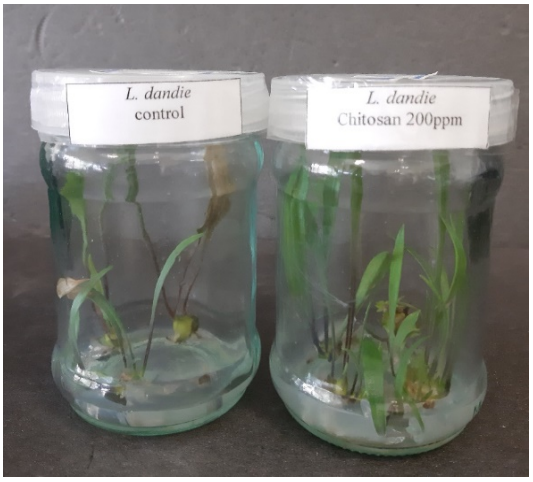
و کمترین تعداد پیازچه در هر دو گونه به‌ترتیب از غلظت ۲۰۰ و ۰ پی‌پی‌ام کیتوسان حاصل شد. بین گونه‌ها نیز سوسن چلچراغ بیشترین تعداد پیازچه را داشت که با گونه دندیه اختلاف معنی‌داری داشت (نمودار ۸ و شکل۲).



نمودار ۷- تأثیر غلظت‌های مختلف کیتوسان بر درصد باززایی



نمودار ۸- تأثیر غلظت‌های مختلف کیتوسان بر تعداد پیازچه



شکل۱- تأثیر غلظت۰ (شاهد) و۲۰۰ کیتوسان بر رشد گونه دندیه

شکل ۲- تأثیر غلظت ۰ (شاهد) و ۲۰۰ کیتوسان بر رشد گونه چلچراغ

میزان کلروفیل a: نتایج حاصل از تجزیه واریانس تأثیر غلظت‌های مختلف کیتوسان بر شاخص میزان کلروفیل a در دو گونه سوسن نشان داد که تأثیر اثرات اصلی و اثر متقابل کیتوسان و گونه بر این شاخص در سطح احتمال۱٪ معنی‌دار بود (جدول ۲). نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین میزان کلروفیل a در هر دو گونه از غلظت ۲۰۰ پی‌پی‌ام و کمترین نیز از غلظت ۰ پی-پی‌ام (شاهد) کیتوسان بدست آمد (نمودار ۹).

ارتفاع گیاهچه: با توجه به نتایج به دست آمده از تجزیه واریانس داده‌ها مشخص شد که تأثیر اثرات اصلی (کیتوسان و گونه) بر ارتفاع گیاهچه در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود (جدول ۱).

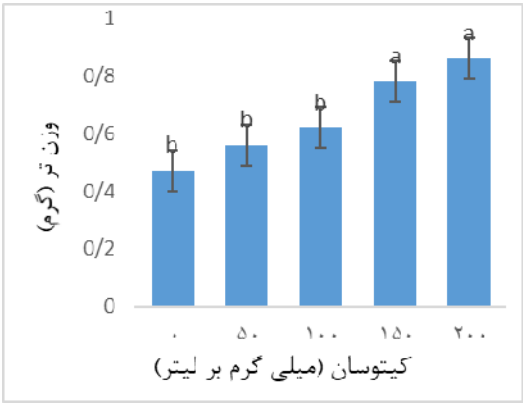
DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.2.9.5
مقاله پژوهشی

جدول ۲- تجزیه واریانس تأثیر گونه و کیتوسان برصفات مورفولوژیکی و متابولیت‌های ثانویه گل سوسن

منابع تغییرات	درجه آزادی(df)	میانگین مربعات(MS)				
		کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	فنل	فلاونوئید
گونه	۱	۱۹۹/۹**	۰/۸۱**	۲۳۸/۷**	۷۷۵۱/۶**	۶۵۱۰/۰۱**
کیتوسان	۴	۰/۶۳**	۰/۱۸**	۲/۶۹**	۱۰۲۱/۴**	۳۳۰۲/۳**
گونه×کیتوسان	۴	۳/۲۸۲**	۰/۵۴**	۵/۲۶**	۱۹۲۸/۵**	۱۰۶۹/۹^{ns}
خطا	۸۹	۰/۴۲	۰/۰۶	۰/۹۴	۴۳۴۶/۵	۴۵۸۴/۶
ضریب تغییرات		۳۱/۰۴	۹۵/۸۳	۳۴/۸۲	۱۲/۶۰	۲۳/۹۹

*,**و ns به ترتیب نشان دهنده معنی داری در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪ وعدم اختلاف معنی‌دار می‌باشد

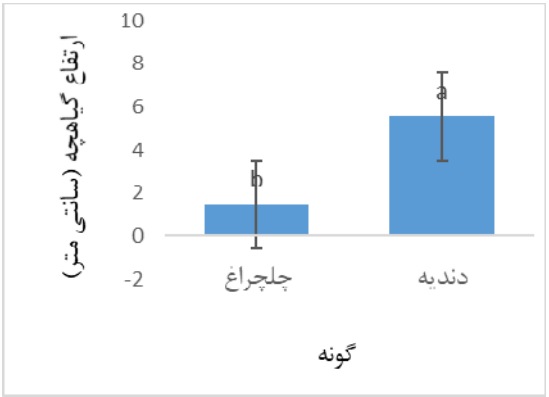
نمودار ۱- تأثیر نوع گونه بر وزن تر گیاهچه



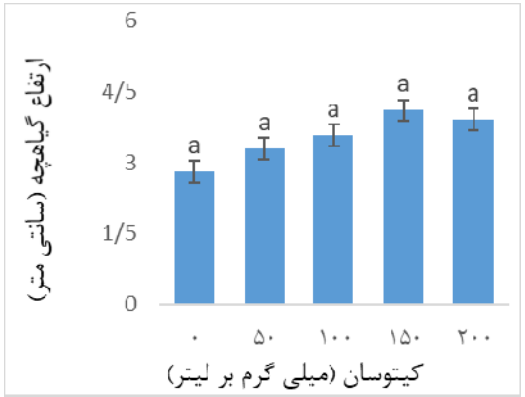
نمودار ۲- تأثیر غلظت‌های مختلف کیتوسان بر وزن تر گیاهچه

مقایسه میانگین داده‌ها نیز نشان داد که بین گونه‌های مختلف بیشترین ارتفاع گیاهچه در گونه دندیه بود (نمودار ۳) همچنین با افزایش مقدار کیتوسان تا غلظت ۱۵۰ پی‌پی-ام ارتفاع گیاهچه‌ها افزایش نشان داد و بعد از آن کاهش یافت هر چند این اختلاف معنی‌دار نبود (نمودار ۴).

تعداد ریشه: نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تأثیر نوع گونه و کیتوسان بر شاخص تعداد ریشه در سطح احتمال ۱ ٪ معنی‌دار بود (جدول ۱).



نمودار۳- تأثیر نوع گونه بر ارتفاع گیاهچه

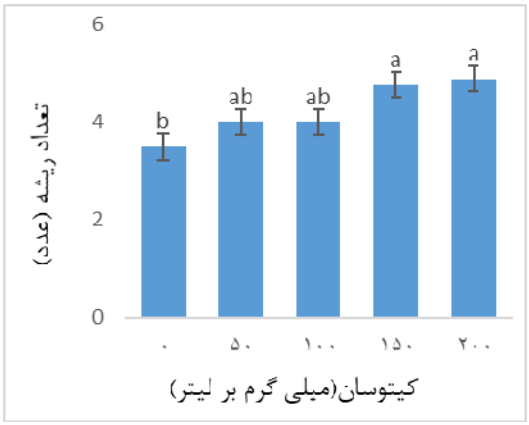


نمودار۴- تأثیر غلظت‌های مختلف کیتوسان بر ارتفاع گیاهچه

DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.2.9.5
مقاله پژوهشی

مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین تعداد ریشه از گونه دندیه بدست آمد (نمودار ۵). غلظت ۲۰۰ پی‌پی‌ام کیتوسان‌ها نیز بیشترین تعداد ریشه را داشت و کمترین تعداد ریشه در تیمار شاهد (۰ میلی گرم در لیتر) مشاهده شد (نمودار ۶).

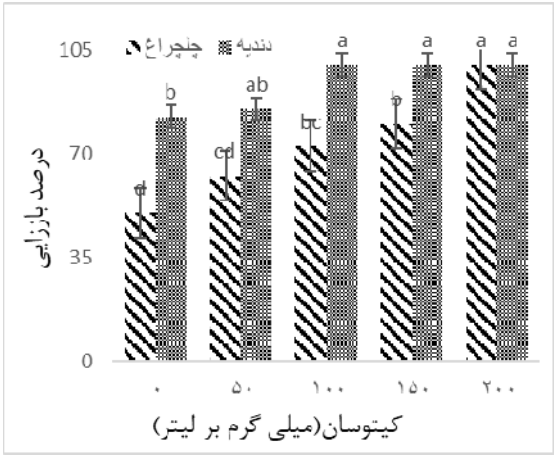
نمودار ۵- تأثیر نوع گونه بر تعداد ریشه



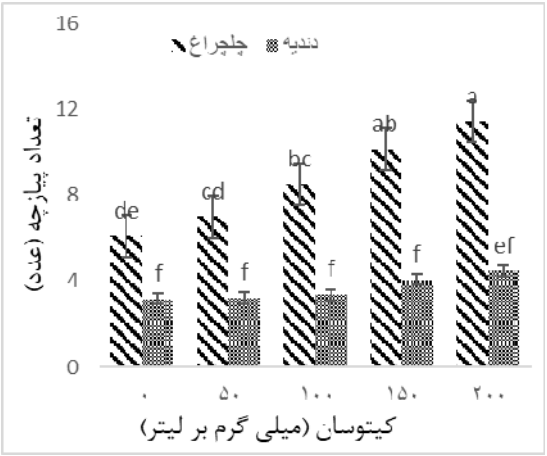
نمودار ۶- تأثیر غلظت‌های مختلف کیتوسان بر تعداد ریشه

درصد باززایی: تجزیه واریانس درصد باززایی نشان داد اثرات متقابل گونه و کیتوسان در سطح احتمال ۱٪ معنی-داری می‌باشد اثرات اصلی آن نیز در سطح احتمال ۱٪ معنی دار بود (جدول ۱). نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن نشان داد که بیشترین درصد باززایی در هر دو رقم از غلظت ۲۰۰ پی-پی‌ام کیتوسان بدست آمد و کمترین میزان نیز در هر دو گونه در تیمار شاهد (۰ میلی گرم در لیتر کیتوسان) مشاهده شد هر چند درصد باززایی در گونه دندیه بیشتر از گونه چلچراغ بود (نمودار ۷ و شکل ۱).

تعداد پیازچه: نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر متقابل گونه و کیتوسان اعمال شده و اثرات اصلی آن بر تعداد پیازچه در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود (جدول ۱). مقایسه میانگین داده‌ها نیز نشان داد که بیشترین و کمترین تعداد پیازچه در هر دو گونه به‌ترتیب از غلظت ۲۰۰ و ۰ پی‌پی‌ام کیتوسان حاصل شد. بین گونه‌ها نیز سوسن چلچراغ بیشترین تعداد پیازچه را داشت که با گونه دندیه اختلاف معنی‌داری داشت (نمودار ۸ و شکل۲).

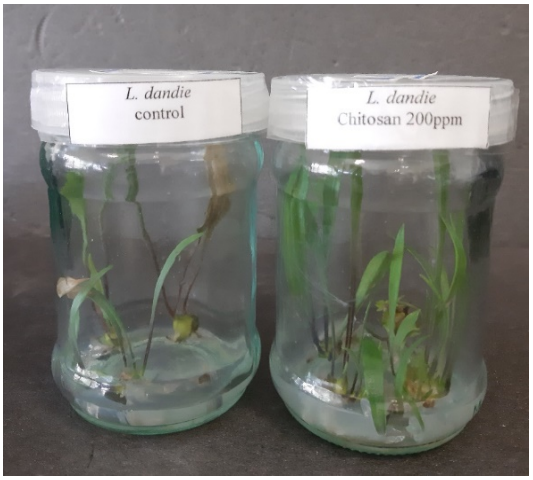


نمودار ۷- تأثیر غلظت‌های مختلف کیتوسان بر درصد باززایی



نمودار ۸- تأثیر غلظت‌های مختلف کیتوسان بر تعداد پیازچه

DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.2.9.5
مقاله پژوهشی



شکل ۱- تأثیر غلظت ۰ (شاهد) و ۲۰۰ کیتوسان بر رشد گونه دندیه

شکل ۲- تأثیر غلظت ۰ (شاهد) و ۲۰۰ کیتوسان بر رشد گونه چلچراغ

میزان کلروفیل a: نتایج حاصل از تجزیه واریانس تأثیر غلظت‌های مختلف کیتوسان بر شاخص میزان کلروفیل a در دو گونه سوسن نشان داد که تأثیر اثرات اصلی و اثر متقابل کیتوسان و گونه بر این شاخص در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود (جدول ۲). نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین میزان کلروفیل a در هر دو گونه از غلظت ۲۰۰ پی‌پی‌ام و کمترین نیز از غلظت ۰ پی-پی‌ام (شاهد) کیتوسان بدست آمد (نمودار ۹).

جدول ۲- تجزیه واریانس تأثیر گونه و کیتوسان برصفات مورفولوژیکی و متابولیت‌های ثانویه گل سوسن

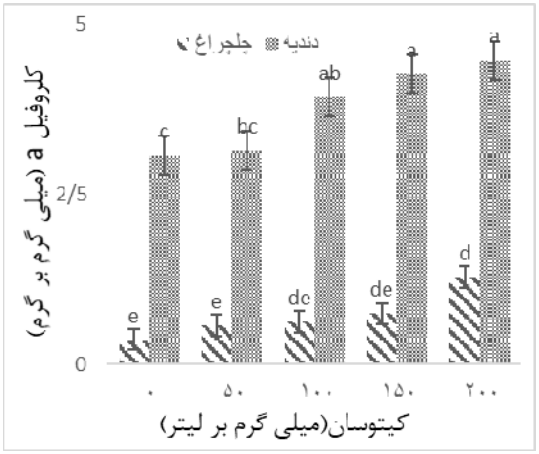
منابع تغییرات	درجه آزادی(df)	میانگین مربعات(MS)				
		کلروفیلa	کلروفیلb	کلروفیل کل	فنل	فلاونوئید
گونه	۱	۱۹۹/۹**	۰/۸۱**	۲۳۸/۷**	۷۷۵۱/۶**	۶۵۱۰/۰۱**
کیتوسان	۴	۰/۶۳**	۰/۱۸**	۲/۶۹**	۱۰۲۱/۴**	۳۳۰۲/۳**
گونه×کیتوسان	۴	۳/۲۸۲**	۰/۵۴**	۵/۲۶**	۱۹۲۸/۵**	۱۰۶۹/۹^{ns}
خطا	۸۹	۰/۴۲	۰/۰۶	۰/۹۴	۴۳۴۶/۵	۴۵۸۴/۶
ضریب تغییرات		۳۱/۰۴	۹۵/۸۳	۳۴/۸۲	۱۲/۶۰	۲۳/۹۹

*,**و ns به ترتیب نشان دهنده معنی داری در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪ وعدم اختلاف معنی‌دار می‌باشد

میزان کلروفیل b: نتایج حاصل از تجزیه واریانس تأثیر غلظت‌های مختلف کیتوسان بر روی شاخص میزان کلروفیل b در دو گونه سوسن نشان داد که تأثیر اثرات اصلی و اثر متقابل کیتوسان و رقم بر این شاخص در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود (جدول ۲). بر اساس مقایسه میانگین اثر متقابل غلظت‌های مختلف کیتوسان و گونه بر شاخص میزان کلروفیل b مشخص شد که بیشترین میزان کلروفیل b در هر دو گونه در غلظت ۲۰۰ پی‌پی‌ام مشاهده شد هر چند در گونه دندیه کمی بیشتر از گونه چلچراغ بود ولی با هم اختلاف معنی‌داری نداشتند. کمترین میزان کلروفیل b نیز در هر دو گونه در غلظت ۰ پی‌پی‌ام (تیمار شاهد) بدست آمد (نمودار ۱۰).

میزان کلروفیل کل: نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تأثیر غلظت‌های مختلف کیتوسان، تأثیر گونه و نیز اثر متقابل کیتوسان و گونه بر میزان کلروفیل کل در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود (جدول ۲).

DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.2.9.5
مقاله پژوهشی

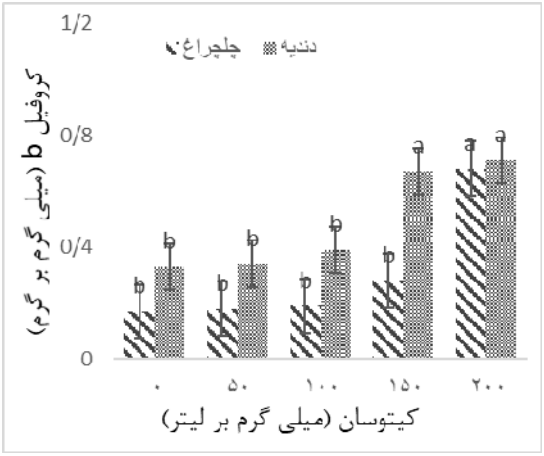


نمودار ۹- اثر متقابل کیتوسان و گونه بر میزان کلروفیلa

مقایسه میانگین داده‌ها نیز نشان داد بیشترین میزان کلروفیل در گونه دندیه با غلظت ۲۰۰ پی‌پی‌ام حاصل شد. کمترین میزان کلروفیل نیز از گونه چلچراغ با غلظت ۰ پی‌پی‌ام (شاهد) حاصل گردید (نمودار ۱۱).

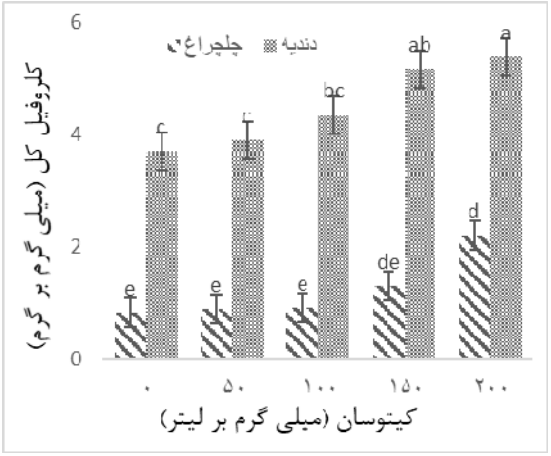
بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف کیتوسان بر متابولیت-های ثانویه دو گونه گل سوسن

میزان فنل کل: نتایج تجزیه واریانس تأثیر غلظت‌های

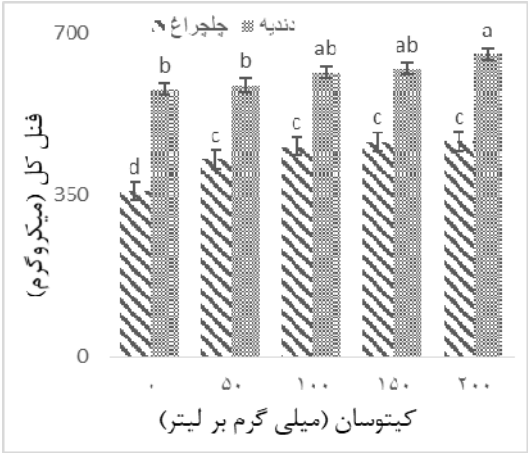


نمودار ۱۰- اثر متقابل کیتوسان و گونه بر میزان کلروفیلb

مختلف کیتوسان بر میزان فنل کل در دو گونه سوسن نشان داد که اثر متقابل کیتوسان و گونه و همچنین اثرات اصلی بر این شاخص در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود (جدول ۲). مقایسه میانگین اثر متقابل غلظت‌های مختلف کیتوسان و گونه بر شاخص فنل کل نیز نشان داد که بیشترین و کمترین میزان فنل کل در هر دو گونه به ترتیب از غلظت ۲۰۰ و ۰ پی‌پی‌ام کیتوسان حاصل شد (نمودار ۱۲).



نمودار ۱۱- اثر متقابل کیتوسان و گونه بر میزان کلروفیل کل

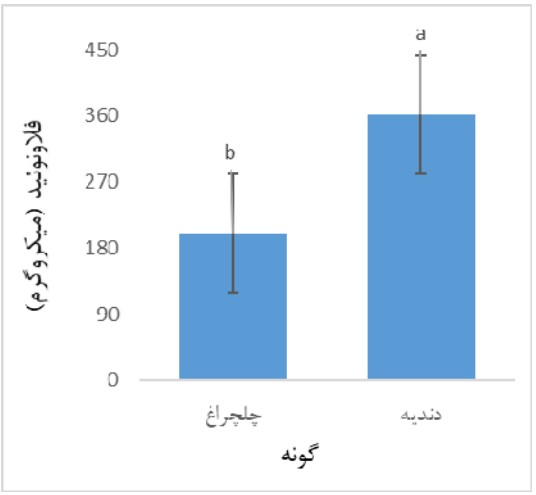


نمودار ۱۲- اثر متقابل کیتوسان و گونه بر میزان فنل کل

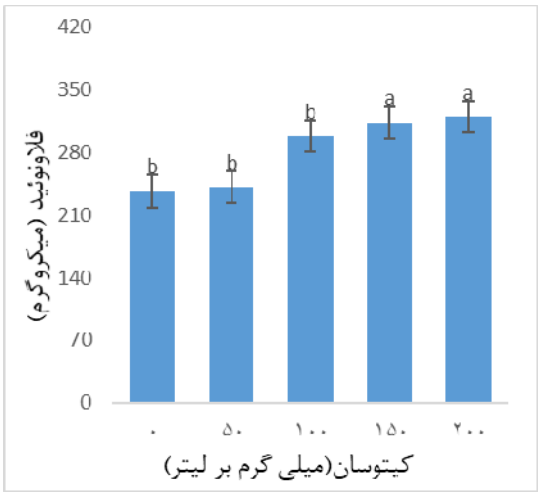
میزان فلاونوئید کل: با توجه به نتایج به دست آمده از تجزیه واریانس داده‌ها اثرات متقابل گونه و کیتوسان تفاوت معنی‌داری با هم نداشت اما اثرات اصلی آن در سطح احتمال ۵٪ معنی دار بود (جدول ۲) در مقایسه میانگین بین گونه‌های مختلف بیشترین فلاونوئید در گونه دندیه مشاهده شد که با گونه چلچراغ تفاوت معنی‌داری

DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.2.9.5
مقاله پژوهشی

داشت (نمودار ۱۳) بین غلظت‌های مختلف کیتوسان غلظت ۲۰۰ پی‌پی‌ام بهترین تأثیر را بر روی میزان فلاوئید نشان داد و کمترین تأثیر مربوط به غلظت ۰و بدنبال آن ۵۰ پی‌پی‌ام بود (نمودار ۱۴).



نمودار ۱۳- تأثیر گونه بر میزان فلاونوئید کل



نمودار ۱۴- تأثیر غلظت‌های مختلف کیتوسان بر میزان فلاونوئید کل

بحث

نتایج نشان داد که بیشترین تأثیر در میزان این شاخص‌ها مربوط به تیمار کیتوسان با غلظت ۲۰۰ پی‌پی‌ام می‌باشد. مکانیزم عمل کیتوسان بر افزایش رشد گیاهان ناشناخته باقی مانده است ولی به نظر می‌رسد که مصرف کیتوسان با تحریک رشد گیاهچه و در نتیجه افزایش جذب آب و مواد غذایی و انتقال بهتر مواد در اندام گیاهی منجر به افزایش وزن‌تر گیاه می‌گردد (۱۲). نتایج حاصل از پژوهشهای زیر یافته‌های پژوهش حاضر را تایید مینماید سینگلا و گاری (۳۵) نشان دادند که با کاربرد غلظت‌های مختلف کیتوسان در گیاه لوبیا وزن‌تر و خشک ریشه و ساقه افزایش دهد. که با نتایج آزمایش حاضر مطابقت دارد. در تحقیقاتی مشابه که بر روی گیاه توت فرنگی و برنج انجام شد تیمار کیتوسان باعث افزایش وزن تر و خشک برگ شد (۳۳). به نظر می‌رسد که مصرف کیتوسان با تحریک رشد گیاهچه و در نتیجه افزایش جذب آب و مواد غذایی و انتقال بهتر مواد در اندام گیاهی منجر به افزایش وزن‌تر گیاه، افزایش تعداد غده‌های تولید شده و نیز افزایش تعداد شاخه می‌گردد (۳۲).

با توجه به نتایج به دست آمده از تجزیه واریانس داده‌ها بیشترین ارتفاع گیاهچه در گونه دندیه و در غلظت ۱۵۰ پی‌پی‌ام بدست آمد. نتایج مشابهی توسط سید شریفی (۴) گزارش شده است که ارتفاع گیاهچه در غلظت‌های مختلف کیتوسان نسبت به تیمار شاهد در گیاه گلرنگ افزایش نشان داده است. گوان و همکاران (۱۷) در آزمایشی که بر روی ذرت انجام دادند به این نتیجه رسیدند که کیتوسان در رشد، ارتفاع و عملکرد گیاهان و همچنین در فیزیولوژی و متابولیسم گیاهان مختلف اثرات بسیار مثبتی دارد. بهبود رشد ممکن است نتیجه افزایش تقسیم سلولی در مریستم انتهایی باشد.

در پژوهشی دیگر کیتوسان با افزایش تعداد و طول ریشه‌ها باعث بهبود ریشه‌زایی قلمه‌های انگور تولیدی شده است (۱۶و ۵). نورافکن (۹) نشان داد که با افزایش غلظت مصرف کیتوسان، تعداد ریشه ریزنمونه‌های به لیمو افزایش یافته است. نو و همکاران نیز (۳۰) در آزمایشی روی گیاه ارکیده اثر شدید کیتوسان بر رشد و توسعه ریشه گیاه را گزارش نموده‌اند. که با نتایج آزمایش حاضر مطابقت دارد. از آنجایی که افزایش در طول ریشه سبب افزایش در

DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.2.9.5
مقاله پژوهشی

جذب آب و مواد غذایی می‌شود، به نظر می‌آید با مصرف این ماده در شرایط درون شیشه‌ای، گیاهان تیمار شده با افزایش طول ریشه توانستند مقدار زیادی مواد غذایی را از محیط جذب کرده و رشد خود را افزایش دهند (۶). کاربرد کیتوسان در مطالعات کشت بافتی در دهه‌های أخیر برای افزایش باززایی گیاهان رو به فزونی است (۱۱) در این تحقیق باززایی ریزنمونه‌های کشت شده در محیط حاوی تیمارهای کیتوسان با افزایش غلظت کیتوسان افزایش یافته است (شکل۱). بر همین اساس نور افکن (۹) در پژوهشی نشان داد مصرف کیتوسان موجب افزایش درصد باززایی ریزنمونه‌های به لیمو شده است. ایت بارکا و همکاران (۱۰) گزارش کردند کیتوسان در کشت بافت انگور رشد و نمو و درصد باززایی نمونه‌ها را تحریک نمود که با نتایج آزمایش حاضر مطابقت دارد. به طور کلی نتایج مطالعات نشان می‌دهد کیتوسان باعث افزایش رشد، توسعه سلولی و در نتیجه افزایش عملکرد در گیاه می‌شود (۳۷) کیتوسان با استفاده از افزایش فعالیت آنزیم‌های کلیدی در متابولیسم نیتروژن (نیترات ردوکتاز، گلوتامین و پروتئاز سنتاز) و بهبود انتقال نیتروژن باعث توسعه و رشد می‌شود (۲۸).

به طور کلی در پژوهش حاضر با افزایش غلظت کیتوسان تعداد پیازچه در گونه چلچراغ افزایش یافت، شایان ذکر است که افزایش تحریک کنندگی کیتوسان بر صفات مورفولوژیکی گیاهان توسط محققان بسیاری به اثبات رسیده است (۲۸). تأثیر مثبت کیتوسان بر تعداد پیازچه و رشد و عملکرد گیاهان توسط ملک‌پور و همکاران (۲۴) و همچنین باززایی درون شیشه‌ای برخی از گیاهان از قبیل انگور (۵) به اثبات رسیده است.

تأثیر غلظت‌های مختلف کیتوسان بر مقدار کلروفیل a و b نیز مثبت بود به نظر می‌رسد که کیتوسان در افزایش کلروفیل و فتوسنتز نقش دارد و علاوه بر این، ثابت شده است که کیتوسان بیان ژن ycf2 (شماره مسلسل DQ268736) کلروپلاست برگ را تحت تأثیر قرار میدهد. به طوری که تغییرات در اندازه کلروپلاست ممکن است عامل تحریک کننده رشد گیاهان باشد (۲۲). مهدوی و همکاران (۸) دریافتند که مصرف کیتوسان سبب افزایش قابل ملاحظه مقدار کلروفیل a و b نسبت به شاهد در گیاه گلرنگ شد. احتمالاً مصرف کیتوسان با تأثیر بر ژن‌های مسئول سازنده کلروفیل تولید کلروفیل را زیاد نموده است (۲۴). آزمایش دیگر روی باقلا نشان می‌دهد که مصرف کیتوسان باعث افزایش کلروفیل a و b وکل در باقلا می‌شود که با نتایج این آزمایش مطابقت دارد (۳۳). در تحقیقی دیگر نیز مشخص شد که کاربرد کیتوسان موجب افزایش میزان کلروفیل برگ قهوه شده است (۳۲). با توجه به وجود عنصر نیتروژن در محرک کیتوسان و نقش ساختاری این عنصر در حلقه‌های تتراپیرولی کلروفیل، چنین افزایشی توجیه پذیر می‌باشد (۲۴).

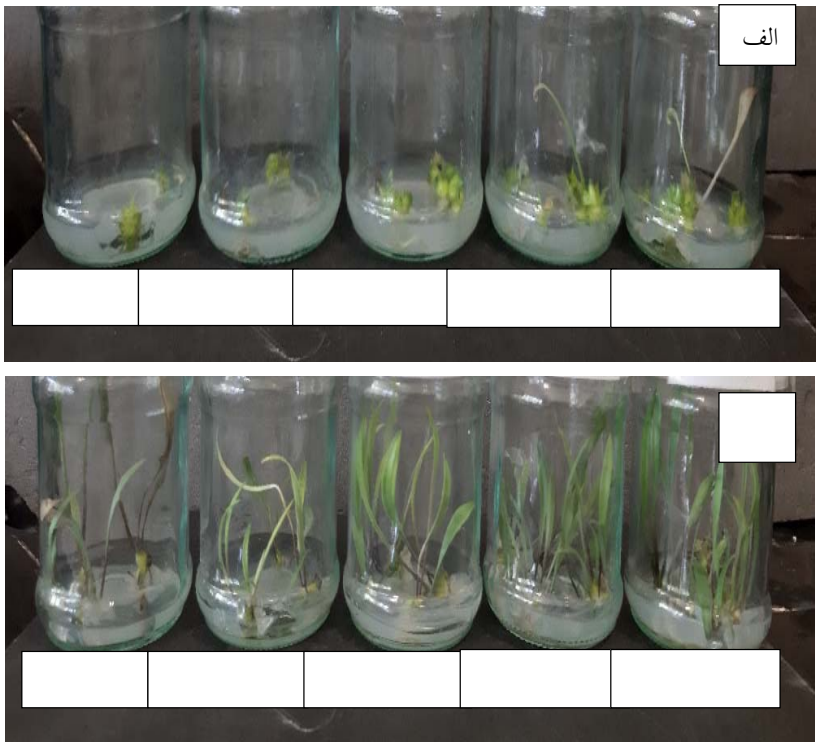
تأثیر غلظت‌های مختلف کیتوسان بر میزان فنل کل در گیاهان تیمار شده نسبت به شاهد مثبت بوده است. کیتوسان به عنوان یک الیسیتور زیستی باعث افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه بسیاری از گیاهان در شرایط درون شیشه‌ای شده است (۱). ترکیبات فنلی مهارکننده قوی برای تنش اکسایشی هستند و در همکاری با پراکسیدازها در جمع آوری یا حذف پراکسیدهیدروژن شرکت می‌کنند (۲۰). گیاهان ترکیبات فنلی را در پاسخ به برخی ترکیبات پیام‌رسان آزاد می‌سازند که نقش دفاعی مهمی در برابر الیسیتورها دارند (۲۵). همچنین مطالعات اخیر نشان داده است که کیتوسان نیز به عنوان الیسیتور زیستی ممکن است دارای پتانسیل برای از بین بردن رادیکال آزاد باشد که باعث افزایش میزان ترکیبات فنلی می‌شود. میچالاک (۲۷) در پژوهشی که روی گیاه زنیان انجام داد نشان داد که کیتوسان میزان ترکیبات فنلی را نسبت به شاهد افزایش داد. همچنین طبق تحقیقات انجام شده، لیو وهمکاران (۲۳) دریافتند تیمار کیتوسان باعث افزایش فعالیت ترکیبات فنلی در گیاه گوجه فرنگی می‌شود. در پژوهش دیگر پالیدا و همکاران (۳۱) مشخص کردند که کاربرد کیتوسان در گیاه

DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.2.9.5
مقاله پژوهشی

چای سبب افزایش قابل توجه در محتوای فنل گیاه نسبت به تیمار شاهد شد. به طور کلی الیسیتورها با تحریک سیگنالهای سلولی و برهمکنش مولکولی میان گیرنده‌های گیاهی در سطح غشای سلولی موجب شناسایی آنها می-شوند. در نتیجه سیگنال دریافتی توسط سلول‌های گیاهی، بیان ژن‌های مرتبط در مسیر را تحریک می‌کنند و موجب سنتز متابولیت‌های ثانوی در گیاهان می‌شوند (۴۲). موارد مختلفی از جمله منبع الیسیتور، اختصاصی بودن آن، غلظت الیسیتور، مرحله رشدی گیاه، زمان افزودن الیسیتور و مدت زمانی که گیاه در معرض الیسیتور قرار می‌گیرد؛ بر افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه تأثیر می‌گذارد (۳۹). کاکرو و همکاران (۱۳) گزارش کردند که کاربرد کیتوسان محتوی فلاونوئیدها را در گیاه گوجه فرنگی افزایش داده است. در پژوهش دیگر اسمعیل زاده و شریفی (۱) مشخص کردند که کیتوسان در کشت سلول کتان سفید سبب افزایش قابل توجهی در محتوای فلاونوئید شد.

نتیجه‌گیری کلی

با توجه به نتایج بدست آمده از این پژوهش مشخص شد که استفاده از کیتوسان در محیط کشت به‌عنوان محرک برای بهبود باززایی می‌تواند کمک مهمی در تکثیر و تولید پیازچه‌های درون شیشه‌ای گل سوسن داشته باشد. به‌طور کلی نتایج نشان داد که غلظت ۲۰۰ پی‌پی‌ام بر باززایی و متابولیت‌های ثانویه سوسن نسبت به سایر تیمارها تأثیر مثبت‌تری داشته است و غلظت بالای کیتوسان یک روند کلی برای رشد مناسب گیاه است (شکل ۳ الف و ب). تغییر فرآیند رشد به موازات تغییر غلظت‌های مختلف کیتوسان مربوط به توانایی گونه‌های مختلف گل سوسن در جذب کیتوسان می‌باشد و امید آن می‌رود که با استفاده از این مواد بتوان میزان تولید پیازچه‌های درون شیشه‌ای این گیاه را افزایش داد و با آزمایشات بیشتر این ماده را در سایر گیاهان نیز استفاده نمود.



شکل ۳- تأثیر غلظت‌های مختلف کیتوسان بر رشد الف) گونه سوسن چلچراغ و ب) گونه سوسن دندیه

DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.2.9.5
مقاله پژوهشی

سپاسگزاری

این پژوهش با حمایت مالی دانشکده کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی انجام گرفت که جا دارد از مسئولان محترم این دانشگاه در انجام این پایان نامه تقدیر و تشکر نماییم.

منابع

۱. اسمعیل زاده بهابادی، ص. شریفی، م. ۱۳۹۲، افزایش تولید متابولیت های ثانوی گیاهی با استفاده از الیسیتورهای زیستی. مجله سلول و بافت. ۱۲۸– ۱۱۹.

۲. جامی، س. اسمعیل‌زاده بهابادی، ص. مدرس، م. ۱۳۹۷، تأثیر کیتوسان بر ریزازدیادی، محتوی متابولیت‌های ثانویه و فعالیت آنتی اکسیدانی گیاه نوروزک (*Selvia lerifolia* Benth). مجله پژوهش‌های گیاهی (مجله زیست شناسی ایران). ۳۱(۳): ۵۶۸–۵۷۸.

۳. خوشخوی، م. ۱۳۹۳، اصول نوین باغبانی. چاپ سوم، شیراز. انتشارات دانشگاه شیراز، ۶۳۸.

٤. سید شریفی، ر. ۱۳۸۷، بررسی اثر PEG بر جوانه‌زنی و رشد ارقام گیاهچه‌گلرنگ. مجله زیست شناسی ایران، ۲۱ (۳). ۴۰۰۱–۴۰۰.

٥. صادق پور، ص. ناصری، ل. ۱۳۹۳، تأثیر کیتوسان بر پرآوری درون شیشه‌ای انگور رقم، بی دانه. دانشکده کشاورزی ،دانشگاه ارومیه. ۱۶(۳): ۶۵۳– ۶۵۳.

٦. صبورا، ع. شکری، م. ۱۳۹۲، بررسی اثر تنظیم‌کننده‌های رشد بر جوانه‌زنی و ریزازدیادی گیاه دارویی برازمبل (*Perovskia abrotanoides*)، در شرایط *in vitro*، زیست‌شناسی گیاهی ایران، ۵ (۱۸): ۱۱۴–۹۵.

۷. مرادی،ا. حمزه، ب. مظفریان، و.ا. افشارزاده، س. ۱۳۹۶، مطالعه فلوریستیک و معرفی رویشگاه‌های بالای مرز جنگلی حوزه آبخیز لومیر. مجله پژوهش‌های گیاهی (زیست شناسی ایران). ۳۰(۳): ۶۵۶–۶۷۳.

۸. مهدوی، ب. مدرس ثانویه، ع.م. آقاعلیخانی، م. شریفی، م. علوی اصل، س.ع. ۱۳۹۳، اثر محلول پاشی کیتوسان بر رشد و خصوصیات بیوشیمیایی گلرنگ (*carthamus tinctorius L.*) در شرایط تنش کم آبی. نشریه پژوهش‌های زراعی ایران، ۲۳۶–۲۲۹.

۹. نور افکن، ح. ۱۳۹۷، تأثیر کیتوسان بر صفات فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی به لیمو (*lippie (Citriodora L.*) در شرایط درون مزرعه‌ای و درون شیشه‌ای. نشریه علمی‌پژوهشی اکوفیزیولوژی گیاهان زراعی، ۸۶–۷۳.

10. Ait-Barka, E., Eullaffroy, P., Clement, C. and Vernet, G. 2004. Chitosan improves development, and protects *Vitis vinifera* L. against *Botrytis cinerea*. Plant Cell Reports, 22: 608-614.

11. Baker, L.G., Specht, C.A., Donlin, M.J. and Lodge, J.K. 2007. Chitosan the de-acetylated form of chitin is necessary for cell wall integrity in *Cryptococcus neotormans*. Eukaryotic Cell, 6 (5): 855-867.

12. Cho, M.H., No, H.K. and Prinyawiwatkul, W. 2008. Chitosan treatments affect growth and selected quality of sunflower sprouts. Journal of Food Science, 73: 570-577.

13. Coqueiro, D.S.O., Maraschin, M. and Piero, R.M.D. 2011. Chitosan reduces bacterial spot severity and acts in phenylpropanoid metabolism in Tomato plants. Journal of Phytopathology, 159(7):488-494.

14. Dinesh, K. and Singh Alok, R. 2000. Ray biomedical applications of Chitin, and their derivatives. Journal of Macromolecular Science, Part C: Polymer Reviews, 40 (11): 69–83.

15. Dzung, N.A., Phuong, V.T. and Dzung, T.T. 2011. Research on impact of chitosan oligomers on biophysical characteristics, growth, development and drought resistance of coffee. Carbohydrate Polymer, 84:751755.

16. Gornik, K., Grzesik, M. and Romanowska Duda, B. 2008. The effect of chitosan on rooting of grapevine cutting and on subsequent plant growth under drought and temperature stress. Journal of Fruit and Ornamental Plant Research, 16: 333-343.

17. Guan, Y.J., Hu, J., Wang, X.J. and Shao, C.X. 2009. Seed priming with chitosan improves maize stress germination and seedling growth in relation to physiological changes under low temperature. Journal of Zhejiang University-Science, 10: 427-433.

کلیه حقوق مادی و معنوی آن نیز متعلق به دانشگاه محقق اردبیلی می‌باشد

18. Hasandokht, M. and Ebrahimi, R. 2006. Principle of plant tissue culture. *Marzedanesh*. Press.

19. Heng, Y., Xavier, C.F., Lars, P.C. and Kai, G. 2012. Chitosan oligosaccharides promote the content of polyphenols in Greek Oregano (*Origanum vulgare* ssp. hirtum). Journal of Agriculture Food Chemistry, 60:136-143.

20. Kovacik, J., Backor, M., Strnad, M. and Repcak, M. 2009. Salicylic acid-induced changes to growth and phenolic metabolism in *Matricaria chamomilla* plants. Plant Cell Report, 28: 135-143.

21. Kumar, S., Kanwar, J.K. and Sharma, D.R. 2015. *In vitro* propagation of *Lilium*: Review paper. Advances in Horticultural Science, 20: 181-188.

22. Limpanavech, P., Chaiyasuta, S., Vongpromek, R., Pichyangkura, R., Khunwasi, C., Chadchawan, S., Lotrakul, P., Bunjongrat, R., Chaidee, A. and Bangyeekhun, T. 2008. Chitosan effects on floral production, gene expression, and anatomical changes in the *Dendrobium* orchid. Scientia Horticulturae, 116: 65-72.

23. Liu, J., Tian, S., Meng, X. and Xu, Y. 2007. Effects of chitosan on control of postharvest diseases and physiological responses of tomato fruit. Journal of Postharvest Biology and Technology, 44 (3): 300 - 306.

24. Malekpoor, F., Salimi, A. and Ghasemi Pirbalouti, A. 2017. Effect of bioelicitor of chitosan on physiological and morphological properties in purpule basil (*Ocimum basilicum L.*) under water deficit. Journal of Plant Ecophysiology. 8(27): 56-71.

25. Mandal, S. 2010. Induction of phenolics, lignin and key defense enzymes in eggplant roots in response to elicitors. Journal of Biotechnology, 9:8038-8047.

26. Mehregan, M., Mehrafarin, A., Labbafi, M.R. and Naghdi Badi, H. 2017. Effect of different concentrations of chitosan biostimulant on biochemical and morphophysiological traits of Stevia plant (*Stevia rebaudiana* Bertoni). Institute of Medicinal Plants, 62: 169-181.

27. Michalak, A. 2006. Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress. Polish Journal of Environmental Studies, 15 (4): 523 – 530.

28. Mondal, M.A., Malek, M.A., Puteh, A.B., Ismail, M.R., Ashrafuzzaman, M. and Naher, L. 2012. Effect of foliar application of chitosan on growth and yield in okra. Australian Journal of Crop Science, 6 (5): 918-921.

29. Nge, K.L., New, N., Chandrkrachang, S. and Stevens, W.F. 2006. Chitosan as a growth stimulator in orchid tissue culture. Plant Science, 170: 1185-1190.

30. No, H.K., Park, N.Y., Lee, S.H. and Meyers, S.P. 2002. Antibacterial activity of chitosans and chitosan oligomers with different molecular weights. International Journal of Food Microbiology, 74: 65–72.

31. Palida, S., Rath, P. and Supachitra, C. 2014. Chitosan increased phenolic compound contents in Tea (*Camellia sinensis*) leaves by pre- and post-treatments. Journal of Chitin and Chitosan Science, 2 (2): 93 - 8.

32. Salachna, P. and Zawadzińska, A. 2014. Effect of chitosan on plant growth, flowering and corms yield of potted freesia. Journal of Ecological Engineering, 15(3): 97– 102.

33. Sheikha, S.A. and Al-Malki, F.M. 2011. Growth and chlorophyll responses of bean plants to chitosan applications. European Journal of Scientific Research, 50(1):124-134.

34. Shibli, R.A. and Al-Juboory, K. 2002. Comparative responses of *Nabali Olive* microshoot, callus, and suspension cell Cultures to salinity and water deficit. Plant Nutrition, 25 (1): 61-74.

35. Singla, R. and Gary, N. 2005. Influence of salinity on growth and yield attributes in chickpea cultivars. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 29: 231-235.

36. Slinkard, K. and Singleton, V.L. 1977. Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. American Journal of Enology and Viticulture, 28, 49-55.

37. Uthairatanakij, A., Teixeira da Silva, J.A. and Obsuwan, K. 2007. Chitosan for improving orchid production and quality. Orchid Science and Biotechnology, 1(1):1-5.

38. Van Tyul, J.M. and Van Holestijin, H.C.M. 1996. Liliy breading research in the Netherlands. Horticulture Science, 414: 35-45.

39. Vasconsuelo, A. and Boland, R. 2007. Molecular aspects of the early stages of elicitation of secondary metabolites in plants. Plant Science, 172: 861-875.

40. Wendelbo, P. 1977. Tulips and Irises of Iran and their relatives. Botanical Institute of Iran Tehran, Iran, 88.

DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.2.9.5
مقاله پژوهشی

41. Yuan, S.X., Liu, Ch. and Ming, J. 2016. A New Lily Cultivar Dandie. Acta Horticulturae Sinica, 10: 2065-2066.

42. Zhao, J. and Sakai, K. 2003. Multiple signaling pathways mediate fungal elicitor induced beta-thujaplicin biosynthesis in *Cupressus lusitanica* cell cultures. Journal of Experimental Botany, 4: 647-65.

The Effect of Chitosan on Regeneration and Secondary Metabolite Production of Two Species of Lily Flower

Khalafi M., Pourbeyrami Hir Y.*, Chamani E. and Maleki Lajayer H.

Dept. of Horticulture, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, I.R. of Iran.

Abstract

Lily flower with a high economical potential, is one of the most important flowers between horticultural and ornamental crops in worldwide and occupies the fourth place among flowers. In order to investigate the effects of different concentration of Chitosan (0 (control), 50, 100 and 150 and 200 mg/L) on regeneration and secondary metabolites production of two species of lily (*L. ledebourii, L. dandie*) in MS medium, an experiment was conducted based on a completely randomized design with 10 replications. The results of analysis of variance showed that chitosan significantly ($P \leq 0.01$) affected most of the morphological traits such as fresh weight, plant height, root numbers, bulblet numbers, percentage of regeneration, chlorophyll b, a and total and secondary phenol metabolites. The effects of chitosan on flavonoid was significant at 5% level. The mean comparison also revealed that the highest number and weight of bulblet in *lilium ledebourii* species was observed on MS medium containing 200 mg/l chitosan. However, the highest amount of plant height, root number, percentage of regeneration, chlorophyll a and b, total phenol and total flavonoid also was obtained in *Lilium dandie* species treated by 200 mg/l of chitosan. In conclusion, our findings highlight that the chitosan can positively affected regeneration of some lilium species.

Key words: Chitosan, Lilium, Regeneration rate, Secondary metabolites, Tissue culture.