وزارت علوم، تحقیقات و فناوری

دانشگاه بین المللی امام خمینی

IMAM KHOMEINI
INTERNATIONAL UNIVERSITY

دانشکده فنی و مهندسی

بهینه سازی کشت پینه و سوسپانسیون سلولی پروانش
(*Catharanthus roseus*)

پایان نامه جهت دریافت درجه کارشناسی ارشد
در رشته بیوتکنولوژی کشاورزی

نگارش:
راضیه محمدی

استاد راهنما:
دکتر جعفر احمدی

شهریور ماه ۱۳۸۹

وزارت علوم، تحقیقات و فناوری

دانشکده فنی و مهندسی

گروه بیوتکنولوژی کشاورزی

بهینه سازی کشت پینه و سوسپانسیون سلولی پروانش

(*Catharanthus roseus*)

پایان نامه جهت دریافت درجه کارشناسی ارشد

در رشته بیوتکنولوژی کشاورزی

نگارش:

راضیه محمدی

استاد راهنما:

دکتر جعفر احمدی

اساتید مشاور:

دکتر قاسمعلی گروسی- دکتر رامین حسینی

شهریور ماه ۱۳۸۹

بسم الله الرحمن الرحيم

تقدیم به

پدر و مادر عزیزم

آنان که راستی قامتم در شکستگی قامتشان تجلی یافت

والدینی که بودنشان تاج افتخاری است بر سرم
و نامشان دلیلی است بر بودنم

قدردانی

خدایا تو را سپاس آن گاه که مرا در دایره امکان نهادی و نقش علم را بر دفتر اندیشه ام کشیدی و چشمه سار زلال دانش را ارزانی ام داشتی تا در برهوت نادانی سیراب گر وجودم باشد. در ابتدا از اولین و بزرگترین معلمان زندگیم، پدر و مادر عزیزم که مرا به جان پروردند و امید رسیدن به افق های روشن را در دلم شکوفا ساختند از صمیم قلب تشکر می کنم. بر خود لازم می دانم از کلیه افرادی که در انجام این پایان نامه مرا یاری نمودند تشکر و قدردانی نمایم، بزرگوارانی چون:

- استاد ارجمند جناب آقای دکتر جعفر احمدی به عنوان استاد راهنما که دقت نظرشان باعث هر چه بر پار تر شدن این پایان نامه شد.
- جناب آقای دکتر قاسمعلی گروسی و جناب آقای دکتر رامین حسینی که زحمت مشاوره پایان نامه را عهده دار بودند.
- دکتر رحیم حداد و دکتر علی دلجو داورین محترم به خاطر مطالعه دقیق و اظهار نظر بی دریغشان در تصحیح مطالب پایان نامه.
- مسئول محترم آزمایشگاه کشت بافت خانم دکتر قنادنیا.
- همچنین از تمامی دوستان دانشجوی خود، خانم ها مهندس زهرا اسماعیل پور، اکرم حشمتی، طاهره رئوف زاده، نفیسه ابوفاضلی، ناهید عباسپور، مریم زر، آیدا تقی زاد، زهره جعفری و آقای مهندس اسمعیل نظامی به خاطر همراهی و همفکری صمیمانه شان.

دانشگاه بین المللی امام خمینی(ره)

معاونت آموزشی – مدیریت تحصیلات تکمیلی

IMAM KHOMEINI INTERNATIONAL UNIVERSITY

فرم تأییدیه‌ی هیأت داوران جلسه‌ی دفاع از پایان‌نامه/رساله

بدین وسیله گواهی میشود جلسه دفاعیه از پایان نامه کارشناسی ارشد خانم **راضیه محمدی** دانشجوی رشته بیوتکنولوژی گرایش کشاورزی تحت عنوان **بهینه سازی کشت پینه و سوسپانسیون سلولی در پروانش** در تاریخ ۱۳۸۹/۷/۱۰ در دانشگاه برگزار گردید و این پایان نامه با نمره ۱۹/۴۰ و درجه عالی مورد تایید هیئت داوران قرار گرفت.

ردیف	سمت	نام و نام خانوادگی	مرتبه‌ی دانشگاهی	دانشگاه یا مؤسسه	امضا
۱	استاد راهنما	دکتر جعفر احمدی	استادیار	دانشگاه بین المللی امام خمینی (ره)	
۲	استاد مشاور	دکتر قاسمعلی گروسی	استادیار	دانشگاه بین المللی امام خمینی (ره)	
۳	استاد مشاور	دکتر رامین حسینی	استادیار	دانشگاه بین المللی امام خمینی (ره)	
۴	داور خارج	دکتر علی دلجو	استادیار	دانشگاه بوعلی سینا همدان	
۵	داور داخل	دکتر رحیم حداد	استادیار	دانشگاه بین المللی امام خمینی (ره)	
۶	نماینده تحصیلات تکمیلی				

بسمه تعالی

دانشگاه بین المللی امام خمینی(ره)

معاونت آموزشی دانشگاه- مدیریت تحصیلات تکمیلی

(فرم شماره ۲۶)

تعهد نامه اصالت پایان نامه

اینجانب راضیه محمدی دانشجوی رشته بیوتکنولوژی مقطع تحصیلی کارشناسی ارشد بدین وسیله اصالت کلیه مطالب موجود در مباحث مطروحه در پایان نامه / رساله تحصیلی خود، با عنوان **بهینه سازی کشت پینه و سوسپانسیون سلولی در پروانش** را تأیید کرده، اعلام می نمایم که تمامی محتوی آن حاصل مطالعه ، پژوهش و تدوین خودم بوده و به هیچ وجه رونویسی از پایان نامه و یا هیچ اثر یا منبع دیگری، اعم از داخلی، خارجی و یا بین المللی، نبوده و تعهد می نمایم در صورت اثبات عدم اصالت آن و یا احراز عدم صحت مفاد و یا لوازم این تعهد نامه در هر مرحله از مراحل منتهی به فارغ التحصیلی و یا پس از آن و یا تحصیل در مقاطع دیگر و یا اشتغال و دانشگاه حق دارد ضمن رد پایان نامه نسبت به لغو و ابطال مدرک تحصیلی مربوطه اقدام نماید. مضافاً اینکه کلیه مسئولیت ها و پیامدهای قانونی و یا خسارت وارده از هر حیث متوجه اینجانب می باشد.

نام و نام خانوادگی دانشجو راضیه محمدی

امضاء و تاریخ

۹۷/۷/۲۰

چکیده

پروانش (*Catharanthus roseus*) گیاهی دارویی است که به دلیل تولید آلکالوییدهای فراوان از جمله وینکریستین و وینبلاستین برای درمان انواع مختلفی از سرطان ها کاربرد دارد. روش های مختلف کشت درون شیشه‌ای پروانش منابع جدیدی از جمله پینه، سوسپانسیون سلولی، گیاهچه و ریشه های تراریخت در بیوراکتورها را برای تولید متابولیت های ثانویه فراهم می‌کنند. در این پژوهش از ریزنمونه های ریشه، ساقه، برگ های درون شیشه و برون شیشه و گره در محیط MS حاوی BAP، Pic، 2,4-D ، KN و NAA کالوس تهیه شد. تیمار های هورمونی پینه زایی در قالب سه طرح جداگانه اجرا شد. ریزنمونه برگ برون شیشه به همراه ریشه به ترتیب در ترکیب هورمونی (۰/۵ میلی گرم در لیتر BAP + یک میلی گرم در لیتر 2,4-D) و (۰/۵ میلی گرم در لیتر KN + یک میلی گرم در لیتر 2,4-D) بهترین تولید پینه را نشان دادند. به منظور تشکیل سوسپانسیون سلولی از پینه های تهیه شده در بخش اول استفاده شد. برای تایید تشکیل سوسپانسیون، رشد سلول ها نسبت به تیمار شاهد اندازه گیری و از آن ها عکس تهیه شد. موثرترین ترکیب هورمونی برای افزایش حجم ایستا، تعداد، حجم فشرده و وزن خشک سلول ها در سوسپانسیون شناسایی شد. بهترین ترکیب برای بیشترین وزن خشک سلول ها یک میلی گرم در لیتر 2,4-D بود. در مرحله بعد افزایش درون شیشه ای اندام هوایی پروانش، با استفاده از ساقه های تک گره ای در محیط کشت MS حاوی BAP و NAA مورد نظر قرار گرفت. بهترین نتایج در ترکیب ۰/۵ میلی گرم در لیتر NAA + ۰/۱ میلی گرم در لیتر KN با میانگین ۱۳ عدد گیاهچه به دست آمد. سپس این گیاهچه ها در محیط ریشه زایی قرار گرفتند. در ترکیب هورمونی ۴ میلی گرم در لیتر NAA + ۰/۴ میلی گرم در لیتر IBA بالاترین میزان ریشه زایی مشاهده شد.

کلمات کلیدی: پروانش، کالوس، سوسپانسیون سلولی، ریز ازدیادی.

فهرست مطالب

عنوان صفحه

فصل اول: مقدمه

۱-۱ مقدمه ۲
۱-۲ معرفی گیاه پروانش(*Catharanthus roseus*) ۷
۱-۲-۱ خانواده خرزهره ۸
۱-۲-۲ مشخصات پروانش ۹
۱-۲-۳ نیازهای اکولوژیکی ۱۲
۱-۲-۴ مواد و عناصر غذایی مورد نیاز ۱۲
۱-۲-۵ روش کاشت ۱۲
۱-۲-۶ برداشت محصول ۱۳
۱-۲-۷ ترکیبات شیمیایی، خواص دارویی و مصارف پروانش ۱۳
۱-۳ کشت بافت ۱۴
۱-۳-۱ انواع کشت بافت ۱۵
۱-۴ کالوس ۱۷
۱-۵ سوسپانسیون سلولی ۱۸
۱-۵-۱ انواع کشت‌های سوسپانسیونی ۱۹
۱-۵-۱-۱ کشت بسته ۱۹
۱-۵-۱-۲ کشت پیوسته ۱۹
۱-۵-۱-۳ کشت نیمه پیوسته ۱۹
۱-۶ ریزازدیادی ۲۰
۱-۷ تنظیم کننده‌های رشد ۲۱

۱-۷-۱ اکسین‌ها ۲۲
۱-۷-۲ سیتوکینین‌ها ۲۲
۱-۸ ترکیبات محیط کشت ۲۳
۱-۸-۱ آب ۲۳
۱-۸-۲ ترکیب نمک ۲۳
۱-۸-۳ منبع کربن و انرژی ۲۵
۱-۸-۴ ویتامین‌ها ۲۵
۱-۸-۵ pH ۲۶
۱-۸-۶ مواد منعقدکننده ۲۶
۱-۸-۷ پتانسیل اسمزی ۲۷

فصل دوم: بررسی منابع

۲-۱ مروری بر تحقیقات انجام شده ۲۹
۲-۲ دلایل ضرورت انجام تحقیق ۳۷

فصل سوم: مواد و روش ها

۳-۱ آزمایش اول و دوم کالوس زایی ۳۹
۳-۱-۱ مواد گیاهی ۳۹
۳-۱-۲ ضد عفونی بذر ۳۹
۳-۱-۳ استریل کردن آب و وسایل ۳۹
۳-۱-۴ ریزنمونه مورد استفاده ۴۰
۳-۱-۵ تهیه هورمون های اکسینی ۴۰
۳-۱-۶ تهیه هورمون های سیتوکینینی ۴۱
۳-۱-۷ تهیه محلول مادری ریبوفلاوین، بیوتین و فولیک اسید ۴۱

۳-۱-۸ تهیه محیط کشت ۴۲
۳-۱-۹ نحوه کشت ریزنمونه ها ۴۲
۳-۱-۱۰ یادداشت برداری ۴۴
۳-۱-۱۱ تجزیه و تحلیل آماری ۴۴
۳-۲ آزمایش سوم کالوس زایی ۴۴
۳-۲-۱ ضد عفونی برگ و بذر ۴۴
۳-۲-۲ ریزنمونه مورد استفاده ۴۵
۳-۲-۳ نحوه کشت ریزنمونه ها ۴۵
۳-۲-۴ یادداشت برداری ۴۶
۳-۲-۵ تجزیه و تحلیل آماری ۴۶
۳-۳ آزمایش بهینه سازی سوسپانسیون ۴۷
۳-۳-۱ محیط کشت سوسپانسیون ۴۷
۳-۳-۲ مواد گیاهی ۴۸
۳-۳-۳ شرایط محیطی سوسپانسیون ۴۸
۳-۳-۴ تک سلول کردن توده های سلولی ۴۹
۳-۳-۵ رنگ آمیزی سلول ها ۴۹
۳-۳-۶ یادداشت برداری ۵۰
۳-۳-۷ تجزیه و تحلیل آماری ۵۰
۳-۴ آزمایش های ریز ازدیادی ۵۱
۳-۴-۱ مواد گیاهی ۵۱
۳-۴-۲ ریزنمونه مورد استفاده ۵۱
۳-۴-۳ تهیه محیط کشت ۵۱
۳-۴-۴ شرایط محیطی کشت ها ۵۴
۳-۴-۵ یادداشت برداری ۵۴
۳-۴-۶ تجزیه و تحلیل آماری ۵۴
۳-۵ آزمایش ریشه زایی ۵۵
۳-۵-۱ مواد گیاهی و کشت آن ها ۵۵
۳-۵-۲ تهیه محیط کشت ۵۵
۳-۵-۳ شرایط محیطی ریشه زایی ۵۵
۳-۵-۴ یادداشت برداری ۵۶
۳-۵-۵ تجزیه و تحلیل آماری ۵۷

فصل چهارم: نتایج و بحث

۴-۱ نتایج کالوس زایی آزمایش اول ۵۹
۴-۱-۱ تولید کالوس از ریزنمونه ریشه، ساقه و برگ ۵۹
۴-۱-۲ تجزیه واریانس صفت کالوس‌زایی ۵۹
۴-۱-۳ مقایسه میانگین ریزنمونه ها از لحاظ کالوس زایی در آزمایش اول ۶۰
۴-۱-۴ مقایسه هورمون‌ها ازلحاظ کالوس زایی در آزمایش اول ۶۱
۴-۱-۵ مقایسه میانگین ریزنمونه ها و ترکیب هورمونی از لحاظ کالوس زایی در آزمایش اول ۶۳
۴-۲ نتایج کالوس زایی آزمایش دوم ۶۶
۴-۲-۱ تولید کالوس از ریزنمونه ریشه، ساقه و برگ ۶۶
۴-۲-۲ تجزیه واریانس صفت کالوس زایی آزمایش دوم ۶۶
۴-۲-۳ مقایسه ریزنمونه ها ازلحاظ کالوس زایی در آزمایش دوم ۶۷
۴-۲-۴ مقایسه هورمون ها ازلحاظ کالوس زایی در آزمایش دوم ۶۸
۴-۳ نتایج کالوس زایی آزمایش سوم ۷۲
۴-۳-۱ تولید کالوس در آزمایش سوم ۷۲
۴-۳-۲ تجزیه واریانس صفت کالوس زایی در آزمایش سوم ۷۲
۴-۳-۳ مقایسه ریزنمونه ها از لحاظ کالوس زایی در آزمایش سوم ۷۳
۴-۳-۴ مقایسه ترکیبات هورمونی از لحاظ کالوس زایی در آزمایش سوم ۷۴
۴-۴ بهینه سازی سوسپانسیون سلولی ۷۷
۴-۴-۱ مقایسه تیمار های هورمونی در سوسپانسیون سلولی ۷۸
۴-۴-۲ صفت حجم ایستای سلول ها (SCV) ۷۸
۴-۴-۳ تعداد سلول ها ۸۰
۴-۴-۴ حجم فشرده سلول ها (PCV) ۸۲
۴-۴-۵ وزن خشک سلول ها ۸۲
۴-۴-۶ اندازه گیری ضریب رشد وزنی ۸۳
۴-۵ نتایج آزمایش های ریزازدیادی ۸۴

۴-۵-۱ آزمایش اول ریزازدیادی (KN × NAA) ۸۴
۴-۵-۲ تجزیه واریانس صفت باززایی ۸۴
۴-۵-۳ تجزیه واریانس صفت تعداد گیاهچه ۸۶
۴-۵-۴ اثر هورمون KN بر درصد باززایی ۸۷
۴-۵-۵ اثر هورمون NAA بر درصد باززایی ۸۸
۴-۵-۶ اثر هورمون KN بر تعداد گیاهچه ۹۰
۴-۵-۷ اثر هورمون NAA بر تعداد گیاهچه ۹۰
۴-۶ آزمایش دوم ریزازدیادی (NAA ×BAP) ۹۱
۴-۶-۱ تجزیه واریانس صفت درصد باززایی در آزمایش دوم ۹۱
۴-۶-۲ تجزیه واریانس صفت تعداد گیاهچه ۹۳
۴-۶-۳ اثر هورمون BAP بر درصد باززایی ۹۴
۴-۷ ریشه زایی ۹۵
۴-۷-۱ تولید ریشه از ریزنمونه ها ۹۵
۴-۷-۲ تجزیه واریانس صفت تعداد ریشه ۹۵
۴-۷-۳ تجزیه واریانس صفت طول ریشه ۹۷
۴-۷-۴ بررسی اثر هورمون NAA بر تعداد ریشه ۹۹
۴-۷-۵ بررسی اثر هورمون IBA بر تعداد ریشه ۱۰۰
۴-۷-۶ بررسی اثر هورمون NAA بر طول ریشه ۱۰۱
۴-۷-۷ بررسی اثر هورمون IBA بر تعداد ریشه ۱۰۲
جمع بندی و نتیجه گیری کلی ۱۰۴
پیشنهادات ۱۰۵
منابع ۱۰۶

فهرست جدول ها

عنوان	صفحه
جدول (۱-۱) مقدار کلی آلکالوئید در اندام های مختلف گیاه پروانش (امید بیگی،۱۳۸۴)	۱۱
جدول (۳-۱) تیمارهای هورمونی آزمایش اول کالوس زایی	۴۳
جدول (۳-۲) تیمارهای هورمونی آزمایش دوم کالوس زایی	۴۳
جدول (۳-۳) ترکیب های هورمونی آزمایش سوم کالوس زایی	۴۷
جدول (۳-۴) ترکیب هورمونی آزمایش تشکیل سوسپانسیون	۴۸
جدول(۳-۵) تیمار های هورمونی آزمایش ریزازدیادی اول	۵۲
جدول(۳-۶) تیمار های هورمونی ریزازدیادی دوم	۵۳
جدول(۳-۷) تیمار های هورمونی ریشه زایی	۵۶
جدول (۴-۱) تجزیه واریانس صفت کالوس زایی برای ریزنمونه ها و تیمارهای آزمایش اول	۶۰
جدول (۴-۲) مقایسه میانگین اثرات متقابل هورمون های 2,4-D و BAP در آزمایش اول	۶۲
جدول (۴-۳) مقایسه میانگین اثرات متقابل سه جانبه هورمون های 2,4-D و BAP و ریزنمونه ها در آزمایش اول	۶۴
جدول (۴-۴) تجزیه واریانس صفت کالوس زایی برای ریزنمونه ها و تیمارهای آزمایش دوم	۶۷
جدول (۴-۵) مقایسه میانگین اثرات متقابل هورمون های Pic و BAP درآزمایش دوم	۶۹
جدول (۴-۶) مقایسه میانگین اثرات متقابل سه جانبه هورمون هایPic و BAP و ریزنمونه ها در آزمایش دوم	۷۰
جدول (۴-۷) تجزیه واریانس صفت کالوس زایی برای ریزنمونه ها و تیمارهای آزمایش سوم	۷۳
جدول (۴-۸) مقایسه میانگین ترکیب های هورمونی آزمایش سوم از لحاظ کالوس زایی	۷۵
جدول (۴-۹) تجزیه واریانس SCV در سوسپانسیون سلولی	۷۹
جدول (۴-۱۰) تجزیه واریانس تعدادسلول ها در سوسپانسیون سلولی	۸۰
جدول (۴-۱۱) تجزیه واریانس PCV در سوسپانسیون سلولی	۸۲
جدول (۴-۱۲) تجزیه واریانس وزن خشک سلول ها در سوسپانسیون سلولی	۸۳
جدول (۴-۱۳) تجزیه واریانس درصد باززایی آزمایش اول شاخساره‌زایی	۸۵
جدول (۴-۱۴) مقایسه میانگین اثرات متقابل KN و NAA بر درصد باززایی	۸۶
جدول (۴-۱۵) تجزیه واریانس تعداد شاخساره آزمایش اول شاخساره‌زایی	۸۷
جدول (۴-۱۶) مقایسه میانگین اثرات متقابل KN و NAA بر تعداد گیاهچه	۸۹

جدول (۴-۱۷) تجزیه واریانس درصد باززایی آزمایش دوم شاخساره‌زایی ۹۲
جدول (۴-۱۸) مقایسه میانگین اثرات متقابل KN و NAA بر تعداد گیاهچه ۹۲
جدول (۴-۱۹) تجزیه واریانس تعداد شاخساره آزمایش دوم شاخساره‌زایی ۹۳
جدول (۴-۲۰) مقایسه میانگین اثرات متقابل NAA و IBA بر تعداد ریشه ۹۶
جدول (۴-۲۱) تجزیه واریانس صفت تعداد ریشه ها در آزمایش ریشه زایی ۹۷
جدول (۴-۲۲) مقایسه میانگین اثرات متقابل NAA و IBA بر طول ریشه ۹۸
جدول (۴-۲۳) تجزیه واریانس طول ریشه ها ۹۹

فهرست شکل ها

عنوان	صفحه
شکل (۱-۱) تنوع واریته های مختلف پروانش	۱۰
شکل (۴-۱) کالوس زایی در ریزنمونه های کشت شده در آزمایش اول کالوس زایی	۶۵
شکل (۴-۲) تشکیل ضعیف کالوس در سه بافت ریشه، ساقه و برگ کشت شده در آزمایش دوم	۷۱
شکل (۴-۳) تیرگی رنگ سوسپانسیون سلولی در اثر تاخیر در واکشت	۷۸
شکل (۴-۴) تنوع شکل و اندازه سلول ها در سوسپانسیون سلولی	۸۱
شکل (۴-۵) مراحل باززایی گیاهچه ها از گره در محیط درون شیشه ای	۹۵
شکل (۴-۶) نمونه هایی از گیاهچه های ریشه زا شده در محیط کشت	۹۶

فهرست نمودارها

عنوان	صفحه
نمودار (۴-۱) مقایسه درصد کالوس زایی در ریز نمونه های کشت شده در آزمایش اول کالوس زایی	۶۱
نمودار (۴-۲) مقایسه اثر هورمون BAP بر درصد کالوس زایی	۶۱
نمودار (۴-۳) مقایسه ریز نمونه ها ازلحاظ میزان کالوس زایی در آزمایش دوم	۶۸
نمودار (۴-۴) مقایسه اثر غلظت های مختلف هورمون BAP ازلحاظ کالوس زایی در آزمایش دوم	۶۹
نمودار (۴-۵) مقایسه ریز نمونه ها از لحاظ میزان تولید کالوس در آزمایش سوم	۷۴
نمودار (۴-۶) مقایسه ترکیبات هورمونی از لحاظ کالوس زایی در آزمایش سوم	۷۷
نمودار (۴-۷) مقایسه تیمار های هورمونی از لحاظ scv در آزمایش سوسپانسیون سلولی	۷۹
نمودار (۴-۸) مقایسه تیمار های هورمونی از لحاظ تعداد سلول در آزمایش سوسپانسیون سلولی	۸۱
نمودار (۴-۹) مقایسه تیمار های هورمونی از لحاظ وزن خشک در آزمایش سوسپانسیون سلولی	۸۴
نمودار (۴-۱۰) مقایسه درصد باززایی در غلظت های مختلف هورمون KN	۸۸
نمودار (۴-۱۱) مقایسه درصد باززایی در غلظت های مختلف هورمون NAA	۸۹
نمودار (۴-۱۲) مقایسه تعداد گیاهچه در غلظت های مختلف KN	۹۰
نمودار (۴-۱۳) مقایسه تعداد گیاهچه در غلظت های مختلف NAA	۹۱
نمودار (۴-۱۴) مقایسه درصد باززایی در غلظت های مختلف BAP	۹۴
نمودار.(۴-۱۵) مقایسه درصد باززایی در غلظت های مختلف NAA	۱۰۰
نمودار (۴-۱۶) مقایسه تعداد ریشه ها در غلظت های مختلف هورمون IBA	۱۰۱
نمودار (۴-۱۷) مقایسه تعداد ریشه ها در غلظت های مختلف هورمون NAA	۱۰۲
نمودار (۴-۱۸) مقایسه تعداد ریشه ها در غلظت های مختلف هورمون IBA	۱۰۳

اختصارات

2,4-D	2,4-Dichlorophenoxyacetic acid
BAP	6-Benzylaminopurine
KN	Kinetin
IBA	Indole-3-butyric acid
NAA	1-Naphthaleneacetic acid
Pic	Picloram
MS medium	Murashig and skoog medium
IAA	Indole-3-acetic acid

فصل اول

مقدمه