



دانشگاه فردوسی مشهد
دانشکده کشاورزی
گروه علوم باغبانی

پایان نامه کارشناسی ارشد

ریزازدیادی و بررسی پلی پلوئیدی در شرایط درون شیشه ای بر
روی بنفشه آفریقایی (*Saintpaulia ionantha*)

اکرم امیری

مرداد ۱۳۹۰





دانشگاه فردوسی مشهد

دانشکده کشاورزی

پایان نامه کارشناسی ارشد

ریزازدیادی و بررسی پلی پلوئیدی در شرایط درون شیشه ای بر
روی بنفشه آفریقایی (*Saintpaulia ionantha*)

اکرم امیری

استادان راهنما

دکتر محمود شور

دکتر سید حسین نعمتی

استادان مشاور

مهندس مینا تقی زاده

دکتر علی تهرانی فر

مرداد ۱۳۹۰

تعهد نامه

عنوان پایان نامه: آقاء پلی پلوئیدی در شرایط درون شیشه ای بر روی بنفشه آفریقایی و ارزیابی گیاهان پلی پلوئید

اینجانب **اکرم امیری** دانشجوی دوره کارشناسی ارشد رشته **علوم باغبانی** دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد تحت راهنمایی **جناب آقای دکتر محمود شور** و **جناب آقای دکتر سید حسین نعمتی** متعهد می شوم:

- نتایج ارائه شده در این پایان نامه حاصل مطالعات علمی و عملی اینجانب بوده، مسئولیت صحت و اصالت مطالب مندرج را به طور کامل بر عهده می گیرم.
- در خصوص استفاده از نتایج پژوهشهای محققان دیگر به مرجع مورد نظر استناد شده است.
- مطالب مندرج در این پایان نامه را اینجانب یا فرد دیگری به منظور اخذ هیچ نوع مدرک یا امتیازی تاکنون به هیچ مرجعی تسلیم نکرده است.
- کلیه حقوق معنوی این اثر به دانشگاه فردوسی مشهد تعلق دارد. مقالات مستخرج از پایان نامه، ذیل نام دانشگاه فردوسی مشهد (Ferdowsi University of Mashhad) به چاپ خواهد رسید.
- حقوق معنوی تمام افرادی که در به دست آمدن نتایج اصلی پایان نامه تاثیر گذار بوده اند در مقالات مستخرج از رساله رعایت خواهد شد.
- در خصوص استفاده از موجودات زنده یا بافتهای آنها برای انجام پایان نامه، کلیه ضوابط و اصول اخلاقی مربوطه رعایت شده است.

تاریخ

نام و امضاء دانشجو

مالکیت نتایج و حق نشر

کلیه حقوق معنوی این اثر و محصولات آن (مقالات مستخرج، برنامه های رایانه ای، نرم افزارها و تجهیزات ساخته شده) به دانشگاه فردوسی مشهد تعلق دارد و بدون اخذ اجازه کتبی از دانشگاه قابل واگذاری به شخص ثالث نیست.
استفاده از اطلاعات و نتایج این پایان نامه بدون ذکر مرجع مجاز نیست.

چکیده

بنفشه آفریقایی (*Saintpaulia ionantha*) یک گیاه زینتی مشهور با شکل و رنگ‌های متنوع است، که به عنوان یک گیاه مدل جهت مطالعات باززایی در شرایط درون شیشه‌ای مطرح می‌باشد. از طرفی به دلیل اهمیت این گیاه در صنعت تولیدات گیاهی و نیاز روز افزون به ارقام و خصوصیات جدید در گیاهان، تا کنون مطالعه چندانی برای ایجاد بنفشه آفریقایی با خصوصیات جدید با استفاده از افزایش سطح پلوئیدی در شرایط درون شیشه‌ای صورت نگرفته است. این تحقیق با هدف ریزازدیادی بنفشه آفریقایی در کوتاه‌ترین زمان ممکن و القاء پلی پلوئیدی در شرایط درون شیشه‌ای انجام گرفت. پس از بهینه سازی مراحل کشت بافت این نتیجه حاصل شد که بهترین تیمار جهت شاخساره زایی و پرآوری، محیط کشت MS با ۲ میلی گرم در لیتر BA بود. از دیگر نتایج تحقیق حاضر حذف مرحله ریشه زایی شاخساره ها در شرایط درون شیشه‌ای بود و با مقایسه هشت بستر کشت مختلف، بهترین تیمار جهت ریشه زایی شاخساره ها بستر پیت- پرلایت پودری در شرایط برون شیشه‌ای انتخاب گردید. گیاهچه های حاصل از کشت درون شیشه‌ای در دو مرحله از رشد یکی در مرحله پرآوری و دیگری در مرحله بعد یعنی انتقال به شرایط برون شیشه‌ای تحت تیمار کلشی سین قرار گرفتند. آزمایش به صورت طرح فاکتوریل با سه غلظت و سه زمان تیمار کلشی سین انجام گرفت. مطالعات مورفولوژیک و فلوسایتومتری جهت تأیید سطح پلوئیدی آن‌ها انجام پذیرفت. گیاهان تتراپلوئید از نظر صفات مورفولوژیک رویشی و زایشی و از نظر پروفیل فلوسایتومتری با نمونه‌های دیپلوئید متفاوت بودند. به طور کلی گیاهان تیمار شده در مرحله دوم به تغییرات پلی پلوئیدی پاسخ بهتری دادند. نتایج تحقیق حاضر نشان می‌دهد که می‌توان از ترکیب روش کشت بافت و القاء تتراپلوئیدی به عنوان راهبردی مناسب جهت نیل سریع به گیاهان با خصوصیات و شکل‌های جدید در شرایط درون شیشه‌ای در بنفشه آفریقایی استفاده نمود.

کلید واژه‌ها: تترا پلوئیدی، صفات مورفولوژیک، فلوسایتومتری، کشت درون شیشه‌ای، کلشی سین.

سپاس گزاری:

خداوند متعال را شاکرم که توفیق کسب علم و دانش در جوار بنده برگزیده اش حضرت علی بن موسی الرضا (ع) را به اینجانب عطا فرمود.

اینک که اجراء ارائه این پایان نامه به یاری خداوند مهربان و عنایت ویژه حضرتش به پایان رسیده، بر خود لازم می دانم از اساتید بزرگوارم جناب آقای دکتر محمود شور و جناب آقای دکتر حسین نعمتی که مسئولیت راهنمایی این پایان نامه را بر عهده گرفته اند و در تمامی مراحل تحقیق، اینجانب را مهربانانه راهنمایی های عالمانه و لطف صورانه خود قرار داده اند و از راهنمایی و مساعدت سرکار خانم مهندس مینا تقی زاده که به عنوان استاد مشاور، در طول نگارش این پایان نامه، اینجانب را یاری نمودند و با نظرات سازنده خویش، باعث غنی شدن هرچه بیشتر پژوهش حاضر گردیدند، صمیمانه تشکر و قدر دانی نمایم. همچنین از جناب آقای دکتر علی تهرانی فرد امر مشاوریه پایان نامه ام تشکر می نمایم. از اساتید محترم جناب آقای دکتر غلامحسین داوری نژاد و جناب آقای دکتر فرج الله شهریاری که قبول دعوت فرموده و داوری و مطالعه پایان نامه ام را بر عهده گرفته اند، تشکر می نمایم. همچنین از جناب آقای نوری تکلسین محترم آزمایشگاه باغبانی به خاطر مساعدت های فراوانشان بی نهایت سپاس گزارم. از دوستان و هم کلاسی های عزیزم خانم هاساجده کریم پور و مریم دولتی و آقای اسماعیل دهنقان و همه کسانی که بنده را در امر تدوین پایان نامه مورد لطف قرار دادند بی نهایت سپاس گزارم.

در نهایت نیز تا بد قدر دان هدلی ها، بیماری ها و تشویق های پدر و مادر عزیزم، همسر مهربانم و خواهر و برادران نازنینم می باشم.

تقدیم به:

پدر و مادر عزیز و بزرگوارم که همواره در پستی و بلندی‌های دوران تحصیل مرا همراه بوده‌اند و دعای خیرشان همیشه بدرقه راهم بوده است، شاید بدین وسیله ذره‌ای از محبت‌های خالصانه آنان را پاس گفته باشم

و به

همسرم که صبورانه مشکلات دوران تحصیل را با من شریک شدند و در نهایت عشق، مرا همراهی نمودند.

فهرست مطالب

عنوان	صفحه
فصل اول-مقدمه	۱
فصل دوم- بررسی منابع	۵
بخش ۱- معرفی گیاه بنفشه آفریقایی	۵
۱-۲- تاریخچه و معرفی گیاه بنفشه آفریقایی	۶
۲-۲- رده بندی گیاهی	۶
۱-۲-۲- معرفی خانواده <i>Gesneriaceae</i>	۶
۲-۲-۲- جنس بنفشه آفریقایی	۶
۳-۲- گیاه شناسی	۷
۱-۳-۲- مورفولوژی اندامهای رویشی (برگ، ساقه و ریشه)	۷
۲-۳-۲- مورفولوژی اندامهای زایشی (گل، گل آذین، میوه و بذر)	۷
۴-۲- طبقه بندی بر اساس معیارهای باغبانی	۸
۱-۴-۲- تقسیم بندی بر اساس رنگ گلبرگ	۸
۲-۴-۲- تقسیم بندی بر اساس شکل گلبرگ	۹
۳-۴-۲- تقسیم بندی بر اساس تعداد گلبرگ	۱۰
۴-۴-۲- طبقه بندی بر اساس شکل رویشی گیاه	۱۰
۵-۴-۲- طبقه بندی بر اساس اندازه (عرض) گیاه	۱۰
۶-۴-۲- تقسیم بندی بر اساس کرکهای روی برگ	۱۱
۵-۲- عوامل محیطی مؤثر بر پرورش بنفشه آفریقایی	۱۲
۱-۵-۲- درجه حرارت (دما)	۱۲
۲-۵-۲- رطوبت	۱۲
۳-۵-۲- نور	۱۳
۴-۵-۲- آبیاری	۱۳
۶-۲- روشهای مختلف تکثیر	۱۳
۱-۶-۲- تکثیر از طریق کشت بافت	۱۴
بخش ۲- کشت بافت بنفشه آفریقایی	۱۴
۷-۲- پیشینه کشت درون شیشه ای گیاهی	۱۴
۸-۲- تعاریف و اهداف کشت درون شیشه ای	۱۵
۹-۲- مشکلات خاص در محیط درون شیشه ای	۱۵
۱۰-۲- ریز ازدیادی و اهمیت تجاری آن	۱۶
۱۱-۲- کشت بافت بنفشه آفریقایی	۱۶
۱۲-۲- مراحل ریز ازدیادی بنفشه آفریقایی	۱۷
۱-۱۲-۲- گزینش و آماده سازی گیاه مادری (مرحله صفر)	۱۷
۲-۱۲-۲- استقرار (مرحله اول)	۱۷
۱-۲-۱۲-۲- گزینش ریزنمونه	۱۷
۲-۲-۱۲-۲- گندزدایی و تنظیم کننده‌های رشد گیاهی در مرحله استقرار	۱۸

۲۱ ۳-۱۲-۲- مرحله پرآوری (مرحله دوم).
۲۱ ۴-۱۲-۲- مرحله ریشه زایی (مرحله سوم)
۲۲ ۵-۱۲-۲- مرحله انتقال و سازگاری (مرحله چهارم)
۲۳ بخش ۳- پلی پلوئیدی در بنفشه آفریقایی
۲۳ ۱۳-۲- مقدمه‌ای بر اصلاح و بهبود صفات در بنفشه آفریقایی
۲۵ ۱۴-۲- مطالعات سیتوژنتیک بنفشه آفریقایی
۲۶ ۱۵-۲- دو برابر کردن کروموزوم‌ها
۲۷ ۱۶-۲- اثرات فنوتیپی پلی پلوئیدی (مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی)
۲۹ ۱۷-۲- روش‌های القاء پلی پلوئیدی
۳۰ ۱-۱۷-۲- کلشی سین
۳۱ ۱-۱-۱۷-۲- روش‌های مختلف مصرف کلشی سین
۳۱ ۲-۱۷-۲- اوریزالین
۳۲ ۳-۱۷-۲- اکسید نیتروز
۳۲ ۴-۱۷-۲- پودوفیلین
۳۲ ۵-۱۷-۲- تری فلورالین
۳۲ ۶-۱۷-۲- آمیپرو فوس متیل
۳۳ ۱۸-۲- راه‌های شناسایی پلی پلوئیدی
۳۳ ۱-۱۸-۲- شمارش تعداد کلروپلاست سلول‌های نگهبان روزنه برگ
۳۳ ۲-۱۸-۲- اندازه گیری طول و عرض سلول‌های نگهبان روزنه برگ
۳۳ ۳-۱۸-۲- استفاده از صفات ظاهری گیاه
۳۳ ۴-۱۸-۲- فلوسایتومتری
۳۷ فصل سوم- مواد و روش‌ها
۳۷ بخش اول- بررسی ریز ازدیادی بنفشه آفریقایی
۳۷ ۱-۳- تهیه نمونه‌های گیاهی
۳۸ ۲-۳- محیط کشت
۳۸ ۱-۲-۳- تهیه محلول‌های پایه نمک‌های معدنی
۳۹ ۲-۲-۳- تهیه محیط کشت
۴۰ ۳-۳- انتخاب و گندزدایی ریزنمونه‌ها
۴۰ ۴-۳- آزمایش اول: پیش تیمارهای گندزدایی ریزنمونه‌ها
۴۰ ۱-۴-۳- کشت ریزنمونه‌ها
۴۱ ۵-۳- آزمایش دوم: تیمارهای ترکیبات تنظیم کننده رشد در مرحله استقرار
۴۱ ۱-۵-۳- شرایط نگهداری ریزنمونه‌ها
۴۱ ۶-۳- آزمایش سوم: پرآوری
۴۱ ۷-۳- آزمایش چهارم: ریشه زایی
۴۲ ۸-۳- سازگاری با شرایط برون شیشه‌ای
۴۲ ۱-۸-۳- بستر کشت شاخساره های ریشه دار شده و شرایط دمایی
۴۳ ۲-۸-۳- تغذیه گیاهچه های ریشه دار شده در طول سازگاری
۴۳ بخش دوم- بررسی بروز پلی پلوئیدی در بنفشه آفریقایی
۴۳ ۹-۳- تهیه محلول پایه کلشی سین

۴۴	۱۰-۳- اعمال تیمار کلشی سین در روش درون شیشه‌ای (مرحله پرآوری).....
۴۵	۱۱-۳- اعمال تیمار کلشی سین در روش برون شیشه‌ای (مرحله انتقال).....
۴۵	۱۲-۳- صفات مورد ارزیابی.....
۴۶	۱۳-۳- مقایسات میکروسکوپیک.....
۴۷	۱۴-۳- آزمایشات فلوسایتومتری.....
۴۷	۱۵-۳- تجزیه و تحلیل‌های آماری.....
۴۹	فصل چهارم - نتایج و بحث
۴۹	بخش اول - ریز ازدیادی بنفشه آفریقایی.....
۴۹	۱-۴- آزمایش اول: گندزدایی ریزنمونه ها.....
۵۰	۲-۴- آزمایش دوم: باززایی ریزنمونه ها.....
۵۱	۳-۴- اثر تنظیم کننده های رشد بر باززایی ریزنمونه های بنفشه آفریقایی.....
۵۱	۱-۳-۴- بررسی برهمکنش BA و NAA بر باززایی ریزنمونه های بنفشه آفریقایی.....
۵۲	۱-۱-۳-۴- بررسی اثر برهمکنش BA و NAA بر درصد شاخساره زایی.....
۵۲	۲-۱-۳-۴- بررسی اثر برهمکنش BA و NAA بر درصد نکروزه.....
۵۳	۳-۱-۳-۴- بررسی اثر برهمکنش BA و NAA بر درصد ریشه زایی.....
۵۵	۴-۴- آزمایش سوم: پرآوری.....
۵۷	۵-۴- آزمایش چهارم: ریشه زایی.....
۵۸	۱-۵-۴- بررسی اثر بسترهای مختلف کشت بر طول ریشه در مرحله ریشه زایی.....
۵۹	۲-۵-۴- بررسی اثر بسترهای مختلف کشت بر تعداد برگ در مرحله ریشه زایی.....
۵۹	۳-۵-۴- بررسی اثر بسترهای مختلف کشت بر درصد گیاهچه های از بین رفته در مرحله ریشه زایی.....
۵۹	۴-۵-۴- بررسی اثر بسترهای مختلف کشت بر فاصله آبیاری در مرحله ریشه زایی.....
۶۲	۶-۴- سازگاری.....
۶۲	بخش دوم- بروز پلی پلوئیدی در بنفشه آفریقایی.....
۶۳	۷-۴- بقاء و رشد گیاهان تیمار شده با کلشی سین.....
۶۳	۱-۴-۷- اثر کلشی سین در گیاهان تیمار شده در شرایط درون شیشه‌ای.....
۶۴	۲-۴-۷- اثر کلشی سین در گیاهان تیمار شده در شرایط برون شیشه‌ای.....
۶۴	۳-۴-۷- مقایسه درصد زنده مانی در روش درون شیشه‌ای و برون شیشه‌ای.....
۶۶	۸-۴- مقایسات مورفولوژیک صفات رویشی بنفشه آفریقایی.....
۶۶	۱-۸-۴- مقایسات مورفولوژیک صفات رویشی در شرایط درون شیشه‌ای.....
۶۶	۱-۱-۸-۴- بررسی اثر تیمار کلشی سین بر تعداد برگ در شرایط درون شیشه‌ای.....
۶۷	۲-۱-۸-۴- بررسی اثر تیمار کلشی سین بر طول دم‌برگ در شرایط درون شیشه‌ای.....
۶۷	۳-۱-۸-۴- بررسی اثر تیمار کلشی سین بر طول و عرض برگ در شرایط درون شیشه‌ای.....
۶۷	۴-۱-۸-۴- بررسی اثر تیمار کلشی سین بر قطر دم‌برگ در شرایط درون شیشه‌ای.....
۶۸	۶-۱-۸-۴- بررسی اثر تیمار کلشی سین بر رنگ برگ در شرایط درون شیشه‌ای.....
۶۸	۷-۱-۸-۴- بررسی اثر تیمار کلشی سین بر رنگ رگ‌برگ در شرایط درون شیشه‌ای.....
۶۹	۸-۱-۸-۴- بررسی اثر تیمار کلشی سین بر نوک برگ در شرایط درون شیشه‌ای.....
۷۰	۹-۱-۸-۴- بررسی اثر تیمار کلشی سین بر حاشیه برگ در شرایط درون شیشه‌ای.....
۷۰	۱۰-۱-۸-۴- بررسی اثر تیمار کلشی سین بر تراکم کرک‌ها در شرایط درون شیشه‌ای.....
۷۱	۲-۸-۴- مقایسات مورفولوژیک صفات رویشی در شرایط برون شیشه‌ای.....

۷۲	۱-۲-۸-۴- بررسی اثر تیمار کلشی سین بر تعداد برگ در شرایط برون شیشه‌ای
۷۲	۲-۲-۸-۴- بررسی اثر تیمار کلشی سین بر طول دم‌برگ در شرایط برون شیشه‌ای
۷۳	۳-۲-۸-۴- بررسی اثر تیمار کلشی سین بر طول و عرض برگ در شرایط برون شیشه‌ای
۷۳	۴-۲-۸-۴- بررسی اثر تیمار کلشی سین بر ضخامت برگ در شرایط برون شیشه‌ای
۷۴	۵-۲-۸-۴- بررسی اثر تیمار کلشی سین بر رنگ برگ در شرایط برون شیشه‌ای
۷۵	۶-۲-۸-۴- بررسی اثر تیمار کلشی سین بر نوک برگ در شرایط برون شیشه‌ای
۷۵	۷-۲-۸-۴- بررسی اثر تیمار کلشی سین بر حاشیه برگ در شرایط برون شیشه‌ای
۷۵	۸-۲-۸-۴- بررسی اثر تیمار کلشی سین بر تراکم کرک برگ در شرایط برون شیشه‌ای
۷۵	۹- مقایسات مورفولوژیک صفات زایشی (گل) بنفشه آفریقایی در اثر تیمار کلشی سین
۷۶	۱-۱-۹-۴- بررسی اثر تیمار کلشی سین بر تعداد گل در گل آذین درون شیشه‌ای
۷۶	۲-۱-۹-۴- بررسی اثر تیمار کلشی سین بر تعداد گلبرگ در شرایط درون شیشه‌ای
۷۷	۳-۱-۹-۴- بررسی اثر تیمار کلشی سین بر ارتفاع گل آذین در شرایط درون شیشه‌ای
۷۷	۴-۱-۹-۴- بررسی اثر تیمار کلشی سین بر قطر گل در شرایط درون شیشه‌ای
۷۷	۲-۹-۴- مقایسات مورفولوژیک صفات زایشی در شرایط برون شیشه‌ای
۷۸	۱-۲-۹-۴- بررسی اثر تیمار کلشی سین بر تعداد گل در هر گل آذین در شرایط برون شیشه‌ای
۷۹	۲-۲-۹-۴- بررسی اثر تیمار کلشی سین بر ارتفاع گل آذین در شرایط برون شیشه‌ای
۷۹	۳-۲-۹-۴- بررسی اثر تیمار کلشی سین بر تعداد گلبرگ در شرایط برون شیشه‌ای
۸۰	۴-۲-۹-۴- بررسی اثر تیمار کلشی سین بر قطر گل در شرایط برون شیشه‌ای
۸۱	۳-۹-۴- مشاهدات موردی گل‌های تغییر یافته بنفشه آفریقایی در اثر کلشی سین
۸۷	۱۰-۴- مقایسات میکروسکوپی
۸۹	۱۱-۴- نتایج آزمایشات فلوسایتومتری
۹۱	۱-۱۱-۴- اثر تیمار کلشی سین بر افزایش سطح پلوئیدی گیاهان تیمار شده در شرایط درون شیشه‌ای
۹۲	۲-۱۱-۴- اثر تیمار کلشی سین بر افزایش سطح پلوئیدی گیاهان تیمار ده در شرایط برون شیشه‌ای
۹۳	۳-۱۱-۴- مقایسه افزایش سطح پلوئیدی در شرایط درون شیشه‌ای و برون شیشه‌ای
۹۵	نتیجه گیری کلی و پیشنهادات
۱۰۴	منابع
۱۰۴	پیوست

فهرست شکل ها

عنوان	صفحه
شکل ۱-۲- تصاویر میکروسکوپی دانه گرده (۲۰X) (A)، پرچم (۴X) (B) و گلبرگ (۱۰X) (C).....	۸
شکل ۲-۲- تقسیم بندی گونه های بنفشه آفریقایی بر اساس کرک های روی برگ (برت، ۱۹۶۴).....	۱۱
شکل ۳-۲- تصویر میکروسکوپی کرک های سطح رو و زیرین برگ (۴X).....	۱۲
شکل ۱-۳- نمونه انتخاب شده جهت تحقیق.....	۳۷
شکل ۲-۳- مرحله انتقال گلدان ها به گلخانه.....	۴۲
شکل ۳-۳- شاخساره های پوشیده شده با پنبه های آغشته به کلسی سین در روش درون شیشه ای.....	۴۳
شکل ۴-۳- اعمال تیمار کلسی سین بر روی مریستم گیاهچه های بنفشه آفریقایی در روش برون شیشه ای.....	۴۴
شکل ۵-۳- نمونه ای از برگ گیاه مادری با رنگ برگ سبز متوسط، رگبرگ های به رنگ پهنک برگ، نوک برگ معمولی، حاشیه ساده و تراکم کرک نیز متوسط بود.....	۴۵
شکل ۱-۴- باززایی ریزنمونه های برگی بنفشه آفریقایی.....	۴۹
شکل ۲-۴- اثر سطوح BA بر میانگین تعداد شاخساره در مرحله پرآوری.....	۵۴
شکل ۳-۴- اثر سطوح BA بر میانگین تعداد شاخساره های بزرگ در مرحله پرآوری.....	۵۵
شکل ۴-۴- برگ های بنفشه آفریقایی از نظر تفاوت در شکل، رنگ، رگبرگ، نوک و حاشیه برگ در اثر تیمار کلسی سین در شرایط درون شیشه ای.....	۶۷
شکل ۵-۴- یک نمونه از تیمار ۰/۰۲ درصد ۱۸ ساعت با برگ های دارای حاشیه کنگره دار و تغییر یافته حاصل از شرایط درون شیشه ای (شکل A) در مقایسه با گیاه شاهد با برگ های لبه صاف (شکل B).....	۶۸
شکل ۶-۴- یک نمونه از گیاه بنفشه آفریقایی تیمار ۰/۰۲ درصد ۲۴ ساعت حاصل از شرایط درون شیشه ای ..	۶۹
شکل ۷-۴- نمونه گیاه ابلق بنفشه آفریقایی در اثر تیمار ۰/۱ درصد کلسی سین به مدت ۲۴ ساعت.....	۷۲
شکل ۸-۴- مقایسه گل های بنفشه آفریقایی از نظر تعداد گلبرگ.....	۷۸
شکل ۹-۴- یک گیاه حاصل از تیمار ۰/۱ درصد ۲۴ ساعت حاصل از اعمال تیمار در شرایط برون شیشه ای با گل های تغییر یافته به رنگ سفید و پرپر در مقایسه با گیاه شاهد با گل های کم پر و ارغوانی.....	۸۰
شکل ۱۰-۴- نمونه های گل های تغییر یافته بنفشه آفریقایی در اثر تیمار کلسی سین.....	۸۱
شکل ۱۱-۴- مقایسه رشد گیاهان شاهد (A) در مقایسه با گیاهان تیمار یافته (B) قبل از انتقال به گلدان بزرگ تر و پس از انتقال گیاه شاهد به گلدان بزرگ تر (گلدان بزرگ سمت چپ تصویر) (C) در کنار گیاهان تیمار یافته که رشد کمتری نسبت به شاهد داشته و هنوز به گلدان بزرگ تر منتقل نشدند.....	۸۳
شکل ۱۲-۴- مقایسه میکروسکوپی سلول های اپیدرم در نمونه های دیپلوئید (A و C) و تتراپلوئید (B و D) بنفشه آفریقایی (درشت نمایی ۲۰X و ۴۰X) تهیه شده در آزمایشگاه علوم باغبانی.....	۸۶
شکل ۱۳-۴- پیک های به دست آمده از فلوسایتومتری گیاهان، A: دیپلوئید، B: میکسوپلوئید و C: تتراپلوئید.....	۸۸
شکل ۱۴-۴- مقایسه سطوح پلوئیدی در شرایط درون شیشه ای و برون شیشه ای.....	۹۲

فهرست جداول

صفحه	عنوان
۱۹	جدول ۱-۲- مروری بر تحقیقات انجام گرفته بر کشت بافت بنفشه آفریقایی
۲۵	جدول ۲-۲- خلاصه‌ای از تاریخچه مهم‌ترین موفقیت‌های به دست آمده در راستای اصلاح گیاه بنفشه آفریقایی (تامز، ۲۰۰۲).
۵۰	جدول ۱-۴- نتایج حاصل از تجزیه واریانس صفات مرتبط با باززایی تحت تأثیر هورمون‌های NAA و BA در بنفشه آفریقایی
۵۲	جدول ۲-۴- مقایسه میانگین اثر برهمکنش بنزیل آدنین (BA) و نفتالین اسید استیک (NAA) بر درصد شاخساره زایی، نکروزه و ریشه زایی در کشت درون شیشه‌ای بنفشه آفریقایی
۵۴	جدول ۳-۴- نتایج حاصل از تجزیه واریانس اثر BA بر تعداد شاخساره
۵۴	جدول ۴-۴- نتایج حاصل از تجزیه واریانس اثر BA بر تعداد شاخساره های بزرگ
۵۶	جدول ۵-۴- نتایج حاصل از تجزیه واریانس صفات مرتبط با ریشه زایی در شرایط برون شیشه‌ای و درون شیشه‌ای
۵۶	جدول ۶-۴- نتایج حاصل از تجزیه واریانس اثر ۸ بستر مختلف کشت ریشه زایی بر فاصله آبیاری در شرایط برون شیشه‌ای
۵۸	جدول ۷-۴- مقایسه میانگین صفت‌های اندازه گیری شده در محیط‌های کشت مختلف ریشه زایی ۳ هفته پس از کشت گیاهچه های باززایی شده بنفشه آفریقایی
۶۱	جدول ۸-۴- اثر تیمارهای کلشی سین بر درصد زنده مانی در شرایط درون شیشه‌ای
۶۲	جدول ۹-۴- اثر تیمارهای کلشی سین بر درصد زنده مانی در شرایط برون شیشه‌ای
۶۴	جدول ۱۰-۴- نتایج حاصل از تجزیه واریانس صفات رویشی بنفشه آفریقایی تحت تیمار کلشی سین در شرایط درون شیشه‌ای
۶۶	جدول ۱۱-۴- مقایسه میانگین اثر غلظت ۰/۰۲ درصد کلشی سین در تیمارهای زمانی ۱۸، ۲۴ و ۴۸ ساعت بر صفات رویشی در شرایط درون شیشه‌ای
۷۰	جدول ۱۲-۴- نتایج حاصل از تجزیه واریانس صفات مرتبط با مقایسات مورفولوژیک صفات رویشی بنفشه آفریقایی در شرایط برون شیشه‌ای
۷۱	جدول ۱۳-۴- مقایسه میانگین اثر غلظت‌های مختلف کلشی سین بر صفات رویشی در شرایط برون شیشه‌ای
۷۳	جدول ۱۴-۴- نتایج حاصل از تجزیه واریانس صفات مرتبط با مقایسات مورفولوژیک صفات زایشی بنفشه آفریقایی در شرایط درون شیشه‌ای
۷۵	جدول ۱۵-۴- مقایسه میانگین اثر تیمارهای زمانی کلشی سین بر صفات زایشی در شرایط درون شیشه‌ای
۷۵	جدول ۱۶-۴- نتایج حاصل از تجزیه واریانس مقایسات مورفولوژیک صفات زایشی بنفشه آفریقایی در شرایط برون شیشه‌ای
۷۸	جدول ۱۷-۴- مقایسه میانگین اثر غلظت کلشی سین در شرایط برون شیشه‌ای بر صفات زایشی
۷۹	جدول ۱۸-۴- مقایسه میانگین برهمکنش غلظت و زمان تیمار کلشی سین در شرایط برون شیشه‌ای
۸۹	جدول ۱۹-۴- درصد گیاهان دیپلوئید، میکسوپلوئید و تتراپلوئید در شرایط درون شیشه‌ای
۹۰	جدول ۲۰-۴- درصد گیاهان دیپلوئید، میکسوپلوئید و تتراپلوئید در اثر تیمار کلشی سین در شرایط برون شیشه‌ای

فهرست علائم و اختصارات

علامت	معادل انگلیسی	معادل فارسی
BA	Benzyladenine	بنزیل آدنین
DMSO	Dimethyl-sulfoxide	دی متیل سولفوکساید
2,4-D	2,4-Dichloro Phenoxy Acetic Acid	۲ و ۴ دی کلرو فنوکسی استیک اسید
GA3	Gibberellic Acid	جیبرلیک اسید
IAA	Indole-3-Acetic Acid	ایندول ۳- استیک اسید
NAA	α -Naphthalene Acetic Acid	نفتالن استیک اسید
NMU	N-nitroso-N-metylurea	نیتروزو متیل اوره
MS	Murashige-Skoog	موراشیگ و اسکوگ
mg/l	miligram/liter	میلی گرم / لیتر
TDZ	Thidiazuron	تیدیازورون

فصل اول

مقدمه

افزایش روز افزون جمعیت انسانی سبب شده است تا بشر در فکر ابداع روش‌ها و تکنیک‌هایی باشد که ضمن افزایش کمیت و کیفیت مواد غذایی و اصلاح نژاد منابع گیاهی، ذخائر ژنتیکی موجود را نیز حفظ نماید. کشت بافت از جمله تکنیک‌هایی است که به بشر قرن بیست و یکم خدمات ارزشمندی را ارائه داشته و امروزه به یکی از اساسی‌ترین روش‌ها در مهندسی ژنتیک و بیوتکنولوژی تبدیل شده است. انتقال ژن و دست ورزی های ژنتیکی در بسیاری از موارد تنها از طریق کشت بافت و تولید کالوس امکان پذیر است. امروزه کشت بافت به عنوان ابزاری قدرتمند در برنامه مهندسی ژنتیک و اصلاح نباتات کاربرد دارد (فارسی و ذوالعلی، ۱۳۸۲).

بنفشه آفریقایی با نام علمی *Saintpaulia ionantha* Wendl. رایج‌ترین جنس شناخته شده در بین گیاهان خانواده *Gesneriaceae* است. این گونه بالغ بر ۲۰۰۰۰ واریته دارد و چندین واریته جدید در سال‌های اخیر به آن اضافه شده است. گیاه بنفشه آفریقایی به خاطر توانایی بالای باززایی و دست یابی راحت و قدرت اندام زایی بالا مورد توجه بسیاری از محققین قرار گرفته است. نام بنفشه آفریقایی بر گرفته از نام *Saint paul* کاشف آن و زادگاه آن آفریقای شرقی است. اولین گیاه بنفشه آفریقایی که به رنگ بنفش بود در آفریقا و توسط Baron Walter von St.Paul کشف شد و از آن تاریخ تا کنون طیف وسیعی از این گیاه با انواع رنگ‌ها و الگوهای رشدی تولید گردیده است که بخشی از

آن نتیجه کاشت و دورگ گیری‌های متعدد از سال ۱۸۹۲ به بعد می‌باشد. ارتفاع بوته در این گیاه بین هشت تا ده سانتی متر و پهنای آن در حدود پانزده تا بیست سانتیمتر می‌باشد و برای ادامه حیات احتیاج به دمایی بین دوازده تا پانزده درجه سانتی‌گراد دارد. برگ‌ها سبز مخملی، کرک دار و روی ساقه فشرده و کوتاه قرار دارند. بنفشه آفریقایی نسبت به طول روز بی تفاوت است و به همین علت در طول سال گل می‌دهد. گل‌ها به صورت کم پر و پرپر و پرچم‌ها طلایی و به طرز زیبایی از وسط گل‌ها بیرون زده‌اند، به طوری که تناقض در رنگ پرچم‌ها و گلبرگ‌ها گل را به صورت یکی از زیباترین گیاهان مینیاتوری در آورده است. بنفشه آفریقایی را به وسیله بذر و قلمه می‌توان تکثیر نمود، ولی روشی که در سال‌های اخیر مورد توجه بسیاری از تولید کنندگان قرار گرفته روش کشت بافت است (خان و همکاران، ۲۰۰۷).

بدون شک اهمیت و ارزش اقتصادی گیاه بنفشه آفریقایی به عنوان یک گیاه گلدانی بسیار زیبا بر تولیدکنندگان تجاری این گیاه در سراسر دنیا پوشیده نیست. بر اساس آمار منتشر شده در رابطه با فروش سالیانه این گیاه طی سال ۲۰۰۱ در کشور آمریکا که چیزی نزدیک به ۱۹ میلیون دلار در سال بوده است (شجیعی و همکاران، ۱۳۸۵)، همچنین قیمت انواع ساده آن ۲ تا ۳ دلار و هر گیاه شیمیر یافته آن ۲۰ دلار و بنفشه‌های با گل‌های زرد رنگ بیشتر از ۳۵ دلار به فروش رسیده که خود گواهی بر ارزش و اهمیت اقتصادی این گیاه در صنعت باغبانی جهان می‌باشد (لو، ۱۹۹۴).

تولید گیاهانی مانند بنفشه آفریقایی که علاوه بر زیبایی بسیار زیاد گل‌های آنان به دلیل توانمندی تولید گل در طول سال مورد توجه تولیدکنندگان تجاری آن واقع شده، دارای پیشرفت چشمگیری بوده، طوری که پرورش این گونه گیاهان خود در حوزه علم باغبانی جهان به شکل صنعت در آمده است و بدون شک این گونه توجهات به سمت و سوی یک گونه گیاهی خاص بدون دلیل نبوده و بیانگر مفهوم ارزشمند بودن این گونه گیاهان در میان صدها هزار گونه گیاهی موجود در جهان می‌باشد (کسلر، ۱۹۹۹).

این گیاه زینتی به عنوان یک گیاه مدل با ارزش جهت مطالعات بازاریابی در شرایط درون شیشه‌ای مطرح می‌باشد. از مزایای استفاده از تکنیک کشت بافت در مقایسه با روش متداول قلمه در

مورد این گیاه می‌توان تکثیر انبوه ارقام مختلف، تولید گیاهانی یکنواخت و متقارن، نیاز به فضای کمتر برای تکثیر و کاهش آلودگی در محیط تکثیر را نام برد. خصوصاً این که برای تکثیر انبوه بنفشه‌های آفریقایی بافت ناهمسان استفاده از کشت بافت امری ناگزیر خواهد بود (کوک، ۱۹۷۷).

تنوع در اندازه، رنگ و شکل گل و برگ‌های این گیاه بر محبوبیت و جذابیت آن افزوده است. همچنین با گل‌دهی مداوم ارقام مختلف بنفشه آفریقایی در طول سال طیف وسیعی از رنگ‌ها مانند صورتی، سرخ آبی، سفید، آبی، بنفش کم‌رنگ، ارغوانی، زرشکی، عنابی و بنفش به صورت تک رنگ (خالص)، چند رنگ و یا سایه روشن عرضه می‌شود که خود بر ارزش کلکسیونی گیاه خواهد افزود. در حال حاضر ارقام رونده و آویز نیز جهت استفاده در سبدهای آویزان موجود می‌باشند (کسلر، ۱۹۹۹).

نمونه‌های جدید بنفشه آفریقایی که امروزه مورد توجه بسیار قرار گرفته در تمام جهان به عنوان گیاهان کم توقع، پر دوام و با برگساره جذاب شناخته می‌شوند که در تمام مدت سال گل می‌دهند (عباس پور، ۱۳۷۳).

یکی از جنبه‌های مطالعات جهانی، بر پایه ایجاد تنوع در خصوصیات گیاهان، به ویژه گیاهان زینتی استوار است. پلی پلوئید کردن گیاهان، از راه‌های ایجاد تنوع و ترکیب خصوصیات مطلوب در گیاهان به شمار می‌رود (تاکامورا و همکاران، ۲۰۰۲). در واقع پلی پلوئیدی به عنوان یکی از علل در نظر گرفته شده در تکامل گیاهان گل‌دار است (اتو و ویتون، ۲۰۰۰) که اصلاح گران از این مکانیسم برای اهلی سازی و بهبود تجاری برخی از ژنوتیپ‌ها بهره برداری می‌کنند (وانتویل و لیم، ۲۰۰۳). برای دستیابی به گیاهان پلی پلوئید می‌توان از مواد شیمیایی که از تقسیم سلول و جدا شدن کروموزوم‌ها با از بین رفتن میکروتوبول‌های دوک تقسیم جلوگیری می‌کنند و موجب دو برابر شدن محتوای ژنتیکی در هنگام تقسیمات سلولی می‌شوند، استفاده کرد (تاکامورا و همکاران، ۲۰۰۲).

نظر به موارد یاد شده در این مقدمه، با توجه به اینکه اطلاعات چندانی در ارتباط با جزئیات روش‌های تکثیر در سیستم کشت بافت در مقالات و منابع فارسی وجود ندارد و در عین حال این گیاه دارای گستره بالایی در تنوع رنگ و سایر صفات می‌باشد، توجه به این پتانسیل در کشور ما با استفاده از روش کشت بافت راهی است تا بتوانیم با معرفی بهترین و کوتاه‌ترین روش کشت بافت جهت تکثیر این

گیاه زینتی با ارزش در آینده‌ای نزدیک به تولیدکنندگان آن در جهت تولید انبوه و متنوع آن کمکی کرده باشیم.

در این پایان نامه هدف، ریز ازدیادی بنفشه آفریقایی و بررسی امکان تتراپلوئید کردن گیاهان دیپلوئید آن با قرار دادن گیاهچه در معرض ماده شیمیایی کلشی سین با دو روش درون شیشه‌ای و برون شیشه‌ای و مقایسه این دو روش و ایجاد بستری مناسب برای تحقیقات آتی در بهبود صفات زینتی این گیاه است.

بررسی منابع

بخش ۱- معرفی گیاه بنفشه آفریقایی

۱-۲- تاریخچه و معرفی گیاه بنفشه آفریقایی

بنفشه آفریقایی برای اولین بار در حدود سال ۱۸۲۹ توسط بارون والتر فون سنت پائولیا^۱ در کوه پایه‌ها و دره‌های گرم کوه‌های اوزامبارا^۲ و تپه‌های اولوگورو^۳ در آفریقای شرقی واقع در کشورهای تانزانیا، امروز دیده شد. او بذر و یا گیاه بنفشه آفریقایی را برای پدرش در آلمان فرستاد و پس از گذشت مدت کوتاهی به سرعت به عنوان یک گیاه گلدانی جدید و بسیار زیبا در چرخه تولیدات باغبانی اروپا قرار گرفت. در آن زمان هرمان وندلن رئیس باغ سلطنتی گیاه شناسی، در احترام به کاشف آن نام سنت پائولیا را به عنوان اسم جنس این گیاه انتخاب نمود و پس از آن کشت و پرورش این گیاه در ایالات متحده آمریکا آغاز گردید. به طوری که با شروع اولین دو رگ گیری‌ها در سال ۱۹۳۶ تا کنون صدها رقم با طیف وسیعی از رنگ گل، شکل برگ‌ها و اندازه گیاه به دست آمده است. بدین ترتیب دو گونه *S. ionantha* و *S. confusa* که در دو منطقه جدا از یکدیگر پیدا شده بودند، اجداد ارقام قابل دسترس امروزی دنیا محسوب می‌شوند (عباس پور، ۱۳۷۳؛ کسلر، ۱۹۹۹)

1. Baron walter von saint paul
2. Usambara
3. Uluguro