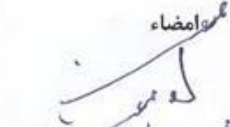
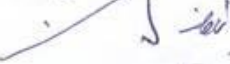





بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

تایید اعضای هیأت داوران حاضر در جلسه دفاع از پایان نامه کارشناسی ارشد

اعضای هیأت داوران نسخه‌ی نهائی پایان نامه آقای داوود کیانی تحت عنوان: اثر چند پیش تیمار بر کشت بساک در گل محمدی (*Rosa damascena*) و رز هفت‌رنگ (*Rosa hybrida*) را از نظر فرم و محتوی بررسی نموده و پذیرش آن را برای تکمیل درجه کارشناسی ارشد پیشنهاد می‌کنند.

اعضای هیأت داوران	نام و نام خانوادگی	رتبه‌ی علمی	امضاء
۱- استاد راهنما	دکتر احمد معینی	دانشیار	
۲- استاد مشاور	دکتر مریم جعفر خانی کرمانی	استادیار	
۳- نماینده شورای تحصیلات تکمیلی	دکتر حمید دهقانی	دانشیار	
۴- اساتید ناظر: ۱- داخلی	دکتر حمید دهقانی	دانشیار	
۲- خارجی	دکتر رامین حسینی	استادیار	

آیین نامه حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهشهای علمی دانشگاه تربیت مدرس

مقدمه: با عنایت به سیاست‌های پژوهشی و فناوری دانشگاه در راستای تحقق عدالت و کرامت انسانها که لازمه شکوفایی علمی و فنی است و رعایت حقوق مادی و معنوی دانشگاه و پژوهشگران، لازم است اعضای هیأت علمی، دانشجویان، دانش‌آموختگان و دیگر همکاران طرح، در مورد نتایج پژوهشهای علمی که تحت عناوین پایان‌نامه، رساله و طرحهای تحقیقاتی با هماهنگی دانشگاه انجام شده است، موارد زیر را رعایت نمایند:

ماده ۱- حق نشر و تکثیر پایان‌نامه/ رساله و درآمدهای حاصل از آنها متعلق به دانشگاه می باشد ولی حقوق معنوی پدید آورندگان محفوظ خواهد بود.

ماده ۲- انتشار مقاله یا مقالات مستخرج از پایان‌نامه/ رساله به صورت چاپ در نشریات علمی و یا ارائه در مجامع علمی باید به نام دانشگاه بوده و با تایید استاد راهنمای اصلی، یکی از اساتید راهنما، مشاور و یا دانشجوی مسئول مکاتبات مقاله باشد. ولی مسئولیت علمی مقاله مستخرج از پایان‌نامه و رساله به عهده اساتید راهنما و دانشجو می باشد.

تبصره: در مقالاتی که پس از دانش‌آموختگی بصورت ترکیبی از اطلاعات جدید و نتایج حاصل از پایان‌نامه/ رساله نیز منتشر می‌شود نیز باید نام دانشگاه درج شود.

ماده ۳- انتشار کتاب و یا نرم افزار و یا آثار ویژه حاصل از نتایج پایان‌نامه/ رساله و تمامی طرحهای تحقیقاتی کلیه واحدهای دانشگاه اعم از دانشکده ها، مراکز تحقیقاتی، پژوهشکده ها، پارک علم و فناوری و دیگر واحدها باید با مجوز کتبی صادره از معاونت پژوهشی دانشگاه و براساس آیین نامه های مصوب انجام شود.

ماده ۴- ثبت اختراع و تدوین دانش فنی و یا ارائه یافته ها در جشنواره‌های ملی، منطقه‌ای و بین‌المللی که حاصل نتایج مستخرج از پایان‌نامه/ رساله و تمامی طرحهای تحقیقاتی دانشگاه باید با هماهنگی استاد راهنما یا مجری طرح از طریق معاونت پژوهشی دانشگاه انجام گیرد.

ماده ۵- این آیین‌نامه در ۵ ماده و یک تبصره در تاریخ ۸۷/۴/۱ در شورای پژوهشی و در تاریخ ۸۷/۴/۲۳ در هیأت رئیسه دانشگاه به تایید رسید و در جلسه مورخ ۸۷/۷/۱۵ شورای دانشگاه به تصویب رسیده و از تاریخ تصویب در شورای دانشگاه لازم‌الاجرا است.

«اینجانب داوود کیانی دانشجوی رشته اصلاح نباتات ورودی سال تحصیلی ۱۳۸۷ مقطع کارشناسی ارشد دانشکده کشاورزی متعهد می شوم کلیه نکات مندرج در آیین نامه حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهش های علمی دانشگاه تربیت مدرس را در انتشار یافته های علمی مستخرج از پایان نامه / رساله تحصیلی خود رعایت نمایم. در صورت تخلف از مفاد آیین نامه فوق الاشعار به دانشگاه وکالت و نمایندگی می دهم که از طرف اینجانب نسبت به لغو امتیاز اختراع بنام بنده و یا هرگونه امتیاز دیگر و تغییر آن به نام دانشگاه اقدام نماید. ضمناً نسبت به جبران فوری ضرر و زیان حاصله براساس برآورد دانشگاه اقدام خواهم نمود و بدینوسیله حق هرگونه اعتراض را از خود سلب نمودم»

نام و نام خانوادگی

تاریخ و امضا



آئین نامه پایان نامه های دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان نامه (رساله) های تحصیلی دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس، مبین بخشی از فعالیت های علمی پژوهشی دانشگاه است. بنابراین به منظور آگاهی و رعایت حقوق دانشگاه، دانش آموختگان این دانشگاه نسبت به رعایت موارد ذیل متعهد می شوند:

ماده ۱: در صورت اقدام به چاپ پایان نامه (رساله)ی خود، مراتب را قبلاً به طور کتبی به دفتر "دفتر نشر آثار علمی" دانشگاه اطلاع دهد.

ماده ۲: در صفحه سوم کتاب (پس از برگ شناسنامه)، عبارت ذیل را چاپ کند:

" کتاب حاضر، حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد نگارنده در رشته مهندسی کشاورزی، گرایش اصلاح نباتات است که در سال ۱۳۹۰ در دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس به راهنمایی دکتر احمد معینی و مشاوره دکتر مریم جعفر خانی کرمانی از آن دفاع شده است.

ماده ۳: به منظور جبران بخشی از هزینه های انتشارات دانشگاه، تعداد یک درصد شمارگان کتاب (در هر نوبت چاپ) را به "دفتر نشر آثار علمی" دانشگاه اهداء کند. دانشگاه می تواند مازاد نیاز خود را به نفع مرکز نشر در معرض فروش قرار دهد.


ماده ۴: در صورت عدم رعایت ماده ۳، ۵۰٪ بهای شمارگان چاپ شده را به عنوان خسارت به دانشگاه تربیت مدرس، تادیه کند.

ماده ۵: دانشجو تعهد و قبول می کند در صورت خودداری از پرداخت های بهای خسارت، دانشگاه مذکور را از طریق مراجع قضایی مطالبه و وصول کند، به علاوه به دانشگاه حق می دهد به منظور استیفای حقوق خود، از طریق دادگاه، معادل وجه مذکور در ماده ۴ را از محل توقیف کتابهای عرضه شده نگارنده برای فروش، تامین نماید.

ماده ۶: اینجانب داوود کیانی دانشجوی رشته مهندسی کشاورزی گرایش اصلاح نباتات مقطع کارشناسی ارشد تعهد فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده، به آن ملتزم می شوم.

ام و نام خانوادگی

تاریخ و امضا



من لم یسکر المخلوق لم یسکر الخالق

حمد و سپاس بی پایان خداوند متعال که توفیق انجام این پژوهش را به من ارزانی داشت. بر خود لازم می‌دانم از استاد راهنمای بزرگوار و ارجمندم، جناب آقای دکتر احمد معینی و استادشاور عزیزم سرکار خانم دکتر مریم جعفر خانی کرمانی که در محضر ایشان درس محبت، انسانیت و بی‌آلایشی را آموختم و انجام این تحقیق بدون راهنمایی‌های علمی و مساعدت‌های بی‌جا به ایشان امکان پذیر نبود، کمال تشکر و قدردانی را داشته باشم.

بجینین از استاد بزرگوار جناب آقای دکتر امین حسینی جناب آقای دکتر حمید دهقانی که به عنوان داور زحمت‌نازخانی این پایان‌نامه را بر عهده داشت و نظرات ارزنده‌ای در هر چه بهتر شدن آن ارائه نموده‌اند، پاسکزاری می‌نمایم.

از کیه استاد بزرگوار کرده اصلاح نباتات و بیو تکنولوژی آقایان دکتر سید رضا قلی میرفراتی مدیر گروه محترم گروه اصلاح نباتات و بیو تکنولوژی، دکتر قاسم کریم زاده و دکتر مختار جلالی جواران که در مدت تحصیل دوره کارشناسی ارشد، زحمت فراوانی برای اینجانب کشیده‌اند و مطالب علمی و اخلاقی فراوانی از محضر آنان آموختم نیز پاسکزارم. از مسئولین محترم آزمایشگاه گروه اصلاح نباتات و بیو تکنولوژی آقایان مهندس یادکاری و مهندس ایری که در طول انجام این پایان‌نامه با اینجانب همکاری نموده‌اند تشکر می‌نمایم.

بجینین از جناب آقای دکتر حمید دهقانی به عنوان یانده تحصیلات تکلیلی تشکر می‌کنم.

از دوستان عزیزم آقایان جمید کملی، کیوان مهدوی، جواد مهدی، فرامه مهدوی، میثاق، یار اسلی غلیلی، علی جانان، محمد جدلی و امیر نصیری که در طول انجام این پایان‌نامه کمک‌های بسیاری را اینجانب نموده‌اند و بجینین از بهکلاسی‌های مهربانم و کیهی دوستان و دانشجیمان کمال تشکر و قدردانی را دارم.

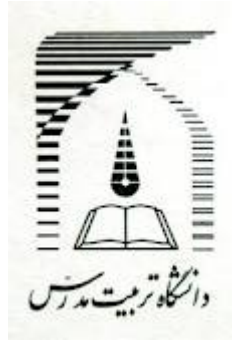
در پایان از پدید بزرگوار و مهربانم که در تمامی مدت تحصیل زحمت‌نازخانی را تحمل شده و اسباب تحصیل اینجانب را فراهم نمود، پاسکزاری می‌نمایم.

پدر و مادر خداکارم
که کوهر جوانی خویش را به پای فرزندان شان ریختند
رضایمتان همه آرزویم است

برادران و خواهر گرامیم
که همه عمر و لدا را محبت و مهربانی آمانم

و

همه آنان که بر من آموختند



دانشگاه تربیت مدرس

دانشکده کشاورزی

پایان نامه برای دریافت درجه کارشناسی ارشد

رشته مهندسی کشاورزی گرایش اصلاح نباتات

اثر پیش تیمار بر کشت بساک گل محمدی (*Rosa damascena* Mill.) و رز هفت رنگ

(*Rosa hybrida*)

نگارنده

داوود کیانی

استاد راهنما

دکتر احمد معینی

استاد مشاور

دکتر مریم جعفر خانی کرمانی

تیر ۱۳۹۰

چکیده:

رزها علاوه بر مصارف زینتی، یکی از گل‌های مهم مورد استفاده برای صنایع عطرسازی، دارویی و غذایی هستند. تقاضاهای جدیدی که در صنعت رز وجود دارد، نیاز به استفاده از روش‌ها و راهکارهای نوین در برنامه‌های اصلاحی را ضروری می‌کند. با توجه به اهمیت بالای استفاده از روش‌های هاپلوئیدی از طریق آندروژنز در اصلاح بعضی از گیاهان، متاسفانه تاکنون این روش در جنس رز موفقیت آمیز نبوده است. در این پژوهش، پاسخ دو گونه رز نسبت به کشت بساک با اعمال پیش‌تیمارهایی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد، کشت بساک‌ها هنگامی که میکروسپورها در مرحله اوایل تک‌هسته‌ای تا تک‌هسته‌ای میانی بودند، کالوس‌زایی مناسبی داشتند. اعمال مستقیم پیش‌تیمار گرمایی و پیش‌تیمار گرمایی - مانیتول باعث تنش شدید و تاثیر بر ترکیبات درون سلولی و نهایتاً مرگ سلولی شد. پیش‌تیمار سرمایی - مانیتول به مدت سه روز بالاترین درصد کالوس‌زایی را داشت. پیش‌تیمار بساک‌ها در محیط کشت $B (1.49 \text{ g l}^{-1} \text{ KCl})$ ، اختلافی را با شاهد نشان نداد، لیکن زمانی که به همراه گرما استفاده شد پاسخ‌دهی بساک‌ها را کاهش داد و اثر تخریبی کاربرد مستقیم پیش‌تیمار گرمایی را تأیید کرد. پیش‌تیمار غنچه‌ها با اسیدآبسیزیک، کالوس‌زایی بساک‌ها را افزایش داد. همچنین، به طور کلی، نتایج نشان دادند در صورتیکه چهار روز پس از کشت بساک‌ها در محیط کشت H1، پیش‌تیمارها اعمال گردند کالوس‌زایی بهبود پیدا می‌کند.

واژگان کلیدی: رز، گل محمدی، آندروژنز، کشت بساک، پیش‌تیمار، کالوس‌زایی

- ۱- مقدمه ۲
- ۲- بررسی منابع ۷
- ۱-۲- گیاه‌شناسی رُز ۷
- ۲-۲- گیاه گل محمدی ۸
- ۱-۲-۲- گیاه‌شناسی گل محمدی ۸
- ۲-۲-۲- ویژگی‌های کروموزومی گل محمدی ۹
- ۳-۲-۲- موارد استفاده و خواص دارویی گل محمدی ۹
- ۳-۳- رزهای هیبرید ۱۱
- ۴-۲- اصلاح رز ۱۱
- ۵-۲- تلاقی‌های درون گونه‌ای و بین گونه‌ای ۱۲
- ۱-۵-۲- تلاقی‌های درون گونه‌ای ۱۲
- ۲-۵-۲- تلاقی بین گونه‌ای ۱۳
- ۶-۲- گیاهان هاپلوئید ۱۳
- ۱-۶-۲- مزایا و کاربردهای هاپلوئیدها ۱۴
- ۱-۱-۶-۲- اصلاح گیاهان و تولید ارقام جدید ۱۴
- ۲-۱-۶-۲- تجزیه پیوستگی ۱۴
- ۳-۱-۶-۲- کاربرد هاپلوئیدهای مضاعف شده در تهیه نقشه مولکولی ۱۴
- ۴-۱-۶-۲- بهنژادی با ایجاد جهش ژنی ۱۵
- ۵-۱-۶-۲- مهندسی ژنتیک و ایجاد گیاهان تراریخت ۱۵

- ۱۵ ۲-۶-۱-۶- تحقیقات سیتوژنتیکی و سیتولوژیکی
- ۱۶ ۲-۶-۲- روش های تولید گیاهان هاپلوئید
- ۱۶ ۲-۶-۳- نرزیای درون شیشه ای
- ۱۷ ۲-۶-۳-۱- کشت بساک
- ۱۷ ۲-۶-۳-۲- کشت میکروسپور
- ۱۷ ۲-۶-۳-۱- مزایای کشت میکروسپور
- ۱۸ ۲-۶-۳-۳- مشکلات تولید گیاهان هاپلوئید در شرایط درون شیشه ای
- ۱۹ ۲-۶-۳-۴- انتخاب گامتی در جریان کشت درون شیشه ای
- ۱۹ ۲-۶-۵- عوامل موثر در آندروژنز
- ۲۰ ۲-۶-۵-۲- شرایط رشد و فیزیولوژی گیاه بخشنده میکروسپور
- ۲۱ ۲-۶-۵-۳- مرحله رشد و نمو میکروسپور
- ۲۱ ۲-۶-۵-۴- پیش تیمارها
- ۲۴ ۲-۶-۵-۱- پیش تیمار سرمایی
- ۲۵ ۲-۶-۵-۲- پیش تیمار گرمایی
- ۲۶ ۲-۶-۵-۳- پیش تیمار گرسنگی
- ۲۶ ۲-۶-۵-۴- پیش تیمار اسمزی
- ۲۹ ۲-۶-۵-۵- پیش تیمار شیمیایی
- ۲۹ ۲-۷-۷- فلوسایتومتری
- ۳۱ ۲-۸-۸- هاپلوئیدی در خانواده زُزاسه

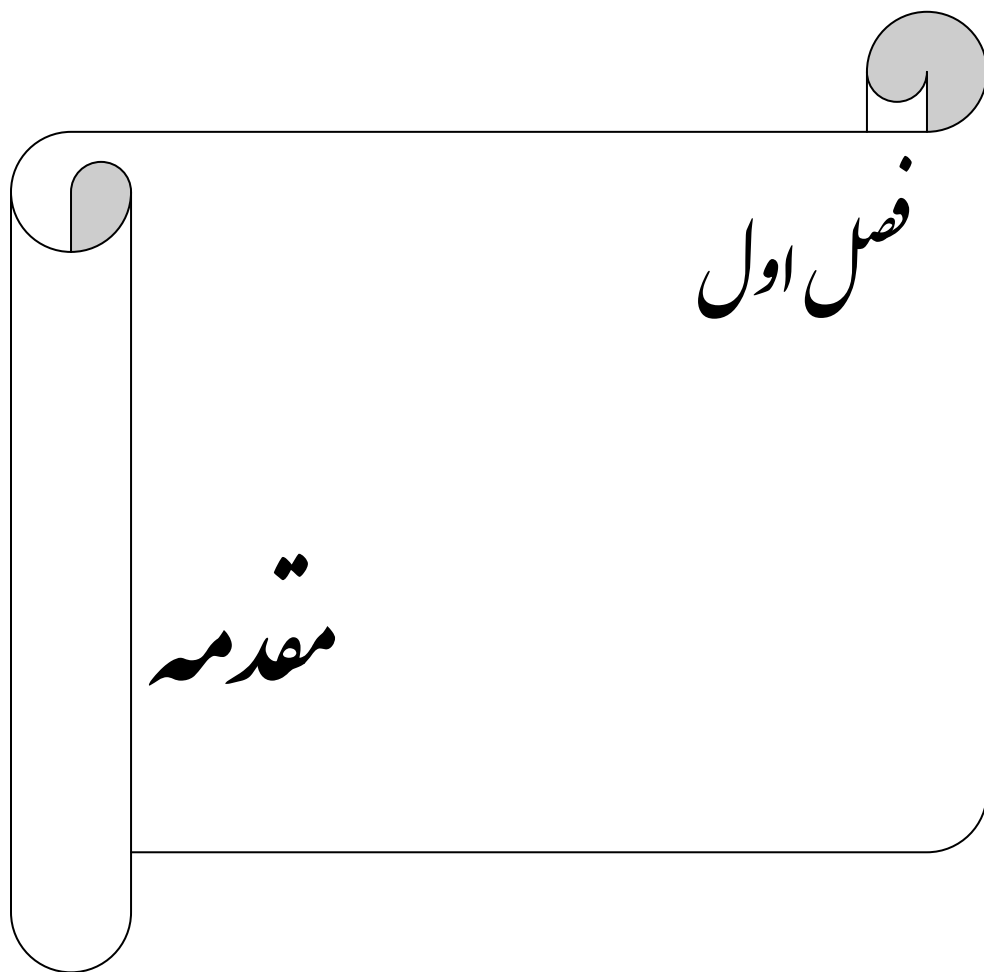
..... (<i>Eriobotrya japonica</i>) ازگیل	۳۱
..... (<i>Malus domestica</i>) سیب	۳۲
..... (<i>Prunus persica</i>) هلو	۳۲
..... (<i>Prunus avium</i>) گیلاس	۳۳
..... (<i>Fragaria × ananassa</i> D.) توت فرنگی	۳۳
..... هاپلوئیدی در رز	۳۵
..... مواد و روشها	۳۷
..... مواد و وسایل مورد استفاده	۳۷
..... مواد گیاهی	۳۷
..... تعیین مراحل مختلف نموی میکروسپور	۳۷
..... مواد و وسایل آزمایشگاهی	۳۸
..... استریل کردن سطحی غنچه‌ها	۳۸
..... استریل کردن محیط‌های کشت	۳۸
..... انواع محیط کشت‌های مورد استفاده	۳۸
..... اعمال پیش تیمار	۴۰
..... اعمال پیش تیمار سرمایی	۴۰
..... اعمال پیش تیمار گرمایی	۴۰
..... اعمال پیش تیمار مانیتول - سرمایی و مانیتول - گرمایی	۴۰
..... اعمال پیش تیمار تنش غذایی (گرسنگی)	۴۰
..... اعمال پیش تیمار شیمیایی و دمایی	۴۱
..... آزمایش‌ها	۴۱

- ۳-۳-۱- آزمایش اول: بررسی مراحل مختلف نموی بر کشت بساک در گل محمدی و رز هفت‌رنگ ۴۱
- ۳-۳-۲- آزمایش دوم: بررسی حالت فیزیکی محیط کشت و غلظت ساکارز بر کشت بساک
گل محمدی (اکوتیپ آذران) ۴۲
- ۳-۳-۳- آزمایش سوم: بررسی اثر پیش‌تیمار گرمایی و مانیتول-گرمایی بر کشت بساک گل محمدی و
رُز هفت‌رنگ ۴۲
- ۳-۳-۴- آزمایش چهارم: بررسی اثر پیش‌تیمار سرمایی و مانیتول-سرمایی بر کشت بساک گل محمدی
و رز هفت‌رنگ ۴۳
- ۳-۳-۵- آزمایش پنجم: بررسی اثر پیش‌تیمار گرسنگی روی کشت بساک گل محمدی و رز هفت‌رنگ ۴۳
- ۳-۳-۷- آزمایش هفتم: بررسی اثر ابتدایی محیط کشت و پیش‌تیمار گرمایی و سرمایی روی کشت
بساک گل محمدی و رز هفت‌رنگ ۴۴
- ۳-۴-۴- صفت مورد مطالعه ۴۵
- ۳-۵- تجزیه و تحلیل داده‌ها ۴۵
- ۳-۶- تعیین سطح پلئوئیدی کالوس‌های بدست آمده از کشت بساک ۴۵
- ۳-۶-۱- روش شمارش کروموزومی ۴۵
- ۳-۶-۲- روش فلوسایتومتری ۴۶
- ۴- نتایج و بحث ۴۸
- ۴-۱- تعیین مارکر مرفولوژیکی جهت تعیین مرحله نموی میکروسپورها ۴۸
- ۴-۲- نتایج آزمایش‌ها ۵۰
- ۴-۲-۱- آزمایش اول: بررسی مراحل مختلف نموی بر کشت بساک در گل محمدی و رُز هفت‌رنگ ۵۰
- ۴-۲-۲- آزمایش دوم: بررسی حالت فیزیکی محیط کشت و غلظت ساکارز بر کشت بساک
گل محمدی (اکوتیپ آذران) ۵۲

- ۴-۲-۳- آزمایش سوم: بررسی اثر پیش تیمار گرمایی و مانیتول - گرمایی بر روی کشت بساک گل محمدی و رُز هفت رنگ ۵۳
- ۴-۲-۴- آزمایش چهارم: بررسی اثر پیش تیمار سرمایی و مانیتول - سرمایی بر کشت بساک گل محمدی و رُز هفت رنگ ۵۶
- ۴-۲-۵- آزمایش پنجم: بررسی اثر پیش تیمار گرسنگی بر روی کشت بساک گل محمدی و رُز هفت رنگ ۶۰
- ۴-۲-۶- آزمایش ششم: بررسی اثر پیش تیمار شیمیایی بر روی کشت بساک گل محمدی و رُز هفت رنگ ۶۲
- ۴-۲-۷- آزمایش هفتم: بررسی اثر ابتدایی محیط کشت و پیش تیمار گرمایی و سرمایی بر روی کشت بساک گل محمدی و رُز هفت رنگ ۶۵
- ۴-۳- بررسی سطح پلوئیدی کالوس‌های بدست آمده با استفاده از روش فلوسایتومتری و شمارش کروموزومی ۶۸
- ۴-۴- نتیجه گیری نهایی: ۷۰
- ۴-۵- پیشنهادها: ۷۱
- ۵- منابع ۷۳

- شکل ۲-۱- نمایی از یک بوته رُز ۸
- شکل ۲-۲ تنش‌های القاکننده جنین‌زایی در میکروسیپور ۲۳
- شکل ۲-۳ شمایی از نحوه عمل دستگاه فلوسایتومتری ۳۱
- شکل ۳-۱ الف: رز هفت‌رنگ ب: گل محمدی ۳۷
- شکل ۴-۱- غنچه‌ها در گل محمدی (آذران) (الف) و غنچه‌ها در رُز هفت‌رنگ (ب) ۴۹
- شکل ۴-۲- میکروسیپور در مرحله اواسط تک‌هسته‌ای (الف) و میکروسیپور در مرحله اواخر تک‌هسته‌ای (ب) ۴۹
- شکل ۴-۳- مقایسه میانگین تاثیر مراحل رشد و نمو میکروسیپور بر صفت درصد کالوس‌زایی بساک‌ها ۵۱
- شکل ۴-۴- مقایسه میانگین اثر حالت فیزیکی محیط کشت روی صفت درصد کالوس‌زایی بساک‌ها ۵۳
- شکل ۴-۵- مقایسه میانگین اثر رقم بر روی صفت درصد کالوس‌زایی بساک‌ها ۵۵
- شکل ۴-۶- مقایسه میانگین اثر پیش‌تیمارهای گرمایی روی صفت درصد کالوس‌زایی بساک‌ها ۵۶
- شکل ۴-۷- مقایسه میانگین اثر متقابل رقم و پیش‌تیمار روی صفت درصد کالوس‌زایی بساک‌ها ۵۸
- شکل ۴-۸- مقایسه میانگین اثر متقابل رقم و مدت زمان روی صفت درصد کالوس‌زایی بساک‌ها ۵۸
- شکل ۴-۹- مقایسه میانگین اثر متقابل پیش‌تیمار و مدت زمان روی صفت درصد کالوس‌زایی بساک‌ها ... ۵۹
- شکل ۴-۱۰- مقایسه میانگین اثر متقابل رقم و مدت زمان روی صفت درصد کالوس‌زایی بساک‌ها ۶۲
- شکل ۴-۱۱- مقایسه میانگین اثر متقابل پیش‌تیمار و مدت زمان روی صفت درصد کالوس‌زایی بساک‌ها ۶۲
- شکل ۴-۱۲- مقایسه میانگین اثر پیش‌تیمار بر کشت روی صفت درصد کالوس‌زایی بساک‌ها ۶۷
- شکل ۴-۱۳- مقایسه میانگین اثر متقابل رقم و مدت زمان روی صفت درصد کالوس‌زایی بساک‌ها ۶۷
- شکل ۴-۱۴- نمونه‌هایی از آنالیزهای فلوسایتومتری سلول‌های کالوس‌های حاصل از کشت بساک ۶۸
- شکل ۴-۱۵- نمونه‌ای از شمارش کروموزومی در سلول‌های کالوس حاصل از کشت بساک رقم کاشان ۶۹
- شکل ۴-۱۶- نمونه‌ای از کالوس‌های بدست آمده از کشت بساک: اکوتیپ کاشان (الف) - اکوتیپ آذران (ب) - رز هفت رنگ (ج) ۶۹

- جدول ۳-۱ ترکیب محیط کشت‌های مورد استفاده ۳۹
- جدول ۴-۱ صفات مرفولوژیک برای تعیین مرحله نموی میکروسپور در گل محمدی و رز هفت‌رنگ ۴۸
- جدول ۴-۲ تجزیه واریانس بررسی تاثیر مراحل مختلف نموی بر کشت بساک در گل محمدی و رز هفت‌رنگ ۵۰
- جدول ۴-۳ تجزیه واریانس بررسی تاثیر حالت فیزیکی محیط کشت و غلظت ساکارز بر کشت بساک در گل محمدی و رز هفت‌رنگ ۵۲
- جدول ۴-۴ تجزیه واریانس بررسی تاثیرپیش‌تیمار گرمایی و مانیتول - گرمایی بر کشت بساک در گل محمدی و رز هفت‌رنگ ۵۴
- جدول ۴-۵ تجزیه واریانس بررسی تاثیرپیش‌تیمار سرمایی و مانیتول - سرمایی بر کشت بساک در گل محمدی و رز هفت‌رنگ ۵۷
- جدول ۴-۶ تجزیه واریانس بررسی تاثیر پیش‌تیمار گرسنگی بر کشت بساک در گل محمدی و رز هفت‌رنگ ۶۱
- جدول ۴-۷ تجزیه واریانس بررسی تاثیر پیش‌تیمار شیمیایی بر کشت بساک در گل محمدی و رز هفت رنگ ۶۳
- جدول ۴-۸ مقایسه میانگین رقم و پیش‌تیمار و مدت زمان بر درصد کالوس زایی بساک ها ۶۴
- جدول ۴-۹ تجزیه واریانس بررسی اثر ابتدایی محیط کشت و پیش‌تیمار گرمایی و سرمایی بر کشت بساک گل محمدی و رز هفت‌رنگ ۶۶



فصل اول

مقدمه

۱- مقدمه

امروزه بازارهای قابل توجهی برای بوته‌های رُز باغی در کشورهای توسعه یافته وجود دارد (Pertwee, 1995) و سالانه میلیون‌ها گل‌دان رُز مینیاتوری فروخته می‌شود. علاوه بر مصارف زینتی، رُزها تقریباً یکی از گل‌های مهم مورد استفاده برای صنایع عطرسازی، دارویی و غذایی هستند (Borch *et al.*, 1996).

با توجه به اهمیت تجاری رُزها اطلاعات کمی در زمینه توارث ویژگی‌های زراعی آنها وجود دارد (Gudin, 2000; Debener *et al.*, 2001; Crespel *et al.*, 2002). ویژگی‌هایی مانند هتروزیگوسیتی بالا، سطح پلوئیدی (بیشتر ارقام جدید تتراپلوئید هستند) و شدت پسروی درون‌آمیزی بالا در اثر خودگشنی، آنالیزهای ژنتیکی سستی را با مشکل مواجه ساخته است. علاوه بر این بیشتر گونه‌های دیپلوئید گزارش شده دارای خودناسازگاری هستند و بنابراین برنامه‌های مدون اصلاحی در رُز همچنان با تکیه بر روش‌های ساده از جمله کشف تلاقی‌های ویژه که توانایی تولید هیبرید را داشته باشند و به دنبال آن هتروزیگوسیتی بالا را نشان دهند می‌باشد (Rajpakse *et al.*, 2001). تقاضاهای جدیدی که در صنعت رُز وجود دارد، نیاز به استفاده از روش‌ها و راهکارهای نوین در برنامه‌های اصلاحی برای غلبه بر چنین مشکلاتی را ضروری می‌کند (Gudin, 2000).

نرعیمی، گل‌دهی مکرر، سازگاری رشد، حذف تیغ از صفاتی هستند که در جمعیت‌های مختلف نقشه‌یابی شده‌اند. بررسی رنگ گل و تراکم خار توارث تک ژنی و چندژنی آنها را مشخص کرده است. علاوه بر این ویژگی‌ها، ژن‌هایی برای مقاومت به بیماری‌های مهمی مانند لکه سیاه^۱ و سفیدک پودری^۲ به خوبی نقشه‌یابی شده است. افزایش اطلاعات ژنتیکی در مورد صفات مهم رُز و ارتباط دادن آنها با نشانگرهای مولکولی به طور قابل توجهی می‌تواند باعث اینتروگرسیون بین گونه‌های وحشی رُز با انواع رُزهای مدرن گردد (Dugo *et al.*, 2005).

1-Black spot

2-Powdery mildew

تعداد کروموزوم‌های پایه در جنس رُز هفت عدد ($n=7$) می‌باشد و در بین آن‌ها از گونه‌های ($2n=2x=14$ تا $2n=8x=56$) دیده می‌شود. آنیوپلوئیدی^۱ در بین آن‌ها نادر است و مقدار DNA C-value در آن‌ها، بین (± 0.75) $0.13-0.53$ میکروگرم متغیر می‌باشد (Yokoya et al., 2000). ارقام مدرن تری‌پلوئید^۲ و تتراپلوئید^۳ هستند، بنابراین تلاقی بین آن‌ها ممکن است منجر به بذره‌های قابل رویش نگردد (Rout et al., 1999). تلاقی بین گونه‌های دیپلوئید و تتراپلوئید ایجاد تریپلوئیدهای عقیم یا نیمه‌عقیم می‌کند (Wylie, 1955).

هنگامی که تلاقی بین گونه‌ای در رُز با عدم موفقیت همراه شد، محققین بر آن شدند تا نسبت به تولید گیاه هاپلوئید^۴ از گیاه تتراپلوئید (درحالی که قادر به تولید گل و گرده باشد) اقدام نمایند و سپس از هاپلوئیدهای حاصل که دی‌هاپلوئید می‌باشند در تلاقی با ارقام وحشی دیپلوئید استفاده کنند و ژن را از گونه‌های دیپلوئید به ارقام تتراپلوئید انتقال دهند (Meynet et al., 1996). برای این منظور، پس از انجام تلاقی بین گیاه دی‌هاپلوئید به دست آمده و رقم وحشی، با استفاده از روش تلاقی برگشتی^۵ ژن مورد نظر را از رقم دیپلوئید وحشی به رقم دی‌هاپلوئید انتقال می‌دهند و بعد از آن با دو برابر کردن کروموزوم‌های گیاه دی‌هاپلوئید با استفاده از تیمار کلشیسین^۶ ژن مورد نظر را در رقم مورد نظر تثبیت می‌کنند و گیاهان تتراپلوئید حاصل خواهد شد. همچنین این روش (ایجاد گیاه هاپلوئید و به دنبال آن ایجاد دابلدهاپلوئید)، موجب کم کردن دوره اصلاحی برای ایجاد لاین‌های هموزیگوت در گیاهان دگرگشن (مانند رُز) که به عنوان والدین تلاقی در برنامه‌های بعدی استفاده می‌شوند، می‌گردد (Mohan Jain et al., 1996). علاوه بر این، گیاهان هاپلوئید مضاعف شده^۷ در نقشه‌یابی‌های ژنتیکی با استفاده نشانگرهای مولکولی، آنالیز QTL^۸، مطالعات سیتوژنتیکی، انتقال ژن و اصلاح از طریق موتاسیون استفاده می‌شوند (Mohan Jain et al., 1996). همچنین

-
- 1- Aneuploid
 - 2- Triploid
 - 3- Tetraploid
 - 4- haploid
 - 5- back cross
 - 6- Colchicine
 - 7- double haploid
 - 8- Quantitative trait loci

می‌توان با کاهش سطح پلوئیدی در یک گیاه اتوتتراپلوئید^۱، تأثیر سطوح مختلف پلوئیدی را بر روی خصوصیات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی رزها مطالعه نمود (Meynet *et al.*, 1996).

به طور کلی در گیاهان از سه روش نرزاری^۲، ماده زایی^۳ و حذف کروموزومی^۴ برای تولید گیاهان هاپلوئید استفاده می‌شود. تاکنون در رز فقط از روش ماده‌زایی (پارتنوژنز) استفاده شده است که کارایی تولید گیاهان هاپلوئید در آن کم است. در صورتی که بتوان از روش نرزاری استفاده کرد، احتمال دستیابی به گیاهان هاپلوئید و نرخ آن بسیار زیاد خواهد بود. در روش نرزاری، گیاه هاپلوئید از طریق کشت بساک یا کشت میکروسپور حاصل می‌شود (Kasha *et al.*, 1995). برای القای نرزاری، تیمارهای استرسی به طور گسترده‌ای مورد استفاده قرار گرفته‌اند. این موضوع ناشی از این واقعیت است که بعضی از علائم مشخص محیطی می‌توانند مسیر نموی میکروسپور را از مسیر گامتوفیتیک به اسپورفیتیک تغییر دهند و این امر باعث تشکیل رویان می‌شود (Reynolds, 1997; Touraev *et al.*, 2001). از تنش‌های رایج می‌توان شوک‌های سرمایی، گرمایی و تنش غذایی را نام برد (Shariatpanahi *et al.*, 2006). در میان آن‌ها، پیش‌تیمار سرمایی، یک پیش‌تیمار رایج برای القای میکروسپورها جهت رویان‌زایی است. در این پیش‌تیمار قبل از کشت میکروسپور، غنچه‌ها برای چند روز در معرض شوک سرمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار می‌گیرند و مشاهده شده است که در این صورت، پاسخ به رویان‌زایی و همچنین دو برابر شدن خودبه‌خودی کروموزوم‌ها افزایش می‌یابد (Tuvevsson *et al.*, 2000). تنش گرمایی از دیگر تنش‌هایی است که در دماهای بین ۳۷-۳۳ درجه سانتی‌گراد به مدت چند ساعت تا چند روز اعمال می‌شود (Shariatpanahi *et al.*, 2006). قراردادن بساک‌ها و یا میکروسپورها درون محیط‌های دارای منابع کربن غیر قابل متابولیزه شدن مانند مانیتول از دیگر تنش‌هایی است که برای القای نرزاری مورد استفاده قرار می‌گیرد (Touraev *et al.*, 2001). این پیش‌تیمارها ممکن است به صورت جداگانه، تلفیقی و یا همراه با سایر مواد شیمیایی برای به‌دست آوردن حداکثر تعداد رویان از میکروسپورهای رویان‌زا به کار برده شوند. با توجه به اهمیت بالای استفاده از روش‌های هاپلوئیدی از طریق آندروژنز در اصلاح بعضی از گیاهان متاسفانه تا کنون این روش در خانواده رز موفقیت آمیز نبوده

1 -Autotetraploid

2- Androgenesis

3- Ginogenesis

4- Chromosome elimination

است و لازم است که تحقیقات به این منظور توسعه یابد. با توجه به مطالب فوق الذکر هدف از انجام این پژوهش، پاسخ دو گونه رُز نسبت به کشت بساک با اعمال چند پیش تیمار می باشد که در راستای این منظور آزمایشات مختلفی انجام شده است.