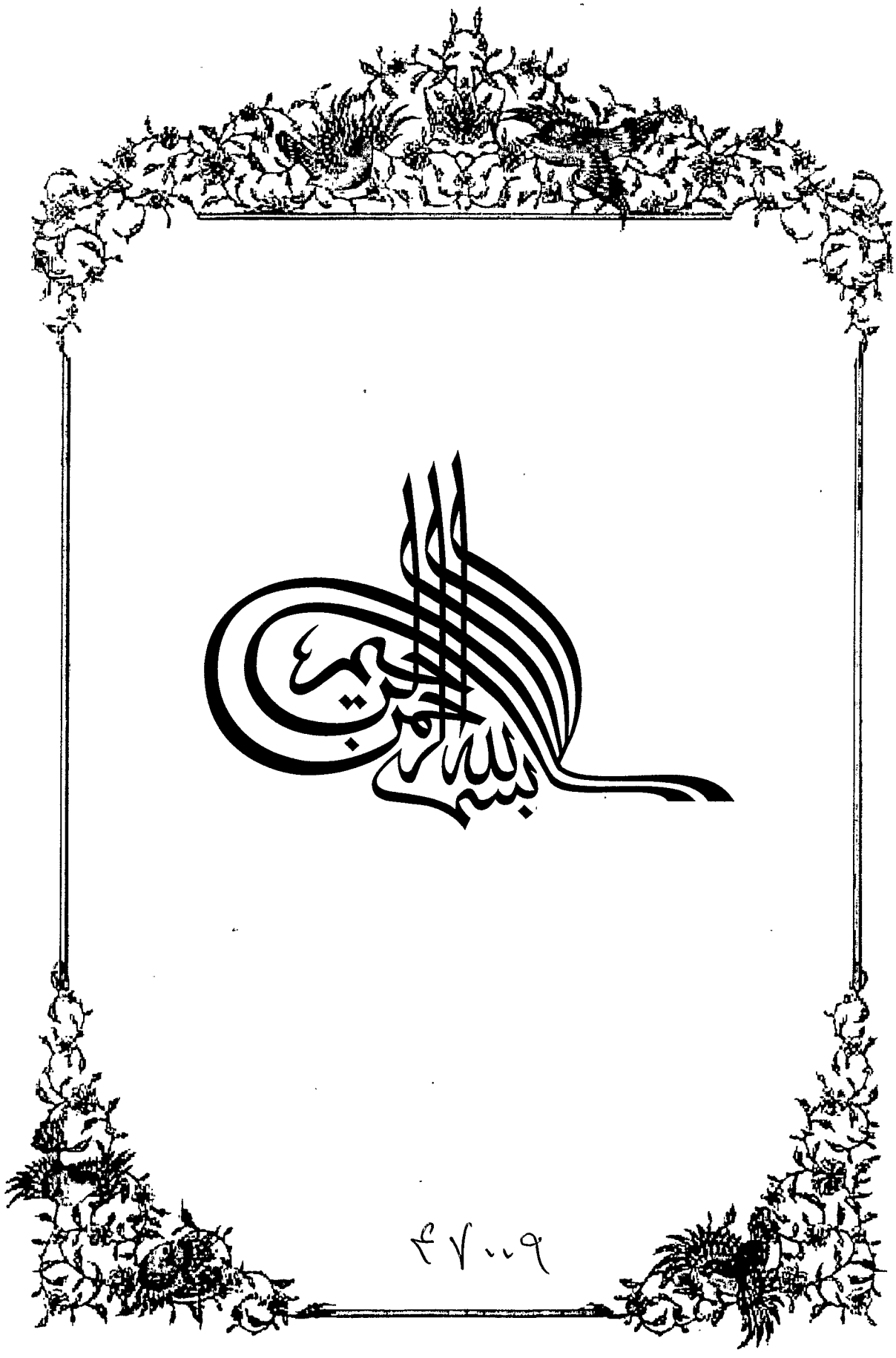


٢٠٠٩م

دانشگاه مازندران
دانشکده کشاورزی
گروه زراعت و اصلاح نباتات

عنوان:

ریزازدیادی و تعیین دز مناسب اشعه گاما برای ایجاد موتاسیون در ریزنمونه‌های موز (*Musa spp.* Var. *Cavendish*)

جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد رشته اصلاح نباتات

اساتید راهنما:
دکتر قربانعلی نعمت زاده
دکتر فرامرز مجد

استاد مشاور:
مهندس مسعود رحیمی

نگارش:
هوشنگ گورچینی

۱۳۸۱ /۱۱/ ۲۰

آبان-۱۳۸۱

«بسمه تعالی»

دانشگاه مازندران

معاونت آموزشی

تحصیلات تکمیلی

«ارزشیابی پایان‌نامه در جلسه دفاعیه»

دانشکده کشاورزی

نام و نام خانوادگی: هوشنگ گودرچینی شمارهٔ دانشجوئی:

رشته تحصیلی: اصلاح نباتات مقطع: کارشناسی ارشد سال تحصیلی: ۸۲ - ۸۱

عنوان پایان‌نامه: ریزازدیادی و تعیین زمان مناسب اشعه گاما برای ایجاد موتاسیون در ریزنمونه‌های جامو

تاریخ دفاع: ۸۱/۸/۱۴

نمره پایان‌نامه (به عدد): ۱۹/۴

نمره پایان‌نامه (به حروف): نوزده و چهاردهم

هیأت داوران

استاد راهنما: جناب آقای دکتر قربانعلی نعمت زاده امضاء

استاد مشاور: جناب آقای مهندس مسعود رحیمی امضاء

استاد ~~مدعو~~ راهنما: جناب آقای دکتر فرامرز حجت امضاء

استاد مدعو: نماینده محترم دانشکده جناب آقای مهندس رستم ناصریان امضاء

نماینده کمیته تحصیلات تکمیلی: جناب آقای دکتر محمدعلی اسماعیلی امضاء

۸۱/۸/۱۴

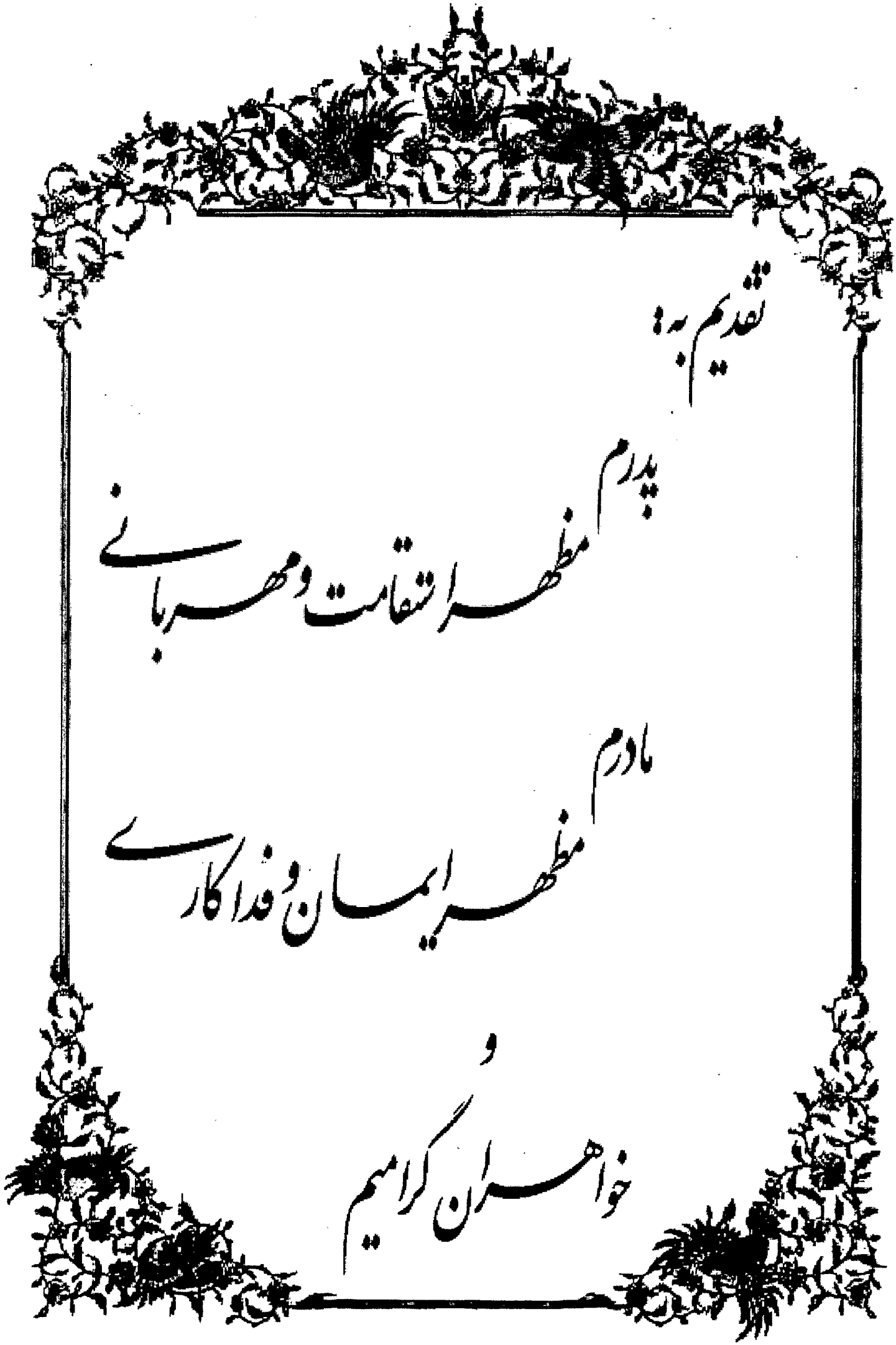
لم یشکر الخالق لم یشکر المخلوق

تقدیر و تشکر:

در ابتداء خداوند منان را شاکرم که باز مرا یاری فرمود که برگی دیگر از دفتر زندگیم را ورق بزنم. در اینجا بر خود لازم می‌دانم که از زحمات بی دریغ پدر، مادر و خواهران گرامیم که در طول تمام دوره زندگیم مشوق من بوده‌اند قدردانی نمایم. از اساتید راهنمای عزیزم آقایان دکتر قربانعلی نعمت‌زاده و دکتر فرامرز مجد کمال تشکر را دارم . از استاد مشاور گرامیم آقای مهندس مسعود رحیمی که در تمام مراحل پایان نامه در کنار اینجانب بوده‌اند سپاسگذارم. از اساتید گرامیم دکتر بابائیان که در مراحلی از پایان نامه مرا یاری دادند و همچنین دکتر کاظمی تبار و مدیر گروه زراعت و اصلاح نباتات آقای دکتر اسماعیلی کمال تشکر وقدردانی را دارم. در اینجا جا دارد که از مسئولین دانشکده کشاورزی بخصوص سر کار خانم نوروزی و مهندس آقاجانی تشکر نمایم. از پرسنل زحمت کش مرکز تحقیقات پزشکی و کشاورزی هسته ای بخصوص آقایان مهندس سیروس ودادی، مهندس اسفندیار رحیمی، مهندس بهنام ناصریان، مهندس هادی فتح الهی، سرکار خانم نرگس نشان که در مراحل مختلف اجرای پایان نامه همواره یاریگر من بوده‌اند تشکر و قدردانی نمایم. بر خود لازم می‌دانم که از زحمات جناب آقای مهندس حسامی مدیر شرکت ریز افزا کشت بخاطر رهنمودهای علمی و مواد گیاهی که برای شروع این کار تحقیقی در اختیار اینجانب گذاشتند تشکر نمایم. از همکلاسی‌های عزیز و گرامی و آقایان مهندس عنایت رضوانی،سامرند بتوراک، عابد شهادتی، سعید سهیلی وند، امیر توسلی و سرکار خانم مهندس فاطمه ابراهیمی که در این مدتی که با ایشان گذراندم بسیار نکته های علمی واخلاقی آموختم سپاسگذارم. از دوستان گرامیم آقایان علی کربلا میرزایی، رحیم اسکندری بسیار سپاسگذارم. از زحمات بیدریغ خاله مهربانم و همسر گرامیشان آقای رسول اصلانزاده و آقایان رسول کرمانی و امید عسگری که همواره در مراحل اجرای پایان نامه متحمل زحماتی شدند بسیار متشکرم.

همچنین از کلیه عزیزانی که امروز من اسم آنها را در خاطر ندارم باعرض پوزش کمال امتنان و سپاسگذاری را دارم. در نهایت از در گاه احدیت بهروزی و موفقیت تک تک این عزیزان را خواستارم.

من الله التوفیق



تقدیم به:

پدرم مظهر شفقت و مهربانی

مادرم مظهر ایمان و فداکاری

و

خواهران گرامیم

چکیده:

موز یکی از مهمترین میوه‌های مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری است و تولید سالیانه آن بالغ بر ۸۵/۵ میلیون تن است. اگرچه موزهای دیپلوئید (2n =۲۲) تولید بذر می‌نمایند و لیکن موزهای خوراکی که به‌صورت تریپلوئید (2n=3x =۳۳) هستند هیچگونه بذری تولید نمی‌کنند به دلیل طولانی بودن دوره رشد رویشی، عدم تولید بذر و پایین بودن جوانه زنی (در صورت تولید بذر) اصلاح گیاه موز به روش کلاسیک مشکل، و منطقی نمی‌باشد. لذا القاء موتاسیون برای اصلاح گیاهان برتر موز امری اجتناب ناپذیر است. از بین عوامل موتاسیون زا، موتاژن‌های فیزیکی از جمله اشعه گاما برای اصلاح موز مناسب می‌باشد و باید با استفاده از دز مناسب ایجاد تنوع سپس انتخاب و تثبیت بوته‌های برتر نمود. در این تحقیق از یک طرح تصادفی با هشت تیمار و شش تکرار استفاده گردید. تیمارها شامل دز های مختلف اشعه ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۳۵، ۴۵، ۶۰ گری و یک تیمار بعنوان شاهد، (بدون پرتوتابی) انتخاب شدند. صفات تعداد گیاه باقیمانده، تعداد برگ، ارتفاع گیاه و وزن تر گیاه اندازه‌گیری سپس از تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها و رسم نمودار برای تجزیه و تحلیل صفات اندازه‌گیری شده استفاده گردید. نتایج بدست آمده نشان داد که دز مناسب اشعه برای ایجاد موتاسیون بین ۴۰-۲۵ گری می‌باشد. همچنین نتایج تجزیه پروبیت نیز نشان داد که دز مناسب اشعه با ۵۰ درصد گشندگی ۳۹/۸ گری می‌باشد. تجزیه همبستگی بین صفات مختلف با دز اشعه حکایت از آن دارد که بین آنها رابطه منفی و بسیار معنی داری در سطح ۱٪ وجود دارد. در این تحقیق شرایط مناسب محیط کشت‌های مختلف با ترکیبات کمتر جهت ریز ازدیادی گیاه موز مشخص گردید. علاوه بر این روش مناسب کالوس‌زایی مورد مطالعه و شرایط بهینه آن تعیین گردید.

کلمات کلیدی: گیاه موز، موتاسیون، اشعه گاما، ریز ازدیادی

فهرست

عنوان صفحه

فصل اول: مقدمه وکلیات

۱-۱. مقدمه ۲
۱-۲. منشا گیاه موز ۳
۱-۳. اکولوژی ۴
۱-۳-۱. خاک ۴
۱-۳-۲. بارندگی ۵
۱-۳-۳. درجه حرارت ۵
۱-۳-۴. نور ۶
۱-۳-۵. فتوپریود ۶
۱-۴. مرفولوژی گیاه ۶
۱-۴-۱. ساقه ۶
۱-۴-۲. برگ ۷
۱-۴-۳. گل ۸
۱-۵. سیتوژنتیک موز ۸
۱-۶. تکثیرگیاه موز ۹
۱-۷. کشت بافت ۱۰
۱-۸. ریز ازدیادی ۱۰
۱-۹. انواع باززایی ۱۱
۱-۹-۱. طویل شدن مریستم انتهایی ۱۱
۱-۹-۲. تکثیر ساقه های جانبی ۱۲
۱-۹-۳. ایجاد شاخه های نابجا ۱۲
۱-۹-۴. اندام زایی ۱۲
۱-۹-۵. جنین زایی ۱۲
۱-۱۰. سیستمهای ریزازدیای و کشت بافت ۱۳
۱-۱۰-۱. دسته I باززایی گیاه کامل از قسمتهای رویشی ۱۳
۱-۱۰-۲. دسته II تولید گیاه از طریق قسمتهای زایشی ۱۳
۱-۱۱. محیط کشت ۱۴
۱-۱۲. موتاسیون ۱۵

۱-۱۲-۱. انواع موتاسیون ۱۶
۱-۱۲-۲. انواع موتاژنها ۱۶
۱-۱۲-۲-۱. موتاژنها شیمیایی ۱۷
۱-۱۲-۲-۲. موتاژنهای فیزیکی ۱۷
۱-۱۲-۳. اشعه گاما ۱۸
۱-۱۳. دُز ۱۸
۱-۱۴. عوامل موثر بر حساسیت گیاه در مقابل اشعه ۱۹
۱-۱۴-۱. فاکتورهای بیولوژیکی ۱۹
۱-۱۴-۲. فاکتورهای محیطی ۲۰
۱-۱۴-۲-۱. اکسیژن ۲۰
۱-۱۴-۲-۲. محتویات آب ۲۰
۱-۱۴-۲-۳. ذخیره کردن قبل از پرتو تابی ۲۰
۱-۱۴-۲-۴. درجه حرارت ۲۰
۱-۱۴-۳. فاکتورهای شیمیایی ۲۱
۱-۱۴-۴. موادی که اثرحساسیت زئی دارند ۲۱
۱-۱۵. تیپ مواد گیاهی مورد تابش ۲۲
۱-۱۵-۱. بذور ۲۲
۱-۱۵-۲. گیاه کامل ۲۲
۱-۱۵-۳. دانه های گرده، گامتوفیتها، سلولهای تخم ۲۲
۱-۱۵-۴. اندامهای رویشی ۲۳
۱-۱۵-۵. سلولها یا بافتها با استفاده از تکنیک های آزمایشگاهی ۲۳
۱-۱۶. گیاهان رویشی ۲۴
۱-۱۷. مهم ترین مزیت‌های استفاده از تکثیر رویشی موارد زیر هستند ۲۵
۱-۱۸. منبع تنوع ژنتیکی ۲۵
۱-۱۸-۱. تنوع سوماتیکی خودبخودی ۲۵
۱-۱۸-۲. تلاقی ۲۶
۱-۱۸-۳. القاء موتاسیون ۲۶
۱-۱۸-۴. انتقال ژن ۲۶
۱-۱۹. مشکلات موجود در استفاده از روش‌های کلاسیک اصلاح برلی گیاهان رویشی ۲۷
۱-۲۰. مزایای اصلاح از طریق موتاسیون ۲۷
۱-۲۱. معایب اصلاح از طریق موتاسیون ۲۸
۱-۲۲. شیمر ۲۸
۱-۲۳. روش تعیین دُز مناسب اشعه برای ایجاد موتاسیون ۲۹

۱-۲۴. روش اصلاح موتاسیونی از طریق کشت نوک شاخه ۲۹

فصل دوم: بررسی منابع

۲-۱. کشت نوک شاخه ۳۲
۲-۲. جنین زایی سو ماتیکی در کشت بافت موز ۳۵
۲-۳. موتاسیون ۳۶
۲-۴. موتاسیون در موز ۳۷

فصل سوم: مواد و روشها

۳-۱. تهیه مواد گیاهی ۴۱
۳-۲. تهیه محیط کشت برای باز زایی نوک شاخه ۴۱
۳-۳. کشت ریزنمونه ها در محیط کشت ۴۲
۳-۴. واکشت ۴۲
۳-۵. ریشه زایی گیاهان ۴۳
۳-۶. کشت نوک شاخه جهت تهیه کالوس ۴۳
۳-۷. تهیه استوک آهن و ویتامین‌ها، هورمون‌ها ۴۳
۳-۸. مطالعات سیتوژنتیک ۴۴
۳-۸-۱. روش بدون آنزیم ۴۵
۳-۸-۲. روش آنزیمی ۴۵
۳-۸-۳. روش آنزیمی همراه با هیدرولیز ۴۶
۳-۹. تهیه محلول کلشیسین و فیکسه ۴۷
۳-۱۰. تهیه بافر آنزیمی و محلول آنزیمی ۴۷
۳-۱۱. تهیه بافر فسفات ۴۷
۳-۱۲. روش پرتوتابی نمونه ها ۴۷
۳-۱۳. نحوه اندازه گیری صفات ۴۸
۳-۱۴. تعیین محیط حداقل برای ریز ازدیادی موز ۴۹
۳-۱۵.تجزیه آماری ۴۹

فصل چهارم: نتایج و بحث

۴-۱. مناسب ترین ریز نمونه جهت ریز ازدیادی ۵۱
۴-۲. نتایج تجزیه واریانس و مقایسه میانگین ها برای صفات اندازه گیری شده ۵۱
۴-۲-۱. تعداد گیاهان باقی‌مانده ۵۱
۴-۲-۲. تعداد برگ ۵۳
۴-۲-۳. ارتفاع گیاه ۵۵
۴-۲-۴. وزن تر گیاه ۵۶
۴-۳. تعیین دز مناسب اشعه برای ایجاد موتاسیون ۵۸
۴-۴. همبستگی بین صفات مختلف اندازه گیری شده با دز اشعه ۵۹
۴-۵. رابطه رگرسیونی صفات اندازه گیری شده با دز اشعه ۵۹
۴-۵-۱. رابطه رگرسیونی تعداد گیاه رشد کرده و مقدار دز اشعه ۵۹
۴-۵-۲. رابطه رگرسیون تعداد برگ و مقدار دز اشعه ۶۰
۴-۵-۳. رابطه رگرسیونی ارتفاع گیاه و مقدار دز اشعه ۶۰
۴-۵-۴. رابطه رگرسیونی وزن تر گیاه با مقدار دز اشعه ۶۱
۴-۶. تجزیه پروبیت ۶۱
۴-۷. تعیین محیط حداقل برای ریز ازدیادی موز ۶۴
۴-۷-۱. تعداد گیاه رشد کرده ۶۴
۴-۷-۲. تعدا برگ ۶۴
۴-۷-۳. ارتفاع گیاه ۶۵
۴-۸. آزمایش دوم برای محیط حداقل در ریز ازدیادی موز ۶۶
۴-۸-۱. تعداد گیاه رشد کرده ۶۷
۴-۸-۲. تعداد برگ ۶۸
۴-۸-۳. ارتفاع گیاه ۶۹
۴-۹. مطالعات سیتوژنتیکی ۷۰
۴-۱۰. کالوس زایی ۷۰

فهرست جداول و اشکال

جدول۱-۱ گونه های مختلف موز با ذکر مشخصات ۴
شکل کامل گیاه موز و قسمت های مختلف آن ۹
شکل کامل مریستم انتهایی به همراه پریمردیای برگی (Shoot-tip) ۱۲
جدول۲-۱ اسامی اکسین و سیتوکنین های مختلف ۱۵
شکل شیمرهای مختلف ۲۸
جدول۱-۳ ترکیبات محیط کشت‌های استفاده شده ۴۴
جدول۱-۴ تجزیه واریانس برای صفت تعداد گیاه رشد کرده بعد از پرتوتابی ۵۲
جدول۲-۴ مقایسه میانگین ها برای صفت تعداد گیاه رشد کرده بعد از پرتوتابی ۵۲
جدول۳-۴ تجزیه واریانس برای صفت تعداد برگ بعد از پرتوتابی ۵۴
جدول۴-۴ مقایسه میانگین ها برای صفت تعداد برگ بعد از پرتوتابی ۵۴
جدول۵-۴ تجزیه واریانس برای صفت ارتفاع گیاه بعد از پرتوتابی ۵۵
جدول۶-۴ مقایسه میانگین ها برای صفت ارتفاع گیاه بعد از پرتوتابی ۵۶
جدول۷-۴ تجزیه واریانس برای صفت وزن تر گیاه بعد از پرتوتابی ۵۷
جدول۸-۴ مقایسه میانگین ها برای صفت وزن تر گیاه بعد از پرتوتابی ۵۷
جدول۹-۴ ضرایب همبستگی بین صفات مختلف و دز اشعه ۵۹
جدول۱۰-۴ تجزیه واریانس برای صفت تعداد گیاه رشد کرده ۶۴
جدول۱۱-۴ مقایسه میانگین ها برای صفت تعداد گیاه رشد کرده ۶۴
جدول۱۲-۴ تجزیه واریانس برای صفت تعداد برگ ۶۵
جدول۱۳-۴ مقایسه میانگین ها برای صفت تعداد برگ ۶۵
جدول۱۴-۴ تجزیه واریانس برای صفت ارتفاع گیاه ۶۶
جدول۱۵-۴ مقایسه میانگین ها برای صفت ارتفاع گیاه ۶۶
جدول۱۶-۴ تجزیه واریانس برای صفت تعداد گیاه رشد کرده ۶۷
جدول۱۷-۴ مقایسه میانگین ها برای صفت تعداد گیاه رشد کرده ۶۷
جدول۱۸-۴ تجزیه واریانس برای صفت تعداد برگ ۶۸
جدول۱۹-۴ مقایسه میانگین ها برای صفت تعداد برگ ۶۸
جدول۲۰-۴ تجزیه واریانس برای صفت ارتفاع گیاه ۶۹
جدول۲۱-۴ مقایسه میانگین ها برای صفت ارتفاع گیاه ۶۹
جدول۱-۵ عناصر ماکرو مورد استفاده در محیط کشت MS ۷۲
جدول۲-۵ عناصر میکرو مورد استفاده در محیط کشت MS ۷۲
تصویر ۱-۵ دستگاه استفاده شده برای پرتو تابی نمونه‌ها با دز بالا ۷۳

تصویر۲-۵ دستگاه استفاده شده برای پرتو تابی نمونه‌ها با دز پایین بالا ۷۳
تصویر۳-۵ مجموعه کروموزومهای گیاه موز ۷۴
تصویر۴-۵ کالوس‌های بدست آمده از گیاه موز ۷۴

فهرست نمودار ها

نمودار۱-۴ تعداد گیاه رشد کرده بعد از پرتو تابی ۵۳
نمودار۲-۴ تعداد برگ بعد از پرتو تابی ۵۴
نمودار۳-۴ ارتفاع گیاه بعد از پرتو تابی ۵۶
نمودار۴-۴وزن تر گیاه بعد از پرتو تابی ۵۷
نمودار رگرسیونی پروبیت ۶۳

فصل اول

مقدمه و کلیات

۱-۱. مقدمه

تولید موز در جهان حدود ۸۵/۵ میلیون تن می‌باشد (F AO، ۱۹۹۸) که بیش از ۱۹ میلیون تن آن در آسیا تولید می‌شود.

در میان میوه‌های گرمسیری و نیمه‌گرمسیری موز یکی از منابع مهم انرژی برای بشر است. در قسمت‌هایی از غرب آفریقا غذای عمده مردم موز است و مصرف سرانه در سال حدود ۱۰۰ کیلوگرم می باشد. موز بعد از مرکبات دومین میوه از نظر اهمیت داد و ستد جهانی است. موز به علت طعم، راحت مصرف کردن و ارزش غذایی بالا بسیار مورد توجه اغلب مردم می‌باشد(۱۱). در آمریکا موز بیشترین مصرف را دارد، در آلمان و انگلیس نیز موز بعد از سیب بیشترین مصرف را دارد. موز چهارمین گیاه غذایی در جهان می‌باشد(۶۵).

موز منبع بسیار مهم ویتامین B_6،C، A و در حدود دو برابر سایر میوه‌ها، ویتامین k دارد. در جدول زیر ارزش غذایی ۱۰۰ گرم موز مشخص شده است.

کربوهیدرات (g)	چربی (g)	پروتئین (g)	انرژی (Kcal)	آب (ml)
۲۷	۰/۳	۱	۱۱۶	۷۰

موز از نظر مواد معدنی دارای سدیم کم(۱ میکروگرم در گرم) و پتاسیم زیاد(۳۸۰۰ میکروگرم در گرم) است(۳۵).

زیستگاه موز عمدتاً مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری می‌باشد اغلب این مناطق در کشورهای در حال توسعه می‌باشد، این یکی از دلایل کم بودن مطالعات علمی روی این گیاه است.

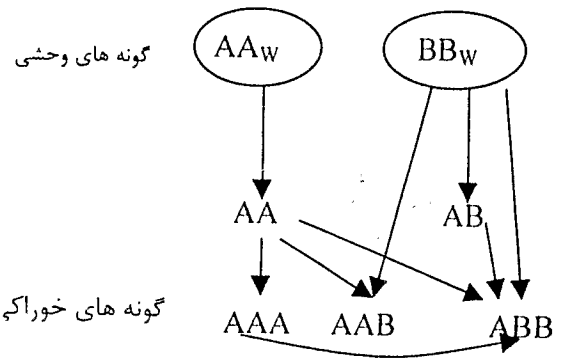
اصلاح گیاه موز از طریق روش‌های کلاسیک اصلاح بسیار مشکل می‌باشد زیرا این گیاه تولید بذر نمی‌کند و یا جوانه زنی بذور آن خیلی پائین است و همچنین فاصله تولید یک بذر تا بذر بعدی خیلی زیاد است. مشکل دیگر در اصلاح این گیاه نداشتن تنوع کافی ارقام در کشور است.

لذا بهترین روش برای اصلاح این گیاه اصلاح از طریق موتاسیون می‌باشد. بدلیل عدم تولید بذر از قسمت‌های رویشی مانند نوک شاخه[1] برای ایجاد موتاسیون استفاده می‌گردد.

۲-۱. منشا گیاه موز

سیموندز[2] مشخص کرد که مرکز احتمالی تنوع گونه‌های وحشی موز هندوچین و جنوب غربی آسیا می‌باشد.

جنس موزا (*Musa*) دارای چهار بخش بنام *Eumusa, Callimusa, Rhodochlamys* و *Astralimusa* می‌باشد. بخش *Eumusa* دارای دو گونه بنام‌های *M.balbiasiana* و *M.acuminata* میباشد. اغلب موزهای خوراکی از این دو گونه یا یکی از آنها بدست آمده‌اند(۹۰).



M. balbiasiana بذر تولید می‌کند و برای نواحی گرمسیری و مرطوب مانند هند، گینه نو و فیلیپین مناسب می‌باشد. *M.acuminata* نیز بذر تولید می‌کند.

تنوع سوماتیکی در این گیاه یک دامنه گسترده‌ای از ارقام را ایجاد نموده است. جنس موزا دارای ۲۵ گونه و چند زیر گونه مشهور است. در جدول (۱-۱) مشخصات بعضی از این زیر گونه‌ها ذکر شده است.

گیاه موز خیلی بزرگ، چند ساله، علفی، تک لپه و بصورت رویشی تکثیر می‌یابد.

1- Shoot-tip 2- Simmonds