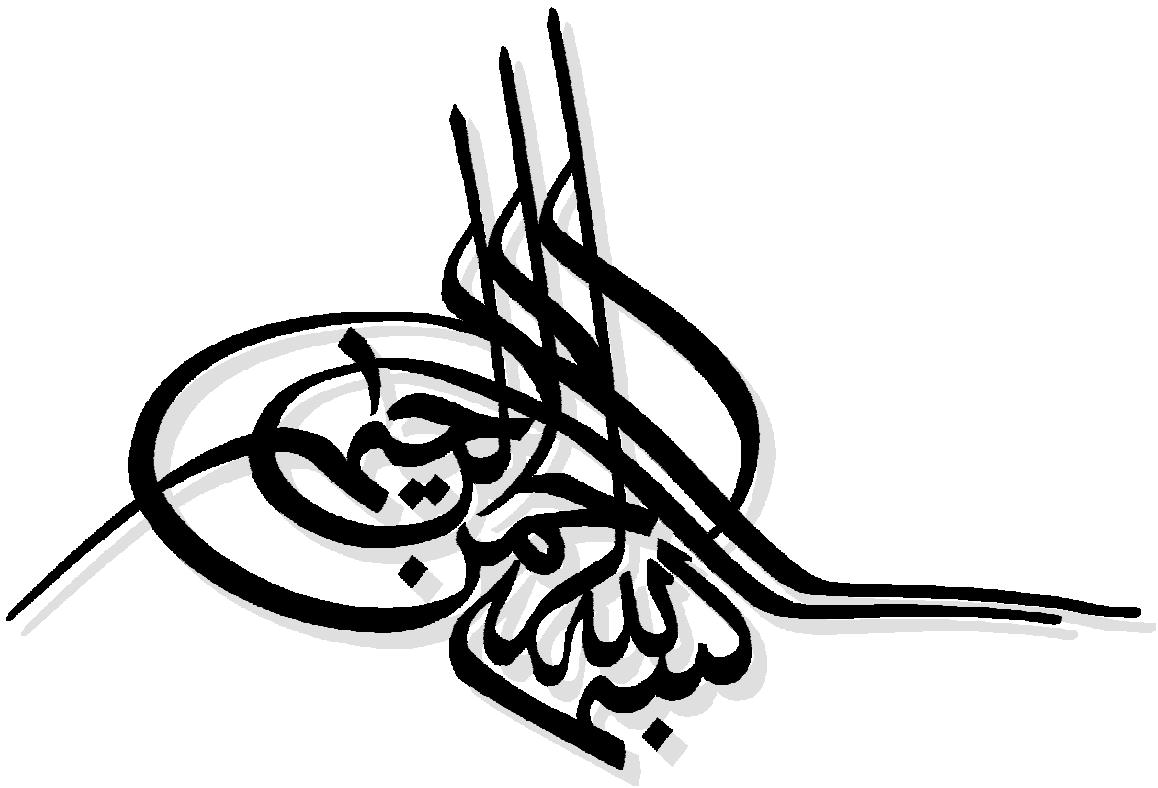
بسم الله الرحمن الرحيم

این پژوهش با پشتیبانی و همکاری مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور صورت گرفته است.

دانشگاه پیام نور تهران
دانشکده علوم

پایان‌نامه برای دریافت مدرک کارشناسی ارشد
رشته زیست‌شناسی (گرایش علوم گیاهی)
گروه علوم پایه و کشاورزی

عنوان پایان‌نامه

بررسی امکان همگروه‌سازی از طریق ارگان‌زایی مستقیم و تولید جنین‌های پیکری در گونه های *Eucalyptus rubida* و *E. saligna*

سعیده قدیری سردرود

استادان راهنما:
دکتر عباس قمری زارع دکتر محمد حسن عصاره
استاد مشاور:
دکتر غلامرضا بخشی خانیکی
مهرماه 1389

Payame Noor University
Science Faculty

Thesis Submitted for the Award of Master of M.Sc in Plant Biology

Department of Science & Agriculture

Investigation of somaclonal shoot multiplication through direct organogenesis and somatic embryogenesis efficiency in *Eucalyptus rubida* & *E. saligna*

Saeedeh ghadiri sardrood

Supervisors
Dr. Abbas Ghamari Zare Dr. Mohammad hasan Assareh

Advisor
Dr. Gholam Reza Bakhshi Khaniki

October, 2010

اینجانب سعیده قدیری سردرود دانشجوی ورودی سال 1387 مقطع کارشناسی ارشد رشته زیست شناسی گیاهی گواهی می نمایم چنانچه در پایان نامه خود از فکر، ایده و نوشته دیگری بهره گرفته‌ام با نقل قول مستقیم یا غیر مستقیم منبع و ماخذ آن را نیز در جای مناسب ذکر کرده ام بدیهی است مسئولیت تمامی مطالبی که نقل قول دیگران نباشد بر عهده خویش می دانم و جوابگوی آن خواهم بود.

سعیده قدیری سردرود

اینجانب سعیده قدیری سردرود دانشجوی ورودی سال 1387 مقطع کارشناسی ارشد رشته زیست شناسی گیاهی گواهی می نمایم چنانچه بر اساس مطالب پایان نامه خود اقدام به انتشار مقاله، کتاب، و .... نمایم ضمن مطلع نمودن استاد راهنما، با نظر ایشان نسبت به نشر مقاله، کتاب، و ... و به صورت مشترک و با ذکر نام استاد راهنما مبادرت نمایم.

سعیده قدیری سردرود

کلیه حقوق مادی مترتب از نتایج مطالعات، آزمایشات و نوآوری ناشی از تحقیق موضوع این پایان نامه متعلق به دانشگاه پیام نور می باشد.

مهرماه 1389

من به میهمانی دنیا رفتم، من به دشت اندوه، من به باغ عرفان، من به چراغانی دانش رفتم.

تقدیم به :

پدر و مادر عزیزتر از جانم

که همه زندگیشان برایم مهر و همه زندگیم برایشان رنج بود.

برادر عزیز و مهربانم

که حضور سبزش همواره مایه دلگرمی من بود.

همراه و همسفرهمیشگی‌ام مهندس مجتبی انوشه

که با ناصبوری او این ناچیز میسر نبود.

سرکار خانم مهندس شهرزاد

که بدون شک تجلی لطف بی‌کران الهی در این کره خاکی است.

در دل من چیزی است، مثل یک بیشه نور

بعد از سپاس از خداوند متعال به خاطر لطف بی‌کرانش، بر خود لازم می‌دانم که از کلیه اساتید بزرگوارم، خانواده عزیزم، و دوستان و همکارانم که در این راه این بنده حقیر را همراهی کردند کمال تشکر و سپاس را داشته باشم. و در همین راستا در ابتدا لازم می‌دانم از جناب آقای دکتر عصاره به خاطر اعتمادی که به اینجانب داشته و فرصتی در اختیار من نهادند تا شاید گوشه‌ای از عظمت پروردگار را تجربه کنم تشکر کنم. همچنین از جناب آقای دکتر قمری‌زارع یاد می‌کنم که ایشان نه تنها استاد بلکه پدری دلسوز برای من بودند. همچنین از جناب آقای دکتر بخشی خانیکی کمال تشکر و سپاس را دارم که بدون شک بدون حمایت‌های بی‌دریغ ایشان این ناچیز میسر نبود.

در این میان افرادی همچون سرکار خانم مهندس شهرزاد با مهربانی و فداکاری بی‌نهایت خود نقشی بسزا در پیشرفت این پژوهش داشتند که کمال تشکر و سپاس را از ایشان دارم.

در ادامه بر خود لازم می‌دانم از کلیه دوستان و همکارانم، از جمله جناب آقای دکتر ملاکی، مدیریت محترم عامل شرکت داروسازی دانا، جناب آقای دکتر فرخی مدیریت محترم عامل شرکت دارویی کیان‌فارمد، خانم مهندس جهانبخش و سرکار خانم دیناروند و همچنین کلیه دوستان و همکارانم در گروه تحقیقات زیست‌فناوری موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع، سرکار خانم مهندس نراقی، مهندس امام، مهندس شریعت، سرکار خانم مهرآبادی، سرکار خانم خدادادی، جناب آقای حیدری و جناب آقای عبادی کمال تشکر و سپاس را داشته باشم.

همچنین تشکر می‌کنم از جناب آقای مهندس خانجانی و دوستان عزیزم سرکار خانم عیوضی، مقسومی، سخایی، دادور و ناصر به خاطر لطف و محبت بی‌دریغشان به این بنده حقیر.

و در پایان صمیمانه‌ترین مراتب تشکر و قدردانی را از پدر و مادر بزرگوار و فداکارم و همچنین برادر مهربانم داشته و از خداوند متعال می‌خواهم که همواره راه کسب علم و دانش را بر من هموار کرده و توفیق خدمت به خلق خدا به واسطه علم و دانشی که کسب کرده‌ام به من عنایت فرماید.

چکیده

اکالیپتوس بیش از یکصد سال پیش به ایران وارد گردید و در جنوب کشور که محیط مناسبی برای آن بود، کشت شد. ولی از آنجایی که ایران در مقایسه با سایر نقاط دنیا به لحاظ پوشش جنگلی، کشوری فقیر محسوب می‌گردد استفاده از درختان سریع‌الرشد همچون اکالیپتوس به‌منظور جنگلکاری گزینه مناسبی می‌باشد و با توجه به مشکلاتی که در تکثیر اکالیپتوس‌ها به وسیله روش‌های معمول وجود دارد بسیاری از پژوهشگران روش‌های ریزازدیادی درون‌شیشه‌ای را بکار گرفته‌اند تا بتوانند گونه‌ها و ارقام مرغوب اکالیپتوس‌ها را تکثیر کنند. در این پژوهش نیز از آنجایی که بر روی روش‌های تکثیر دو گونه *Eucalyptus rubida* و *E. saligna* به خصوص از طریق کشت بافت تا بحال هیچ مطالعات خاصی صورت نگرفته است امکان تکثیر *E. rubida* و *E. saligna* به وسیله دو روش معمول در کشت بافت یعنی جنین‌زایی سوماتیکی و ریزازدیادی بررسی گردید که نتایج رضایت‌بخشی نیز حاصل شد. در جنین‌زایی سوماتیکی در گونه *E. saligna* پس از بررسی چهار ریزنمونه ریشه، ساقه ، برگ و هیپوکوتیل در 39 تیمار متفاوت هورمونی بهترین ریزنمونه ریشه و بهترین تیمار، تیمار حاوی 2 میلی‌گرم بر لیتر 2,4-D و 2 میلی‌گرم بر لیتر Kinetine شناسایی گردید. همچنین در استفاده از محیط کشت نیمه‌جامد نتایج قابل قبول‌تری نسبت به استفاده از کشت سوسپانسیون مشاهده شد. اما در مورد *E. rubida* بهترین نتایج، در مطالعه بررسی امکان جنین‌زایی سوماتیکی، در محیط کشت سوسپانسیون با تیمار هورمونی 0/2 میلی‌گرم بر لیتر BA و 1 میلی‌گرم بر لیتر 2,4-D و استفاده از کالوس‌های حاصل از ریزنمونه ریشه در محیط کشت اولیه با تیمار هورمونی TDZ و 2,4-D حاصل شد. در مورد همگروه‌سازی و ریزازدیادی نیز بهترین تیمار در کشت اولیه بذور، تیمار حاوی BA و آبسیزیک اسید شناسایی گردید و در شاخه‌زایی نیز نتایج حاصل از تیمار هورمونی (BA: 0/3 mg/l، 2ip: 0/3 mg/l، IBA: 0/1 mg/l به همراه کمپلکس ویتامین و اسیدآمینه) قابل قبول‌تر بود. در کلون‌سازی سرشاخه‌های درخت بالغ در هر دو گونه *E. rubida* و *E. saligna* بهترین نتایج در پیش‌سترون‌سازی با قارچ‌کش کاپتان 5% به مدت 24 ساعت و سترون‌سازی با کلرورمرکوریک 0/1% به مدت 7 دقیقه مشاهده گردید و همانند کلون‌سازی بذور بهترین نتایج شاخه‌زایی نیز در تیمار هورمونی (BA: 0/3 mg/l، 2ip: 0/3 mg/l، IBA: 0/1 mg/l به همراه کمپلکس ویتامین و اسیدآمینه) مشاهده شد.

کلمات کلیدی: کشت بافت، جنین‌زایی سوماتیکی، ریزازدیادی، هیپوکوتیل، کالوس، شاخه‌زایی

عنوان صفحه

فصل اول: مقدمه 1
1- 1پیش‌گفتار 1
2-1 کشت اکالیپتوس در جهان و ایران 4
3-1 رده‌بندی گیاه اکالیپتوس 6
1- 4 روش‌های متداول در تکثیر اکالیپتوس‌ها 7
5-1 کشت بافت 8
1-5-1 کشت بافت اکالیپتوس 11
2-5-1ریزازدیادی 12
3-5-1 موانع موجود در کشت بافت اکالیپتوس در شرایط درون شیشه‌ای 13
6-1 جنین‌زایی سوماتیکی 14
1-6-1 تاریخچه پژوهش‌های انجام گرفته بر روی جنین زایی سوماتیکی 16
7-1 اهداف پژوهش 18
فصل دوم: مواد و روش 19
1-2 مواد گیاهی 19
2-2 محیط‌کشت 20
1-2-2 ترکیبات محیط‌کشت MS 20
2-2-2 تنظیم کننده‌هایی رشد گیاهی (هورمون‌ها) 22
3-2-2 مواد افزودنی دیگر 23
3-2 وسایل و تجهیزات 23
1-3-2 تجهیزات آزمایشگاهی 23
4-2 آماده‌سازی محیط‌کشت 24
1-4-2 تهیه محیط‌کشت MS 24
2-4-2 تهیه محلول‌های ذخیره‌ای تنظیم‌کننده‌های رشد 26
3-4-2 فیلترسترون 33
5-2 کشت اولیه بذر 33
1-5-2 پیش‌سترون‌سازی بذور 33

2-5-2 سترون‌سازی 33
3-5-2 مرحله استقرار 33
6-2 بازکشت نمونه‌ها 34
1-6-2 مرحله ریزازدیادی (همگروه‌سازی) 34
2-6-2 مرحله جنین‌زایی 34
1-2-6-2 تولید کالوس 34
2-2-6-2 انتقال کالوس‌ها 35
7-2 کشت اولیه ریز نمونه 35
1-7-2 پیش‌سترون‌سازی ریزنمونه‌ها 35
2-7-2 سترون‌سازی و استقرار ریزنمونه‌ها 35
3-7-2 بررسی و گزارش نویسی 36
فصل سوم: نتایج 38
1-3 تاثیر هورمون‌های TDZ و 2,4-D بر تولید کالوس و اندام‌زایی از کالوس 39
1-1-3 تاثیر هورمون‌های TDZ و 2,4-D بر تولید کالوس و اندام‌زایی از کالوس در گونه *E. rubida* 39
2-1-3 تاثیر هورمون‌های TDZ و 2,4-D بر تولید کالوس و اندام‌زایی در گونه *E. saligna* 44
3-1-3 مقایسه تاثیر هورمون‌های TDZ و 2,4-D بر تولید کالوس و اندام‌زایی در بین دو گونه *E. rubida* و *E. saligna* 48
2-3 تاثیر هورمون 2,4-D بر تولید کالوس و اندام‌زایی از کالوس 49
1-2-3 تاثیر هورمون 2,4-D بر تولید کالوس و اندام‌زایی از کالوس در گونه *E. rubida* 49
3-3 تاثیر هورمون‌های 2,4-D و BA بر تولید کالوس و اندام‌زایی از کالوس 53
1-3-3 تاثیر هورمون‌های 2,4-D و BA بر تولید کالوس و اندام‌زایی از کالوس در گونه *E. rubida* 53
4-3 مقایسه تاثیر دو تیمار 2,4-D، BA و 2,4-D، TDZ بر تولید کالوس و اندام‌زایی از کالوس در *E. rubida* 58
1-4-3 ریزنمونه برگ کوتیلدونی 58

3-4-2 ریزنمونه ساقه 59
3-5 تاثیر هورمون‌های 2,4-D، BA در کشت سوسپانسیون بر تولید کالوس و اندام‌زایی از کالوس در *E. rubida* 60
3-6 تاثیر هورمون‌های Kinetine و 2,4-D بر تولید کالوس و اندام‌زایی از کالوس 62
3-6-1 تاثیر هورمون‌های Kinetine و 2,4-D بر تولید کالوس و اندام‌زایی از کالوس در گونه *E. rubida* 62
3-6-2 تاثیر هورمون‌های Kinetine و 2,4-D بر تولید کالوس و اندام‌زایی از کالوس در گونه *E. saligna* 66
3-6-3 مقایسه تاثیر هورمون‌های Kinetine و 2,4-D بر تولید کالوس و اندام‌زایی از کالوس در بین دو گونه *E. rubida* و *E. saligna* 71
3-7 تاثیر هورمون‌های Kinetine و NAA، BA و NAA، و NAA به تنهایی بر تولید کالوس و اندام‌زایی در گونه *E. rubida* 76
3-8 نتیجه‌گیری کلی در بررسی امکان جنین‌زایی سوماتیکی در دو گونه *E. rubida* و *E. saligna* 77
3-9 بررسی تاثیر شش تیمار هورمونی مختلف بر همگروه سازی و تولید کلون از بذر و سرشاخه در دو گونه *E. rubida* و *E. saligna* 78
3-9-1 کلون‌سازی بذر در دو گونه *E. rubida* و *E. saligna* 78
3-9-2 کلون‌سازی سرشاخه‌های درخت بالغ در دو گونه *E. rubida* و *E. saligna* 83
3-10 نتیجه‌گیری کلی در بررسی امکان همگروه‌سازی در دو گونه *E. rubida* و *E. saligna* 86
فصل چهارم: بحث 88
4-1 بررسی تیمارهای هورمونی متفاوت در جنین‌زایی سوماتیکی 89
4-1-1 بررسی تیمار هورمونی TDZ و 2,4-D در جنین‌زایی در دو گونه *E. rubida* و *E. saligna* 89
4-1-2 بررسی تیمار هورمونی 2,4-D در جنین‌زایی در گونه *E. rubida* 93
4-1-3 بررسی تیمار هورمونی 2,4-D و BA در جنین‌زایی در گونه *E. rubida* 94

4-1-4 بررسی تیمار هورمونی 2,4-D و Kinetine و NAA و Kinetine در جنین‌زایی در دو گونه *E. rubida* و *E. saligna*..... 97
4-2 بررسی تیمارهای هورمونی متفاوت در همگروه‌سازی در دو گونه *E. rubida* و *E. saligna*..... 100
پیشنهادات..... 103
منابع..... 104
چکیده انگلیسی..... 112

عنوان صفحه

جدول 2-1: جدول ترکیبات محیط MS مطابق با ذخایر غذایی آزمایشگاه کشت بافت واصلاح درون شیشه‌ای گروه مستقل تحقیقات منابع طبیعی (محل پژوهش)..... 21
جدول 2-2: جدول هورمون‌ها و ویتامین‌های مورد استفاده و حلال‌های آنها..... 26
جدول 2-3: محیط‌های کشت ساخته شده جهت جنین‌زایی..... 27
جدول 2-4: محیط‌های کشت ساخته شده در زمینه کشت بافت..... 32
جدول 2-5: تیمارهای پیش‌سترون سازی و سترون‌سازی جوانه‌های انتهایی و جانبی دو گونه *E. rubida* و *E. saligna* از درختان بالغ (تاریخ برداشت 1388/12/5)..... 36
جدول 2-6: تیمارهای پیش‌سترون سازی و سترون‌سازی جوانه‌های انتهایی و جانبی دو گونه *E. rubida* و *E. saligna* از درختان بالغ (تاریخ برداشت 1389/01/21)..... 37
جدول 3-1: جدول کمی اندازه گیری تولید کالوس، اندام (شاخه، برگ و یا ریشه) و یا جنین از کالوس در ریزنمونه‌های کشت شده..... 39
جدول3-2- تجزیه واریانس اثر تیمارهای هورمونی TDZ و 2,4-D بر کالوس‌زایی، تولید کالوس اندام‌زا و تولید کالوس جنین‌زا در گونه *E.rubida*..... 40
جدول3-3- تجزیه واریانس اثر تیمار هورمونی TDZ و 2,4-D بر کالوس‌زایی، تولید کالوس اندام‌زا و تولید کالوس جنین‌زا در گونه *E.saligna*..... 44
جدول3-4- تجزیه واریانس اثر تیمارهای هورمونی 2,4-D بر کالوس‌زایی، تولید کالوس اندام‌زا وتولید کالوس جنین‌زا در *E. rubida*..... 50
جدول3-5- تجزیه واریانس اثر تیمارهای هورمونی 2,4-D و BA بر کالوس‌زایی، تولید کالوس اندام‌زا و تولید کالوس جنین‌زا در *E. rubida*..... 54
جدول3-6- تجزیه واریانس اثر تیمارهای هورمونی Kinetine و 2,4-D بر کالوس‌زایی، تولید کالوس اندام‌زا و تولید کالوس جنین‌زا در *E. rubida*..... 62
جدول3-7- تجزیه واریانس اثر 4 تیمار هورمونی بر کالوس‌زایی، تولید کالوس اندام‌زاو تولید کالوس جنین‌زا در *E. saligna*..... 67
جدول 3-8: درصد زنده‌مانی و استقرار جوانه‌های انتهایی و جانبی دو گونه*E. rubida* و *E. saligna* از درختان بالغ (تاریخ برداشت 1388/12/5)..... 83
جدول 3-9: درصد زنده‌مانی و استقرار جوانه‌های انتهایی و جانبی دو گونه*E. rubida* و *E. saligna* از درختان بالغ (تاریخ برداشت 1389/01/21)..... 84

عنوان صفحه

شکل 3-1: نمودار مقایسه تیمارهای هورمونی TDZ و 2,4-D (جدول 2-4) از نظر کیفیت کالوس در گونه *E. rubida*..... 41
شکل 3-2: نمودار مقایسه تیمارهای هورمونی TDZ و 2,4-D (جدول 2-4) از نظر کیفیت کالوس از ریزنمونه‌های برگ، ساقه و ریشه در گونه *E. rubida*..... 41
شکل 3-3: نمودار مقایسه تیمارهای هورمونی TDZ و 2,4-D (جدول 2-4) از نظر اندام‌زایی کالوس در گونه *E. rubida*..... 42
شکل 3-4: نمودار مقایسه تیمار هورمونی TDZ و 2,4-D (جدول 2-4) از نظر اندام‌زایی کالوس از ریزنمونه‌های برگ، ساقه و ریشه در گونه *E. rubida*..... 42
شکل 3-5: نمودار مقایسه تیمارهای هورمونی TDZ و 2,4-D (جدول 2-4) از نظر جنین‌زایی کالوس در گونه *E. rubida*..... 43
شکل 3-6: نمودار مقایسه تیمارهای هورمونی TDZ و 2,4-D (جدول 2-4) از نظر جنین‌زایی کالوس از ریزنمونه‌های برگ، ساقه و ریشه در گونه *E. rubida*..... 43
شکل 3-7: نمودار مقایسه تیمارهای هورمونی TDZ و 2,4-D (جدول 2-4) از نظر کیفیت کالوس در گونه*E. saligna*..... 45
شکل 3-8: نمودار مقایسه تیمارهای هورمونی TDZ و 2,4-D (جدول 2-4) از نظر کیفیت کالوس از ریزنمونه‌های برگ، ساقه و ریشه در گونه *E. saligna*..... 46
شکل 3-9: نمودار مقایسه تیمارهای هورمونی TDZ و 2,4-D (جدول 2-4) از نظر اندام‌زایی کالوس در گونه*E. saligna*..... 46
شکل 3-10: نمودار مقایسه تیمارهای هورمونی TDZ و 2,4-D (جدول 2-4) از نظر اندام‌زایی کالوس از ریزنمونه‌های برگ، ساقه و ریشه در گونه *E. saligna*..... 47
شکل 3-11: نمودار مقایسه تیمارهای هورمونی TDZ و 2,4-D (جدول 2-4) از نظر جنین‌زایی کالوس در گونه*E. saligna*..... 47
شکل 3-12: نمودار مقایسه تیمارهای هورمونی TDZ و 2,4-D (جدول 2-4) از نظر جنین‌زایی کالوس از ریزنمونه‌های برگ، ساقه و ریشه در گونه *E. saligna*..... 48
شکل 3-13: نمودار مقایسه تیمارهای هورمونی 2,4-D (جدول 2-4) از نظر کیفیت کالوس‌زایی در گونه *E. rubida*..... 50

شکل 3-14: نمودار مقایسه تیمارهای هورمونی 2,4-D (جدول 2-4) از نظر کیفیت کالوس از ریزنمونه‌های برگ، ساقه در گونه *E. rubida*..... 51
شکل 3-15: نمودار مقایسه تیمارهای هورمونی 2,4-D (جدول 2-4) از نظر اندام‌زایی کالوس در گونه *E. rubida*..... 51
شکل 3-16: نمودار مقایسه تیمار هورمونی 2,4-D (جدول 2-4) از نظر اندام‌زایی کالوس از ریزنمونه‌های برگ و ساقه در گونه *E. rubida*..... 52
شکل 3-17: نمودار مقایسه تیمارهای هورمونی 2,4-D (جدول 2-4) از نظر جنین‌زایی کالوس در گونه *E. rubida*..... 52
شکل 3-18: نمودار مقایسه تیمارهای هورمونی 2,4-D (جدول 2-4) از نظر جنین‌زایی کالوس از ریزنمونه‌های برگ و ساقه در گونه *E. rubida*..... 53
شکل 3-19: نمودار مقایسه تیمارهای هورمونی BA و 2,4-D (جدول 2-4) از نظر کیفیت کالوس در گونه *E. rubida*..... 55
شکل 3-20: نمودار مقایسه تیمارهای هورمونی BA و 2,4-D (جدول 2-4) از نظر کیفیت کالوس از ریزنمونه‌های برگ و ساقه در گونه *E. rubida*..... 56
شکل 3-21: نمودار مقایسه تیمارهای هورمونی BA و 2,4-D (جدول 2-4) از نظر اندام‌زایی کالوس در گونه *E. rubida*..... 56
شکل 3-22: نمودار مقایسه تیمار هورمونی BA و 2,4-D (جدول 2-4) از نظر اندام‌زایی کالوس از ریزنمونه‌های برگ و ساقه در گونه *E. rubida*..... 57
شکل 3-23: نمودار مقایسه تیمارهای هورمونی BA و 2,4-D (جدول 2-4) از نظر جنین‌زایی کالوس در گونه *E. rubida*..... 57
شکل 3-24: نمودار مقایسه تیمارهای هورمونی BA و 2,4-D (جدول 2-4) از نظر جنین‌زایی کالوس از ریزنمونه‌های برگ و ساقه در گونه *E. rubida*..... 58
شکل 3-25: کالوس‌ها تشکیل شده در محیط کشت حاوی BA و 2,4-D، تشکیل کالوس گلوبولار از ریزنمونه برگ(a)، تشکیل کالوس از ریزنمونه ساقه(b)..... 59
شکل 3-26: مراحل تشکیل جنین سوماتیکی در کشت سوسپانسیون در گونه *E. rubida* مرحله کروی (a)، اتمام مرحله کروی و ورود به مرحله قلبی (b)، شروع مرحله قلبی (c)،مرحله قلبی (d)، مرحله اژدری (e)..... 60

شکل 3- 27: کالوس‌ها در محیط کشت سوسپانسیون (a)، کالوس گلوبولار در محیط کشت سوسپانسیون (b)..... 61
شکل 3-28: نمودار مقایسه تیمارهای هورمونی Kinetine و 2,4-D (جدول 2-4) از نظر کیفیت کالوس در گونه *E. rubida*..... 63
شکل 3-29: نمودار مقایسه تیمارهای هورمونی Kinetine و 2,4-D (جدول 2-4) از نظر کیفیت کالوس در ریزنمونه‌های ریشه و هیپوکوتیل در گونه *E. rubida*..... 64
شکل 3-30: نمودار مقایسه تیمارهای هورمونی Kinetine و 2,4-D (جدول 2-4) از نظر اندام‌زایی کالوس در گونه *E. rubida*..... 64
شکل 3-31: نمودار مقایسه تیمارهای هورمونی Kinetine و 2,4-D (جدول 2-4) از نظر اندام‌زایی در ریزنمونه‌های ریشه و هیپوکوتیل در گونه *E. rubida*..... 65
شکل 3-32: نمودار مقایسه تیمارهای هورمونی Kinetine و 2,4-D (جدول 2-4) از نظر جنین‌زایی از کالوس در گونه *E. rubida*..... 65
شکل 3-33: نمودار مقایسه تیمارهای هورمونی Kinetine و 2,4-D (جدول 2-4) از نظر جنین‌زایی از کالوس در ریزنمونه‌های ریشه و هیپوکوتیل در گونه *E. rubida*..... 66
شکل 3-34: نمودار مقایسه تیمارهای هورمونی Kinetine و 2,4-D (جدول 2-4) از نظر کیفیت کالوس در گونه *E. saligna*..... 68
شکل 3-35: نمودار مقایسه تیمارهای هورمونی Kinetine و 2,4-D (جدول 2-4) از نظر کیفیت کالوس در ریزنمونه‌های ریشه و هیپوکوتیل در گونه *E. saligna*..... 68
شکل 3-36: نمودار مقایسه تیمارهای هورمونی Kinetine و 2,4-D (جدول 2-4) از نظر اندام‌زایی کالوس در گونه *E. saligna*..... 69
شکل 3-37: نمودار مقایسه تیمارهای هورمونی Kinetine و 2,4-D (جدول 2-4) از نظر اندام‌زایی در ریزنمونه‌های ریشه و هیپوکوتیل در گونه *E. saligna*..... 69
شکل 3-38: نمودار مقایسه تیمارهای هورمونی Kinetine و 2,4-D (جدول 2-4) از نظر جنین‌زایی از کالوس در گونه *E. saligna*..... 70
شکل 3-39: نمودار مقایسه تیمارهای هورمونی Kinetine و 2,4-D (جدول 2-4) از نظر جنین‌زایی از کالوس در ریزنمونه‌های ریشه و هیپوکوتیل در گونه *E. saligna*..... 70

شکل 3-40: مراحل رشد و تکامل کالوس‌های حاصل از ریزنمونه ریشه در تیمار 12(2 Kin: ،2 :2,4-D و آبسیزیک اسید) در گونه *E. saligna* 4 هفته پس از انتقال (a)، 5 هفته پس از انتقال (b)، 6 هفته پس از انتقال (c) 72
شکل 3-41: مراحل رشد و تکامل کالوس‌های خاصل از ریزنمونه ریشه پس از انتقال از تیمار 12(2 Kin: ،2 :2,4-D و آبسیزیک اسید) به تیمار 39 (آبسیزیک اسید) در در گونه *E. saligna*..... 75
شکل 3-42: نتایج حاصل از کشت ریزنمونه هیوکوتیل و ریشه در محیط حاوی NAA که بدون تولید کالوس مستقیما به سمت ریشه‌زایی میل کرد در گونه *E. rubida*..... 77
شکل 3-43: گیاهچه‌های حاصل از کشت بذرگونه *E.rubida* (a)، گونه *E. saligna* (b)..... 79
شکل 3-44: شاخه‌زایی گیاهچه‌های حاصل از بذر به صورت روزتی گونه *E.rubida* (a)، گونه *E. saligna* (b)..... 80
شکل 3-45: انتقال گیاهچه‌ها به محیط کشت MS پایه جهت رشد طولی شاخه گونه *E.rubida* (a)، گونه *E. saligna* (b)..... 82
شکل 3-46: سرشاخه‌های کاشته شده در محیط اولیه و رشد جوانه‌های آنها در گونه *E. rubida*..... 85
شکل 3-47: سرشاخه‌های منتقل شده به محیط ثانویه در گونه *E. rubida*..... 85

2,4-D	2,4-dichloro phenoxy acetic acid
BAP	4-6-benzyl amino purine
2ip	6-γ- γ-Dimethylallylamino-purine
ABA	Abscisic acid
C°	Degree Celsius
Na_2 –EDTA	Ethylene diamine tetra acetic acid
GA3	Gibberellic acid 3
gr/l	Gram per liter
IBA	indole-3-butyric acid
Kin	Kinetin, 6-furfurylaminopurine
mg/l	Milligram per liter
MS	Murashinge and Skoog
NAA	naphthalene acetic acid
Ns	Not significant
%	Percentage
SAS	Statistical Analysis System
TDZ	Thidiazuron
V/V	Volume per Volume
W/V	Weight per Volume

مقدمه

1 - 1 پیش‌گفتار

ایران به لحاظ تنوع گونه‌ای و گیاهی و ذخایر ژنتیکی گیاهی در جهان از جمله کشورهای کم‌نظیر و استثنایی می‌باشد. ولی در مقایسه با سایر نقاط دنیا به لحاظ پوشش جنگلی، کشوری فقیر محسوب می‌گردد چرا که وسعت جنگل‌های ایران 12/4 میلیون هکتار است که 7/4% از سطح کل کشور را دربر می‌گیرد. اما با وجود وسعت کم جنگلها شرایط طبیعی و موقعیت جغرافیایی ایران طوری است که این کشور را در تقاطع سه منطقه گیاهی مهم، شامل منطقه ایران و تورانی، منطقه هیرکانی و منطقه صحارا-سندی قرار داده است. بر اساس همین مطالعات، تعداد گونه‌های گیاهی ایران در حدود 8000 گونه برآورد شده و در واقع تنوع اقلیمی به ویژه از دیدگاه زمین‌ساختی در این