

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشگاه تربیت مدرس
دانشکده کشاورزی
گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی

پایان نامه دوره کارشناسی ارشد اصلاح نباتات

نگهداری جنین‌های زیگوتی برنج (*Oryza sativa* L.) در شرایط حفاظت انجمادی

نگارنده

سیده زهرا طباطبایی پور

استاد راهنما

دکتر احمد معینی





استاد مشاور

دکتر محمد صادق ثابت

اسفند ۱۳۹۲

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

اعضای هیأت داوران نسخه ی نهائی پایان نامه خانم/آقای سیده زهرا طباطبایی پور تحت عنوان :
نگهداری جنین‌های زیگوتی برنج (*Oryza sativa*) در شرایط حفاظت انجمادی
را از نظر فرم و محتوی بررسی نموده و
پذیرش آن را برای تکمیل درجه کارشناسی ارشد پیشنهاد می کنند.

امضاء	رتبه ی علمی	نام و نام خانوادگی	اعضای هیأت داوران
	دانشیار	دکتر احمد معینی	۱- استاد راهنما
	استادیار	دکتر محمد صادق ثابت	۲- استاد مشاور
	استادیار	دکتر سجاد رشیدی منفرد	۳- نماینده شورای تحصیلات تکمیلی
	دانشیار	دکتر قاسمعلی گروسی	۴- اساتید ناظر: ۱- داخلی ۲- خارجی

آیین‌نامه 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 دانشجو 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، نرم افزار و یا آثار ویژه (اثری هنری مانند فیلم، عکس، نقاشی و نمایشنامه) 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 آئین‌نامه 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 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 سیده زهرا طباطبایی پور دانشجوی رشته اصلاح نباتات ورودی سال تحصیلی ۱۳۹۰ مقطع کارشناسی ارشد دانشکده کشاورزی متعهد می شوم کلیه نکات مندرج در آئین‌نامه حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهش‌های علمی دانشگاه تربیت مدرس را در انتشار یافته‌های علمی مستخرج از پایان‌نامه / رساله تحصیلی خود رعایت نمایم. در صورت تخلف از مفاد آئین‌نامه فوق‌الاشعار به دانشگاه وکالت و نمایندگی می‌دهم که از طرف اینجانب نسبت به لغو امتیاز اختراع بنام بنده و یا هر گونه امتیاز دیگر و تغییر آن به نام دانشگاه اقدام نماید. ضمناً نسبت به جبران فوری ضرر و زیان حاصله بر اساس برآورد دانشگاه اقدام خواهم نمود و بدینوسیله حق هر گونه اعتراض را از خود سلب نمودم»

امضا: ۱۳۹۲/۱۲/۱۹

تاریخ:



آیین نامه چاپ پایان نامه (رساله) های دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان نامه (رساله) های تحصیلی دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس، مبین بخشی از فعالیتهای 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 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 اصلاح نباتات است که در سال ۱۳۹۲ در دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس به راهنمایی جناب آقای دکتر احمد معینی و مشاوره جناب آقای دکتر محمد صادق ثابت 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 اهدا 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، تأدیه کند.

ماده ۵: دانشجو تعهد و قبول می کند در صورت خودداری از پرداخت بهای خسارت، دانشگاه می تواند خسارت 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 سیده زهرا طباطبایی پور دانشجوی رشته اصلاح نبات مقطع کارشناسی ارشد تعهد فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده، به آن ملتزم می شوم.

نام و نام خانوادگی: سیده زهرا طباطبایی پور

تاریخ و امضا: ۱۳۹۲/۳/۱۹



تقدیم به :

پدر و مادر عزیزم...

این دو معلم بزرگوار... که همواره بر کوتاهی و درشتی من، قلم عفو کشیده و کریمانه از کنار غفلت‌هایم

گذشته‌اند و در تمام عرصه‌های زندگی یار و یآوری بی چشم داشت برای من بوده‌اند.

در برابر وجود گرامیشان زانوی ادب به زمین می‌نهم و با دلی مالمال از عشق و محبت بر دستان پر

مهرشان بوسه میزنم.

سپاس خدای را که هر چه دارم از اوست.

سپاس و ستایش خدای را جل و جلاله که آثار قدرت او بر چهره روز روشن، تابان است و انوار حکمت او در دل شب تار، درفشان. آفریدگاری که خویشتن را به ما شناساند و درهای علم را بر ما گشود و عمری و فرصتی عطا فرمود تا بدان، بنده ضعیف خویش را در طریق علم و معرفت بیازماید.

اکنون که به لطف خداوند مراحل انجام تحقیق به پایان رسیده است، لازم می‌دانم مراتب سپاس قلبی خود را به تمام عزیزانی که در انجام این پایان نامه مرا یاری کرده‌اند، تقدیم کنم.

از استاد بزرگوارم جناب آقای دکتر احمد معینی که با پشتکار و تلاش زاید الوصف، دلسوزانه و با خلوص نیت برای این مهم زحمت زیادی کشیدند و در تمام طول تحصیل از راهنمایی‌های ارزنده و بی‌دریغ ایشان بهره‌مند شدم، صمیمانه تشکر و قدردانی می‌نمایم.

همچنین از استاد مشاور محترم جناب آقای دکتر محمد صادق ثابت به خاطر مشاوره پایان‌نامه کمال سپاس و ارادت را دارم و مراتب سپاس خود را به حضور اساتید محترم آقایان دکتر قاسم کریم زاده، دکتر مختار جلالی جواران، دکتر حمید دهقانی، دکتر سید رضاقلی میرفخرایی، دکتر سجاد رشیدی منفرد و دکتر حسین میرزایی ندوشن تقدیم می‌دارم.

سپاس بیکران بر همدلی و همراهی و همگامی خواهر و برادر گرامیم که همواره در طول تحصیل متحمل زحماتم بودند و تکیه‌گاه من در مواجهه با مشکلات، و وجودشان مایه دلگرمی من می‌باشد. باشد که این خردترین، بخشی از زحمات آنان را سپاس گوید.

جا دارد از همه آموزگاران، استادان و همه کسانی که در زندگی به گونه‌ای یاری‌گر من بوده‌اند مراتب خاکساری و ارادت خود را ابراز دارم. بار خدایا اگر زنده‌اند به آنان تندرستی، نیک فرجامی و عمری پر خیر ارزانی دار و اگر رفته‌اند به مهرت از کمبودهایشان درگذر و بیامرز.

چکیده

برنج (*Oryza sativa* L.)، مهم‌ترین گیاه غله جهان بعد از گندم و ذرت است و بعد از گندم، مهم‌ترین غله در رژیم غذایی مردم ایران می‌باشد. حفظ و نگهداری ژرم‌پلاسما برنج ایران به‌عنوان منابع ژنتیکی بسیار ارزشمند جهت استفاده در برنامه‌های اصلاحی برنج و نیز امکان تبادل مواد ژنتیکی با منابع خارجی بسیار ضروری است. حفاظت انجمادی یکی از جدیدترین روش‌ها برای نگهداری تنوع ژنتیکی و نگهداری ژرم‌پلاسماهای مهم است. در این روش، نمونه‌های زیستی (سلول‌های زنده، بافت‌ها یا اندام‌ها) در نیتروژن مایع با دمای 196°C - نگهداری می‌شوند. در این تحقیق، حفاظت انجمادی جنین‌های زیگوتی ۷ رقم برنج بومی و اصلاح شده به دو روش شیشه‌ای کردن و خشک کردن بررسی شده است. این پژوهش به‌صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با ۳ تکرار انجام شد. جنین‌ها به مدت ۱، ۷ و ۳۰ روز در دمای 196°C - در ازت مایع نگهداری شدند. پس از گذراندن دوره انجماد، جنین‌ها از محیط ازت مایع خارج شده و به مدت ۱ min در دمای 38°C قرار داده شدند. سپس جنین‌ها به محیط کشت MS منتقل شدند. جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌های حاصل از جنین‌های تیمارهای مختلف پس از ۱۰ روز بررسی شد و برای این منظور طول ریشه‌چه، نوساقه و گیاهچه اندازه‌گیری شدند. نتایج آزمایش حفاظت انجمادی جنین‌های زیگوتی برنج با استفاده از روش شیشه‌ای کردن نشان داد که در بین ارقام مورد مطالعه در اکثر صفات تفاوت معنی‌داری وجود دارد ولی در مورد صفت درصد جوانه‌زنی نهایی تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. در اکثر صفات مورد بررسی، در بین مدت زمان نگهداری نمونه‌ها در ازت مایع تفاوت معنی‌داری وجود نداشت ولی نسبت به شاهد کاهش معنی‌دار بود. همچنین نتایج بررسی حفاظت انجمادی جنین‌های زیگوتی برنج با استفاده از روش خشک کردن نشان داد که در بین ارقام مختلف در تمام صفات بررسی شده تفاوت معنی‌دار وجود داشت. اثر مدت زمان نگهداری در ازت مایع (۱، ۷ و ۳۰ روز و شاهد) فقط در صفت سرعت جوانه‌زنی معنی‌دار بود. بطورکلی، هیچ‌گونه فنوتیپ غیرطبیعی در هر دو آزمایش مشاهده نشد.

واژه‌های کلیدی: حفاظت انجمادی، برنج، جنین‌های زیگوتی، شیشه‌ای کردن، خشک کردن

فهرست مطالب

فصل اول مقدمه	۱
۱- مقدمه	۲
فصل دوم بررسی منابع	۴
۲- بررسی منابع	۵
۱-۲- ویژگی‌های عمومی برنج	۵
۱-۱-۲- معرفی و ویژگی‌های گیاه‌شناسی برنج	۵
۲-۱-۲- خصوصیات مورفولوژیک برنج	۶
۲-۲- تاریخچه کشت برنج	۶
۳-۲- پیشینه کشت برنج در جهان و ایران	۷
۴-۲- سطح زیر کشت و میزان تولید برنج در جهان و ایران	۷
۵-۲- اهمیت ارقام بومی	۸
۶-۲- ذخایر توارثی (ژرم‌پلاسم) گیاهی	۹
۱-۶-۲- حفاظت ذخایر توارثی گیاهی	۱۰
۲-۶-۲- جمع‌آوری ژرم‌پلاسم‌های گیاهی	۱۱
۳-۶-۲- حفاظت منابع ژنتیکی	۱۲
۱-۳-۶-۲- نگهداری منابع ژنتیکی گیاهی از طریق کشت بافت با سرعت کنترل شده	۱۴
۷-۲- تاریخچه حفاظت انجمادی	۱۵
۱-۷-۲- مبانی تئوری حفاظت انجمادی	۱۵
۲-۷-۲- استفاده از روش حفاظت انجمادی برای نگهداری انواع سلول‌ها	۱۶
۸-۲- مراحل مختلف روش حفاظت انجمادی	۱۸
۱-۸-۲- انتخاب و تهیه مواد گیاهی	۱۸
۲-۸-۲- پیش تیمار	۱۹
۳-۸-۲- انجماد	۲۰
۴-۸-۲- نگهداری مواد گیاهی در شرایط حفاظت انجمادی	۲۲

- ۲۳..... ۲-۸-۵- ذوب شدن
- ۲۳..... ۲-۸-۶- پس تیمار
- ۲۴..... ۲-۸-۷- برآورد زنده‌مانی
- ۲۶..... ۲-۹-۹- اساس بیوفیزیکی حفاظت انجمادی
- ۲۶..... ۲-۹-۱- روش‌های مختلف آب‌گیری
- ۲۶..... ۲-۹-۱-۱- کاهش آب سلول با استفاده از مواد شیمیایی
- ۲۷..... ۲-۹-۱-۲- آب‌گیری در مجاورت هوا
- ۲۷..... ۲-۱۰-۱۰- روش‌های نگهداری اندام و بذر گیاهان در شرایط انجماد
- ۲۸..... ۲-۱۰-۱- انجماد دو مرحله‌ای
- ۲۹..... ۲-۱۰-۲- خشک‌کردن (آب‌گیری)
- ۲۹..... ۲-۱۰-۳- پوشش‌دار کردن - خشک‌کردن
- ۳۱..... ۲-۱۰-۴- گلیسرول
- ۳۲..... ۲-۱۰-۵- پیش رشد
- ۳۲..... ۲-۱۰-۶- پیش رشد - آب‌گیری
- ۳۲..... ۲-۱۰-۷- انجماد قطره‌ای
- ۳۳..... ۲-۱۰-۸- شیشه‌ای کردن
- ۳۷..... ۲-۱۰-۹- پوشش‌دار کردن - شیشه‌ای کردن
- ۳۷..... ۲-۱۰-۱۰- شیشه‌ای کردن قطره‌ای
- ۳۸..... ۲-۱۱-۱۱- نگهداری ذخایر توارثی گیاهی در شرایط انجماد
- ۴۳..... ۲-۱۲-۱۲- کشت جنین زیگوتی
- ۴۳..... ۲-۱۲-۱- انواع کشت جنین زیگوتی
- ۴۴..... ۲-۱۲-۲- عوامل محیطی مؤثر در موفقیت کشت جنین
- ۴۵..... ۲-۱۲-۳- موارد کاربرد کشت جنین
- ۴۶..... ۲-۱۳-۱۳- مروری بر مطالعات انجام شده بر روی حفاظت انجمادی برنج
- ۴۶..... ۲-۱۳-۱- تحقیقات انجام شده در ایران

۴۶	۲-۱۳-۲- تحقیقات انجام شده در سطح بین‌الملل.....
۴۹	فصل سوم مواد و روش‌ها.....
۵۰	۳- مواد و روش‌ها.....
۵۰	۳-۱- تهیه مواد و وسایل.....
۵۰	۳-۱-۱- مواد گیاهی.....
۵۰	۳-۱-۲- مواد شیمیایی.....
۵۰	۳-۱-۳- وسایل و تجهیزات مورد نیاز جهت انجام آزمایش حفاظت انجمادی.....
۵۱	۳-۱-۴- وسایل مورد نیاز جهت ضدعفونی، کشت جنین و کشت بذور.....
۵۲	۳-۱-۵- وسایل و مواد مورد نیاز برای کشت هیدروپونیک و کشت گیاهچه‌ها در خاک.....
۵۳	۳-۲- پوست‌کنی و ضدعفونی کردن بذور و جداکردن جنین‌های زیگوتی.....
۵۴	۳-۳- تعیین وزن هزاردانه و قوه نامیه بذور.....
۵۴	۳-۴- اندازه‌گیری قوه نامیه جنین‌ها.....
۵۵	۳-۵- آزمایش حفاظت انجمادی جنین زیگوتی برنج بوسیله روش شیشه‌ای کردن.....
۵۶	۳-۵-۱- ذوب شدن.....
۵۶	۳-۵-۲- باززایی گیاه از جنین‌ها بعد از حفاظت انجمادی.....
۵۶	۳-۵-۳- شرایط نگهداری کشت جنین‌ها پس از حفاظت انجمادی.....
۵۷	۳-۵-۴- سازگار کردن گیاهان با شرایط برون شیشه‌ای.....
۵۹	۳-۶- آزمایش حفاظت انجمادی جنین‌های زیگوتی برنج بوسیله روش خشک کردن.....
۵۹	۳-۶-۱- ذوب شدن.....
۶۰	۳-۷- آزمایش حفاظت انجمادی بر روی بذور برنج.....
۶۱	۳-۸- صفات بررسی شده در این پژوهش.....
۶۲	۳-۹- تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها.....
۶۳	فصل چهارم نتایج و بحث.....
۶۴	۴- نتایج و بحث.....
۶۴	۴-۱- نتایج بررسی قوه نامیه بذور و جنین‌ها و درصد رطوبت جنین.....

۶۵	۲-۴- آزمایش حفاظت انجمادی جنین‌های زیگوتی برنج به روش شیشه‌ای کردن
۶۵	۲-۴-۱- نتایج
۷۵	۲-۴-۲- بحث
۷۸	۳-۴- آزمایش حفاظت انجمادی جنین‌های زیگوتی برنج به روش خشک کردن
۷۸	۳-۴-۱- نتایج
۸۵	۳-۴-۲- بحث
۸۷	۴-۴- مقایسه دو روش شیشه‌ای کردن و خشک کردن
۸۸	۴-۵- آزمایش بررسی حفاظت انجمادی روی بذور برنج
۸۸	۴-۵-۱- نتایج
۹۴	۴-۵-۲- بحث آزمایش حفاظت انجمادی بر روی بذور برنج
۹۶	۴-۶- نتیجه‌گیری کلی
۹۷	۴-۷- پیشنهادها
۹۸	منابع
۱۱۰	ضمائم

فهرست جدول‌ها

- جدول ۳-۱- ترکیب محلول PVS2 ۵۵
- جدول ۳-۲- ترکیب محیط کشت MS ۵۷
- جدول ۳-۳- ترکیب محلول هوگلند ۵۸
- جدول ۴-۱- وزن هزاردانه و قوه نامیه بذور ارقام مورد مطالعه ۶۴
- جدول ۴-۲- میزان رطوبت و قوه نامیه جنین بذور ارقام مورد مطالعه ۶۵
- جدول ۴-۳- تجزیه واریانس اثرات رقم برنج و مدت زمان نگهداری جنین‌های زیگوتی برنج در ازت مایع به روش شیشه‌ای کردن بر روی صفات مورد مطالعه ۶۸
- جدول ۴-۴- تجزیه واریانس اثرات رقم برنج و مدت زمان نگهداری جنین‌های زیگوتی برنج در ازت مایع به روش خشک کردن بر روی صفات مورد مطالعه ۷۹
- جدول ۴-۵- مقایسه دو روش شیشه‌ای کردن و خشک کردن ۸۸
- جدول ۴-۶- تجزیه واریانس اثرات رقم برنج و روش نگهداری بذور *O. sativa* در ازت مایع ۸۹

فهرست شکل‌ها

- شکل ۱-۲- گیاه و بذر برنج ۶
- شکل ۱-۳- تانک ازت مایع به همراه کانیستر ۵۱
- شکل ۲-۳- جنین جدا شده از بذر برنج ۵۳
- شکل ۱-۴- باززایی نوساقه از جنین ۶۶
- شکل ۲-۴- باززایی گیاهچه‌های برنج از جنین‌های زیگوتی ۶۷
- شکل ۳-۴- گیاهچه‌های سازگار شده با شرایط برون شیشه‌ای ۶۷
- شکل ۴-۴- گیاهچه‌های ایجاد شده در شرایط کشت هیدروپونیک ۶۸
- شکل ۵-۴- مقایسه میانگین ارقام مورد مطالعه برای صفت سرعت جوانه‌زنی (تعداد جنین جوانه زده در روز) ۶۹
- شکل ۶-۴- مقایسه میانگین ارقام مورد مطالعه برای صفت طول ریشه‌چه (mm) ۷۰
- شکل ۷-۴- مقایسه میانگین ارقام مورد مطالعه برای صفت طول گیاهچه (mm) ۷۰
- شکل ۸-۴- مقایسه میانگین ارقام مورد مطالعه برای صفت نسبت طول ریشه‌چه به طول نوساقه ۷۱
- شکل ۹-۴- مقایسه میانگین ارقام مورد مطالعه برای صفت شاخص بنیه جنین ۷۱
- شکل ۱۰-۴- مقایسه میانگین اثر مدت زمان نگهداری جنین‌های زیگوتی در ازت مایع برای صفت درصد جوانه‌زنی نهایی ۷۲
- شکل ۱۱-۴- مقایسه میانگین اثر مدت زمان نگهداری جنین‌های زیگوتی در ازت مایع برای صفت سرعت جوانه‌زنی (تعداد جنین جوانه زده در روز) ۷۳
- شکل ۱۲-۴- مقایسه میانگین اثر مدت زمان نگهداری جنین‌های زیگوتی در ازت مایع برای صفت طول ریشه‌چه (mm) ۷۳
- شکل ۱۳-۴- مقایسه میانگین اثر مدت زمان نگهداری جنین‌های زیگوتی در ازت مایع برای صفت طول گیاهچه (mm) ۷۴
- شکل ۱۴-۴- مقایسه میانگین اثر مدت زمان نگهداری جنین‌های زیگوتی در ازت مایع برای صفت شاخص بنیه جنین ۷۴
- شکل ۱۵-۴- مقایسه میانگین ترکیبات تیماری رقم × مدت زمان نگهداری جنین‌های زیگوتی در ازت مایع برای صفت میانگین طول نوساقه (mm) ۷۵
- شکل ۱۶-۴- مقایسه میانگین ارقام مورد مطالعه برای صفت سرعت جوانه‌زنی (تعداد جنین جوانه زده در روز) ۸۰
- شکل ۱۷-۴- مقایسه میانگین ارقام مورد مطالعه برای صفت نسبت طول ریشه‌چه به طول نوساقه ۸۱

- شکل ۴-۱۸- مقایسه میانگین اثر مدت زمان نگهداری جنین‌های زیگوتی در ازت مایع برای صفت سرعت جوانه‌زنی (تعداد جنین جوانه زده در روز) ۸۲
- شکل ۴-۱۹- مقایسه میانگین ترکیبات تیماری رقم × مدت زمان نگهداری جنین‌های زیگوتی در ازت مایع برای صفت میانگین طول ریشه‌چه (mm) ۸۳
- شکل ۴-۲۰- مقایسه میانگین ترکیبات تیماری رقم × مدت زمان نگهداری جنین‌های زیگوتی در ازت مایع برای صفت میانگین طول نوساقه (mm) ۸۴
- شکل ۴-۲۱- مقایسه میانگین ترکیبات تیماری رقم × مدت زمان نگهداری جنین‌های زیگوتی در ازت مایع برای صفت میانگین طول گیاهچه (mm) ۸۴
- شکل ۴-۲۲- مقایسه میانگین ترکیبات تیماری رقم × مدت زمان نگهداری جنین‌های زیگوتی در ازت مایع برای صفت میانگین شاخص بنیه جنین ۸۵
- شکل ۴-۲۳- مقایسه میانگین اثر روش نگهداری بذور در ازت مایع برای صفت نسبت طول ریشه‌چه به طول نوساقه ۹۰
- شکل ۴-۲۴- مقایسه میانگین ترکیبات تیماری رقم × روش نگهداری بذور در ازت مایع برای صفت سرعت جوانه‌زنی (تعداد بذر جوانه زده در روز) ۹۲
- شکل ۴-۲۵- مقایسه میانگین ترکیبات تیماری رقم × روش نگهداری بذور در ازت مایع برای صفت میانگین طول ریشه‌چه (mm) ۹۲
- شکل ۴-۲۶- مقایسه میانگین ترکیبات تیماری رقم × روش نگهداری بذور در ازت مایع برای صفت میانگین طول نوساقه (mm) ۹۳
- شکل ۴-۲۷- مقایسه میانگین ترکیبات تیماری رقم × روش نگهداری بذور در ازت مایع برای صفت میانگین طول گیاهچه (mm) ۹۳
- شکل ۴-۲۸- مقایسه میانگین ترکیبات تیماری رقم × روش نگهداری بذور در ازت مایع برای صفت میانگین شاخص بنیه بذر ۹۴

فصل اول

مقدمه

۱- مقدمه

برنج (*Oryza sativa* L.)، مهم‌ترین گیاه غله جهان بعد از گندم و ذرت است. برنج ۲۴ گونه دارد که ۲۲ گونه آن وحشی و ۲ گونه *O. sativa* و *O. glaberrima* زراعی می‌باشند (Ravathi and Pillia, 2011). گونه *O. sativa* در ایران دارای سه گروه صدری، چمپا و گرده است که ارقام بومی و محلی ایران هستند. ارقام اصلاح‌شده از تلاقی این ارقام با هم و یا با ارقام Japonica و Indica بدست می‌آیند (خدابنده، ۱۳۷۹). برنج زراعی بعد از گندم، مهم‌ترین غله در رژیم غذایی مردم ایران می‌باشد و سالانه بالغ بر ۴۰۰ میلیون دلار صرف واردات حدود یک میلیون تن از این محصول می‌شود (میردریکوند و همکاران، ۱۳۸۲). تنوع ژنتیکی، اساس و پایه کار اصلاح نباتات است، یک اصلاح‌کننده گیاه در صورتی می‌تواند موفقیت زیادی در برنامه اصلاحی خود داشته باشد که تنوع مناسب برای او موجود باشد. همگام با پیشرفت برنامه‌های اصلاحی، کاهش تنوع در بسیاری از گونه‌های گیاهی از جمله برنج مشاهده شده است. حفظ و نگهداری ژرم‌پلاسم در حقیقت از مهم‌ترین منابع و ثروت‌های هر کشور است که از اهمیت خاصی برخوردار است.

ارقام بومی با شرایط خاص طبیعی و اجتماعی پیرامون خود سازگار شده و در مقابل تنش‌های زیستی و غیرزیستی مقاوم هستند. ارقام بومی برنج از منابع ژنی مقاومت در مقابل آفات و بیماری‌ها برخوردار هستند. همچنین ارقام محلی از نظر عطر، طعم و سایر ویژگی‌های کیفی مانند دم‌کشیدن وضعیت مطلوبی دارند و حتی برخی از آن‌ها دارای خواص داروئی می‌باشند (امیری اردکانی، ۱۳۸۶).

در سال‌های اخیر، علاوه بر روش‌های مرسوم و کلاسیک، استفاده چشمگیری از توانمندی‌های زیست‌فناوری در راستای حفظ و حراست از گونه‌های گیاهی صورت گرفته است. یکی از اصلی‌ترین و

موفق‌ترین روش‌های نگهداری درازمدت ژرم‌پلاسم حفاظت انجمادی^۱ می‌باشد (Benson, 2008; Wang et al., 2012). در این فن‌آوری ذخایر توارثی گیاهی از قبیل بذور، جنین‌های زیگوتی و سوماتیکی، مریستم و اندام‌های رویشی و سایر اندام‌های گیاه در شرایط انجماد یا در محیط ازت مایع با دمای °C ۱۹۶- نگهداری می‌شود که تحولی در حفاظت از گونه‌های گیاهی است (Lambardi et al., 2005). حفاظت از ژرم‌پلاسم گیاهی بخش مهمی از برنامه‌های اصلاحی است و لاین‌ها، ژرم‌پلاسم‌های بومی و حتی بسیاری از نتاج با صفات برجسته می‌توانند توسط این روش حفاظت شوند (Shuji et al., 1992). حفاظت انجمادی به عنوان یک پشتیبان ثانویه برای مجموعه‌های اولیه از گیاهانی که به‌صورت کلونی تکثیر می‌شوند یا به عنوان یک سیستم مطمئن برای نگهداری پتانسیل جنین‌زایی یا پتانسیل متابولیکی کشت‌های مهم و باارزش است (Reed, 2008).

لازم به ذکر است که روش‌های کلاسیک حفاظت از گونه‌ها مانند باغ‌های گیاه‌شناسی و بانک‌های بذر در مقایسه با روش حفاظت انجمادی پرهزینه‌تر هستند و با خطراتی مانند شیوع آفات و بیماری‌ها، آتش‌سوزی و خشکسالی همراه می‌باشند (Lambardi et al., 2005).

حفظ و نگهداری ژرم‌پلاسم برنج ایران به عنوان منابع ژنتیکی بسیار ارزشمند جهت اصلاح تولید محصول برنج و نیز امکان تبادل مواد ژنتیکی با ارزش با منابع خارجی جهت غنی‌سازی و توسعه زمینه ژنتیکی برنج در کشور اهمیت فراوانی دارد، لذا حفظ منابع ژنتیکی برنج کشور بسیار ضروری است. لذا در راستای حفظ و نگهداری منابع ژنتیکی برنج کشور، پژوهش حاضر با هدف بررسی امکان حفاظت انجمادی جنین‌های زیگوتی چند رقم بومی و اصلاح شده ایرانی انجام شده است.

¹ Cryopreservation

فصل دوم

بررسی منابع

۲- بررسی منابع

۲-۱- ویژگی‌های عمومی برنج

۲-۱-۱- معرفی و ویژگی‌های گیاه‌شناسی برنج

برنج یکی از مهم‌ترین گیاهان زراعی در جهان محسوب می‌شود. جنس *Oryza* از تیره گندمیان^۱، طایفه Oryzae و از خانواده Poaceae می‌باشد. برنج (*Oryza sativa*) گونه‌ای عموماً دیپلوئید ($2n = 2x = 24$) بوده و تعداد کمی از گونه‌های آن نیز تتراپلوئید ($2n = 4x = 48$) می‌باشند. برنج گیاهی یک‌ساله، علفی و خودگشن می‌باشد. ارتفاع برنج بسته به رقم تا حدود ۱/۵ m می‌رسد. از نظر مورفولوژی دانه یا میوه برنج، گندمه^۲ است که پوست دانه شامل لما و پالئا^۳ می‌باشد که با حاشیه قلاب مانند به هم متصل می‌شوند. برنج پوست کنده از قسمت‌های زیر تشکیل می‌شود:

الف- سه پوشش به نام‌های پریکارپ^۴، پوسته بذر^۵ و نوسلوس^۶

ب- غشاء آلورون که روی آندوسپرم نشاسته‌ای را می‌پوشاند.

ج- جنین که شامل پوشش‌های اسکوتلوم^۷، اپی‌بلاست^۸، ساقه‌چه^۹، ریشه‌چه^{۱۰} و اندام رابط بین

ساقه‌چه و ریشه‌چه^{۱۱} است. در محل اتصال دانه به خوشه راشیل^{۱۲} و لماهای عقیم دیده می‌شود و آخرین

انشعابات خوشه که حامل دانه هستند، پدیكال^{۱۳} نامیده می‌شود (شکل ۱-۲) (خدابنده، ۱۳۷۹).

¹ Gramineae

² Caryopsis

³ Lemma and Palea

⁴ Pericarp

⁵ Seed Coat

⁶ Nucellus

⁷ Scutellum

⁸ Epiblast

⁹ Plumule

¹⁰ Radicle

¹¹ Mesocotile

¹² Rachilla

¹³ Pedicall