دانشگاه شاهرود

دانشکده کشاورزی

گروه زراعت و اصلاح نبات- بیوتکنولوژی

پایان نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد

تاثیر تنظیم کننده های رشد گیاهی بر کالوس زایی و باززایی درون شیشه‌ای گیاه زردآلو (*Prunus armeniaca*)

دانشجو:

علی مظهری نیا

اساتید راهنما:

دکتر شاهرخ قرنجیک

دکتر مهدی رضایی

استاد مشاور:

مهندس مهدی رحیمی

شهریور ۱۳۹۳

سپاس و ستایش خداوندی را سزاست که کسوت هستی را بر اندام موزون آفرینش بپوشانید و تجلیات قدرت لایتزالی را در مظاهر و آثار طبیعت نمایان گردانید.

(من لم یشکرالمخلوق لم یشکر الخالق)

برخود لازم می‌دانم ازکلیه کسانی که بنده را در انجام، تدوین و نگارش این پایان نامه یاری نمودند صمیمانه تشکر و قدردانی نمایم. به خصوص ازاساتید شایسته و راهنما جناب آقای دکتر شاهرخ قرنجیک و دکتر مهدی رضایی که همواره درکمال سعه صدر، راهنما و راه‌گشای اینجانب در اتمام واکمال پایان نامه بودند، از جناب آقای مهندس رحیمی که زحمت مشاوره این پایان نامه را در حالی متقبل شدند که بدون مساعدت ایشان ، این پروژه به نتیجه مطلوب نمی‌رسید، اساتید دلسوز جناب آقای دکتر ناصر فرخی و سرکار خانم دکتر قسیمی که زحمت داوری این پایان نامه را متقبل شدند، کارشناسان آزمایشگاه سرکار خانم ها مهندس احمدی، مهندس عبداللهی و آقایان مهندس حسین مطهری نژاد، مهندس ابراهیم حسینی پور، مهندس غلامرضا شاکری، مهندس حسن گلی، کارمندان محترم دانشکده کشاورزی آقایان موسی الرضا عرب‌اسدی، مهدی بیاری، آقاحسینی و همچنین دوستان عزیزم به خصوص مهندس ایمان اکبری و دیگر عزیزانی که مرا در انجام این پایان نامه یاری نمودند تشکر و قدردانی نمایم.

امیدوارم بتوانم در آینده جوابگوی این همه محبت آنها باشم.

علی مظهری نیا

مرداد ۱۳۹۳

شکر و سپاس خدا را که بزرگترین امید و یاور در لحظه لحظه زندگیست...

ماحصل آموخته‌هایم را تقدیم می‌کنم به

مقدس‌ترین واژه‌ها در لغت‌نامه دلم، مادر مهربانم که زندگیم را مدیون مهر و عطوفت او می‌دانم،

پدرم، مهربانی مشفق، حامی و بردبار

خواهر عزیزم همراه همیشگیم

و خواهرزاده‌های شیرینم امیرمحمد و امیرعلی

تعهد نامه

اینجانب علی مظهری نیا **دانشجوی دوره کارشناسی ارشد رشته** بیوتکنولوژی کشاورزی **دانشکده** کشاورزی **دانشگاه صنعتی شاهرود نویسنده پایان نامه** تاثیر تنظیم کننده های رشد گیاهی بر کالوس زایی و باززایی درون شیشه‌ای گیاه زردآلو (*Prunus armeniaca*) **تحت راهنمائی** دکتر شاهرخ قرنجیک **متعهد می شوم.**

- **تحقیقات در این پایان نامه توسط اینجانب انجام شده است و از صحت و اصالت برخوردار است.**
- **در استفاده از نتایج پژوهشهای محققان دیگر به مرجع مورد استفاده استناد شده است.**
- **مطالب مندرج در پایان نامه تاکنون توسط خود یا فرد دیگری برای دریافت هیچ نوع مدرک یا امتیازی در هیچ جا ارائه نشده است.**
- **کلیه حقوق معنوی این اثر متعلق به دانشگاه صنعتی شاهرود می باشد و مقالات مستخرج با نام « دانشگاه صنعتی شاهرود » و یا « Shahrood University of Technology » به چاپ خواهد رسید.**
- **حقوق معنوی تمام افرادی که در به دست آمدن نتایج اصلی پایان نامه تأثیرگذار بوده اند در مقالات مستخرج از پایان نامه رعایت می گردد.**
- **در کلیه مراحل انجام این پایان نامه ، در مواردی که از موجود زنده (یا بافتهای آنها) استفاده شده است ضوابط و اصول اخلاقی رعایت شده است.**
- **در کلیه مراحل انجام این پایان نامه، در مواردی که به حوزه اطلاعات شخصی افراد دسترسی یافته یا استفاده شده است اصل رازداری ، ضوابط و اصول اخلاق انسانی رعایت شده است**

.

تاریخ ۱۳۹۳/۶/۲۰

مالکیت نتایج و حق نشر

- ***کلیه حقوق معنوی این اثر و محصولات آن (مقالات مستخرج، کتاب، برنامه های رایانه ای، نرم افزار ها و تجهیزات ساخته شده است) متعلق به دانشگاه صنعتی شاهرود می باشد. این مطلب باید به نحو مقتضی در تولیدات علمی مربوطه ذکر شود.***

چکیده

به منظور بهینه‌سازی شرایط کشت بافت گیاه زردآلو، این تحقیق در قالب چند آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کاملا تصادفی انجام گرفت. در آزمایش اول و دوم اثر غلظت‌های مختلف تنظیم کننده رشد سیتوکینین BAP در ترکیب با غلظت‌های مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد اکسینی شامل NAA و IBA بر کالوس‌زایی ریزنمونه‌های برگی در محیط کشت پایه MS مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد بیشترین میزان کالوس‌زایی (۸۶ درصد) در ترکیب تنظیم‌کننده‌های رشدی ۲/۲ میکرومولار BAP و ۵/۳۶ میکرومولار NAA در واریته رجبعلی بدست آمد. در آزمایش سوم اثر نوع ریزنمونه و تنظیم-کننده‌های رشد بر میزان کالوس‌زایی مورد ارزیابی قرار گرفت و نتایج آن نشان داد بالاترین درصد کالوس‌زایی (۹۰درصد) بر روی ریزنمونه‌های برگی که در شرایط درون شیشه‌ای ایجاد شده بودند در ترکیب با تیمار تنظیم کننده رشدی ۲/۲ میکرومولار BAP و ۵/۳۶ میکرومولار NAA بدست آمد. در آزمایش بعدی اثر ترکیبات تنظیم کننده‌های رشدی مختلف، رژیم نوری و نوع ریزنمونه بر میزان باززایی ساقه نابجا بررسی شد که نتایج نشان داد ترکیب تنظیم کننده‌های رشدی ۹ میکرومولار BAP، ۴/۵ میکرومولار KIN و ۵/۵ میکرومولار NAA در ریزنمونه‌های کوتیلدون و همچنین ترکیب تنظیم کننده‌های رشدی ۲/۵ میکرومولار TDZ و ۲/۵ میکرومولار IBA در ریزنمونه های هیپوکوتیل بیشترین میزان باززایی را به ترتیب ۵۱ و ۴۸ درصد داشتند، ضمن اینکه تاریکی در افزایش میزان باززایی به خصوص در ریزنمونه های کوتیلدون موثر بود. در آزمایشات بعدی اثر نوع محیط کشت پایه به طور جداگانه بر میزان باززایی ریزنمونه‌های هیپوکوتیل و کوتیلدون بررسی شد و نتایج نشان داد محیط کشت MS و QL به ترتیب اثر بیشتری بر روی میزان باززایی ساقه نابجا ریزنمونه‌های هیپوکوتیل (۵۰ درصد) و کوتیلدون (۸۳ درصد) دارند.

کلمات کلیدی: زردآلو،کشت بافت، کالوس‌زایی، باززایی، ساقه نابجا، تنظیم‌کننده رشد گیاهی

مقالات مستخرج از پایان نامه:

- **"باززایی ساقه نابجا از ریزنمونه های هیپوکوتیل و کوتیلدون گیاه زردآلو"** کنگره جامع ملی یافته های نوین زیست شناسی - پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری (اردیبهشت ۹۳)

- **"بررسی امکان القای کالوس از ریزنمونه‌های برگی زردآلو"** هفتمین همایش ملی یافته های نوین کشاورزی- دانشگاه کردستان (اردیبهشت ۹۳)

- **"بهینه سازی شرایط کشت بافت و باززایی درون‌شیشه‌ای ریزنمونه‌های هیپوکوتیل و کوتیلدون گیاه زردآلو"** دومین همایش ملی گیاهان دارویی و کشاورزی پایدار- دانشکده شهید مفتح همدان (شهریور۹۳)

فهرست مطالب

مقدمه ۱
فصل اول: ۵
کلیات ۵
۱-۱- زردآلو ۶
۱-۱-۱- گیاه شناسی زردآلو ۶
۱-۱-۲- تاریخچه زردآلو ۶
۱-۱-۳ اقلیم مناسب زردآلو ۸
۱-۱-۴ سرمازدگی بهاره ۹
۱-۱-۵ نیازهای خاکی ۹
۱-۱-۶ طبقه بندی زردآلو ۱۰
۱-۱-۷ کشت و تولید زردآلو ۱۰
۱-۱-۸ ارزش غذایی و موارد مصرف زردآلو ۱۱
۱-۱-۹- اصلاح زردآلو ۱۲
۱-۲ تکنیک های کشت بافت ۱۴
۱-۲-۱- مزایا و کاربردهای کشت بافت ۱۵
۱-۲-۲- اندام‌زایی ۱۶
۱-۲-۳- اندام‌زایی از بافت کالوس ۱۷
۱-۲-۴- تشکیل اندام نابجا به طور مستقیم ۱۸
۱-۲-۵- کشت کالوس ۱۹
۱-۲-۶- محیط کشت ۲۰
۱-۲-۷- تنظیم‌کننده های رشد ۲۴
۱-۲-۸- ضدعفونی ۲۵
فصل دوم: ۲۷
مروری بر تحقیقات گذشته ۲۷
۲-۱- زردآلو ۲۸
۲-۱-۱- لین و کاسیو (۱۹۸۶) ۲۸
۲-۱-۲-پیترس (۱۹۸۹) ۲۸
۲-۱-۳- اسکالتس و دوسبا (۱۹۹۳) ۲۹
۲-۱-۴- گوفردا و همکاران (۱۹۹۵) ۲۹
۲-۱-۵- پرز تورنرو و همکاران (۲۰۰۰) ۳۰

۲-۱-۶- بورگاس و آلبرکوارک (۲۰۰۳) ۳۱
۲-۱-۷- پتری و همکاران (۲۰۰۸ b) ۳۱
۲-۱-۸- لوپز نوگوئرا و همکاران (۲۰۰۹) ۳۲
۲-۱-۹- وانگ و همکاران (۲۰۱۱) ۳۲
۲-۲- آلو ۳۳
۲-۲-۱- منته و همکاران (۱۹۸۹) ۳۳
۲-۲-۲- تی ین و همکاران (۲۰۰۷) ۳۴
۲-۲-۳- نینگ و همکاران (۲۰۰۷) ۳۴
۲-۲-۴- سزار پتری و همکاران (۲۰۰۸c) ۳۵
۲-۲-۵- پتری و اسکورزا (۲۰۰۹) ۳۵
۲-۲-۶- کانلی و تی ین (۲۰۰۹) ۳۵
۲-۲-۷- ناس و همکاران (۲۰۱۰) ۳۶
۲-۳- هلو ۳۷
۲-۳-۱- هامشلاق (۱۹۸۶) ۳۷
۲-۳-۲- پولر و اسکورزا (۱۹۹۵) ۳۷
۲-۳-۳- ناگاتی (۲۰۱۲) ۳۸
۲-۳-۴- پرز خیمنز و همکاران (۲۰۱۲) ۳۸
۲-۴- آلبالو ۳۹
۲-۴-۱- سانگ و سینگ (۲۰۰۵) ۳۹
۲-۴-۲- اسپینوسا و همکاران (۲۰۰۶) ۳۹
۲-۴-۳- لیو و پیجوت (۲۰۰۸) ۴۰
۲-۵- گیلاس ۴۰
۲-۵-۱- باگووات و لین (۲۰۰۴) ۴۰
۲-۵-۲- فینی و همکاران (۲۰۰۷) ۴۱
۲-۶- بادام ۴۱
۲-۶-۱- ایسیکلن و همکاران (۲۰۱۰) ۴۱
فصل سوم: ۴۵
مواد و روشها ۴۵
۳-۱- مشخصات مواد گیاهی و ارقام مورد استفاده ۴۶
۳-۲- مواد شیمیایی ۴۶
۳-۳- تجهیزات ۴۶
۳-۴- تهیه محیط کشت ۴۷

۳-۴-۱ تهیه محلول‌های مادری نمک‌های پر مصرف MS با غلظت ۱۰برابر (×۱۰).....۴۷
۳-۴-۲- تهیه محلول‌های مادری نمک‌های کم مصرف MS با غلظت ۱۰۰برابر (×۱۰۰).....۴۷
۳-۴-۳- تهیه محلول مادری آهن MS با غلظت ۱۰ برابر (×۱۰).....۴۸
۳-۴-۴- تهیه محلول مادری ویتامین‌ها MS ۱۰۰ برابر (×۱۰۰).....۴۹
۳-۴-۵-تهیه محلول‌های مورد نیاز جهت تهیه محیط کشت QL.....۴۹
۳-۴-۶- تهیه محلول‌های ذخیره تنظیم کننده های رشد.....۵۰
۳-۴-۷- تهیه یک لیتر محیط کشت.....۵۱
۳-۵- ضدعفونی و آماده سازی مواد گیاهی.....۵۱
۳-۵-۱ ضدعفونی محیط و وسایل کار.....۵۱
۳-۵-۲- ضدعفونی بذور.....۵۲
۳-۵-۳- ضدعفونی برگ.....۵۳
۳-۶- شرایط کشت، نوع و غلظت های تنظیم کننده رشدی.....۵۵
۳-۶-۱- کشت بذر.....۵۵
۳-۶-۲- القای کالوس.....۵۵
۳-۶-۳- باززایی زردآلو.....۵۶
۳-۶-۳-۱ باززایی غیر مستقیم.....۵۶
۳-۶-۳-۲ باززایی مستقیم.....۵۶
۳-۳ آنالیزهای آماری.....۵۹
۳-۳-۱ آزمایشات کالوس‌زایی.....۵۹
۳-۳-۲ آزمایشات باززایی.....۶۰
۳-۴- نرم افزارها.....۶۰
فصل چهارم:.....۶۱
نتایج و بحث.....۶۱
۴-۱ نتایج آزمایشات کالوس‌زایی.....۶۲
۴-۱-۱ تاثیر مقادیر مختلف تنظیم کننده‌های رشد BAP، NAA و نوع واریته بر میزان القای کالوس.....۶۲
۴-۱-۲ تاثیر مقادیر مختلف تنظیم کننده‌های رشد BAP و IBA و نوع واریته بر میزان القای کالوس.....۶۷
۴-۱- ۳ تاثیرمقادیر مختلف تنظیم کننده‌های رشد NAA، BAP و نوع ریزنمونه بر میزان القای کالوس.....۷۰
۴-۲ نتایج آزمایشات باززایی.....۷۵
۴-۲-۱ باززایی غیرمستقیم.....۷۵

۴-۲-۲ نتایج باززایی مستقیم..... ۷۷
۴-۲-۲-۱ تاثیر تیمارهای تنظیم کننده رشد، نوع ریزنمونه و رژیم نوری بر درصد باززایی ساقه نابجا ۷۷
۴-۲-۲-۲ تاثیر تنظیم کننده رشد، نوع ریزنمونه و رژیم نوری بر روی تعداد شاخه باززا شده ۸۵
۴-۲-۲-۳ اثر نوع محیط کشت بر درصد باززایی ساقه نابجا از ریزنمونه‌های هیپوکوتیل و کوتیلدون ۸۵
۴-۲-۲-۴ بررسی ریشه‌زایی ریزنمونه‌های هیپوکوتیل و کوتیلدون..... ۸۹
نتیجه‌گیری کلی..... ۹۱
پیشنهادات..... ۹۲
منابع..... ۹۳
Abstract:..... ۱۰۱

فهرست اشکال

شکل ۱-۱ : گسترش زردآلو از مرکز آسیای مرکزی.....۸
شکل ۳-۱ ریزنمونه‌های مورد استفاده در باززایی مستقیم..... .....۵۲
شکل ۳-۲ سرشاخه های درختان زردآلو جهت استفاده به عنوان ریزنمونه های برگی.....۵۳
شکل ۴-۱ : کالوس‌زایی ریزنمونه‌های برگی.....۶۳
شکل ۴-۲: مقایسه میانگین اثر متقابل تنظیم کننده‌های رشد BAP، NAA و واریته بر درصد کالوس زایی.....۶۵
شکل ۴-۳ : مقایسه میانگین اثر متقابل تنظیم کننده‌های رشد BAP و IBA بر کالوس‌زایی ۶۹
شکل ۴-۴ : مقایسه میانگین اثر متقابل تنظیم کننده‌های رشد BAP و واریته بر کالوس‌زایی.....۶۹
شکل ۴-۵ مقایسه میانگین اثرمنبع ریزنمونه بر درصد کالوس‌زایی.....۷۲
شکل۴-۶ مقایسه میانگین اثرات متقابل تنظیم کننده‌های رشد BAP، NAA و منبع ریزنمونه بر درصد کالوس‌زایی.....۷۳
شکل ۴-۷ : کالوس‌زایی ریزنمونه‌های برگ درون شیشه‌ای.....۷۲
شکل۴-۸ : انتقال کالوس به محیط‌های باززایی ساقه.....۷۶
شکل۴-۹ : مقایسه میانگین اثرات متقابل تنظیم کننده‌های رشد و ریزنمونه بر درصد باززایی.....۷۸
شکل ۴-۱۰ : باززایی شاخه‌های نابجا از ریزنمونه‌های کوتیلدون.....۸۱
شکل ۴-۱۱ : باززایی ساقه نابجا از ریزنمونه‌های هیپوکوتیل.....۸۲
شکل۴-۱۲ : مقایسه میانگین اثرات متقابل رژیم نوری و نوع ریزنمونه بر درصد باززایی.....۸۴
شکل۴-۱۳ : مقایسه میانگین اثرات متقابل تنظیم کننده رشد و ریزنمونه بر تعداد ساقه باززاشده....۸۶
شکل۴-۱۴ : مقایسه میانگین اثرات متقابل تنظیم کننده رشد و رژیم نوری بر تعداد ساقه باززاشده ۸۶
شکل۴-۱۴ : مقایسه میانگین اثر نوع محیط کشت بر باززایی ریزنمونه‌های هیپوکوتیل ۸۸
شکل۴-۱۵ : مقایسه میانگین اثر نوع محیط کشت بر باززایی ریزنمونه‌های کوتیلدون.....۸۸
شکل ۴-۱۶ ریشه‌زایی ساقه‌های باززا شده از ریزنمونه‌های هیپوکوتیل.....۹۰

فهرست جداول

جدول ۱-۱ : درجه حرارت بحرانی برای مراحل جوانه گل زردآلو ۱۰
جدول ۱-۲ کشورهای عمده‌ی تولید کننده زردآلو ۱۱
جدول ۱-۳ ارزش غذایی زردآلو ۱۲
جدول۲-۱ خلاصه تحقیقات کشت بافت ۴۳
جدول ۳-۱ غلظت‌های نمک‌های پرمصرف محیط کشت پایه MS ۴۷
جدول ۳-۲ غلظت‌های نمک‌های کم مصرف محیط کشت پایه MS ۴۸
جدول ۳-۳ غلظت‌های $FeSO_4.7H_2O$ و $Na_2EDTA.H_2O$ محیط کشت پایه MS ۴۹
جدول ۳-۴ غلظت‌های ویتامین‌های محیط کشت پایه MS ۴۹
جدول ۳-۵ غلظت‌های نمک‌های پرمصرف محیط کشت پایه QL ۵۰
جدول ۳-۷ ترکیبات حلال تنظیم کننده‌های رشد گیاهی ۵۰
جدول۳-۷ تیمارهای تنظیم کننده‌های رشدی مورد استفاده در باززایی کالوس‌ها ۵۷
جدول۳-۸ تیمارهای تنظیم کننده‌های رشدی (میکرومولار) مورد استفاده در باززایی مستقیم ۵۶
جدول ۴-۱ تجزیه واریانس اثرغلظت های مختلف دو تنظیم کننده رشد BAP و NAA در واریته بر میزان کالوس‌زایی ۶۴
جدول ۴-۳ تجزیه واریانس اثرغلظت‌های مختلف دو تنظیم کننده رشد BAP و IBA درواریته بر میزان کالوس‌زایی ۶۸
جدول ۴-۳ تجزیه واریانس اثر غلظت های تنظیم کننده‌های رشد BAP، IBA و ریزنمونه بر درصد کالوس‌زایی ۷۱
جدول ۴-۴ تجزیه واریانس اثرمتقابل تنظیم کننده‌های رشد، ریزنمونه و رژیم نوری بر درصد باززایی و تعداد شاخه ۷۸
جدول ۴-۵ تجزیه واریانس اثر نوع محیط کشت بر درصد باززایی ریزنمونه‌های هیپوکوتیل و کوتیلدون ۸۸

مقدمه

رشد فزاینده جمعیت جهان، افزایش نیاز به تولیدات کشاورزی و بالا رفتن سطح آگاهی عمومی درباره مواد غذایی منجر به ایجاد الگوهای جدید مصرف با تاکید بر تولیدات باغی گردیده است. امروزه جایگاه علوم و فنون کشاورزی در شکوفایی اقتصاد کشاورزی کشورهای جهان بر کسی پوشیده نیست به-طوری‌که افزایش تولید و عرضه محصولات باغی و فرآورده‌های آن از مسائل مهم مورد توجه دولت مردان، سیاست‌گزاران و محققان کشورهای توسعه یافته و در حال توسعه دنیا می‌باشد.

ایران به خاطر ویژگی‌های خاص اقلیمی و موقعیت جغرافیایی، قابلیت‌ها و پتانسیل‌های فراوانی برای تولید محصولات کشاورزی به ویژه باغی و رقابت در بازارهای جهانی داشته و به لحاظ تولید محصولات باغی همواره جزو ده کشور برتر دنیا بوده است. زردآلو با نام علمی *Prunus armeniaca* بومی مناطق چین و سیبری می‌باشد. شرایط آب و هوایی اکثر نقاط ایران برای پرورش زردآلو مناسب است. بنابراین در صنعت میوه‌کاری ایران، زردآلو و فرآورده‌های آن می‌تواند نقش کلیدی در صادرات غیرنفتی و افزایش ارزآوری ایفا کند و از سوی دیگر تنوع و اشکال مختلف مصرف زردآلو به صورت مستقیم و یا کاربرد آن در تهیه دیگر مواد غذایی و شیرینی‌جات، کمک زیادی به عرضه در تمام فصول و تجارت موفق آن می‌نماید.

عرضه محصول و رقابت در بازارهای داخلی و جهانی تنها با افزایش راندمان تولید، کاهش هزینه‌ها و تولید محصول پرکیفیت مطابق با خواسته‌ها و سلایق مصرف کنندگان میسر خواهد بود. از طرف دیگر محدودیت وجود زمین‌های مرغوب، کمبود منابع آبی، افزایش هزینه‌های تولید و نگهداری محصولات باغی، نیازمند افزایش تولید در واحد سطح از طریق دستیابی به ارقام پر محصول و متحمل به تنش-های زنده و غیر زنده و متناسب با نیازهای بازار جهانی می‌باشد.

با توجه به وجود اقلیم‌های بسیار متفاوت، اهمیت و پراکنش انواع هسته‌دارها به‌ویژه زردآلو در کشور و ضرورت پژوهش و مطالعه پیرامون آن‌ها، از اصلی‌ترین فعالیت‌ها در این راستا استفاده از برنامه‌های به نژادی و اصلاحی ارقام قدیم و معرفی ارقام جدید برتر می‌باشد، تا از این طریق بتوان نسبت به کاهش هزینه‌های تولید و افزایش کمی و کیفی محصول و بهبود توان رقابت در بازارهای داخلی و خارجی وابسته به صنعت میوه‌کاری، دست یافت.

مکانیزم‌های تولید مثل و گزینش گیاهان در برنامه‌های اصلاح کلاسیک ممکن است در اثر عواملی مانند پلی‌پلوئیدی، موتاسیون، تفاوت‌های سیتولوژیکی و ... با محدودیت روبه‌رو گردد. همچنین روش-های اصلاحی کلاسیک احتیاج به زمان زیادی دارند. روش‌های بیوتکنولوژی و مهندسی ژنتیک راه-حل‌هایی را برای رفع محدودیت‌های فوق فراهم می‌آورد و به عنوان ابزاری قوی در به‌نژادی و دستیابی سریع به اهداف مورد نظر کمک می‌کند.

تلاش برای بهبود خصوصیات درختان زردآلو به وسیله مهندسی ژنتیک و بیوتکنولوژی تا حد زیادی به در دسترس بودن پروتکلی قابل اعتماد کشت بافت و باززایی گیاه بستگی دارد. در روش کشت سلول، بافت، اندام و یا هر قطعه جدا شده‌ای از گیاه (ریزنمونه) در محیط غذایی مصنوعی و در شرایط استریل کشت می‌گردد. تولید گیاه به تعداد زیاد، در مدت زمان کوتاهتر نسبت به شرایط طبیعی از مزایای عمده کشت بافت گیاهی است و لازمه مهندسی ژنتیک گیاهان می‌باشد.

در کشت بافت گیاهی عوامل مختلف و متنوعی دخالت دارند که از مهمترین آن‌ها می‌توان به ژنوتیپ گیاه، نوع ریزنمونه، ترکیب محیط کشت، تنظیم کننده‌های رشد گیاهی و نیز شرایط محیطی اشاره کرد. تحقیق حاضر، با توجه به نیاز مبرمی که در این زمینه احساس می‌شد، به منظور بررسی تاثیر انواع تنظیم‌کننده‌های رشد بر روی میزان کالوس‌زایی و باززایی ریزنمونه‌های مختلف گیاه در زردآلو با هدف دستیابی به پروتوکلی مطمئن کشت بافت در گیاه زردآلو انجام گردید. با بهینه سازی شرایط

کشت بافت این گیاه می توان در آینده در برنامه های انتقال ژن‌های مفید به این محصول استراتژیک بهره‌جست.

فصل اول:

کلیات

۱-۱- زردآلو

۱-۱-۱- گیاه شناسی زردآلو

زردآلو با نام علمی *Prunus armeniaca* L. که امروزه به نام *Armeniaca vulgaris* Lam. نیز معروف است به خانوادهٔ Rosaceae، زیرخانوادهی *Prunoideae*، جنس *Prunus*، زیر جنس *Prunophora* و در گروه Armeniaca (lam.) تعلق دارد. گیاهانی غالبا درختی با برگ‌های ساده ومتناوب، پوشش گل پنج تایی، پرچم‌ها مری استمون و مادگی تک برچه با دو تخمک که ممکن است یک یا هر دو آن تلقیح شده و تولید دانه نمایند. زیرخانوادهٔ *Prunoideae* از سایر زیر خانواده‌های خانوادهٔ *Rosaceae* با دارا بودن میوه‌های گوشتی از نوع شفت که دارای مزوکارپ آبدار و اندوکارپ سخت[1] است متمایز است. این جنس دارای گونه‌های بسیاری است که به لحاظ اقتصادی برای تولید میوه، خشکبار، روغن و چوب و همچنین به عنوان گیاه زینتی برای استفاده در فضای سبز اهمیت دارند (آرادهایا و همکاران[2]،۲۰۰۴).

۱-۱-۲- تاریخچه زردآلو

تاریخچهٔ پرورش زردآلو در چین به ۵۰۰۰ سال قبل و در دنیای غرب به ۲۰۰۰ سال قبل برمی‌گردد. دکاندول[3] (۱۸۸۶) خاستگاه زردآلو را چین عنوان کرده است. بر طبق یک باور قدیمی زردآلو در زمان امپراطور Yu (۲۲۰۵ تا ۲۱۹۸ قبل از میلاد) در چین کشت شده است. زردآلو در ۶۵۸ سال قبل از میلاد در چین کاملا شناخته شده بود و باغ‌های زردآلو در دوره‌ای بین سال‌های ۴۰۶ تا ۲۵۰ قبل از میلاد در آنجا وجود داشته است (نای جتو و سورانی[4]،۱۹۸۱).

نقاشان چینی همواره از زردآلو به عنوان موضوعی در نقاشی‌های خود استفاده می‌کردند. پیوند زردآلو

1 Stony
2 Aradhya et al
3 De Candolle, 1886
4 Nyujtó, F., Surányi, D

در حدود سال ۶۰۰ میلادی در چین شروع شد و از آن زمان به بعد ارقام مشخص زردآلو توسعه یافته اند (نای جتو،۱۹۸۱).

جژجان[1] (۱۹۷۷) از ارمنستان زردآلو را بومی آن کشور معرفی کرده است. او تاریخچهٔ طولانی کشت و کار زردآلو در منطقهٔ ایروان را دلیل ادعای خود بیان کرده است. بذرهای زردآلو متعلق به ۳۰۰۰ سال قبل از میلاد در سنجویت[2] و گارنی[3] در اطراف ایروان کشف شده است. ولی بر طبق نظر باستان‌شناس معروف آراکل جان[4] (۱۹۵۱) میوه‌هایی که این بذرها از آنها به دست آمده‌اند از منطقهٔ دیگری به ارمنستان آورده شده‌اند. دکاندول (۱۸۸۶) در بررسی اطلاعات موجود در مورد زردآلوهای وحشی در ارمنستان بیان کرد که سیاحانی نظیر کارکوچ[5] که به دفعات کوه‌های ارمنستان و منطقهٔ قفقاز را پیموده است هیچ زردآلوی وحشی را در آنجا مشاهده نکرده‌اند.

بر همین مبنا دکاندول نتیجه گرفت که زردآلو بومی ارمنستان نمی‌باشد. همچنین بذرهای زردآلو متعلق به دوره‌های بعد از این زمان نیز در پژوهش‌های قلعه کارمیر بلور[6] متعلق به قرن ۸ قبل از میلاد به دست آمده است (آرزومان جان[7]،۱۹۷۰).

کروسا رینادِ[8] (۱۹۶۰) خاستگاه زردآلو را آسیای مرکزی دانستند که با مرکز آسیای میانه واویلوف تطابق دارد. آنها بیان کردند که زردآلو از این منطقه به سمت غرب و شرق گسترش یافته است (شکل ۱-۱). اگر این فرضیه مورد قبول واقع شود مرکز چین نیز مانند مرکز آسیای صغیر که از سوی واویلوف بیان شده بود به عنوان مراکز ثانویه گسترش زردآلو بوده است.

1 Jeszejan
2 Sengevit
3 Garni
4 Arakeljan
5 Kar Koch
6 Karmir Blur
7 Arzumanjan
8 Crossa-Raynaud, 1960