



بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ
السلامة





پایان نامه کارشناسی ارشد رشته فیزیولوژی گیاهی

بررسی تأثیر برخی تنظیم کننده های رشد بر اندام زایی گیاه استویا
(*Stevia rebaudiana* Bert.)

اساتید راهنما
دکتر پرتو روشندل
دکتر محمود اطرشی

استاد مشاور
مهندس ابراهیمی

پژوهشگر
اکرم السادات میرنیام

اردیبهشت ماه ۱۳۸۹

کلیه حقوق مادی مترتب بر نتایج مطالعات،
ابتکارات و نوآوری‌های ناشی از تحقیق موضوع
این پایان نامه متعلق به دانشگاه شهرکرد است.

به نام یگانه، هستی بخش

به یاری خداوند بزرگ و مهربان، برگ دیگری از زندگی ام ورق خورد و نوبت به شروع فصل دیگری رسیده است. ماههای تلاش و زحمت سپری شدند و از همه این مدت دانشجویی و دوران تلاش در پژوهشگاه تنها خاطره های فراموش نشدنی سلطنت ما و خنده ما و گریه ما و تلاش اساتید، دوستان و زحمت کشان برایم باقی مانده است، عزیزانی که وجودشان باعث تحمل ملالت ما و محنتی ما در تمام دوران سختی ما و شکست ما می شد. لذا بر خود لازم می دانم مراتب سپاس خود را به استادان اندیشمند و دانشمندی که در طول دوران تحصیل مرا مورد لطف خود قرار داده و از دانش خویش بهره مند ساختند تقدیم بدارم.

در این مجال فرصت را غنیمت شمرده از استاد کرامت دارم سرکار خانم دکتر روشندل که در کمال تواضع و فروتنی با ارائه نظریات ارزشمند خود مرا یاری نمودند و بزرگواری ایشان سپاسگزاری می کنم

از جناب آقای دکتر اطروش استاد ارجمندم که بی دریغ در رفع مشکلات و بهوار کردن راه تحقیق مرا یاری فرمودند، تشکر می کنم.

سپاس بی پایان و صمیمانه از جناب آقای مهندس ابراهیمی، برادری مهربان و اساتدی وارسته که در کمال خضوع با بهمت عالمانه و ارشادات حکیمانه خود همیشه مشکل گشای بنده در طول این دوره بودند.

از سرکار خانم معینی و نورمحمدی که در طی این دوره با راهنمایی های حکیمانه و همراهی مشفقانه خود با یکدیگر من بودند سپاسگزارم.

از خواهر عزیز و کرامی ام خانم مهندس شاه نظری صمیمانه سپاسگزارم که با بنیادیت حلیم و گذشتت صبورانه مشکل گشای مشکلات آثاری پرورده ام بودند.

همچنین از سایر اساتید و دوستانی که زحمات زیادی برای من به نفع رسیدن این تحقیق تحمل شدند سپاسگزارم.

از دوستان خوبم خانم مهندس ادرسی، پاکروان، نیکخواه، مرادی و ناظم که در طی مراحل مختلف پایان نامه کارشناسی ارشد در کنارم بودند سپاسگزاری می نمایم.

از همکلاسی های عزیز و ارجمندم خانم خدابخش و آقای نصرتی و همه دوستان بی شماری که به نحوی اینجانب را در انجام کارهایم یاری نموده و مرا مرمون لطف و محبت خود نموده اند سپاسگزاری می نمایم.

و آنچه نه انکار پذیر است و نه فراموش شدنی محبت بزرگواری و تلاش دو شمع پرفروغ زندگیم پدر و مادر عزیزم است که زمین زرد و سفوفایی اندیشه ام را فراهم نمودند. رخصت می خواهم که در پیشگاه مهربان آنها بنشینم، زانو بزنم و بگویم تمام آنچه بودم، هستم و خواهم بود همه و همه مدیون شماست.

اکرم السادات (اله) میرنیام

تقدیم به

أسوه پایداری و گذشت

پدرم

و

أسوه صبر و مهربانی

مادرم

چکیده

استویا با نام علمی *Stevia rebaudiana* Bertoni دارای ماده شیرینی (استویوزاید) در برگهایش می باشد که کالری زا نبوده و در کاهش میزان قند در افراد دیابتی و درمان فشار خون بالا مؤثر است. استویا منبع گلیکوزیدهای دی ترین از جمله استویوزید و گلیکوزید است که تخمین زده شده ۱۰۰ تا ۳۰۰ برابر شیرین تر از شکر می باشد. به دلیل قدرت جوانه زنی بسیار پایین بذر استویا، کشت بافت روشی مناسب برای تکثیر گیاه می باشد. تحقیق حاضر بصورت آزمایش فاکتوریل با طرح کامل تصادفی و چهار تکرار در دو قسمت اندام زایی مستقیم و غیر مستقیم (شامل مرحله کالوس زایی و سپس مرحله اندام زایی) به اجرا در آمد. محیط پایه برای تمامی آزمایشات محیط MS بود. در اندام زایی مستقیم از تیمارهای هورمونی (BAP در غلظت های ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ میلی گرم بر لیتر در ترکیب با سه نوع اکسین 2,4-D، IBA و NAA هر کدام با غلظت های ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۵ میلی گرم بر لیتر)، تیمار نوری (تاریکی، ۲۰۰۰، ۴۰۰۰ و ۶۰۰۰ لوکس)، زغال فعال و ریزنمونه (برگ، جوانه جانبی و ساقه) استفاده شد. در اندام زایی غیر مستقیم و در مرحله کالوس زایی نیز تیمارهای هورمونی (BAP با غلظت های ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ میلی گرم بر لیتر در ترکیب با دو نوع اکسین 2,4-D و NAA هر کدام با غلظت های ۰/۵، ۱، ۱/۵، ۲ و ۳ میلی گرم بر لیتر)، نوری (شدت های نوری مشابه با اندام زایی مستقیم) و تنها ریزنمونه برگ استفاده گردید. کالوس های بدست آمده از این مرحله برای تولید اندام به محیط های اندام زایی با تیمارهای هورمونی مشابه اندام زایی مستقیم برده شدند. نتایج نشان داد از میان سه ریزنمونه در اندام زایی مستقیم جوانه جانبی بهترین ریزنمونه است زیرا هنگام بکارگیری آن به عنوان ریزنمونه بالاترین میزان اندام زایی (بالاترین درصد اندام زایی، ۸۵٪) همراه با تیمار هورمونی ۱/۵ میلی گرم بر لیتر BAP به همراه ۰/۱ میلی گرم بر لیتر NAA، در شدت نوری ۶۰۰۰ لوکس و در غیاب زغال فعال بدست آمد. در این حالت ۲۳ عدد اندام اولیه (تعداد اندام های اولیه تشکیل شده) بر روی هر ریزنمونه و با میانگین طولی ۰/۳ سانتی متر مشاهده شد. میانگین تعداد اندام رشد یافته در هر ریزنمونه در این تیمار ۱۶ عدد بود. پس از مرحله اندام زایی اندام های اولیه به محیط رشد گیاهچه منتقل و نسبت رشد آنها در طی زمان در شدت های نوری متفاوت (۲۰۰۰ و ۴۰۰۰ و ۶۰۰۰ لوکس) بررسی شد. نتایج نشان داد که در شدت نوری ۴۰۰۰ لوکس می توان شاهد بالاترین طول گیاهچه (۸/۴ سانتی متر) بود. داده های بدست آمده در پژوهش حاضر حاکی از آن بود که شرایط بهینه رشد گیاه در این شدت نوری در هفته چهارم فرآیند رشد اتفاق می افتد، در نتیجه هفته آخر رشد، زمانی تعیین کننده و بحرانی برای رشد گیاه استویا است. در ادامه به بررسی عوامل مؤثر بر ریشه زایی گیاه در تیمارهای هورمونی (2,4-D، IBA و NAA هر کدام با غلظت های ۰، ۱ و ۲ میلی گرم بر لیتر) و زغال فعال پرداخته شد. نتایج نشان داد که بهترین محیط ریشه زایی در حضور زغال فعال و در تیمار ۱ میلی گرم بر لیتر IBA بدست می آید که در این حالت ۱۰۰ درصد ریشه زایی و بالاترین تعداد ریشه (۱۱ عدد) با طول ۷/۱۳ سانتی متر را می توان مشاهده نمود. در این شرایط طول گیاهچه پس از سپری شدن زمان فرآیند ریشه زایی ۱۲/۸ سانتی متر (بالاترین طول ثبت شده) و تعداد گره در گیاه ۷ عدد (بالاترین تعداد گره در گیاهچه ها) مشاهده شد. گیاهچه های حاصل با موفقیت با شرایط سازگار شده و به گلخانه منتقل گردیدند. از میان تیمارهای تست شده در آزمون کالوس زایی بالاترین میزان کالوس در تیمار ۰/۵ میلی گرم بر لیتر BAP به همراه ۱/۵ میلی گرم بر لیتر NAA و در شدت نوری ۶۰۰۰ لوکس بدست آمد. در این تیمار درصد کالوس زایی ۱۰۰٪ و میانگین وزن نسبی کالوس در آن ۵۸۵۶ میلی گرم (بالاترین میزان بدست آمده) بود. بعد از اتمام یک ماه، کالوس ها به محیط های مختلف اندام زایی منتقل شدند ولی ساقه های بدست آمده از آزمون های اندام زایی خیلی زود از بین رفته و هیچ یک توان ایجاد گیاهچه نرمال را نداشتند. در نتیجه تحقیق حاضر نشان داد که همسو با نتایج دیگر محققان، برای تکثیر بهینه گیاه استویا در مقایسه با اندام زایی غیر مستقیم، اندام زایی مستقیم متدی کارآمد و با سرعت عمل بالاتر و درجه اطمینان بیشتری می باشد.

کلمات کلیدی: استویا، کشت بافت، اندام زایی مستقیم و غیر مستقیم، تنظیم کننده های رشد، کالوس زایی، زغال

فعال، شدت های نوری

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....
.....
.....
.....
.....
.....

.....

..... /

.....

.....

..... /

.....

.....

..... /

..... /

.....

.....

.....

.....

.....

.....

BAP

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

2,4-D BAP

2,4-D BAP

.....

.....

BAP

BAP

.....

.....

2,4-D

2,4-D

.....

NAA BAP

.....

BAP

.....

NAA

.....

BAP

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

مقدمه

)
(

()

()

.()

(WHO)

()

.()

)

)

(

.(

.(Sharifi and Pouresmael, 2006)

:

.(Entrepreneur, 2004)

()

: *Stevia rebaudiana* Bertoni : Stevia : Asteraceae :
Stevia, sweet leaf of Paraguay, caa-he-éé, kaa jheéé, ca-a-jhei, ca-a-yupi, azucacaa, eira-caa,

¹ - Gurani

² - Mato Grosso

³ - Honey Leaf

⁴ - CAA-HEE

⁵ - Yerba Dulche

: capim doce, erva doce, sweet-herb, honey yerba, honeyleaf, yaa waan, candy leaf
) :

Asteracea

Eupatoriae

(Ishima and Katayama, 1976;

.Tanaka, 1982)

.(Jeffrey et al., 1999)

n=11

.(Katayama, 1976)

() () ()

.(Slatter, 2003)

(Valio and

.Rocha, 1966., Zaidan et al., 1980)

.(Jeffrey, 1999)

³ RAPD
⁴ Oddone
⁵ Shock
⁶ Duke
⁷ Carneiro
⁸ "clear"
⁹ Achene

.(Sumida, 1980)

.(Entrepreneur, 2004)

.(Entrepreneur, 2004)

.(Shock, 1982)

.(Brandle and Rosa, 1992)

/ / : /
.(Geuns, 1988., Kinghorn, 1992)

:
.(Kinghorn, 1992)

(Soejarto () et.al., 1983)

¹Carneiro
² Guarani Indians
³ mate tea
⁴ labdane
⁵ Amambay
⁶ Monday

(Bertoni,

.1999)

.(Geuns, 1988., Kinghorn, 1992)

)

pH=6-7 (

(Metvier and Viana,

.1979., Entrepreneur, 2004)

.(Entrepreneur, 2004)

:

.(Ishima and Katayama, 1976., Tanaka, 1982)

.(Kinghorn, 1985)

()

.(Entrepreneur, 2004)

.() ()

()

.()

¹ ent-kaurene

() ()
 (/ /) A () E () D () C () B () A
 .(Nakamura and Tamura, 1985., Umida, 1980)
 . (Brandle et al., 1998) ()

(Richman et al., 1999.,

S.rebaudiana .Totte et al., 2000)
 . (Brandle and Rosa, 1992. Richman et al., 1999)

()

(Yoda et al., 2003., Hsieh et al., 2003., Gregerson et al., 2004., Lailerd et al.,
 .2004)

¹ steviolbioside

²Dulcoside

³Breidel and Lkavieille

(Cardelo et al., 1999., Gregerson et al., 2004. Lailerd et al., 2004.)

)

(.

A

(Manish, 2006)

(Mandal et al., 2007., Majhenic et al., 2007.

.Kuate et al., 2006)

()

()