تحصیلات تکمیلی دانشگاه

**دانشکده کشاورزی**

**گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی**

پایان‌نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته بیوتکنولوژی کشاورزی

# اثر ریزنمونه و تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی بر کشت درون‌شیشه‌ای فندق

**اساتید راهنما**

دکتر محمود سلوکی

دکتر منصور امیدی

**استاد مشاور**

دکتر مسیح فروتن

**نگارش**

چیمن ابراهیمی

بهمن ۱۳۸۹

بأسمه تعالی

دانشگاه زابل

مدیریت تحصیلات تکمیلی

**صفحه الف**

این پایان نامه با عنوان: « **اثر ریزنمونه و تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی بر کشت درون شیشه‌ای فندق**» قسمتی از برنامه آموزشی دوره کارشناسی ارشد مهندسی کشاورزی گرایش بیوتکنولوژی توسط دانشجو **چیمن ابراهیمی** تحت راهنمایی اساتید پایان نامه آقای **دکتر محمود سلوکی و** آقای **دکتر منصور امیدی** تهیه شده است. استفاده از مطالب آن به منظور اهداف آموزشی با ذکر مرجع و اطلاع کتبی به حوزه تحصیلات تکمیلی دانشگاه زابل مجاز می باشد.

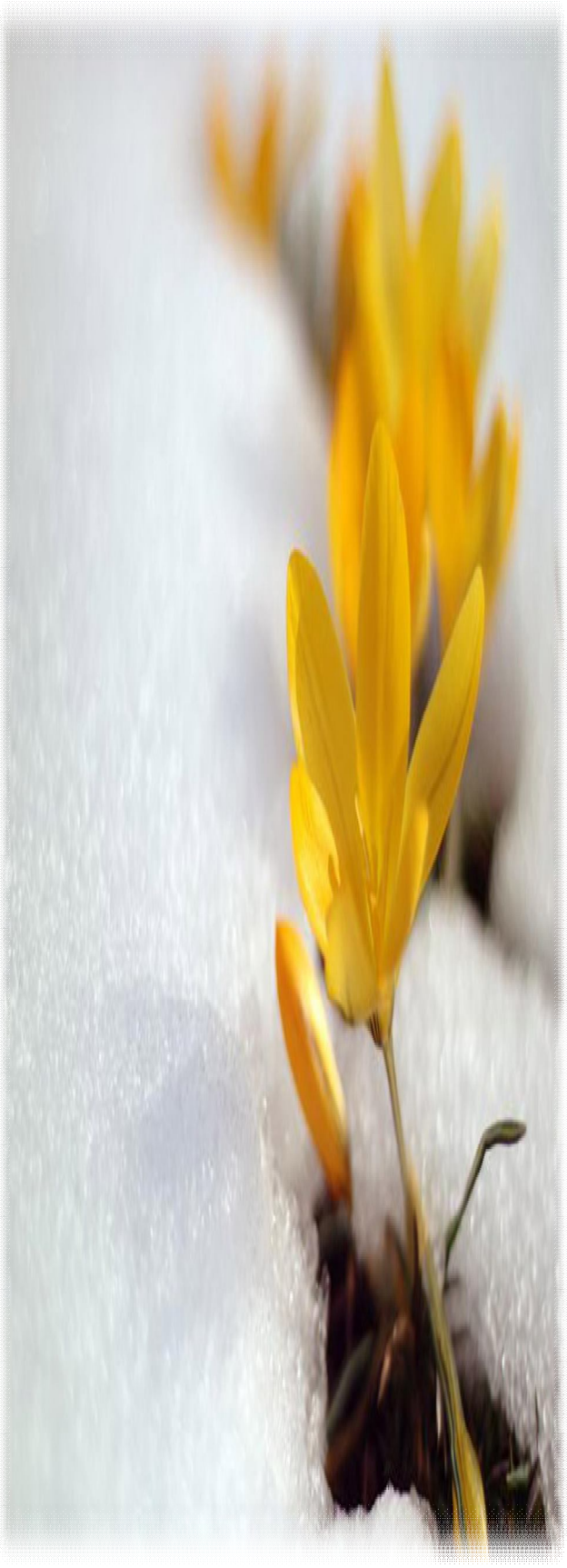
**امضا دانشجو**

این پایان نامه ٦ واحد درسی شناخته می شود و در تاریخ **۱۳۸۹/۱۱/۳۰** توسط هیئت داوران بررسی و نمره **۲۰** و درجه **عالی** به آن تعلق گرفت.

| **نام و نام خانوادگی** | **امضاء** | **تاریخ** |
|---|---|---|
| **۱- استاد راهنمای اول:** آقای دکتر محمود سلوکی | | ۱۳۸۹/۱۱/۳۰ |
| **۲- استاد راهنمای دوم:** آقای دکتر منصور امیدی | | ۱۳۸۹/۱۱/۳۰ |
| **۳- استاد مشاور:** آقای دکتر مسیح فروتن | | ۱۳۸۹/۱۱/۳۰ |
| **۴- استاد داور:** آقای دکتر براتعلی سیاسر | | ۱۳۸۹/۱۱/۳۰ |
| **۵- نماینده تحصیلات تکمیلی:** آقای دکتر محمود رمرودی | | ۱۳۸۹/۱۱/۳۰ |
| **۶- مدیر گروه: (مهر و امضاء)** آقای دکتر مسیح فروتن | | ۱۳۸۹/۱۱/۳۰ |

وزارت علوم، تحقیقات و فناوری
دانشگاه زابل
تحصیلات تکمیلی

دانشگاه زابل
دانشکده کشاورزی
گروه زراعت و اصلاح نباتات



برای

پدرم که وجودش بنای استوار تلاش پرشورم در کسب دانش

مادرم که استوره استقامت استوار گرمی و مهربانش زاد محبت

پدر و مادرم

آنان که راستی قامتم در خمیدگی قامتشان ترجمان یافت

و

به آنان که اهل یافتند نه بافتن

آنان که متواضعانه معتقدند که حقیقتی را یافته اند نه کل حقیقت را

چیمن

## سپاسگزاری

پروردگارا تورا سپاس می گویم

برای تمام روزهای زندگیم

برای تمام روزهای ابری و بارانی

برای غروب های آرام و شب های تاریک

تورا شکر می گویم برای لبخندهایم ..... برای اشک هایم

تورا شکر می گویم برای تمام گام ها، ستارگان...

برای عزیزانی که دوستم دارند ..... و دوستشان دارم

من بدینوسیله از تمامی عزیزانی که در تهیه این پایان نامه یاری نمودند، صمیمانه تشکر و قدردانی می نمایم.

از جناب آقای دکتر ..... که در تمامی مراحل انجام این پایان نامه، با راهنمایی ها و ارشادات خود اینجانب را مورد لطف قرار دادند، صمیمانه سپاسگزارم.

از جناب آقای دکتر ..... که زحمت مشاوره این پایان نامه را متقبل شدند، کمال تشکر و قدردانی را دارم.

از جناب آقای دکتر ..... که زحمت داوری این پایان نامه را پذیرفتند و با نظرات ارزشمند خود بر غنای علمی آن افزودند، تشکر می کنم.

از نماینده محترم تحصیلات تکمیلی آقای دکتر ..... و همچنین از کلیه کارکنان اداره کل پژوهش های علمی و فناوری استان ..... که اینجانب را در طول دوره تحصیل یاری نمودند، تشکر می کنم.

از همکاران عزیزم در شرکت مهندسین مشاور ..... که در طول انجام این پایان نامه با راهنمایی ها و حمایت های خود اینجانب را یاری نمودند، صمیمانه تشکر می کنم.

از همکلاسی ها و دوستان عزیزم، به ویژه آقایان ..... و ..... که در طول دوران تحصیل همراه و یاور من بودند، کمال تشکر را دارم.

و از پدر و مادر عزیزم که در تمام مراحل زندگی پشتیبان و حامی من بوده اند، تشکر و قدردانی می نمایم.

چیرون ابراهیمی

## چکیده

فندق معمولی، گونه *Corylus avellana* یکی از گونه‌های متعلق به تیره *Corylaceae* است. این گونه در سراسر اروپا گسترش یافته است و امتداد آن تا آسیای صغیر نیز می‌رسد. در ایران نیز در نواحی معتدله و معتدله سرد پراکنش دارد. فندق محتوی چربی، پروتئین، کربوهیدرات، فیبر غذایی، ویتامین‌ها، مواد معدنی و فنل‌های آنتی‌اکسیدان است. اخیراً گزارش‌هایی درباره فعالیت آنتی‌اکسیدانی و آنتی میکروبی عصاره‌های مغز فندق و پوشش برگی سبز فندق و دیگر محصولات مانند برگ آن داده شده است. به علاوه مطالعات اخیر بر روی فندق نشان داده است که اندام‌های مختلف این گیاه حاوی متابولیت‌های مختلف با خواص دارویی با ارزش است. تاکسول یک ماده ضد سرطان است که اخیراً در فندق شناسایی شده است. از آنجایی که استفاده از تکنیک‌های کشت بافت به عنوان یک ابزار مناسب برای تکثیر انبوه و تولید متابولیت‌های ثانویه گیاهی درحال گسترش است در این تحقیق شرایط کشت درون شیشه‌ای فندق مورد بررسی قرار گرفت. از برگ، دمبرگ و جوانه به عنوان ریزنمونه استفاده شد. این ریزنمونه‌ها بر روی محیط کشت MS حاوی غلظت‌های مختلف هورمون‌های 2.4-D، NAA و BAP کشت شدند.برای برگ‌ها و جوانه‌ها در همه تیمارها بیشترین درصد القای کالوس(۱۰۰٪) بدست امد اما پاسخ دمبرگ نسبت به برگ و جوانه ضعیف‌تر بود. سپس کالوس‌های بدست آمده از تیمارهای کالزایی برای القای جنین‌زایی سوماتیکی به محیط کشت MS محتوی 2.4.D (۰/۱، ۰/۲، ۰/۴ و ۰/۸ $mg.l^{-1}$ ) و IBA (۰/۱ و ۰/۲ $mg.l^{-1}$) در ترکیب با BAP (۰/۱، ۰/۲، ۰/۴ و ۰/۸ $mg.l^{-1}$) و Kin (۰/۱ و ۰/۲ $mg.l^{-1}$) منتقل شدند. بیشترین درصد القای پیش جنین در ریزنمونه برگ در تیمار $mg.l^{-1}$ ۰/۱ IBA و $mg.l^{-1}$ ۰/۱ Kin (۹۱٪) و تیمار $mg.l^{-1}$ ۰/۱ 2.4.D و $mg.l^{-1}$ ۰/۱ و ۰/۲ BAP (۵۸٪) و برای دمبرگ در تیمار حاوی $mg.l^{-1}$ ۰/۴ 2.4-D و $mg.l^{-1}$ ۰/۲ BAP (۵۰٪) بدست آمد. برای بلوغ و جوانه زنی جنین‌های القا شده از سطوح مختلف (۰، ۰/۵، ۱/۵، ۲/۵ و ۵ $mg.l^{-1}$) ABA و $GA_3$ و برای القای شاخه‌زایی از BAP، Kin، TDZ و Zea در غلظت‌های ۰ $mg.l^{-1}$، ۰/۷۵، ۱/۵ و ۲/۵ استفاده شد.



**کلمات کلیدی:** فندق، *Corylus Avellana*، القاء کالوس، کشت درون شیشه‌ای، پیش‌جنین‌زایی.

## فهرست مطالب

**عنوان** **صفحه**


**فصل اول: مقدمه**

۱-۱ کشت بافت ..... ۲

۱-۲ تعریف و اهمیت گیاهان دارویی ..... ۲

۱-۳ کاربرد و اهمیت کشت بافت در زمینه گیاهان دارویی ..... ۳

۱-۴فندق ..... ۴

**فصل دوم: مروری بر تحقیقات انجام شده**

۲-۱ موقعیت گیاه‌شناسی فندق ..... ۸

۲-۱-۱- اسامی گیاه ..... ۸

۲-۱-۲- موقعیت گیاه در سیستم رده‌بندی ..... ۸

۲-۱-۳- تیره فندق ..... ۹

۲-۱-۴- جنس *Corylus* ..... ۹

۲-۱-۵- شرح گیاه شناسی گونه *Corylus avellana* ..... ۱۱

۲-۱-۶- پراکنش جغرافیایی ..... ۱۱

۲-۲- خواص و کاربردهای غذایی و دارویی فندق ..... ۱۲

۲-۳- کشت بافت ..... ۱۵

۲-۳-۱- ریزازدیادی ..... ۱۹

۲-۳-۱-۱- روش تکثیر جوانه جانبی ..... ۱۹

۲-۳-۱-۲- اندام زایی ..... ۲۰

۲-۳-۱-۳- جنین زایی ..... ۲۱

۲-۴- مطالعات انجام شده در رابطه با گیاه فندق ..... ۲۳

**فصل سوم: مواد و روش‌ها**

۳-۱- سترون کردن ظروف، ادوات آزمایشگاهی و لامینار ایرفلو ..... ۲۹

۳-۲- محیط کشت ..... ۲۹

۳-۲-۱- تهیه محلول‌های ذخیره ..... ۳۰

۳-۲-۱-۱- محلول ذخیره عناصر پرمصرف ..... ۳۰

۳-۲-۱-۲- محلول ذخیره عناصر کم مصرف ..... ۳۰

۳-۲-۱-۳- محلول ذخیره آهن ..... ۳۱

۳-۲-۱-۴- محلول ذخیره ویتامین‌ها ..... ۳۱

۳-۲-۱-۵- محلول ذخیره هورمون‌ها ..... ۳۱

۳-۳- تهیه مواد گیاهی ..... ۳۲

۳-۳-۱- ضد عفونی نمونه‌های گیاهی ..... ۳۲

۳-۳-۲- جداسازی زیرنمونه ..... ۳۲

## فهرست مطالب


۴-۳- کالزایی ..... ۳۳
۱-۴-۳- ترکیب هورمونی وشرایط کشت درون شیشه‌ای به منظور کالزایی ..... ۳۳
۲-۴-۳- صفات اندازه گیری شده در فاز کالزایی ..... ۳۳
۱-۲-۴-۳- درصد کالزایی ..... ۳۳
۲-۲-۴-۳- وزن تر کالوس ..... ۳۴
۳-۲-۴-۳- وزن خشک کالوس ..... ۳۴
۵-۳- جنین‌زایی ..... ۳۵
۱-۵-۳- ترکیب هورمونی و شرایط کشت به منظور جنین‌زایی سوماتیکی ..... ۳۵
۲-۵-۳- کشت مایع به منظور جنین‌زایی ..... ۳۸
۳-۵-۳- ترکیب هورمونی و شرایط کشت به منظور بلوغ جنین ..... ۴۱
۶-۳- ترکیب هورمونی و شرایط کشت به منظور باززایی ..... ۴۲
۷-۳- ریزازدیادی ..... ۴۳
۱-۷-۳- تهیه و آماده سازی ریز نمونه ..... ۴۳
۲-۷-۳- محیط کشت و ترکیب هورمونی مورد استفاده برای استقرار و رشد جوانه‌ها ..... ۴۳
۸-۳- آنالیز داده‌ها و محاسبات آماری ..... ۴۴
**فصل چهارم: نتایج**
۱-۴- مطالعه ریزنمونه‌های مختلف در مرحله کالزایی ..... ۴۶
۱-۱-۴- برگ ..... ۴۶
۲-۱-۴- دمبرگ ..... ۴۷
۳-۱-۴- جوانه ..... ۴۷
۲-۴- نتایج حاصل از تجزیه آماری داده‌های کالوس ..... ۵۱
۱-۲-۴- بررسی آماری داده‌های حاصل از تیمارهای مشترک ریزنمونه‌های برگ، دمبرگ و جوانه ..... ۵۱
۲-۲-۴- بررسی آماری داده‌های حاصل از تیمارهای مشترک ریزنمونه‌های برگ و دمبرگ ..... ۵۶
۳-۲-۴- بررسی آماری داده‌های حاصل از تیمارهای حاوی NAA و BAP در ریزنمونه برگ ..... ۵۹
۴-۲-۴-بحث کالزایی ..... ۶۱
۳-۴- نتایج حاصل از تجزیه آماری داده‌های جنین‌زایی ..... ۶۳
۱-۳-۴- بررسی نتایج تیمارهای جنین‌زایی در کالوس‌های برگ و دمبرگ ..... ۶۳
۲-۳-۴- بررسی نتایج تیمارهای جنین‌زایی در کالوس‌های برگ ..... ۶۵
۳-۳-۴- نتایج تیمارهای بلوغ و جوانه زنی جنین سوماتیکی و باززایی کالوس ..... ۶۹
۴-۳-۴- بحث جنین‌زایی، بلوغ جنین و باززایی ..... ۷۱
۵-۳-۴- بحث رنگ کالوس در تیمارهای جنین‌زایی، بلوغ جنین و باززایی ..... ۷۲
۴-۴- نتایج ریزازدیادی ..... ۷۴
**فهرست منابع** ..... ۷۷

## فهرست

**عنوان** **صفحه**

**فهرست اشکال**

شکل ۱-۴- اثر تیمارهای ترکیبی 2.4.D و BAP بر کالزایی برگ ..... ۴۸
شکل ۲-۴- اثر تیمارهای ترکیبی NAA (۰/۵ و ۱ $mg.l^{-1}$) و BAP بر کالزایی برگ ..... ۴۸
شکل ۳-۴- اثر NAA در سطوح ۲ و ۴ $mg.l^{-1}$ بر کالزایی برگ ..... ۴۹
شکل ۴-۴- اثر تیمارهای ترکیبی 2.4.D و BAP بر کالزایی دمبرگ ..... ۴۹
شکل ۵-۴- اثر تیمارهای ترکیبی 2.4.D و BAP بر کالزایی جوانه ..... ۵۰
شکل ۶-۴- قهوه‌ای و آبکی شدن کالوس در اثر عدم واکشت ..... ۵۰
شکل ۷-۴. تشکیل کالوس جنین‌زا در تیمارهای حاوی غلظت‌های کاهش یافته 2.4.D و BAP ..... ۶۷
شکل ۸-۴- تشکیل ساختارهای مولد جنین در کالوس ..... ۶۷
شکل ۹-۴-Pro- embryogenesis در فندق ..... ۶۸
شکل ۱۰-۴- تولید آنتوسیانین‌ها در کالوس فندق ..... ۷۴
شکل ۱۱-۴- اثر محیط کشت بر رشد جوانه فندق ..... ۷۴

## فهرست

**عنوان** **صفحه**

**فهرست جداول**


جدول ۱-۳- ترکیبات مورد استفاده از غلظت های مختلف هوذمون‌های NAA و 2.4.D و BAP در محیط کشت پایه MS به منظور کالزایی ..... ۳۴

جدول ۲-۳- ترکیبات مورد استفاده از غلظت‌های مختلف هورمون‌های 2.4.D، NAA، IBA، BAP و Kin به منظور القاء جنین‌زایی سوماتیکی در کشت جامد ..... ۳۶

جدول ۳-۳- : ترکیبات مورد استفاده از غلظت‌های مختلف هورمون‌های 2.4.D، NAA و BAP به منظور القاء جنین‌زایی در محیط کشت مایع ..... ۳۸

جدول ۴-۳-. شوک‌های هورمونی و نمکی مورد استفاده برای القاء جنین‌زایی سوماتیکی در محیط کشت MS مایع... ۳۹

جدول ۵-۳- ترکیبات مورد استفاده از غلظت‌های $GA_3$ و ABA در محیط کشت MS به منظور بلوغ و جوانه‌زنی جنین سوماتیکی ..... ۴۱

جدول ۶-۳- تیمارهای مورد استفاده از هورمون‌های BAP، Kin، TDZ و Zea در محیط کشت MS به منظور باززایی ..... ۴۲

جدول ۱-۴- تجزیه واریانس اثر عامل‌های ریزنمونه (برگ، دمبرگ و جوانه)و ترکیب هورمونی بر درصد تشکیل کالوس ۲ ماه پس از کشت ..... ۵۱

جدول ۲-۴- مقایسه میانگین اثرات متقابل تیمارهای مختلف هورمونی و نوع ریزنمونه (برگ، دمبرگ و جوانه) بر درصد کالزایی ۲ ماه پس از کشت ..... ۵۲

جدول ۳-۴.- تجزیه واریانس اثر ریزنمونه (برگ، دمبرگ و جوانه) و ترکیب هورمونی بر وزن تر و وزن خشک کالوس ..... ۵۳

جدول ۴-۴- مقایسه میانگین اثرات متقابل تیمارهای مختلف هورمونی و نوع ریزنمونه (برگ، دمبرگ و جوانه) به وزن تر کالوس ..... ۵۳

جدول ۵-۴- مقایسه میانگین اثرات متقابل تیمارهای مختلف هورمونی و نوع ریزنمونه (برگ، دمبرگ و جوانه) بر وزن خشک کالوس ..... ۵۵

جدول ۶-۴ - تجزیه واریانس اثر ریزنمونه (برگ و دمبرگ) و ترکیب هورمونی بر درصد کالزایی ..... ۵۶

جدول ۷-۴- تجزیه واریانس اثر ریزنمونه (برگ و دمبرگ) و ترکیب هورمونی بر وزن تر و خشک کالوس ..... ۵۶

جدول ۸-۴- جدول مقایسه میانگین اثرات متقابل ریزنمونه ( برگ و دمبرگ) و تیمارهای مختلف هورمونی به وزن تر کالوس ۵۷

جدول ۹-۴- مقایسه میانگین اثرات متقابل ریزنمونه ( برگ و دمبرگ) و تیمارهای مختلف هورمونی بر وزن خشک کالوس.... ۵۸

جدول ۱۰-۴- تجزیه واریانس اثر ترکیبات مختلف هورمونی(BAP وNAA ) بر وزن تر و وزن خشک کالوس برگ ..... ۵۹

جدول ۱۱-۴- مقایسه میانگین اثر تیمارهای هورمونی بر وزن تر و وزن خشک کالوس برگ ..... ۶۰

جدول ۱۲-۴- تجزیه واریانس اثر عامل‌های ترکیبات هورمونی وریزنمونه به درصد تشکیل سلول‌های پیش.جنین ۳ماه پس از واکشت ..... ۶۳

جدول ۱۳-۴- مقایسه میانگین اثر ریزنمونه (برگ و دمبرگ) وتیمار هورمونی بردرصد تشکیل سلول‌های پیش جنینی..... ۶۴

جدول ۱۴-۴- تجزیه واریانس اثرتیمارهای مختلف هورمونی بر میزان تشکیل سلول‌های پیش جنین در کالوس‌های برگ ۳ ماه پس از کشت ..... ۶۵

جدول ۱۵-۴- مقایسه میانگین اثرتیمارهای مختلف هورمونی بردرصد تشکیل سلول‌های پیش جنینی درکالوس‌های برگ..... ۶۵

## فهرست علائم اختصاری

| علامت اختصاری | نام فارسی | نام انگلیسی |
|---|---|---|
| MS | موراشیگ و اسکوگ | Murashige and Skoog |
| 2.4.D | ۲و۴- دی کلرو فنوکسی استیک اسید | 2.4-Dichlorophenoxyacetic acid |
| NAA | آلفا نفتالین استیک اسید | α- Naphthaleneacetic acid |
| IBA | ۳- ایندول بوتیریک اسید | Indole 3- butyric acid |
| BAP | ۶- بنزیل امینو پورین | 6- Benzylaminopurine |
| Kin | کینتین | Kinetin |
| TDZ | تیدیازورون | Thidiazuron |
| Zea | زآتین | Zeatine |
| ABA | آبسیزیک اسید | Abscisic acid |
| $GA_3$ | جیبرلیک اسید | Gibberellic acid |

# فصل اول

## مقدمه

### ۱-۱- کشت بافت

فناوری کشت بافت و سلول از دومین انقلاب سبز، که بر اساس تغییر ژن و دستکاری ژنتیکی برای بهبود کیفیت و کمیت محصولات پایه‌گذاری شد، نقش کلیدی دارد. کشت بافت و سلول گیاهی به روشی گفته می‌شود که اجزای مختلف گیاه (سلول، پروتوپلاست، جنین، بافت، اندام و ...) در شرایط آزمایشگاهی و به طور کاملاً سترون روی یک محیط غذایی قرار می‌گیرند و در شرایط محیطی مناسب نگه‌داری می‌شوند. این روش در سطح کم وسعت و با استفاده از محیط غذایی مشخص و عاری از هر گونه آلودگی صورت می‌گیرد. به طور معمول الگوی رشدی سلول به صورت تمایز نیافته است که با تغییر در ترکیبات محیط غذایی و شرایط محیطی می‌توان مسیر نموی سلول را تغییر داد (سید طباطبایی وامیدی، ۱۳۸۸).

### ۱-۲- تعریف و اهمیت گیاهان دارویی

گیاهان دارویی به گستره وسیعی از گیاهان اطلاق می‌شود (بوته، درختچه و درخت) که در درمان بیماری‌ها و یا در پیشگیری از بروز آن‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند، اکثر این گیاهان در سه گروه عطری، ادویه‌ای و طبی قرار می‌گیرند. گیاهان دارویی منبع با ارزشی از متابولیت‌های موثر در درمان بیماری‌های انسانی هستند به طوری که تخمین زده می‌شود حدود ۷۰ هزار گونه گیاهی از گلسنگ‌ها تا درختان تنومندی چون ژینکو حداقل یک بار در طول تاریخ طب به عنوان دارو در جوامع بشری استفاده شده‌اند. گیاهان دارویی به دلیل توأم بودن ماهیت طبیعی و وجود ترکیبات همولوگ دارویی

در آن‌ها با بدن سازگاری بهتری دارند و معمولاً فاقد عوارض ناخواسته داروهای شیمیایی هستند، به خصوص در موارد طولانی و در بیماری‌های مزمن، بسیار مناسب‌تر می‌باشند (امیدبیگی، ۱۳۷۹).

### ۳-۱- کاربرد و اهمیت کشت بافت در زمینه گیاهان دارویی

یکی از جنبه‌های مهم فرایندهای بیوتکنولوژی گیاهی، کشت سلول‌های گیاهی و یا بافت‌ها و اندام‌ها در محیط درون شیشه‌ای است (فارسی و ذوالعلی، ۱۳۸۸) که کاربردهای مختلف آن در زمینه گیاهان دارویی، از جنبه‌های مختلف قابل بررسی است.

تکثیر گیاهان در شرایط آزمایشگاهی روشی بسیار مفید جهت تولید داروهای گیاهی با کیفیت است. روش‌های مختلفی برای تکثیر در آزمایشگاه وجود دارد که از جمله آن‌ها ریزازدیادی است. ریزازدیادی مزیت‌های زیادی نسبت به روش‌های تکثیر سنتی دارد (فارسی و ذوالعلی، ۱۳۸۸). در اینجا با استفاده از روش‌های کشت مریستم و ساقه، از مواد اولیه محدود گونه‌های چوبی امکان تولید انبوه افراد مشابه به دست می‌آید (سید طباطبایی وامیدی، ۱۳۸۸). تخمین زده شده است که روش تکثیر جوانه جانبی تعداد ساقه را در هر دوره یک ماهه کشت به طور متوسط تا ۱۰ برابر افزایش می‌دهد و در یک دوره شش ماهه امکان تولید بیش از یک میلیون واحد تکثیری یا گیاه از یک ریزنمونه وجود دارد (فارسی و ذوالعلی، ۱۳۸۸).

تولید و توسعه موثر جنین‌های سوماتیکی، پیش نیازی برای تولید گیاهان در سطح تجاری است. جنین‌زایی سوماتیکی فرآیندی است که طی آن گروهی از سلول‌ها یا بافت‌های سوماتیکی تمایز یافته و تشکیل ساختار دو قطبی شامل محور ریشه و ساقه می‌دهند. این جنین‌ها شبیه جنین‌های جنسی است و می‌توانند بالغ شده و به نهال تبدیل شوند (باقری و آزادی، ۱۳۸۳). گیاهان، منبع بسیاری از مواد شیمیایی هستند که به عنوان ترکیب دارویی مصرف می‌شوند. فرآورده‌های حاصل از متابولیسم

ثانویه گیاهی جزء گرانبهاترین ترکیبات شیمیایی گیاهی هستند. با استفاده از کشت بافت می‌توان متابولیت‌های ثانویه را در شرایط آزمایشگاهی تولید نمود. لازم به ذکر است که متابولیت‌های ثانویه دسته‌ای از مواد شامل اسیدهای پیچیده، لاکتون‌ها، فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها هستند که به صورت عصاره یا پودرهای گیاهی در درمان بسیاری از بیماری‌های شایع به کار برده می‌شوند. تحقیقات زیادی در زمینه استفاده از کشت‌های سوسپانسیون و سلول گیاهی برای تولید متابولیت‌های ثانویه صورت گرفته است (فارسی و ذوالعلی، ۱۳۸۸).

روش‌های اصلی برای ایجاد کالوس‌دهی و باززایی، شامل روش‌هایی است که هم کاربرد تجاری مستقیم دارند و به همان اندازه نیز امکان پژوهش‌های پایه‌ای ژنتیکی و بیوشیمیایی در سلول را فراهم می‌آورند. این روش‌ها شامل انواع کشت بافت و سلول گیاهی، مانند بساک، تخمک، بذر، جنین، ساقه، برگ، جداسازی پروتوپلاست و امتزاج آن‌ها، انتخاب سلول، کشت مریستم، جوانه و همچنین تغییر ژنتیکی سلول‌ها و گیاهان است (سید طباطبایی وامیدی، ۱۳۸۸).

### ۴-۱- فندق[1]

فندق معمولی، گونه کوریلوس آولانا[2] یکی از گونه‌های متعلق به جنس کوریلوس است که در تمام آن‌ها میوه خوراکی بوده و توسط بشر از انواع وحشی جمع‌آوری می‌شده است. میوه فندق از سال‌ها قبل از میلاد مسیح منبع غذایی بشر بوده است. این گیاه در اروپا و آسیای میانه ترجیحاً در مناطقی که دارای زمستان‌های با آب و هوای معتدل و مرطوب و تابستان‌های خنک می‌باشند به صورت بومی رشد می‌کند. به همین دلیل بیشترین تولید فندق در نیمکره شمالی در کنار آب‌های وسیع سطحی و در ارتفاعات متوسط یعنی در امتداد دریای سیاه در ترکیه، سواحل اقیانوس اطلس در فرانسه و در

[1] Hazelnut
[2] *Crylus avellana*

دشت ویلیامت در اروگون امریکا انجام می‌گیرد (Olsen, 2003). میزان تولید جهانی فندق ۸۷۵ هزار تن می‌باشد. ترکیه با ۷۰ درصد تولید فندق دنیا در مقام نخست و ایتالیا با اختصاص ۲۰ درصد تولید جهان به خود درمقام دوم قرار دارد. پس از آن‌ها امریکا، اسپانیا، آذربایجان، ایران، چین، فرانسه و گرجستان عمده‌ترین کشورهای تولیدکننده فندق در دنیا هستند (FAO-STAT, 2008., Silva *et al*, 2005).

ایران با تولید ۱۱۷۴۹ تن فندق ششمین کشور تولیدکننده جهان با متوسط عملکرد ۱۱۱۳ کیلوگرم در هکتار است که در مقایسه با عملکرد دنیا و بخصوص در مقایسه با کشورهای پیشرفته‌ای مثل امریکا (۳۷۷۶ کیلوگرم در هکتار) بسیار پایین می‌باشد. حدود ۹۰ تا ۹۵ درصد از فندق تولیدی جهان به صورت مغز به بازار عرضه می‌گردد که برای تهیه انواع شیرینی‌ها و سایر فرآیندهای تبدیلی استفاده می‌شود و بقیه یعنی ۵ تا ۱۰ درصد آن به همراه پوست به بازار جهانی عرضه می‌گردد (Mehlenbacher, 1991). فندق جزء خشکبار بوده و دانه آن به عنوان آجیل مصرف می‌شود و دارای ارزش غذایی بسیار بالایی است. این گیاه دارای خواص دارویی بسیار زیادی بوده و در گذشته به عنوان داروی سنتی در درمان بیماری‌های بواسیر، گشادی سیاهرگ‌ها و ورم جدار ورید بکار می‌رفته است (Valnet, 1992). افزون بر این، تحقیقات اخیر بر روی این گیاه نشان داده است که اندام‌های مختلف آن حاوی متابولیت‌های مختلف است که دارای خواص دارویی و ضد میکروبی بسیار با ارزشی است. همچنین وجود مواد دارویی با اثرات ضد سرطانی نیز در این گیاه گزارش شده است (Hoffman *et al*., 1998).

با توجه به ارزش‌های غذایی و خواص دارویی بسیار زیاد فندق و همچنین با توجه به سطح زیر کشت و تولید اندک آن در ایران استفاده از تکنیک‌های مختلف کشت بافت به منظور ریزازدیادی برای افزایش سطح زیر کشت آن در کشور و همچنین بهینه سازی شرایط کالزایی، جنین‌زایی و ... به عنوان

پایه‌ای برای دست‌ورزی‌های ژنتیکی مطلوب برای افزایش متابولیت‌های ثانویه ارزشمند همچون تاکسول و نیز مطالعه کشت سلولی آن برای تولید انبوه متابولیت‌های ثانویه با ارزش دارویی می‌تواند بسیار مقرون به صرفه باشد.

بنابراین در این تحقیق سعی شده است تا حد امکان شرایط بهینه کالزایی و جنین‌زایی سوماتیکی این گیاه مورد بررسی قرار گیرد.

# فصل دوم

## بررسی منابع

## ۱-۲- موقعیت گیاه شناسی فندق

### ۱-۱-۲- اسامی گیاه

فندق متعلق به تیره کوریلاسه می‌باشد. در زبان‌های دیگر فندق دارای اسامی متفاوتی به شرح زیر است:

انگلیسی: Filbert-tree, Hazel-tree, Hazelnut-tree, Cobnut, European Filbert, Woodnut, Nutwood, Nutbush

فرانسه: Coudrier, Avelinier, Noisettier

آلمانی: Hazelstarch, Hazel, Nuss boum, Hazelnuss, Deutsche Hasel.

ایتالیایی: Avellano

نام فارسی آن فندق و نام محلی آن در ارسباران و نواحی ترک زبان فندخ است و در کتب قدیمی عربی به نام‌های جلوز یا گلوز[1]، بندق[2] و شجرالبندق ذکر شده‌است (زرگری، ۱۳۷۲؛ ثابتی،۱۳۴۴).

### ۲-۱-۲- موقعیت گیاه در سیستم رده‌بندی

فندق متعلق به سلسله گیاهان، شاخه پیدازادان، زیرشاخه نهاندانگان، رده دولپه‌ای، زیررده بی گلبرگان، راسته فاگاله، تیره کوریلاسه، جنس کوریلوس و گونه *avellana* است (مظفریان، ۱۳۸۳؛ زرگری، ۱۳۷۲ و ۱۳۴۱؛ پولادیان و کهندل، ۱۳۸۳).

[1] Gillawz
[2] Bondoq

### ۳-۱-۲- تیره فندق

گیاهان این تیره از نظر برخی صفات شباهت بسیار به تیره *Betulaceae* دارند و از این جهت است که گاهی در تیره مذکور جای داده می‌شوند[(در بعضی از منابع *Corylus* از زیرخانواده *Coryloideae* وخانواده *Betulaceae* نام برده شده است (سعیدی، ۱۳۸۲ ;Kubitzki, 1993; Furlow, 1997)]. معمولاً به صورت درختچه و شامل ۴ جنس و متجاوز از ۳۶ گونه می‌باشد که معمولاً در نیمکره شمالی می‌رویند. این گیاهان برگ‌های متناوب و دندانه‌دار و گل‌هایی بر دو نوع نر و ماده ، مجتمع به صورت سنبله‌های مخصوص (شاتون) دارند. گل‌های نر آن‌ها فاقد پوشش ولی دارای پرچم‌های زیادتری از گیاهان *Betulaceae* است. در گل‌های ماده آن‌ها پوشش گل به صورت رشد نیافته است و معمولاً لبه‌های نامنظم دارد. تخمدان تحتانی و میوه به صورت فندقه و محصور در یک گریبان[1] برگ مانند است. در ایران دو جنس به نام‌های *Corylus* و*Carpinus* دارد (مظفریان، ۱۳۸۳؛ پولادیان و کهندل، ۱۳۸۳؛ زرگری، ۱۳۷۲و۱۳۴۱).

### ۴-۱-۲- جنس *Corylus*

گیاهی است چوبی با برگ‌های متناوب ساده و خزان کننده وگل‌های یک پایه دارد. گل‌های نر دارای ۳ تا ۸ پرچم بوده، به صورت شاتون‌های استوانه‌ای شکل مجتمع می‌باشند که معمولاً در سال قبل تشکیل می‌شوند (پولادیان و کهندل، ۱۳۸۳؛ زرگری، ۱۳۷۲ و ۱۳۴۱). ترتیب قرار گرفتن گل‌ها در شاتون نر به صورتی است که دستجات ۲ تا ۵تایی آن‌ها در حول محور گل آذین مشاهده می‌شود (زرگری، ۱۳۴۱). گل‌های ماده به تعداد کم مجتمع هستند که به صورت دوتایی محصور در یک براکته‌اند و هر یک توسط سه براکتوئول احاطه شدند. در طول دوره گلدهی ظاهر شدن کلاله‌های قرمز

[1] Involucre