

کشت بافت گیاهی

از تئوری تا عمل

مؤلفان:

دکتر راهله رهباریان — دکتر منصوره کرمانی

(اعضای هیئت علمی دانشگاه پیام نور)

www.ketab.ir

سرشناسه	: رهباریان، راهله، ۱۳۵۹-
عنوان و نام پدیدآور	: کشت بافت گیاهی از تئوری تا عمل / مؤلفان: راهله رهباریان، منصوره کرمانی.
مشخصات نشر	: مشهد: دانشگاه امام رضا(ع)، ۱۳۹۷.
مشخصات ظاهری	: ص: ۲۳۰ مصور (بخشی رنگی)، جدول (بخشی رنگی)، نمودار (بخشی رنگی).
شابک	: 978-600-5650-74-7
وضعیت فهرست‌نویسی	: فیبا
یادداشت	: واژه‌نامه.
یادداشت	: کتابنامه.
یادداشت	: نمایه.
موضوع	: گیاهان -- کشت بافت‌ها
موضوع	: Plant tissue culture
موضوع	: گیاهان -- کشت بافت‌ها -- دستنامه‌های آزمایشگاهی
موضوع	: Plant tissue culture -- Laboratory manuals
موضوع	: کال / شناسی گیاهی
موضوع	: Plant anatomi
موضوع	: گیاهان -- تکثیر آزمایشگاهی
موضوع	: Plant micropropagation
موضوع	: گیاهان -- تکثیر آزمایشگاهی -- دستنامه‌های آزمایشگاهی
موضوع	: Plant micropropagation -- Laboratory manuals
شناسه افزوده	: کرمانی، منصوره، ۱۳۶۰-
شناسه افزوده	: دانشگاه امام رضا(ع)
رده‌بندی کنگره	: Q۵۹۷ ۱۳۹۷ ۵۷۵
رده‌بندی دیویی	: ۵۸۱/۰۷۲۴
شماره کتابشناسی ملی	: ۵۴۲۷۹۰۰



نام کتاب: کشت بافت گیاهی از تئوری تا عمل
مؤلفان: دکتر راهله رهباریان، دکتر منصوره کرمانی
ناشر: دانشگاه بین‌المللی امام رضا علیه‌السلام
تیراژ: ۵۰۰ نسخه
قطع: وزیری

تاریخ انتشار: چاپ اول، ۱۳۹۷

صفحات: ۲۳۰ صفحه

چاپ و صحافی: چاپخانه مهر و ماه

شابک: ۷-۷۴-۵۶۵۰-۶۰۰-۹۷۸

قیمت: ۱۵۰۰۰۰ ریال

حق چاپ محفوظ است

مشهد خیابان اسرار، مرکز انتشارات کتب و نشریات علمی دانشگاه بین‌المللی امام رضا (ع)

صندوق پستی ۵۵۳-۹۱۷۳۵ تلفن: ۳۸۰۴۱-۰۵۱ داخلی ۱۵۱۵

مرکز توزیع و پخش انتشارات دانشگاه امام رضا(ع) - (شرکت به‌نشر)

دفتر مرکزی: ص: پ ۰۹۱۳۷۵/۴۹۶۹ تلفن دفتر بازرگانی مشهد: ۳۸۵۱۴۸۴۰، توزیع: ۷-۳۸۵۱۱۱۳۶

تلفن دفتر تهران: ۸۸۹۵۱۷۳۹-۸۸۹۶۰۶۲، گرگان: ۰۱۷-۳۲۲۶۶۰۶۱، تربت حیدریه: ۰۵۱-۵۲۲۴۰۵۷۰، اصفهان: ۰۳۱-۳۲۲۱۶۰۴۰

Publications@imamreza.ac.ir

فهرست مطالب

پیشگفتار مؤلفان ۱۳

فصل اول: کلیات ۱۷

۱-۱- مقدمه ۱۷

۱-۲- تاریخچه ۱۸

۱-۳- مبانی و مزایای کشت بافت و سلول گیاهی ۲۳

منابع ۲۶

فصل دوم: امکانات آزمایشگاهی و روش‌های تجزیه آزمایشگاه ۲۹

۱-۲- کلیات ۲۹

۲-۲- ویژگی‌های فضای کاری و آزمایشگاه کشت ۳۰

۱-۲-۲- آزمایشگاه عمومی و تجهیزات مورد نیاز ۳۰

۲-۲-۲- ظرف‌ها و لوازم کشت بافت ۳۱

۱-۲-۲- اتاق کشت ۳۱

۲-۲-۲- محل نگهداری از نمونه‌های کشت شده ۳۴

۲-۳- استریل و ضدعفونی کردن وسایل و تجهیزات آزمایشگاهی ۳۵

منابع ۳۸

فصل سوم: ترکیبات محیط کشت غذایی ۳۹

۱-۳- کلیات ۳۹

۲-۳- انواع محیط کشت ۴۰

۳-۳- ترکیبات تشکیل دهنده محیط کشت ۴۱

۴۳	 (Macro Elements) عناصر پر مصرف
۴۸	 (Micro Elements) عناصر کم مصرف
۵۱	 ترکیبات آلی
۵۵	 عوامل زله کننده
۵۷	 تنظیم کننده های رشد
۶۳	 pH محیط کشت
۶۴	 مثال

فصل چهارم: انواع ریزنمونه و انواع کشت بافت

۶۷	 ۱-۴-۱
۶۷	 ۲-۴-۱ منابع تهیه ریزنمونه
۶۷	 ۳-۴-۱ عوامل تأثیر گذار بر پاسخدهی ریزنمونه ها
۶۸	 ۱-۳-۴ ژنوتیپ
۶۸	 ۲-۳-۴ شرایط فیزیولوژیکی گیاه
۶۹	 ۳-۳-۴ سن گیاه مادر و سن ریزنمونه
۷۰	 ۴-۳-۴ پیش تیمار
۷۰	 ۵-۳-۴ محیط کشت
۷۰	 ۴-۴ عوامل آلوده کننده محیط کشت و نحوه ضد عفونی کردن ریزنمونه ها
۷۲	 ۵-۴ انتخاب محیط کشت و انتقال ریزنمونه ها به آن
۷۳	 ۶-۴ شرایط نگهداری کشت ها
۷۴	 ۷-۴ قهوه ای شدن کشت ها
۷۵	 ۸-۴ انواع کشت بافت گیاهی
۷۵	 ۱-۸-۴ کشت بذر
۷۶	 ۲-۸-۴ کشت مریستم
۷۸	 ۳-۸-۴ کشت کالوس
۸۰	 ۴-۸-۴ کشت سوسپانسیون سلولی (Suspension culture)
۸۱	 ۵-۸-۴ کشت اندام (Organ culture)
۸۲	 ۶-۸-۴ کشت جوانه

۸۲	 ۴-۸-۱-۶-۱ انواع تکنیک‌های کشت جوانه
۸۳	 ۴-۸-۷ کشت پروتوپلاست
۸۳	 ۴-۸-۸ کشت جنین (Embryo Culture)
۸۳	 ۴-۸-۱-۸ کشت جنین بالغ
۸۴	 ۴-۸-۱-۸ کشت جنین نابالغ (نجات جنین)
۸۴	 ۴-۸-۹ کشت بساک و دانه گرده
۸۵	 منابع

۸۷	 فصل پنجم: کالوس و سوسپانسیون سلولی
۸۷	 ۵-۱-۱ کلیات
۸۷	 ۵-۲-۱ انواع کالوس
۸۸	 ۵-۳-۱ نگهداری از کشت کالوس
۸۹	 ۵-۳-۱-۱ بهبود در رشد کشت، کالوس
۸۹	 ۵-۳-۲ اندازه‌گیری میزان رشد کاله
۹۰	 ۵-۴-۱ ایجاد کشت‌های سوسپانسیون سلولی
۹۱	 ۵-۴-۱-۱ نگهداری سوسپانسیون سلولی
۹۱	 ۵-۴-۲ اندازه‌گیری رشد سوسپانسیون سلولی
۹۲	 ۵-۴-۳ آلودگی در سوسپانسیون سلولی و کشت کالوس
۹۳	 ۵-۵-۱ انواع کشتهای سوسپانسیونی
۹۳	 ۵-۵-۱-۱ کشت بسته
۹۳	 ۵-۵-۲ کشت پیوسته (Continues culture)
۹۴	 ۵-۵-۳ کشت باز (Semicontinues culture)
۹۵	 منابع

۹۷	 فصل ششم: کشت پروتوپلاست
۹۷	 ۶-۱-۱ کلیات
۹۸	 ۶-۲-۱ جداسازی پروتوپلاست از بخش‌های مختلف گیاه

- ۳-۶- محیط کشت و تعدیل کننده فشار اسمزی ۱۰۰
- ۴-۶- خالص سازی پروتوپلاست و تعیین قابلیت حیات آن ۱۰۰
- ۵-۶- کشت پروتوپلاست های خالص سازی شده ۱۰۱
- ۶-۶- محیط کشت ۱۰۲
- ۷-۶- رشد و نمو پروتوپلاست ها ۱۰۲
- ۸-۶- پروتوپلاست های ناقص (sub-protoplast) ۱۰۴
- ۹-۶- کاربردهای کشت پروتوپلاست ۱۰۴
- ۹-۶-۱- امتزاج پروتوپلاست و انتخاب دو رنگ های رویشی (هیبریداسیون سوماتیکی) ۱۰۴
- ۹-۶-۲- انتقال ژن ۱۰۸
- ۹-۶-۳- استفاده از پروتوپلاست ها در بررسی های آلودگی و پروسه ۱۰۸
- ۹-۶-۱۰- امتزاج پروتوپلاست ها در اصلاح نباتات ۱۰۹
- منابع ۱۱۰

فصل هفتم: ریزازدیادی ۱۱۱

- ۱-۷- کلیات ۱۱۱
- ۲-۷- مراحل ریزازدیادی ۱۱۳
- ۳-۷- روش های ریزازدیادی و باززایی گیاه ۱۱۶
- ۳-۷-۱- تکثیر سریع جوانه های جانبی (Axillary bud proliferation) ۱۱۶
- ۳-۷-۲- اندام زایی (Organogenesis) ۱۱۸
- ۳-۷-۳- جنین زایی رویشی (Somatic embryogenesis) ۱۲۱
- ۴-۷- بررسی مشکلات ریزازدیادی در مرحله کشت بافت ۱۲۷
- ۴-۷-۱- حذف ترکیبات فنتی ۱۲۸
- ۴-۷-۲- شناخت آلودگی های درونی و روش های حذف آنها ۱۲۸
- ۴-۷-۳- شیشه ای شدن ریزنمونه ها در کشت بافت ۱۲۹
- ۴-۷-۴- تنوع در گیاهان تکثیر شده ۱۲۹
- ۴-۷-۵- سایر معایب ریزازدیادی ۱۳۰
- ۵-۷- تکنیک های جدید ریزازدیادی ۱۳۱
- ۵-۷-۱- تکنولوژی بیوراکتور و ریزازدیادی ۱۳۱

- ۱۳۳..... ۷-۵-۲- تکنولوژی لایه نازک سلولی (TCL) و ریزازدیادی
- ۱۳۶..... ۷-۵-۳- تکنولوژی مقطع نازک (TCS)
- ۱۳۶..... ۷-۶- کاهش قابلیت تمایز در کشت بافت
- ۱۳۷..... ۷-۷- حفظ و نگهداری گیاهچه‌های باززا شده
- ۱۳۷..... ۷-۸- ریشه‌زایی و انتقال گیاهچه‌های باززا شده به خاک
- ۱۳۸..... ۷-۹- تولید بذر مصنوعی
- ۱۳۸..... ۷-۹-۱- بذر مصنوعی آبدار
- ۱۳۹..... ۷-۹-۲- بذر مصنوعی خشک
- ۱۴۰..... ۷-۹-۳- بذر مصنوعی دولایه
- ۱۴۱..... منابع

صل هشتم: تولید گیاهان هاپلوئید..... ۱۴۴

- ۱۴۴..... ۸-۱- کلیات
- ۱۴۵..... ۸-۲- کشت سلول‌های جنسی نر
- ۱۴۵..... ۸-۲-۱- کشت بساک
- ۱۴۶..... ۸-۲-۲- کشت دانه گرده (میکروسپورهای جدا شده)
- ۱۴۶..... ۸-۲-۳- روند رشدی بساک و میکروسپور در محیط کشت
- ۱۴۸..... ۸-۲-۴- عوامل مؤثر بر تولید هاپلوئیدها
- ۱۵۳..... ۸-۲-۵- گیاهان حاصل از کشت سلول‌های جنسی نر
- ۱۵۴..... ۸-۳- کشت سلول جنسی ماده
- ۱۵۵..... ۸-۳-۱- عوامل مؤثر بر کشت سلول‌های جنسی ماده
- ۱۵۷..... ۸-۳-۲- منشأ گیاهان باززا شده
- ۱۵۷..... ۸-۳-۳- گیاهان حاصل از کشت سلول‌های جنسی ماده
- ۱۵۸..... ۸-۴- تولید گیاه هاپلوئید از راه دو رنگ‌گیری بین گونه‌ای و بین جنسی
- ۱۵۹..... ۸-۵- تولید گیاهان هاپلوئید مضاعف
- ۱۶۰..... ۸-۶- موارد استفاده هاپلوئیدها
- ۱۶۲..... منابع

۱۶۴	فصل نهم: تنوع سوما کلونال
۱۶۴	۱-۹- کلیات
۱۶۶	۲-۹- منبع تنوع سوما کلونال
۱۶۸	۳-۹- اساس تنوع سوما کلونال
۱۷۰	۴-۹- کنترل تنوع سوما کلونال
۱۷۰	۵-۹- انتخاب سوما کلون‌ها
۱۷۱	۵-۹-۱- انتخاب در شرایط محیط طبیعی
۱۷۲	۵-۹-۲- انتخاب در شرایط آزمایشگاهی
۱۷۵	۶-۹- آرمورنتال سوما کلون‌ها
۱۷۶	۷-۹- کاربرد تنوع سوما کلونال در اصلاح نباتات
۱۷۸	۸-۹- معایب مرتبط با تنوع سوما کلونال
۱۷۹	۹-۹- تنوع گامتوکلونال
۱۸۱	منابع
۱۸۲	فصل دهم: متابولیت‌های ثانویه
۱۸۲	۱-۱۰- کلیات
۱۸۵	۱-۱۰-۲- تأثیر شرایط کشت بر تهیه فراورده‌های ثانویه
۱۸۵	۱-۱۰-۲-۱- ترکیب محیط کشت مورد استفاده برای تولید متابولیت‌های ثانویه
۱۸۶	۱-۱۰-۲-۲- سیستم‌های غیرمتحرک‌سازی سلول‌ها
۱۸۷	۱-۱۰-۲-۳- بیوترانسفورماسیون مواد پیش‌ساز
۱۸۸	۱-۱۰-۲-۴- تمایز مورفولوژیکی و شیمیایی
۱۸۸	۱-۱۰-۲-۵- تحریک جهت تولید فراورده‌های ثانویه
۱۸۹	۱-۱۰-۳- گزینش لاین‌های سلولی تولیدکننده مقادیر زیاد متابولیت‌های مفید
۱۹۰	۱-۱۰-۴- دست‌ورزی ژنتیکی کشت‌های بافت
۱۹۱	منابع

فصل یازدهم: آشنایی با واحدهای بیان غلظت جهت تهیه محیط کشت..... ۱۹۴

۱-۱۱- کلیات..... ۱۹۴

۲-۱۱- درصد وزنی..... ۱۹۴

۳-۱۱- درصد حجمی..... ۱۹۴

۴-۱۱- درصد وزنی- حجمی..... ۱۹۵

۵-۱۱- قسمت در میلیون..... ۱۹۵

۶-۱۱- لاریته..... ۱۹۵

۷-۱۱- نرمال..... ۱۹۶

۸-۱۱- محلول سازی، از محلول های غلیظ آزمایشگاه..... ۱۹۷

۹-۱۱- مخلوط کردن دو محلول با دو درصد مختلف..... ۱۹۷

۱۰-۱۱- تبدیل پسرید و آب با یکدیگر..... ۱۹۸

منابع..... ۲۰۰

فصل دوازدهم: روش آماده سازی محیط کشت..... ۲۰۲

۱-۱۲- کلیات..... ۲۰۲

۲-۱۲- محلول ذخیره عناصر پر مصرف..... ۲۰۲

۳-۱۲- محلول ذخیره عناصر کم مصرف..... ۲۰۳

۴-۱۲- محلول ذخیره آهن..... ۲۰۳

۵-۱۲- محلول ذخیره اکسین..... ۲۰۳

۶-۱۲- محلول ذخیره سیتو کینین..... ۲۰۴

۷-۱۲- محلول ذخیره جیبرلیک اسید..... ۲۰۴

۸-۱۲- محلول ذخیره اسید آبسزیک..... ۲۰۵

۹-۱۲- محلول ذخیره ویتامین ها..... ۲۰۵

۱۰-۱۲- دستورالعمل تهیه محیط کشت (به حجم یک لیتر)..... ۲۰۶

۱۱-۱۲- تهیه محیط کشت های پیش ساخته..... ۲۰۷

۱۲-۱۲- نگهداری محیط کشت های آماده شده..... ۲۰۸

منابع..... ۲۰۹

۲۱۰	فصل سیزدهم: دستورالعمل‌های کشت بافت
۲۱۰	۱-۱۳ کلیات
۲۱۰	۲-۱۳ دستورالعمل استریل کردن بذر
۲۱۱	۳-۱۳ دستورالعمل استریل کردن ریزنمونه‌های جوانه، برگ و ساقه
۲۱۲	۴-۱۳ دستورالعمل القای کالوس در هویج (<i>Daucus carota</i>)
۲۱۳	۵-۱۳ دستورالعمل کشت سوسپانسیون سلولی در هویج (<i>Daucus carota</i>)
۲۱۴	۶-۱۳ دستورالعمل جداسازی و کشت پروتوپلاست از بافت مزوفیل برگ تنباکو (<i>Nicotiana tabacum</i>)
۲۱۵	۷-۱۱ دستورالعمل کشت جوانه جانبی و انتهایی گل کاغذی (<i>Bougainvillea</i>)
۲۱۶	۸-۱۳ دستورالعمل کشت مریستم پنبه (<i>Gossypium hirsutum</i>)
۲۱۷	۹-۱۳ دستورالعمل باززایی گیاه کامل از کالوس پنبه (<i>Gossypium hirsutum</i>)
۲۱۹	۱۰-۱۳ دستورالعمل القای جنین‌زایی سوماتیکی در هویج (<i>Daucus carota</i>)
۲۲۰	۱۱-۱۳ دستورالعمل کشت سبک برای تولید گیاهان هاپلوئید در تنباکو (<i>Nicotiana tabacum</i>)
۲۲۲	منابع
۲۲۴	فرهنگ اصطلاحات تخصصی

پیشگفتار مؤلفان

محققان، بر آن عقیده‌اند که برای تأمین غذای جمعیت روزافزون دنیا در بیست و پنج سال آینده، عملکرد محصولات زراعی بایستی به میزان ۶۰ درصد افزایش یابد در حالی که منابع طبیعی و منابع غذایی روز به روز محدودتر می‌شوند.

برای حل مشکل تأمین غذا، حفظ سلامت محیط زیست، یکی از راهکاری اساسی، بیوتکنولوژی و مهندسی ژنتیک می‌باشد. طی سال‌های گذشته به دلیل گسترش اطلاعات بشر از فرایندهای بیوتکنولوژی و به‌کارگیری این اطلاعات در زمینه‌های به‌نژادی، افزایش زیادی در تولید اغلب گیاهان زراعی حاصل شده است و همواره نیاز به تولید بیشتر وجود دارد. اصلاح ژنتیکی گیاهان به روش‌های معمول در مواردی با موانعی مواجه بوده است و یا بیشتر آنها چندان سریع نبوده است. لذا به‌کارگیری روش‌های نوین از قبیل کشت بافت‌های گیاهی می‌تواند بعضی از این موانع را مرتفع نماید. به‌طور مثال با استفاده از این تکنیک می‌توان هاپلوئیدهای مضاعف، استخراج پروتوپلاست به‌منظور تولید هیبریدهای غیرجنسی، ازدیاد سریع گونه‌هایی که امکان تکثیر آنها به روش معمول با مشکل مواجه می‌شود، نجات جنین برای تلاقی‌های بین‌گونه‌ای، به‌گزینی سریع و آزمایش‌های بی‌عیب و نقص به تنش‌های زنده و غیرزنده و غیره را انجام داد. همچنین ریزازدیادی به‌صورت تجاری در تولید گیاهان زینتی و ازدیاد گیاهان خاص استفاده می‌شود. تولید فراورده‌های ثانویه از سلول‌های گیاهی و کاربرد صنعتی آنها نیز از مواردی است که مورد توجه بسیاری از محققان و تولیدکنندگان قرار گرفته است.

برای شروع کشت بافت، دانستن مبانی تئوریک و روش‌های عملی کشت بافت گیاهی، به‌طور توأم لازم است. در حال حاضر کتاب‌های زیادی در زمینه اصول تئوریک کشت بافت گیاهی توسط اساتید و محققان کشورمان تألیف یا ترجمه شده است؛ اما منابع کمی به آموزش جزئیات عملی مربوط به تهیه محلول‌های ذخیره و محیط کشت‌های مختلف و دستورالعمل‌های گام به گام برای کشت بافت،

سلول و اندام گیاهی پرداخته‌اند. به توجه به این خلأ و نیز عدم دسترسی برخی از علاقه‌مندان و دانشجویان کشور به کارگاه‌های آموزش عملی کشت بافت و نیز ضرورت گنجاینیدن درس کشت بافت و ریزازدیادی در دروس مقاطع مختلف اکثر رشته‌های کشاورزی و زیست‌شناسی، کتاب حاضر که مبنای کشت بافت گیاهی و ریزازدیادی را از تئوری تا عمل بیان می‌کند، جهت رفع نیازهای علمی و کاربردی موجود در این رشته تألیف شده است. این کتاب به صورت خودآموز نگارش یافته است، به طوری که یک پژوهشگر مبتدی نیز بتواند با کمک آن، مراحل مختلف کشت بافت، از مرحله طراحی و تجهیز آزمایشگاه، تهیه محیط کشت، کشت بذر، کشت کالوس، جنین زایی، اندام‌زایی و غیره را تا مرحله تولید نهایی و انتقال و سازگاری آن در گلخانه انجام بدهد. دستورالعمل‌های کشت بافت، سلول و اندام گیاهی که در این کتاب آورده شده است، برای گیاهان مدل کشت بافت مانند هویج، تنباکو و پنبه بینه‌آزی شده که راحت و سریع به کشت بافت پاسخ می‌دهند و ساده‌ترین تجهیزات و مواد اولیه را نیاز دارند.

این کتاب در ۱۳ فصل نوشته شده است؛ فصل اول به کلیاتی درباره کشت بافت و تاریخچه استفاده از کشت بافت می‌پردازد. فصل دوم به مریخ مواد، لوازم و تجهیزات مورد نیاز آزمایشگاه کشت بافت می‌پردازد. فصل سوم به بررسی انواع محیط کشت، ترکیبات موجود در محیط کشت و اهمیت استفاده از آنها خواهد پرداخت. در فصل چهارم، وابسته مربوط به نحوه تهیه ریزنمونه و انواع کشت بافت مورد بحث قرار گرفته است. فصل پنجم و ششم به ذکر روش‌های کشت کالوس، سوسپانسیون سلولی و پروتوپلاست پرداخته است. فصل‌های هفتم تا دهم کتاب به موارد کاربردی کشت بافت و سلول شامل ریزازدیادی گونه‌های گیاهی مطلوب، تولید گیاهان مایلوئید، استفاده از تنوع سوماکلونال در ایجاد گونه‌های اصلاح شده گیاهی و نحوه استخراج متابولیت‌های ثانویه از گونه‌های گیاهی دارویی پرداخته است. در فصل یازدهم و دوازدهم واحدهای متریک غلظت، نحوه تبدیل آنها به یکدیگر، روش‌های تهیه محلول‌های مورد نیاز در کشت بافت و نحوه آماده‌سازی محیط کشت مورد بررسی قرار گرفته است. در فصل آخر کتاب، دستورالعمل‌های مختلفی برای کشت سلول، بافت و اندام گیاهی، کشت سوسپانسیون سلولی، پروتوپلاست و نیز باززائی ذکر شده است که می‌تواند در کلاس‌های درسی و کارگاه‌های آموزشی کشت بافت، برای آموزش دانشجویان و علاقه‌مندان مورد استفاده قرار بگیرد.

با وجود کوشش‌های فراوان و دقت بسیار در تهیه و تدوین این نوشتار، بی‌شک این نوشتار خالی از نقص و اشکال نبوده و امیدواریم که از نظرات و راهنمایی‌های اساتید ارجمند، دانشجویان گرامی و صاحب‌نظران در جهت رفع اشکالات و بهبود کیفیت مطالب استفاده نماییم.

با آرزوی توفیق الهی

راهنما رهباریان - منصوره کرمانی

ra_rahbarian@yahoo.com

mkermani20@gmail.com

مشهد زمستان ۹۷

www.ketab.ir