Archive of SID

شماره ۷۱، تابستان ۱۳۸۵

در زراعت و باغبانی

ریز غده‌زایی سیب زمینی با استفاده از مواد جایگزین ارزان قیمت به روش *In vitro*

• **سید سعید اسعدی**، کارشناس ارشد اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی، کرج
• **منصور امیدی**، دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران
• **داریوش داودی**، عضو هیأت علمی پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی، کرج

تاریخ دریافت: مهر ماه ۱۳۸۲ تاریخ پذیرش: اسفند ماه ۱۳۸۴

Email:ss.Asadi@yahoo.com

چکیده

تولید ریزغده در سیب‌زمینی به روش کشت بافت پرهزینه می‌باشد. در این طرح با هدف کاهش هزینه تولید ریزغده از ساقه‌های جوان ارقام انتخابی سانته، اگریا، دیامانت و کاسموس نمونه گیری و پس از ضدعفونی در شرایط استریل اقدام به کشت مریستم به اندازه حدود ۰/۲ میلی متر در محیط مایع بر روی پل‌های کاغذی شد. در مرحله القاء ریزغده زایی اقدام به جایگزینی برخی منابع ارزان قیمت از جمله شکر معمولی و شکر سرخ به‌جای ساکارز، نشاسته گندم و ذرت به‌جای آگار، غلظت‌های مختلف کود مایع فسامکو و کودهای شیمیائی (اوره، سوپر فسفات تریپل و سولفات پتاسیم) به جای عناصر ماکرو و میکرو موجود در محیط کشت گردید. این آزمایشات به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در چهار تکرار مطالعه شدند. نتایج به‌دست آمده بر اساس شاخص‌های تعداد و وزن ریزغده‌ها بیانگر این بود که شکر معمولی می‌تواند جایگزین مناسبی به‌جای ساکارز خالص باشد و هزینه محیط کشت را تا ۸۷/۵۳ درصد کاهش دهد. هیچ یک از نشاسته‌ها جایگزین مناسبی به‌جای آگار نبودند. کودهای شیمیایی بکار رفته توانستند جایگزین منابع تأمین ازت، فسفر و پتاسیم موجود در محیط کشت پایه MS قرار گیرند و هزینه محیط کشت را تا ۲/۰۴ درصد کاهش دهند. غلظت ۴ میلی‌لیتر کود مایع فسامکو هر چند از نظر دو شاخص مورد بررسی اختلاف بسیار معنی داری با شاهد داشت ولی این جایگزینی هزینه محیط کشت را تا ۴/۴۳ درصد کاهش داد.

کلمات کیدی: محیط MS، ریزغده زایی، کشت مریستم، مواد جایگزین ارزان قیمت.

Pajouhesh & Sazandegi: No 71 pp: 94-101

In vitro microtuberization of potato (_Solanum tuberosum_ L.) using low-cost midia substitutes

By: S.S. Asadi. Faculty of Agriculture, Azad University of Karaj
M. Omidi, Faculty of Agriculture, University of Tehran Karaj, Iran
D. Davoodi, Agricultural Biotechnology Research Institute karaj, Iran

In vitro production of potato virus-free microtubers is an expensive procedure. With the aim of decreasing the production costs, this study was carried out using four potato cultivars, Sante, Agria, Diamond and Kasmos. *In vitro* stock plants originated from meristem culture were used as explants in experiments. Low-price substitutes including

www.SID.ir

Archive of SID

ordinary and red sugars, wheat and corn starches, different concentrations of fusamco liquid nutrient and chemical fertilizers (urea, triple super phosphate and potassium sulfate) were used in midia of tuber induction stage instead of sucrose, agar and minerals of culture mediol, respectively. Results showed that ordinary sugar may be an appropriate substitute for pure sucrose. It could reduce the culture medium cost by 87.53%. The mentioned starches, however, could not be used for optimum solidification of the medium. Chemical fertilizers may be an appropriate substitute for nitrogen, phosphor, and potassium supply resources in MS basic culture medium and reduced culture medium costs by 2.04%. Concentration of 4 ml of fusamco liquid nutrient showed a decrease in number and weight indices of produced tubers, and had a significant difference with the control, but culture medium cost was reduced by 4.43%.

Key words: MS Medium, Microtuberization, Meristem Culture, Low-price substitutes.

مقدمه

سیب زمینی زراعی با نام علمی *Solanum tuberosum*، اتوتتراپلوئید[1] و هتروزیگوس[2] بوده و دارای ۴۸=۴x=۲n کروموزوم می‌باشد (۱۴). از آنجا که عملکرد سیب زمینی در واحد سطح بسیار بالا می‌باشد از لحاظ گسترش کشت در جهان بعد از ذرت در جایگاه دوم قرار داشته و دومین منبع غذایی ساده بعد از تخم مرغ می‌باشد (۱۹). مقدار کل تولید غده‌های بذری در جهان ۳۷۴۸۶۸۵۹ تن می‌باشد (۱۱).

تولید ریزغده عاری از بیماریها به روش درون شیشه‌ای[3] و به صورت انبوه که جهت سالم‌سازی و افزایش تولید این محصول صورت میگیرد یکی از اهداف مهم در تولید بذر سیب زمینی در بسیاری از کشورها می‌باشد. وانگ (۱۹۷۸) برای اولین بار در چهارمین کنگره بین المللی کشت بافت گیاهی، تولید ریزغده به شکل انبوه در شرایط درون شیشه‌ای را گزارش کرد (۱۵). شلد (۱۹۸۲) از این روش در مرکز بین المللی سیب زمینی (CIP[4]) برای حفظ ژرم پلاسم و مبادله بین المللی آن استفاده کرد (۱۶).

در ایران نیز از روش تولید ریزغده عاری از بیماری‌ها در شرایط درون شیشه‌ای جهت کاهش آلودگی‌ها و خسارات ناشی از غده‌های بذری آلوده طرحهایی انجام گرفته است اما با توجه به بالا بودن هزینه تولید ریزغده‌ها از نظر اقتصادی مقرون به صرفه نیست. بنابراین پس از بررسی عوامل موثر در تولید ریزغده، با توجه به بالا بودن هزینه ساخت محیط کشت غذایی در این طرح با هدف کاهش هزینه تولید ریزغده اقدام به جایگزینی برخی منابع ارزان قیمت در محیط کشت بافت ریزغده زایی سیب‌زمینی شد.

جایگزینی منابع ارزان قیمت در محیط کشت بافت برخی گیاهان انجام گرفته است ولی تاکنون گزارشی مبنی بر این جایگزینی در گیاه سیب زمینی صورت نگرفته است.

Sorvari و Schifder از نشاسته جو برای ژلاتینی کردن محیط غذایی همراه با یک کربوهیدرات بی اثر (ملیبیوس)[5] در کشت بافت بساک جو استفاده کردند که علاوه بر تولید مقدار زیادی گیاهک، درصد آلبینو نیز کاهش یافت (۱۸).

Zimmerman و همکارانش از مخلوط نشاسته ژل رایت به‌جای آگار در کشت بافت شش رقم سیب و دو رقم تمشک استفاده کردند که علاوه بر کاهش هزینه، گیاهان تکثیر شده بیشتری هم تولید کردند (۲۰).

Babbar و Jain از ایسابگول[6] به عنوان یک عامل ژلاتینی در محیط کشت بافت برخی گیاهان به‌جای آگار استفاده کردند و اختلاف معنی داری را در گیاهان تولید شده بین دو محیط کشت مشاهده نکردند (ایسابگول عامل ژلاتینی است که از دانه بارهنگ[7] به‌دست می‌آید و به صورت لعاب می‌باشد) (۴).

مواد و روش‌ها

برای انجام این تحقیق ابتدا غده‌های بذری ارقام سیب زمینی (سانته[8]، اگریا[9]، دیامانت[10] و کاسموس[11]) از بخش پیاز و سیب زمینی مؤسسه اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج تهیه و سپس در گلخانه جهاد دانشگاهی دانشکده کشاورزی کرج در داخل گلدان‌های ۲۵ سانتیمتری حاوی خاک استریل کشت شدند. پس از رشد کافی از ساقه‌های جوان بوجود آمده نمونه گیری به صورت ساقه‌های حاوی ۴-۳ جوانه صورت گرفت. بعد از شستشوی ساقه‌ها با محلول آب و مایع ظرفشویی (دو قطره در یک لیتر آب) ساقه‌ها در فضای لامینارفلو ضدعفونی شدند (۱) و سپس اقدام به جداسازی و کشت مریستم در محیط مایع بر روی پلهای کاغذی شد.

محیط کشت مرحله استقرار شامل محیط پایه MS به همراه ۳۰گرم ساکارز، BAP برابر ۵ میلیگرم در لیتر و NAa برابر ۰/۱ میلیگرم در لیتر بود و pH محیط در حد ۵/۷ تنظیم شد. ظروف پس از کشت به اتاقک رشد[12] انتقال داده شد. شرایط درونی اتاقک رشد بدین صورت بود که دما

www.SID.ir

Archive of SID

در حدود ۲۴ درجه سانتیگراد، فتوپریود ۱۶ ساعت روشنایی (با شدت نور ۴۰۰۰-۳۰۰۰ لوکس) و ۸ ساعت تاریکی در نظر گرفته شد (۱۳، ۸، ۷، ۶، ۳، ۲). با توجه به بررسی اجزاء محیط کشت (نمودار ۱و۲) ساکارز بیشترین مقدار هزینه را به خود اختصاص داده و بعد آگار، سپس هورمون‌ها و در آخر عناصر غذایی ماکرو و میکرو قرار می‌گیرند.

بنابراین در مرحله بعد از شکر معمولی و شکر سرخ به‌جای ساکارز، نشاسته گندم و ذرت به‌جای آگار، غلظت‌های مختلف کود مایع فسامکو و کودهای شیمیایی (اوره، سوپر فسفات تریپل و سولفات پتاسیم) به جای عناصر غذایی ماکرو و میکرو موجود در محیط کشت استفاده گردید.

پس از رشد و واکشت[۱۳] نمونه‌ها، در مرحله القاء ریزغده زایی، محیط کشت ریزغده زایی با اعمال جایگزین‌های در نظر گرفته شده در فضای لامینارفلو جایگزین محیط کشت مرحله استقرار گردید و شرایط اتاقک رشد به نفع ریزغده زایی تغییر داده شد. اتاقک رشد با دمای حدود ۱ ± ۱۸ درجه سانتیگراد و یک دوره تاریکی در نظر گرفته شد. محیط کشت شاهد در مرحله ریزغده زایی شامل محیط کشت پایه MS به همراه ۸۰ گرم ساکارز و BAP برابر ۱۰ میلیگرم در لیتر[۱۴] بود (۹، ۱۰، ۱۲، ۱۷). کلیه آزمایشات در مدل آماری فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام گرفت. تا پایان هفته سوم بیشترین تعداد ریزغده تولید و از آن به بعد تعداد ریزغده‌ها ثابت بود ولی از نظر وزن ریزغده‌ها در حال افزایش بود و بیشترین میانگین وزن در هفته دهم حاصل شد بنابراین ده هفته پس از اعمال تیمارهای مختلف غذایی شاخص‌های تعداد و وزن ریزغده‌های تولید شده مورد بررسی آماری قرار گرفتند.

آزمایش اول: جایگزینی منابع انرژی

در این آزمایش با توجه به اینکه ساکارز ۸۵ درصد هزینه ساخت محیط کشت را تشکیل می‌دهد نمونه‌های تکثیر شده در شرایط درون شیشه ای (چهار رقم انتخابی) به عنوان فاکتور اول تحت تأثیر محیط‌های کشت غذایی متفاوت از نظر منبع تأمین انرژی (دارای ۸۰ گرم ساکارز، ۸۰ گرم شکر معمولی و ۱۰۰ گرم شکر سرخ) در سه سطح به عنوان فاکتور دوم در چهار تکرار برای مرحله القاء ریزغده زایی قرار گرفتند. همه محیط‌های کشت مایع و دارای BAP برابر ۱۰ میلی‌گرم در لیتر بودند. شاخص‌های تعداد و وزن ریزغده‌ها ده هفته پس از مرحله القاء ریزغده زایی مورد بررسی و تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند.

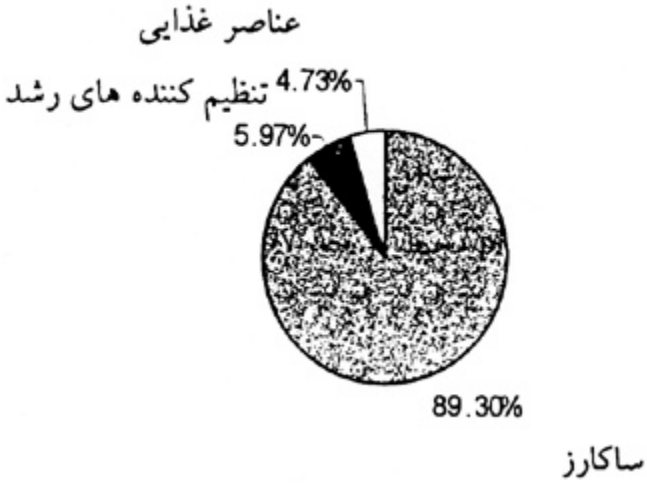
آزمایش دوم: جایگزینی منابع جامدکننده محیط کشت

آگار که برای جامد کردن محیط کشت بکار میرود ۱۸/۲۵ درصد هزینه ساخت محیط کشت را به خود اختصاص می‌دهد. برای اجرای این آزمایش ابتدا در یک آزمایش مقدماتی مشخص شد غلظت ۵۰ گرم در لیتر نشاسته گندم و ذرت بهترین غلظت برای جامد شدن محیط کشت و همچنین تثبیت نمونه گیاهی در روی سطح محیط کشت می‌باشد.

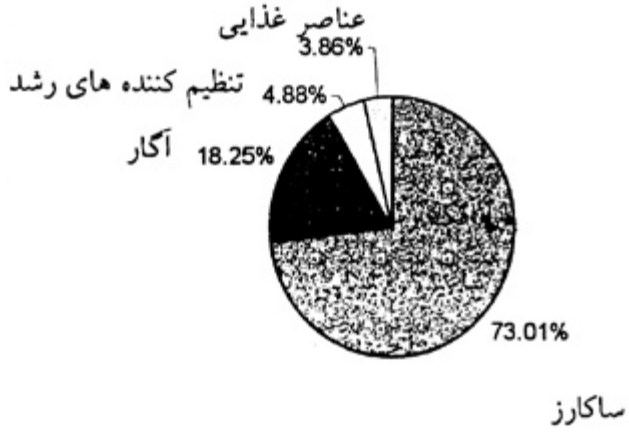
در آزمایش اصلی در مرحله القاء ریزغده زایی ارقام انتخابی در چهار سطح تحت تأثیر محیط‌های کشت متفاوت از نظر منبع جامدکننده محیط کشت، در سه سطح شامل ۸ گرم آگار، ۵۰ گرم نشاسته گندم و ۵۰ گرم نشاسته ذرت در ۴ تکرار قرار گرفتند و به همه محیط‌های کشت ۸۰ گرم ساکارز و BAP $10\ mgl^{-1}$ BAP اضافه شد. شاخص‌های تعداد و وزن ریزغده‌ها پس از ده هفته مورد بررسی و تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

آزمایش سوم: جایگزینی غلظت‌های مختلف کود مایع فسامکو و کودهای شیمیایی

کود مایع فسامکو یکی از کودهای مایع شناخته شده و معتبر می‌باشد که طیف وسیعی از نیازهای گیاه را تأمین می‌کند. ابتدا در یک آزمایش مقدماتی مشخص شد گیاه در غلظت‌های ۱و۲ میلی‌لیتر در لیتر از فسامکو هیچ گونه غده تولید نمی‌کند و همچنین در غلظت‌های بالا تراز ۶ میلی‌لیتر در لیتر گیاه دچار سوختگی می‌شود بنابراین اثر جایگزینی سه غلظت ۳، ۴ و ۵ میلی‌لیتر کود مایع فسامکو در لیتر به جای عناصر ماکرو و میکرو



نمودار ۱- درصد اجزاء تشکیل دهنده محیط کشت مایع



نمودار ۲- درصد اجزاء تشکیل دهنده محیط کشت جامد

www.SID.ir

Archive of SID

موجود در محیط کشت MS و همچنین اثر جایگزینی کودهای شیمیایی (اوره به مقدار ۱۸۳۴ میلی‌گرم در لیتر برای تأمین ازت، سوپر فسفات تریپل به مقدار ۳۴ میلی‌لیتر از محلول ۲/۵ گرم در لیتر سوپرفسفات تریپل برای تأمین فسفر و سولفات پتاسیم به مقدار ۷۹۰/۴۹ میلی‌لیتر از محلول ۲ گرم در لیتر سولفات پتاسیم برای تأمین پتاسیم موجود در محیط کشت پایه MS[15]) در چهار تکرار از نظر دو شاخص تعداد و وزن ریزغده‌های تولید شده، ده هفته بعد از مرحله القاء با تیمار شاهد مورد مقایسه و تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند.

نتایج و بحث

نتایج به‌دستآمده تیمار شاهد از نظر دو شاخص تعداد و وزن ریزغده با نتایج Escutland Gopal همخوانی دارد و می‌توان نتیجه گرفت تیمار بکار رفته شرایط لازم برای تولید ریزغده را فراهم کرده است (۹ ، ۱۱).

در آزمایش جایگزینی منابع تأمین انرژی تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها که از طریق آزمون دانکن در سطح ۱٪ به‌دست آمد مشخص نمود از نظر شاخص‌های تعداد و وزن ریزغده‌ها اختلاف معنی داری بین محیط کشت شاهد و محیط کشت همراه با شکر معمولی وجود ندارد (جدول ۱). بنابراین شکر معمولی می‌تواند جایگزین مناسبی برای ساکارز باشد. ضمناً با توجه به اینکه هزینه یک لیتر محیط کشت مایع ریزغده زایی همراه با ساکارز ۲۶۸۷۴ ریال است که ساکارز حدود ۸۵٪ این هزینه را به خود اختصاص داده است در حالی که هزینه همین محیط کشت همراه با شکر معمولی ۳۳۵۴ ریال می‌باشد، در واقع این جایگزینی هزینه هر لیتر محیط کشت را تا ۸۷/۵۳ درصد کاهش خواهد داد (جدول ۴). به بیان دیگر هزینه ساخت هشت لیتر محیط کشت مایع همراه با شکر معمولی برابر یک لیتر محیط کشت مایع همراه با ساکارز می‌باشد. شکر سرخ از نظر هر دو شاخص تعداد و وزن ریزغده اختلاف بسیار معنی داری را با شاهد نشان داد و در واقع نتوانست جایگزین مناسبی برای ساکارز باشد.

در آزمایش جایگزینی منابع جامدکننده محیط کشت نتایج به‌دست آمده از تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها به روش دانکن در سطح ۱٪ نشان داد (جدول ۲) که نشاسته ذرت بهتر از نشاسته گندم می‌باشد ولی هیچکدام نمی‌تواند جایگزین مناسبی به‌جای آگار باشند و در واقع از نظر آماری اختلاف بسیار معنی داری بین آن‌ها از نظر شاخص‌های تعداد و وزن ریزغده‌های تولید شده می‌باشد، این جایگزینی باعث کاهش هزینه تا ۱۷/۶۵ درصد می‌شود (جدول ۴) ولی از نظر آماری امکان‌پذیر نیست.

از مقایسه نتایج این تحقیق با نتایج به‌دست آمده از آزمایشات Sorvari و Schifder (۱۸)، Zimmerman و همکارانش (۲۰) Babbar و Jain (۴) مشخص شد برخلاف نتایج این محققین، در این طرح به‌کارگیری نشاسته‌های ذرت و گندم باعث کاهش تولید محصول شد.

در آزمایش جایگزینی عناصر ماکرو و میکرو هیچ تحقیقی در این زمینه برای مقایسه نتایج این طرح با نتایج محققین دیگر به‌دست نیامد ولی انجام این آزمایش با غلظت‌های مختلف کود مایع فسامکو و کودهای شیمیایی تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها (به روش دانکن در سطح ۱٪) نشان داد (جدول ۳) محیط کشت حاوی کودهای شیمیایی از نظر شاخص تعداد ریزغده اختلاف معنی داری با تیمار شاهد داشت اما از نظر شاخص وزن ریزغده اختلاف معنی‌داری را نشان نداد و می‌توان گفت تعداد ریزغده کمتری با همان وزن تولید کرد. این جایگزینی هزینه تولید را تا ۲/۰۴ درصد کاهش می‌دهد (جدول ۴) در حالی که راندمان تولید ریزغده را ۱۳/۱۹٪ کاهش می‌دهد.

غلظت ۴ میلی‌لیتر کود مایع فسامکو در بین غلظت‌های دیگر بهترین نتیجه را نشان داد (جدول ۳) اما در مقایسه با تیمار شاهد از نظر هر دو شاخص مورد بررسی اختلاف بسیار معنی داری را نشان داد ولی از نظر شاخص وزن ریزغده با میانگین به‌دست آمده از محیط حاوی کودهای شیمیایی در یک کلاس آماری قرار گرفتند و اختلاف معنی‌داری را نشان ندادند. این جایگزینی موفقیت آمیز نبود هرچند هزینه تهیه محیط کشت را تا ۴/۴۳ درصد کاهش دهد (جدول ۴).

پیشنهادات

در این طرح برای مشخص شدن تأثیر هر یک از مواد، جایگزینی آنها به صورت جدا از هم انجام گرفت. پیشنهاد می‌شود جایگزین‌های قابل قبول در یک آزمایش به صورت ترکیبی بکار گرفته شوند.

با توجه به غلظت بالای نشاسته، احتمالاً کاهش تبادلات غذایی و عدم جذب مواد غذایی توسط گیاه حادث می‌شود که پیشنهاد می‌شود با توجه به نتایج به‌دست آمده توسط Sorrari و Schifder (۱۸) و همچنین Zimmerman و همکارانش (۲۰) از ترکیب نشاسته به همراه یک

جدول ۱- مقایسه بین محیط کشت‌های متفاوت از نظر منبع تأمین انرژی بر روی میانگین تعداد و وزن ریزغده‌های به‌دست آمده. مقایسه میانگین طبق روش دانکن در سطح ۱٪ صورت گرفته است. میانگین‌های دارای حروف مشابه، اختلاف معنی داری ندارند

محیط کشت متفاوت (از نظر منبع تأمین انرژی)	تعداد ریزغده	وزن ریزغده
(b۱) ساکارز	۱۱/۳۷۵ a	۱۷۰/۹ a
(b۲) شکر معمولی	۱۱/۲۵ a	۱۶۹/۷۴ a
(b۳) شکر سرخ	۴/۵۶ b	۵۴/۳۲ b

www.SID.ir

Archive of SID

شکل۱- مقایسه بین ساکارز آزمایشگاهی، شکر معمولی و شکر سرخ از نظر شکل ظاهری

شکل ۲- مقایسه آگار، نشاسته گندم و نشاسته ذرت از نظر شکل ظاهری

www.SID.ir

Archive of SID

شکل ۳- مقایسه ریزغده‌زایی در سه محیط کشت متفاوت
از نظر منبع انرژی (به ترتیب از راست به چپ، ساکارز، شکر معمولی، شکر سرخ)

شکل ۴- مقایسه اثر جایگزینی کودهای مایع و شیمیایی در محیط کشت ریزغده‌زایی
سیب‌زمینی (به ترتیب از راست به چپ کودهای شیمیایی جایگزین، ۳ml، ۴ml، ۵ml کود مایع فسامکو

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲- مقایسه بین محیط کشت‌های متفاوت از نظر منبع انجماد محیط کشت بر روی میانگین تعداد و وزن ریزغده‌های به‌دست آمده. مقایسه میانگین‌ها طبق روش دانکن در سطح ۱٪ صورت گرفته است. میانگین‌های دارای حروف مشابه، اختلاف معنیداری ندارند.

محیط کشت متفاوت (از نظر منبع انجماد محیط کشت)	تعداد ریزغده	وزن ریزغده
آگار (b ۱)	۱۱/۱۲۵ a	۱۷۰/۰۱۵ a
نشاسته گندم (b ۲)	۳/۴۴ b	۹۸/۹۰ b
نشاسته ذرت (b ۳)	۴/۷۵ b	۷۱/۲۱ C

جدول ۳- مقایسه اثر غلظت‌های مختلف کود مایع فسامکو، تیمار کودهای شیمیایی و تیمار شاهد (محیط MS) از نظر میانگین تعداد و وزن ریزغده‌های تولید شده. مقایسه میانگین‌ها در سطح ۱٪ طبق روش دانکن صورت گرفته است. میانگین‌های دارای حروف مشابه، اختلاف معنی‌داری ندارند.

انواع محیط کشت (شاهد، غلظت‌های کود مایع فسامکو، کودهای شیمیایی)	تعداد ریزغده	وزن ریزغده
(b۱) محیط کشت (شاهد) MS))	۱۱/۳۷۵ a	۱۷۰/۹۰ a
(b۲) کودهای شیمیایی	۹/۸۷۵ b	۱۶۳/۲۳۵ Ab
(b۳) فسامکو (۳ میلی لیتر)	۲/۰۶ e	۶۳/۹۰ d
(b۴) فسامکو (۴ میلی لیتر)	۵/۷۵ c	۱۵۵/۲۶ b
(b۵) فسامکو (۵ میلی لیتر)	۳/۸۱ d	۹۴/۱۶ c

جدول ۴- مقایسه هزینه ساخت یک لیتر محیط کشت با مواد جایگزین (ریال)

نوع ترکیبات	محیط کشت استاندارد مایع	محیط کشت استاندارد جامد	محیط کشت همراه با شکر معمولی	محیط کشت همراه با نشاسته ذرت یا گندم	محیط کشت همراه با کودهای شیمیایی	محیط کشت همراه با کود مایع فسامکو
عناصر غذایی (ماکرو و میکرو)	۱۲۷۰	۱۲۷۰	۱۲۷۰	۱۲۷۰	۲۵/۷۱۹	-
هورمون‌ها (mgl^{-1}) NAA =۰/۱, BAP=۱۰	۱۶۰۴	۱۶۰۴	۱۶۰۴	۱۶۰۴	۱۶۰۴	۱۶۰۴
ساکارز ۸۰ g/l	۲۴۰۰۰	۲۴۰۰۰	-	۲۴۰۰۰	۲۴۰۰۰	۲۴۰۰۰
شکر معمولی ۸۰ g/l	-	-	۴۸۰	-	-	-
آگار ۸ g/l	-	۶۰۰۰	-	-	-	-
نشاسته ذرت یا گندم ۵۰g/l	-	-	-	۲۰۰	-	-
کودهای شیمیای (اوره، سوپر فسفات تریپل و سولفات پتاسیم)	-	-	-	-	۶۸۲/۰	-
۴ml کود مایع فسامکو	-	-	-	-	-	۸۰
مجموع	۲۶۸۷۴	۳۲۸۷۴	۳۳۵۴	۲۷۰۷۴	۲۶۳۲۴	۲۵۶۸۴

www.SID.ir

Archive of SID

کربوهیدرات بیاثر و یا ترکیب نشاسته ژلرایت به‌جای آگار استفاده شود.

در تحقیقـات بعدی در مورد مواد جامدکننده محیط کشـت پی بردیم کـه کتیـرا نیز به دلیـل خاصیت خنثی کـه دارد می‌تواند بـه عنوان یک جامدکننده محیط کشت در یک آزمایش مورد بررسی قرار گیرد.

سپاسگزاری

بدین وسـیله از مدیریت و پرسـنل محترم جهاد دانشـگاهی دانشکده کشـاورزی دانشـگاه تهران، به خاطر فراهم کردن امکانات اجرای این طرح تقدیر و قدردانی می‌نماییم.

پاورقی‌ها

1- Autotetraploid
2- Heterozygous
3- In-vitro
4- Center International Potato
5- melibiose
6- Isubgol
7- Plantago oratag
8- Sante
9- Agria
10- Diamant
11- Cosmos
12- Growth Chamber
13-Subculture

۱۴ - در یک آزمایش مقدماتی مشـخص شـد غلظت ۱۰ میلیگرم در لیتر BAP بیشـترین تأثیر را در میان غلظت‌های ۵، ۱۰ و ۱۵ میلیگرم در لیتر برای مرحله ریزغدهزایی دارا می‌باشد.

۱۵ - لازم به ذکر اسـت با توجه به مقدار حلالیت کودهای سوپر فسفات تریپل (۲۵ درصد محلول) و سـولفات پتاسـیم (۲۰ درصد محلول) ابتدا محلول‌هـای ۲/۵ گـرم در لیتـر سوپرفسـفات تریپل و ۲ گـرم در لیتر سـولفات پتاسـیم تهیه و سپس با در نظر گرفتن مقدار مورد نیاز این دو عنصـر در محیط کشـت پایه MS از محلول‌ها برای تهیه محیط کشـت جایگزین به مقدار موردنیاز برداشـته شـد. اوره نیز کاملاً در آب محلول بود.

منابع مورد استفاده

۱ - قنبـری، ع. ۱۳۷۴؛ بررسـی روش‌های تکثیر سـریع و تولیـد غده‌های ریز در سـیب‌زمینی به روش کشـت بافت. پایان نامه کارشناسی ارشـد باغبانی. دانشکده کشاورزی. دانشگاه تهران.

2- Ahloo Walia, B. S. 1994; Production and performance of potato mini-tubers. Euphytica, 75: 163-172.

3- Apichai, N. 1989; Microtuber production of potato (*Solanum tuberosum* L.) *In vitro*. Plant Breeding Abstract. Vol. 59: No.9.

4- Babbar, S. B.; N. Jain. 1998; Isubgol as an alternative gelling agent in plant tissue culture media. Plant Cell Reports 17: 318-322.

5- Barg, R., & N. Umiel. 1977; Effects of sugar concentrations on growth, greening and shoot for mation in callus cultures from four genetic lines of tobacco. Z. Pflanzenphysiol. 81, 161-166.

6- Belarmino, M. M; T. Abe & T. Sasahara. 1994; Plant regeneration from stem and petiole protoplasts of sweet potato (*Ipomoea batatas*) and its wild relative, I. Lacunose. Plant Cell Tiss. Org. Cult., 37: 145-150.

7- Chapman, Hw. 1955; Potato tissue cultures. Amer. Potato: J. 32: 207-210.

8- Dhingra, M. K.; Naik, P. S.; Chandra, R.; Randhawa, G. L., 1992; Tissue culture technique for potato health, conservation, micropropagation and improvement. Tech. Bull 39. Central potato Research Institute, Shimla.

9- Escutland, B. Z. & A. R. Langille. 1998; Photoperiod, temperature, gibberellin and antigibberellin affect tuberization of potato stem segments *In vitro*. HortScience, 33: 701-703.

10- Estrada, R. P.; Tovar, P. & Dodds, J. M. 1986; Induction of In vitro tubers in a broad range of potato genotypes. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 7: 3-10.

11- F.A.O. 2004. Food and Agriculture Organization

12- Gopal, J.; J. L. Minocha; H. S. Dhaliwal. 1998; Microtuberization in potato (*Solanum tuberosum* L.). Plant Cell Reports. 17: 794-798.

13- Hagman, J., 1991; Micropropagation of potatoes, comparisons of different methods. Plant Breeding Abstract. Vol. 61: No.5.

14- Human., Z. 1986; Systematical botany and morphology of the potato. Technical Information Bulletin 6. CIP 10p.

15- Hussey, G.; N. J. Stacey. 1981; *In vitro* propagation of potato (*Solanum tuberosum* L.). Ann Bot. 48: 787-796.

16- Jones, M. J. K.; I. K. Vassil & T. A. Thorpe. 1994; *In vitro* culture of potato. Plant Cell Tiss. Org. cult., 35: 363-378.

17- Levy, D.; J. E. A. Seabrook & S. Coleman. 1993; Enhancement of tuberization of auxiliary shoot buds of potato (*Solanum tuberosum* L.) cultivars cultured In vitro. Potato Abstract. Vol. 18: No. 3.

18- Sorvari, S. & O. Schifder. 1987; Influence of sucrose and melibiose on barley anther cultures in starch media. Plant Breeding. 99: 164-171.

19- Yamaguchi, M. 1983; World Vegetables. SB 320. g. y 25. Van Nostrand Reinhold company Publications. P. 111.

20- Zimmerman, R. H.; S. V. Bhardwaj & I. M. Fordham. 1995; Use of starch-gelled medium for tissue culture of some fruit crops. Plant Cell, Tiss. Org. Cult., 43: 207-213.

www.SID.ir