مقایسه استفاده از دو روش تهیه ریزنمونه در سیب‌زمینی با قطعات گرهی ساقه و قطعات جوانه در کشت بافت

خسرو پرویزی[1]، عزیز باقری[1] و دوستمراد ظفری[2]

چکیده

در این پژوهش جوانه‌ها وگیاهچه‌های حاصل ازکشت مریستم درشرایط سترون به قطعاتی به طول 5 تا 7 میلی‌متر تقسیم شدند. قطعات حاصل از جوانه‌ها و گیاهچه‌ها (دو نوع ریزنمونه) به ارلن‌های حاوی محیط‌های کشت موراشیگ و اسکوک (MS) و نیچ و نیچ (Nitch & Nitch) منتقل شدند. هرظرف کشت درحکم یک واحد آزمایشی وتیمارهای مورد بررسی شامل نوع رقم در دو سطح (مارفونا و آگریا)، و نوع محیط کشت در دو سطح (موراشیگ و اسکوک و نیچ و نیچ) در قالب آزمایش فاکتوریل اجرا شد. گیاهچه‌های تولیدی که چند برگه شده و به طول 5-4 سانتی‌متر رسیدند و70 تا 80 روزبعد ریزغده‌ها برداشت شدند. تجزیه واریانس داده‌های حاصل نشان داد که فقط اثر رقم در تولید میزان گیاهچه از دو ریزنمونه (قطعات جوانه و قطعات گرهی ساقه) در سطح پنج درصد معنی‌دار می‌باشد. اما اثر نوع محیط کشت و اثر متقابل رقم × محیط کشت اختلاف معنی‌دار نشان ندادند. هر دو رقم آگریا و مارفونا در دو محیط کشت موراشیگ و اسکوک و نیز نیچ و نیچ از نظر میزان تولید گیاهچه در هر دو ریزنمونه وضعیت مشابهی داشتند. با مقایسه میانگین ریز غده‌های حاصل ازکاشت گیاهچه‌های ریشه‌دار در شرایط گلخانه، مشخص شد که رقم مارفونا ریز غده‌ی بیشتری نسبت به رقم آگریا تولید نمود.

واژه‌های کلیدی: سیب‌زمینی، رقم، کشت بافت، قطعات گرهی، قطعات جوانه، باززایی

Archive of SID

1. اعضاء هیأت علمی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی همدان
2. دانشیار گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان

www.SID.ir

مقدمه

سیب‌زمینی یکی از محصولات مهم زراعی است که علی‌رغم پتانسیل بالای عملکرد در واحد سطح نسبت به سایر محصولات زراعی، به‌دلیل تکثیر غیر جنسی و برخورداری از ظرفیت بالایی در کسب آلودگی (در این گیاه بیش از یک‌صد نوع پاتوژن و عامل بیماری‌زای قابل انتقال ویروس و باکتری وجود دارد) بسیار آسیب پذیر می‌باشد. تنها طریق ممکن در حذف ویروس‌ها و باکتری‌ها در پایه‌های بذری سیب‌زمینی بهره‌گیری از روش‌های ازدیاد از طریق کشت بافت می‌باشد. در روش‌های کشت بافت نیز تا حد امکان تلاش بر این است که از طریق افزایش نسبت تکثیر و کاهش دفعات ازدیاد از میزان تحلیل ژنتیکی و پس‌رفت صفات مطلوب بکاهند. در روش‌های قدیمی‌تر انتقال گیاهچه‌ها و جوانه‌های چند گرهی به محیط‌های کشت عملا به دفعات تکثیر بیش‌تر نیاز داشت و ضریب آلودگی را نیز بالا می‌برد.

امکان غده‌زایی دو رقم سیب‌زمینی دراگا و آگریا با کشت مریستم انتهایی و انتقال گیاهچه‌ها به شرایط گلخانه با پژوهش قهستانی و همکاران (1381) میسر گردیده‌است. احمدیان و همکاران (1381) به بررسی اثر موقعیت مکانی گره‌های روی ساقه بر روی تولید ریزغده‌های حاصل از کشت بافت در قلمه‌های جوانه سیب‌زمینی پرداختند. نتایج پژوهش آن‌ها نشان داد که تولید ریز غده و میانگین وزن آن‌ها با افزایش تعداد دفعات زیر کشت از گیاهچه‌ها کاهش می‌یابد. زیارت‌نیا و حسن‌پور اصطهباناتی (1380) با انجام پژوهشی در جهت تعیین بهترین محیط کاشت غده‌زایی از نظر میزان نیتروژن محیط کشت، نتیجه گرفتند که سطوح مختلف نیتروژن در زمان غده‌زایی در دو رقم سیب‌زمینی موثر بوده‌است اما در پایان دوره، عملکرد تیمارها یکسان می‌باشد. تروسکینو و آلکسوا (1990) دریافتند که هیچ‌گونه رابطه همبستگی میان باززایی[1] گیاهان در کشت مریستم و کشت پینه‌ها در گیاه سیب‌زمینی وجود ندارد. اسپینوزا و همکاران (1984) ریز افزایشی سیب‌زمینی را درکشت قطعه‌های گرهی[2] را با کشت‌های لرزا گزارش کرده‌اند.

روئست و بُکلمن (1997) در محیط کشت MS با به‌کارگیری 1 میلی‌گرم در لیتر جیبرلیک اسید (GA_3) و 15 میلی‌گرم در لیتر بنزیل‌آدنین (BA) موفق شدند از قطعات گرهی ساقه به نسبت 2/3 عدد گیاهک جدید باززایی کنند. تادس و همکاران (2001) اثر دما را بر رشد و عملکرد گیاهچه‌های ارقام "گلوریا" و "اسپونتا" مورد مطالعه قرار دادند. نتایج پژوهش نشان داد که نگهداری گیاهچه‌ها در دمای 26 درجه سانتی‌گراد در روز و 20 درجه در شب به مدت 14 روز باعث افزایش سطح برگ گیاهچه و در نتیجه افزایش تعداد ریز غده شد. سیبروک و همکاران (1994) طی پژوهشی مشخص کردند که حذف برگ‌ها از تک گره‌های سیب‌زمینی در کشت بافت اگرچه اجازه کشت با تراکم بالا را می‌دهد اما منجر به کاهش تعداد گره و کوتاه شدن گیاهچه‌های حاصل شده و در نتیجه راندمان تولید ریز غده را کاهش می‌دهد.

ویم و همکاران (1990) به بررسی نوع محیط کشت و موقعیت مکانی تک گره‌های سیب‌زمینی بر درصد استقرار گیاهچه‌ها و تولید میزان ریز غده پرداخت. نتایج پژوهش نشان‌داد که نوع محیط کشت اثری بر درصد استقرار و عملکرد گیاهچه‌ها نداشت. اما تگ گره‌های تهیه شده از قسمت میانی و تحتانی ساقه ریز غده بیشتری تولید نمودند. در پژوهش اخیر امکان بهره‌گیری از تک گره و قلمه‌های جوانه‌ای با یک جوانه مورد بررسی قرار گرفت که میزان کارآیی آن، از اهداف اصلی تحقیق بوده است. ازطرفی واکنش نوع ریزنمونه (قطعات گرهی و قطعات جوانه) به باززایی گیاهچه و در نهایت میزان تولید ریز غده ازگیاهچه‌های حاصل مد نظر قرار گرفته است. نیز اثر نوع محیط کشت بر پارامترهای مورد بررسی از دیگر اهداف پژوهش بوده است.

مواد و روش اجرای تحقیق

این آزمایش درآزمایشگاه بخش تحقیقات آفات و بیماری‌های گیاهی و گلخانه بخش تحقیقات اصلاح و

1. Regeneration

2. Nodal sections

Archive of SID

www.SID.ir

تهیه نهال و بذر مرکزتحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان همدان طی سه مرحله به اجرا درآمد.

مرحله اول: غده‌های بذری سالم از دو رقم مارفونا و آگریا که آزمون مقدماتی سلامت بر روی آن‌ها انجام گرفته بود و عدم آلودگی آن‌ها با آزمون‌های مربوطه به اثبات رسیده بود، انتخاب شدند و پس از این‌که با محلول 10 قسمت در میلیون جیبرلیک اسید (GA_3) به‌مدت 15 دقیقه تیمار شدند. به منظور تحریک رشد جوانه‌ها در شرایط تاریکی مطلق و در دمای 20-18 درجه سانتی‌گراد به‌مدت دو هفته در ژرمیناتور تمام اتوماتیک نگهداری شدند. پس از این‌که جوانه‌هایی بطول 5 تا 7 سانتی‌متر بر روی غده‌ها تشکیل شد، جهت تهیه ریزنمونه و مراحل سترون سازی به جایگاه انتقال در آزمایشگاه کشت بافت منتقل شدند. هم‌چنین گیاهچه‌های حاصل ازکشت مریستم ارسالی ازمؤسسه تحقیقات بیوتکنولوژی کشاورزی نیز به عنوان ماده اولیه جهت تهیه قطعات گرهی مورداستفاده قرارگرفتند. قابل ذکر این‌که کلاس بذری غده‌های مورد استفاده جهت تهیه هردو نوع ریزنمونه یکسان واز نوع سوپر الیت[1] بوده است.

مرحله دوم: در شرایط سترون و در زیر هود آزمایشگاه جوانه‌ها از غده‌ها جدا و پس از دو نوبت شستشو با آب مقطر با محلول کلراکس 20 درصد به مدت 10 دقیقه گندزدایی شده و دو بار با آب مقطرسترون آبکشی شدند. هم‌چنین گیاهچه‌های حاصل ازکشت مریستم نیز به مدت پنج دقیقه درمحلول کلراکس 10 درصد فرو برده شده و سپس سه بار با آب مقطر سترون آبکشی شدند. جوانه‌ها به قطعاتی به طول پنج تاهفت میلی‌متر (حداکثر واجد یک جوانه) تقسیم شدند. گیاهچه‌های حاصل از کشت بافت به قطعاتی که هرکدام واجد یک جوانه بود تقسیم شدند (طول تقریبی 15-5 میلی‌متر). قطعات حاصل از جوانه‌ها و گیاهچه‌ها در داخل آب دو بار تقطیر شده (D.D.W.) تازمان انتقال به محیط کشت نگهداری شدند (به مدت پنج دقیقه). از هورمون‌های برون‌زاد صرفاً هورمون بنزیل آدنین (BA) به میزان 25 میلی‌گرم در لیتر به هر دو نوع محیط کشت افزوده شد.

به هر کدام از دو محیط کشت نسبت 5 گرم آگار در هر 1000 میلی‌لیتر محیط کشت اضافه گردید و با همزن کاملا مخلوط شده و میزان 15 تا 20 میلی‌لیتر از محیط‌های کشت به هرکدام از ظروف کاشت اضافه شد و به مدت 20 دقیقه سترون شدند. ریزنمونه‌ها قبل از انتقال به محیط کشت به مدت دو ثانیه در محلول الکل اتیلیک 75% قرار گرفتند. در هر ظرف کشت تعداد سه عدد ریزنمونه در محیط نیمه جامد مستقر شد. ظروف کاشت بلافاصله با پارافیلم مسدود شده و به داخل ژرمیناتوری که دمای موردنظر در شب 18°C و در روز 25-22 درجه سانتی‌گراد قابل کنترل بوده و با دوره نوری 14 ساعته با نور کافی از لامپ‌های فلورسنت مجهز بود، منتقل شدند. هر ظرف کشت در حکم یک واحد آزمایشی بود. بنابراین تیمارهای مورد بررسی شامل رقم (دو سطح) و نوع محیط کشت در دو سطح (موراشیگ و اسکوک و نیچ و نیچ) در قالب آزمایش فاکتوریل با طرح پایه کاملاً تصادفی به اجرا درآمد. هر تیمار آزمایشی در چهار تکرار انجام شد.

مرحله سوم: پس از گذشت دوره زمانی چهار هفته‌ای گیاهچه‌های تولیدی از مرحله دوم که چند برگه شده و به طول 5-4 سانتی‌متر رسیدند به گلدان‌های حاوی پیت خزه‌ای در گلخانه منتقل شدند. ترکیب خاک گلدان شامل دو قسمت پیت و یک قسمت پرلایت بود. گلدان‌ها به‌طور هفتگی با محلول سه در هزار از کود کامل جنوبگان و کود کامل فوسامکو آبیاری می‌شدند. پس از سپری‌شدن زمان 70 تا 80 روز، علائم رسیدگی در بوته‌ها به‌وجود آمد و ریزغده‌ها برداشت شدند. تعداد ریزغده‌های سالم به‌دست آمده از تیمارهای مختلف به‌عنوان یک صفت در تجزیه طرح مورد ارزیابی قرار گرفت.

نتایج

الف- متوسط تولید تعداد گیاهچه

در بررسی این صفت داده‌های حاصل از تجزیه واریانس حاکی از این است که صرفا اثر شیوه تکثیر در سطح 1 درصد معنی‌دار شده‌است (جدول 1). تولید تعداد گیاهچه در قلمه‌های قطعات جوانه و تک گره تحت تأثیر نوع محیط کشت قرار نگرفت و واکنش دو

1. Super Elite

Archive of SID

www.SID.ir

رقم مارفونا وآگریا در تولید گیاهچه از دو محیط کشت روال مشابهی داشت (نمودارهای 1 و2). اثر متقابل سه جانبه شیوه تکثیر× محیط کشت × رقم معنی‌دار نشده‌است و این بدان معنی‌است که میزان باززایی گیاهچه از دو روش تکثیر قلمه جوانه و تک گره در دو رقم آگریا و مارفونا و در هر دو محیط کشت روال مشابهی داشته است. با مقایسه میانگین داده‌های حاصل از متوسط تولید گیاهچه (جدول 2) مشخص شد که عموماً در روش تکثیر قلمه جوانه، گیاهچه کمتری نسبت به روش تک گره به‌دست آمد (متوسط تولید 2 عددگیاهچه در جوانه‌ها نسبت به 2/75 گیاهچه در قطعات گرهی) و اختلاف دو شیوه تکثیر در سطح 5 درصد آزمون دانکن معنی‌دار شد. در دو محیط کشت، متوسط تولید گیاهچه در سطح 5 آزمون دانکن اختلاف معنی‌دار نشان نداد هرچند در محیط کشت موراشیگ و اسکوک (متوسط 2/5 عدد) نسبت به محیط کشت نیچ و نیچ با متوسط 25/ 2عدد، گیاهچه بیشتری تولید شد. رقم مارفونا در مجموع گیاهچه بیشتری نسبت به رقم آگریا تولید نمود اگرچه تفاوت‌ها در سطح 5 درصد آزمون دانکن معنی‌دار نشد.

جدول 1: تجزیه واریانس داده‌های حاصل از صفات اندازه‌گیری شده در کشت بافت سیب‌زمینی

منابع تغییرات		میانگین مربعات	
	درجه آزادی	متوسط‌تعدادگیاهچه	متوسط‌تعداد ریزغده
روش تکثیر	1	4/5**	1/531*
محیط کشت	1	0/5ns	0/0391ns
محیط کشت Í روش تکثیر	1	0/5ns	2810ns
رقم	1	0/125ns	38/282**
روش تکثیر Í رقم	1	0/125ns	2/53*
محیط کشت Í رقم	1	0/115ns	2/531*
روش‌تکثیر Í محیط‌کشت Í رقم	1	0/125ns	2/280*
خطای آزمایش	24	0/313	1/60
کل	31	-	-
Cv%	-	23/54	6/95

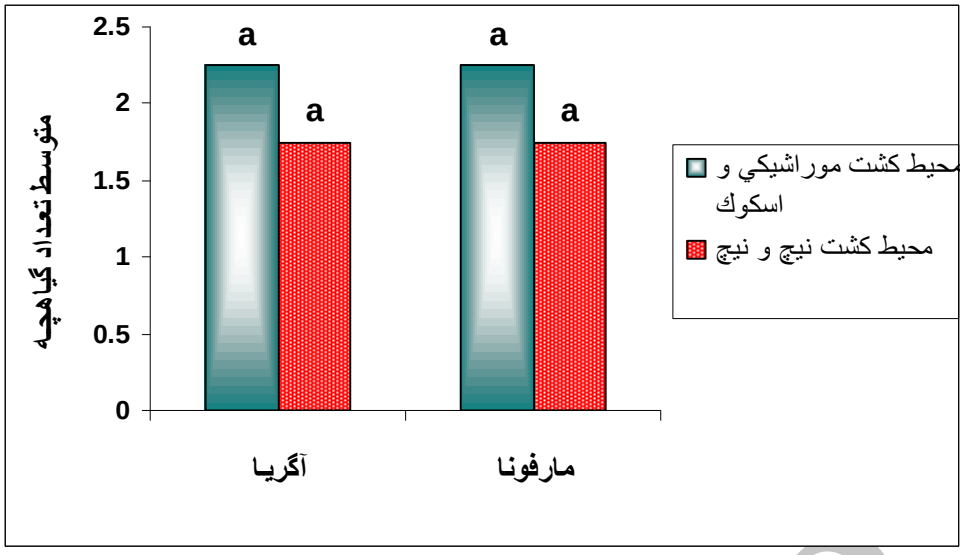
** معنی‌دار در سطح یک درصد، * معنی‌دار در سطح 5 درصد و ns بدون اختلاف معنی‌دار

جدول 2: مقایسه میانگین تولید تعداد گیاهچه در دو روش تکثیر و در دو محیط کشت مختلف درکشت بافت سیب‌زمینی

روش تکثیر	ارقام سیب‌زمینی	محیط کشت		میانگین
		موراشیگ و اسکوک	نیچ و نیچ	
قطعات جوانه	آگریا	2/25ab	1/75b	2/00b
	مارفونا	2/25ab	1/75b	2/00b
قطعات گرهی ساقه	آگریا	2/5ab	2/75a	2/63a
	مارفونا	3/00a	2/75a	2/88a
	میانگین	2/5b	2/25ab	

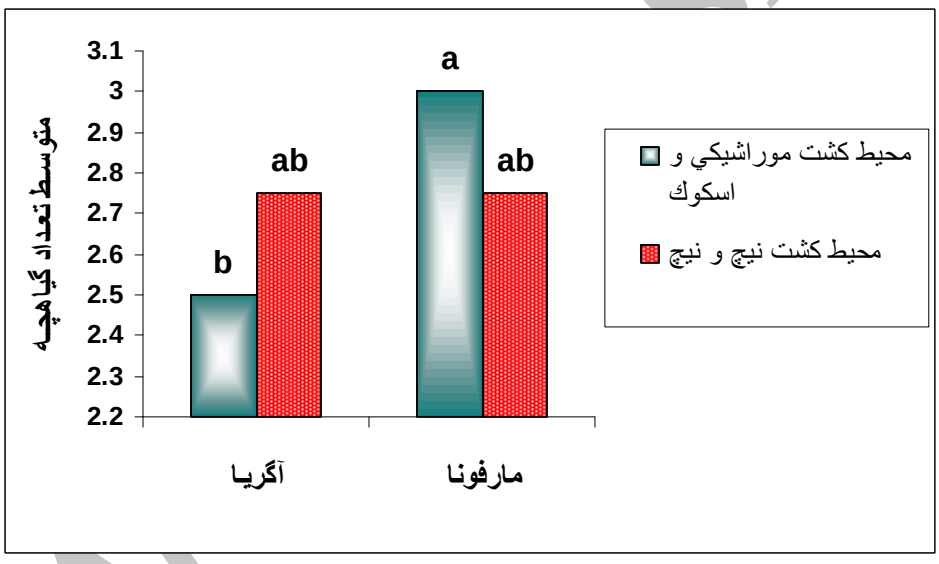
Archive of SID

www.SID.ir



میانگین‌های دارای حروف مشابه در سطح 5% آزمون دانکن اختلاف معنی‌دار ندارند.

نمودار 1: میانگین تولید گیاهچه‌های حاصل از کشت قطعات جوانهٔ دو رقم سیب‌زمینی در دو محیط کشت



میانگین‌های دارای حروف مشابه در سطح 5% آزمون دانکن اختلاف معنی‌دار ندارند.

نمودار 2: میانگین تولید گیاهچه‌های حاصل از کشت قطعات گرهی ساقه دو رقم سیب‌زمینی در دو محیط کشت

ب- میانگین تولید ریز غده

در اندازه‌گیری این صفت تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثرات نوع محیط کشت و اثر متقابل روش تکثیر× محیط کشت در سطح 5% معنی‌دار نشده‌است. به این ترتیب مشخص می‌شود که دو شیوه تکثیر با دو محیط کشت واکنش‌های یکسانی در جهت تولید میزان ریز غده داشته‌اند. اما اثرات اصلی روش تکثیر و نیز رقم، و هم‌چنین اثرات دو جانبه روش‌تکثیر× رقم و محیط کشت× رقم و نیز اثر متقابل سه جانبه روش تکثیر× محیط‌کشت× رقم معنی‌دار شدند. به این ترتیب مشخص می‌شود که گیاهچه‌های حاصل از دو رقم با دو روش تکثیر و در دو محیط کاشت از نظر تولید میزان ریز غده متفاوت از هم عمل کرده‌اند.

در مقایسه میانگین داده‌ها در تولید میزان ریز غده (جدول3) مشخص شد که در گیاهچه‌های حاصل از قطعات گرهی ساقه نسبت به قطعات جوانه ریز غده بیش‌تری تولید شد و در گیاهچه‌های حاصل از قطعات‌گرهی متوسط تولید 8/12 عدد ریزغده به‌دست

www.SID.ir

آمد که نسبت به تولید ریزغده (متوسط 7/68 عدد ریزغده) با گیاهچه‌های حاصل از جوانه‌ها اختلاف معنی‌دار در سطح 5 درصد آزمون دانکن نشان داد. گیاهچه‌های تولیدی از دو محیط کشت موراشیگ و اسکوک و نیچ و نیچ در گلخانه تعداد ریزغدهٔ یکسانی از نظر آماری تولید نمودند که اختلاف‌ها در سطح 5 درصد آزمون دانکن معنی‌دار نشد. گیاهچه‌های رقم مارفونا نسبت به رقم آگریا در هر دو محیط کشت پس از انتقال به گلخانه ریز غده بیشتری تولید نمودند که رقم مارفونا با تولید متوسط 9 عدد ریز غده در هرگیاهچه نسبت به رقم آگریا با متوسط تعداد 6/81 عدد از نظر آماری در سطح 5 درصد تفاوت معنی‌دار نشان داد.

جدول 3: مقایسه میانگین تولید تعداد ریز غده در دو روش تکثیر و در دو محیط کشت مختلف در کشت بافت سیب‌زمینی

روش تکثیر	ارقام سیب‌زمینی	محیط کشت		
		موراشیگ و اسکوک	نیچ و نیچ	میانگین
قطعات جوانه	آگریا	6/5de	7/00de	6/87c
	مارفونا	8/5bc	8/25c	8/5b
قطعات گرهی ساقه	آگریا	6/25 e	7/25d	6/75c
	مارفونا	9/75a	9/25ab	9/5a
	میانگین	7/93bc	7/87 bc	

میانگین‌های دارای حروف مشابه بزرگ و کوچک در هر ردیف وستون اختلاف معنی‌دار در سطح 5% آزمون دانکن ندارند.

بحث

یکی از تنگناها و مشکلات ریز افزایشی درون شیشه‌ای گیاهان، ریشه‌زایی و سازگار کردن گیاهک‌ها می‌باشد (اسپینوزا و دوداس، 1983؛ آلوین و چارلتون، 2003). استفاده از هورمون‌های ریشه‌زا (اکسین‌ها) این مشکل را در کشت بافت تا حدود زیادی مرتفع کرده است و در برخی گونه‌ها تنها درصورتی ریشه‌زایی به وقوع می‌پیوندد که شاخساره یا مجموعه شاخساره‌های تولیدی به محیط کشت عاری از سایتوکنین منتقل شوند و در بسیاری از گونه‌ها نیز آغازیدن ریشه[1] فقط با حضور اکسین صورت می‌گیرد (تروسکینوز و آلکسیو،1990). با نتایج پژوهش اخیر مشخص شد که گیاهچه‌های تولیدی سیب‌زمینی در محیط کشت اولیه با عدم حضور اکسین قادر به ریشه‌زایی بوده و کاربرد غلظت نسبتاً بالایی از سایتوکنین (BA با غلظت 25 میلی‌گرم در لیتر) مانعی جهت ریشه‌زایی در گیاهچه‌ها نبوده‌است. از طرفی استعمال این هورمون پرآوری را نیز بهبود بخشده است.

در پروژه‌های تکثیر سریع توده بذری سالم در سیب‌زمینی، استفاده از شیوه‌های کشت بافت بسیار موثر بوده و بخصوص در مواردی که سرعت بالای تکثیر مد نظر باشد، می‌بایستی قادر باشیم تعداد زیادی ریزنمونه از یک پایه اولیه[2] در کوتاه‌ترین زمان تهیه نماییم (میلتون، 2001). در این پژوهش مشخص شد که با تهیه ریزنمونه‌های بیشتر در سیب‌زمینی قادر هستیم با استقرار مناسب گیاهچه‌ها، تا حد قابل قبولی به پُرآوری[3] مطلوب نیز دسترسی پیدا کنیم. که متوسط تولید 2/75عدد گیاهچه جدید از هر ریزنمونه تک گره و نیز متوسط تولید 2 عدد گیاهچه از هر ریزنمونه قطعه جوانه تاییدی بر این دست‌آورد است. این یافته می‌تواند در برنامه‌های تکثیر و تولید سریع هسته‌های بذری سالم مورد استفاده قرار گیرد.

نتایج این پژوهش مشخص کرد که استعمال هورمون سایتوکینیی BA در هر دو محیط کشت موراشیگ و اسکوک و نیز نیچ و نیچ عکس‌العمل یکسانی در جهت باززایی گیاهچه از ریزنمونه‌ها ایجاد کرده است

1. Root initiation

2. Stock
3. Proliferation

Archive of SID

www.SID.ir

و به طریقی نتایج پژوهش روئست و بُکلمن(1997) را نیز مورد تایید قرار داده است. هر چند با پژوهش اسپینوزا وهمکاران (1984) ضریب تکثیر بیشتری به‌دست آمده است که شاید به‌دلیل اثر متقابل و همگرایی[1] دو هورمون به‌کار گرفته BA و NAA و نیز اثر تکمیلی GA_3 در پژوهش ایشان باشد.

ریزنمونه‌ها یا بازنمونه‌هایی[2] که درکشت بافت گیاهی مورد استفاده قرار می‌گیرد، ممکن است در شرایطی با استعمال هورمون‌های برون‌زاد[3] مسیرهای متفاوتی در مسیر افزونگری طی نمایند. در برخی شرایط بازنمونه‌ها تولید پینه کرده و سپس با رویان‌زایی به‌طور غیر مستقیم تولید شاخساره می‌نمایند و یا امکان دارد در برخی موارد با استعمال هورمون سایتوکینین به‌طور مستقیم پرآوری شاخساره نابجا به وقوع به‌پیوندد (کنت، سی تورز، 1994). مسیر دوم علاوه بر این‌که سبب تسریع در افزون‌گری می‌گردد عملاً از معایب از دست رفتن پتانسیل ریخت‌زایانه به ویژه درشرایطی که امکان دارد منجر به گوناگونی ژنتیکی شود، می‌کاهد. نتایج پژوهش اخیر مشخص کرد که ریزنمونه‌های تهیه شده از قطعات جوانه و قطعات گرهی در سیب‌زمینی باحضور سایتوکینین (بنزیل آدنین BA) قادر هستند که به‌طور مستقیم باززایی کرده و نسبتاً ضریب تکثیر بالایی نیز داشته باشند.

اثر اندازه قطعات ریزنمونه‌ها در واکنش به باززایی در گیاهان مختلف پاسخ‌های متفاوتی را داشته است (کنت، سی تورز، 1994). در این پژوهش نتایج داده‌های حاصل از درصد گیاهچه‌های تولیدی ریزنمونه‌های جوانه نسبت به ریزنمونه‌های قطعات گرهی، حاکی از این است که تعداد گیاهچه‌ها در ریزنمونه‌های قطعات گرهی بالاتر بوده‌است که احتمالاً به‌دلیل بزرگ‌تر بودن اندازه ریزنمونه‌های قطعات گرهی نسبت به جوانه‌ها و نیز اندوخته بالای مواد غذایی حاصل از فتوسنتز و سایر کوفاکتورها و اسیمیلات‌های (مواد قابل جذب) موثر در باززایی در این قطعات باشد.

رقم مارفونا در واکنش به میزان تولید ریز غده در هر دو روش تکثیر بهتر از آگریا بوده و ریز غده بیشتری تولید نمود. این تفاوت را می‌توان از واکنش متفاوت ارقام سیب‌زمینی به باززایی در کشت بافت استنباط نمود.

در این آزمایش نوع محیط کشت بر میزان باززایی و تولید گیاهچه در دو رقم سیب‌زمینی تفاوت معنی‌دار نشان نداده است. به نظر می‌رسد که باززایی در کشت بافت سیب‌زمینی تحت تاثیر سطوح متفاوت عناصر معدنی غذایی در دو محیط کشت نیچ و نیچ و موراشیگ و اسکوک قرار نمی‌گیرد و بیشتر تغییر سطوح هورمون‌های برون زاد و به‌ویژه نسبت سایتوکینین به اکسین‌تعیین کننده‌ی میزان واکنش به باززایی می‌باشد.

1. Synergist
2. Propagules
3. Exogenous hormone

Archive of SID

www.SID.ir

منابع

احمدیان، ش.، عبد میشانی، س.، ضرغامی، ر.، خدابنده، ن و سراج آذر، م. 1381. اثرات تعداد دفعات کشت تک گره و موقعیت مکانی گره ها روی ساقه در تولید ریز غده از گیاهچه‌های حاصال از کشت بافت.پنجمین کنگرۀ زراعت واصلاح نبا تات ایران. اصفهان. ص 6.

زیارت نیا، م. و حسن پور اسطهباناتی، ا. 1380. تعیین بهترین محیط کشت غده زایی از نظر میزان نیتروژن در کشت بافت سیب‌زمینی. چهارمین کنگرۀ زراعت واصلاح نباتات ایران. کرج. ص73.

کنت، سی تورز.1373. فنون کشت بافت. برگردان از خوشخوی، م. انتشارت دانشگاه شیراز. 452 ص.

قهستانی، ا.، پیری، خ.، ضرغامی، ر. و ظفری، د. 1382. بررسی تولید ریز غده‌های سیب‌زمینی بااستفاده از کشت جوانه‌های تاریکی دو رقم سیب‌زمینی دراگا وآگریا.پنجمین کنگرۀ زراعت و اصلاح نباتات ایران. ص195.

Alvin, R. and Charlton, B. 2003. Production of pre-nuclear potato seed from meristem to mini-tubers meristem. prop. http.*www.cropandsoil.oregonstate.edu*.

Espinosa, N., Estrada, P. and Doddas, J. 1984. Tissue culture micro propagation, conservation and export of potato germplasm Specialized technology document 1. International Potato center Lima, Peru. 122 pp.

Harding , K. 1994. The methylation status of DNA derived from potato plant recovered from slow growing tissue. Plant cell Tissue and Organ Culture. 37:1. 31-36.

Heidi, C. 2003. Wisconsin seed potato certification, *http.www. plantpath. wisc. edu/ wspcp/ seedcert.*

Milton, R. 2001. National standard for certification of seed Potato, Australian potato Industry council. APIC:www httm://westernpotatoes.com.

Roest, J. and Bokelmann, G. S. 1997. Vegetative propagation of *Solanum tuberosum L*. Potato Research 19: 173-185.

Seabrook, J. E. A. and Douglass,l. k. 1994. Reduction in vigor of leafless potato cutting in vitro culture. Potato Researh 37: 365-371.

Tadesse, M., Lommen, W. M. and Struik, P. C. 2001. Effect of temperature pre-treatment of transplants from in vitro produced and yield in the field. Potato Research 44: 173-185.

Truskinov, E. V. and Alecsiva, L. 1990. Regeneration of collection accessions of potato in tissue culture CAB Abstract.

Viem, M. S., Park, Y. H. and Haham, B. H. 1990. Studies on seed potato multiplication by microtuberization and practical use Field Crop Abstract 44(10): p332.

Archive of SID

www.SID.ir

Comparison of Using the two Methods Preparing of Explant in Potato by Nodal and Sprout Segments in Tissue Culture

Parvizi[1], K., Bagheri[1], A. and Zafari[2], D.

Abstract

In this research, with sterilized conditions, sprouts and plantlets producing from meristem culture were divided segments 5-7 mm in length. Segments that were acquired from sprout and plantlets were transferred to erlene dishes containing MS and Nitch & Nitch medium. Each dish was considered as plot. Treatments were sat up as a factorial experiment based on randomized complete design, cultivars in two levels (Marfona, Agria) and two levels of media culture (MS and Nitch&Nitch). Treatments were applied in three replications. After four weeks plantlets that had some leaves and reached 4 to 5 cm in length were transferred to peat pot in the greenhouse. After 70 to 80 days, minitubers were harvested from these plantlets. Data of analysis variances determined that only cultivar had significant different at 5% ά level, but effect of culture medium and interaction effect (culture medium × cultivar) was not significantly different at 5% ά level. Both Agria and Marfona in two culture media had same situation in production of plantlets.

Means comparison of minituber production in greenhouse showed that Marfona produced higher minitubers than Agria.

Keywords: Potato, Cultivar, Tissue culture, Single nodes, Sprout nodes, Regeneration

Archive of SID

1. Faculty Members of Agriculture and Resources Research Center of Hamedan
2. Associate Professor, Department of plant Protection, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan

www.SID.ir