اثر پروژنی‌های بذور حقیقی و نوع ریزنمونه بر باززایی گیاهچه سیب‌زمینی در شرایط درون شیشه‌ای

مریم امیری [1*]، محمد گردکانه [2]، حیدر ذوالنوریان [3]، رضا مامقانی [4]

1-دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات خوزستان، گروه اصلاح نباتات. 2 و 3- اعضای هیات علمی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی کرمانشاه، ایران. 4- استاد دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم تحقیقات خوزستان، ایران.

* مریم امیری ma_amiri_am@yahoo.com

چکیده

پژوهش حاضر به‌منظور مطالعه اثر بذور حقیقی و نوع ریزنمونه بر باززایی گیاهچه‌های سیب‌زمینی انجام شد. برای این منظور آزمایشی در قالب طرح فاکتوریل 5×3 بر پایه طرح کاملاً تصادفی چند مشاهده‌ای در 4 تکرار انجام گرفت که در آن فاکتور اول شامل 5 نوع بذر حقیقی سیب‌زمینی (994014, BSS-296, BSS-295, CATALNA, ZULUSHKA) و فاکتور دوم مربوط به ریزنمونه گیاهچه کامل، ساقه‌چه و ریشه‌چه بود که بر روی محیط MS نیمه جامد کشت شدند و صفات درصد باززایی، تعداد گره، ارتفاع گیاهچه، قطر ساقه، طول و عرض برگ، تعداد برگ، سطح برگ مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که نوع پروژنی و ریزنمونه اثر معنی داری بر روی این صفات داشتند.که پروژنی BSS-296 و ریزنمونه ساقه‌چه برتر از سایر پروژنی و ریزنمونه‌ها شناخته شدند. ریزنمونه ریشه‌چه هیچ‌گونه رشدی نداشت.

واژه‌های کلیدی: بذر حقیقی سیب‌زمینی، ریزنمونه، کشت بافت، محیط MS

مقدمه

سیب‌زمینی با نام علمی (Solanum tuberosum) از تیره سولاناسه است. روش معمول ازدیاد سیب‌زمینی از طریق رویشی و کاشت غده کامل یا قطعاتی از غده می‌باشد. در این روش احتمال آلودگی غده‌های بذری به بسیاری از بیماری‌های ویروسی، باکتریایی و قارچی بالا است بنابر این برای تولید موثر و مفید محصول سیب‌زمینی دسترسی سالانه به غده بذری سالم ضروری است (آلن و همکاران، 1992). به همین دلیل در بیشتر کشورها تولید سیب‌زمینی بستگی به وارد کردن بذر سالم و گواهی شده دارد که این خود سبب بروز مشکلات دیگری در ارتباط با سازگاری ارقام وارداتی، سن فیزیولوژیکی غده‌های وارداتی، تحمیل هزینه زیاد و لزوم توجه به مسائل قرنطینه‌ای گیاهی می‌گردد (بیرمن و کانگ، 1993). امروزه، روش‌های جدید اصلاحی با روش‌های متداول ترکیب شده و به‌عنوان ابزار مفیدی در برنامه‌های به‌نژادی گیاهان در دامنه وسیعی از تحقیقات استفاده می‌گردند. روش‌های تکثیر کشت درون شیشه‌ای نه تنها برای تکثیر سریع و حفظ ارقام موجود گیاهی استفاده می‌گردد بلکه امکان ذخیره ژرم‌پلاسم جدید و انتقال آسان مواد گیاهی را میسر می‌سازد(وانگ، 2003). TPS، نتیجه تولیدمثل جنسی است و اغلب بیماری‌های سیب‌زمینی بوسیله بذر حقیقی انتقال نمی‌یابد. TPS به‌علت حجم کوچک، به‌راحتی انبار و حمل می‌شود. با توجه به این ویژگی‌ها، این بذر یکی از گزینه‌های منبع بذری برای مناطقی است که به‌دلیل یا دلایلی از قبیل حفظ و نگهداری ساقه‌های غیرجنسی و تکثیر به غده‌های بذری با کیفیت خوب، استفاده از غده بذری امکانپذیر یا در حد اقتصادی نیست. تحقیقات وسیع انجام شده در کشورهای زیادی نشان داده‌اند که استفاده از بذر حقیقی سیب‌زمینی برای تولید بذر یا محصول سیب‌زمینی، هزینه‌های تولید را کاهش و سود خالص کشاورزی را افزایش می‌دهد (یوپدیا، 1994). لذا این تحقیق در راستای تحقق این اهداف جهت بررسی رشد گیاهچه‌ها، تعیین بهترین ریزنمونه و انتخاب برترین بذر حقیقی گیاه سیب‌زمینی در شرایط درون شیشه‌ای به اجرا درآمد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق به‌منظور بررسی رشد گیاهچه‌ها، تعیین بهترین ریزنمونه و انتخاب برترین بذر حقیقی سیب‌زمینی در سال 1390 در آزمایشگاه کشت بافت مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی کرمانشاه اجرا شد. ابتدا جهت ضدعفونی بذور، 5 پروژنی حقیقی سیب‌زمینی به‌نام‌های CIP- 994014, BSS-296, BSS-295, CATALNA, ZULUSHKA ، محلول قارچ‌کش بنومیل (یک در هزار) و سه قطره tween20 به‌مدت 10دقیقه استفاده شد، سپس بذور را 30 ثانیه در اتانول 70% قرار داده و با آب مقطر دو بار تقطیر شستشو داده، در زیر هود استریل، بذور در هیپوکلریت سدیم 20% به‌مدت 15 دقیقه قرار داده و بعد سه بار با آب مقطر استریل شده هر سری به‌مدت 4 دقیقه شستشو داده و جهت رشد در داخل پتری‌دیش‌های حاوی محیط کشت MS نیمه‌جامد قرار داده شدند.PH محیط‌های کشت قبل از اتوکلاو در حد 5/8 تنظیم شد. بعد از جوانه زنی و رشد گیاهچه‌های حاصله، تعداد 4 عدد از ریزنمونه‌های گیاهچه کامل، ساقه‌چه و ریشه‌چه تهیه شده و بداخل ارلن‌های 500میلی‌لیتری حاوی 100 میلی‌لیتر محیط کشت MS نیمه‌جامد انتقال داده شدند. ارلن‌ها را با پارافیلم بسته و داخل اتاق رشد در دمای $22\pm2^{\circ}c$ و رطوبت 75% با 16ساعت روشنایی با شدت نور 3000 لوکس و 8 ساعت تاریکی در دمای $18\pm1^{\circ}c$ به‌مدت 45 روز نگهداری شدند. در این تحقیق داده‌های حاصل از یادداشت برداری صفات مختلف بر اساس روش آماری فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی تجزیه و تحلیل گردید و برای هر آزمایش 4 تکرار در نظر گرفته شد. برای انجام تجزیه‌های آماری داده‌ها از نرم افزارهای SAS و SPSS و MSTAT-c استفاده گردید و مقایسات میانگین به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمـال 5% انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از اثر ساده نوع پروژنی بر صفات مورد بررسی نشان داد که با هم اختلاف معنی‌داری داشتند به‌نحوی که بیشترین درصد باززایی به پروژنی BSS-296 و کمترین درصد باززایی به پروژنی CATALINA تعلق داشت. حداکثر تعداد گره (12/38) مربوط به پروژنی BSS-296 و کمترین آن (6/59) مختص به پروژنی ZULUSHKA است. بیشترین ارتفاع گیاهچه (34/66 میلی‌متر) به پروژنی BSS-296 و کمترین ارتفاع گیاهچه (18/84 میلی‌متر) به پروژنی CATALINA تعلق داشت که اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نشان داد. پروژنی 994014 بیشترین قطر ساقه (0/96 میلی‌متر) و پروژنی ZULUSHKA پایین‌ترین رتبه (0/3 میلی‌متر) را به‌خود اختصاص داد. حداکثر طول برگ (2/01 میلی‌متر) در پروژنی BSS-296 و حداقل مقدار آن (1/04 میلی‌متر) در پروژنی ZULUSHKA مشاهده شد. در صفت عرض برگ پروژنی BSS-296 بالاترین مقدار (1/66 میلی‌متر) و کمترین مقدار این صفت (0/71 میلی‌متر) در پروژنی BSS-295 ثبت شد. بیشترین سطح برگ (5/34 میلی‌متر مربع) مربوط به پروژنی BSS-296 و کمترین مقدار (1/77 میلی‌متر مربع) را پروژنی ZULUSHKA تولید کرد که با هم اختلاف معنی‌داری داشتند. بیشترین تعداد برگ (13/44) را پروژنی BSS-296 و کمترین تعداد برگ (7/37) به پروژنی ZULUSHKA نشان داد. بطور کلی نتایج حاصل نشان داد که پروژنی BSS-296 به‌عنوان برترین پروژنی از نظر تمامی صفات به غیر از قطر ساقه شناخته شد و در مورد صفت قطر ساقه پروژنی 994014 برتر بود. محققان دیگر نیز به تنوع ژنتیکی برای ژنوتیپ‌های سیب‌زمینی در محیط کشت بافت اشاره نموده‌اند (پیمان و همکاران، 1383؛ تورهان، 2004). و تفاوت بین واریته‌های سیب‌زمینی کشت شده در روش In-vitro نیز توسط مومتاز و قریشی (1999) نیزگزارش شده است. با توجه به بررسی به‌عمل آمده و نتایج حاصل از مقایسه میانگین اثر ساده نوع ریزنمونه نشان داد که اختلاف معنی‌دار از نظر درصد باززائی در بین ریزنمونه‌ها مشاهده شد به‌نحوی که هیچ کدام از ریزنمونه‌های حاصل از ریشه‌چه رشد ننمودند و درصد باززائی آنها صفر (0) بود. با توجه به اینکه ریزنمونه ریشه‌چه هیچ‌گونه باززائی از خود نشان نداد، بنابراین از تجزیه سایر صفات مربوط ریشه‌چه صرف نظر شد و ریزنمونه ساقه‌چه و گیاهچه

کامل باهم مقایسه شدند. نتایج حاصله نشان داد که اثر بین ریزنمونه ساقه‌چه و گیاهچه کامل در تمامی صفات غیرمعنی‌دار شد. مطابق نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل پروژنی و ریزنمونه، صفت درصد باززایی ریزنمونه گیاهچه کامل در پروژنی‌های BSS-295، 994014، BSS-296 و ریزنمونه ساقه‌چه پروژنی‌های BSS-295 و BSS-296 برتری خود را نشان دادند و کمترین درصد باززایی مربوط به پروژنی CATALINA از ریزنمونه‌های گیاهچه کامل و ساقه‌چه بود، که با هم اختلاف معنی‌داری داشتند. بیشترین تعداد گره را پروژنی‌های 994014 و BSS-296 از ریزنمونه‌های گیاهچه کامل و ساقه‌چه و پروژنی BSS-295 از ریزنمونه ساقه‌چه تولید کرد و کمترین تعداد گره مربوط به CATALINA و ZULUSHKA از ریزنمونه گیاهچه کامل بود. بالاترین ارتفاع گیاهچه (83/75 میلی‌متر) در پروژنی BSS-296 از ریزنمونه‌های گیاهچه کامل و ساقه‌چه و کمترین ارتفاع گیاهچه (28/01 میلی‌متر) در پروژنی CATALINA از ریزنمونه گیاهچه کامل ایجاد شد که این تفاوت معنی‌دار گردید. نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل پروژنی و ریزنمونه نشان داد که از نظر قطر ساقه اختلاف معنی داری در بین آنها مشاهده شد به طوری که حداکثر قطر ساقه (2/30 میلی‌متر) را پروژنی 994014 از ریزنمونه ساقه‌چه به خود اختصاص داد. بیشترین طول برگ را پروژنی‌های 994014، BSS-296 از ریزنمونه‌های گیاهچه کامل و ساقه‌چه و BSS-296 از ریزنمونه ساقه‌چه و کمترین طول برگ را پروژنی‌های BSS-295، ZULUSHKA از ریزنمونه‌های گیاهچه کامل و ساقه‌چه و CATALINA از ریزنمونه گیاهچه کامل داشت. بیشترین عرض برگ مربوط به پروژنی‌های 994014، BSS-296 از ریزنمونه‌های گیاهچه کامل و ساقه‌چه و پروژنی CATALINA از ریزنمونه ساقه‌چه و کمترین عرض برگ متعلق به پروژنی‌های BSS-295، ZULUSHKA از ریزنمونه‌های گیاهچه کامل و ساقه‌چه و CATALINA از ریزنمونه گیاهچه کامل بود، که با هم اختلاف معنی‌داری داشتند. براساس میانگین اثرات متقابل از نظر صفت سطح برگ بیشترین مقدار را پروژنی‌های 994014، BSS-296 از ریزنمونه‌های گیاهچه کامل و ساقه‌چه و CATALINA از ریزنمونه ساقه‌چه تولید کرد و کمترین آن در پروژنی‌های ZULUSHKA، BSS-295 از ریزنمونه ساقه‌چه بدست آمد، که اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نشان داد. حداکثر تعداد برگ مربوط در پروژنی BSS-296 از ریزنمونه گیاهچه کامل و ساقه‌چه و 994014 از ریزنمونه گیاهچه کامل و کمترین تعداد برگ در پروژنی ZULUSHKA از ریزنمونه گیاهچه کامل ظاهر شد، که با هم اختلاف معنی‌داری داشتند. درصد باززایی صفت مهمی در کشت بافت سیب‌زمینی است. در موارد زیادی از اصلاح سیب‌زمینی، بهینه‌سازی کشت بافت به‌منظور دستیابی به درصد بالایی از باززایی اهمیت دارد، زیرا موفقیت اهداف اصلاحی در کشت بافت، به این صفت بستگی دارد. عموماً ریزنمونه‌های حاصل از اندام هوایی شامل ساقه و مریستم‌ها نسبت به ریزنمونه ریشه باززایی بهتری دارند (انجوم و علی، 2004) که در تحقیق حاضر نیز نتایج مشابهی به‌دست آمد. تولید گیاهان باززایی شده قوی‌تر از نظر اندام‌های هوایی مانند تعداد گره، ارتفاع گیاهچه، عرض، سطح و تعداد برگ می‌تواند منجر به تولید گیاهان با عملکرد بالا شود، زیرا در سیب‌زمینی وجود اندام‌های هوایی با رشد خوب برای عملکرد بالا ضرورت دارد (رشیدی و همکاران، 1390) و همان‌طور که در تحقیق حاضر مشخص گردید ژنوتیپ‌ها و ریزنمونه‌های کشت شده از این نظر دارای تفاوت معنی‌داری بودند که امکان گزینش از طریق این صفات فراهم می‌نماید.

منابع

پیمان، م.، م.ر. قنادها، ا. مجیدی، ع. زربخش، ف. درویش و ح. حسن آبادی. 1383. ارزیابی و معرفی ژنوتیپ‌های مقاوم به ویروس در سیب‌زمینی.مجله علوم کشاورزی ایران، جلد 35 ، شماره 4 (815-809).

رشیدی، نریمان. 1390. بررسی تاثیر مواد آلی و سوپر جاذب آب بر عملکرد کمی و کیفی سیب زمینی رقم مارفونا. پایان نامه کارشناسی ارشد گرایش سبزیکاری. دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج.

Allen, E. J., P. J. O., Brien and D. Firman. 1992. Seed tuber production and management In: P. Harris(ed) potato crop. Chapman and Hall, London Pp. 247-288.

Anjum M. A. and H. Ali. 2004. Effect of culture medium on direct organogenesis from different explants of various Potato genotypes. Biotech. 3: 187-193.

Birhman, R.K., and G.S. Kang. 1993. Analysis of variation and interrelationship in potato germplasm. Euphytica. 68:17-26.

Hakan, T. 2004. The Effect of Silver Nitrate (Ethylene inhibitor) on in vitro Shoot Development in Potato (Solanum tuberosum L.). Biotechnology. 3: 72-74.

Mumtaz, N. and A. Qureshi. 1989. In vitro performance of selected potato cultivars. Sarhad J. Agric. 5(4) 363-367.

Upadhya, M. D., 1994. True Potato seed: propagule for Potato production in the 21st century. In: G. S. Shekawat, S. M. Paul Khurana, S. K. Pandey and V. K. Chandra) Eds), Potato: present and future. Indian Potato Association, Shimla, India, pp. 15-22.

Wang, W.X., B. Vinocur & A. Altman. 2003. Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineeing for stress toerance. Planta, 218: 1-14.

The effect of potato true seed and explant type on regeneration of potato plantlet In-vitro conditions

Maryam Amiri *1, Mohammad Gerdakaneh2 Haidar Zolnoorian3 and Reza Mamaghani4.

۱،۴ Department of plant breeding ,Science and Research Branch, Islamic Azad University ,khouzestan-Iran

۲،۳ Researcher of Agricultural and Natural Resource Research Center of Kermanshah, Iran.

*Corresponding author: Maryam Amiri.
E-mail address: ma_amiri_am@yahoo.com

Abstract

this study was done in order to the effect of potato true seeds and explant on regeneration of potato plantlets. For this purpose, experiment was factorial 3×5 in the base of completely randomized design with 4 replications. Factors were true seeds named BSS-295, 994014 ،BSS-296, ZULUSHKA and CATALINA; and explant type included complete plantlet, shoot, and root on traits of regeneration's percentage, number of nodes, the plantlet height, the shoot's diagonal, the length, width, surface and number of the leaf in MS medium. Results showed that type of progeny and explant had a significant influence on these characteristics and BSS-296 progeny and shoot explant were selected as the best in all traits. Root explant didn't have any regeneration.

Key words: True potato seed, explant, tissue culture, MS medium