مقایسه گیاهچه های حاصل از کشت سیب زمینی رقم Satina در دو محیط کشت مایع (بیوراکتور) و جامد

شبنم هسراک (۱)، رضا ضرغامی (۲)، فرح فراهانی (۳) و محمود خسروشاهلی (۴)

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی دانشگاه آزاد واحد علوم و تحقیقات تهران، ۲- هیات علمی پژوهشکده بیوتکنولوژی کرج، ۳- هیات علمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد قم، ۴- هیات علمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران

چکیده

جهت تولید گیاهچه های عاری از ویروس از طریق کشت بافت سیب زمینی و دستیابی به حداکثر پتانسیل تولید و بهینه کردن روش های رایج، اثر محیط کشت مایع با استفاده از بیوراکتور و محیط کشت جامد بر روی رقم *Satina* مطالعه گردید. این آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی با ۱۱ تکرار انجام گردید. اثر دو محیط کشت جامد و مایع نشان دادند که متوسط تعدادبرگ و سطح برگ هر گیاهچه در محیط مایع بیشتر و اختلاف معنی داری در این خصوص مشاهده گردید و همچنین با استفاده از بیوراکتور (کشت در محیط مایع) گیاهچه ها قوی تر و شاداب تر بوده که در نهایت می توان از آن برای تولید مینی تیوبر استفاده گردد. در این آزمایش اختلاف معنی داری از جهت پارامترهای طول گیاهچه، تعداد گره و تعدادشاخه مشاهده نگردید ولی محیط مایع اثرات مثبتی را نیز بر روی این پارامترها نشان داد.

مواد و روش‌ها

در بخش اول آزمایش گیاهچه های حاصل از غده های آلوده به ویروس رقم *Satina* پس از گرما درمانی، مریستم برداری گردیدند. جهت انجام گرمادرمانی گیاهان آلوده به ویروس به مدت ۵-٤ هفته در معرض دمای ۴۰-۳۰ $^{\circ}C$ و رطوبت نسبی بالا (٪ ٦٥-٦٠) قرار گرفته، سپس آنها را جهت رشد و تبدیل به گیاهچه به محیط کشت مایع بر پل کاغذی منتقل نمودند. پس از تولید گیاهچه و استفاده از ازآزمون الایزا جهت اطمینان از عاری بودن آنها از هر گونه آلودگی ویروسی، تکثیر آنها آغاز گردید. برای تکثیر از دو روش بیوراکتور (محیط مایع) و محیط جامد استفاده گردید. بیوراکتور استفاده شده از نوع نیمه پیوسته بوده است. این سیستم دارای ظرف استوانه ای، پمپ هوا ساز، فیلتر هوای قابل استریل و زمان سنج است. گیاهچه ها در شرایط کاملا استریل از محیط کشت خارج و به قطعات ۳ تا ٤ جوانه ای (گره) تقسیم گردیدند. قطعات در ابتدا به دو بخش تقسیم شدند. بخشی از آنها به داخل ارلن های ۲۵۰ سی سی که محتوی ۵۰ سی سی محیط MS بوده و به آنها ۳۰ گرم در لیتر ساکارز و ٤ گرم در لیتر آگار اضافه گردیده بود منتقل گردیند ، بخش دیگر مواد گیاهی به محیط مشابه ولی بدون استفاده از آگار در بیوراکتور (محیط مایع) منتقل شدند. آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی انجام شد. سپس نمونه ها به اتاق رشد با دمای ۲۵$^{\circ}C$ و دوره نوری ۱٦/۸ با شدت ۳۰۰۰ لوکس منتقل گردیدند. پس از ۲۱ روز پارامترهای طول ساقه، تعدادشاخه، تعدادبرگ، سطح برگ و همچنین تعداد گره اندازه گیری گردید.

نتایج و بحث

نتایج نشان داد که متوسط تعداد برگ بر روی هر گیاهچه در محیط مایع(استفاده از بیوراکتور) بیشتر (٦/٥ برگ) از تعداد آن در محیط کشت جامد بود (٣/٥) بطوریکه اختلاف معنی‌داری در این خصوص مشاهده گردید (جدول ١). در ضمن مشاهده گردید که در محیط مایع گیاهچه‌ها قوی‌تر و شاداب‌تر بوده و تعداد میانگره‌ها بیشتر از گیاهچه‌های رشد یافته در محیط کشت جامد بودند به طوریکه اندازه سطح بزرگترین برگ هر گیاهچه در محیط مایع به طورمیانگین ١٣/١٥ cm^2 بود که در مقایسه با محیط جامد سطح برگ بیشتری را نشان داد، بطوریکه در محیط کشت جامد فقط هر گیاهچه سطحی برابر ٤/٣٨ سانتیمتر مربع را داشت که اختلاف معنی داری نیز در این خصوص مشاهده گردید(جدول٢). بدنبال جذب متناوب محلول غذایی، استقرار مناسب و هوادهی بهینه فعالیت سلول های مریستمی بیشتر شده و جوانه های انتهایی و جانبی سریع تر رشد نموده و نیز گستردگی سطح برگ همراه با انتقال بهینه گازها در بهبود فتوسنتز مؤثر می باشد.

جدول ١ – جدول مقایسه میانگین تعداد برگ هر گیاهچه در محیط کشت جامد و مایع

تیمار	نوع تیمار	میانگین (تک بوته)
١	محیط کشت جامد	٣/٥ b
٢	محیط کشت مایع	٦/٥ a

مقایسه میانگین ها با آزمون چند دامنه دانکن در سطح احتمال ١ درصد انجام شده و در هر ستون برای هر عامل آزمایشی، اختلافها از میانگین که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند از نظر آماری معنی دار نیست.

نکته قابل توجه اینکه در محیط کشت جامد علیرغم اینکه در مراحل اولیه رشد کندتر از محیط کشت مایع بود اما پس از استقرار گیاهچه سرعت رشد آن بیشتر شده بطوریکه پس از ٢١ روز ارتفاع گیاهچه‌ها در هر دو محیط میانگین یکسانی داشت و اختلف معنی داری را نشان ندادند. در این آزمایش هرچند که میان تعداد گره، تعدادشاخه و اندازه طول گیاه در دو محیط کشت جامد و مایع اختلاف معنی داری مشاهده نگردید ولی به طور متوسط در مدت ٣ هفته گیاهچه های کشت شده در بیوراکتور تعداد گره بیشتری را از گیاهان کشت یافته در محیط جامد نشان دادند بصورتیکه در آینده تعداد بیشتری قلمه از هر گیاهچه رشد یافته در شرایط بیوراکتور قابل استحصال خواهد بود. در تحقیقی که ضرغامی و همکاران (١) در سال ١٣٨٥ انجام دادند نشان داده شد که گیاهچه های ارقام آگاریا و مارفونا در محیط کشت جامد و مایع از نظر تعداد گره و طول ساقچه اختلاف معنی داری را ندارند که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد.

جدول ٢ – جدول مقایسه میانگین سطح برگ هرگیاهچه در محیط کشت جامد و مایع

تیمار	نوع تیمار	میانگین (تک بوته) cm^2
١	محیط کشت جامد	٤/٣٨ b
٢	محیط کشت مایع	١٣/١٥ a

مقایسه میانگین ها با آزمون چند دامنه دانکن در سطح احتمال ۱ درصد انجام شده و در هر ستون برای هر عامل آزمایشی، اختلاف ها از میانگین که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند از نظر آماری معنی دار نیست.

منابع

۱- ضرغامی، ر. ، ا. ر. بلندی و م. چایچی. ۱۳۸۵. تکثیر گیاهچه سالم سیب زمینی از طریق کشت بافت. گزارش نهائی طرح تحقیقاتی مؤسسه بیوتکنولوژی کشاورزی.

2- Le C.L. (2000). *In vitro* mass propagation of potato in liquid medium. Inaugural Meeting in Tamper, Finland , 44-45.

3- Rollot J. , H. Seutin and D. Michelante . (2002). Production de minitubercules de pomme de terre par hydroponic. Biotechnol. Agron. Soc. Environ. 6, 155-161.

4- Xuan Chun P. , C. Debasis , H. Eun Joo. and P. Kee Yoeup .(2003). A simple method for mass production of potato microtubers using a bioreactor system . Current Scince , 84: 1129-1132.

5- Zobayed M. , J. Armstrong . and W. Armstrong. (2001). Micropropagation of potato: evaluation of closed, diffusive and forced ventilation on growth and tuberization. Annals of Botany 87: 53-5