

## بررسی تأثیر نوع و ترکیب محیط کشت روی میزان بقاء مریستم‌های سیب‌زمینی

فاطمه قائد شرف (۱)، یوسف حمید اوغلی (۲) و رضا فتوحی قزوینی (۲)

۱- کارشناس ارشد باگبانی، ۲- عضو هیئت علمی دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان

### چکیده

از آنجایی که نوع و ترکیب محیط کشت نقش مهمی در موفقیت کشت مریستم دارد، تأثیر نوع محیط کشت و ترکیب آن روی میزان بقاء مریستم دو رقم سیب‌زمینی (آریندا و دیامانت) مورد ارزیابی قرار گرفت. از جوانه‌های (جانبی) گندздایی شده، مریستم‌هایی در اندازه‌های ۰/۴-۰/۰ میلی‌متر جدا گردید و روی محیط کشت مایع و جامد موراشیگی و اسکوگ (MS) دارای ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر جیبرلین به همراه ۰/۰۴ میلی‌گرم بر لیتر کیتین و محیط کشت MS بدون تنظیم کننده رشد قرار داده شدند. بعد از ۸ هفته، میزان بقاء مریستم بررسی شد. میزان بقاء مریستم در ارقام آریندا و دیامانت به ترتیب ۵۶ و ۴۱ درصد بود. بیشترین میزان بقاء مریستم در محیط کشت مایع (۶۸/۷ درصد) و نیز در محیط کشت دارای تنظیم کننده‌های رشد (۶۲/۵) بدست آمد، اما اثر متقابل آن‌ها (نوع محیط کشت × ترکیب محیط کشت) در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار نشد.

### مقدمه

این محصول از نظر اهمیت غذایی در جهان، بعد از گندم، برنج و ذرت مقام چهارم را داراست و مهم‌ترین منبع در تغذیه انسان است. متأسفانه سیب‌زمینی در معرض بیش از صد بیماری باکتریایی، قارچی، مایکوپلاسمایی و ویروسی قرار دارد. از سال ۱۹۵۲ تا کنون، به دنبال توسعه روش‌های کشت بافت، از روش‌هایی مانند کشت مریستم و گرمادرمانی برای حذف ویروس‌های مهم گیاهی، استفاده شده است [۴]. آگار معمولی‌ترین ماده ژل مانند است که برای تهیه محیط کشت‌های جامد و نیمه جامد کشت بافت به کار گرفته می‌شود [۲]. غلاظت خیلی بالای آن منجر به تنفس آب در بافت می‌شود و در غلاظت‌های کم آن یک لایه مایع روی سطح ژل تشکیل خواهد شد و غرق شدن ریزنمونه در این لایه مایع، مانع از مبادلات گازی شده و به کاهش رشد منجر می‌گردد [۱]. از پل‌های ساخته شده از کاغذ صافی که در محیط کشت مایع قرار داده می‌شوند، نیز برای نگهداری و توزیع بافت‌ها می‌توان استفاده نمود [۱ و ۲]. در تحقیقی که پريرا و همکاران [۱۰] روی محیط کشت مریستم دو رقم سیب‌زمینی انجام دادند، برای رشد مریستم سیب‌زمینی محیط کشت مایع را مناسب‌تر از محیط کشت جامد دانستند. [۲]. همچنین محققین از محیط کشت MS [۶] به همراه جیبرلین و کیتین برای کشت مریستم سیب‌زمینی استفاده کردند [۵ و ۷]. در این پژوهش درصد بقاء مریستم‌های کشت شده دو رقم سیب‌زمینی تحت کشت در ایران مورد بررسی قرار گرفته است.

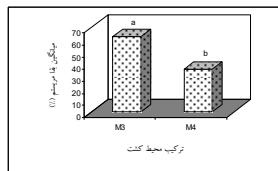
### مواد و روش‌ها

غده‌های بذری سیب‌زمینی ارقام آریندا و دیامانت، در آبان ماه ۱۳۸۵ از مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر و نهال واقع در شهرستان کرج تهیه شد. پس از گندздایی غده‌ها، از اسید جیبرلیک ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر برای شکستن دوره خواب غده‌ها استفاده شد. در ادامه غده‌ها در گلدان کاشته شدند و در گلخانه در شرایط مطلوب نگهداری شدند. زمانی که گیاهان به اندازه کافی رشد کردند، تک گره‌هایی به طول ۱ سانتی‌متر جدا گردید و عمل گندздایی انجام شد. سپس مریستم‌ها به اندازه ۰/۴ میلی‌متر در زیر دستگاه جریان هوای استریل و با استفاده از بینوکولار جدا گردید. پس از جداسازی مریستم‌ها بلافصله به

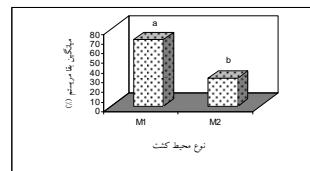
صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با شش تکرار به محیط کشت مایع و جامد متقل گردیدند. پس از ۸ هفته میزان بقای مریستم‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت.

### نتایج و بحث

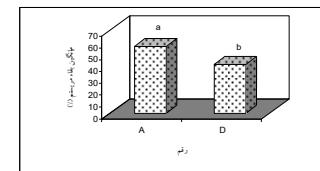
بر اساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس اثرات ساده ارقام آریندا و دیامانت بر میزان بقاء مریستم در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بوده است. مقایسه میانگین داده‌ها نشان می‌دهد که کمترین میزان بقاء مریستم در رقم دیامانت (D) و بیشترین میزان بقاء در رقم آریندا (A) به ترتیب با میانگین ۴۱ و ۵۶ درصد مشاهده شده است (شکل ۱). نجیب و همکاران [۷] بیان کرده‌اند که میزان بقاء مریستم در ارقام سبیل‌زمینی متفاوت است. پایت و زمورا [۹] گزارش کردند که میزان تشکیل گیاهچه از مریستم، بسته به ژنوتیپ متفاوت است. نتایج تجزیه واریانس، نشان داده است که اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد از هر دو محیط کشت مایع (M1) و جامد (M2) بر میزان بقاء مریستم وجود دارد. در محیط کشت M1 میزان بقاء مریستم ۶۷/۷ درصد بود، در صورتی که در محیط کشت M2 میزان بقاء مریستم ۲۹/۱ درصد بوده است. نتایج نشان داد که در محیط کشت مایع، بقاء مریستم تقریباً ۲/۳ برابر محیط کشت جامد بوده است (شکل ۲). محلول‌های غذایی بدون آگار، در برخی از گیاهان برای انتقال مواد غذایی و پرهیز از ناخالصی‌های آگار مفید است [۳]. در این پژوهش نیز، بر اساس نتایج تجزیه واریانس، اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد از هر دو محیط کشت حاوی هورمون (M3) و فاقد هورمون (M4) بر میزان بقاء مریستم مشاهده شده است. در محیط کشت M3 میزان بقاء مریستم ۶۲/۰ درصد بود، در حالی که در محیط کشت M4 میزان بقاء مریستم به ۳۵/۴ درصد رسیده است (شکل ۳). ترکیب محیط کشت نقش مهمی در موفقیت کشت مریستم دارد. در محیط‌های کشت مریستم مقادیر اندکی از اکسینین یا سیتوکینین یا هر دو بسیار مفید است. جیرلین نیز به میزان کم اثر بسیار چشمگیری در بازیابی گیاهچه‌های حاصل از کشت مریستم دارد [۲، ۵ و ۷].



شکل ۳



شکل ۲



شکل ۱

### منابع

- [۱] باقری، ع. و م. زیارت‌نیا. ۱۳۸۳. کشت بافت درختان چوبی. ترجمه. انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد. ۲۴۵ صفحه.
- [۲] خوشخوی، م. ۱۳۷۸. فنون کشت بافت گیاهی برای گیاهان باگبانی (بوستانداری). ترجمه. انتشارات دانشگاه شیراز. ۱۳۶۸.
- [۳] خوشخوی، م. ۱۳۸۵. گیاه‌افزایی (مبانی و روش‌ها). جلد سوم. ترجمه. انتشارات دانشگاه شیراز. ۱۴۶۸ صفحه.
- [4] <http://www.rocw.raifoundation.org/>
- [5] Khatun, N., M. A. Bari, R. Islsm, S. Huda, N. A. Siddique, M. H. Rahman and M. U. Mollah. 2003. Callus induction and regeneration from nodal segment of potato cultivar Diamant. J. Biol. Sci. 3: 1101-1106.
- [6] Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol Plant. 15(3): 473-497.
- [7] Nagib, A., S. A. Hossain, M. F. Alam, M. M. Hossain, R. Islam and R. S. Sultana. 2003. Virus free potato tuber seed production through meristem culture in tropical asia. Asi. J. Plant Sci. 2: 616-622.
- [9] Paet, C. N. and A. B. Zamora. 1990. Efficacy of thermotherapy and group culture of isolated potato meristems for the elimination of single and mixed infections of potato virus Y, potato virus S and potato leafroll virus. Philippine. J. Sci. 15: 113-118.

- [10] Pereira, J. E. S., G. R. L. Fortes and H. S. Fernandes. 2001. *In vitro* optimization of potato meristems growth by cultivation in liquid culture media.