دانشگاه مازندران

مجتمع آموزش عالی علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

دانشکده مهندسی زراعی

موضوع:

بررسی پایداری نشانگر RAPD بین بخش های مختلف گیاهان سیب زمینی (*Solanum tuberosum* L.) کشت شده در کشت بافت و خاک

جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد

رشته مهندسی بیوتکنولوژی

استاد راهنما:

دکتر نادعلی بابایان جلودار

دکتر ویدا چالوی

استاد مشاور:

دکتر سید کمال کاظمی تبار

نگارش: ستاره زنگی

اسفند ماه۱۳۸۷

به نام خداوند جان آفرین
حکیم سخن در زبان آفرین

پس از سپاس و ستایش یگانه بی همتا تقدیر و تشکر می نمایم از بزرگوارانی که در نگارش و تدوین این رساله مرا یاری فرمودند.

جناب آقای دکتر نادعلی بابائیان جلودار و خانم دکتر ویدا چالوی که همواره با راهنمایی های بسیار ارزنده شان مرا رهین لطف خود نمودند.

جناب آقای دکتر سید کمال کاظمی تبار که مشاوره این رساله را تقبل فرموده و با راهنمایی های بسیار ارزنده شان مرا یاری نمودند.

جناب آقای مهندس نادعلی باقری و مهندس اسماعیل حسن نتاج که من را در انجام این تحقیق یاری دادند صمیمانه سپاسگزارم.

هم چنین از موسسه تحقیقاتی اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج که نهایت همکاری را با اینجانب داشته کمال تشکر را دارم.

و در پایان:
از خانواده عزیزم به خاطر محبت ها و حمایت های بی مانندشان سپاسگزارم و از پروردگار پاک می خواهم یاریم دهد تا ذره ای از مهربانی های بی انتهایشان را پاسخگو باشم.

نام و نام خانوادگی: ستاره زنگی

رشته کارشناسی و دانشگاه: رشته مهندسی باغبانی، دانشگاه تبریز

رشته و گرایش کارشناسی ارشد: بیوتکنولوژی کشاورزی

تاریخ فراغت از تحصیل: ۱۰/ ۱۲/ ۱۳۸۷

میانگین کل کارشناسی ارشد: ۱۷ /۵۱

استاد راهنمای پایان نامه: نادعلی بابائیان جلودار، ویدا چالوی

استاد مشاور پایان نامه: کمال کاظمی تبار

موضوع پایان نامه: بررسی پایداری نشانگر RAPD بین بخش های مختلف گیاهان سیب زمینی کشت شده در کشت بافت و خاک

خلاصه

سیب زمینی معمولی (*Solanum tuberosum L.*) گیاهی است یکساله و اتوتتراپلوئید که برای استفاده از غده زیر زمینی آن کشت می گردد. اهمیت سیب زمینی به خاطر ارزش غذایی آن، خاصیت انباری داری و حمل و نقل آسانش است و سازگاری خو ب آن با شرایط آب و هوایی مختلف سبب شده است که در اقصی نقاط جهان کشت شود. این محصول از اقتصادی ترین مواد غذایی است زیرا منبعی از انرژی ارزان برای رژیم غذایی انسان فراهم می آورد. سیب زمینی چهارمین گیاه زراعی از نظر مقدار تولید بعد از گندم، ذرت و برنج است. سیب زمینی به خاطر داشتن بسیاری گونه های زراعی و وحشی نسبت به سایر گیاهان غنی ترین تنوع ژنتیکی را دارد. با توجه به اهمیت منابع ژنتیکی و گسترش کاربرد آن ها در اصلاح نباتات تعیین ساختار ژنتیکی جمعیت های سیب زمینی موجود در ژرم پلاسم دارای اهمیت زیادی می باشد. تلاش های زیادی برای جمع آوری، شناسایی و حفاظت واریته های سیب زمینی در بانک های ژن با استفاده از نشانگرهای مولکولی بویژه نشانگر DNA چند شکلی تصادفی تکثیر شده [Random amplified polymorphic DNA (RAPD)]انجام گرفته است. RAPD یکی از پرکاربردترین شیوه های انگشت نگاری DNA است. انگشت نگاری DNA برای تمامی بخش ها و بافت های یک رقم گیاه باید یکسان باشد، زیرا DNA ژنومی همه سلول های سوماتیکی یک موجود زنده یکسان است. در حال حاضر، اطلاعات کمی درباره هم شکلی الگوی باندی RAPD بافت های مختلف یک گیاه منفرد وجود دارد. در این مطالعه، پایداری الگوی باندی RAPD برای بخش های مختلف گیاهان سیب زمینی کاشته شده در محیط کشت بافت گیاهی و در محیط گلخانه مورد بررسی قرار گرفت. گیاهچه های عاری از آلودگی بدست آمده از کشت مریستم ۵ رقم سیب زمینی از موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج تهیه گردید. تکثیرDNA به کمک واکنش های RAPD-PCR از بخش های مختلف، شامل برگ، ساقه، ریشه وغده گیاهچه های سیب زمینی کشت شده در محیط کشت بافت و گلخانه با استفاده از پرایمرهای۱۰ نوکلئوتیدی تصادفی صورت گرفت. دندروگرام به کمک نرم افزار NTSYS (v.2.02) بر اساس ضریب تشابه دایس در کلاستر بندی SAHN با استفاده از الگوریتم میانگین فاصله (UPGMA) برای نمونه های گلخانه و کشت بافت ترسیم شد. نتایج بدست آمده نشان دادند که الگوهای باندی RAPD برای بخش های مختلف گیاهچه های کشت شده در کشت بافت مشابه بود، در حالی که تنوع زیادی در الگوی باندی RAPD برای بخش های مختلف گیاهچه های کشت شده در گلخانه مشاهده شد. احتمالا، عدم آلودگی میکروبی و متابولیت های ثانویه در گیاهان کشت شده در کشت بافت دلیل اصلی هم شکلی الگوهای باندی RAPD بدست آمده از بافت های متفاوت گیاهان کشت شده در کشت بافت می باشد. تجزیه و تحلیل داده های RAPD نشان داد که گروه بندی و فواصل ژنتیکی ارقام برای نمونه های گلخانه و کشت بافت متفاوت بود. به طور کلی، بررسی پایداری نشانگر RAPD بین بخش های مختلف گیاهان سیب زمینی کشت شده در کشت بافت و خاک نشان داد اگر از گیاهان کشت شده در کشت بافت استفاده شود، نشانگر RAPD می تواند در شناسایی نواحی چند شکلی، تخمین فاصله ژنتیکی و مدیریت ژرم پلاسم مفید باشد. در صورت استفاده از گیاهان کشت شده در خاک امکان اشتباه در بررسی فاصله ژنتیکی نمونه ها و گروه بندی ارقام وجود دارد. حتی زمانی که برای استخراج DNA از بافت های مشابه گیاهان کشت شده در گلخانه استفاده شد، نتایج بدست آمده قابل مقایسه با یکدیگر نبودند. هم چنین، با انتخاب درست روش استخراج DNA، استفاده از گیاهان کشت شده در محیط کشت بافت گیاهی، با بهینه سازی شرایط واکنش PCR و انجام امتیازدهی باندهای RAPD با حداقل اشتباه آزمایش های RAPD می توانند معتبر و تکرارپذیر باشند.

کلمات کلیدی: *سیب زمینی، RAPD، PCR*

فصل اول: مقدمه و کلیات

۱-۱- مقدمه ۱

۱-۲- خصوصیات گیاهشناسی ۷

۱-۲-۱- جایگاه گیاه سیب زمینی در رده بندی گیاهی ۷

۱-۲-۲- مورفولوژی سیب زمینی ۸

۱-۲-۳- الگوی رشد سیب زمینی ۱۰

۱-۲-۴- خاستگاه و تاریخچه ۱۰

۱-۲-۵- شرایط آب و هوایی لازم ۱۱

۱-۲-۶- کاشت و برداشت سیب زمینی ۱۱

۱-۲-۷- اهمیت اقتصادی و ارزش غذایی سیب زمینی ۱۲

۱-۲-۸- موارد مصرف سیب زمینی ۱۳

۱-۲-۹- پراکندگی سیب زمینی ۱۶

۱-۲-۱۰- تولید و سطح زیر کشت سیب زمینی در کشور و جهان ۱۶

۱-۳- بیوتکنولوژی در سیب زمینی ۱۹

۱-۴- کشت بافت سیب زمینی ۱۹

۱-۵- تنوع ژنتیکی و عوامل ایجاد تنوع ۲۱

۱-۶- تعریف نشانگر ۲۵

۱-۷- انواع نشانگرها ۲۵

۱-۷-۱- نشانگرهای مورفولوژیکی ۲۶

۱-۷-۱-۱- مزایای نشانگرهای مورفولوژیکی ۲۶

۱-۷-۱-۲- معایب نشانگرهای مورفولوژیکی ۲۶

۱-۷-۲- نشانگرهای بیوشیمیایی ۲۷

۱-۷-۲-۱- مزایای نشانگرهای بیوشیمیایی ۲۸

۲-۲-۷-۱- محدودیت های نشانگرهای بیوشیمیایی..... ۲۸
۳-۷-۱- نشانگرهای ژنتیکی DNA..... ۲۹
۱-۳-۷-۱- مزایای نشانگرهای ژنتیکی..... ۳۰
۲-۳-۷-۱- انواع نشانگرهای ژنتیکی DNA ۳۱
۳-۳-۷-۱- ویژگی نشانگر مولکولی مطلوب..... ۳۱
۸-۱- واکنش زنجیره ای پلیمراز..... ۳۲
۹-۱- کاربردهای PCR..... ۳۴
۱۰-۱- نشانگرهای RAPD..... ۳۶
۱-۱۰-۱- خصوصیات نشانگرهای RAPD..... ۳۷
۲-۱۰-۱- کاربرد نشانگرهای RAPD..... ۳۷
۳-۱۰-۱- مزایای نشانگرهای RAPD..... ۳۸
۴-۱۰-۱- معایب نشانگرهای RAPD..... ۳۸
۱۱-۱- اهمیت و کاربرد تنوع ژنتیکی و نشانگرهای مولکولی..... ۳۹
۱۲-۱- اهمیت تنوع ژنتیکی و نشانگرهای مولکولی در اصلاح سیب زمینی..... ۴۴

فصل دوم: سابقه پژوهش

۱-۲- تخمین تنوع ژنتیکی در گیاهان با استفاده از روش RAPD : ۴۶
۲-۲- کاربرد RAPD در تعیین هویت واریته ها، خلوص و ثبات آن ها :..... ۴۸
۳-۲- کاربرد RAPD در اصلاح گیاهان سیب زمینی : ۵۰
۴-۲- کاربرد RAPD در ژنتیک جمعیت های گیاهی سیب زمینی :..... ۵۱
۵-۲- بررسی کاررآیی روش RAPD با سایر روش های مولکولی : ۵۲

فصل سوم: مواد و روش ها

۳-۱- مواد گیاهی ۵۶
۳-۱-۱- کشت بافت ۵۶
۳-۱-۲- شرایط کشت بافت و محیط کشت برای تولید ریز غده : ۵۸
۳-۲- استخراج DNA ۵۸
۳-۲-۱- محلولهای مورد استفاده قرار گرفته برای استخراج DNA: ۵۸
۳-۲-۲- مراحل استخراج DNA : ۵۹
۳-۳- ارزیابی کمی و کیفی DNA ۶۱
۳-۴- شرایط واکنش RAPD-PCR ۶۲
۳-۵- مشاهده محصولات PCR ۶۴
۳-۶- تجزیه و تحلیل آماری داده ها ۶۴

فصل چهارم: نتایج

۴-۱- تولید ریزغده در گیاهچه های سیب زمینی ۶۷
۴-۲- بهینه سازی استخراج DNA ۶۸
۴-۳- بهینه سازی واکنش RAPD - PCR ۷۳
۴-۳-۱- اثرغلظت DNA ۷۶
۴-۳-۲- اثرغلظت یون منیزیم ۷۷
۴-۳-۳- اثر غلظت پرایمر ۷۷
۴-۳-۴- اثرغلظت dNTP ۷۸
۴-۳-۵- اثرغلظت Taqپلیمراز ۷۸
۴-۴- نتایج حاصل از تکنیک RAPD – PCR ۸۴
۴-۴-۱- الگوی باندی RAPD بین بخش های مختلف گیاهان کشت شده در خاک :..... ۸۹
۴-۴-۲- الگوی باندی RAPD بین بخش های مختلف گیاهان کشت شده در کشت بافت :..... ۹۱
۴-۵- تجزیه به مؤلفه های اصلی ۹۴

فصل پنجم: بحث

۵-۱- غده زایی در کشت بافت ۹۶

۵-۲- بهینه سازی استخراج DNA ۹۷

۵-۳- بهینه سازی واکنش RAPD - PCR ۱۰۲

۵-۳-۱- اثرغلظت DNA الگو ۱۰۲

۵-۳-۲- اثرغلظت یون منیزیم ۱۰۳

۵-۳-۳- اثرغلظت پرایمر ۱۰۳

۵-۳-۴- اثرغلظت dNTP ۱۰۴

۵-۳-۵- اثرغلظت Taqپلیمراز ۱۰۴

۵-۳-۶- دمای اتصال ۱۰۵

۵-۴- پیشنهادات ۱۰۹

منابع ۱۱۰

پیوست ۱۰۸

فصل اول:

مقدمه و کلیات

مقدمه :

سیب زمینی(*Solanum tuberosum L.*) بعد از گندم ، برنج و ذرت، چهارمین محصول مهم کشاورزی جهان می باشد (۴۸) و نقش مهمی در تامین کربوهیدارت های مورد نیاز انسان دارد و همچنین این محصول از نظر میزان پروتئین، اسیدهای آمینه ضروری، چربی، ویتامین ها و مواد معدنی در تغذیه انسان دارای اهمیت خاصی می باشد، به طوری که در جیره غذایی مردم بسیاری از کشورهای اروپای مرکزی مانند آلمان، یوگسلاوی، چک، اسلواکی، لهستان، اتریش، فرانسه تا حدودی جانشین نان گندم شده است و به همراه اکثر غذاها مصرف می شود و همچنین به عنوان ماده خام برای تولید الکل و نشاسته مورد استفاده قرار می گیرد (۷). شرایط آب و هوای خنک برای کشت سیب زمینی مناسب است و یا در مناطق گرمسیری باید در طی فصل سرد کشت شوند. نیاز به شرایط آب و هوای خنک کشت سیب زمینی را محدود می کند، بنابراین نیاز به برنامه های اصلاحی می باشد تا واریته های سیب زمینی که تا حدودی مقاوم به گرما باشند، اصلاح شوند. فاکتورهای تعیین کننده کیفیت غده سیب زمینی که در تولید آن دارای اهمیت زیادی می باشند شامل ویژگی های بیولوژیکی (پروتئین، کربوهیدرات، مواد معدنی)، ویژگی های حسی(بافت، مزه) و ویژگی های صنعتی(شکل غده، کیفیت نشاسته) هستند. صنعت سیب زمینی اتحادیه اروپا در تلاش است تا مصرف سیب زمینی را افزایش دهد و بنابراین کولتیوار های جدید باید دارای عملکرد بالا و مقاوم به انواع آفات و بیماری باشند تا هزینه تولید کاهش یابد (۲۶).

اصلاحگران سیب زمینی در صورتی می توانند در برنامه های تحقیقاتی خود موفق باشند که شانس انتخاب مواد مناسب و متنوع برای آنها وجود داشته باشد. خویشاوند های وحشی سیب زمینی، ژرم پلاسم مناسبی برای برنامه های اصلاحی آن می باشند. منابع اولیه ژن های مفید در صورت جمع آوری می توانند برای همیشه نگهداری شوند

و درهر زمانی که مورد نیاز باشد، مجددا مورد بهره برداری قرار گیرند. بانک های ژن با جمع آوری، شناسایی و ارزیابی دقیق و حفاظت از ذخایر ژنتیکی، اطلاعات مورد نیاز کارشناسان اصلاح نباتات را تامین می کنند، بنابراین مطالعاتی که بر روی تنوع ژنتیکی سیب زمینی انجام می گیرد از نظر کاربردی دارای اهمیت می باشد. هم چنین، بررسی تنوع ژنتیکی و روابط خویشاوندی بین و درون جمعیت ها، گونه ها و افراد مختلف یکی از اهداف اصلی و اولیه بسیاری از تحقیقات زیست شناسی و گیاهشناسی است. در سه دهه اخیر از روش های کلاسیک نظیر ریخت شناسی، مورفولوژی و فیزیولوژی برای ارزیابی تنوع ژنتیکی استفاده شده است که با روش های مولکولی کامل می شوند. امروزه از چندشکلی DNA و پروتئین ها به عنوان یک نشانگر مولکولی در تحقیقات فیلوژنی، تاکسونومی، اکولوژی، ژنتیک و اصلاح گیاهان استفاده می شود (۳).

در ابتدا تفاوت های موجود در پروتئین ها و آنزیم های غده برای شناسایی کولتیوارهای سیب زمینی مورد استفاده قرار می گرفت (۲۸) و این ارزیابی به دلیل اثر محیط بر بیان ژن ممکن است روش قابل اعتمادی برای شناسایی نباشد. اخیرا نشانگرهای مولکولی DNA چشم انداز وسیعی برای ارزیابی تنوع زیستی فراهم آورده اند. با استفاده از این نشانگرها، امکان ارزیابی مستقیم ماده وراثتی بسیار بالاست. با کاربرد این نشانگرها برخی محدودیت های موجود در روش های گذشته مرتفع شده است. بر خلاف نشانگرهای مورفولوژیکی و آیزوزایم ها، تعداد نشانگرهای DNA تقریبا نامحدود است و برای تشخیص چندشکلی نیازی به بیان آن ها نیست. استفاده از چندشکلی های DNA که در نتیجه موتاسیون و یا انتخاب ژنتیکی افراد ایجاد شده اند، به راحتی امکان پذیر است (۳). روش های مولکولی برای بررسی تنوع ژنتیکی در سطح DNAی افراد و انگشت نگاری آن ها از اهمیت و کاربرد چشمگیری برخوردار است. کشف واکنش زنجیره ای پلیمراز[۱] (PCR) توسط مولیس و فالونا [۲] (۱۹۸۷) فرصت مناسبی را برای

بررسی تنوع و تفاوت موجودات در سطح DNA امکان پذیر نمود (۱۶). برتری روش هایی که براساس PCR انجام می شوند بر سایر روش های مولکولی، سریع بودن آن ها و نیاز اندک آن ها به DNA بویژه برای گیاهچه های رشد یافته در محیط کشت گیاهی می باشد. نشانگر RAPD [3] توسط ویلیامز و همکاران درسال ۱۹۹۰ ابداع و معرفی شد (۱۵)، از جمله نشانگر های ژنتیکی است که بر اساس PCR انجام می شود.[1]استفاده از نشانگرهای RAPD که فقط از یک پرایمر ۱۰ نوکلئوتیدی تصادفی برای تکثیر در این روش استفاده می شود، حداقل نیاز به تکنولوژی پیشرفته را در مقایسه با سایر نشانگرهای مولکولی دارند. همچنین این نشانگرها نیازی به اطلاعات اولیه در مورد توالی بازی DNA مورد نظر ندارد (۲۱). با توجه به این که توالی بازی ژنوم بیشتر گیاهان زراعی فعلا در دسترس نیست، با استفاده از نشانگرRAPD می توان از مزایای واکنش زنجیره ای پلیمراز استفاده کرد. RAPD، بودن یا نبودن ترتیب خاصی از توالی را تعیین می کند که این تنوع توالی به دلیل زیاد شدن یا کم شدن نوکلئوتید ها و یا جانشینی یک نوکلئوتید به جای نوکلئوتید دیگر می باشند. هم چنین نشانگرهای ژنتیکی RAPD تقریبا به صورت غالب در مدل مندل به ارث می رسند. در حال حاضر نشانگر های RAPD برای هدفهای زیر به کار می روند:

۱- بررسی همبستگی ژن های مقاوم به بیماری

۲- ترسیم نقشه ژنتیکی صفات

۳- ژنتیک جمعیت

۴- تعیین هویت و رده بندی

---

[1] Polymerase Chain Raiction

[2] Kary Mullis

[3]Random Amplified Polymorfic DNA

(۱۶). این کاربردهای متنوع، RAPD را پر کاربردترین شیوه برای انگشت نگاری با DNA نموده است (۲۱). انگشت نگاری بر اساس RAPD به طور گسترده برای شناسایی کولتیوارهای جو ، نخود ، سویا و... استفاده شده است (۲۸). در مورد سیب زمینی نشانگرهای RAPD برای متمایز ساختن کولتیوارهای سیب زمینی در آمریکای شمالی، روسیه، ژاپن، استرالیا، کانادا و هند استفاده شده است (۲۸). علیرغم کاربرد زیاد نشانگر RAPD به دلیل تکرارپذیری کم آن ارزش و اعتبار داده های حاصل از آنالیز RAPD بارها و بارها مورد سؤال قرار گرفته است. دانشمندان زیادی سعی کردند با انجام آزمایشات مختلف عواملی که در تکرارپذیری RAPD اثر می گذارند را شناسایی کنند تا شرایط واکنش PCR-RAPD بهینه شود (۲۱). نتایج بررسی های استاب و همکاران (۱۹۹۶) و آتینزار و همکاران (۲۰۰۶) نشان داد که آزمایش های RAPD می تواند معتبر و تکرارپذیر باشد، در صورتی که از DNA با کیفیت بالا استفاده شود، شرایط واکنش PCR تنظیم و بهینه گردد و امتیازدهی با حداقل اشتباه انجام شود. همچنین، بویتکس و همکاران (۱۹۹۹) نیز گزارش کردند که انتخاب یکسان و درست روش استخراج DNA به اندازه نوع بافت برای اعتبار آنالیز انگشت نگاری DNA بر اساس RAPD اهمیت قابل ملاحظه ای دارد. معمولا فرض بر این است که انگشت نگاری DNA از هر بافت یک رقم باید یکسان باشد، چون DNA ژنومی یکسانی در همه سلول های سوماتیکی وجود دارد. اطلاعات خیلی کمی درباره هم شکلی باندهای RAPD از بافت های مختلف یک گیاه منفرد وجود دارد. لذا در این پژوهش، پایداری نشانگر RAPD در بین بخش های برگ، ساقه، ریشه و غده یک گیاه منفرد مورد بررسی قرا گرفت. تولید متابولیت های ثانویه در کشت بافت معمولا در مقایسه با گیاه طبیعی بسیار کمتر است (۱۲). همچنین مشخص شده است که DNA استخراج شده از بافت های متفاوت یک گیاه اغلب به متابولیت های ثانویه خاصی آلوده می باشند. که این گونه آلودگی ها شدیدا روی فعالیت

Taqپلیمراز تاثیر دارند. درنتیجه وجود متابولیت های ثانویه در بافت ها می تواند عامل مهمی در ناپایداری نشانگر RAPD باشد. همچنین، این امکان وجود دارد که DNA ژنوم میکروارگانیسم همراه با DNA ژنوم

بافت گیاهی استخراج شود و با توجه به حساسیت شدید تکنیک PCR، DNA میکروارگانیسم همراه با DNA گیاه تکثیر شود (۲۸). بنابراین، تفاوت سطح آلودگی بخش های هوایی و زیرزمینی گیاه با میکروارگانیسم های متفاوت شاید عامل مهم موثر دیگری در ناپایداری نشانگر RAPD باشد. لذا در این مطالعه، پایداری نشانگر RAPD در بین بخش های برگ، ساقه، ریشه و غده گیاهان سیب زمینی کشت شده در کشت بافت و خاک نیز مورد بررسی قرار گرفت. تا مفید بودن نشانگر RAPD و توانایی آن برای شناسایی رقم های مختلف سیب زمینی مورد ارزیابی قرار گیرد.

۲-۱- خصوصیات گیاهشناسی:

۱-۲-۱- جایگاه گیاه سیب زمینی در رده بندی گیاهی :

سیب زمینی متعلق به خانواده بادمجانیان(Solanaceae) جنس سولانوم (Solanum) است. این گیاه دارای گونه های زیادی بوده ولی تنها گونه tuberosum و تعداد بسیار محدود دیگری هستند که تولید غده می نمایند. (۵).

ارقام تجاری سیب زمینی به دو گونه Solanum andigenum و Solanum tuberosum تعلق دارند.

الف) Solanum andigenum :

این گونه دارای ساقه های طویل و ظریف، برگچه های ریز و باریک است. به تعداد فراوان تولید گل می کند. این گونه دارای استولون های طویل و اغلب غده های آن دارای چشم های عمیق و رنگی هستند. غده زایی در این گونه ها فقط در شرایط روزکوتاه صورت می گیرد و کشت این گونه به ارتفاعات آمریکای جنوبی محدود می شود (۱۳).

ب) Solanum tuberosum :

گیاهان این گونه کوتاه تر از گونه andigenum هستند، و ساقه ضخیم تر و برگچه ها پهن و بزرگتر دارند. غده ها معمولا سفید رنگ و بیضوی هستند. از نظر غده زایی این گونه برای شرایط روزبلند و روزکوتاه مناسب است. علاوه بر دو گونه یاد شده، گونه های S. demissum و S. stenotonum از گونه های مهم بوده و مقاوم به فرم هایی از ویروس ها و بیماری ها است. به علت وجود برنامه های دورگ گیری بین گونه ها، واریته های امروزی معمولا از گونه Solanum tuberosum منشا می گیرند (۵).

۲-۲-۱- مورفولوژی سیب زمینی :

شکل۱: گیاه سیب زمینی *Solanum tuberosum*

قسمت هوایی این گیاه در اثر سرمای زمستان خشکیده و از بین می رود ولی غده های باقی مانده در خاک می توانند در بهار سال بعد جوانه زده و گیاه جدیدی را تولید نماید. بنابراین، سیب زمینی گیاهی چند ساله بوده اما برای تولید محصول، گیاهی یکساله محسوب می شود (۱۳).

از نظر گیاه شناسی سیب زمینی که از بذر تولید می شود دارای ریشه عمودی بوده که مقدار زیادی ریشه های فرعی آن را احاطه می کنند. سیب زمینی که از غده تولید می گردد دارای ریشه های افشان است. ریشه از قسمت انتهای ساقه و تعداد اندکی نیز از استولون ها منشعب می شوند (۵). سیستم ریشه در این گیاه ضعیف و معمولا سطحی می باشد و اغلب عمیق تر از ۵۰ سانی متر نمی باشد، لذا برای رشد احتیاج به خاک مناسب دارد (۴۸). سیب زمینی در خاک های سبک شنی که دارای مواد آلی کافی باشد بهترین نتیجه را می دهد. ساقه در سیب زمینی شامل ساقه اصلی و ساقه زیر زمینی (استولون[۱]) می باشد.گیاهانی[۲]

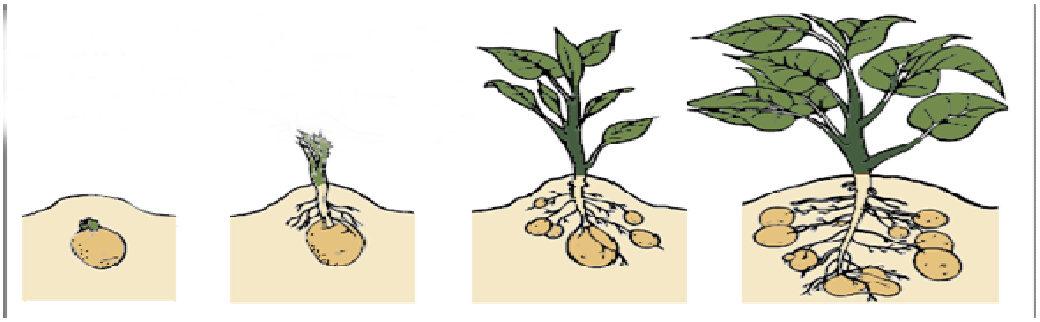
که از بذر حقیقی تکثیر یافته اند دارای یک ساقه اصلی می باشند، در حالی که یک غده می تواند چند ساقه هوایی به وجود آورد. ساقه های هوایی ممکن است منشعب باشند که در برش عرضی عموما توخالی و سه گوش هستند. بخش تحتانی ساقه گرد و سفت است. ساقه ها می توانند بدون کرک یا کرکدار باشند. رنگ ساقه اغلب سبز است ولی در برخی ارقام، رنگ ساقه در نتیجه آنتوسیانین در لایه هیپودرم می تواند متفاوت باشد (۱۳). استولونها یا ساقه های زیر زمینی از جوانه هایی که در قسمت زیرزمینی انتهای ساقه وجود دارند، تولید می شوند. غده های تازه

[1] Stolon

از ضخیم شدن انتهای استولون ها حاصل می شوند (۵). غده های سیب زمینی بسته به ارقام، دارای شکل های گرد تا بیضوی و رنگ و قطر و چشم های متفاوت است. برگ های سیب زمینی در ابتدا ساده ولی در مراحل رشد بعدی به صورت مرکب بوده که از یک برگچه انتهایی و چند برگچه جانبی تشکیل شده اند. برگ ها از نظر تعداد، اندازه، عرض برگچه ها و طول دم برگچه ها می توانند متفاوت باشند. شکل برگچه انتهایی می تواند باریک تا پهن باشد (۲). گل آذین سیب زمینی گرزن دوسویه است که در راس ساقه ها تشکیل می شود گل ها توسط پایه گل به شاخه گل متصل می شوند و هر پایه گل دارای یک مفصل بوده که امکان ریزش گل یا میوه از این محل وجود دارد (۴۸). گل های سیب زمینی به رنگ های مختلف از سفید تا ارغوانی و بنفش تیره دیده می شوند. هر گل به طور طبیعی دارای پنج پرچم، مادگی دو برچه ای، پنج کاسبرگ و پنج گلبرگ است (۱۳). تعداد گل در گیاه متفاوت است. در بعضی از واریته ها گل ها قبل از عمل لقاح می ریزند، در صورتی که در برخی دیگر عمل لقاح صورت گرفته و منجر به تولید میوه و بذر می گردد. میوه ها در همه نقاط ظاهر نمی شوند و گل ها فقط در آب و هوای ملایم و ییلاقی منتهی به میوه می شوند. رنگ میوه اغلب سبز است ولی در بعضی اوقات نیز یه رنگ سیاه یا بنفش در می آید بذر حقیقی سیب زمینی بندرت برای ازدیاد به کار رفته، زیرا بوته ای که حاصل می شود شبیه پایه مادری نخواهد بود. از بذر حقیقی بیشتر برای انجام کارهای تحقیقاتی و ایجاد واریته های جدید استفاده می شود (۶).

۳-۲-۱- الگوی رشد سیب زمینی :

زمانی که گیاه سیب زمینی رشد می کند، برگ های مرکب آن نشاسته تولید می کنند که به انتهای ساقه های زیر زمینی آن (یا استولون ها) منتقل می شود. ساقه ها برای تشکیل غده نزدیک سطح خاک ضخیم می شوند. در آخر فصل رشد، برگ های گیاه و ساقه ها از بین می روند و غده های جدید از استولون هایشان جدا می شوند. غده ها به عنوان یک ذخیره غذایی به کار می روند. هر غده بین۱۰- ۲ جوانه (چشم) دارد که به صورت الگوی مارپیچی در اطراف سطح غده قرار گرفته اند. و زمانی که شرایط آب و هوایی دوباره مساعد شود، جوانه ها ساقه ها را بوجود خواهند آورد و به صورت گیاهان جدید رشد می کنند (۴۸).



شکل۲: نحوه رشد گیاه سیب زمینی و تشکیل غده (FAO, 2008)

۴-۲-۱- خاستگاه و تاریخچه :

طبق شواهد باستان شناسی سیب زمینی در هشت هزار سال قبل به وسیله بومیان آمریکای لاتین کشف شده است. اصل و منشاء سیب زمینی در آمریکای جنوبی و مرکزی است و نوع خودروی آن در ارتفاعات آند بولیوی، پرو و شیلی یافت می شود. در بین انواع خودرو انواع مختلفی یافت می شوند که در مقابل آفات و امراض و یخبندان مقاوم اند. سیب زمینی برای اولین بار توسط اسپانیاییها در سال ۱۵۷۰ میلادی از آمریکای جنوبی به اروپا آورده شد و از طریق اسپانیا و ایرلند به سایر نقاط راه یافت. سیب زمینی برای اولین بار در زمان فتحعلی شاه قاجار (در حدود ۱۵۰ سال پیش) توسط سفیر ایران از آمریکا به ایران آورده شد (۵).

۵-۲- ۱-شرایط آب و هوایی لازم :

سیب زمینی محصول فصل خنک، روز بلند و حساس به سرما است. دمای مناسب برای رشد و نمو بین ۱۶ تا ۲۱ درجه سانتی گراد و در زمان تولید غده ۱۲ درجه سانتی گراد است. به طور کلی سیب زمینی در اوایل رشد به روزهای آفتابی و طولانی نیاز دارد و این موقعی است که گیاه فقط رشد رویشی دارد و در اواخر دوره رشد به روز های کوتاه و شب های خنک احتیاج پیدا می کند که زمان غده دهی است (۱۳). نیاز سیب زمینی به آب زیاد است و حداکثر این نیاز بویژه در مواقع تشکیل غده ها که همزمان با گل دادن گیاه توام است، به چشم می خورد. به طور کلی سیب زمینی طالب آب و هوای خشک است . بنابراین در مناطقی که تابستان های خیلی گرم دارند باید زمانی به کشت آن اقدام نمود که موقع تشکیل غده های جوان هوا خشک و مناسب باشد. در مناطق شمال

کشور معمولا سیب زمینی را در اوایل اسفند ماه در روزهای آفتابی و موقعی که زمین نسبتا خشک است می کارند (۶).

۶-۲-۱-کاشت و برداشت سیب زمینی :

سیب زمینی را به روش غیر جنسی توسط غده های آن زیاد می کنند. برای کاشت غده ها لازم است ابتدا غده ها را به جوانه زدن وادار کرد، چون سیب زمینی رسیده بلافاصله پس از برداشت، دارای یک دوره استراحت است و به همین علت حتی اگر آن را در بهترین شرایط نیز قرار دهیم، جوانه نمی زند. موادی در پوست سیب زمینی وجود دارد که مانع جوانه زدن غده می شود و تدریجا به طور طبیعی بعد از ۲ تا ۳ ماه از بین می رود. با پایان یافتن دوره استراحت، غده ها آماده جوانه زدن می شوند. عمق کاشت حدود ۶cm است که این عمق در خاک های رسی کمتر و در خاک های شنی کمی بیشتر خواهد بود (۵). خاک دادن پای بوته ها برای تشکیل غده ها لازم است. خاک دهی بایستی زمانی انجام شود که بوته ها به بلندی ۱۵ تا ۲۲ سانتیمتر رسیده باشند. معمولا سیب زمینی را زمانی برداشت می کنند که برگ های گیاه شروع به زرد شدن کنند. علائم دیگر رسیدن محصول، سخت شدن پوست غده ها و جدا شدن آسان سیب زمینی از استولون ها است (۱۳).

۷-۲-۱- اهمیت اقتصادی و ارزش غذایی سیب زمینی :

سیب زمینی چهارمین گیاه زراعی از نظر مقدار تولید بعد از گندم، ذرت و برنج است. اهمیت سیب زمینی بخاطر ارزش غذایی خاص، سازگاری خوب با شرایط آب و هوایی و شرایط انباری و حمل ونقل آسان آن است. از این نظر در اقصی نقاط جهان به کشت آن اقدام می شود (۵).

سیب زمینی یکی از مهم ترین گیاهان غذایی جهان است. این محصول از اقتصادی ترین مواد غذایی است زیرا منبعی از انرژی ارزان برای رژیم غذایی انسانی فراهم می آورد. مواد تشکیل دهنده سیب زمینی بسته به نوع رقم، نوع زمین، روش کاشت، مقدار کود، میزان رسیدگی غده و شرایط انباری متفاوت است (۵). حدودا ۸۰٪ سیب زمینی را آب و ۲۰٪ آن را ماده خشک تشکیل می دهد. سیب زمینی غنی از کربوهیدرات است. و حدود ۸۰- ۶۰ ٪ ماده خشک را نشاسته تشکیل می دهد. محتوی پروتئینی موجود در سیب زمینی شبیه به محتوی پروتئینی غلات