



جهان علم به سوی خدا باز می گردد.

۱۳۸۹/۸/۲

۱۴۲۵.۴ - ۰۰۲۳۲۶



دانشکده کشاورزی
گروه علوم باغبانی

پایان نامه

برای دریافت درجه کارشناسی ارشد در رشته مهندسی کشاورزی - علوم باغبانی (گرایش سبزیکاری)

عنوان

بهینه سازی مرحله پرآوری شاخصاره و ریزغده زایی درون شیشه ای در سیب زمینی رقم آگریا

Title

Optimization of *In Vitro* Shoot Proliferation and Microtuberization Stages in
Potato cv. Agria

استاد راهنما

دکتر علیرضا مطلبی آذر

استاد مشاور

دکتر جابر پناهنده

پژوهشگر

سمانه کاظمیانی نجف آبادی

۱۳۸۹ / ۸ / ۲
اعضو هدایت مذکور حمله
شبته مذک

شماره پایان نامه: ۱۰

شهریور ۱۳۸۹

بسمه تعالیٰ



شماره
تاریخ
پیوست

مدیریت تحصیلات تکمیلی دانشگاه تبریز

فرم شماره ۱ دفاع از پایان نامه کارشناسی ارشد - دانشکده کشاورزی

این فرم از نظر استخدامی فاقد اعتبار است و فارغ التحصیل لازم است جهت تسویه حساب و دریافت گواهی پایان دوره اقدام نماید

جلسه دفاعیه پایان نامه تحصیلی خانم / آقای سمانه کاظمیانی نجف آبادی دانشجوی کارشناسی ارشد رشته مهندسی کشاورزی - علوم باگبانی گرایش سبزیکاری

دوره روزانه شبانه ورودی مهر بهمن سال ۱۳۸۷ شماره دانشجویی ۸۷۱۹۵۲۲۱۰۸

تحت عنوان : بهینه سازی مرحله پرآوری شاخصاره و ریزغده زایی درون شیشه ای در سیب زمینی رقم آگریا
به ارزش ۶ واحد در ساعت ۱۲ = ۰ روز سه شنبه مورخ ۱۳۸۹/۰۶/۳۰ توسط اعضای هیأت داوران مرکب از :

- استاد راهنمای اول : دکتر علیرضا مطلبی آذر

- استاد راهنمای دوم :

- استاد مشاور : دکتر جابر پناهنده

- استاد مشاور :

- عضو هیأت داوران : دکتر سعدالله علیزاده

- عضو هیأت داوران :

امضا



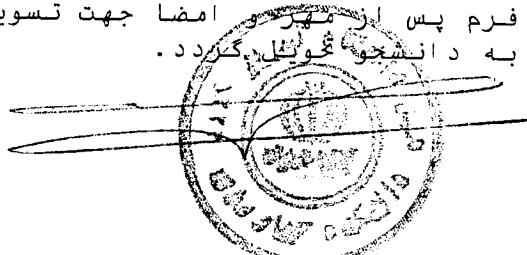
وزارت علوم تحقیقات و فناوری
پژوهشگاه علوم و فناوری اطلاعات ایران
Iranian Research Institute
for Information Science
and Technology
(IRANDOC)

فرم دریافت پایان نامه / رساله
دانشجویان برای ارسال به
پژوهشگاه علوم و فناوری اطلاعات
ایران

یک نسخه از پایان نامه / رساله به شاره رهگیری ۲۰۲۲۳۲۶ در تاریخ ۱۳۸۹-۷-۴ در دانشگاه تبریز دانشکده کشاورزی از خانم / آقای سانه کاظمیانی بحث آبادی به شاره دانشجویی ۸۷۱۹۵۲۲۱۰۸ شامل Word PDF مقطع کارشناسی ارشد با عنوان بهینه سازی مرحله پرآوری شاخصاره و ریزگرده زایی درون شیشه ای در سیب زمینی رقم آگریا که در تاریخ ۱۳۸۹-۱۰-۰۶ از آن دفاع شده است برای ارائه به پژوهشگاه علوم و فناوری اطلاعات ایران بر اساس نامه شماره ۱۲۲۳۸/۴۳۸۹ تاریخ ۱۳۸۹/۸/۲۰ وزیر ختم علوم، تحقیقات و فناوری تحویل داده شد. که پس از بررسی با تایید صحت اقلام تحویلی به پژوهشگاه علوم و فناوری اطلاعات ایران ارسال می گردد.

امضا و مهر تخصصات تكميلي / آموزش

لطفاً فرم پس از مهر امضا جهت تسويه حساب به دانشجو ثوبلی کردد.



تعالیٰ

۱۰

محمدحسن زلیله
۱۳۹۱/۷/۱۴

تهدیم به خداوندگارم

هم او که برایم

پدر و مادری عزیز آفرید

بی شک آنچه که امر و زبانم کو هر داشت بدان می باشم

هر دلایل عشق، تشویق و دعاهاي اين فرشتگان الهي است.

و سپس سوکنبد قلم

پاس خدا را که نور شناختش را به قلب ایمانید و شکر ش را برابر وجود مان الهمام فرمود. در آزادی پیمان داشت بر پروردگاریش را، بر ما کشود و مارا بادوی پر فیض توحید خالصانه اش را بسری نمود و از حلاک در وطن انگار، شک و بجهایت بازمان داشت.

بایانی لرزان و بی اعتماد کام بروادر شتم و باشکل از سخنی که موئانگ ندشت. در راه سخنی و لکنی بود و دلکارها هیش خالی میربان را بسمای راهان بود، اینکه که در اتهای این راه و در آغاز راهی دیگر ایستاده ام و نظیف شکر دی خود می دانم تا مرتب پاس و قدرانی را با خلوص و سیاست هرج چشم تربه محضر استادگر ایمانی ام. جناب دکتر علیرضا مطلبی آذکر اتفاقات شکر دی ایشان را در طی این دو سال داشتم، تقدیم دارم که در محام استاد راهنمایی این پیمان نامه با وجود مشکل فراوان بایزد کواری و سعد صدر مرزا از راهنمایی هاد مجتہت های خویش بی پیچ مصادیق ای برهه مند نمودند. از جناب دکتر جبار پناهندۀ نهنجاخاطر استاد مشاوری این پیمان نامه، بلکه بخط تمام شکر ۱۰ کمال شکر را دارم. از جناب دکتر محمد رضا داودپور استادی که ادب و تواضع را در کنار علم از ایشان آموختم کمال قدرانی را دارم. از حیات هاد راهنمایی های دکتر فیبرز زارع و دکتر ناصر صفت پاکنارم. از ایام محترم گردید دکتر طباطبائی، بلند نظر، نقشی بنده مطلوبی و حاجی بخط تمام آنچه که به من آموختند پاکنارم.

و در ابتداء اتهای حرکلامی، بوس می زنم بر دستان خداوندگاران مردمه را بانی پدر و مادر عزیزم و بعد از خداستایش می کنم و بعد مقدشان را به پاس عاظه سرشار و گرامی امید خوش وجودشان کرد این سردمیرین روزگاران بسیرین پیشان من بودند. آنکه زیباترین تعبیر انسانی از کله ایثار و از خود گذشته اند فریدس روزهای ترس و سرگردانی ام و همواره بسیرین برايم، هستند و محبتان را بیانی نیست. از خواهرم سودابه بخط ایرانی در راه سخت زندگی و تشویق یايش در کسب علم و برادرانم علی رضا و محمدی بخط ایرانی حیات ایشان قدرانی می کنم. از همراهی و شگفت های دوستان خوبم به ویژه آقایان دکتر نادر فرساد، امیر کهنمی و خانم هایم فرمودی، سیه سخنی، شهلا عبدالی، مریم زنیان، و هر آنکه که را از علم را به من آموختند پاکنارم.

سازمان کاظمیان بخت آبادی

نام خانوادگی: کاظمیانی نجف آبادی

نام: سمانه

عنوان پایان نامه: بهینه سازی مرحله پرآوری شاخصاره و ریزغده زایی درون شیشه ای در سبب زمینی رقم آگریا

استاد راهنما: دکتر علیرضا مطلبی آذر

استاد مشاور: دکتر جابر پناهنده

گرایش: سبزیکاری

رشته: مهندسی کشاورزی - علوم باگبانی

مقطع تحصیلی: کارشناسی ارشد

دانشکده: کشاورزی

دانشگاه: تبریز

تعداد صفحات: ۹۹

تاریخ فارغ التحصیلی: شهریور ۱۳۸۹

کلید واژه: پرآوری شاخصاره، پیریدوکسین، تیامین، ریزغده، ساکارز، سبب زمینی، مانیتول، ویتامین، BAP.

چکیده

از دیاد سبب زمینی توسط اندام های غیرجنسی صورت گرفته و امکان انتقال بیماری های سیستمیک (بیماری های باکتریایی و ویروسی) وجود داشته و این بیماری ها باعث افت شدید عملکرد می گردند، لذا دسترسی به گیاهان سالم از طریق کشت مریstem و بدنبال آن تولید ریزغده ضروری است. ریزغده زایی از ریزنمونه های تک گره با شاخصاره های درون شیشه ای انجام می شود. بنابراین برای حداکثر تولید ریزغده لازم است که مرحله پرآوری شاخصاره با کارایی بیشتر انجام شود. اثر غلظت های مختلف تیامین (۰/۱ و ۱۰ میلی گرم بر لیتر)، پیریدوکسین و اسید نیکوتینیک (هر کدام ۰/۵ و ۵۰ میلی گرم بر لیتر)، در ترکیب با BAP (۰/۱۰، ۲ و ۴ میلی گرم بر لیتر) بر پرآوری شاخصاره در آزمایشگاه کشت بافت و ریزاندیادی گروه علوم باگبانی دانشگاه تبریز بررسی شد. گره های حاصل از شاخصاره های درون شیشه ای روی محیط کشت MS به منظور پرآوری شاخصاره کشت شدند و در اتاق رشد با فتوپریود ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و دمای 25 ± 2 درجه سانتیگراد نگهداری شدند. این تحقیق به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تکرار انجام شد. پس از یک ماه تعداد شاخصاره جانبی، طول شاخصاره، تعداد گره و ریشه و درصد کالوس تحتانی اندازه گیری شد. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تعداد شاخصاره جانبی، طول شاخصاره، تعداد گره و ریشه و درصد کالوس تحتانی تحت تاثیر تیمارهای اعمال شده قرار گرفت. محیط کشت دارای ۵۰ میلی گرم بر لیتر اسید نیکوتینیک، ۵۰ میلی گرم بر لیتر پیریدوکسین، ۱۰ میلی گرم بر لیتر تیامین و ۴ میلی گرم بر لیتر BAP، از بالاترین تعداد شاخه جانبی برخوردار بود. غلظت سه ویتامین در طول شاخصاره اصلی اثر معنی داری نداشت. حداکثر طول شاخه جانبی در ۰/۵ میلی گرم بر لیتر پیریدوکسین در هر دو غلظت تیامین و در غلظت ۵۰ میلی گرم بر لیتر پیریدوکسین فقط در ۱۰ میلی گرم بر لیتر تیامین مشاهده شد. در غلظت های بالای BAP، غلظت تیامین در تعداد گره شاخصاره اصلی نقش تعیین کننده داشت. بیشترین تعداد گره شاخه جانبی در ۰/۵ میلی گرم بر لیتر نیکوتینیک مشاهده شد. بالاترین درصد تشکیل ریشه و پایین ترین درصد کالوس تحتانی در محیط کشت فاقد BAP و دارای ویتامین های MS بدست آمد به منظور بررسی اثر منبع کربن بر ریزغده زایی از ۵ غلظت ساکارز (۸۰، ۱۰۰، ۱۲۰، ۱۴۰ و ۱۶۰ گرم بر لیتر) و ۸۰ گرم بر لیتر ساکارز با ۵ غلظت مانیتول (۰/۰، ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ گرم بر لیتر) بر آغازش، تشکیل و رشد ریزغده استفاده شد. گره های حاصل از شاخصاره های درون شیشه ای روی محیط کشت MS به منظور ریزغده زایی کشت شدند و در تاریکی مداوم و دمای

ادامه چکیده

۲۰±۲ درجه سانتيگراد در اتاق رشد نگهداری شدند. نتایج تجزيه واريانس نشان داد که آغازش و تشکيل ريزغده، طول، قطر، وزن و سرعت آغازش تحت تاثير تيمارهای اعمال شده قرار گرفت. ساکارز در فرآيند ريزغده زايى برتر از مانيتول بود. مانيتول بكار برده شده در محيط كشت، منجر به کاهش ريزغده زايى شد. افزایش ساکارز، تعداد ريزغده را بدون کاهش وزن به طور موثر افزایش داد. بنابراین استفاده از سطوح بالاي ساکارز در تشکيل ريزغده در شرایط درون شيشه اي مفيد واقع شد.

۱	مقدمه
۴	فصل اول : بررسی منابع
۵	۱-۱- اهمیت اقتصادی سیب زمینی
۶	۲- خصوصیات گیاهشناسی و زراعی سیب زمینی
۹	۳- کشت بافت سیب زمینی
۱۰	۱-۱-۳-۱- کشت کالوس
۱۰	۲-۳-۱- کشت سوسپانسیون
۱۱	۳-۳-۱- بازایی و شاخه زایی
۱۲	۴-۳-۱- جنین زایی سوماتیکی
۱۲	۵-۳-۱- کشت بساک و میکروسپور
۱۳	۶-۳-۱- کشت پروتوبلاست
۱۳	۴-۴- ریزازدیادی
۱۴	۱-۴-۱- تنظیم کننده های رشد
۱۵	۲-۴-۱- ویتامین ها
۲۲	۵-۱- ریزغده
۲۳	۱-۵-۱- فرآیند ریزغده زایی
۲۴	۶- عوامل موثر در ریزغده زایی درون شیشه ای
۲۵	۱-۶- ۱- ژنتیپ
۲۵	۲-۶-۱- فوتوفریود
۲۶	۳-۶-۱- دما
۲۶	۴-۶-۱- منبع کربن
۳۳	۵-۶-۱- تنظیم کننده های رشد
۳۷	۷-۱- اهداف تحقیق
۳۸	فصل دوم : مواد و روش ها
۳۹	۱-۱- تهیه مواد گیاهی
۳۹	۲-۲- تهیه محیط های کشت
۴۱	۳-۲- استریل کردن
۴۱	۱-۳-۲- استریل کردن ظروف شیشه ای و محیط کشت
۴۱	۴-۲- کشت گیاه

۴۱	-۱-۴-۲- تهیه محیط کشت جهت پرآوری شاخصاره
۴۲	-۲-۴-۲- آزمایش اول: پرآوری شاخصاره
۴۳	-۵-۲- روش آزمایش اول
۴۳	-۶-۲- خودهی گیاهچه های درون شیشه ای به شرایط گلخانه
۴۳	-۷-۲- انتقال گیاهچه ها
۴۴	-۸-۲- ریزغده زایی
۴۴	-۱-۸-۲- تهیه محیط کشت ریزغده زایی
۴۴	-۲-۸-۲- آزمایش دوم: ریزغده زایی
۴۵	-۹-۲- روش آزمایش دوم
۴۶	-۱۰-۲- استفاده از ریزغده به عنوان واحد تکثیر
۴۷	-۱۱-۲- تجزیه آماری داده ها
۴۸	فصل سوم: نتایج و بحث
۴۹	-۱-۳- آزمایش اول: پرآوری شاخه
۴۹	-۱-۱-۳- درصد و تعداد شاخه جانبی
۵۳	-۲-۱-۳- طول شاخه اصلی
۵۵	-۳-۱-۱- طول شاخه جانبی
۵۷	-۴-۱-۳- تعداد گره شاخه اصلی
۵۹	-۵-۱-۳- تعداد گره شاخه جانبی
۶۰	-۶-۱-۳- تعداد ریشه
۶۲	-۷-۱-۳- طول ریشه
۶۳	-۸-۱-۳- درصد کالوس تحتانی
۶۵	-۹-۱-۳- نتیجه گیری کلی آزمایش اول: پرآوری شاخه
۶۶	-۱۰-۱-۳- انتقال گیاهان درون شیشه ای به شرایط گلخانه
۶۸	-۲-۲-۳- آزمایش دوم: ریزغده زایی
۶۸	-۱-۲-۳- آغازش و تولید ریزغده
۷۱	-۲-۲-۳- آغازش ریزغده
۷۳	-۳-۲-۳- تشکیل ریزغده
۷۵	-۴-۲-۳- سرعت آغازش ریزغده
۷۸	-۵-۲-۳- طول و قطر ریزغده

۷۹	۶-۲-۳- وزن ریزغده
۸۰	۷-۲-۳- تعداد جوانه روی ریزغده
۸۱	۸-۲-۳- طول جوانه رشد یافته روی ریزغده
۸۲	۹-۲-۳- تعداد شاخه رشد یافته از محل گره
۸۴	۱۰-۲-۳- طول شاخه رشد یافته از محل گره
۸۵	۱۱-۲-۳- تعداد ریشه
۸۶	۱۲-۲-۳- طول ریشه
۸۷	۱۳-۲-۳- نتیجه گیری کلی آزمایش دوم: ریزغده زایی
۸۸	۳-۳- پیشنهادات
۹۰	منابع مورد استفاده

۶	شکل ۱-۱- ترکیبات تشکیل دهنده غده سیب زمینی
۷	شکل ۱-۲- ساختار گیاه سیب زمینی
۱۹	شکل ۱-۳- ساختار مولکولی تیامین
۲۲	شکل ۱-۴- ساختار مولکولی اسید نیکوتینیک
۲۲	شکل ۱-۵- ساختار مولکولی پیریدوکسین
۵۲	شکل ۳-۱- متوسط تعداد شاخه جانبی در غلظت های مختلف ویتامین ها
۵۲	شکل ۳-۲- متوسط تعداد شاخه جانبی در غلظت های مختلف BAP
۵۴	شکل ۳-۳- شاخصاره های درون شیشه ای با قطر ساقه مطلوب
۵۵	شکل ۳-۴- متوسط طول شاخه اصلی در غلظت های مختلف BAP
۵۶	شکل ۳-۵- تولید شاخه های جانبی مطلوب
۵۶	شکل ۳-۶- متوسط طول شاخه جانبی در غلظت های مختلف تیامین و پیریدوکسین
۵۸	شکل ۳-۷- برگ های تشکیل شده در شرایط درون شیشه ای با سطح برگ مطلوب و رنگ سبز
۵۸	شکل ۳-۸- متوسط تعداد گره شاخه اصلی در غلظت های BAP و تیامین و پیریدوکسین
۵۹	شکل ۳-۹- متوسط تعداد گره شاخه جانبی در غلظت های مختلف اسید نیکوتینیک
۶۱	شکل ۳-۱۰- ریشه های درون شیشه ای
۶۲	شکل ۳-۱۱- متوسط تعداد ریشه در غلظت های مختلف پیریدوکسین، تیامین و نیکوتینیک
۶۲	شکل ۳-۱۲- متوسط تعداد ریشه در غلظت های مختلف BAP، پیریدوکسین و نیکوتینیک
۶۳	شکل ۳-۱۳- متوسط طول ریشه در غلظت های مختلف تیامین و BAP
۶۵	شکل ۳-۱۴- کالوس تحتانی تشکیل شده در انتهای گیاهچه
۶۵	شکل ۳-۱۵- درصد تشکیل کالوس تحتانی در غلظت های مختلف BAP، پیریدوکسین و تیامین
۶۷	شکل ۳-۱۶- تولید گیاهان مطلوب از گیاهچه های درون شیشه ای
۶۹	شکل ۳-۱۷- آغازش ریزغده ۵ الی ۶ روز پس از آغاز کشت
۶۹	شکل ۳-۱۸- اندازه و شکل ریزغده
۶۹	شکل ۳-۱۹- آغازش ریزغده، عدم تشکیل ریزغده و رشد شاخه از محل گره
۶۹	شکل ۳-۲۰- رنگ ریزغده
۶۹	شکل ۳-۲۱- تشکیل ریشه در ریزنمونه
۷۱	شکل ۳-۲۲- کشت ریزغده ها در گلدان و انتقال به شرایط میست
۷۲	شکل ۳-۲۳- کشت ریزغده ها در محیط کشت MS فاقد هورمون
۷۲	شکل ۳-۲۴- تاثیر غلظت های مختلف ساکارز و مانیتول بر درصد آغازش ریزغده

۲۵-۳-الف- آغازش ریزغده یک ماه پس از کشت در محل گره	۷۴
۲۵-۳-ب- تشکیل ریزغده، یک ماه پس از کشت در محل گره	۷۵
شکل ۲۶-۳- تاثیر غلظت های مختلف ساکارز و مانیتول بر درصد تشکیل ریزغده	۷۴
شکل ۲۷-۳- ریزغده تشکیل شده پس از یک ماه که ۵ الی ۶ روز پس از کشت آغازش شده	۷۷
شکل ۲۸-۳- ریزغده تشکیل شده پس از یک ماه که ۱۴ الی ۲۰ روز پس از کشت آغازش شده	۷۷
شکل ۲۹-۳- تفاوت شروع ریزغده زایی از یک ریزنمونه به ریزنمونه دیگر در هر پتری دیش	۷۷
شکل ۳۰-۳- تاثیر غلظت های مختلف ساکارز و مانیتول بر سرعت آغازش ریزغده	۷۷
شکل ۳۱-۳- طول و قطر ریزغده	۷۸
شکل ۳۲-۳- تاثیر غلظت های مختلف ساکارز و مانیتول بر طول و قطر ریزغده	۷۹
شکل ۳۳-۳- تاثیر غلظت های مختلف ساکارز و مانیتول بر وزن تر ریزغده	۸۰
شکل ۳۴-۳- تاثیر غلظت های مختلف ساکارز و مانیتول بر تعداد جوانه ریزغده	۸۱
شکل ۳۵-۳- عدم رشد جوانه موجود روی ریزغده و جوانه رشد یافته	۸۲
شکل ۳۶-۳- تاثیر غلظت های مختلف ساکارز و مانیتول بر طول جوانه روی ریزغده	۸۲
شکل ۳۷-۳- رشد شاخصاره از محل گره در عدم شرایط مناسب برای آغازش ریزغده	۸۳
شکل ۳۸-۳- تاثیر غلظت های مختلف ساکارز و مانیتول بر تعداد شاخه	۸۴
شکل ۳۹-۳- تاثیر غلظت های مختلف ساکارز و مانیتول بر طول شاخه	۸۵
شکل ۴۰-۳- ریشه های تشکیل شده روی ریزنمونه های گره در محیط کشت ریزغده زایی	۸۶
شکل ۴۱-۳- تاثیر غلظت های مختلف ساکارز و مانیتول بر تعداد ریشه	۸۶
شکل ۴۲-۳- تاثیر غلظت های مختلف ساکارز و مانیتول بر طول ریشه	۸۷

۱۸	جدول ۱-۱- غلظت ویتامین ها در محیط های کشت پایه معروف
۴۰	جدول ۱-۲- مواد لازم و مقادیر آن ها برای تهییه یک لیتر محیط کشت MS
۴۲	جدول ۲-۱- ترکیبات ویتامین مورد استفاده جهت پرآوری شاخصاره در آزمایش اول
۴۵	جدول ۲-۲- مقادیر ساکارز و مانیتول به کار رفته در آزمایش دوم جهت ریزگله زایی
۵۳	جدول ۳-۱- تجزیه واریانس صفات اندازه گیری شده
۷۲	جدول ۳-۲- تجزیه واریانس صفات اندازه گیری شده

BAP: بنزيل أمينو پورين

BA: بنزيل آدنين

CCC: سايكوكسل

GA₃: اسيد جيرليلك

IAA: ايندول استيک اسيد

kin: كيتين

N: اسيد نيكوتينيك

NAA: نفتالين استيک اسيد

P: پيريدوكسين هيدروكلرايد

TH: تيامين هيدروكلرايد

مقدمة

سیب زمینی یکی از با ارزش ترین سبزی ها در جهان می باشد. این گیاه در ۱۴۰ کشور جهان و در سطحی معادل ۲۰ میلیون هکتار کشت می شود. بیشترین سطح زیر کشت سیب زمینی در دنیا در قاره آسیا و اروپا قرار دارد که کشور چین بالاترین سطح زیر کشت سیب زمینی را به خود اختصاص می دهد و در حدود ۲۵ درصد سیب زمینی جهان در چین تولید می شود (Mikeny, 2006).

تولید سیب زمینی در ایران از اهمیت خاصی برخوردار است. ایران در دنیا از لحاظ تولید سیب زمینی در رتبه دوازدهم جهان قرار دارد و در آسیا پس از چین و هند در مقام سوم می باشد (FAO, 2008). سیب زمینی از نظر تامین بذر، کود شیمیایی، عملیات زراعی، کنترل آفات و نیروی کارگر در مناطق مختلف، یک محصول پر خرج است. بنابراین میانگین هزینه ها در این محصول بالا می باشد (Hooker, 1990; Seabrook, 2005). از طرف دیگر ارقام سیب زمینی به طور جدی با ویروس های متنوع و ویروئیدها مواجه هستند. ویروس برگ لوله ای سیب زمینی، ویروس Y سیب زمینی بالای ۹۵ درصد منجر به کاهش عملکرد و ویروس X سیب زمینی منجر به کاهش ۷۵-۵۰ درصدی عملکرد غده می شود (Fatima et al., 2005). از آنجایی که از دیاد سیب زمینی توسط اندام های غیرجنسی (غده ها و ریزغده ها) و از دیاد توسط بذر حقیقی برای برنامه های اصلاحی صورت می گیرد، لذا دسترسی به گیاهان و غده های عاری از بیماری حائز اهمیت است. بنابراین علاوه بر روش های کلاسیک و سنتی، استفاده از تکنیک های نوین مهندسی ژنتیک و کشت بافت، نویدی جهت رسیدن سریع به اهداف اصلاحی در سیب زمینی می باشد. ذخیره، نگهداری ژرم پلاسم، تولید گیاهان سالم و عاری از ویروس، صرفه جویی در وقت و هزینه و تولید گیاهان هاپلولوئید از جمله موارد استفاده از کشت بافت می باشد (Bajaj, 1987). با توجه به حساسیت سیب زمینی به ویروس ها،

تولید گیاهان عاری از ویروس از طریق کشت درون شیشه‌ای و تکثیر آن‌ها، منجر به کاهش هزینه‌ها و افزایش عملکرد می‌گردد (Fatima *et al.*, 2005). کشت مریستم برای تولید گیاهان عاری از ویروس نخستین بار ۶۰ سال قبل توسط مورل و مارتین صورت گرفت (نقل از Fatima *et al.*, 2005; Espinoza *et al.*, 1984). از دیاد درون شیشه‌ای سیب زمینی (تولید گیاهان عاری از ویروس، ریزغده) (Al-Safadi *et al.*, 2000) روشی قابل اطمینان برای تولید بذر عاری از هر گونه آводگی است (Hussain *et al.*, 2006; Tabori *et al.*, 1999).

تولید ریزغده در شرایط درون شیشه‌ای اولین بار به عنوان ابزار تجربی برای حل مشکلات پاتولوژی در سیب زمینی (Coleman *et al.*, 2001)، توسط کشت گره‌های منفرد با جوانه‌های جانبی برای تولید غده بذری عاری از ویروس در سیب زمینی صورت گرفت (Gopal *et al.*, 1988; 2004). از آنجایی که گیاهچه‌های درون شیشه‌ای سیب زمینی با سرعت بالایی در طی حمل و نقل، بازکشت و خودهی (سازگارسازی) از بین می‌روند، بنابراین نیاز به تامین متناوب منبعی که منجر به کاهش خسارت در طول خودهی و کشت شود ضروری به نظر می‌آید. لذا تولید ریزغده به عنوان منبعی برای تولید بذر پایه‌ای از طریق کشت بافت سودمند می‌باشد (Hussain *et al.*, 2006; Tabori *et al.*, 1999).

با توجه به بررسی منابع، سابقه مطالعات روی تولید گیاهان عاری از ویروس به تحقیق مورل و مارتین به سال ۱۹۵۲ بر می‌گردد و با توجه به اهمیت تولید و تکثیر گیاهان عاری از ویروس در سیب زمینی، از آن زمان تا کنون تعدادی از عوامل دخیل در تکثیر سیب زمینی (تولید گیاهچه‌ها و ریزغده‌های درون شیشه‌ای عاری از ویروس) مورد مطالعه قرار گرفته است. در اکثر گزارشات،

تولید گیاهچه های مطلوب درون شیشه ای، موفقیت پایین داشته، زیرا در طی حمل و نقل، بازکشت و خودهای از بین می روند و از طرف دیگر تولید ریزغده با بکارگیری تنظیم کننده های رشد و مواد خاصی مثل CCC صورت گرفته، با این حال تعداد، اندازه و سرعت آغازش ریزغده مناسب نبوده است. لذا در این تحقیق برای بهینه سازی محیط کشت پرآوری، قلمه های تک گره گیاهان درون شیشه ای روی محیط کشت پایه MS با تغییر غلظت سه ویتامین محیط کشت MS و بکارگیری BAP کشت شدند، تا در نهایت بهترین ترکیب BAP و ویتامین برای پرآوری شاخصاره بدست آید. سپس ریزنمونه ها در محیط کشت ریزغده زایی شامل غلظت های مختلف ساکارز و نیز مانیتول قرار گرفتند، تا در نهایت بهترین محیط کشت برای آغازش و تشکیل ریزغده به دست آید.

فصل اول

بررسی منابع