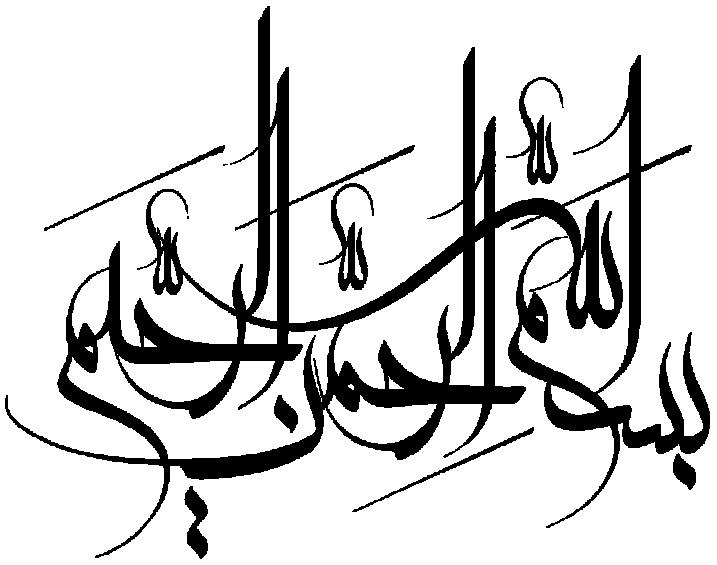
بسم الله الرحمن الرحيم

دانشگاه ولی‌عصر(عج) رفسنجان
دانشکده‌ی کشاورزی
گروه علوم باغبانی

پایان‌نامه‌ی کارشناسی‌ارشد
رشته‌ی مهندسی کشاورزی- علوم باغبانی
گرایش فیزیولوژی و اصلاح سبزی‌ها

اثر 6- بنزیل آمینو پورین و سایکوسل بر تولید میکروتیوبر در دو رقم سیب‌زمینی در شرایط درون شیشه‌ای

استاد راهنما
دکتر حمید رضا روستا

استاد مشاور
دکتر محمود رقامی

نگارنده
سمیرا وزیری نسب

اسفند ماه 92

دانشگاه ولی‌عصر(عج) رفسنجان

دانشکده‌ی کشاورزی

گروه علوم باغبانی

پایان‌نامه‌ی کارشناسی‌ارشد

رشته‌ی مهندسی کشاورزی - علوم باغبانی، گرایش فیزیولوژی و اصلاح سبزی‌ها

سمیرا وزیری نسب

اثر ۶-بنزیل آمینو پورین و سایکوسل بر تولید میکروتیوبر در دو رقم سیب‌زمینی در شرایط درون شیشه‌ای

در تاریخ ۹۲/۱۲/۲۰ توسط هیأت داوران زیر بررسی و با درجه‌ی..... به تصویب نهایی رسید.

	نام و نام خانوادگی	مرتبه علمی	امضاء
۱- استاد راهنما	دکتر حمیدرضا روستا	دانشیار	
۲- استاد مشاور	دکتر محمودرضا رقامی	استادیار	
۳- داور داخل گروه	دکتر فاطمه ناظوری	استادیار	
۴- داور داخل گروه	دکتر محمدرضا پیرمرادی	استادیار	
۵- نماینده‌ی تحصیلات تکمیلی	دکتر مهدی ملایی	استادیار	

تمامی حقوق مادی مترتب بر نتایج مطالعات، ابتکارات و نوآوری‌های

حاصل از پژوهش موضوع این پایان‌نامه، متعلق به دانشگاه

ولی‌عصر (عج) رفسنجان است.

سپاسگزاری:

سپاس خدای را که سخنوران، در ستودن او بمانند و شمارندگان، شمردن نعمت های او را ندانند و کوشندگان، حق او را گزاردن نتوانند و سلام و درود بر محمّد و خاندان پاک او، طاهران معصوم، هم آنان که وجودمان وامدار وجودشان است؛ و نفرین پیوسته بر دشمنان ایشان تا روز رستاخیز... بدون شک جایگاه و منزلت معلم، اجلّ از آن است که در مقام قدردانی از زحمات بی شائبه ی او، با زبان قاصر و دست ناتوان، چیز بنگاریم.

اما از آنجایی که تجلیل از معلم، سپاس از انسانی است که هدف و غایت آفرینش را تامین می کند و سلامت امانت هایی را که به دستش سپرده اند را تضمین می کند؛ بر حسب وظیفه و از باب "من لم یشکر المنعم من المخلوقین لم یشکر الله عزّوجلّ":

از استاد با کمالات و شایسته؛ جناب آقای دکتر حمید رضا روستا که در کمال سعه صدر، با حسن خلق و فروتنی، از هیچ کمکی در این عرصه بر من دریغ ننمودند که بدون مساعدت ایشان، این پروژه به نتیجه مطلوب نمی رسید؛ کمال تشکر و قدردانی را دارم.

از استاد صبور و با تقوا، فرزانه و دلسوز؛ جناب آقای دکتر محمود رقامی، که زحمت مشاوره این رساله را متقبل شدند، کمال تشکر و قدردانی را دارم.

از استادان جناب آقای دکتر پیرمرادی و خانم دکتر ناظوری که زحمت داوری این رساله را متقبل شدند؛ کمال تشکر و قدردانی را دارم.

از پدر و مادر عزیزم این دو معلم بزرگوارم که همواره بر کوتاهی و درشتی من، قلم عفو کشیده و کریمانه از کنار غفلت هایم گذشته اند و در تمام عرصه های زندگی یار و یاور بی چشم داشت برای من بوده اند؛ کمال تشکر و قدردانی را دارم.

باشد که این خردترین، بخشی از زحمات همه آنان را سپاس گویم.

به پاس تعبیر عظیم و انسانی شان از کلمه ایثار و از خودگذشتگی

به پاس عاطفه سرشار و گرمای امید بخش وجودشان که در این

سردترین روزگاران بهترین پشتیبان است

به پاس قلب های بزرگشان که فریادرس است و سرگردانی و ترس

در پناهشان به شجاعت می گراید

و به پاس محبت های بی دریغشان که هرگز فروکش نمی کند

این مجموعه را به پدر و مادر عزیزم تقدیم می کنم.

چکیده

میکروتیوبرها غده‌های بسیار کوچک سیب‌زمینی هستند که در شرایط آزمایشگاهی و در کشت بافت گیاهی تولید می‌شوند. محدوده وزنی آن‌ها بین 0/2 تا 0/7 گرم است که گاهی تا 1 گرم هم می‌رسند و قطر آنها بین 3 تا 10 میلی‌متر است. مهمترین اهداف تولید میکروتیوبر عبارتند از: 1- تکثیر سریع غده بذری 2- تولید غده بذری با کیفیت و عاری از عوامل بیماریزا و ویروسی 3- حمل و نقل و جابجایی آسان غده‌های بذری. شایع‌ترین روش تولید میکروتیوبرها استفاده از کشت تک گره گیاه عاری از ویروس در شرایط درون شیشه‌ای است. به منظور شناسایی موثرترین غلظت تنظیم‌کننده‌های رشد { 6-بنزیل آمینو پورین (BAP) و سایکوسل (CCC)} و بهترین رقم در شرایط کشت بافت جهت تولید میکروتیوبر، آزمایشی به صورت فاکتوریل با طرح پایه کاملا تصادفی با 4 غلظت (0، 5، 10و 15 میلی گرم بر لیتر) BAP و 4 غلظت (0، 250، 500 و 1000 میلی‌گرم بر لیتر) CCC و دو رقم سیب زمینی (سانته و آریندا) در4 تکرار انجام شد. صفات تعداد، اندازه، وزن تر و خشک، تعداد چشم و عملکرد میکروتیوبر و طول ریشه، طول شاخساره، وزن تر و خشک گیاه، تعداد استولون و عناصر غذایی گیاه مورد بررسی قرار گرفت. برداشت میکروتیوبرها حدود 60 الی 70 روز بعد از کاشت تک گره صورت گرفت. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که بهترین رقم برای تولید میکروتیوبر رقم آریندا و بهترین محیط کشت برای تعداد میکروتیوبر و تعداد چشم در هر غده در غلظت 10 میلی‌گرم بر لیتر BAP و 250 میلی‌گرم بر لیتر CCC به ترتیب با میانگین (1/81و 2/45) عدد در هر گیاه بدست آمد. بیشترین وزن تازه و عملکرد میکروتیوبر در غلظت 5 میلی‌گرم بر لیتر BAP و بدون حضور CCC بدست آمد. بهترین محیط کشت برای وزن خشک و اندازه غده در غلظت 10 میلی‌گرم بر لیتر BAP و بدون حضور CCC به ترتیب با میانگین 176/0 میلی‌گرم و 3/84 میلی‌متر بدست آمد. کمترین طول شاخساره و ریشه در غلظت 10 میلی‌گرم بر لیتر BAP و بدون حضور CCC و کمترین وزن تر گیاه در غلظت 10 میلی‌گرم بر لیتر BAP و 250 میلی‌گرم بر لیتر CCC و کمترین وزن خشک گیاه در غلظت 5 میلی‌گرم بر لیتر BAP و 250 میلی‌گرم بر لیتر CCC بدست آمد. کمترین مقدار استولون تبدیل نشده به غده در غلظت 5 میلی‌گرم بر لیتر BAP و 1000 میلی‌گرم بر لیتر CCC با میانگین 0/37 عدد بدست آمد. BAP باعث کاهش عناصر غذایی در شاخساره و ریشه گیاهچه‌ها شد کم بودن مواد غذایی در گیاه نشان از کشیده شدن این مواد به داخل غده و تجمع در آن است. به طور کلی بهترین غلظت برای BAP غلظت‌های 5 و 10 میلی‌گرم بر لیتر و برای CCC غلظت 250 میلی‌گرم بر لیتر در برهمکنش بین این دو هورمون برای تولید میکروتیوبر بود.

واژگان کلیدی: سیب‌زمینی، درون شیشه‌ای، میکروتیوبر، 6- بنزیل آمینو پورین، سایکوسل

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل اول: مقدمه 1

فصل دوم: پیشینه پژوهش..... 5

2-1- معرفی گیاه سیب‌زمینی..... 5

2-1-1- اهمیت سیب‌زمینی..... 5

2-1-2- تاریخچه سیب‌زمینی..... 6

2-2- سطح زیر کشت و تولید سیب‌زمینی در ایران و جهان..... 7

2-2-1- سطح زیر کشت..... 7

2-2-2- تولید..... 8

2-3- ترکیبات شیمیایی سیب‌زمینی..... 8

2-4- رده بندی گیاهی..... 9

2-5- ویژگی‌های گیاه شناسی..... 9

2-5-1- ریشه..... 10

2-5-2- غده..... 10

2-5-3- گل..... 11

2-5-4- میوه..... 12

2-5-5- ساقه..... 12

2-5-6- برگ..... 12

2-6- سازگاری..... 13

2-7- عوامل تعیین کننده تولید..... 14

2-7-1- دما..... 14

2-7-2- طول روز..... 14

2-7-3- شدت نور..... 15

2-7-4- تراکم کاشت..... 16

2-7-5- سن فیزیولوژیکی غده مادری..... 16

عنوان **صفحه**

2-8- تنظیم کننده‌های رشد گیاه.....16
2-8-1- سیتوکینین‌ها.....17
2-8-1-1- بیوسنتز سیتوکینین‌ها.....18
2-8-1-2- اثرهای سیتوکینین‌ها.....18
2-8-2- سایکوسل.....19
2-9- فنولوژی سیب‌زمینی.....20
2-10- ارقام سیب‌زمینی.....21
2-11- تکثیر سیب‌زمینی.....22
2-11-1- سیستم‌های کشت سیب‌زمینی.....22
2-12- کشت بافت.....23
2-12-1- تاریخچه کشت بافت.....24
2-12-2- اهمیت کشت بافت.....26
2-12-3- انواع کشت بافت گیاهی.....26
2-12-4- میکروتیوبر.....27
2-13- مروری بر پژوهش‌های انجام شده بر تولید میکروتیوبر.....29
فصل سوم: مواد و روش‌ها.....37
3-1- نوع طرح آزمایشی و محل انجام آزمایش.....37
3-2- تجهیزات آزمایشگاه کشت بافت.....37
3-3- مواد گیاهی.....38
3-4- تهیه و ساخت محیط کشت بافت گیاهی.....38
3-4-1- ساخت محیط کشت پایه MS.....38
3-4-2- ساخت محیط کشت‌های اصلی.....39
3-4-2-1- محیط کشت باززایی نمونه‌های گیاهی.....39
3-4-2-2- محیط کشت برای تولید میکروتیوبر.....39
3-5- نحوه استریل کردن محیط کشت و ظروف.....39
3-6- نحوه استریل و کاشت گیاهان در داخل شیشه.....39

عنوان **صفحه**

3-7- اتاق رشد.....40
3-8- برداشت میکروتیوبرها.....40
3-9- مشخصات رقم‌های مورد استفاده.....41
3-10- اندازه‌گیری پارامترهای رویشی.....41
3-11- اندازه‌گیری عناصر غذایی.....41
3-12- تجزیه آماری داده‌ها.....42
فصل چهارم: نتایج و بحث.....43
4-1- نتایج پارامترهای رویشی.....43
4-1-1- تعداد غده.....43
4-1-2- قطرغده.....45
4-1-3- وزن تر و خشک کل گیاه.....47
4-1-4- تعداد چشم در هر غده.....48
4-1-5- وزن تر و خشک هر غده.....56
4-1-6- عملکرد.....57
4-1-7- طول شاخساره و طول ریشه.....59
4-1-8- تعداد استولون.....61
4-2- نتایج عناصر غذایی.....68
4-2-1- پتاسیم.....68
4-2-2- فسفر.....69
4-2-3- کلسیم.....70
4-2-4- منیزیم.....71
4-2-5- آهن.....72
4-2-6- منگنز.....74
4-2-7- روی.....75
4-3- بحث.....81
4-3-1- صفات رویشی.....81

عنوان **صفحه**

4-3- 2- عناصر غذایی.....86
فصل پنجم: نتیجه‌گیری کلی و پیشنهادها.....91
5-1- نتیجه‌گیری کلی.....91
5-2- پیشنهادها.....93
منابع.....95

فهرست شکل‌ها

عنوان **صفحه**

شکل4-1- اثرغلظت‌های مختلف BAP بر تعدادغده و وزن ترگیاه.....44
شکل4-2- اثر غلظتهای مختلف CCC برتعداد غده و مجموع طول شاخه‌ها.....45
شکل4-3- اثر غلظتهای مختلف BAP بر عملکرد و وزن خشک گیاه.....58
شکل4-4- اثر غلظتهای مختلف CCC بر عملکرد و وزن خشک گیاه.....59
شکل4-5- اثر غلظت‌های مختلف BAP بر غلظت پتاسیم، فسفر، کلسیم و منیزیم.....69
شکل4-6- اثر غلظت‌های مختلف CCC بر غلظت پتاسیم، فسفر، کلسیم و منیزیم.....70
شکل4-7- اثر رقم بر غلظت فسفر وکلسیم در گیاهچه‌های سیب‌زمینی.....71
شکل4-8- اثر رقم بر غلظت آهن و منگنز در گیاهچه‌های سیب‌زمینی.....73
شکل 4-9- اثر غلظت‌های مختلف BAP بر غلظت آهن، منگنز و روی.....73
شکل 4-10- اثر غلظت‌های مختلف CCC بر غلظت آهن و منگنز و روی.....74

فهرست جدول‌ها

عنوان **صفحه**

جدول 3-1 محیط کشت موراشینگ و اسگوک.....38
جدول 4-1- نتایج تجزیه واریانس پارامترهای رویشی (تعداد غده در هر گیاه، قطر کوچک و بزرگ غده، وزن تر و خشک گیاه و تعداد چشم در هر غده).....50
جدول 4-2- اثر رقم بر پارامترهای رویشی (تعداد غده در هر گیاه، قطر کوچک و بزرگ غده، وزن تر و خشک گیاه و تعداد چشم در هر غده).....51
جدول 4-3- برهمکنش بین 6- بنزیل آمینو پورین و سایکوسل بر صفات رویشی(تعداد غده در هر گیاه، قطر کوچک و بزرگ غده، وزن تر و خشک گیاه و تعداد چشم در هر غده).....51
جدول 4-4- برهمکنش رقم و 6- بنزیل آمینوپورین بر صفات رویشی (تعداد غده در هر گیاه، قطر کوچک و بزرگ غده، وزن تر و خشک گیاه و تعداد چشم در هر غده).....52
جدول 4-5- اثر 6- بنزیل آمینو پورین بر صفات رویشی (تعداد غده در هر گیاه، قطر کوچک و بزرگ غده، وزن تر و خشک گیاه و تعداد چشم در هر غده).....52
جدول 4-6- اثر سایکوسل بر صفات رویشی (تعداد غده در هر گیاه، قطر کوچک و بزرگ غده، وزن تر و خشک گیاه و تعداد چشم در هر غده).....53
جدول 4-7- برهمکنش رقم و سایکوسل بر صفات رویشی (تعداد غده در هر گیاه، قطر کوچک و بزرگ غده، وزن تر و خشک گیاه و تعداد چشم در هر غده).....53
جدول 4-8- برهمکنش رقم و 6- بنزیل آمینوپورین و سایکوسل بر صفات رویشی (تعداد غده در هر گیاه، قطر کوچک و بزرگ غده، وزن تر و خشک گیاه و تعداد چشم در هر غده).....54
ادامه جدول 4-8- برهمکنش رقم و 6- بنزیل آمینوپورین و سایکوسل بر صفات رویشی (تعداد غده در هر گیاه، قطر کوچک و بزرگ غده، وزن تر و خشک گیاه و تعداد چشم در هر غده).....55
جدول 4-9- نتایج تجزیه واریانس پارامترهای رویشی (وزن تر و خشک هر غده، عملکرد، طول شاخساره و ریشه و تعداد استولون).....62

عنوان **صفحه**

جدول 4-10- برهمکنش رقم و 6- بنزیل آمینوپورین و سایکوسل بر صفات رویشی(وزن تر و خشک هر غده، عملکرد، طول شاخساره و ریشه و تعداد استولون).....63
ادامه جدول 4-10- برهمکنش رقم و 6- بنزیل آمینوپورین و سایکوسل بر صفات رویشی (وزن تر و خشک هر غده، عملکرد، طول شاخساره و ریشه و تعداد استولون).....64
جدول 4-11- برهمکنش بین 6- بنزیل آمینو پورین و سایکوسل بر صفات رویشی (وزن تر و خشک هر غده، عملکرد، طول شاخساره و ریشه و تعداد استولون).....65
جدول 4-12- اثر رقم بر پارامترهای رویشی (وزن تر و خشک هر غده، عملکرد، طول شاخساره و ریشه و تعداد استولون).....66
جدول 4-13- برهمکنش رقم و سایکوسل بر صفات رویشی (وزن تر و خشک هر غده، عملکرد، طول شاخساره و ریشه و تعداد استولون).....66
جدول 4-14- اثر 6- بنزیل آمینو پورین بر صفات رویشی (وزن تر و خشک هر غده، عملکرد، طول شاخساره و ریشه و تعداد استولون).....67
جدول 4-15- اثر سایکوسل بر صفات رویشی (وزن تر و خشک هر غده، عملکرد، طول شاخساره و ریشه و تعداد استولون).....67
جدول 4-16- برهمکنش رقم و 6- بنزیل آمینوپورین بر صفات رویشی (وزن تر و خشک هر غده، عملکرد، طول شاخساره و ریشه و تعداد استولون).....68
جدول 4-17- نتایج تجزیه واریانس عناصر غذایی.....76
جدول 4-18 برهمکنش 6- بنزیل آمینو پورین و سایکوسل و رقم بر عناصر غذایی.....77
ادامه جدول 4-18 برهمکنش 6- بنزیل آمینو پورین و سایکوسل و رقم بر عناصر غذایی.....78
جدول 4-19 اثر برهمکنش 6- بنزیل آمینو پورین و سایکوسل بر عناصر غذایی.....79
جدول 4-20 اثر برهمکنش 6- بنزیل آمینو پورین و رقم بر عناصر غذایی.....80
جدول 4-21 اثر برهمکنش سایکوسل و رقم بر عناصر غذایی.....80

فصل اول

مقدمه

در بین گیاهان باغبانی گیاه غده‌ای سیب‌زمینی در تامین کالری مورد نیاز برای جمعیت جهان نقش بسیار مهمی دارد، به طوری که هر کیلوگرم سیب‌زمینی معادل 9700 کالری انرژی تولید می‌کند. انرژی حاصل از هر هکتار سیب‌زمینی 2/5 برابر انرژی حاصل از غلات و حبوبات است. این گیاه نه تنها منبع سرشار از انرژی است بلکه دارای حدود 2 درصد پروتئین (بر اساس وزن تر غده) با کیفیت بالا می‌باشد. اگرچه این مقدار پروتئین نسبت به غلات و حبوبات پایین است اما مقدار کل پروتئین تولیدی در هکتار با توجه به عملکرد بالای غده در واحد سطح، رقم قابل توجهی را تشکیل می‌دهد (ملکوتی،1379؛ کوچکی، 1374). کشت و کار سیب‌زمینی تقریبا در اکثر کشورهای جهان متداول بوده و متجاوز از 22 میلیون هکتار سطح زیر کشت این محصول با میزان تولیدی بالغ بر 287 میلیون تن می‌باشد و با تولید متوسط 2/2 تن ماده خشک در هکتار از اقلام مهم محصولات غذایی جهان به شمار می‌رود.

کشت سیب‌زمینی در ایران در دو قرن پیش مرسوم گردیده و تدریجا توسعه یافته است، بطوری که در اوائل دهه 1340 سطح زیر کشت این محصول 20000 هکتار بوده است ولی در طول سه دهه اخیر سیب‌زمینی جایگاه ویژه ای در الگوی تغذیه مردم کشور پیدا نموده و موجب توسعه سطح زیر کشت محصول تا حدود 146000 هکتار با متوسط عملکرد غده 29/4 تن در هکتار شده است (وزارت جهاد کشاورزی، 1390). با توجه به سطح زیر کشت سیب‌زمینی در کشور که حدود 146 هزار هکتار و متوسط نیاز بذری هر هکتار سه تن است، به طور متوسط نیاز بذری سالیانه کشور در حدود 450 هزار تن سیب‌زمینی بذری می‌باشد (دشتیان و لایی، 1386).

در سیستم‌های مرسوم و سنتی عمدتا برای تکثیر و تولید سیب‌زمینی از غده‌های بذری استفاده می‌شود، این روش تکثیر دارای معایبی از قبیل سرعت تکثیر پایین، بازدهی کم، خطر انتقال بیماری‌ها است (Struik and Wiersema, 1999). از طرف دیگر، حدود 15 درصد از سطح زیر کشت سیب‌زمینی دنیا برای تولید غده‌های بذری به شیوه سنتی صرف می‌گردد (FAO, 2000). غده بذری یکی از عوامل بسیار مهم است که در خواص کمی و کیفی تولید سیب‌زمینی نقش موثری دارد. غده‌های بذری سالم و مناسب علاوه بر افزایش کمی به میزان قابل توجهی در کاهش ضایعات محصول موثر است، لذا با توجه به اهمیت آن لازم است راهکارهای مناسب به منظور دستیابی به غده بذری بیشتر با کیفیت بهتر به کار گرفته شود (علوی شهری، 1384).

یکی از روش‌های برای تولید بذر سیب‌زمینی گواهی شده و عاری از ویروس استفاده از کشت بافت[1] است که با این روش می‌توانیم در تمام طول سال غده بذری با کیفیت تولید کرد. کشت سلول و بافت گیاهی با عنوان کشت درون شیشه ای[2] یا کشت استریل مطرح می‌شود و در مورد تمام انواع کشت‌های استریل که در شرایط درون شیشه‌ای انجام می‌گیرد به کار می‌رود. در حال حاضر تکنیک‌های کشت بافت به عنوان ابزاری قوی جهت مطالعه مشکلات اساسی و کاربردی بیولوژی گیاهی استفاده می‌شود. علاوه بر آن در سال‌های اخیر این تکنیک‌ها کاربردهای تجاری گسترده‌ای در تکثیر گیاهان مختلف از جمله گیاهان زینتی و دارویی و نیز حذف عوامل بیماریزا از گیاهان پیدا نموده است. در سال 1904 هانیگ[3] روش جدیدی از کشت گیاهان، به نام کشت جنین ارائه نمود. از سال 1920 انواع روش‌های کشت، نظیر : کاشت درون شیشه‌ای بذور ارکیده، کشت

[1] Tissue Cultuer

[2] *In vitro*

[3] Hunig

کالوس، کشت اندام، و امثال آن مرسوم شد. بعد از سال 1945، به تمام روش‌های کشت درون شیشه‌ای گیاهان، کشت بافت گیاهی اطلاق شد (باقری و صفاری، 1388).

کشت بافت، صرفه‌جویی زیادی در فضا (گلخانه) و در نتیجه در انرژی به وجود آورده و سبب شده است که به طور موثری تغییرات قابل ملاحظه‌ای را در روند تولید گیاهانی که به صورت رویشی تکثیر می‌شوند، به وجود آورد. علاوه بر کاربرد عملی این تکنیک، کشت سلول گیاهی، بافت و اندام، نقش زیادی را در بهبود آگاهی ما در رابطه با مبانی علم سلولی داشته است. با استفاده از روش‌های کشت بافت می‌توان بر موانع ژنتیکی طبیعی غلبه کرد (باقری و صفاری، 1388).

میکروتیوبر[1] یا غده سیب‌زمینی تولید شده به روش کشت بافت برای اولین بار در اواسط دهه 1950 تولید شد. میکروتیوبرها ساختارهای در حال رکودی هستند که برای شکستن رکودشان آنها را در کیسه‌های پلی اتیلن سوراخ دار در شرایط خشک و تاریک و در دمای 6-5 درجه سانتیگراد به مدت 4-3 ماه نگهداری می‌کنند. محدوده وزنی میکروتیوبرها بین 1 – 0/5گرم است. رایج ترین روش تولید میکروتیوبر استفاده از کشت تک گره گیاه عاری از ویروس است در محیط کشت مایع یا جامد که از هر گره یک میکرو غده تولید می‌شود. اساس بیولوژیکی برای غده‌زایی و تولید میکروتیوبر در شرایط درون شیشه‌ای عبارتند از: ساکارز بالا، استفاده از هورمون سیتوکینین[2]، القای روز کوتاه یا تاریکی مطلق، درجه حرارت پایین یا استفاده از ضد جیبرلین هایی[3] نظیر کلرو کلین کلراید[4] (سایکوسل[5])است (Leclerc *et al.*, 1994).

6- بنزیل آمینو پورین[6] یک سیتوکینین مصنوعی است. سیتوکینین‌ها در همه گیاهان دانه‌دار و احتمالا در تمام قلمرو گیاهان وجود دارند. سیتوکینین‌ها بطور عمده در مریستم‌های انتهایی ریشه، گل آذین‌ها و میوه‌های در حال رشد ساخته می‌شود. نقش سیتوکینین‌ها در گیاه عبارتند از: 1- بزرگ شدن و طویل شدن سلولی 2- ایجاد جوانه گل و نمو آن 3- تشکیل ریشه 4- پیری دیررس 5- تاثیر روی گل دادن 6- شکستن دوره خواب بذر 7- پارتنوکارپی.

سایکوسل یکی از کندکننده‌های رشد گیاهی است. این ماده از تقسیم و رشد سلولی در ناحیه زیر مریستمی انتهای شاخه‌ها جلوگیری به عمل می‌آورد ولی بر روی خود مریستم تاثیر ندارد که این امر باعث تولید طبیعی شاخه‌ها، برگ و میوه، کوتاه ماندن درخت و افزایش تولید گل در سال

[1] Microtuber
[2] Cytokinins
[3] Anti gibberellins
[4] Chlorocholine chloride
[5] Cycocel (CCC)
[6] 6-benzylaminopurine(BAP)

بعد مصرف و کاهش هرس می‌شود. سایکوسل در تعیین جنسیت نبات، تشکیل رنگ دانه و تسریع در رسیدگی میوه تاثیر می‌گذارد (لسانی و مجتهدی، 1368).

نوع رقم مورد استفاده در هدف تولید میکروتیوبر موثر است. ارقام سیب‌زمینی از نظر تعداد، وزن و اندازه غده تولیدی از همدیگر متفاوتند بعضی تعداد غده کم با اندازه بزرگ تولید کرده و بعضی تعداد غده زیاد با سایز کوچک تولید می‌کنند (Rolot *et al*., 2002). حتی واکنش ارقام به تولید غده در کشت بافت متفاوت است. بعضی ارقام در کشت درون شیشه‌ای واکنش خوبی داشته و تعداد غده مطلوب با اندازه مناسب می‌دهند. از طرفی ارقامی هم هستند که واکنش مناسبی به تولید میکروتیوبر در کشت درون شیشه‌ای نداشته‌اند (Nistor *et al*., 2010; Hoque, 2010).

با توجه به موارد ذکر شده اهداف پژوهش حاضر عبارت بودند از :

1- بررسی اثر غلظت های مختلف 6- بنزیل آمینو پورین بر تولید میکروتیوبر

2- بررسی اثر غلظت های مختلف سایکوسل بر تولید میکروتیوبر

3- یافتن رقم مناسب بین دو رقم جهت تولید میکروتیوبر

4- بررسی اثر برهمکنش 6- بنزیل آمینو پورین و سایکوسل و رقم بر تولید میکروتیوبر

فصل دوم

پیشینه پژوهش

2-1- معرفی گیاه سیب‌زمینی

2-1-1- اهمیت سیب‌زمینی

سیب‌زمینی بدلیل داشتن کالری، پروتئین، نشاسته، پتاسیم و سایر مواد مفید برای بدن انسان از اهمیت تغذیه‌ای بالایی برخوردار است و در مقایسه با سایر محصولات غذایی انرژی یا پروتئین بالایی در واحد سطح کشت داشته و به عنوان یک منبع کربوهیدرات و اسیدهای آمینه ضروری مهم به خصوص لیزین مطرح است. کمتر از نیمی از کل سیب‌زمینی تولید شده برای مصارف انسانی مورد استفاده قرار می‌گیرد و مقادیر زیادی از آن به عنوان خوراک دام استفاده می‌شود (رضایی و سلطانی، 1375). امروزه سیب‌زمینی از نقطه نظر میزان تولید، انرژی غذایی و تهیه فرآورده‌های متنوع و مختلف از آن اهمیت زیادی دارد و یک ماده غذایی مهم در تغذیه کشورهای پیشرفته و در حال توسعه محسوب می‌شود. از سیب‌زمینی فرآورده‌های زیادی شامل نشاسته، خلال‌های منجمد سیب‌زمینی، چیپس، آرد خشک، قطعات خشک سیب‌زمینی، فرآورده‌های خشک یخزده، آجیل سیب‌زمینی، کیک منجمد سیب‌زمینی، سیب‌زمینی پف کرده منجمد، گرانول و محصولات صنعتی تهیه می‌شود (خواجه پور، 1383).

به دلیل اهمیت زیاد این محصول در سطح جهانی سازمان تحقیقاتی بین المللی (CIP)[1] در کشور پرو جهت بهبود بخشیدن به تولید سیب‌زمینی در جهان ایجاد شده است و در این مرکز تحقیقات گسترده‌ای در زمینه‌های مختلف بر روی این گیاه انجام می‌گیرد.

2-1-2- تاریخچه سیب‌زمینی

مبداء پیدایش سیب‌زمینی رشته کوه آند در کشورهای پرو و بولیوی می باشد، تقریباً 2000 سال قبل از ورود کاشفان اسپانیایی به این قاره کشت سیب‌زمینی بوسیله اقوام اینکا در این منطقه رواج داشته است. کربن 14 موجود در نشاسته بدست آمده در کاوش‌های باستان‌شناسی نشان می‌دهد که حداقل در 8000 سال قبل، این گیاه مورد استفاده انسان قرار می‌گرفته است. باور عمومی بر این است که نام انگلیسی سیب‌زمینی (Potato) از واژه‌ای اینکایی با نام " papa " مشتق شده است (Beukema *et al*., 1990; Beukema, 1993).

سیب‌زمینی تقریبا در سال 1570 میلادی از آمریکای جنوبی به اسپانیا معرفی شد و از این کشور به دیگر نقاط اروپا برده شد و کمتر از 100 سال بعد در بسیاری از مناطق این قاره کشت آن آغاز گردید. این گیاه تقریبا در سال 1610 در هند، 1700 در چین و 1766 در ژاپن معرفی شد و برای اولین بار در ابتدای قرن هجدهم بوسیله مهاجران ایرلندی به آمریکای شمالی برده شد. در اروپا به دلیل شباهت برگ این گیاه با برگ تاجریزی سمی، ابتدا به عنوان گیاهی سمی شناخته شد، این شباهت به همراه عملکرد پایین آن در ابتدا موجب عدم کشت وسیع آن در قارهٔ اروپا شد.

ارقام نواحی رشته کوه آند وارد شده به اروپا (*Solanum tuberosum* subsp. *tuberosum*) از مناطقی با عرض جغرافیایی پائین بدست آمده بودند و اگرچه در مناطق جنوبی اروپا عملکرد نسبتا خوبی نشان می‌دادند، ولی با عرض جغرافیایی متوسط اروپا سازگاری پیدا نکرده بودند و عملکرد پایینی داشتند. در واقع سیب‌زمینی با شرایط روزهای کوتاه کوهستان‌های مناطق گرمسیر نیمکرهٔ جنوبی سازگاری داشت و تحت شرایط روزهای بلند تابستان اروپا محصول کمتری تولید می‌کرد. تا ابتدای قرن نوزدهم ارقام شیلیایی (*Solanum tuberosum* subsp. *tuberosum*) که عملکرد به مراتب بهتری داشتند به دنیای قدیم معرفی نشده بودند. با آغاز عصر صنعت، تولید سیب‌زمینی به وسیله‌ای برای امرار معاش کشاورزان تبدیل شده بود و به دلیل پتانسیل بالای تولید، کالری بالا و هزینهٔ تولید کمتر نسبت به غلات و حبوبات ارزش آن به عنوان غذا بزودی آشکار شد. از اینرو کشت سیب‌زمینی بطور فزاینده‌ای برای رفع احتیاجات تغذیه‌ای جمعیت اروپا گسترش پیدا کرد.

[1] International Potato Center