



بررسی اثر سطوح مختلف ساکارز بر کالوس زایی سیب زمینی رقم ساتینا

بهاره حفیظی*^۱، احمدرضا بلندی^۲، علیرضا سوهانی دربان^۳ و حسن حمیدی^۲

۱ - دانشگاه آزاد اسلامی، واحد مشهد، گروه کشاورزی، مشهد، ایران

۲ - به ترتیب عضو هیئت علمی و کارشناس ارشد مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی

۳ - عضو هیئت علمی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد مشهد، گروه کشاورزی، مشهد، ایران

* بهاره حفیظی bahar.hafizi@gmail.com

چکیده:

به منظور مطالعه اثر سطوح مختلف ساکارز بر کالوس زایی رقم سیب زمینی ساتینا، تک جوانه های حاصل از گیاهچه های با ۶ هفته سن که در شرایط درون شیشه ای تولید شده بودند، روی محیط کشت پایه MS محتوی هورمون های بنزیل آمینو پورین (۱۰ میلیگرم در لیتر) و نفتالین استیک اسید (۵/۰ میلیگرم در لیتر) در شرایط نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی قرار گرفتند. در این تحقیق از طرح کاملاً تصادفی با چهار تیمار مختلف (غلظت های ۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ گرم در لیتر ساکارز) و سه تکرار در هر تیمار استفاده شد. صفات مورد مطالعه شامل قطر کالوس، وزن تر کالوس و وزن خشک کالوس می باشد. نتایج نشان داد که از نظر کلیه صفات مورد مطالعه بین سطوح مختلف ساکارز اختلاف معنی داری وجود دارد. علاوه بر این مقایسه میانگین نیز نشان داد که با افزایش غلظت ساکارز میزان قطر، وزن تر و خشک کالوس به طور معنی داری کاهش یافت. در حالیکه درصد کالوس زایی با افزایش غلظت ساکارز به طور معنی داری افزایش یافت (تا غلظت ۶۰ گرم در لیتر) و پس از آن کاهش نشان داد. به طور کلی غلظت های کم ساکارز نسبت به غلظت های بالای آن بر روی صفات قطر، وزن تر و خشک کالوس تأثیر بیشتری داشتند.

کلمات کلیدی: سیب زمینی، کشت بافت، کالوس، ساکارز

مقدمه:

سیب زمینی با نام علمی (*Solanum tuberosum* L.) از لحاظ گسترش کشت در جهان بعد از ذرت در جایگاه دوم قرار داشته و دومین منبع غذایی ساده بعد از تخم مرغ می باشد (Yamaguchi, M. 1983). به عنوان اولین قدم در بسیاری از آزمایش های کشت بافت، القای کالوس از ریز نمونه اولیه ضروری است. این ریز نمونه ممکن است قسمتی از گیاهچه تازه تولید شده، ریشه، ساقه، برگ یا اندام های تولید مثل ضد عفونی شده باشد. کالوس بافت حاصل از ایجاد زخم در گیاه است. همه سلول های یک ریز نمونه در تشکیل کالوس دخالت نمی کنند و مهم تر از آن، بعضی از انواع مشخص سلول های



کالوس با اندام های باززایی شده رقابت می کنند. معمولاً" گزینش مشاهده ای اولیه برای انتخاب انواع سلول های قابل باززایی، ضروری است. غلظت تنظیم کننده های رشد گیاهی (اکسین، سیتوکنین، جبرلین، اتیلن و...) فاکتور مهمی است که تشکیل کالوس در محیط کشت را کنترل می کند. غلظت تنظیم کننده های رشد گیاهی برای هر گونه گیاهی متفاوت است و بستگی به منبع ریز نمونه یا گیاه مشخص دارد. علاوه بر این شرایط کشت (درجه حرارت، محیط کشت جامد در مقابل نیمه جامد، نور، ساکارز و...) نیز در تشکیل کالوس و نمو آن مهم است. کشت های کالوس برای مطالعه گزینش سلولی، جنین زایی سوماتیکی، اندام زایی و تولید فراورده های ثانویه استفاده می شوند (نوری، ۱۳۷۱). گیاهان از نظر نیاز به شرایط فیزیکی مثل نور و حرارت جهت کالوس زایی با هم متفاوتند. بعضی از گیاهان در نور و بعضی در تاریکی کالوس بیشتری تولید می نمایند (Shahpiri, A., et al . 2004). ساکارز به علت اثر اسمزی خود، به عنوان یک منبع انرژی در شرایط این ویترو ضروری است و در غلظت های بالا باعث تحریک تشکیل ریز غده ها می شود. برای القای حداکثر ریز غده، صرف نظر از تنظیم کننده های رشد، میزان ساکارز از ۲ تا ۳٪ معمول که در کشت بافت استفاده می شود به ۸ تا ۹ درصد افزایش می یابد. میزان ساکارز بیش از ۸٪ سودمند نیست و القای ریز غده در محیط کشت حاوی ۸ تا ۱۴٪ ساکارز تفاوتی نداشته است. به محض القا، سرعت رشد ریز غده ها بستگی به دسترسی به ساکارز دارد و با هیدرولیز ساکارز به گلوکز و فروکتوز سرعت رشد کاهش می یابد (دائلی، ۲۰۰۳). هدف از این تحقیق مطالعه اثر غلظت های مختلف ساکارز بر کالوس زایی سیب زمینی رقم ساتینا از طریق کشت تک جوانه در شرایط این ویترو می باشد.

مواد و روش ها:

در این آزمایش گیاهچه های سیب زمینی رقم ساتینا با حدود ۴ هفته سن که در آزمایشگاه و در شرایط درون شیشه ای تولید شده بودند، به عنوان ماده ی اولیه گیاهی مورد استفاده قرار گرفتند. گیاهچه ها در شرایط کاملاً" سترون از محیط کشت خارج و به قطعات یک سانتیمتری که حاوی یک جوانه بودند، تقسیم گردیدند. تک جوانه ها روی محیط کشت بر پایه MS محتوی هورمون های بنزیل آمینو پورین (۱۰ میلیگرم در لیتر) و نفتالین استیک اسید (۰/۵ میلیگرم در لیتر) در شرایط نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی با دمای 25 ± 2 درجه سانتیگراد قرار گرفتند. این آزمایش به صورت طرح کاملاً" تصادفی با چهار تیمار مختلف (غلظت های ۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ گرم در لیتر ساکارز) و سه تکرار در هر تیمار اجرا گردید. هر تکرار شامل ۱۰ لوله ی آزمایش حاوی تک جوانه می باشد. شش هفته پس از کشت نسبت به اندازه گیری قطر کالوس، وزن تر کالوس، وزن خشک کالوس و درصد کالوس زایی برای هر تیمار اقدام گردید. تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از نرم افزار آماری SAS 9.0 انجام گردید. از آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد نیز برای مقایسه ی میانگین ها استفاده گردید.

نتایج و بحث



نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان داد که بین سطوح مختلف ساکارز از نظر کلیه صفات مورد مطالعه اختلاف معنی داری وجود دارد. مقایسه میانگین (جدول ۲) نیز نشان داد که با افزایش غلظت ساکارز میزان قطر، وزن تر و خشک کالوس به طور معنی داری کاهش یافت. در حالیکه درصد کالوس زایی با افزایش غلظت ساکارز به طور معنی داری افزایش یافت (تا غلظت ۶۰ گرم در لیتر) و پس از آن کاهش نشان داد. لازم به ذکر است که با افزایش غلظت ساکارز، درصد کالوس

| منابع تغییر | درجات آزادی | میانگین مربعات | | |
|-------------------------|-------------|------------------|----------------------|-------------------------|
| | | در صد کالوس زایی | قطر کالوس (سانتیمتر) | وزن تر کالوس (میلی گرم) |
| سطوح ساکارز | ۳ | ۶۱۰/۰۱۴* | ۰/۴۱ ** | ۱۴۱۰۵۶/۹۹** |
| خطای آزمایشی | ۸ | ۱۲۷/۲۴۰ | ۰/۰۲۸ | ۱۲۳۱/۷۵ |
| ضریب تغییرات (C.V) درصد | | ۱۷/۰۹ | ۲۷/۲۹ | ۱۷/۳۶ |

زایی نسبت به کمترین غلظت (۴۰ گرم در لیتر) افزایش داشت. همچنین بین غلظت های ۸۰ و ۱۰۰ گرم در لیتر ساکارز از نظر درصد کالوس زایی، قطر، وزن تر و خشک کالوس اختلاف معنی داری مشاهده نشد. به طور کلی غلظت های کم ساکارز نسبت به غلظت های بالای آن بر روی صفات قطر، وزن تر و خشک کالوس تأثیر بیشتری داشتند.

| تیمار | در صد کالوس زایی | قطر کالوس (سانتیمتر) | وزن تر کالوس (میلی گرم) | وزن خشک کالوس (میلی گرم) |
|-------|------------------|----------------------|-------------------------|--------------------------|
|-------|------------------|----------------------|-------------------------|--------------------------|

کارپوتو و همکاران (۱۹۹۵) نیز اثر ریز نمونه و ژنوتیپ بر کالوس زایی و باززایی را مورد بررسی قرار دادند. آنها گزارش کردند که گیاهان از نظر نیاز به شرایط فیزیکی مثل نور، حرارت و ... جهت کالوس زایی با هم متفاوتند. بعضی از گیاهان در نور و بعضی در تاریکی کالوس بیشتری تولید می نمایند. علاوه بر این لازم به ذکر است که ویژگیهای عمومی رشد یک کالوس، بستگی به رابطه پیچیده بین ریز نمونه کشت شده، محتویات کشت و شرایط محیطی در زمان کشت این ویترو دارد (افشاری پور، ۱۳۷۲).

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس اثر سطوح مختلف ساکارز بر صفات مورد مطالعه در رقم سیب زمینی ساتینا

** و * به ترتیب معنی دار در سطح ۱ درصد و ۵ درصد، N.S غیر معنی دار.

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف ساکارز بر صفات مورد مطالعه در رقم سیب زمینی ساتینا



ششمین همایش ملی ایده های نو در کشاورزی



همایش ملی
ایده های نو در کشاورزی

۱۱ و ۱۲ اسفندماه ۱۳۹۰ دانشگاه آزاد اسلامی خوراسگان دانشکده کشاورزی

| | | | | | |
|---------|---------|---------|----------|-----|---------------|
| ۷۸/۶۰ a | ۵۰۵/۸ a | ۱/۰۶۶ a | ۵۹/۳۵ b | ۴۰ | |
| ۳۰/۰۰ b | ۲۱۰/۴ b | ۰/۷۶۶ a | ۹۵/۸۳ a | ۶۰ | سطوح ساکارز |
| ۸/۹ c | ۵۱/۵ c | ۰/۳۶۶ b | ۸۵/۱۹ ab | ۸۰ | (گرم در لیتر) |
| ۸/۳ c | ۴۰/۵ c | ۰/۲۶۶ b | ۷۲/۶۸ b | ۱۰۰ | |

وجود یک حرف مشترک بین دو عدد نشانه معنی دار نبودن آن دو عدد با یکدیگر می باشد (آزمون دانکن، $\alpha=5\%$).

منابع مورد استفاده:

- ۱- افشاری پور، س. ۱۳۷۲. مبانی کشت بافت گیاهی. معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان.
- ۲- نوری، ق. ۱۳۷۱. تجربیاتی در زمینه کشت بافت های گیاهی. انتشارات دانشگاه تبریز.
- 3-Donnelly, J.D., W.K. Coleman and S.E. Coleman. 2003. Potato microtuber production and performance: A review. Amer. J. Potato Res., 80: 103-115.
- 4- Carpato, T., Chiari, T., Frusante, L. 1995. Tissue culture for exploitation in potato breeding. Plant Cell Tiss.Org. Cult, 41: 151-158.
- 5-Shahpiri, A., Omid, M., Ahmadian Tehrani P., Davoodi, D. 2004. A Study of tissue culture and somaclonal variation in potato. Iranian. J. Agric. Sci. Vol. 35, No. 2.
- 6-Yamaguchi, M. 1983. World vegetables, SB 320. g.y 25. van nostrandreinhold company publication s.p.111.



Study on the effect of different levels of sucrose on callus induction of potato (Satina)

Bahareh hafizi^{1*}, Ahmadreza bolandi², Alireza sohani darban³, Hasan hamidi⁴

1-Department of Agriculture, Mashhad branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran

**2- Faculty member and Researcher, Agriculture and Natural Resources
Research Center of Khorasan, Mashhad, Iran.**

3- Faculty member, Islamic Azad University, Mashhad branch, Mashhad, Iran.

Bahar.hafizi@gmail.com

Absterac

In order to study the effect of different levels of sucrose on callus induction of potato (Satina variety), single buds obtained from seedling with six weeks aged that produced in vitro condition ,were placed on MS medium with BAP (10mg/lit) and NAA (0.5mg/lit) in 16 hours light and 8 hours dark condition. This experiment was carried out on the basis of complete randomized design with for different treatment (40, 60, 80 and 100 gr/lit sucrose) and three replication. Studied adjectives include callus thickness, callus fresh weight, callus dry weight and callus percentage. Results showed that in all of the adjectives between different levels of sucrose have significant differences in 0.01 levels. Moreover average comparison showed that with increasing of sucrose concentration, callus thickness, fresh weight and dry weight of callus were decreased significantly. While the percentage increase callus sucrose concentration significantly increased (to a concentration of 60 gr per liter) and then decreased. Totally low concentrations of sucrose have high effect on callus thickness, Fresh weight and dry weight as comparison with high concentrations.

Key words : potato ,tissue culture, callus, sucrose