

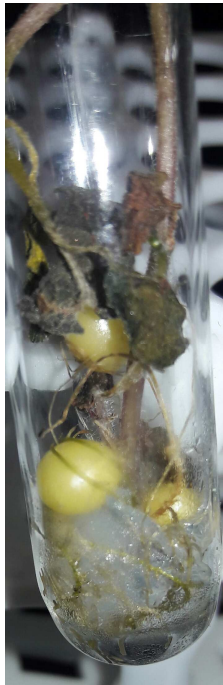
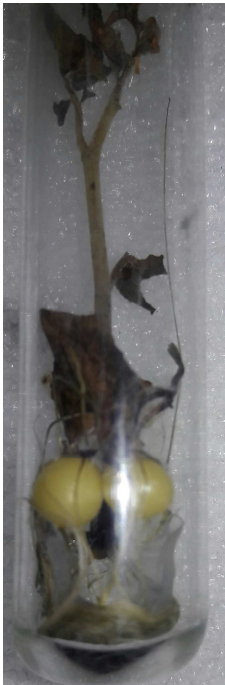


وزارت جهاد كشاورزی
سازمان جهاد كشاورزی استان اردبیل
مدیریت هماهنگی ترویج كشاورزی



وزارت جهاد كشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج كشاورزی
مرکز تحقیقات و آموزش كشاورزی و منابع طبیعی استان اردبیل

دستورالعمل فنی تولید ریزغده (میکروتیوبر) سیب زمینی



نگارش

دکتر داود حسن پناه
دکتر رسول اصغری زکریا

نشریه فنی، شماره ۱۲۸، سال ۱۳۹۶

بسم الله الرحمن الرحيم

نشریه فنی

دستورالعمل فنی تولید ریزغده (میکروتیوبر) سیب زمینی

نگارش

دکتر داود حسن پناه

عضو هیات علمی بخش تحقیقات زراعی و باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان اردبیل

(مغان)، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اردبیل، ایران

پژوهشگر پسادکتری گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

دکتر رسول اصغری زکریا

عضو هیات علمی گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

نشریه فنی، شماره ۱۲۸، سال ۱۳۹۶

این نشریه در تاریخ ۱۳۹۶/۴/۳ در کمیته انتشارات مدیریت هماهنگی ترویج استان اردبیل تصویب شده است.

عنوان پروژه منتج به این نشریه فنی

القای کالوس و جهش‌های درون‌شیشه‌ای در ارقام سیب‌زمینی و ارزیابی نتایج حاصل برای تنش کم‌آبی



وزارت جهاد کشاورزی
سازمان جهاد کشاورزی استان اردبیل
مدیریت هماهنگی ترویج کشاورزی



وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان اردبیل

عنوان نشریه: دستورالعمل فنی تولید ریزغده (میکروتیوبر) سیب زمینی

نگارش: دکتر داود حسن پناه و دکتر رسول اصغری زکریا

ویرایش علمی: دکتر خدابخش گودرزوند چگینی (عضو هیات علمی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران)

ویرایش فنی: مهندس مقصود ضیاچهره

ناشر: سازمان جهاد کشاورزی استان اردبیل - مدیریت هماهنگی ترویج کشاورزی

شمارگان: ۵۰۰ جلد

نوبت و سال انتشار: اول / ۱۳۹۶

شماره نشریه فنی: ۱۲۸

قیمت: رایگان (مخصوص محققان، کارشناسان، مروجان و بهره‌برداران زراعت سیب زمینی)

نشانی: اردبیل - مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان اردبیل،

تلفن: ۳۳۷۵۱۵۷۹ (۰۴۵)

اردبیل - شهرک اداری بعثت، سازمان جهاد کشاورزی استان اردبیل،

مدیریت هماهنگی ترویج کشاورزی، تلفن: ۳۳۷۴۳۵۰۰ (۰۴۵)

مخاطبان نشریه:

محققان، کارشناسان، مروجان، بهره‌برداران و تولیدکنندگان بذر سیب‌زمینی

اهداف آموزشی:

شما خوانندگان گرامی در این نشریه فنی با:

- نحوه تولید ریزغده (میکروتیوبر) از گیاهچه‌های حاصل از کشت بافت

سیب‌زمینی

آشنا خواهید شد.

فهرست مطالب

صفحه	عنوان
۶	مقدمه
۸	برنامه تولید بذر
۱۰	تولید گیاهچه و ریزغده (میکروتیوبر)
۱۰	الف- تولید گیاهچه
۱۱	ب - تولید ریزغده (میکروتیوبر)
۱۱	ج- تولید غدهچه (مینی تیوبر) از گیاهچه یا ریزغده (میکروتیوبر)
۱۲	عوامل مؤثر بر تولید ریزغده (میکروتیوبر)
۱۳	روش اجرا
۱۴	نتایج
۱۸	توصیه‌های فنی و ترویجی
۱۹	منابع مورد استفاده

مقدمه

ایران از نظر میزان تولید سیب‌زمینی، در بین کشورهای جهان، رتبه دوازدهم را به خود اختصاص داده است. براساس جدیدترین آمار منتشر شده توسط معاونت زراعت وزارت جهاد کشاورزی ایران در سال ۱۳۹۴، سطح زیرکشت سیب‌زمینی کشور ۱۶۰/۲۱ هزار هکتار با تولید ۵/۱۴ میلیون تن و میانگین عملکرد حدود ۳۲/۱۹۱ تن در هکتار برآورد شده است. در حال حاضر، متوسط مصرف سرانه سیب‌زمینی در ایران و کشورهای اروپایی به ترتیب حدود ۴۶ و ۱۲۰ کیلوگرم اعلام شده است. سرانه مصرف سیب‌زمینی در ایران، در طی ۴۴ سال، از ۶ کیلو به ۴۶ کیلوگرم در سال (نزدیک به ۸ برابر) و عملکرد آن از ۵ تن به ۳۲ تن در هکتار افزایش یافته است.

سیب‌زمینی به علت تکثیر رویشی، یکی از گیاهان حساس به بیماری‌های ویروسی به شمار می‌رود و به همین جهت، این بیماری‌ها سبب کاهش عملکرد در واحد سطح می‌شود. یکی از مهم‌ترین عوامل موثر در سلامت و افزایش تولید سیب‌زمینی، کشت ریزغده‌ها و غده‌چه‌ها (میکروتیوبر و مینی‌تیوبر) است. تولید غده بذری، علاوه بر جلوگیری از خروج ارز از کشور، مانع از ورود احتمالی آفات و بیماری‌های قرنطینه‌ای احتمالی نیز می‌گردد. با توجه به سطح زیرکشت حدود

۱۶۰ هزار هکتار سطح سیب‌زمینی در کشور، سالانه نیاز به حدود ۲۰۰۰ تن سیب‌زمینی بذری در کلاس سوپرالیست (SE) نیاز است. بنابراین تولید ریزغده‌ها و غده‌چه‌ها (میکروتیوبر و مینی‌تیوبر) به عنوان هسته اولیه بذر سیب‌زمینی، از اهمیت بیشتری برخوردار است. غده‌های آزمایشگاهی با اندازه تقریبی ۰/۰۲ تا ۰/۷ گرم (یا به قطر ۳ تا ۱۰ میلی‌متر)، ریزغده (میکروتیوبر) نامیده می‌شوند. میکروتیوبرها غده‌های کوچکی هستند که تحت تأثیر القاء غده در شرایط تاریکی و در محیط درون شیشه‌ای به وجود می‌آیند. این غده‌ها بر خلاف گیاهچه‌های ریزازدیادی شده، نیازی به دوره سازگاری در گلخانه ندارند. تکثیر این گیاه از طریق ریزغده، در سطح وسیعی از ژنوتیپ‌ها و در هر موقع از سال قابل اجرا است. در این روش، غده‌زایی در مدت کوتاهی انجام شده و استفاده از مواد گیاهی موردنیاز به حداقل می‌رسد. همچنین هزینه نیروی کار کاهش یافته و انتقال ژرم‌پلاسما به راحتی امکان‌پذیر می‌گردد. گیاهچه‌ها معمولاً در گلخانه و به منظور تولید مینی‌تیوبر کاشته می‌شوند، در صورتی که ریزغده‌ها را می‌توان در گلخانه و یا مستقیماً در مزرعه کشت کرد. کشت ریزغده در گلخانه، نسبت به کشت گیاهچه دارای مزایایی است. از جمله این که ریزغده‌ها به مدت چندین ماه قابل نگهداری بوده و برخلاف گیاهچه‌های درون شیشه‌ای، به راحتی جابجایی هستند.

ریزغده‌ها در مقایسه با گیاهچه‌ها به فضای کمتری نیاز داشته و می‌توان آنها را بدون نیاز به شرایط نوری ویژه و محیط رشد جابه‌جا نمود. حمل و نقل ریزغده‌ها آسان بوده و در شرایط انباری سرد، کمتر پلاسیده می‌شوند. چنین ویژگی‌هایی، ریزغده (میکروتیوبر) را به یک گزینه مطلوب در تجارت بین‌الملل ژرم‌پلاسم تبدیل نموده است.

برنامه تولید بذر

یک برنامه تولید بذر در سیب زمینی، شامل چهار مرحله زیر است:

مرحلهٔ اوّل : تولید غده‌های سالم و عاری از عوامل بیماری‌زا

مرحلهٔ دوّم: تولید غده بذری پیش پایه

مرحلهٔ سوم: تولید غده بذری مادری

مرحلهٔ چهارم: تولید غده بذری گواهی شده

در مرحلهٔ اوّل، پس از حذف کردن بیماری‌های ویروسی و دیگر بیماری‌ها از

گیاهان مادری، تولید غده‌های بذری سالم سیب‌زمینی طی مراحل زیر انجام می‌-

گیرید:

- ۱- تولید گیاهچه و یا ریزغده (میکروتیوبر) در داخل لوله‌های آزمایشگاهی تحت شرایط کنترل شده و استریل
 - ۲- تولید غده‌چه (مینی تیوبر) از گیاهچه یا میکروتیوبر آزمایشگاهی (میکروتیوبر) تحت شرایط گلخانه‌ای (نیمه کنترل شده).
 - ۳- تولید غده‌های بذری از غده‌چه‌ها (مینی تیوبرها) در شرایط مزرعه با استفاده از محافظ توری (به عنوان مانعی در مقابل نفوذ ناقلین عوامل بیماری‌زا نظیر ناقلین بیماری‌های ویروسی).
- در مراحل دوّم، سوم و چهارم تکثیر مزرعه‌ای، احتمال آلودگی مجدد به عوامل بیماری‌زای ناشی از شرایط مزرعه‌ای و تولید و تکثیر وجود دارد، بنابراین کاهش تعداد مراحل تکثیر در مزرعه معمولاً سلامت استاندارد بذر را بهبود می‌بخشد.

تولید گیاهچه و ریزغده (میکروتیوبر)

تکثیر سریع در سیب‌زمینی معمولاً به وسیله روش قلمه تک‌گره‌دار^۱ انجام می‌گیرد که محصول آن یک گیاهچه آزمایشگاهی یا ریزغده است.

الف- تولید گیاهچه

گیاهچه‌های تولید شده از مریستم یا انتهای ساقه از طریق کشت درون-شیشه‌ای قطعات تک‌گره‌دار در محیط کشت MS تکثیر می‌گردند. هر یک از تک-گره‌ها در محیط کشت MS قرار داده می‌شوند. جوانه‌های جانبی به سرعت رشد کرده و حدود ۲۵ روز بعد، گیاهچه‌هایی با بیش از ۴ تا ۶ گره جهت کشت در محیط‌های جدید تولید می‌شود. پس از تولید تعداد مناسبی از گیاهچه‌های دارای سیستم ریشه‌ای خوب، می‌توان آنها را جهت تولید غده‌چه (مینی‌تیوبر) به گلخانه انتقال داد. جهت ایجاد شرایط مناسب رشد محیطی در اتاقک رشد، بایستی طول دوره روشنایی را به میزان ۲۰ ساعت با شدت نور ۵۰۰۰ لوکس و همچنین دمای ۱۸-۲۲ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۶۵-۷۵ درصد تأمین شود.

^۱. Single node cutting propagation

ب - تولید ریزغده (میکروتیوبر)

ریزغده‌ها (میکروتیوبرها) غده‌های کوچکی هستند که تحت شرایط القاء غده در تاریکی و در محیط درون‌شیشه‌ای به وجود می‌آیند. این غده‌ها بر خلاف گیاهچه‌های ریزازدیادی، به دوره سازگاری در گلخانه نیازی ندارند.

ج - تولید غده‌چه (مینی تیوبر) از گیاهچه یا ریزغده (میکروتیوبر)

غده‌چه‌ها (مینی تیوبرها) غده‌های کوچکی هستند که دارای قطر ۵ تا ۲۰ میلی‌متر بوده و در شرایط گلخانه‌ای، در طی حدود دو ماه، از گیاهچه یا ریزغده (میکروتیوبر) تولید می‌شوند. برای تولید غده‌چه (مینی تیوبر) از ریزغده (میکروتیوبر) در بسترهای کاشت گلخانه محافظت شده در برابر حشرات، باید آنها را با تراکم بالا (۱۰۰ ریزغده در مترمربع) کشت نمود. از مزایای روش کشت غده‌چه می‌توان به ازدیاد سریع، فضایی حداقل، وزن پایین غده‌چه و کشت مستقیم در مزرعه اشاره کرد.

عوامل مؤثر بر تولید ریزغده (میکروتیوبر)

دما: دمای مطلوب برای غده‌زایی ۲۵-۲۰ درجه سانتی‌گراد است.

فتوپریود: تولید ریزغده، تحت شرایط تاریکی، سریع‌تر صورت می‌گیرد.

هورمون‌های رشد: از جمله BA، BAP، زآتین و کینتین برای افزایش تعداد ریزغده مناسب هستند.

هورمون‌های بازدارندهٔ رشد و تحریک غده‌زایی: مانند آلا ر (دامینوزاید)، کومارین، آبسزیک اسید، سایکوسل و آسپرین.

نیترژن و پتاسیم: نیترژن زیاد مانع تولید ریزغده در سیب‌زمینی می‌شود. بیشترین اندازه ریزغده زمانی بدست می‌آید که محیط القاء، حاوی ۴۰ میلی‌مول پتاسیم باشد.

ساکارز: غلظت ساکارز در تشکیل ریزغده حائز اهمیت است. ساکارز به دلیل سهولت انتقال آن به ریزغده‌های در حال توسعه و فراهم نمودن یک اسمولاریته مطلوب برای توسعه غده، سوپسترایبی مناسبی برای تولید ریزغده به شمار می‌رود.

شرایط نگهداری: برای ریزغده، نگهداری در شرایط تاریکی، درجه حرارت ۱۸ تا ۲۰ درجه سانتی‌گراد، شدت نوری پایین‌تر (۱۰۰ تا ۵۰۰ لوکس) و یک دوره نوری ۸ ساعته نیاز است.

روش اجرا

جهت تولید ریزغده سیبزمینی رقم آگریا در سیستم کشت درون شیشه‌ای، گیاهچه‌ها پس از حذف ریشه و قسمت انتهایی، به دو قسمت دارای ۳-۴ گره تقسیم و در محیط کشت MS (به شرح ذیل) در لوله‌های آزمایش قرار گرفته، سپس ظروف کشت محتوی گیاهچه‌ها به اتاق رشد منتقل شدند. طی حدود ۶ هفته، ریزغده‌ها تولید گردید و تعداد و وزن ریزغده در گیاهچه‌ها اندازه‌گیری شدند.

۱- با ساکارز به مقدار ۸۰ گرم در لیتر، سایکوسل (کلرمکوات کلراید) به مقدار ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر و بنزیل آمینوپورین (BAP) به مقدار ۵ میلی‌گرم در لیتر در شرایط دمایی 20 ± 1 درجه سانتی‌گراد و تاریکی کامل.

۲- با ساکارز به مقدار ۸۰ گرم در لیتر، سایکوسل (کلرمکوات کلراید) به مقدار ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر و بنزیل آمینوپورین (BAP) به مقدار ۱۰ میلی‌گرم در لیتر در شرایط دمایی 20 ± 1 درجه سانتی‌گراد و تاریکی کامل.

۳- با ساکارز به مقدار ۳۰ گرم در لیتر بدون سایکوسل (کلرمکوات کلراید) و بنزیل آمینوپورین (BAP) در شرایط دمایی 20 ± 1 و 23 ± 1 درجه سانتی‌گراد و تناوب نوری ۸ ساعت تاریکی و ۱۶ ساعت روشنایی تا تولید اولین ریزغده و سپس در تاریکی کامل.

نتایج

براساس نتایج حاصل، در محیط کشت MS دارای ساکارز به مقدار ۸۰ گرم در لیتر، سایکوسل (کلرمکوات کلراید) به مقدار ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر و بنزیل آمینوپورین (BAP) به مقدار ۵ میلی‌گرم در لیتر با دمای 1 ± 20 درجه سانتی‌گراد به طور میانگین ۳ ریزغده در هر گیاهچه با متوسط وزن هر ریزغده ۰/۲۵ گرم، در محیط کشت MS دارای ساکارز به مقدار ۸۰ گرم در لیتر، سایکوسل (کلرمکوات کلراید) به مقدار ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر و بنزیل آمینوپورین (BAP) به مقدار ۱۰ میلی‌گرم در لیتر با دمای 1 ± 20 درجه سانتی‌گراد به طور میانگین ۲/۵ ریزغده در هر گیاهچه با متوسط وزن هر ریزغده ۰/۲۴ گرم، در محیط کشت MS دارای ساکارز به مقدار ۳۰ گرم در لیتر و بدون سایکوسل (کلرمکوات کلراید) و بنزیل آمینوپورین (BAP) با دمای 1 ± 20 درجه سانتی‌گراد به طور میانگین ۲ ریزغده در هر گیاهچه و با متوسط وزن هر ریزغده ۰/۲۲ گرم و در محیط کشت MS دارای ساکارز به مقدار ۳۰ گرم در لیتر و بدون سایکوسل (کلرمکوات کلراید) و بنزیل آمینوپورین (BAP) با دمای 1 ± 23 درجه سانتی‌گراد به طور میانگین یک ریزغده در هر گیاهچه و با متوسط وزن هر ریزغده ۰/۲۸ گرم تولید شد (جدول ۱).



شکل ۱- ریزگده‌های تولید شده در محیط کشت MS بدون سایکوسل و بنزیل آمینوپورین و در شرایط دمایی 20 ± 1 درجه سانتی‌گراد



شکل ۲- ریزغده‌های تولید شده در محیط کشت MS حاوی سایکوسل و بنزیل آمینوپورین در شرایط دمایی 20 ± 1 درجه سانتی‌گراد

جدول ۱- نتایج تعداد و وزن ریزغده تولید شده در محیط‌های کشت مختلف

متوسط وزن هر ریزغده	متوسط تعداد ریزغده در گیاهچه	شرایط نگهداری در اتاق رشد	شرایط دمایی (درجه سانتی‌گراد)	بنزیل آمینوپورین (میلی‌گرم در لیتر)	سایکوسل (میلی‌گرم در لیتر)	ساکارز (گرم در لیتر)	محیط کشت
۰/۲۵	۳	تاریکی کامل	۲۰±۱	۵	۵۰۰	۸۰	MS
۰/۲۴	۲/۵	تاریکی کامل	۲۰±۱	۱۰	۲۵۰	۸۰	MS
۰/۲۲	۲	۸ ساعت تاریکی و ۱۶ ساعت روشنایی تا تولید اولین ریزغده و سپس در تاریکی کامل	۲۰±۱	۰	۰	۳۰	MS
۰/۲۸	۱	۸ ساعت تاریکی و ۱۶ ساعت روشنایی تا تولید اولین ریزغده و سپس در تاریکی کامل	۲۳±۱	۰	۰	۳۰	MS

توصیه‌های فنی و ترویجی

- برای تولید ریزغده بیشتر از هر گیاهچه، بایستی ریشه و قسمت انتهایی گیاهچه‌ها حذف و تحت شرایط محیط کشت MS حاوی ساکارز به مقدار ۸۰ گرم در لیتر، سایکوسل (کلرمکوات کلراید) به مقدار ۵۰۰ میلی-گرم در لیتر و بنزیل آمینوپورین (BAP) به مقدار ۵ میلی-گرم در لیتر و نگهداری در شرایط دمایی 20 ± 2 درجه سانتی‌گراد و شرایط نوری تاریکی کامل قرار داده شوند.

- در صورتی که گیاهچه‌ها از طریق تکنیک قلمه تک‌گره‌دار در محیط کشت MS حاوی ساکارز به مقدار ۳۰ گرم در لیتر و بدون سایکوسل (کلرمکوات کلراید) و بنزیل آمینوپورین (BAP) و نگهداری در شرایط دمایی 20 ± 2 درجه سانتی‌گراد و تناوب نوری ۸ ساعت تاریکی و ۱۶ ساعت روشنایی تا تولید اولین ریزغده و سپس در تاریکی کامل قرار داده شوند، می‌توان به تعداد ۲ عدد ریزغده در هر گیاهچه تولید کرد.

منابع مورد استفاده

۱. بی‌نام، ۱۳۹۶، آمارنامه سبزی و صیفی (سیب‌زمینی)، وزارت جهاد کشاورزی، معاونت تولیدات گیاهی، <http://www.maj.ir>، ۱۷۴ ص.
۲. حسن‌پناه، داود؛ نیکشاد، خلیل؛ حسنی، محمد، ۱۳۸۷، تولید سیب زمینی بذری، سازمان جهاد کشاورزی استان اردبیل، ۱۹۸ ص.
3. Coleman, W.K., Donnelly, DJ. and Coleman, SE. 2001. Potato microtubers as research tools: A review. American Journal of Potato Research. 78: 47-55.
4. Hassanpanah, D., and Khodadadi, M. 2009. Study the plantlet age effect and planting beds on Agria potato mini-tuber production under *in vivo* condition. Journal of Biological Sciences. 727-3048.
5. Gosal, SS., Das, A., Gopal, J., Minocha, JL. Chopra HR., and Dhaliwal, HS. 2001. *In vitro* induction of variability through radiation for late blight resistance and heat tolerance in potato. Biotechnology Centre, Punjab Agricultural University, Ludhiana, Punjab, India. pp 7-13.

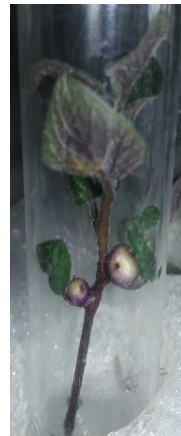
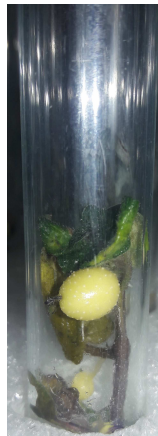
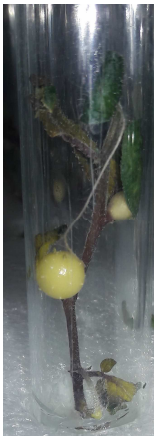


Ministry of Agriculture Jihad
Jihad Agricultural Organization of Ardabil Province
Agricultural Extension Coordination Management



Ministry of Agriculture Jihad
Agricultural Research, Education and Extension Organization
Ardabil Agriculture and Natural Resources Research and
Education Centre

Technical Instruction of Potato Micro-tuber Production



Authors

Davoud Hassanpanah, *PhD*

Rasool Asghari Zakaria, *PhD*

Technical Manual, Number 128, 2017