

SID



سرویس های ویژه



سرویس ترجمه تخصصی



کارگاه های آموزشی



بلاگ مرکز اطلاعات علمی



سامانه ویراستاری STES



فیلم های آموزشی

کارگاه های آموزشی مرکز اطلاعات علمی



مقاله نویسی علوم انسانی



اصول تنظیم قراردادها



آموزش مهارت های کاربردی در تدوین و چاپ مقاله

کاربرد بیوراکتورها در تولید انبوه ریزغده در سیب زمینی

منصور سلجوقیان پور^۱، امین نیرومنش^۲

۱-۲- کارشناسی ارشد اصلاح نباتات

دانشگاه تهران، دانشکده کشاورزی کرج - گروه زراعت و اصلاح نباتات، ص پ: ۱۱۱۶۷-۳۱۵۸۷

چکیده:

به دلیل اینکه سیب زمینی گیاهی است که دارای تکثیر رویشی است و این تکثیر رویشی باعث انتقال بیماریها و به خصوص بیماریهای ویروسی از نسلی به نسل دیگر می گردد. برای تولید انبوه ریز غده برای کاشت در مزرعه بایستی ابتدا گیاهچه های عاری از ویروس تهیه نمایند. در این حالت با استفاده از کشت مرستم ابتدا تولید گیاهچه نموده و سپس برای رشد و تکثیر وارد بیوراکتور می نمایند. بیوراکتورهای استفاده شده در سیب زمینی با توجه به کشت ریز نمونه ها به دو گروه تقسیم می شوند. گروه اول شامل بیوراکتورهای با غوطه وری موقت (Temporary immersion) هستند که همان بیوراکتورهای جذر و مدی (Ebb&Flood) هستند. گروه دوم شامل بیوراکتورهای با غوطه وری مداوم (Continuous immersion) هستند که خود به دو گروه با شبکه و بدون شبکه تقسیم می شوند. اصولاً تولید ریز غده در بیوراکتورها با روش کشت دو مرحله ای القا می شود. در مرحله اول گیاهان استوک برای رشد و تکثیر به بیوراکتورها منتقل می شوند و در مرحله دوم پس از سه هفته محیط از یک سمت بیوراکتور خارج شده و محیط مناسب غده زایی از طرف دیگر وارد می گردد افزایش تعداد تعویض محیط کشت در بیوراکتورها برای دو یا سه بار در مدت ۸ هفته می تواند روی افزایش ریز غده زایی به خصوص وزن و اندازه غده ها موثر باشد.

کلمات کلیدی: بیوراکتور، سیب زمینی، ریزغده زایی، کشت مرستم

مقدمه:

صنعت کشت بافت از دو مسئله رنج می برد که یکی تعداد محدود گیاهانی که می توانند از این طریق تولید شوند و دیگری هزینه زیاد تولید است. در این میان برآورد شده است که حدود ۵۰ تا ۸۵ درصد از هزینه های تولید ناشی از بخش دستمزدها می باشد. به همین علت، اتوماسیون مراحل تولید منجر به کاهش شدید هزینه تولید شده و در نهایت با تولید نامحدود از گیاهان با هزینه کم، صنعت و بازار گیاهان کشت بافتی را رونق خواهد بخشید و امکان تکثیر گیاهان با این روش افزایش فوق العاده ای خواهد یافت. بسیاری از آزمایشگاهها مشغول تحقیق در مورد این مسئله هستند که چگونه می توان با کاهش تعداد دفعات واکشت، هزینه تولید را پایین آورد. استفاده از ظروف کشت بزرگ و محیط کشت مایع می تواند به مکانیزه کردن ریزازدیادی و کاهش هزینه آن کمک کند (Kipnis and Azizbekova, 1994; Takayama and Akita 1994). مکانیزاسیون و اتوماسیون فرایند ریزازدیادی می تواند سهم عمده ای در مقابل محدودیت های ناشی از روش های پر زحمت معمول کشت بافت داشته باشد. براین اساس توجه زیادی به اتوماسیون مراحل تکراری برش، جداسازی، واکشت و انتقال جوانه ها، شاخه ها یا گیاهچه ها در مراحل تکثیر و انتقال معطوف گشته است. استفاده از این تکنیکها در دو دهه اخیر موجب پیشرفت تکنولوژی ریزازدیادی گردیده است. مسئله اصلی مرتبط با تولید ریز غده در ظروف سنتی شامل عملکرد کم تولید غده ها و اندازه کوچک غده هاست که انتقال مستقیم را به شرایط مزرعه محدود می کند. بنابراین با توجه به این مشکلات تولید ریز غده در بیوراکتورها مورد توجه قرار گرفته است. بهبود و گسترش اطلاعات بیولوژیکی فیزیکی و مهندسی نمودن اجزای سیستم بیوراکتورها امکان رشد را برای سلولهای گیاهی و بافتهای قابل باز زایی در محیط کشت در بیوراکتورها می دهد. بیوراکتورها شرایط بهینه را برای رشد و نمو سوماتیکی بوسیله تنظیم پارامترهای محیطی فیزیکی و شیمیایی تهیه می کنند. محیط کشت در بیوراکتورها شامل محیط مایع که در آن ساقه ها و جنین ها در شرایط غوطه ور شدن کشت می شوند بنابراین شرایط کشت و خصوصیات کشت تا اندازه ای با کشت آگار متفاوت است.

ظروف بیوراکتور عموماً از شیشه یا استیل زنگ نزن ساخته می شوند که نیاز است بوسیله اتوکلاو کردن کل ظروف بوسیله بخار ۱۲۱ درجه سانتیگراد برای مدت ۳۰ - ۱۵ دقیقه استریلیزه شوند. استفاده از بیوراکتور در تکثیر گیاهان اولین بار در سال ۱۹۸۱ برای بگونیا گزارش شد (Takayama and Akita 1994). بعد از بهینه سازی تکثیر با این روش در گیاهان سیب زمینی و هویج نیز گزارش شد (Akita and Takayama 1994; Jay et al 1994). افزایش تعداد تعویض محیط کشت در بیوراکتورها برای دو یا سه بار در مدت ۸ هفته می تواند روی افزایش ریز غده زایی به خصوص وزن و اندازه غده ها موثر باشد (Chun Piao X., Chakrabarty D., Joo Hann E., and Yoeup Paek K. 2003). استفاده از بیوراکتورها به طور عمده برای کشت های سوسپانسیون سلولی و تولید فرآورده های ثانویه بوده است، اما بهینه نمودن بیوراکتورها برای جنین زایی غیر جنسی نیز در تعدادی از گیاهان مورد مطالعه قرار گرفته است. مواد و روشها:

ظروفی که برای کشت سلول، بافت یا اندام گیاهی در محیط غذایی مایع و در یک مقیاس بزرگ مورد استفاده قرار می گیرد بنام بیوراکتور خوانده می شوند. بیوراکتورهای استفاده شده در سیب زمینی با توجه به کشت ریز نمونه ها به دو گروه تقسیم می شوند. گروه اول شامل بیوراکتورهای با غوطه وری موقت (Temporary immersion) هستند که همان بیوراکتورهای جذر و مدی (Ebb&Flood) هستند که به اختصار به آنها بیوراکتورهای تناوبی نیز می گویند. گروه دوم شامل بیوراکتورهای با غوطه وری مداوم (Continuous immersion) هستند که خود به دو گروه با شبکه و بدون شبکه تقسیم می شوند (شکل). که بدین طریق توانسته اند اندازه و وزن غده ها را افزایش و همچنین تولید را به حد قابل قبولی افزایش دهند. به دلیل اینکه سیب زمینی گیاهی است که دارای تکثیر رویشی است و این تکثیر رویشی باعث انتقال بیماریها و به خصوص بیماریهای ویروسی از نسلی به نسل دیگر می گردد، برای تولید انبوه ریز غده برای کاشت در مزرعه بایستی ابتدا گیاهچه های عاری از ویروس تهیه نماییم. در این حالت با استفاده از کشت مرستم که در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد و رطوبت ۷۰ تا ۷۵ درصد و ۱۶ ساعت نور در محیط کشت MS مایع روی پل کاغذی انجام می شود. بعد از تولید گیاهچه ها از آنها می توان ریز نمونه های گره ای با یک برگ تولید نمود و برای رشد و تکثیر وارد بیوراکتور نماییم. اصولاً تولید ریز غده در بیوراکتورها با روش کشت دو مرحله ای القا می شود. در مرحله اول گیاهان استوک برای رشد و تکثیر به بیوراکتورها منتقل می شوند و در مرحله دوم پس از سه هفته محیط از یک سمت بیوراکتور خارج شده و محیط مناسب غده زایی از طرف دیگر وارد می گردد. محیط کشت مرحله اول شامل محیط مایع MS پایه با ۳ درصد ساکارز و بدون هیچ تنظیم کننده رشدی به کار می رود. اما محیط کشت برای مرحله دوم محیط مایع MS پایه با ۸ درصد ساکارز و با یا بدون ۶- بنزیل آمینو پورین (BAP) است که برای مدت ۸ هفته در شرایط تاریکی برای القای ریز غده زایی استفاده می شود.

نتایج و بحث:

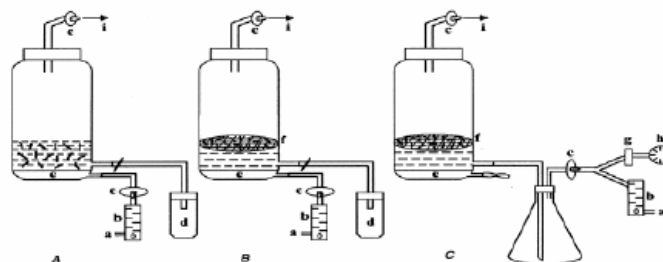
با تحقیقات صورت گرفته روی این نوع سیستمهای بیوراکتور، نوع غوطه وری مداوم با یک غشای نگهدارنده (شبهه) از لحاظ هزینه واحد تولید بهتر از انواع دیگر بود. در بیوراکتور غوطه وری مداوم بدون غشاء رشد مقداری کند می شود که به دلیل کمبود اکسیژن است. مسئله اساسی این است که در حالت با شبکه گیاهچه به طور دائم در تماس با محیط کشت و از طرف دیگر با هوا می باشد که این منجر به رشد و تکثیر بیشتر گیاهچه می شود. تعداد ریز نمونه مورد استفاده در هر بیوراکتور با توجه به حجم ظرف کشت بیوراکتور و گیاه مورد نظر می تواند متفاوت باشد. مثلاً در مورد سیب زمینی برای بیوراکتورهای ۱۰ لیتری حدود ۵۰ تا ۶۰ ریز نمونه گره ای مناسب تشخیص داده شده

است (Chun Piao X., Chakrabarty D., Joo Hann E., and Yo eup Paek K. 2003). همچنین استفاده از تنظیم کننده های رشد (BAP) و تعداد تعویض محیط کشت مورد بررسی قرار گرفت که استفاده از محیط کشت با BAP و افزایش تعداد تعویض محیط کشت برای دو یا سه بار در مدت ۸ هفته می تواند روی افزایش ریز غده زایی به خصوص وزن و اندازه غده ها موثر باشد.

در غوطه وری موقت در محیط مایع، کارایی تکثیر و رشد و نمو گیاهچه ها خوب است و عیب عمده آن این است که مقدار هزینه بالاتری مصرف می شود. در حال حاضر از بیوراکتورها برای ریزازدیادی تجاری در گیاهان زینتی پیازدار، آناناس، سیب زمینی، و درختان جنگلی به این روش تکثیر می شوند و با استفاده از بیوراکتور توانسته اند قیمت واحد را برای گیاهان علفی از ۰٫۱۷ دلار به ۰٫۰۶ تا ۰٫۰۷ دلار کاهش دهند.

منابع:

- 1- Chun Piao X., Chakrabarty D., Joo Hann E., and Yo eup Paek K. " A Simple Method for Mass Production of Potato Microtubers Using a Bioreactor System"; Current Science; Volume 84; No. 8; 2003.
- 2- Jay, V., S. Genestier, and J. C. Courduroux. 1994. Bioreactor studies on the effect of medium pH on carrot (*Daucus carota* L.) somatic embryogenesis. Plant Cell Tissue Organ Culture 36:205-209.
- 3- Lili en-Kipnis, H. N. Azizbekova, and M. Ziv. 1994. Scaled-up proliferation and regeneration of Nerine in liquid cultures. Part II. Ontogeny of somatic embryos and bulblet regeneration. Plant Cell Tissue Organ Culture 39:117-123.
- 4- Sarkar, D. (2001a). About potato tissue culture. J. DSE- PGR and Biotechnol. 6:1-5.
- 5- Takayama, S., and M. Akita. 1994. The types of bioreactors used for shoots and embryos. Plant Cell Tissue Organ Culture 39:147-156.
- 6- Ziv M. " Bioreactor Technology for Plant Micro propagation " ; Horticultural Reviews ; Volume 24 ; Edited by Jules Lanick ; Loh n Wiley & Sons , Inc ; 2000 .



طرح یک بیوراکتور غوطه وری دائم (A و B) و غوطه وری موقت (C)

 A: کشت گیاهچه نمونه برداری، B: کشت گیاهچه دائم، C: کشت گیاهچه دائم، D: زمان سنج، E: خروجی هوا،

Application of bioreactors for mass production of potato microtuber

Mansoor Saljooghian pour, Amin Niroomanesh

Tehran University-Agriculture faculty (Karaj)-cultivation and plant breeding Department- P.O Box: 31578-11167

E-Mail: Mansoor_781@yahoo.com

Abstract:

Potato is a plant that has vegetative propagation. This vegetative propagation causes to transfer diseases and particularly virus's diseases from a generation to other generation. Because of this, at first, it must provide virus-free plantlets to produce mass microtubers to cultivate in the field. In this state, at first, it must produce plantlets using of meristem culture, and then, stock plant inoculates the bioreactor for growth and multiplication of plantlets.

Bioreactors that been used for potato, according to explants culture, are divided to two main groups. The first group is temporary immersion bioreactors that are called ebb & flood bioreactors, too. The second group is continuous immersion bioreactors that are divided to two subgroups with net and without net bioreactors (figure).

Microtubers of potato were induced by a two-step culture method. In the first step(step A), the stock plants were inoculated in the bioreactor for growth and multiplication of plantlets. After four weeks, the medium was replaced with a new one to proceed to step B for microtuber induction. Increasing the medium's replacement number to two or three times during eight weeks can affect increasing microtuberization and particularly weight and size of microtubers.

Key words: bioreactors, potato, microtuberization, meristem culture

SID



سرویس های ویژه



سرویس ترجمه تخصصی



کارگاه های آموزشی



بلاگ مرکز اطلاعات علمی



سامانه ویراستاری STES



فیلم های آموزشی

کارگاه های آموزشی مرکز اطلاعات علمی



مقاله نویسی علوم انسانی
تربیه آموزشی

مقاله نویسی علوم انسانی



اصول تنظیم قراردادها
تربیه آموزشی

اصول تنظیم قراردادها



آموزش مهارت های کاربردی در تدوین و چاپ مقاله
تربیه آموزشی

آموزش مهارت های کاربردی در تدوین و چاپ مقاله