پایان‌نامه‌ی کارشناسی ارشد: حمید پویایی فر، ۱۳۹۴

استفاده از نشانگر مولکولی RAPD برای تنوع سوماکلونال در گیاهچه‌های حاصل از کشت بافت دو رقم سیب زمینی مارفونا و سینورا

در این پژوهش، تنوع سوماکلونال در گیاهچه‌های حاصل از کشت بافت دو رقم سیب‌زمینی با استفاده از نشانگر مولکولی RAPD مورد ارزیابی قرار گرفت. بعد از ارزیابی اثر تنظیم‌کننده‌های مختلف رشد بر القاء کالوس در ریزنمونه‌های ساقه گیاهچه‌های حاصل از کشت مریستم سیب‌زمینی دو رقم سینورا و مارفونا، وقوع تغییرات ژنتیکی احتمالی در شاخساره‌های باززا شده از کالوس با استفاده از مارکر RAPD ارزیابی گردید. سطوح مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد در مرحله القاء کالوس شامل 1 mg/l 2,4-D، 1 mg/l NAA + 0.5 mg/l BAP، 1 mg/l 2,4-D + 0.5 mg/l BAP ، 1 mg/l IBA، NAA و 1 mg/l IBA + 0.5 mg/l BAP بودند. نتایج نشان داد که رقم مارفونا از درصد القاء کالوس، قطر کالوس و وزن تر کالوس بیشتری نسبت به رقم سینورا برخوردار بود. بیشترین درصد القاء کالوس، قطر کالوس و وزن تر کالوس در رقم مارفونا در محیط کشت حاوی 1 میلی‌گرم در لیتر D-2,4 مشاهده شد. اما در رقم سینورا، کاربرد 1 میلی‌گرم در لیتر IBA و 0/5 میلی‌گرم در لیتر BAP بیشترین درصد القاء کالوس، قطر کالوس و وزن تر کالوس را به خود اختصاص داد. تفاوت آماری معنی‌داری بین تیمارهای 1 میلی‌گرم در لیتر D،-2,4 NAA و IBA در رابطه با درصد القاء کالوس در رقم مارفونا وجود نداشت. کالوس تکثیر شده در محیط کشت انتخابی، جهت باززایی غیرمستقیم شاخساره به محیط کشت MS حاوی 1 میلی‌گرم در لیتر BAP و 0/1 میلی‌گرم در لیتر NAA منتقل شد. پس از رشد کافی شاخساره‌ها، از روش تغییریافته دلاپورتا برای استخراج DNA برگ گیاهچه‌های حاصل از کشت مریستم و همچنین شاخساره‌های باززا شده از کشت کالوس در ارقام مارفونا و سینورا استفاده شد. بعد از بهینه سازی شرایط، PCR هر دو رقم با 10 پرایمر RAPD اختصاصی گیاه سیب زمینی انجام شد. از 213 باند بدست آمده، 121 باند، حاصل کشت مریستم دو رقم سینورا و مارفونا و 92 باند، حاصل باززایی از کشت کالوس بود. ارزیابی تفکیک باندهای حاصل از هر پرایمر بطور جداگانه، حاکی از کاهش تعداد قطعات و افزایش اندازه آنها بود و این نشان دهنده ایجاد تغییر در توالی های این دو رقم به خاطر ایجاد تنوع سوماکلونال بوده است.

کلیدواژه‌ها: تنوع ژنتیکی، چند شکلی، کلزا، واکنش زنجیره‌ای پلی مراز، RAPD

شماره‌ی پایان‌نامه: ۱۲۷۵۰۳۲۲۹۲۲۰۰۸
تاریخ دفاع: ۱۳۹۴/۱۱/۲۶
رشته‌ی تحصیلی: مهندسی کشاورزی
دانشکده: کشاورزی و دامپزشکی
استاد راهنما: دکتر جعفر وطن دوست

استاد مشاور: دکتر متین جامی معینی

M.A. Thesis:

the use of RAPD marker for somaclonal Diversity tissue culture derived plantlets of two potato cultivars

In this study, somaclonal variation in plantlets resulted from tissue culture of two potato cultivars were evaluated using RAPD molecular marker. Following evaluation the effects of different levels of growth regulators on callus induction in Marfona and Sinora potato cultivars, possible occurrence of genetic changes in shoots regenerated from callus was assessed using RAPD marker. So, after sufficient growth of shoots, Dellaporta modified method for DNA extraction was used. DNA extracted from leaves of plantlets resulted from meristem culture and plantlets regenerated from callus culture of Marfona and Sinora potato cultivars. After optimizing the conditions, PCR of both potato cultivars was performed with 10 ISSR primers. The results showed that among total 213 bands achieved, 121 bands related to meristem culture of two potato cultivars and 92 bands belong to shoot regeneration from callus culture. Assessment of banding pattern of each primer suggests reducing the number and increase of the size of bands. This represents a change in the sequence of these two potato cultivars due to the creation of somaclonal variation.