

واکنش چهار رقم تجاری سیب زمینی به ترکیبات متفاوت تنظیم کننده های رشد گیاهی در کشت مرستم و تولید گیاه های عاری از ویروس

Response of four commercial potato cultivars to different combinations of plant growth regulators in meristem culture and production of virus free plantlets

طه رودبار شجاعی^۱، نیاز علی سپهوند^۲، منصور امیدی^۳، عبدالله محمدی^۴ و حمیدرضا عبدی^۵

چکیده

رودبار شجاعی، ط، ن. ع. سپهوند، م. امیدی، ع. محمدی و ح. ر. عبدی. واکنش چهار رقم تجاری سیب زمینی به ترکیبات متفاوت تنظیم کننده های رشد گیاهی در کشت مرستم و تولید گیاه های عاری از ویروس. مجله علوم زراعی ایران. ۱۱ (۱): ۳۳-۳۵.

میزان قابل توجهی از تولید بذر سیب زمینی در دنیا از طریق ریز غده های عاری از ویروس کشت بافتی انجام می شود، بنابراین بررسی بر روی ارقام تجارتی سیب زمینی جهت تولید ریز غده های عاری از ویروس سیب زمینی ضروری می باشد. در این مطالعه اثر هورمون های مختلف BA و KIN در سه غلظت ۰/۰، ۰/۱ و ۱ میلی گرم در لیتر و GA₃ در چهار غلظت ۰/۰، ۰/۱، ۱ و ۱۰ میلی گرم در لیتر، به تنهایی و ترکیبات آنها در کشت مرستم سیب زمینی بر چهار رقم زراعی آگریا، مارفونا، سانه، و بون مورد بررسی قرار گرفت. پس از آن گیاهچه های تولید شده به منظور بررسی بهترین محیط انتقال مجدد به محیط های نیمه جامد حاوی چهار ترکیب هورمونی مختلف منتقل شدند. بر روی گیاهچه های بدست آمده تست الیزا انجام شد و گیاهچه های عاری از ویروس به گلخانه منتقل و پس از حدود ۳۰ روز، صفت تعداد مریستم، تیوبر در هر رقم اندازه گیری شد. برای رقم بون، محیط حاوی ۱ میلی گرم در لیتر GA₃، بهترین ترکیب هورمونی برای کشت مرستم بود و برای رقم آگریا بهترین ترکیب هورمونی، محیط حاوی ۰/۱ میلی گرم در لیتر GA₃ بود. در هر دو رقم مارفونا و سانه بهترین ترکیب هورمونی، محیط حاوی ۰/۱ میلی گرم در لیتر KIN به اضافه ۱ میلی گرم در لیتر GA₃ بود. در مرحله انتقال مجدد گیاهچه های حاصل از کشت مرستم، بهترین ترکیب برای ارقام بون، آگریا و مارفونا ۰/۱ میلی گرم در لیتر IBA به علاوه ۰/۱ میلی گرم در لیتر BA و ۱ میلی گرم در لیتر GA₃ و برای رقم سانه ۰/۱ میلی گرم در لیتر IBA به علاوه ۰/۱ میلی گرم در لیتر GA₃ بود. رقم مارفونا بیشترین تعداد مینی تیوبر و رقم آگریا کمترین تعداد مینی تیوبر را داشتند.

واژه های کلیدی: سیب زمینی، هورمون، کشت مرستم، گیاه عاری از ویروس، مریستم.

تاریخ درج: ۱۳۹۳/۰۵/۰۵

۱- دانشجوی کارشناس ارشد دانشگاه آزاد اسلام، واحد کرج (مکاتبه کننده).

۲- دانشیار علم، باغات علم، باغات اصلاح و تهیه نهال و بذر.

۳- دانشیار علم، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، کرج، دانشگاه تهران.

۴- دانشیار علم، دانشگاه آزاد اسلام، واحد کرج.

۵- دانشیار علم، باغات علم، باغات اصلاح و تهیه نهال و بذر.

چکیده

زمین‌های زراعی با نام علمی *Solanum tuberosum* L. اتوتتراپلوئید و هتروزیگوس بوده و بومی نیمکرهٔ شمالی و منشأ آن ارتفاعات سلسله جبال آند در آمریکای جنوبی (کشورهای پرو، بولیوی، کلمبیا و اکوادور) است (Woolf, 1986). عملکرد سیب‌زمینی در واحد سطح بسیار بالا می‌باشد و از لحاظ گسترش سطح کشت، حدود ۱۰ درصد از درت در جهان دوم قرار داشته و دومین منبع غذای انسان است (Wiersema, 1985). سیب‌زمینی بعد از گندم، برنج، ذرت و جو پنجمین محصول کشاورزی دنیا است. سطح زیر کشت این گیاه در دنیا در سال ۲۰۰۷ حدود ۱۰ میلیون هکتار و تولید آن به ۱۰۰/۱۰۰ میلیون تن رسید (FAO, 2007). سطح زیر کشت سیب‌زمینی در ایران در سال ۱۳۸۵ حدود ۱۰۰۰۰ هکتار و تولید آن ۱۰۰۰۰ هزار تن با عملکرد معادل ۱۰۰۰۰ کیلوگرم در هکتار بود (نام، ۱۳۸۵). در شرایط طبیعی بالغ بر ۱۰۰ ویروس و یک ویروئید، غده‌های سیب‌زمینی را آلوده می‌سازند که از این ویروس‌ها، ویروس‌های X، Y، S در آلوده‌سازی سیب‌زمینی و ایجاد خسارت نقش بیشتری دارند. بر اساس مطالعات انجام شده خسارات ویروسی به محصول سیب‌زمینی تا ۱۰۰٪ می‌رسد. الودگی به ویروس PVX حدود ۱۰٪ از عملکرد سیب‌زمینی می‌کاهد (Mellor and Stace-Smith, 1987) و یا آلودگی Y ویروس سیب‌زمینی باعث کاهش عملکرد حدود ۱۰٪ می‌شود (de Bokx and Vander Want, 1987). در کشور ما تقریباً تمامی غده‌های سیب‌زمینی مورد استفاده برای کشت دارای آلودگی ویروسی می‌باشند و به ندرت می‌توان در سطح کشور مزرعه‌ای عاری از ویروس

در گیاهان آلوده به ویروس معمولاً ناحیه مرستم گیاه غلظت پائینی از ویروس داشته یا عاری از ویروس است. سیب‌زمینی یکی از اولین محصولات غذایی مهم جهان است که تا به حال روش‌های متنوع و متعددی از کشت بافت در آن با موفقیت صورت گرفته است (Wersuhn and Dathe, 1998).

اولین بار وا (White, 1943) تولید گیاهان عاری از ویروس را با استفاده از کشت بافت گزارش داد. وی ملاحظه نمود که در قسمتهای جوان ریشه گوجه فرنگی آلوده به ویروس موزاییک تراکم ویروسها از یکدیگر پیرتر ریشه کمتر است (White, 1943). روکا و همکاران (Roka et al., 1978) در محیط MS و با استفاده از BAP، GA3 و NAA تحت شرایط دمایی ۲۰-۲۵ درجه سانتی‌گراد و ۱۶ ساعت نور با شدت ۱۰۰۰۰ لوکس در مراحل مختلف از کشت تا کاشت گیاه کامل بدست آوردند (Anjam et al., 1998). تهیه کلونهای عاری از ویروس سه مرحله‌ای است: با استفاده از کشت بافت، اتم انتهایی، توسط برخی از محققین در ایران انجام شده است (Wang and Hu, 1982; Wright, 1983).

ب و همکاران (Nagib et al., 2003) بیان کرد که بهترین محیط برای کشت مرستم، محیط مایع حاوی ۱/۱ میلی گرم در لیتر GA3 به علاوه ۱/۱ میلی گرم در لیتر KIN است و در مرحله انتقال مجدد بیشترین تعداد شاخه، بیشترین تعداد ریشه و بیشترین ارتفاع ساقه در محیط نیمه جامد حاوی ۱/۱ میلی گرم IBA به علاوه ۱/۱ میلی گرم BA بدست می‌آید. نتایج ساجد و همکاران (Sajid et al., 1986) مک دونالد (Macdonald, 1983) پائت و زامورا (Paet and Zamora, 1990) و

1- Murashige and Skoog
2- Benzyl-Amino Purine
3- Gibberlic Acid
4- Naphthalene Acetic Acid

5- Furfuryl Amino Purine
6- Indole Butyric Acid
7- Butyric Acid

چنین برارون و همکاران (Brown et al., 1988) نشان دادند که محیط برای کشت مریستم، محیط حاوی میلی گرم در لیتر IAA به علاوه / میلی گرم در لیتر GA3 و / میلی گرم در لیتر KIN است. (Merja and Stasa, 1997) نیز نشان داد که بهترین رشد مریستم در محیط های حاوی NAA و IAA و KIN بود. پژوهنده (نشان داد که بهترین محیط انتقال پژوهنده) بدون هورمون است.

گودوین و همکاران (Goodwin et al., 1980) حق و همکاران (Haque et al., 1996) و سارکر و (Sarker and Mustafa, 2002) نشان دادند که هورمون GA3 نقش اساسی در تکثیر گیاهچه های حاصل از کشت مریستم دارد. مدرس ثانوی و جام (Modarres Sanavy and Jami Moeini, 2003) نشان دادند که رقم اگر کمتر و رقم مارفونا یا بر تعداد مبر در هر بوته را در بین ارقام مورد بررسی کنند. با توجه به اهمیت بذر سالم سبب در افزایش عملکرد و با توجه به اینکه برنامه های بذر بذر سالم از طریق ریز ازدیادی و تولید برای کاهش یا قطع وابستگی به واردات بذر در کشور در حال اجرا می باشد، این تحقیق به منظور تعیین واکنش چهار رقم سبب زمره تجارت به ترکیبات و بهم کننده های رشد گیاه در کشت مریستم و تولید گیاه عاری از ویروس اجرا شد.

مواد و روش

به منظور بررسی و تعیین ترکیب هورمون برای کشت مریستم و تولید گیاه عاری از ویروس سیب زمینی غده های چهار رقم زراع برون،

اگر با، مارفونا، و سانه در کلخانه، بخش تحقیقات سیب زمینی، پیاز و حبوبات ابی سسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر در گلدان کاشته شد. پس از حدود یک ماه ساقه ها برداشت شد و بعد از قطعه قطعه نمودن آنها به مدت ثانیه در الکل و سپس، دقیقه در محلول (واکتس) به همراه دو قطره توین قرار داده شد و با اب مقطر استریل شسته شدند. در زیر لامینارفلو به وسیله اسکالپل و سوزن مریستم هایی به اندازه / / متر جدا شدند و با استفاده از لوپ به لوله های آزمایشگاهی، روی پلهای کاغذی حاوی محیط MS مایع شامل ترکیبات مختلف از دو تنظیم کننده رشد BA و KIN در سه غلظت / و / میلی گرم در لیتر و بهم کننده رشد GA3 در چهار غلظت / و / میلی گرم در لیتر در مجموع بمار در قالب طرح کاملاً تصادفی با ده تکرار بررسی شد. پس از کشت لوله های آزمایش به اتاقک رشد با دمای درجه سانتیگراد و دوره نوری ساعت روشنایی (با شدت نور - -) و ساعت تاریکی انتقال یافتند. بعد از شاخه ها از نظر صفت ارتفاع ساقه یادداشت برداری شدند. به منظور بررسی بهترین محیط کشت برای انتقال گیاهان رشد کرده توسط کشت مریستم، چهار ترکیب هورمونی محیط نیمه BA / میلی گرم در لیتر IBA، محیط کشت حاوی / میلی گرم در لیتر IBA به علاوه / میلی گرم در لیتر GA3 و محیط کشت حاوی / میلی گرم در لیتر BA به علاوه / میلی گرم در لیتر IBA و / میلی گرم در لیتر GA3 مورد استفاده قرار گرفتند. گیاهان رشد کرده مورد ازمون ELISA قرار گرفتند تا از گیاهان عاری از ویروس در مراحل بعدی کار استفاده گردد. به منظور یکنواخت شدن گیاهچه ها،

طرح کاملاً تصادفی تجزیه واریانس

گیاهچه های عاری از ویروس به محیط MS جامد بدون هورمون منتقل و پس از رشد مناسب، برای انتقال به گلخانه آماده شدند. به این منظور از گلدانهای سانتیمتری حاوی ترکیب خاکی پیت موس و شن به نسبت ۱:۱ استفاده شد. پس از گذشت حدود ۱۰ روز مینی تیوبر ها برداشت شده و صفت تعداد مینی تیوبر ها یادداشت برداری شد. تجزیه بدست آمده به وسیله نرم افزارهای آماری SAS و MINITAB بر اساس موازات

نتایج و بحث

تجزیه واریانس داده های مربوط به ارقام در مرحله کشت مریستم نشان می دهد که تیمارهای مختلف هورمونی اثر خفیفی معنی داری ($P < 0.01$) بر روی ارقام داشتند (جدول ۱).

جدول ۱- تجزیه واریانس برای طول ساقه ارقام سیب زمینی در مرحله کشت مریستم.

Table 1. Analysis of variance for stem length in potato cultivars in meristem culture

S.O.V.	درجه آزادی	مربعات	احتمال	
	df	MS	F	Probability
		Burren	بورن	
Treatment تیمار	23	161.758	38.56	<.0001**
Error	216	4.195		
		Agria	اکریا	
Treatment تیمار	23	262.365	119.79	<.0001**
Error	216	2.190		
		Marfona	مارفونا	
Treatment تیمار	23	250.738	77.48	<.0001**
Error	216	3.236		
		Sante	سانت	
Treatment تیمار	23	434.867	98.20	<.0001**
Error	216	4.428		

** Significant at the 1% probability level.

** معنی دار در سطح ۱٪



شکل ۱- مریستم های رشد کرده در محیط مایع

Fig.1. Meristem grown in liquid medium

برای رقم بورن و اگریا سیب محیطی که حاوی و ترکیب هورمونی، محیط حاوی میلی گرم در لیتر KIN به اضافه میلی گرم در لیتر GA3 بود (جدول ۲). ول در ارقام مارفونا و سانته بهترین

جدول ۲- طول ساقه ارقام سیب زمینی تجاری در مرحله کشت مریستم در تیمارهای مختلف هورمونی.

Table 2. Means comparison of stem length of commercial potato cultivars in different hormonal treatments in meristem culture stage.

Treatment	Means of stem length (mm) (میانگین طول ساقه)			
	Burren بورن	Agria اگریا	Marfona مارفونا	Sante سانته
MS0	3.20 fg	5.80 ij	3.40 lmno	3.70j
0.5 KIN	1.80 g	2.00 lm	5.60 jkl	3.00j
1 KIN	1.80 g	3.50 kl	2.70 no	2.00j
0.5 BA	2.00 g	1.90 lm	3.10 mno	2.00j
0.5 BA + 0.5 KIN	3.30 fg	2.70 lm	1.50 o	3.20j
0.5 BA + 1 KIN	1.80 g	2.00 lm	5.10 jklm	2.30j
1 BA	1.30 g	1.90 lm	2.40 no	2.40j
1 BA + 0.5 KIN	2.10 g	1.50 m	1.80 o	2.90j
1 BA + 1 KIN	1.90 g	2.60 lm	3.00 mno	2.40j
2 GA3	14.80 a	7.50 fghi	6.10 ijk	17.10 bcd
2 GA3 + 0.5 BA	11.40 b	7.80 fghi	10.00 fg	15.90 cde
2 GA3 + 1 KIN	10.30 bc	5.70 ij	10.20 ef	11.40 gh
2.5 GA3	9.40 bcd	22.80 a	13.50 bcd	14.30 ef
2.5 GA3 + 0.5 BA	8.10 cde	8.20 efg	11.40 def	14.10 ef
2.5 GA3 + 1 BA	7.20 de	3.40 klm	9.10 fgh	7.70 i
3 GA3	11.00 b	15.60 b	12.40 cde	15.10 de
3 GA3 + 0.5 BA	6.70 e	8.90 def	7.90 ghi	14.60 def
3 GA3 + 1 BA	3.40 fg	6.10 hij	15.60 b	4.30 j
2 GA3 + 0.5 KIN	10.70 bc	9.20 def	11.30 def	19.60 ab
2 GA3 + 1 KIN	3.40 fg	5.00 jk	7.20 hij	18.30 bc
2.5 GA3 + 0.5 KIN	7.10 de	10.30 d	10.50 ef	13.60 efg
2.5 GA3 + 1 KIN	10.10 bc	10.00 de	13.80 bc	10.40 h
3 GA3 + 0.5 KIN	9.60 bcd	13.80 c	20.40 a	21.30 a
3 GA3 + 1 KIN	5.80 ef	6.90 ghi	4.20 klmn	12.10 fgh

میانگین هایی، در هر ستون، که حداقل دارای یک حرف مشترک می باشند بر اساس آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال ۱٪ اختلاف معنی داری ندارند.

Means, in each column, followed by at least one letter in common are not significantly different at 1% probability level-using Duncan's Multiple Range Test.

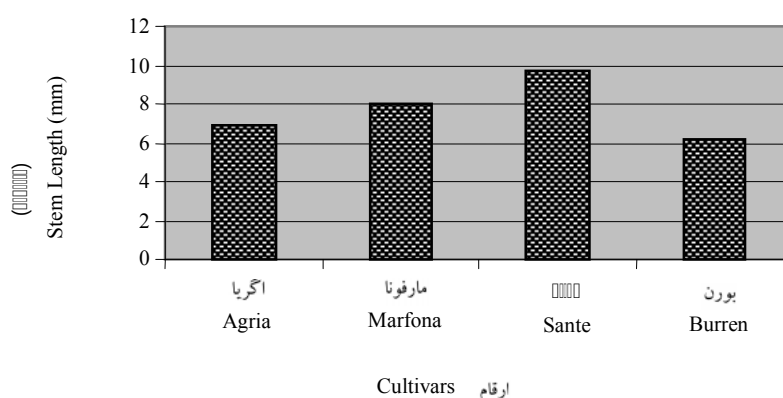
غلظت های بالای GA3 به تنهایی و یا در ترکیب با غلظت های پایین اکسین و سایتوکینین بدست آمد. نشان می دهد هنگامی که از این هورمون استفاده نشد و یا در ترکیب هورمونی وجود نداشت، مریستم رشد خیلی کم و یا ضعیفی نشان داد. هورمون GA3 در رشد طولی ساقه و رشد مریستم یا جوانه می شود. همانطور که نتایج نشان می دهد در تمام ارقام ضعیف ترین عکس العمل رشدی مریستم در تیمارهای

در ارقام بورن و اگریا هورمون BA باعث افزایش در رشد مریستم و هورمون KIN باعث کاهش در رشد در ارقام مارفونا و سانته BA باعث کاهش و KIN باعث افزایش در رشد مریستم شد. نتایج نشان داد که استفاده از تنظیم کننده های رشد گیاهی در کشت مریستم گیاه سیب زمینی ضروری است. همانطور که ذکر شد هورمون GA3 نقش اساسی در کشت مریستم و رشد آن در تمام ارقام ایفاء کرد. بیشترین رشد در

دلیل آن ممکن است تفاوت در ارقام و غلظت های هورمونی مختلف مورد بررسی در این آزمایش ها باشد. تاثیر به سزایی در بوجود آمدن این تفاوت ها داشت. همانطور که نشان داده شد ارقام متفاوت، پاسخ های متفاوتی به تنظیم کننده های رشد گیاهی داشتند و دلیل عمده تفاوت های مشاهده شده میان این آزمایش و نتایج پژوهشگران فوق الذکر ممکن است به دلیل تفاوت در ارقام مورد بررسی باشد. البته تفاوت در شرایط آزمایشی نیز می تواند تاثیر گذار باشد.

طول ساقه ارقام مورد بررسی در مرحله کشت بستم، نشان داد که رقم سانه بیشترین و ارقام بورن و آگریا کمترین پاسخ را به کشت مریستم سبب زمینی داشتند. (شکل ۲).

بدون هورمون GA3 بود، که در مقایسات میانگین در گروه های خیلی پایین تری قرار گرفتند (جدول ۱). پژوهشگران متعددی به نیاز به غلظت بالای هورمون GA3 و غلظت پایین هورمون های اکسین و سایتوکینین در کشت مریستم اشاره داشته اند، که نتایج ما نیز آنرا تایید کردند (Nagib et al., 2003; Sajid et al., 1986; Macdonald, 1983; Paet and Zamora, 1990; Brown et al., 1988). البته نتایج بدست آمده در این آزمایش با نتایج سایر محققان (Sajid et al., 1986; Nagib et al., 2003) ساجد و همکاران (Macdonald, 1983)، پائت و زامورا (Paet and Zamora, 1990)، براون و همکاران (Brown et al., 1988) و مرجا و استاسا (Merja and Stasa, 1997) تفاوت دارد.



شکل ۲- طول ساقه در ارقام سبب زمینی مورد بررسی در مرحله کشت مریستم.

Fig. 2. Stem length of potato cultivars in meristem culture stage.

تعداد ریشه و تک گره، مشاهده شد که بهترین تیمار برای طول ساقه، تیمارهای شماره ۱ و ۲ که به ترتیب ترکیب هورمونی ۱/۱ میلی گرم در لیتر هورمون IBA و ۱/۱ میلی گرم در لیتر هورمون GA3 و ۱/۱ میلی گرم در لیتر هورمون IBA و ۱/۱ میلی گرم در لیتر هورمون BA و ۱/۱ میلی گرم در لیتر هورمون GA3 بودند. در همین رقم بهترین تیمار برای تعداد تک گره، تیمار شماره ۱

تجزیه واریانس داده ها نشان داد که اثر رقم، تیمار و اثر متقابل رقم * تیمار بر طول ساقه معنی دار بود، این بدین معنی است که طول ساقه، تعداد تک گره و تعداد ریشه تحت تاثیر رقم، محیط کشت (تیمار) و اثر متقابل رقم * محیط کشت (تیمار) قرار گرفت (جدول ۱).

در رقم بورن با بررسی میانگین صفات طول ساقه،

جدول ۱- تجزیه واریانس طول ساقه، تعداد تک گره و ریشه در ارقام سیب زمینی در محیط نیمه جامد حاوی غلظت و ترکیبات مختلف هورمونی.

Table 3. Analysis of variance of the stem length and number of single node and root in potato cultivars in semi-solid media containing different hormonal concentrations and combinations.

S.O.V	درجه آزادی	میانگین مربعات	F	سطح احتمال
	DF	MS		Probability level
Stem length طول ساقه				
Treatments (T)	3	4363.506	46.51	<.0001**
Cultivar (C)	3	2786.489	29.70	<.0001**
Tt × Cr	9	683.711	7.29	<.0001**
Error	144	93.813		
Number of single node تعداد تک گره				
Treatments (T)	3	8.922	11.84	<.0001**
Cultivar (C)	3	10.322	13.70	<.0001**
Tt × Cr	9	8.856	11.75	<.0001**
Error	144	0.753		
Number of roots تعداد ریشه				
Treatments (T)	3	53.133	85.58	<.0001**
Cultivar (C)	3	23.716	38.20	<.0001**
T × C	9	21.961	35.37	<.0001**
Error	144	0.620		

** Significant at the 1% probability level.

** معنی دار در سطح ۱٪

ترکیب هورمونی ۱/۱ میلی گرم در لیتر هورمون IBA و ۱/۱ میلی گرم در لیتر هورمون BA به اضافه ۱ میلی گرم در لیتر هورمون GA3 و ۱/۱ میلی گرم در لیتر هورمون IBA به علاوه ۱/۱ میلی گرم هورمون GA3 بودند. برای صفت تعداد تک گره همه تیمارهای هورمونی در گروه بندی مقایسه میانگین ها به روش دانکن در یک گروه قرار گرفتند. در عین حال در تیمار شماره ۱ تعداد تک گره بیشتری داشت و ۱/۱ میلی گرم در لیتر هورمون IBA و ۱/۱ میلی گرم در لیتر هورمون BA به علاوه ۱/۱ میلی گرم در لیتر هورمون GA3 بود (جدول ۱). رقم اکریا در تمام ترکیبات هورمونی رشد مناسب و قابل قبولی داشت، ولی نکته قابل توجه این است که در تمام ترکیبات، به جز ترکیب هورمونی ۱/۱ میلی گرم در لیتر هورمون IBA و ۱/۱ میلی گرم در لیتر هورمون BA و ۱/۱ میلی گرم در لیتر هورمون GA3 گیاهان آلبینو شدند. بنابراین این ترکیب هورمونی برای رقم اکریا مناسب است (جدول ۱).

MS بدون هورمون و پس از آن تیمار شماره ۱ یعنی ترکیب هورمونی ۱/۱ میلی گرم در لیتر هورمون IBA و ۱/۱ میلی گرم در لیتر هورمون BA و ۱ میلی گرم در لیتر هورمون GA3 بود. بهترین تیمار برای تعداد ریشه، تیمار شماره ۱ MS بدون هورمون بود. ولی نکته قابل توجه این است که رشد در محیط MS بدون هورمون بسیار کند انجام گرفت و گیاهان بدست آمده در محیط حاوی ترکیب هورمونی ۱/۱ میلی گرم در لیتر هورمون IBA به علاوه ۱/۱ میلی گرم هورمون GA3 آلبینو شدند، در حالی که رشد در محیط حاوی ۱/۱ میلی گرم در لیتر هورمون IBA و ۱/۱ میلی گرم در لیتر هورمون BA و ۱ میلی گرم در لیتر هورمون GA3 بسیار سریع تر و مناسب تر بود و این ترکیب هورمونی برای رقم بون قابل توصیف است (جدول ۱).

در رقم اکریا (شکل ۱) مقایسه میانگین صفات طول ساقه، تعداد ریشه و تک گره، مشاهده شد که بهترین تیمار برای طول ساقه، تیمارهای شماره ۱ و ۲ که به ترتیب

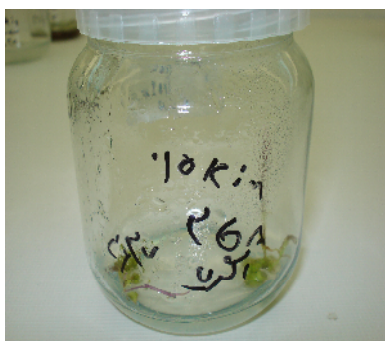
جدول ۴- مقایسه میانگین طول ساقه، تعداد تک گره و تعداد ریشه در ترکیبات مختلف هورمونی در ارقام تجاری سیب زمینی در محیط نیمه جامد.

Table 4. Mean comparison for stem length and number of nodes and roots in commercial potato cultivars in different hormonal treatments in semi-solid medium.

شماره تیمار Number of treatment	تیمار Treatment	طول ساقه (mm) Stem length (mm)	تعداد تک گره Single node number	تعداد ریشه Roots number
Burren برون				
1	MS0	50 a.38	60 a.4	60 a.1
2	0.5 BA + 0.5 IBA	50 b.18	30 c.1	40 b.0
3	0.5 IBA + 1.5 GA3	50 a.46	60 b.3	00 b.0
4	1.5 IBA + 0.5 BA + 2 GA3	00 a.41	70 ab.3	00 b.0
Agria اگریا				
1	MS0	50 b.31	00 a.3	60 c.0
2	0.5 BA + 0.5 IBA	50 b.36	50 a.3	00 c.0
3	0.5 IBA + 1.5 GA3	50 a.50	50 a.3	40 b.3
4	1.5 IBA + 0.5 BA + 2 GA3	60 a.53	00 a.4	40 a.5
Marfona مارفونا				
1	MS0	50 b.42	30 a.4	40 b.1
2	0.5 BA + 0.5 IBA	00 c.27	80 b.2	00 c.0
3	0.5 IBA + 1.5 GA3	80 ab.51	80 a.4	60 ab.2
4	1.5 IBA + 0.5 BA + 2 GA3	00 a.58	70 a.4	90 a.2
Sante سانتا				
1	MS0	00 b.49	50 b.2	00 b.1
2	0.5 BA + 0.5 IBA	00 b.38	70 a.3	00 c.0
3	0.5 IBA + 1.5 GA3	20 a.70	90 a.3	20 a.4
4	1.5 IBA + 0.5 BA + 2 GA3	00 b.51	90 a.3	30 b.1

میانگین هایی، در هر ستون، که حداقل دارای یک حرف مشترک می باشند بر اساس آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال ۱% اختلاف معنی داری ندارند.

Means, in each column, followed by at least one letter in common are not significantly different at the 1% probability level-using Duncan's Multiple Range Test.



شکل ۳- کالوس های تولید شده در ابتدای مرحله انتقال مجدد گیاهچه عاری از ویروس رقم اگریا

Fig. 3. Virus free primary callus of Agria cultivar at subculture stage

ترتیب ترکیب هورمونی / میلی گرم در لیتر هورمون
IBA به اضافه / میلی گرم در لیتر هورمون BA
اضافه / میلی گرم در لیتر هورمون GA3 و / میلی گرم

در رقم مارفونا با بررسی مقایسه میانگین صفات طول
ساقه، تعداد ریشه و تک گره، ملاحظه شد که بهترین
تیمار برای طول ساقه، تیمارهای شماره ۱ و ۲ که به

در لیتر هورمون IBA به علاوه ۰/۰ میلی گرم هورمون GA3 بودند. برای صفت تعداد تک کره تمام تیمارهای هورمونی در گروه بندی مقایسه میانگین ها به روش دانکن در یک گروه قرار گرفتند، به جز ترکیب هورمونی ۰/۰ میلی گرم در لیتر هورمون BA و ۰/۰ میلی گرم در لیتر هورمون IBA که در گروه دیگری بودند و بهترین تیمار برای تعداد ریشه، تیمار شماره ۱ و ۲ ترکیب هورمونی ۰/۰ میلی گرم در لیتر هورمون IBA و ۰/۰ میلی گرم در لیتر هورمون GA3 بود. به اضافه ۰/۰ میلی گرم در لیتر هورمون IBA به علاوه ۰/۰ میلی گرم در لیتر هورمون BA و ۰/۰ میلی گرم در لیتر هورمون GA3 بود. بهترین تیمار برای تعداد ریشه، تیمار شماره ۱ یعنی ترکیب هورمونی ۰/۰ میلی گرم در لیتر IBA و ۰/۰ میلی گرم در لیتر BA و ۰/۰ میلی گرم در لیتر GA3 بود. البته نکته مهم این است که رقم سانه در تمام ترکیبات هورمونی رشد مناسبی داشت و در هیچ یک از محیط ها پدیده آلینو دیده نشد. بدست آمده نشان داد که ترکیب اکسین و سایتوکینین به منظور تکثیر گیاهچه های حاصل از کشت مرستم مناسب نیست، در حالی که هورمون GA3 ۰/۰ میلی گرم در لیتر در این مرحله داشت (جدول ۱).

در رقم سانه (شکل ۱) با بررسی مقایسه میانگین صفات طول ساقه، تعداد ریشه و تک کره، مشاهده شد



شکل ۱- مراحل انتهایی رشد گیاهچه عاری از ویروس رقم سانه در محیط انتقال مجدد

Fig.4. Final growth stage of Sante virus free plantlet in subculture medium

(جدول ۱). نتایج بدست آمده در این آزمایش و همکاران (Nagib *et al.*, 2003) و پژوهنده (مطابق) متفاوت بود. در عین حال با نتایج گودوین و همکاران (Goodwin *et al.*, 1980)، حق و همکاران (Haque *et al.*, 1996) و سارکر و مصطفی

در این مرحله گیاهچه ها تولید کالوس کردند و سپس باز را شدند. وجود تنظیم کننده های رشد اکسین IBA و سایتوکینین BA به منظور تشکیل کالوس و تشکیل ریشه ها و وجود تنظیم کننده رشد GA3 ۰/۰ میلی گرم در لیتر به منظور رشد ساقه ها و باز را شدن کالوس ها الزامی بود

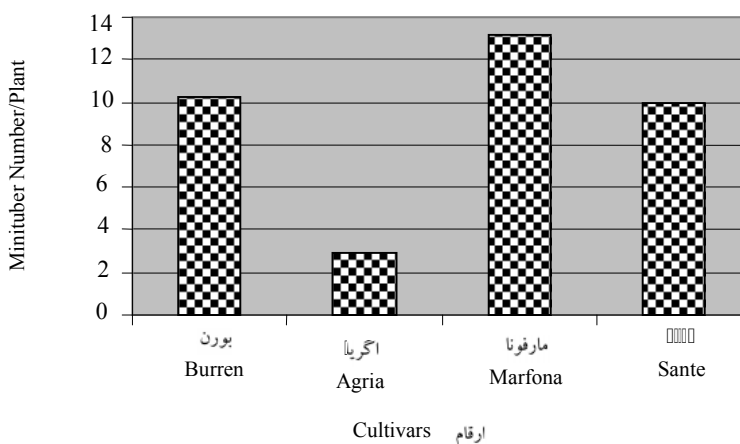
در این پژوهش، بچ مدرس ثانوی و جام، (Modarres Sanavy and Jami Moeini, 2003) را تأیید کرد. نتایج بدست آمده در این پژوهش، اساسی هورمون GA3 را در کشت بافت سیب زمینی مورد تأکید قرار داد. این پژوهش نشان داد که ارقام مارفونا و سانت به کشت مرئی، در شرایط آزمایشی دادند.

(Sarker and Mustafa, 2002) مشابه بود. با بررسی نمودار مقایسه میان تعداد مینی تیوبر در ارقام مورد بررسی، در هر بوته (شکل ۶) مشخص شد که رقم مارفونا با میانگین ۱۳/۵ تیوبر در هر بوته بیشترین تعداد مینی تیوبر، و رقم آگریا با میانگین ۲/۵ تیوبر در هر بوته کمترین تعداد مینی تیوبر را تولید کردند (شکل ۶). بچ بدست آمده



شکل ۶- مینی تیوبرهای بدست آمده از رقم سانت

Fig.6. Minituber obtained from Sante cultivar



شکل ۵- تعداد مینی تیوبر در هر بوته در ارقام مورد بررسی.

Fig.5. Minituber number per plant in commercial potato cultivars

بذر تشکر و قدردانی می شود. همچنین از جناب آقای دکتر رضا ضرغام، بابت ارائه نظرات علمی در طول اجرای پروژه سپاسگزاری می شود.

سپاسگزاری

بدینوسیله از جناب آقای مهندس رحیم احمدوند، بابت علم، تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و

منابع مورد استفاده

References

- بی نام. ۱۳۸۳. امارنامه کشاورزی. جلد اول محصولات زراعی و باغی سالهای ۱۳۸۳-۱۳۸۴. دفتر امار و فناوری اطلاعات، معاونت برنامه ریزی و اقتصادی وزارت جهاد کشاورزی.
- پژوهنده، م. ۱۳۸۳. ایجاد بانک درون شیشه ای ژرم پلاسما عاری از ویروس سیب زمینی. پایان نامه کارشناسی ارشد بیماری های گیاهی. دانشکده کشاورزی. دانشگاه تربیت مدرس.
- Anjam, M. A., M. Amjad and T. A. Villiers. 1998. Growth of potato axillary bud cultures in vitro. Pakistan J. Agri. Sci. 33: 1-4.
- Brown, C. R., S. Kwaitkowski, M. W. Martin and R. E. Thomas. 1988. Eradication of potato virus S from potato clones through excision of meristems from *in vitro* heat-treated shoot tips. American Potato J. 65: 633-638.
- de Bokx, J. A. and J. P. H. vander Want. 1987. Viruses of potato and seed-potato production. 2nd edition. Pudoc Wageningen, Netherlands. 259 pp.
- FAO. 2007. WWW.FAO.ORG.
- Goodwin, P. B., Y. C. Kim and T. Andisarwanto. 1980. Propagation of potato by shoot tip culture. Potato Res. 23: 9-18.
- Haque, M. I., M. Aminul Islam, R. H. Sarker and A. S. Islam. 1996. In vitro microtuber formation in potato (*Solanum tuberosum* L.). In Plant Tissue Culture (A. S. Islam). Oxford and IBH Publishing Co. Pvt. Ltd. New Delhi, Calcutta, pp: 221-228.
- Modarres Sanavy, S. A. M. and M. Jami Moeini. 2003. Effects of Different Hormone Combinations and planting beds on growth of single nodes and plantlets resulted from potato meristem culture. Plant Tiss. Cult. 13 (2): 145-150.
- MacDonald, D. M. 1983. Heat treatment and meristem culture as a means of freeing potato varieties from viruses X and S. Potato Res. 16: 263-269.
- Mellor, F. C. and R. Stace-Smith. 1987. Virus-free potatoes through meristem culture. In: Biotechnology in Agriculture and Forestry (Y. P. S. Bajaj). Springer-Verlag, Berlin, pp:30-39.
- Merja, D. and A. Stasa. 1997. In vitro regeneration and propagation of potato and its genetic homogeneity determination by means of protein polymorphism of tuber. ISHS Acta Horticulture, 462: 1 Balken Symposium On Vegetables and Potatoes. pp: 153.
- Nagib, A., M. F. Hossain, M. M. Alam, R. Islam and R. S. Sultana. 2003. Virus free potato tuber seed production through meristem culture in tropical asia. Asian J. of Plant Sci. 2 (8): 616-622.
- Paet, C. N. and A. B. Zamora. 1990. Efficacy of thermotherapy and group culture of isolated potato meristems for the elimination of single and mixed infection of potato virus Y, potato virus S and potato leafroll virus. Philippine J. of Crop Sci. 15: 113-118.
- Roca, W. M., N. O. Espinoza, M. R. Roca and J. E. Bryan. 1978. A tissue culture method for the rapid

- propagation of potatoes. American Potato J. 55: 691-701.
- Sajid, G. M., A. Quraishi and M. Salim. 1986.** Thermotherapy and meristem tip culture of *solanum tuberosum* for elimination of potato viruses X, S and Y. Pakistan J. of Bot. 18: 249-253.
- Sarker, R. H. and B. M. Mustafa. 2002.** Regeneration and agrobacterium-mediated genetic transformation of tow indigenous potato varieties of Bangladesh. Plant Tiss. Cult. 12: 69-77.
- Wang, P. and C. Hu. 1982.** In vitro mass tuberization and virus free seed potato production in Taiwan. American Potato J. 59: 33-37.
- Wersuhn, G. and U. Dathe. 1998.** Genome selection within cell cultures of potato and tobacco. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 54: 15-20.
- White, P. R. 1943.** Potentially unlimited growth of excised tomato root tips in a liquid medium. Plant Physiol. 9: 585-600.
- Wiersema, S. O. 1985.** Physiological development of potato seed tubers. Technical Information Bulletin 20. International Potato Center. Lima, Peru. pp. 16.
- Woolf, J. 1986.** Potato in the diet. CIP Publi. pp. 7-9.
- Wright, N. S. 1983.** Uniformity among virus-free clones of ten potato cultivars. American Potato J. 60: 381-388.

Response of four commercial potato cultivars to different combinations of plant growth regulators in meristem culture and production of virus free plantlets

Roodbar Shojaei, T.¹, N. A. Sepahvand², M. Omid³, A. Mohammadi⁴
and H. R. Abdi⁵

ABSTRACT

Roodbar Shojaei, T., N. A. Sepahvand, M. Omid, A. Mohammadi and H. R. Abdi. 2008. Response of four commercial potato cultivars to different combination of plant growth regulators in meristem culture and production of virus free plantlets. *Irania Journal of Crop Sciences*. 9 (4): 332-344.

Large amount of potato seed in the world is produced by in vitro virus free mini tubers. Therefore, evaluation of commercial varieties for production of virus free potato minituber is critical. In this study the effects of different hormones BA and KIN at three levels 0, 0.5 and 1 mg l⁻¹ and GA3 at four levels 0, 2, 2.5 and 3 mg l⁻¹ either alone or in combinations were evaluated in meristem culture of four potato cultivars; Agria, Marfona, Sante and Burren. Plantlets were sub-cultured into the semi-solid media including four hormones combinations of MS0 medium, MS medium containing 0.5 mg l⁻¹ BA + 0.5 mg l⁻¹ IBA, 0.5 mg l⁻¹ IBA + 1.5 mg l⁻¹ GA3 and MS medium containing 0.5 mg l⁻¹ BA + 1.5 mg l⁻¹ IBA + 2 mg l⁻¹ GA3 to achieve the best medium for sub-culture. Then ELISA test was conducted and virus free plantlets were selected and transferred to the greenhouse. After 90 days, number of minitubers for each cultivar were counted and recorded. The best medium for primary establishment of meristem for Burren was MS medium containing 2 mg l⁻¹ GA3, for Agria was MS medium containing 2.5 mg l⁻¹, for Marfona and Sante the best medium was MS containing 0.5 mg l⁻¹ KIN + 3 mg l⁻¹ GA3. The best media for sub-culture of virus free plantlets for meristem culture for Burren, Agria and Marfona was semi-solid MS medium containing 1.5 mg l⁻¹ IBA + 0.5 mg l⁻¹ BA + 2 mg l⁻¹ GA3 and for Sante was 0.5 mg l⁻¹ IBA + 1.5 mg l⁻¹ GA3. Marfona had the greatest and Agria the least number of minituber.

Keywords: Potato, Hormone, Meristem culture, Virus free plantlet, Sub-culture medium, Minituber.

Received: January 2008

1- M.Sc. Student, Islamic Azad University, Karaj Branch, Karaj, Iran (Corresponding author).

2- Assistant Prof., Seed and Plant Improvement Institute, Karaj, Iran.

3- Associate Prof., The University of Tehran, Karaj, Iran.

4- Assistant Prof., Islamic Azad University, Karaj Branch, Karaj, Iran.

5- Faculty Member, Seed and Plant Improvement Institute, Karaj, Iran.