

## 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<sup>۱</sup>، نیاز علی سپهوند<sup>۲</sup>، منصور امیدی<sup>۳</sup>، عبدالله محمدی<sup>۴</sup> و حمیدرضا عبدی<sup>۵</sup>

### 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 GA<sub>3</sub> 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 GA<sub>3</sub>، بهترین ترکیب هورمونی برای کشت مرستم بود و برای رقم آگریا بهترین ترکیب هورمونی، محیط حاوی ۰/۱ میلی گرم در لیتر GA<sub>3</sub> 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 GA<sub>3</sub> 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 GA<sub>3</sub> و برای رقم سانه ۰/۱ میلی گرم در لیتر IBA به علاوه ۰/۱ میلی گرم در لیتر GA<sub>3</sub> 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

زمینی زراعی با نام علمی *Solanum tuberosum L.* اتوتتراپلوئید و هتروزیگوس بوده و بومی نیمکره شمالی و منشأ آن ارتفاعات سلسله جبال آند در آمریکای جنوبی (کشورهای پرو، بولیوی، کلمبیا و اکوادور) است (Woolf, 1986). عملکرد سیب زمینی 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). سیب زمینی 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 میلیون تن رسید (FAO, 2007). سطح زیر کشت سیب زمینی در ایران در سال ۱۳۹۰ حدود ۱۰۰۰ هکتار و تولید آن ۱۰۰ هزار تن با عملکرد معادل ۱۰۰۰ کیلوگرم در هکتار بود (نام، ۱۳۹۰). در شرایط طبیعی بالغ بر ۱۰۰ ویروس و یک ویروئید، غده‌های سیب زمینی را آلوده می‌سازند که از این ویروس‌ها، ویروس‌های X، Y و S در آلوده‌سازی سیب زمینی و ایجاد خسارت نقش بیشتری دارند. بر اساس مطالعات انجام شده خسارات ویروسی به محصول سیب زمینی تا ۱۰۰٪ می‌رسد. الودگی به ویروس PVX حدود ۱۰٪ از عملکرد سیب زمینی می‌کاهد (Mellor and Stace-Smith, 1987) و یا آلودگی Y ویروس سیب زمینی باعث کاهش عملکرد حدود ۱۰٪ می‌شود (de Bokx and Vander Want, 1987). در کشور ما تقریباً تمامی غده‌های سیب زمینی 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. سیب زمینی 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 سانتی گراد و ۱۶ ساعت نور با شدت ۱۰۰۰ لوکس در مراحل مختلف از کشت تا کاشت گیاه کامل بدست آورد (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 سب زمی 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 زمی تجاری به ترکیبات و بهم کننده های رشد گیاهی در کشت مریستم و تولید گیاهی از ویروس اجرا شد.

### مواد و روش

به منظور بررسی و تعیین ترکیب هورمون برای کشت مریستم و تولید گیاهی عاری از ویروس سبب زمی غده های چهار رقم زراع برون،

اگر با، مارفونا، و سانه در کلخانه، بخش تحقیقات سیب زمینی، پیاز و حبوبات ابی سه 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 (واتکس) به همراه دو قطره تونین 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، MS، IAA، و IBA، میلی گرم در لیتر BA، IBA، میلی گرم در لیتر IBA، میلی گرم در لیتر GA3 و محیط کشت حاوی / میلی گرم در لیتر IBA به علاوه / میلی گرم در لیتر GA3 و محیط کشت حاوی / میلی گرم در لیتر IBA به علاوه / 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،

1- Indole 3- Acetic Acid  
2- Laminar Flow

3- M-bridge

طرح کاملاً تصادفی تجزیه واریانس

## نتایج و بحث

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

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 تیوبرها برداشت شده و صفت تعداد مینی تیوبرها یادداشت برداری شد. تجزیه بدست آمده به وسیله نرم افزارهای آماری SAS و MINITAB بر اساس موازات

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       |
| Error           | 216        | 4.195   | <.0001**    |
|                 | Agria      | اکریا   |             |
| Treatment تیمار | 23         | 262.365 | 119.79      |
| Error           | 216        | 2.190   | <.0001**    |
|                 | Marfona    | مارفونا |             |
| Treatment تیمار | 23         | 250.738 | 77.48       |
| Error           | 216        | 3.236   | <.0001**    |
|                 | Sante      | سانت    |             |
| Treatment تیمار | 23         | 434.867 | 98.20       |
| Error           | 216        | 4.428   | <.0001**    |

\*\* Significant at the 1% probability level.

%: معنی دار در سطح



شکل ۱- مریستم های رشد کرده در محیط مایع

Fig.1. Meristem grown in liquid medium

برای رقم بورن و اگریا با محیطی که حاوی ۱ میلی گرم در لیتر هورمون GA3 بود، بهترین ترکیب هورمونی برای رشد مریستم این ارقام ۱ میلی گرم در لیتر GA3 بود (جدول ۲). ول ۱ در ارقام مارفونا و سانت بهترین ترکیب هورمونی، محیط حاوی ۱ میلی گرم در لیتر KIN به اضافه ۱ میلی گرم در لیتر GA3 بود (جدول ۲).

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         | تیمار | Means of stem length (mm) (میانگین طول ساقه) |             |                 |            |
|-------------------|-------|----------------------------------------------|-------------|-----------------|------------|
|                   |       | Burren بورن                                  | Agria اگریا | Marfona مارفونا | Sante سانت |
| 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.

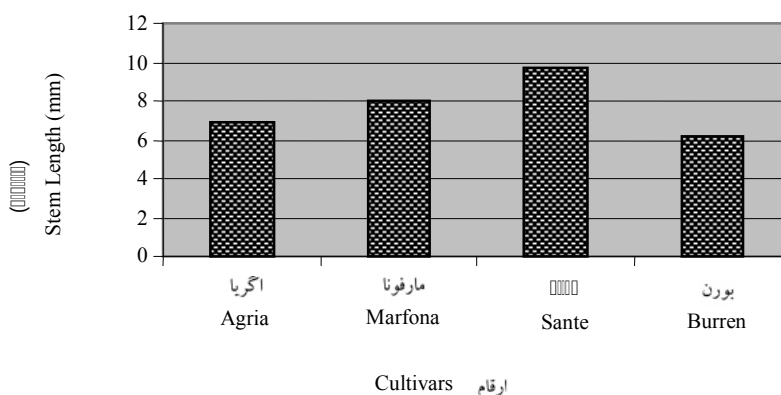
غلظت های بالای GA3 به تنهایی و یا در ترکیب با غلظت های پایین اکسین و سایتوکینین بدست آمد. نشان می دهد هنگامی که از این هورمون استفاده نشد و یا در ترکیب هورمونی وجود نداشت، مریستم رشد خیلی کم و یا ضعیفی نشان داد. هورمون GA3 با رشد طولی ساقه و رشد مریستم یا جوانه می شود. همانطور که نتایج نشان می دهد در 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 مریستم و در ارقام مارفونا و سانت به 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 آنها را 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 (Nagib et al., 2003) ساجد و همکاران (Sajid et al., 1986)، مک دونالد (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 ریشه، تیمار شماره ۱ یعنی ترکیب هورمونی ۱/۱ میلی گرم در لیتر هورمون IBA و ۱/۱ میلی گرم در لیتر هورمون BA و ۱/۱ 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 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

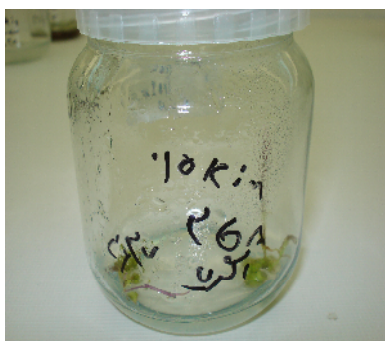
جدول ۴- مقایسه میانگین طول ساقه، تعداد تک کره و تعداد ریشه در ترکیبات مختلف هورمونی در ارقام تجاری سیب زمینی در محیط نیمه جامد.

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<br>Number of treatment | تیمار<br>Treatment       | طول ساقه (mm)<br>Stem length (mm) | تعداد تک کره<br>Single node number | تعداد ریشه<br>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 کره، ملاحظه شد که بهترین  
تیمار برای طول ساقه، تیمارهای شماره ۱ و ۲ که به

[DOR: 20.1001.1.15625540.1386.9.4.3.5]

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



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

در این مرحله گیاهچه ها تولید کالوس کردند و سپس باز زاشدند. وجود تنظیم کننده های رشد اکسین IBA و ساآتوکینب BA به منظور تشکیل کالوس و تشکیل ریشه ها و وجود تنظیم کننده رشد GA3 به منظور رشد ساقه ها و باز زاشدن کالوس ها الزامی بود

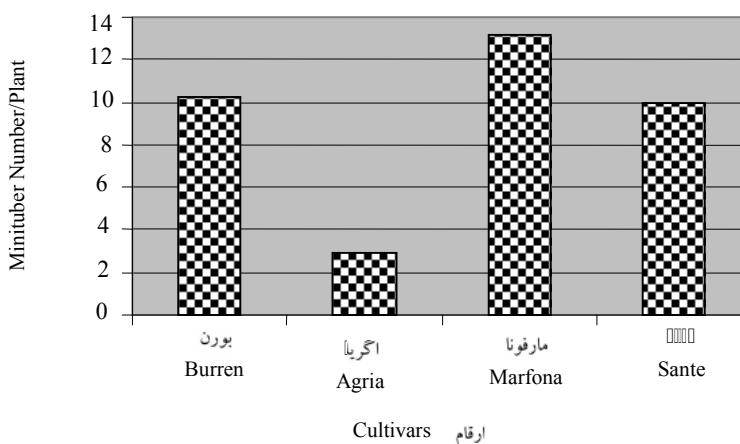
در این پژوهش، بچ مدرس ثانوی و جام، (Modarres Sanavy and Jami Moeini, 2003) را تأیید کرد. نتایج بدست آمده در این پژوهش، اساسی هورمون GA3 را در کشت بافت سیب زمینی مورد تأکید قرار داد. این پژوهش نشان داد که ارقام مارفونا و سانت به کشت مرئی، در شرایط آزمایشی دادند.

(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 مینی تیوبر در هر بوته بیشترین تعداد مینی تیوبر، و رقم آگریا با میانگین ۲ مینی 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، تخصصات 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. 2<sup>nd</sup> 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.<sup>1</sup>, N. A. Sepahvand<sup>2</sup>, M. Omid<sup>3</sup>, A. Mohammadi<sup>4</sup>  
and H. R. Abdi<sup>5</sup>

### 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<sup>-1</sup> and GA3 at four levels 0, 2, 2.5 and 3 mg l<sup>-1</sup> 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<sup>-1</sup> BA + 0.5 mg l<sup>-1</sup> IBA, 0.5 mg l<sup>-1</sup> IBA + 1.5 mg l<sup>-1</sup> GA3 and MS medium containing 0.5 mg l<sup>-1</sup> BA + 1.5 mg l<sup>-1</sup> IBA + 2 mg l<sup>-1</sup> 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<sup>-1</sup> GA3, for Agria was MS medium containing 2.5 mg l<sup>-1</sup>, for Marfona and Sante the best medium was MS containing 0.5 mg l<sup>-1</sup> KIN + 3 mg l<sup>-1</sup> 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<sup>-1</sup> IBA + 0.5 mg l<sup>-1</sup> BA + 2 mg l<sup>-1</sup> GA3 and for Sante was 0.5 mg l<sup>-1</sup> IBA + 1.5 mg l<sup>-1</sup> 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.