"مجله علوم زراعی ایران"
جلد نهم، شماره ٤، زمستان ١٣٨٦

واکنش چهار رقم تجاری سیب زمینی به ترکیبات متفاوت تنظیم کننده های رشد گیاهی در کشت مریستم و تولید گیاهچه 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[1]، نیازعلی سپهوند[2]، منصور امیدی[3]، عبداله محمدی[4] و حمیدرضا عبدی[5]

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 مریستم و تولید گیاهچه های عاری از ویروس. **مجله علوم زراعی ایران.** ۹ (۴): ۳۴۴-۳۳۲.

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 غده‌های عاری از ویروس سیب زمینی ضروری می باشد. در این تحقیق اثر هورمون های مختلف BA و KIN در سه غلظت ۰، ۰/۵ و ۱ میلی گرم در لیتر و GA3 در چهار غلظت ۰، ۲، ۲/۵ و ۳ میلی گرم در لیتر، به تنهایی و ترکیبات آنها در کشت مریستم سیب زمینی بر چهار رقم زراعی اگریا، مارفونا، سانته، و بورن 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 متفاوت منتقل شدند. سپس بر روی گیاهچه های بدست آمده تست الیزا انجام شد و گیاهچه های عاری از ویروس به گلخانه منتقل شدند و پس از حدود ۹۰ روز، صفت تعداد مینی تیوبر در هر رقم اندازه گیری شد. برای رقم بورن، محیط حاوی ۲ میلی گرم در لیتر GA3، بهترین ترکیب هورمونی برای کشت مریستم بود و برای رقم اگریا بهترین ترکیب هورمونی، محیط حاوی ۲/۵ میلی گرم در لیتر GA3 بود. در هر دو رقم مارفونا و سانته بهترین ترکیب هورمونی، محیط حاوی ۰/۵ میلی گرم در لیتر KIN به اضافه ۳ میلی گرم در لیتر GA3 بود. در مرحله انتقال مجدد گیاهچه های حاصل از کشت مریستم، بهترین ترکیب برای ارقام بورن، اگریا و مارفونا ۱/۵ میلی گرم در لیتر IBA به علاوه ۰/۵ میلی گرم در لیتر BA و ۲ میلی گرم در لیتر GA3 و برای رقم سانته ۰/۵ میلی گرم در لیتر IBA به علاوه ۱/۵ میلی گرم در لیتر GA3 بود. رقم مارفونا بیشترین تعداد مینی تیوبر و رقم اگریا کمترین تعداد مینی تیوبر را داشتند.

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

تاریخ دریافت: ۱۳۸۶/۱۰/۲۲

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج (مکاتبه کننده).
۲- عضو هیات علمی موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر.
۳- عضو هیات علمی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی کرج، دانشگاه تهران.
۴- عضو هیات علمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج.
۵- عضو هیات علمی موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر.

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1386.9.4.3.5]

مقدمه

سیب‌زمینی زراعی با نام علمی *Solanum tuberosum L.* گیاهی اتوتتراپلوئید و هتروزیگوس بوده و بومی نیمکرهٔ شمالی و منشا ان ارتفاعات سلسله جبال اند در امریکای جنوبی (کشورهای پرو، بولیوی، کلمبیا و اکوادور) می باشد(Woolf, 1986). عملکرد سیب‌زمینی در واحد سطح بسیار بالا می‌باشد، و از لحاظ گسترش سطح کشت، بعد از ذرت در جایگاه دوم قرار داشته و دومین منبع غذایی ساده بعد از تخم‌مرغ می‌باشد(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 ٢٠٠٥ حدود ٢٠ میلیون هکتار و تولید آن به ٣٢٤/٤٩ میلیون تن رسید(FAO, 2007). سطح زیر کشت سیب زمینی در ایران در سال ١٣٨٣ حدود ١٨٩٦٧٠ هکتار، تولید آن ٤٨٣٠ هزار تن با علمکرد معادل ٢٥٧٦٣ کیلوگرم در هکتار بود (بی نام، ١٣٨٤). در شرایط طبیعی بالغ بر ٢٥ ویروس و یک ویروئید، غده های سیب زمینی را آلوده می‌سازند که از این ویروس‌ها، ویروس‌های X, Y, A و S در آلوده‌سازی سیب زمینی و ایجاد خسارت نقش بیشتری دارند. بر اساس مطالعات انجام شده خسارات ویروسی به محصول سیب زمینی تا ٣٠% می‌رسد. مثلا آلودگی به ویروس PVX حدود ١٥تا٣٠% از عملکرد سیب زمینی می کاهد (Mellor and Stace-Smith, 1987) و یا آلودگی به ویروس Y سیب زمینی باعث کاهش عملکرد حدود ٥٠ تا٨٠% می شود (de Bokx and Vander Want, 1987). در کشور ما تقریبا تمامی غده‌های سیب زمینی مورد استفاده برای کشت دارای آلودگی ویروسی می‌باشند و به ندرت می‌توان در سطح کشور مزرعه‌ای عاری از ویروس یافت. در گیاهان آلوده به ویروس معمولا ناحیه مریستم گیاه غلظت پائینی از ویروس داشته یا عاری از ویروس می‌باشد. سیب زمینی یکی از اولین محصولات غذایی مهم جهان است که تا به حال روش‌های متنوع ومتعددی از کشت بافت در ان با موفقیت صورت گرفته است (Wersuhn and Dathe, 1998).

اولین بار وایت (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 قسمت های پیرتر ریشه کمتر است (White, 1943). روکا و همکاران (Roka *et al.*, 1978) در محیط MS[1] مایع تکمیل شده با BAP[2]، GA3[3] و NAA[4] تحت شرایط دمای ٢٤-٢٢ درجه سانتی گراد و ١٦ ساعت نور با شدت ١٠٠٠ لوکس در مراحل مختلف، از کشت مریستم گیاه کامل بدست آوردند (Anjam *et al.*, 1998). تهیه کلونهای عاری از ویروس سیب زمینی با استفاده از کشت مریستم انتهایی، توسط برخی از محققین دیگر نیز انجام شده است (Wang and Hu, 1982; Wright, 1983).

نجیب و همکاران (Nagib *et al.*, 2003) بیان کرد که بهترین محیط برای کشت مریستم، محیط مایع حاوی ٠/٥ میلی گرم در لیتر GA3 به علاوه ٠/٠۴ میلی گرم در لیتر KIN[5] است ودر مرحله انتقال مجدد بیشترین تعداد شاخه، بیشترین تعداد ریشه و بیشترین ارتفاع ساقه در محیط نیمه جامد حاوی ٠/٥ میلی گرم IBA[6] به علاوه ٠/٥ میلی گرم BA[7] بدست می آید. 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

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2024-04-20]
[DOR: 20.1001.1.15625540.1386.9.4.3.5]

همچنین براون و همکاران (Brown *et al.*, 1988)، نشان دادند که بهترین محیط برای کشت مریستم، محیط حاوی ۱ میلی گرم در لیتر IAA[1] به علاوه ۰/۱ میلی گرم در لیتر GA3 و ۰/۰۴ میلی گرم در لیتر KIN است. نتایج مرجا و استاسا (Merja and Stasa, 1997) نیز نشان داد که بهترین رشد مریستم در محیط های حاوی NAA و IAA و KIN بود. پژوهنده (۱۳۸۰) نشان داد که بهترین محیط انتقال گیاهچه ها محیط MS بدون هورمون است.

گودوین و همکاران (Goodwin *et al.*, 1980)، حق و همکاران (Haque *et al.*, 1996) و سارکر و مصطفي (Sarker and Mustafa, 2002) نشان دادند که هورمون GA3 نقش اساسی در تکثیر گیاهچه های حاصل از کشت مریستم دارد. مدرس ثانوی و جامي معيني (Modarres Sanavy and Jami Moeini, 2003) نشان دادند که رقم اگریا کمترین و رقم مارفونا بیشترین میانگین تعداد مینی تیوبر در هر بوته را در بین ارقام مورد بررسي توليد مي كنند. با توجه به اهمیت بذر سالم سیب زمیني در افزایش عملکرد و با توجه به اینکه برنامه های تولید بذر سالم از طریق ریز ازدیادی و تولید مینی تیوبر برای کاهش یا قطع وابستگي به واردات بذر در کشور در حال اجرا مي باشد، این تحقیق به منظور تعیین واکنش چهار رقم سیب زمیني تجارتي به ترکیبات مختلف تنظیم کننده های رشد گیاهي در کشت مریستم و تولید گیاهچه های عاری از ویروس اجرا شد.

مواد و روش ها

به منظور بررسي و تعیین بهترین ترکیب هورموني برای کشت مریستم و تولید گیاهچه های عاری از ویروس سیب زمیني غده های چهار رقم زراعي بورن، اگریا، مارفونا، و سانته در گلخانه، بخش تحقیقات سیب زمینی، پیاز و حبوبات ابی مؤسسه 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 انها به مدت ۳۰ ثانیه در الکل ۷۰% و سپس ۱۸ دقیقه در هیپوکلرید سدیم ۵% (وایتکس) ۲۰% به همراه دو قطره توین ۲۰ قرار داده شد و ۳ تا ۵ بار با اب مقطر استریل شسته شدند. سپس در زیر لامینارفلو[2] به وسیله اسکالپل و سوزن مریستم هایی به اندازه ۰/۲ تا ۰/۵ میلي متر جدا شدند و با استفاده از لوپ به لوله های آزمایشگاهی، روی پلهای کاغذی[3] حاوی محیط MS مایع شامل ترکیبات مختلف از دو تنظیم کننده رشد BA و KIN در سه غلظت ۰، ۰/۵ و ۱ میلی گرم در لیتر و تنظیم کننده رشد GA3 در چهار غلظت ۰، ۲، ۲/۵ و ۳ میلی گرم در لیتردر مجموع ۲٤ تیمار در قالب طرح کاملا تصادفی با ده تکرار بررسی شدند. پس از کشت، لوله های آزمایشي به اتاقک رشد با دمای ۲۵ درجه سانتي گراد ودوره نوری ۱٦ ساعت روشنایی (با شدت نور ٤۰۰۰-۳۰۰۰ لوکس) و ۸ ساعت تاریکی انتقال یافتند. بعد از ۳ تا ٤ هفته 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 جامد MS فاقد هورمون، ۰/۵ میلی گرم در لیتر BA به علاوه ۰/۵ میلی گرم در لیتر IBA، محیط کشت حاوی ۰/۵ میلی گرم در لیتر IBA به علاوه ۱/۵ میلی گرم در لیتر GA3 و محیط کشت حاوی ۰/۵ میلی گرم در لیتر BA به علاوه ۱/۵ میلی گرم در لیتر IBA و ۲ میلی گرم در لیتر GA3 مورد استفاده قرار گرفتند. سپس گیاهچه های 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

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2024-04-20]
[DOR: 20.1001.1.15625540.1386.9.4.3.5]

گیاهچه های عاری از ویروس به محیط MS جامد بدون هورمون منتقل شدند و پس از رشد مناسب، برای انتقال به گلخانه آماده شدند. به این منظور از گلدانهای ۲۵ سانتیمتری حاوی ترکیب خاکی پیت موس و شن به نسبت ۱ به ۱ استفاده شد. پس از گذشت حدود ۹۰ روز مینی تیوبر ها برداشت شده و صفت تعداد مینی تیوبر ها یادداشت برداری شد. نتایج بدست امده به وسیله نرم افزارهای اماری SAS و MINITAB بر اساس موازین طرح کاملا تصادفی تجزیه واریانس شدند.

نتایج و بحث

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

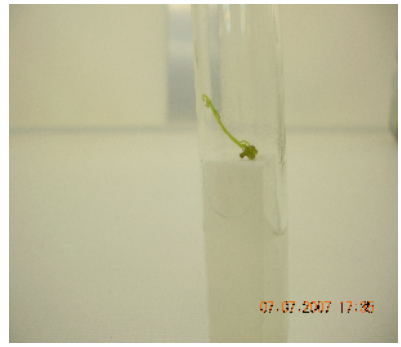
جدول۱- تجزیه واریانس برای طول ساقه ارقام سیب زمینی در مرحله کشت مریستم.

Table1. Analysis of variance for stem length in potato cultivars in meristem culture

S.O.V.	منابع تغییر	درجه آزادی df	میانگین مربعات MS	F	سطح احتمال Probability
			Burren بورن		
Treatment	تیمار	23	161.758	38.56	<.0001**
Error	خطا	216	4.195		
			Agria اگریا		
Treatment	تیمار	23	262.365	119.79	<.0001**
Error	خطا	216	2.190		
			Marfona مارفونا		
Treatment	تیمار	23	250.738	77.48	<.0001**
Error	خطا	216	3.236		
			Sante سانته		
Treatment	تیمار	23	434.867	98.20	<.0001**
Error	خطا	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

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1386.9.4.3.5]

برای رقم بورن و اگریا به ترتیب محیطی که حاوی ۲ و ۲/۵ میلی گرم در لیتر هورمون GA3 بود، بهترین ترکیب هورمونی برای رشد مریستم این ارقام می باشد(شکل ۱). ولي در ارقام مارفونا و سانته بهترین ترکیب هورمونی، محیط حاوی ۰/۵ میلی گرم در لیتر KIN به اضافه ۳ میلی گرم در لیتر GA3 بود(جدول ۲).

جدول ۲- مقایسه میانگین 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 (میلی متر)			
	Burren بورن	Agriaاگریا	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.

در ارقام بورن و اگریا هورمون BA باعث افزایش در رشد مریستم و هورمون KIN باعث کاهش در رشد مریستم شد. 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 غلظت های بالای GA3 به تنهایی و یا در ترکیب با غلظت های پایین اکسین و سایتوکینین بدست آمد. نتایج 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 باعث 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 تیمار های

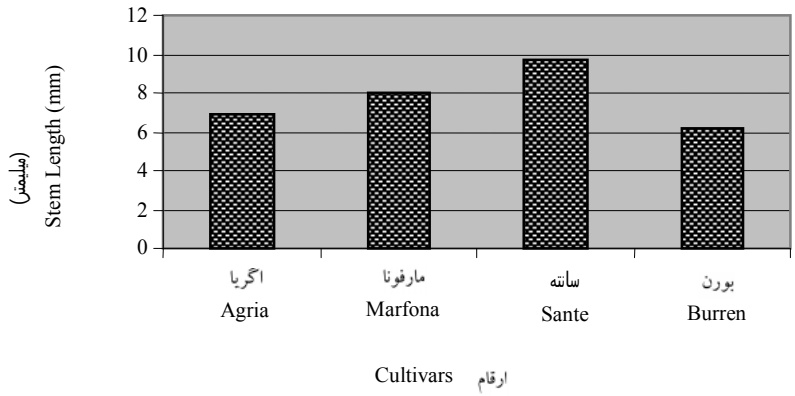
[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1386.9.4.3.5]

بدون هورمون GA3 بود، که در مقایسات میانگین در گروههای خیلی پایین تری قرار گرفتند (جدول ۲). 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 انرا تاکید کردند (Nagib *et al*., 2003; Sajid *et al*., 1986; Macdonald, 1983; Paet and Zamora, 1990; Brown *et al*., 1988). البته نتایج بدست امده در این تحقیق، با نتایج نجیب و همکاران (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.

دلیل ان ممکن است تفاوت در ارقام و غلظت های هورمونی مختلف مورد بررسی در این تحقیق باشد که تاثیر به سزایی در بوجود آمدن این تفاوت ها داشتند. 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 محیط آزمایشگاهي نيز مي تواند تاثير گذار باشد.

طول ساقه ارقام مورد بررسي در مرحله کشت مریستم، نشان داد که رقم سانته بیشترین و ارقام بورن و اگریا کمترین پاسخ را به کشت مریستم سیب زمینی داشتند. (شکل ۲).



شکل ۲- طول ساقه در ارقام سیب زمیني مورد بررسي در مرحله کشت مریستم.

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

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر رقم، تیمار و اثر متقابل رقم * تیمار بر طول ساقه معني 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 ۳).

در رقم بورن با بررسی میانگین صفات طول ساقه، تعداد ریشه و تک گره، مشاهده شد که بهترین تیمار برای طول ساقه، تیمارهای شماره ۳ و ۴ که به ترتیب ترکیب هورمونی ۰/۵ میلی گرم در لیتر هورم IBA به علاوه ۱/۵ میلی گرم هورمون GA3 و ۱/۵ میلی گرم در لیتر هورمون IBA و ۰/۵ میلی گرم در لیتر هورمون BA و ۲ میلی گرم در لیتر هورمون GA3 بودند. در همین رقم بهترین تیمار برای تعداد تک گره، تیمار شماره ۱

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1386.9.4.3.5]

جدول ۳- 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 comcentrations and combinations.

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

** Significant at the 1% probability level. **: معنی دار در سطح ۱%

یعنی MS بدون هورمون و پس از آن تیمار شماره ۴ یعنی ترکیب هورمونی ۱/۵ میلی گرم در لیتر هورمون IBA و ۰/۵ میلی گرم در لیتر هورمون BA و ۲ میلی گرم در لیتر هورمون GA3 بود. بهترین تیمار برای تعداد ریشه، تیمار شماره ۱ یعنی 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 ۰/۵ میلی گرم در لیتر هورمون IBA به علاوه ۱/۵ میلی گرم هورمون GA3 آلبینو شدند، در حالی که رشد در محیط حاوی ۱/۵ میلی گرم در لیتر هورمون IBA و ۰/۵ میلی گرم در لیتر هورمون BA و ۲ میلی گرم در لیتر هورمون GA3 بسیار سریع تر و مناسب تر بود و این ترکیب هورمونی برای رقم بورن قابل توصیه می باشد (جدول ۴).

در رقم اگریا (شکل ۳) مقایسه میانگین صفات طول ساقه، تعداد ریشه و تک گره، مشاهده شد که بهترین تیمار برای طول ساقه، تیمارهای شماره ۴ و ۳ که به ترتیب ترکیب هورمونی ۱/۵ میلی گرم در لیتر هورمون IBA با ۰/۵ میلی گرم در لیتر هورمون BA به اضافه ۲ میلی گرم در لیتر هورمون GA3 و ۰/۵ میلی گرم در لیتر هورمون IBA به علاوه ۱/۵ میلی گرم هورمون GA3 بودند. برای صفت تعداد تک گره همه تیمارهای هورمونی در گروهبندی مقایسه میانگین ها به روش دانکن در یک گروه قرار گرفتند. در عین حال در تیمار شماره ۴ تعداد تک گره بیشتری توصیه شد و بهترین تیمار برای تعداد ریشه، تیمار شماره ۴ یعنی ترکیب هورمونی ۱/۵ میلی گرم در لیتر هورمون IBA و ۰/۵ میلی گرم در لیتر هورمون BA و ۲ میلی گرم در لیتر هورمون GA3 بود (جدول ۴). رقم اگریا در تمام ترکیبات هورمونی رشد مناسب و قابل قبولی داشت، ولی نکته قابل توجه این است که در تمام ترکیبات، به جز ترکیب هورمونی ۱/۵ میلی گرم در لیتر هورمون IBA و ۰/۵ میلی گرم در لیتر هورمون BA و ۲ میلی گرم در لیتر هورمون GA3 گیاهان آلبینو شدند. بنابراین این ترکیب هورمونی برای رقم اگریا قابل توصیه می باشد (جدول ۴).

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1386.9.4.3.5]

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	Treatment تیمار	طول ساقه(میلیمتر) Stem length (mm)	تعداد تک گره Single node number	تعداد ریشه Roots number
			Burren بورن	
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 سانته	
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

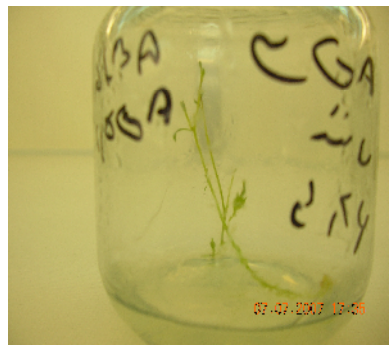
در رقم مارفونا با بررسی مقایسه میانگین صفات طول ساقه، تعداد ریشه و تک گره، ملاحظه شد که بهترین تیمار برای طول ساقه، تیمارهای شماره ۴ و۳ که به ترتیب ترکیب هورمونی ۱/۵ میلی گرم در لیتر هورمون IBA به اضافه ۰/۵ میلی گرم در لیتر هورمون BA به اضافه ۲ میلی گرم در لیتر هورمون GA3 و ۰/۵ میلی گرم

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1386.9.4.3.5]

در لیتر هورمون IBA به علاوه ۱/۵ میلی گرم هورمون GA3 بودند. برای صفت تعداد تک گره تمام تیمارهای هورمونی در گروه بندی مقایسه میانگین ها به روش دانکن در یک گروه قرار گرفتند، به جز ترکیب هورمونی ۰/۵ میلی گرم در لیتر هورمون BA و ۰/۵ میلي گرم در لیتر هورمون IBA که در گروه دیگری بودند و بهترین تیمار برای تعداد ریشه، تیمار شماره ۴ یعني ترکیب هورمونی ۱/۵ میلی گرم در لیتر هورمون IBA و ۰/۵ میلي گرم در لیتر هورمون BA به اضافه ۲ میلي گرم در لیتر هورمون GA3 بود. رشد در محیط فاقد هورمون بسیار کند انجام گرفت و در محیط های دیگر پدیده آلبینو مشاهده شد به جز محیط حاوی ۱/۵ میلي گرم در لیتر هورمون IBA و ۰/۵ میلی گرم در لیتر هورمون BA و ۲ میلی گرم در لیتر هورمون GA3. بنابراین این ترکیب هورمونی برای رقم مارفونا قابل توصیه مي باشد (جدول ۴).

در رقم سانته (شکل ۴) با بررسی مقایسه میانگین صفات طول ساقه، تعداد ریشه و تک گره، مشاهده شد که بهترین تیمار برای طول ساقه، تیمار شماره ۳ که ترکیب هورمونی ۰/۵ میلی گرم در لیتر هورمون IBA به علاوه ۱/۵ میلی گرم در لیتر هورمون GA3 بود. بهترین تیمار برای تعداد تک گره، تیمارهای شماره ۳ و ۴ یعني به ترتیب ترکیب هورمونی ۰/۵ میلی گرم در لیتر هورمون IBA به علاوه ۱/۵ میلی گرم در لیتر هورمون GA3 و ترکیب هورمونی ۱/۵ میلی گرم در لیتر هورمون IBA به علاوه ۰/۵ میلی گرم در لیتر BA و ۲ میلی گرم در لیتر GA3 بود. بهترین تیمار برای تعداد ریشه، تیمار شماره ۴ یعنی ترکیب هورمونی ۱/۵ میلي گرم در لیتر IBA و ۰/۵ میلی گرم در لیتر BA و ۲ میلي گرم در لیتر GA3 بود. البته نکته مهم این است که رقم سانته در تمام ترکیبات هورمونی رشد مناسبی داشت و در هیچ یک از محیط ها پدیده آلبینو دیده نشد. نتایج بدست آمده نشان داد که ترکیب اکسین و سایتوکینین به تنهایي به منظور تکثیر گیاهچه های حاصل از کشت مریستم مناسب نیست، در حالی که هورمون GA3 نقش مهمی را در این مرحله داشت (جدول ۴).



شکل ۴- مراحل انتهایی رشد گیاهچه عاری از ویروس رقم سانته در محیط انتقال مجدد

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

در این مرحله گیاهچه ها تولید کالوس کردند و سپس باز زا شدند. وجود تنظیم کننده های رشد اکسین IBA و سایتوکنین BA به منظور تشکیل کالوس و تشکیل ریشه ها و وجود تنظیم کننده رشد GA3 به منظور رشد ساقه ها و باز زا شدن کالوس ها الزامی بود (جدول ۴). نتایج بدست آمده در این تحقیق با نتایج نجیب و همکاران (Nagib *et al.*, 2003) و پژوهنده (۱۳۸۰) متفاوت بود. در عین حال با نتایج گودوین و همکاران (Goodwin *et al.*, 1980)، حق و همکاران (Haque *et al.*, 1996) و سارکر و مصطفي

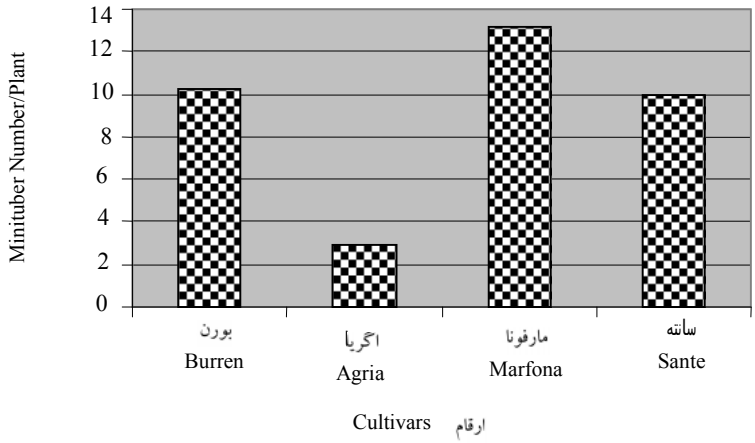
[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1386.9.4.3.5]

(Sarker and Mustafa, 2002) مشابه بود. با بررسی نمودار مقایسه میانگین تعداد مینی تیوبر در ارقام مورد بررسی در هر بوته(شکل ۵) ملاحظه می‌شود که رقم مارفونا با میانگین ۱۳/۱ مینی تیوبر در هر بوته بیشترین تعداد مینی تیوبر، و رقم اگریا با میانگین ۲/۹ مینی تیوبر در هر بوته کمترین تعداد مینی تیوبر را تولید کردند (شکل ۶). نتایج بدست امده در این تحقیق نتایج مدرس ثانوی و جامی معینی (Modarres Sanavy and Jami Moeini, 2003) را تائید کرد. نتایج بدست آمده در این تحقیق نقش اساسی هورمون GA3 را در کشت بافت سیب زمینی مورد تاکید قرار داد. این نتایج نشان داد که ارقام مارفونا وسانته به کشت مریستم پاسخ مناسب تری دادند.

شکل ۵- مینی تیوبر های بدست آمده از رقم سانته

Fig.6. Minituber obtained from Sante cultivar



شکل ۶- تعداد مینی تیوبر در هر بوته در ارقام مورد بررسی.

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

سپاسگزاری

بدینوسیله ازجناب اقای مهندس رحیم احمدوند عضو هیات علمی موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر تشکر و قدردانی می شود. همچنین از جناب آقای دکتر رضا ضرغامی بابت ارایه نظرات علمی در طول اجرای پروژه سپاسگزاری می شود.

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1386.9.4.3.5]

References

منابع مورد استفاده

بی نام. ۱۳۸۴. امارنامه کشاورزی. جلد اول محصولات زراعی و باغی سالهای ۸۳-۱۳۸۲. دفتر امار و فناوری اطلاعات، معاونت برنامه ریزی و اقتصادی وزارت جهاد کشاورزی.

پژوهنده، م. ۱۳۸۰. ایجاد بانک درون شیشه ای ژرم پلاسم 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

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1386.9.4.3.5]

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.

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1386.9.4.3.5]

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. Sepahvand[2], M. Omidi[3], A. Mohammadi[4] and H. R. Abdi[5]

ABSTRACT

Roodbar Shojaei, T., N. A. Sepahvand, M. Omidi, 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 mgl^{-1} and GA3 at four levels 0, 2, 2.5 and 3 mgl^{-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 mgl^{-1} BA + 0.5 mgl^{-1} IBA, 0.5 mgl^{-1} IBA + 1.5 mgl^{-1} GA3 and MS medium containing 0.5 mgl^{-1} BA + 1.5 mgl^{-1} IBA + 2 mgl^{-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 mgl^{-1} GA3, for Agria was MS medium containing 2.5 mgl^{-1}, for Marfona and Sante the best medium was MS containing 0.5 mgl^{-1} KIN + 3 mgl^{-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 mgl^{-1} IBA + 0.5 mgl^{-1} BA + 2 mgl^{-1} GA3 and for Sante was 0.5 mgl^{-1} IBA + 1.5 mgl^{-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.

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1386.9.4.3.5]