

# تاثیر کومارین و BAP در تولید ریزغده‌های سیب‌زمینی رقم کایزر به روش درون شیشه‌ای

علیرضا قنبری<sup>1</sup>، یاور شرفی<sup>1</sup>، امیر محمد ناجی<sup>1</sup> آیت‌ا. رضایی‌نوده‌ی<sup>1</sup>، علائدین کردنائیج<sup>1</sup>، احد جمشیدی زیناب<sup>1</sup>

<sup>1</sup>، گروه علوم باغبانی و بیوتکنولوژی کشاورزی دانشکده کشاورزی دانشگاه شاهد...

ghanbari66@yahoo.com

## چکیده

یکی از مشکلات سیب‌زمینی کاران، عدم دسترسی به بذور مادری سالم می‌باشد. تولید ریزغده به روش درون‌شیشه‌ای در سیب‌زمینی یکی از مطمئن‌ترین روشهای تولید غده‌های بذری سالم است. در این آزمایش از محیط کشت MS جامد حاوی 80g/l ساکارز، 10 mg/l BAP و سه سطح کومارین (0-25-50 mg/l) استفاده شد. از ساقه گیاهچه‌های تولید شده در شرایط درون‌شیشه‌ای رقم کایزر، ریزنمونه‌های به طول 2-3 cm تهیه و بر روی محیط کشت فوق انتقال یافتند. کشت‌ها در شرایط دمای 22 °C و طول روز 16 h روشنایی قرار داده شدند. در این آزمایش از طرح آماری کاملاً تصادفی با 5 تکرار استفاده شد. بعد از دو ماه برداری براساس سه فاکتور تعداد ریزغده‌های تشکیل شده، وزن متوسط ریزغده‌ها و درصد غده‌زایی ریزنمونه‌ها صورت گرفت. نتایج نشان داد که در غلظت ثابت 10 mg/l BAP، با افزایش غلظت کومارین، غده‌زایی در شرایط درون‌شیشه‌ای کاهش می‌یابد. اگرچه BAP و کومارین هر کدام بطور مجزا به عنوان عامل تحریک و تولید ریزغده در شرایط درون‌شیشه‌ای گزارش شدند ولی استفاده توأم آنها در محیط MS، نه تنها غده‌زایی را تحریک نمی‌کنند بلکه به دلیل اثرات آنتاگونیسمی با همدیگر، تا حدودی نیز تولید ریزغده را کاهش می‌دهد.

واژگان کلیدی: سیب‌زمینی، ریزغده، درون‌شیشه‌ای، BAP، کومارین

## مقدمه

سیب‌زمینی (*Solanum tuberosum* L.) یکی از مهمترین محصولات کشاورزی است که در اغلب کشورهای جهان کشت می‌شود. تولید سالانه آن بعد از محصولات برنج، گندم و جو در مقام چهارم جهان می‌باشد. سیب‌زمینی با استفاده از غده‌های بذری بروش غیر جنسی تکثیر می‌شود و متاسفانه، نسبت به آلودگی اغلب بیماری‌های ویروسی، قارچی و باکتریایی حساس می‌باشد. حداقل 23 نوع ویروس شناخته شده است که عملکرد و کیفیت را در غده‌های آلوده کاهش می‌دهد. گیاهچه‌های سیب‌زمینی که در شرایط درون‌شیشه‌ای تکثیر می‌گردند معمولاً در برنامه‌های تولید بذر سیب‌زمینی برای تولید غده‌های درون‌شیشه‌ای استفاده می‌شوند. چرا که ریزغده‌های (Microtubers) بوجود آمده با روشهای معمولی نسبت به آلودگی‌های ویروسی یا قارچی حساس بوده و انتقال و نگهداری آنها در اندازه‌های بزرگ مشکل می‌باشد (5). در حال حاضر اکثر کشورهای پیشرفته برای تامین هسته اولیه غده‌های بذری بروش درون‌شیشه‌ای ریزغده‌های سالم تولید می‌نمایند. از این ریزغده‌ها جهت تکثیر سریع پایه‌های بذری سالم (4، 5، 10، 12) استفاده می‌گردد. در حال حاضر می‌توان ریزغده‌ها را تولید و برای تمام سال در آزمایشگاه نگهداری کرد و یا می‌توان مستقیماً بدون انتقال به محیط

جدید به بازار حمل کرد بعلاوه این ریزغده‌ها را می‌توان انبار کرد و مستقیماً بدون سازگاری در مزرعه کشت کرد (9). در تولید ریزغده‌های سیب‌زمینی بروش درون‌شیشه‌ای فاکتورهای متعددی دخالت دارند. تحقیقات بسیاری در زمینه تاثیر فاکتورهای مختلف از جمله طول روز (4، 11، 12)، درجه حرارت (1، 7، 12)، ساکارز (2، 5، 12)، مواد تنظیم کننده رشد گیاهی از جمله انواع سیتوکینین‌ها و یا مواد بازدارنده رشد (آلار، سایکوسل، کومارین، TET، fluridone، ancymidol) (5، 6، 7، 8)، ازت (3، 6) در تولید ریزغده‌های سیب‌زمینی بروش درون‌شیشه‌ای توسط محققین مختلف صورت گرفته و منجر به نتایج متفاوتی گشته است. در این آزمایش تاثیر سطوح مختلف کومارین با BAP در تولید ریزغده‌های سیب‌زمینی رقم کایزر با هدف تعیین اثر کومارین و غلظت مناسب آن با 10 mg/l از BAP، بررسی گردید.

#### مواد و روشها

ریز نمونه‌های از قلمه‌های گیاهچه‌های درون‌شیشه‌ای تهیه و به محیط‌های غده‌زایی انتقال یافتند. در این آزمایش از محیط کشت MS جامد حاوی 80g/l ساکارز، 8g/l آگار، ویتامین‌های محیط MS و 10 mg/l BAP و سه سطح کومارین (0-25-50 mg/l) استفاده شد. pH محیط کشت روی 5/8 تنظیم گردید. از ساقه گیاهچه‌های رقم کایزر، ریز نمونه‌های به طول 2-3 cm تهیه و بر روی محیط کشت فوق انتقال یافتند. کشت‌ها در شرایط دمای 22 °C و طول روز 16 h روشنایی قرار داده شدند. بعد از دو ماه آمار برداری براساس سه فاکتور تعداد ریزغده‌های تشکیل شده، وزن متوسط ریزغده‌ها و درصد غده‌زایی ریز نمونه‌ها صورت گرفت در این آزمایش از طرح آماری کاملاً تصادفی با 5 تکرار استفاده شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از برنامه آماری Mstat-C استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها و گروه‌بندی آنها با استفاده از روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح 1٪ و 5٪ صورت گرفت.

#### نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که برای غده‌زایی، غلظت‌های مختلف کومارین با یک سطح ثابت 10 mg/l از BAP اختلاف معنی‌داری در سطح 1٪ داشتند. بطور کلی برای دو صفت تعداد ریزغده‌های تولید شده و درصد غده‌زایی ریز نمونه‌ها تفاوت آماری معنی‌داری دیده شد ولی صفت میانگین وزن ریزغده‌های در سطوح مختلف کومارین اختلاف معنی‌داری نشان نداد. بیشترین درصد غده‌زایی ریز نمونه‌ها با میانگین 85٪ در محیط بدون کومارین با 10mg/l از BAP و کمترین آن با میانگین 25٪ در محیط غنی شده با 50mg/l از کومارین به همراه 10 mg/l BA صورت گرفت. همچنین بیشترین تعداد ریزغده‌ها در محیط بدون کومارین (میانگین 7/6 عدد در هر تکرار) و کمترین آنها در محیط حاوی 50 mg/l کومارین با میانگین (1/8 عدد) در هر تکرار تولید شد. ولی صفت میانگین وزن متوسط ریزغده‌ها در هر سه تیمار اختلاف معنی‌داری نشان نداد. نتیجه نهایی نشان داد که با غلظت ثابت 10mg/l از BAP، هرچه غلظت کومارین در محیط کشت MS افزایش یابد غده‌زایی در شرایط درون‌شیشه‌ای کاهش می‌یابد. اگر چه سایتوکینین BAP و کومارین هر کدام بطور مجزا به عنوان عامل تحریک و تولید ریزغده در درون‌شیشه‌ای گزارش شدند (5، 7، 12) ولی استفاده توأم آنها در

محیط کشت MS، نه تنها غده‌زایی را تحریک نمی‌کنند بلکه به دلیل اثرات آنتاگونیسمی با همدیگر، تا حدودی نیز از غده‌زایی جلوگیری می‌کنند. براساس برخی تحقیقات، کومارین با برخی از مواد تنظیم‌کننده رشد مانند اکسین‌ها و مواد شبه‌اکسینی خاصیت آنتاگونیسمی داشته‌اند. ضمن اینکه گزارش شده که کومارین غده‌زایی را در برخی محیط‌های مانند محیط وایت که مقدار ازت آنها پایین می‌باشد تحریک می‌کند (5).

#### REFERENCES:

- 1- Akita, M., Takayama, S., 1994. Induction and development of potato tubers in a jar fermentor. *Plant Cell Tiss Org Cult* 36:177-182.
- 2- Chandra, R., Randhawa, G.J., Chaudhary, D.R., 1992. Use of ordinary sugar in in vitro production of potato microtubers. *J Indian Pot Assoc* 19:87-89.
- 3- Chen, J.J., Liao Y.J., 1993. Nitrogen-induced changes in the growth and metabolism of cultured potato tubers. *J Am Soc Hort Sci* 118:831-834.
- 4- Coleman, W.K., Donnelly D.J., Coleman, S.E., 2001. Potato microtubers as research tools: A review. *Am J Potato Res* 78:47-55.
- 5- Donnelly, D.J., Coleman, W.K., Coleman, S.E., 2003. Potato microtuber production and performance: A review. *American Journal of Potato Research*, vol.80. 103-115.
- 6- Garner, N., Blake, J., 1989. The induction and development of potato microtubers in vitro on media free of growth regulating substances. *Ann Bot* 63:663-674.
- 7- Levy, D., Seabrook, J.E.A., Coleman, S., 1993. Enhancement of tuberization of axillary shoot buds of potato (*Solanum tuberosum* L.) cultivars cultured in vitro. *J Expt Bot* 44:381-386.
- 8- Nasiruddin, K.M., Blake, J., 1994. Production of potato microtubers with and without growth regulators. In: PJ Lumsden, JR Nicholas, WJ Davies (eds), *Physiology, Growth and Development of Plants*. Kluwer, Dordrecht. pp. 254-260.
- 9- Nhut, D.T., Anh, P.H., Ngoc Huong, T.T., Huyen, P.X., 2004. In vitro direct potato (*Solanum tuberosum* L.) micro-tuber formation via stem node culture. *J. Sci. Technol., Vietnam* 43, 41-46
- 10- Rosell, G., Bertoldi, F.G., Tizio, R., 1987. In vitro mass tuberisation as a contribution to potato micropropagation. *Potato Res* 30:111-116.
- 11- Seabrook, J.E.A., Coleman, S., Levy, D., 1993. Effect of photoperiod on in vitro tuberization of potato (*Solanum tuberosum* L.). *Plant Cell Tiss Org Cult* 34:43-51.
- 12- Wang, P., Hu, C., 1982. In vitro mass tuberization and virus-free seed-potato production in Taiwan. *Am Potato J* 59:33-37.

## The effects of Cumarin with BAP on microtubers production in potato (cv. Kaiser) by in-vitro

A. Ghanbari\*<sup>1</sup>, Y. Sharafi<sup>1</sup>, A.M Naji<sup>1</sup>, A. rezaie<sup>1</sup>, A Kordenaej<sup>1</sup>, A. Jamshidi zinab<sup>1</sup>.

*1, Shahed University, College of Agriculture, Tehran, Iran.*

*Ghanbari66@yahoo.com*

### Abstract

One of the main problems of potato growers is not available health stocks seed tubers. Therefore, one of the certainly techniques for obtaining healthy stock seeds, is production of microtubers in In-vitro. Explants of microshoots (2-3 cm in length) of var. 'Kaiser' were excised from in-vitro potato plantlets, and had been cultured on mineral salts of MS medium, that supplemented with sucrose (80 g/l), agar (8 g/l), comarine levels (0- 25- 50 mg/l) and BAP(10 mg/l). The pH of media was adjusted to 5.8. All in vitro cultures were placed at  $22 \pm 2$  °C and a 16-h photoperiod with 8-h darkness. Five replicate had been used for each treatment. After two months of culture, data were recorded basis on number of microtubers forms in each replicate, means of weight and rate of tuberization explants. Data were analyzed by Mstat-c and for significance by Duncan's multiple range test (Duncan, 1995). The results showed that with stabile 10 mg/l BA when increased cumarin concentration, the tuberization is decreased. However, when cytokinins and cumarine has been used separately in media of In-vitro, they induced formation of microtubers in potato, but apply together them not only induced but also for antagonism between them reduced tuberiztaion.

*Keyword: Potato (*Solanum tuberosum* L.), microtuber , cumarine , BAP*