بررسی اثر غلظت‌های مختلف توفور دی و کینیتین بر کال‌زایی گیاه سیب‌زمینی (*Solanum tuberosum* L.) واریته آگریا

خانم ژیلا کرمزاد[۱]، آقای دکتر محسن فرشادفر[۲]، آقای دکتر علیرضا زبرجدی[۳،۴]* و آقای دکتر حیدر ذوالنوریان[۵]

[۱] تهران، دانشگاه پیام نور مرکز تهران ،گروه بیوتکنولوژی

[۲] کرمانشاه، دانشگاه پیام نور استان کرمانشاه

[۳] کرمانشاه، دانشگاه رازی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، گروه زراعت و اصلاح نباتات

[۴] کرمانشاه، دانشگاه رازی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، گروه پژوهشی بیوتکنولوژی مقاومت به خشکی

[۵] کرمانشاه، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی کرمانشاه

تاریخ دریافت: ۹۲/۱۰/۲۰ تاریخ پذیرش: ۹۳/۵/۱

چکیده

امروزه تکنیک‌های کشت بافت گیاهی به عنوان ابزار مفیدی برای ایجاد تنوع ژنتیکی به منظور به‌نژادی محصولات کشاورزی و همچنین تولید گیاهان عاری از بیماری به‌کار می‌روند. هدف از این پژوهش ارائه یک روش مؤثر بر کال‌زایی در گیاه سیب زمینی واریته آگریا می‌باشد. این تحقیق بصورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با ۴ تکرار اجرا شد. در این تحقیق اثر تنظیم‌کننده‌های رشد 2,4- D (۴، ۲، و ۰ میلی‌گرم در لیتر) و Kin (۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر) بر روی تولید کالوس از دو ریزنمونه برگ و میان‌گره مورد بررسی قرار گرفت. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که بین دو نوع ریزنمونه برگ و میان‌گره از نظر صفات قطر، وزن تر و درصد القاء کالوس اختلاف معنی‌دار وجود داشت، همچنین از نظر غلظت‌های مختلف هورمون توفور دی و کینتین بین کلیه صفات اختلاف معنی‌داری مشاهده شد. اثر متقابل غلظت‌های مختلف هورمون در ریزنمونه نیز در کلیه صفات اختلاف معنی‌دار نشان داد. نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیشترین درصد کال‌زایی (۷۵٪) در ریزنمونه برگ در غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر 2,4- D و در ریزنمونه میان‌گره (۸۷/۵٪) در غلظت ۴ میلی‌گرم در لیتر 2,4- D بود. قطر و وزن تر کالوس در ریزنمونه برگ (۵/۶۰ میلی‌متر و ۰/۵۵ گرم) و در ریزنمونه میان‌گره (۹/۱۳ میلی‌متر، ۰/۹۲ گرم) در غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر 2,4- D بدست آمد.

واژه‌های کلیدی: سیب‌زمینی، 2,4- D، Kin، کالوس

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۸۱۳۲۱۸۰۹، پست الکترونیکی: zebarjadiali@yahoo.com

مقدمه

سیب زمینی (*Solanum tuberosum*L.) گیاهی دولپه و یکی از اعضای خانواده Solanaceae است. سیب زمینی یکی از محصولات غذایی مهم مردم دنیا است که از نظر اقتصادی در بسیاری از کشورها اهمیت زیادی دارد و غذای بسیاری از مردم جهان را تشکیل می‌دهد (۶). این گیاه بعد از گندم، برنج و ذرت مهمترین گیاه زراعی است که در جهان کشت می‌شود. سیب زمینی در مقایسه با سایر محصولات غذایی دارای انرژی و پروتئین بالاتری است و همچنین سرشار از آهن، منیزیوم، پتاسیم و ویتامین B و C است (۱۰). 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 انجام شده است. تکنیک-

های کشت بافت گیاهی یک منبع بالقوه القاء تنوع هستند که می‌توانند در برنامه‌های اصلاحی سیب زمینی نقش مهمی را ایفا کنند (۲۱). از کشت مریستم در سیب زمینی به عنوان روشی مناسب برای نگهداری منابع ژنتیکی، تکثیر ژنوتیپ‌های خاص و حذف ویروس‌ها استفاده شده است (۲۸). استفاده از امتزاج پروتوپلاست‌ها برای تولید هیبریدهای سوماتیکی در این گیاه انجام شده است (۲۳). القاء کالوس و اندام‌زایی از آن در بسیاری از ریزنمونه‌ها مانند برگ، ساقه و گل انجام شد (۱۳). تأثیر محیط کشت و ژنوتیپ در باززایی از ریزنمونه‌های برگ سیب زمینی نیز مطالعه شده است (۱۴). همچنین اثر ریزنمونه بر کال‌زایی و باززایی مورد بررسی قرار گرفت (۱۵). برای کشت سلول و کالوس، تنظیم کننده‌های رشد نقش مهمی را ایفا می‌کنند. 2,4-D یک اکسین مصنوعی، شناخته شده است که در کالوس‌زایی نقش دارد (۱۷). هنگامی‌که کالوس‌های تولید شده با استفاده از 2,4-D، به مدت طولانی در این هورمون نگه‌داری شوند، قدرت باززایی خودشان را از دست می‌دهند و نمی‌توانند اندام‌زایی را نشان دهند (۱۸). تنظیم کننده‌های رشد دیگر ازجمله BAP (سیتوکینین) نیز می‌تواند استفاده شود که کالوس‌زایی و بعد اندام‌زایی سیب زمینی را تحت تأثیر قرار می‌دهد. کالوس برای بسیاری از روش‌های انتقال ازجمله تفنگ ذره‌ای (۲۶)، انتقال به واسطه آگروباکتریوم تومفشینس(۳۰) و بعلاوه شروع کشت سلولی استفاده شده است. کالوس ایجاد شده از یک ریزنمونه، در واقع نتیجه‌ای از تغییرات اساسی در ظاهر و متابولیسم سلول است (۱۱). القاء کالوس و باززایی گیاه از ریزنمونه برگ و میان‌گره در محیط کشت مرکب از غلظت‌های متفاوت از 2,4- D و NAA به تنهایی و NAA به همراه BA نیز آزمایش شده است (۲۹). اثر غلظت‌های متفاوت تنظیم کننده‌های رشد از قبیل BAP و Kin نیز بر روی القاء کالوس در سیب زمینی گزارش شده است (۱۲).

در این تحقیق، تأثیر غلظت‌های مختلف 2,4- D و Kin بر کال‌زایی در دو ریزنمونه برگ و میان‌گره در گیاه سیب زمینی واریته آگریا بررسی شد.

مواد و روشها

برای تهیه ماده گیاهی از مینی‌تیوبر سیب زمینی واریته آگریا برای انجام این آزمایش استفاده شد و در سال ۱۳۹۱ در گلخانه مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان کرمانشاه در گلدان‌های حاوی یک سوم خاک زراعی، یک سوم ماسه و یک سوم کود حیوانی استریل شده کشت شدند. برای اجرای این آزمایش، ابتدا محیط کشت پایه MS با ترکیبات هورمونی 2,4- D (۴، ۲، و ۰ میلی‌گرم در لیتر) و Kin (۰/۲۵) تهیه شد. ریزنمونه‌ها (برگ و میان-گره) به اندازه ۰/۸– ۰/۵ سانتی‌متر در پتری‌دیش‌های حاوی ۲۰ میلی‌لیتر محیط کشت جامد (در هر پتری دیش ۴ ریزنمونه) قرار داده شدند و به اتاق رشد با شرایط تاریکی و دمای ۲±۱۹ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۶۰ درصد منتقل شدند. ۴ هفته بعد از کشت، صفاتی از قبیل قطر کالوس، وزن‌تر کالوس و درصد کالزایی اندازه‌گیری شد

محاسبات آماری: آزمایش بصورت فاکتوریل (۴ × ۲) در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با ۴ تکرار اجرا شد. فاکتور اول ریزنمونه در دو سطح (برگ و میان‌گره) و فاکتور دوم تنظیم‌کننده‌های رشدی (2,4- D و Kin) در چهار سطح (۴ و۲ ،۱ ،۰ میلی‌گرم در لیتر 2,4- D و ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر Kin) بود. داده‌ها با استفاده از نرم افزار MSTAT-C مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد.

نتایج

بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف هورمون 2,4- D و Kin روی القاء کالوس در دو ریزنمونه برگ و میان‌گره: نتایج تجزیه واریانس نشان داد بین دو نوع ریزنمونه برگ و میان‌گره از نظر قطر کالوس، وزن تر و درصد القاء کالوس در سطح احتمال یک درصد تفاوت معنی‌داری وجود دارد.

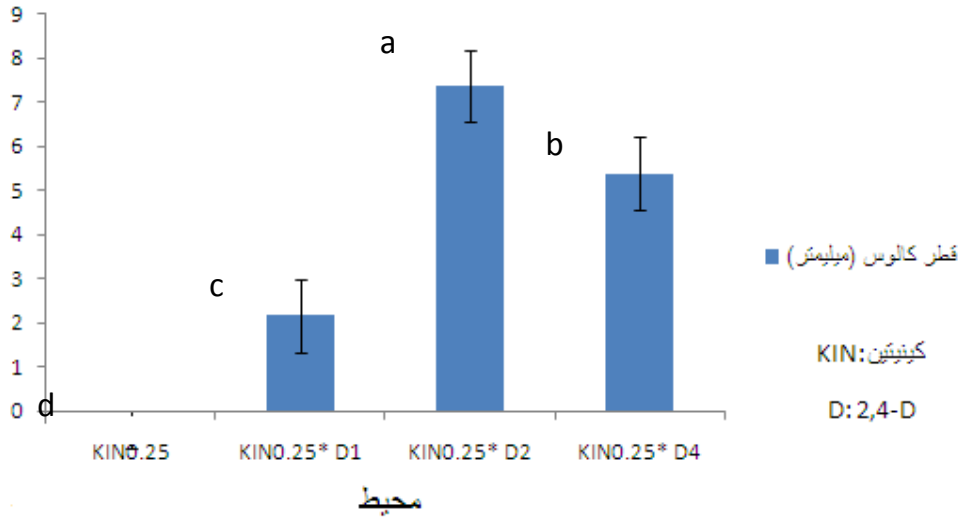
همچنین از نظر غلظت‌های مختلف 2,4- D و Kin در سطح احتمال یک درصد در کلیه صفات اختلاف معنی‌دار مشاهده شد که با نتایج هاکیو و همکاران (۲۰۰۹) مطابقت دارد (۱۹). اثر متقابل غلظت‌های مختلف هورمون در ریزنمونه در کلیه صفات مورد بررسی اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد ($P \leq 0.01$) نشان می‌دهد (جدول ۱).

مقایسه میانگین صفات مورد مطالعه در ترکیب متفاوت هورمون 2,4-D و KIN : نتایج حاصل از مقایسه میانگین سطوح مختلف هورمون با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن ($P \leq$ ۰/۰۵) انجام شد.

جدول ۱- تجزیه واریانس صفات مورد بررسی در دو نوع ریزنمونه برگ و میان‌گره در غلظت‌های مختلف هورمون 2,4- D و Kin.

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات		
		قطر کالوس	وزن تر	درصد کالزایی
ریزنمونه	۱	۵۴/۷۵۸ **	۰/۵۱۸ **	۵۰۰۰**
ترکیب هورمون	۳	۸۶/۳۶۶ **	۰/۸۶۴ **	۱۱۲۷۶/۰۴۲**
اثر متقابل هورمون در ریزنمونه	۳	۷/۰۴۹ **	۰/۰۶۸ **	۲۳۴۳/۷۵ **
اشتباه	۲۴	۰/۳۸۷	۰/۰۰۳	۶۵/۱۰۴
ضریب تغییرات (٪)		۱۶/۶۹	۱۴/۸۹	۱۶/۶۶

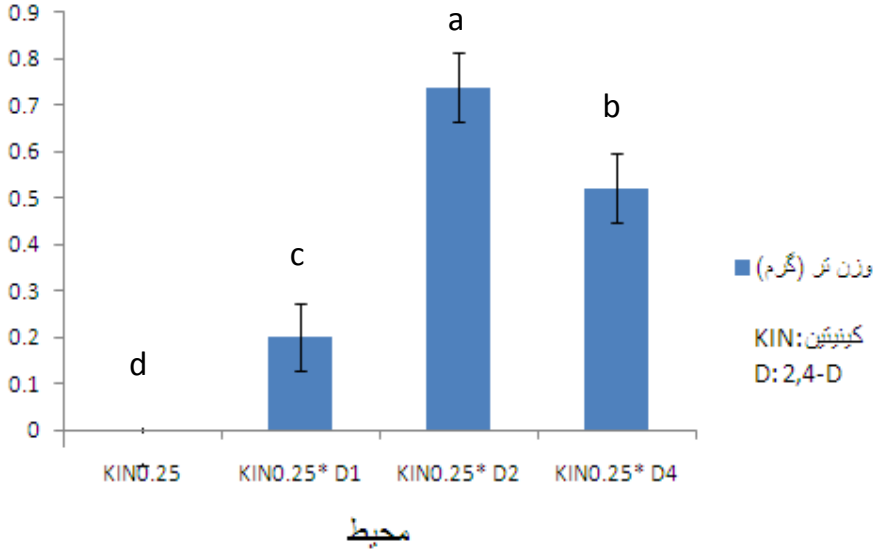
** اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد.



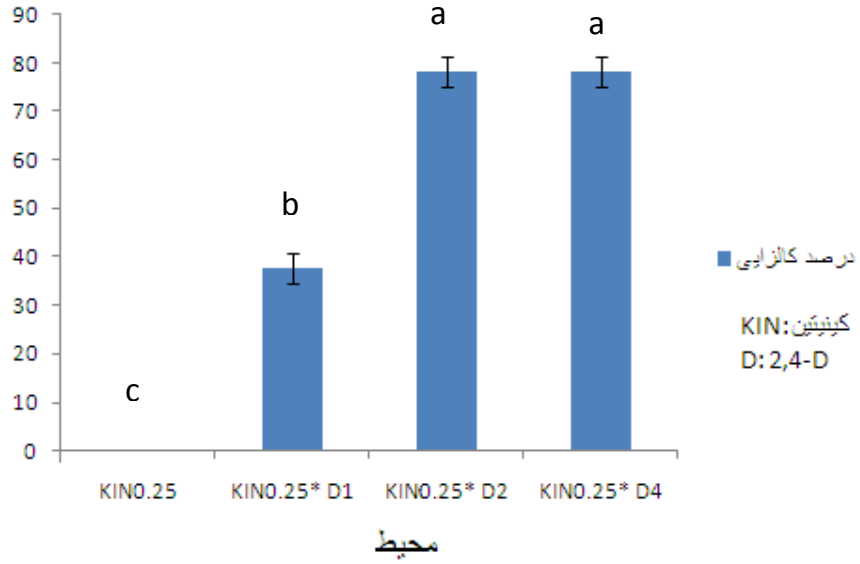
نمودار ۱- مقایسه میانگین ترکیب متفاوت هورمون (2,4- D و ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر Kin) از نظر صفات قطر کالوس D2, D1 و D4 بترتیب مقادیر ۱، ۲ و ۴ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D می‌باشد.

بیشترین میانگین قطر کالوس (۷/۳۷ میلی‌متر) در ترکیب هومون H_3 (۲ میلی‌گرم در لیتر 2,4- D و ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر Kin) و کمترین میانگین (۰ میلی‌متر) مربوط به ترکیب H_1 (۰ میلی‌گرم در لیتر 2,4- D و ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر Kin) بود (نمودار ۱)، در این ترکیب هورمونی که فاقد اکسین بود هیچ کالوسی مشاهده نشد که این با نتایج کریکوریان (۱۹۸۸) که وجود اکسین را در تولید کالوس به عنوان یک عامل اساسی معرفی کرده است، مطابقت دارد (۲۳). در آزمایش‌هایی که هدف تولید مستقیم گیاه از کشت بافت باشد و مسیر جنین‌زایی مد نظر باشد از هورمون اکسین استفاده نمی‌شود اما در صورتی‌که تولید گیاهچه از مسیر ارگانوژنز (تولید کالوس) مد نظر باشد، هورمون اکسین باید در محیط کشت وجود داشته باشد. از نظر صفت وزن تر کالوس، بیشترین میانگین (۰/۷۳ گرم)

در ترکیب هورمون H_3 بدست آمد و ترکیب هورمون H_1 کمترین میانگین وزن تر (۰ گرم) را نشان داد (نمودار ۲). در مطالعه رستمی و همکاران (۱۳۸۸) بیشترین وزن تر کالوس (۰/۰۲۸۸ گرم) در گیاه سیب زمینی در محیط کشت حاوی ۲ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D گزارش شد (۳). از نظر صفت درصد کال‌زایی ترکیب هورمون H_3 (۲ میلی‌گرم در لیتر 2,4- D و ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر Kin) و H_4 (۴ میلی‌گرم در لیتر 2,4- D و ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر Kin) تفاوت معنی‌دار با هم نداشتند و بیشترین درصد کال‌زایی (۷۸/۱۳٪) را نشان دادند. کمترین میانگین درصد القاء کالوس (۰٪) در ترکیب هورمون H_1 بدست آمد (نمودار ۳).



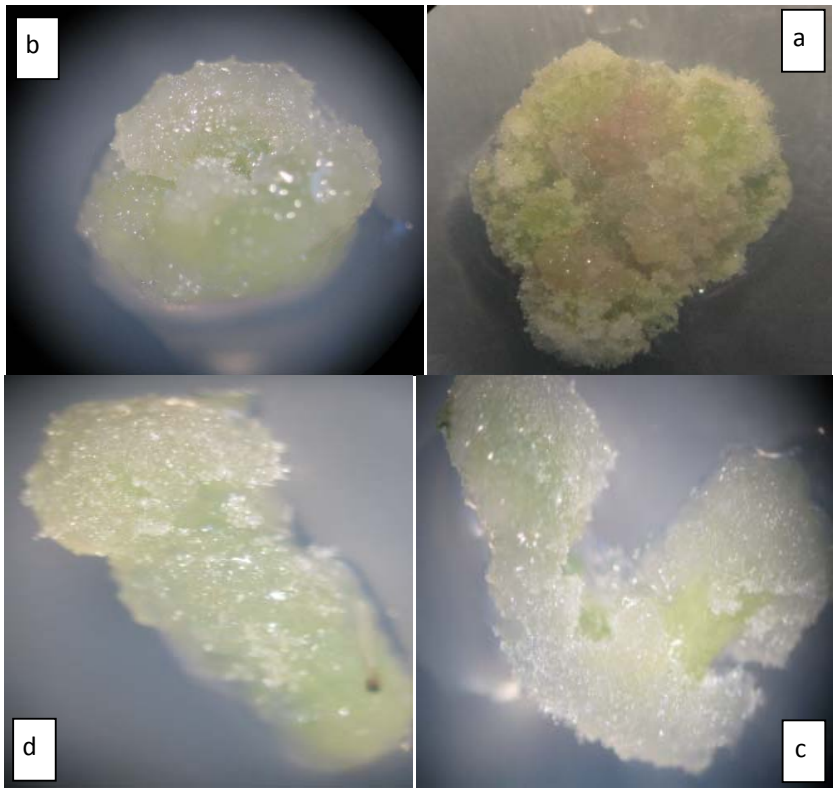
نمودار ۲- مقایسه میانگین ترکیب متفاوت هورمون (2,4- D و ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر Kin) از نظر وزن تر کالوس D2, D1 و D4 بترتیب مقادیر ۱، ۲ و ۴ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D می‌باشد.



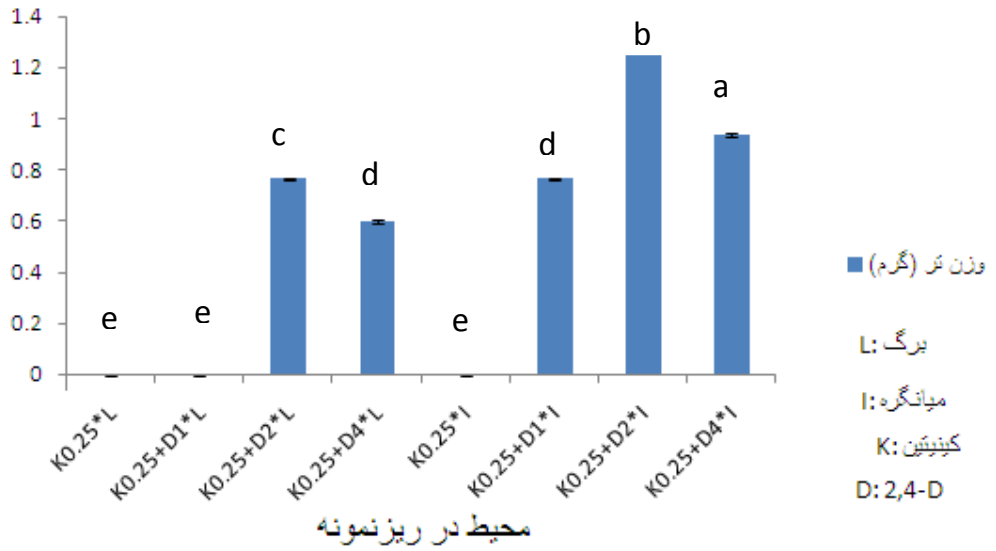
نمودار ۳- مقایسه میانگین ترکیب متفاوت هورمون (2,4- D و ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر Kin) از نظر درصد کال‌زایی D2, D1 و D4 بترتیب مقادیر ۱، ۲ و ۴ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D می‌باشد.

از نتایج مقایسه میانگین می‌توان چنین نتیجه گرفت که ترکیب هورمون H_3 از نظر صفات قطر، وزن تر و درصد القاء کالوس بهترین ترکیب هورمون می‌باشد.

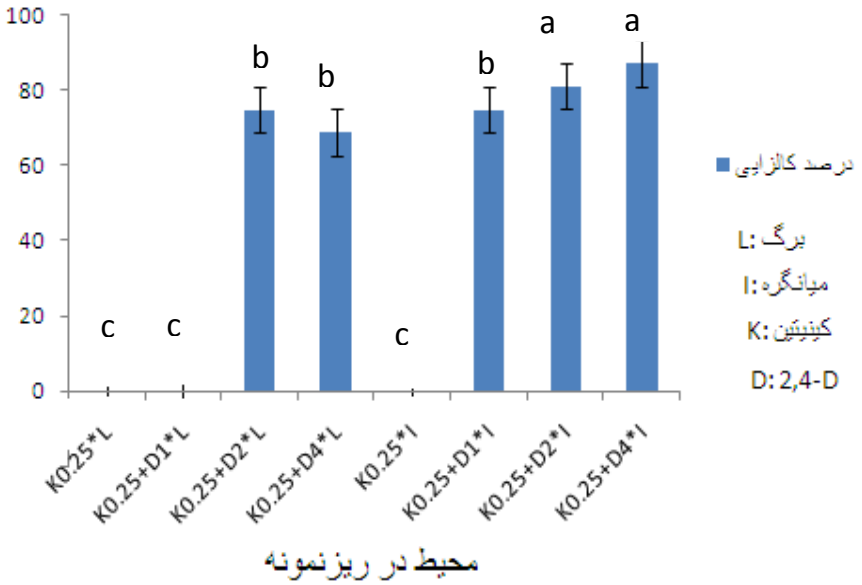
مقایسه میانگین اثر متقابل ترکیب تنظیم‌کننده‌های رشد و نوع ریزنمونه بر روی صفات مورد بررسی: نتایج حاصل از مقایسه میانگین اثر متقابل ترکیب تنظیم کننده‌های رشد و نوع ریزنمونه (H*I) با استفاده از روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن بر روی صفات مورد بررسی انجام شد. بیشترین میانگین قطر کالوس (۹/۱۳۸ میلی‌متر) مربوط به اثر متقابل H_3*I (۲ میلی‌گرم در لیتر 2,4- D و ۰/۲۵ میلی-گرم در لیتر Kin در ریزنمونه میان‌گره) ایجاد شد. نتایج تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از اندازه‌گیری قطر کالوس نشان داد اثر متقابل H_4*I (۴ میلی‌گرم در لیتر 2,4- D و ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر Kin در ریزنمونه میان‌گره) از نظر پتانسیل تولید کالوس در اولویت دوم قرار دارد. اثر متقابل H_4*L (۴ میلی‌گرم در لیتر 2,4- D و ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر Kin در ریزنمونه برگ) و H_2*I (۱ میلی‌گرم در لیتر 2,4- D و ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر Kin در ریزنمونه میان‌گره) با هم تفاوت معنی‌دار نشان ندادند. اثر متقابل H_1*L، H_2*L و H_1*I با هم اختلاف معنی‌دار نشان ندادند و تولید کالوس در H_1*L و H_2*I صفر بود اما در اثر متقابل H_2*L مقداری کالوس تولید شد ولی بقدری ناچیز بود که قابل اندازه-گیری نبود. از نتایج مقایسه میانگین می‌توان چنین گفت که با افزایش غلظت 2,4- D تا ۲ میلی‌گرم در لیتر در هر دو ریزنمونه برگ و میان‌گره قطر کالوس افزایش می‌یابد اما در غلظت ۴ میلی‌گرم در لیتر 2,4- D در هر دو ریزنمونه کاهشی در قطر کالوس دیده می‌شود (نمودار ۶). در صفت وزن تر کالوس بیشترین میانگین (۰/۹۲۷ گرم) مربوط به اثر متقابل H_3*I بود. اثر متقابل H_1*L، H_2*L و H_1*I با هم تفاوت معنی‌داری نشان ندادند و اثرشان مشابه بود. اثر متقابل H_4*L و H_2*I نیز با هم تفاوت معنی‌داری نداشتند (نمودار ۴). در صفت درصد القاء کالوس، اثر متقابل H_3*I و H_4*I با هم اختلاف معنی‌داری نشان ندادند (نمودار ۵) (شکل ۱).



شکل۱- a و b- کالوس تشکیل شده از ریزنمونه برگ. c و d: کالوس تشکیل شده از ریزنمونه میان‌گره



نمودار ۴- مقایسه میانگین اثر متقابل محیط در ریزنمونه بر صفت وزن تر کالوس D1 و D4 ب‌ترتیب مقادیر ۱، ۲ و ۴ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D می‌باشد.

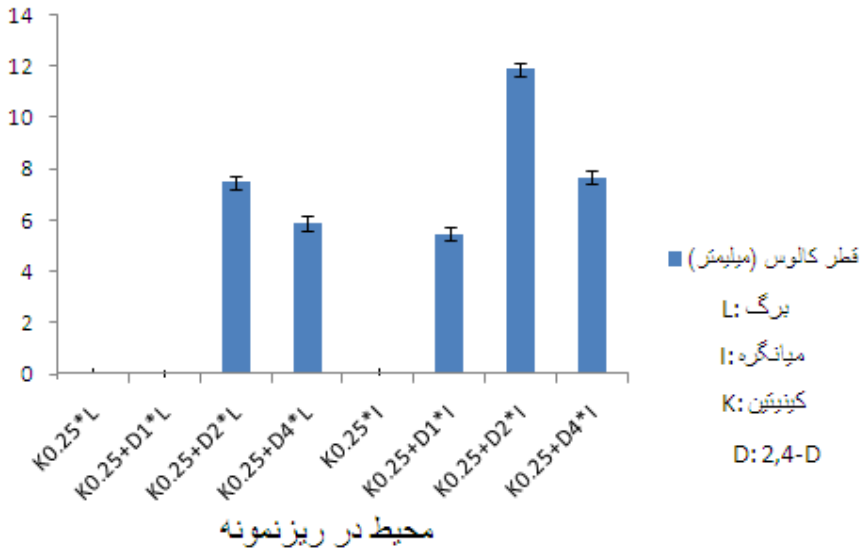


نمودار ۵- مقایسه میانگین اثر متقابل محیط در ریزنمونه بر روی درصد کال‌زایی D1 و D4 بترتیب مقادیر ۱، ۲ و ۴ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D می‌باشد.

بحث

در مطالعه شاه پیری و همکاران (۱۳۸۳) مشخص شد که مصرف بالاتر 2,4- D و Kin در گیاه سیب زمینی منجر به رشد کمتری در حجم کالوس می‌شود (۵). در تحقیق بادونی و چایوهان (۲۰۰۹) گزارش شد که گیاه سیب زمینی در محیط کشت حاوی ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر کینیتین بدون حضور اکسین هیچ کالوسی تولید نمی‌شود که با نتایج بدست آمده در تحقیق حاضر مطابقت دارد (۱۲). کاربرد 2,4- D به تنهایی یا در ترکیب با سیتوکینین در گیاه سیب زمینی بیشترین تأثیر را در القاء کالوس دارد (۷). هورمون 2,4- D بهترین اکسین برای القاء کالوس در تک لپه‌ای‌ها و حتی دو لپه‌ای‌ها می‌باشد (۱۶، ۲۰، ۲۲، ۲۴ و

۲۵). در تحقیق آندریا و همکاران (۲۰۰۹) اثر غلظت‌های مختلف اکسین و سیتوکینین بر روی القاء کالوس در چند ژنوتیپ سیب زمینی مورد بررسی قرار گرفت.



نمودار ۶ – مقایسه میانگین اثر متقابل محیط در ریزنمونه بر صفت قطر کالوس D1 و D4 بترتیب مقادیر ۱، ۲ و ۴ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D می‌باشد.

آنان نشان دادند که بیشترین درصد القاء کالوس در 0.5 mg/l 2,4- D+mg/l BAP 1 مشاهده شد (۹). القاء کالوس در چند واریته سیب زمینی در غلظت‌های مختلف 2,4-D، NAA و BAP بر روی دو نوع ریزنمونه ساقه و توبر توسط احمد و همکاران (۲۰۱۰) مورد بررسی قرار گرفت. آنان گزارش کردند که محیط کشت حاوی 1.8 mg/l 2,4- D, 0.2 mg/l BAP و 0.1 mg/l NAA برای همه واریته‌ها بیشترین درصد القاء کالوس را نشان داد (۸). القاء کالوس بر روی ریزنمونه بذر در گیاه *Solanum dubium* توسط مصباح عباس و همکاران (۲۰۱۱) مورد بررسی قرار گرفت. آنان نشان دادند که درصد القاء کالوس در محیط کشت حاوی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر اکسین (2,4- D یا NAA) افزایش اما با افزایش غلظت اکسین کاهش یافت. نتایج آنان نشان داد که اکسین در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر در ترکیب با BAP سرعت کال‌زایی را بالا می‌برد (۲۷).

دانشمند و همکاران (۱۳۹۰) پاسخ گونه‌های سیب زمینی خودرو به تنش شوری را در شرایط درون شیشه مورد بررسی قرار دادند. با توجه به نتایج بدست آمده از این مطالعه، به نظر می‌رسد پراکسیداسیون غشاء و درصد نشت یونی پارامترهای مناسبی برای بررسی میزان مقاومت به شوری و غربالگری گونه‌های خودروی سیب زمینی در شرایط درون شیشه‌ای باشند (۱). پاسخ پاداکسایشی (آنزیمی و غیرآنزیمی) گونه‌های وحشی سیب زمینی به شوری در شرایط درون شیشه‌ای توسط دانشمند و همکاران (۱۳۹۰) مورد بررسی قرار گرفت. محیط کشت MS بهمراه ۳۰ گرم در لیتر ساکارز و بدون تنظیم کننده رشد مورد استفاده قرار گرفت. با توجه به نتایج بدست آمده از این بررسی به نظر می‌رسد که سیستم دفاع پاداکسایشی آنزیمی به منظور تشخیص میزان مقاومت به شوری در گونه‌های وحشی سیب زمینی شاخص مناسبی نمی‌باشد (۲). باززایی با فراوانی بالا از قطعات جداکشت میان‌گره، برگ و ریزغده سیب زمینی (*Solanum tuberosum* L.) توسط رهنما و همکاران (۱۳۹۱) مورد بررسی قرار گرفت. میان‌گره‌ها، برگ‌ها و ریزغده‌های سیب زمینی در محیط‌های تیمارهای هورمونی مختلف کشت شدند. بر اساس نتایج بدست آمده، در محیط A (محیط تعدیل شده MS حاوی 2,4- D و سوکروز)، باززایی میان-

گره‌ها و برگ‌ها در غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر تیدیازرون (TDZ) در مقایسه با غلظت‌های ۰/۵ و ۲ میلی‌گرم در لیتر آن سریع‌تر انجام شد، در محیط C (محیط تعدیل شده MS حاوی ۲۰ گرم در لیتر گلوکز و ۲ میلی‌گرم در لیتر زئاتین ریبوزاید) درصد باززایی میان‌گره‌ها (آگریا ۹۵/۸٪، مارفونا ۱۰۰٪)، برگ‌ها (آگریا ۸۳/۳٪، مارفونا ۹۱/۶٪) و ریزغده‌ها (آگریا ۸۲/۶٪، مارفونا ۸۶/۳٪) بسیار بالاتر از محیط A بود. همچنین باززایی در محیط C حدود ۳۵ روز سریع‌تر از محیط A (۲۰-۱۶ روز بعد از کشت) انجام شد. از طرف دیگر مراحل مختلف تشکیل جنین‌های سوماتیکی هم در هر سه نوع قطعه جداکشت مشاهده شد. در فعالیت محیط C به دلیل بالا بودن درصد و سرعت باززایی هر سه نوع قطعه جداکشت بهترین محیط برای باززایی ارقام سیب زمینی معرفی گردید (۴).

نتیجه‌گیری نهایی

نتایج بدست آمده نشان داد که بیشترین درصد کال‌زایی در ریزنمونه برگ در محیط کشت حاوی ۲ میلی‌گرم در لیتر 2,4- Dو در ریزنمونه میان‌گره در محیط کشت حاوی ۴ میلی‌گرم در لیتر 2,4- D بود. قطر و وزن تر کالوس در محیط کشت حاوی ۲ میلی‌گرم در لیتر 2,4- D برای هر دو ریزنمونه (برگ و میان‌گره) بیشترین مقدار را نشان داد بنابراین برای تولید کالوس در گیاه سیب زمینی واریته آگریا غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر 2,4- D پیشنهاد می‌شود. استفاده از فاز کالوس در کشت بافت سیب زمینی و دستیابی به بهترین محیط القاء کالوس زمینه بهره‌گیری از تنوع سوماکلونال برای رسیدن به صفات مطلوب را مهیا می‌سازد.

منابع

۱- دانشمند، ف.، آروین، م.ج.، منوچهری کلانتری، خ.، (۱۳۹۰). پاسخ گونه‌های سیب زمینی خودرو به تنش شوری در شرایط کشت درون شیشه. مجله زیست شناسی ایران، ۲۴ (۱) :۷۸-۶۵.

۲- دانشمند، ف.، آروین، م.ج.، منوچهری کلانتری، خ.، (۱۳۹۰). پاسخ‌های پاداکسایشی گونه‌های وحشی سیب زمینی به شوری در شرایط درون شیشه‌ای. مجله زیست شناسی ایران، ۲۴ (۲) :۲۵۷-۲۴۵.

۳- رستمی، ر.، ابریشم‌چی، پ. و لاهوتی، م. (۱۳۸۸). بررسی غلظت-های مختلف توفوردی بر روی کشت مریستم در گیاه سیب زمینی (*Solanumtuberosum* L.). مجله علوم دانشگاه شهید چمران، (۲) :۱۲۹-۱۱۷.

۴- رهنما، ح.، منتصر کوهساری، ش.، نادری مشکین، ح.، فهیمی، ح.، (۱۳۹۱). باززایی با فراوانی بالا از قطعات جداکشت میان‌گره، برگ و ریزغده سیب زمینی (*Solanumtuberosum* L.). مجله زیست شناسی ایران، ۲۵ (۱) :۱۲۹-۱۲۰.

۵- شاه‌پیری، آ.، امیدی، م.، احمدیان تهرانی، پ. و داوودی، د. (۱۳۸۳). بررسی کشت بافت و تنوع سوماکلون در سیب زمینی، مجله علوم کشاورزی ایران، ۳۵ (۲) :۳۳۵-۳۲۳.

۶- قهرمان، ا. (۱۳۷۳)، کورموفیت‌های ایران (سیستماتیک گیاهی)، مرکز نشر دانشگاهی تهران. صفحه ۲۸۰.

7- Abdelaleem, Kh.G.,Modawi, R.S. and Khalafalla, M.M. (2009). Effect of plant growth regulators on callus induction and plant regeneration in tuber segment culture of potato (*Solanumtuberosum* L.) cultivar Diament.African Journal of Biotechnology. 8(11): 2529- 2534.

8- Ahmad, I., Ahmad Nasir, I., Haider, M.S., Javed, M.A., Latif, Z. and Husnain, T. (2010). *In vitro* induction of mutation in potato cultivars.Pakistan Journal of Phytopathology. 22(1): 51- 57.

9- Andreea, N., Campeanu, Gh.,Chriu, N. and Kracsonyi, D. (2009). Effect of auxine and cytokinine on callus induction in Potato (*Solanumtuberosum* L.) explants.Agricultura-Stiinta Si Practica. Pp: 47-50.

10- Apia, M. (1996). Effect of light on callus induction. Agro Ciencia. 12: 149-154.

11- Aitchison, P. A., MacLeod, A.J., Yeoman M.M. (1978). Growth patterns in tissue (callus) cultures. In HE Street, ed, Plant Tissue and Cell Culture, Blackwell Scientific Publications. Oxford ; 267-306.

12- Badoni, A. and Chauhan, J.S. (2009). Single Node Callus Culture: Improvement for Micropropagation of (*Solanumtuberosum* cv. KufriHimalini). Nature and Science. 7(3): 99-103. ISSN 1545- 0740.

13- Bhojwani, S.S. (ed). (1990). Plant Tissue Culture: Applications and Limitations. (Elsevier Science Publishers, P.O. Box 211, 1000 AE Amsterdam, The Netherlands). (445 pp).

14- Cardi, I., Iannamico, V., D' Ambrosio, F., flippone, E. and Lurqin, P.F. (1993). *In vitro* regeneration and cytological characterization of shoot from leaf explants of three accessions of *Solanumcommersoni*.Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 34: 107-114.

15- Carptu, T., Cardi, T., Chiari, T. and Frusciant, L. (1995). Tissue culture response in various wild and cultivated *Sulanum*germplasm accessions for exploitation in potato breeding. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 41: 151-158.

16- Chee, P.P. (1990). High frequency of somatic embryogenesis and recovery of fertile Cucumber Plants.Horticultural Science. 25: 792-793.

17 -Dudits, D., Gyorgyey, J., Bogre and, L., Bako, L. (1995).Molecular biology of somatic embryogenesis. In: In Vitro Embryogenesis in Plants. (Ed.): T.A. Thorpe. Kluwer Academic, Dordrecht, Boston, London. pp. 267-308.

18 - El-sawy, A., Bekheet, S. and Aly, U.I. (2007). Morphological and molecular characterization of potato microtubers production on coumarin inducing medium. International Journal of Agriculture and Biology., 9 (5): 675-680.

19- Haque, A.V., Samad, M.A. and Shapla, T.L. (2009). *In vitro* callus initiation and regeneration of potato.Bangladesh Journal of Agricultural Research. 34(3): 449-456.

20- Ho, W.J. and Vasil, I.K. (1983). Somatic embryogenesis in Sugarcan (*Saccharumumofficinarum* L.) I. The morphology and physiology of callus formation and the ontogeny of somatic embryos. Protoplasma. 118(3): 169-180.

21- Jain, S. M. 2001. Tissue culture-derived variation in crop improvement.Euphytica, 118: 153–166.

22- Jaiswal, V.S. and Naryan, P. (1985). Regeneration of Plantlets from the callus of stem segments of adult plants of *Fucusreligoisa*L. Plant Cell Reports. 4: 256-258.

23- Krikorian, A.D. (1988). Plant Tissue Culture: Perceptions and Realities. Proc. Indian Acad. Science (Plant Sci). pp: 425-464.

24- Lu, C., Vasil, I.K. and Ozias- Akins, P. (1982). Somatic embryogenesis in *Zea mays* L. Theoretical and Applied Genetics. 75:16-25.

25- Malamug, J.J.F., Inden, H. and Asahira, T. (1991). Plantlets regeneration and propagation from ginger callus. Scientia-Horticulturae. 48: 89-97.

26- McCabe, D.E., Swain, W.F., Martinell, B.J., Christou, P. (1988). Stable transformation of soybean (Glycine max) by particle acceleration Biotechnol. 6: 923-926.

27- MusbahAbas, F., ElshekhElnur, E., Mohd Noor, N., Algaali, E., Mohd Ali, Z. and Othman, R. (2011). An effective protocol for callus induction with milk Cclotting activity from *Solanumdudium* seeds.SainsMalaysiana. 40(4): 339-343.

28- Pollard, J.W. and Wallker, S (eds). (1990). Plant Cell and Tissue Culture: Methods in Molecular Biology. Vol. 6 Humuna Press, Clifton.

29- Shirin, F., Hossain, M., Kabir, M.F., Roy, M. and Sarker, S.R. (2007). Callus induction and plant regeneration from internodal and leaf explant of four Potato (*Solanumtuberosum*L.) cultivars. World Journal of Agricultural Science. 3(1): 01- 06.

30- Stiekema, W.J., Heidekamp, F., Louwerse, J.D., Verhoeven, H.A., Dijkhuis, P. (1988). Introduction of foreign genes into potato cultivars Bintje and Desiree using an *Agrobacterium tumefaciens* binary vector. Plant Cell Reports; 7: 47-50.

Investigation of Effect of Different Concentrations of 2,4- D and Kinetin on Callus Induction in Potato (*Solanum tuberosum* L.) Variety of Agria

Karamzad Zh.[1], Farshadfar M.[2], Zebarjadi A.R.[3,4] and Zolnorian H.[5]

[1] Biotechnology Dept., Payame Nour University of Tehran, Tehran, I.R. of Iran

[2] Plant Breeding Dept., Payame Noor University of Kermanshah, Kermanshah I.R. of Iran

[3] Agronomy and Plant Breeding Dept., Faculty of Sciences, Agricultural Engineering and Natural Resources, Razi University, Kermanshah , I.R. of Iran

[4] Biotechnology for Environmental Stress Dept., Razi University, Kermanshah, I.R. of Iran

[5] Center of Research of Agriculture and Natural Resource, Kermanshah, I.R. of Iran

Abstract

Plant tissue culture techniques are a useful tool to increase the genetic diversity, crop production and production of plants virus free. The purpose of this study was reached to a useful method for callus induction. The experiment was set up based on factorial experiment and completely randomized design (CRD) with 4 replications. The effect of different concentrations of 2,4- D (0, 1, 2, 4 mg/l) , Kin (0.25 mg/l) plant growth regulators and two explants (leaf and internode) were evaluated on callus induction. Results of analysis of variance showed that there was significant difference between two types of explants (leaf and internode) for diameter and fresh weight and percentage of callus induction traits, also different concentrations of 2,4- D and Kinetin were significant for all traits. The interaction of PGR*explant was significant for all traits. The results of means comparison showed that the highest percentage of callus induction (75%) was in leaf explants at a concentration of 2 mg/l (2,4- D) and for internode explant (87.5%) at 4 mg/l of 2,4- D. Diameter and fresh weight of callus were maximum in leaf explant (5.60 mm and 0.55 g) and in internode explant (9.13 mm and 0.92 g) at 2 mg/l concentration of 2,4- D.

Key words: Potato; 2,4- D; kinetin; Callus.