

اثر جیبرلیکاسید و بنزیل آدنین بر باززایی گیاهچه از مریستم و رشد همگروه‌های جدید سیب‌زمینی^۱

Effect of Gibberellic Acid and Benzyl Adenine on Plantlet Regeneration from Meristem and Growth of New Potato Clones

خسرو پرویزی، مرضیه قربانی، رحیم احمدوند و احمد موسی پور گرجی^۲

چکیده

به منظور بررسی اثر دو تنظیم‌کننده رشد جیبرلیکاسید و بنزیل آدنین بر باززایی گیاهچه از مریستم و ویژگی‌های رویشی گیاهچه‌های به‌دست‌آمده از مریستم در همگروه‌های جدید سیب‌زمینی، این پژوهش به صورت آزمایش فاکتوریل با طرح پایه به‌طور کامل تصادفی انجام گرفت. فاکتورهای مورد نظر شامل اثر تنظیم‌کننده‌های رشد جیبرلیکاسید و بنزیل آدنین در چهار سطح شامل ۱- محیط کشت MS کامل (شاهد)، ۲- محیط کشت MS + ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر جیبرلیکاسید، ۳- محیط کشت MS + ۲ میلی‌گرم در لیتر جیبرلیکاسید و ۴- محیط کشت MS + ۱ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آدنین و فاکتور دوم شامل پنج همگروه برتر سیب‌زمینی با نام‌های KSG302، KSG82، KSG48، KSG31، KSG64 بود. شمار مریستم‌های رشد کرده (میزان باززایی مریستم) و برخی از ویژگی‌های رشد گیاهچه‌های ایجاد شده از کشت مریستم شامل ارتفاع گیاهچه، وزن گیاهچه، شمار برگ، فاصله و شمار گره‌ها، شمار و طول ریشه‌ها اندازه‌گیری شدند. نتیجه‌های تجزیه واریانس نشان داد اثرهای اصلی تنظیم‌کننده رشد، همگروه و برهمکنش تنظیم‌کننده رشد و نوع همگروه بر میزان باززایی مریستم و هم‌چنین بر تمامی ویژگی‌های رشد گیاهچه معنی‌دار شد. از نظر ویژگی‌های رشد گیاهچه به‌دست‌آمده از مریستم، همگروه‌های مورد بررسی در تیمارهای متفاوت از دو تنظیم‌کننده رشد وضعیت متفاوتی نشان دادند. بیشترین وزن گیاهچه با میانگین ۰/۶۵۴ گرم در همگروه KSG64 در دو محیط کشت MS با غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آدنین و ۲ میلی‌گرم در لیتر جیبرلیکاسید به‌دست آمد. به‌طور کلی، با بررسی نتیجه‌های آزمایش مشخص شد که استفاده از تنظیم‌کننده رشد به‌ویژه بنزیل آدنین سبب افزایش قدرت رشد گیاهچه‌های به‌دست‌آمده از مریستم شد، در عین حال در بیشتر همگروه‌ها تأثیر معنی‌داری نیز بر میزان باززایی مریستم داشت. هم‌چنین، اثرهای جیبرلیکاسید بر میزان باززایی و قدرت رشد گیاهچه در غلظت کمتر وضعیتی مشابه غلظت بالاتر از آن داشت و حتی در مواردی نیز بهتر بود.

واژه‌های کلیدی: کشت بافت، تنظیم‌کننده رشد، ریزافزایی، سالم‌سازی.

مقدمه

سیب زمینی پس از گندم، ذرت و برنج چهارمین محصول مهم غذایی در دنیا می‌باشد. در کشور ما این گیاه زراعی پس از گندم با تولید ۴/۵ میلیون تن در مقام دوم تولید قرار دارد. میزان مصرف سرانه در ایران حدود ۴۶ کیلوگرم در سال می‌باشد، در حالیکه این مصرف در کشورهای اروپایی ۱۲۰ تا ۱۵۰ کیلوگرم است (۱). یکی از ویژگی‌های مهم سیب زمینی در بین محصولات زراعی آن است که بیشترین میزان انرژی قابل استفاده در واحد سطح را در روز تولید می‌کند، به نحوی که با تولید ۲۱۶ مگاژول در هکتار در روز در مقایسه با تولید ۱۵۹ مگاژول در ذرت، ۱۳۵ در گندم و ۱۲۱ مگاژول در برنج در رتبه

۱- تاریخ دریافت: ۹۷/۱۱/۲۹

تاریخ پذیرش: ۹۸/۴/۱

۲- به ترتیب استادیار پژوهشی و کارشناس ارشد بیوتکنولوژی کشاورزی، بخش تحقیقات زراعی - باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی همدان و استادیاران پژوهشی موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، همدان، کرج، ایران.
* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: (Khosroster@gmail.com).

نخست قرار دارد. به همین دلیل هم از سودآوری نسبی بالاتری در مقایسه با اکثر محصولات زراعی برخوردار می‌باشد. همچنین بهره‌وری این محصول در میزان آب مصرفی در واحد سطح در مقایسه با ذرت ۱/۸ برابر و در مقایسه با گندم بیش از ۲/۵ برابر است، لذا نسبت به آب مصرفی از بالاترین راندمان تولید انرژی برخوردار می‌باشد (۱۰). در کشورهای در حال توسعه غده بذری سیب‌زمینی بیشترین هزینه تولید در کشت سیب‌زمینی را به خود اختصاص داده است و بذر با کیفیت مرغوب معمولاً در دسترس نمی‌باشد. در این مناطق اکثر غده‌هایی که در امر افزایش مورد استفاده قرار می‌گیرند آلوده به بیماری غده‌زی می‌باشند. در حال حاضر روش‌هایی که به منظور تولید غده‌های عاری از آلودگی بکار گرفته می‌شوند، در درجه نخست کشت بافت و ریزادی می‌باشد (۶). نخستین برنامه منسجم سالم‌سازی همگروه‌ها و رقم‌های جدید سیب‌زمینی در کشت مریستم و در سال ۱۳۹۲ توسط موسسه تحقیقات بیوتکنولوژی در قالب پروژه ملی به انجام رسید و انتقال دانش فنی آن نیز به بخش خصوصی صورت گرفت. در پژوهش نخستیه که توسط Pennazio و Redolifi (۱۴) انجام گرفت، امکان حذف ویروس در سیب‌زمینی با استفاده از کشت مریستم‌هایی به طول ۰/۳ و ۰/۸ میلی‌متر فراهم شد. در این پژوهش هم‌چنین مشخص شد که مریستم‌های کوچک‌تر پاسخ بهتری نسبت به باززائی نشان می‌دهند.

پیمان و همکاران (۲) به ارزیابی مقاومت نژادگان‌ها و همگروه‌های برتر سیب‌زمینی مقاوم به ویروس از راه کشت مریستم پرداختند. بدین منظور اندازه‌های مختلف مریستم (۰/۱۲، ۰/۲۷ و ۰/۶ میلی‌متر) با ترکیب‌های مختلف از تنظیم‌کننده‌های رشد نفتالن استیک اسید (NAA)^۱، ۲ و ۴ دی کلرو فنوکسی استیک اسید (D-2,4)^۲، بنزیل آمینو پیورین (BAP)^۴ و ایندول استیک اسید (IAA)^۵ روی چهار رقم تجاری به‌همراه ۱۱ همگروه برتر مورد ارزیابی قرار گرفت. نتیجه‌ها نشان داد که با توجه به معنی‌دار شدن برهمکنش سه‌گانه مریستم، تنظیم‌کننده رشد و نژادگان، رقم سانته (Sante) با ریز نمونه ۰/۶ میلی‌متر روی محیط جامد حاوی تنظیم‌کننده رشد BAP (۷ میلی‌گرم در لیتر) بهترین شاخساره‌زایی را داشت و تنظیم‌کننده رشد NAA (۷ میلی‌گرم در لیتر) بالاترین باززایی را ایجاد کرد. با ارزیابی میزان مقاومت مشخص شد که رقم سانته و دو همگروه ۳۹۴۲۷۸ و ۸۰۳۹۷۰۰۷ به‌عنوان گیاهان مقاوم به ویروس‌های PVY و PVX و رقم موندیال (Mondial) به‌عنوان گیاه مقاوم به ویروس PVX شناسایی شدند.

در پژوهش دیگری (۲۰) در کشت مریستم از سیب‌زمینی دو رقم دزیره (Dezire) و پاترونز (Patronz) با غلظت‌های مختلف (۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌گرم در لیتر) از NAA و BAP با سه غلظت از جیبرلیک‌اسید (۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم در لیتر) همراه با ۲ غلظت پانتوتنیک‌اسید^۶ (۱ و ۲ میلی‌گرم در لیتر) مورد بررسی قرار گرفت. نتیجه‌ها نشان داد که ترکیب ۱ میلی‌گرم در لیتر پانتوتنیک‌اسید همراه با ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر جیبرلیک‌اسید بهترین پاسخ به باززایی از مریستم را ایجاد کرد و رقم دزیره در پاسخ به باززایی واکنش بهتری نسبت به پاترونز داشت. جالب این‌که در غلظت‌های مختلف NAA و BAP باززایی کامل از مریستم صورت نگرفت و در گیاهچه‌های به‌دست‌آمده هم تنها پینه تشکیل شد و ریشه نابجا به صورت کامل تشکیل نگردید. در پژوهش رودبار شجاعی و همکاران (۵) به منظور باززایی گیاهچه از مریستم در چهار رقم زراعی آگریا (Agria)، سانته، مارفونا (Marfona) و بورن (Boren)، دو تنظیم‌کننده رشد بنزیل آدنین و کینتین با غلظت‌های صفر، ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم در لیتر همراه با سه غلظت تنظیم‌کننده رشد جیبرلیک‌اسید (صفر، ۲، ۲/۵ و ۳ میلی‌گرم در لیتر) به صورت جداگانه و در ترکیب با همدیگر مورد آزمون قرار گرفت. نتیجه‌ها مشخص کرد که واکنش رقم‌ها به نوع تنظیم‌کننده رشد و ترکیب‌های مختلف از آن‌ها متفاوت بود. در رقم آگریا بهترین ترکیب تنظیم‌کننده رشد ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر جیبرلیک‌اسید بود. در دو رقم سانته و مارفونا بهترین ترکیب تنظیم‌کننده رشد ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر کینتین و ۳ میلی‌گرم در لیتر جیبرلیک‌اسید بود. اما در رقم بورن با ۲ میلی‌گرم در لیتر جیبرلیک‌اسید بهترین واکنش به باززایی از مریستم ایجاد شد. رستمی و همکاران (۳) به بررسی اثرهای غلظت‌های مختلف اکسین 2,4-D بر القاء پینه‌زایی و هم‌چنین باززایی و قدرت رشد گیاهچه‌های تولیدی پرداختند. در این آزمایش کشت مریستم‌های جانبی سیب‌زمینی در محیط کشت موراشیگ و اسکوگ (MS)^۷ جامد با پنج

Sanitation -۱	Naphthalene acetic acid (NAA) -۲	2, 4- Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) -۳
Benzyl amino purine (BAP) -۴	Indole-3-acetic acid (IAA) -۵	Pantothenic acid-۶
Murashige and Skoog (MS) -۷		

غلظت ۰/۵، ۱، ۱/۵، ۲ و ۲/۵ از 2,4-D انجام شد. با نتیجه‌های به‌دست‌آمده مشخص شد که غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر از 2,4-D مناسب تشکیل پینه بود و در مقابل غلظت ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر از این ماده بیشترین کارایی را در اندام‌زایی و قدرت رشد گیاهچه تولیدی از مریستم داشته است.

اکبری و همکاران (۱) به منظور بهینه‌سازی محیط کشت بافت در باززایی مریستم و قدرت رشد گیاهچه‌های به‌دست‌آمده سیب‌زمینی از سه تنظیم‌کننده رشد جیبرلیک‌اسید، بنزیل آدنین و کینتین با غلظت‌های صفر، ۱ و ۲ میلی‌گرم در لیتر و دو رقم مارفونا و ساوالان (Savalan) استفاده کردند. نتیجه‌ها نشان داد که بین سطح‌های تنظیم‌کننده رشد جیبرلیک‌اسید اگرچه برای برخی از ویژگی‌های رشد گیاهچه اختلاف معنی‌دار ایجاد شد، اما در میزان باززایی تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. تنظیم‌کننده رشد بنزیل آدنین در تمامی ویژگی‌های رشد گیاهچه و میزان باززایی تفاوت معنی‌دار ایجاد نکرد و میزان باززایی و ویژگی‌های رشد گیاهچه با غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر نسبت به غلظت‌های دیگر به طور معنی‌دار افزایش پیدا کرد. در مورد سطح‌های تنظیم‌کننده رشد کینتین فقط در میزان باززایی و طول ساقه در گیاهچه تفاوت معنی‌دار ایجاد شد.

انجام برنامه به‌نژادی در جهت معرفی رقم‌های جدید سیب‌زمینی با توجه به شرایط متفاوت کشور ما و نیز ذائقه و نیاز مصرف‌کنندگان از اقدام‌های مهم و ضروری می‌باشد. در این راستا نخست اولویت برنامه به‌نژادی بر معرفی رقم‌های جدید قرار گرفته و همگروه‌های مد نظر در طی دوره به‌نژادی ۹ ساله استخراج شده و در شرف معرفی هستند. اما با طولانی شدن دوره اصلاح به‌صورت طبیعی دچار پسروری شده و آلودگی به بیماری‌ها و به‌ویژه ویروس‌ها در آن‌ها محتمل می‌باشد. بنابراین سالم سازی همگروه‌های جدید سیب زمینی از ویروس ضمن این‌که ماده ژنتیکی سالم و کافی را در مرحله معرفی آن‌ها فراهم می‌کند، می‌تواند به تامین ژوخه بذری سالم برای ارزیابی در اجرای طرح‌های تکمیلی، پژوهشی- ترویجی در شرایط کشاورزان نیز کمک کند. از سویی مهمترین مشکل تولید سیب‌زمینی در بیشتر کشورهای جهان، به‌ویژه در کشور ما، عدم دسترسی به ژوخه بذری خوب و با کیفیت می‌باشد. ویروس‌ها مهمترین عامل فساد و کاهش کیفیت ژوخه بذری سیب‌زمینی به‌شمار می‌روند و باعث کاهش شدید عملکرد می‌شوند. در کشورهای توسعه یافته، فنون کشت بافت به‌طور گسترده‌ای برای تولید بذری از ویروس سیب‌زمینی (کشت مریستم) مورد استفاده قرار می‌گیرد (۶).

با بررسی منبع‌های موجود در زمینه استفاده از تنظیم‌کننده‌های رشد برای رشد و باززایی گیاهچه از کشت مریستم در سیب‌زمینی مشخص شد که اگرچه وجود تنظیم‌کننده رشد جیبرلیک‌اسید، اکسین و سایتوکینین به این فرآیند کمک کرده است، اما غلظت و میزان مصرف آن‌ها نیز واکنش‌هایی متفاوتی ایجاد کرده است. بنابراین، هدف از این پژوهش یافتن غلظت مناسب از تنظیم‌کننده رشد جیبرلیک‌اسید و همچنین اثرهای به‌کارگیری بنزیل آدنین بر باززایی از مریستم و سرعت رشد گیاهچه‌های به‌دست‌آمده از آن‌ها و نیز واکنش متفاوت همگروه در این فرآیند بوده است.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی اثر غلظت‌های مختلف تنظیم‌کننده رشد جیبرلیک‌اسید و کاربرد تنظیم‌کننده رشد بنزیل آدنین بر میزان باززایی و رشد مریستم و نیز قدرت رشد گیاهچه‌های تولیدی در همگروه‌های برتر سیب‌زمینی، آزمایشی به صورت فاکتوریل و در قالب طرح به‌طور کامل تصادفی با ۳ تکرار در آزمایشگاه کشت بافت و گلخانه مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع‌های طبیعی همدان در سال ۱۳۹۷ انجام شد. ترکیب تنظیم‌کننده رشد به‌عنوان فاکتور نخست، شامل اثر دو تنظیم‌کننده رشد جیبرلیک‌اسید و بنزیل آدنین در چهار سطح به صورت زیر بود؛ ۱- محیط کشت موراشیگ و اسکوک (MS) کامل (شاهد) ۲- محیط کشت MS + ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر جیبرلیک‌اسید ۳- محیط کشت MS + ۲ میلی‌گرم در لیتر جیبرلیک‌اسید ۴- محیط MS با ۱ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آدنین و فاکتور دوم شامل پنج همگروه برتر سیب‌زمینی با نام‌های KSG82، KSG302، KSG48، KSG31 و KSG64 بود. در ابتدا ژوخه‌های بذری از ۵ همگروه برتر شامل KSG302، KSG82، KSG48، KSG31 و KSG64 که از نظر ویژگی‌های ظاهری مطلوب‌تر و سالم‌تر بودند، انتخاب گردیده و پس از انتقال به آزمایشگاه کشت بافت برای سالم‌سازی مورد استفاده قرار گرفتند. بدین منظور، ژوخه‌های انتخابی پس از شستشو، به مدت ۲۰ تا ۲۵ دقیقه با هیپوکلرید سدیم ۵٪ گندزایی شدند. پس از گندزایی سطحی و شستشو با آب مقطر استریل، به صورت جداگانه در گلدان کشت و در گلخانه مخصوص نگهداری شدند. آبیاری ژوخه‌ها در دمای تقریبی ۲۵ درجه سلسیوس گلخانه، هر ۳ تا ۴ روز یکبار

انجام و هر هفته نسبت به کنترل هرگونه آفت و یا بیماری اقدام شد. پس از جوانه‌زنی و رشد ساقه‌ها، هر ۱۵ روز یکبار کودپاشی با استفاده از کود مایع کامل (فلورتیس، تولید شرکت اورویتال ایتالیا) صورت گرفته و به منظور رشد جوانه‌های جانبی و تولید شاخه‌های فرعی برای مریستم برداری، بوته‌های ۳۰ الی ۴۵ روزه سربرداری شدند. این عمل سبب شد که شمار مریستم‌های فعال کافی برای مرحله‌های بعدی در دسترس قرار گیرد.

بوته‌هایی که ساقه‌های آن ۵ تا ۱۰ سانتی‌متر رشد داشته‌اند، برای گرمادرمانی^۱ به مدت ۴ هفته در نورگاه ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی با دمای ۳۷ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۸۵٪ قرار داده شدند. ساقه‌های جوان بوته‌هایی که بدین ترتیب در معرض گرمادرمانی قرار داشته‌اند، برای جداسازی و کشت مریستم مورد استفاده قرار گرفتند.

پس از اعمال دما درمانی گیاهان رشد کرده در گلدان، قسمت‌های انتهایی ساقه، جداسازی شده و به وسیله اتانول ۷۰٪ (۱ دقیقه) و محلول هیپوکلریت سدیم ۰/۵٪ (۲۰ دقیقه) گندزایی شدند. در زیر لامینار ایرفلو در شرایط به‌طور کامل سترون با کمک بینوکولر و به وسیله تیغ جراحی و سوزن، مریستم جدا (اندازه میانگین مریستم بین ۰/۵ تا ۰/۱ میلی‌متر) و به محیط کشت MS جامد با غلظت‌های مختلف از تیمارهای جیبرلیک‌اسید و بنزیل آدنین منتقل شدند. هر تیمار آزمایشی در سه تکرار انجام شد. بنابراین شمار کل ظرف‌های کاشت و یا واحدهای آزمایشی ۶۰ عدد و در هر ظرف کشت چهار مریستم کشت شد. ظرف‌های حاوی مریستم در اتاقک رشد (فیتوترون) و در دمای ۲۲ درجه سلسیوس و شدت نور ۲۰۰۰ لوکس نگهداری شدند که پس از حدود یک ماه مریستم رشد کرده و تشکیل گیاهچه کامل شد. پس از این‌که مریستم به حد کافی رشد کرد و به گیاهچه تبدیل شد، شمار مریستم‌های رشد یافته یادداشت شدند. ویژگی‌های اندازه‌گیری شامل طول میانگره و شمار گره در گیاهچه، طول گیاهچه، شمار برگ در گیاهچه، شمار ریشه در گیاهچه و طول آن‌ها بودند. در نهایت داده‌ها، با استفاده از نرم افزار SAS (نسخه ۹/۲) واکاوی و مقایسه میانگین‌ها نیز با روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ بررسی و رسم نمودارها با استفاده از نرم افزار Excel انجام شد.

نتایج و بحث

شمار مریستم رشد یافته به صورت معنی‌داری ($P = 0.05$) زیر تاثیر غلظت‌های مختلف تنظیم‌کننده رشد جیبرلیک‌اسید و بنزیل آدنین قرار گرفت. هم‌چنین هر دو تنظیم‌کننده رشد و نیز نوع همگروه، اثر معنی‌داری ($P = 0.01$) بر تمامی ویژگی‌های رشد گیاهچه داشتند. برهمکنش همگروه و تنظیم‌کننده رشد بر شمار مریستم رشد یافته و تمامی ویژگی‌های رشدی گیاهچه‌های تولیدی در سطح ۱٪ معنی‌دار شد. هم‌چنین به‌منظور مشخص کردن عامل تعیین‌کننده در معنی‌داری برهمکنش همگروه و سطح‌های تنظیم‌کننده رشد جیبرلیک‌اسید و بنزیل آدنین، تجزیه داده‌ها به روش تکه‌ای انجام گرفت. نتیجه تجزیه واریانس تکه‌ای مشخص کرد که همگروه KSG31 (سطح ۴ همگروه) دلیل معنی‌دار شدن برهمکنش همگروه × تنظیم‌کننده رشد بر میزان باززایی مریستم بوده و دیگر همگروه‌ها بر برهمکنش تاثیر معنی‌دار نداشته‌اند. با مقایسه میانگین تیمارها نیز مشخص شد که همگروه KSG31 با میانگین شمار ۳/۳۳ مریستم رشد کرده در محیط کشت با غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آدنین از بیشترین شمار مریستم باززایی شده برخوردار بود که با دو تیمار دیگر تنظیم‌کننده رشد از این همگروه و تیمارهای تنظیم‌کننده رشد از دیگر همگروه‌ها تفاوت معنی‌دار داشت. استفاده از بنزیل آدنین منجر به باززایی بیشتری در مریستم‌ها از ۳ همگروه KSG82، KSG31 و KSG64 شد و از نظر آماری نیز تفاوت معنی‌داری با دو غلظت از جیبرلیک‌اسید نشان داد. این در حالی می‌باشد که در دو همگروه KSG302 و KSG48 تفاوت معنی‌داری در میزان باززایی مریستم در دو سطح تنظیم‌کننده رشد جیبرلیک‌اسید و بنزیل آدنین مشاهده نشد. در مجموع با استفاده از هر دو سطح تنظیم‌کننده رشد جیبرلیک‌اسید و بنزیل آدنین در مقایسه با تیمار شاهد (عدم کاربرد تنظیم‌کننده رشد) مریستم‌های بیشتری قادر به باززایی شدند، به‌طوری‌که تفاوت معنی‌داری با آزمون مقایسه دانکن ایجاد شد (شکل ۱).

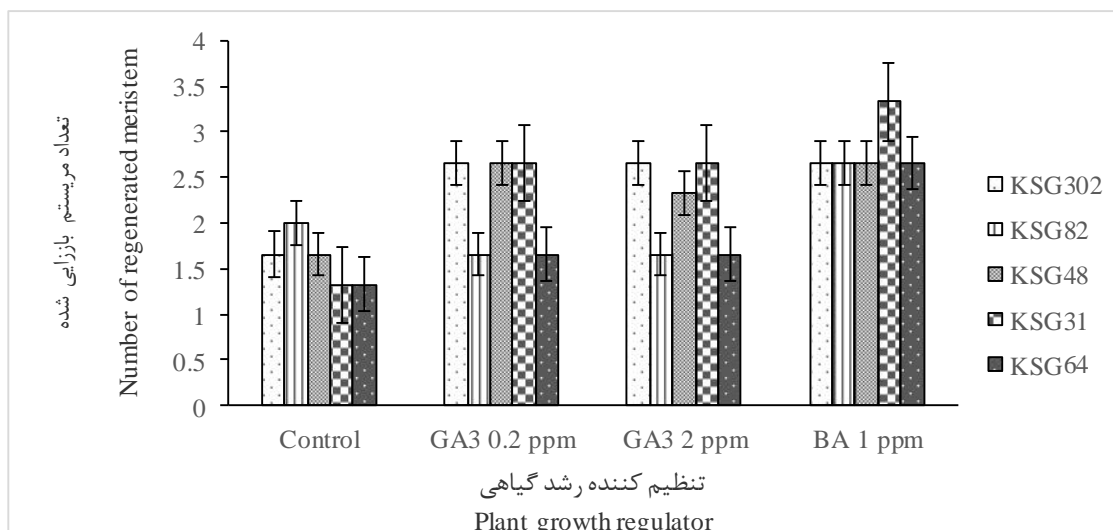


Fig. 1. Interaction effect of clone and different levels of plant growth regulators (GA_3 and BA) on the number of regenerated meristems.

شکل ۱- اثر برهمکنش همگروه و سطح‌های مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی (جیبرلیکاسید و بنزیل آدنین) بر شمار مریستم‌های باززایی شده.

اثرهای فیزیولوژیکی جیبرلین‌ها و سیتوکینین‌ها بر رشد و نمو در گیاهان از راه تحریک تقسیم یاخته‌ای و افزایش رشد یاخته‌های گیاهی اعمال می‌گردد (۱۶). اثرهای مثبت جیبرلیکاسید و بنزیل آدنین در افزایش میزان باززایی و توسعه رشد گیاهچه‌های به‌دست‌آمده از مریستم با تحریک تقسیم‌های یاخته‌ای و توسعه یاخته‌ها در کشت مریستم سیب‌زمینی ارتباط پیدا می‌کند (۲، ۵، ۲۰) که نتایج پژوهش حاضر با یافته‌های پیشین سازگار می‌باشد. واکنش متفاوت همگروه‌ها و رقم‌های سیب‌زمینی به باززایی در سطح‌های مختلف این تنظیم‌کننده رشد در پژوهش‌های یاد شده مورد تایید قرار گرفته است. در پژوهش Naghib و همکاران (۱۳) نیز با افزودن ۰/۵ میلی‌گرم GA_3 به محیط کشت مریستم، باززایی بهتری در مقایسه با تیمار شاهد ایجاد شد. در مقابل، در پژوهش اکبری و همکاران با استفاده از دو غلظت ۱ و ۲ میلی‌گرم در لیتر جیبرلیکاسید و در دو رقم ساوالان و سانته باززایی کمتری ایجاد شد. که با نتیجه‌های پژوهش اخیر مغایرت دارد. بیشترین وزن گیاهچه با تیمار تنظیم‌کننده رشد ۱ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آدنین به‌دست آمد و با دو غلظت دیگر جیبرلیکاسید تفاوت معنی‌داری نشان داد. روند تغییرهای وزن گیاهچه در تیمارهای تنظیم‌کننده رشد و عدم کاربرد تنظیم‌کننده رشد در همگروه‌های مختلف یکسان نبود. همگروه KSG64 با میانگین ۰/۶۷ گرم در محیط کشت ۱ میلی‌گرم از بنزیل آدنین بالاترین وزن گیاهچه را داشت که با تیمار ۲ میلی‌گرم در لیتر از جیبرلیکاسید مربوط به خودش و همگروه KSG82 از همین تیمار تنظیم‌کننده رشد و نیز ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر جیبرلیکاسید تفاوت معنی‌دار نشان نداد. در همگروه KSG302 بیشترین وزن گیاهچه (میانگین ۰/۴۰ گرم) با تنظیم‌کننده رشد جیبرلیکاسید و غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر به‌دست آمد که با افزایش ۰/۱ گرمی در مقایسه با دو تیمار دیگر تنظیم‌کننده رشد و هم‌چنین تیمار شاهد از این همگروه تفاوت معنی‌دار داشت. در این همگروه کمترین وزن گیاهچه با ۰/۰۲ گرم و با عدم کاربرد تنظیم‌کننده رشد ایجاد شد که با تمامی تیمارهای تنظیم‌کننده رشد از این همگروه تفاوت معنی‌دار داشت. در همگروه KSG48 در هر سه تیمار تنظیم‌کننده رشد و عدم کاربرد آن‌ها وزن گیاهچه نسبت به دیگر همگروه‌ها پائین‌تر بود و از این نظر نیز تفاوت معنی‌داری بین کاربرد تنظیم‌کننده رشد در تیمارهای مختلف آن ایجاد نشد. در مجموع استفاده از هر دو غلظت جیبرلیکاسید و بنزیل آدنین به‌طور مشخصی وزن گیاهچه‌های تولیدی را افزایش داد. هر چند واکنش رقم‌ها متفاوت بود و روند تغییرهای مشابهی نداشتند (شکل ۲).

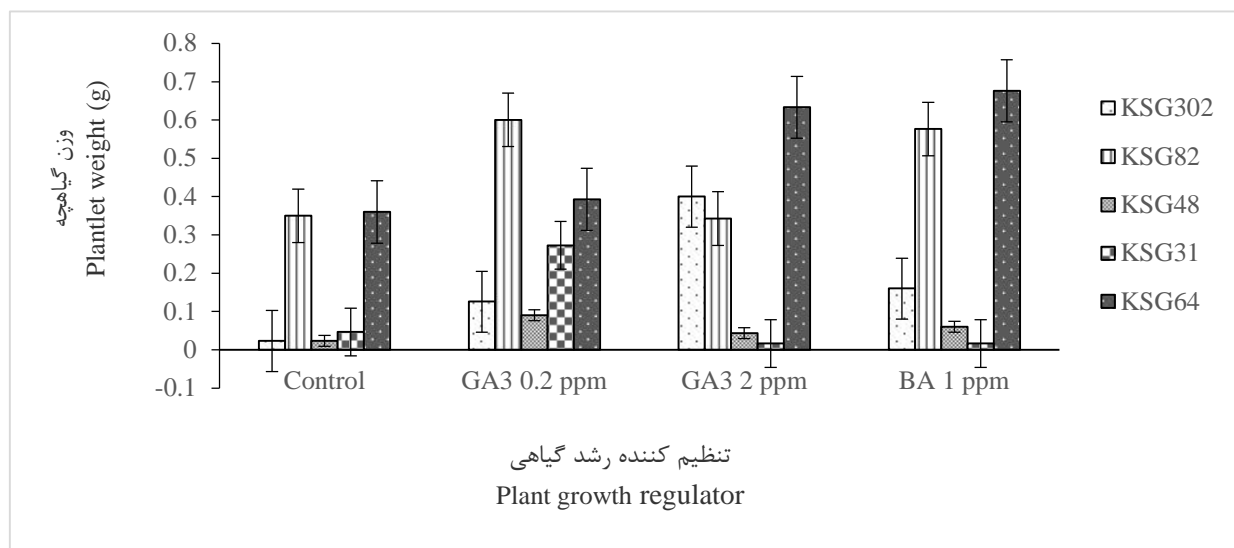


Fig. 2. Interaction effect of clone and different levels of plant growth regulators (GA₃ and BA) on plantlet weight. شکل ۲- اثر برهمکنش همگروه و سطح‌های مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی (جیبرلیک‌اسید و بنزیل آدنین) بر وزن گیاهچه.

جیبرلیک‌اسید در غلظت مناسب با بالابردن تقسیم‌های یاخته‌ای و در پی آن افزایش رشد یاخته‌ها سبب افزایش سطح برگ می‌شود که نتیجه آن افزایش ضریب فتوسنتز، سرعت جذب و تولید اسیمیلات‌ها است که در نهایت منجر به افزایش وزن تر ساقه می‌شود. ضمن این‌که اثربخشی دو غلظت ۰/۲ و ۲ میلی‌گرم در لیتر جیبرلیک‌اسید یکسان بوده است، بنابراین نیازی به کاربرد غلظت بالاتر از این تنظیم‌کننده رشد در کشت مرستم نمی‌باشد. تنظیم‌کننده رشد بنزیل آدنین در تحریک رشد گیاهچه با تحریک تقسیم‌های یاخته‌ای و هم‌چنین توسعه و رشد یاخته‌ها و نیز کمک در انتقال ترکیب‌های ذخیره‌ای اثری چند جانبه دارد (۱۷). اثرهای مثبت تنظیم‌کننده رشد بنزیل آدنین بر افزایش وزن تر گیاهچه سیب‌زمینی در این پژوهش با پژوهش‌های انجام گرفته توسط کاظمیانی نجف آبادی و همکاران (۶) و نیز حق طلب و همکاران (۴) همخوانی دارد.

کاربرد دو غلظت جیبرلیک‌اسید و بنزیل آدنین، به‌طور مشخصی منجر به افزایش ارتفاع گیاهچه‌ها نسبت به تیمار شاهد شد، هرچند تفاوت معنی‌داری در استفاده هر دو غلظت جیبرلیک‌اسید و بنزیل آدنین از نظر آماری ایجاد نشد. هم‌چنین همگروه‌های مختلف واکنش متفاوتی به استفاده از تنظیم‌کننده رشد در طول گیاهچه نشان دادند. همگروه KSG82 بیشترین ارتفاع گیاهچه (۱۰۳/۶۶ میلی‌متر) را در محیط کشت جیبرلیک‌اسید با غلظت ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر به خود اختصاص داد که با ارتفاع گیاهچه در هر دو محیط کشت با غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر جیبرلیک‌اسید و ۱ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آدنین از این همگروه تفاوت معنی‌دار نشان نداد، اما با دیگر همگروه‌ها در تیمارهای تنظیم‌کننده رشد تفاوت‌ها معنی‌دار شد. در همگروه KSG31 ارتفاع گیاهچه با کاربرد جیبرلیک‌اسید به صورت معنی‌داری افزایش یافت اما در همین همگروه با کاربرد بنزیل آدنین ارتفاع گیاهچه نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری نداشت. در دو همگروه KSG302 و KSG64 بیشترین ارتفاع گیاهچه با میانگین ۷۰/۴۹ میلی‌متر با کاربرد ۱ میلی‌گرم بنزیل آدنین ایجاد شد. در همگروه KSG48 ارتفاع گیاهچه کمتر بود و از این لحاظ تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای تنظیم‌کننده رشد و حتی تیمار شاهد ایجاد نشد (شکل ۳).

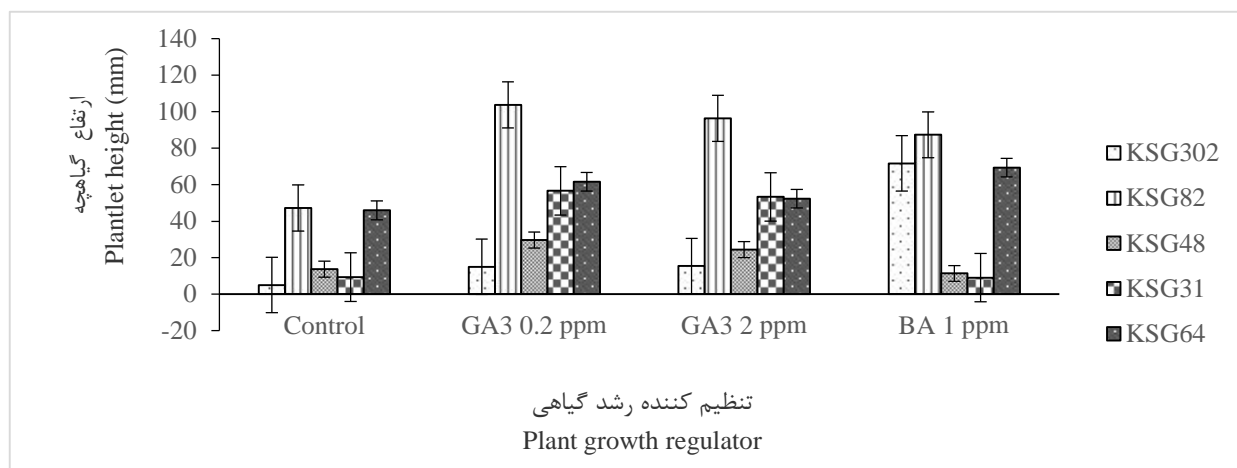


Fig. 3. Interaction effect of clone and plant growth regulators (GA₃ and BA levels) on plantlet height.

شکل ۳- برهمکنش همگروه و سطح‌های تنظیم‌کننده رشد جیبرلیک اسید و بنزیل آدنین بر ارتفاع گیاهچه.

اثرهای مثبت سایتوکینین و جیبرلیک اسید در تقسیم یاخته‌ای و تحریک رشد شاخساره در گیاهان مختلف به اثبات رسیده است. این دو تنظیم‌کننده رشد در غلظت‌های بالاتر ممکن است اثرهای کمتری داشته و یا حتی در جهت بازدارندگی عمل کنند (۱۸). به نظر می‌رسد که غلظت ۰/۲ میلی‌گرم از جیبرلیک اسید در تحریک رشد شاخساره و افزایش ارتفاع در گیاهچه‌های سیب‌زمینی به‌عنوان غلظت موثر کفایت می‌نماید و افزایش غلظت به ۲ میلی‌گرم در لیتر اگرچه ممکن است اثر بازدارندگی نداشته باشد، اما نقشی در تحریک رشد مضاعف ندارد. افزایش ارتفاع گیاهچه‌ها و موازی با آن بالا رفتن وزن تر آن‌ها با غلظت تنظیم‌کننده رشد BA می‌تواند بیانگر اثرهای مثبت این تنظیم‌کننده رشد بر افزایش ظرفیت فتوسنتز گیاهچه‌ها و در نتیجه بالا رفتن قدرت رشد و افزایش سطح زیست توده گیاهی در آن‌ها باشد (۱۵).

افزایش شمار برگ پنج همگروه مورد استفاده روند یکسانی در پاسخ به تیمارهای تنظیم‌کننده رشد نشان نداد. دو همگروه KSG64 و KSG31 با بیشترین شمار برگ در دو غلظت جیبرلیک اسید و بنزیل آدنین روند یکنواختی داشتند. در حالی که سه همگروه دیگر با سطح برگ کمتر واکنش یکنواختی در سطح‌های مختلف دو تنظیم‌کننده رشد نشان ندادند. همگروه KSG48 با میانگین ۳/۹۸ عدد برگ در تیمار بنزیل آدنین در مقایسه با دو همگروه KSG82 و KSG602 (با میانگین ۴/۶۶ عدد) برگ کمتری تولید کرد، اما همین همگروه با غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر جیبرلیک اسید با تولید ۵/۶۶ برگ نسبت به دو همگروه دیگر، به‌طور میانگین شمار ۲/۶۶ عدد برگ بیشتری تولید کرد (شکل ۴).

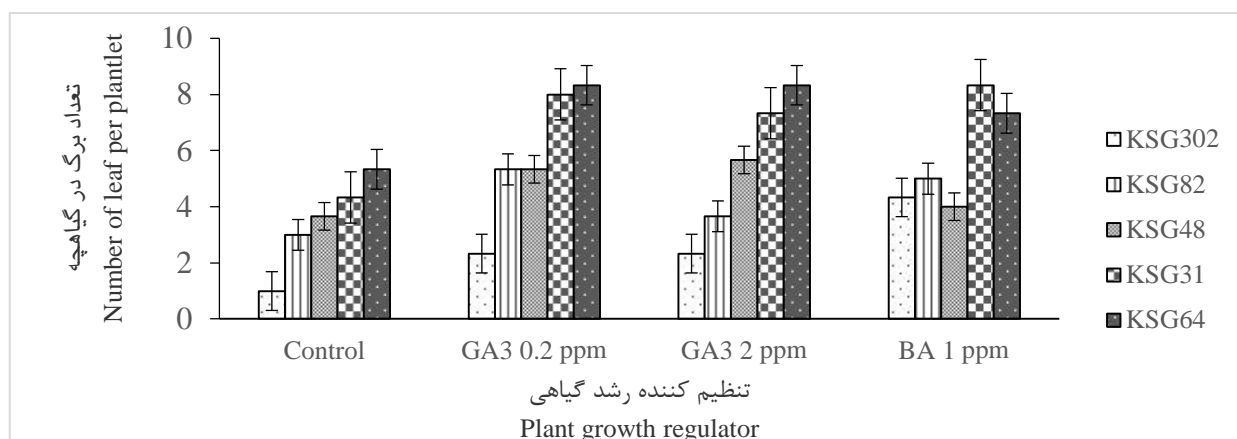


Fig. 4. Interaction effect of clone and plant growth regulators (GA₃ and BA levels) on number of leaf per plantlet.

شکل ۴- برهمکنش همگروه و سطح‌های تنظیم‌کننده رشد جیبرلیک اسید و بنزیل آدنین بر شمار برگ در گیاهچه.

نقش جیبرلین‌ها و به‌ویژه سایتوکینین‌ها در به تأخیر انداختن پیری، جلوگیری از تجزیه کلروفیل و اندام‌زایی در کشت بافت گیاهان به اثبات رسیده است (۱۵). هم‌چنین مشخص شده است که در جهش یافته‌های برگ از گیاهان، به کارگیری سایتوکینین بیرونی سبب تحریک تشکیل برگ و جلوگیری از ریزش آن در این گیاهان می‌شود (۱۵، ۱۶). افزایش شمار قابل توجه برگ از گیاهچه‌های به‌دست‌آمده از مریستم در تیمارهای تنظیم‌کننده رشد می‌تواند ناشی از اثرهای مستقیم بنزیل آدنین و جیبرلیک‌اسید در این فرآیند باشد. افزایش شمار برگ در کشت مریستم از سیب‌زمینی در نتیجه استفاده از جیبرلیک‌اسید و بنزیل آدنین پیشتر توسط اکبری و همکاران (۱) و رودبار شجاعی و همکاران (۵) مورد تأیید قرار گرفته است. طول میانگه در گیاهچه تولیدی با واکنش متفاوت همگروه‌ها به شدت زیر تأثیر تیمارهای تنظیم‌کننده رشد قرار گرفت. بیشترین فاصله میانگه در دو همگروه KSG302 و KSG82 به ترتیب به میزان ۲۵/۵۲ و ۲۶/۰۵ میلی‌متر در غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر جیبرلیک‌اسید به‌دست آمد. استفاده از تنظیم‌کننده رشد سبب افزایش معنی‌داری در طول میانگه به میزان ۲۷٪ در مقایسه با شاهد شد. غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر جیبرلیک‌اسید نسبت به غلظت کمتر آن و استفاده از بنزیل آدنین منجر به افزایش بیشتری در طول میانگه در گیاهچه‌ها شد، اما با این تیمارها تفاوت معنی‌دار نداشت (شکل ۵).

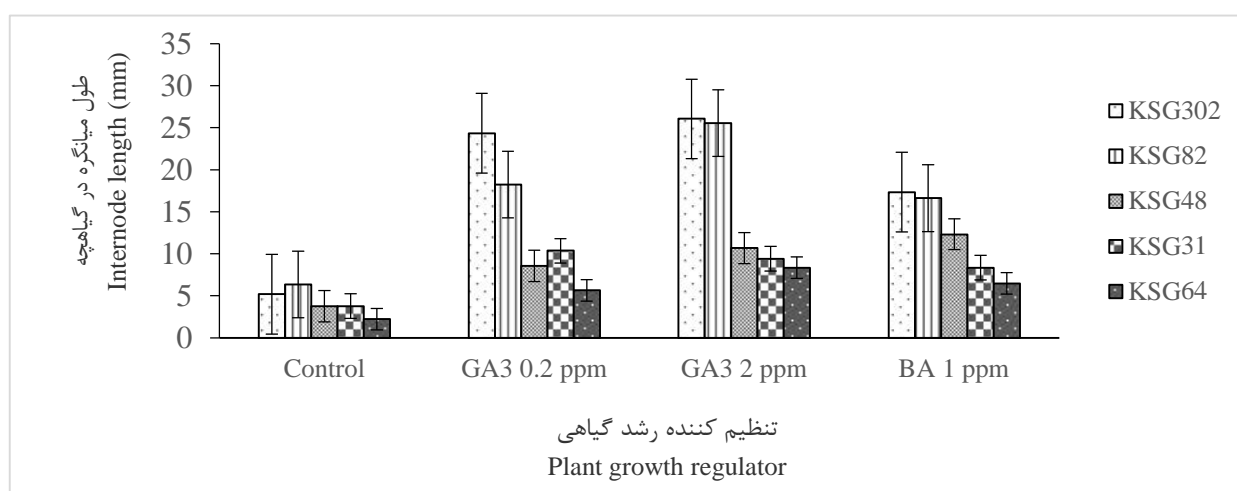


Fig. 5. Interaction effect of clone and plant growth regulators (GA_3 and BA levels) on internode length reproduced plantlets.

شکل ۵- برهمکنش همگروه و سطح‌های تنظیم‌کننده رشد جیبرلیک‌اسید و بنزیل آدنین بر طول میانگه در گیاهچه‌های باززایی شده.

طول میانگه تابعی از ارتفاع گیاهچه است. توسعه یاخته‌ها و افزایش رشد طولی ساقه و میانگه در گیاهان از بارزترین اثرهای فیزیولوژیک جیبرلیک‌اسید می‌باشد که در گیاهان مختلف سبب تحریک رشد ناحیه زیر مریستم می‌شود و اثرهای آن در تحریک رشد گیاهان پاکوتاه به اثبات رسیده است (۱۲). سایتوکینین با افزایش تقسیم‌های یاخته‌ای منجر به افزایش طول ساقه شده و به‌طور غیر مستقیم بر افزایش فاصله گره‌ها اثر می‌گذارد (۱۵).

شمار ریشه در گیاهچه با غلظت پائین جیبرلیک‌اسید (میانگین ۴/۳۰ عدد در گیاهچه) و هم‌چنین تیمار بنزیل آدنین (میانگین ۳/۹۳ عدد در گیاهچه) نسبت به تیمار شاهد (میانگین ۲/۴۶ عدد در گیاهچه) افزایش معنی‌دار داشت. این تغییرها در همگروه‌های مورد بررسی وضعیت مشابهی نداشته و همگروه‌ها واکنش‌های متفاوت نشان دادند. هرچند در بیشتر همگروه‌ها شمار ریشه در دو تیمار تنظیم‌کننده رشد ذکر شده نسبت به شاهد افزایش معنی‌دار داشت اما این افزایش در همگروه‌ها وضعیت مشابهی نداشت. در همگروه KSG31 و در دو تیمار تنظیم‌کننده رشد با غلظت پائین جیبرلیک‌اسید و بنزیل آدنین نسبت به تیمار شاهد، به‌طور میانگین به میزان ۳/۸۳ عدد افزایش در شمار ریشه ایجاد شد و این در حالی بود که این افزایش در همگروه KSG302 به میزان ۱/۶۰ عدد در هر گیاهچه بود (شکل ۶).

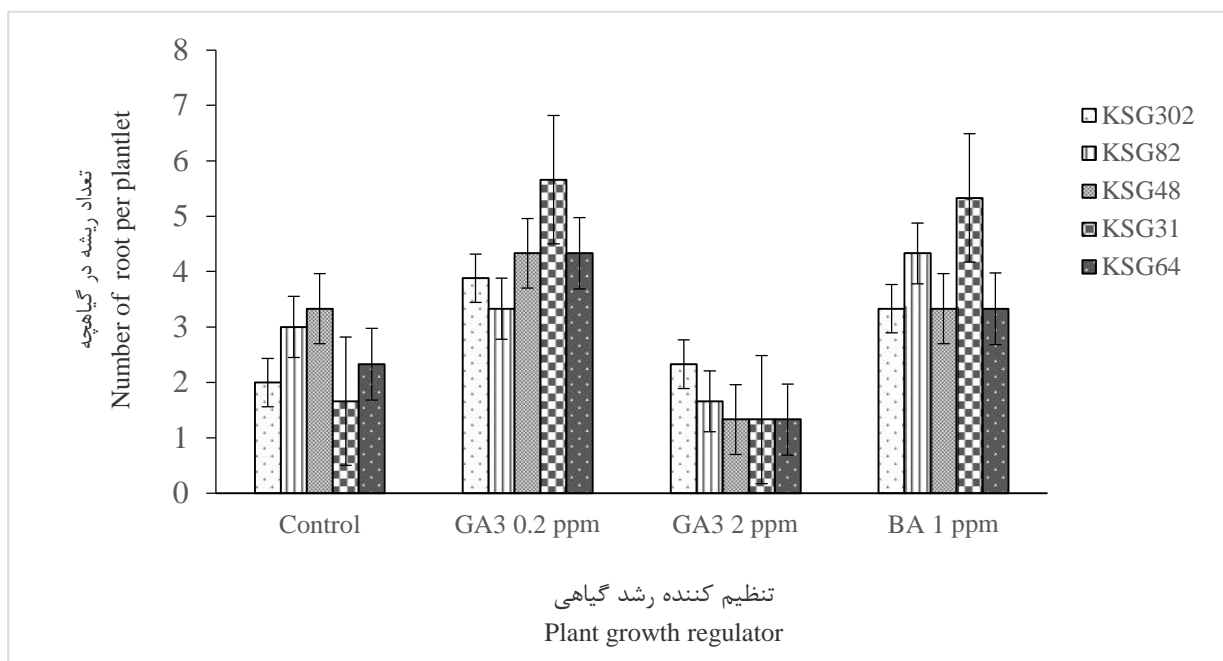


Fig. 6. Interaction effect of clone and plant growth regulators (GA_3 and BA levels) on root number in reproduced plantlets.

شکل ۶- برهمکنش همگروه و سطح‌های تنظیم‌کننده رشد جیبرلیک اسید و بنزیل آدنین بر شمار ریشه در گیاهچه‌های باززایی شده.

مشخص شده است که کاربرد خارجی جیبرلین‌ها از یک میکرومول در لیتر و بالاتر در محیط کشت بافت و هم‌چنین در شرایط گلخانه در بیشتر گونه‌های گیاهی بازدارنده تشکیل ریشه نابجا بوده است. هم‌چنین گزارش‌هایی در منابع موجود است و نشان می‌دهند که با غلظت‌های کم، جیبرلین‌ها تشکیل ریشه نابجا را تسهیل کرده‌اند (۱۸). در این پژوهش نقش مثبت و موثر تنظیم‌کننده رشد جیبرلیک اسید در غلظت پائین آن بر ریشه‌زایی و از سویی اثرهای منفی آن در کاهش تشکیل ریشه در غلظت بالا، می‌تواند تأییدی بر این موضوع باشد که در محیط کشت بافت سیب‌زمینی، جیبرلیک اسید در غلظت‌های پائین تسهیل کننده تشکیل ریشه می‌باشد، اما در غلظت بالا از میزان تشکیل ریشه کاسته و حتی می‌تواند از آن جلوگیری کند. اثرهای بازدارندگی جیبرلیک اسید در غلظت‌های بالا بر شمار ریشه تشکیل شده در گیاهان ایجاد شده از مریستم در پژوهش حاضر با پژوهش انجام گرفته توسط اکبری و همکاران (۱) سازگار است.

گزارش‌های ضد و نقیضی در ارتباط با اثرهای بازدارندگی و یا تحریک کنندگی سایتوکینین بر رشد ریشه و میزان باززایی آن در گیاهان مختلف ارائه شده است (۱۸). به نظر می‌رسد که اثرهای مثبت سایتوکینین BA بر ریشه‌زایی و تحریک آن در گیاهچه‌های سیب‌زمینی بیشتر تابع غلظت و زمان به‌کارگیری آن بوده و در گیاهچه‌های جدید به‌دست‌آمده از کشت مریستم، در غلظت‌های پایین اثرهای تحریک‌کنندگی داشته باشد.

واکنش همگروه‌ها در تیمارهای مختلف تنظیم‌کننده رشد در ارتباط با میزان طول ریشه روند یکنواختی نداشت. بیشترین طول ریشه با میانگین ۹۴/۹۳ میلی‌متر مربوط به غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر جیبرلیک اسید بود و پس از آن به‌ترتیب و با تفاوتی معنی‌دار غلظت ۰/۲ میلی‌گرم جیبرلیک (میانگین ۷۸/۳۱ میلی‌متر) و ۱ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آدنین (میانگین ۷۳/۴ میلی‌متر) قرار گرفت. با عدم کاربرد تنظیم‌کننده رشد میانگین طول ریشه (۳۵/۰۵ میلی‌متر) با اختلافی قابل توجه کاهش پیدا کرد و از نظر آماری نیز تفاوت معنی‌داری با تیمارهای تنظیم‌کننده رشد نشان داد (شکل ۷).

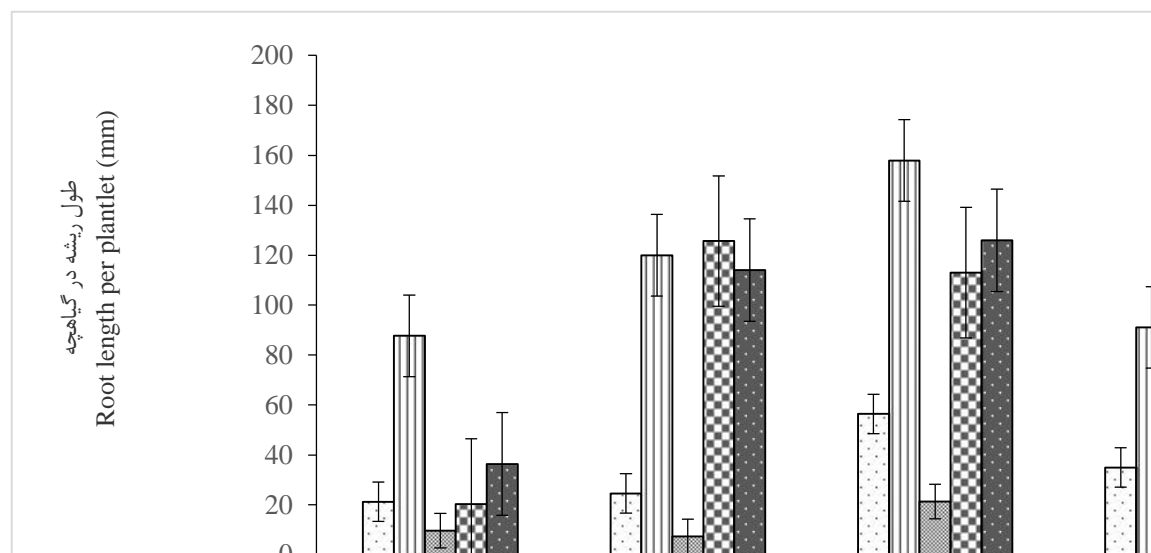


Fig. 7. Interaction effect of clone and plant growth regulators (GA₃ and BA levels) on root length in reproduced plantlet.

شکل ۷- برهمکنش همگروه و سطح‌های تنظیم‌کننده رشد جیبرلیک‌اسید و بنزیل‌آدنین بر طول ریشه در گیاهچه‌های باززایی شده.

افزایش رشد ریشه در گیاهچه‌های به‌دست‌آمده از مریستم در هر دو غلظت مورد استفاده از جیبرلیک‌اسید نشان دهنده این موضوع می‌باشد که اگرچه جیبرلیک‌اسید در غلظت پائین محرک آغازیدن ریشه و در غلظت بالاتر از یک میکرومول بازدارنده تشکیل ریشه می‌باشد اما پس از تشکیل ریشه سبب رشد طولی ریشه شده و حتی در غلظت بالا ممکن است افزایش بیشتری در رشد یاخته‌های ریشه و توسعه طولی آن‌ها ایجاد نماید.

نتیجه‌گیری

با نتیجه‌های این پژوهش مشخص شد که در باززایی مریستم در کشت بافت سیب‌زمینی و ایجاد رشد مناسب در گیاهچه‌های به‌دست‌آمده، افزودن تنظیم‌کننده رشد جیبرلیک‌اسید در غلظت کم (۰/۲ میلی‌گرم در لیتر) به‌عنوان شرط لازم و کافی بوده و ضرورتی به استفاده از غلظت بالاتر نیست. همچنین استفاده از بنزیل‌آدنین در کشت مریستم از سیب‌زمینی به‌عنوان تنظیم‌کننده رشدی که اثر چشمگیری در باززایی داشته و رشد گیاهچه‌های به‌دست‌آمده را حتی بیشتر از جیبرلیک‌اسید تقویت می‌بخشد، می‌تواند در نخستویت قرار گیرد. همچنین نقش نژادگان و پاسخ متفاوت همگروه‌ها در باززایی از مریستم و رشد گیاهچه‌های به‌دست‌آمده در تیمارهای مختلف از تنظیم‌کننده رشد می‌بایستی مد نظر قرار گیرد.

References

منابع

- اکبری، ر.، ع. محمدی و م. چایچی. ۱۳۹۰. بهینه‌سازی کشت مریستم برخی از رقم‌های سیب‌زمینی (*Solanum tuberosum*) در شرایط درون شیشه‌ای (*In vitro*). پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، ۱۲۵ ص.
- پیمان، م.، م. ر. قنادها، ا. مجیدی و ع. زربخش. ۱۳۸۳. ارزیابی و معرفی ژنوتیپ‌های مقاوم به ویروس در سیب‌زمینی. مجله علوم کشاورزی ایران، ۳۵ (۴): ۸۰۹-۸۱۵.
- رستمی، ر.، پ. ابریشم‌چی، و م. لاهوتی. ۱۳۹۱. القای کالوس و باززایی گیاه از کشت مریستم سیب‌زمینی. نشریه علوم، دانشگاه تربیت معلم، ۱۰ (۴): ۱۰۳۱-۱۰۱۱.
- حق طلب، ز.، م. اثنی‌عشری، م. چایچی و ع. مرادی پیام. ۱۳۸۹. تاثیر تنظیم‌کننده‌های رشد BAP, GA₃ در مراحل استولون زایی و ژوخه زایی بر عملکرد مینی تیوبرهای رقم سانتا. یازدهمین کنگره علوم زراعت و اصلاح نباتات. دانشگاه شهید بهشتی تهران، ۳ ص.

۵. رودبار شجاعی، ط.، ن. سپهوند، م. امیدی، ع. محمدی و ح. ر. عبدی. ۱۳۸۶. واکنش چهار رقم تجاری سیبزمینی به ترکیبات متفاوت تنظیم کننده های رشد گیاهی در کشت. مجله علوم زراعی ایران، ۹ (۴): ۳۳۲-۳۴۴.
۶. کاظمیانی نجف آبادی، س.، ع. مطلبی آذر و ج. پناهنده. ۱۳۸۹. بهینه سازی مرحله پرآوری شاخساره و ریززوخه زایی درون شیشه ای در سیبزمینی رقم آگریا. پایان نامه کارشناسی ارشد. وزارت علوم، تحقیقات و فناوری، دانشگاه تبریز، دانشکده کشاورزی، ۱۵۶ ص.
7. Adelberg, J. and J. Naylor-Adelberg. 2012. Effects of cytokinin on multiplication and rooting of *Aloe barbadensis* during micropropagation on Agar and Liquid Medium. *J. Medic Act. Plant.* 1 (1):1-5.
8. Belarmino, M. M., T. Abe and T. Sasahara. 1994. Plant regeneration from stem and petiole protoplasts of sweet potato and its wild relative. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 37:145- 150.
9. Carputo, D., T. Cardi, G. Ferraiolo and L. Frusciante. 1995. Tissue culture response in various wild and cultivated *Solanum* germplasm accessions for exploitation in potato breeding. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 41:151-158.
- 10- Food Policy Research Institute. 2017. Global food policy report, 2017. Washington, DC: International Food Policy Research Institute. <https://doi.org/10.2499/9780896292529>.
11. Hartman, T.H. 1990. Plant propagation, principle and practices. University of California, Davis Publisher, U. S.A. Vol. 2, 455 pp.
12. Jean-Michel, D. and A. Patrick. 2013. Gibberellin signaling in plants. *Development*, 140:1147-1151.
13. Naghib, A., S. A. Hossain, M. F. Alam, M. M. Hossain, R. Islam and R. S. Sultana. 2003. Virus free potato seed production through meristem culture in tropical Asia. *Asia J. Plant Sci.* 2: 8:616- 622.
14. Pennazio, S. and P. Redolifi. 1974. Potato virus X eradication in cultured potato meristem tips. *Potato Res.* 17:333-335.
15. Peter, J. D. 2010. Plant hormones, biosynthesis, signal transduction, action, Cornell University Ithaca publisher, 802 pp.
16. Riefler, M., O. Novak, M. Strnad and S. Thomas. 2006. Arabidopsis cytokinin receptor mutants reveal functions in shoot growth, leaf senescence, seed size, germination, root development, and cytokinin metabolism. *The Plant Cell.* 18: 40-54.
17. Saker, M. M., A. A. Tarek, N. Moussa, Z. Heikal, H. Amany, A. A. bo ELLil and R. M. H. Abdel-Rahman. 2012. Selection of an efficient in vitro micro propagation and regeneration system for potato (*Solanum tuberosum* L.) cultivar Desirée. *Afr. J. Biotechnol.* 11(98):16388-16404.
18. Sayaka, I. and S. Teruo. 2000. Regulation of Elongation Growth by Gibberellin in Root Segments of *Lemna minor*. *Plant Cell Physiol.* 41(8):932-939
19. Valkama, T. M., A. Lehtinen, A. Santala, K. Koivu, T. Pehu, K. Lehto, J. Valonen and E. Pehu. 1998. Potato virus YP, gene – mediated resistance in transgenic potato, *ICPP98*, 5:3-4.

20. Yasmin, A., A. A. Jalbani and S. Raza. 2011. Effect of growth regulators on meristem tip culture of local potato cvs desiree and patrones. Pakistan J. Agr. Eng. Veter. Sci. 27 (2):143-149.

Effect of Gibberellic Acid and Benzyl Adenine on Plantlet Regeneration from Meristem and Growth of New Potato Clones

K. Parvizi*, M. Ghorbani, R. Ahmadvand and A. Mousapour gorji¹

In order to investigate the effect of two growth regulators of gibberellic acid (GA₃) and benzyl adenine (BA) on meristems regeneration and their vegetative characteristics in new potato clones, this study was conducted as a factorial experiment based on a completely randomized design. Factors that were investigated included the effect of gibberellic acid and benzyl adenine on four levels including 1- complete MS medium (control), 2- MS medium + 0.2 mg. L⁻¹ gibberellic acid, 3- MS medium + 2 mg. L⁻¹ gibberellic acid and 4- MS medium + 1 mg. L⁻¹ benzyl adenine medium and the second factor included five potato clones named KSG302, KSG82, KSG48, KSG31 and KSG64. The number of growing meristems (the regenerated meristem) and some vegetative traits of reproduced plantlets including plantlet height, plantlet weight, leaves number, internode and number of nodes, number and length of the roots were measured. Results of analysis of variance showed that main effects of growth regulator, clone and their interaction were significant on meristem regeneration rate and also on all growth characteristics of the regenerated plantlets. The studied clones showed different status in the terms of plantlet growth traits in different treatments of two growth regulators. The highest plantlet weight was obtained in KSG64 clone with an average of 0.654 g in two MS mediums of 1 mg. L⁻¹ benzyl adenine and 2 mg. L⁻¹ gibberellic acid. Totally, the results of the experiment showed that the use of growth regulator especially benzyl adenine increased the growth vigor of plantlet, but also had a significant effect on meristem regeneration in most clones. Also, the effects of low concentration of gibberellic acid was similar to those at higher concentrations on meristem regeneration and growth vigor of the plantlets and even better in some cases.

Keywords: Tissue Culture, Plant Growth Regulators, Multiplication, Sanitation.

¹ Assistant Professor, M.Sc. Student of Biotechnology in Agriculture, Horticulture Crops Research Department, Hamedan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center and Assistant Professors, Seed and Plant Improvement Institute, Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Hamedan, Karaj, Iran, respectively.

*Corresponding author, Email:(khosroster@gmail.com).