نشریه علمی ـ پژوهشی اکوفیزیولوژی گیاهان زراعی، جلد دهم، شماره ۳(۳۹)، پاییز ۱۳۹۵، صفحه ۷۶۲-۷۴۹

# شناسایی ژن مقاومت به ویروس Y در ژنوتیپ‌های سیب‌زمینی (*Solanum tuberosum* L.) و ارتباط آن با عملکرد غده قابل فروش

حسن حسن‌آبادی[۱]، عبدالهادی حسین‌زاده*[۲]، سیدعلی پیغمبری[۳]، محمدرضا نقوی[۳] و اکبر دیزجی[۴]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۵/۲۸ تاریخ بازنگری: ۱۳۹۵/۲/۲۰ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۶/۲۳

## چکیده

ژن $Ry_{sto}$ که منشأ آن گونه وحشی *Solanum stoloniferum* است و موجب ایمنی به ویروس Yی سیب‌زمینی می‌شود در ۲۱ کلون و رقم (ژنوتیپ) سیب‌زمینی شناسایی شد و ژنوتیپ‌ها از لحاظ برخی صفات زراعی بررسی شدند. برای شناسایی این ژن مقاومت و عملکرد غده ژنوتیپ‌ها، پنج آزمایش اجرا شدند. در آزمایش اول ۳۲۰ ژنوتیپ در مزرعه کشت شدند و براساس علایم ظاهری بیماری (با مشاهده علایم موزائیک در برگ‌ها) تعداد ۵۵ کلون و رقم که فاقد علایم قابل رؤیت بیماری بودند از بین آنها انتخاب و سالم‌سازی شدند. در آزمایش دوم ۵۵ ژنوتیپ مذکور در گلدان‌های ۲۰ سانتی‌متری در شرایط ۲۵-۱۵ درجه سلسیوس در سه تکرار در گلخانه همراه با شاهد حساس دزیره کشت گردیدند. پس از پنج هفته برگ‌های ژنوتیپ‌های سیب‌زمینی، با شیره گیاه توتون که آلودگی آنها به $PVY^{NTN}$ قبلاً محرز شده بود تلقیح و ۴۸ ساعت بعد عمل تلقیح تکرار شد. چهار هفته بعد ضمن یادداشت‌برداری علایم بیماری، آلودگی آنها از طریق آزمون الایزا بررسی و ۲۳ ژنوتیپ که فاقد علامت بیماری بودند و نتیجه آزمون الایزای آنها منفی بود به عنوان مقاوم انتخاب شدند. در آزمایش سوم ۲۳ ژنوتیپ در سه تکرار در گلخانه کشت گردیدند و عمل آلوده‌سازی آنها از طریق پیوند جوانه‌های جوان توتون آلوده به PVY صورت گرفت و ۲۳ ژنوتیپ که در آزمون الایزا در هیچ یک از تکرارها آلودگی نشان ندادند به عنوان مقاوم منظور گردیدند. در آزمایش چهارم کلون‌های مقاوم با استفاده از نشانگر DNAی STM0003 برای حضور ژن $Ry_{sto}$ بررسی گردیدند و نهایتاً چهار رقم (جلی، سانته، وایت‌لیدی، ساوالان) و ۱۹ کلون پیشرفته سیب‌زمینی به عنوان مقاوم و حامل ژن $Ry_{sto}$ شناسایی شدند. در آزمایش پنجم عملکرد غده قابل فروش ارقام و کلون‌های مقاوم به ویروس Y در شرایط مزرعه‌ای بررسی و در نهایت کلون ۳۹۷۰۰۹-۸ به‌عنوان کلون پرمحصول و مقاوم به بیماری ویروس Y انتخاب گردید. همچنین، این کلون دارای صفات کیفی مناسب از جمله شکل غده تخم‌مرغی مایل به گرد، غده‌های با اندازه یکنواخت، طول استولون کوتاه، رنگ گوشت زرد روشن، رنگ پوست زرد، درصد ماده خشک غده خوب، بافت گوشت غده نسبتاً نرم (چند منظوره) و عمق چشم غده سطحی بود.

**واژگان کلیدی**: ژن $Ry_{sto}$، سیب‌زمینی، عملکرد غده، کلون، ویروس PVY.

۱- استادیار، موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج، ایران
۲- دانشیار، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران، کرج، ایران (نویسنده مسئول) ahzadeh@ut.ac.ir
۳- استاد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران، کرج، ایران
۴- استادیار، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

Archive of SID
www.SID.ir

## مقدمه

سیب‌زمینی در جهان در بین گیاهان زراعی از نظر میزان تولید پس از نیشکر، ذرت، برنج (شلتوک) و گندم در رتبه چهارم و از نظر ارزش تولید پس از برنج، گندم، سویا، گوجه‌فرنگی، نیشکر و ذرت در رتبه هفتم قرار دارد. در ایران از نظر میزان تولید پس از گندم، نیشکر و گوجه‌فرنگی مقام چهارم و از نظر ارزش تولید پس از گوجه‌فرنگی و گندم مقام سوم را دارا می‌باشد (FAOSTAT, 2014). برخلاف تعداد قابل توجهی از کشورها که علی‌رغم تولید نسبتاً ناچیز، دارای ارقام متعدد سیب‌زمینی می‌باشند، کشور ما به جز رقم ساوالان که در سال ۱۳۸۷ و رقم خاوران در سال ۱۳۹۱ معرفی و در چرخه تولید قرار گرفت، عملاً فاقد ارقام داخلی بوده و تقریباً کلیه ارقام سیب‌زمینی موجود در کشور وارداتی و توسط شرکت‌های خصوصی اروپایی اصلاح شده‌اند. حسن‌آبادی (Hassanabadi, 2006) در بررسی مقدماتی سازگاری هیبریدهای تجاری بذر حقیقی سیب‌زمینی بر روی ۱۴ هیبرید، پنج نتاج برتر برای مطالعات سازگاری انتخاب نمود. حسن‌پناه و همکاران (Hassanpanah *et al.*, 2008b) از تعداد پنج نتاج حاصل از بذر حقیقی سیب‌زمینی طی دو سال آزمایش در منطقه اردبیل دویست کلون انتخاب که جهت ادامه مطالعه برای معرفی ژنوتیپ‌های برتر از روش سلکسیون کلونی استفاده نمودند. دویست کلون انتخابی را طی سه سال آزمایش در منطقه اردبیل بررسی و در نهایت پنج کلون امیدبخش جهت بررسی نهایی انتخاب نمودند. حسن‌پناه و همکاران (Hassanpanah *et al.*, 2008a) به منظور ارزیابی تعداد ۱۲ کلون امیدبخش و ارقام برتر، نتیجه گرفتند که ارقام سانته، آلمرا، بانبا و کلون ATZIMBA×TPS-67-8 دارای بیشترین عملکرد غده کل و قابل فروش، وزن غده در بوته، تعداد و وزن غده بین ۵۵-۳۵ میلی‌متر بودند. رقم سانته و آگریا دارای بیشترین درصد ماده خشک و رنگ چیپس و خلال زرد خیلی روشن بودند. میزان افت انباری در ارقام کایزر، آلمرا و بانبا کمتر از شاهد (رقم آگریا) بود. حسن‌پناه و حسن‌آبادی (Hassanpanah and Hassanabadi, 2010) نتیجه گرفتند کلون‌های ۳-۳۹۷۰۰۹ و ۱۰-۳۹۷۰۰۸ و رقم ساوالان نیمه‌متحمل تا متحمل و رقم آگریا حساس به تنش آبی بودند. فتحی و همکاران (Fathi *et al.*, 2010) تعداد ۱۲۰ کلون حاصل از بذر حقیقی سیب‌زمینی را با ۵ رقم تجاری آگریا، مارفونا، دراگا، آگاتا و آریندا بررسی و در نهایت ده کلون امیدبخش جهت بررسی نهایی انتخاب نمودند. از نظر اقتصادی سود حاصل از معرفی یک رقم سیب‌زمینی می‌تواند از جنبه‌های مختلف مانند افزایش سود ناشی از بالا رفتن عملکرد، خاصیت انبارمانی بهتر، مقاومت به بیماری‌ها و مصرف سموم کمتر، جذب روغن کمتر در امر فرآوری و یا موارد مشابه مورد توجه قرار گیرد. براساس آخرین آمار وزارت جهاد کشاورزی، سطح زیر کشت سیب‌زمینی کشور حدود ۱۵۹ هزار هکتار با تولید حدود ۴/۶ میلیون تن و متوسط عملکرد غده آبی ۲۹ تن در هکتار بود (Anonymous, 2015). بر این مبنا در صورتی که رقم برتر ۵ درصد نسبت به شاهد افزایش عملکرد داشته باشد، افزایش تولید بالقوه حاصل از جایگزینی رقم در کل کشور می‌تواند به نیم میلیون تن در سال بالغ شود. بیماری‌های ویروسی سیب‌زمینی که به صورت سیستمیک از طریق غده بذری از نسلی به نسل بعد منتقل می‌شوند اهمیت زیادی در کمّیت و کیفیت تولید این محصول دارند. حدود ۴۰ ویروس، توان آلوده‌سازی گیاه سیب‌زمینی را دارند که ویروس Yی سیب‌زمینی (PVY) مهم‌ترین آنها محسوب می‌شود و قادر است عملکرد

Archive of SID

www.SID.ir

غده را تا ۸۰ درصد کاهش دهد (Valkonen, 2007). ویروس Yی سیب‌زمینی از خانواده Potyviridae، جنس Potyvirus و گونه Potato virus Y می‌باشد که اختصاراً PVY نامیده می‌شود. ژنوم این ویروس از نوع RNAی تک‌رشته‌ای و ویروسی با پراکنش وسیع است. ویریون آن به شکل میله‌ی پیچ خورده‌ای است که به صورت رشته مشاهده می‌شود. این ویروس توسط حشرات ناقل به صورت ناپایا[۱] و همچنین به روش مکانیکی قادر به آلوده‌سازی بوته‌های سالم است و استفاده از ارقام مقاوم مؤثرترین روش برای کنترل آن به شمار می‌آید. ویروس Y پس از وارد شدن به سلول اپیدرم و یا مزوفیل گیاه، از طریق پلاسمودسماتا از سلولی به سلول دیگر حرکت می‌کند و فواصل طولانی را همراه با حرکت مواد فتوسنتزی، از طریق آوندهای آبکش طی کرده و کل گیاه را آلوده می‌کند. به‌طور کلی، پوتی‌ویروس‌ها[۲] چند پروتئین با وظایف چندگانه دارند که در حرکت ویروس دخالت دارند. پروتئین‌های مذکور با تغییر در کانال پلاسمودسماتاها امکان حرکت ویروس را از سلولی به سلول دیگر فراهم می‌کنند (Ruiz-Medrano *et al.*, 2001; Crawford and Zambryski 2001). واکنش گیاه به ویروس‌ها متفاوت و ممکن است از نوع تحمل[۳]، فوق حساسیت[۴] و یا مصونیت[۵] باشد (Solomon-Blackburn and Barker, 2001). در سیب‌زمینی دو نوع اصلی مقاومت به PVY شناسایی شده که یکی از آنها پلی‌ژنیک است و ژنوتیپ‌هایی که دارای این صفت باشند درجات مختلفی از مقاومت را نشان می‌دهند. واکنش فوق حساسیت توسط ژن‌های Ny کنترل می‌شوند و فقط به نژادهای خاصی از PVY مقاومت ایجاد می‌کنند ولی واکنش مصونیت توسط ژن‌های Ry کنترل می‌شوند و ژنوتیپ‌های حامل این صفت به تمامی نژادهای PVY مقاومت نشان می‌دهند (Celebi-Toprak *et al.*, 2002). در اصلاح سیب‌زمینی انتقال صفت پلی‌ژنیک مقاومت به PVY به دلیل تفرق تتراژومیکی بسیار مشکل‌تر از گیاهان آمفی‌دیپلوئید است. با استفاده از تکنیک‌های PCR، بر مبنای تکثیر نقاط حفاظت شده ژن‌های مقاومت نوع LRR[۶] (تکرار غنی از لوسین)، زیپ لوسین[۷] و NBS (جایگاه اتصال به نوکلئوتید) توانستند دو توالی از DNA را با نام‌های ADG1 و ADG2 پیدا کنند که با ژن $Ry_{adg}$ همبستگی داشتند. پس از آن کسائی و همکاران (Kasai *et al.* 2000) با مقایسه آلل‌های موجود بر روی قطعات DNAی مذکور در افراد مقاوم و حساس موفق شدند دو نشانگر SCAR[۸] با نام‌های RYSC3 و RYSC4 را که قادر به آشکار کردن ژن $RY_{adg}$ با PCR بودند طراحی نمایند. سونگ و شوارزفیشر (Song and Schwarzfischer, 2008) یک نشانگر SSR به نام STM0003 طراحی کردند که ژن $Ry_{sto}$ را که با کروموزوم شماره XII لینکاژ داشت شناسایی می‌کرد. این نشانگر بعدها به‌عنوان یک وسیله قابل اطمینان در شناسایی ژن $Ry_{sto}$ مورد استفاده قرار گرفت (Tiwari *et al.*, 2012). محصول PCR نشانگر مذکور، نواری ۱۴۱ جفت بازی را ایجاد می‌کند که در جمعیت‌های در حال تفرق، ۱۱۱ جفت باز آن با فنوتیپ‌های مقاوم لینکاژ نشان می‌دهند (Milbourn *et al.*, 1998). این نشانگر با ژن $Ry_{sto}$ که موجب ایمن شدن گیاه به ویروس Y می‌شود ۲/۹۵ سانتی‌مورگان فاصله دارد (Cernak *et al.*, 2008). در ایران، حسینی و همکاران

۱ -non-persistent manner
۲-Potyviruses
۳-tolerance
۴-hypersensitive response
۵ -resistance or immunity extreme
۶-leucine rich repeat
۷ -leucine zippers
۸ -sequence characterized amplified region

Archive of SID

www.SID.ir

(Hosseini *et al.*, 2011) تعداد ۱۴ ایزوله ویروس Y را که از مناطق مختلف ایران جمع‌آوری کرده بودند، تعیین نژاد کردند. این ایزوله‌ها در سه گروه نژادی سرولوژیکی N، O و C و سه گروه نژادی مولکولی $PVY^{NTN}$، $PVY^{N}$ و $PVY^{O}$ قرار گرفتند. زینتی و همکاران (Zinati *et al.* 2012) تعداد ۹۰ ایزوله ویروس Yای سیب‌زمینی را در مزارع توتون شمال کشور بررسی کرده و از نظر فیلوژنتیکی آنها را در دو خوشه قرار دادند.

این تحقیق اولین کاری است که در زمینه شناسایی ژن‌های مصونیت به PVY در ژرم‌پلاسم سیب‌زمینی کشور انجام شده است. در این پژوهش ۳۲۰ ژنوتیپ سیب‌زمینی از جنبه‌های صفات مهم اصلاحی و واکنش به ویروس Y در طی چند آزمایش مورد بررسی و غربال‌گری قرار گرفتند.

## مواد و روش‌ها

**مواد گیاهی و اینوکلوم:** مواد گیاهی شامل ۳۲۰ کلون و رقم سیب‌زمینی بود که در کلکسیون بخش تحقیقات سبزی و صیفی موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر نگهداری می‌شدند. منبع اولیه اینوکلوم مورد استفاده برای آلوده سازی ژنوتیپ‌های سیب‌زمینی، به صورت یک نمونه گیاهی سیب‌زمینی آلوده به $PVY^{NTN}$ از دانشکده کشاورزی کرج گرفته شد. این اینوکلوم جهت فعال‌سازی و تکثیر، در حضور بافر فسفات ۰/۰۱ مولار با pH= ۸ به نسبت وزنی/ حجمی ۱:۱ آسیاب شده و عصاره به دست آمده به گیاهان توتون رقم سامسون (*Nicotiana tabacum* L.cv. Samsun) که بذر آن از موسسه توتون تیرتاش تهیه شده بود تلقیح شد. از توتون‌هایی که علایم مشخصه ویروس Y داشتند عصاره‌گیری شده و با استفاده از آنتی‌بادی منوکلونال تست الایزا صورت گرفت. پس از حصول اطمینان از تکثیر شدن ویروس $PVY^{NTN}$ در توتون، گیاهان مذکور به عنوان منبع اینوکلوم برای آلوده‌سازی ژنوتیپ‌های سیب‌زمینی مورد استفاده قرار گرفتند.

**آزمایش اول (غربال‌گری مشاهده‌ای و سالم‌سازی):** ابتدا همه کلون‌ها در مزرعه چهارصد هکتاری موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر در کرت‌های مجزا کشت گردیدند و پس از سبز شدن، ژنوتیپ‌های مشابه، ژنوتیپ‌های دارای علایم ویروسی و کلون‌های دارای ارزش اصلاحی پایین حذف گردیدند. بدین ترتیب با کاهش تعداد ژنوتیپ‌ها، امکان بررسی دقیق‌تر ژنوتیپ‌های ارزشمندتر فراهم گردید. مساحت کشت هر کلون در مزرعه حداقل ۹ متر مربع و شامل دو خط ۶ متری با فاصله ۷۵ سانتی‌متر بود که غده‌ها با فاصله ۲۵ سانتی‌متر بر روی خطوط، کشت شده بودند.

به منظور حصول اطمینان از عاری بودن کلون‌های پیشرفته و ارقام به سایر ویروس‌ها و اختلاط علایم ویروس‌ها، همه مواد گیاهی انتخاب شده در آزمایش اول با استفاده از آزمون داس-الایزا (DAS-ELISA[1]) و آنتی‌بادی پلی‌کلونال ساخت شرکت Agdia آمریکا برای ویروس‌های مهم PVY، PVX، PLRV، PVS و PVM بررسی و در صورت آلودگی، با استفاده از تکنیک الکتروتراپی سالم‌سازی شدند (Lozoya *et al.*, 1996) برای این منظور قطعاتی به طول ۶-۲ سانتی‌متر از ساقه‌های سیب‌زمینی را جدا کرده و برگ‌های آنها قطع گردید. این ساقه‌ها در تانک الکتروفورز افقی با شـــدت جریان ۲۰-۱۵ میلی‌آمپر به مدت ۱۰ دقیقه در محیط MS ½ به عنوان بافر قرار داده شدند. قطعات گیاهی مذکور با استفاده از هیپوکلریت سدیم ضدعفونی شده و به قطعات کوچک حاوی یک گره تقسیم و روی محیط MS کشت گردید. بعد از رشد کافی گیاهچـه‌ها،

۱- double-antibody sandwich enzyme linked immunosorbent assay

Archive of SID

www.SID.ir

مجـــدداً نمـــونه‌گیری و با آزمون داس- الایزا مورد بررسی قرار گرفتند. گیاهچه‌هایی که عاری از ویروس بودند از طریق کشت تک‌گره تکثیر شدند.

**آزمایش دوم (تلقیح مکانیکی):** در این آزمایش کلون‌ها و ارقام سیب‌زمینی عاری از ویروس هر کدام در سه تکرار (گلدان) در گلخانه کشت شدند. در مرحله۳ تا ۵ برگی شدن گیاهان، روی برگچه‌ها پودر کاربوراندم پاشیده شده و اینوکلوم ویروس $PVY^{NTN}$ از طریق مالش دادن برگچه‌های انتهایی، مایه‌زنی شد. برای اطمینان از انجـام تلقیح، عمل مایه‌زنی ۴۸ ساعت بعد تکرار گردید. یک رقم مقاوم (White lady) و یک رقم حساس (Desiree) به عنوان شاهد در نظر گرفته شـد. سه هفته پس از مایه‌زنی، از برگ‌های بالاتر از محل مایه‌زنی که در واقع بعد از ایجاد آلودگی مصنوعی رشد کرده بودند نمونه‌گیری و بر روی عصاره آنها آزمون الایزا انجام گرفت. کلون‌ها و ارقامی که حتی در یک تکرار دارای آلودگی بودند در گروه حساس قرار گرفتند.

**آزمایش سوم (پیوند):** در این آزمایش، از ساقه‌های کوچک و جوانه‌های جانبی و انتهایی گیاهان توتون آلوده به ویروس Y، به عنوان پیوندک استفاده شد. پیوندک‌های آلوده به ویروس $PVY^{NTN}$ را در مرحله ۵ برگی سیب‌زمینی، به صورت شکافی بر روی کلون‌ها و ارقام مورد بررسی پیوند زده و محل پیوند با پارا فیلم پوشانده و گره زده شد. پس از آن به مدت یک هفته در داخل روکش پلاستیکی قرار داده شدند تا رطوبت لازم برای پیش‌گیری از خشک شدن پیوندک‌ها تأمین شود. حدوداً سه هفته پس از پیوند، از برگ‌های بالای محل پیوند نمونه‌برداری کرده و آلودگی آنها با آزمون DAS-ELISA با استفاده از آنتی‌بادی اختصاصی بررسی شد (Dusi *et al.*, 2001). واکنش هر یک از کلون‌ها نسبت به ویروس $PVY^{NTN}$ بررسی و هر ژنوتیپی که در یکی از تکرارهای آزمایش، حساس تشخیص داده شد از گروه ژنوتیپ‌های مقاوم حذف گردید. میزان جذب نور چاهک‌ها با دستگاه ELISA Reader مدل Bioteck ELX800 با طول موج ۴۰۵ نانومتر اندازه‌گیری و حد آلودگی نمونه‌ها به ویروس، با استفاده از فرمول زیر برای شاهد منفی محاسبه شد (Chen *et al.*, 2014):

$$R = \bar{X} + 3Sd$$

$R$ = حد آلودگی

$\bar{X}$ = میانگین آلودگی درتکرارهای مختلف

$sd$ = انحراف معیار

**آزمایش چهارم (نشانگر DNAی STM0003):** برای استخراج DNA نمونه‌های گیاهی در داخل هاون چینی حاوی نیتروژن مایع کوبیده و پودر گردیدند. از این پودر مقدار ۰/۵ گرم در داخل هر تیوب ۲ میلی‌لیتری ریخته و برای استخراج DNA از روش سقایی معروف و همکاران (Saghai-Maroof *et al.*, 1984) با اندکی تغییرات استفاده گردید. کمّیت و کیفیت اسیدنوکلیک استخراج شده از طریق نانودراپ و انجام الکتروفورز روی ژل آگارز ۱ ٪ تعیین و از آنها به عنوان تمپلیت (الگو) در تکثیر نوارهای مورد نظر استفاده شد. برای تکثیر نشانگر STM0003 از پرایمرهای توصیه شده توسط سونگ و همکاران (Song *et al.*, 2005) استفـاده شـد. واکنش‌های زنجیره ای پلیمراز در حجم ۲۰ میکرولیتر حاوی ۵۰ نانوگرم DNA ژنومی، بافر PCR (۱۰X)، مخلوط نوکلئوتیدها (۰/۲ mM)، کلرید منیزیم (۲/۵ mM)، آغازگر مستقیم و معکوس (۰/۲ pM) و یک واحد آنزیم *Taq* DNA polymerase با استفاده از دستگاه ترموسایکلر (مارک Biometra مدل Tgradient) انجام گرفت. زمان و دمای مراحل مختلف تکثیر برای واسرشت اولیه ۹۴ درجه سلسیوس به مدت سه دقیقه، ۳۰ چرخه تکثیر شامل واسرشت در ۹۴ درجه سلسیوس به مدت ۴۵ ثانیه،

Archive of SID

www.SID.ir

اتصال آغازگر در ۵۵ درجه سلسیوس به مدت یک دقیقه، گسترش در ۷۲ سلسیوس درجه به مدت یک دقیقه و تکثیر نهایی در ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۵ دقیقه تنظیم شد. جهت مشاهده نوارهای مورد نظر ۲ میکرولیتر از محصولات واکنش مورد نظر بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد بارگذاری و عمل الکتروفورز محصول PCR در محیط بافر TAE (1X)[1] در ولتاژ ۹۰ به مدت یک ساعت انجام گرفت.

**آزمایش پنجم (ارزیابی عملکرد غده قابل فروش):** در آزمایش پنجم ارقام و کلون‌های مقاوم به ویروس Y، در شرایط مزرعه‌ای در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در چهار تکرار در سال ۱۳۹۳ در مزرعه تحقیقاتی موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر بررسی شدند. هر کرت شامل دو خط ۶ متری و فاصله خطوط ۷۵ سانتی‌متر و فاصله بوته‌ها بر روی ردیف ۲۵ سانتی‌متر بود. در طی دوره رشد و پس از برداشت، صفات کمّی تعداد ساقه اصلی در بوته، ارتفاع بوته، تعداد و وزن غده در بوته، عملکرد غده کل و قابل فروش و صفات کیفی از جمله درصد ماده خشک، تیپ پخت، شدت حفره‌ای شدن مرکز غده، رنگ داخلی غده و تغییر رنگ گوشت غده خام پس از ۲۴ ساعت اندازه‌گیری شد. در این آزمایش فقط به نتایج عملکرد غده قابل فروش اشاره شده است. روی داده‌های اندازه‌گیری شده تجزیه واریانس صورت گرفته و میانگین تیمارها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۰/۰۵ مقایسه شدند. تجزیه واریانس و مقایسه میانگین با استفاده از نرم‌افزار SAS انجام شد.

## نتایج و بحث

در آزمایش اول (غربال‌گری مشاهده‌ای) از بین ۳۲۰ کلون مورد بررسی تعداد ۵۵ ژنوتیپ که در هیچ کدام از بوته‌های آنها علایم ظاهری بیماری (موزائیک) مشاهده نشد انتخاب شدند. همزمان با این آزمایش، نسبت به تکثیر ویروس $PVY^{NTN}$ بر روی گیاهان توتون اقدام شده بود و دو هفته پس از تلقیح گیاهان توتون، اکثر بوته‌هایی که با اینوکلوم ویروس $PVY^{NTN}$ تلقیح شده بودند بر روی برگ‌های‌شان علایم موزائیک ظاهر شد. نتایج آزمون الایزا که با استفاده از آنتی‌بادی مونوکلونال صورت گرفت حاکی از تأیید وجود ویروس $PVY^{NTN}$ در این بوته‌های توتون بود. لذا از عصاره این بوته‌های توتون به عنوان منبع ایجاد آلودگی در ۵۵ ژنوتیپ سیب‌زمینی در آزمایش دوم استفاده شد و ۵۵ ژنوتیپ سیب‌زمینی همراه با رقم شاهد دزیره که با عصاره حاوی ویروس $PVY^{NTN}$ مایه‌زنی شده بودند حدود ۲-۳ هفته بعد از تلقیح، علایم موزائیک بر روی ژنوتیپ‌های حساس نشان دادند. میزان جذب نوری هر یک از تکرارهای ژنوتیپ‌ها با طول موج ۴۰۵ نانومتر در آزمون الایزا نشان داد که از بین ۵۵ ژنوتیپ مورد بررسی تعداد ۲۰ کلون پیشرفته شامل ۷-۳۹۷۰۳۱، ۱-۳۹۷۰۳۱، ۱۴-۳۹۷۰۹۷، ۵-۳۹۶۱۵۱، ۱۱-۳۹۷۰۱۵، TP22-1، ۱۰-۳۹۷۰۸۲، ۸-۳۹۷۰۰۹، ۱۴-۳۹۷۰۰۸، ۱۶-۳۹۷۰۳۱، ۱-۳۹۷۰۸۱، ۱۱-۳۹۷۰۳۱، ۱۱-۳۹۷۰۶۷، ۱-۳۹۷۰۴۵، ۳۲-۳۹۶۱۲۸، ۷-۳۹۷۰۴۵، ۴-۳۹۷۰۰۷، ۱۳-۳۹۷۰۴۵، ۲-۳۹۷۰۷۴ و ۹-۳۹۷۰۰۷ به ویروس $PVY^{NTN}$ مقاوم و تعداد شش کلون پیشرفته شامل ۷-۳۹۶۳۰۹، ۴-۳۹۷۰۸۱، ۵۰-۳۹۶۱۵۱، ۱۰-۳۹۷۰۸۲، ۴-۳۹۶۱۴۰، ۱۶-۳۹۷۰۰۷ حساس و همچنین از بین ۳۰ رقم تجاری شامل لابادیا، مارفونا، سینورا، راموس، ساوالان، فونتانه، پیکاسو، اوشنیا، مارابل، اگریا، ایمپالا، الودی، مارکیز، کایزر، آریندا، دزیره، بورن، امراد، دایفلا، لیدی‌رزتا، پاملا، کارسو، اپال، میلوا، ورونا، سانته، فلوریدا، هرمس، جلی و وایت‌لیدی تنها چهار رقم ساوالان، سانته، جلی و وایت‌لیدی در هیچ‌یک از

۱-Tris-Acetate-EDTA

Archive of SID

www.SID.ir

تکرارهای آزمایشی آلودگی نداشته و مقاوم تشخیص داده شدند (جدول ۱). کلیه ارقام و کلون‌هایی که در آزمایش تلقیح مکانیکی مقاومت نشان داده بودند در آزمایش سوم یا آزمون پیوند، مورد بررسی مجدد قرار گرفتند. در این آزمایش ۱۹ کلون پیشرفته شامل ۳۹۷۰۹۷-۱۴، ۳۹۷۰۴۵-۷، ۳۹۷۰۰۹-۸، ۳۹۷۰۳۱-۱۶، TP22-1، ۳۹۷۰۰۸-۱۴، ۳۹۷۰۶۷-۱۱، ۳۹۷۰۸۱-۱، ۳۹۷۰۸۲-۱۰، ۳۹۶۱۲۸-۳۲، ۳۹۷۰۴۵-۱، ۳۹۷۰۷۴-۲، ۳۹۷۰۰۷-۴، ۳۹۶۱۵۱-۵، ۳۹۷۰۱۵-۱۱، ۳۹۷۰۰۷-۹، ۳۹۷۰۴۵-۱۳، ۳۹۷۰۳۱-۷، ۳۹۷۰۳۱-۱ که به آنها جوانه‌های توتون آلوده به $PVY^{NTN}$ پیوند زده شده بود هیچ کدام در آزمون الایزا آلودگی نشان ندادند. همه کلون‌های مذکور، در ایران اصلاح شده‌اند و شناسایی ژن ارزشمند مصونیت به ویروس PVY در آنها از مهم‌ترین دستاوردهای این تحقیق محسوب می‌شود. از بین شش رقم تجاری جلی، راموس، سانته، ساوالان، وایت‌لیدی و دزیره ارقام جلی، سانته، ساوالان و وایت‌لیدی در گروه مقاوم قرار گرفتند (جدول ۲). عدم تکثیر ویروس و آلوده نشدن ژنوتیپ‌های مقاوم که علیرغم آلوده‌سازی مصنوعی آنها اتفاق افتاد حاکی از وجود مقاومت از نوع مصونیت و احتمال حضور یکی از چهار ژن $Ry_{hou}$ ، $Ry_{chs}$، $Ry_{sto}$ و $Ry_{adg}$ در آنها بود. زیرا واکنش مصونیت (Extreem resistance) تنها با حضور یکی از ژن‌های مذکور در گیاه اتفاق می‌افتد. بنابراین آزمایش چهارم، شناسایی ژن مقاومت بود که از طریق نشانگر مولکولی انجام گرفت. به بیان دیگر پس از احراز وجود واکنش مصونیت در ۲۳ کلون و رقم تجاری، این ژنوتیپ‌ها با استفاده از نشانگر STM0003 که با ژن $Ry_{sto}$ لینکاژ نشان می‌دهد بررسی شدند. الکتروفورز محصول PCR، حاکی از وجود نوار ۱۴۱bp در تمامی ژنوتیپ‌های مقاوم بود (شکل ۱). نتایج این تحقیق با یافته‌های هلداک و همکاران (Heldak *et al.*, 2007) در خصوص وجود ژن $PVY^{NTN}$ در ارقام سانته و وایت لیدی و عدم وجود آن در ارقام اگریا، ایمپالا و دزیره مطابقت دارد. در یک بررسی انجام شده در یونان ارقام مارفونا، اگریا، هرمس، جارلا، مارابل و فلوریدا در شرایط طبیعی دارای آلودگی قابل توجهی به PVY بودند (Chatzivassiliou *et al.*, 2008). این امر حاکی از عدم وجود ژن مصونیت به ویروس PVY می‌باشد. در این تحقیق نیز ارقام مذکور پس از آلوده‌سازی مصنوعی، میزان جذب نوری بالایی در آزمون الایزا از خود نشان دادند. نتایج این تحقیق در خصوص شناسایی ژن $Ry_{sto}$، با یافته‌های سونگ و همکاران (Song *et al.*, 2005) و همچنین هلداک و همکاران (Heldak *et al.*, 2007) انطباق کامل داشت. با توجه به این که در این تحقیق ارقام و کلون‌های پیشرفته‌ای که حامل ژن مصونیت به PVY هستند شناسایی شده‌اند، به نظر می‌رسد گام مهم و مؤثری در اصلاح سیب‌زمینی و انتخاب والدین تلاقی برداشته شده است. همچنین، فراهم شدن امکان انتخاب ژنوتیپ‌های برتر در نسل‌های اولیه از طریق نشانگر مولکولی[۱]، از دیگر دستاوردهای این تحقیق می‌باشد. فولادولسا و همکاران (Fulladolsa *et al.* 2015) ارقام مقاوم و ارقام حساس به PVY را که بازارپسندی خوبی داشتند تلاقی دادند. تجزیه نتاج $F_1$ به دست آمده با نشانگر مولکولی RYSC3 حاکی از آن بود که ژن $Ry_{sto}$ به نسبت ۱:۱ به نتاج انتقال یافته است. به عبارت دیگر زمانی که یکی از والدین حامل یک ژن Ry مانند $Ry_{sto}$ باشد انتظار داریم که ۵۰ درصد نتاج حاصله، به بیماری PVY مقاوم باشند و در این صورت امکان جمع کردن سایر صفات مطلوب در یک ژنوتیپ با تعداد جمعیت کمتر، عملی‌تر خواهد بود. در برنامه اصلاحی سیب‌زمینی، گزینش تک بوته در نسل $F_1$ انجام می‌شود و با توجه

۱-Marker assisted selection

Archive of SID

www.SID.ir

به نتایج این تحقیق می‌توان از نشانگر STM0003 که با ژن $Ry_{sto}$ لینکاژ دارد به عنوان یک نشانگر مولکولی در تشخیص ژنوتیپ‌های مقاوم به بیماری PVY استفاده کرد. به این ترتیب با انتخاب یکی از کلون‌های مقاوم به عنوان والد، ضمن صرفه‌جویی در هزینه آزمایش‌های تعیین مقاومت به PVY، کارایی برنامه اصلاحی افزایش خواهد یافت. برخی از این کلون‌ها ضمن داشتن صفت مقاومت به PVY از نظر سایر صفات به ویژه عملکرد غده قابل توجه بودند. در این رابطه نتایج تجزیه واریانس صفت عملکرد غده قابل فروش نشان داد که بین ارقام و کلون‌های امیدبخش اختلاف معنی‌دار وجود دارد (جدول ۳). مقایسه میانگین عملکرد غده قابل فروش نشان داد که کلون ۸-۳۹۷۰۰۹ از بالاترین مقدار برخوردار بود و در گروه a قرار داشت (شکل ۲).

## نتیجه‌گیری کلی

در شرایط این آزمایش کلون ۸-۳۹۷۰۰۹ به عنوان کلون پرمحصول و مقاوم به بیماری ویروس Y انتخاب گردید. این کلون از لحاظ برخی صفات کیفی مناسب بود. همچنین این کلون از شکل غده تخم‌مرغی مایل به گرد، غده‌های یکنواخت، طول استولون کوتاه، رنگ گوشت زرد روشن، رنگ پوست زرد، درصد ماده خشک غده خوب، بافت گوشت غده نسبتاً نرم (چندمنظوره) و عمق چشم غده سطحی برخوردار بود.

**جدول ۱**- واکنش کلون‌ها و ارقام بررسی شده نسبت به آلوده‌سازی به PVY از طریق مکانیکی

**Table 1-** Reaction of potato clones/varieties to artificial PVY infection via mechanical infection

| کلون/رقم Clone/variety | میزان جذب نور و واکنش در هر تکرار در آزمون الایزا Optical density (OD) and reaction in each replication of Elisa plate | | | | | | واکنش کلون/رقم Clone/variety reaction |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | تکرار ۱ Rep.1 | | تکرار ۲ Rep.2 | | تکرار ۳ Rep.3 | | |
| | میزان جذب OD | واکنش Reaction | میزان جذب OD | واکنش Reaction | میزان جذب OD | واکنش Reaction | |
| 397031-7 | 0.065 | R | 0.063 | R | 0.078 | R | R |
| Labadia | 0.175 | S | 1.75 | S | 0.941 | S | S |
| Marfona | 0.423 | S | 0.202 | S | 0.295 | S | S |
| Sinora | 2.349 | S | 0.262 | S | 2.231 | S | S |
| Ramus | 0.159 | S | 0.184 | S | 0.267 | S | S |
| Savalan | 0.057 | R | 0.057 | R | 0.051 | R | R |
| Fontane | 0.681 | S | Out of R. | S | 0.575 | S | S |
| Picasso | 0.418 | S | 1.965 | S | 1.01 | S | S |
| Oceania | Out of R. | S | Out of R. | S | 1.303 | S | S |
| Marabel | 0.382 | S | 0.374 | S | 0.068 | R | S |
| 396309-7 | Out of R. | S | 0.263 | S | 1.473 | S | S |
| 397031-1 | 0.072 | R | 0.081 | R | 0.077 | R | R |
| 397097-14 | 0.082 | R | 0.065 | R | 0.071 | R | R |
| 396151-5 | 0.089 | S | 0.061 | R | 0.062 | R | R |
| 397015-11 | 0.059 | R | 0.074 | R | 0.059 | R | R |
| TP22-1 | 0.073 | R | 0.077 | R | 0.085 | R | R |
| 397081-4 | 0.634 | S | 0.572 | S | 0.666 | S | S |
| Agria | 0.656 | S | 2.578 | S | 1.046 | S | S |
| 396151-50 | 0.345 | S | 0.71 | S | 1.469 | S | S |
| 397082-10 | 0.09 | R | 0.114 | S | 0.091 | R | R |
| 396140-4 | 0.147 | S | Out of R. | S | Out of R. | S | S |
| 397009-8 | 0.053 | R | 0.064 | R | 0.058 | R | R |
| 397008-14 | 0.069 | R | 0.072 | R | 0.083 | R | R |
| 397031-16 | 0.086 | R | 0.085 | R | 0.094 | R | R |
| 397081-1 | 0.062 | R | 0.1 | R | 0.118 | R | R |
| 397031-11 | 0.061 | R | 0.082 | R | 0.074 | R | R |
| 397067-11 | 0.066 | R | 0.074 | R | 0.076 | R | R |
| 397045-1 | 0.112 | R | 0.068 | R | 0.08 | R | R |
| Impala | 0.27 | S | 0.363 | S | 0.667 | S | S |
| Elodi | 0.161 | S | 0.194 | S | 0.622 | S | S |

Cut off= 0.152 آستانه آلودگی = ۰/۱۵۲

R: Resistant S: susceptible R: مقاوم S: حساس

Archive of SID

www.SID.ir

**ادامه جدول ۱**

**Table 1-** Continued

| کلون/رقم Clone/variety | میزان جذب نور و واکنش در هر تکرار در آزمون الایزا Optical density (OD) and reaction in each replication of Elisa plate | | | | | | واکنش کلون/رقم Clone/variety reaction |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | تکرار ۱ Rep.1 | | تکرار ۲ Rep.2 | | تکرار ۳ Rep.3 | | |
| | میزان جذب OD | واکنش Reaction | میزان جذب OD | واکنش Reaction | میزان جذب OD | واکنش Reaction | |
| Markis | 0.63 | S | Out of R. | S | 0.104 | S | S |
| Ceasar | 0.713 | S | 0.117 | S | 0.173 | S | S |
| Arinda | 1.816 | S | 1.326 | S | 0.962 | S | S |
| 397007-16 | 0.611 | S | 1.734 | S | Out of R. | S | S |
| 396128-32 | 0.004 | R | 0.02 | R | 0.022 | R | R |
| Desiree/check | 0.274 | S | 0.819 | S | 0.795 | S | S |
| 397045-7 | 0.031 | R | 0.086 | R | 0.069 | R | R |
| 397007-4 | 0.02 | R | 0.026 | R | 0.01 | R | R |
| Buren | 1.165 | S | 1.427 | S | Out of R. | S | S |
| Emrad | 0.954 | S | 0.111 | S | Out of R. | S | S |
| Difela | 2.065 | S | 1.55 | S | 2.196 | S | S |
| Lady Rosetta | 0.942 | S | Out of R. | S | 2.428 | S | S |
| Pamella | Out of R. | S | Out of R. | S | 0.908 | S | S |
| Karso | 0.785 | S | Out of R. | S | 2.163 | S | S |
| Opal | 2.37 | S | Out of R. | S | Out of R. | S | S |
| 397045-13 | 0.002 | R | 0.027 | R | 0.022 | R | R |
| 397074-2 | 0.038 | R | 0.027 | R | 0.022 | R | R |
| Milva | 0.914 | S | 0.347 | S | Out of R. | S | S |
| Verona | 1.5 | S | Out of R. | S | Out of R. | S | S |
| Sante | 0.012 | R | 0.083 | R | 0.015 | R | R |
| Florida | 2.539 | S | Out of R. | S | 0.694 | S | S |
| Hermes | 0.524 | S | 0.487 | S | 0.305 | S | S |
| Jelly | 0.034 | R | 0.042 | S | 0.031 | R | R |
| 397007-9 | 0.025 | R | 0.016 | R | 0.008 | R | R |
| White lady** | 0.032 | R | 0.029 | R | 0.028 | R | R |

Cut off= 0.089

R: Resistant S: susceptible

**: Negative Check

آستانه آلودگی = ۰/۰۸۹

R: مقاوم S: حساس

**: شاهد منفی

Archive of SID

www.SID.ir

**جدول ۲**- واکنش کلون‌ها و ارقام سیب‌زمینی بررسی شده نسبت به آلوده‌سازی به PVY از طریق پیوند

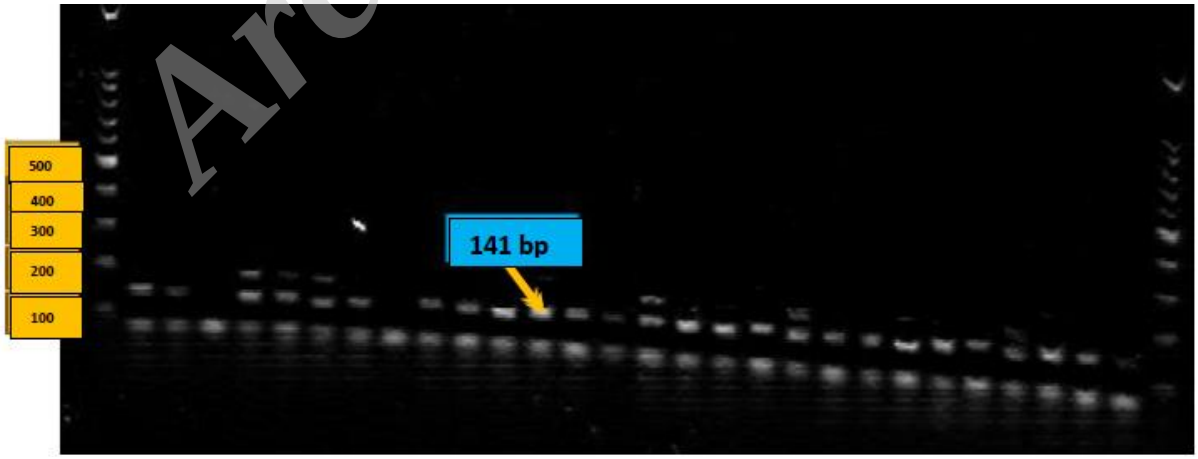
**Table 2-** Reaction of potato clones/varieties to artificial PVY infection via grafting

| کلون/رقم Clone/variety | میزان جذب نور و واکنش در هر تکرار در آزمون الایزا Optical density (OD) and reaction in each replication of Elisa plate | | | | | | واکنش کلون/رقم Clone/variety reaction |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | تکرار ۱ Rep.1 | | تکرار ۲ Rep.2 | | تکرار ۳ Rep.3 | | |
| | میزان جذب OD | واکنش Reaction | میزان جذب OD | واکنش Reaction | میزان جذب OD | واکنش Reaction | |
| 397097-14 | 0.156 | R | 0.165 | R | 0.138 | R | R |
| Jelly | 0.127 | R | 0.121 | R | 0.124 | R | R |
| Ramus | out | S | 0.12 | R | 0.136 | R | S |
| 397045-7 | 0.132 | R | 0.141 | R | 0.162 | R | R |
| 397009-8 | 0.14 | R | 0.105 | R | 0.11 | R | R |
| 397031-16 | 0.143 | R | 0.631 | R | 0.121 | R | R |
| TP22-1 | 0.109 | R | 0.115 | R | 0.109 | R | R |
| 397008-14 | 0.106 | R | 0.183 | R | 0.136 | R | R |
| 397031-11 | out | S | 0.117 | R | 0.104 | R | S |
| Sante | 0.129 | R | 0.122 | R | 0.105 | R | R |
| 397067-11 | 0.1 | R | 0.09 | R | 0.089 | R | R |
| 397081-1 | 0.1 | R | 0.127 | R | 0.169 | R | R |
| 397082-10 | 0.124 | R | 0.117 | R | 0.123 | R | R |
| 396128-32 | 0.104 | R | 0.1 | R | 0.092 | R | R |
| 397045-1 | 0.231 | R | 0.105 | R | 0.114 | R | R |
| 397074-2 | 0.143 | R | 0.158 | R | 0.124 | R | R |
| 397007-4 | 0.133 | R | 0.101 | R | 0.107 | R | R |
| 396151-5 | 0.119 | R | 0.114 | R | 0.112 | R | R |
| 397015-11 | 0.1 | R | 0.105 | R | 0.121 | R | R |
| 397007-9 | 0.133 | R | 0.274 | R | 0.128 | R | R |
| 397045-13 | 0.124 | R | 0.106 | R | 0.118 | R | R |
| 397031-7 | 0.143 | R | 0.131 | R | 0.150 | R | R |
| 397031-1 | 0.133 | R | 0.078 | R | 0.083 | R | R |
| White lady** | 0.082 | R | 0.08 | R | 0.105 | R | R |
| Savalan | 0.023 | R | 0.019 | R | 0.010 | R | R |
| Desiree | 1.076 | S | out | S | 0.476 | S | S |

Cut off= 0.310 — آستانه آلودگی = ۰/۳۱۰

R: Resistant S: susceptible — R: مقاوم S: حساس

**: Negative Check — **: شاهد منفی




**شکل ۱**- نوارهای ۱۴۱ جفت بازی مرتبط با ژن $Ry_{sto}$ با استفاده از نشانگر DNAی STM0003 در ژنوتیپ‌های مقاوم سیب‌زمینی

چاهک‌های ۱ و ۳۰ "سایز-مارکر "، چاهک‌های ۲ و ۳ "شاهد منفی"(وایت لیدی و سانته)، چاهک ۴ "شاهد مثبت"(دزیره)

**Figure 1-** 141 bp bands, related to $Ry_{sto}$ gene by using STM0003 DNA marker in 24 potato genotypes

Lanes 1 & 30 “size marker”, Lanes 2 &3 “Negative control” (white lady & Sante), Lane 4 “positive control” (Desiree)

Archive of SID

www.SID.ir

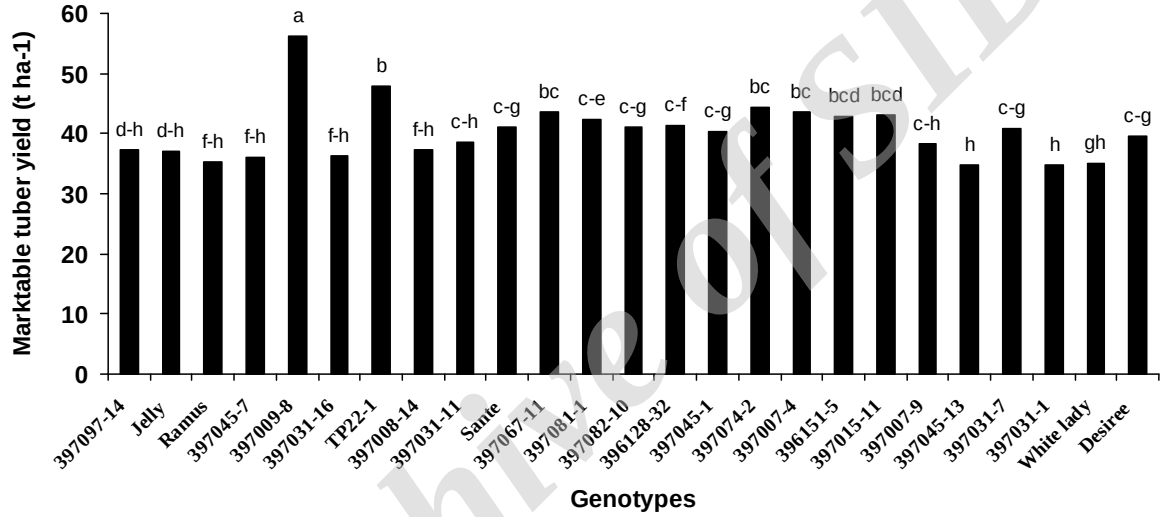
**جدول ۳**- تجزیه واریانس صفت عملکرد غده قابل فروش در ارقام و کلون‌های امیدبخش سیب زمینی

**Table 3-** Analysis of variance of marketable tuber yield trait in potato cultivars and promising clones

| منبع تغییرات S.O.V. | | درجه آزادی df | مجموع مربعات Sum of squares | میانگین مربعات Mean of squares |
|---|---|---|---|---|
| Replication | تکرار | 3 | 288.77 | 96.26 |
| Clone | کلون | 24 | 2163.33 | 90.14** |
| Error | خطا | 72 | 922.89 | 12.82 |
| C.V. (%) | ضریب تغییرات (٪) | | 8.88 | |

**: معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۱

**: Significant at 1% probability level




**شکل ۲**- میانگین عملکرد غده قابل فروش ارقام و کلون‌های سیب‌زمینی

**Figure 2-** Mean of marketable tuber yield of potato cultivars and clones

Archive of SID

www.SID.ir

## References منابع مورد استفاده


- Anonymous. 2015. Statistics vegetables (potato). Ministry of Jahad-Agriculture. http://www.maj.ir. 156 pp.
- Celebi-Toprak, F., S.A. Slack, and M.M. Jahn. 2002. A new gene, Nytbr, for hypersensitivity to potato virus Y from *Solanum tuberosum* maps to chromosome IV. *Theoretical and Applied Genetics.* 104: 669-74.
- Cernak, I., J. Taller, I. Wolf, E. Feher, G. Babinszky, Z. Alfoldi, G. Csanadi and Z. Polgar 2008. Analysis of the applicability of molecular markers linked to the PVY extreme resistance gene $Ry_{sto}$, and the identification of new markers. *Acta Biologica Hungarica.* 59(2):195-203.
- Chatzivassiliou, E.K., E. Moschos, S. Gazi, P. Koutretsis, and M. Tsoukaki. 2008. Infection of potato crops and seeds with potato virus Y and potato leaf roll virus in Greece. *Journal of Plant Pathology*. 90(2):253-261.
- Chen, H., Q. Ou, Y. Tang, X. Gao, L. Wu, C. Xue, C. Yu, J. Cui, and Y. Diao. 2014. Development and evaluation of a DAS-ELISA for Rapid detection of Tembusu virus using monoclonal antibodies against the envelope protein. *Journal Pone*. 5;9(5):366-369.
- Crawford, K.M., and P.C. Zambryski. 2001. Non-targeted and targeted protein movement through plasmodesmata in leaves in different development and physiological states. *Plant Physiology.* 125: 1802-1812.
- Dusi, A.N., C. Carvalo, A.C. Torres, and A.C. Avila. 2001. Resistance levels to two strains of potato virus Y in transgenic potatoes cv. Achat. *Horticultura Brasileira, Brasilia*. 19(3): 384-350.
- FAOSTAT. 2014. Available in: http://faostat.fao.org
- Fathi, M., R. Asghari, M. Valizadeh, S. Aharizad, and D. Hassanpanah. 2010. Evaluation of advanced clones from true potato seed. *Journal of Agricultural Science*. 2(19): 207-214.
- Fulladolsa, A.C., F.M. Navaro, R. Kota, K. Severson, J.P. Palta, and A.O. Charkowsky. 2015. Application of marker assisted selection for potato virus Y resistance in the University of Wisconsin potato breeding program. *American Journal of Potato Research*. 92: 444-450.
- Hassanabadi, H. 2006. Evaluation of quantitative and qualitative traits of potato cultivars based on the germplasm grouping. Project Final Report, Seed and Plant Improvement Institute. Press Registration Number 85/832. 172 pp. (In Persian).
- Hassanpanah, D., and H. Hassanabadi. 2010. Evaluation of water deficit tolerance of advanced cultivars and clones of potato in Ardabil. *Journal of Crop and Weed Eco-Physiology*. 4(16): 1-18. (In Persian).
- Hassanpanah, D., H. Hassanabadi, and M. Yarnia. 2008b. Evaluation of quantitative and qualitative characters of advanced cultivars and clones of potato in Ardabil. *Journal of Agricultural Science*. 2(8): 23-33. (In Persian).


Archive of SID

www.SID.ir

- Hassanpanah, D., H. Hassanabadi, M. Yarnia, and M.B. Khorshidi. 2008a. Evaluation of quantitative and qualitative characters of advanced cultivars and clones of potato in Ardabil region. *Journal of Agricultural Science*. 2(5): 19-31. (In Persian).
- Heldák, J., M. Bežo., V. Štefúnová, and A. Galliková 2007. Selection of DNA markers for detection of extreme resistance to potato virus Y in tetraploid potato (*Solanum tuberosum* L.) F1 progenies. *Czech Journal Genetic Plant Breeding*. 43(4):125-134.
- Hosseini, A., H. Massumi, J. Heydarnejad, A. Hosseini Pour, and A. Varsani. 2011. Characterisation of potato virus Y isolates from Iran. *Virus Genes*. 42(1): 128-140.
- Kasai, K., Y. Morikawa, V.A. Sorri, J.P.T. Valkonen, C. Gebhardt, and K.N. Watanabe. 2000. Development of SCAR markers to the PVY resistance gene Ryadg based on a common feature of plant disease resistance genes. *Genome*. 43:1-8.
- Lozoya, H., F. Abello, and G. Garcia. 1996. Electrotherapy and shoot tip culture eliminate PVX in potatoes. *American Potato Journal*. 73:149-154.
- Ruiz-Medrano, R., B. Xoconostle-Cazares, and W.J. Lucas. 2001. The phloem as a conduit for inter-organ communication. *Current Opinion in Plant Biology*. 4(3): 202-209.
- Saghai-Maroof, M.A., K.M. Soliman, R.A. Jorgensen, and R.W. Allard. 1984. Ribosomal DNA spacer-length polymorphisms in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location and population dymnamics. PNAS, Proceedings of the National Academy of Sciences. 81: 8014-8018.
- Solomon-Blackburn, R., and H. Barker. 2001. A review of host major-gene resistance to potato viruses X, Y, A and V in potato: Genes, genetics and mapped locations. *Heredity*. 86: 8-16.
- Song, Y.S., and A. Schwarzfischer. 2008. Development of STS markers for selection of extreme resistance (Rysto) to PVY and maternal pedigree analysis of extremely resistant cultivars. *American Journal Potato Research*. 85: 159-70.
- Song, Y.S., L. Hepting, G. Schweizer, L. Hartl, G. Wenzel, and A. Schwarzfischer. 2005. Mapping of extreme resistance to PVY (Rysto) on chromosome XII using anther-culture-derived primary dihaploid potato lines. *Theoretical and Applied Genetics*. 111: 879–887.
- Tiwari, K.O., J. Gopal, and B.P. Singh. 2012. Marker assisted selection for virus resistance in potato: options and challenges. *Potato Journal*. 39(2): 101-117.
- Valkonen, J.P.T. 2007. Viruses: Economical losses and biotechnological potential. In: D. Vreugdenhil, J. Bradshaw, C. Gebhardt, F. Govers, M. Taylor, D. MacKerron, and H. Ross (eds). Potato biology and biotechnology. Advances and Perspectives, Elsevier, Amsterdam. pp 619-641.


Archive of SID

www.SID.ir

# Identification of Resistance Gene to PVY and Its Relation to Marketable Tuber Yield of PVY Resistant Potato Genotypes

**Hassan Hassanabadi[1], Abdolhadi Hosseinzadeh[2*], Seyed Ali Peighambari[3], Mohammad Reza Naghavi[3] and Akbar Dizaji[4]**

*Received: August 2015, Revised: 9 May 2016, Accepted: 13 September 2016*

## Abstract

In this study, the $Ry_{sto}$ gene, originaly found in wild potato (*Solanum stoloniferum*), confers extreme resistance against PVY. It was identified in 21 potato clones and varieties and they were evaluated for some agronomic traits. For this purpose five trials were conducted. In first trial 320 potato genotypes were planted on the farm and 55 symptomless clone and cultivars were selected. In second trial, 55 genotypes along with sensitive control genotype (Desireh) were planted in 20 cm pots in the greenhouse at 15-20 $^{\circ}C$ with three replications. After five weeks, upper leaves were infected artificially with sap from tobacco fresh leaves checked for infection with $PVY^{NTN}$ and additional infections were repeated after 48 hours. Symptoms were recorded and all plants were tested by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) about 4 weeks after inoculation. Plants that showed visual symptoms or/and gave at least a positive ELISA result were considered as susceptible and symptomless response with negative ELISA results were considered as resistant. In third trial, 23 genotypes were planted in the greenhouse and the PVY infected young tobacco shoots were grafted to symptomless genotypes with negative ELISA results with three replications and were selected as resistance genotypes. In fourth trial, all the PVY resistant genotypes were checked by molecular marker (STM0003) for detection of $Ry_{sto}$ gene. Finally four potato varieties (Jelly, Sante, White Lady and Savalan cultivars) and 19 advanced clones were regarded as carriers of $Ry_{sto}$ gene. In the fifth experiment genotypes were evaluated for marketable tuber yield of varieties and clones resistant to virus PVY in field conditions and 397009-8 clone was selected as high-yielding and tolerant genotype to PVY virus. Also, This clone did also have appropriate quality traits like oval-round tuber shape, uniform tubers, short stolon length, light yellow flesh color, yellow skin color, good tuber dry matter percent, tuber flesh texture of relatively soft (multipurpose) and shallow depth tuber eye.

**Key words**: Clone, $Ry_{sto}$ Gene, *Solanum tuberosum*, Tuber yield.

1- Assistant professor, Seed and Plant Improvement Institute, Karaj, Iran.
2- Associate Professor, College of agriculture, University of Tehran, Karaj, Iran.
3- Professor, College of agriculture, University of Tehran, Karaj, Iran.
4- Assistant professor, College of agriculture, University of Tehran, Karaj, Iran
** Corresponding Author: ahzadeh@ut.ac.ir*

Archive of SID

www.SID.ir