Archive of SID

مجله علوم کشاورزی ایران
جلد ۳۵، شماره ۴، سال ۱۳۸۳ (۸۱۵-۸۰۹)

ارزیابی و معرفی ژنوتیپ‌های مقاوم به ویروس در سیب زمینی

معصومه پیمان[۱]، محمدرضا قنادها[۲]، اسلام مجیدی[۳]، عبدالجمیل زربخش[٤]،
فرخ درویش[٥] و حسن حسن‌آبادی[٦]
۱، دانشجوی سابق دوره دکتری دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران ۲، دانشیار دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران ۳، ٤، ٦، اعضای هیات علمی مؤسسه اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج ٥، استاد واحد علوم و تحقیقات، پونک
تاریخ پذیرش مقاله ۸۲/۱۲/۱۳

خلاصه

از آنجا که یکی از مهمترین بیماریهای سیب زمینی در کشور، بیماری ویروسی PVX, PVY می‌باشد، لذا شناسائی ارقام مقاوم به این ویروسها از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. در این تحقیق به منظور ارزیابی مقاومت برخی کلونهای مهم و ارقام تجاری به ویروسهای PVX, PVY، آلوده سازی مصنوعی به این دو ویروس مهم سیب زمینی، صورت پذیرفت. به منظور اطمینان از عاری بودن این ژنوتیپها به ویروس و افزایش دقت آزمون، از کشت مریستم استفاده شد. ریزنمونه‌های مریستم شامل گنبد راسی و همراه با دو برگچه یا چهار برگچه به ترتیب به طول (میلی‌متر ۰/۲۷ ، ۰/۱۲ ، ۰/٦) بر روی محیط جوانه‌زنی جامد و مایع به همراه هورمونهای مختلف Kinetin , ABA , BAP, GA با غلظتهای مختلف (میلی‌گرم بر لیتر ۱ ، ۰/۷ ، ۰/۵ ، ۰/۱ ، ۰/۰۵ ، ۰) قرار گرفتند و سپس شاخساره‌های حاصل به محیط کشت حاوی هورمون NAA , 2,4 – D, IBA, IAA. (میلی‌گرم بر لیتر ۱ ، ۰/۷، ۰/۵ ، ۰/۱ ، ۰/۰۵ ، ۰) جهت باززائی گیاه کامل انتقال یافتند. تجزیه و تحلیل آماری حاصل از کشت مریستم بر اساس آزمایش فاکتوریل (پایه کاملا تصادفی)، نشان داد که بین ژنوتیپها، هورمونها، انواع محیط و اندازه‌های مریستم از لحاظ میزان باززائی اختلاف معنی‌داری وجود دارد. با توجه به معنی‌دار بودن اثرات متقابل اندازه مریستم × هورمون × رقم × محیط، رقم سانته با ریزنمونه میلی‌متر ۰/٦ در محیط جامد حاوی هورمون BAP (میلی‌گرم بر لیتر ۰/۷) بهترین شاخساره زائی را نشان داد و هورمون NAA، (میلی‌گرم بر لیتر ۰/۷) بالاترین میزان باززائی را نشان داد. بر روی گیاهچه‌های حاصل از کشت مریستم، آزمون ELISA صورت پذیرفت و پس از اطمینان از سالم بودن گیاهچه‌ها، آلوده سازی مصنوعی به دو ویروس PVX وPVY در شرایط درون شیشه‌ای و گلخانه‌ای انجام پذیرفت و مجددا آزمون ELISA جهت ارزیابی مقاومت صورت گرفت. رقم سانته مقاوم به PVX, PVY و رقم موندیال مقاوم به ویروس PVX بهمراه ۳ کلون ۳۹٦۲۷۸ ، ۸۰۳۹۷۰۰۷ بعنوان ژنوتیپهای مقاوم به دو ویروس PVX, PVY معرفی گردیدند (نتایج حاصله در شرایط درون شیشه‌ای با گلخانه‌ای کاملا مطابقت داشت).

واژه‌های کلیدی: سیب زمینی، ویروس، مقاومت، باززائی، هورمون

مقدمه

از آنجا که سیب زمینی یکی از مهمترین منبع دولپه‌ای در تغذیه انسان است، این محصول از نظر اهمیت غذائی مقام پنجم را بعد از گندمیان – گندم، برنج، ذرت و جو دارد (۶). سیب‌زمینی به سبب دارا بودن اسیدهای آمینه مهم در پروتئین خود و ویتامین‌ها و مواد معدنی در حد مطلوب، پس از تخم مرغ

مکاتبه کننده: معصومه پیمان

www.SID.ir

Archive of SID

دومین منبع غذائی ساده در جهان می‌باشد (۱). ویروسها بزرگترین و از نظر اقتصادی مهمترین گروه ویروسهای پتی گیاهی را تشکیل می‌دهند که از جمله این ویروسها، ویروس PVY سیب‌زمینی می‌باشد (۱۰). یکی از مهمترین معضلات موجود در جهان و همینطور در ایران بیماریهای ویروسی بالاخص PVY و PVX می‌باشد (۷). لذا به منظور صرفه‌جوئی در خروج ارز از کشور و قطع وابستگی، شناسائی ارقام مقاوم به بیماری و تکثیر آنها و تولید هسته بذری از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است زیرا که آفات و بیماریها خسارات جبران ناپذیری را بر روی کمیت و کیفیت محصول می‌گذارند. علاوه بر روشهای کلاسیک و سنتی، استفاده از تکنیکهای نوین مهندسی ژنتیک و کشت بافت، نویدی جهت تسریع در رسیدن به اهداف اصلاحی در سیب زمینی می‌باشد. ذخیره و نگهداری ژرم پلاسم و تولید گیاهان سالم و عاری از ویروس و صرفه جوئی در وقت و هزینه و تولید گیاهان هاپلوئید از جمله موارد استفاده کشت بافت می‌باشند (۲، ۸).

کشت مریستم سیب زمینی (*Solanum tuberosum*) در شرایط درون شیشه‌ای حدودا از ۳۰ سال گذشته تقریبا اواسط دهه ۱۹۷۰ آغاز گردید (۵).

پنازیو و ردلفی (۱۹۷۸) جهت حذف ویروس در سیب‌زمینی، مبادرت به کشت مریستمهائی بطول ۰/۳ و ۰/۸ میلیمتر نمودند و بیان نمودند که مریستمهای کوچکتر پاسخ بهتری نسبت به باززائی نشان می‌دهند.

از آنجا که تهیه شاخساره‌های بیشتر و در نهایت حصول گیاهان ریشه‌دار بالاتر در ریزازدیادی اهمیت زیادی دارد، لاجرم در تحقیقات زیادی در سراسر جهان مقادیر مختلف اکسین و سیتوکنین مورد استفاده قرار گرفته است. اکسین‌ها معمولا در ایجاد ریشه‌های نابجا و سیتوکنین‌ها در تشکیل کالوس مؤثرند (۳) و تغییر نسبت اکسین به سیتوکنین نیز بر روی اندامزائی بسیار موثر است و هر چه نسبت اکسین به سیتوکنین بیشتر باشد، ریشه تولید می‌گردد و بالعکس، باعث ایجاد ساقه و اندامهای هوائی می‌گردد (۴). وجود و عدم وجود ویروس در گیاهان حاصل از کشت درون شیشه‌ای از طریق آزمون ELISA قابل اثبات می‌باشد که مولر و استک (۱۹۹۷) از طریق کشت بافت، سیب‌زمینی‌های عاری از ویروس را تکثیر و سپس گیاهان حاصل را آزمون ELISA نمودند. در همین راستا، زاپتا و همکاران (۱۹۹۲) ابتدا گیاهچه‌های مستقر در شرایط درون شیشه‌ای را از طریق آزمون ELISA ، PVX ارزیابی نمودند و سپس پس از آلوده‌سازی توسط ویروس PVX مجددا جهت شناسائی ژنوتیپهای مقاوم، از آزمون ELISA استفاده نمودند. در این تحقیق نیز جهت ارزیابی ارقام و کلونهای مهم و سازگار به شرایط آب و هوائی ایران، ابتدا از طریق کشت مریستم سالم‌سازی گردیده و پس از بهینه سازی کشت مریستم و آزمون عوامل مختلف، آلوده سازی گیاهچه‌های حاصل به دو ویروس مهم سیب زمینی در شرایط گلخانه‌ای و درون شیشه‌ای صورت پذیرفته و ژنوتیپهای مقاوم شناسائی گردیدند.

مواد و روش‌ها

یکی از متداولترین راههای حذف ویروسها جداسازی و کشت مریستم از گیاه آلوده به ویروس است. لذا ابتدا، جهت تحریک جوانه‌زنی غده‌های ژنوتیپهای مورد نظر (۳۹۶۱۴۰، ۳۹۶۲۷۸، ۳۹۶۱۳۰، ۳۹۶۱۵۱، ۳۹۶۳۱۰، ۳۹۴۶۰۰،۳۹۷۰۰۷، ۳۹۶۱۵۷، ۳۹۷۰۴۵، ۳۹۷۰۷۹، لیدی رستا، سانته، آگریا و موندیال)، با اسید جیبرلیک قسمت در میلیون۲۰ تیمار گردیدند و پس از یک ساعت در محیط تاریک با رطوبت نسبی بالا نگهداری و پس از ۱۰ روز جوانه‌هائی بطول میلی‌متر ۷-۵ حاصل شدند و به گلدان منتقل شدند. بعد از گذشت ۳- ۴ هفته از قسمت انتهایی گیاهان، قطعه‌هایی بطول سانتی‌متر ۵ بریده و بمدت ۱۵ دقیقه در آب صابون قرار گرفتند. سپس بمدت ۱ دقیقه در الکل ۷۰٪ نگهداری گردیدند و ۳ بار با آب ۲ بار تقطیر شستشو شدند و ۱۰ دقیقه در وایتکس ۸٪ نگهداری و سپس ۳-۲ بار با آب ۲ بار تقطیر استریل، شستشو و سپس بر روی کاغذ صافی‌های استریل در زیر لامینار ایرفلو خشک گردیدند. جهت اطمینان از سالم و عاری بودن گیاهچه‌های حاصل ریزنمونه‌های مریستم شامل گنبد رأسی و همراه با ۲ برگچه یا چهار برگچه به ترتیب به اندازه (میلی‌متر ۰/۲۷ ، ۰/۱۲ ، ۰/۶) انتخاب شدند که بر روی محیط جوانه زنی جامد با هورمونهای مختلف , Kinetin , ABA , BAP, GA با غلظتهای متفاوت (میلی‌گرم

www.SID.ir

Archive of SID

بر لیتر ۱، ۰/۷، ۰/۵، ۰/۱، ۰/۰۵، ۰) قرار گرفتند و سپس شاخساره‌های حاصل به محیط کشت حاوی هورمون NAA, 2,4 – D, IBA, IAA. (میلی‌گرم بر لیتر ۱، ۰/۷، ۰/۵، ۰/۱، ۰/۰۵، ۰) جهت باززائی گیاه کامل انتقال یافتند.

گیاهچه‌های ریشه‌دار حاصل به گلدانهای حاوی پرلیت و ورمی کولیت به نسبت ۱:۲ (اتوکلاو شده) انتقال یافتند و در زیر سرپوش با رطوبت بالا نگهداری گردیدند و با قطره طلائی در طول ۱۰ روز تغذیه گردیدند و آبیاری نیز با آب دو بار تقطیر و محیط کشت ۱/۲ms صورت پذیرفت. گیاهچه‌ها پس از ۱۰ روز به خاک استریل انتقال یافتند و سپس جهت اطمینان از عاری بودن ویروس آزمون ELISA به شرح زیر صورت پذیرفت.

یک گرم از برگ هر ژنوتیپ در بسته‌های پلاستیکی ۲۰×۲۵ سانتیمتری عصاره‌گیری شده و به آن ۳ میلی لیتر بافر استخراج[1] اضافه گردید. برای از انجام آزمون ELISA از کیتهای CIP[2] استفاده شد، که برای هر ویروس یک پلیت دارای ۹۶ چاهک بصورت جداگانه به کار گرفته شد. قبل از عصاره گیری بافر استخراج (میلی‌لیتر۳۰۰ بافر شستشو +g ۱۸/۰۸ اوره +g ۶ پلی ونیل پیرولیدین) تهیه و در دمای ۸-۵ درجه سانتی گراد در یخچال نگهداری گردید .

پودر بافر شستشو[3] (۸ گرم کلرید سدیم+ ۰/۲۰ گرم فسفات دی هیدروژن پتاسیم + ۱/۱۵ گرم فسفات هیدروژن دی سدیم + ۰/۲ گرم کلرید پتاسیم + ۰/۲ گرم نیترید و میلی‌لیتر ۰/۵ توبین ۲۰) با آب مقطر استریل به حجم یک لیتر رسانده شد. ۲/۵ میلی لیتر از بافر پوششی[4] + ۰/۱۵۹ گرم کربنات سدیم + ۰/۲۹۳ گرم کربنات هیدروژن سدیم + ۰/۰۲ گرم نیترید سدیم با میلی‌لیتر ۱۵ آب مقطر استریل مخلوط گردید، به نسبت ۱:۳۰۰ از آنتی بادی هر ویروس به آن اضافه شد.

پس از آماده کردن بافر پوششی و اضافه نمودن آنتی بادی ویروسها به آن، به هر چاهک ۱۰۰ میکرولیتر از محلول فوق ریخته و با پوشش پلاستیکی (ممانعت از خشک شدن) به مدت ۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. سپس پلیت را به آرامی ودقت خالی نموده و برای ۳ بار با بافر PBS-T شستشو شد تا آنتی بادی‌های سرگردان و متصل نشده با دیوارهای چاهک کاملا شسته شوند.

۱۰۰ میلی لیتر پودر شیر بی چربی ۰/۵٪ حل شده در PBS-T ، به هر چاهک افزوده و در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت یک ساعت نگهداری گردیدند و با PBS-T برای ۵ بار و به مدت ۳ دقیقه شستشو شدند . ۱۰۰ میلی لیتر عصاره گیاهی به هر چاهک پلیت اضافه و در دمای ۴ درجه به مدت یک شبانه روز نگهداری شد و با PBS-T برای سه بار به مدت سه دقیقه شستشو گردید. ۱۰۰ میلی لیتر آنتی بادی آنزیم دار مخصوص هر ویروس به هر چاهک اضافه و به مدت ۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه نگهداری شد و مجددا به روش بالا شستشو گردید. ۱۰۰ میلی لیتر سوبسترا (سوبسترات[5] + محلول بافر سوبسترات) به هر چاهک پلیت اضافه و در دمای اتاق نگهداری گردید و پس از نیم تا دو ساعت در تاریکی، رنگ زرد تظاهر یافت (انکوباسیون طولانی‌تر ممکن است باعث ایجاد واکنشهای غیر تخصصی شود و بنابراین از آن اجتناب می‌گردد) سپس پلیتها به دستگاه اسپکتروفتومتر منتقل گردیدند (طول موج ۴۰۵ نانومتر) و وجود و عدم وجود ویروس بررسی گردید، پس از اطمینان از عدم وجود ویروس، آلوده سازی در گلخانه به ویروسPVY و PVX از طریق مکانیکی انجام پذیرفت. عصاره گیاهی حاوی ویروس PVY و PVX به طور جداگانه به سطح برگ گیاهان مالیده شد به نحوی که ویروس بتواند وارد سلولها گردد (از طریق پودر کربوراندوم قبلا خراشهایی در سطح برگ ایجاد شده بود).

برای‌انتقال‌ویروسPVY نیز ازشته‌های (*Myzus persicae*) ۳ الی۴ روزه هم استفاده شد. شته‌های بی بال از گیاه آلوده به ویروس تغذیه نمودند و سپس با استفاده از قلم موی خیس بر روی برگهای جوان سیب زمینی قرار گرفتند.

روی گیاهان را با استفاده از توریهای پلاستیکی پوشانده و پس از گذشت دو هفته جهت ارزیابی مقاومت، آزمون ELISA صورت پذیرفت (در مقایسه با شاهد).

1. Poly Venyl Pyroledin, Urea, Washing Buffer
2. Centro International De La Papa
3. Phosphate Buffer Saline = PBS-T (NaCl, KH2PO4 , KCl, NaN3, Tween 20)
4. Coating Buffer = Na2 CO3, NaHCo3, NaN3, pH= 9.6
5. P- Nitro- Phenyl- Phosphate

www.SID.ir

Archive of SID

در شرایط دورن شیشه‌ای نیز گیاهچه‌های موجود در محیط کشت که رشد نموده و از زیر پنبه بالای لوله خارج شده بودند، بطریق فوق آلوده گردیدند.

نتایج و بحث

از آنجا که تولید هسته بذری عاری از بیماری و ویروس، از مسائل مهم می‌باشد لذا در این تحقیق از ریز نمونه مریستم، جهت سالم سازی گیاهان مورد بررسی، استفاده گردید. تجزیه و تحلیل آماری داده‌های حاصل در مورد ریز نمونه مریستم (بر اساس آزمایش فاکتوریل) انجام پذیرفت. بین ارقام و هورمون و انواع محیط و اندازه مریستم هر کدام بطور جداگانه از لحاظ شاخصه‌زائی اختلاف معنی‌داری مشاهده گردید .تفاوت ژنوتیپها از لحاظ میزان شاخصه‌زائی در این تحقیق مطابق با نتایج آزمایش ترمانورد (۲۰۰۲) بود، از طرفی بین اثرات متقابل شاخصه زائی رقم×هورمون × اندازه مریستم × محیط نیز اختلاف معنی داری مشخص شد (جدول ۱).

بهترین شاخصه‌زائی در رقم سانته با ریزنمونه میلی‌متر ۰/۶ در محیط جامد حاوی هورمون BAP مشخص گردید(جدول۲).

جدول ۱ـ جدول تجزیه واریانس مشاهدات مربوط به شاخصه‌زائی کشت مریستم سیب زمینی (۳× ۳× ۳× ۱۴)

منابع تغییرات	میانگین مربعات
رقم	۱۰۸/۰۷**
محیط	۵۸**
هورمون	۹۶/۶۹**
طول مریستم	۸۷/۲۸**
محیط × رقم	۱۲۵/ ۳۳**
رقم × هورمون	۲۰۱/۱۳**
محیط × هورمون	۳۲/۲**
طول مریستم × رقم	۲۰۴/۶**
طول مریستم × محیط	۱۰۰/۲**
طول مریستم × هورمون	۶۸/۴**
رقم × محیط × هورمون	۱۹۹/۴**
رقم × محیط × طول مریستم	۲۰۲/۶**
رقم × هورمون × طول مریستم	۴۲۳/۶۰**
محیط × هورمون × طول مریستم	۵۰/۵۲**
رقم × محیط × هورمون × طول مریستم	۳۹۸/۷۵**
خطا	۳/۰۲

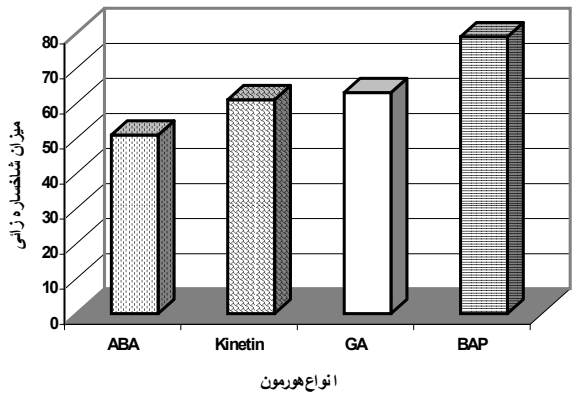
** اختلاف معنی‌دار در سطح ۱٪

پس از مقایسه میانگین به روش دانکن مقدار BAP (میلی‌گرم بر لیتر ۰/۷) بالاترین اثر را بر روی شاخصارزائی نشان داد که مطابق با نتایج تحقیقات کارپ و همکاران (۱۹۸۲) بود (شکل۱). هورمون NAA. (میلی‌گرم بر لیتر ۰/۷) بالاترین میزان باززائی را در محیط ریشه زائی نشان داد (۷۶ ٪)(شکل۲). گیاهچه‌های حاصل پس از کشت مریستم بر اساس آزمون ELISA، عاری از ویروس بودند.

جدول ۲- آزمون مقایسه میانگین در صد شاخصاره زائی در ژنوتیپهای مختلف سیب زمینی (دانکن)

ژنوتیپهای سیب زمینی	میزان شاخصاره زائی
۳۹۴۶۰۰	٪۷۲/۰۷d
۳۹۶۱۵۷	٪۷۷/۷۸c
۳۹۷۰۰۷	٪۷۹/۹b
۳۹۷۰۴۵	٪۶۹/۰۷f
۳۹۷۰۱۵	٪۶۴g
۳۹۶۱۴۰	٪۸۲/۰۱a
۳۹۷۰۷۹	٪۶۹/۶۹f
۳۹۶۳۰۹	٪۶۶fg*
۳۹۶۱۵۱	٪۵۹i
۳۹۶۲۷۸	٪۸۱/۰۰b
۳۹۶۱۳۰	٪۶۱h
موندیال	۸۰/۰۲a
سانته	٪۸۳/۳۴a
آگریا	٪۶۳gh
لیدی رستا	٪۶۲h

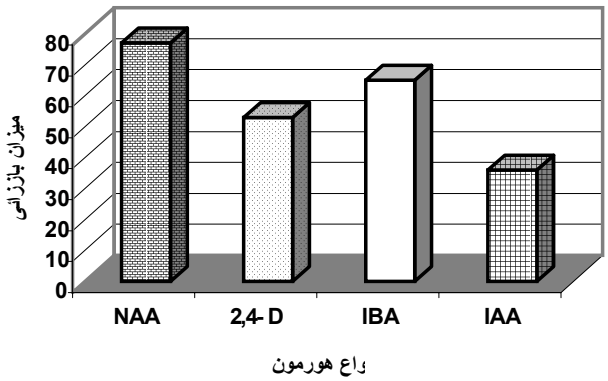
*میانگین‌های با حروف مشترک در هر ستون تفاوت معنی‌داری در سطح ۱٪ ندارد.



شکل ۱- نمایش تاثیر هورمون بر روی شاخصاره‌زایی

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۲- نمایش تاثیر هورمون بر روی باززایی سیب‌زمینی

کشت مریستم جهت تکثیر و حفظ ژرم پلاسم و تولید گیاهان عاری از ویروس اهمیت زیادی دارد. مولر و اسمیت (۱۹۷۷) بیان نمودند که آنزیمهای مورد نیاز برای تکثیر ویروس در بافتهای مریستمی وجود ندارد لاجرم استفاده از این روش کشت، اهمیت زیادی دارد. در همین راستا تحقیقات متعدد نشان می دهد که کشت مریستم در حذف ویروسها بدلایل زیر:

وجود نداشتن پلاسمودسماها در سلولهای مریستمی برای حرکت ویروس‌ها از سلولی به سلول دیگر، وجود مواد بازدارنـــده برای ویروسها در سلولهای مریستمی، فقدان سیستم آوندی تکامل یافته در مریستم جهت انتشار ویروسها و فقدان مواد لازم برای تکثیر ویروسها در سلولهای مریستمی می‌تواند دارای اهمیت زیادی باشد (۱۲) .

به منظور شناسائی ارقام مقاوم، پس از آلودگی مصنوعی گیاهچه‌های سالم به ویروس PVX وPVY ، بعد از ۲ هفته، مجددا تست ELISA صورت پذیرفت و ارقام سانته مقاوم به PVX, PVY و موندیال مقاوم به ویروس PVX بهمراه ۳ کلون ۳۹۶۲۷۸ ، ۸۰۳۹۷۰۰۷ بعنوان ژنوتیپهای مقاوم به دو ویروس PVX, PVY معرفی گردیدند. در این تحقیق، آلوده‌سازی و ارزیابی مقاومت در شرایط گلخانه و درون شیشه‌ای صورت پذیرفت و نتایج آزمون ELISA مورد مقایسه قرار گرفت و مشاهده گردید که نتایج بطور کامل با هم تطابق دارد. لاجرم در تحقیقات بعدی می‌توان از ارزیابی مقاومت در شرایط آزمایشگاهی، بدون اعمال در شرایط گلخانه در مکان و زمان محدودتر استفاده نمود که مطابق با نتایج آزمایش مارانی و پیسی (۲۰۰۲) بود.

مراجع مورد استفاده REFERENCES

۱. مظفری، ج. و م. پژوهنده. ۱۳۷۹. بیوتکنولوژی در مسیر ایجاد نخستین بانک ژرم پلاسم عاری از ویروس سیب زمینی در ایران. نشریه کمیسیون بیوتکنولوژی. شورای پژوهشهای علمی کشور.

۲. عبد میشانی،س. و ع. ا. شاه نجات بوشهری. ۱۳۷۷. اصلاح نباتات تکمیلی جلد ۱و۲ ، چاپ دانشگاه تهران .

3. Belarmino, M. M ., T. Abe, & T. Sasahara. 1994. Plant regeneration from stem and petiol protoplasts of sweet potato and its wild relative. Plant Cell Tiss.Org. Cult, Vol. 37: 145- 150.
4. Carputo, D., T. Cardi, G. Ferraiolo, & L. Frusciante. 1995 . Tissue culture response in various wild and cultivated *Solanum* germplasm accessions for exploitation in potato breeding. Plant Cell Tiss. Org. Cult. Vol, 41: 151-158.
5. Heszky, L. E & M. Nagy. 1987. In vitro conservation conservation of potato germplasm in Hungary, Biotechnology in Agriculture and Foresty, Vol. 3.
6. Hooker, W. J. 1990. Compendium of potato disease. The American phytopathological Society, St, Paul, Minnesota. 125pp.
7. Jellis, S. 1992. Multiple resistance to diseases and pests in potatoes. Plant Breeding International, Cambridge. Vol. 63:51-58.
8. Karp, A. 1990. Somaclonal variation in potato. In Bajaj , Y. P. S. (ed). Somaclonal variation in crop improvement. Vol. 1, Springer – Verlag, Berlin, PP. 397-395.
9. Karp, A., RS. Nelson, E. Thomas, & SWJ, Bright. 1982. Choromozome variation in protoplast derived potato plants. Theor APP Genet. Vol, 63: 265-272.
10. Kl- Valkama, TM., A. Lehtinen, A. Santala, K. Koivu, T. Pehu, K. Lehto, J. Valonen, & E. Pehu. 1998. Potato virus YP, gene – mediated resistance in transgenic potato, ICPP98, 5:3-4.

www.SID.ir

Archive of SID

11. Marani, F. & A. PISI. 2002. Meristem- Tip culture and vegetative propagation in potato. ISHS Acta Horticulture.
12. Mellor, F.C. & R. Stace - Smith. 1977. Virus - free potatoes by tissue culture. In Reinert J, Bajaj Rps (eds) Applied and fundamental aspects of plant cell, tissue, and organ culture, Springer, Berlin. Heideb lerg New Yourk, PP 616 - 635.
13. Novak, F. J. & J. Zadina. 1980. Invitro propagation of potato progress in czechoslovakia, Biotechnology in Agriculture and Forestry . Vol.3.
14. Pennazio, S. & P. Redolifi. 1974. Potato virus X eradication in cultured potato meristem tips. Potato Research, 17: 333-335.
15. Temanord, T. 2002. Stability of potato meristem clones, 555.
16. Zapota, C., T. Zauala – Qumtana, & H. Lopez – Delgado. 1992. Effect of the temprature on the PVX translocation in potato plants cultured in viro Abstract of 16 annual meeting Potato Association of American , Canada Abstract, No:57.

www.SID.ir

Archive of SID

Iranian, J. Agric. Sci. Vol. 35, No. 4, 2004

Identification and Introduction of Virus Resistat Genotypes in Potato

M. PEYMAN[1], M. R. GHANNADHA[2], S. MAJIDI[3], A. J. ZARBAKHSH[4], F. DARVISH[5] AND H. HASANABADI[6]

1, 5, Ph. D. Scholar, Professor, Research and Science Campus, Islamic Azad University, Tehran 2, Associate Professor, Faculty of Agriculture, University of Tehran 3, 4, 6, Staff Members, Seed and Plant Breeding Research Institute, Karaj

Accepted. March. 3, 2004

SUMMARY

Since one of the important potato diseases in our country is potato virus, PVX and PVY, so, identification and introduction of viruses resistat cultivars is of paramont importance. In this research, infection was artificially carried out using PVX and PVY viruses. In order to produce free virus genotypes, meristem culture was employed. Meristem explants that included 2 or 4 leaves (0.6 , 0.12 , 0.27 mm length) were cultured on liquid as well as solid germination media with different hormones of Kinetin, ABA , BAP, GA of different doses (0, 0.05 , 0.1 , 0.5 , 0.7 , 1 mg /l). Shoots for regeneration of complete plant were transferred into media with NAA , 2,4 – D, IBA,IAA (0, 0.05 , 0.1, 0.5, 0.7, 1 mg /l). Data analysis in meristem culture (factorial, complete random design) indicated a significant difference between genotypes, hormones, media and meristem length. Sante 0.6 mm meristem × agar media × BAP (0.7 mg/l) was introduced as the best shoot inducing combination. NAA (0.7 mg/l) among root inducing media induced the highest regeneration (76%). ELISA test was done and after recognition of healthy seedlings, artificial infection by PVX (mecanical) and PVY (vector) in green house as well as in vitro was done and again ELISA test was carried out after 2 weeks. Sante 80397007, 396278, 396140, exhibited resistance to PVY , PVX with Mondial showing resistance only to PVX. In vitro results were the same as those in green house.

Key words: Potato, Virus, Resistat, Regeneration, Hormone.

www.SID.ir