

تأثیر تنظیم‌کننده‌های رشد سیتوکینینی بر باززایی مستقیم پنج رقم سیب‌زمینی

بتول رحیمیان^۱، محمد ربیعی^{۲*} و محمود خدامباشی^۳

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۶/۲۳؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱/۲۷)

چکیده

به منظور بهینه‌سازی باززایی مستقیم ارقام مختلف سیب‌زمینی (*Solanum tuberosum* L.) شامل آریندا، آگریا، سانته، مارادونا و مارفونا آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. ریزنمونه‌های میانگه در محیط MS دارای غلظت‌های مختلف بنزیل آمینوپورین (BAP) (۱، ۲، ۵، ۱۰ و ۱۵ میلی‌گرم در لیتر) و کیتینین (Kin) (۰/۵، ۱، ۲، ۵، ۱۰ و ۱۵ میلی‌گرم در لیتر) در ترکیب باهم کشت شدند. ارزیابی نتایج به دست آمده در محیط درون شیشه‌ای نشان داد هورمون BAP نسبت به هورمون Kin تأثیر بهتری بر باززایی ارقام مختلف سیب‌زمینی دارد. غلظت‌های پایین هورمون BAP بیشترین تأثیر را در تولید ساقه و ریشه داشتند و در غلظت‌های بالاتر این هورمون، بیشترین میزان جنین تولید شد. طول ساقه‌ها و ریشه‌های تولید شده نیز در غلظت‌های پایین BAP بیشتر بود و با افزایش غلظت کاهش یافت، اما حضور BAP در محیط کشت در طول جنین تأثیری نداشت. غلظت‌های مختلف هورمون Kin اثر معنی‌داری بر میزان ساقه‌زایی و طول ساقه‌های تولید شده داشتند، اما در میزان ریشه‌زایی، جنین‌زایی، طول ریشه‌ها و جنین‌های به دست آمده تأثیری نداشتند. براساس نتایج، هورمون Kin تأثیری بر سرعت باززایی نداشت، اما غلظت بالاتر BAP باعث افزایش سرعت باززایی شد. در بین ارقام در بیشتر صفات اندازه‌گیری شده، اختلاف معنی‌دار وجود داشت. مارفونا در تمامی صفات بهترین پاسخ را به شرایط درون شیشه‌ای نشان داد. بنابراین به‌طور کلی می‌توان گفت القای اندام‌زایی مستقیم در سیب‌زمینی بسیار به نوع ژنوتیپ وابسته است و نیز استفاده از تنظیم‌کننده رشد BAP، نقش مهمی در القای اندام‌زایی مستقیم در ارقام سیب‌زمینی دارد.

واژه‌های کلیدی: اندام‌زایی، کشت کالوس

۱، ۲ و ۳. به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، استادیار و استاد، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد

* مسئول مکاتبات: پست الکترونیکی: mrabiei@yandex.ru

مقدمه

سیب‌زمینی (*Solanum tuberosum* L.) 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 (۱۵). با توجه به افزایش روز افزون تقاضا برای این محصول، کارایی تولید آن می‌بایست بهبود یابد. یکی از مسائل اصلی در تولید سیب‌زمینی، هزینه‌ی بالای تولید غده‌های بذری آن است. محدودیت دیگر، چرخه تکثیر غیرجنسی طولانی آن است که احتمال ابتلا به بیماری‌های ویروسی و باکتریایی نیز افزایش می‌یابد. استفاده از تکنیک‌های بیوتکنولوژی مانند کشت بافت موجب افزایش محصول، کاهش هزینه‌های تولید و کاهش ابتلا به بیماری‌ها و استفاده از سموم شده است (۱۰). از بین تکنیک‌های کشت بافت، باززایی پتانسیل بالایی را برای ارتقای کیفیت، پایداری در مقابل بیماری‌ها و ویژگی‌های کشاورزی سیب‌زمینی، داراست (۱۹).

یکی از مهم‌ترین فاکتورها در طول فرایند باززایی نوع و غلظت سیتوکینین‌های مورد استفاده است. با انتخاب یک سیتوکینین مناسب ممکن است توانایی اندام‌زایی ریزنمونه‌ها نیز افزایش یابد. سیتوکینین‌ها به‌عنوان مهم‌ترین فاکتور مؤثر بر شاخه‌زایی آزمایش شده‌اند (۲۳). سیتوکینین‌ها یک گروه از مشتقات پورینی هستند که تعداد زیادی از فرایندهای رشدی گیاهان را تحت تأثیر قرار می‌دهند. این فرایندها شامل توسعه مرستم ریشه و ساقه، سنتز کلروفیل، پیری برگ‌ها، انشعاب شاخه‌ها، گل‌دهی، تحمل تنش‌ها و تنظیم فعالیت مرستم‌ها هستند (۲۶ و ۳۶). سیتوکینین‌ها در مراحل اولیه جنین‌زایی رویشی، نظیر تشکیل توده سلولی جنین نقش دارند. بنابراین نقش آنها در تقسیم سلولی بیشتر از تمایز یابی جنین است (۱۱). پاسخ به باززایی در محیط درون شیشه بسیار وابسته به نوع گونه و حتی ژنوتیپ است (۲۷). مصرف، انتقال و متابولیسم سیتوکینین‌ها در واریته‌های مختلف متفاوت است و می‌تواند با سیتوکینین‌های داخلی یک ریزنمونه نیز اثر متقابل داشته باشند (۱۳). لیندن و ریكونن (۲۲) بیان کردند که میزان ساقه‌دهی در

محیط کشت با توجه به رقم مورد استفاده بسیار متفاوت است، اما در بیشتر موارد سیتوکینین‌ها باعث افزایش تولید ساقه می‌شوند. ادوین و همکاران (۱۳) نیز بیان کردند که نوع رقم نقش بسیار مهم و اساسی در شرایط کشت بافت ایفا می‌کند و بررسی باززایی مستقیم بدون در نظر گرفتن نقش اثر ژنوتیپ و اثر متقابل آن با محیط کشت مفید نیست. حسین و همکاران (۱۸) تفاوت معنی‌داری بین ارقام و غلظت‌های مختلف سیتوکینین مورد استفاده از نظر میزان باززایی مشاهده کردند. دیتال و همکاران (۱۲) در بررسی باززایی مستقیم ارقام مختلف سیب‌زمینی با استفاده از ریزنمونه‌های برگ، دم‌برگ و میانگره، در بین ارقام تفاوت معنی‌داری مشاهده کردند. آنها گزارش کردند ریزنمونه میانگره در ارقام مختلف بیشترین پاسخ به باززایی ساقه و ریشه را در ترکیبات مختلف هورمونی نشان داده است. الحسین و همکاران (۲) نیز تفاوت معنی‌داری بین ارقام مختلف در صفات مورد بررسی در کالوس‌زایی و باززایی سیب‌زمینی مشاهده کردند.

تحقیقات زیادی برای دستیابی به روشی برای باززایی درون شیشه‌ای در سیب‌زمینی صورت گرفته است. در طی این تحقیقات از ریزنمونه‌های متنوعی با استفاده از چندین تنظیم‌کننده رشد و بدون وجود فاز کالوسی (باززایی مستقیم) گیاهچه‌هایی حاصل شده است. باکول (۷) نشان داد باززایی ارقام سیب‌زمینی با استفاده از هورمون BAP به‌طور چشمگیری افزایش می‌یابد. زمانی که از غلظت ۲-۱ میلی‌گرم در لیتر BAP یا یک میلی‌گرم در لیتر این هورمون همراه با ۱-۰/۱ میلی‌گرم در لیتر NAA استفاده شد، تمامی ارقام پاسخ بهتری را نسبت به غلظت‌های دیگر نشان دادند. هوکیو (۱۶) در بررسی تأثیر غلظت‌های ۱، ۲، ۳ و ۴ میلی‌گرم در لیتر هورمون Kin بر شاخه‌زایی و غده‌زایی سیب‌زمینی گزارش کرد که در غلظت چهار میلی‌گرم در لیتر Kin شاخه‌زایی و غده‌زایی بیشتری صورت می‌گیرد. مولا و همکاران (۲۵) برای یافتن ترکیب و غلظت مناسبی از سیتوکینین‌ها، محیط‌های کشت MS مختلف با استفاده از هفت غلظت مختلف BAP، شش غلظت تیدیاژورون

مریستم راسی گزارش کردند کاربرد BAP تأثیر بیشتری بر باززایی مستقیم سیب‌زمینی داشته است.

هدف از تحقیق حاضر بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف هورمون‌های BAP و Kin در باززایی مستقیم (شاخه‌زایی، جنین‌زایی و ریشه‌زایی) پنج رقم سیب‌زمینی مورد کشت و کار در ایران با استفاده از ریزنمونه‌های میان‌گره است. تا کنون گزارشی مبنی بر بررسی هم‌زمان و مقایسه این پنج رقم که بخش اعظم سطح زیر کشت را در کشور به خود اختصاص داده‌اند از دیدگاه باززایی مستقیم و پاسخ این ارقام به استفاده صرفاً سیتوکینین‌ها در شرایط کشت درون شیشه ارائه نشده است. اندام‌زایی مستقیم به‌خصوص به‌روش جنین‌زایی نقش مهمی در تکثیر این ارقام و نیز تولید بذرهای مصنوعی بدون اینکه تغییری در ساختار ژنتیکی ارقام مطلوب ایجاد شود ایفا می‌کند. از طرفی بهینه‌سازی شرایط باززایی مستقیم به کمک هورمون‌های ذکر شده در سیب‌زمینی باعث سرعت بخشیدن به فعالیت‌های بیوتکنولوژیکی و اصلاحی در این گیاه می‌شود.

مواد و روش‌ها

تمامی مراحل این آزمایش در آزمایشگاه بیوتکنولوژی دانشگاه شهرکرد انجام شد. در این پژوهش، مینی تیوبرهای پنج رقم سیب‌زمینی شامل آگریا، آریندا، سانه، مارادونا و مارفونا تهیه و مورد استفاده قرار گرفت. گیاهچه‌های حاصل از کشت ارقام سیب‌زمینی در شرایط محیطی مناسب در گلخانه نگهداری و از آنها برای تهیه گیاهچه‌های استریل استفاده شد. یک ماه پس از کاشت غده‌ها و رشد کافی بوته‌ها، ساقه‌های جوان و سالم که در بهترین شرایط رشدی قرار داشتند از بوته‌ها جدا شده و ضدعفونی شدند. برای ضدعفونی ابتدا مواد گیاهی به‌مدت ۲۰ دقیقه با آب شهری شستشو شدند. سپس در شرایط استریل به‌مدت ۴۵ ثانیه در الکل اتیلیک ۷۰ درصد و ۱۰ دقیقه در هیپوکلریت سدیم یک درصد قرار گرفتند و در پایان سه مرتبه با آب مقطر استریل شستشو شدند. پس از ضدعفونی، ریزنمونه‌هایی به اندازه ۰/۵ تا ۰/۷ میلی‌متر از ساقه‌ها تهیه شد.

و هشت غلظت زآتین‌ریبوزید به‌طور جداگانه مورد استفاده قرار دادند و گزارش کردند که در بین هورمون‌های مورد استفاده، به‌کارگیری زآتین‌ریبوزید نتیجه بهتری را باعث شد. استفاده از BAP با غلظت سه میلی‌گرم در لیتر و نیز تیدپازورون با غلظت ۰/۳ میلی‌گرم در لیتر برای ساقه‌دهی از ریزنمونه‌های میان‌گره و برگ نیز بسیار مناسب تشخیص داده شد. در بررسی تأثیر اکسین‌ها و سیتوکینین‌ها بر باززایی سه رقم سیب‌زمینی توسط احمد و همکاران (۱)، تمامی ارقام در محیط دارای ترکیبی از سیتوکینین‌های BAP و Kin نسبت به محیط حاوی ترکیبی از اکسین NAA و سیتوکینین Kin پاسخ بهتری نشان دادند. پیمان و همکاران (۲۹) بیشترین شاخه‌زایی و ریشه‌زایی را به‌ترتیب در غلظت ۰/۷ میلی‌گرم در لیتر هورمون‌های BAP و NAA در ارقام مختلف سیب‌زمینی به‌دست آوردند. بویان (۸) به‌منظور تولید گیاهچه‌های عاری از ویروس با استفاده از کشت مریستم، در سه رقم سیب‌زمینی تأثیر سیتوکینین‌های BAP و Kin در غلظت‌های ۰/۵، ۱، ۱/۵، ۲ و ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر به‌تنهایی و در ترکیب با غلظت‌های ۰/۵ تا ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر هورمون GA^۳ مورد بررسی قرار داد. وی گزارش کرد که هورمون BAP نسبت به Kin تأثیر بیشتری بر تعداد و طول شاخه‌های باززایی شده دارد. کائور و همکاران (۲۰) در بررسی غلظت‌های ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم در لیتر هورمون BAP، بهترین باززایی را در محیط دارای یک میلی‌گرم هورمون در ارقام مختلف سیب‌زمینی به‌دست آوردند اما با افزودن ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر هورمون GA^۳ به محیط کشت، کاهش چشمگیری در شاخه‌زایی ارقام مشاهده کردند. شرکار و چاوان (۳۴) گزارش کردند با افزایش غلظت هورمون BAP از یک میلی‌گرم در لیتر به سه میلی‌گرم در لیتر درصد باززایی شاخه افزایش می‌یابد و با افزایش غلظت هورمون به چهار میلی‌گرم در لیتر، درصد شاخه‌زایی کاهش می‌یابد. شهریار و همکاران (۳۳) در بررسی غلظت‌های مختلف (۰/۱، ۰/۲، ۰/۳ میلی‌گرم در لیتر) هورمون‌های BAP و GA^۳ به‌صورت جداگانه در باززایی مستقیم سیب‌زمینی با استفاده از ریزنمونه‌های جوانه، گره و

بیانگر وجود تفاوت بسیار معنی‌داری در بین ارقام بود (جدول ۱). در بین ارقام مورد مطالعه، رقم مارفونا بالاترین سرعت باززایی را به خود اختصاص داد. ارقام آریندا و مارادونا از سرعت باززایی متوسط و ارقام آگریا و سانته دارای کمترین سرعت باززایی بودند (جدول ۲ و شکل ۱). نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) اثرات ساده هورمون‌های مورد استفاده در آزمایش حاکی از آن بود که هورمون BAP تأثیر بسیار معنی‌داری بر سرعت باززایی داشته، اما هورمون Kin تأثیر معنی‌داری بر این صفت نداشته است. همچنین بررسی اثر متقابل هورمون‌ها با رقم نشان داد، اثر متقابل هورمون BAP با رقم در سرعت باززایی بسیار معنی‌دار بود. اثر متقابل سه‌گانه بین ارقام و هورمون‌ها نیز معنی‌دار نبود (جدول ۱). نتایج به‌دست آمده از جدول مقایسه میانگین صفات مورد بررسی در غلظت‌های مختلف هورمون BAP (جدول ۳) نشان داد که غلظت‌های ۱۵ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر این هورمون تأثیر بیشتری در سرعت باززایی داشته است. مقایسه میانگین اثرات متقابل BAP با رقم (شکل ۱)، تفاوت معنی‌دار بین ارقام و سطوح مختلف هورمون را به خوبی نشان داد. در غلظت دو و پنج میلی‌گرم در لیتر سرعت باززایی ارقام تقریباً یکسان بود، اما در غلظت ۱ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر بین ارقام تفاوت وجود داشت و سرعت باززایی نسبت به غلظت‌های دو و پنج میلی‌گرم در لیتر بیشتر بود. رقم مارفونا به‌طور کلی دارای بالاترین سرعت باززایی در بین ارقام و غلظت‌های مختلف هورمون BAP بود. سرعت باززایی در رقم آریندا با افزایش غلظت هورمون افزایش یافت و در غلظت ۱۵ میلی‌گرم در لیتر هورمون، این رقم دارای بالاترین سرعت باززایی بود. در رقم مارادونا با افزایش غلظت هورمون سرعت باززایی کاهش یافت و در غلظت یک میلی‌گرم در لیتر هورمون، این رقم سرعت باززایی بیشتری داشت. ارقام آگریا و سانته در غلظت‌های مختلف هورمون سرعت تقریباً یکسانی در باززایی داشتند. اثر متقابل هورمون Kin با رقم و سطوح مختلف این هورمون تأثیر معنی‌داری بر سرعت باززایی ارقام نداشت و غلظت‌های هورمونی متفاوت تأثیر یکسانی بر سرعت باززایی داشتند (جدول ۳).

هر ریزنمونه دارای یک جوانه جانبی بود که در محیط MS فاقد هورمون کشت شدند. یک ماه پس از کاشت جوانه‌ها، گیاهچه‌های استریل جوانی به‌دست آمد که در مراحل بعدی آزمایش، برای تهیه ریزنمونه‌ها مورد استفاده قرار گرفتند. در این آزمایش از محیط کشت MS جامد حاوی ۳۰ میلی‌گرم در لیتر ساکارز، شش میلی‌گرم در لیتر آگار و غلظت‌های مختلف از هورمون‌های BAP (۱، ۲، ۵، ۱۰ و ۱۵ میلی‌گرم در لیتر) و Kin (۰/۵، ۱، ۲، ۵، ۱۰ و ۱۵ میلی‌گرم در لیتر)، با pH=۵/۷ استفاده شد. محیط‌های کشت تهیه شده به‌میزان ۲۰ میلی‌گرم در لیتر در شیشه‌های مربایی توزیع شده و به‌مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد استریل شدند. ریزنمونه‌ها پس از کشت در اتاق رشد با دمای 25 ± 1 درجه سانتی‌گراد و شرایط نوری هشت ساعت تاریکی و ۱۶ ساعت روشنایی نگهداری شدند. در این آزمایش صفات مختلف شامل سرعت باززایی (براساس تعداد روز از شروع کشت تا مشاهده اولین اندام تولید شده)، طول گیاهچه‌های باززایی شده و نسبت ریشه‌زایی، ساقه‌زایی و جنین‌زایی در محیط‌های مختلف اندازه‌گیری و یادداشت‌برداری شد. تمامی مراحل آزمایش در آزمایشگاه بیوتکنولوژی دانشگاه شهرکرد به انجام رسید. آزمایش به‌صورت فاکتوریل (با در نظر گرفتن ارقام و تنظیم‌کننده‌های رشد BAP و Kin به عنوان فاکتورها) در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار و هر تکرار حاوی پنج ریزنمونه انجام شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد. تجزیه و تحلیل داده‌های به‌دست آمده از اندازه‌گیری صفات مختلف با نرم‌افزار آماری STATISTICA 6.0 صورت گرفت و برای رسم نمودارها از نرم افزار اکسل ۲۰۱۳ استفاده شد.

نتایج و بحث

اثرات نوع و غلظت‌های مختلف هورمون‌های استفاده شده در این پژوهش به تفکیک صفات اندازه‌گیری شده، گزارش و مورد بحث قرار گرفته است.

سرعت باززایی

تجزیه واریانس داده‌ها برای سرعت باززایی در تیمارهای مختلف

جدول ۱. نتایج تجزیه واریانس صفات مرتبط با باززایی از میانگرمه پنج رقم سیب‌زمینی در شرایط کشت درون شیشه

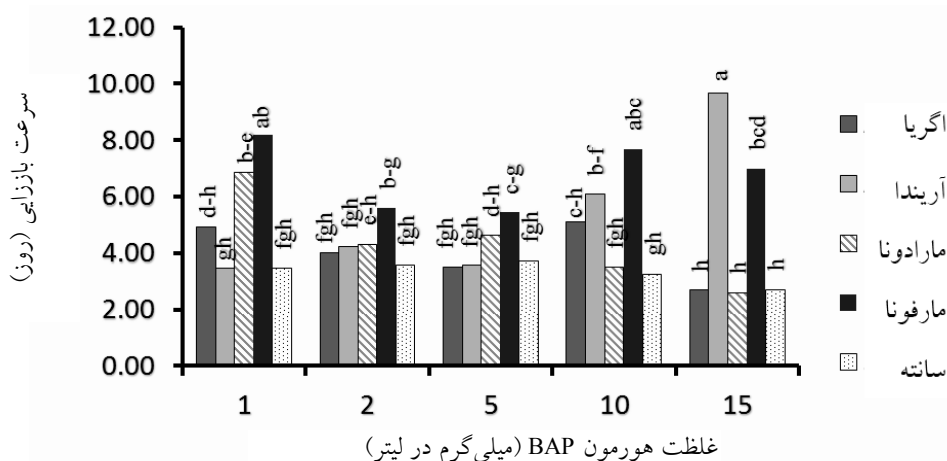
منابع تغییر	درجه آزادی	سرعت باززایی	میانگین مربعات			تعداد اندام باززایی شده	اندازه اندام باززایی شده (سانتی‌متر)
			ساقه	ریشه	جنین		
رقم	۴	۱۵۹/۶۹۹**	۱/۲۹۶**	۰/۵۴۱ ^{ns}	۱/۶۲۷**	۳/۰۲۲*	۰/۱۰۱**
BAP	۴	۹۸/۲۳**	۰/۵۵۴*	۰/۱۶۲**	۰/۴۶۴*	۱۴/۸۰۲**	۰/۰۲۴ ^{ns}
Kin	۵	۶۳/۱۷ ^{ns}	۰/۵۳۴*	۰/۰۲۰ ^{ns}	۰/۰۸۶ ^{ns}	۵/۷۰۹**	۰/۰۱۴ ^{ns}
رقم × BAP	۱۶	۴۸/۰۰۱**	۰/۴۵۷*	۰/۰۵۶*	۰/۱۹۷ ^{ns}	۱/۴۹۱**	۰/۰۲۳*
رقم × Kin	۲۰	۹/۶۰۴ ^{ns}	۰/۲۸۴ ^{ns}	۰/۰۲۰ ^{ns}	۰/۱۳۵ ^{ns}	۱/۸۸۸ ^{ns}	۰/۰۰۶ ^{ns}
BAP × kin	۲۰	۲۱/۱۰۵ ^{ns}	۰/۳۶۵ ^{ns}	۰/۰۲۳ ^{ns}	۰/۱۴۲ ^{ns}	۳/۱۴۶**	۰/۰۱۰ ^{ns}
رقم × BAP × Kin	۸۰	۱۵/۱۸۷ ^{ns}	۰/۲۲۷ ^{ns}	۰/۰۲۱ ^{ns}	۰/۱۱۴ ^{ns}	۱/۲۶۳ ^{ns}	۰/۰۰۹ ^{ns}
خطا	۳۰۰	۱۵/۸۳۰	۰/۲۴۶	۰/۰۳۲	۰/۱۷۸	۱/۳۸۶	۰/۰۱۳
ضریب تغییرات (درصد)		۱۱/۵	۱۷/۲	۸/۴	۶/۳	۱۹/۱	۲۱/۱

ns غیر معنی‌دار، * و ** به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد

جدول ۲. نتایج مقایسه میانگین صفات مورد بررسی در رقم‌های مختلف

ارقام	سرعت باززایی (روز)	تعداد اندام باززایی شده			اندازه اندام باززایی شده (سانتی‌متر)		
		ساقه	ریشه	جنین	طول ساقه	طول ریشه	طول جنین
آریندا	۵/۳۹ ^b	۲/۰۱ ^a	۱/۵۶ ^a	۱/۶۱ ^b	۱/۸۵ ^b	۱/۵۰ ^a	
اگریا	۴/۰۵ ^c	۱/۷۳ ^b	۱/۵۰ ^a	۱/۷۳ ^b	۲/۳۳ ^a	۱/۵۴ ^a	
مارادونا	۴/۳۹ ^b	۱/۸۸ ^{ab}	۱/۵۲ ^a	۱/۷۰ ^b	۱/۹۳ ^b	۱/۵۳ ^a	
مارفونا	۶/۷۸ ^a	۱/۷۸ ^b	۱/۵۳ ^a	۱/۹۶ ^a	۲/۰۹ ^{ab}	۱/۵۱ ^a	
سانته	۳/۳۶ ^c	۱/۷۳ ^b	۱/۵۴ ^a	۱/۶۷ ^b	۲/۰۲ ^{ab}	۱/۵۳ ^a	

میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشابه باشند، بر اساس آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد ندارند.



شکل ۱. مقایسه میانگین سرعت باززایی در سطوح مختلف هورمون BAP و رقم. میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک باشند، بر اساس آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

جدول ۳. نتایج مقایسه میانگین صفات مورد بررسی در غلظت‌های مختلف تنظیم‌کننده‌های Kin و BAP

نام هورمون	غلظت هورمون (mg/l)	سرعت باززایی (روز)	تعداد اندام باززایی شده			اندازه اندام باززایی شده (سانتی‌متر)		
			ساقه	ریشه	جنین	طول ساقه	طول ریشه	طول جنین
BAP	۱	۴/۳۸ ^b	۱/۹۵ ^a	۱/۵۹ ^a	۱/۷۴ ^{ab}	۲/۶۳ ^a	۱/۵۷ ^a	۱/۵۷ ^a
	۲	۴/۳۵ ^b	۱/۸۵ ^{ab}	۱/۵۶ ^a	۱/۶۳ ^b	۲/۲۷ ^{ab}	۱/۵۴ ^{ab}	۱/۵۴ ^a
	۵	۴/۱۷ ^b	۱/۷۹ ^b	۱/۵۰ ^b	۱/۸۳ ^a	۱/۹۲ ^{bc}	۱/۵۰ ^b	۱/۵۸ ^a
	۱۰	۵/۱۳ ^a	۱/۷۸ ^b	۱/۵۰ ^b	۱/۷۷ ^{ab}	۱/۷۷ ^c	۱/۵۰ ^b	۱/۵۵ ^a
	۱۵	۴/۹۴ ^{ab}	۱/۷۶ ^b	۱/۵۰ ^b	۱/۷۰ ^a	۱/۶۲ ^c	۱/۵۰ ^b	۱/۵۴ ^a
Kin	۰/۵	۴/۷۱ ^a	۱/۹۱ ^a	۱/۵۴ ^a	۱/۷۴ ^a	۲/۳۸ ^a	۱/۵۲ ^a	۱/۵۶ ^a
	۱	۴/۸۹ ^a	۱/۸۴ ^{ab}	۱/۵۳ ^a	۱/۷۰ ^a	۲/۰۷ ^{ab}	۱/۵۴ ^a	۱/۵۵ ^a
	۲	۵/۰۸ ^a	۱/۷۹ ^{ab}	۱/۵۵ ^a	۱/۸۰ ^a	۱/۹۳ ^b	۱/۵۵ ^a	۱/۵۸ ^a
	۵	۵/۰۴ ^a	۱/۹۳ ^a	۱/۵۲ ^a	۱/۷۴ ^a	۲/۳۴ ^a	۱/۵۱ ^a	۱/۵۶ ^a
	۱۰	۴/۷۶ ^a	۱/۷۸ ^{ab}	۱/۵۱ ^a	۱/۷۱ ^a	۱/۷۳ ^b	۱/۵۰ ^a	۱/۵۴ ^a
	۱۵	۴/۲۸ ^a	۱/۷۱ ^b	۱/۵۳ ^a	۱/۷۲ ^a	۱/۸۰ ^b	۱/۵۱ ^a	۱/۵۶ ^a

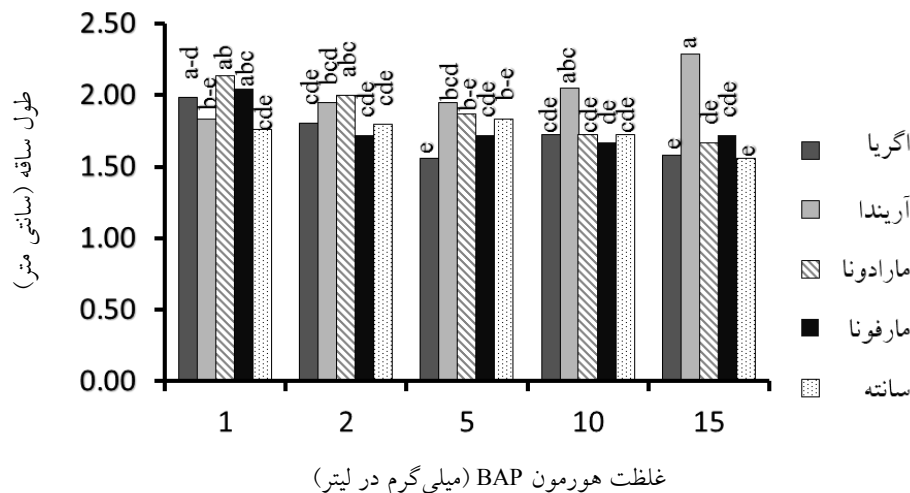
میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشابه باشند، بر اساس آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

شده نشان‌دهنده وجود تفاوت بسیار معنی‌داری در بین ارقام از نظر ساقه‌زایی و جنین‌زایی بود. رقم آریندا بیشترین توانایی ساقه‌زایی و رقم مارفونا بیشترین توانایی جنین‌زایی را به خود اختصاص دادند. در بین سایر ارقام تفاوت قابل ملاحظه‌ای از نظر ساقه‌زایی و جنین‌زایی وجود نداشت. از نظر میزان ریشه‌زایی تفاوت معنی‌داری در بین ارقام مشاهده نشد (جدول ۱ و ۲). تجزیه واریانس اثرات ساده هورمون‌های Kin و BAP و اثر متقابل هورمون BAP با رقم در باززایی ساقه در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود، اما اثر متقابل رقم با هورمون Kin اثر معنی‌داری بر باززایی ساقه نداشت (جدول ۱). بر مبنای تجزیه واریانس داده‌های مربوط به این صفت، هورمون BAP بیشترین تأثیر را بر باززایی ریشه داشته است که در سطح احتمال یک درصد بسیار معنی‌دار بوده است و هورمون Kin تأثیر معنی‌داری بر باززایی ریشه در هیچ یک از سطوح نشان نداد. بررسی اثر متقابل هورمون BAP و رقم حاکی از معنی‌دار شدن این عامل در سطح احتمال پنج درصد بر باززایی ریشه است، اما تأثیری بر باززایی جنین ندارد. درحالی‌که اثر متقابل

تفاوت بین ارقام از نظر سرعت باززایی در تعداد زیادی از گونه‌های گیاهی گزارش شده است (۲۴ و ۳۰). کاهش سرعت باززایی در ارقام مختلف سیب‌زمینی با افزایش غلظت BAP توسط خادیکه و همکاران (۲۱) گزارش شده است. پروین (۲۷) در بررسی اثرات هورمون‌های Kin و BAP بر باززایی مستقیم سیب‌زمینی با استفاده از غلظت‌های ۰/۵، ۱، ۱/۵، ۲ و ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر هورمون‌ها، بیشترین سرعت باززایی را در ریزنمونه مرستم راسی و در تیمار با ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر هورمون BAP به‌دست آورد و هورمون BAP را مؤثرتر از هورمون Kin در سرعت باززایی دانست. همچنین در بررسی اثرات متقابل هورمون‌ها با ارقام در ریزنمونه‌های مختلف اثر معنی‌داری بر سرعت باززایی مشاهده نکرد. شهریار و همکاران (۳۳) گزارش کردند با افزایش غلظت هورمون BAP از ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر به ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر سرعت باززایی در ریزنمونه‌های مختلف سیب‌زمینی افزایش می‌یابد.

نوع اندام باززایی شده

تجزیه واریانس داده‌های به‌دست آمده برای نوع اندام باززایی



شکل ۲. مقایسه میانگین تعداد ساقه در سطوح مختلف هورمون BAP و رقم. میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک باشند، بر اساس آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

به‌دست آوردند. بادونی و چاهان (۶) در بررسی تأثیر غلظت‌های (۰/۲، ۰/۴، ۰/۶ و ۰/۸ میلی‌گرم در لیتر) BAP و Kin در ارقام مختلف سیب‌زمینی، در غلظت‌های بالاتر این دو هورمون شاخه و در غلظت‌های پایین‌تر فقط کالوس به‌دست آوردند. در ترکیب این هورمون‌ها نیز اثرات مشابه اثرات ساده به‌دست آوردند. علی و همکاران (۳) در جنین‌زایی غیر مستقیم نیشکر در ریزنمونه‌های مختلف در غلظت پایین BAP جنین بیشتری به‌دست آوردند و با افزایش غلظت BAP و Kin و اثر متقابل‌شان جنین‌زایی کمتری مشاهده کردند. در کتان تعداد جنین به‌دست آمده در حضور سیتوکینین‌ها بیشتر از تعداد جنین به‌دست آمده در حضور اکسین‌ها بوده است و در بین سیتوکینین‌ها Kin در مقایسه با BAP مؤثرتر بوده است (۳۷). هوکیو (۱۶) با افزایش غلظت هورمون Kin در سرعت باززایی، تعداد شاخه تولیدی و طول شاخه‌های تولید شده در سیب‌زمینی روند افزایشی مشاهده کرد. در گزارشی دیگر هوکیو (۱۷) جوانه‌های تازه رشد یافته شش رقم سیب‌زمینی را به‌عنوان ریزنمونه در محیط کشت MS حاوی ترکیبی از Kin و IAA هر کدام با غلظت‌های ۰/۵، ۱، ۱/۵، ۲ و ۴ میلی‌گرم در لیتر قرار داده، که در بین تیمارهای مختلف، در ترکیب دو میلی‌گرم در لیتر هورمون‌های Kin و IAA، ریزنمونه‌ها پاسخ بهتری را به

هورمون Kin با رقم تأثیر معنی‌داری بر ریشه‌زایی و جنین‌زایی نداشت (جدول ۱). مقایسه میانگین صفات مورد بررسی در غلظت‌های مختلف هورمون BAP نشان داد، با افزایش غلظت این هورمون میزان باززایی ساقه و ریشه کاهش اما میزان باززایی جنین افزایش یافته است (جدول ۳). نمودار اثر متقابل هورمون BAP با رقم نیز کاهش در میزان ساقه‌زایی، در غلظت‌های بالای هورمون را به‌خوبی نشان می‌دهد. درحالی‌که با افزایش غلظت هورمون میزان ساقه‌زایی کاهش یافت، در رقم آریندا با افزایش غلظت BAP باززایی افزایش یافته و این رقم در بالاترین غلظت هورمون (۱۵ میلی‌گرم در لیتر) بیشترین میزان ساقه‌زایی را نشان داد (شکل ۲)، درحالی‌که سطوح مختلف هورمون BAP تأثیر معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد نسبت به جنین‌زایی نشان دادند، سطوح مختلف هورمون Kin تأثیر معنی‌داری بر جنین‌زایی نداشتند. مقایسه میانگین صفات مورد بررسی در غلظت‌های مختلف هورمون BAP نشان داد، غلظت‌های بالاتر هورمون BAP تأثیر بیشتری بر میزان جنین‌زایی داشته‌اند و در غلظت‌های بالاتر فراوانی باززایی جنین‌ها بیشتر بود (جدول ۳).

خادیکه و همکاران (۲۱) با افزایش غلظت BAP طول ساقه بلندتر و تعداد ساقه بیشتری در ارقام مختلف سیب‌زمینی

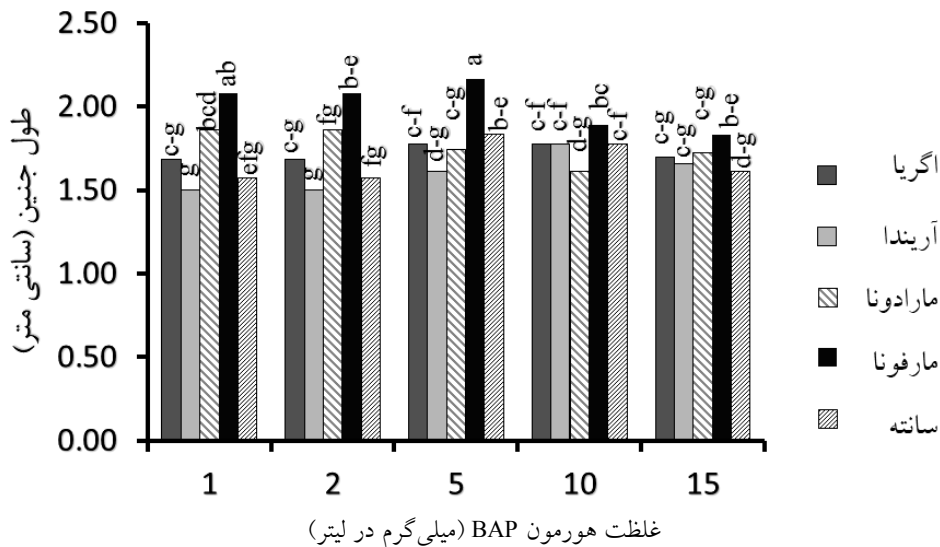
ساقه‌دهی و ریشه‌دهی نشان دادند و سرعت باززایی بیشتری نیز داشتند. در بین ارقام نیز از نظر میزان باززایی تفاوت وجود داشت. اثر متقابل بین غلظت‌های هورمونی و ارقام در سطح احتمال پنج درصد نیز معنی‌دار گزارش شد. شهریار و همکاران (۳۳) گزارش کردند در غلظت ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر هورمون BAP ساقه‌زایی بیشتری مشاهده کردند.

اندازه اندام باززایی شده

تجزیه واریانس داده‌های به‌دست آمده در مورد اندازه و طول اندام باززایی شده نشان داد بین ارقام از نظر طول ساقه‌ها و جنین‌های تولیدی به ترتیب تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد و یک درصد وجود داشت. اما از نظر طول ریشه‌های تولید شده بین ارقام، اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۱). رقم آگریا از نظر اندازه ساقه‌ها، بلندترین ساقه‌ها را تولید کرد ولی در بین سایر ارقام تفاوت چندانی از نظر اندازه ساقه‌های تولید شده وجود نداشت. از نظر اندازه جنین‌های تولیدی، رقم مارفونا بیشترین توانایی را داشت و جنین‌هایی با اندازه بزرگ‌تر تولید کرد، درحالی‌که کوچک‌ترین جنین‌ها در رقم آریندا مشاهده شد (جدول ۲). تفاوت در ارقام نشان می‌دهد ژنوتیپ‌های مختلف، تأثیرپذیری متفاوتی از شرایط درون شیشه‌ای دارند. نتایج تجزیه واریانس اثرات ساده هورمون BAP و اثر متقابل این هورمون با رقم بیانگر این است که این هورمون تأثیر معنی‌داری بر طول ساقه‌های تولید شده داشت. طبق نتایج تجزیه واریانس هورمون Kin تأثیر بسیار معنی‌داری بر طول ساقه‌های تولید شده داشت، درحالی‌که اثر متقابل این هورمون با رقم تأثیر معنی‌داری بر طول ساقه‌ها نداشت. تجزیه واریانس اثر متقابل دو هورمون بیانگر وجود تأثیر بسیار معنی‌داری این فاکتور بر طول ساقه‌ها بود (جدول ۱). مقایسه میانگین صفات مورد بررسی در غلظت‌های مختلف هورمون BAP نشان داد، افزایش غلظت این هورمون تأثیر عکس بر طول ساقه‌های تولید شده داشت. در غلظت‌های پایین‌تر هورمون BAP نسبت به غلظت‌های بالاتر، ساقه‌های طولی‌تری تشکیل شد. طبق نتایج به‌دست آمده از جدول مقایسه

میانگین صفات مورد بررسی در غلظت‌های مختلف هورمون Kin نشان داد، غلظت‌های ۰/۵ و ۵ میلی‌گرم در لیتر این هورمون بیشترین تأثیر را بر طول ساقه‌های تولید شده داشته‌اند و بقیه غلظت‌ها اثر یکسانی بر طول ساقه‌های تولید شده گذاشته‌اند (جدول ۳). تجزیه واریانس داده‌ها در مورد طول ریشه‌ها تولید در تیمارهای مختلف نشان داد به‌جز اثرات ساده هورمون BAP که تأثیر بسیار معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد بر این صفت داشتند، سایر فاکتورها شامل اثرات رقم، اثرات ساده هورمون Kin، اثرات متقابل رقم با هورمون BAP و Kin، اثر متقابل هورمون‌ها در برابر هم و اثر متقابل رقم با هورمون‌ها تأثیر معنی‌داری بر طول ریشه‌های تولید شده نداشتند (جدول ۱). مقایسه میانگین صفات مورد بررسی در غلظت‌های مختلف هورمون BAP نشان داد، تأثیر سطوح مختلف این هورمون بر طول ریشه مشابه تأثیر سطوح مختلف هورمون بالا بر طول ساقه است. افزایش غلظت این هورمون تأثیر عکس بر طول ریشه‌های تولید شده دارد و طول ریشه‌ها کاهش می‌یابد. بررسی سطوح مختلف هورمون Kin نیز نشان داد افزایش یا کاهش غلظت این هورمون تأثیری بر طول ریشه‌های تولید شده ندارد (جدول ۳).

اثرات ساده هورمون‌های BAP و Kin تأثیر معنی‌داری بر طول جنین‌های تولید شده نداشتند اما اثر متقابل رقم با هورمون BAP بیانگر وجود تأثیر معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد بر طول جنین‌ها بود (جدول ۱). بر اساس نمودار اثر متقابل هورمون BAP و رقم بر اندازه جنین‌های تولید شده، رقم مارفونا در تمامی سطوح بالاترین میزان را در این صفت نشان داد. بیشترین میزان در طول جنین‌های تولیدی در غلظت پنج میلی‌گرم در لیتر هورمون BAP در مارفونا به‌دست آمد. ارقام مارادونا، آگریا و سانته و در نهایت رقم آریندا کمترین اندازه را در طول جنین‌ها نشان دادند (شکل ۳). سایر اثرات متقابل تأثیر معنی‌داری بر طول جنین‌های تولید شده نداشتند (جدول ۱). مقایسه میانگین صفات مورد بررسی در غلظت‌های مختلف هورمون BAP و هورمون Kin نشان داد، سطوح مختلف این هورمون‌ها تأثیری بر طول جنین‌های تولید شده نداشتند است (جدول ۲ و ۳).



شکل ۳. مقایسه میانگین طول جنین در سطوح مختلف هورمون BAP و رقم. میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک باشند، بر اساس آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

باززایی شده و اندازه اندام باززایی شده وجود دارد. در بین ارقام، مارفونا در تمامی صفات بهترین پاسخ را به شرایط درون شیشه‌ای نشان داده است. رقم مارادونا نیز از نظر بیشتر صفات در حد متوسطی قرار دارد و می‌توان به‌عنوان ارقام مناسب در آزمایش‌های بعدی مورد استفاده قرار گیرند. در مورد نوع هورمون استفاده شده، نتایج آزمایش نشان می‌دهد هورمون BAP بیشترین تأثیر را در محیط درون شیشه‌ای بر باززایی مستقیم سیب‌زمینی دارد. در غلظت یک میلی‌گرم در لیتر این هورمون ریزنمونه‌ها با سرعت بالاتری باززایی می‌شوند. غلظت‌های پایین (۱ و ۲ میلی‌گرم در لیتر) BAP در ساقه‌زایی و ریشه‌زایی مناسب بوده و غلظت‌های بالاتر (۵، ۱۰ و ۱۵ میلی‌گرم در لیتر) در جنین‌زایی تأثیر بیشتری دارند. هورمون Kin کمترین تأثیر را در باززایی مستقیم سیب‌زمینی از ریزنمونه میانگه دارد. سطوح مختلف این هورمون در صفات اندازه‌گیری شده تأثیری ندارد، به‌جز در ساقه‌زایی که در غلظت ۵ و ۱۵ میلی‌گرم در لیتر آن به وفور ساقه‌زایی رخ داد. براساس بسیاری از گزارش‌ها BAP به‌عنوان مؤثرترین سیتوکینین مورد استفاده در شاخه‌زایی در بسیاری از گیاهان معرفی شده است و Kin از نظر اهمیت در درجه دوم قرار دارد (۱۴ و ۳۲). مطالعات سید

تفاوت معنی‌دار در بین ارقام مختلف سیب‌زمینی در طول اندام باززایی شده در چندین پژوهش گزارش شده است (۴، ۵ و ۹). شبلی و همکاران (۳۵) با کشت سیب‌زمینی در محیط MS مایع حاوی BA و Kin با افزایش غلظت این دو هورمون، کاهش معنی‌داری در طول ساقه مشاهده کردند. در باززایی مستقیم سیب‌زمینی با استفاده از هورمون‌های BAP و Kin مشاهده شد در غلظت‌های پایین هورمون‌ها اندازه اندام باززایی شده بیشتر از غلظت‌های بالاتر بود. در این آزمایش نیز با توجه به نوع ریزنمونه مورد استفاده، اثر رقم، هورمون و اثر متقابل رقم و هورمون بر طول اندام باززایی شده بسیار معنی‌دار بود (۲۷). بویان (۸) در بررسی سطوح غلظتی ۰/۵، ۱، ۱/۵، ۲ و ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر هورمون‌های BAP و Kin بر باززایی ارقام مختلف سیب‌زمینی حضور هورمون BAP در محیط کشت را بهترین تیمار هورمونی در پاسخ به طول اندام باززایی شده گزارش کرد. وی با افزایش غلظت هورمون‌ها تأثیر عکس بر طول اندام باززایی شده مشاهده کرد.

نتایج حاصل از این آزمایش نشان می‌دهد در بین ارقام مختلف سیب‌زمینی اختلاف بسیار معنی‌داری از نظر کلیه صفات اندازه‌گیری شده در آزمایش شامل سرعت باززایی، نوع اندام

تحقیق فقط به بررسی نقش سیتوکینین‌ها در تولید اندام پرداخته شد و نشان داده شد که استفاده از سیتوکینین‌ها به‌تنهایی می‌تواند در ریشه‌زایی، جنین‌زایی و ساقه‌زایی موثر باشد که البته در این خصوص نقش تنظیم‌کننده BAP از Kin بیشتر بود با این وجود بیشترین تأثیر سیتوکینین‌ها همان‌طور که انتظار می‌رفت بر تولید ساقه و جنین بود تا تولید ریشه. سیتوکینین‌های استفاده شده در این تحقیق نقش مؤثری در افزایش طول اندام القاء شده هم داشتند (به‌خصوص BAP) که این موضوع می‌تواند به‌دلیل نقش سیتوکینین‌ها در افزایش تقسیم سلولی باشد نه طول شدن سلول‌ها.

تأثیر سیتوکینین‌ها در کشت بافت یا اندام براساس نوع ترکیب استفاده شده، نوع کشت، نوع گیاه و سن ریز نمونه متفاوت است (۱۳). به‌طورکلی می‌توان گفت در بین ارقام مورد استفاده در این آزمایش، رقم مارفونا پاسخ مناسبی به تیمارهای تنظیم‌کننده رشد مورد استفاده داده است و حداکثر میزان باززایی در این رقم مشاهده شد. بنابراین می‌توان این رقم را برای مطالعات آتی پیشنهاد کرد. تنظیم‌کننده BAP نیز بیشترین مقدار باززایی مستقیم را در ارقام مختلف القا کرده است و می‌تواند به‌عنوان یکی از تنظیم‌کننده‌های اصلی در مطالعات مربوط به باززایی سیب‌زمینی در شرایط درون شیشه استفاده شود.

طباطبایی و امیدی (۳۲) نشان داده است که غلظتی از BAP که برای شاخه‌زایی به‌کار می‌رود اغلب بین ۱ تا ۱۰ میکرومولار است. در حالی که غلظت مناسب برای شاخه‌زایی در Kin بین ۲۰ تا ۵۰ میکرومولار است. این تفاوت دامنه غلظت‌ها قدرت بیشتر BAP برای شاخه‌زایی را نشان می‌دهد.

اکسین‌ها و سیتوکینین‌ها دو گروه اصلی از تنظیم‌کننده‌های رشد هستند که به‌وفور در کشت بافت گیاهان مورد استفاده قرار می‌گیرند. برای هر کدام از این هورمون‌ها نقش‌های متفاوتی ذکر شده است اما مکانیسم عمل مشابهی هم برای آنها ذکر شده است که از جمله آن می‌توان به دخالت در تقسیم سلولی و نیز القای اندام‌زایی اشاره کرد. اکسین‌ها معمولاً در ریشه‌زایی و سیتوکینین‌ها در ساقه‌زایی و جنین‌زایی مؤثر هستند. تعیین نسبت این دو نوع تنظیم‌کننده در تولید نوع اندام ایجاد شده مهم است اما در برخی از گیاهان استفاده از فقط یکی از این تنظیم‌کننده‌ها نیز باعث اندام‌زایی شده است. به نظر می‌رسد در مواقعی که هدف القای اندام‌زایی مستقیم از بافت گیاهی باشد، با توجه به اینکه در خود بافت‌های کشت شده مقداری هورمون داخلی نیز وجود دارد یا تولید می‌شود، برهمکنش این هورمون‌ها با تنظیم‌کننده‌های رشدی که به محیط افزوده می‌شوند نقش اساسی در اندام‌زایی ایفا می‌کند (۱۳). به همین دلیل در این

منابع مورد استفاده

- Ahmad, M. Z., I. Hussain, S. Roomi, M. A. Zia, M. SH. Zaman, Z. Abbas and S. H. Shah. 2012. *In vitro* response of cytokinin and auxin to multiple shoot regeneration in *Solanum tuberosum* L. *American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Sciences* 12(11): 1522-1526.
- AL-Hussaini, Z. A, SH. A. Yousif and S. A AL-Ajeely. 2015. Effect of different medium on callus induction and regeneration in Potato cultivars. *Internatinal Journal of Current Microbiology and Applied Sciencs* 4(5): 856-865
- Ali, A., SH. Naz and J. Iqbal. 2007. Effect of different explants and media compositions for efficient somatic embryogenesis in sugarcane (*Saccharum officinarum*). *Pakistan Journal of Botany* 39(6): 1961-1977.
- Al-Taleb, M. M., D. S. Hassawi and S. M. Abu-Romman. 2011. Production of virus free potato plants using meristem culture from cultivars grown under Jordanian environment. *American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Sciences* 11(4): 467-472.
- Andreea, N., GH. Campeanu, N. Chiru and D. Karacsonyi. 2009. Effect of auxine and cytokinine on callus induction in potato (*Solanum tuberosum* L.) explants. *Agricultura- Stiinta si Practica* 1-2(69-70): 47-50.
- Badoni, A. and J. S. Chauhan. 2009. Single node callus culture: improvement for micropropagation of *Solanum tuberosum* (cv. *Kufri Himalini*). *Nature and Science* 7(3): 99-103.
- Bakul, S. A. 2005. *In vitro* culture of Potato (*Solanum tuberosum* L.): callus induction, plantlet regeneration and microtuberisation. MSc. Thesis, Bangladesh Agricultural University, Memensingh, Bangladesh.
- Bhuiyan, F. R. 2013. *In vitro* meristem culture and regeneration of three potato varieties of Bangladesh. *Research in Biotechnology* 4(3): 29-37.

9. Chakravarty, B. and G. Wang-Pruski. 2010. Rapid regeneration of stable transformants in cultures of potato by improving factors influencing *Agrobacterium*-mediated transformation. *Advances in Bioscience and Biotechnology* 1: 409-416.
10. Corrêa Ricardo, M., E. José, B. P. Pinto, F. Valdemar, B. P. César Augusto Pinto and S. R. Erika. 2009. The production of seed potatoes by hydroponic methods in Brazil. *Fruit Vegetable and Cereal Science and Biotechnology* 3(Special Issue1): 133-139.
11. Danin, M., S. J. Upfold, N. Levin, B. L. Nadel, A. Altman and J. Van Staden. 1993. Polyamines and cytokinins in celery embryogenic cell cultures. *Plant Growth Regulation* 12(3): 245-254.
12. Dhital, S.H. P., H. T. Lim and H. K. Manandhar. 2011. Direct and efficient plant regeneration from different explants sources of potato cultivars as influenced by plant growth regulators. *Nepal Journal of Science and Technology* 12:1-6
13. Edwin, F. G., A. H. Micheal and D. K. Geert-Jan. 2008. Plant Propagation by Tissue Culture. 3rd ed. Springer, Netherland.
14. Farsi, d. and J. Zolala. 2003. Principles of Plant Biotechnology. University of Mashhad, Mashhad, Iran.
15. Ghahreman, A. 1994. Flore of Iran (Plant Systematics), University Publishing Center, Tehran, Iran.
16. Hoque, M. E. 2010. *In vitro* tuberization in potato (*Solanum tuberosum* L.). *Plant Omics Journal* 3(1): 7-11.
17. Hoque M. E. 2010. *In vitro* regeneration potentiality of potato under different hormonal combination. *World Journal of Agricultural Sciences* 6(6): 660-663.
18. Hossain, M. A., M. Shamimuzzaman, M. A. Haque, A. U. Haque, and M. D. Hossain. 2009. Regeneration of potato varieties from internode slices using zeatin riboside. *International Journal of Sustainable Agricultural Technology* 5(4): 6-11.
19. Jayasree, T., U. Pavan, M. Ramesh, A. V. Rao, K. M. Reddy and A. Sadanandam. 2001. Somatic embryogenesis from leaf culture of potato. *Plant Cell Tissue Organ Culture* 64(1): 13-17.
20. Kaur, M., R. Kaur, C. Sharma, N. Kaur and A. Kaur. 2014. Effect of growth regulators on micro propagation of potato cultivars. *Journal of Cell and Tissue Research* 14(1): 4363-4366.
21. Khadiga, G. A. E., S. M. Rasheid and M. M. Khalafalla. 2009. Effect of plant growth regulators on callus induction and plant regeneration in tuber segment culture of potato (*Solanum tuberosum* L.) cultivar Diamant. *African Journal of Biotechnology* 8(11): 2529-2534.
22. Linden, L. and A. Riikonen. 2006. Effect of 6-benzyleaminopurin, thidiazuron and type of explant on *in vitro* shoot development of *Acer platanoides* L. *Propagation of Ornamental Plants* 6(4): 201-204.
23. Magyar-Ta'bori, K., J. Dobra'nszki, J. A. da Teixeira Silva, S. M. Bulley and k. I. Huda'. 2010. The role of cytokinins in shoot organogenesis in apple. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 101(3): 251-267.
24. Maleki Band, S., M. Jafari, M. Ghadimizadeh and I. Bernousi. 2013. Plant regeneration via direct organogenesis in three Alfalfa (*Medicago sativa* L.) cultivars using stem nodal explant. *Seed and Plant Improvement Journal* 29(1): 65-80. (In persian)
25. Molla, M. M. H., K. M. Nasiruddin, M. Al-Amin, A. S. M. M. R. Khan and M. A. Salam. 2011. Effect of 6-benzylaminoourin, thidiazuron and zeatin riboside on direct regeneration of potato. *South Asian Association for Regional Cooperation Journal of Agriculture* 9(1): 55-68.
26. Müller, B. and J. Sheen. 2007. Advances in cytokinin signaling. *Science* 318(5784): 68-69.
27. Parveen, F. 2011. *In vitro* regeneration of three local potato (*Solanum tuberosum* L.) varieties of Bangladesh. MSc Thesis, BRAC University, Bangladesh.
28. Pernisová, M., P. Klíma, J. Horák, M. Válková, J. Malbeck, P. Soucek, P. Reichman, K. Hoyerová, J. Dubova, J. Friml, E. Zazimalova and J. Hejátko. 2009. Cytokinins modulate auxin-induced organogenesis in plants via regulation of the auxin efflux. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 106(9): 3609-3614.
29. Peyman, M., M. R. Ghannadha, S. Majidi, A. J. Zarbakhsh, F. Darvish and H. Hasanabadi. 2004. Identification and introduction of Virus resistat genotypes in potato. *Iranian Journal of Agriculture Science* 35(4): 809-815. (In Farsi).
30. Sanatombi, K. and G. J. Sharma. 2008. *In vitro* plant regeneration in six cultivars of *Capsicum* spp. using different explants. *Biologia Plantrum* 52(1): 141-145.
31. Sarwar, M. and R. M. Skirvin. 1997. Effect of thidiazuron and 6-benzylaminopurine on adventitious shoot regeneration from leaves of three strains of 'McIntosh' apple (*Malus X domestica* Borkh.) *in vitro*. *Scientia Horticulturae* 68(1-4): 95-100.
32. Seyed-Tabatabaei, B. and M. Omid. 2011. Plant cell and tissue culture. Tehran University Press, Tehran, Iran.
33. Shahriyar, S., S. Akram, K. Khan, M. Faruk Miya and M. Abdur Rauf Sarkar. 2015. *In vitro* plant regeneration of potato (*Solanum tuberosum* L.) at the rate of different hormonal concentration. *Asian Journal of Medical and Biological Research* 1(2): 297-303.
34. Sherkar, H. D. and A. M. Chavan. 2014. Effect of 2, 4-D; BAP and TDZ on callus induction and shoot regeneration in Potato. *Science Research Reporter* 4(1): 101-105.

35. Shibli, R. A., A. M. Abu-Ein and M. M. Ajlouni. 2002. *In vitro* and *In vivo* multiplication of virus-free Spunta potato clone. *Pakistan Journal of Agricultural Research* 17(1): 71-75.
36. Werner, T., V. Motyka, M. Strand and T. Schmülling. 2001. Regulation of plant growth by cytokinin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United State of America* 98(18): 10487–10492.
37. Zhang, B., Q. Wang, F. Liu, K. Wang and T. P. Frazier. 2009. Highly efficient plant regeneration through somatic embryogenesis in 20 elite commercial cotton (*Gossypium hirsutum* L.) cultivars. *Plant Omics Journal* 2(6): 259-268.

Effect of Cytokinins on Direct Regeneration of Five Potato Cultivars

B. Rahimian¹, M. Rabiei^{2*} and M. Khodambashi³

(Received: September 14-2017 ; Accepted: April 16-2018)

Abstract

In order to optimize direct regeneration of potato cultivars (*Solanum tuberosum* L.) including Arinda, Agria, Sante, Maradona and Marfona, a factorial experiment was carried out in the form of completely randomized design with three replications. Internode explants were placed on MS medium supplemented with different concentrations of 6-Benzylaminopurine (1, 2, 5, 10 and 15 mg/l) in combination with Kinetin (0.5, 1, 2, 5, 10 and 15 mg/l). Results showed that using 6-Benzylaminopurine (BAP) was more effective than Kinetin in direct regeneration of potato. Low concentrations of BAP had the greatest effect on regeneration and also length of root and shoot but maximum numbers of somatic embryos were obtained in the presence of high a concentration of BAP. Using kinetin only influenced the number and length of regenerated shoots. Although Kinetin had no effect on the rate of regeneration but BAP increased it. There were significant differences among cultivars in all traits. Among tested cultivars, Marfona had the best direct regeneration ability in vitro condition. Therefore, it can be concluded that induction of direct organogenesis in potato is largely dependent on the genotype, and the use of BAP growth regulator plays an important role in inducing direct regeneration in potato cultivars.

Keywords: Callus culture, Organogenesis

1, 2, 3. MSc. Student, Assistant Professor and Professor, Respectively, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Shahrekord University, Shahrekord, Iran.

*: Corresponding Author, Email: mrabiei@yandex.ru