

## بررسی اثرات گرمادرمانی و کشت مریستم توأم با گرمادرمانی بر حذف ویروس‌های دو رقم سیب-زمینی (آریندا و دیامانت)

فاطمه قائد شرف (۱)، یوسف حمیداوغلی (۲)، رضا فتوحی قزوینی (۲)  
 ۱- کارشناس ارشد باغبانی، ۲- استادیار و استاد دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان

آلودگی‌های ویروسی در سیب‌زمینی به دلیل ازدیاد رویشی این گیاه، جایگاه ویژه‌ای در بین بیماری‌های سیب‌زمینی دارد و هر ساله موجب کاهش چشمگیر عملکرد محصول می‌شود. در حال حاضر برای تولید گیاهچه‌های عاری از ویروس، روش‌های کشت مریستم و گرمادرمانی توأم با کشت مریستم متداول است. در این پژوهش نیز کارایی روش کشت مریستم در مقایسه با گرمادرمانی توأم با کشت مریستم در حذف ویروس‌های PVY و PLRV که از شایع‌ترین ویروس‌های سیب‌زمینی در ایران هستند، در شرایط کشت درون شیشه‌ای بررسی گردید. ترموتراپی گیاهان در دمای  $1 \pm 35$  درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ هفته انجام شد. از جوانه‌های (جانبی) گندزدایی شده گیاهان که تحت تیمار گرمادرمانی قرار گرفته بودند و همچنین گیاهان شاهد مریستم‌هایی در اندازه‌های ۰/۴-۰/۲ میلی‌متر جدا گردید و بر روی محیط کشت مایع و جامد موراشیگی و اسکوگ (MS) دارای ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر جیبرلین به همراه ۰/۰۴ میلی‌گرم بر لیتر کیتین و محیط کشت MS بدون تنظیم‌کننده رشد قرار داده شدند. بعد از رشد کافی، برای ارزیابی کارایی روش‌های ویروس‌زدایی، درصد حذف ویروس‌ها بر مبنای آزمون ELISA اندازه‌گیری شد. فراوانی میزان گیاهچه‌های عاری از ویروس با استفاده از تیمار گرمادرمانی توأم با کشت مریستم (۸۰ درصد برای PVY و ۱۰۰ درصد برای PLRV) در مقایسه با تیمار کشت مریستم (۶۰ درصد برای PVY و ۸۰ درصد برای PLRV) بیشتر بود.

### مقدمه

در گیاهانی مانند سیب‌زمینی که از طریق تکثیر رویشی ازدیاد می‌یابند، بیماری‌های گیاهی، به ویژه بیماری‌های ویروسی به آسانی از نسلی به نسل دیگر منتقل شده و موجب افزایش شدت بیماری و کاهش عملکرد از سالی به سال دیگر می‌گردند. از این رو عدم استفاده از بذر سالم و گواهی شده، مهم‌ترین عامل محدود کننده تولید سیب‌زمینی در بیشتر کشورهای در حال توسعه تولیدکننده سیب‌زمینی، از جمله ایران به شمار می‌رود [۵]. حمله ویروس‌ها به گیاه سیب‌زمینی باعث کاهش کمی و کیفی محصول می‌شود. تاکنون برای مبارزه با ویروس‌ها ماده شیمیایی خاصی شناخته نشده است [۱]. بنابراین، از آنجایی که مبارزه با بیماری‌های ویروسی به وسیله سموم شیمیایی امکان‌پذیر نیست، و استفاده از بذور حقیقی سیب‌زمینی با محدودیت‌هایی روبروست، مؤثرترین راه برای مبارزه با عوامل ویروسی استفاده از غده‌های بذری گواهی شده است [۳]. بنابراین بسیار مهم است که مواد اولیه‌ای که برای تکثیر رویشی استفاده می‌شوند، عاری از ویروس باشد [۲]. کاربرد فنون کشت بافت تنها راهکاری است که در برنامه‌های تولید بذر، برای نابودی صددرصد ویروس‌ها مؤثر است [۴].

### مواد و روش

غده‌های بذری سیب‌زمینی ارقام آریندا و دیامانت، آلوده به ویروس‌های PVY و PLRV در آبان ماه ۱۳۸۵ از مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر و نهال واقع در شهرستان کرج تهیه شد. غده‌ها در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی در داخل گلدان کاشته شدند. زمانی که گیاهان به اندازه کافی در شرایط گلخانه رشد کردند، گلدان‌ها به انکوباتور انتقال داده شدند. گیاهان به مدت زمان ۴ هفته در شرایط نور ۲۰۰۰ لوکس، فتوپریود ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی در دمای  $1 \pm 35$  درجه

سانتی‌گراد قرار گرفتند. کشت مریستم از گیاهان ترموتراپی نشده (T1) و گیاهان ترموتراپی شده (T2) پلات در پایه کاملاً انجام شد. برای کشت مریستم از اینوکولار با درشت‌نمایی ۴۰-۱۰ برابر استفاده شد. برگچه‌ها و پریموردیای اطراف مریستم با پنس و سوزن استریل جدا شده و گنبد مریستمی در اندازه ۰/۴-۰/۲ میلی‌متر جدا و به گودی نوار کاغذ صافی در محیط کشت مایع و بر روی محیط کشت جامد منتقل گردید.

#### نتایج و بحث

از سال‌ها قبل مشخص بوده است که عوامل بیماری‌زا خصوصاً "ویروس‌ها در مریستم انتهایی کمتر از قسمت‌های دیگر گیاه تمرکز دارند. در این آزمایش نیز اثر دو تیمار کشت مریستم (T1) و گرمادرمانی توأم با کشت مریستم (T2) بر روی میزان حذف ویروس‌های PVY و PLRV، از گیاه سیب‌زمینی ارقام آریندا و دیامانت مورد بررسی قرار گرفت.

جدول (۱): مقایسه میانگین درصد حذف ویروس‌ها در تیمارهای مختلف

تیمار ویروس	T1	T2	میانگین
PVY	۶۰	۸۰	۷۰
PLRV	۸۰	۱۰۰	۹۰
میانگین	۷۰	۹۰	

نتایج حاصل از آزمون ELISA نشان داد که بین تیمارهای ویروس‌زدایی تفاوت وجود دارد (جدول ۱). زمانی که از کشت مریستم به تنهایی استفاده گردید، درصد میانگین حذف ویروس‌ها (PVY و PLRV) ۷۰ درصد بود، در حالی که در تیمار گرمایی همراه با کشت مریستم ۹۰ درصد ویروس‌های مورد نظر حذف شدند (جدول ۱). با توجه به نتایج حاصل، می‌توان گفت تیمار گرمادرمانی همراه با کشت مریستم در مقایسه با کشت مریستم به تنهایی برای حذف ویروس کارایی بالاتری دارد. در این آزمایش با انجام کشت مریستم، ۶۰ درصد گیاهچه‌های عاری از PVY و ۸۰ درصد گیاهچه‌های عاری از PLRV بدست آمد، اما در تیمار T2 میزان حذف ویروس PVY و PLRV به ترتیب ۸۰ و ۱۰۰ درصد بود. یک مشکل عمده در گرمادرمانی این است که تمام ویروس‌ها نسبت به حرارت‌های بالا حساس نیستند. به عنوان نمونه در گیاه سیب‌زمینی ویروس PLRV در مقایسه با دیگر ویروس‌ها حساسیت بالاتری دارد [۸]. شواهد حاصل از این آزمایش نیز نشان می‌دهد که گرما-درمانی روی این ویروس تأثیر بسزایی داشته است و حذف صد درصد این ویروس در تیمار گرمادرمانی همراه با کشت مریستم بدست آمد.

#### منابع

- [۱] احسان پور، ع. ا و ف. امینی. ۱۳۸۰. کشت سلول و بافت گیاهی. انتشارات جهاد دانشگاهی اصفهان. ۱۹۸ صفحه.
- [۲] باقری، ع. و م. صفاری. ۱۳۸۳. مبانی کشت بافت گیاهی. ترجمه. انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد. ۴۰۶ صفحه.
- [3] Gardner, E. J. and P. Snustad. 1986. *Genetica*. Rio de janeiro: Guanabara. 497pp.
- [4] Kanwal, A., A. Ali and S. Kunwar. 2006. *In vitro* microtuberization of potato cultivar Kuroda-A new variety in Pakistan. *J. Agric. Bio.* 8: 337-340.
- [5] Otrushy, M. 2006. Utilization of tissue culture techniques a seed potato tuber production scheme. ISBN: 90-8504-390-5. 230 pp.

## Efficiency of thermotherapy and thermotherapy followed by meristem culture methods on virus elimination of Arinda and Diamant potato cultivars

Fatemeh Ghaedsharaf<sup>1</sup>, Yousef Hamidoghli<sup>2</sup>, Reza Foutohi<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Msc. in Horticulture, <sup>2</sup> Assist. Prof. and Prof. of the University of Guilan

### Abstract

Potatoes are propagated by vegetative method, therefore viral diseases are easily transmitted from one year to the next causing accumulation of viruses and significant reduction in yield. At present, methods of meristem culture and thermotherapy followed by meristem culture used for production of virus-free plantlets. In this study, efficiency of meristem culture of virus elimination was studied in comparison to thermotherapy followed by meristem culture for potato leafroll virus (PLRV) and potato Y virus (PVY) that are prevalent in most potato growing areas in Iran, under in vitro condition. Thermotherapy was conducted for 4 weeks at temperature of  $35\pm 1^\circ\text{C}$ . meristems were excised at about 0.2-0.4 mm from sterilized explants (axillary buds) of heat-treated and control plants. After that they were placed in liquid and solid modified MS medium with  $0.5\text{ mg l}^{-1}\text{ GA}_3+0.04\text{ mg l}^{-1}\text{ kinetin}$  and MS medium without growth regulators. After of growing percentage of viruses elimination by using DAS-ELISA technique were measured. The highest frequency for virus elimination of PVY and PLRV were observed in meristem culture following by thermotherapy (80 and 100 %, respectively) in comparison to meristem culture (60 and 80 %, respectively).

Key words: Tissue culture, Potato, Thermotherapy, Virus-Free Plantlet.