دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی

"مقاله پژوهشی"

# کشت سوسپانسون سلولی، تولید جنین سوماتیکی و بذر مصنوعی در ارقام مختلف سیب‌زمینی

بهناز نیسی[۱]، پیام پورمحمدی[۲] و محمدرضا صالحی سلمی[۳]

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان
۲- استادیار گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، (نویسنده مسوول: Mohammadi@asnrukh.ac.ir)
۳- دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۸/۲۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۹/۲۳
صفحه: ۴۲ تا ۴۸

## چکیده مبسوط

**مقدمه و هدف:** به‌منظور غلبه بر مشکلات آلودگی و همچنین روش معمول ازدیاد سیب‌زمینی از طریق غده، ریزازدیادی از طریق کشت بافت مورد توجه قرارگرفته است. هدف از این تحقیق، بررسی‌کالوس‌زایی، جنین‌زایی‌سوماتیکی و تولید بذرمصنوعی در ارقام مختلف سیب‌زمینی می‌باشد.

**مواد و روش‌ها:** بدین منظور، ریزازدیادی با استفاده از ریز نمونه‌های برگ از ۶ رقم مختلف سیب‌زمینی در محیط‌کشت موراشیگ و اسکوگ (MS) حاوی غلظت‌های مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد 2,4-D و تیدیازورون صورت گرفت. سپس کالوس‌ها به محیط کشت جنین‌زایی جهت القای جنین سوماتیکی با ۴ ترکیب تیماری مختلف از تنظیم‌کننده‌های رشد زئاتین، ۶- بنزیل آمینو پورین و اسید جیبرلیک در کشت سوسپانسیون و محیط کشت جامد منتقل شدند.

**یافته‌ها:** از بین ۱۲ ترکیب تیماری اعمال شده، بالاترین میزان کالوس‌زایی در ترکیب تیماری حاوی ۱۰ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D و۱۰ میلی‌گرم در لیتر تیدیازورون مشاهده شد. نتایج نشان‌داد در محیط کشت سوسپانسیون، تیمار ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر زئاتین و ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر اسید جیبرلیک و تیمار ۲/۵ میلی‌گرم بر لیتر ۶- بنزیل آمینو پورین و ۵ میلی‌گرم بر لیتر اسید جیبرلیک بالاترین میزان جنین‌زایی را داشتند اما در محیط کشت جامد تیمار ۵ میلی‌گرم بر لیتر زئاتین و ۲/۵ میلی‌گرم بر لیتر ۶- بنزیل آمینو پورین و تیمار ۱/. میلی‌گرم بر لیتر زئاتین و ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر اسید جیبرلیک جنین‌زایی بهتری داشته است. جنین‌های تولیدشده در محیط کشت سوسپانسیون با استفاده از آلژینات کلسیم پوشش‌دار شدند و همچنین برخی از آنها به محیط کشت جامد جهت باززایی منتقل شدند.

**نتیجه‌گیری:** در مجموع نتایج بدست آمده نشان داد که امکان تولید جنین سوماتیکی در حجم انبوه در سیب‌زمینی وجود دارد و می‌توان از این جنین‌ها در تولید بذر مصنوعی سیب‌زمینی استفاده کرد.

**واژه‌های کلیدی:** بذر مصنوعی، تنظیم‌کننده‌های رشد، سیب‌زمینی، کالوس، کشت سوسپانسیون

## مقدمه

در بسیاری از محصولات کشاورزی به‌ویژه سیب‌زمینی، بیماری‌های ویروسی سهم بسزایی در کاهش عملکرد و کیفیت محصول دارند، اهمیت ایجاد گیاهچه‌های سالم عاری از ویروس و ازدیاد و تکثیر آنها در سطح وسیع کاملا روشن است. حدود ۳۰۰ عامل بیماری و آفت برای سیب‌زمینی شناخته شده که انتقال آنها از طریق غده‌های آلوده به نسل بعد می‌تواند باعث کاهش محصول تا ۹۰ درصد گردد. گزارش‌های متعددی در زمینه تولید جنین‌های سوماتیکی در گیاه سیب‌زمینی وجود دارد. تولید جنین‌های سوماتیکی و باززایی گیاه سیب‌زمینی از قطعات جدا کشت مختلفی مانند کالوس‌های برگی، دیسک‌های ریزغده‌ای، گرهک‌های ساقه‌ای گیاهان رشد کرده در شرایط درون شیشه‌ای قطعات بدست آوردند. بذرهای مصنوعی عامل مهمی برای تولید در مقیاس بالای گیاهان با هزینه‌ی کم به‌عنوان جایگزینی برای بذرهای واقعی هستند (۱۵). بذرهای مصنوعی مشابه بذر واقعی هستند و اغلب از یک جنین سوماتیک که با یک پوشش مصنوعی پوشیده شده تشکیل‌شده است (۳). هدف از این تحقیق تهیه یک دستورالعمل کامل شامل محیط کشت مناسب برای کالوس‌زایی و تولید جنین در محیط کشت سوسپانسیون و نیز پوشش‌دار کردن این جنین‌ها و تولید بذر مصنوعی در ارقام مهم زراعی سیب‌زمینی کشت شده در ایران می‌باشد.

میان‌گره ساقه‌ای و جنین‌های زیگوتی صورت گرفته است (۴،۹). با این حال در هیچ یک از روش‌های فوق الذکر میزان تولید جنین‌های سوماتیکی چندان زیاد نبوده است (۱۴). از جنین‌زایی سوماتیکی به‌عنوان یک مدل سیستمی برای مطالعه‌ی رویان‌زایی زیگوتی استفاده شده است. جنین‌زایی سوماتیکی نظیر رویان‌زایی زیگوتی شامل مراحل ایجاد پیش رویان، رویان گویچه‌ای، رویان قلبی شکل، رویان اژدری و لپه‌ای می‌باشد که از مسیری متفاوت نمو می‌یابند (۱۶،۱۷). امیدی و شاهپیری (۱۲) کالوس را از برگ و میانگره‌ها در محیط کشت MS که محتوی ۵ میلی‌گرم بر لیتر2,4-D و ۰/۲۵ میلی‌گرم بر لیتر کینتین که غلظت بالاتری از 2,4-D و غلظت پایین‌تر از ۰/۲۵ میلی‌گرم بر لیتر کینتین است.

## مواد و روش‌ها

در این تحقیق از تیوبرهای ارقام سیب‌زمینی آریندا، باتبا، مارفونا، فونتانه، سانته و اسپیریت (تهیه شده از مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان همدان) استفاده شد. پس از شکستن دوره خواب و رشد غده‌ها در گلدان‌های حاوی کوکوپیت، برگ‌های سالم جدا شده و با آب شهری به مدت حداقل ۲۰ دقیقه شسته شدند. سپس در زیر جریان هوای لامینار با استفاده از هیپوکلریت سدیم ۲/۵ درصد به مدت ۱۰ دقیقه استریل شدند و پس از آن با آب مقطر استریل

[ Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-12-08 ]

[ DOI: 10.52547/jcb.14.43.42 ]

شده ۳ بار به مدت ۵ دقیقه آبکشی شدند و در ۳۰ میلی‌لیتر از محیط کشت پایه MS غنی شده با (۰، ۵، ۱۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) 2,4-D و (۰، ۲ و ۵ میلی‌گرم در لیتر) TDZ در شیشه‌های کشت، کشت شدند (جدول ۱). شیشه‌های کشت در یک اتاق کشت کنترل شده در دمای ۱±۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند.

جدول ۱- غلظت تنظیم‌کننده‌های رشد جهت القاء کالوس

Table 1. Growth regulators concentration for callus induction

| نوع هورمون | غلظت مورد استفاده (میلی‌گرم بر لیتر) |
|---|---|
| 2,4-D | ۰،۵،۱۰،۱۰۰ |
| TDZ | ۰،۲،۵ |

پس از گذشت ۲۰ هفته از کشت و پس از ظاهر شدن کالوس بر سطح ریزنمونه‌های برگ در آزمایش، بهترین تیمار از نظر درصد القای کالوس، رنگ کالوس، ترد و یا سفت بودن کالوس تعیین شد و از بهترین تیمار کشت از ریزنمونه برگ و در دفعات متعدد واکشت صورت گرفت تا میزان کالوس مورد نیاز تامین و برای کشت سوسپانسیون استفاده گردد. از هر کالوس مقدار ۰/۵گرم به محیط کشت سوسپانسیون حاوی سه تنظیم‌کننده‌ی رشد شامل زئاتین، BAP و اسید جیبرلیک بر اساس تیمارهای طراحی شده (جدول ۲) اضافه شد. بعد از پوشاندن درب ارلن با فویل آلومینیومی و پارافیلم، کشت‌ها در شیکر انکوباتور تحت دوره‌ی نوری ۲۴ ساعته و دوران RPM ۲۵۰ پرورش یافتند. تغییرات ایجاد شده شامل آلودگی، جنین‌زایی غیرمستقیم در ریزنمونه‌ها هر ۱۰ روزه یک‌بار مشاهده و ثبت گردید و بهترین تیمار جنین‌زایی مشخص شد. تعداد جنین‌های ایجاد شده در ارلن بصورت مشاهده‌ای شمارش و اندازه‌گیری شدند.

جدول ۲- غلظت تنظیم‌کننده‌های رشد جهت القای جنین‌زایی

Table 2. Growth regulators concentration for induce embryogenesis

| نوع هورمون | غلظت مورد استفاده (میلی‌گرم بر لیتر) |
|---|---|
| زئاتین | ۰/۱ ، ۴ ، ۵ |
| BAP | ۱ ،۲/۲۵، ۲/۵ |
| اسید جیبرلیک | ۰/۱ ، ۱، ۵ |

جهت کپسوله کردن جنین‌ها ابتدا محلول آلژینات سدیم ۲ درصد تهیه شد، جنین‌های حاصل شده از محیط کشت مایع درون آن ریخته شد، جنین‌ها با یک توری جدا شدند و سپس در ۱۰ سی‌سی محلول نیترات کلسیم اضافه شدند با پوشش یک لایه ژل روی جنین‌ها، بذر مصنوعی کروی تشکیل شد. بلافاصله بذور مصنوعی تشکیل شده درون گلدان‌های حاوی کوکوپیت به‌همراه یک شاهد جنین‌های فاقد پوشش آلژینات کشت شدند و اندام‌زایی و رشد جنین‌ها بررسی شدند.

آزمایش اول که هدف آن کالوس‌زایی بود به‌صورت فاکتوریل سه فاکتوره در قالب طرح پایه کاملا تصادفی (CRD) با سه تکرار اجرا شد. فاکتور اول ژنوتیپ در ۶ سطح (آریندا، باتبا، مارفونا، فونتانه، سانته، اسپیریت) فاکتور دوم تنظیم‌کننده رشد 2,4-D در ۴ سطح (۰، ۵، ۱۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و فاکتور سوم تنظیم‌کننده رشد TDZ در ۳ سطح (۰، ۲ و ۵ میلی‌گرم در لیتر) بود. آزمایش دوم با هدف جنین‌زایی، بصورت فاکتوریل ۴ فاکتوره در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی (CRD) انجام شد. فاکتور اول ژنوتیپ در ۶ سطح (آریندا، باتبا، مارفونا، فونتانه، سانته، اسپیریت)، فاکتور دوم تنظیم‌کننده رشد زئاتین در ۳ سطح (۰/۱، ۴ و ۵ میلی‌گرم در لیتر)، فاکتور سوم تنظیم‌کننده رشد BAP در ۳ سطح (۱، ۲/۲۵ و ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر) و فاکتور چهارم اسید جیبرلیک در ۳ سطح ۰/۱، ۱ و ۵ بود. تجزیه واریانس داده‌های بدست آمده با نرم افزار SPSS (نسخه ۲۱) و مقایسه میانگین به‌روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ صورت گرفت و رسم نمودارها با نرم افزار Excel انجام شد.

## نتایج و بحث

در آزمایش کالوس‌زایی، تجزیه واریانس نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین واریته‌ها و سطوح مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد وجود دارد (جدول ۳) و اثر واریته، 2,4-Dو TDZ و اثر متقابل واریته در 2,4-D، واریته در TDZ، 2,4-D در TDZ و اثر متقابل سه جانبه واریته در2,4-D در TDZدر سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد.

[ Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-12-08 ]

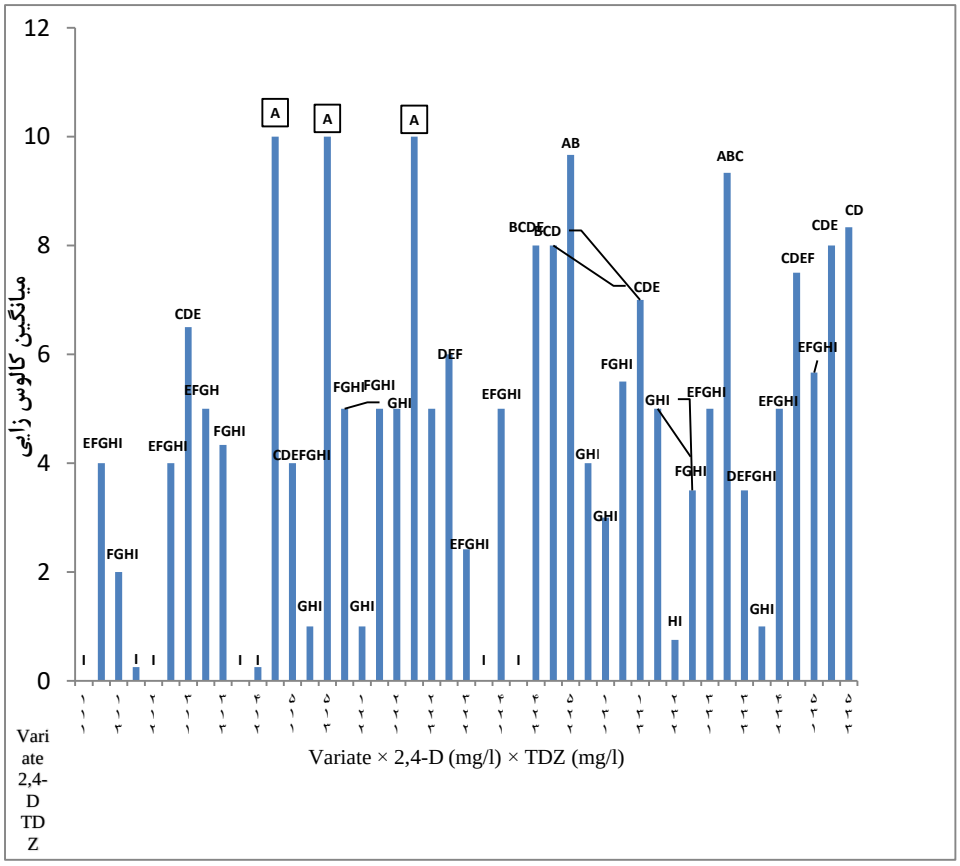
[ DOI: 10.52547/jcb.14.43.42 ]

جدول ۳- تجزیه واریانس تاثیر رقم و تنظیم‌کننده‌های رشد در ریز نمونه برگ
Table 3. Analysis of variance of the effect of cultivar and growth regulators on leaf explant (** Significance at 1% probability level)

| منابع تغییرات | درجه ازادی | میانگین مربعات کالوس‌زایی |
|---|---|---|
| واریته | ۴ | ۲۵/۷۱۰** |
| 2,4-D | ۲ | ۲۲/۰۷۸** |
| TDZ | ۲ | ۳۲/۸۴۷** |
| 2,4-D ×واریته | ۸ | ۱۵/۵۸۱** |
| TDZ × واریته | ۸ | ۲۷/۷۰۳** |
| × 2,4-D TDZ | ۴ | ۳۶/۸۹۴** |
| TDZ × 2,4-D ×واریته | ۱۶ | ۱۷/۵۴۱** |
| خطا | ۶۱ | ۴/۴۵۱ |
| ضریب تغییرات (درصد) | | ۴۶ |

**: معنی‌دار بودن در سطح احتمال ٪

نتایج مقایسه میانگین (شکل ۱) برای صفت کالوس‌زایی نشان داد که در همه سطوح 2,4-D با افزایش TDZ میزان کالوس‌زایی افزایش پیدا می‌کند به‌طوری که بیشترین کالوس‌زایی در سطح ۵ میلی‌گرم بر لیتر TDZ مشاهده شده است. بنابراین TDZ در کالوس‌زایی اثر مثبت داشته است. در غلظت ۱۰ میلی‌گرم برلیتر 2,4-D همه‌ی ارقام کالوس‌زایی انجام داده‌اند ولی با افزایش غلظت TDZ کالوس‌زایی افزایش بیشتری یافته است. بهترین کالوس‌زایی در رقم باتبا، فونتانه و سانته دیده شده‌است (شکل ۲). در تمامی ارقام کمترین میزان کالوس‌زایی در تیمارهایی که فاقد تنظیم‌کننده رشد 2,4-D و TDZ بودند مشاهده شد.




شکل ۱- مقایسه میانگین برای اثر متقابل واریته، 2,4-D وTDZ بر درصد القای کالوس
Figure 1. Comparison of means for variety interaction, 2,4-D and TDZ on callus induction percentage

[ Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-12-08 ]
[ DOI: 10.52547/jcb.14.43.42 ]

شکل ۲- کالوس القا شده از ریزنمونه برگ در رقم آریندا
Figure 2. Callus induced from leaf explants in Arinda cultivar

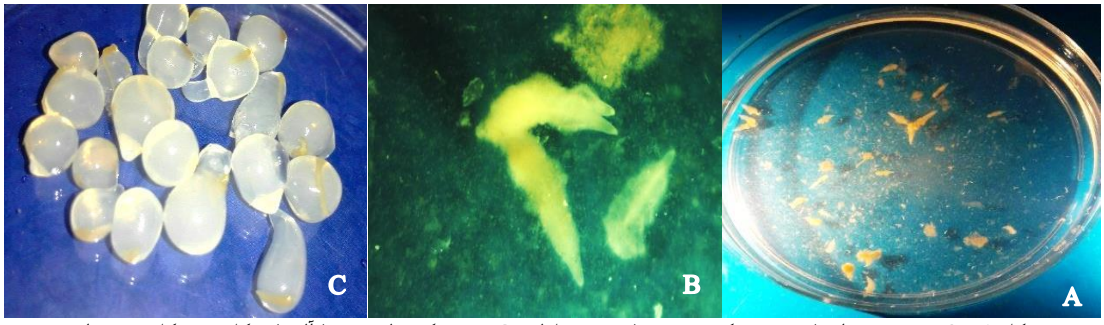
بهترین تیمار جنین‌زایی (شکل ۳) در محیط حاوی ترکیب ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر Zeatin و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر GA3 در محیط کشت سوسپانسیون سلول مشاهده شده‌است و بعد از این ترکیب، محیط کشت حاوی ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۵ میلی‌گرم در لیتر GA3 بالاترین میزان جنین‌زایی در محیط کشت سوسپانسیون سلولی مشاهده شده است.

شکل ۳- جنین سوماتیکی تولید شده در محیط کشت سوسپانسیون
Figure 3. Somatic embryos produced in suspension culture medium

میکس واگنر و همکاران (۱۰) با قرار دادن کالوس در فلاسک‌های ارلن مایر۵۰ میلی‌لیتری حاوی محیط کشت MS به‌همراه ۱/. میلی‌گرم بر لیتر Zeatin و ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر GA3، جنین‌های بیشماری در هر فلاسک مشاهده کردند. ترابی و همکاران (۱۸) نشان‌دادند که کشت سوسپانسیون سلول که از کالوس مشتق شده بر روی محیط کشت حاوی BAP و GA3 قرارگیرد باعث تولید کالوس‌های دانه‌ای سبز خواهد شد و نهایتاً جوانه‌های شاخه بر روی سطح کالوس تولید خواهند شد. جایاسری و همکاران (۸) نیز گزارش کردند که تیمار با تنظیم‌کننده‌های رشد زئاتین و BA بالاترین القاء جنین سوماتیکی مستقیم در کشت بافت مریستم میانگره را دارد.

پس از کپسوله کردن جنین‌های تشکیل شده در محیط کشت مایع طبق دستورالعمل کپسوله کردن جنین، جنین‌های سوماتیکی برای تولید بذر مصنوعی به محیط کشت MS پایه منتقل شدند و با سدیم آلژینات مخلوط شدند و در محلول کلرید کلسیم چکانده شدند سدیم آلژینات ۲٪ و کلرید کلسیم ۱٪ مناسب‌ترین شیوه برای کپسوله کردن بودند (شکل ۴). در تحقیق عبدی و همکاران (۱) بذرها روی محیط کشت MS بدون هورمون پس از ۶ روز با موفقیت جوانه زدند و پس از ۳-۴ هفته به گیاهچه کامل تبدیل شدند. در برخی از تحقیقات از کپسوله کردن جوانه انتهایی به‌عنوان بذر مصنوعی استفاده شده است (۱۱). در این تحقیق، پس از قرارگیری جنین‌ها در کپسول‌های آلژینات کلسیم، کشت در گلدان‌های حاوی کوکوپیت صورت گرفت تا رطوبت بذرها حفظ شود. نتایج نشان داد بعد از قرارگیری جنین‌ها در گلدان حاوی کوکوپیت، جنین‌ها قادر به رشد نبوده و علت آن هم می‌تواند کوچک بودن جنین و از دست دادن رطوبت آن باشد.

[ Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-12-08 ]
[ DOI: 10.52547/jcb.14.43.42 ]




شکل ۴- A و B. جنین ایجاد شده در کشت سوسپانسیون سلولی. C. جنین کپسوله شده با آلژینات کلسیم و کلسیم نیترات
Figure 4. (A) and (B) Embryos created in cell suspension culture. (C) Embryo encapsulated with calcium alginate and calcium nitrate

در تحقیق حاضر نیز ازدیاد آزمایشگاهی ارقام فوق از کشت ریزنمونه‌ها در محیط کشت حاوی تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی حاوی ۳۰ گرم در لیتر ساکارز انجام شد. بر اساس تحقیق پلاچوپیا و همکاران (۱۳) ریز غده‌زایی درون شیشه‌ای در محیط کشت حاوی ۸ درصد ساکارز و با هورمون رشد گیاهی BAP به‌دست آورد در تحقیق حاضر نیز کالوس‌زایی در محیط کشت MS حاوی ۳۰ گرم در لیتر و تنظیم‌کننده‌های رشد 2,4-D و TDZ پس از یک دوره واکشت بدست آمد. ضرورت وجود اکسین 2,4-D به‌تنهایی یا در ترکیب با سیتوکینین در محیط کشت جهت کالوس‌زایی در تحقیقات متعددی مورد تأیید قرار گرفته است (۵،۲). در تحقیقات دیگری نیز از جمله انتصاری و همکاران (۶) تنظیم‌کننده رشد GA3 جهت جنین‌زایی و ریز غده‌زایی مورد استفاده قرارگرفته است، که در تحقیق حاضر نیز اثر مثبت این تنظیم‌کننده در جنین‌زایی سوماتیکی مشخص شد. گزارش داده شده که TDZ یکی از فعال‌ترین سیتوکینین‌ها برای القای شاخه در کشت بافت گیاه باشد. در گزارش‌های دیگر پیشنهاد شده که TDZ بهتر از دیگر سیتوکینین‌ها باززایی شاخه را القا می‌کند (۷). بنابراین به‌طور یقین و قطع نمی‌توان استفاده از یک تیمار هورمونی مشخص را برای تمام گیاهان و در تمام عملیات کشت بافت گیاهی پیشنهاد کرد بلکه برای هر گونه گیاهی باید به‌طور جداگانه بررسی شود. در مجموع نتایج بدست آمده نشان داد که امکان تولید جنین سوماتیکی در حجم انبوه در محیط‌کشت سوسپانسیون در سیب‌زمینی وجود دارد و می‌توان از این جنین‌ها در تولید بذر مصنوعی سیب‌زمینی استفاده کرد.

## منابع

1. Abdi, H.R., A. Majd, S.H. Ehsandar and R. Choukan. 2008. Production of synthetic seed by encapsulating somatic embryo in potato (Solanum tuberosum L.). Azad Islamic University Biology Journal, 4(4): 23-32 (In Persian).
2. Beck, M.J. and J.D. Caponetti. 1983. The effects of kinetin and naphthaleneacetic acid on in vitro shoot multiplication and rooting in the fishtail fern. American Journal of Botany, 70(1): 1-7.
3. Bekheet, S.A. 2006. A synthetic seed method through encapsulation of in vitro proliferated bulblets of garlic (Allium sativum L.). Arab Journat of Biotechnology, 9(3): 415-26.
4. Chandra, R., M.D. Upadhya and K.K. Tha. 1985. Morphological evaluation of somaclones of potato. Journal of the Indian Potato Association, 12: 88-91.
5. Evans, D.A., W.R. Sharp and C.E. Flick. 1981. Growth and behavior of cell cultures: embryogenesis and organogenesis. Plant Tissue Culture: Methods and Application in Agriculture/edited by Trevor A. Thorpe.
6. Entesari, M., D. Davoodi, A. Haghnazari, S. Bagheri, E. Majidi and A.A. Habashi. 2012. Effect of Alternative Bioreactor on Propagation and Microtuberization Parameters of Potato (Solanum tuberosum L.). Journal of Crop Breeding 9: 54-67 (In Persian).
7. Husain, M.K., M. Anis and A. Shahzad. 2007. In vitro propagation of Indian Kino (Pterocarpus marsupium Roxb.) using thidiazuron. In vitro Cellular and Developmental Biology-Plant, 43(1): 59-64.
8. JayaSree, T., U. Pavan, M. Ramesh, A.V. Rao, J.M. Reddy and A. Sadanandam. 2001. Somatic embryogenesis from leaf cultures of potato. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 64(1): 13-17.
9. Lam, S.L. 1977. Plantlet formation from potato tuber discs in vitro. American Journal of Potato Research, 54(10): 465-468.
10. Mix-Wagner, G. and K.D. Vorlop. 2003. Regeneration of plants from cell suspension cultures and encapsulated cell suspension cultures of Solanum tuberosum L. cv. Clarissa. Landbauforschung Volkenrode, 53(1): 53-59
11. Moradi, S., M.R. Azimi, S. Pourdad and H. Zolnorian. 2016. Synthetic Seed Production via Alginate Encapsulation of Shoot Tips in Two Iranian Sunflower Hybrids (Helianthus annuus hyb. Azargol and Farrokh). Journal of Crop Breeding, 8(17): 174-183 (In Persian).

[ Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-12-08 ]
[ DOI: 10.52547/jcb.14.43.42 ]

12. Omidi, M. and A. Shahpiri. 2003. Callus induction and plant regeneration in vitro in potato. Acta Horticulturae, 619: 315-322.
13. Pelacho, A.M., L. Martín-Closas, C. Campabadal, A. Torres, I. Farran and A.M. Mingo-Castel. 2003. In vitro tuberization of potato: effect of several morphogenic regulators in light and darkness. Journal of Plant Physiology, 144(6): 705-709.
14. Pretova, A. and B. Dedicova. 1992. Somatic embryogenesis in Solanum tuberosum L. cv. Desiree from unripe zygotic embryos. Journal of Plant Physiology, 139(5): 539-542.
15. Roy, B. and A.B. Mandal. 2008. Development of synthetic seeds involving androgenic and pro-embryos in elite indica rice. Indian Journal of Biotechnology, 7: 515-519.
16. Simola, L.K. 2000. Harry Waris, a pioneer in somatic embryogenesis. Somatic Embryogenesis in Woody Plants, 6: 1-16.
17. Tarré, E., C. Magioli, M. Margis-Pinheiro, G. Sachetto-Martins, E. Mansur and L.D. Santiago-Fernandes. 2004. In vitro somatic embryogenesis and adventitious root initiation have a common origin in eggplant (Solanum melongena L.). Brazilian Journal of Botany, 27(1): 79-84.
18. Torabi, F., A. Majad and A.A. Ehsanpour. 2008. Plant regeneration from cell suspension culture of potato (Solanum tuberosum L.). Pakistan Journal of Biological Sciences, 11(5): 778-782.

[ Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-12-08 ]

[ DOI: 10.52547/jcb.14.43.42 ]

# Cell Suspension Culture, Somatic Embryo Genetic and Synthetic Seed Production in Different Cultivars of Potato

**Behnaz Neysi[1], Payam Pour Mohammadi[2] and Mohammad Reza Salehi Salmi[3]**

1- Master's degree in Plant Breeding, Plant Production and Genetics Department, Faculty of Agriculture, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Khuzestan, Iran
2- Assistant Professor, Plant Production and Genetics Department, Faculty of Agriculture, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Khuzestan, Iran,
(Corresponding Author: Mohammadi@asnrukh.ac.ir)
3- Associate Professor, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Khuzestan, Iran
Received: 16 November, 2021 Accepted: 14 December, 2021

**Extended Abstract**

**Introduction and Objective:** In order to overcome the contamination problems, as well as the usual method of increasing potato through micro tuber, micropropagation has been considered through tissue culture. The aim of this study was to evaluate the callus induction and embryogenesis in potato cultivars using leaf explants.

**Material and Methods:** For this purpose, micropropagation was performed using leaves from six different potato varieties in different mediums. Seedling of different cultivars in different concentrations of growth regulators, 2,4-D and TDZ showed that the highest amount of callus in 5 $mgl^{-1}$ of TDZ growth regulator in the culture medium was observed in Batba, Fontane and Sante. In 12 treatment combinations, the combination of 10 $mgl^{-1}$ 2,4-D and 10 $mgl^{-1}$ TDZ was performed in leaf explants after three weeks of callus. Then, calluses were tested in a culture medium for embryogenic induction with four different treatments in suspension and solid culture.

**Results:** In the experiment of embryogenesis study of leaf explants of different cultivars, results showed that explants was placed in a suspension culture of 0.1 $mgl^{-1}$ Zeatin and 0.1 $mgl^{-1}$ GA3 and 2.5 $mgl^{-1}$ BAP and 5 mg/L GA3, and a solid culture medium containing 5 $mgl^{-1}$ Zeatin and 2.5 $mgl^{-1}$ BAP and 0.1 $mgl^{-1}$ Zeatin and 0.1 $mgl^{-1}$ GA3 had a much better embryogenesis. Among the 12 treatments applied, the highest callus formation rate was observed in treatment containing 10 $mgl^{-1}$2,4-D and 10 $mgl^{-1}$ tidiazurone. Results showed in suspension culture medium, 0.1 $mgl^{-1}$ zeatin and 0.1 $mgl^{-1}$ gibberellic acid treatment and 2.5 $mgl^{-1}$ 6-benzylaminopurine and 5 $mgl^{-1}$ gibberellic acid had the highest embryogenesis, but in solid medium, treatment was 5 $mgl^{-1}$ zeatin and 2.5 $mgl^{-1}$ 6- benzylaminopurine and treatment 0.1 $mgl^{-1}$ zeatin and 0.1 $mgl^{-1}$ gibberellic acid have better embryogenesis. Embryos produced in suspension culture medium were coated with calcium alginate and some of them were transferred to solid culture medium for regeneration.

**Conclusion:** The obtained results showed that it is possible to produce somatic embryos in large quantities in potatoes and these embryos can be used in the production of artificial potato seeds.

**Keywords:** Callus, Growth regulators, Potato, Suspension culture, Synthetic seed

[ Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-12-08 ]

[ DOI: 10.52547/jcb.14.43.42 ]