فنآوری تولیدات گیاهی/ جلد بیستم/ شمارهٔ اول/ صفحات ۱۲۳-۱۱۱/ بهار و تابستان ۹۹
DOI: 10.22084/ppt.2019.13990.1742

اثر بنزیل آدنین (BA) و ساکارز بر رشد گیاه‌چه و تولید ریزغده در سیب‌زمینی

Effect of Benzyl Adenine (BA) and Sucrose on Plantlet Growth and Microtuber Production in Potato

خسرو پرویزی[1*]، شادی سرنج[2]، علی ابراهیمی[3] و مرضیه قربانی[4]

تاریخ دریافت: ۹۶/۰۷/۱۱ تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۱/۲۳
(مقاله پژوهشی)

چکیده

دستیابی به ترکیب مؤثر و کارآمد از غلظت ساکارز و تنظیم‌کننده رشد بنزیل آدنین (BA) از عوامل موفقیت در تولید ریزغده سیب‌زمینی می‌باشد. در این آزمایش به‌منظور بررسی اثر غلظت BA و ساکارز بر صفات رویشی گیاهچه‌های سیب‌زمینی و تولید ریزغده‌چه (میکروتیوبر) از آن‌ها، گیاهچه‌های سالم و عاری از بیماری رقم آریندا که در شرایط درون شیشه‌ای تولید شده بودند، تحت تیمار غلظت‌های مختلف BA و ساکارز در محیط‌کشت MS قرار گرفتند. این پژوهش به‌صورت یک آزمایش فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی انجام شد. فاکتور اول غلظت BA در چهار سطح صفر (شاهد)، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میکرومولار و فاکتور دوم غلظت ساکارز در سه سطح ۳۰، ۴۵ و ۶۰ گرم در لیتر بود. برخی از صفات رشد گیاهچه شامل طول استولون، تعداد برگ، وزن‌تر ریشه، وزن خشک ریشه، وزن‌تر ساقه، وزن خشک ساقه، تعداد ریزغده، وزن‌تر ریزغده و درصد ماده خشک ریزغده تولیدی اندازه‌گیری شدند. نتایج نشان داد که اثرات اصلی تنظیم‌کننده رشد BA روی تمامی صفات و ساکارز روی برخی از صفات معنی‌دار بود. اثرات متقابل BA و ساکارز فقط روی طول استولون و وزن ریزغده معنی‌دار شد. در بیش‌تر صفات رشد و هم‌چنین تعداد ریزغده و درصد ماده خشک آن، غلظت ۵۰ میکرومولار بهتر از تیمار شاهد و دو غلظت بالاتر BA (۱۰۰ و ۱۵۰ میکرومولار) عمل کرد، اما غلظت ۱۵۰ میکرومولار BA و تیمار شاهد وضعیتی نسبتاً شبیه به هم داشتند. با افزایش غلظت ساکارز از ۳۰ به ۶۰ گرم در لیتر صفات رشد گیاهچه بهتر شد و عملکرد آن‌ها نیز افزایش پیدا کرد.

واژه‌های کلیدی: آریندا، میکروتیوبر، استولون، ماده خشک

۱ و ۴. به‌ترتیب استادیار پژوهشی و کارشناس‌ارشد، بخش تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان همدان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، همدان، ایران
۲ و۳. به‌ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی‌ارشد و دانشیار، گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشگاه پیام نور، واحد شرق تهران، تهران، ایران
*: نویسنده مسئول Email: k.parvizi@areeo.ir
این مقاله مستخرج از پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد نویسنده دوم تحت راهنمایی خسرو پرویزی می‌باشد.

مقدمه

مشکل عمده تکثیر سیب‌زمینی از طریق غده بذری سرعت تکثیر پائین و افزایش ضریب آلودگی در کوتاه‌مدت می‌باشد. در مناطقی که جمعیت شته‌ها، زنجره‌ها، کنه‌ها و دیگر ناقلین بیماری‌های ویروسی بالا باشد، آلودگی به غده بذری در نسل بعدی به‌صورت تصاعدی منتقل‌شده و معمولاً پس از دو و یا سه نسل تکثیر، غده بذری به‌شدت آلوده شده و با افت شدید عملکرد، عملاً از اعتبار بذری خارج می‌گردد. راه‌حل عملی و پذیرفته شده تولید پایه‌های بذری سالم از طریق کشت مریستم می‌باشد. در این راستا فنآوری کشت بافت به‌طور گسترده‌ای برای تولید بذر عاری از ویروس سیب‌زمینی (ریزغده[1]) مورد استفاده قرار می‌گیرد. این ریزغده‌ها می‌توانند در مرحله بعد در محیط مناسب و کنترل شده کشت گردند تا از آن‌ها غده‌چه[2] تولید شود (*وینترهالتر*[3] و همکاران، 2008). با ورود غده‌چه در زنجیره تولید بذر، بذر گواهی شده قابل‌فروش به کشاورزان تولید می‌گردد (کاظمیانی نجف‌آبادی و همکاران، ۱۳۸۹).

استفاده از ریزغده در برنامه تولید غده بذری سیب‌زمینی دارای مزایایی از قبیل آسانی و سهولت نقل‌وانتقال، امکان تولید در تمام طول سال در زمان و مکان‌های مختلف، نیاز به فضای کوچک، عاری بودن از کلیه عوامل بیماری‌زا و برخورداری از درجه بالای سلامتی می‌باشد (*استروئیک* و *ویرسما*[4]، 1999). تولید ریزغده، صنعت تولید بذر سیب‌زمینی را متحول کرده است. تولید ریزغده در شرایط درون شیشه‌ای اولین‌بار به‌عنوان ابزار تجربی برای حل مشکلات پاتولوژیکی در سیب‌زمینی توسط کشت تک‌گره با جوانه‌های جانبی برای تولید غدهٔ بذری عاری از ویروس صورت گرفت (*گوپال*[5] و همکاران، 2004).

عوامل متعددی بر فرآیند ریزغده‌زایی و راندمان تولید ریزغده در شرایط درون شیشه‌ای مؤثر می‌باشند که از آن جمله می‌توان به نوع ریزنمونه (*کوری* و *موربای*[6]، 1996؛ *فاطمه*[7] و همکاران، 2005)، فتوپریود (*هوسی* و *استاسی*[8]، 1984)، دما (*آکیتا* و *تکایاما*[9]، 1994)، نوع منبع کربن (*گارنر* و *بلاک*[10]، 1989)، تنظیم‌کننده‌های رشد (*اورتیز- مونتیل* و *لوزویا-سلدافی*[11]، 1987) و ترکیبات محیط‌کشت (*ونگ* و *هو*[12]، 1985) اشاره کرد که از این بین تأثیر قند و تنظیم‌کننده‌های رشد به ویژه سایتوکینین‌ها بیش‌تر موردتوجه قرار گرفته است. به‌منظور بیش‌ترین القای غده‌زایی در کشت بافت، سطوح ساکارز از ۳-۲ درصد که به‌طور معمول برای ریزازدیادی به‌کار می‌رود تا ۹-۸ درصد افزایش می‌یابد. در یک پژوهش مشخص شد که سطوح بالاتر از ۸ درصد ساکارز در افزایش ریزغده‌زایی مفید نبوده و تفاوت معنی‌داری از نظر عملکرد مشاهده نشده است (*اثنی عشری* و *ویلیرز*[13]، 1988). در پژوهش‌های دیگر مشخص شده است که سطوح بالای ۸ درصد ساکارز منجر به تولید ریزغده‌های بزرگ‌تر شده و در افزایش تعداد آن‌ها کم تأثیر و یا بی‌اثر می‌باشد (*کوری* و *موربای*، 1995, 1996).

ساکارز نه‌تنها منبع انرژی و سوبسترای بیوسنتز نشاسته است، بلکه به‌عنوان یک محرک غده‌دهی عمل می‌کند. مشخص شده است که اضافه کردن تنظیم‌کننده‌های رشد تنها درصورتی‌که ساکارز کافی (۸ درصد) تأمین باشد، نمو ریزغده‌ها را افزایش می‌دهد (*هارمی*[14] و همکاران، 1966). *تووار*[15] و همکاران (1985) شرایط مناسب برای ریزغده‌زایی را محیط کشت دارای ۵ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آمینو پیورین، ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر سایکوسل و ساکارز ۸ درصد عنوان کردند.

با مطالعات انجام گرفته بر غده‌دهی سیب‌زمینی در شرایط درون شیشه‌ای در ارقام مختلف سیب‌زمینی مشخص شد که افزایش میزان غده‌دهی با افزایش بیوسنتز ساکارز فعال شده در برگ‌ها و انتقال آن به سمت استولون‌ها همراه می‌باشد (*شارما*[16] و همکاران، 2011). مونوساکاریدها (گلوکز و فروکتوز) نیز می توانند غده‌دهی در شرایط درون شیشه‌ای را تحریک سازند، اما تأثیر آن‌ها کم‌تر از ساکارز می‌باشد (*اوینگ* و *استرویک*[17]، 1992؛ اثنی‌عشری و ذکائی خسروشاهی، ۱۳۸۸).

در آزمایش *طریق رفیق*[18] و همکاران (2004) اثرات غلظت‌های صفر (۰)، ۳، ۶ و ۹ درصد ساکارز در محیط‌کشت MS غنی شده با ۱۵۰ گرم در لیتر آهن بر ریزغده‌زایی چهار رقم دیامانت، سانته، کاردینال و دزیره موردبررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که تفاوت مشخصی در میزان تولید ریزغده در غلظت‌های مختلف ساکارز و در هر چهار رقم وجود دارد. بیش‌ترین تعداد ریزغده با ترکیب ساکارز ۶ درصد حاصل شد.

1. Microtuber
2. Minituber
3. Vinterhalter
4. Struik and Wiersema
5. Gopal
6. Khuri and Moorby
7. Fatima
8. Hussey and Stacey
9. Akita and Takayama
10. Garner and Blake
11. Ortiz-Montiel and Lozoya-Saldafia
12. Wang and Hu
13. Esna- Ashari and Villiers
14. Harmey
15. Tovar
16. Sharma
17. Ewing and Struik
18. Tariq Rafique

اما در غلظت ۹ درصد ساکارز صرفاً وزن متوسط ریزغده افزایش پیدا کرد و تفاوت معنی‌داری در تولید تعداد ریزغده با غلظت ۶ درصد ایجاد نشد. *صادق حسین*[1] و همکاران (2017) در سه رقم رقم آستریکس، گرانولا و دیامانت به بررسی اثرات غلظت‌های مختلف ساکارز (صفر، ۳، ۴، ۶، ۸، ۱۰، ۱۲ و ۱۴ درصد) بر ریزغده‌زایی در محیط‌کشت موراشیگ و اسکوک جامد پرداختند. نتایج نشان داد که در غلظت ۸ درصد ساکارز کم‌ترین زمان ممکن (۸/۹۲ روز) غده‌زایی حاصل شد. در سه رقم مورداستفاده به‌طور متوسط استفاده از ساکارز ۸ درصد در مقایسه با سایر غلظت‌ها ریزغده بیش‌تری تولید شد، اگرچه در رقم دیامانت ریزغده‌های تولیدی در محیط‌کشت ۱۴ درصد ساکارز از وزن متوسط بالاتری برخوردار شدند. در پژوهش *میهراتا* و *مولوگتا*[2] (2014) با ارزیابی سطوح مختلف ساکارز (۴۰، ۶۰، ۸۰، ۱۰۰ و ۱۲۰ گرم در لیتر) بر ریزغده‌زایی دو رقم آرارسا و هوندی، مشخص شد که محیط‌کشت برخوردار از ۶۰ گرم در لیتر ساکارز در مقایسه با سایر غلظت‌های آن از نظر زمان غده‌زایی، تعداد ریزغده و هم‌چنین وزن متوسط ریزغده تولیدی بهتر عمل کرد. هرچند واکنش دو رقم مورداستفاده قابل‌توجه بود. به‌گونه‌ای که در مجموع رقم هوندی با متوسط ۲/۹ عدد ریزغده در تک گره نسبت به رقم آراسکا (با متوسط ۱/۹۷ عدد ریزغده) تفاوت معنی‌دار نشان داد.

مطلبی آذر و همکاران (۱۳۹۴) به بررسی آغازش، تشکیل و رشد ریزغده سیب‌زمینی در چهار غلظت مختلف (صفر، ۲، ۴، ۶ و ۸ درصد) از ساکارز و پلی‌اتیلن گلایکول در محیط‌کشت MS و در تاریکی مطلق و در دمای ۱±۲۰ پرداختند. نتایج نشان داد که استفاده از ساکارز در فرآیند ریزغده‌زایی و در کلیه صفات برتر از پلی‌اتیلن گلایکول بود. استفاده از سطوح بالای ساکارز در تشکیل ریزغده در شرایط درون شیشه‌ای مفید بود. افزایش غلظت ساکارز، تعداد ریزغده را بدون اثر منفی روی وزن و اندازه آن‌ها به‌طور مؤثری افزایش داد.

در زمینه تأثیر و اهمیت هورمون‌ها بر غده‌زایی سیب‌زمینی، نتایج تحقیقات نشان داده است که هورمون های گیاهی نقش برجسته و مهمی در غده‌زایی دارند. برخی از این هورمون‌ها ازجمله سایتوکینین، اکسین و آبسیزیک اسید سبب القاء غده‌زایی شده و برخی نظیر جیبرلین موجب ممانعت از غده‌زایی شده‌اند (*اوینگ* و *استروئیک*، 1992). گزارشاتی وجود دارد که نشان می‌دهد در شرایط غده‌زایی در سیب‌زمینی مقادیر بالایی از هورمون سایتوکینین در برگ‌ها، ریشه‌ها و غده‌ها یافت شده و سایتوکینین موجود از نوع زآتین می‌باشد (*اوینگ*[3]، 1995). هم‌چنین در مطالعات درون شیشه‌ای نیز نشان داده شده است که هورمون سایتوکینین بر فرایند غده‌زایی نقش تحریک‌کنندگی دارد. اثر تحریک‌کنندگی سایتوکینین را بر غده‌زایی به توقف رشد طولی استولون و تحریک تقسیمات یاخته‌ای، همراه با تجمع نشانسته در استولون‌ها مرتبط دانسته اند (*روسوو*[4]، 2008).

در پژوهشی که توسط ابراهیمی و ایرانبخش (۱۳۸۴) انجام شد، گزارش شده است که با افزایش غلظت تنظیم‌کننده رشد بنزیل آمینو پورین (BAP) تا ۱۰ میلی‌گرم در لیتر، میانگین ریزغده‌های تولید شده افزایش می‌یابد. در پژوهشی دیگر (*دهیتال*[5]، 2004) با محلول‌پاشی با تنظیم‌کننده رشد بنزیل آمینوپورین بر برگ‌های سیب‌زمینی دوام برگ و سطح آن افزایش پیدا کرد.

کینتین نیز که یک سایتوکینین می‌باشد همراه با ایندول استیک اسید (IAA) سبب افزایش عملکرد و تعداد غده در سیب‌زمینی شده است (*السّاوی*[6] و همکاران، 2007). در بررسی دیگر تنظیم‌کننده رشد بنزیل آمینوپورین (BAP) در چهار غلظت (صفر، ۲/۵، پنج و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر) بر سه رقم آگریا، مارفونا و سینورا به‌کار گرفته شد. نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که با غلظت ۱۰ میلی‌گرم در لیتر ریزغده زایی از نظر تعداد و وزن افزایش پیدا کرده و نوع رقم نیز بر تعداد و وزن ریزغده‌ها تأثیر معنی‌دار داشته است، به‌طوری‌که بیش‌ترین و کم‌ترین ریزغده به‌ترتیب مربوط به ارقام سینورا و مارفونا بوده است. در آزمایش دیگر مشخص شد که تأثیرات سطوح مختلف تنظیم‌کننده رشد بنزیل آمینوپورین بر تمامی صفات مربوط به ریزغده (تعداد، قطر، وزن و تعداد چشم) در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود (بیانی‌راد و همکاران، ۱۳۹۱)

کاربرد یک میلی‌گرم بر لیتر ترکیب تیدیازورون در محیط‌کشت، که دارای اثراتی مشابه سایتوکینین است، باعث افزایش معنی‌داری در تعداد ریزغده‌ها در گیاه سیب‌زمینی شده است (کیانمهر و همکاران، ۱۳۹۰). در آزمایش دیگر نشان داده شد که با به‌کارگیری پنج میلی‌گرم در لیتر از بنزیل آدنین و ۸۰ گرم در لیتر ساکارز بیش‌ترین تعداد ریزغده‌چه از هر گیاه به‌دست‌آمده است (*مانی*[7] و همکاران، 2014). هم‌چنین *احمت*[8] و همکاران (2014) با استفاده از ترکیب هورمون‌های بنزیل آمینوپورین، نفتالن استیک اسید و ایندول بوتیریک اسید در دو

1. Sadek Hossain
2. Miherata and Mulugeta
3. Ewing
4. Rossouw
5. Dhital
6. El-sawy
7. Mani
8. Ahmet

شرایط تاریکی مداوم و طول روزکوتاه (دوره نوری ۸ ساعته) و با ساکارز ۸ درصد به بررسی میزان تولید ریزغده در تک گره های سیب‌زمینی پرداختند. ترکیب‌های هورمونی شامل؛ ۱. محیط‌کشت MS فاقد هورمون ۲. محیط‌کشت MS با ۲ میلی گرم در لیتر بنزیل آمینوپورین ۳. محیط‌کشت MS + (۱۰ میلی‌گرم در لیتر NAA و ۲ میلی‌گرم در لیتر BAP) ۴. محیط‌کشت MS + (۱۰ میلی‌گرم در لیتر IBA و ۲ میلی‌گرم در لیتر BAP) بود. نتایج نشان داد که در مجموع در شرایط تاریکی کامل زمان ریزغده‌زایی با متوسط ۵۰/۹۸ روز نسبت به شرایط روزکوتاهی (متوسط ۵۵/۸۸ روز) کاهش معنی‌دار داشت. در بین تیمارهای هورمونی ترکیب IBA و BAP از نظر تعداد ریزغده با متوسط ۲/۹۴ عدد در تک گره از بهترین وضعیت را برخوردار شد.

با بررسی منابع موجود در استفاده از هورمون سایتوکینین و ساکارز به‌خوبی مشخص شد که اگرچه مطالعات زیادی انجام گرفته است و در همگی آن‌ها کاربرد این دو ماده در راستای افزایش راندمان تولید ریزغده مورد تأکید قرار است، اما ترکیب آن‌ها کم‌تر مورد آزمون گرفته است و در مواردی هم که به‌صورت ترکیبی به‌کار گرفته شده‌اند، معمولاً محدوده غلظت ۶۰ تا ۸۰ گرم در لیتر ساکارز و ۸ تا ۲۲ میکرومولار از سایتوکینین BA بر تولید ریزغده مؤثر بوده است. از طرفی قبل از اجرای آزمایش اصلی در این پژوهش با انجام پیش تیمارهای مشاهده‌ای اولیه مشخص شد که به‌کارگیری غلظت ۲۲/۳۲ میکرومولار از BA (مؤثر در آزمایشات قبلی) و حتی به‌صورت افزایش ۵ واحدی تا ۴۲ میکرومولار تأثیر قابل‌توجهی حداقل در رقم موردمطالعه (آریندا) در افزایش تولید ریزغده نداشت و از ۴۷ میکرومولار اثرات مثبت آن ظاهر شد. پس نزدیک‌ترین غلظت به آن (۵۰ میکرومولار) به‌عنوان غلظت مؤثر و مبنا در نظر گرفته شده و در آزمایش اصلی غلظت‌های دیگر بر اساس آن تنظیم و اجرا شد. بنابراین محدوده غلظت مورداستفاده از تنظیم‌کننده رشد BA در این آزمایش فراتر از آزمایشات قبلی بوده است و این خود می‌تواند جنبه‌ای از نوع آوری آن باشد. هم‌چنین دستیابی به ترکیب مؤثر از ساکارز با غلظت‌های جدید سایتوکینین از اهداف دیگر این پژوهش بود.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در آزمایشگاه کشت بافت مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی همدان به اجرا درآمد. در این آزمایش گیاهچه‌های حاصل از کشت مریستم در رقم آریندا به‌منظور تولید ریزغده طی دو مرحله مورد آزمون قرار گرفتند. در مرحله اول گیاهچه‌های عاری از ویروس در شرایط کاملاً استریل، به قطعات تک‌گره تقسیم شدند. در داخل هر شیشه به مقدار ۲۰ میلی‌لیتر محیط‌کشت MS ریخته شد. سپس در داخل هر شیشه سه ریزنمونه کشت شد. ظروف کشت هرکدام حاوی سه ریزنمونه در اتاقک رشد (فیتوترون)، در دمای ۲± ۲۵ درجه سانتی‌گراد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و با شدت ۵۰۰۰ لوکس به‌مدت سه هفته قرار گرفتند. در طول دوره مذکور ریزنمونه‌ها رشد کرده و تولید ریشه و ساقه نمودند. در پایان مرحله اول در مجموع ۱۰۸ گیاهچه وارد مرحله دوم آزمایش گردیدند. گیاهچه‌های تولید شده از مرحله اول آزمایش به‌منظور غده‌زایی مرحله دوم منتقل شدند. بدین منظور گیاهچه‌های تولید شده به محیط‌کشت MS جدید و غنی شده با ترکیب تیمارهای تنظیم‌کننده رشد و ساکارز منتقل‌شده و در قالب آزمایش فاکتوریل با طرح پایه کاملاً تصادفی مورد آزمون قرار گرفتند. فاکتورهای موردبررسی شامل غلظت تنظیم‌کننده رشد بنزیل آدنین با غلظت‌های صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میکرومولار و ساکارز در غلظت‌های ۳۰، ۴۵ و ۶۰ گرم در لیتر بود. محیط‌کشت آماده شده به میزان ۲۰ میلی‌لیتر در هر یک از شیشه‌های کشت بافت و بر اساس تیمارهای موردنظر توزیع گردیده و سپس به فیتوترون منتقل‌شده و جهت القاء غده‌زایی از طول دوره نوری کاسته شد. به‌طوری‌که به‌مدت سه هفته در ۸ ساعت روشنایی و ۱۶ ساعت تاریکی قرار گرفتند. پس از طی دوره سه هفته‌ای و کسب حداکثر غده‌زایی، گیاهچه‌ها از محیط‌کشت خارج و ضمن برداشت ریزغده‌ها اقدام به یادداشت برداری صفات رشدی شد. بدین منظور تعداد برگ گیاهچه‌ها شمارش شده و طول استولون با خط‌کش و سطح برگ نیز با دستگاه سطح‌سنج (مدل DELTA-T) مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. سپس برگ و ساقه از ریشه جدا شده و هرکدام به‌صورت جداگانه توزین شدند. جهت اندازه‌گیری وزن خشک ریشه و ساقه، نمونه‌ها به‌طور جداگانه در آون در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت قرار گرفته و مجدداً توزین شدند. هم‌چنین تعداد ریزغده‌چه تولیدی در هر گیاهچه شمارش شده و وزن خشک آن‌ها نیز اندازه‌گیری و ثبت شد. جهت اندازه‌گیری درصد ماده خشک ریزغده سه نمونه تصادفی از هر تکرار جدا شده و کاملاً شسته شده و خشک شدند سپس توزین شدند. برش‌هایی به‌صورت چیپس از آن‌ها تهیه شد و در آون در دمای ۸۵°C به‌مدت ۴۸ ساعت قرار گرفتند. چند نوبت توزین شده پس از رسیدن به وزن ثابت، درصد ماده خشک آن‌ها از تقسیم وزن نهایی بر وزن اولیه و ضرب عدد حاصل در ۱۰۰ تعیین شد. محاسبات آماری و تجزیه داده‌های حاصل، از طریق نرم‌افزار SAS (نسخه 9.2) انجام شد. مقایسه‌ی میانگین ها از روش آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال خطای

۵ درصد استفاده شد. رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel انجام پذیرفت.

نتایج و بحث

نتایج نشان داد که اثر غلظت‌های مختلف ساکارز بر تعداد برگ، وزن‌تر ساقه، وزن‌تر و خشک ریزغده و نیز تعداد ریزغده در سطح ۱ درصد معنی‌دار شده است، اما در طول استولون، وزن‌تر و خشک ریشه و وزن‌تر ساقه اثر معنی‌دار نداشت (جداول ۱ و ۲). اثر استفاده از تنظیم‌کننده رشد بنزیل آدنین در وزن‌تر ریشه در سطح ۵ درصد و در بقیه صفات مورد اندازه‌گیری در سطح ۱ درصد معنی‌دار شد. برهم‌کنش استفاده از ساکارز و تنظیم‌کننده رشد فقط در طول استولون و وزن‌تر ریزغده معنی‌دار شد (جداول ۱ و ۲).

با مقایسه میانگین تیمارها مشخص شد که در بالاترین سطح ساکارز (۶۰ گرم در لیتر)، تعداد برگ‌های تولید شده در گیاه‌خانه بیش‌تر از دو سطح دیگر بود. هرچند دو غلظت ۶۰ و ۴۵ گرم در لیتر ساکارز از لحاظ آماری تفاوت معنی‌دار با همدیگر نداشتند (جدول ۳). در استفاده از غلظت‌های مختلف تنظیم‌کننده رشد BA، مقایسه میانگین تیمارها نشان داد که با غلظت ۵۰ میکرومولار از آن بیش‌ترین تعداد برگ تولید شد اگرچه از نظر آماری با غلظت ۱۰۰ میکرومولار تفاوت معنی‌دار نداشت اما با غلظت ۱۵۰ میکرومولار تفاوت‌ها در سطح ۵ درصد آزمون دانکن معنی‌دار شد. در عدم استفاده از تنظیم‌کننده رشد و در بالاترین سطح از مصرف تنظیم‌کننده رشد (۱۵۰ میکرومولار) کم‌ترین تعداد برگ در گیاه‌چه تولید شد به‌طوری‌که دو تیمار وضعیت مشابهی داشته و تفاوت آن‌ها معنی‌دار نشد (جدول ۴).

جدول ۱: نتایج تجزیه واریانس اثرات استفاده از تنظیم‌کننده رشد BA و ساکارز بر برخی از صفات رشد گیاهچه در کشت بافت سیب‌زمینی

Table 1: Results of variance analysis of the effect of BA growth regulator and Sucrose on some growing traits of potato plantlet in tissue culture

منابع تغییرات S.O.V.	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean of squares					
		تعداد برگ Leaf number	طول استولون Stolon length	وزن‌تر ساقه Stem fresh weight	وزن خشک ساقه Stem dry weight	وزن‌تر ریشه Root fresh weight	وزن خشک ریشه Root dry weight
ساکارز Sucrose	2	5.54^{**}	8.46^{**}	0.0062^{**}	0.00001^{ns}	0.0001^{ns}	0.000001^{ns}
تنظیم‌کننده رشد BA BA hormone	3	3.57^{**}	91.31^{**}	0.018^{**}	0.0031^{**}	0.0001^{*}	0.0006^{**}
ساکارز × تنظیم‌کننده رشد BA Sucrose × BA hormone	6	0.18^{ns}	13.94^{**}	0.006^{ns}	0.00004^{ns}	0.0002^{ns}	0.00002^{ns}
خطا Error	24	0.65	0.99	0.001	0.00002	0.0002	0.000001
ضریب تغییرات CV		13.44	11.32	11.70	13.56	24.36	13.04

**، *: به‌ترتیب بیانگر وجود سطح معنی‌داری در ۱ و ۵ درصد و ns بدون سطح معنی‌دار

** and *: Show being significant (α=0.01 and 0.01, respectively). ns means no significant

جدول ۲: نتایج تجزیه واریانس اثرات استفاده از تنظیم‌کننده رشد BA و ساکارز بر تولید ریزغده‌چه و کیفیت آن در کشت بافت سیب‌زمینی

Table 2: Results of variance analysis of the effect of BA growth regulator and Sucrose on microtuber production and it's qualify in potato.

منابع تغییرات S.O.V.	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean of squares		
		تعداد ریزغده‌چه Number of microtuber	وزن‌تر ریزغده‌چه Microtuber fresh weight	درصد ماده خشک ریزغده‌چه Percentage of microtuber dry weight
ساکارز Sucrose	2	8.055**	10595.81**	2.18**
تنظیم‌کننده رشد BA BA hormone	3	3.003**	10460.27**	3.50**
ساکارز × تنظیم‌کننده رشد BA Sucrose × BA hormone	6	0.083ns	290.45*	0.24ns
خطا Error	24	.0067	86.31	0.08
ضریب تغییرات CV		10.63	6.65	1.45

**، *: به‌ترتیب بیانگر وجود سطح معنی‌داری در ۱ و ۵ درصد و ns بدون سطح معنی‌دار

** and *: Show being significant (α=0.01 and 0.01, respectively). ns means no significant

جدول ۳: مقایسه میانگین اثرات اصلی غلظت‌های مختلف ساکارز بر صفات رشد گیاه‌چه و تولید ریزغده‌چه

Table 3: Mean comparison of the main effect of different concentration of sucrose on plantlet growth traits and microtuber production

غلظت ساکارز Sucrose concentration	صفات موردبررسی Evaluated traits		
	تعداد برگ Leaf number	وزن‌تر ساقه (گرم) Stem fresh weight (g)	تعداد ریزغده‌چه Microtuber number
۳۰ گرم در لیتر 30 g.lit $^{-1}$	5.29b	0.28ab	1.55c
۴۵ گرم در لیتر 45 g.lit $^{-1}$	6.07a	0.30a	2.59b
۶۰ گرم در لیتر 60 g.lit $^{-1}$	6.64a	0.26b	3.17a

اعداد با حروف غیرمشابه در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار (P<0.05) می‌باشند

Numbers followed by different letters in every colomn are significantly differentns (P<0.05)

اضافه شدن ساکارز در محیط‌کشت تولید ریزغده سیب‌زمینی معمولاً دارای اثری دوجانبه در تأمین منبع کربنی آماده و کمک‌کننده تغذیه‌ای و هم‌چنین تنظیم فشار اسمزی محیط‌کشت می‌باشد و از این حیث ضمن تحریک رشد گیاهچه‌ها می‌تواند شرایط لازم در القاء غده‌زایی را فراهم نماید. بنابراین اثرات مثبت ساکارز در تحریک رشد ساقه، افزایش وزن تر و تولید برگ بیش‌تر در غلظت‌های بالاتر از ۳۰ گرم در لیتر قابل‌توجه است. به نظر می‌رسد این آستانه اثربخشی در سطحی از ساکارز به حداکثر رسیده و تأثیرات مثبت آن در تحریک رشد ساقه و تولید برگ به حدی از ثبات می‌رسد که بالاتر از آن مفید واقع نخواهد شد.

در اولین و پایین‌ترین سطح استفاده از تنظیم‌کننده رشد BA (۵۰ میکرومولار) رشد ساقه و در نتیجه تعداد برگ افزایش پیدا کرد که این وضعیت در غلظت ۱۰۰ میکرومولار و متعاقباً با غلظت بالاتر از آن (۱۵۰ میکرومولار) وضعیتی معکوس داشت و حتی به اندازه تیمار شاهد کاهش پیدا کرد. با این وصف نقش تحریک‌کنندگی سایتوکینین در توسعه رشد ساقه و افزایش تعداد برگ در گیاهچه‌های سیب‌زمینی در غلظت‌های پایین میسر شده و با افزایش غلظت آن ممکن است حتی با اثرات بازدارندگی همراه باشد. نقش سایتوکینین در گیاهان به‌عنوان محرک تقسیم سلولی، ممانعت از پیری برگ‌ها و جلوگیری از تخریب کلروپلاست و تحریک سنتز کلروفیل محرز شده است، که همگی می‌تواند موجب افزایش وزن‌تر ساقه شوند.

جدول ۴: مقایسه میانگین اثرات اصلی غلظت‌های مختلف تنظیم‌کننده رشد BA بر صفات رشد گیاهچه و تولید ریزغده‌چه

Table 4: Mean comparison of the main effect of different concentration of BA growth regulator on plantlet growth traits and microtuber production

غلظت تنظیم‌کننده رشد Growth regulator concentration	صفات مورد بررسی Evaluated traits					
	تعداد برگ Leaf number	وزن‌تر ساقه (گرم) Stem fresh weight (g)	وزن‌تر ریشه (گرم) Root fresh weight (g)	وزن‌خشک ساقه (گرم) Stem dry weight (g)	وزن‌خشک ریشه (گرم) Root dry weight (g)	تعداد ریزغده Microtuber number
۰ (شاهد) 0 (Control)	5.51b	0.25c	0.054c	0.03b	0.007b	1.84d
۵۰ میکرومولار 50 µm	6.85a	0.33a	0.084a	0.04a	0.018a	3.20a
۱۰۰ میکرومولار 100 µm	6.11ab	0.30b	0.068b	0.03b	0.013b	2.50b
۱۵۰ میکرومولار 150 µm	5.54b	0.24c	0.050c	0.03b	0.010b	2.19c

اعداد با حروف غیرمشابه در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار (P<0.05) می‌باشند

Numbers followed by different letters in every colomn are significantly differentns (P<0.05)

تأثیر معنی‌دار استفاده از ماده تنظیم‌کننده رشد BA بر افزایش تعداد برگ در گیاهچه سیب‌زمینی توسط رودبار شجاعی و همکاران (۱۳۸۶) و *اثنی‌عشری* و *ویلیرز* (1998) نیز به اثبات رسیده است. در تحقیقی که توسط کاظمیانی نجف‌آبادی و همکاران (۱۳۸۹) و هم‌چنین حق‌طلب و همکاران (۱۳۸۹) بر روی سیب‌زمینی انجام شده است، اثرات مثبت تنظیم‌کننده رشد BA بر افزایش وزن تر گیاه‌چه سیب‌زمینی به اثبات رسیده است.

با توجه به نتایج مقایسه میانگین (جدول ۴) می‌توان دریافت که با کاربرد غلظت تنظیم‌کننده رشد BA و در سطح ۵۰ میکرومولار، وزن خشک ساقه در گیاهچه افزایش قابل‌توجهی یافته و پس از آن دوباره کاهش یافته است.

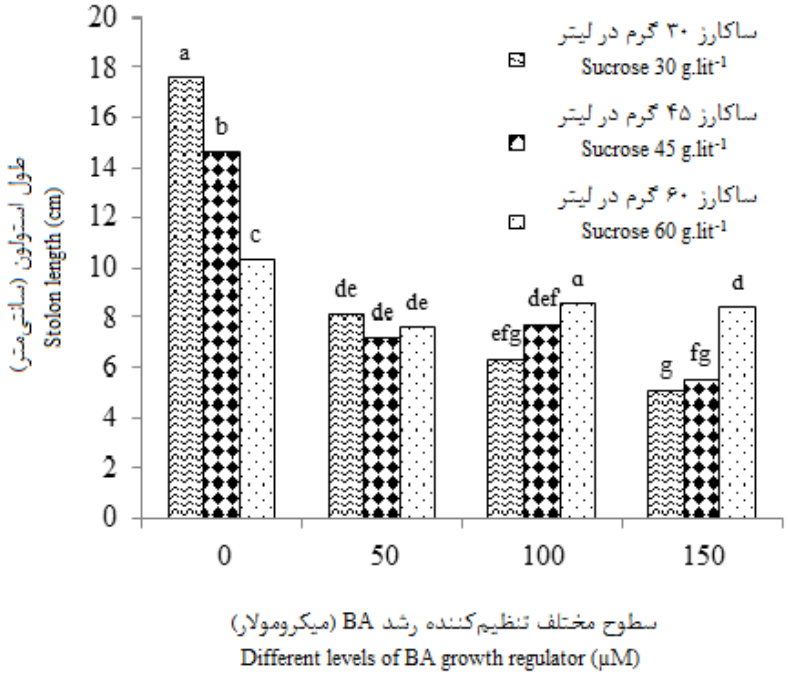
اثرات سایتوکینین در افزایش میزان کلروفیل و در نتیجه بالارفتن ظرفیت فتوسنتز در گیاهانی که با سایتوکینین‌ها تیمار شده‌اند، مشاهده شده است (پتر[1]، 2010). افزایش وزن‌تر و خشک ساقه با غلظت متوسط تنظیم‌کننده رشد BA می‌تواند بیانگر اثرات مثبت سایتوکینین بر افزایش ظرفیت فتوسنتز گیاهچه‌ها و در نتیجه بالارفتن قدرت رشد و افزایش سطح زیست‌توده گیاهی در آن‌ها باشد که به‌طور واضح عملکرد نهایی تولید ریزغده را نیز در آن‌ها می‌تواند تحت تأثیر قرار دهد. این اثر تا سطحی متعارف از سطوح تنظیم‌کننده رشد BA مثبت و مؤثر بوده و پس از آن می‌تواند منفی و یا غیرمفید باشد.

غلظت ۵۰ میکرومولار از تنظیم‌کننده رشد BA بیش‌ترین وزن‌تر ریشه در گیاه‌چه را تولید کرد و با سایر غلظت‌های آن تفاوت معنی‌دار نشان داد. با عدم مصرف تنظیم‌کننده رشد BA و با غلظت ۱۵۰ میکرومولار آن کم‌ترین وزن‌تر ریشه ایجاد شد که از نظر آماری نیز تفاوت معنی‌داری نداشتند. با افزایش غلظت تنظیم‌کننده رشد تا سطح ۵۰ میکرومولار، وزن خشک ریشه در گیاهچه افزایش نسبتاً زیادی داشته و پس از آن دوباره کاهش یافته است. کاربرد ۵۰ میکرومولار تنظیم‌کننده رشد BA بیش‌ترین وزن خشک ریشه را نسبت به سایر غلظت‌ها تولید کرد و نسبت به دو غلظت بیش‌تر و نیز تیمار شاهد تفاوت‌ها معنی‌دار شد. غلظت‌های ۱۰۰ و ۱۵۰ میکرومولار نیز با هم تفاوت معنی‌دار داشته و به‌ترتیب در گروه‌های دوم و سوم قرار گرفتند. با عدم‌مصرف تنظیم‌کننده رشد کم‌ترین وزن خشک ریشه تولید شد که از نظر آماری نیز با سه غلظت استفاده از تنظیم‌کننده رشد تفاوت‌ها معنی‌دار شد. (جدول ۴).

گزارشات ضدونقیضی در اثرات سایتوکینین بر رشد ریشه و میزان باززایی آن در گیاهان مختلف ارائه شده است. در مواردی بازدارنده بوده و در شرایطی نسبت به گونه گیاهی و شرایط رشدی آن اثر تحریک‌کننده داشته است (*هارتمن*، 1990). با نتایج این پژوهش به نظر می‌رسد که اثرات مثبت تنظیم‌کننده رشد سایتوکینین و به‌ویژه BA در ریشه‌زایی و تحریک آن در گیاهچه‌های سیب‌زمینی بیش‌تر تابع غلظت و زمان به‌کارگیری آن بوده و در گیاهچه‌های نورسته کشت بافت در غلظت‌های پایین اثرات تحریک‌کنندگی و در غلظت‌های بالا اثرات بازدارندگی داشته و ممکن است در جهت کاستن از طول ریشه و حجم آن عمل کند. اثرات مثبت سایتوکینین در افزایش وزن تر و خشک ریشه در گیاهچه‌های سیب‌زمینی در این آزمایش با پژوهش *ایمانی* و همکاران (2010) و زانگ و همکاران (2005) هم‌خوانی دارد.

1. Peter

با مقایسه میانگین‌ها مشخص شد که اثر متقابل غلظت ساکارز و تنظیم‌کننده رشد BA بر طول استولون معنی‌دار شده است (جدول ۱ و نمودار ۱). بدین ترتیب مشخص شد که روند تغییرات طول استولون در غلظت‌های مختلف تنظیم‌کننده رشد با سطوح مختلف ساکارز وضعیت یکنواختی نداشته است. با عدم‌مصرف تنظیم‌کننده رشد BA، سه غلظت ۳۰، ۴۵ و ۶۰ گرم در لیتر ساکارز به‌ترتیب بیش‌ترین و کم‌ترین طول استولون را داشتند و از نظر آماری نیز تفاوت معنی‌داری با هم داشتند. با مصرف تنظیم‌کننده رشد BA به میزان ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار طول استولون به‌صورتی معنی‌دار کاهش پیدا کرد. ضمن اینکه تفاوت معنی‌داری با این غلظت‌های تنظیم‌کننده رشد در سطوح مختلف ساکارز ایجاد نشد. با افزایش مصرف تنظیم‌کننده رشد به ۱۵۰ میکرومولار طول استولون کاهش پیدا کرد اما با این غلظت از تنظیم‌کننده رشد سه سطح ساکارز وضعیت یکنواختی نداشتند. (شکل ۱).



شکل ۱: مقایسه میانگین اثر متقابل غلظت‌های مختلف ساکارز و تنظیم‌کننده رشد BA بر طول استولون در گیاهچه‌های سیب‌زمینی
Fig. 1: Mean comparison of the interaction effect of different concentration of sucrose and BA growth regulator on stolon length in potato plantlets

اثرات تحریک‌کنندگی سایتوکینین در کاهش رشد طولی استولون با افزایش غلظت نشاسته و تحریک تقسیم سلولی در نقطه انتهایی مریستمی استولون مورد تأیید قرار گرفته است. به نظر می‌رسد که سایتوکینین این تحریک‌پذیری را با تأثیرات ناهمسازی[1] با جیبرلین به انجام می‌رساند (جکسون[2]، 1999). در این پژوهش کاهش طول استولون و ورود آن به مرحله غده زایی با سرعت تشکیل ریزغده و افزایش تعداد آن همراه بود. این نتایج می‌تواند ناشی از اثرات سایتوکینین بر تحریک تقسیمات سلولی و تشکیل سریع‌تر ریزغده در ناحیه انتهایی استولون باشد. در این پژوهش به‌طور مشخص با به‌کارگیری سایتوکینین BA و حتی با افزایش غلظت آن طول استولون به‌صورت معنی‌داری کاهش پیدا کرد، هرچند روند کاهش آن در غلظت‌های مختلف ساکارز یکنواخت نبود. از این نتایج چنین استنباط می‌شود که هرچند ساکارز و تنظیم‌کننده رشد سایتوکینین تأثیر قابل‌توجهی بر طول استولون دارند اما برهم کنش و اثرات توأم آن‌ها بیش‌تر مدنظر بوده و در شرایطی که غلظت متعادل این دو در گیاه سیب‌زمینی برقرار بشود، وضعیتی مطلوب در جهت کاهش رشد طولی استولون ایجاد شده و در جهتی عمل می‌کنند که وضعیت به نفع تولید غده بیش‌تر و سریع‌تر سوق پیدا کرده و از رشد طولی استولون‌ها کاسته شود.

با افزایش غلظت ساکارز تعداد ریزغده‌چه در گیاهچه افزایش یافته است. غلظت ۶۰، ۴۵ و ۳۰ گرم در لیتر ساکارز به‌ترتیب بیش‌ترین تعداد ریزغده را تولید نمودند. به‌طوری‌که میانگین تیمارها در گروه‌های جداگانه قرار گرفت (جدول ۳).

کاربرد ۵۰ میکرومولار BA و سپس کاربرد ۱۰۰ میکرومولار آن، بیش‌ترین تعداد ریزغده‌چه را تولید کردند و هرکدام در یک گروه جداگانه قرار گرفتند. تیمارهای صفر و ۱۵۰ میکرومولار

1. Antagonism
2. Jackson

تنظیم‌کننده رشد BA به‌ترتیب کم‌ترین تولید را داشتند و نسبت به دو غلظت ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار تفاوت آماری معنی دار نشان دادند (جدول ۳).

در بررسی اثرات غلظت ساکارز بر تعداد ریزغده نتایج پژوهش‌های مختلف به‌طور قطع و به اتفاق همسو نیستند. در برخی از آن‌ها (*رافیکو* و همکاران، 2004) افزایش غلظت به بیش‌تر از ۶ درصد با نتایج مثبتی در افزایش تولید ریزغده همراه نبوده است. اما در مواردی دیگر گزارش شده است که تا حد ۸ درصد بیش‌ترین ریزغده حاصل شده است (مطلبی آذر و همکاران، ۱۳۹۴؛ *اثنی‌عشری و ویلیرز*، 1988؛ *مانی* و همکاران، 2014). در موارد نادری هم که ترکیب ساکارز با تنظیم‌کننده سایتوکینین مدنظر قرار گرفته است، با سطح سایتوکینین پائین (۵ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر) همراه با ساکارز ۸ درصد نتیجه مطلوب حاصل شده است (*تووار* و همکاران، 1985؛ بیانی راد و همکارن، ۱۳۹۱). در مقام مقایسه با این پژوهش‌ها، نتایج پژوهش حاضر از نظر تأثیر ساکارز و غلظت مطلوب آن (۶۰ گرم در لیتر) بر تولید میزان ریزغده تا حدود زیادی همسو و هماهنگ با برخی از آزمایشات قبلی است. اما از نظر اثرات غلظت سایتوکینین بر تولید ریزغده با بیش‌تر تحقیقات انجام شده هم‌خوانی ندارد و با افزایش غلظت سایتوکینین به حدی بیش‌تر از دو برابر در مقایسه با آزمایشات قبلی، تولید ریزغده نه‌تنها متوقف نشده بلکه افزایش داشت. بنابراین نتایج این بخش از پژوهش می‌تواند از نکات قابل‌تأمل این یافته باشد. به نظر می‌رسد غلظت تنظیم‌کننده رشد BA تا حد ۵۰ میکرومول نه‌تنها اثر نامناسبی بر تولید ریزغده در سیب‌زمینی ندارد، بلکه مشوق و تحریک‌کننده آن نیز می‌باشد. از طرفی در غلظت‌های بالاتر از ۵۰ میکرومول BA ممکن است بی‌اثربودن و یا تأثرات بازدارندگی آن بروز کرد و در این آزمایش این وضعیت به اثبات رسید. ضمن این‌که واکنش نوع رقم هم بایستی لحاظ شود، چرا که رقم مورداستفاده در این آزمایش در آزمایشات قبلی تکرار نشده بود. ممکن است بخشی از اثرات مثبت افزایش غلظت سایتوکینین در غده‌زایی مربوط به واکنش نوع رقم باشد که لازم است مدنظر قرار گیرد.

روند تغییرات وزن ریزغده در غلظت‌های مختلف تنظیم‌کننده رشد BA و ساکارز یکنواخت نبود. در تیمار شاهد (عدم‌مصرف تنظیم‌کننده رشد) با افزایش سطح ساکارز وزن ریزغده افزایش پیدا کرد. با مصرف ۵۰ میکرومولار BA این وضعیت برقرار بود، اما میزان افزایش وزن ریزغده‌چه به‌مراتب بیش‌تر بود. در دو سطح ۱۰۰ و ۱۵۰ میکرومولار وضعیتی نسبتاً مشابه با تیمار شاهد تنظیم‌کننده رشد ایجاد شد و با افزایش غلظت ساکارز میزان وزن ریزغده افزایش پیدا کرد منتهی مراتب این افزایش کندتر و با سیر صعودی کم‌تری همراه بود (شکل ۲).

با نتایج این پژوهش مشخص شد که با افزایش سطوح ساکارز، وزن متوسط ریزغده در گیاهچه افزایش یافت و این افزایش در سطوح مختلف تنظیم‌کننده رشد وضعیت یکسانی نداشت و در سطوح کم‌تر از BA این اثربخشی چشمگیرتر و قابل‌توجه بود. افزایش وزن متوسط ریزغده حاصل با کاربرد غلظت‌های بالاتر ساکارز با پژوهش‌های مطلبی آذر و همکاران (۱۳۹۴) و هم‌چنین طریق *رفیق* و همکاران (2004) نیز موردتأیید قرار گرفته است.

طبق مطالعاتی که تاکنون انجام شده مشخص شده است که اساس بیولوژیکی غده‌زایی و تولید ریزغده در شرایط درون شیشه‌ای عبارت از ساکارز بالا، استفاده از هورمون سیتوکینین، القای روز کوتاهی یا تاریکی مطلق، دمای پایین یا استفاده از ترکیبات ضدجیبرلینی نظیر کلرو کولین کلراید (سایکوسل) می باشد (*وینترهالتر*[1] و همکاران، 2008).

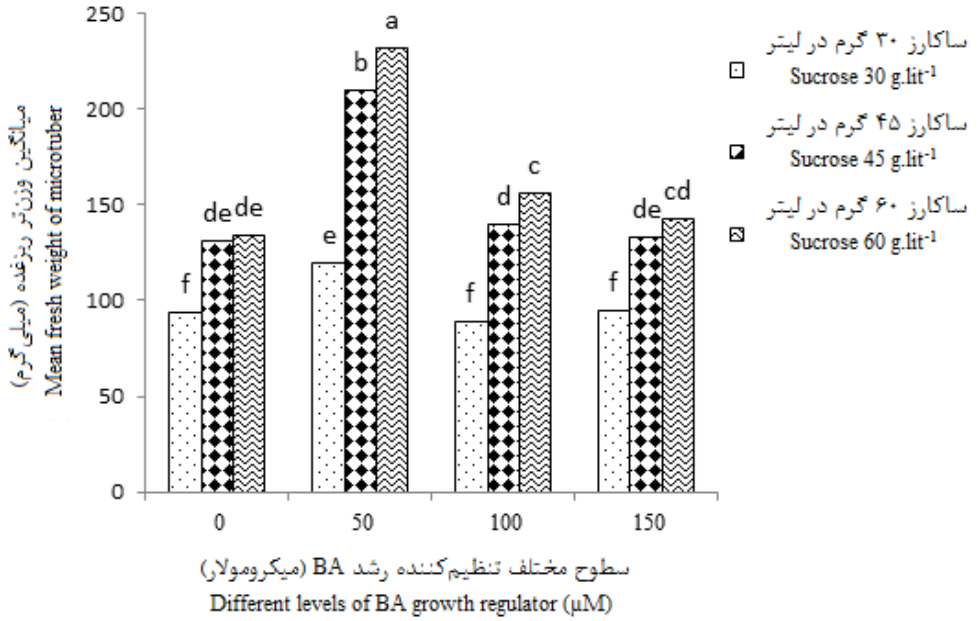
در پژوهش‌های دیگر مشخص شده است که کاربرد خارجی سیتوکینین غده‌زایی را تحریک می‌کند (*یاماموتو* و *ناکاتا*[2]، 1997؛ *زنگ*[3] و همکاران، 2005). هم‌چنین با افزایش سطح ساکارز غده‌زایی نیز افزایش پیدا کرده است (*گوژال* و همکارن، 2004). پژوهش‌های دیگر تأکید بر این دارند که سطوح ساکارز در کم‌تر از ۴۰ و بیش‌تر از ۸۰ گرم در لیتر در تولید ریزغده‌ها در سیب‌زمینی بی‌فایده می‌باشد (*ایمانی*[4] و همکاران، 2010).

با افزایش غلظت ساکارز ماده خشک ریزغده‌چه افزایش یافته است. غلظت ۶۰، ۴۵ و ۳۰ گرم ساکارز به‌ترتیب بیش‌ترین ماده خشک ریزغده را تولید نمودند، به‌طوری‌که از نظر آماری و با آزمون مقایسه دانکن در گروه‌های جداگانه قرار گرفتند (نمودار ۳).

با غلظت ۵۰ میکرومولار BA بیش‌ترین ماده خشک ریزغده تولید شد که از نظر آماری با سایر غلظت‌های تنظیم‌کننده رشد و تیمار شاهد تفاوت معنی‌دار نشان داد. تیمار ۱۰۰ میکرومولار تنظیم‌کننده رشد BA در موقعیت دوم قرار گرفت. با عدم مصرف تنظیم‌کننده رشد BA و با کاربرد ۱۵۰ میکرومولار آن درصد ماده خشک ریزغده نسبت به مصرف ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار کاهش معنی‌دار پیدا کرد و از این حیث صرفاً تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای ۱۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار ایجاد نشد. درصد ماده خشک ریزغده در دو تیمار شاهد (عدم‌مصرف BA) و ۱۵۰ میکرومولار آن به‌ترتیب ۱۹/۵۹ و ۱۹/۷۹ درصد

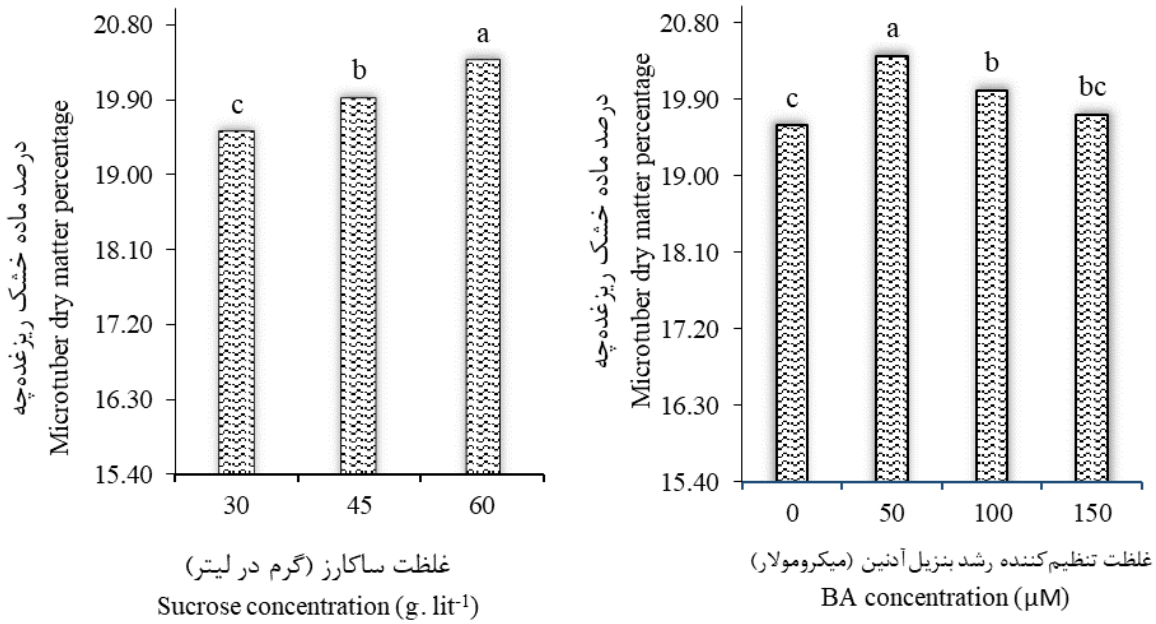
1. Vinterhalter
2. Yamamoto and Nakata
3. Zhang
4. Imani

حاصل شد که از نظر آماری هم تفاوت معنی‌داری در سطح ۵ درصد آزمون دانکن نداشتند (نمودار ۳).



شکل ۲: مقایسه میانگین اثر متقابل غلظت ساکارز و تنظیم‌کننده رشد BA بر وزن‌تر ریزغده در گیاهچه‌های سیب‌زمینی

Fig. 2: Mean comparison of the interaction effect of different concentration of sucrose and BA hormone on mean fresh weight of microtuber in potato plantlets



شکل ۳: مقایسه میانگین اثر غلظت‌های مختلف ساکارز و تنظیم‌کننده رشد BA بر درصد ماده خشک ریزغده‌چه

Fig. 3: Mean comparison of the effect of different concentration of Sucrose and BA growth regulator on microtuber dry matter percentage

افزایش نسبی در درصد ماده خشک ریزغده به موازات افزایش درصد ساکارز تا حد ۶۰ گرم در لیتر در این پژوهش با نتایج آزمایش *فتیما* و همکاران (2005) هم‌خوانی دارد.

تغییرات ماده خشک در غده سیب‌زمینی در عین‌حال که صفتی کمی بوده و وابستگی زیادی با نوع رقم دارد، اما به‌شدت تحت تأثیر شرایط محیط، رژیم تغذیه‌ای، مدیریت آبیاری و حتی ساختمان خاک قرار می‌گیرد. به‌طورکلی هر عاملی که شدت فتوسنتز را تغییر داده و در جهت دادن به آسیمیلات‌ها در سمت و سوی مقصد و منبع مؤثر باشد، می‌تواند بر تجمع ماده خشک در غده‌های سیب‌زمینی تأثیرگذار باشد (*اوینگ*،

1997). با توجه به نقش هورمون سایتوکینین در انتقال مواد فتوسنتزی به منبع و مقصد به نظر می‌رسد تنظیم‌کننده رشد BA در غلظت پایین در این امر تسریع ایجاد کرده و در انباشت زیست‌توده گیاهی و افزایش ماده خشک ریزغده مؤثر باشد.

نتیجه‌گیری

در مجموع با نتایج تحقیق مشخص شد در تولید ریزغده‌چه از گیاهچه و در کشت بافت سیب‌زمینی از رقم آریندا اضافه کردن تنظیم‌کننده رشد سایتوکینین در غلظتی نسبتاً بالا (۵۰ میکرومولار BA) مناسب بوده و حتی ضروری می‌باشد. ضمناً استفاده از ساکارز قابلیت گیاهچه‌ها را در تولید ریزغده افزایش داده و منجر به افزایش راندمان تولید ریزغده‌چه از آن‌ها می شود. بنابراین انتخاب ترکیبی از تنظیم‌کننده رشد BA با غلظت ۵۰ میکرومولار و ۶۰ گرم در لیتر ساکارز در افزایش درصد ماده خشک و هم‌چنین تعداد و وزن متوسط ریزغده تولیدی در کشت بافت سیب‌زمینی مناسب می‌باشد.

منابع

اثنی‌عشری، م. و زکائی خسروشاهی، م. ر. ۱۳۸۸. راهنمای جامع کشت بافت گیاهی. انتشارات دانشگاه بوعلی سینا. ۴۷۴ صفحه.

بلندی، ا. ر.، حمیدی، ح. و بیدختی، ر. ۱۳۹۲. بررسی تأثیر هورمون و فتوپریود بر تولید ریزغده در دو رقم سیب‌زمینی در شرایط درون شیشه‌ای. مجله علوم باغبانی، ۲۷ (۲): ۱۶۵-۱۵۸.

بیانی‌راد، ب.، بلندی، ا.، طاهری، ق. و حمیدی، ح. ۱۳۹۱، بررسی اثر هورمون BAP بر ریزغده‌زایی سیب‌زمینی در محیط‌کشت بافت، دومین همایش ملی علوم و تکنولوژی بذر، مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد.

مطلبی آذر، ع.، کاظمیانی نجف‌آبادی، س. و اکبری، ن. ۱۳۹۴. اثر فشار اسمزی بر ریزغده‌زایی درون شیشه‌ای در سیب‌زمینی رقم آگریا با کاربرد غلظت های مختلف ساکارز و پلی‌اتیلن گلایکول. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی، ۷ (۲): ۱۸۴-۱۷۱.

حق‌طلب، ز.، اثنی‌عشری، م.، چایچی، م. و مرادی پیام، ع. ۱۳۸۹. تأثیر تنظیم‌کننده‌های رشد BAP, GA3 در مراحل استولون‌زایی و غده‌زایی بر عملکرد مینی‌تیوبرهای رقم سانته. یازدهمین کنگره علوم زراعت و اصلاح نباتات. دانشگاه شهید بهشتی تهران.

رودبار شجاعی، ط.، سپهوند، ن.، امیدی، م.، محمدی، ع. و عبدی، ح. ر. ۱۳۸۶. واکنش چهار رقم تجاری سیب‌زمینی به ترکیبات متفاوت تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی در کشت. مجله علوم زراعی ایران، ۹ (۴): ۳۳۲-۳۴۴.

کاظمیانی نجف‌آبادی، س.، مطلبی‌آذر، ع. و پناهنده، ج. ۱۳۸۹. بهینه‌سازی مرحله پرآوری شاخساره و ریزغده‌زایی درون شیشه‌ای در سیب‌زمینی رقم آگریا. پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد. دانشگاه تبریز. ۹۰ صفحه.

کیانمهر، ب.، پارسا، م.، اطرشی، م. و نصیری محلاتی، م. ۱۳۹۰. بررسی تأثیر برخی تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی بر تولید گیاهچه، میکروتیوبر و مینی‌تیوبر در ارقام مختلف سیب‌زمینی. پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد. دانشگاه فردوسی مشهد. ۹۶ صفحه.

Ahmet Metin, K., Neset, A. and Cana, K. 2014. The effects of BAP with NAA and IBA on microtuberization of in vitro grown potatoes (Solanum tuberosum L.) under different photoperiod conditions. Iğdır University Journal of the Institute of Science and Technology, 4 (1): 73-82.

Akita, M. and Takayama, S. 1994. Induction and development of potato tubers in a jar fermenter. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 36: 177-182.

Dhital, S. P. 2004. Application of gibberellic acid and paclobutrazol for efficient production of potato (*Solanum tuberosum* L.) minitubers and their dormancy breaking under soilless culture system. Korean Journal of Horticultural Science and Technology, 45: 189-193.

El-sawy, A. and Bekhetet, S. 2007. Morphological and molecular characterization of potato microtubers production on coumarin inducing medium. International Journal of Agriculture and Biology, 9 (5): 675-686.

Esna- Ashari, M. and Villiers, T. A. 1988. Plant regeneration from tuber discs of potato (*Solanum tuberosom*) using BAP (6- benzylaminopurin). Potato Research, 41: 371-382.

Ewing, E. E. and Struik, P. C. 1992. Tuber formation in potato: induction, initiation and growth. Horticultural Reviews, 14: 89-198.

Ewing, E. E. 1995. The Role of Hormones in Potato (*Solanum tuberosum* L.) Tuberization, Plant Hormones. Physiology, Biochemistry and Molecular Biology, Davies, P. G. Ed., Dordrecht: Kluwer. pp. 698-724.

Fatima, B., Muhammad, U., Imtiaz, A. and Iqrar, A. K. 2005. Effect of explants and sucrose on microtuber induction in potato cultivars. International Journal of Agriculture and Biology, 7 (1): 63-66.

Garner, N. and Blake, J. 1989. The induction and development of potato microtubers in vitro on media free of growth regulating substances. Annual Scientific Reports, 63: 663-674.

Gopal, J., Chamail, A. and Sarkar, D. 2004. In vitro production of microtubers for conservation of potato germplasm: Effect of genotype, abscisic acid and sucrose. *In Vitro* Cell and Development of Plant Biology, 40: 485-490.

Harmey, M. A., Crowley, M. P. and Clinch, P. E. M. 1966. The effect of growth regulators on tuberisation of cultured stem pieces of *Solanum tuberosum*. European Potato Journal, 9: 146-151.
Hartman, T. H. 1990. Plant propagation, principle and practices. University of California, Davis Publisher, U. S. A. Volum 2, 455 pp.
Hussey, G. and Stacey, N. J. 1984. Factors affecting the formation of *in vitro* tubers of potato (*Solanum tuberosum* L.). American Potato Journal, 53: 565-578.
Imani, A. A., Qhrman Zadeh, R., Azimi, J. and Janpoor, J. 2010. The effect of various concentration of BAP and sucrose on *in vitro* potato microtuber induction. American-Eurasian Journal of Agric and Environmental Science, 8 (4): 457-459.
Jackson, D. S. 1999. Multiple signaling pathways control tuber induction in potato plant. Plant Physiology Journal, 119: 1-8.
Khuri, S. and Moorby, J. 1995. Investigation into the role of sucrose in potato cv. Estima microtuber production *in vitro*. Annual of Botany, 75: 295-303.
Khuri, S. and Moorby, J. 1996. Nodal segments or microtubers as explants for *in vitro* microtuber production of potato. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 45: 215-222.
Mani, F., Mhamdi, M., Bettaieb, T. and Hannachi, C. 2014. Shoot regeneration, micropropagation and microtuberization of potato (*Solanum tuberosum* L.) cultivars. Journal of New Science, 7 (2): 10-18.
Miheretu, F. and Mulugeta, D. 2014. Microtuber induction of two potato (*Solanum tuberosum* L.) varieties. Advances in Crop Science and Technology, 2 (2): 1-4:
Ortiz-Montiel, G. and Lozoya-Saldafia, H. 1987. Potato minitubers: Technology validation in Mexico. American Journal of Potato Research, 64: 535-544.
Peter, J. D. 2010. Plant Hormones, Biosynthesis, Signal Transduction, Action, Cornell University Ithaca publisher, 802 pp
Rossouw, J. A. 2008. Effect of cytokinin and gibberellin on tuber dormancy. M.Sc. Thesis. Department of Plant Production and Soil Science, University of Pretoria, Pretoria, South Africa. 77 p.
Sadek Hossain, M. D., Mofazzal Hossain, M., Tofazzal Hossain, M., Moynul Haque, M. and Dulal Sarkar, M. D. 2017. Varietal performance of potato on induction and development of microtuber in response to sucrose. Annals of Agricultural Science, 62: 75-81.
Sharma, A. K., Venkatasalam, E. P. and Singh, R. K. 2011. Microtuber production behaviour of some commercially important potato (*Solanum tuberosum*) cultivars. Indian Journal of Agricultural Science, 81 (11): 1008-1013.
Tariq rafique, M., Jafar jaskani, H. R. and Mazhar, A. 2004. *In Vitro* studies on microtuber induction in Potato. International Journal of Agriculture & Biology, 6 (2): 375–377.
Tovar, P., Estrada, R., Schilde-Rentschler, L. and Dodds, J. H. 1985. Induction and Use of *In vitro* Potato Tubers. CIP Circular 13. CIP, Lima, Peru pp. 1-5.
Vinterhalter, D., Dravicevic, I. and Vinterhalter, B. 2008. Potato *in vitro* culture techniques and biotechnology. Fruit, Vegetable and Cereal Science and Biotechnology, 2 (1): 16-45.
Wang, P. and Hu, C. 1985. *In vitro* mass tuberization and virus free seed potato production in Taiwan. American Potato Journal, 59: 33- 37.
Yamamoto, T. and Nakata, K. 1997. Effect of CCC and BA on formation of potato tuber *in vitro*. Japanese Journal of Crop Science, 66: 663-667.
Zhang, Z. J., Zhou, W. J. and Li, H. Z. 2005. The role of GA, IAA and BAP in the regulation of *in vitro* shoot growth and microtuberization in potato. Acta Physiological Plant, 27 (3): 363-369.

Effect of Benzyl Adenine (BA) and Sucrose on Plantlet Growth and Microtuber Production in Potato

Parvizi[1*], Kh., Soranj[2], Sh., Ebrahimi[3], A. and Ghorbani[4], M.

Abstract

Achieving an efficient combination of sucrose and benzyl adenin (BA) concentration is one of the success factors in potato microtuber production. In this experiment in order to study the effect of different concentrations of BA and sucrose on plantlets growth traits and their production of microtubers, healthy plantlets of Arinda cultivar were treated with different concentrations of BA and sucrose in MS culture medium *in vitro*. This research was conducted as a factorial experiment based on a completely randomized design. BA was used as the first factor with the concentrations of 0 (control), 50, 100 and 150 µM, and the second factor was sucrose at three concentration levels (30, 45 and 60 grams per liter). Some plantlets growth traits including stolon length, leaf number, root fresh and dry weight, stem fresh and dry weight, number of microtuber, fresh microtuber weight and its dry matter percentage were measured. The results showed that the effect of BA on all traits was significant, while sucrose effect was significant on some of traits only. The effect of BA and sucrose interaction was significant only on stolon length and microtuber weight. In most of the growth traits, as well as the number of microtuber and its percentage of dry matter, the concentration of 50 µM BA had the better results compared to the two other concentrations (100 and 150 µM). Nevertheless, there were the same results between 150 µM BA and control treatment in the most traits as well as microtuber productions. Growth traits of plantlet and their yield improved by the change in sucrose concentration, from 30 to 60 grams per liter.

Keywords: Arinda, Microtuber, Stolone, Dry matter

1 and 4. Research Assistant Professor and Instructot, Respectively, Seed and Plant Improvement Section, Hamedan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Hamedan, Iran

2 and 3. Former MSc Student and Associate of Professor, Respectively, Department of Agricultural Biotechnology, Payame Noor University, Tehran Shargh Branch, Tehran, Iran

*: Corresponding author Email: k.parvizi@areeo.ir

This paper has been extracted from the second author's MSc thesis under the guidance of Khosro Parvizi.