

تأثیر ساکارز و هورمون بر ریزغده‌زایی سه رقم سیب‌زمینی در کشت درون شیشه‌ای

The Effects of Sucrose and Hormone on *In vitro* Microtuberization of Three Potato Cultivars

احمدرضا بلندی^{۱*}، بهاره حفیظی^۲ و حسن حمیدی^۳

تاریخ پذیرش: ۹۵/۰۵/۲۲

تاریخ دریافت: ۹۳/۰۱/۱۷

چکیده

هدف از این مطالعه ارزیابی تأثیر رقم، ساکارز و هورمون بر ریزغده‌زایی سیب‌زمینی در شرایط کشت درون شیشه‌ای بود. بدین منظور آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار بر روی سه رقم سیب‌زمینی به نام‌های آگریا، مارفونا و ساتینا انجام شد. در این تحقیق، چهار سطح ساکارز (۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ گرم در لیتر) در ترکیب با دو محیط فاقد هورمون و استفاده از هورمون BAP و NAA (غلظت ۱۰ و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر) بر روی ریز نمونه‌های ارقام مذکور مورد مطالعه قرار گرفت. دوازده هفته پس از شروع کشت تعداد، وزن، قطر و تعداد چشم ریزغده‌ها اندازه‌گیری گردید. نتایج تجزیه واریانس اختلاف معنی‌داری بین ارقام، سطوح ساکارز و هورمون برای همه صفات مورد مطالعه نشان داد. در این آزمایش، رقم ساتینا بیش‌ترین مقادیر را برای تمامی صفات نشان داد در حالی که رقم مارفونا برای کلیه صفات به استثنای تعداد ریزغده که نسبت به رقم آگریا برتری داشت، کم‌ترین مقادیر را دارا بود. در بین سطوح مختلف ساکارز بهترین پاسخ از کاربرد ۸۰ گرم در لیتر به دست آمد و مقادیر ۶۰، ۴۰ و ۱۰۰ گرم به ترتیب در مراتب بعدی قرار داشتند. اگر چه غده‌زایی در غیاب هورمون انجام شد اما افزودن هورمون به محیط کشت موجب ارتقاء عملکرد غده‌زایی گردید. به‌طور کلی نتایج نشان داد که بیش‌ترین تعداد، وزن و قطر ریزغده و تعداد چشم در رقم ساتینا، غلظت ۸۰ گرم بر لیتر ساکارز در شرایط استفاده از ۱۰ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA حاصل شد.

واژه‌های کلیدی: آگریا، مارفونا، ساتینا، وزن ریزغده، اجزاء عملکرد

۱ و ۳. به ترتیب استادیار پژوهشی و محقق، بخش تحقیقات علوم زراعی و باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی، سازمان

تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مشهد، ایران

۲. دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد علوم و تکنولوژی بذر، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گلپه‌هار، مشهد

Email: AR_Bolandi@yahoo.com

*: نویسنده مسوول

مقدمه

سیب‌زمینی (*Solanum tuberosum* L.) یکی از گیاهان مهم زراعی در جهان می‌باشد و با تولید ۳۶۵ میلیون تن غده پس از ذرت، گندم و برنج از نظر عملکرد در رتبه چهارم قرار دارد. سطح زیرکشت این محصول در ایران ۱۸۰۰۰۰ هزار هکتار و تولید سالانه آن ۵۴۰۰۰۰۰ تن می‌باشد که از این نظر در رتبه دوازدهم جهان قرار دارد (FAO, 2012).

مشکل عمده تولید بذر سیب‌زمینی به روش سنتی، ضریب پایین تکثیر در مزرعه و همچنین حساسیت بالای این گیاه به ویروس‌ها، باکتری‌ها و بیماری‌های قارچی می‌باشد (دوبرانسکی و همکاران (Dobranszki et al., 2008). برای غلبه بر این مشکلات و تولید غده‌های بذری سالم و با کیفیت بالا می‌توان از روش کشت بافت استفاده نمود (کولمن و همکاران (Coleman et al., 2001). بهره‌مندی از این تکنولوژی ضمن تکثیر سریع مواد گیاهی سالم، تولید بذر سیب‌زمینی در سطح زیاد را تسهیل می‌کند. بدین منظور بعضی از محققین استفاده از گیاهچه شیپلی و همکاران؛ (دونلی و همکاران (Shibli et al., 2003; Donnely et al., 2001) و بعضی دیگر تولید ریزغده و استفاده از آن را به‌عنوان محصول نهایی کشت درون شیشه‌ای و منشاء اولیه بذر سالم مورد استفاده قرار داده‌اند (لک‌کرک و همکاران؛ سیبروک و همکاران؛ زنگ و همکاران؛ زکریا و همکاران (Leclerc et al., 1994; Seabrook et al., 2004; Zhang et al., 2005; Zakaria et al., 2008).

ریزغده عبارت از غده‌های کوچک با قطر دو تا ده میلی‌متر است که در شرایط درون شیشه‌ای روی قسمت‌های هوایی گیاهچه‌ها و بندرت در سطح محیط کشت ظاهر می‌شوند (گامی و همکاران (Gami et al., 2013). بسیاری از محققین استفاده از ریزغده را به‌عنوان یک ماده قابل تکثیر ایده‌آل برای تولید غده بذری با کیفیت بالا ذکر کردند و مزایای آن را نسبت به گیاهچه در سهولت انتقال و جابه‌جایی، آسیب‌پذیری کمتر در زمان انتقال، سرعت کاشت، عدم‌نیاز به گذراندن مرحله سازگاری و حفظ و ذخیره برای مدت زمان نسبتاً طولانی بیان نمودند (دونلی و همکاران، 2003؛ زکریا و همکاران، 2008؛ دوبرانسکی و همکاران، 2008؛ بلندی و ضرغامی؛ بلندی و حمیدی؛ بلندی و همکاران (Bolandi and Zarghami, 2005; Bolandi et al., 2011).

القاء و تکامل ریزغده به‌وسیله عوامل مختلفی از قبیل رقم، غلظت ساکارز، ترکیبات محیط‌کشت، هورمون‌های رشد، آنتی‌ژیرلین‌ها و شرایط محیطی مانند شدت نور، فتوپریود و درجه حرارت تحت تأثیر قرار می‌گیرد که شناخت مطلوب این

عوامل در افزایش غده‌زایی گیاهچه‌ها تأثیرگذار می‌باشد (شیپلی و همکاران، 2001؛ شمیو و همکاران؛ زنگ و همکاران، 2005؛ دوبرانسکی و همکاران، 2008؛ نیستور و همکاران؛ دهیتال و لیم (Dhital and lim, 2004; Nistor et al., 2010). مطالعه دهیتال و لیم (2004) بر روی هشت رقم سیب‌زمینی وابستگی ژنوتیپی صفات مرتبط با غده‌زایی را نشان داد به‌طوری‌که اختلاف معنی‌داری برای صفات وزن و تعداد ریزغده در هر گیاهچه برحسب رقم مشاهده گردید. در این مطالعه میانگین تعداد ریزغده تولید شده در هر گیاهچه از ۱/۲ تا ۲/۳ عدد و میانگین وزن آن‌ها از ۳۴۹ تا ۸۰۷ میلی‌گرم متفاوت بود. (لانتینی و ارلی (Lentini and Earle, 1991) از روند تکامل سیستم غده‌زایی در شرایط درون شیشه‌ای برای گزینش ژنوتیپ‌های سیب‌زمینی به‌منظور تعیین دوره رسیدگی آن‌ها استفاده نمودند و فقط موفق به شناسایی ارقام زوردس گردیدند. بلندی و همکاران (Bolandi et al., 2013) روی دو رقم سیب‌زمینی به نام‌های سانته و ساوالان اختلاف معنی‌داری را برای صفات تعداد، قطر و وزن ریزغده بین ارقام گزارش نمودند. در این گزارش رقم سانته برای تمام صفات مورد مطالعه پاسخ بهتری نسبت به رقم ساوالان نشان داد.

ساکارز شاید تنها ترکیب ضروری باشد که برای القاء غده‌زایی و تکامل ریزغده در شرایط کشت بافت به محیط کشت اضافه شده و به‌عنوان یک منبع کربن مناسب به آسانی به‌وسیله گیاهچه جذب و تبدیل به نشاسته می‌شود (یو و همکاران (Yu et al., 2000). شمیو و همکاران (2004) گزارش دادند که افزایش مواد غذایی به‌ویژه غلظت بالای ساکارز در مراحل اولیه رشد به شدت عملکرد ریزغده را افزایش می‌دهد. لذا به دلیل هیدرولیز سریع ساکارز و عدم امکان حفظ غلظت بالا برای مدت طولانی، برای تولید ریزغده باید ابتدا از محیط کشت با غلظت ۶٪ ساکارز و پس از ۶۰ روز از محیط جدید با غلظت ۸٪ ساکارز استفاده شود. دوبرانسکی و همکاران (2008) استفاده از ساکارز با غلظت ۳٪ را برای تولید و تکثیر گیاهچه و استفاده از غلظت‌های بالا (۸٪) را برای تولید ریزغده در سیب‌زمینی توصیه نموده‌اند.

جهت افزایش سرعت و میزان غده‌زایی در شرایط کشت درون شیشه‌ای از انواع هورمون‌های رشد گیاهی به‌ویژه سیتوکینین‌ها استفاده شده و نتایج متفاوتی در جهت افزایش تعداد و اندازه ریزغده گزارش گردیده است (شیپلی و همکاران، 2001؛ بادونی و چوهان (Badoni and Chauhan, 2010). این هورمون‌ها با تغییر میزان ژیرلین‌ها، غده‌زایی را تحریک می‌کنند (لانتینی و آرلی، 1991). سنزانو و همکاران (Cenzano

فاکتوریل سه عامله در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا گردید. تعداد نمونه در هر تکرار برای هر تیمار ۱۰ لوله آزمایش محتوی ۱۰ سی سی از محیط کشت بر پایه MS موراشیگ و اسکوگ (Murashige and Skoog, 1962) با ترکیبات مختلف ساکارز و هورمون بود که در سطح آن یک عدد ریزنمونه محتوی تک جوانه قرار گرفته بود. پس از کشت، کلیه نمونه‌ها به اتاق رشد با ۱۶ ساعت نور ($50 \mu\text{molm}^{-2} \text{s}^{-1}$) و ۸ ساعت تاریکی و درجه حرارت 24 ± 2 درجه سانتی‌گراد منتقل گردیدند. شش هفته پس از کشت نمونه‌ها به شرایط تاریکی کامل منتقل و در پایان هفته دوازدهم گیاهچه‌ها از ظروف کشت خارج و نسبت به برداشت ریزغده‌ها اقدام گردید. برای هر تیمار صفاتی شامل تعداد و وزن ریزغده و همچنین قطر و تعداد چشم در هر ریزغده شمارش گردید و نسبت به محاسبه میانگین‌ها اقدام شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS انجام شد. مقایسه میانگین داده‌ها نیز با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد صورت پذیرفت.

نتایج و بحث

ریزنمونه‌ها پس از استقرار روی محیط‌های کشت شروع به رشد نمودند و حدود چهار هفته پس از کشت از نظر رشد قسمت‌های هوایی و توسعه ریشه دارای وضعیت مطلوبی بودند. پس از این مدت در صورت عدم استفاه از گیاهچه‌ها، تشکیل و ظهور ریزغده در قسمت‌های مختلف گیاه به وقوع می‌پیوندد که تعداد و اندازه آن‌ها به مرور زمان افزایش می‌یابد. بهترین زمان برداشت ریزغده‌ها ۱۲ هفته پس از کشت ریزنمونه‌ها در داخل ظروف کشت می‌باشد.

نتایج تجزیه واریانس برای صفات مورد مطالعه در جدول ۱ نشان داده شده است. همان‌گونه که در این جدول مشاهده می‌گردد اثر رقم، ساکارز و هورمون برای تمامی صفات مورد مطالعه معنی‌دار می‌باشد. در این مطالعه همچنین اثر متقابل رقم در ساکارز و ساکارز در هورمون برای صفات مورد مطالعه معنی‌دار شده است اما اثر متقابل رقم در هورمون به‌جز برای صفت وزن ریزغده که در سطح پنج درصد معنی‌دار شده برای بقیه صفات معنی‌دار نمی‌باشد.

در جدول ۲ میانگین صفات تعداد، وزن و قطر ریزغده و همچنین تعداد چشم در هر ریزغده برای مطالعه تأثیر رقم، ساکارز و هورمون بر این صفات در شرایط کشت درون شیشه‌ای نشان داده شده است. در بین ارقام مورد مطالعه در این پژوهش رقم ساتینا برای تمام صفات مورد مطالعه پاسخ

(*et al.*, 2007) بیان کردند که برای شروع استولون‌زایی و طولی شدن آن‌ها سطح کم سیتوکنین‌ها ضروری می‌باشد اما برای شروع غده‌زایی، کاهش نسبت ژیرلین به اتیلن و یا افزایش سطح سیتوکنین‌ها به تناسب خروج جاسمونیک اسید از برگ‌ها لازم است.

نتایج نکریا و همکاران (2008) نشان داد که تعداد ریزغده در هر گیاهچه با افزایش هورمون BA تا ۱۰ میلی‌گرم در لیتر اضافه می‌شود ولی افزایش بیشتر هورمون موجب کاهش عملکرد آن می‌شود به طوری که افزایش مقدار این هورمون از ۱۰ به ۱۵ میلی‌گرم در لیتر تعداد و وزن ریزغده را به ترتیب ۷/۲۸ و ۳/۳۳ درصد کاهش داد.

دوبرانسکی و همکاران (2008) نشان دادند که برای القاء و تشکیل ریزغده سیب‌زمینی، افزایش مستقیم هورمون‌های رشد در محیط کشت، تغییر شرایط محیطی نظیر فتوپریود و شدت نور و یا ترکیب هر دو روش لازم است.

با توجه به تولید انبوه و تجاری هسته اولیه بذری در سال‌های اخیر در داخل کشور ضرورت دارد تحقیقات مستمر در راستای افزایش بهره‌وری و بهینه نمودن شرایط تولید به منظور افزایش عملکرد و کاهش هزینه تولید صورت پذیرد. در تحقیق حاضر شناخت مقدار مطلوب ساکارز و همچنین تأثیرگذاری هورمون بر ریزغده‌زایی سه رقم مهم تجاری سیب‌زمینی در کشت درون شیشه‌ای مورد مطالعه قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

به منظور مطالعه تأثیر محیط کشت و هورمون بر صفات مرتبط با عملکرد ریزغده، این آزمایش در سال ۱۳۹۱ در آزمایشگاه بیوتکنولوژی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی اجرا شد. مواد گیاهی مورد استفاده در این آزمایش از گیاهچه‌های سالم و عاری از ویروس سه رقم تجاری سیب‌زمینی که در شرایط درون شیشه‌ای رشد نموده بودند به دست آمد. بدین منظور گیاهچه‌های با حدود چهار هفته سن، در شرایط کاملاً سترون و در زیر دستگاه هود استریل از داخل ظروف کشت خارج و پس از حذف ریشه و برگ‌ها، به قطعات کوچک به طوری که در هر قطعه یک تک جوانه وجود داشته باشد تقسیم گردیدند.

در این آزمایش چهار سطح ساکارز شامل ۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ گرم در لیتر با دو میزان متفاوت از نظر هورمون (بدون هورمون و ۱۰BAP + ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر) روی سه رقم سیب‌زمینی به نام‌های آگریا، مارفونا و ساتینا مورد مطالعه قرار گرفت. بدین ترتیب این آزمایش با ۲۴ تیمار به صورت

بهتری نسبت به دو رقم دیگر نشان داد به طوری که تعداد ریزغده تولید شده توسط این رقم ۱۹/۷ درصد بیشتر از رقم آگریا و ۸/۸ درصد بیشتر از رقم مارفونا می‌باشد. برتری این رقم از نظر وزن ریزغده‌های تولید شده نسبت به دو رقم آگریا و مارفونا به ترتیب ۱۸/۳ و ۴۴ درصد می‌باشد. این رقم همچنین بالاترین مقادیر را برای قطر و تعداد چشم ریزغده نسبت به دو رقم دیگر نشان داد.

وابستگی ژنوتیپی ریزغده‌زایی در سیب‌زمینی توسط بسیاری از محققین گزارش گردیده است (کلرک و همکاران، ۱۹۹۴؛ شیبیلی و همکاران، ۲۰۰۱؛ کولمن و همکاران، ۲۰۰۱؛ شمبو و همکاران، ۲۰۰۴؛ نیستور و همکاران، ۲۰۱۰؛ بلندی و همکاران، ۲۰۱۱؛ بلندی و ضرغامی، ۲۰۰۱؛ بلندی و همکاران، ۲۰۱۳).

کلرک و همکاران (۱۹۹۴) سه رقم سیب‌زمینی را تحت دو تیمار هورمونی با شاهد مطالعه و اختلاف معنی‌داری بین ارقام برای وزن و تعداد ریزغده تولید شده توسط هر گیاهچه گزارش دادند. در این مطالعه میانگین وزن ریزغده از ۳۵۸ تا ۶۲۹ میلی‌گرم و تعداد ریزغده از ۶ تا ۸/۵ عدد برحسب رقم متفاوت بود. دوبرانسکی و همکاران (۲۰۰۸) به منظور بررسی تأثیر رقم بر غده‌زایی در کشت درون شیشه‌ای، مطالعاتی را بر روی ۱۱ رقم سیب‌زمینی با منشاء ژنتیکی و دوره رسیدگی مختلف انجام دادند و پاسخ‌های متفاوتی براساس رقم برای پتانسیل غده‌زایی مشاهده نمودند. نیستور و همکاران (۲۰۱۰) پتانسیل غده‌زایی سه رقم سیب‌زمینی Christian، Ostara و Roclas را مطالعه و اختلاف معنی‌داری بین ارقام براساس وزن و تعداد ریزغده در هر گیاهچه گزارش دادند. این محققین میانگین تعداد ریزغده را بین ۰/۶۸ تا ۱/۱۲ عدد براساس رقم گزارش نمودند. مطالعات لیلجانا و همکاران (Liljana et al., 2012) روی پتانسیل غده‌زایی دو رقم سیب‌زمینی به نام‌های آگریا و آندرا روی دو محیط مختلف کشت نشان داد که رقم آندرا هیچ ریزغده‌ای روی هیچ‌کدام از محیط‌ها تولید نکرد در صورتی که میانگین درصد غده‌زایی رقم آگریا در این دو محیط ۱۱/۶ درصد بود.

در تحقیق حاضر بین دو رقم آگریا و مارفونا برای صفات مورد مطالعه پاسخ‌های متفاوتی مشاهده گردید به طوری که برای بعضی صفات رقم آگریا و برای بعضی دیگر رقم مارفونا برتری نشان داد. به طور مثال تعداد ریزغده تولید شده در رقم مارفونا ۱۱/۹ درصد بیشتر از رقم آگریا بود در صورتی که وزن ریزغده این رقم نسبت به رقم آگریا ۴۶/۹ درصد کمتر می‌باشد. برتری رقم آگریا همچنین برای صفات قطر و تعداد چشم

ریزغده نسبت به رقم مارفونا در این آزمایش مشاهده می‌گردد (جدول ۲).

این نتایج مؤید این است که پتانسیل ارقام برای صفات مختلف در شرایط درون شیشه‌ای متفاوت می‌باشد به گونه‌ای که یک رقم ممکن است برای تعدادی از صفات نسبت به رقم دیگر برتری نشان دهد، در صورتی که برای تعداد دیگری از صفات عملکرد کمتری داشته باشد. پاسخ متفاوت ارقام سیب‌زمینی به صفات مختلف در کشت درون شیشه‌ای توسط برخی از محققین گزارش گردیده است لکلرک و همکاران، ۱۹۹۴؛ گوپال و همکاران؛ نیستور و همکاران، ۲۰۱۰؛ بلندی و همکاران، ۲۰۱۳؛ بلندی و ضرغامی، ۲۰۰۵ (Gopal et al., 1998).

مطالعات انجام شده توسط انجوم و ویلیرز (Anjum and Villiers, 1997) بر روی چهار گونه سیب‌زمینی در شرایط درون شیشه‌ای نشان داد علی‌رغم این که گونه *commersonii* بالاترین عملکرد را در بین گونه‌ها برای صفت تعداد ریزغده در هر گیاهچه تولید نمود، اما از نظر متوسط وزن ریزغده در بین چهار گونه در رتبه سوم قرار گرفت. در گزارشی دیگر نتایج مطالعه انجام شده در شرایط درون شیشه‌ای روی دو رقم سیب‌زمینی به نام‌های ساوالان و سانتا نشان داد که رقم ساوالان از نظر صفت تعداد جوانه یا میان‌گره ۸/۵ درصد نسبت به رقم سانتا برتری داشت اما از نظر شاخص‌های عملکرد ریزغده‌زایی همچون وزن و تعداد ریزغده رقم سانتا برتری معنی‌داری نسبت به رقم ساوالان نشان داد (بلندی و همکاران، ۲۰۱۳). در مطالعه دیگری روی پتانسیل ریزغده‌زایی دو رقم سیب‌زمینی به نام‌های آراسا (Ararsa) و هونده (Hunde) در کشت درون شیشه‌ای گزارش گردید علی‌رغم برتری ۱۹/۴ درصدی رقم آراسا نسبت به رقم هونده برای صفت قطر ریزغده، میانگین تعداد ریزغده این رقم ۴۷/۲ درصد کمتر از رقم هونده بود فوفا و دیرو (Fufa and Diro, 2013).

از فاکتورهای تأثیرگذار دیگر در غده‌زایی سیب‌زمینی در شرایط کشت درون شیشه‌ای مقدار ساکارز محیط کشت است.

همان‌گونه که در جدول ۲ مشاهده می‌گردد افزایش تدریجی مقدار ساکارز از ۴۰ به ۸۰ گرم در لیتر موجب افزایش عملکرد صفات مختلف گردید به طوری که تعداد ریزغده تولید شده در غلظت ۸٪ ساکارز نسبت به غلظت‌های ۴٪ و ۶٪ به ترتیب ۳۰/۳۲ و ۶۰٪ درصد افزایش نشان داد.

یو و همکاران (۲۰۰۰) با مطالعه سه غلظت ۴۰، ۶۰ و ۸۰ گرم در لیتر ساکارز نشان دادند که درصد غده‌زایی و وزن ریزغده در محیط با ۸۰ گرم در لیتر ساکارز به ترتیب ۲۲ و ۲۷ درصد بیشتر از مقادیر به دست آمده از محیط با ۴۰ گرم ساکارز

به دست آمد و با کاهش تدریجی ساکارز مقدار این صفت نیز کاهش یافت به طوری که در غلظت سه درصد ساکارز هیچ گونه ریزغده‌ای روی گیاهچه‌ها تشکیل نگردید (گامی و همکاران، 2013). حسین و همکاران (Hussain et al., 2006) چهار غلظت مختلف ساکارز (۳۰، ۶۰، ۹۰ و ۱۲۰ گرم) را در محیط کشت MS بر غده‌زایی رقم Cardinal مطالعه و بیشترین تعداد ریز غده را در محیط کشت با ۹۰ گرم در لیتر ساکارز گزارش دادند. در این تحقیق در غلظت ۳۰ گرم در لیتر هیچ ریزغده‌ای تشکیل نگردید حسین و همکاران (2006).

می‌باشد. این محققان گزارش نمودند استفاده از ساکارز با غلظت ۸٪ در محیط کشت به تنهایی و بدون نیاز به استفاده از هورمون‌های خارجی جهت غده‌زایی گیاهچه‌ها کافی بوده و در این غلظت ساکارز شرایط اسمزی مطلوبی برای تکامل ریزغده‌ها فراهم می‌گردد. گامی و همکاران (2013) شش سطح ساکارز را بر غده‌زایی گیاهچه‌های سیب‌زمینی رقم Kufri badshah مطالعه و گزارش نمودند که اختلاف معنی‌داری برای این صفت براساس مقدار ساکارز محیط کشت وجود دارد. در این مطالعه بیشترین تعداد ریزغده از کاربرد ساکارز با غلظت هشت درصد

جدول ۱: نتایج تجزیه واریانس اثر رقم، سطوح مختلف ساکارز و هورمون بر تولید ریزغده سیب‌زمینی

Table 1: Analysis of variance for the effects of cultivar, sucrose and hormone on microtuber production

تعداد چشم Eye number	قطر ریزغده Microtuber diameter	وزن ریزغده Microtuber weight	تعداد ریزغده Microtuber number	درجه آزادی df	منابع تغییرات Source of variance
1.4**	7.5**	176628.8**	0.526**	2	رقم Cultivar (C)
126.3**	68.2**	640449.4**	7.269**	3	ساکارز Sucrose (S)
71.3**	39.9**	445291.3**	2.637**	1	هورمون Hormone (H)
0.6*	0.7**	18162.1**	0.154**	6	رقم × ساکارز C×S
0.2 ^{ns}	0.2 ^{ns}	6001.3*	0.001 ^{ns}	2	رقم × هورمون C×H
8.8**	4.02**	19930.2**	0.77**	3	ساکارز × هورمون S×H
0.12 ^{ns}	0.11 ^{ns}	1079.9 ^{ns}	0.03 ^{ns}	6	رقم × ساکارز × هورمون C×S×H
0.25	0.18	1553.7	0.04	48	خطای آزمایش Error
8.9	10.6	12.9	14.5		درصد ضریب تغییرات (CV %)

*, **, و ns به ترتیب معنی‌دار در سطح ۵٪، ۱٪ و غیرمعنی‌دار

*, **, and ns, significant at 5%, 1% probability levels and not significant respectively

جدول ۲: مقایسه میانگین اثر رقم، سطوح مختلف ساکارز و هورمون بر تولید ریزغده سیب‌زمینی

Table 2: Mean comparisons of the effect of cultivar, sucrose and hormone on microtuber production of potato

تعداد چشم Eye number	قطر ریزغده (میلی‌متر) Microtuber diameter (mm)	وزن ریزغده (میلی‌گرم) Microtuber weight (mg)	تعداد ریزغده Microtuber number	تیماژ Treatment	رقم Cultivar
4.04b	5.74a	314.63b	1.18c	آگریا Agria	
3.55c	5.35b	214.20c	1.34b	مارفونا Marfona	
4.68a	5.78a	384.89a	1.47a	ساتینا Satina	
3.97c	5.40 c	242.24c	1.26c	40	
5.16b	7.15 b	400.93b	1.55b	60	ساکارز (گرم در لیتر)
5.81a	7.96 a	503.19a	2.02a	80	Sucrose (gr/l)
1.40d	1.99 d	71.93d	0.50d	100	
3.34b	4.63b	225.92b	1.14b	بدون هورمون Non- Hormone	هورمون (میلی‌گرم در لیتر)
4.83a	6.62a	383.21a	1.52a	۱۰ میلی‌گرم BAP + ۰/۵ میلی‌گرم NAA 10 mg BAP+0.5 mg NAA	Hormone (mg/l)

وجود یک حرف مشترک بین دو عدد نشانه معنی‌دار نبودن آن دو عدد با یکدیگر می‌باشد

Means within the same column and treatment followed by the same letter are not significantly different according to Duncan ($p \leq 0.05$)

مشابه با ۴ و ۱۲ درصد ساکارز گردید. لکلرک و همکاران (1994) گزارش دادند که غده‌زایی گیاهچه‌ها را می‌توان با قرار دادن ریزنمونه‌ها در محیط محتوی ۲۰ گرم در لیتر ساکارز برای مدت ۲۸ روز و سپس انتقال گیاهچه‌ها به محیط محتوی ۸۰ گرم در لیتر ساکارز بهبود بخشید.

تحقیقات زیادی استفاده از ساکارز با غلظت ۸٪ را مناسب‌ترین غلظت برای ریزغده‌زایی در کشت درون‌شیشه‌ای سیب‌زمینی گزارش داده‌اند (گارنر و بلک، 1989؛ یو و همکاران، 2000؛ شمبو و همکاران، 2004؛ دوبرانسکی و همکاران، 2008؛ گامی و همکاران، 2013)، معهدا بعضی از محققان استفاده از غلظت‌های کمتر را بدین منظور گزارش نموده‌اند. آلتیندال و کارادوگنال (2010) تأثیر چهار غلظت مختلف ساکارز (۲، ۴، ۶، ۸، ۱۰ و ۱۲ درصد) را بر غده‌زایی دو رقم سیب‌زمینی به نام‌های آگریا (Agria) و جوستین (Justine) مطالعه و بیش‌ترین تعداد ریزغده در هر دو رقم را از غلظت ۴٪ ساکارز گزارش نمودند ضمن این‌که در غلظت ۲٪ هیچگونه ریزغده‌ای تشکیل نگردید. در مطالعه دیگری فوفا و دیرو (۲۰۱۳) بیش‌ترین اجزاء عملکرد ریزغده سیب‌زمینی در کشت درون شیشه‌ای را در غلظت ۶٪ گزارش نمودند.

تأثیر مثبت استفاده از هورمون در این تحقیق بر روی همه صفات مورد مطالعه کاملاً مشهود است (جدول ۲). همان‌طورکه در این جدول مشاهده می‌گردد در محیط محتوی ۱۰ میلی‌گرم BAP + ۰/۵ میلی‌گرم NAA، میانگین تعداد و وزن ریزغده در

در تحقیق انجام شده هم‌چنین افزایش مقدار ساکارز محیط‌کشت از ۸۰ به ۱۰۰ گرم در لیتر صفات مورد مطالعه را به‌شدت کاهش داد به‌طوری‌که ضعیف‌ترین پاسخ برای تمامی صفات از کاربرد ۱۰۰ گرم در لیتر ساکارز به‌دست آمد. در این غلظت تعداد ریزغده نسبت به غلظت‌های ۶۰ و ۸۰ گرم در لیتر به‌ترتیب ۷۴/۲ و ۶۷/۷ درصد کاهش نشان داد (جدول ۲).

استفاده از غلظت‌های پایین ساکارز برای تشکیل و رشد ریزغده کافی نبوده و از طرف دیگر غلظت بالای ساکارز موجب افزایش فشار اسمزی محیط و عدم تعادل pH و بالانس ترکیبات غذایی شده و عملکرد را به‌شدت کاهش می‌دهد حسین و همکاران، 2006؛ آلتیندال و کارادوگان؛ فوفا و دیرو، 2013 (Altindal and Karadogan, 2010).

در این تحقیق تأثیر غلظت ساکارز روی بقیه صفات مورد مطالعه مانند وزن، قطر و تعداد چشم در هر ریزغده مشابه روند تغییرات برای صفت تعداد ریزغده بود و بالاترین مقادیر برای این صفات به‌ترتیب از غلظت‌های هشت، شش، چهار و ده درصد ساکارز به‌دست آمد. به‌عبارت دیگر عکس‌العمل صفات نسبت به تغییرات ساکارز در محیط‌کشت مشابه بود و با تغییر نسبت ساکارز تمامی صفات کاهش و یا افزایش می‌یافت (جدول ۲).

بر طبق گزارش گارنر و بلک (Garner and Blake, 1989) استفاده از ساکارز با غلظت هشت درصد موجب تسریع در زمان غده‌دهی، افزایش تعداد و وزن ریزغده در مقایسه با محیط

برای تشکیل ریزغده استفاده از هورمون BAP ضروری می‌باشد به‌گونه‌ای که در صورت استفاده از دو هورمون دیگر به تنهایی و یا توأم هیچ‌گونه ریزغده‌ای تشکیل نمی‌شود. این نتیجه ضمن بیان تأثیر هر هورمون بر صفت مشخص، اهمیت کلیدی هورمون BAP را در القاء و تولید ریزغده در سیب‌زمینی نشان می‌دهد. بنابراین با توجه به هدف تحقیق، برای دستیابی به حداکثر عملکرد صفات موردنظر، بایستی ترکیب مناسبی از هورمون انتخاب گردد.

شمبو و همکاران (2004) تأثیر شش ترکیب مختلف هورمونی و یک محیط فاقد هورمون را بر ریزغده‌زایی هشت رقم سیب‌زمینی در شرایط درون شیشه‌ای مطالعه نمودند و کم‌ترین عملکرد ریزغده و هم‌چنین پایین‌ترین درصد ریزغده‌های بزرگ‌تر از یک گرم را از تیمار بدون هورمون گزارش دادند. این محققان گزارش دادند استفاده از ریزغده‌های با اندازه بزرگ‌تر به دلیل تعداد ساقه بیشتر و قوی‌تر دارای عملکرد بیشتری در شرایط گلخانه و یا مزرعه نسبت به غده‌های کوچک‌تر می‌باشند.

مقایسه میانگین اثر متقابل رقم در ساکارز بر صفات مورد مطالعه (جدول ۳) نشان داد که بیش‌ترین تعداد، وزن و قطر ریزغده و تعداد چشم در رقم ساتینا و غلظت ۸۰ گرم بر لیتر ساکارز وجود داشت. تعداد و وزن ریزغده تولید شده توسط رقم ساتینا نسبت به رقم آگریا به ترتیب ۲۹/۷ و ۱۶/۲۲ درصد افزایش و نسبت به رقم مارفونا به ترتیب ۱۷/۲ و ۴۱/۷ درصد برتری نشان داد. در مقابل استفاده از ۱۰۰ گرم در لیتر ساکارز مقادیر صفات در همه ارقام را کاهش داد به‌گونه‌ای که ضعیف‌ترین پاسخ برای همه صفات و در هر سه رقم از این غلظت ساکارز به دست آمد. نتایج حاصل از ترکیب ارقام با سطوح مختلف ساکارز نشان می‌دهد که روند تغییرات عملکرد در همه ارقام و برای کلیه صفات با توجه به تغییرات غلظت ساکارز مشابه و یکسان می‌باشد به‌طوری‌که بهترین پاسخ در همه ارقام و برای همه صفات از غلظت ۸٪ ساکارز و غلظت‌های ۰٫۴٪ و ۱۰٪ به ترتیب در رده‌های بعدی قرار گرفتند.

مقایسه با محیط فاقد هورمون به ترتیب ۲۵ و ۴۱ درصد افزایش نشان می‌دهد که این افزایش برای قطر ریزغده ۳۰/۱ درصد می‌باشد. به‌علاوه ریزغده‌های تولید شده در محیط دارای هورمون از نظر تعداد چشم برتری معنی‌داری نسبت به محیط فاقد هورمون نشان دادند به‌طوری‌که تعداد چشم در این محیط ۴۴/۶ درصد بیشتر از تعداد آن در محیط فاقد هورمون بود.

استفاده از هورمون‌های رشد به‌ویژه سیتوکنین‌ها به‌منظور تحریک غده‌زایی در گیاهچه‌های سیب‌زمینی توسط محققان زیادی گزارش گردیده است گوپال و همکاران، ۱۹۹۸؛ شیبلی و همکاران، ۲۰۰۱؛ زنگ و همکاران، ۲۰۰۵؛ سنزائو و همکاران؛ زکریا و همکاران، ۲۰۰۸؛ بادونی و چوهان، ۲۰۱۰ (Cenzano *et al.*, 2007).

گوپال و همکاران (۱۹۹۸)، ۲۲ رقم سیب‌زمینی را روی محیط MS با ترکیبات مختلف هورمونی قرار دادند و بالاترین عملکرد برای تعداد ریزغده در هر گیاهچه و هم‌چنین میانگین وزن ریزغده را از قرار دادن گیاهچه‌ها روی محیط محتوی ۱۰ میلی‌گرم در لیتر هورمون BAP گزارش نمودند. این محققان گزارش دادند تزریق هورمون در محیط‌کشت برای رشد و تکامل ریزغده ضروری بوده ولی چنانچه هدف شناسایی و تعیین پتانسیل ذاتی ارقام به غده‌زایی باشد القاء غده‌زایی حتی در محیط بدون هورمون انجام می‌شود. بادونی و چوهان (۲۰۱۰) با مطالعه سه غلظت هورمون BAP بر غده‌زایی سیب‌زمینی رقم Kufri Himalini نشان دادند که میانگین وزن و تعداد ریزغده و هم‌چنین تعداد چشم در هر ریزغده با افزایش غلظت هورمون BAP از هشت به ده میلی‌گرم در لیتر افزایش می‌یابد ولی افزایش بیشتر از این مقدار هورمون موجب کاهش این صفات می‌گردد. این محققان بهترین پاسخ برای این صفات را به ترتیب از غلظت‌های ۱۰، ۱۲ و ۸ میلی‌گرم در لیتر به دست آوردند. نتایج مطالعات زنگ و همکاران (۲۰۰۵) روی تأثیر سه نوع هورمون IAA، BAP و GA3 بر رشد گیاهچه و تولید ریزغده یک رقم تجاری سیب‌زمینی به نام Zihuabai نشان دادند برای رشد گیاهچه سطوح بالای اکسین‌ها ضروری بوده در صورتی‌که

جدول ۳: مقایسه میانگین اثر متقابل رقم در ساکارز بر تعداد، وزن، قطر و تعداد چشم ریزغده در سیب‌زمینی

Table 3: Mean comparisons of the effect of cultivar and sucrose on number, weight, diameter and eye of microtuber in potato

تعداد چشم Eye number	قطر ریزغده (میلی‌متر) Microtuber diameter (mm)	وزن ریزغده (میلی‌گرم) Microtuber weight (mg)	تعداد ریزغده Microtuber number	ساکارز Sucrose	رقم Cultivar
3.85e	5.43d	235.02e	1.18d	40	آگریا Agria
5.19c	7.38b	430.14c	1.34d	60	
5.72b	7.98ab	522.49 b	1.68c	80	
1.38f	2.18e	70.86g	0.39e	100	
3.45e	5.30d	164.29f	1.27d	40	مارفونا Marfona
4.50d	6.58c	268.71e	1.62c	60	
4.96cd	7.49b	363.43d	1.98b	80	
1.31f	2.03e	60.37g	0.47e	100	
4.61d	5.45d	327.41d	1.32d	40	ساتینا Satina
5.80b	7.48b	503.95b	1.68c	60	
6.76a	8.42a	623.64a	2.39a	80	
1.50f	1.77e	85.55g	0.50e	100	

وجود یک حرف مشترک بین دو عدد نشانه معنی‌دار نبودن آن دو عدد با یکدیگر می‌باشد

Means within the same column and treatment followed by the same letter are not significantly different according to Duncan ($p \leq 0.05$)

بین رقم و ساکارز قرار دارد و پاسخ ارقام در سطوح مختلف ساکارز متفاوت می‌باشد.

مطالعات فوق و دیرو (2013) عکس‌العمل متفاوت ارقام به غلظت‌های مختلف ساکارز را نشان دادند. در این گزارش رقم هیونده (Hunde) در غلظت‌های ۶٪ و ۸٪ ساکارز نسبت به رقم آراسا (Ararsa) از نظر وزن ریزغده برتری داشت در صورتی‌که در غلظت ۱۰٪ عملکرد رقم آراسا نسبت به هیونده بیشتر بود. در تحقیقی دیگر آلتیندال و کارادوگان (2010) عکس‌العمل متفاوت ارقام به غلظت‌های مختلف ساکارز را مطالعه و بالاترین مقادیر برای صفات وزن و قطر ریزغده در رقم جوستین (Justine) را از غلظت ۴٪ ساکارز و برای رقم آگریا (Agria) از غلظت ۱۰٪ ساکارز گزارش دادند.

نتایج این تحقیق همچنین رفتار متفاوت ارقام در غلظت‌های مختلف ساکارز بر یک صفت را نشان داد. به‌عنوان مثال تعداد ریزغده رقم ساتینا در غلظت ۸٪ ساکارز ۲۰/۷ درصد بیشتر از تعداد آن در رقم مارفونا می‌باشد در صورتی‌که این برتری در غلظت ۶٪ به ۳/۷ درصد کاهش یافت (جدول ۳). برای صفت وزن ریزغده برتری رقم ساتینا نسبت به رقم مارفونا در غلظت ۸٪ ساکارز ۷۱/۴ درصد می‌باشد که این برتری در غلظت ۶٪ به ۸۷/۵ درصد رسید. همان‌طور که در جدول ۳ مشاهده می‌گردد قطر ریزغده‌های رقم مارفونا در غلظت ۱۰٪ ساکارز ۱۲/۸ درصد بیشتر از رقم ساتینا است در حالی‌که در غلظت ۶٪ رقم ساتینا نسبت به رقم مارفونا ۱۲ درصد برتری نشان می‌دهد. این نتایج نشان می‌دهد که غده‌زایی در سیب‌زمینی تحت تأثیر وابستگی

جدول ۴: مقایسه میانگین اثر متقابل ساکارز در هورمون بر تعداد، وزن، قطر و تعداد چشم ریز غده در سیب‌زمینی

Table 4: Mean comparisons of the effect of sucrose and hormone on number, weight, diameter and eye of microtuber in potato

تعداد چشم Eye number	قطر ریزغده (میلی‌متر) Microtuber diameter (mm)	وزن ریزغده (میلی‌گرم) Microtuber weight (mg)	تعداد ریزغده Microtuber number	هورمون Hormone	ساکارز Sucrose
3.60e	4.98f	188.99e	1.14e	بدون هورمون Non- Hormone	40
4.34d	5.81e	295.49d	1.37d	۱۰ میلی‌گرم BAP + ۰/۵ میلی‌گرم NAA 10 mg BAP+0.5 mg NAA	
4.73cd	6.51d	338.76c	1.50cd	بدون هورمون Non- Hormone	60
5.59b	7.78b	463.10b	1.60c	۱۰ میلی‌گرم BAP + ۰/۵ میلی‌گرم NAA 10 mg BAP+0.5 mg NAA	
5.03c	7.03c	375.96c	1.91b	بدون هورمون Non- Hormone	80
6.60a	8.90a	630.41a	2.11a	۱۰ میلی‌گرم BAP + ۰/۵ میلی‌گرم NAA 10 mg BAP+0.5 mg NAA	
0.00g	0.00h	0.00f	0.00f	بدون هورمون Non- Hormone	100
2.80f	3.98g	143.85f	1.00e	۱۰ میلی‌گرم BAP + ۰/۵ میلی‌گرم NAA 10 mg BAP+0.5 mg NAA	

وجود یک حرف مشترک بین دو عدد نشانه معنی‌دار نبودن آن دو عدد با یکدیگر می‌باشد

Means within the same column and treatment followed by the same letter are not significantly different according to Duncan ($p \leq 0.05$)

وزن ریزغده از محیط دارای هورمون با ۰.۶٪ ساکارز گزارش داد. میانگین وزن ریزغده‌های تولید شده روی این محیط نسبت به محیط مشابه از نظر غلظت ساکارز ولی بدون هورمون ۳/۳۴ برابر بیشتر بود.

نتایج نشان می‌دهد برای دستیابی به تولید بیش‌ترین تعداد غده در کشت درون‌شیشه‌ای سیب‌زمینی ابتدا بایستی سطح مطلوب ساکارز در محیط‌کشت مشخص و سپس برای افزایش راندمان نسبت به اضافه نمودن هورمون اقدام نمود. به عبارت دیگر تأثیر سطح مطلوب ساکارز به‌تنهایی بر تولید ریزغده بیشتر از تأثیر هورمون با اضافه غلظت کم ساکارز بر این صفت می‌باشد. همان‌گونه که در جدول ۴ مشاهده می‌گردد تعداد ریزغده تولید شده در محیط فاقد هورمون با ۸۰ گرم ساکارز نسبت به محیط محتوی هورمون با ۶۰ گرم ساکارز ۱۵/۸ درصد افزایش عملکرد نشان می‌دهد. در مقابل برای صفات وزن و قطر ریزغده افزایش هورمون به محیط‌کشت در بهبود عملکرد این صفات بسیار تأثیرگذار بوده به‌طوری‌که وزن و قطر ریزغده در محیط محتوی هورمون با ۰.۶٪ ساکارز نسبت به محیط بدون هورمون ولی با ۰.۸٪ ساکارز به‌ترتیب ۱۸/۸ و ۹/۶ درصد افزایش راندمان نشان داد. این نتایج نشان می‌دهد که استفاده از ساکارز و هورمون در محیط‌کشت علاوه بر تأثیر مثبت بر شاخص‌های غده‌زایی در سیب‌زمینی، نقش ساکارز بیشتر در القاء غده‌زایی و نقش هورمون در ادامه رشد ریزغده می‌باشد.

مقایسه میانگین اثر متقابل ساکارز در هورمون بر صفات مورد مطالعه (جدول ۴) نشان داد که بیش‌ترین تعداد، وزن و قطر ریزغده و تعداد چشم از کاربرد ۸۰ گرم ساکارز در محیط محتوی ۰/۵ میلی‌گرم NAA + ۱۰ میلی‌گرم BAP به‌دست آمد درحالی‌که در محیط فاقد هورمون با ۱۰۰ گرم ساکارز هیچ‌گونه ریزغده‌ای تشکیل نگردید. در این آزمایش در تمامی غلظت‌های ساکارز، افزودن هورمون به محیط‌کشت موجب افزایش مقادیر صفات گردید هرچند نسبت افزایش در غلظت‌های مختلف ساکارز متفاوت بود. به‌طور مثال در غلظت ۰.۸٪ استفاده از محیط دارای هورمون وزن ریزغده را ۶۷/۷ درصد نسبت به محیط فاقد هورمون افزایش داد درصورتی‌که این نسبت در محیط با ۰.۶٪ ساکارز ۳۶/۷ درصد می‌باشد.

در این آزمایش تأثیرپذیری وزن ریزغده در مقایسه با تعداد ریزغده در اثر تزریق هورمون به محیط‌کشت بیشتر مشاهده گردید. به‌طور مثال در غلظت ۰.۸٪ ساکارز، وزن ریزغده در محیط دارای هورمون نسبت به محیط فاقد هورمون ۶۷/۷ درصد بیشتر می‌باشد درصورتی‌که این برتری برای تعداد غده ۱۰/۵ درصد است. این نتایج نشان می‌دهد القاء غده‌زایی در محیط فاقد هورمون انجام می‌شود ولی برای رشد و تکامل ریزغده افزودن هورمون به محیط‌کشت مفید می‌باشد.

هوک (Hoque, 2010) دو غلظت ۰.۳٪ و ۰.۶٪ ساکارز را در دو محیط فاقد هورمون و چهار میلی‌گرم در لیتر کینیتین روی رقم دیامانت (Diamant) مطالعه و بهترین پاسخ را برای تعداد و

منابع:

جهت مطالعه منابع به صفحه‌های ۱۵-۱۶ متن انگلیسی مراجعه شود.