

## بررسی تأثیر هورمون‌های رشد در شرایط درون شیشه بر رشد و تولید گیاهچه و غده‌چه در گیاه سیب‌زمینی

محمود اطرشی\*، کوثر مرادی و عبدالرضا نبی‌نژاد

پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی منطقه مرکزی کشور (ABRII)، اصفهان

### چکیده

آزمایش‌های مورد نظر به منظور تعیین اثرات مستقیم و غیرمستقیم هورمون‌های گیاهی جیبرلیک اسید ( $GA_3$ ) و کلرومکوات کلراید (CCC) در شرایط درون شیشه بر روی فاکتورهای رشد و متعاقب آن، تولید غده‌چه سیب‌زمینی در شرایط درون شیشه (اثرات غیرمستقیم) به مرحله اجرا درآمدند. سه غلظت متفاوت از هورمون جیبرلیک اسید (۰/۱، ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم در لیتر) و سه غلظت از هورمون CCC (۱۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر) در مورد سه کولتیوار سیب‌زمینی (گلوریا (Gloria)، مارفونا (Marfona) و آگریا (Agria)) شدند. غلظت‌های بالای CCC منجر به تولید شاخساره‌های کمتر گردید. کوتاهترین گیاهچه‌ها با کمترین تعداد برگ بر روی گیاهچه‌های رشد کرده بر روی محیط حاوی ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر CCC مشاهده گردید. بالاترین غلظت هر دو هورمون، کمترین میزان سطح برگ را منتج گردید. هورمون جیبرلیک اسید تعداد ریشه را افزایش داد. گیاهچه‌های رشد کرده بر روی محیط‌های کشت حاوی ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر CCC سیستم ریشه کوتاهتری را تولید نمودند. اثرات مستقیم هورمون‌های رشد بر روی تعداد و اندازه غده‌چه‌ها معنی‌دار بودند. هر دو پارامتر (ریشه و ساقه) به وسیله هورمون جیبرلیک اسید کاهش معنی‌داری را نشان دادند. قلمه‌های تهیه شده از گیاهچه‌های پیش‌تیمار شده با CCC کمترین تعداد غده‌چه با کوچکترین اندازه و کمترین وزن را تولید نمودند. تعداد، اندازه و وزن غده‌چه برای هر سه کولتیوار مورد مطالعه یکسان بود.

**واژه‌های کلیدی:** کلرومکوات، غده‌چه، گیاهچه درون شیشه، جیبرلیک اسید، غده‌چه سیب‌زمینی

### مقدمه

در سیستم مرسوم و سنتی، عمدتاً تولید و تکثیر سیب‌زمینی با استفاده از غده‌های بذری صورت می‌گیرد. این شیوه تکثیر دارای معایبی، همچون سرعت پایین تکثیر و خطر بالای آلودگی غده‌ها به عوامل بیماریزا، همچون:

قارچ‌ها، باکتری‌ها و ویروس‌هاست (Struik and

Wiersema, 1999; Beukema and Zaag, 1990).

از طرف دیگر، حدود ۱۵ درصد از سطح زیر کشت سیب‌زمینی دنیا برای تولید غده بذری به شیوه مزبور صرف می‌گردد (FAO, 2000). لذا، ضرورت یافتن راهکار

غده‌چه) هورمون‌های رشد گیاهی به طور گسترده و وسیع استفاده می‌شوند. در مرحله تولید گیاهچه، هورمون‌های گیاهی سرعت رشد و برخی دیگر از پارامترها همچون طول گیاهچه، فاصله بین گره‌ها و غیره را تحت تأثیر قرار می‌دهند.

بر اساس تحقیقات انجام شده توسط Miller و همکاران (۱۹۸۵) جیبرلیک اسید ( $GA_3$ ) باعث افزایش طول گیاهچه و تعداد جوانه - که در یک برنامه‌ریزی ازدیادی از اهمیت ویژه‌ای برخوردارند - می‌شود. جیبرلیک اسید تشکیل غده‌چه سیب‌زمینی را نیز تحت تأثیر قرار می‌دهد، در حالی که هورمون کلرومکوات کلراید (CCC) کاهش ارتفاع گیاهچه را منتج می‌گردد (Miller *et al.*, 2008; Zakaria *et al.*, 1985). در هر حال، تحقیقات انجام شده حاکی از آن است که غده‌زایی تحت تأثیر فاکتورهای مختلفی، از جمله ترکیبات هورمونی است (Coleman *et al.*, 2001).

برخی از تحقیقات انجام شده بیانگر اثر بازدارنده هورمون  $GA_3$  بر روی غده‌زایی و تولید غده‌چه سیب‌زمینی است. برخی از هورمون‌های رشد گیاهی، همچون CCC منجر به کاهش رشد برخی از قسمت‌های گیاه می‌گردد در حالی که در خصوص دیگر قسمت‌های گیاه، افزایش رشد و تسریع در ظهور غده را منتج می‌گردد (Zakaria *et al.*, 2008) و همچنین طبق نظر Wang و Chy (۱۹۸۲)، CCC تشکیل غده‌چه را تسهیل نموده و ترفیع می‌دهد.

بر اساس گزارش‌ها، ترکیباتی که تأثیر بازدارندگی بر روی رشد رویشی گیاه سیب‌زمینی دارند، در بسیاری از مواقع به تحریک غده‌زایی در این گیاه منجر گردیده‌اند (Wang and Chy, 1982; Zakaria *et al.*, 2008). تحقیقات دیگری نیز در ارتباط با کاربرد هورمون‌های رشد در محیط‌های کشت صورت گرفته که مؤید تأثیر آن بر

اساسی برای رفع مشکل مزبور همواره ضروری و محسوس است (Struik and Wiersema, 1999; Beukema and Zaag, 1990).

سیب‌زمینی می‌تواند با استفاده از تکنیک کشت بافت در مقیاس بالایی تکثیر گردد. در سال‌های اخیر، یک سیستم تولید غده بذری سیب‌زمینی در شرایط کشت در شیشه با بهره‌گیری از گیاهچه یا غده‌چه سیب‌زمینی طراحی و بهره‌برداری شده است. چنین شیوه‌ای امکان تکثیر سریعتر و تأمین حجم انبوهی از غده‌های بذری سالم و عاری از عوامل بیماری‌زا در فاصله زمانی کوتاه را فراهم می‌نماید (Struik and Wiersema, 1999; Beukema and Zaag, 1990).

گیاهچه‌های سیب‌زمینی گیاهان کوچکی هستند که معمولاً از طریق کشت قلمه‌های سیب‌زمینی دارای جوانه در شرایط درون شیشه تولید می‌شوند، در حالی که غده‌چه سیب‌زمینی غده‌های ریزی هستند که در شرایط درون شیشه تولید گردیده، می‌توانند در تمام طول سال و در مکان‌های مختلف بر روی گیاهچه‌های سیب‌زمینی تولید شوند (Ranalli, 1997).

استفاده از غده‌چه سیب‌زمینی در یک برنامه تولید غده بذری سیب‌زمینی، دارای مزایایی همچون: آسانی و سهولت نقل و انتقال، امکان تولید در تمام طول سال در زمان و مکان‌های مختلف، نیاز به فضای کوچک، عاری بودن از کلیه عوامل بیماری‌زا و برداری از درجه بالای سلامتی بذر است (Struik and Wiersema, 1999)، بر اساس برخی گزارش‌ها (Dodds, 1988) اگر نقل و انتقال محموله با تأخیر مواجه گردد، غده‌چه در مقایسه با گیاهچه‌ها خسارت کمتری را متحمل خواهد شد.

به طور معمول، در یک شیوه تکثیر در شرایط درون شیشه (چه در مرحله تولید گیاهچه و چه در مرحله تولید

در لیتر آگار و pH معادل ۵/۸ بود. در ادامه کار، ظروف کشت با درپوش‌هایی از جنس پلی‌کربنات بسته و اطراف درپوش‌ها با پارافیلیم مسدود گردید.

ظروف حاوی ریزنمونه‌ها در اتاق رشد با دمای ۲۴ درجه سانتی‌گراد، شدت نور ۳۰۰۰ لوکس و ۱۶ ساعت نور و ۸ ساعت تاریکی برای مدت ۵ هفته قرار گرفتند. در طول مدت مذکور، ریزنمونه‌ها رشد کرده، تولید ریشه و ساقه نمودند. بعد از ۵ هفته گیاهچه‌های تولید شده مجدداً به صورتی که در بالا ذکر شد، واگشت گردیده، بر روی محیط کشت MS تازه واگشت شدند. عملیات تکثیر و واگشت به گونه‌ای که ذکر شد تا حصول تعداد گیاهچه مورد نیاز برای شروع آزمایش اصلی به طور مرتب و به فواصل ۵ هفته تکرار گردید.

### تولید غده‌چه در شرایط در شیشه و اعمال تیمارها به منظور ارزیابی اثرات مستقیم هورمون‌های رشد

آزمایش اول به منظور بررسی تأثیر مستقیم هورمون‌های رشد بر روی تولید غده‌چه انجام شد. زمانی که تعداد گیاهچه مورد نیاز فراهم گردید، محلول هورمون‌های گیاهی مورد نظر ( $GA_3$  و کلرومکوآت) آماده گردید. بطور همزمان محیط کشت حاوی ۴/۴ گرم در لیتر محیط کشت MS، ۸۰ گرم در لیتر ساکاروز و ۶ گرم در لیتر آگار تهیه شد. pH محیط در حد ۵/۷ و قبل از اضافه کردن آگار و انجام اتوکلاو تنظیم شد. بلافاصله پس از انجام عملیات اتوکلاو و قبل از منجمد شدن محیط کشت، غلظت‌های منظور شده از هورمون‌های مورد نظر، سه غلظت از هورمون  $GA_3$  (۰/۱، ۰/۵ و ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر) و سه غلظت از هورمون کلرومکوآت (۱۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر) به محیط کشت مورد نظر اضافه گردید و

غده‌زایی است (Hussey and Stacey, 1984).

گرچه مطالعاتی در خصوص تأثیر هورمون‌های رشد گیاهی در شرایط درون شیشه انجام شده است، لیکن کمبود اطلاعات جامع در زمینه اثرات مستقیم هورمون‌های گیاهی در شرایط درون شیشه و تأثیرات بعدی آنها بر روی تولید غده‌چه سیب‌زمینی، هنوز از مشکلات اساسی و عمده به شمار می‌آید و ضرورت انجام مطالعات جامع در این زمینه کاملاً ضروری و الزامی به نظر می‌رسد. هدف اصلی این تحقیق، شناسایی اثرات مستقیم و اثرات غیرمستقیم جیبرلیک اسید و کلرومکوآت در شرایط درون شیشه بر روی تولید گیاهچه‌های سیب‌زمینی و به دنبال آن تولید غده‌چه سیب‌زمینی به منظور افزایش تعداد، اندازه و وزن غده‌چه است.

### مواد و روش‌ها

#### تکثیر گیاهچه‌ها در شرایط درون شیشه‌ای

آزمایش در شرایط آزمایشگاهی در آزمایشگاه کشت بافت بخش اصلاح نباتات دانشگاه Wageningen هلند و در مورد سه رقم سیب‌زمینی گلوریا، مارفونا و آگریا (Gloria، Marfona و Agria) انجام پذیرفت. ابتدا گیاهچه‌های سه رقم سیب‌زمینی مورد نظر از بانک ژن مرکز تحقیقات بین‌المللی دانشگاه Wageningen هلند فراهم گردید. سپس گیاهچه‌های مورد اشاره به قطعاتی به طول ۱ سانتی‌متر تقسیم گردیدند، به طوری که هر قطعه، دارای یک برگ و یک جوانه جانبی بود. در هر ظرف کشت حاوی ۵۰ میلی‌لیتر محیط کشت MS (Murashige MS (and Skoog, 1962) ریزنمونه کشت گردید. محیط کشت مورد استفاده حاوی ۴/۴ گرم در لیتر محیط کشت MS، حاوی ۳۰ گرم در لیتر ساکاروز و ۸ گرم

۱۲ میلی‌لیتر محیط کشت جامد قرار گرفتند (در هر لوله آزمایش یک ریزنمونه کشت گردید). این ریزنمونه‌ها بر روی همان محیط کشت با تیمارهای هورمونی مورد نظر توضیح داده شده در آزمایش اول کشت گردیدند. لوله‌های آزمایش به روشی که قبلاً بیان گردید، مسدود گردیده، در اتاق رشد تحت شرایط ۲۴ درجه سانتی‌گراد، ۱۶ ساعت نور برای یک دوره ۳ هفته‌ای قرار گرفتند.

پس از سپری شدن مدت ۳ هفته تعداد شاخساره، طول درازترین ساقه (ارتفاع گیاهچه)، تعداد برگ‌ها، سطح برگ، تعداد ریشه و طول درازترین ریشه، به منظور ارزیابی اثرات مستقیم و غیرمستقیم هورمون‌های رشد گیاهی بر روی تولید گیاهچه سبب‌زمینی اندازه‌گیری و ثبت گردید. در جهت ارزیابی اثرات غیرمستقیم هورمون‌های رشد گیاهی بر روی تولید غده‌چه سبب‌زمینی، ریزنمونه‌های گیاهی از گیاهچه‌های فوق‌الذکر به شیوه‌ای که در آزمایش اول بیان گردید، تهیه شدند. این ریزنمونه‌ها که MS داخل لوله‌های آزمایش حاوی ۱۲ میلی‌لیتر محیط کشت استاندارد (همان محیط کشت استاندارد بالا بیان گردیده و بدون هرگونه هورمون گیاهی) کشت گردیدند. ریزنمونه‌ها در شرایط ۲۴ درجه سانتی‌گراد و تاریکی مطلق قرار گرفتند. پس از ۵۲ روز تعداد، اندازه و وزن غده‌چه‌ها یادداشت‌برداری و ثبت گردید.

### طرح آزمایش و آنالیز آماری

آزمایش به صورت طرح کاملاً تصادفی و در قالب آزمایش‌های فاکتوریل با دو فاکتور انجام پذیرفت. دو فاکتور مورد استفاده عبارت بودند از: هورمون رشد (فاکتور A) با ۷ سطح (۶ غلظت هورمون‌های رشد و یک شاهد) و کولتیوار سبب‌زمینی (فاکتور B: گلوریا، مارفونا و آگریا).

افزون بر آن، محیط کشت بدون هورمون (شاهد) نیز آزمایش شد.

ریزنمونه‌های حاوی یک برگ و یک جوانه جانبی از گیاهچه‌های فوق‌الذکر تهیه و درون لوله‌های آزمایش حاوی ۱۲ میلی‌لیتر محیط کشت ذکر شده، کشت گردیدند، درون هر لوله آزمایش، یک ریزنمونه کشت گردید. لوله‌های آزمایش با درپوش بسته و با نوار پلاستیک خانگی مسدود گردیدند و در اتاق رشد تحت شرایط ۲۴ درجه سانتی‌گراد و تاریکی برای مدت ۱۰ هفته قرار داده شدند. پس از ۵ هفته، تعداد غده‌چه بر روی گیاهچه شمارش گردید و پس از ۱۰ هفته غده‌چه‌های تولید شده برداشت گردیدند و تعداد، اندازه و وزن غده‌چه تولید شده به وسیله هر گیاهچه به منظور بررسی و ارزیابی اثرات مستقیم و غیرمستقیم هورمون‌های گیاهی بر روی تولید غده‌چه سبب‌زمینی ثبت گردید.

### تولید گیاهچه و غده‌چه سبب‌زمینی و انجام تیمارهای مورد نظر به منظور ارزیابی اثرات مستقیم هورمون‌های رشد بر روی تولید گیاهچه سبب‌زمینی در شرایط درون شیشه و همچنین اثرات غیرمستقیم بر روی تولید غده‌چه

آزمایش دوم به منظور ارزیابی اثرات مستقیم هورمون‌های گیاهی بر روی تولید گیاهچه سبب‌زمینی و متعاقب آن، ارزیابی اثرات غیرمستقیم این هورمون‌ها بر روی غده‌زایی و تولید غده‌چه سبب‌زمینی تحت شرایط درون شیشه با استفاده از محیط کشت شاهد و محیط کشت حاوی هورمون‌های گیاهی انجام پذیرفت.

ریزنمونه‌های گیاهی دارای یک جوانه جانبی و یک برگ از گیاهچه‌های ۵ هفته‌ای سالم و عاری از عوامل بیماری‌زای گیاهی تهیه شدند و در لوله‌های آزمایش حاوی



آزمایش ۲ نشان داد که اثرات مستقیم هورمون‌های رشد بر روی رشد گیاهچه معنی‌دار بود (جدول ۱). بالاترین تعداد شاخساره بر روی گیاهچه‌های رشد کرده در محیط‌های کشت حاوی ۱۰۰ میلی‌گرم هورمون کلرومکوات مشاهده گردید، در حالی که گیاهچه‌های

تیمار شده با غلظت بالاتر هورمون کلرومکوات کمترین تعداد ساقه را تولید نمودند. درازترین گیاهچه‌ها مربوط به تیمار شاهد و کوتاه‌ترین گیاهچه‌ها مربوط به تیمار ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر کلرومکوات بود (جدول ۱).

جدول ۱- اثرات مستقیم سه تیمار جیبرلیک اسید، کلرومکوات و رقم بر تعداد شاخساره، ارتفاع گیاهچه، تعداد برگ، سطح برگ، تعداد ریشه و طول ریشه.

| تعداد شاخساره | ارتفاع گیاهچه (mm) | تعداد برگ | سطح برگ (mm <sup>2</sup> ) | تعداد ریشه | طول ریشه (mm) |                               |              |
|---------------|--------------------|-----------|----------------------------|------------|---------------|-------------------------------|--------------|
| ۱/۰۲ b        | ۳۹/۹b              | ۷/۵ab     | ۳۵/۶ab                     | a۱۰/۲      | b۵۱/۴         | ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر          |              |
| ۱/۰۷b         | ۳۸/۵b              | ۸/۴ab     | a۳۷/۸                      | a۱۲/۲      | b۵۴/۳         | ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر          | جیبرلیک اسید |
| ۰/۹bb         | ۳۵/۸b              | ۶/۵bc     | b۲۲/۲                      | a۱۱/۳      | b۴۹/۴         | ۱ میلی‌گرم در لیتر            |              |
| a۱/۸۱         | b۳۶/۰              | a۸/۶      | ab۳۲/۳                     | b۵/۹       | b۵۴/۳         | ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر          |              |
| c۰bbb         | c۲۶/۵              | cd۶/۰     | ab۳۸/۷                     | b۴/۸       | b۵۱/۱         | ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر          | CCC          |
| c۰bbb         | d۱۹/۱              | d۹/۴      | b۲۲/۶                      | b۳/۶       | c۳۱/۶         | ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر         |              |
| ab۱/۳۸        | a۴۷/۶              | a۸/۲      | a۳۵/۵                      | b۵/۰       | a۶۱/۷         | شاهد                          |              |
| a۱/۲۹         | a۴۱/۹              | a۸/۰      | a۴۷/۴                      | a۱۰/۴      | b۴۶/۱         | گلوریا                        | رقم          |
| a۱/۲۰         | a۳۸/۲              | a۸/۴      | b۳۲/۵                      | bb۸/۱      | a۵۴/۷         | مارفونا                       |              |
| b۰/۱۶         | b۲۴/۲              | b۵/۰      | c۱۲/۱                      | cb۴/۱      | a۵۰/۹         | آگریا                         |              |
| **            | **                 | *         | NS                         | **         | **            | اثر متقابل رقم × جیبرلیک اسید |              |

حروف مشابه در هر ستون بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن است. \*\*: تفاوت معنی‌دار کمتر از ۰/۰۱؛ \*: تفاوت معنی‌دار کمتر از ۰/۰۵؛ NS: تفاوت بی معنی (p>۰/۰۵)

بالاترین تعداد برگ بر روی گیاهچه‌های رشد کرده بر روی محیط کشت حاوی غلظت‌های کمتر جیبرلیک اسید و کلرومکوات و همچنین تیمار شاهد مشاهده گردید. کمترین تعداد برگ با غلظت‌های بالاتر کلرومکوات مرتبط بود. بالاترین میزان سطح برگ در غلظت‌های پایین‌تر GA<sub>3</sub> و همچنین کنترل مشاهده گردید. غلظت‌های بالاتر GA<sub>3</sub> و کلرومکوات کمترین میزان سطح برگ را سبب گردیدند (جدول ۱). هر سه تیمار GA<sub>3</sub> در مقایسه با

سه تیمار کلرومکوات و شاهد، تعداد ریشه بیشتری را تولید نمودند (جدول ۱). بیشترین طول ریشه بر روی گیاهچه‌های رشد کرده در محیط‌های کشت بدون هورمون (شاهد) مشاهده گردید، در حالی که گیاهچه‌های رشد کرده در محیط‌های حاوی بالاترین غلظت کلرومکوات کوتاه‌ترین ریشه را تولید نمودند.

بود، اگرچه با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری نداشت و کمترین تعداد غده چه در ارتباط با سه تیمار کلرومکوات و بالاترین غلظت  $GA_3$  ملاحظه گردید. سه غلظت هورمون کلرومکوات، غده‌چه‌های با کمترین وزن و اندازه را سبب گردیدند (جدول ۲).

## اثرات غیر مستقیم هورمون‌های رشد بر روی تولید غده چه

نتایج حاصله بیانگر وضعیت مثبت تأثیرات غیر مستقیم هورمون‌های رشد مورد مطالعه بر روی تعداد، اندازه و وزن غده چه بود (جدول ۱). بیشترین تعداد غده چه با بالاترین اندازه و وزن مربوط به تیمار ۰/۵ میلی گرم جیبرلیک اسید

جدول ۲- اثرات ثانویه و غیرمستقیم  $GA_3$  و کلرومکوات بر تعداد، اندازه و وزن غده چه

| وزن غده چه (mg) | اندازه غده چه (mm) | تعداد غده چه |                      |                         |
|-----------------|--------------------|--------------|----------------------|-------------------------|
| bc۰/۳۵          | bc۰/۲۸             | bc۰/۲۴       | ۰/۱ میلی گرم در لیتر |                         |
| ab۲/۹۵          | ab۰/۹۳             | ab۰/۵۲       | ۰/۵ میلی گرم در لیتر | جیبرلیک اسید            |
| bc۱/۲۰          | bc۰/۳۳             | cb۰/۱۴       | ۱ میلی گرم در لیتر   |                         |
| c۰/۰۰           | c۰/۰۵              | c۰/۰۵        | ۰/۱ میلی گرم در لیتر |                         |
| c۰/۰۰           | c۰/۰۰              | c۰/۰۵        | ۰/۵ میلی گرم در لیتر | کلرومکوات               |
| c۰/۰۰           | c۰/۰۰              | c۰/۰۰        | ۱ میلی گرم در لیتر   |                         |
| ab۱/۵۸          | ab۰/۵۷             | ab/۳۸        | شاهد                 |                         |
| a۱/۰۰           | a۰/۴۰              | a۰/۲۲        | گلوریا               |                         |
| a۱/۰۰           | a۰/۲۱              | a۰/۱۴        | مارفونا              | رقم                     |
| a۱/۰۰           | a۰/۳۲              | a۰/۲۲        | آگریا                |                         |
| NS              | NS                 | NS           |                      | اثر متقابل هورمون × رقم |

حروف مشابه در هر ستون، بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن است. NS: تفاوت بی معنی ( $p > 0.05$ )

## بحث

### اثرات مستقیم هورمون‌های رشد

در مجموع، گیاهچه‌های رشد کرده بر روی محیط‌های کشت حاوی کلرومکوات و همچنین محیط‌های کشت بدون هر گونه هورمون (شاهد) در مقایسه با گیاهچه‌های رشد کرده بر روی محیط‌های کشت حاوی  $GA_3$  غده‌چه‌های درازتری را تولید نمودند (شکل ۱)، لیکن اختلاف معنی‌داری در وزن میکروتیورها مشاهده نگردید. بنا به گزارش Harvey و همکاران (۱۹۹۱) در یک کولتیوار از سیب‌زمینی که به سختی غده‌زایی نمود، حضور کلرومکوات باعث تحریک در تشکیل غده چه گردید،

## اثرات کولتیوار

اختلاف معنی‌داری در خصوص تعداد شاخساره، ارتفاع گیاهچه، تعداد برگ، سطح برگ، تعداد ریشه و طول ریشه بین کولتیوارهای مورد مطالعه مشاهده گردید، در حالی که تعداد غده چه‌ها و اندازه آنها برای هر سه کولتیوار یکسان بود (جدول‌های ۱ و ۲ و شکل ۱).

## اثرات متقابل

در خصوص تعداد شاخساره، ارتفاع گیاهچه، تعداد برگ، تعداد ریشه و طول ریشه اثر متقابل معنی‌داری بین هورمون و کولتیوار مشاهده گردید (جدول ۱).

کلرومکوات در محیط‌های کشت باعث کاهش طول میانگره‌ها و همچنین ارتفاع گیاهچه می‌گردد. کاهش معنی‌داری در خصوص تعداد برگ در گیاهچه‌های رشد کرده بر روی محیط‌های کشت حاوی غلظت‌های بالای کلرومکوات مشاهده گردید (جدول ۱).

همه تیمارهای  $GA_3$  افزایش تعداد ریشه را سبب گردید، در حالی که کلرومکوات اثر معنی‌داری بر روی تعداد ریشه نداشت (جدول ۱). به رغم فقدان تأثیر معنی‌دار کلرومکوات، گرایشی به تعداد ریشه کمتر در غلظت بالاتر کلرومکوات ملاحظه می‌گردد. محیط‌های بدون هر گونه هورمون در مقایسه با محیط‌های حاوی  $GA_3$  و یا کلرومکوات گیاهچه‌هایی با ریشه‌های درازتر فراهم نمود. افزایش غلظت کلرومکوات در محیط کشت کاهش طول ریشه را به دنبال داشت (جدول ۱).

### اثرات غیرمستقیم هورمون‌های رشد گیاهی بر روی تولید غده‌چه سیب‌زمینی

جدول ۲ تأثیرات معنی‌دار هورمون‌های رشد اعمال شده بر روی تولید غده‌چه (تعداد، اندازه و وزن غده‌چه) را نشان می‌دهد. تیمار ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر هورمون  $GA_3$  در طول رشد گیاهچه، بهترین نتیجه را برای تعداد، اندازه و وزن غده‌چه فراهم نموده، اگرچه از نظر آماری اختلاف معنی‌داری را با شاهد نشان نمی‌دهد. دیگر تیمارهای اعمال شده منجر به کاهش تعداد، اندازه و وزن غده‌چه‌ها گردیدند.

### اثرات کولتیوارها

نتایج حاصله بیانگر آن است که کولتیوار گلوریا (خیلی زودرس) گیاهچه‌های درازتر، تعداد شاخساره، برگ، ریشه

لیکن در یک کولتیوار سیب‌زمینی که به راحتی غده‌زایی می‌نمود، عدم حضور کلرومکوات کاهش وزن تازه غده‌چه را سبب گردیده است. آنها همچنین گزارش نمودند که غلظت کلرومکوات در محیط‌های کشت ممکن است در خصوص کولتیوارهایی که به سختی غده می‌دهند، بر روی رشد غده‌چه تأثیر زیان‌آوری داشته باشد. تاریخ برداشت غده‌چه هیچ اثر معنی‌داری بر روی تعداد میکروتیوبر نداشت و تعداد غده‌چه در دو تاریخ برداشت ۵ و ۱۰ هفته بعد از شروع آزمایش یکسان بود.

نتیجه آزمایش ما که بیانگر نقش منفی اثرات مستقیم  $GA_3$  در تشکیل غده‌چه سیب‌زمینی است. به وسیله تحقیقات انجام شده توسط محققانی همچون Wang و Chy (۱۹۸۲) نیز تأیید می‌گردد.

بالاترین تعداد شاخساره بر روی گیاهچه‌های رشد کرده بر روی محیط‌های حاوی کمترین غلظت کلرومکوات و تیمار شاهد مشاهده گردید. افزودن  $GA_3$  و یا افزایش غلظت کلرومکوات در محیط‌های کشت منجر به کاهش تعداد شاخساره می‌گردد (جدول ۱). کلیه تیمارهای هورمونی اعمال شده در مقایسه با شاهد، کاهش قابل ملاحظه‌ای در خصوص ارتفاع گیاهچه را سبب می‌گردد. همان‌طور که انتظار می‌رفت حضور کلرومکوات در محیط‌های کشت، کاهش ارتفاع گیاهچه را سبب گردید. افزایش غلظت کلرومکوات در محیط‌های کشت به شدت باعث کاهش ارتفاع گیاهچه گردید. کوتاهترین گیاهچه‌ها بر روی محیط‌های کشت حاوی بالاترین غلظت کلرومکوات مشاهده گردید (جدول ۱). Miller و همکاران (۱۹۸۵) در بررسی‌های خود دریافتند که کلرومکوات به شدت ارتفاع گیاهچه را کاهش می‌دهد. Vecchio و همکاران (۲۰۰۰) گزارش نمودند که حضور



فراهم نماید.

تأثیر معنی‌داری از اثر متقابل هورمون رشد × کولتیوار در ارتباط با تعداد شاخساره، برگ و ریشه، ارتفاع گیاهچه و طول ریشه وجود دارد (جدول ۱).

تحقیقات انجام شده توسط Wang و Chy (۱۹۸۲) بیانگر آن است که برخی از اثرات متقابل بین هورمون‌های رشد و دیگر فاکتورها به طور معمول در غده‌زایی در شرایط درون شیشه مشاهده می‌گردد.

### نتیجه‌گیری

هورمون‌های رشد گیاهی در شرایط درون شیشه، علاوه بر اثرات مستقیم، دارای تأثیر بر تولید غده‌چه سیب‌زمینی نیز هستند. به کارگیری هورمون رشد کلرومکوات در شرایط درون شیشه، تأثیر بازدارنده بر روی ارتفاع گیاهچه سیب‌زمینی دارد؛ ضمن آنکه پیش تیمار نمودن گیاهچه‌های سیب‌زمینی با هورمون کلرومکوات کاهش تعداد و اندازه غده‌چه سیب‌زمینی را باعث خواهد شد.

استفاده از هورمون جبرلیک اسید، سیستم ریشه‌ای گیاهچه سیب‌زمینی را در شرایط درون شیشه بهبود می‌بخشد، لیکن تعداد غده‌چه‌ها را کاهش می‌دهد.

و سطح برگ بیشتری در مقایسه با کولتیوار آگریا (کولتیوار دیررس) فراهم می‌نماید. به هر حال، آگریا در مقایسه با گلوریا، گیاهچه‌هایی با ریشه‌های درازتر را تولید می‌نماید (جدول ۱).

از بین کولتیوارهای مورد مطالعه، دو کولتیوار گلوریا و مارفونا گیاهچه‌هایی تولید می‌کنند که از نظر تعداد شاخساره، ارتفاع و سطح برگ مشابه هستند، در حالی که دو کولتیوار مارفونا و آگریا از نظر طول ریشه مشابه هستند. در هر دو آزمایش، سه وارپته در خصوص تولید غده‌چه به طور مشابه عمل نموده، تعداد، اندازه و وزن غده‌چه‌ها در هر سه کولتیوار مورد مطالعه یکسان است.

برخی از تحقیقات انجام شده، از جمله بررسی‌های انجام شده توسط Miller و همکاران (۱۹۸۵) مؤید این مطلب است که کولتیوارهای مختلف سیب‌زمینی، پاسخ متفاوتی را در رابطه با افزودن هورمون‌های رشد نشان می‌دهند.

### اثرات متقابل

اثر متقابل هورمون رشد × رقم در جدول ۱ حاکی از آن است که برخی از ترکیبات هورمونی و کولتیوار ممکن است نتایج بهتر و مطلوب‌تری را در مقایسه با سایر ترکیبات

### منابع

- Beukema, H. P. and Zaag, D. E. (1990) Introduction to potato production. The Journal of Agricultural Science 116: 169-169.
- Coleman, K. W., Danielle, J. D. and Colleman S. E. (2001) Potato microtuber as research tools: A Review. American Journal of Potato Research 78:47-55
- Dodds, J. H. (1988) Tissue culture technology: practical application of sophisticated methods. American Journal of Potato Research 65: 167-181.
- FAO (2000) FAO Yearbook Production, Food and Agriculture Organization of United Nation, Rome.
- Harvey, B. M. R., Crothers, N. E. and Selby, C. (1991) The use of growth retardants to improve microtuber formation by potato (*Solanum tuberosum*). Plant Cell, Tissue and Organ Culture 27: 59-64.
- Hussey, G. and Stacey, N. J. (1984) Factors affecting the formation of *in vitro* tubers of potato (*Solanum tuberosum* L.). Annals of

Botany 53: 565-578.

Miller, P. R., Amirouche, L. T. and Matthews, S. (1985) The use of plant growth regulators in micropropagation of slow-growing potato cultivars. *Potato Research* 28: 479-486.

Murashige, T. and Skoog, F. (1962) Revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Plant physiology* 15: 473-497.

Ranalli, P. (1997) Innovative propagation methods in seed tuber multiplication programmes. *Potato Research* 40: 439-453.

Struik, P. C. and Wiersema, S. G. (1999) *Seed Potato Technology*. Wageningen Pers, Wageningen, *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 65:173-174.

Vecchio, V., Benedettelli, S. L., Andrenelli, E. P. and Espen, L. (2000) Inductive and noninductive conditions on *in vitro* tuberisation and microtuber dormancy in potato (*Solanum tuberosum* subspecies *tuberosum* and subspecies *andigena*). *Potato Research* 43: 115-123.

Wang, P. J. and Chy, H. U. (1982) *In vitro* mass tuberization and virus-free seed-potato production in Taiwan. *American Journal of Potato Research* 59:33-37.

Zakaria, M., Hossain, M., Khaleque, M., Hossain, T. A. and Uddin, M. Z. (2008) *In vitro* Tuberization of potato influenced by Benzyl Adenine and Chloro Choline Chloride. *Bangladesh Journal of Agricultural Research* 33(3): 419-425.

## The effect of growth regulators *in vitro* phase on the quality of *in vitro* plantlets and microtubers in different cultivars of potato in a seed tuber production scheme

Mahmoud Otrshy\*, Kosar Moradi and Abdolreza Nabinejad

Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran (ABRII), Isfahan

### Abstract

Experiments were conducted to determine the effects and post-effects of gibberellic acid (GA<sub>3</sub>) and chlormequat chloride (CCC) applying *in vitro* plantlet production (effects) and subsequent *in vitro* tuber production (after-effects) or on immediate *in vitro* tuber production (effects). Three concentrations of GA<sub>3</sub> (0.1, 0.5 or 1 mg/l) and three doses of CCC (100, 500 or 1000 mg/l) with control were tested with the three cultivars (CV) namely Gloria, Marfona and Agria. To test direct effects on *in vitro* plantlet production plantlets were grown from explants on a standard medium containing Murashige and Skoog salts with normal vitamins. To test direct or post-effects on *in vitro* microtuber production the standard medium was used including 8% sucrose. The explants was treated with higher doses of CCC produced fewer stem branches on *in vitro* plantlets. The shortest plants with lowest numbers of leaves were observed in plantlets grown on media with 1000 mg/l CCC. Leaf area was the lowest with the highest doses of either CCC or gibberellic acid. Gibberellic acid increased the number of roots. Plantlets grown on the media with 1000 mg/l CCC produced shorter root systems. The direct effects of growth regulators on the number and size of microtubers were highly significant; both parameters were reduced by gibberellic acid. No direct effect of growth regulators could be observed for the weight of the microtubers. Post-effects of growth regulators on the number, size and weight of microtubers were also significant; cuttings from plantlets were pre-treated with CCC produced lowest numbers of microtubers with smallest size and lowest weight. Number, size and weight of microtubers were similar for the three cultivars.

**Key words:** Chlormequat, Microtubers, *In vitro*, plantlet, Gibberellic acid, Potato microtubers

---

\* Correspong Author: otrshy@yahoo.com

