Archive of SID

علوم باغبانی ایران
دورۀ ۴۷، شمارۀ ۲، تابستان ۱۳۹۵ (ص ۲۲۰-۲۱۳)

بهینه‌سازی ریزغده‌زایی درون شیشه‌ای در سیب‌زمینی رقم آگریا با استفاده از پاکلوبوترازول و یونی‌کونازول

پریسا قدیمی گرکرودی[1]، فریبرز زارع نهندی[2]*، علیرضا مطلبی آذر[3]، جابر پناهنده[4] و محمدرضا دادپور[5]
۱، ۲، ۳، ۴ و ۵. دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و دانشیاران، دانشکدۀ کشاورزی، دانشگاه تبریز
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۲/۱۵ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۳/۹/۲۳)

چکیده

به‌منظور بررسی صفات مربوط به ریزغده‌زایی درون شیشه‌ای در سیب‌زمینی رقم آگریا در واکنش به استفاده از دو آنتی‌ژیبرلین تریازولی، پاکلوبوترازول و یونی‌کونازول، دو آزمایش جداگانه، هر یک در پنج تیمار ۰، ۰/۰۸، ۰/۱۶، ۰/۳۲ و ۰/۶۴ میلی‌گرم بر لیتر ماده و با چهار تکرار و در قالب طرح کامل تصادفی به اجرا درآمد. در این دو آزمایش صفات درصد ریزغده‌زایی، طول و قطر ریز غده‌ها، وزن تر ریزغده‌ها و شاخساره، طول جوانه‌های رشدیافته روی ریزغده، طول میان‌گره، شمار گره و برگ بررسی شدند. درصد ریزغده‌زایی، طول، قطر و وزن تر ریزغده‌ها با افزایش میزان تریازول مصرفی افزایش پیدا کرد. طول جوانه‌های رشدیافته روی ریزغده با افزایش میزان تریازول‌ها کاهش یافت که ناشی از کاهش چشمگیر طول میان‌گره است. شمار گره‌ها و برگ‌ها نیز با افزایش غلظت آنتی ژیبرلین افزایش پیدا کرد. در شاخص‌های مربوط به ریزغده‌زایی گیاهان تیمارشده با پاکلوبوترازول و یونی‌کونازول، عملکرد بهتری نسبت به گیاهان شاهد داشتند که این امر می‌تواند نشان‌دهندۀ مؤثر بودن این مواد در ریزغده‌زایی باشد. با توجه به یافته‌های اخیر به نظر می‌رسد استفاده از پاکلوبوترازول و یونی‌کونازول در افزایش ریزغده‌زایی و اندازۀ ریزغده‌ها و کاهش رشد رویشی شاخساره در سیب‌زمینی رقم آگریا مؤثر باشد.

واژه‌های کلیدی: آنتی ژیبرلین، تریازول، رشد رویشی، طول میان‌گره، عملکرد.

مقدمه

سیب‌زمینی (*Solanum tuberosum* L.) یکی از مهم‌ترین گیاهان خانوادۀ Solanaceae است. افزایش رویشی این محصول باعث انتقال و شیوع آلودگی‌های نظام‌یافتۀ (سیستمیک) ویروسی می‌شود. ویروس‌های چندی در سیب‌زمینی گزارش شده است که باعث کاهش عملکرد غده می‌شوند. کاهش عملکرد بیش از ۷۵ درصد نیز توسط برخی ویروس‌ها گزارش شده است. مؤثرترین راه برای مبارزه با بیماری‌های ویروسی، حذف ویروس‌ها با استفاده از روش‌های مختلف و در نهایت تولید ریزغده‌های بدون ویروس است. امروزه تولید ریزغده به یکی از روش‌های افزایش سریع در میزان تولید غده‌های خوراکی و افزایش غده‌های بذری و در نتیجه مبادلۀ ذخایر توارثی (ژرم‌پلاسم) تبدیل‌شده است، بنابراین لازم است تا فراوانی و اندازۀ ریزغده‌ها را با استفاده از عامل‌های مختلف بهینه کرد. مهم‌ترین عامل‌های مؤثر در تولید ریزغده شامل ژنوتیپ (Nistor *et al*., 2010)، نوع ریز نمونه (Dobránszki *et al*., 2008)، دورۀ نوری یا فتوپریود (Paiva Neto & Campos Otoni, 2003)،

* تلفن: ۰۹۱۴۱۰۰۸۷۳۹
E-mail: fzaare@gmail.com
1. Microtuber

www.SID.ir

Archive of SID

نوع منبع کربن (Paiva Neto & Campos Otoni, 2003)، تنظیم‌کننده‌های رشد (Sarkar *et al*., 2006)، ترکیب‌های آنتی ژیبرلین[1] (Sharma *et al*., 2004)، تغذیهٔ نیتروژنی و سن فیزیولوژیک غدهٔ مادری (در صورت استفاده به عنوان ریز نمونه) (Sharma *et al*., 2004) است.

به‌طورکلی ترکیب‌هایی که به شکلی شدید رشد رویشی را متوقف می‌کنند، باعث تحریک غده‌زایی می‌شوند. بازدارنده‌های رشد به‌طورمعمول باعث کاهش محتوای ژیبرلین درونی می‌شوند که به‌عبارت‌دیگر آغازش غده را به شکلی قوی تحریک می‌کنند (Simko, 1994). بنابراین می‌توان از بسیاری از بازدارنده‌های رشد برای بررسی غده‌زایی درون شیشه‌ای استفاده کرد. از این ترکیب‌ها می‌توان به آبسزیک اسید (ABA)، کلروکولین کلرید[2] (CCC) (Houqe, 2010)، مالئیک هیدرازید (MH)، آلار و آمو ۱۶۱۸ اشاره کرد.

تریازول‌ها از مهم‌ترین ترکیب‌های بازدارندهٔ ژیبرلین به شمار می‌آیند. در واقع تریازول‌ها از مهم‌ترین گروه از ترکیب‌های نظام‌یافته (سیستماتیک) اند که برای کنترل بیماری‌های قارچی گسترش یافته‌اند که افزون بر این ویژگی، تنظیم‌کنندگی رشد گیاهی نیز دارند. تریازول‌ها از فعال‌ترین بازدارنده‌های رشد به شمار می‌آیند که از رشد طولی گیاه جلوگیری می‌کنند و مهم‌ترین پاسخ گیاه در برابر این ترکیب‌ها کاهش رشد میان‌گره و در نتیجه کاهش ارتفاع گیاه است. تأثیر تنظیم‌کنندهٔ رشد تریازول‌ها به دلیل ایجاد تغییر در تعادل هورمونی (Fletcher *et al*., 2000)، میزان نورساخت (فتوسنتز) (Panneerselvam *et al*., 1997) و فعالیت‌های آنزیمی (Muthukumarasamy & Panneerselvam, 1997) گزارش شده است. همچنین با توجه به نقش تریازول‌ها در رویارویی با تنش، به نظر می‌رسد که این امر باعث تسریع بلوغ و غده‌زایی در سیب‌زمینی شود. ویژگی تنظیم‌کنندهٔ تریازول‌ها به‌واسطهٔ تداخل آن‌ها در مسیر ایزوپرنوئید و تغییر دادن تعادل هورمون‌های گیاهی صورت می‌گیرد (Fletcher *et al*., 2000). سازوکار عمومی تریازول‌ها جلوگیری از زیست ساخت (بیوسنتز) ژیبرلین و استرول‌هاست. تریازول‌ها با دخالت در سه مرحلهٔ اول مسیر اکسیداسیون انت کورن از تبدیل انت کورنول به انت کورنوئیک اسید و ترکیب‌های اکسیدشدهٔ بعدی جلوگیری کرده و بازدارندهٔ تولید ژیبرلیک اسید می‌شوند. در گیاهان تیمارشده با ترکیب‌های تریازولی، غلظت کمتری از ژیبرلین‌ها یافت می‌شود، این امر از نقش بازدارندهٔ تریازول‌ها در ساخت (سنتز) ژیبرلین حمایت می‌کند، همچنین خاصیت هورمونی و حفاظت از تنش این ترکیب‌ها با به کار بردن ژیبرلین از دست می‌رود که شاهد دیگری بر این مسئله است. تریازول‌ها ضمن جلوگیری از رشد ساقه در بسیاری از گیاهان باعث افزایش تیرگی رنگ سبز، افزایش ضخامت برگ، کاهش سطح برگ، تأخیر در پیری برگ و کاهش تنفس می‌شوند. اگرچه میزان سبزینهٔ (کلروفیل) برگ نیز در اثر تریازول‌ها افزایش می‌یابد اما اثر کمی بر نورساخت دارند و به‌طور غیرمستقیم آن را تحت تأثیر قرار می‌دهند. از مهم‌ترین تریازول‌ها می‌توان به پاکلوبوترازول، یونی‌کونازول و تریاپنتانول اشاره کرد. همچنین ویژگی‌های تنظیم‌کنندهٔ رشد تریازول‌ها به‌واسطهٔ توانایی میانجی‌گری این ترکیب‌ها در برقراری تعادل بین هورمون‌های مهم گیاهی مثل ژیبرلیک اسید، آبسزیک اسید و سیتوکینین به دست می‌آید (Kamountsis *et al*., 1999).

پاکلوبوترازول یک ترکیب تریازولی قارچ‌کش و بسیار فعال از نظر بیوشیمیایی است که ویژگی‌های تنظیم‌کنندهٔ رشد گیاهی نیز دارد و بر بیشتر گونه‌های گیاهی مؤثر است. این ماده مانند دیگر تریازول‌ها از راه جلوگیری از زیست ساخت ژیبرلین رشد رویشی را کاهش می‌دهد. پاکلوبوترازول با جلوگیری از فعالیت آنزیم کائورن اکسیداز از ساخت ژیبرلین جلوگیری می‌کند. جلوگیری از ساخت ژیبرلین منجر به کاهش طول میانگره و سطح برگ و کاهش رشد می‌شود. یونی‌کونازول ترکیبی دیگر از این گروه است که همانند پاکلوبوترازول از راه تأثیر بر میزان ژیبرلین باعث جلوگیری از رشد طولی ساقه می‌شود.

با توجه به اینکه تولید ریزغده از مراحل اساسی در

1. Anti-gibberellin
2. Chlorocholine chloride

www.SID.ir

Archive of SID

افزایش و استفاده از گیاهچه در فناوری درون شیشه‌ای به شمار می‌آید، لازم است فراوانی و اندازهٔ ریزغده‌ها را با استفاده از عامل‌های مختلف بهینه کرد. با توجه به نقش آنتی‌ژیبرلینی که این دو ماده از خود نشان می‌دهند و با در نظر گرفتن این امر که ژیبرلین‌ها نقش بازدارنده از غده‌زایی دارند، به نظر می‌رسد با استفاده از آن‌ها بتوان میزان ریزغده‌زایی را افزایش داده و حتی ریزغده‌هایی با وزن بیشتر به دست آورد. در این تحقیق با توجه به فعالیت آنتی‌ژیبرلینی قوی در پاکلوبوترازول و یونی‌کونازول، نقش این دو تنظیم‌کنندهٔ رشد در ریزغده‌زایی رقم آگریا بررسی شد تا میزان تأثیرگذاری هر یک از این ترکیب‌ها در ریزغده‌زایی ارزیابی شود.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق ریزنمونه‌ها از نمونه‌های گیاهان سیب‌زمینی رقم آگریا موجود در آزمایشگاه کشت بافت گیاهی و ریز ازدیادی گروه علوم باغبانی دانشگاه تبریز تهیه شد. این نمونه‌ها در محیط کشت MS در شرایط دورهٔ نوری شانزده ساعت روشنایی و هشت ساعت تاریکی با دمای ۲±۲۵ درجهٔ سلسیوس نگهداری شدند. در نهایت از شاخساره‌های تولیدی برای تهیهٔ ریزقلمه‌های تک‌گره و جانبی برای اعمال تیمارهای ریزغده‌زایی استفاده شد.

در این تحقیق از محیط کشت MS استفاده شد. پس از تهیهٔ محیط کشت، pH آن با استفاده از NaOH و HCl روی ۵/۸ تنظیم شد. سپس ۸ گرم آگار برای جامد کردن محیط کشت، به آن اضافه شد. سپس پاکلوبوترازول و یونی کونازول به‌صورت جداگانه هر یک در پنج غلظت (۰، ۰/۰۸، ۰/۱۶، ۰/۳۲ و ۰/۶۴ میلی‌گرم بر لیتر) به محیط کشت اضافه شد. پس از حل شدن آگار، در هر شیشه ۵۰ میلی‌لیتر محیط کشت ریخته شد و در ادامه با استفاده از اتوکلاو در دمای ۱۲۱ $^{\circ}C$ و در فشار ۱/۲ اتمسفر به مدت ۱۰ دقیقه ضدعفونی شد.

نمونه‌های بدون ویروس موجود در درون شیشه‌ها، در محفظهٔ هود لامینار از ظرف‌ها بیرون شده و روی کاغذ صافی که از پیش سترون (استریل) شده، قرار گرفتند. آنگاه قلمه‌های تک‌گره از آن‌ها تهیه شده و به محیط کشت ریزغده‌زایی سترون انتقال یافتند. ریز نمونه‌ها در شرایط تاریکی و در دمای ۲±۱۷ درجهٔ سلسیوس نگهداری شدند و هرماه یادداشت‌برداری صورت گرفت. در مرحلهٔ ریز ازدیادی از قلمه‌های تک‌گره در هرماه صفات مربوط به ریزغده‌زایی و رشد شاخساره اندازه‌گیری شدند. این صفات شامل درصد ریزغده‌زایی (شمار ریزغدهٔ تولیدی در واحد آزمایشی بر شمار کل ریز نمونه‌ها)، وزن تر ریزغده (میلی‌گرم)، طول و قطر ریزغده (میلی‌متر)، طول جوانهٔ رشدیافته روی ریزغده (میلی‌متر)، شمار برگ و گره و طول میان‌گره است.

تجزیه‌وتحلیل داده‌ها

هر یک از این دو آزمایش به‌صورت جداگانه، در قالب طرح کامل تصادفی با چهار تکرار و در هر تکرار با پنج ریز قلمهٔ تک‌گره اجرا شد. تجزیه‌وتحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS و مقایسهٔ میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

پس از گردآوری داده‌ها و بررسی آماری آن‌ها نتایج شایان‌توجهی از کاربرد دو تنظیم‌کنندهٔ رشد پاکلوبوترازول و یونی کونازول به‌دست آمد (جدول‌های ۱ و ۲ به ترتیب مربوط به تجزیهٔ واریانس داده‌های مربوط به صفات ریزغده‌زایی و شاخساره در پاکلوبوترازول و جدول‌های ۳ و ۴ به ترتیب مربوط به تجزیهٔ واریانس داده‌های مربوط به صفات ریزغده‌زایی و شاخساره در یونی‌کونازول). در این بررسی کمترین میزان غده‌زایی (شاخص برداشت) در هر دو ترکیب پاکلوبوترازول و یونی‌کونازول، در شاهد (بدون آنتی ژیبرلین) مشاهده شد. در تیمار با پاکلوبوترازول (جدول ۵) بیشترین میزان ریزغده‌زایی در تیمار با ۰/۶۴ میلی‌گرم بر لیتر پاکلوبوترازول با ۹۳/۳ درصد غده‌زایی مشاهده شد. بین غلظت ۰/۶۴ میلی‌گرم بر لیتر و غلظت‌های ۰/۱۶ و ۰/۳۲ میلی‌گرم بر لیتر پاکلوبوترازول تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. افزون بر این میان شاهد و ۰/۳۲ میلی‌گرم بر لیتر پاکلوبوترازول نیز تفاوت شایان‌توجهی مشاهده نشد. در

www.SID.ir

Archive of SID

تیمار با یونی‌کونازول (جدول ۶) نیز کمترین ریزغده‌زایی در تیمار شاهد و بیشترین ریزغده‌زایی در تیمار ۰/۳۲ میلی‌گرم بر لیتر با ۱۰۰درصد ریزغده‌زایی مشاهده شد. در تیمار پاکلوبوترازول مشاهده شد که با افزایش غلظت ماده، میزان ریزغده‌زایی نیز افزایش پیدا می‌کند (روند افزایشی غده‌زایی با افزایش غلظت پاکلوبوترازول). اما این روند در تیمار یونی‌کونازول کمی متفاوت به نظر می‌رسد. در این تیمار بالاترین میزان غده‌زایی را در تیمار ۰/۳۲ میلی‌گرم بر لیتر یونی‌کونازول با ۱۰۰درصد غده‌زایی مشاهده شد و دوباره در تیمار پنجم میزان ریزغده‌زایی کاهش پیدا کرد، اما این تفاوت شایان‌توجه نیست.

در هر دو تیمار پاکلوبوترازول و یونی‌کونازول کمترین میزان طول و قطر ثبت‌شده برای ریزغده نیز مربوط به تیمار شاهد است. بیشترین طول و قطر ریز غده در تیمار پاکلوبوترازول در تیمار ۰/۶۴ میلی‌گرم بر لیتر مشاهده شد. بین این تیمار و دیگر تیمارهای حاوی پاکلوبوترازول تفاوت شایان‌توجهی مشاهده نشد. در تیمار یونی‌کونازول بالاترین میزان طول و قطر ثبت‌شده در غدهٔ مربوط به تیمار ۰/۰۸ میلی‌گرم بر لیتر یونی‌کونازول است اما بین این تیمار و دیگر تیمارهای حاوی یونی‌کونازول نیز تفاوت چشمگیری مشاهده نشد.

جدول ۱. تجزیهٔ واریانس تأثیر پاکلوبوترازول بر صفات مربوط به ریزغده‌زایی

Table 1. Analysis of variance of paclobutrazol effects on microtuberization characteristics

SOV	df	Mean square			
		Microtuberization (%)	Microtuber length	Microtuber diameter	Microtuber fresh weight
PBZ concentration	4	1855.419*	2.016*	2.121*	0.004**
Erorr	13	183.792	0.297	0.305	0.001

* و ** بیانگر تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد. * and ** represents significant differences at 5% and 1%.

جدول ۲. جدول تجزیهٔ واریانس تأثیر پاکلوبوترازول بر صفات مربوط به شاخساره

Table 2. Analysis of variance of paclobutrazol effects on shoot characteristics

SOV	df	Mean square			
		Leaf and node number	Length of the shoots on the microtubers	Internode length	Shoots weight
PBZ concentration	4	1855.419*	2.016*	2.121*	0.004**
Erorr	13	183.792	0.297	0.305	0.001

* و ** بیانگر تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد. * and ** represents significant differences at 5% and 1%.

بالاترین میزان وزن‌تر غده ثبت‌شده در هر دو تیمار مربوط به بالاترین غلظت ماده یعنی ۰/۶۴ میلی‌گرم بر لیتر است و کمترین میزان وزن تر ثبت‌شده نیز مربوط به تیمار شاهد است. در بررسی‌های پیشین نیز افزایش وزن تر و خشک غده (Hammes & Tsegaw,2004) و افزایش عملکرد غده‌زایی (Simko, 1994) با استفاده از تیمارهای پاکلوبوترازول مشاهده شده بود.

در بررسی که توسط Xu *et al.* (1998) انجام شد، مشخص شد که ژیبرلین‌ها تنظیم‌کنندهٔ اصلی در خلال تشکیل غده است. همچنین آن‌ها نتیجه گرفتند که ژیبرلین اصلی در خلال ریزغده‌زایی، GA1 است. آنان محتوای بالای GA1 را در خلال رشد دستک (استولون)ها و شرایط غیرالقایی و غلظت ناچیز GA1 را حین ریزغده‌زایی و نمو ریزغده‌ها مشاهده کردند که از این فرضیه حمایت می‌کرد. در واقع القا و رشد ریزغده‌ها تنها هنگامی‌که محتوای GA1 پایین‌تر از حد بحرانی باشد، رخ می‌دهد. همچنین تیمار با GA3 به‌جای متورم کردن دستک باعث طویل شدن آن می‌شود (Chapman, 2006) و با آبکافت (هیدرولیز) نشاسته (Barani *et al*., 2009) و جلوگیری از ساخت و تجمع پروتئین‌های مخصوص ریزغده‌زایی (پاتاتین[1]) (Bourque *et al*., 1987) باعث جلوگیری از ریزغده‌زایی می‌شود. تیمار با تریازول‌ها باعث بهبود انتقال آسیمیلات‌ها به سمت اندام‌های غده‌ای می‌شود (Simko, 1994) که به نظر می‌رسد افزایش ابعاد و وزن تر ریزغده‌های تولیدی در این بررسی، مؤید این امر باشد. ترکیب‌های تریازولی به‌ویژه پاکلوبوترازول در

1. Patatin

www.SID.ir

Archive of SID

تخصیص مواد آسیمیلاته، میزان بیشتری از مواد را به سمت ریشه انتقال می‌دهند و بدین ترتیب از راه جلوگیری از زیست ساخت یا عمل ژیبرلین، عملکرد را افزایش می‌دهند (Fletcher *et al*., 2000). در برابر انتقال فتوآسیمیلات‌ها به سمت غده و ساخت نشاسته با کاربرد ژیبرلیک‌اسید کاهش می‌یابد (Mares *et al*., 1981) همچنین عملکرد سودمند بازدارنده‌های رشد روی کیفت ریشه‌های غده‌ای در نتیجه فعالیت ناهمسازی (آنتاگونیستی) آن‌ها با ژیبرلیک اسید، توسط Fletcher *et al*. (2000) بیان شد. ترکیب‌های تریازولی و ژیبرلیک اسیدها، به‌طورمعمول اثرگذاری‌های متضاد و ناهمسازی هم‌زمان در رشد و نمو گیاهان دارند (Balamani & Poovaiah, 1992). بازدارنده‌های زیست ساخت ژیبرلین مانند پاکلوبوترازول و یونی‌کونازول در ایجاد و رشد اندام‌های غده‌ای مؤثرند اما غلظت و میزان مورداستفاده از این مواد در اثر غربالگری‌های تجربی به دست می‌آید. بر پایهٔ این داده‌ها، می‌توان گفت که برای بهبود ریزغده‌زایی در شرایط درون شیشه‌ای می‌توان از پاکلوبوتراول و یونی‌کونازول استفاده کرد. همچنین در گزارش‌های پیشین اشاره شده است که استفاده از پاکلوبوترازول باعث آغازش سریع‌تر فرآیند غده‌زایی و درعین‌حال زودتر متوقف شدن این فرآیند در مقایسه با شاهد (Simko, 1994) می‌شود. بین غلظت‌های پایین پاکلوبوترازول و یونی‌کونازول و تیمار شاهد تفاوتی در ریزغده‌زایی مشاهده نشد، که این امر می‌تواند بیانگر نیاز به یک میزان آستانه برای بهبود غده‌زایی باشد (Xu *et al*., 1998).

جدول ۳. جدول تجزیهٔ واریانس تأثیر یونی‌کونازول بر صفات مربوط به ریزغده‌زایی

Table 3. Analysis of variance of uniconazole effects on microtuberization characteristics

S.O.V	df	MS			
		Microtuberization	Microtuber length	Microtuber diameter	Microtuber FW
Uniconazole concentration	4	1792.568*	2.792*	3.167*	0.007**
Error	13	182.990	0.433	0.349	0.003

* و ** بیانگر تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد. * and ** represents significant differences at 5% and 1%.

جدول ۴. جدول تجزیهٔ واریانس تأثیر یونی‌کونازول بر صفات مربوط به شاخساره

Table 4. Analysis of variance of **uniconazole** effects on shoot characteristics

S.O.V	df	MS			
		Node and leaf number	Sub-branches length	Internode length	Shoot FW
Uniconazole concentration	4	115.377*	8365.873*	604.187*	0.076**
Error	13	4.783	145.490	12.662	0.017

* و ** بیانگر تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد. * and ** represents significant differences at 5% and 1%.

صفات دیگری که در این آزمایش بررسی شدند، صفات رویشی مربوط به شاخه و برگ بودند. یکی از این صفات، صفت مربوط به شمار گره و شمار برگ است. کمترین شمار برگ و گره در هر دو ترکیب تریازولی مورداستفاده در شاهد مشاهده شد. در تیمار پاکلوبوترازول بیشترین شمار برگ و گره در بالاترین غلظت پاکلوبوترازول مشاهده شد. اگرچه بین این غلظت و دیگر غلظت‌های پاکلوبوترازول تفاوت چشمگیری در شمار برگ و گره مشاهده نشد. در تیمار یونی‌کونازول نیز بیشترین شمار برگ و گره در غلظت ۰/۶۴ میلی‌گرم بر لیتر یونی‌کونازول مشاهده شد.

در این تحقیق مشاهده شد که ریزغده‌های تولیدشده در غلظت‌های مختلف پاکلوبوترازول و یونی‌کونازول بدون دورهٔ خواب هستند و چشم‌های موجود در ریزغده‌ها، آغاز به رشد کرده و شاخساره‌های فرعی تولید می‌کنند. در اندازه‌گیری صفت مربوط به میانگین طول شاخهٔ رشدکرده روی غده، در تیمار پاکلوبوترازول بیشترین طول مربوط به شاهد (بدون پاکلوبوترازول با میانگین ۱۲۹/۹ میلی‌متر) است کمترین میزان رشد نیز مربوط به غلظت‌های ۰/۳۲ و ۰/۶۴ میلی‌گرم بر لیتر پاکلوبوترازول است. در تیمار یونی‌کونازول نیز بیشترین رشد شاخهٔ روی غده مربوط به شاهد و

www.SID.ir

Archive of SID

کمترین رشد مربوط به غلظت ۰/۶۴ میلی‌گرم بر لیتر است. بین غلظت‌های مختلف یونی‌کونازول در این صفت تفاوت شایان‌توجهی مشاهده نشد.

در اندازه‌گیری میانگین طول میان‌گره، بیشترین طول میانگین ثبت‌شده در تیمار پاکلوبوترازول مربوط به شاهد و کمترین طول میان‌گره نیز مربوط به غلظت ۰/۶۴ میلی‌گرم بر لیتر است. بین غلظت‌های ۰/۶۴، ۰/۳۲ و ۰/۱۶ میلی‌گرم بر لیتر تفاوت شایان‌توجهی مشاهده نشد. در تیمار یونی‌کونازول نیز بالاترین طول میان‌گره مربوط به شاهد و کمترین طول مربوط به ۰/۶۴ میلی‌گرم بر لیتر یونی‌کونازول می‌شد. در یونی‌کونازول نیز بین سه غلظت ۰/۶۴، ۰/۳۲ و ۰/۱۶ میلی‌گرم بر لیتر تفاوت شایان‌مشاهده‌ای دیده نشد. در یک بررسی Medina *et al.* (2012) نیز نشان دادند که پاکلوبوترازول با کاهش طول میان‌گره، طول شاخه را کاهش می‌دهد، که این امر یعنی کاهش طول میان‌گره در نتیجه کاربرد تریازول‌ها با نقش ژیبرلین‌ها که افزایندهٔ طول میان‌گره و در نهایت طول شاخساره است، رویارویی می‌کند. همچنین Rossini pinto *et al.* (2005) نیز ثابت کردند که دلیل اصلی کاهش رشد شاخساره، کوتاه شدن طول میان گره در نتیجه تیمار پاکلوبوترازول است.

جدول ۵. تأثیر پاکلوبوترازول بر صفات اندازه‌گیری‌شده در سیب‌زمینی رقم آگریا

Table 5. Effects of paclobutrazol on measured characteristics on potato cv. Agria

Measured parameters	Paclobutrazol concentration (mg/L)				
	0	0.08	0.16	0.32	0.64
Microtuberization (%)	41.25c	61.11b	86.66a	88.75a	93.33a
Microtuber length (mm)	1.54b	2.72a	2.83a	2.95a	3.95a
Microtuber diameter (mm)	1.34b	2.60a	2.87a	2.99a	3.27a
Microtuber FW (g)	0.016c	0.048bc	0.0795ab	0.0485bc	0.1046c
Internode length (mm)	33.55a	11.40b	2.35c	2.20c	1.16c
Node number	5.00b	14.93a	15.15a	15.12a	19.00a
Leaf number	5.00b	14.93a	15.15a	5.12a	19.00a
Sub-branches length (mm)	129.2a	32.84b	24.23b	24.25b	15.80b
Shoot FW (g)	0.1622b	0.5403a	0.1716b	0.3163ab	0.2366b

در هر ردیف داده‌هایی که با حروف متفاوت نشان داده شده‌اند، در سطح ۵درصد به‌طور معنی‌داری از یکدیگر متفاوت‌اند.

Mean values followed by different letters within columns are significantly different at 5% level.

بیشترین وزن تر شاخ و برگ ثبت‌شده در هر دو تیمار پاکلوبوترازول و یونی‌کونازول مربوط به غلظت دوم است و کمترین وزن نیز مربوط به شاهد است. در غلظت‌های بالای هر دو ماده نیز میزان وزن شاخ و برگ کاهش می‌یابد. همان‌طور که پیش‌ازاین نیز بیان شد، این مواد تریازولی باعث انتقال بیشتر مواد به سمت ریشه‌ها و اندام‌های زیرزمینی می‌شوند، پس می‌توان گفت میزان مواد تخصیص‌یافته به بخش‌های هوایی و شاخ و برگ کاهش پیدا می‌کند و این امر باعث کاهش رشد طولی و کاهش وزن قسمت‌های هوایی در مقابل قسمت‌های زیرزمینی می‌شود.

جدول ۶. تأثیر یونی‌کونازول بر صفات اندازه‌گیری‌شده در سیب‌زمینی رقم آگریا

Table 6. Effects of uniconazole on measured characteristics on potato cv. Agria

Measured parameters	Uniconazole concentration (mg/L)				
	0	0.08	0.16	0.32	0.64
Microtuberization (%)	41.25c	73.89b	82.22ab	100a	88.89ab
Microtuber length (mm)	1.54b	3.61a	3.5a	2.94a	3.53a
Microtuber diameter (mm)	1.34b	3.58a	3.43a	2.71a	3.39a
Microtuber FW (g)	0.016c	0.1153a	0.082ab	0.0496ab	0.1236a
Internode length (mm)	33.55a	12.41b	6.24bc	4.82c	1.60c
Node number	5.00b	12.71b	15.05b	13.50b	21.00a
Leaf number	5.00b	12.71b	15.05b	1.50b	21.00a
Sub-branches length (mm)	129.2a	32.84b	24.23b	24.25b	15.80b
Shoot FW (g)	0.1622b	0.5403a	0.1716b	0.3163ab	0.2366b

در هر ردیف داده‌هایی که با حروف متفاوت نشان داده شده‌اند، در سطح ۵درصد به‌طور معنی‌داری از یکدیگر متفاوت‌اند.

Mean values followed by different letters within columns are significantly different at 5% level.

www.SID.ir

Archive of SID

نتیجه‌گیری

بر پایهٔ نتایج به‌دست‌آمده از این تحقیق به نظر می‌رسد استفاده از دوآنتی ژیبرلین تریازولی، باعث بهبود درصد ریزغده‌زایی درون شیشه‌ای در سیب‌زمینی رقم آگریا در مقایسه با گیاهان شاهد می‌شود. با توجه به نتایج به‌دست‌آمده، در تیمار پاکلوبوترازول، در غلظت‌های ۰/۱۶، ۰/۳۲ و ۰/۶۴ میلی‌گرم در لیتر و در تیمار یونی‌کونازول در غلظت ۰/۳۲ میلی‌گرم در لیتر بالاترین درصد ریزغده‌زایی به ثبت رسیده است. همچنین با توجه به نتایج به‌دست‌آمده، به نظر می‌رسد استفاده از این دو آنتی ژیبرلین تریازولی، افزون بر درصد ریزغده‌زایی درون شیشه‌ای، طول و قطر ریزغده‌های تولیدی و وزن تر ریزغده‌ها را در مقایسه با گیاهان شاهد افزایش می‌دهد. باید توجه داشت که بازدارنده‌های زیست ساخت ژیبرلین مانند پاکلوبوترازول و یونی‌کونازول در ایجاد و رشد اندام‌های غده‌ای مؤثرند اما با توجه به تفاوت‌های ژنتیکی موجود میان ارقام مختلف، غلظت و میزان مورداستفاده از این مواد در غربالگری‌های تجربی به دست می‌آید. در برابر بهره‌گیری از پاکلوبوترازول و یونی‌کونازول، به شکلی چشمگیر ویژگی‌های مربوط به رشد رویشی شاخساره‌های تولیدی را کاهش می‌دهد. بر این پایه، با توجه به این بررسی می‌توان پاکلوبوترازول و یونی‌کونازول را به عنوان موادی که در غلظت‌های مناسب ریزغده‌زایی را در سیب‌زمینی رقم آگریا در شرایط درون شیشه‌ای بهبود می‌بخشند، معرفی کرد. در واقع با به‌کارگیری این دو مادهٔ تریازولی، درصد ریزغده‌زایی که شاخص برداشت به شمار می‌آید، به شکلی شایان‌توجه بهبود یافته است.

REFERENCES

1. Balamani, V. & Poovaiah, B. W. (1985). Retardation of shoot growth and promoting of tuber growth of potato plants by paclobutrazol. *American Potato Journal*, 62, 363- 369.
2. Bandara, M. S., Tanino, K. K. & Waterer. D. R. 1998. Effect of size and timing of plant growth regulator treatment on grown and tuber yield in greenhouse grown Norland and Russet Burbank potatoes. *Journal of Plant Growth Regulation*, 17, 75-79.
3. Barani, M., Akbari, N. & Ahmadi, H. (2013). The effect of gibberellic acid (GA3) on seed size and sprouting of potato tubers (*Solanum tuberosum* L.). *Academic Journal*, 8, 3898-3903.
4. Chapman, H.W. (2006). Tuberization in the potato plant. *Physiologia Plantarum*, 11, 215-224.
5. Davis, T. D., Sankhla, N. & Upadhyaya, A. (1988). Triazole plant growth regulators. *Horticultural Reviews*, 10, 63-105.
6. Dobránszki, J., Magyar-Tábori, K. & Hudák, I. (2008). In vitro tuberization in hormone free system on solidified medium and dormancy of microtubers. *Fruit, Vegetable and Cereal Science and Biotechnology*, 2, 82-94.
7. Fletcher, A., Gilley, A., Sankhla, N. & Davies, T. (2000). Triazoles as plant groth regulators and stress protectants. *Horticultural Reviews*, 24, 55-138.
8. Hoque, M. E. (2010). In vitro tuberization in potato (*Solanum tuberosum* L.). *Plant Omics Journal*, 3, 7-11.
9. Kamoutsis, A. P., Chronopoulou-Sereli, A.G. & Paspatis, E.A. (1999). Paclobutrazol affects growth and flower bud production in gardenia under different light regimes. *HortScience*, 34, 674-675.
10. Mares, D., Marshner, H. & Krauss, A. (1981). Effect of gibberellic acid on growth and carbohydrate metabolism of developing tubers of potato (*Solanum tuberosum*). *Physiologia Plantarum*, 52, 267- 274.
11. Medina, R., Burgos, A., Difranco, V., Moroginski, L. & Cenoz, P. (2012). Effect of chlorocholine and paclobutrazol on cassava (Manihot esculenta Crantz cv. Rocha) plant growth and tuberous root quality. *Agriscince*, 29, 51-58.
12. Muthukumarasamy, M. & Panneerselvam, R. (1997). Triazoles induced protein metabolism in the salt stressed Raphanus sativus seedling. *Journal of the Indian Botanical Society*, 76, 39-42.
13. Nistor, A., Campeanu, G., Atanasiu, N., Chiro, N. & Karacsonyi, D. (2010). Influence of potato genotypes on in vitro production of microtubers. *Romanian Biotechnological Letters*, 15, 5317- 5324.
14. Paiva_Neto, V.B. & Campos_Otoni, W. (2003). Carbon sucrose and their osmotic potential in plant tissue culture; does it matter?. *Scienthica Horticulture*, 97, 193-202.
15. Panneerselvam, R., Muthukumarasamy, M. & Karikalan, L. (1997). Triadimefon enhance growth and net photosynthesis rate in NaCl stressed plant of *Raphanus sativus* L. *Photosynthetica*, 34, 605-609.
16. Rossini pinto, A., Deleo Rodrigues,T., Leeita, I & Barbosa, J. (2005). Growth retardant on development and ornamental quality of potted (Lilliput) Zinnia elegans Jacq. *Scientia Agricola*, 62, 337-345.

www.SID.ir

Archive of SID

17. Sankar, B., Jaleel, C.A., Kishorekumar, P., Somasondaram, R. & Panneerselvam, R. (2007). Effect of paclobutrazol on water stress amelioration through antioxidants and free radical scavenging enzymes in *Arachis hypogaea* L. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 60, 229-235.
18. Sharma, S., Chanemougasoundharam, A., Sarkar, D. & Pandey, S. K. (2004). Carboxylic acids affect induction, development and quality of potato (*Solanum tuberosum* L.) microtubers grown in vitro from single-node explants. *Plant Growth Regulation*, 44, 219-229.
19. Simko, I. (1994). Effect of paclobutrazol on in vitro formation of potato micro tubers and their sprouting after storage. *Biologia plantarum*, 36, 15 -20.
20. Tsegaw, T. & Hammes, P. (2003). Growth responses of potato (*Solanum tuberosum*) grown in hot tropical lowland to applied paclobutrazol: 2. Tuber attributes. *New Zealand Journal of Crop and Horticulture Science*, 33, 43- 51.
21. Xu, X., Van Lammeren, A.M., Vermeer. E. & Vreugdenhil, D. (1998). The role of gibberellin, abscisic acid, and sucrose in the regulation of potato tuber formation in vitro. *Plant Physiology*, 117, 575-584.

www.SID.ir

Archive of SID

Iranian Journal of Horticultural Science, Vol. 47, No. 2, Summer 2016

Optimization of *in vitro* microtuberization of potato (*Solanum tuberosum* L. cv. Agria) using paclobutrazole and uniconazol

Parisa Ghadimi Garkroodi[1], Fariborz Zaare-Nahandi[2*], Alireza Motalebi Azar[2], Jaber Panahandeh[2] and Mohamad Reza Dadpour[2]

1, 2. Former M.Sc. Student and Associate Professors, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran

(Received: Mar. 6, 2014 - Accetped: Dec. 14, 2014)

ABSTRACT

In order to investigate the characteristics of *in vitro* microtuberization of potato cv. Agria in response to the two triazole anti-gibberellin, paclobutrazole and uniconazol, two independent experiment in five concentrations (0, 0.08, 0.16, 0.32, 0.64 mg/L) of each compound were carried out with four replications for each treatment in a completely randomized design. In this experiment percent of microtuberization, length and diameter of microtubers, fresh weight of microtubers and shoots, length of developed vegetative buds on microtubers, length of internodes, number of nodes and leaves were recorded. Percent of microtuberization, length and diameter of microtubers and fresh weight of microtubers were increased with increasing of triazole concentration. Length of internodes and length of developed vegetative buds on microtubers were reduced by increasing of triazole concentration. Number of nodes and leaves were increased with increasing the concentration of anti-gibberellin. For indicators of microtuberization, treated plants with paclobutrazole and uniconazol had better performance than control plants. It could be indicated the efficacy of these materials on microtuberization. According to our results, it seems that these chemicals could be effective for improving characteristics of *in vitro* microtuberization in potato cv. Agria.

Keywords: Anti-gibberellin, internode length, performance, triazole, vegetative growth.

* Corresponding author E-mail: fzaare@gmail.com Tel: +98 914 1008739

www.SID.ir