Archive of SID

مجله دانش کشاورزی/ جلد 19 شماره 2/ سال 1388

تاثیر کاربرد محلول کیتوسان در شرایط درون شیشه‌ای و گلخانه بر رشد و عملکرد غده‌چه در گیاهچه‌های سیب‌زمینی

رسول اصغری زکریا[1*]، بهرام ملکی زنجانی[2]، اسماعیل صدقی[3] و مجید منافیان[4]

تاریخ دریافت : 87/10/23 تاریخ پذیرش: ۸۸/۵/۵

۱- گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیلی
۲- گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان
۳- دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان
۴- مرکز تولید مینی تیوبر سیب‌زمینی شرکت ویلکیج اردبیل
*مسئول مکاتبه E-mail:rrasghari@yahoo.com

چکیده

به منظور بررسی تاثیر محلول کیتوسان بر رشد گیاهچه‌ها در شرایط درون شیشه‌ای و افزایش عملکرد غده‌چه در برنامه ریزازدیادی سیب‌زمینی، ریزنمونه‌های تک گره ساقه حاصل از کولتیوار آگریا با غلظت‌های مختلف این ماده شامل صفر، 5، 15، 50، 150 و 500 میلی‌گرم در لیتر با اضافه نمودن آنها به محیط کشت تیمار شدند و صفات مختلف رشدی در شرایط درون شیشه‌ای اندازه‌گیری گردیدند. تعدادی از گیاهچه‌ها به گلخانه انتقال و با محلول‌های کیتوسان در غلظت صفر، 200، 400، 600، 800 و 1000 میلی‌گرم در لیتر به طور هفتگی محلول‌پاشی شدند و عملکرد غده‌چه در بوته اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که اثر کیتوسان بر صفات وزن تر و خشک بخش هوائی و ریشه و بر طول گیاهچه معنی‌دار است ولی بر تعداد برگ در هر گیاهچه تاثیر معنی‌داری ندارد. مصرف 500 میلی‌گرم در لیتر کیتوسان در محیط کشت نسبت به شاهد وزن تر و خشک بخش هوائی را افزایش داد ولی در غلظت‌های پایین اختلاف معنی داری با شاهد مشاهده نشد. همچنین کیتوسان در غلظت 15 میلی‌گرم بر افزایش وزن‌تر و خشک ریشه‌ها موثر بود ولی در غلظت‌های بالاتر، وزن‌تر ریشه به طور معنی‌داری کاهش یافت ولی کاهش در وزن خشک ریشه معنی‌دار نبود. کاربرد این ماده در غلظت 500 میلی‌گرم در لیتر در محیط کشت، تعداد و وزن غده‌چه در هر بوته را نسبت به شاهد افزایش داد. با وجود این، کاربرد کیتوسان به صورت محلول‌پاشی در گلخانه در افزایش عملکرد غده‌چه تاثیر نداشت. بنابراین، در برنامه تولید بذر سیب‌زمینی، این ماده را می‌توان به طور موفقیت‌آمیز درمرحله تهیه محیط کشت ریزنمونه استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: ریزازدیادی، کشت درون شیشه ای، کیتوسان، مینی‌تیوبر

www.SID.ir

Archive of SID

Effects of *in vitro* and Greenhouse Application of Soluble Chitosan on Growth and Minituber Yield of Potato Plantlets

R Asghari-Zakaria[1*], B Maleki -Zanjani[2], E Sedghi[3] and M Manafian[4]

[1]Department of Crop Production and Breeding, Faculty of Agriculture, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
[2, 3] Department of Crop Production and Breeding, Faculty of Agriculture, Zanjan University, Zanjan, Iran
[4]Vilcage Minituber Production LTD, Ardabil, Iran
*Corresponding author: E-mail:rrasghari@yahoo.com

Abstract

In order to investigate the effect of soluble chitosan on plantlets growth *in vitro* and minituber yield in potato micropropagation, single node plantlets of Agria cultivar were treated *in vitro* with soluble chitosan at different concentrations including 0, 5, 15, 50, 150 and 500 mg l^{-1} by adding to the tissue culture medium and growth parameters of plantlets were assessed in vitro. A number of plantlets were subsequently transferred to the greenhouse and sprayed with chitosan solutions including 0, 200, 400, 600, 800 and 1000 mg l^{-1} weekly, and minituber yield recorded. The results showed that the effect of chitosan was significant on fresh and dry weights of shoot and root and length of plantlets, but its effect on leaf number per plantlet was insignificant. Application of chitosan at concentration of 500 mg l^{-1} significantly increased the shoot fresh and dry weights, compared to the control. However, at low concentrations its effect was insignificant. The 15 mg l^{-1} of soluble chitosan significantly led to the increase in root fresh weight of *in vitro* plantlets. Whereas, higher concentrations, especially 500 mg l^{-1}, significantly decreased root fresh weight of *in vitro* plantlets without considerable decrease in root dry weight. *In vitro* application of 500 mg l^{-1} chitosan significantly resulted in improved acclimatization of plantlets in the greenhouse as expressed by increasing minituber numbers and yields, compared to the control. However, foliar chitosan application at the greenhouse did not show significant effect on yield parameters. The present results indicate that soluble chitosan can be successfully incorporated into potato seed production from *in vitro* plantlet stage.

Keywords: Chitosan, *In vitro* culture, Micropropagation, Minituber

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

تامین بذر پیش‌پایه[1] و پایه[2] در سیب‌زمینی یکی از نیازهای اصلی و اساسی کشور در زمینه تولید این محصول مهم و استراتژیک می باشد. در سال‌های اخیر تولید بذر سیب‌زمینی عاری از ویروس به روش تولید انبوه مورد توجه بوده و در کشور ما نیز از این روش برای تولید بذر استفاده می‌شود.

یکی از مشکلات مهم در ریزازدیادی سیب‌زمینی و تولید تجاری بذر انواع تنش‌هایی است که گیاهچه‌های سیب‌زمینی به جهت اسموزیته بالا، تغذیه معدنی و هورمونی نامتعادل، رطوبت نسبی بالا و تجمع گازهای مضر در شرایط درون شیشه‌ای با آن مواجه هستند که همه این تنش‌ها از نوع آسیب‌های اکسیداتیو محسوب می‌شوند (کاسل و کاری ۲۰۰۱ و گاسپار و همکاران ۲۰۰۲). بنابراین، فعال نمودن مکانسیم‌های دفاعی گیاه در برابر این تنش‌ها می‌تواند صدمات ناشی از آنها را کاهش دهد (جویس و همکاران ۲۰۰۳). برخی از مواد شیمیایی نظیر کیتوسان[3] با فعال نمودن تعدادی از آنزیم‌ها و آنتی‌اکسیدان‌ها در افزایش رشد و عملکرد گیاهچه‌ها در محیط کشت موثر هستند.

کیتین پلی‌ساکارید طبیعی است که از پوسته خارجی کوسه، میگو، خرچنگ و دیواره سلولی قارچ‌ها بدست می‌آید که پس از استیل‌زدائی[4] به کیتوسان تبدیل می‌شود. کیتوسان با فعال نمودن تعدادی از آنزیم‌ها نظیر فیتوالکسین‌ها و کیتینازها مقاومت گیاه را در برابر شرایط نامساعد محیطی و تنش‌ها افزایش داده و صدمات ناشی از آنها را کاهش می‌دهد (آگراوال و همکاران ۲۰۰۲). تیمار با کیتوسان همچنین باعث افزایش مقاومت و تحمل گیاه در برابر بیماری‌ها می‌شود (الغوث و همکاران ۲۰۰۰، باسکارا ردی و همکاران ۲۰۰۰، والکر و همکاران ۲۰۰۴، بائوتیستا بانوس و همکاران ۲۰۰۶ و چیرکو و همکاران ۲۰۰۷).

استفاده از کیتوسان در محیط کشت درون شیشه‌ای باعث بهبود رشد و قدرت ریزنمونه و سازگاری گیاهچه حاصل بعد از انتقال به محیط گلخانه می‌شود (نژه و همکاران ۲۰۰۶). از این ماده برای افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه در محیط کشت در تعدادی از گیاهان دارویی مثل آرتمیزیا (پوتالون و همکاران ۲۰۰۷) استفاده شده است.

کووالسکی و همکاران (۲۰۰۶) گزارش کردند که محلول کیتوسان در محیط کشت درون شیشه‌ای در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر به همراه محلول‌پاشی در گلخانه بیشترین تاثیر را روی صفات تعداد و وزن کل غده‌چه در گیاهچه‌های سیب‌زمینی دارد.

در آزمایش حاضر تاثیر محلول کیتوسان بر رشد گیاهچه‌های سیب‌زمینی در شرایط کشت درون شیشه‌ای و عملکرد غده‌چه‌های حاصل در ریزنمونه‌های گره‌دار رقم آگریا و نیز تاثیر محلول‌پاشی آن بر رشد و عملکرد گیاهچه‌های حاصل در گلخانه مطالعه شده و امکان استفاده از آن در ریزازدیادی سیب‌زمینی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در آزمایشگاه تولید مینی‌تیوبر سیب‌زمینی شرکت ویلکیج اردبیل بر روی گیاهچه‌های سیب‌زمینی رقم آگریا انجام شد. برای این کار غلظت‌های مختلف کیتوسان (با نام تجاری ChitoPlant از شرکت Chipro آلمان) شامل ۵، ۱۵، ۵۰، ۱۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر به محیط کشت پایه MS (موراشیک و اسکوگ ۱۹۶۲) اضافه و pH محلول به وسیله NaOH در ۵/۷۷ تنظیم گردید. لازم به توضیح است به علت عدم بستن آگار در محلول با غلظت ۷۵۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم کیتوسان، این غلظت‌ها از آزمایش حذف شد.

[1] Prebasic seed
[2] Basic seed
[3] Chitosan
[4] Deacetylation

www.SID.ir

Archive of SID

محیط کشت آماده شده در لوله‌های کشت ۱۵×۲ سانتی متر به میزان ۱۰ میلی لیتر ریخته شد و پس از استریل در دستگاه اتوکلاو تا موقع کشت در یخچال نگهداری شدند. پس از کشت ریز نمونه (ریزنمونه‌های تک گره ساقه)، لوله‌های کشت به اتاقک رشد انتقال یافت. حرارت اتاقک رشد بین ۲۲-۲۰ درجه سانتی‌گراد و نور آن بوسیله لامپ‌های فلورسنت با شدت تقریبی ۵۰ میکرومول بر متر مربع بر ثانیه در سطح محیط کشت تنظیم شد. یک ماه بعد از کشت ریز نمونه برای هر تیمار تعداد ۱۰ گیاهچه بطور تصادفی انتخاب و صفات طول گیاهچه، تعداد برگ، وزن تر گیاهچه و ریشه، وزن خشک گیاهچه و ریشه اندازه‌گیری گردید. بقیه گیاهچه‌ها جهت بررسی صفات مورد نظر به گلخانه انتقال یافتند و پس از سازش دادن گیاهچه‌ها با شرایط گلخانه‌ای در آنجا کشت گردیدند. کشت در گلدان‌های پلاستیکی داخل ماده بیولوژیکی بیولان[1] (از شرکت بیولان فنلاند) انجام گرفت. بیولان بستر آلی هست که از نظر ترکیب مواد آلی بسیار غنی است و نیازهای گیاهی را تامین می‌نماید. به منظور بررسی تاثیر محلول‌پاشی کیتوسان روی گیاهچه‌های سیب‌زمینی موجود در شرایط گلخانه‌ای، محلول‌های کیتوسان در غلظت صفر، ۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر آب تهیه گردید و پس از دو هفته از کاشت به صورت هفتگی بر روی گیاهچه‌ها محلول‌پاشی شد و این عمل پنج بار در گلخانه صورت پذیرفت. برداشت بوته‌ها ۷۰ روز پس از کاشت انجام گرفت و صفات ارتفاع بوته، تعداد و وزن غده‌چه در بوته اندازه‌گیری شدند.

تجزیه واریانس داده‌های حاصل از شرایط درون شیشه‌ای در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۱۰ تکرار (بوته) انجام گرفت که در آن غلظت‌های مختلف محلول کیتوسان در ۶ غلظت (صفر، ۵، ۱۵، ۵۰، ۱۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر) به عنوان تیمار در نظر گرفته شد. داده‌های حاصل از آزمایش گلخانه‌ای نیز به صورت کرت‌های خرد شده در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار تجزیه واریانس شد که در آن فاکتور تیمار با کیتوسان در گلخانه در ۶ غلظت (صفر، ۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم کیتوسان در لیتر) به عنوان فاکتور اصلی و فاکتور تیمار با کیتوسان در محیط کشت در ۶ سطح به عنوان فاکتور فرعی در نظر گرفته شد. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانِت (سطح صفر به عنوان تیمار شاهد) در سطح احتمال یک درصد استفاده شد. تجزیه واریانس و مقایسه میانگین داده‌ها به کمک نرم افزار SAS انجام گرفت.

نتایج و بحث

تاثیر سطوح مختلف کیتوسان بر صفات مختلف مورد ارزیابی در شرایط درون شیشه‌ای

جدول تجزیه واریانس اثر تیمار با محلول کیتوسان بر صفات مختلف در جدول ۱ نشان داده شده است. همان طوری که ملاحظه می‌شود اثر کیتوسان بر صفات وزن تر و خشک بخش هوائی و ریشه در سطح احتمال ۱% و بر طول گیاهچه در سطح احتمال ۵% معنی‌دار بود ولی بر تعداد برگ در هر گیاهچه تاثیر معنی‌داری نداشت.

مقایسه میانگین غلظت‌های مختلف کیتوسان نشان داد که در صفات وزن تر و خشک بخش هوائی، هر چند غلظت‌های ۵، ۱۵، ۵۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم کیتوسان در محیط کشت در اکثر موارد باعث افزایش میزان این صفات شدند ولی اختلاف آنها با شاهد معنی‌دار نبود، در صورتی که غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر کیتوسان نسبت به شاهد اختلاف معنی‌داری داشته و نسبت به شاهد به ترتیب ۴۲ و ۶۵ درصد وزن‌تر و خشک بخش هوائی را افزایش داد. کووالسکی و همکاران (۲۰۰۶) اعلام نمودند که در شرایط درون شیشه‌ای کیتوسان در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر، ۱۸ درصد وزن‌تر و خشک بخش‌هوائی را افزایش می‌دهد، ولی در غلظت‌های پایین اختلاف معنی داری با شاهد ندارد.

[1] Biolan

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱- تجزیه واریانس تاثیر غلظت‌های مختلف کیتوسان بر ریزنمونه‌های سیب‌زمینی در شرایط درون شیشه‌ای از نظر صفات مختلف مورد مطالعه

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات					
		وزن تر بخش هوائی	وزن خشک بخش هوائی	وزن تر ریشه‌ها	وزن خشک ریشه‌ها	طول گیاهچه	تعداد برگ در گیاهچه
کیتوسان	۵	۱۲۰٤٤/٦**	۲۱٤/۰٦**	۳٤۹٤/۸۵**	۱٦/۱۱۳**	۱۰/۰۹۵*	۱/٤۲۰^{ns}
اشتباه آزمایشی	٥٤	۲۸۲۰/۸۸	۳٤/۲۱۷	۱۲۲/٦٥۹	۱/۷٦۸	۳/٤٥٥	۱/۷۰۰
ضریب تغییرات (%)		۱٥/٦	۱٥/٦	۱۱/٥	۱٤/۹	۱٤/٦	۱٥/٥

ns، * و ** به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

جدول ۲- مقایسه غلظت‌های مختلف محلول کیتوسان به کار رفته در محیط کشت با تیمار شاهد (بدون مصرف کیتوسان) با آزمون دانت

محیط	صفات	شاهد	اختلاف غلظت‌های مختلف تیمار با محلول کیتوسان از تیمار شاهد (غلظت صفر)					حداقل اختلاف معنی‌دار در آزمون دانت
			۵	۱۵	۵۰	۱۵۰	۵۰۰	
شرایط درون شیشه‌ای	وزن تر بخش هوایی (میلی‌گرم در گیاهچه)	۳۰۲/۲	۲۳/۸	۳۵/٦	-۳/۲	۱٤/٦	۱۲۷/۰**	۷٦/۹٥
	وزن خشک بخش هوایی (میلی‌گرم در گیاهچه)	۲۹/۸	۷/۰	۷/٤	٤/۲	٦/۲	۱۹/٤**	۸/٤۸
	وزن تر ریشه (میلی‌گرم در گیاهچه)	۱۰۸/٥	۱۲/۸	٤۰/۸**	-۱٦/۹**	-۱۷/٦**	-۳۰/۳**	۱٦/۰٤
	وزن خشک ریشه (میلی‌گرم در گیاهچه)	۷/۲٤	۱/۱٦	۳/۹٦**	-۰/۰۲	۰/٥٤	-۰/٦٦	۱/۹۲
	طول گیاهچه (سانتیمتر)	۱۳/۷۰	۰/۳	-۰/٦	-۱/٦	-۰/۲	-۳/٦**	۲/٦۹
	تعداد برگ	۸/۸	۰/۲	-۰/٦	-۰/۲	۰/۲	۱/۰	۱/۸۹
گلخانه	تعداد غده‌چه در بوته	۲/۰٦	۰/٦۴**	۰/۲۴	۰/۳٥	۰/۳۷	۱/٥۳**	۰/٤۹
	وزن غده‌چه در بوته (گرم در بوته)	۱۲/۲۸	۱/۸۹	۰/۸۱	۱/٤۰	۱/٤٦	۴/٥۴**	۲/۳۱
	ارتفاع بوته (سانتی متر)	۲۰/۰۹	۰/٥۱	۲/۱٦	۲/٦۱**	۰/۲۹	۰/۰۱	۲/۳۰

** معنی‌دار در سطح احتمال ۱%

www.SID.ir

Archive of SID

مقایسه میانگین سطوح مختلف غلظت کیتوسان (جدول ۲) نشان داد که با افزایش غلظت کیتوسان وزن تر ریشه‌ها به طور معنی‌داری کاهش می‌یابد. به طوری که کیتوسان در غلظت ۱۵ میلی‌گرم بر افزایش وزن‌تر ریشه‌ها موثر است ولی با افزایش غلظت از ۱۵ میلی‌گرم، وزن‌تر ریشه به طور معنی‌داری کاهش یافت. با این حال محلول کیتوسان فقط در غلظت ۱۵ میلی‌گرم بر صفت وزن خشک ریشه به طور معنی‌دار تاثیر داشته و نسبت به شاهد وزن خشک ریشه را به میزان ۵۵ درصد افزایش داد ولی در سایر غلظت‌ها با شاهد اختلاف معنی‌داری نداشت. این نتایج نشان می‌دهد که کاهش وزن تر ریشه در غلظت‌های بالاتر از ۱۵ میلی‌گرم در لیتر محلول کیتوسان بیشتر به علت جذب کم آب و کاهش محتوای آب بافت ریشه بوده است و وزن خشک کاهش نیافته است. در واقع محلول کیتوسان باعث افزایش درصد ماده خشک ریشه و همچنین درصد ماده خشک بخش هوایی شده است. کووالسکی و همکاران (۲۰۰۶) نیز نشان دادند که کیتوسان در غلظت‌های مختلف ۱، ۱۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر باعث افزایش درصد ماده خشک گیاهچه می‌شود.

در شرایط درون شیشه‌ای در غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر محلول کیتوسان، کاهش معنی‌داری در طول گیاهچه‌های سیب‌زمینی مشاهده شد. در سطوح دیگر محلول کیتوسان اختلاف معنی‌داری نسبت به شاهد مشاهده نشد (جدول۲). در عین حال، کاربرد کیتوسان در شرایط درون شیشه‌ای تاثیر معنی‌داری بر صفت تعداد برگ در گیاهچه نداشت و این نشان می‌دهد که با کاربرد کیتوسان در غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر فاصله میان‌گره‌ها کاهش می‌یابد که حاکی از افزایش کیفیت و ویگور گیاهچه‌های تولید شده در محیط کشت می‌باشد. با این حال، کووالسکی و همکاران (۲۰۰۶) افزایش طول گیاهچه در نتیجه تیمار با کیتوسان را گزارش داده‌اند.

تاثیر سطوح مختلف کیتوسان بر صفات مختلف مورد ارزیابی در شرایط گلخانه

در جدول تجزیه واریانس آزمایش گلخانه ای (جدول ۳) بر اساس کرت‌های خرد شده در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی، اثر فاکتور محلول‌پاشی کیتوسان در گلخانه (T_2) برای هیچ یک از صفات مورد بررسی معنی‌دار نبود و این امر یعنی که محلول‌پاشی گیاهچه‌های سیب‌زمینی با کیتوسان در گلخانه بر صفات مورد بررسی تاثیری نداشته است. ولی تاثیر مصرف کیتوسان در شرایط درون شیشه‌ای (T_1) در کلیه صفات مورد مطالعه در گلخانه شامل تعداد غده‌چه در بوته، وزن غده‌چه در بوته و ارتفاع بوته در سطح احتمال ۱% معنی‌دار بود. معنی‌دار شدن اثر سطوح مختلف کیتوسان استفاده شده در محیط کشت نشان می‌دهد که عملکرد گیاهچه‌ها در گلخانه تحت تاثیر غلظت‌های مختلف کیتوسان مصرفی در محیط کشت قرار می‌گیرد اما محلول‌پاشی خارجی آن در گلخانه تاثیری ندارد. همچنین اثر متقابل کاربرد کیتوسان در محیط کشت (T_1) با کاربرد آن در گلخانه (T_2) نیز برای صفات مختلف مورد مطالعه معنی‌دار نبود. والکر و همکاران (۲۰۰۴) نیز نشان دادند که محلول‌پاشی کیتوسان در گلخانه روی گیاهان نخودفرنگی، هویج، چغندرقند، کاهو، خیار و فلفل بی‌تاثیر است و فقط در گیاه گوجه فرنگی در دو فصل از سه فصل مورد آزمایش تاثیر آن مثبت بوده و باعث افزایش ۲۰ درصد در عملکرد این گیاه شد. کووالسکی و همکاران (۲۰۰۶) نیز نشان دادند که کاربرد کیتوسان در شرایط گلخانه (*ex vitro*) تاثیری بر افزایش عملکرد و تعداد غده‌چه در بوته ندارد ولی استفاده از آن در غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر به همراه کاربرد آن در محیط کشت در افزایش عملکرد و تعداد غده‌چه سیب‌زمینی موثر است. آنها نشان دادند که کیفیت مطلوب گیاهچه‌ها در محیط کشت با فعال نمودن مکانیسم‌های دفاعی گیاه و کاهش تاثیر

www.SID.ir

Archive of SID

نامطلوب عوامل تنش‌زا در افزایش رشد و عملکرد گیاهان حاصل در گلخانه و حتی در مزرعه موثر است.

مقایسه غلظت‌های متفاوت کیتوسان مصرفی در محیط کشت نشان داد که حداکثر تاثیر این ماده در افزایش تعداد غده‌چه مربوط به تیمار ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر محیط کشت است که به طور معنی‌داری نسبت به شاهد حدود ۷۴ درصد تعداد غده‌چه در بوته را افزایش می‌دهد، همچنین در غلظت ۵ میلی‌گرم در لیتر محیط کشت نیز میزان افزایش نسبت به شاهد معنی‌دار بود. غلظت‌های ۱۵، ۵۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم کیتوسان در محیط کشت نسبت به شاهد اختلاف معنی‌داری نداشتند. در عین حال مطالعات کووالسکی و همکاران (۲۰۰۶) نشان داد که کیتوسان در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر در محیط کشت تعداد غده‌چه را در حدود ۴۰ درصد افزایش می‌دهد.

تاثیر محلول کیتوسان در افزایش وزن غده‌چه در بوته نسبت به شاهد، فقط در تیمار ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر محیط کشت در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. به طوری که در این غلظت حدود ۳۷ درصد وزن غده‌چه در بوته نسبت به شاهد افزایش نشان داد. مطالعات کووالسکی و همکاران (۲۰۰۶) نیز نشان داد که حداکثر تاثیر کیتوسان بر وزن کل غده‌چه در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر محیط کشت می‌باشد که به طور متوسط افزایش ۸ درصد نسبت به شاهد را در پی داشت. در این آزمایش غلظت مطلوب ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر محیط کشت بدست آمد.

جدول ۳- تجزیه واریانس صفات مختلف سیب زمینی پس از اعمال تیمار کیتوسان در شرایط گلخانه

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات		
		تعداد غده‌چه در بوته	وزن غده‌چه در بوته	ارتفاع بوته
تکرار	۲	۰/۶۵ ns	۱۴/۱۶ ns	۲۶/۶۵ *
تیمار با کیتوسان در گلخانه (T_2)	۵	۰/۳۹ ns	۱/۹۹ ns	۴/۷۵ ns
اشتباه ۱	۱۰	۰/۳۱	۷/۰۱	۷/۲۵
تیمار با کیتوسان در محیط کشت (T_1)	۵	۵/۰۸**	۴۲/۸۶**	۲۳/۹۶**
$T_2 \times T_1$	۲۵	۰/۲۷ ns	۴/۴۱ ns	۲/۳۹ ns
اشتباه۲	۶۰	۰/۲۰	۴/۷۲	۴/۶۸
ضریب تغییرات (%)		۱۷/۳	۱۵/۶	۱۰/۳

ns، * و ** به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

اعمال کیتوسان در غلظت‌های ۱۵ و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر محیط کشت باعث افزایش ارتفاع گیاهچه‌های سیب‌زمینی گردید که نسبت به شاهد دارای اختلاف معنی‌دار بود ولی غلظت‌های ۵، ۱۵۰، ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر کیتوسان در محیط کشت اختلاف معنی‌داری نسبت به شاهد نشان ندادند.

نتیجه‌گیری

در مجموع به نظر می‌رسد مصرف کیتوسان در غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر در محیط کشت باعث سازگاری مطلوب گیاهچه‌های سیب‌زمینی در شرایط درون شیشه‌ای و پس از انتقال آن به گلخانه می‌شود که تاثیر خود را از طریق افزایش تعداد و وزن غده‌چه در بوته نشان می‌دهد. نتایج حاصل از این پژوهش به خوبی

www.SID.ir

Archive of SID

نشان می‌دهد که با ایجاد شرایط فیزیولوژیکی مطلوب در محیط کشت می توان عملکرد گیاهچه‌های سیب‌زمینی را پس از انتقال آنها به گلخانه بهبود داد. با وجود این، کاربرد کیتوسان به صورت محلول‌پاشی در گلخانه در افزایش تعداد و وزن غده‌چه‌ها و سایر صفات مورد بررسی تاثیر نداشت و نیاز هست که برای تعیین تاثیر محلول پاشی روی عملکرد آن آزمایشات بیشتری انجام گیرد. بنابراین، در تولید مینی‌تیوبر سیب‌زمینی می‌توان به سهولت این ماده را قبل از اتوکلاو کردن و با صرف هزینه جزئی به محیط کشت اضافه کرد.

سپاسگزاری

بدینوسیله از زحمات جناب آقای مهندس لطیف فتحی مدیریت محترم شرکت تولید بذر سیب‌زمینی ویلکیج که امکان اجرای این آزمایش را در آزمایشگاه آن شرکت فراهم نمودند صمیمانه تشکر و قدردانی می‌نماید.

منابع مورد استفاده

Agrawal GK, Rakwal R, Tamogami S, Yonekura M, Kubo A, and Saji H, 2002. Chitosan activates defense/stress responses in leaves *of Oryza sativa* seedlings. Plant Physiol Biochem 40: 1061-1069.

Bautista-Banos S, Hernandez-Lauzardo AN, Velazquez-del Valle MG, Hernandez-Lopez M, Ait Bark E, Bosques-Molina E and Wilson CL, 2006. Chitosan as a potential natural compound to control pre and postharvest diseases of horticultural commodities. Crop Protection 25: 108-118.

Bhaskara Reddy MV, Angers P, Castaigne F and Arul J, 2000. Chitosan effects on black mold rot and pathogenic factors produce by *Alternria alternata* in postharvest tomatoes. J Amer Soc Hort Sci 125 (6): 742-747.

Cassells AC and Curry RF, 2001. Oxidative stress and physiological, epigenetic and genetic variability in plant tissue culture: Implications for micropropagators and genetic engineers. Plant Cell Tissue Organ Cultre 64:145-157.

Chrikov SN, II'ina AV, Surgucheva NA, Letunova EV, Varitsev YuA, Tatarinova NYu and Varlamov VP, 2007. Effect of chitosan on systemic viral infection and some defense responses in potato plants. Russian J Plant Physiol 48 (6): 774–779.

El-Ghaouth A, Similance JL and Wilson CL, 2000. Enhancement of the performance of *Candida saitoana* by the addition of glycolchitosan for the control of postharvest decay of apple and citrus fruit. Postharvest Biol Technol 19: 103-110.

Gaspar T, Franck T, Bisbis B, Kevers C, Jouve L, Hausman JF and Dommes J, 2002. Concepts in plant stress physiology. Application to plant tissue cultures. Plant Growth Regul 37: 263-285.

Joyce SM, Cassells AC and Jain SM, 2003. Stress and aberrant phenotypes in *in vitro* culture. Plant Cell Tissue Organ Culture 74: 103-121.

Kowalaski B, Jimenez T, Herrrera L and Penalver DA, 2006. Application of soluble chitosan *in vitro* and in the greenhouse to increase yield and seed quality of potato minitubers. Potato Res 49: 167-176.

www.SID.ir

Archive of SID

Murashige T and Skoog F, 1962. A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures. Physiol Plant 15: 473-497.

Nge KL, Nwe N, Chandrkrachang S and Stevens WF, 2006. Chitosan as a growth stimulator in orchid tissue culture. Plant Science 170: 1185–1190.

Putalun W, Luealon W, De-Eknamkul W, Tanaka H and Shoyama Y, 2007. Improvement of artemisinin production by chitosan in hairy root cultures of *Artemisia annua* L. Biotechnol Lett 29: 1143–1146.

Walker R, Morris S, Brown P and Gracie A, 2004. Evaluation of potential for chitosan to enhance plant defense. Rural Industries Research and Development Corporation Australian Government, Canberra, Australia.

www.SID.ir