

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

پریسا قدیمی گرودی<sup>۱</sup>، فریبرز زارع نهندي<sup>۲\*</sup>، علیرضا مطلبی آذر<sup>۳</sup>، جابر پناهنده<sup>۴</sup> و محمدرضا دادپور<sup>۵</sup>  
 ۱، ۲، ۳، ۴ و ۵. دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و دانشیاران، دانشکده 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 آنتی‌ژیرلین 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 ریزغده‌ها، 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 آنتی‌ژیرلین افزایش پیدا کرد. در شاخص‌های مربوط به ریزغده‌زایی گیاهان تیمار شده با پاکلوبوترازول و یونی‌کونازول، عملکرد بهتری نسبت به گیاهان شاهد داشتند که این امر می‌تواند نشان‌دهنده مؤثر بودن این مواد در ریزغده‌زایی باشد. با توجه به یافته‌های اخیر به نظر می‌رسد استفاده از پاکلوبوترازول و یونی‌کونازول در افزایش ریزغده‌زایی و اندازه ریزغده‌ها و کاهش رشد رویشی شاخساره در سیب‌زمینی رقم آگریا مؤثر باشد.

**واژه‌های کلیدی:** آنتی‌ژیرلین، تریازول، رشد رویشی، طول میان‌گره، عملکرد.

### مقدمه

سیب‌زمینی (*Solanum tuberosum* L.) یکی از مهم‌ترین گیاهان خانواده Solanaceae است. افزایش رویشی این محصول باعث انتقال و شیوع آلودگی‌های نظام‌یافته (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 مبادله ذخایر توارثی (ژرم‌پلاسم) تبدیل شده است، بنابراین لازم است تا فراوانی و اندازه ریزغده‌ها را با استفاده از عامل‌های مختلف بهینه کرد. مهم‌ترین عامل‌های مؤثر در تولید ریزغده شامل ژنوتیپ (Nistor et al., 2010)، نوع ریز نمونه (Dobrąnszki et al., 2008)، دوره نوری یا فتوپریود (Paiva Neto & Campos Otoni, 2003)،

(Fletcher *et al.*, 2000). سازوکار عمومی تریازول‌ها جلوگیری از زیست ساخت (بیوسنتز) ژبیرلین و استرول‌هاست. تریازول‌ها با دخالت در سه مرحله اول مسیر اکسیداسیون انت کورن از تبدیل انت کورنول به انت کورنوئیک اسید و ترکیب‌های اکسیدشده بعدی جلوگیری کرده و بازدارنده تولید ژبیرلیک اسید می‌شوند. در گیاهان تیمار شده با ترکیب‌های تریازولی، غلظت کمتری از ژبیرلین‌ها یافت می‌شود، این امر از نقش بازدارنده تریازول‌ها در ساخت (سنتز) ژبیرلین حمایت می‌کند، همچنین خاصیت هورمونی و حفاظت از تنش این ترکیب‌ها با به کار بردن ژبیرلین 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 سبزینه (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 تنظیم‌کننده رشد تریازول‌ها به‌واسطه توانایی میانجی‌گری این ترکیب‌ها در برقراری تعادل بین هورمون‌های مهم گیاهی مثل ژبیرلیک اسید، آبسزیک اسید و سیتوکینین به دست می‌آید (Kamounsis *et al.*, 1999).

پاکلوبوترازول یک ترکیب تریازولی قارچ‌کش و بسیار فعال از نظر بیوشیمیایی است که ویژگی‌های تنظیم‌کننده رشد گیاهی نیز دارد و بر بیشتر گونه‌های گیاهی مؤثر است. این ماده مانند دیگر تریازول‌ها از راه جلوگیری از زیست ساخت ژبیرلین رشد رویشی را کاهش می‌دهد. پاکلوبوترازول با جلوگیری از فعالیت آنزیم کائورن اکسیداز از ساخت ژبیرلین جلوگیری می‌کند. جلوگیری از ساخت ژبیرلین 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 ژبیرلین باعث جلوگیری از رشد طولی ساقه می‌شود.

با توجه به اینکه تولید ریزغده از مراحل اساسی در

نوع منبع کربن ( Paiva Neto & Campos Otoni, 2003)، تنظیم‌کننده‌های رشد (Sarkar *et al.*, 2006)، ترکیب‌های آنتی ژبیرلین<sup>۱</sup> (Sharma *et al.*, 2004)، تغذیه نیتروژنی و سن فیزیولوژیک غده مادری (در صورت استفاده به عنوان ریز نمونه) (Sharma *et al.*, 2004) است.

به‌طور کلی ترکیب‌هایی که به شکلی شدید رشد رویشی را متوقف می‌کنند، باعث تحریک غده‌زایی می‌شوند. بازدارنده‌های رشد به‌طور معمول باعث کاهش محتوای ژبیرلین درونی می‌شوند که به عبارت دیگر 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 (CCC) (Houque, 2010)، مالئیک هیدرازید (MH)، آلار و آمو ۱۶۱۸ اشاره کرد.

تریازول‌ها از مهم‌ترین ترکیب‌های بازدارنده ژبیرلین 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 تنظیم‌کننده 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 تنظیم‌کننده تریازول‌ها به‌واسطه تداخل آن‌ها در مسیر ایزوپرنوئید و تغییر دادن تعادل هورمون‌های گیاهی صورت می‌گیرد

1. Anti-gibberellin  
2. Chlorocholine chloride

کشت ریزغده‌زایی سترون انتقال یافتند. ریز نمونه‌ها در شرایط تاریکی و در دمای  $17 \pm 2$  درجهٔ سلسیوس نگهداری شدند و همراه یادداشت‌برداری صورت گرفت. در مرحلهٔ ریز ازدیادی از قلمه‌های تک‌گره در همراه 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.

#### تجزیه و تحلیل 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. تجزیه و تحلیل 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 شایان توجهی از کاربرد دو تنظیم‌کنندهٔ رشد پاکلوبوترازول و یونی‌کونازول 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 آنتی‌ژن‌برلین) مشاهده شد. در تیمار با پاکلوبوترازول (جدول ۵) بیشترین میزان ریزغده‌زایی در تیمار با  $0.64$  میلی‌گرم بر لیتر پاکلوبوترازول با  $93/3$  درصد غده‌زایی مشاهده شد. بین غلظت  $0.64$  میلی‌گرم بر لیتر و غلظت‌های  $0.16$  و  $0.32$  میلی‌گرم بر لیتر پاکلوبوترازول تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. افزون بر این میان شاهد و  $0.32$  میلی‌گرم بر لیتر پاکلوبوترازول نیز تفاوت شایان توجهی مشاهده نشد. در

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 آنتی‌ژن‌برلینی که این دو ماده از خود نشان می‌دهند و با در نظر گرفتن این امر که ژن‌برلین‌ها 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 آنتی‌ژن‌برلینی 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  $25 \pm 2$  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  $5/8$  تنظیم شد. سپس ۸ گرم آگار برای جامد کردن محیط کشت، به آن اضافه شد. سپس پاکلوبوترازول و یونی‌کونازول به‌صورت جداگانه هر یک در پنج غلظت (۰،  $0.08$ ،  $0.16$ ،  $0.32$  و  $0.64$  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  $121^\circ\text{C}$  و در فشار  $1/2$  اتمسفر به مدت ۱۰ دقیقه ضدعفونی شد.

نمونه‌های بدون ویروس موجود در درون شیشه‌ها، در محفظهٔ هود لامینار از طرف‌ها بیرون شده و روی کاغذ صافی که از پیش سترون (استریل) شده، قرار گرفتند. آنگاه قلمه‌های تک‌گره از آن‌ها تهیه شده و به محیط

در هر دو تیمار پاکلوبوترازول و یونی کونازول کمترین میزان طول و قطر ثبت شده برای ریزغده نیز مربوط به تیمار شاهد است. بیشترین طول و قطر ریز غده در تیمار پاکلوبوترازول در تیمار ۰/۶۴ میلی گرم بر لیتر مشاهده شد. بین این تیمار و دیگر تیمارهای حاوی پاکلوبوترازول تفاوت شایان توجهی مشاهده نشد. در تیمار یونی کونازول بالاترین میزان طول و قطر ثبت شده در غده مربوط به تیمار ۰/۰۸ میلی گرم بر لیتر یونی کونازول است اما بین این تیمار و دیگر تیمارهای حاوی یونی کونازول نیز تفاوت چشمگیری مشاهده نشد.

تیمار با یونی کونازول (جدول ۶) نیز کمترین ریزغده‌زایی در تیمار شاهد و بیشترین ریزغده‌زایی در تیمار ۰/۳۲ میلی گرم بر لیتر با ۱۰۰ درصد 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 یونی کونازول کمی متفاوت به نظر می‌رسد. در این تیمار بالاترین میزان غده‌زایی را در تیمار ۰/۳۲ میلی گرم بر لیتر یونی کونازول با ۱۰۰ درصد غده‌زایی مشاهده شد و دوباره در تیمار پنجم میزان ریزغده‌زایی کاهش پیدا کرد، اما این تفاوت شایان توجه نیست.

جدول ۱. تجزیه 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**
Error	13	183.792	0.297	0.305	0.001

\* and \*\* represents significant differences at 5% and 1%.

\* و \*\* بیانگر تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

جدول ۲. تجزیه 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**
Error	13	183.792	0.297	0.305	0.001

\* and \*\* represents significant differences at 5% and 1%.

\* و \*\* بیانگر تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

از این فرضیه حمایت می‌کرد. در واقع القا و رشد ریزغده‌ها تنها هنگامی که محتوای GA1 پایین تر از حد بحرانی باشد، رخ می‌دهد. همچنین تیمار با GA3 به جای 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<sup>۱</sup>) (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

بالاترین میزان وزن تر غده ثبت شده در هر دو تیمار مربوط به بالاترین غلظت ماده یعنی ۰/۶۴ میلی گرم بر لیتر است و کمترین میزان وزن تر ثبت شده 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 ژیرلین‌ها تنظیم‌کننده اصلی در خلال تشکیل غده است. همچنین آن‌ها نتیجه گرفتند که ژیرلین 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

و یونی‌کونازول در ایجاد و رشد اندام‌های غده‌ای مؤثرند اما غلظت و میزان مورد استفاده از این مواد در اثر غربالگری‌های تجربی به دست می‌آید. بر پایه 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 پاکلوبوتراول باعث آغازش سریع‌تر فرآیند غده‌زایی و درعین حال زودتر متوقف شدن این فرآیند در مقایسه با شاهد (Simko, 1994) می‌شود. بین غلظت‌های پایین پاکلوبوتراول 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).

تخصیص مواد آسیمیلاته، میزان بیشتری از مواد را به سمت ریشه انتقال می‌دهند و بدین ترتیب از راه جلوگیری از زیست ساخت یا عمل ژیرلین، عملکرد را افزایش می‌دهند (Fletcher *et al.*, 2000). در برابر انتقال فتوآسیمیلاته‌ها به سمت غده و ساخت نشاسته با کاربرد ژیرلیک‌اسید کاهش می‌یابد (Mares *et al.*, 1981) همچنین عملکرد سودمند بازدارنده‌های رشد روی کیفیت ریشه‌های غده‌ای در نتیجه فعالیت ناهمسازی (آنتاگونیستی) آن‌ها با ژیرلیک‌اسید، توسط Fletcher *et al.* (2000) بیان شد. ترکیب‌های تریازولی و ژیرلیک‌اسیدها، به‌طورمعمول اثرگذاری‌های متضاد و ناهمسازی هم‌زمان در رشد و نمو گیاهان دارند (Balamani & Poovaiah, 1992). بازدارنده‌های زیست ساخت ژیرلین مانند پاکلوبوتراول

جدول ۳. جدول تجزیه 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

\* and \*\* represents significant differences at 5% and 1%.

\* و \*\* بیانگر تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

جدول ۴. جدول تجزیه 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

\* and \*\* represents significant differences at 5% and 1%.

\* و \*\* بیانگر تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

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

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 مورد استفاده در شاهد مشاهده شد. در تیمار پاکلوبوتراول بیشترین شمار برگ و گره در بالاترین غلظت پاکلوبوتراول مشاهده شد. اگرچه بین این غلظت و دیگر غلظت‌های پاکلوبوتراول 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.

یونی کونازول نیز بین سه غلظت ۰/۶۴، ۰/۳۲ و ۰/۱۶ میلی گرم بر لیتر تفاوت شایان مشاهده‌ای 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 ژیرلین‌ها که افزاینده 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 میان‌گره در نتیجه تیمار پاکلوبوترازول است.

کمترین رشد مربوط به غلظت ۰/۶۴ میلی گرم بر لیتر است. بین غلظت‌های مختلف یونی کونازول در این صفت تفاوت شایان توجهی مشاهده نشد. در اندازه‌گیری میانگین طول میان‌گره، بیشترین طول میانگین ثبت شده در تیمار پاکلوبوترازول مربوط به شاهد و کمترین طول میان‌گره نیز مربوط به غلظت ۰/۶۴ میلی گرم بر لیتر است. بین غلظت‌های ۰/۶۴، ۰/۳۲ و ۰/۱۶ میلی گرم بر لیتر تفاوت شایان توجهی مشاهده نشد. در تیمار یونی کونازول نیز بالاترین طول میان‌گره مربوط به شاهد و کمترین طول مربوط به ۰/۶۴ میلی گرم بر لیتر یونی کونازول می‌شد. در

جدول ۵. تأثیر پاکلوبوترازول بر صفات اندازه‌گیری شده 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 ۵ درصد به‌طور معنی‌داری از یکدیگر متفاوت‌اند.

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

سمت ریشه‌ها و اندام‌های زیرزمینی می‌شوند، پس می‌توان گفت میزان مواد تخصیص یافته 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.

بیشترین وزن تر شاخ و برگ ثبت شده در هر دو تیمار پاکلوبوترازول و یونی کونازول 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 پیش‌ازین نیز بیان شد، این مواد تریازولی باعث انتقال بیشتر مواد به

جدول ۶. تأثیر یونی کونازول بر صفات اندازه‌گیری شده 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 ۵ درصد به‌طور معنی‌داری از یکدیگر متفاوت‌اند.

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

## نتیجه‌گیری

ساخت ژیرلین مانند پاکلوبوترازول و یونی‌کونازول در ایجاد و رشد اندام‌های غده‌ای مؤثرند اما با توجه به تفاوت‌های ژنتیکی موجود میان ارقام مختلف، غلظت و میزان مورد استفاده 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 ماده تریازولی، درصد ریزغده‌زایی که شاخص برداشت به شمار می‌آید، به شکلی شایان توجه بهبود یافته است.

بر پایه نتایج به‌دست‌آمده از این تحقیق به نظر می‌رسد استفاده از دوآنتی ژیرلین 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 ژیرلین 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

## REFERENCES

- 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.
- 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.
- 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.
- Chapman, H.W. (2006). Tuberization in the potato plant. *Physiologia Plantarum*, 11, 215-224.
- Davis, T. D., Sankhla, N. & Upadhyaya, A. (1988). Triazole plant growth regulators. *Horticultural Reviews*, 10, 63-105.
- 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.
- Fletcher, A., Gilley, A., Sankhla, N. & Davies, T. (2000). Triazoles as plant growth regulators and stress protectants. *Horticultural Reviews*, 24, 55-138.
- Hoque, M. E. (2010). In vitro tuberization in potato (*Solanum tuberosum* L.). *Plant Omics Journal*, 3, 7-11.
- 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.
- 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.
- Medina, R., Burgos, A., Difrancó, 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.
- 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.
- 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.
- Paiva\_Neto, V.B. & Campos\_Otoni, W. (2003). Carbon sucrose and their osmotic potential in plant tissue culture; does it matter?. *Scientifica Horticulture*, 97, 193-202.
- 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.
- 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.

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.



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

Parisa Ghadimi Garkroodi<sup>1</sup>, Fariborz Zaare-Nahandi<sup>2\*</sup>, Alireza Motalebi Azar<sup>2</sup>,  
Jaber Panahandeh<sup>2</sup> and Mohamad Reza Dadpour<sup>2</sup>

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

(Received: Mar. 6, 2014 - Accepted: 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.