اثر غلظت‌های مختلف کینتین و پوتریسین بر ریزغده‌زایی سیب‌زمینی (رقم آگریا)

صمد خرسندی

تبریز، دانشگاه تبریز، دانشکده کشاورزی، گروه علوم باغبانی

تاریخ دریافت: ۹۳/۳/۷ تاریخ پذیرش: ۹۳/۱۲/۱۱

چکیده

به‌منظور بررسی اثر غلظت‌های مختلف کینتین (۰، ۱ و ۲ میلی‌گرم در لیتر) و پوتریسین (۰، ۲۰، ۴۰، ۸۰ و ۱۶۰ میلی‌گرم در لیتر) بر ریزغده‌زایی درون شیشه‌ای سیب‌زمینی، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۳ تکرار در آزمایشگاه کشت بافت گیاهی گروه علوم باغبانی دانشگاه تبریز اجرا شد. محیط کشت Ms ریزغده‌زایی دارای ۸ درصد ساکارز و ۸ گرم در لیتر آگار بود. نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که بیشترین تعداد ریزغده تولید شده طی ماه دوم با میانگین ۳ عدد در محیط کشت فاقد کینتین با ۸۰ میلی‌گرم پوتریسین بود. حداکثر غلظت پوتریسین برای افزایش درصد ریزغده‌های فاقد رکود در ماه دوم ۲۰ میلی‌گرم در لیتر بود. این در حالی است که اثر سطوح مختلف کینتین در رابطه با بیشتر صفات ریزغده‌زایی معنی‌دار شد. در این آزمایش بهترین غلظت کینتین برای بیشتر صفات ریزغده‌زایی ۲ میلی‌گرم در لیتر بود. همچنین مناسب‌ترین غلظت پوتریسین در محیط‌های کشت دارای ۲ میلی‌گرم در لیتر کینتین، ۴۰ میلی‌گرم در لیتر بود که موجب افزایش وزن ریزغده تا ۰/۱۶ میلی‌گرم شد.

واژه‌های کلیدی: پلی‌آمین، درون شیشه‌ای، سیتوکینین

نویسنده مسئول، تلفن: ۰۴۶۲۴۲۷۳۳۱۸ ، پست الکترونیکی : khorsandihort@yahoo.com

مقدمه

سیب‌زمینی (*Solanum tuberosum* L.) یکی از مهمترین سبزی‌های تیره Solanaceae و از گیاهان زراعی مهم از نظر اقتصادی و غذایی می‌باشد. با توجه به حساسیت سیب-زمینی به ویروس، تولید گیاهان عاری از ویروس از طریق کشت درون شیشه‌ای و تکثیر آنها، منجر به کاهش هزینه‌ها و افزایش عملکرد می‌گردد (۱). گفتنی است که ریزغده به غده‌هایی اطلاق می‌گردد که وزن آنها بین ۲ تا ۲۰۰ میلی-گرم و دارای ۲ یا تعداد بیشتری جوانه است که در شرایط درون شیشه‌ای تولید شده باشند (۱۶). گزارش کردند که ریزغده‌زایی در محیط کشت القاء با ساکارز بالا، کینتین و دیگر تنظیم کننده‌های رشد انجام می‌شود (۱۹). محیط کشت مناسب برای ریزغده‌زایی محیط کشت حاوی ۵ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آمینو پورین+ ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر کلرو کلین کلراید و ۸ درصد ساکارز در تاریکی دائم می‌باشد (۱۷). در آزمایشی با استفاده از محیط کشت موراشیک و اسکوک (Ms) با ۴ میلی‌گرم در لیتر کینتین موفق به تولید ریزغده شدند (۵).

یک دسته از ترکیبات پلی‌کاتیونی آلیفاتیک که در همه سلول‌های پروکاریوتی و یوکاریوتی حضور دارند، پلی-آمین‌ها می‌باشند. سه نوع معمول این ترکیبات شامل دی-آمین پوتریسین (put)، تری‌آمین اسپرمیدین (spd) و تترا-آمین اسپرمین (spm) می‌باشد. پلی‌آمین‌ها یک گروه جدید از تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی هستند و در بسیاری از فرایندهای رشد و نمو نقش دارند (۱۵). پلی‌آمین‌ها در تنظیم مراحل بنیادی از قبیل بیوسنتز ماکرومولکول‌ها، چرخه تقسیم سلولی، تمایز سلولی، ریخت‌زایی، اندام‌زایی، ممانعت از پیری (۱۴) و پاسخ‌های دفاعی در برابر انواع

استرس‌های زیستی و غیر زیستی و بسیاری از پدیده‌های دیگر نقش دارند (۸). نقش پلی‌آمین‌ها در ریزغده‌زایی درون شیشه‌ای توسط بسیاری از محققان گزارش شده است (۱۲). بر اساس تحقیقاتی انجام شده گزارش کردند در محیط کشت دارای پلی‌آمین‌ها (put، spd و spm) ۱۰۰ درصد ریزغده‌زایی پس از ۴۰ روز حاصل شد اما در همین زمان در تیمار شاهد هیچ ریزغده‌ای مشاهده نشد (۹). همچنین پلی‌آمین‌ها تشکیل ریزغده در گیاه یام (*Dioscorea alata* L.) را افزایش می‌دهند و گزارش کردند که کاربرد پوتریسین به میزان ۱۰ میکرومولار به همراه سه درصد ساکارز، ریزغده‌زایی کامل در روز چهاردهم را در این گیاه به همراه داشت (۱۰). این تحقیق به منظور تعیین بهترین غلظت کینتین و پوتریسین برای بهبود سرعت و کمیت ریزغده‌زایی و نیز تعیین برهم‌کنش غلظت‌های مختلف این دو ماده در محیط کشت Ms بر صفات ریزغده‌زایی انجام شد.

مواد و روشها

در این آزمایش از گیاهچه‌های درون شیشه‌ای حاصل از کشت جوانه استریل تنها رقم آگریای موجود در آزمایشگاه کشت بافت گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز که در محیط کشت Ms بدون هورمون و دارای ۲۰ میلی‌گرم در لیتر ساکارز که تحت شرایط ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی با دمای ۲± ۲۵ درجه سانتی‌گراد پرآوری شده بودند، استفاده شد (شکل ۱). این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار اجرا شد. ریزغده‌زایی در محیط کشت Ms با ۸ درصد ساکارز و ۸ گرم در لیتر آگار و در غلظت‌های مختلف کینتین (۰، ۱، و ۲ میلی‌گرم در لیتر) و پوتریسین (۰، ۲۰، ۴۰، ۸۰ و ۱۶۰ میلی‌گرم در لیتر) انجام شد. pH محیط‌های کشت توسط HCl یا NaOH ۱ نرمال روی ۵/۸ تنظیم شدند. به‌منظور استریل کردن محیط‌های کشت از اتوکلاو با دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱/۲ اتمسفر به مدت ۳۰ دقیقه استفاده شد. بعد از اتمام فرایند اتوکلاو، محیط‌های کشت تا زمان شروع کشت (پس از یک هفته) در شرایط تاریکی نگه‌داری شدند. به منظور ریزغده‌زایی، شیشه‌های حاوی ریزنمونه‌های کشت شده به داخل دستگاه ژرمیناتور (تاریکی مطلق با دمای ۲±۱۷ درجه سانتی‌گراد) منتقل شدند و به مدت ۴ ماه نگه‌داری شدند. طی ماه اول کشت سرعت ریزغده‌زایی توسط فرمول $\frac{(n_1\times t_1)+\cdots+(n_n\times t_n)}{t_n}$ بدست آمد که n تعداد ریزغده آغازش یافته و t زمان (روز) می‌باشد. برای اندازه‌گیری این صفت هفته‌ای یکبار به‌مدت یک ماه تعداد ریزغده‌های آغازش یافته شمارش و یادداشت‌برداری شد. پس از آن طی ۳ ماه و به صورت ماهانه صفاتی مانند درصد ریزغده‌زایی، طول، عرض و تعداد ریزغده، درصد ریزغده‌های فاقد رکود و وزن ریزغده اندازه‌گیری شد. البته لازم به ذکر است که صفاتی همانند طول و عرض و وزن ریزغده‌ها در زمان تخریب محیط‌های کشت (پایان ماه چهارم) اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری درصد ریزغده‌زایی و درصد ریزغده‌های فاقد رکود به ترتیب تعداد ریزغده نسبت به تعداد ریزنمونه زنده و تعداد ریزغده‌های فاقد رکود نسبت به کل ریزنمونه موجود در یک واحد آزمایشی (شیشه مرباخوری) شمارش شدند. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS ver.16 و مقایسه میانگین تیمارها توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام و نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel ترسیم شد.

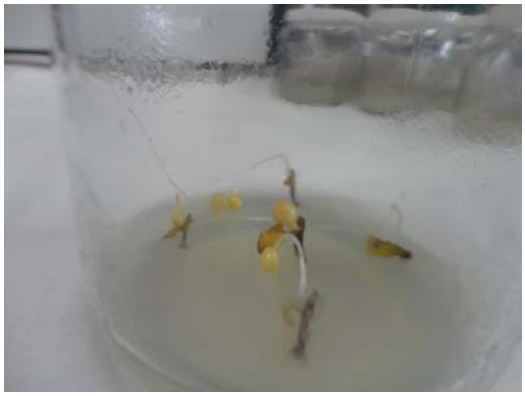
شکل ۱- گیاهچه‌های درون‌شیشه‌ای برای تهیه ریزنمونه

نتایج و بحث

درصد ریزغده‌زایی: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد

که درصد ریزغده‌زایی تنها در ماه سوم و چهارم به طور معنی‌داری تحت تأثیر غلظت‌های مختلف کینتین قرار گرفته است. اثر غلظت‌های مختلف پوتریسین و همچنین اثر متقابل پوتریسین با کینتین در هر سه ماه نیز غیرمعنی‌دار شد (جدول ۱). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر کینتین بیشترین درصد ریزغده‌زایی را ایجاد کرده است (جدول ۲ و شکل ۲ و ۳). برخلاف نتایج بدست آمده در این تحقیق، گزارش کردند که در محیط کشت Ms دارای پلی‌آمین‌ها (put، spd و spm) ۱۰۰ درصد ریزغده‌زایی پس از ۴۰ روز حاصل شد (۹). همچنین گزارش شده که وجود پلی‌آمین‌های آزاد در ریزنمونه‌ها، ریزغده‌زایی را در حضور غلظت‌های بالا و پایین ساکارز افزایش داده‌اند (۱۲). با توجه به گزارشهای قبلی و نتایج بدست آمده در این پژوهش اینطور به نظر می‌رسد که غلظت‌های استفاده شده پوتریسین در افزایش درصد ریزغده‌زایی مناسب نبودند و برای رسیدن به نتایج مطلوب، بهتر است که از سایر غلظت‌های مختلف این نوع پلی‌آمین استفاده کرد اما کینتین در غلظت‌های پایین توانست درصد ریزغده‌زایی را تحت تأثیر خود قرار دهد. چون کینتین هورمون می‌باشد و تأثیر هورمون‌ها به این صورت است که در غلظت‌های پایین‌تر اثرات بیشتری دارند.

شکل ۲- ریزغده تولید شده در غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر کینتین



شکل۳- ریزغده تولید شده در غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر کینتین

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر عوامل مورد بررسی بر صفات مورد مطالعه

منابع تغییر	درجه آزادی	منابع تغییر											
		ماه دوم			ماه سوم			ماه چهارم					
		درصد ریزغده‌زایی	تعداد ریزغده	درصد ریزغده‌های فاقد دورمانسی	درصد ریزغده‌زایی	تعداد ریزغده	درصد ریزغده‌های فاقد دورمانسی	درصد ریزغده‌زایی	تعداد ریزغده	درصد ریزغده‌های فاقد دورمانسی
put	۴	۳۹۹/۶۶^{ns}	۰/۸۵^{ns}	۳۸۵۹/۷۳*	۳۶۴/۳۸^{ns}	۰/۵۷^{ns}	۱۶۷۹/۲۴^{ns}	۲۰۸/۸۸^{ns}	۰/۵۲^{ns}	۲۴۷۴/۴۵^{ns}
kin	۲	۶۹۹/۱^{ns}	۲/۷۵^{ns}	۹۵۰۸/۶۸**	۱۰۹۸/۵۴*	۳/۳۵*	۳۸۶۷/۸۶*	۳۰۴۸/۸۸**	۷/۶۲**	۴۳۱۶/۱۳*
kin×put	۸	۱۰۹۶/۴۴^{ns}	۳/۰۸*	۱۲۱۲/۷^{ns}	۶۶۶/۷۳^{ns}	۱/۹۱^{ns}	۱۵۶۷/۶۸^{ns}	۹۱۵/۵۵^{ns}	۲/۲۸^{ns}	۱۵۹۲/۶۳^{ns}
اشتباه آزمایشی	۳۰	۵۷۶/۴۲	۱/۴۴	۱۰۹۴/۳۹	۴۶۲/۱۵	۱/۰۸	۱۴۸۸/۲	۵۹۵/۵۵	۱/۴۸	۱۴۰۱/۲۲

ns، *، **: به‌ترتیب بیانگر تفاوت غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

جدول ۲- متوسط صفات مورد مطالعه در غلظت‌های مختلف کینتین

غلظت‌های کینتین (mg/l)	ماه دوم	ماه سوم			ماه چهارم		
	درصد ریزغده‌های فاقد رکود	درصد ریزغده‌زایی	تعداد ریزغده	درصد ریزغده‌های فاقد رکود	درصد ریزغده‌زایی	تعداد ریزغده	درصد ریزغده‌های فاقد رکود
0	۶۳/۳۳^{b}	۲۱/۸۸^{b}	۱/۰۰^{b}	۶۳/۴۴^{b}	۱۴/۶۶^{b}	۰/۷۳^{b}	۶۵/۰۰^{c}
1	۲۰/۲۲^{a}	۳۰/۱۱^{ab}	۱/۳۳^{ab}	۲۳/۳۳^{a}	۲۴/۰۰^{b}	۱/۲۰^{b}	۳۶/۶۶^{b}
2	۱۹/۲۴^{a}	۳۹/۰۰^{a}	۱/۹۳^{a}	۳۸/۸۸^{a}	۴۲/۶۶^{a}	۲/۱۳^{a}	۴۵/۵۵^{a}

حروف مشابه در هر ستون نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد می‌باشد.

سرعت ریزغده‌زایی: بر اساس نتایج بدست آمده مشاهده شد که سرعت ریزغده‌زایی به طور معنی‌داری تحت تأثیر غلظت‌های مختلف کینتین قرار گرفته است. این در حالی است که اختلاف معنی‌داری بین سطوح مختلف پوتریسین مشاهده نشد. همچنین اثر متقابل پوتریسین با کینتین غیرمعنی‌دار بود (جدول ۳). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که در محیط کشت دارای دو میلی‌گرم در لیتر کینتین بیشترین سرعت ریزغده‌زایی انجام شده است. این در حالی است که هیچ اختلاف معنی‌داری بین یک میلی‌گرم در لیتر کینتین با محیط کشت فاقد کینتین وجود نداشت که این نشان می‌دهد برای افزایش سرعت ریزغده‌زایی به غلظت‌های بیشتر از یک میلی‌گرم در لیتر آن نیاز است (جدول ۴). با توجه به اینکه سرعت ریزغده‌زایی وابسته به فشار اسمزی بالا است و گزارش‌هایی نیز در این مورد به همراه انواع تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی ارائه شده است، به این صورت که مشابه با نتایج بدست آمده با افزودن تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی تنها در صورتی سرعت ریزغده‌زایی افزایش یافت که محیط کشت دارای هشت درصد ساکارز بود (۳).

جدول ۳- تجزیه واریانس اثر عوامل مورد بررسی بر صفات مورد مطالعه

منابع تغییر	درجه آزادی	منابع تغییر			
		سرعت ریزغده‌زایی	طول ریزغده	عرض ریزغده	وزن ریزغده
put	۴	۰/۱۹^{ns}	۴/۵۲^{ns}	۲/۶۹^{ns}	۰/۰۰۱^{ns}
kin	۲	۲/۳۹**	۳/۲۶^{ns}	۳/۵۹^{ns}	۰/۰۱۱*
put×kin	۸	۰/۸۳^{ns}	۳/۰۲^{ns}	۲/۴۴^{ns}	۰/۰۰۷*
اشتباه آزمایشی	۳۰	۰/۴۷	۳/۰۹	۲/۰۸	۰/۰۰۳

ns، *، **: به‌ترتیب بیانگر تفاوت غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

جدول ۴- متوسط صفت مورد مطالعه در غلظت‌های مختلف کینتین

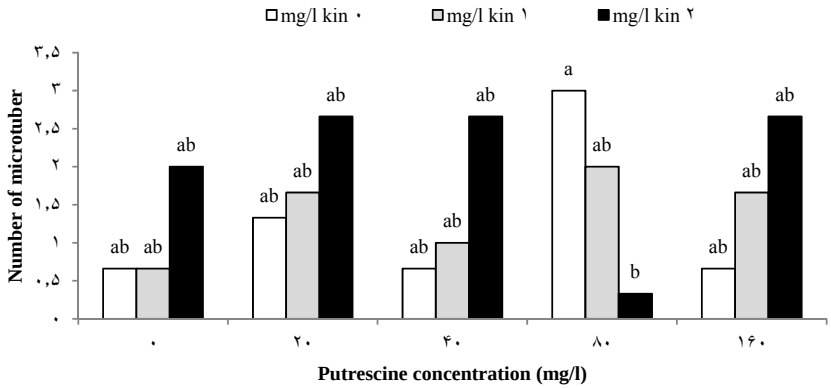
غلظت‌های کینتین (mg/l)	سرعت ریزغده‌زایی
0	۱/۳۱^{b}
1	۱/۱۳^{b}
2	۱/۹۰^{a}

حروف مشابه در هر ستون نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد می‌باشد.

ابعاد ریزغده: مشاهده شد که طول و عرض ریزغده‌های تولید شده تحت تأثیر هیچ‌یک از تیمارهای بکار رفته قرار نگرفته است (جدول ۳). اما بر خلاف نتایج بدست آمده در این پژوهش اعلام کردند که با کاربرد ۱۰ میکرومولار پوتریسین به همراه ۳ درصد ساکارز طول و وزن ریزغده‌ها در گیاه یام پس از ۶۰ و ۱۲۰ روز به ترتیب ۸/۸ و ۱۰/۵ میلی‌متر شد (۱۰). همچنین گزارش کردند که عملکرد

بالای ریزغده‌ها در محیط کشت دارای بنزیل آمینوپورین حاصل شد (۲). البته برای درک بهتر موضوع باید انواع مختلف ارقام سیب‌زمینی را در این تیمار مورد بررسی قرار داد تا بتوان نتایج بدست آمده در مورد صفت ابعاد ریزغده را با هم مقایسه کرد.

تعداد ریزغده: نتایج نشان داد اثر متقابل پوتریسین با کینتین در ماه دوم بر تعداد ریزغده معنی‌دار شده است (جدول ۱). مشاهده شد که در محیط کشت فاقد کینتین با ۸۰ میلی‌گرم در لیتر پوتریسین بیشترین تعداد ریزغده حاصل شده است اما در حضور کینتین کاهش چشم‌گیری در تعداد ریزغده تولیدی به وجود آمد که نشان می‌دهد اثر پوتریسین در حضور کینتین هم‌پوشانی شده است. با وجود این، در صورت افزایش پوتریسین به بیشتر از ۸۰ میلی‌گرم در لیتر، حضور کینتین موجب افزایش تعداد ریزغده شده است و مشاهده می‌شود که برای رسیدن به نتایج مطلوب می‌توان از غلظت‌های بالای این نوع پلی‌آمین در حضور کینتین استفاده کرد (شکل ۴). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که در محیط‌های کشت دارای ۲ میلی‌گرم در لیتر کینتین بیشترین تعداد ریزغده بدست آمده است. کمترین تعداد ریزغده در محیط کشت فاقد کینتین مشاهده شد که هیچ اختلاف معنی‌داری با محیط کشت دارای ۱ میلی‌گرم در لیتر کینتین نداشت (جدول ۲). با توجه به نتایج بدست آمده مشاهده شده که در حضور سایتوکینین‌هایی مانند بنزیل آمینوپورین به غلظت ۴ تا ۵ میلی‌گرم در لیتر تعداد ریزغده تولیدی در گیاه سیب‌زمینی افزایش یافته است (۲ و ۱۱). مشاهده می‌شود که ریزغده‌زایی در حضور غلظت‌های پایین هورمون‌های گیاهی افزایش می‌یابد و همچنین اثرات پلی‌آمین‌ها را تحت تأثیر خود قرار می‌دهند که این بدلیل اثرات قوی هورمون‌ها نسبت به پلی‌آمین‌ها می‌باشد.



شکل ۴- متوسط تعداد ریزغده تولید شده طی ماه دوم در غلظت‌های مختلف کینتین و پوتریسین

رکود: بر اساس نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل داده‌ها مشاهده شد که درصد ریزغده‌های فاقد رکود در هر سه ماه به طور معنی‌داری تحت تأثیر سطوح مختلف کینتین و در ماه دوم نیز تحت تأثیر غلظت‌های مختلف پوتریسین قرار گرفته اما اثر متقابل پوتریسین با کینتین معنی‌دار نشد (جدول ۱). مشاهده شد که هر دو غلظت بکار برده شده کینتین موجب کاهش درصد ریزغده‌های فاقد رکود شده است اما در ماه سوم و چهارم درصد ریزغده‌های فاقد رکود بیشتر شدند. ملاحظه می‌گردد که درصد ریزغده‌های فاقد رکود با گذشت زمان (نسبت به ماه دوم) در محیط-های کشت دارای کینتین افزایش یافته است (جدول ۲). اعلام شده که سطوح پایین بنزیل آمینوپورین درصد ریزغده‌های دارای دوره رکود را افزایش می‌دهد (۳). حضور پوتریسین درصد ریزغده‌های فاقد رکود را افزایش

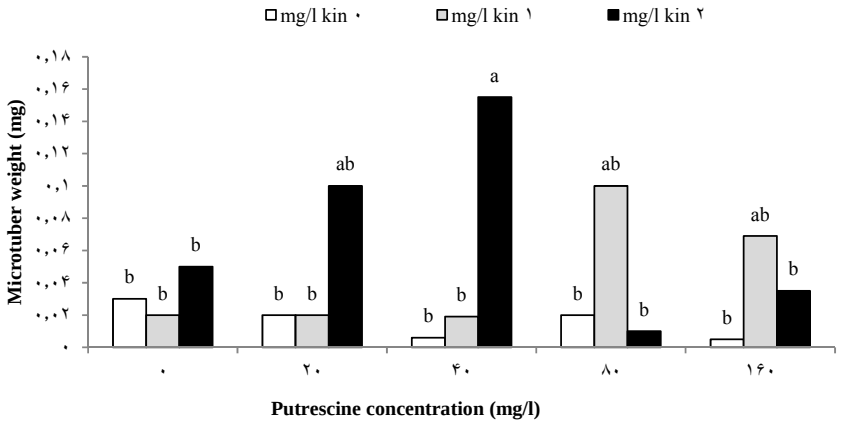
داد، هر چند که اختلاف معنی‌داری بین غلظت‌های مختلف آن وجود نداشت، بر این اساس کمترین درصد ریزغده‌های بدون دوره رکود در محیط‌های کشت فاقد پوتریسین دیده شد (جدول ۵). همانطوریکه قبلاً اشاره شد پلی‌مین‌ها می‌توانند چرخه تقسیم سلولی، ریخت‌زایی و اندام زایی و بطور کلی رشد و نمو را تحت تأثیر خود قرار دهند. عواملی از قبیل ژنوتیپ، اندازه ریزغده، مدت زمان قرار گرفتن ریزغده‌ها در محیط کشت، تنظیم‌کننده‌های رشد، بلوغ جوانه و سطح داخلی اسید آبسیزیک بر رکود ریزغده‌ها اثر می‌گذارند (۴).

جدول ۵- متوسط صفت مورد مطالعه در غلظت‌های مختلف پوتریسین

غلظت‌های پوتریسین (mg/l)	درصد ریزغده‌های فاقد رکود (٪)
0	۰/۷۴[b]
20	۵۱/۷۷[a]
40	۴۹/۹۲[a]
80	۳۰/۰۰[ab]
160	۳۸/۸۸[a]

حروف مشابه در هر ستون نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد می‌باشد.

وزن ریزغده: با توجه به تجزیه و تحلیل داده‌ها مشاهده شد که اثر متقابل پوتریسین با کینتین در مورد وزن ریزغده‌ها معنی‌دار شده است (جدول ۳). مشاهده شد که حداقل وزن ریزغده در محیط کشت فاقد کینتین و پوتریسین بدست آمده و هیچ اختلاف معنی‌داری بین آنها وجود نداشت. اما با افزایش غلظت پوتریسین به ۲۰ میلی‌گرم در لیتر در حضور ۲ میلی‌گرم در لیتر کینتین افزایش در وزن ریزغده‌ها مشاهده شد، به‌طوری‌که در حضور ۴۰ میلی‌گرم در لیتر پوتریسین حداکثر وزن ریزغده‌ها بدست آمد. اما با افزایش غلظت پوتریسین وزن ریزغده‌ها کاهش یافت (شکل ۵). گزارش شده در محیط کشت Ms از طریق بکارگیری ۱۰ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آمینوپورین پس از ۶۰ روز از آغاز کشت در مقایسه با محیط‌های کشت بدون بنزیل آمینوپورین منجر به افزایش در میانگین وزن ریزغده‌ها شده است (۶). در محیط کشت MS با غلظت ۴ میلی‌گرم در لیتر کینتین به همراه شش درصد ساکارز میانگین وزن ریزغده‌ها افزایش چشم‌گیری داشت (۵).



شکل ۵- متوسط وزن ریزغده تولید شده در یک واحد آزمایشی غلظت‌های مختلف کینتین و پوتریسین

منابع

1. Fatima, B., Usman, M., Ahmad, I. and Khan, I. A. (2005). Effect of explant and sucrose on microtuber induction in potato cultivars. *International Journal of Agriculture and Biology*. 7: 63-66.

2. Gopal, J., Minocha, J. L. and Dhaliwal, H. S. (1998). Microuberization in potato (*Solanum tuberosum* L.). *Plant Cell Reports*. 16: 794-798.

3. Harmey, M. A., Crowley, M. P. and Clinch, P. E. M. (1966) . The effect of growth regulators on tuberization of cultured stem pieces of *Solanum tuberosum*. *Eurpean Potato Journal*. 9: 146-151.

4. Hemberg, T. (1985). Potato rest. In: Potato Physiology. P.H. Li (Ed). Academic Press Inc, Orlando, Fla. U.S.A. pp. 354-388.

5. Hoque, M. E. (2010). *In Vitro* regeneration potentiality of potato under different hormonal combination. *World Journal of Agricultural Sciences*. 6 (6): 660-663.

6. Hussey, G. and Stacey, N. J. (1984). Factors affecting the formation of in vitro tubers of potato (*Solanum tuberosum* L.). *Annual Botany*. 53: 565-578.

7. Kakkar, R. K., Nagar, P. K., Ahuja, P. S. and Rai, V. K. (2000). Polyamines and plant morphogenesis. *Biology Plant*. 43: 1-11.

8. Kakkar, R. K. and Sawhey, V. P. (2002). Polyamine research in plants changing perspective. *Plant Physiology*. 116: 281-292.

9. Mader, J. C. (1995). Polyamines in *Solanum tuberosum in vitro* Free and conjugated polyamines in hormone-induced tuberization. *Journal of Plant Physiology*. 146: 115-120.

10. Ondo Ovono, P., Kevers, C. and Dommes, J. (2009). Effect of polyamines in tuber formation and development of Dioscorea cayenensis and D. rotundata. *In Vitro Cell Developmental Biology-Plant*, 46: 81-88.

11. Pelacho, A. M. and Mingo-Castel, A. M. (1991). Effects of photoperiod on kinetin-induced tuberization of isolated potato stolons cultured in vitro. *American Potato Journal*. 86:533-541.

12. Protacio, C.M. and Flores, H.E. (1992). The role of polyamines in potato tuber formation. *In vitro Cell Development Biology*. 28P: 81- 86.

13. Saiprasad, G. V. S. and Raghuveer, P. (2004). Effect of various polyamines on production of protocorm-like bodies in orchid-Dendrobium 'Sonia'. *Scientia Horticulture*. 100: 161-168.

14. Smith, T.A. (1985). Polyamines. *Annual Review Plant Physiology*. 36: 117-143.

15. Tang, G. X., Zhou, W. J., Li, B. Z., Mau, B. Z., Hi, Z. H. and Yoneyama, K. (2003). Medium explant and genotype factors influencing shoot regeneration in oil seed Brassica Spp. *Journal of Agronomy and Crop Sciences*. 189:351.

16. Thieme, R. (1992). An *in vitro* potato cultivar collection: Microtuberization and storage of microtubers. *Plant Genetic Research Newsletters*. 88/89: 17-19.

17. Tovar, P. R., Estrada, L., Schilde-Rentschler, L. and Dodds, J. H. (1985). Inter. *Potato Center*. 13(4): 1.

18. Zhang, Z. J., Zhou, W. J. and Li, H. Z. (2005). The role of GA, IAA and BAP in the regulation of in vitro shoot growth and microtuberization in potato (*Solanum tuberosum* L.). *Acta Physiology Plant*. 27: 363-369.

19. Ziv, M. and Shemesh, D. (1996). Propagation and tuberization of potato bud clusters from bioreactor culture. *In Vitro Cellular and Development Biology Plant*. 32: 31-36.

Effect of different concentrations of kinetin and putrescine on potato microtuberization (cv. Agria)

Khorsandi S.

Horticultural Sciences Dept., Faculty of Agriculture, Tabriz University, Tabriz, I.R. of Iran

Abstract

This experiment was conducted in order to investigation the effect of different concentrations of kin (0, 1 and 2 $mg.l^{-1}$) and Putrescine (0, 20, 40, 80 and 160 $mg.l^{-1}$) with 8% sucrose and 8% agar on the microtuberization of potato. This study was conducted at the Plant Tissue Culture Laboratory, Department of Horticultural Sciences, University of Tabriz. This study was conducted as a factorial experiment in a completely randomized design with three replications. Results of data analysis showed that none of the traits except percent microtubers non dormant in the second month, and shoot weight were not affected by different concentrations putrescine. Percent of non dormant microtubers in the second month increase on concentration of 20 $mg.l^{-1}$ and increase shoot weight was 80 $mg.l^{-1}$ putrescine. However, the effect of different concentrations kinetin was significant in relation to the creation microtuberization. In this experiment, the best concentration of kinetin for most traits microtuberization 2 $mg.l^{-1}$. Also the best of putrescine concentration for weight microtuberization in media containing 2 $mg.l^{-1}$ kinetin, 40 $mg.l^{-1}$, which increase microtuber weight was 0.16 $mg.l^{-1}$

Key words: Cytokinin, In vitro and Polyamine