Applied Biology
Online ISSN: 2538-3434
Homepage: http://sjoapb.journal.qom-iau.ac.ir

Research article

# Evaluation of morphological and biochemical traits in seedlings of four early and late potato cultivars in vitro

**Farah Farahani** Associate Professor, Department of Microbiology, Qom Branch, Islamic Azad University, Qom, Iran. farahfarahani2000@yahoo.com
**Maliha Talebi** Master's Degree, Department of Horticultural Sciences, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran. talebi.malih81@gmail.com
**Taher Barzegar** Associate Professor, Department of Horticultural Sciences, Zanjan University, Zanjan, Iran. aherbarzegar@gmail.com

## Abstract

**Objective**: Considering the importance of potato in the economy and human nutrition, the need to produce healthy seeds through tissue culture in order to increase the quality of the tuber and ultimately maintain the yield of the product is noticeable. In this regard, the aim of the present study is to evaluate the morphological and biochemical traits in the seedlings of four early and late potato cultivars under in vitro conditions.

**Materials and methods**: Four commercial varieties of potato were cultivated as single-node microspecimens in MS culture medium without any plant growth regulators. Seedlings grew after 5 weeks. Seedlings were evaluated in terms of morphological traits (number of seedlings produced from one seedling, stem length, number of branches, nodes, roots and micro-gland) as well as biochemical traits (chlorophyll a, b, carotenoid, anthocyanin, catalase enzyme activity and polyphenol oxidase enzyme activity).

**Findings:** In morphological traits, late cultivar Satina, number of seedlings and stem length, and early cultivar Sante showed more roots than other cultivars. In the study of biochemical traits, the late cultivar Agria was superior to other cultivars in terms of the amount of pigments and catalase enzyme.

**Conclusion**: In the same vegetative conditions, different cultivars have different potential in vegetative and biochemical traits. The growth pattern of different genotypes is determined by the synthesis of food and different levels of internal hormones and the balance between them, and as a result, they give different responses to the conditions of the culture environment. The present study showed that in the same vegetative conditions, the early cultivars of Satina in terms of vegetative traits and Agria in terms of the amount of pigments can be selected for mass cultivation.

**Keywords:** in vitro conditions, MS culture medium, chlorophyll, carotenoid, anthocyanin, catalase, morphological traits, biochemical traits, potato.

**Cite this article:** Farahani F, Talebi M, Barzegar T. Evaluation of morphological and biochemical traits in seedlings of four early and late potato cultivars in vitro. *Applied Biology*. 2023; 13(1): 43-62.

**Received:** 2022/12/27 ; **Revised:** 2023/01/15 ; **Accepted:** 2023/01/31 ; **Published online:** 2023/02/19

© the authors
**Publisher:** Qom Islamic Azad University

بیولوژی کاربردی
شاپا الکترونیکی: ۲۴۳۴-۲۵۳۸
Homepage: http://sjoapb.journal.qom-iau.ac.ir

مقاله پژوهشی

# ارزیابی صفات مورفولوژیکی و بیوشیمیایی در گیاهچه‌های چهار رقم زودرس و دیررس سیب‌زمینی در شرایط درون شیشه‌ای

**فرح فراهانی** دانشیار، گروه میکروبیولوژی، واحد قم، دانشگاه آزاد اسلامی، قم، ایران (**نویسنده مسئول**). farahfarahani2000@yahoo.com
**ملیحه طالبی** کارشناسی ارشد، گروه علوم باغبانی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران. talebi.malih81@gmail.com
**طاهر برزگر** دانشیار، گروه علوم باغبانی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران. taherbarzegar@gmail.com

## چکیده

**هدف:** با توجه به اهمیت سیب‌زمینی در اقتصاد و تغذیه انسان، نیاز به تولید بذرهای سالم از طریق کشت بافت جهت بالا بردن کیفیت غده و در نهایت حفظ عملکرد محصول، محسوس می‌باشد. در این راستا، هدف پژوهش حاضر ارزیابی صفات مورفولوژیکی و بیوشیمیایی در گیاهچه‌های چهار رقم زودرس و دیررس سیب‌زمینی در شرایط درون شیشه‌ای است.

**مواد و روش‌ها:** چهار رقم تجاری سیب‌زمینی به صورت ریز نمونه‌های تک‌گره، در محیط کشت MS فاقد هرگونه مواد تنظیم‌کننده رشد گیاهی، کشت داده شد. گیاهچه‌ها پس از ۵ هفته رشد کردند. گیاهچه‌ها از نظر صفات مورفولوژیکی (تعداد گیاهچه‌های تولید شده از یک گیاهچه، طول ساقه، تعداد انشعابات، گره، ریشه و ریزغده) و همچنین صفات بیوشیمیایی (محتوای کلروفیل a، b، کاروتنوئید، آنتوسیانین، فعالیت آنزیم کاتالاز و فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز) مورد ارزیابی قرار گرفتند.

**یافته‌ها:** در صفات مورفولوژیکی، رقم دیررس ساتینا، تعداد گیاهچه و طول ساقه، و رقم زودرس سانته، تعداد ریشه بیشتری را نسبت به سایر ارقام نشان دادند. در بررسی صفات بیوشیمیایی، رقم دیررس آگریا از نظر مقدار رنگیزه‌ها و آنزیم کاتالاز، نسبت به سایر ارقام برتر بود.

**نتیجه‌گیری:** در شرایط رویشی یکسان، ارقام مختلف در صفات رویشی و بیوشیمیایی پتانسیل متفاوتی دارند. الگوی رشد ژنوتیپ‌های مختلف با سنتز مواد غذایی و سطوح متفاوت هورمون‌های داخلی و توازن مابین

**استناد به این مقاله:** فراهانی ف، طالبی م، برزگر ط. ارزیابی صفات مورفولوژیکی و بیوشیمیایی در گیاهچه‌های چهار رقم زودرس و دیررس سیب‌زمینی در شرایط درون شیشه‌ای. *بیولوژی کاربردی*. ۱۴۰۲؛ ۱۳(۱): ۴۳-۶۲.

**تاریخ دریافت:** ۱۴۰۱/۱۰/۰۶ ؛ **تاریخ بازنگری:** ۱۴۰۱/۱۰/۲۵ ؛ **تاریخ پذیرش:** ۱۴۰۱/۱۱/۱۱ ؛ **تاریخ انتشار:** ۱۴۰۱/۱۱/۳۰

© نویسندگان
**ناشر: دانشگاه** آزاد اسلامی واحد قم

آنها تعیین می‌شوند و در نتیجه پاسخ‌های گوناگونی نسبت به شرایط محیط کشت می‌دهند. مطالعه حاضر نشان داد که در شرایط رویشی یکسان، ارقام زودرس ساتینا از نظر صفات رویشی و آگریا از نظر مقدار رنگیزه‌ها می‌توانند برای کشت‌های انبوه انتخاب شوند.

**کلیدواژه‌ها:** شرایط درون شیشه‌ای، محیط کشت MS، کلروفیل، کاروتنوئید، آنتوسیانین، کاتالاز، صفات مورفولوژیکی، صفات بیوشیمیایی، سیب‌زمینی.

## ۱. مقدمه

سیب‌زمینی[1] یکی از مهم‌ترین گیاهان زراعی خانواده سولاناسه است که سالیانه با تولید حدود ۳۶۴ میلیون تن، رتبه ششم دنیا را در میان محصولات کشاورزی و رتبه اول را در میان سبزی‌ها از نظر میزان تولید به خود اختصاص داده است (۱). سطح زیر کشت سیب‌زمینی در ایران در سال زراعی ۱۳۹۱-۱۳۹۰ به ۱۷۷ هزار هکتار با میزان تولید ۵/۶ میلیون تن می‌رسد (۲). از آنجایی که این گیاه اغلب به وسیله غده‌های بذری تکثیر می‌یابد، این بذور مهم‌ترین عامل گسترش و انتقال بیماری به‌شمار می‌روند. کیفیت غده بذری به طور مستقیم بر محصول رشد یافته از غده بذری تأثیر دارد.

به منظور بهبود عملکرد کمّی و کیفی ریزغده‌ها در شرایط کشت درون شیشه‌ای، تحقیقات زیادی بر روی تأثیر ژنوتیپ، ترکیبات محیط کشت مانند شرایط کشت درون شیشه‌ای، ترکیبات محیط کشت مانند افزایش مقدار ساکارز هورمون‌های رشد، تغییر شرایط کشت مانند درجه حرارت، نور، فتوپریود و همچنین استفاده از محیط مایع، جامد و کشت در بیوراکتور و... انجام شده است (۳).

اغلب از محیط کشت فاقد هورمون در مواقعی که هدف تعیین پتانسیل باززایی ژنوتیپ‌ها برای تولید ریزغده بوده و اثرات نامطلوب هورمون‌ها که ممکن است روی صفات مورفولوژی، دوره خواب و یا تولید جوانه تأثیرگذار باشد، استفاده می‌شود (۴).

در مطالعه‌ای که Gopal و همکاران بر روی سه ژنوتیپ سیب‌زمینی انجام دادند، اختلاف معنی‌داری بین ژنوتیپ‌ها برای تعداد و وزن ریزغده گزارش شد. در این تحقیق عملکرد ریزغده در هر ارلن (حاوی ۵ گیاهچه) از ۲۴۷ تا ۴۶۴ میلی‌گرم و تعداد ریزغده از ۳/۷ تا ۵/۱ عدد برحسب ژنوتیپ، متفاوت بود (۵). در تحقیق دیگری که Arregui و همکاران بر روی توان غده‌زایی شش رقم سیب‌زمینی در کشت درون شیشه‌ای و در شرایط تاریکی انجام دادند، مشخص گردید که بین ارقام مورد مطالعه از نظر زمان شروع غده‌زایی، و همچنین درصد غده‌زایی تفاوت معنی‌داری وجود دارد. توان غده‌زایی در گیاهچه‌های ارقام مختلف سیب‌زمینی بین ۴۰ تا ۱۰۰ درصد گزارش شد (۶).

مطالعات انجام شده توسط Anjum و Villiers، بر روی چهار ژنوتیپ سیب‌زمینی (Desiree،

1. *Solanum tuberosum* L.

Maris Piper، Commersonii و Acaule Bitt) در شرایط درون شیشه‌ای نشان داد که علی‌رغم این‌که رقم Commersonii بالاترین عملکرد را در بین ارقام برای صفت تعداد ریزغده در هر گیاهچه داشت، اما از نظر متوسط وزن ریزغده، در بین چهار ژنوتیپ در رتبه سوم قرار گرفت (۷).

Modarres Sanavy و Jami Moeini، با اندازه‌گیری شاخص‌های رویشی نشان دادند که رقم Agria کمترین و رقم Marfona بیشترین میانگین تعداد غده در هر بوته را در بین ارقام مورد بررسی تولید می‌کنند. همچنین بیشترین طول گیاهچه و تعداد گره مربوط به Agria و کمترین آن مربوط به Marfona و تعداد و طول ریشه در Marfona بیشترین و در Agria کمترین بود (۸).

Roodbar Shojaei و همکاران، در بررسی واکنش چهار رقم تجاری سیب‌زمینی (Agria، Marfona، Sante و Bourn) به هورمون‌های رشد در کشت مریستم و سپس انتقال گیاهچه‌ها به گلخانه، نشان دادند که رقم Marfona با میانگین ۱۳/۱ غده در هر بوته بیشترین، و رقم Agria با میانگین ۲/۹ غده در هر بوته کمترین تعداد غده را تولید کردند. همچنین ارقام Marfona و Sante به کشت مریستم پاسخ مناسب‌تری دادند (۹).

Mani و همکاران، با مطالعه روی کشت تک‌گره و باززایی درون شیشه‌ای سه رقم سیب‌زمینی (Alaska، Safran و Spunta) نشان دادند که بیشترین درصد باززایی (۵۲ درصد) در محیط کشت حاوی ۰/۵ میلی‌گرم ایندول بوتیریک اسید و در رقم Spunta به دست آمد. همچنین مناسب‌ترین محیط کشت جهت ریزغده‌زایی، محیط کشت مایع به همراه ۵ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آدنین و ۸۰ گرم در لیتر ساکارز معرفی شد. علاوه‌بر این، رقم Spunta بهترین پاسخ را به پارامترهای مورد بررسی ازجمله درصد غده‌زایی (۷۲ درصد)، بیشترین تعداد ریزغده (۱۳/۸۳ ریزغده در هر گیاهچه)، بیشترین میزان قطر ریزغده (۱/۷۴ سانتیمتر) و بالاترین میزان متوسط وزن تر (۱۰۳/۷۳ میلی گرم)، نشان داد (۱۰).

Ozturk و Yildirim، با بررسی شش ژنوتیپ سیب‌زمینی (Nif، Clone 122، Agria، Resy، Marfona و Granola)، اختلاف معنی‌داری بین ژنوتیپ‌ها از نظر صفات مورفولوژیک و عملکرد به دست آوردند. صفات مورد نظر بعد از رشد گیاهچه‌ها، در شرایط آزمایشگاهی و انتقال به گلخانه اندازه‌گیری شد. به طوری که رقم Nif در صفات ارتفاع بوته، تعداد ساقه، برگ، غده، وزن تک غده، عملکرد غده و عرض غده، بالاترین میانگین را به خود اختصاص داد و رقم Agria بیشترین تعداد شاخه و رقم Marfona بیشترین میزان سطح برگ و رقم Resy بالاترین اندازه طول غده را به دست آوردند. رقم Nif رشد سریع و پوشش گیاهی مناسب‌تری نسبت به سایر ارقام داشته

و به همین علت نیز دارای بالاترین میانگین‌ها در بین ویژگی‌های مورد بررسی بود (۱۱).

بلندی و ضرغامی، با بررسی فاکتورهای مؤثر بر تولید جوانه و ریزغده از طریق کشت قطعات تک‌جوانه در دو رقم تجاری Agria و Marfona بر روی دو محیط کشت مایع و جامد بر پایه MS با تراکم‌های مختلف کشت نشان دادند که رقم Agria با تولید ۶/۲۲ ریزغده در هر ارلن، در مقابل ۴/۷۷ ریزغده تولید شده توسط رقم Marfona، عملکرد بهتری داشت (۱۲).

Kawakami و همکاران، گزارش کردند که تحت شرایط تیماری یکسان، تنها عامل اختلاف در تعداد غده و درصد غده‌زایی در بین ارقام مختلف مربوط به اختلاف ژنتیکی در آنها است (۱۳).

مطالعات انجام شده توسط Nistor و همکاران نشان داد که نوع ژنوتیپ بر تولید ریزغده تأثیر دارد. نتایج نشان داد که بین سه ژنوتیپ (Christian، Roclas و Ostara)، ژنوتیپ Ostara (با داشتن متوسط تعداد ۱۸ ریزغده در هر ظرف) کمترین و Roclas (با داشتن ۲۸/۱۳ ریزغده در هر ظرف) بیشترین تعداد ریزغده را تولید کرد (۱۴).

Hoque و همکاران، تنوع ارقام و اثرات آن را بر شاخص‌های رشد مورد بررسی قرار دادند و گزارش کردند که تحت شرایط هورمونی یکسان، بیشترین و کمترین زمان لازم برای آغازش شاخه به ترتیب در رقم‌های Diamant و Provinto مشاهده شد. همچنین بیشترین شاخه‌زایی مربوط به رقم Granulla بود. در مرحله ریشه‌زایی، رقم Diamant حداکثر آغازش ریشه و رقم Granulla بیشترین تعداد ریشه را نشان دادند (۱۵).

بیانی‌راد و همکاران در بررسی شاخص‌های مورفولوژیکی و واکنش ارقام سیب‌زمینی (Agria، Marfona و Sinura) بر ریزغده‌زایی در محیط کشت بافت و استفاده از محیط کشت MS نشان دادند که خصوصیات رویشی ارقام مختلف در تمامی شاخص‌های رویشی مورد اندازه‌گیری، اختلاف معنی‌داری با یکدیگر داشتند، به طوری که بیشترین تعداد برگ، جوانه، شاخه و ریشه و طول گیاهچه در بین ارقام مختلف مربوط به رقم Sinura بود. همچنین بیشترین میزان قطر، وزن و تعداد ریزغده نیز در رقم Sinura مشاهده شد (۱۶).

مطالعات انجام شده توسط Le، روی ارقام مختلف سیب‌زمینی نشان داد که پتانسیل تولید ریزغده تحت تأثیر ژنوتیپ قرار دارد. در این گزارش دامنه وزن ریزغده‌ها در ارقام مختلف از ۸۷ تا ۱۶۹ میلی‌گرم متفاوت بود (۱۷، ۱۸).

در تحقیق دیگری که روی شش واریته سیب‌زمینی انجام شد، اختلاف معنی‌داری بین واریته‌ها برای تعداد ریزغده‌های تشکیل شده روی هر گیاهچه و وزن آن‌ها گزارش گردید. در این مطالعه ۷۰

تا ۷۵ درصد ریزغده‌های ژنوتیپ‌های برتر، دارای وزن بیشتر از ۰/۱ گرم بودند (۱۹). از تنوع ژنتیکی می‌توان به عنوان یک مزیت برای گزینش صفات مطلوب با توجه به هدف مورد نظر استفاده نمود (۲۰،۲۱).

برآوردها نشان می‌دهد که استفاده از بذرهای سالم می‌تواند باعث افزایش ۳۰ درصدی در تولید سیب‌زمینی شود. با پیشرفت‌های حاصل در کشت *In vitro* گیاهچه‌های سیب‌زمینی در سال‌های اخیر و نیز توسعه روش‌های شناخت بیماری‌ها، تولید گیاهچه‌های عاری از ویروس و ریزغده‌زایی به وسیله تکنیک‌های کشت بافت میسر شده است که از این طریق می‌توان به غده‌های بذری عاری از ویروس دست یافت (۱۶).

## ۲. مواد و روش‌ها

### ۲-۱. کشت بافت گیاهی

پژوهش حاضر در شرکت خصوصی کشت بافت زرینه روز، واقع در شهرستان شهریار، در سال ۱۳۹۸-۱۳۹۷ اجرا شد. چهار ژنوتیپ مختلف (آرینداء سانته زودرس و آگریا، ساتینا دیررس)، به صورت گیاهچه‌های عاری از ویروس درون‌شیشه‌ای از مرکز بیوتکنولوژی کشاورزی منطقه مرکزی کشور (اصفهان) تهیه شدند. پس از رشد کامل مریستم‌ها و تولید گیاهچه‌های اولیه، به منظور در دست داشتن منابع لازم برای تهیه ریزنمونه جهت کشت، اقدام به پرآوری آنان شد. برای این کار ریزنمونه‌های حاوی تک‌گره از هر رقم، از ساقه گیاهچه‌های حاصل از کشت مریستم تهیه گردید و در محیط کشت MS فاقد هورمون کشت داده شدند (۲۲).

برای انجام آزمایش، محیط کشت پایه MS که حاوی ۳۰ گرم در لیتر ساکارز و ۷ گرم در لیتر آگار و pH برابر ۵/۸ و فاقد هرگونه هورمون بود، در اتوکلاو به مدت ۱۵ دقیقه تحت دمای ۱۲۱ درجه سانتیگراد و فشار ۱/۲ اتمسفر سترون شد و در ظروف شیشه مربایی استریل به میزان ۳۰ میلی‌لیتر توزیع گردید. سپس نمونه‌ها به تعداد ۸ ریزنمونه در هر شیشه مربایی کشت داده شد.

ظروف پس از کشت، در اتاقک رشد تحت شرایط سترون در دمای ۲±۲۵ درجه سانتیگراد و طول روز ۱۶ ساعت روشنایی با شدت نور ۵۰۰۰ لوکس و ۸ ساعت تاریکی قرار گرفتند (۲۳).

در پایان دوره ۵ هفته‌ای، گیاهچه‌های رشد یافته درون شیشه بعد از ریشه‌دار شدن، مجدد به صورت گیاهچه‌های تک‌گره در محیط کشت تازه MS کشت داده شدند. در پایان هر واکشت (۵ هفته)، برخی از خصوصیات مورفولوژیکی شامل تعداد گیاهچه‌های تولید شده از یک گیاهچه،

طول ساقه (cm)، تعداد انشعابات، تعداد گره، تعداد ریشه و تعداد ریزغده و برخی از صفات بیوشیمیایی شامل محتوای کلروفیل a، کلروفیل b، کاروتنوئید، آنتوسیانین (میلی‌گرم بر گرم وزن تر)، سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز و سنجش فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز (تغییرات جذب نوری در دقیقه در میلی گرم وزن تر پروتئین) مورد اندازه‌گیری قرار گرفت.

### ۲-۲. سنجش محتوای رنگیزه‌ها

#### ۲-۲-۱. سنجش محتوای کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئید

به منظور سنجش محتوای رنگیزه‌های کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئیدها، از روش Arnon استفاده شد (۲۴). مقدار ۰/۱ گرم از ماده تر گیاهی در هاون چینی قرار داده و با استفاده از نیتروژن، مایع آن را به خوبی سائیده شد. ۱۰ میلی لیتر استن ۸۰ درصد را به نمونه اضافه نموده، سپس عصاره استخراج شده با دستگاه سانتریفیوژ KOKUSAN مدل H-11N، با سرعت ۴۰۰۰ هزار دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه، قرار داده می‌شود. عصاره جدا شده فوقانی حاصل از سانتریفیوژ در کووت اسپکتروفتومتر ریخته و سپس به طور جداگانه در طول موج‌های ۶۶۳ نانومتر برای کلروفیل a، ۶۴۵ نانومتر برای کلروفیل b و طول موج ۴۷۰ نانومتر برای کاروتنوئید، توسط دستگاه اسپکتروفتومتر Varian مدل Cary 50 Scan مقدار جذب قرائت شد. در پایان با استفاده از فرمول‌های زیر محتوای رنگیزه‌ها برحسب میلی گرم بر گرم وزن تر نمونه به دست می‌آید.

$$\text{Chl a} = (12.7\times A_{663}) - (2.69\times A_{645})\ V/1000W$$

$$\text{Chl b} = (22.9\times A_{645}) - (4.68\times A_{663})\ V/1000W$$

$$\text{Total Chl} = (20.21\times A_{645}) + (8.02\times A_{663})\ V/1000W$$

$$\text{Carotenoid} = (1000\times A_{470} - 3.27\times [\text{Chl a}] - 104\times[\text{Chl b}])/227$$

(۲۴)

که در آن V برابر است با حجم محلول صاف شده (محلول فوقانی حاصل از سانتریفیوژ)، A برابر است با جذب نور در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر، و W برابر است با وزن تر نمونه برحسب گرم.

#### ۲-۲-۲. سنجش محتوای آنتوسیانین

جهت سنجش محتوای رنگیزه آنتوسیانین، از روش Krizek و همکاران استفاده شد (۲۵). برای این منظور ۰/۱ گرم برگ در ۱۰ میلی لیتر محلول متانول اسیدی (متانول و اسید کلریدریک به نسبت

۹۹ به ۱) سائیده شده و عصاره به دست آمده به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد در تاریکی نگهداری می‌شود. سپس توسط دستگاه سانتریفیوژ KOKUSAN مدل H-11N، با سرعت ۴۰۰۰ هزار دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه قرار می‌گیرد. پس از آن جذب عصاره‌ها در طول موج ۵۵۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر Varian مدل Cary 50 Scan قرائت می‌شود.

### ۲-۳. تهیه عصاره جهت سنجش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پلی فنل- اکسیداز

عصاره‌گیری با استفاده از روش Kar و Mishra انجام شد (۲۶). مقدار ۰/۰۵ گرم از بافت تازه گیاهی را وزن کرده، در یک هاون چینی سرد در یک ظرف پر از یخ قرار داده و با ۲ میلی لیتر بافر فسفات پتاسیم ۰/۱ مولار با pH ۶/۸ هموژن نموده و سپس مخلوط به دستگاه سانتریفیوژ یخچال‌دار Hettich مدل MIKRO 22 R، با سرعت ۱۳۰۰۰ هزار دور در دقیقه، دمای ۴ درجه سانتیگراد و به مدت ۱۵ دقیقه انتقال داده می‌شود. فاز بالایی عصاره (سوپرناتانت) به دست آمده برای سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز و پلی فنل اکسیداز مورد استفاده قرار گرفت.

#### ۲-۳-۱. سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT)

جهت سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز از روش Chance وMaehly استفاده شد (۲۷). بدین منظور مخلوط واکنش شامل ۰/۷۵ میلی لیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی مولار با pH برابر ۷، ۲۰ میکرولیتر محلول عصاره استخراج شده حاصل از سانتریفیوژ و ۱۵۰۰ میکرولیتر آب دوبار تقطیر به کووت کوارتز اضافه شد و هنگام سنجش آنزیم، ۷۵۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن ۷۰ میلی مولار به مخلوط واکنش اضافه گردید. تغییرات جذب در ۲۴۰ نانومتر به مدت ۶۰ ثانیه در ۲۵ درجه سانتیگراد، با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر Varian مدل Cary 50 Scan قرائت شد. در مرحله نهایی اعداد شدت جذب به دست آمده در فرمول زیر قرار داده شد و سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز برحسب تغییرات در جذب در دقیقه به ازای هر میلی گرم پروتئین گزارش شد.

فعالیت آنزیم کاتالاز = (ΔA/دقیقه × 1000)/39.4

$\Delta A\,(\text{Absorption}) = A_2 - A_1$

(۲۷)

که در آن $A_2$ عدد شدت جذب در ثانیه ۶۰ و $A_1$ عدد شدت جذب در ثانیه صفر است.

#### ۲-۳-۲. سنجش فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز (PPO)

جهت سنجش فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز، از روش Resende و همکاران استفاده شد

(۲۸). در سنجش این آنزیم از پیروگالل به عنوان معرف استفاده گردید. مخلوط واکنش شامل ۲/۸ میلی لیتر بافر فسفات پتاسیم ۲۵ میلی مولار با اسیدیته ۶/۸، ۱۰۰ میکرولیتر پیروگالل ۱۰ میلی مولار و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی استخراج شده بود و قرائت در دستگاه اسپکتروفتومتر Varian مدل Cary 50 Scan انجام شد. فعالیت آنزیم در طول موج ۴۲۰ نانومتر اندازه‌گیری گردید و تغییرات آنزیمی برحسب تغییرات در جذب در دقیقه به ازای هر میلی گرم پروتئین گزارش شد.

## ۲-٤. طرح آزمایشی و تجزیه آماری داده‌ها

آنالیز آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ و مقایسه میانگین‌ها با آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ($P<0.05$) انجام شد.

## ۳. نتایج

نتایج تجزیه واریانس صفات مورفولوژیکی ریزنمونه‌های درون شیشه‌ای واکشت دوم نشان می‌دهد که در بین ارقام، در صفات طول ساقه (cm)، تعداد انشعابات و تعداد ریشه در سطح احتمال ۵ درصد، اختلاف معنی‌داری وجود دارد (جدول ۱).

**جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس صفات مورفولوژیکی ارقام مختلف گیاهچه‌های درون شیشه‌ای واکشت دوم**

| میانگین مربعات (MS) | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| منابع تغییرات | درجه آزادی | تعداد گیاهچه‌های تولید شده از یک گیاهچه | طول ساقه (cm) | تعداد انشعابات | تعداد گره | تعداد ریشه | تعداد ریزغده |
| ژنوتیپ | ۳ | ۰/۲۲۵$^{ns}$ | ۲۳/۹۵۹$^{*}$ | ۱۲/۹۶۷$^{*}$ | ۷/۰۲۵$^{ns}$ | ۳۹۵/۷۶۷$^{*}$ | ۰/۰۲۵$^{ns}$ |
| خطای آزمایشی | ۳۶ | ۰/۲۹۷ | ۸/۴۹۴ | ۱/۳۳۹ | ۸/۵۹۲ | ۱۱/۰۱۷ | ۰/۰۲۵ |

$^{*}$ **نشان‌دهنده معنی‌دار بودن در سطح احتمال ۵ درصد و ns عدم معنی‌داری است.**

بررسی نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که در صفت طول ساقه، ارقام ساتینا با میانگین ۱۰/۴۵ سانتیمتر و آریندا با میانگین ۶/۸۲ سانتیمتر به ترتیب بیشترین و کمترین میزان طول ساقه را دارا بودند و با یکدیگر تفاوت معنی داری داشتند. این در حالی است که ارقام سانته و آگریا با یکدیگر و با ارقام آریندا و ساتینا هیچ‌گونه اختلاف معنی‌داری نداشتند. در صفت تعداد انشعابات، تنها رقم ساتینا با میانگین ۰/۵، کمترین میزان این شاخص را به خود اختصاص داد و با سایر ارقام اختلاف معنی‌داری نشان داد.

در صفت تعداد ریشه، هرچند که ارقام سانته و آریندا به ترتیب با میانگین‌های ۱۸/۶ و ۱۷/۹ بیشترین میزان این شاخص را به خود اختصاص دادند، ولی با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نداشتند. بین این ارقام و دو رقم ساتینا و آگریا تفاوت معنی‌داری مشاهده شد. در این بین رقم ساتینا با میانگین ۵/۹ کمترین میزان تعداد ریشه را داشت (جدول ۲).

**جدول ۲- مقایسه میانگین صفات مورفولوژیکی گیاهچه‌های درون شیشه‌ای ارقام مختلف سیب‌زمینی در واکشت دوم**

| صفات مورفولوژیکی واکشت دوم | ژنوتیپ آریندا | ژنوتیپ سانته | ژنوتیپ آگریا | ژنوتیپ ساتینا |
|---|---|---|---|---|
| تعداد گیاهچه‌های تولید شده از یک گیاهچه | ۱/۵±۰/۱۶a | ۱/۲±۰/۱۳a | ۱/۳±۰/۱۵a | ۱/۵±۰/۲۲a |
| طول ساقه (cm) | ۶/۸۲±۰/۴۴ b | ۸/۴۵±۰/۷۱ab | ۹/۴۵±۰/۷۱ab | ۱۰/۴۵±۱/۴۷a |
| تعداد انشعابات | ۳/۱±۰/۵a | ۲/۶±۰/۳۷a | ۲/۴±۰/۱۶a | ۰/۵±۰/۳۴b |
| تعداد گره | ۹/۰±۰/۸۹a | ۹/۶±۰/۸۸a | ۹/۹±۰/۵a | ۸/۰±۱/۲۶a |
| تعداد ریشه | ۱۷/۹±۱/۰۸a | ۱۸/۶±۱/۴۲a | ۹/۴±۰/۷۶b | ۵/۹±۰/۷۸c |
| تعداد ریزغده | ۰/۰±۰/۰۰a | ۰/۱±۰/۱a | ۰/۰±۰/۰۰a | ۰/۰±۰/۰۰a |

* **حروف غیرمشترک معرف تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد براساس آزمون دانکن است.**

نتایج تجزیه واریانس صفات مورفولوژیکی ریزنمونه‌های درون شیشه‌ای واکشت سوم نشان می‌دهد که در بین ارقام در صفات تعداد گیاهچه‌های تولید شده از یک گیاهچه، طول ساقه (cm) و تعداد ریشه در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری وجود دارد (جدول ۳).

**جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس صفات مورفولوژیکی ارقام مختلف گیاهچه‌های درون شیشه‌ای واکشت سوم**

| میانگین مربعات (MS) | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| منابع تغییرات | درجه آزادی | تعداد گیاهچه‌های تولید شده از یک گیاهچه | طول ساقه (cm) | تعداد انشعابات | تعداد گره | تعداد ریشه | تعداد ریزغده |
| ژنوتیپ | ۳ | ۰/۸۶۷* | ۲۲/۰۱۸* | ۱/۹۵۸ns | ۱۰/۴۹۲ns | ۲۰۰/۸۲۵* | ۰/۰۳۳ns |
| خطای آزمایشی | ۳۶ | ۰/۴۷۲ | ۲/۱۰۵ | ۱/۸۳۱ | ۸/۴۲۵ | ۱۰/۴۹۷ | ۰/۰۵۰ |

* **نشان‌دهنده معنی‌دار بودن در سطح احتمال ۵ درصد و ns عدم معنی‌داری است.**

با توجه به نتایج مقایسه میانگین داده‌ها در شاخص تعداد گیاهچه‌های تولید شده از یک گیاهچه، ارقام سانته با میانگین ۱/۹ و آریندا با میانگین ۱/۲ به ترتیب بیشترین و کم‌ترین میزان این شاخص را دارا بودند و بین آن‌ها اختلاف معنی‌داری مشاهده شد. ارقام آگریا و ساتینا با یکدیگر و با دو رقم مذکور هیچ گونه تفاوت معنی‌داری نداشتند.

در صفت طول ساقه، رقم ساتینا با میانگین ۷/۷۳ سانتیمتر، بیشترین میزان این صفت را به خود اختصاص داد و با سایر ارقام اختلاف معنی‌داری داشت.

در صفت تعداد ریشه، رقم سانته با میانگین ۱۶/۷ بیشترین و رقم ساتینا با میانگین ۷/۳ کم‌ترین میزان را به خود اختصاص دادند و تفاوت معنی‌داری با یکدیگر داشتند. رقم آریندا نیز با میانگین ۱۲/۸ با سه رقم دیگر تفاوت معنی‌داری داشت، ولی ارقام ساتینا و آگریا هیچ گونه اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند (جدول ۴).

**جدول ٤- نتایج مقایسه میانگین داده‌ها در صفات مورفولوژیکی گیاهچه‌های درون شیشه‌ای واکشت سوم**

| صفات مورفولوژیکی واکشت سوم | ژنوتیپ آریندا | ژنوتیپ سانته | ژنوتیپ آگریا | ژنوتیپ ساتینا |
|---|---|---|---|---|
| تعداد گیاهچه‌های تولید شده از یک گیاهچه | ۱/۲±۰/۱۳b | ۱/۹±۰/۲۳a | ۱/۶±۰/۳ab | ۱/۷±۰/۱۵ab |
| طول ساقه (cm) | ۴/۲±۰/۱۹c | ۵/۸۶±۰/۴۸b | ۵/۲۳±۰/۴bc | ۷/۷۳±۰/۶۳a |
| تعداد انشعابات | ۲/۵±۰/۲۲a | ۳/۳±۰/۴۲a | ۲/۴±۰/۴۷a | ۳/۱±۰/۵۲a |
| تعداد گره | ۷/۸±۰/۷۸a | ۸/۰±۱/۱۵a | ۶/۷±۰/۸a | ۹/۲±۰/۸۷a |
| تعداد ریشه | ۱۲/۸±۱/۰۹b | ۱۶/۷±۱/۲۵a | ۷/۷±۱/۰۸c | ۷/۳±۰/۴۹c |
| تعداد ریزغده | ۰/۰±۰/۰۰a | ۰/۱±۰/۱a | ۰/۰±۰/۰۰a | ۰/۱±۰/۱a |

*** مقایسه میانگین‌ها (میانگین سه تکرار ± انحراف معیار) براساس آزمون دانکن ($p\leq0.05$). حروف غیرمشترک معرف تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد است.**

نتایج تجزیه واریانس در بخش صفات بیوشیمیایی داده‌های واکشت دوم نشان داد که تنها در صفت محتوای آنتوسیانین در بین چهار رقم در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری وجود دارد (جدول۵).

**جدول ۵- نتایج تجزیه واریانس صفات بیوشیمیایی ارقام مختلف گیاهچه‌های درون شیشه‌ای واکشت دوم**

| | میانگین مربعات (MS) | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| منابع تغییرات | درجه آزادی | کلروفیل a ($mgg^{-1}.fw^{-1}$) | کلروفیل b ($mgg^{-1}.fw^{-1}$) | کلروفیل کل ($mgg^{-1}.fw^{-1}$) | کاروتنوئید ($mgg^{-1}.fw^{-1}$) | آنتوسیانین ($mgg^{-1}.fw^{-1}$) | میزان فعالیت آنزیم کاتالاز (unit. $Mg^{-}$) ($^{1}protein^{-1}min^{-1}$) | آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز (unit. $Mg^{-}$) ($^{1}protein^{-1}min^{-1}$) |
| ژنوتیپ | ۳ | ۰/۰۰۵$^{ns}$ | ۰/۰۰۴$^{ns}$ | ۰/۰۱۸$^{ns}$ | ۰/۱۱۳$^{ns}$ | ۰/۰۰۴$^{*}$ | ۰/۰۰۰$^{ns}$ | ۰/۰۰۰$^{ns}$ |
| خطای آزمایشی | ۸ | ۰/۰۰۴ | ۰/۰۰۸ | ۰/۰۲۲ | ۰/۰۸۳ | ۰/۰۰۰ | ۰/۰۰۰ | ۰/۰۰۰ |

*** نشان‌دهنده معنی‌دار بودن در سطح احتمال ۵ درصد و ns عدم معنی‌داری است.**

نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که رقم آگریا با میانگین ۰/۱۲۶ میلی گرم بر گرم وزن تر

نسبت به سه رقم سانته، ساتینا و آریندا بیشترین محتوای رنگیزه آنتوسیانین، را دارا بوده و اختلاف معنی‌داری با سایر ارقام داشت. این در حالی است که سه رقم دیگر هیچ‌گونه تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند. صرف‌نظر از این نتیجه، رقم آگریا بالاترین میانگین محتوای کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئید را نیز دارا بود (جدول ۶).

**جدول ٦- نتایج مقایسه میانگین داده‌ها در صفات بیوشیمیایی گیاهچه‌های درون شیشه‌ای واکشت دوم**

| صفات بیوشیمیایی واکشت دوم | ژنوتیپ آریندا | ژنوتیپ سانته | ژنوتیپ آگریا | ژنوتیپ ساتینا |
|---|---|---|---|---|
| محتوای کلروفیل a ($mgg^{-1}.fw^{-1}$) | ۰/۱۶۸±۰/۰۳۷a | ۰/۱۶±۰/۰۳۷a | ۰/۲۴۸±۰/۰۴۳a | ۰/۱۷۸±۰/۰۲۶a |
| محتوای کلروفیل b ($mgg^{-1}.fw^{-1}$) | ۰/۰۸۷±۰/۰۳۶a | ۰/۰۷۳±۰/۰۱۸a | ۰/۱۵۷±۰/۰۸۲a | ۰/۰۹۲±۰/۰۴۲a |
| کلروفیل کل ($mgg^{-1}.fw^{-1}$) | ۰/۲۵۵±۰/۰۷۳a | ۰/۲۳۴±۰/۰۵۳a | ۰/۴۰۵±۰/۱۲۵a | ۰/۲۷۱±۰/۰۶۸a |
| محتوای کاروتنوئید ($mgg^{-1}.fw^{-1}$) | ۰/۸۶۶±۰/۱۸۲a | ۰/۶۴۱±۰/۱۳۴a | ۱/۰۶۳±۰/۲۱۱a | ۰/۶۷۵±۰/۱۲۱a |
| محتوای آنتوسیانین ($mgg^{-1}.fw^{-1}$) | ۰/۰۴۵±۰/۰۰۸b | ۰/۰۶۳±۰/۰۰۵b | ۰/۱۲۶±۰/۰۰۸a | ۰/۰۵۱±۰/۰۰۶b |
| سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز ($unit.\ Mg^{-1}protein^{-1}min^{-1}$) | ۰/۰۱۰۹±۰/۰۰۱۶a | ۰/۰۱۶±۰/۰۰۵۵a | ۰/۰۱۸۶±۰/۰۰۸a | ۰/۰۰۹۳±۰/۰۰۲۲a |
| سنجش فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز ($unit.\ Mg^{-1}protein^{-1}min^{-1}$) | ۰/۰۰۱۶±۰/۰۰۰۵a | ۰/۰۰۳۶±۰/۰۰۱a | ۰/۰۰۲۴±۰/۰۰۰۹a | ۰/۰۰۴۸±۰/۰۰۱۷a |

*** اثر رقم بر صفات بیوشیمیایی، مقایسه میانگین‌ها (میانگین سه تکرار ± انحراف معیار) براساس آزمون دانکن ($p\leq0.05$). حروف غیرمشترک معرف تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد است.**

نتایج تجزیه واریانس نشان می‌دهد که بین ارقام در تمامی صفات بیوشیمیایی مورد بررسی در واکشت سوم گیاهچه‌های درون شیشه‌ای در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری وجود دارد (جدول ۷).

**جدول ۷- نتایج تجزیه واریانس صفات بیوشیمیایی ارقام مختلف گیاهچه‌های درون شیشه‌ای واکشت سوم**

| | میانگین مربعات (MS) | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| منابع تغییرات | درجه آزادی | کلروفیل a ($mgg^{-1}.fw^{-1}$) | کلروفیل b ($mgg^{-1}.fw^{-1}$) | کلروفیل کل ($mgg^{-1}.fw^{-1}$) | کاروتنوئید ($mgg^{-1}.fw^{-1}$) | آنتوسیانین ($mgg^{-1}.fw^{-1}$) | آنزیم کاتالاز ($unit.Mg^{-1}protein^{-1}min^{-1}$) | آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز ($unit.Mg^{-1}protein^{-1}min^{-1}$) |
| ژنوتیپ | ۳ | ۰/۰۰۰* | ۰/۰۰۲* | ۰/۰۰۴* | ۰/۲۱۱* | ۰/۰۰۳* | ۰/۰۰۲ns | ۰/۰۰۰ns |
| خطای آزمایشی | ۸ | ۰/۰۰۰ | ۰/۰۰۰ | ۰/۰۰۰ | ۰/۰۰۸ | ۰/۰۰۰ | ۰/۰۰۱ | ۰/۰۰۰ |

*** نشان‌دهنده معنی‌دار بودن در سطح احتمال ۵ درصد و ns عدم معنی‌داری است.**

بررسی نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که رقم آریندا کمترین میزان کلروفیل a را با میانگین ۰/۰۳ میلی گرم بر گرم وزن تر حاصل کرد که با سه رقم دیگر اختلاف معنی‌داری داشت.

بین سایر ارقام هیچ گونه اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد.

در شاخص کلروفیل b، رقم آریندا با میانگین ۰/۰۶۴ میلی گرم بر گرم وزن تر گیاه، کم‌ترین میزان این صفت را به خود اختصاص داد و با سایر ارقام اختلاف معنی‌داری نشان داد. بین ارقام آگریا، ساتینا و سانته، تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد.

نتایج در شاخص کلروفیل کل نشان داد که رقم آریندا با میانگین ۰/۰۹۴ میلی گرم بر گرم وزن تر، کم‌ترین میزان کلروفیل کل را دارا بوده و با سایر ارقام اختلاف معنی‌داری دارد. بین سه رقم دیگر هیچ گونه تفاوت معنی‌داری ملاحظه نشد.

نتایج مقایسه میانگین محتوای کاروتنوئید نشان داد که رقم آریندا با میانگین ۰/۲۸۲ میلی گرم بر گرم وزن تر، کمترین میزان این شاخص را دارا بوده و با ارقام سانته و آگریا تفاوت معنی‌داری داشت، اما با رقم ساتینا اختلاف معنی‌داری نشان نداد. همچنین رقم آگریا با میانگین ۰/۸۳۲ میلی گرم بر گرم وزن تر، بیشترین میزان این شاخص را به خود اختصاص داد که با ارقام ساتینا و آریندا اختلاف معنی‌داری داشت.

در شاخص بیوشیمیایی آنتوسیانین، هر چهار رقم تفاوت معنی‌داری با یکدیگر داشتند، به طوری که رقم آگریا با میانگین ۰/۱۰۹ میلی گرم بر گرم وزن تر و رقم سانته با میانگین ۰/۰۲۲ میلی گرم بر گرم وزن تر، به ترتیب بیشترین و کمترین میزان این رنگیزه را به خود اختصاص دادند (جدول ۸).

**جدول ۸- نتایج مقایسه میانگین داده‌ها در صفات بیوشیمیایی گیاهچه‌های درون شیشه‌ای واکشت سوم**

| صفات بیوشیمیایی واکشت سوم | ژنوتیپ آریندا | ژنوتیپ سانته | ژنوتیپ آگریا | ژنوتیپ ساتینا |
|---|---|---|---|---|
| محتوای کلروفیل a (mg/g.fw) | ۰/۰۳±۰/۰۰۴b | ۰/۰۵۱±۰/۰۰۴a | ۰/۰۴۲±۰/۰۰۳a | ۰/۰۴۷±۰/۰۰۱a |
| محتوای کلروفیل b (mg/g.fw) | ۰/۰۶۴±۰/۰۱۲b | ۰/۱۳±۰/۰۰۸a | ۰/۱۰۶±۰/۰۰۷a | ۰/۱۱۳±۰/۰۰۱a |
| کلروفیل کل (mg/g.fw) | ۰/۰۹۴±۰/۰۱۶b | ۰/۱۷۸±۰/۰۰۸a | ۰/۱۴۹±۰/۰۰۷a | ۰/۱۶±۰/۰۰۰۵a |
| محتوای کاروتنوئید (mg/g.fw) | ۰/۲۸۲±۰/۰۱۹b | ۰/۷۲۸±۰/۰۹۳a | ۰/۸۳۲±۰/۰۳۹a | ۰/۳۸۳±۰/۰۰۳b |
| محتوای آنتوسیانین (mg/g.fw) | ۰/۰۳۷±۰/۰۰۰۸c | ۰/۰۲۲±۰/۰۰۰۳d | ۰/۱۰۹±۰/۰۰۰۹a | ۰/۰۵۱±۰/۰۰۰۴b |
| سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز (unit. Mg/ protein/min) | ۰/۰۱۶±۰/۰۰۳۳a | ۰/۰۶۹۳±۰/۰۳۵۳a | ۰/۰۲۲۸±۰/۰۱۰۱a | ۰/۰۳۳۸±۰/۰۱۸۶a |
| سنجش فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز (unit. mg protein$^{-1}$.min$^{-1}$) | ۰/۰۰۰۴±۰/۰۰۰۱a | ۰/۰۰۰۲±۰/۰۰۰۱a | ۰/۰۰۰۸ ±۰/۰۰۰۴a | ۰/۰۰۱±۰/۰۰۰۷a |

**مقایسه میانگین‌ها (میانگین سه تکرار ± انحراف معیار) براساس آزمون دانکن ($p\leq0.05$). حروف غیرمشترک معرف تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد است.**

با توجه به نتایج ارائه شده در جداول تجزیه واریانس صفات بیوشیمیایی (جداول۵ و ۷)، هیچ گونه اختلاف معنی‌داری بین ارقام مختلف از نظر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز و پلی فنل اکسیداز مشاهده نشد. همچنین نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نیز عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین ارقام مورد مطالعه از نظر میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پلی فنل اکسیداز را ثابت کرد (جداول ۶ و ۸).

## ٤. بحث

تحقیق حاضر که با هدف بررسی خصوصیات مورفولوژیکی و بیوشیمیایی گیاهچه‌های رشد یافته در شرایط درون شیشه‌ای در چهار رقم مختلف گیاه سیب‌زمینی انجام شد، تأییدکننده این نکته است که در شرایط رویشی یکسان، نوع ژنوتیپ می‌تواند بسیاری از صفات گیاه را تحت تأثیر قرار دهد. اختلاف در پاسخ به کشت درون شیشه‌ای ناشی از فاکتور ژنوتیپ در سیب‌زمینی پیش از این گزارش شده است (۲۹، ۱۹، ۷، ۳، ۳۲، ۳۱، ۳۰). در تحقیقی که Sharma و همکاران بر روی شش رقم سیب‌زمینی در شرایط کشت درون شیشه‌ای انجام دادند، اختلاف معنی‌داری بین ارقام برای صفات مورد مطالعه گزارش کردند، به طوری که درصد غده‌زایی بین ارقام از ۴۰ درصد تا ۶۳/۳ درصد و مجموع بیوماس در هر ظرف کشت ۸/۶ گرم تا ۱۳/۲ گرم برحسب ژنوتیپ متغیر بود (۳۳). این محققان اختلاف عملکرد بین ارقام را ناشی از رشد بهتر گیاهچه‌ها و در نتیجه سنتز بیشتر مواد غذایی در ارقام مطلوب نسبت به سایر ارقام دانستند. در مطالعه دیگری که توسط Leclerc و همکاران روی پتانسیل تولید ریزغده سه رقم سیب‌زمینی به نام‌های Kennebec، Russet Burbank و Superior انجام شد، تأثیر معنی‌دار ژنوتیپ بر صفات مورد مطالعه گزارش شد (۳۰). در این تحقیق میانگین وزن ریزغده‌ها از ۳۵۸ میلی‌گرم برای رقم Superior تا ۶۲۹ میلی‌گرم برای رقم Russet Burbank متغیر بود. همچنین نتایج حاصل از تحقیقات Nistor و همکاران نیز نشان داد که صفات مختلف سیب‌زمینی تحت تأثیر ژنوتیپ‌های این گیاه قرار گرفته، به طوری که نوع ژنوتیپ بر تولید ریزغده تأثیرگذار بوده است (۱۴). به طور کلی می‌توان گفت ژنوتیپ‌های مختلف با سنتز سطوح متفاوت هورمون‌های داخلی همچون اکسین‌ها، سایتوکنین‌ها و اسید آبسیزیک، نقش مهمی را ایفا نموده و توازن مابین این مواد، الگوی رشد را تعیین می‌نماید و در نتیجه پاسخ‌های مختلفی نسبت به شرایط محیط کشت حاصل می‌شود (۳۴).

با توجه به اینکه در مراحل تکثیر گیاه برای رسیدن به تولید انبوه گیاهان، تعداد شاخه، یکی از عوامل مؤثر بوده و هرچه تعداد شاخه حاصل بالا باشد، کارایی تکثیر افزایش می‌یابد و همچنین

وجود ریشه‌های قوی تضمین‌کننده رشد گیاه در محیط بیرون است (۱۶). پس، می‌توان نتیجه گرفت که رقم سانته نسبت به سایر ارقام در این زمینه برتری دارد که این نتایج نیز با نتایج گزارش شده توسط پیمان و همکاران و مرادی پیام و همکاران تطابق دارد (۳۵). همچنین حفیظی و همکاران و بیانی‌راد و همکاران، نتایجی مشابه نتایج بررسی‌های صورت گرفته سایر محققین بر روی رقم Marfona و Sinura که ارقامی زودرس هستند، به دست آوردند (۳۶، ۱۶). اما در این بخش Hoque، بیشترین تعداد شاخه و ریشه را در رقم Granulla که یک رقم نیمه دیررس است، گزارش کرد (۱۵). در شاخص تعداد ریزغده اگرچه بین ارقام تفاوت معنی‌داری بدست نیامد، اما رقم سانته در هر دو واکشت و رقم ساتینا در واکشت سوم، ایجاد ریزغده نمودند که نسبت به سایر ارقام برتری داشتند. نتایج این تحقیق در مورد تعداد ریزغده در رقم سانته با نتایج گزارش شده توسط مرادی پیام و همکاران و Kianmehr و همکاران، مطابقت دارد (۳۷، ۳۵). محققین دیگری چون حفیظی و همکاران و بیانی‌راد و همکاران به ترتیب بر روی ارقام زودرس Marfona و Sinura نیز نتایج مشابهی به دست آوردند (۳۶، ۱۶). در این میان بلندی و ضرغامی، رقم Agria را که رقمی دیررس است، دارای بیشترین تعداد ریزغده معرفی کردند (۱۲). در صفت طول ساقه، رقم ساتینا در این تحقیق نسبت به سایر ارقام برتر بود، که نتایج به دست آمده با نتایج گزارش شده توسط حفیظی و همکاران و بیانی‌راد و همکاران، بر روی دو رقم زودرس Marfona و Sinura مغایرت داشت (۳۶، ۱۶). رقم آگریا نیز از لحاظ میزان محتوای رنگیزه نسبت به سایر ارقام برتر بود که می‌تواند به عنوان یک سیستم دفاعی غیرآنزیمی در فائق آمدن این گیاه به شرایط تنش‌زا کمک کند. این نتایج مؤید آن است که پتانسیل ارقام برای صفات مختلف، متفاوت می‌باشد؛ به‌گونه‌ای که یک رقم ممکن است برای تعدادی از صفات نسبت به رقم دیگر برتری نشان دهد، در صورتی که برای تعداد دیگری از صفات، عملکرد کمتری داشته باشد (۴).

## ۵. نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که ارقام دیررس ساتینا برای رشد رویشی بیشتر و آگریا با مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی بالاتر در کشت‌های گلخانه‌ای به منظور تولید مینی تیوبر توصیه می‌شوند. همچنین ارقام زودرس با تولید انشعابات و ریشه‌های بیشتر، برای تکثیر گیاهچه‌ها مناسب‌تر هستند.

## References


1. F.A.O. *Food and Agriculture Organization*, 2012. https://www.fao.org/home/en
2. HassanDokht MR. *Vegetable production technology*. Tehran University, 2012. [in persian]
3. Jim´enez E, P´erez N, Feria M, Barb´on R, Capote A, Ch´avez M, Quiala E & P´erez JC. Improved production of potato microtubers using a temporary immersion system. Plant Cell. *Tissue and Organ Culture*. 1999; 59: 19-23.
4. Bolandi A, Hamidi R & Bidakhti R. Investigating the effect of hormone and photoperiod on the production of microtubers in two potato cultivars under glass conditions. *Journal of Gardening Sciences*. 2013; 27: 158-165. [in persian]
5. Gopal J, Chamail A & Sarkar D. *In vitro* production of microtubers for conservation of potato germplasm: effect of genotype, abscisic acid and sucrose. *In vitro Cellular and Development Biology Plant*. 2004; 40: 485-490.
6. Arregui LM, Veramendi JJ & Mingo-Castel AM. Effect of gelling agents on *in vitro* tuberzation of six potato cultivars. *American J. of Potato research*. 2003; 80: 141-144.
7. Anjum MK & Villiers TA. Induction of microtubers *in vitro* from stem segments of *Solanum tuberosum* L., *S. Commersonii* Dun. And *S. acaule* Bitt. *Scientia Horticulture*. 1997; 70: 231-235.
8. Modarres Sanavy SAM & Jami Moeini M. Effects of different hormone combinations and planting beds on growth of single nodes plantlets from potato meristem culture. *Plant Tissue Cult*. 2003; 13(2): 145-150.
9. Roodbar Shojaei T, Sepahvand NA, Mansour O, Abdi HR & Mohajeri Naraghi S. The effect of plant growth regulators, cultivars and substrate combination on production of virus free potato minitubers. *African J. of Biotechnology*. 2009; 8(19): 4864-4871.
10. Mani F, Mhamdi M, Bettaieb T & Hannachi C. Shoot regeneration, micropropagation and microtuberization of potato (*Solanum tuberosum* L.) cultivars. *J. of New Sciences*. 2014; 7(2): 18-10.
11. Ozturk G & Yildirim Z. A comparison of field performances of minitubers and microtubers used in seed potatp production. *Turkish J. of Field Crops*. 2010; 15(2): 141-147.
12. Bolandi A & Zarghami R. Investigating factors affecting the production of sprouts and microtubes in potatoes in vitro. *Journal of Agriculture Research*. 2005; 4: 24-32. [in persian]
13. Kawakami J, Kazuto I, Toshihiro H & Yutaka J. Growth and yield of potato plants grown from microtubers in fields. *American J. of potato Research*. 2003; 80: 371-378.
14. Nistor A, Campeanu G, Atanasiu N, Chiru N & Karacsonyi D. Influence of potato genotypes on "in vitro" production of microtubers. *Romanian Biotechnological Letter*. 2010; 15(3): 5317-5324.
15. Hoque ME. *In vitro* tuberization in potato (*Solanum tuberosum* L.). *Plant Omics J*. 2010; 3(1): 7-11.
16. BayaniiRad B, Bolandi A, Taheri R, Hamidi H & Hosseini SS. *Investigating the reaction of different potato cultivars on micronodulation in tissue culture medium*. 12th Genetic Congress of Iran, 2012. [in persian]

17. Le CL. *In vitro mass propagation of potato in liquid medium*. Inaugural meeting in tamper, Finland, 2000: 44-45.
18. Qing Chang L, Teiji K & Muneharu S. Varietal differences of somatic embryogenesis in shoot tip cultures of sweet potato, *Ipomoea batatas* (L.) Lam. *Mem. Fac. Agr. Kagoshima Univ*. 1993; 29: 39-42.
19. Pruski KW. Microporopagation technology in early phases of commercial seed potato production. *Am. J. of Potato Res*. 2003; 80: 183-193.
20. Elshibi SM. Effect of genotype on morphogenesis of ten Solanum potato variets cultured *in vitro*. *African Potaton Association Conferrence Proceeding,* 2000; 5: 23-26.
21. Nowak J & Colborne D. *In virto* tuberization and tuber proteins as indicators of heat tolerance in potato. *Am. Potato J*, 1989; 44: 35-45.
22. Murashige T & Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacoo tissue cultures. *Physiology Plant*, 1962; 15: 473-497.
23. Donnelly DJ, Coleman WK & Coleman SE. Potato microtuber production and performance: A review. *American J. of Potato Research*. 2003; 80(2): 103-115
24. Arnon AN. Method of extraction of chlorophyll in the plants. *Agron J*. 1967; 23: 112-121.
25. Krizek DT, Britz SJ & Mirecki RM. Inhibitory effects of ambient levels of solar UV-A and UV-B radiation on growth of cv. New Red Fire lettuce. *Physiologia platarum*. 1998; 103: 1-7.
26. Kar M & Mishra D. Catalase, Peroxidase and polyphenolxidase activities during rice leaf senescence. *Plant Phsiol.*1976; 57: 315-319.
27. Chance B & Maehly AC. *Assay of catalase and peroxidase, Methods Enzymology.* 1995; 2: 764-791.
28. Resende MLV, Nojosa GBA, Cavalcanti LS, Aguilar MAG, Silva LHCP, Perez JO, Andrade GCG, Carvalho GA & Castro RM. Induction of resistance in cocoa against *Crinipellis perniciosa* and *Verticillium dahlia*e by acibenzolar-s-methyl (ASM). *Plant Pathology*. 2002; 51: 621-628.
29. Charles G, Rossingol L & Rossingol M. Environmental effect on potato plants *in vito*. *J. of Plant Physiol*. 1992; 6: 708-713.
30. Leclerc Y, Donelly DJ & Seabrook JEA. Microtuberization of layered shoots and nodal cuttings of potato: the influence of growth regulators and incubation periods. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*. 1994; 37: 113-120.
31. Ziv M & Shemesh D. Progration and tuberization of potato bud clusters from bioreactor culture. *In vitro Cellular and Development Biology Plant*. 1996; 32: 31-36.
32. Jackson SD. Multiple signaling pathway control tuber induction in potato. *Plant Physiol*. 1999; 199: 1-8.
33. Sharma AK, Venkatasalam EP & Singh RK. Micro-tuber production behavior of some commercially important potato (*Solanum tuberosum*) cultivars. *Indian J. of Agricultural Sciences*. 2011; 81(11): 1008-1013.
34. Phippen WB & Simon JE. Shoot regeneration of young leaf explants from basil (*Ocimum basilicum* L.). *In vitro Cellular and Developmental Biology*. 2000; 36: 250-254.

35. Moradi Payam A, Farshad Far AA, Chaiichi M, Khodadadi M & Haghtalab Z. *Investigating the effect of seedling density in meristem cultivation on the performance of Sante and Agria mini-tubers.* 11th Congress of Agricultural Sciences and Plant Breeding of Iran, Tehran, 2010; (In Persian).
36. Hafizi B, Bolandi AR, SohaniDarban A & Hamidi H. *The effect of sucrose and hormonal composition on the morphological characteristics of two potato cultivars, Agria and Marfona, in vitro.* In: 6th National New Ideas in Agriculture, Khorasegan Branch, Islamic Azad University, Iran, 2011. [in persian]
37. Kianmehr B, Otroshy M, Parsa M, Nassiri Mohallati M & Moradi K. Effect of Plant Growth Regulation during in vitro Phase on Potato Minituber Production. *International J. of Agriculture and Crop Sciences*. 2012; 4(15): 1060-1067.