Sari Agriculture Sciences and Natural Resources University

Journal of Crop Breeding Vol. 18, Issue 2, 2026 p: 24-36

OPEN ACCESS

Research Paper

The Effect of pH and Different Concentrations of Agar on the Microtuberization Process in In-vitro Culture of Potato (*Solanum tuberosum* L.) Variety Agria

Asadollah Hatami[1], Alireza Motallebi-Azar[2], Fariborz Zare-Nahandi[2], Mina Amani[3] and Vahideh Najafi[1]

1- Graduate, Department of Horticultural Science and Engineering, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

2- Professor, Department of Horticultural Science and Engineering, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

3- Ph.D. Candidate, Department of Horticultural Science and Engineering, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran, (Corresponding author: Minaamani@tabrizu.ac.ir)

Received: 20 August, 2025 Revised: 25 November, 2025 Accepted: 27 December, 2025

Extended Abstract

Background: In potato, viral infections can have destructive effects on the yield and quality of the crops. These infections not only lead to a decrease in the production and quality of tubers but can also result in the transmission of viruses to other plants. Therefore, the production of virus-free tubers in in-vitro conditions is recognized as an effective strategy to combat this issue. Optimizing cultivation conditions, including the regulation of temperature, light, humidity, and nutrient composition, can help maximize the rate and percentage of tuberization. This process enables researchers to produce healthy and higher-quality seedlings, which can ultimately lead to increased productivity and reduced production costs in potato farms. Consequently, investing in research and the development of innovative methods for producing virus-free tubers is of paramount importance and can significantly contribute to improving food security and agricultural sustainability in this field.

Methods: The effects of different pH levels and various agar concentrations, as well as their interactions, on microtuberization stages were investigated in this study. For this purpose, virus-free lateral buds of the Agria potato variety were cultured in an MS basal medium supplemented with 80 g l^{-1} sucrose and agar concentrations of 6, 8, and 10 g l^{-1} at pH levels of 4, 5, 6, 7, and 8. The cultures were maintained under continuous darkness at a temperature of 17°C. The survival percentage of the explants, the percentage of microtuber production, the size and weight of the microtubers, and the dormancy of the produced microtubers were measured after 2 months.

Results: The effects of pH and agar concentration were significantly evident on the viability and tuberization of potato plantlets. The highest viability of the explants was observed at pH levels of 5 and 6, while a pH of 8 led to a decrease in viability. These findings highlight the importance of pH regulation in the early stages of culture, as higher pH levels may negatively affect the metabolic processes and, consequently, reduce the viability of the explants. Moreover, a concentration of 10 g/l of agar significantly reduced the viability of the explants. This decline may be attributed to the negative impact of this concentration on the moisture and structure of the culture medium, which can ultimately lead to difficulties in water and nutrient absorption by the plantlets. In contrast, optimal conditions for tuberization were observed at a pH of 6 and an agar concentration of 8 g/l, indicating that precise adjustments of these factors can enhance tuber production. The results also indicated that the size of the produced tubers at pH levels of 6 and 7, as well as their weight at pH 6, were significantly greater than those of the other treatments. This suggests that a pH of 6 not only contributes to an increase in the number of tubers but also positively influences their quality and size. In other words, optimal conditions for producing larger and higher-quality tubers were evident at a pH of 6, which could aid in improving the productivity of virus-free potato production. Based on these findings, it can be concluded that it is essential to pay attention to pH and agar concentration in the tuber production process in in-vitro conditions. Optimizing these parameters can serve as an effective strategy for increasing the success of producing healthy and high-quality tubers in potato plants. Ultimately, this research could provide a solid foundation for future studies aimed at optimizing in-vitro cultivation and producing virus-free tubers, assisting farmers in achieving better and healthier crops.

Conclusion: This research examined the effect of pH and various agar concentrations on

Copyright ©2026. Hatami et al. Published by Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University.
This work is licensed under a Creative Commons Attribution-Non-Commercial 4.0 Unported License, which allows users to read, copy, distribute, and make derivative works for non-commercial purposes from the material, as long as the author of the original work is cited properly.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-01]

[DOI: 10.66224/jcb.2026.1619]

microtuberization in in-vitro cultures of the Agria potato variety, with the results indicating the importance of these factors in the process of producing quality microtubers. Based on the findings, the optimal pH for microtuberization lies between 5 and 6 in the conditions of this study, and any change beyond this range, especially an increase in pH above 8, leads to a significant reduction in the survival percentage and microtuber production. Additionally, agar concentration also significantly affected the survival of explants, where an agar concentration of 10 g/l notably decreased viability. The control treatment (pH 6 and an agar concentration of 8 g/l) showed the highest percentage of microtuberization, emphasizing the importance of optimizing culture conditions to maximize microtuber production. Furthermore, the results indicated that inappropriate environmental conditions and significant fluctuations in pH and agar concentration could lead to increased dormancy of the microtubers. Despite a low percentage of dormancy in the produced microtubers in this study, it was significantly influenced by environmental conditions, suggesting that this dormancy may be primarily due to nutritional and hormonal disruptions arising from suboptimal culture conditions. Ultimately, this research demonstrates that optimizing tissue culture conditions, particularly pH and agar concentration, can facilitate the production of high-quality virus-free microtubers.

Keywords: Dormancy, In-vitro culture, MS medium, Tissue culture

How to Cite This Article:. Hatami, A., Motallebi-Azar, A., Zare-Nahandi, F., Amani, M., & Najafi, V. (2026). The Effect of pH and Different Concentrations of Agar on the Microtuberization Process in In-vitro Culture of Potato (*Solanum tuberosum* L.) Variety Agria. *J Crop Breed,* 18(2), 24-36. DOI: 10.61882/jcb.2026.1619

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-01]

[DOI: 10.66224/jcb.2026.1619]

دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

مقاله پژوهشی

بررسی تأثیر pH و غلظت‌های مختلف آگار بر فرایند ریزغده‌زایی در کشت درون‌شیشه‌ای سیب‌زمینی رقم آگریا

اسدالله حاتمی[۱]، علیرضا مطلبی‌آذر[۲]، فریبرز زارع نهندی[۲]، مینا امانی[۳] و وحیده نجفی[۱]

۱- دانش‌آموخته، گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
۲- استاد، گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
۳- دانشجوی دکتری تخصصی، گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران، (نویسنده مسوول: Minaamani@tabrizu.ac.ir)

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۵/۲۹ تاریخ ویرایش: ۱۴۰۴/۰۹/۰۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۱۰/۰۶
صفحه ۲۴ تا ۳۶

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: در گیاه سیب‌زمینی (*Solanum tuberosum* L.)، آلودگی‌های ویروسی می‌توانند تأثیرات مخربی بر روی عملکرد و کیفیت محصول داشته باشند. این آلودگی‌ها نه‌تنها باعث کاهش تولید و کیفیت ریزغده‌ها می‌شوند، بلکه می‌توانند به انتقال ویروس‌ها به سایر گیاهان نیز منجر شوند. از این رو، تولید ریزغده‌های عاری از ویروس در شرایط درون‌شیشه‌ای به‌عنوان یک راهکار مؤثر برای مقابله با این مشکل شناخته می‌شود. بهینه‌سازی شرایط کشت، از جمله تنظیم دما، نور، رطوبت و ترکیب مواد مغذی، می‌تواند به حداکثر رساندن سرعت و درصد ریزغده‌زایی کمک کند. این فرایند به محققان این امکان را می‌دهد که به تولید نهال‌های سالم و با کیفیت بالاتر دست یابند، که در نهایت می‌تواند به افزایش بهره‌وری و کاهش هزینه‌های تولید در مزارع سیب‌زمینی منجر شود. بنابراین، سرمایه‌گذاری در تحقیقات و توسعه روش‌های نوین در تولید ریزغده‌های عاری از ویروس از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است و می‌تواند به بهبود امنیت غذایی و پایداری کشاورزی در این حوزه کمک شایانی نماید.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش اثر مقادیر مختلف pH و غلظت‌های متفاوت آگار و اثرات متقابل آن‌ها بر مراحل ریزغده‌زایی مورد مطالعه قرار گرفت. به این منظور، ریزنمونه جوانه‌های جانبی سیب‌زمینی رقم آگریا عاری از ویروس در محیط کشت پایه MS با ۸۰ گرم در لیتر ساکارز و با غلظت‌های شش، هشت و ۱۰ گرم در لیتر آگار، در pHهای چهار، پنج، شش، هفت، هشت کشت شد و تحت شرایط تاریکی مداوم و در دمای ۱۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. پس از گذشت دو ماه، درصد زنده‌مانی ریزنمونه‌ها، درصد تولید ریزغده، اندازه و وزن ریزغده‌ها و خواب بذر ریزغده‌های تولیدی اندازه‌گیری شدند.

یافته‌ها: تأثیر pH و غلظت آگار بر زنده‌مانی و ریزغده‌زایی در گیاه سیب‌زمینی به‌طور معنی‌داری مشخص شد. بالاترین میزان زنده‌مانی ریزنمونه‌ها در pHهای پنج و شش مشاهده گردید، درحالی‌که pH برابر هشت منجر به کاهش زنده‌مانی شد. این یافته‌ها نشان‌دهنده اهمیت تنظیم pH در مراحل اولیه کشت هستند، زیرا pH بالاتر از شش ممکن است به تغییرات منفی در فرایندهای متابولیکی و در نتیجه کاهش قابلیت زنده‌مانی ریزنمونه‌ها منجر شود. علاوه بر این، غلظت ۱۰ گرم بر لیتر آگار به‌طور معنی‌داری زنده‌مانی ریزنمونه‌ها را کاهش داد. این کاهش ممکن است به‌دلیل تأثیر منفی این غلظت بر رطوبت و ساختار محیط کشت باشد، که درنهایت می‌تواند به مشکلاتی در جذب آب و مواد مغذی توسط ریزنمونه‌ها منجر شود. درمقابل، شرایط بهینه برای ریزغده‌زایی در pH برابر شش و غلظت هشت گرم بر لیتر آگار مشاهده شد، که نشان‌دهنده این است که تنظیم دقیق این عوامل می‌تواند به بهبود تولید ریزغده‌ها کمک کند. اندازه ریزغده‌های تولیدی در pHهای شش و هفت و وزن آن‌ها در pH برابر شش به‌طور معنی‌داری بیشتر از سایر تیمارها بود. این نکته حاکی از آن است که pH برابر شش، نه‌تنها به افزایش تعداد ریزغده‌ها کمک می‌کند، بلکه به کیفیت و اندازه آن‌ها نیز به‌طور مثبت تأثیر می‌گذارد. به‌عبارت دیگر، شرایط بهینه برای تولید ریزغده‌های بزرگ‌تر و با کیفیت‌تر در pH برابر شش قابل مشاهده است که می‌تواند به افزایش بهره‌وری در تولید سیب‌زمینی‌های عاری از ویروس کمک کند. باتوجه به این یافته‌ها، می‌توان نتیجه‌گیری کرد که در فرایند تولید ریزغده‌ها در شرایط درون‌شیشه‌ای، توجه به pH و غلظت آگار ضروری است. بهینه‌سازی این شرایط می‌تواند به‌عنوان یک استراتژی مؤثر در افزایش موفقیت در تولید ریزغده‌های سالم و باکیفیت در گیاه سیب‌زمینی مورد استفاده قرار گیرد. در نهایت، این تحقیق می‌تواند مبنای مناسبی برای تحقیقات آینده در زمینه بهینه‌سازی کشت درون‌شیشه‌ای و تولید ریزغده‌های عاری از آلودگی‌های ویروسی باشد و به کشاورزان در دستیابی به محصولات بهتر و سالم‌تر کمک کند.

نتیجه‌گیری: این تحقیق به بررسی تأثیر pH و غلظت‌های مختلف آگار بر ریزغده‌زایی درون‌شیشه‌ای سیب‌زمینی رقم آگریا پرداخته است و نتایج به‌دست آمده نشان‌دهنده اهمیت این عوامل در فرایند تولید ریزغده‌های با کیفیت هستند. باتوجه به یافته‌ها، pH بهینه برای ریزغده‌زایی در شرایط این مطالعه بین پنج تا شش است و هر گونه تغییر در این محدوده، به‌ویژه افزایش pH به بالاتر از هشت، منجربه کاهش قابل توجه درصد زنده‌مانی و تولید ریزغده‌ها می‌شود. همچنین، غلظت آگار تأثیر معنی‌داری بر زنده‌مانی ریزنمونه‌ها دارد، به‌طوری‌که غلظت ۱۰ گرم بر لیتر آگار، به‌طور معنی‌داری زنده‌مانی را کاهش می‌دهد. براساس نتایج، تیمار شاهد (pH برابر شش و غلظت هشت گرم بر لیتر آگار) بالاترین درصد ریزغده‌زایی را نشان داد و این موضوع تأکیدی بر اهمیت بهینه‌سازی شرایط محیط کشت برای حداکثرکردن تولید ریزغده‌ها است. علاوه بر این، شرایط محیطی نامناسب و تغییرات زیاد در pH و غلظت آگار می‌توانند منجربه افزایش خواب بذر ریزغده‌ها گردند. علی‌رغم پایین بودن درصد خواب بذر در ریزغده‌های تولید شده در این مطالعه، این صفت به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر شرایط محیطی قرار داشت و به‌نظر می‌رسد که این خواب بذر بیشتر به‌دلیل اختلالات غذایی و هورمونی ناشی از شرایط غیر بهینه کشت باشد. در نهایت، این تحقیق نشان می‌دهد که بهینه‌سازی شرایط کشت بافت، به‌ویژه pH و غلظت آگار، می‌تواند به تولید ریزغده‌های عاری از ویروس و با کیفیت بالا کمک کند.

واژه‌های کلیدی: خواب بذر، کشت بافت، کشت درون‌شیشه‌ای، محیط کشت MS

مقدمه

سیب‌زمینی به‌دلیل ویژگی‌های منحصر به فرد، ازجمله ارزش غذایی بالا، قابلیت انبارداری طولانی‌مدت و تنوع در کاربردهای غذایی، در بسیاری از کشورها به‌عنوان یک منبع مهم غذایی محسوب می‌شود. این محصول به‌عنوان یک منبع غنی از کربوهیدرات‌ها، ویتامین‌ها و مواد معدنی، نقش مهمی را در تأمین نیازهای غذایی مردم ایفا می‌کند (Mohapatra *et al.*, 2018). با این‌حال، یکی از چالش‌های اساسی در تولید سیب‌زمینی، آلودگی‌های ویروسی است که می‌تواند به کاهش کیفیت و کمیت محصول منجر شود. ویروس‌ها می‌توانند از طریق جوانه‌ها یا بذرهای آلوده به گیاهان منتقل شوند و تأثیرات منفی بر روی رشد و توسعه گیاه داشته باشند (Khalil *et al.*, 2017). در این راستا، تولید ریزغده‌های عاری از ویروس در شرایط درون‌شیشه‌ای به‌عنوان یک راهکار مؤثر برای افزایش

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-01]

[DOI: 10.66224/jcb.2026.1619]

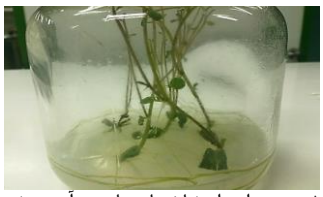
کیفیت و بهبود عملکرد سیب‌زمینی اهمیت ویژه‌ای دارد (Astarini *et al.,* 2021).

ریزغده‌زایی در گیاهان به فرایند تولید ریزغده‌های جدید از جوانه‌ها یا بافت‌های گیاهی اشاره دارد و این فرایند تحت تأثیر عوامل مختلفی قرار دارد (Shi *et al.,* 2017). یکی از این عوامل، pH محیط کشت است که نقش اساسی در تأثیرگذاری بر فعالیت‌های متابولیکی، جذب مواد مغذی و رشد گیاه دارد. pH مناسب می‌تواند به بهبود زنده‌مانی ریزنمونه‌ها و درنتیجه افزایش درصد ریزغده‌زایی کمک کند (de Matos *et al.,* 2020). تحقیقات نشان داده‌اند که pHهای مختلف می‌توانند تأثیرات متفاوتی بر روی رشد ریشه و تولید ریزغده‌ها داشته باشند. به‌عنوان مثال، pHهای پایین‌تر می‌توانند به افزایش جذب عناصر غذایی و بهبود رشد گیاه کمک کنند، درحالی‌که pHهای بالاتر ممکن است منجربه کاهش زنده‌مانی و رشد گردند (Yang *et al.,* 2018). علاوه بر pH، غلظت آگار نیز یکی دیگر از عوامل کلیدی در تهیه محیط‌های کشت درون شیشه‌ای است. غلظت‌های مختلف آگار می‌توانند بر ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی محیط تأثیر بگذارند (Kaur & Kumar, 2020). غلظت مناسب آگار می‌تواند به ایجاد یک محیط کشت مطلوب برای رشد ریزغده‌ها کمک کند و در نتیجه به بهبود زنده‌مانی و رشد آن‌ها منجر شود (Araujo *et al.,* 2016). به‌عنوان مثال، غلظت‌های بالای آگار ممکن است منجربه ایجاد محیطی بیش از حد سفت و غیرقابل نفوذ برای ریشه‌ها شوند، درحالی‌که غلظت‌های پایین‌تر می‌توانند به کاهش استحکام محیط کشت منجر شوند و درنتیجه تأثیر منفی بر رشد گیاه داشته باشند (Sorgato *et al.,* 2020). با توجه به اهمیت تولید ریزغده‌های عاری از ویروس و تأثیرات قابل توجه pH و غلظت آگار بر ریزغده‌زایی، این تحقیق به بررسی اثرات این دو عامل بر مراحل ریزغده‌زایی درون‌شیشه‌ای سیب‌زمینی رقم آگریا پرداخته است.

مواد و روش‌ها

محل انجام آزمایش

این پژوهش در آزمایشگاه کشت بافت گیاهی گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز انجام شد. برای انجام این آزمایش، از گیاهچه‌های درون شیشه‌ای عاری از ویروس سیب‌زمینی رقم آگریا، موجود در آزمایشگاه کشت بافت گیاهی استفاده گردید، که با تکثیر آن‌ها تعداد مناسبی از گیاهچه‌هایی که در شرایط فیزیولوژیکی و سن رشدی یکسانی بودند، به‌دست آمد (شکل ۱).



شکل ۱- نمونه‌ای از شاخساره‌های پرآوری شده
Figure 1. An example of proliferated shoots

محیط کشت ریزازدیادی

به‌منظور تکثیر ریزنمونه‌های درون‌شیشه‌ای سیب‌زمینی، از محیط کشت پایه MS همراه با ۴۰ گرم در لیتر ساکارز استفاده گردید. پس از تهیه محلول محیط کشت، ابتدا pH آن بین ۵/۵-۷/۸ تنظیم گردید و پس از آن مقدار هشت گرم در لیتر آگار به آن اضافه گردید. جهت تکثیر شاخساره‌های مورد استفاده در این آزمایش از هورمون و یا تنظیم‌کننده رشدی استفاده نشد. ریزنمونه‌های کشت‌شده تحت شرایط ۱۶ ساعت روشنایی و هشت ساعت تاریکی و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، طی مدت یک تا یک و نیم ماه شاخساره‌های مناسبی تولید کردند.

محیط کشت ریزغده‌زایی

برای تهیه محیط کشت ریزغده‌زایی از محیط کشت پایه MS (Murashige & Skoog, 1962) استفاده گردید. برای این منظور، از ۸۰ گرم در لیتر ساکارز استفاده شد. در این مورد نیز پس از تهیه محلول محیط کشت، ابتدا pH آن با استفاده از HCl و NaOH یک نرمال، روی مقادیر موردنظر تنظیم و سپس مقدار آگار موردنظر به آن اضافه شد. در مجموع، پنج سطح pH و سه غلظت آگار و یا جمعاً ۱۵ تیمار مختلف استفاده شد. برای تنظیم pH از دستگاه pH متر با دقت ۰/۰۱ (Hanna مدل pH211) استفاده گردید. از تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی در ترکیب محیط کشت ریزغده‌زایی استفاده نشد. محیط‌های کشت در هر دو آزمایش، پس از حل شدن آگار درون شیشه‌های ۱۵۰ میلی‌لیتری به‌طور یکنواخت پخش شدند، به‌طوری‌که هر شیشه تقریباً حاوی ۳۵ میلی‌لیتر محیط کشت بود (جدول ۱).

جدول ۱- تیمارهای آزمایش
Table 1. Experimental treatments

1: pH = 4 + Agar 6 (g l^{-1})	4: pH = 5 + Agar 6 (g l^{-1})	7: pH = 6 + Agar 6 (g l^{-1})	10: pH = 7 + Agar 6 (g l^{-1})	13: pH = 8 + Agar 6 (g l^{-1})
2: pH = 4 + Agar 8 (g l^{-1})	5: pH = 5 + Agar 8 (g l^{-1})	8: pH = 6 + Agar 8 (g l^{-1})	11: pH = 7 + Agar 8 (g l^{-1})	14: pH = 8 + Agar 8 (g l^{-1})
3: pH = 4 + Agar 10 (g l^{-1})	6: pH = 5 + Agar 10 (g l^{-1})	9: pH = 6 + Agar 10 (g l^{-1})	12: pH = 7 + Agar 10 (g l^{-1})	15: pH = 8 + Agar 10 (g l^{-1})

استریل کردن

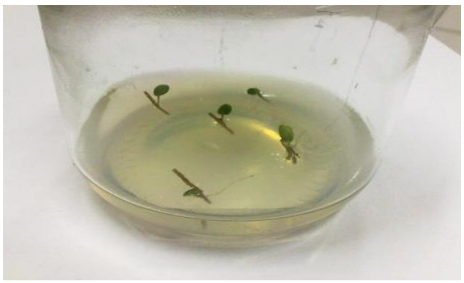
ظروف شیشه‌ای و لوازم غیر فلزی مورد استفاده در هنگام کشت و همچنین محیط‌های کشت به‌وسیله اتوکلاو (۲۰ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد) استریل شدند. ریزنمونه‌ها در

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-01]
[DOI: 10.66224/jcb.2026.1619]

زیر هود لامینار انتقال یافتند که ابتدا سطح آن با الکل ۷۰ درصد به‌خوبی تمیز شد و سپس به‌مدت ۳۰ دقیقه در معرض اشعه فرابنفش قرار گرفت. در حین انجام کار همواره دست‌ها و سطح کار با الکل ۷۰ درصد گندزدایی شدند.

ریزغده‌زایی

برای کشت، ابتدا گیاهچه‌ها از داخل ظروف کشت در زیر هود لامینار خارج شدند و سپس روی کاغذ صافی استریل شده قرار گرفتند. با استفاده از اسکالپل در زیر هود، قلمه‌های تک‌گره از وسط شاخساره به طول تقریبی یک سانتی‌متر تهیه شد. در مرحله بعد، ریزنمونه‌ها در محیط کشت حاوی تیمارهای مختلف به‌طور عمودی و با رعایت قطبیت قرار داده شدند و در شرایط تاریکی کامل با دمای ۲±۱۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (Khakpour *et al.,* 2015) (شکل ۲).



شکل ۲- شیشه‌های حاوی پنج ریزنمونه تک‌گره کشت شده جهت ریزغده‌زایی
Figure 2. Vials containing five single-node explants cultivated for microtuberization

صفات مورد ارزیابی

پس از گذشت دو ماه از تاریخ کاشت ریزنمونه‌ها، یادداشت‌برداری صفات انجام گردید. صفات مورد ارزیابی مانند تعداد نمونه زنده، تعداد شاخساره رشدکرده، تعداد غده، تعداد غده فاقد خواب و تعداد جوانه رشد کرده روی غده به روش شمارش، وزن غده و وزن شاخساره با ترازوی ۰/۰۰۱ و اندازه غده‌ها با کولیس مورد ارزیابی قرار گرفتند. با استفاده از داده‌های یادداشت‌برداری شده، پارامترهای مختلفی جهت بررسی اثر تیمارهای اعمال شده مورد محاسبه قرار گرفتند. درصد زنده‌مانی ریزنمونه‌ها (تعداد ریزنمونه زنده تقسیم بر تعداد نمونه کشت شده) (رابطه ۱)، درصد غده‌زایی (تعداد نمونه دارای غده تقسیم بر تعداد نمونه زنده) (رابطه ۲)، اندازه غده‌ها (میانگین طول، عرض و وزن غده‌های تولید شده) و درصد غده‌های فاقد خواب (تعداد غده‌هایی که جوانه رشد کرده داشتند تقسیم بر تعداد کل غده‌ها) (رابطه ۳) ازجمله پارامترهای مورد محاسبه بودند که با آنالیز آن‌ها، نحوه عملکرد تیمارهای اعمال شده مورد ارزیابی قرار گرفت.

رابطه (۱)

$$\text{درصد زنده مانی ریزنمونه ها} = \frac{\text{تعداد ریزنمونه های زنده}}{\text{تعداد کل ریزنمونه های کشت شده}} \times 100$$

رابطه (۲)

$$\text{درصد غده‌زایی} = \frac{\text{تعداد نمونه دارای غده}}{\text{تعداد کل نمونه زنده}} \times 100$$

رابطه (۳)

$$\text{درصد غده های فاقد خواب} = \frac{\text{تعداد غده های دارای جوانه رشد}}{\text{تعداد کل غده ها}} \times 100$$

تجزیه و تحلیل آماری

با بررسی داده‌های درصدی از نظر توزیع نرمال، همگنی واریانس و ارتباط میانگین‌ها و واریانس‌ها، مفروضات تجزیه واریانس برقرار بودند و نیازی به تبدیل داده نبود. این پژوهش به‌صورت آزمایش فاکتوریل با دو فاکتور در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار (شامل پنج ریزنمونه در هر شیشه) انجام شد. آنالیز آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS V.19 انجام گرفت و مقایسه میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام شد. کلیه نمودارها به‌وسیله نرم‌افزار Excel رسم گردیدند.

نتایج و بحث

رشد و ریزغده‌زایی

پس از گذشت کمتر از یک هفته از کشت ریزنمونه‌ها و سپری شدن زمان لازم جهت استقرار آن‌ها، جوانه‌های روی قطعات ساقه کشت شده، رشد خود را شروع کردند. در بهترین حالت، القای مستقیم ریزغده انجام می‌شود. به این صورت، جوانه متورم شده، رنگ آن متمایل به سفید تا کرم رنگ می‌گردد، اما اندازه آن به بیشتر از دو میلی‌متر نمی‌رسد. در این حالت، فرم آن اصطلاحاً به انتهای سوزن ته‌گرد تشبیه می‌شود. بسته به تیمارهای اعمال شده برای ریزغده‌زایی، شرایط رشد و قدرت ریزنمونه، القای ریزغده ممکن است از یک روز پس از کشت تا چندین روز پس از آن طول بکشد (Mohamed & Girgis, 2023). پس از القای ریزغده، با ادامه رشد و رسیدن به حداقل اندازه دو میلی‌متر در طول و عرض، ریزغده سیب‌زمینی تشکیل می‌شود. ریزغده‌ها تمام ساختارهای غده سیب‌زمینی را دارند (اعم از پوست، شکل غده و چشم‌ها) (Dalleh *et al.,* 2023). گاهی اندازه یک القا به بیش از دو میلی‌متر می‌رسد، ولی ریزغده‌ای تشکیل نشده است، زیرا ساختارهای آن به‌وجود نیامده‌اند. پس از تشکیل، ریزغده‌ها می‌توانند به رشد خود ادامه دهند و اندازه بزرگتری پیدا کنند. همچنین، این ریزغده‌های درون‌شیشه‌ای ممکن است دارای خواب و یا فاقد آن باشند که در این صورت جوانه‌های روی آن‌ها نیز شروع به رشد می‌کنند (Astarini *et al.,* 2021). در برخی موارد، القای انجام‌شده تبدیل به ریزغده نمی‌شود. در این حالت، ممکن است القا به‌همان صورت باقی بماند و رشد نکند و یا این‌که مسیر رشد آن از غده‌زایی به‌سمت رشد شاخساره منحرف و شاخساره تولید شود. در دیگر شرایط، جوانه آماده به رشد از همان ابتدا به‌جای القای ریزغده، مستقیماً تولید شاخساره می‌کند. در هر حالت، این شاخساره‌ها ممکن است بسته به

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-01]
[DOI: 10.66224/jcb.2026.1619]

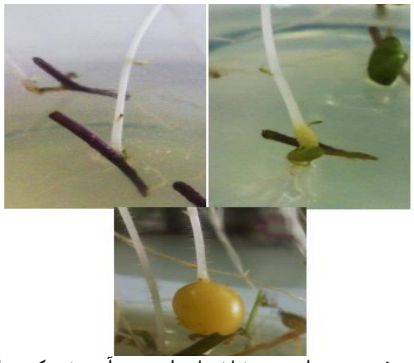
شرایط محیط کشت به‌صورت تک‌شاخه و یا چندشاخه و با اندازه‌های متفاوتی رشد کنند، اما در کل رشد شاخساره برای هدف این آزمایش مطلوب نیست. خصوصاً در این آزمایش، به‌دلیل قرارگرفتن ریزنمونه‌ها در شرایط تاریکی مطلق، شاخساره‌های رشدیافته کامل اتیوله شده، گره‌ها مخفی و فاقد برگ بودند و فرمی استولون‌مانند داشتند. ممکن است بر روی این شاخساره‌های استولون‌مانند، القا و تشکیل ریزغده جانبی رخ دهد. این ریزغده‌ها هیچ تفاوتی با ریزغده‌هایی که مستقیماً تشکیل می‌شوند ندارند. تولید ریزغده جانبی روی شاخساره‌های حاصل از رشد جوانه‌های روی ریزغده‌های فاقد خواب نیز ممکن است صورت پذیرد (El-Sawy *et al.,* 2015). در حالت کلی، بسته به شرایط محیط کشت و ریزنمونه‌های مورد استفاده، ممکن است تعداد ریزنمونه‌های جانبی زیاد باشد و یا به‌صورت نادر تشکیل شوند (Khalil *et al.,* 2017). نتایج به‌دست آمده از این تحقیق نشان می‌دهند که پس از کشت ریزنمونه‌ها، مراحل اولیه رشد جوانه‌ها و القای ریزغده به‌سرعت و به‌طور مؤثری آغاز می‌شود. این نشان‌دهنده پتانسیل بالای ریزنمونه‌های استفاده شده در این تحقیق برای تولید ریزغده‌های با کیفیت است (Mohapatra & Batra, 2017). در بهترین حالت، القای مستقیم ریزغده طی چند روز ابتدایی پس از کشت انجام می‌شود و این امر به رشد و توسعه سریع جوانه‌ها وابسته است. رنگ متورم شدن جوانه‌ها که متمایل به سفید تا کرم رنگ است، به‌عنوان نشانه‌ای از فعالیت متابولیکی و شروع فرایند ریزغده‌زایی تلقی می‌شود (Araujo *et al.,* 2016). با این‌حال، اندازه جوانه‌ها که به بیشتر از دو میلی‌متر نمی‌رسد، به ما نشان می‌دهد که در این مرحله هنوز ساختارهای غده‌ای به‌طور کامل شکل نگرفته‌اند. در شرایط مطلوب، ریزغده‌ها باید تمامی ساختارهای غده سیب‌زمینی، شامل پوست، شکل غده و چشم‌ها را داشته باشند (de Matos *et al.,* 2020). این موضوع نشان‌دهنده اهمیت شرایط کشت و نوع تیمارهای اعمال شده در فرایند ریزغده‌زایی است. نکته حائز اهمیت دیگر این است که هرچند برخی جوانه‌ها به اندازه‌ای بیش از دو میلی‌متر می‌رسند، اما ممکن است هنوز به‌صورت ریزغده تشکیل نشده باشند. این مسئله می‌تواند به عدم توسعه ساختارهای غده‌ای نسبت داده شود و نشان‌دهنده پیچیدگی‌های فرایند ریزغده‌زایی باشد (Yang *et al.,* 2018). همچنین، تشکیل ریزغده‌ها می‌تواند تحت تأثیر خواب یا عدم خواب آن‌ها قرار گیرد. اگر ریزغده‌ها خواب داشته باشند، جوانه‌های روی آن‌ها ممکن است به رشد خود ادامه دهند و در غیر این‌صورت، ممکن است عدم وجود خواب باعث رشد جوانه‌ها شود (Borna *et al.,* 2019). در برخی موارد، القای ریزغده به‌درستی انجام نمی‌شود و جوانه‌ها یا به‌همان صورت باقی می‌مانند و رشد نمی‌کنند، یا مسیر رشد آن‌ها به‌سمت تولید شاخساره منحرف می‌شود. این انحراف ممکن است به‌دلیل شرایط محیط کشت، نوع تیمارهای هورمونی و یا ویژگی‌های ژنتیکی ریزنمونه‌ها باشد (Munthali *et al.,* 2022). تولید شاخساره به‌جای ریزغده در این شرایط، به‌دلیل قرارگرفتن ریزنمونه‌ها در تاریکی مطلق، منجر به رشد اتیوله شده و ایجاد فرم استولون‌مانند می‌شود. این فرم رشد می‌تواند مانع از تولید ریزغده‌های با کیفیت شود و هدف اصلی آزمایش را تحت تأثیر قرار دهد (Sorgato *et al.,* 2020). علاوه بر این، در شرایط خاص، القای ریزغده جانبی بر روی شاخساره‌های استولون‌مانند نیز ممکن است رخ دهد. این ریزغده‌ها از نظر ساختاری مشابه ریزغده‌های اصلی هستند و می‌توانند به‌عنوان یک منبع اضافی برای تولید ریزغده‌ها درنظر گرفته شوند. با این حال، تعداد و کیفیت این ریزغده‌های جانبی به شرایط محیط کشت و نوع ریزنمونه‌ها بستگی دارد (Ramadhani, 2025).



شکل ۳- ریزغده تشکیل شده به‌صورت مستقیم
Figure 3. Directly formed microtubers

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-01]

[DOI: 10.66224/jcb.2026.1619]



شکل ۴- سمت راست بالا، القا که تبدیل به ریزغده نشده است و شاخساره از روی آن رشد کرده است. سمت چپ بالا، رشد شاخساره مستقیم از روی جوانه. پایین، شاخساره رشدیافته روی ریزغده فاقد خواب بذر

Figure 4. Top Right: Induction that has not transformed into a microtuber, with shoots developing directly from it. Top Left: Direct shoot growth emerging from the bud. Bottom: Developed shoots growing on a microtuber that lacks dormancy



شکل ۵- تشکیل ریزغده روی شاخساره‌های استولون مانند

Figure 5. Formation of Microtubers on Stolon-like Shoots

زنده‌مانی ریزنمونه‌ها

در تمام تیمارهای اعمال‌شده در این آزمایش، ریزنمونه‌ها زنده ماندند و به رشد خود ادامه دادند. طبق داده‌های به‌دست آمده، در هیچ‌کدام از تیمارها درصد زنده‌مانی کمتر از ۵۰ درصد نبود و در تعداد زیادی از آن‌ها ۱۰۰ درصد زنده‌مانی و رشد دیده شد (Mohamed & Girgis, 2023). این مطلب بیان می‌کند که گیاه سیب‌زمینی به دامنه وسیعی از pH و غلظت‌های مختلف آگار محیط کشت مقاوم است. در مجموع، می‌توان گفت که سیب‌زمینی در محیط‌های خیلی نرم تا خیلی سفت (محیط‌هایی با پتانسیل ماتریک مختلف) قادر به رشد است (Khalil *et al.*, 2017). همچنین، پدیده پرآبی (شیشه‌ای شدن) در هیچ‌یک از محیط‌های کشت دیده نشد که نشان‌دهنده مقاومت ریزنمونه‌ها به این مشکل است. این موضوع نشان می‌دهد که ریزنمونه‌ها توانایی حفظ وضعیت مطلوب رشد در شرایط مختلف را دارند (Astarini *et al.*, 2021). هرچند که در تمام محیط‌ها زنده‌مانی و رشد مشاهده شد، اما نتایج تجزیه واریانس نشان دادند که اثر مقدار pH و غلظت‌های مختلف آگار بر زنده‌مانی ریزنمونه‌ها در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (de Matos *et al.*, 2020).

با این‌حال، اثر متقابل pH و غلظت آگار بر زنده‌مانی ریزنمونه‌ها معنی‌دار نبود. این یافته‌ها بیانگر این موضوع هستند که سیب‌زمینی در محیط‌های کشت با ویژگی‌های فیزیکی متفاوت، توانایی رشد و توسعه را دارد. از دیگر نکات مهم در این تحقیق، عدم مشاهده پدیده پرآبی در محیط‌های کشت است. این نشان‌دهنده موفقیت در مدیریت شرایط کشت و توانایی ریزنمونه‌ها در حفظ وضعیت مطلوب رشد در شرایط مختلف است (Mohapatra *et al.*, 2018). پرآبی معمولاً می‌تواند منجر به آسیب به ریزنمونه‌ها و کاهش زنده‌مانی آن‌ها شود؛ بنابر این، عدم وقوع این پدیده در آزمایش حاضر، نشانه موفقیت در مدیریت شرایط کشت است. نتایج تجزیه و تحلیل واریانس تأثیر معنی‌دار pH و غلظت‌های مختلف آگار بر زنده‌مانی ریزنمونه‌ها را در سطح احتمال یک درصد نشان می‌دهند (جدول ۲). این یافته‌ها به اهمیت بهینه‌سازی شرایط محیط کشت در جهت افزایش زنده‌مانی و رشد ریزنمونه‌ها اشاره دارند (Araujo *et al.*, 2016). به‌طور خاص، pH و غلظت آگار به‌عنوان دو عامل کلیدی در تعیین ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی محیط کشت شناخته می‌شوند و می‌توانند تأثیرات عمیقی بر فرایندهای متابولیکی و رشد گیاهان داشته باشند (Yang *et al.*, 2018). از سوی دیگر، اثر متقابل pH و غلظت آگار بر زنده‌مانی ریزنمونه‌ها معنی‌دار نبود. این موضوع نشان می‌دهد که اگرچه هریک از این عوامل به‌تنهایی می‌تواند بر زنده‌مانی تأثیرگذار باشد، اما ترکیب آن‌ها تأثیر مستقل و قابل‌توجهی بر زنده‌مانی ندارد (Ramadhani, 2025). نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها مشخص کردند که pH متعادل (pH برابر پنج تا شش) می‌تواند موجب افزایش زنده‌مانی ریزنمونه‌ها شود و این کاهش در pHهای بالاتر (برابر با هشت) بیشتر بود. همچنین، غلظت بالای آگار (۱۰ گرم بر لیتر) نیز موجب کاهش درصد زنده‌مانی ریزنمونه گردید (شکل ۶ و ۷).

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-01]

[DOI: 10.66224/jcb.2026.1619]

کاهش زنده‌مانی ریزنمونه در محیط‌های سفت‌تر، ممکن است به عدم تشکیل ریشه مناسب در این محیط‌ها مربوط باشد. هر چند که در این آزمایش ریشه‌زایی ریزنمونه‌ها مورد بررسی قرار نگرفت، اما در محیط‌های سفت‌تر (pH بالا و یا غلظت آگار زیاد) ریشه‌زایی کمتری دیده شد. نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها نشان می‌دهند که pH متعادل (بین پنج تا شش) تأثیر مثبت‌تری بر زنده‌مانی ریزنمونه‌ها دارد، درحالی‌که افزایش pH به بالاتر از هشت منجربه کاهش قابل‌توجهی در درصد زنده‌مانی ریزنمونه‌ها می‌شود (Golestan Province, 2011). این یافته‌ها به اهمیت حفظ pH مناسب در محیط کشت اشاره دارند، چراکه pH خارج از محدوده بهینه می‌تواند بر فرایندهای متابولیکی گیاهان تأثیر منفی بگذارد. pH بالا معمولاً می‌تواند جذب مواد مغذی را مختل کند و باعث اختلال در فعالیت آنزیم‌ها شود، که درنهایت منجر به کاهش زنده‌مانی و رشد ریزنمونه‌ها می‌شود. علاوه بر این، نتایج تحقیق نشان می‌دهند که غلظت بالای آگار (۱۰ گرم بر لیتر) نیز به کاهش درصد زنده‌مانی ریزنمونه‌ها منجر شده است (Sorgato *et al.*, 2020). این موضوع می‌تواند به‌دلیل سفتی بیش از حد محیط کشت باشد که مانع از تشکیل ریشه‌های مناسب در ریزنمونه‌ها می‌شود. هرچند که در این آزمایش به‌طور مستقیم به بررسی ریشه‌زایی ریزنمونه‌ها پرداخته نشده است، اما مشاهده کاهش ریشه‌زایی در محیط‌های سفت‌تر (که دارای pH بالا یا غلظت آگار زیاد هستند) نشان‌دهنده ارتباط مستقیم بین شرایط فیزیکی محیط کشت و توانایی ریشه‌زایی ریزنمونه‌ها است. ریشه‌زایی یکی از مراحل حیاتی در کشت بافت است که به رشد و توسعه ریزنمونه‌ها کمک می‌کند (Munthali *et al.*, 2022). عدم تشکیل ریشه مناسب در محیط‌های سفت می‌تواند به عدم تأمین آب و مواد مغذی لازم برای رشد ریزنمونه‌ها منجر شود، که در نتیجه به کاهش زنده‌مانی آن‌ها می‌انجامد؛ بنابراین، بهینه‌سازی شرایط محیط کشت به‌منظور تسهیل ریشه‌زایی و بهبود زنده‌مانی ریزنمونه‌ها ضروری است (شکل ۶ و ۷).

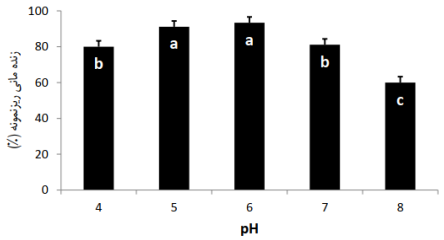
جدول ۲- تجزیه واریانس اثر pH و آگار بر ریزغده‌زایی درون شیشه‌ای سیب‌زمینی

Table 2. ANOVA for the effects of pH and agar on the in vitro tuberization of potatos

منبع تغییرات (Source of variation)	درجه آزادی (Degree of freedom)	میانگین مربعات (Mean squares) ریزغده فاقد خواب بذر (Dormancy-free microtuber)	وزن ریزغده (Microtuber weight)	عرض ریزغده (Microtuber diameter)	طول ریزغده (Microtuber length)	وزن شاخساره (Shoot weight)	ریزغده‌زایی (Microtuber formation)	زنده‌مانی ریزنمونه (Viability of explant)
pH	4	1020.7**	711.6**	9.8**	9**	3064.2**	11399**	6266.7**
Agar	2	1002.1**	51.6*	0.1^{ns}	0.2^{ns}	82.5^{ns}	32^{ns}	1097.8**
pH*Agar	8	6276.9**	47.7^{ns}	4.9ns	2.4^{ns}	153.8^{ns}	1614.1*	1013.3^{ns}
Erorr	30	245.8	19.3	2.7	0.97	72.9	301.02	286.6
C.V. (%)	-	22.61	31.9	39.3	21.7	29.7	28.91	21.13

**، * و ^{ns} به‌ترتیب معنی‌داری در سطوح احتمال ۱٪، ۵٪ و غیر معنی‌دار

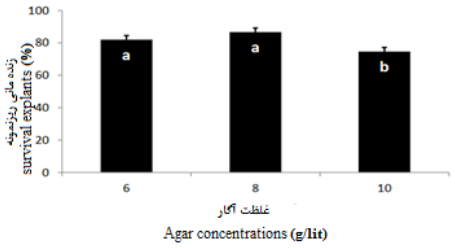
*, **, and ns indicate significance levels of 1%, 5%, and non-significant, respectively.



شکل ۶- متوسط درصد زنده‌مانی ریزنمونه‌ها در مقادیر مختلف pH

شاخص بالای هر ستون نشان‌دهنده انحراف معیار است. تیمارهای دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی‌داری با یکدیگر در آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

Figure 6. Average survival percentage of explants at different pH levels. The index at the top of each column represents the standard deviation. Treatments that share at least one common letter do not show a significant difference from each other in the Duncan test at the five percent significance level.



شکل ۷- متوسط درصد زنده‌مانی ریزنمونه‌ها در غلظت‌های مختلف آگار

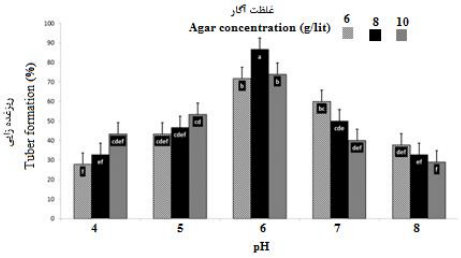
شاخص بالای هر ستون نشان‌دهنده انحراف معیار است. تیمارهای دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی‌داری با یکدیگر در آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

Figure 7. Average survival percentage of explants at different agar concentrations
The index at the top of each column represents the standard deviation. Treatments that share at least one common letter do not show a significant difference from each other in the Duncan test at the five percent significance level.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-01]
[DOI: 10.66224/jcb.2026.1619]

ریزغده‌زایی

نتایج به‌دست آمده از این تحقیق نشان‌دهنده موفقیت ریزغده‌زایی در تمامی تیمارهای مورد آزمایش بودند. اثر pH در سطح احتمال یک درصد و اثر متقابل pH و آگار در سطح احتمال پنج درصد بر ریزغده‌زایی درون‌شیشه‌ای (جدول ۳)، معنی‌دار بودند و می‌توان نتیجه گرفت که این دو عامل، نقش مؤثری در فرایند ریزغده‌زایی داشتند (Mohamed & Girgis, 2023). این یافته‌ها نشان‌دهنده حساسیت بالای ریزنمونه‌های سیب‌زمینی به شرایط محیطی هستند و تأکید می‌کنند که بهینه‌سازی pH و غلظت آگار می‌توانند تأثیر قابل توجهی بر تولید ریزغده‌ها داشته باشند (Mishra, 2011). تیمار شاهد (مقدار pH برابر شش و غلظت هشت گرم در لیتر آگار) با ۸۶ درصد ریزغده‌زایی، بالاترین میزان تولید ریزغده را نشان داد. این موضوع نشان‌دهنده اهمیت pH بهینه (در این مورد pH برابر شش) در تسهیل فرایند ریزغده‌زایی است (Uranbey *et al.,* 2004). مطابق با نتایج، هرگونه تغییر در این شرایط (بالا یا پایین رفتن از pH برابر شش یا تغییر غلظت آگار) منجر به کاهش تولید ریزغده می‌شود. این یافته‌ها با پژوهش‌های قبلی که نشان‌دهنده تأثیر مثبت pH متعادل بر رشد و توسعه گیاهان هستند، همخوانی دارند (Dalleh *et al.,* 2023). علاوه بر این، نتایج نشان دادند که ریزغده‌زایی در pH برابر شش به‌طور معنی‌داری بیشتر از سایر مقادیر pH بود. این نشان‌دهنده این است که شرایط اسیدیته مناسب می‌توانند به فرایندهای متابولیکی گیاه کمک و رشد و توسعه ریزغده‌ها را تسهیل کنند (Yang *et al.,* 2018). با افزایش یا کاهش pH، درصد ریزغده‌زایی کاهش یافت و کمترین ریزغده‌زایی در تیمارهای حد نهایت (pH برابر هشت و آگار با غلظت ۱۰ گرم در لیتر و pH برابر چهار و آگار با غلظت شش گرم در لیتر) به‌میزان تقریبی ۲۰ درصد مشاهده شد (شکل ۸ و ۹). این نتایج تأکید می‌کنند که هر دو عاملی که باید در طراحی محیط کشت درنظر گرفته شوند، pH و غلظت آگار هستند (de Matos *et al.,* 2020). از طرف دیگر، نتایج نشان دادند که غلظت‌های مختلف آگار به تنهایی تأثیر معنی‌داری بر ریزغده‌زایی نداشتند. این امر ممکن است به این دلیل باشد که غلظت‌های آگار در محدوده‌های مورد آزمایش به اندازه کافی مناسب بودند و تأثیر آن‌ها بر ریزغده‌زایی تحت‌تأثیر pH قرار گرفت (Ramadhani, 2025). در واقع، ممکن است که pH به‌عنوان عامل غالب بر فرایند ریزغده‌زایی عمل کند و غلظت آگار به‌تنهایی نتواند تأثیر قابل‌توجهی بر این فرایند داشته باشد. با توجه به این‌که مهمترین اثر pH نامناسب در برهم زدن حلالیت و جذب مواد غذایی محیط کشت است و این‌که مقدار موادغذایی محیط کشت بر ریزغده‌زایی اثر دارد، می‌توان کاهش تولید ریزغده در pHهای نامناسب را به عدم جذب مطلوب موادغذایی نسبت داد (Uranbey *et al.,* 2004). از طرف دیگر، در pHهای پایین (شش)، ریزغده‌زایی در غلظت‌های بالای آگار (هشت گرم بر لیتر) بیشتر بود و بالعکس در pHهای بالا، غلظت‌های کمتر آگار ریزغده‌زایی بهتری داشتند؛ بنابر این، می‌توان این نتیجه را گرفت که پتانسیل آب محیط کشت هم در ریزغده‌زایی مؤثر است (Sorgato *et al.,* 2020). در حقیقت، با سفت شدن زیاد محیط کشت و یا شل شدن زیاد آن، ریزغده‌زایی کاهش می‌یابد.



شکل ۸- متوسط درصد ریزغده‌زایی در مقادیر مختلف pH و غلظت‌های مختلف آگار
شاخص بالای هر ستون نشان‌دهنده انحراف معیار است. تیمارهای دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی‌داری با یکدیگر در آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

Figure 8. Average percentage of tuber formation at different pH levels and agar concentrations
The index at the top of each column represents the standard deviation. Treatments that share at least one common letter do not show a significant difference from each other in the Duncan test at the five percent significance level.

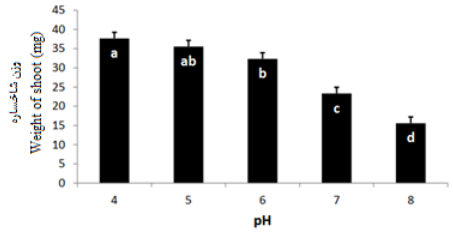


شکل ۹- نمونه‌ای از ریزغده‌های تولید شده
Figure 9. Samples of produced tubers

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-01]
[DOI: 10.66224/jcb.2026.1619]

وزن شاخساره

در این آزمایش، مشاهده شد که اگر جوانه‌ای مستقیماً تولید ریزغده نکند، به‌جای آن رشد رویشی خواهد داشت. به‌دلیل شرایط خاص آزمایش که شامل تاریکی مداوم است، درصد رشد شاخساره مستقیم به‌عنوان یک فاکتور مناسب برای تعیین تأثیر تیمارها بر پرآوری شاخساره به‌شمار نمی‌آید. از این‌رو، اندازه‌گیری وزن شاخساره‌های رشد کرده، به‌عنوان معیاری از تأثیرات تیمارها انتخاب شد. نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثر pH بر وزن شاخساره در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود، این در حالی است که اثر غلظت‌های مختلف آگار و اثر متقابل pH و آگار معنی‌دار نبودند (جدول ۲). میانگین وزن شاخساره در pHهای پایین (چهار و پنج) بیشتر بود، درحالی‌که با افزایش pH، وزن شاخساره کاهش یافت. این نتایج نشان می‌دهند که رشد شاخه جانبی در pHهای بالاتر کاهش می‌یابد (Dalleh *et al.,* 2023). این یافته‌ها با تحقیقات پیشین که نشان می‌دهند مناسب‌ترین pH برای رشد شاخساره بین پنج تا شش است، همخوانی دارند. در مقادیر بالاتر یا پایین‌تر از این محدوده، رشد شاخساره به‌طور قابل‌توجهی کاهش می‌یابد. کاهش رشد در pHهای نامناسب ممکن است به‌دلیل عدم فراهم بودن مواد غذایی لازم برای رشد شاخساره باشد. علاوه بر این، به‌دلیل عدم وجود نور در این آزمایش، شاخساره‌ها اتیوله شدند و رشد ناقصی داشتند. این شرایط می‌توانند منجربه کاهش نیاز شاخساره‌ها به مواد غذایی نسبت به حالت رشد طبیعی شوند (Yang *et al.,* 2018)؛ بنابر این، شاخساره‌های اتیوله شده به‌دلیل محدودیت‌های محیطی ممکن است کمتر به موادمغذی نیاز داشته باشند. در pH برابر چهار، محیط کشت به‌خوبی سفت نمی‌شود و حالت نیمه‌جامد دارد، به این معنا که آب به‌راحتی در اختیار ریزنمونه‌ها قرار می‌گیرد (de Matos *et al.,* 2020). به‌همین دلیل، وزن بالای شاخساره‌ها در pH برابر چهار ممکن است به‌دلیل جذب زیاد آب باشد. این جذب آب می‌تواند به افزایش وزن شاخساره‌ها کمک کند، حتی اگر رشد آن‌ها به‌طور کامل بهینه نباشد. علاوه بر این، در pHهای خیلی پایین، بخش زیادی از ساکارز موجود در محیط کشت به قندهای ساده (فروکتوز و گلوکوز) تجزیه می‌شود (Mohapatra & Batra, 2017). سرعت جذب این قندها بیشتر از ساکارز است و ممکن است دلیل دیگری برای وزن بالای شاخساره‌ها در pH برابر چهار باشد. این قندهای ساده می‌توانند به‌عنوان منبع سریع انرژی برای رشد شاخساره‌ها عمل کنند و درنتیجه منجر به افزایش وزن آن‌ها شوند (Sharma *et al.,* 2018).



شکل ۱۰- میانگین وزن شاخساره در سطوح مختلف pH
شاخص بالای هر ستون نشان‌دهنده انحراف معیار است. تیمارهای دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی‌داری با یکدیگر در آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد ندارند.
Figure 10. Mean weight of shoots at different levels of pH
The index at the top of each column represents the standard deviation. Treatments that share at least one common letter do not show a significant difference from each other in the Duncan test at the five percent significance level.

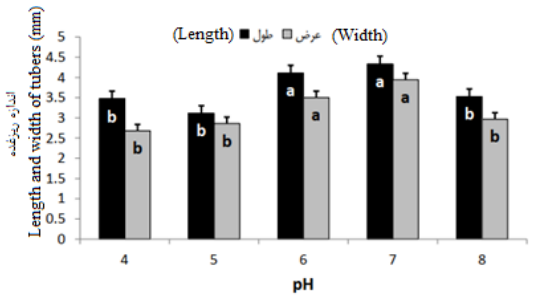
اندازه ریزغده

اندازه ریزغده حداقل باید دو میلی‌متر باشد، اما ریزغده‌ها می‌توانند طی دو ماه بیش از پنج میلی‌متر رشد داشته باشند. مشخص شده است که ریزغده‌های درشت‌تر از عمر انباری بیشتری برخوردارند (Dalleh *et al.,* 2023). ریزنمونه‌های این آزمایش گاهی تا هفت میلی‌متر طول و شش میلی‌متر عرض داشتند. طبق نتایج به‌دست آمده، اثر pH بر طول و عرض ریزغده‌ها در سطح یک درصد معنی‌دار بود، ولی سایر اثرات معنی‌دار نشدند (جدول ۲). مقایسه میانگین‌ها مشخص کرد که در pHهای شش و هفت، طول و عرض ریزغده‌ها بیشتر بوده و ریزغده‌های درشت‌تری تولید شد (شکل ۱۱ و شکل ۱۲). همچنین مشخص شده است که نوع منبع کربن مورد استفاده برای تولید ریزغده مهم است و بهترین منبع کربن برای این منظور ساکارز معرفی شده است (Mohapatra *et al.,* 2018). از این‌رو، کاهش اندازه ریزغده‌ها در pHهای پایین می‌تواند مربوط به تجزیه ساکارز در این شرایط باشد. در تمام تیمارها، طول ریزغده‌ها اندکی از عرض آن‌ها بیشتر است و درحقیقت ریزغده‌های تولید شده در این آزمایش فرم کلی غده سیب‌زمینی را دارا بودند (Ovono *et al.,* 2010)؛ بنابر این، مقدار pH و غلظت آگار محیط کشت بر شکل ریزغده تأثیری نمی‌گذارد. این یافته‌ها همچنین به اهمیت بهینه‌سازی شرایط کشت برای تولید ریزغده‌های با کیفیت و اندازه مناسب اشاره دارند (Shi *et al.,* 2017).

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-01]
[DOI: 10.66224/jcb.2026.1619]



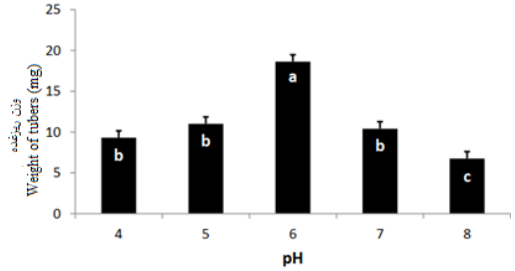
شکل ۱۱- اندازه‌های مختلف ریزغده
Figure 11. Different sizes of tubers



شکل ۱۲- میانگین طول و عرض ریزغده در مقادیر مختلف pH
شاخص بالای هر ستون نشان‌دهنده انحراف معیار است. تیمارهای دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی‌داری با یکدیگر در آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد ندارند.
Figure 12. Mean length and width of tubers at different pH levels
The index at the top of each column represents the standard deviation. Treatments that share at least one common letter do not show a significant difference from each other in the Duncan test at the five percent significance level.

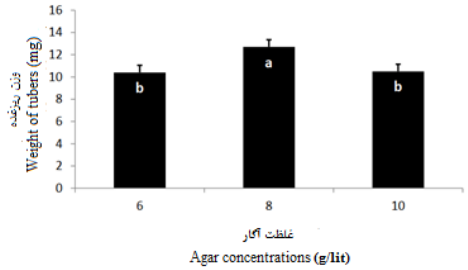
وزن ریزغده

نتایج به‌دست آمده نشان دادند که pH محیط کشت و غلظت آگار آن بر وزن ریزغده تأثیر داشت. اثر مقدار pH در سطح احتمال یک درصد و غلظت آگار در سطح احتمال پنج درصد بر وزن ریزغده معنی‌دار بود، هرچند که اثر متقابل این دو عامل معنی‌دار نشد (جدول ۲). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که در pH برابر شش، ریزغده‌های درشت‌تری تشکیل می‌شوند. با تغییر pH، وزن ریزغده‌ها کمتر شده و در pH برابر هشت، کمترین وزن ریزغده مشاهده شد (شکل ۱۳). همچنین در غلظت هشت گرم بر لیتر آگار، وزن ریزغده‌ها بیشتر از غلظت‌های شش و ۱۰ گرم در لیتر بود (شکل ۱۴). این نتایج بیانگر این مطلب است که مهمترین عامل در افزایش وزن ریزغده، در دسترس بودن مواد غذایی است، زیرا با تغییر pH استاندارد، وزن ریزغده‌ها کم شد (Kaur & Kumar, 2020). همچنین کمترشدن وزن ریزغده‌ها با پایین رفتن pH، درحالی‌که پتانسیل آب محیط کشت بیشتر می‌شود، می‌تواند به‌دلیل تجزیه ساکارز باشد، زیرا غلظت ساکارز برای رشد ریزغده از اهمیت خاصی برخوردار است (Mohapatra *et al.*, 2018). کم‌شدن وزن ریزغده در غلظت کم آگار، در حالی‌که سختی ژل محیط کشت کم شده است و جذب آب از آن راحت‌تر است، نشان می‌دهد که وزن ریزغده ارتباط زیادی با جذب آب ندارد. در واقع، این یافته‌ها نشان می‌دهند که صرفاً عوامل فیزیکی مانند جذب آب نمی‌توانند به‌تنهایی بر وزن ریزغده‌ها تأثیر بگذارند، بلکه کیفیت و دسترسی به مواد مغذی در محیط کشت از اهمیت بالایی برخوردار است (Astarini *et al.*, 2021).



شکل ۱۳- میانگین وزن ریزغده در مقادیر مختلف pH
شاخص بالای هر ستون نشان‌دهنده انحراف معیار است. تیمارهای دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی‌داری با یکدیگر در آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد ندارند.
Figure 13. Mean weight of tubers at different pH levels
The index at the top of each column represents the standard deviation. Treatments that share at least one common letter do not show a significant difference from each other in the Duncan test at the five percent significance level.

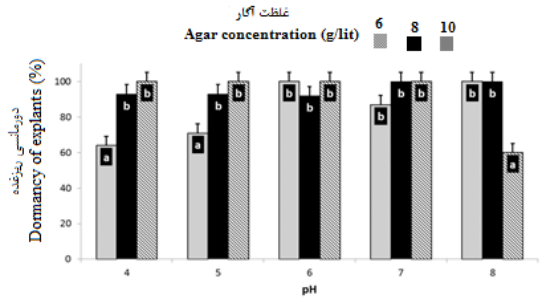
[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-01]
[DOI: 10.66224/jcb.2026.1619]



شکل ۱۴- میانگین وزن ریزغده در غلظت‌های مختلف آگار
شاخص بالای هر ستون نشان‌دهنده انحراف معیار است. تیمارهای دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی‌داری با یکدیگر در آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد ندارند.
Figure 14. Mean weight of tubers at different agar concentrations
The index at the top of each column represents the standard deviation. Treatments that share at least one common letter do not show a significant difference from each other in the Duncan test at the five percent significance level.

خواب بذر ریزغده‌ها

نتایج این تحقیق نشان دادند که درصد بسیار کمی از ریزغده‌های تولید شده در این آزمایش دارای خواب بذر بودند و در بهترین شرایط، تنها حدود ۲۵ درصد خواب بذر در ریزغده‌ها مشاهده شد. این میزان پایین خواب بذر می‌تواند به‌ویژه به‌دلیل شرایط خاص محیط کشت و نوع تیمارهای اعمال شده باشد (Bolandi *et al.,* 2011). با وجود این، نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان دادند که اثر عوامل مورد آزمایش بر روی همین اختلافات اندک، معنی‌دار بود (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین‌ها حاکی از آن بودند که تیمارهای pH برابر چهار و شش، و غلظت‌های شش گرم بر لیتر آگار، pH برابر پنج و شش گرم بر لیتر آگار و pH برابر هشت و ۱۰ گرم بر لیتر آگار، خواب بذر بیشتری درمقایسه با سایر تیمارها داشتند (شکل ۱۵). این یافته‌ها نشان می‌دهند که شرایط محیط کشت و غلظت‌های آگار به‌طور معنی‌داری بر وضعیت خواب بذر ریزغده‌ها تأثیر دارند. به‌نظر می‌رسد که ریزغده‌های تولید شده در محیط‌هایی که شرایط طبیعی محیط کشت خیلی تغییریافته بودند، به‌دلیل به‌وجود آمدن اختلالات غذایی و هورمونی، خواب بذر بیشتری نشان دادند. این اختلالات می‌توانند ناشی از عدم تعادل در مواد مغذی و هورمون‌های گیاهی باشند که برای رشد و توسعه ریزغده‌ها ضروری هستند (Dobránszki *et al.,* 2008). در واقع، pH نامناسب و غلظت‌های غیربهینه آگار می‌توانند به اختلال در جذب مواد مغذی و تولید هورمون‌های گیاهی منجر شوند و درنتیجه، ریزغده‌ها به حالت خواب دچار می‌شوند. از سوی دیگر، خواب بذر بالای ریزغده‌ها به‌عنوان یک پاسخ حفاظتی به شرایط محیطی نامناسب تلقی می‌شود. در واقع، ریزغده‌ها ممکن است به‌منظور حفظ خود در برابر شرایط نامناسب محیطی، به‌حالت خواب بروند. این حالت خواب بذر می‌تواند به ریزغده‌ها اجازه دهد تا در صورت بهبود شرایط محیطی، دوباره به حالت رشد و توسعه برگردند (Shi *et al.,* 2017).



شکل ۱۵- اثر سطوح pH و غلظت‌های مختلف آگار بر خواب بذر ریزنمونه
شاخص بالای هر ستون نشان‌دهنده انحراف معیار می‌باشد. تیمارهای دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی‌داری با یکدیگر در آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد ندارند.
Figure 15. Effects of pH levels and different agar concentrations on the dormancy of explants
The index at the top of each column represents the standard deviation. Treatments that share at least one common letter do not show a significant difference from each other in the Duncan test at the five percent significance level.

References

Araujo, M. D. C. D. R., Chagas, E. A., Garcia, M. I. R., Pinto, S. T. S., Chagas, P. C., Vendrame, W., Mota Filho, A. B., & de Souza, O. M. (2016). Micropropagation of caçari under different nutritive culture media, antioxidants, and levels of agar and pH. *African Journal of Biotechnology*, *15*(33), 1771-1780.

Astarini, I. A., Febryanti, N. L. P. K., & Miller Jr, J. C. (2021). Influence of media composition and genotype on potato (*Solanum tuberosum* L.) microtuberization. *Journal Hortikultura Indonesia (JHI)*,

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-01]

[DOI: 10.66224/jcb.2026.1619]

12(1), 51-58.
Bolandi, A. R., Hamidi, H., & Ghavidel, R. A. (2011). The effects of size and microtuber dormancy on production of potato minitubers. *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences*, *10*(2), 69-173.
Borna, R. S., Hoque, M., & Sarker, R. (2019). In vitro microtuber induction and regeneration of plantlets from microtuber discs of cultivated potato (*Solanum tuberosum* L.). *Plant Tissue Culture and Biotechnology*, *29*(1), 63-72.
Dalleh, M., Borjac, J., Younes, G., Choueiri, E., Chehade, A., & Elbitar, A. (2023). In vitro propagation and microtuberization of potato (*Solanum tuberosum* L.) Spunta variety in Lebanon. *Advances in Horticultural Science*, *37*(3), 243-253.
de Matos, C. K., Pereira, C. E. L., Balena, L., & Kawakami, J. (2020). Effect of agar concentration in culture medium on in vitro development of potato plants. *Research, Society and Development*, *9*(7), e542974571-e542974571.
Dobránszki, J., Magyar-Tábori, K., & Hudák, I. (2008). In vitro tuberization in hormone-free systems on solidified medium and dormancy of potato microtubers. *Fruit, Vegetable and Cereal Science and Biotechnology*, *2*(1), 82-94.
El-Sawy, A., Matter, M., & Girgis, N. D. (2015). Effect of Gelling Agent on in vitro tuberization of potato. *Am Eur J Agric Environ Sci*, *15*(10), 1934-1939.
Golestan Province, I. (2011). Effects of Nitrogen and Potasium on in vitro Microtuberization of Potato (*Solanum tuberosum* L. var Agria). *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, *5*(12), 443-448.
Kaur, A., & Kumar, A. (2020). The effect of gelling agent, medium pH and silver nitrate on adventitious shoot regeneration in *Solanum tuberosum*. *bioRxiv*, 2020.2001. 2003.894063.
Khakpour, S., Motallebi-Azar, A., Hosseini, B., Alizadeh-Salte, S., & Hasani, A. (2015). Optimization of micropropagation by different concentration of vitamins and sucrose in St. John's Wort (*Hypericum perforatum*). *Plant Breeding and Seed Science*, *71*(1), 67.
Khalil, M. M., Abd El Aal, A. M. H., & Samy, M. M. (2017). Studies on microtuberization of five potato genotypes. *Egyptian Journal of Horticulture*, *44*(1), 91-97.
Mishra, S. (2011). Effect of temperature, photoperiod and ph on in vitro shoot multiplication of sugarcane. *Vegetos*, *24*(1), 50-53.
Mohamed, A. E.-S., & Girgis, N. D. (2023). Factors affecting in vitro tuberization of potato. *Bulletin of the National Research Centre*, *47*(1), 80.
Mohapatra, P. P., & Batra, V. (2017). Tissue culture of potato (*Solanum tuberosum* L.): A review. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, *6*(4), 489-495.
Mohapatra, P. P., Batra, V., Kajla, S., & Poonia, A. K. (2018). In vitro multiplication and microtuberization of *Solanum tuberosum* using different Growth Regulators. *Vegetos-An International Journal of Plant Research*, *31*(2), 114-122.
Munthali, C., Kinoshita, R., Onishi, K., Rakotondrafara, A., Mikami, K., Koike, M., Tani, M., Palta, J., & Aiuchi, D. (2022). A model nutrition control system in potato tissue culture and its influence on plant elemental composition. *Plants*, *11*(20), 2718.
Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, *15*(3).
Ovono, P. O., Kevers, C., & Dommes, J. (2010). Effects of storage conditions on sprouting of microtubers of yam (Dioscorea cayenensis–D. rotundata complex). *Comptes Rendus. Biologies*, *333*(1), 28-34.
Ramadhani, W. (2025). Media creation in tissue culture. *Journal of Innovation and Scientific Collaboration*, *1*(1), 31-36.
Sharma, M. K., Chaudhary, R., Kureel, R., & Sengar, R. (2018). Effects of culture media pH on In Vitro shoot multiplication in sugarcane. *International Journal of Chemical Studies*, *6*(2), 1308-1310.
Shi, X., Yang, L., Yan, G., & Du, G. (2017). Medium pH between 5.5 and 7.5 has minimal effects on tissue culture of apple. *Hort Science*, *52*(3), 475-478.
Sorgato, J. C., Soares, J. S., Damiani, C. R., & Ribeiro, L. M. (2020). Effects of light, agar, activated charcoal, and culture medium on the germination and early development of' Dendrobium'seedlings. *Australian Journal of Crop Science*, *14*(4), 557-564.
Uranbey, S., Parmaksız, İ., Sancak, C., Çöçü, S., & Özcan, S. (2004). Temperature and gelling agent effects on in vitro microtuberization of potato (*Solanum tuberosum* L.). *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, *18*(2), 89-94.
Yang, E., Fan, L., Yan, J., Jiang, Y., Doucette, C., Fillmore, S., & Walker, B. (2018). Influence of culture media, pH and temperature on growth and bacteriocin production of bacteriocinogenic lactic acid bacteria. *AMB express*, *8*, 1-14.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-01]
[DOI: 10.66224/jcb.2026.1619]