J. Crop Prod. Process. 2026, 15(4), 99-118; DOI: 10.47176/jcpp.15.4.38821

Journal of Crop Production and Processing

Journal homepage: https://jcpp.iut.ac.ir/

Original Article

Optimization of Culture Medium for Propagation and Rooting of Greenhouse Cucumber at Various Nitrogen and Sucrose Levels

Alireza Motallebi-Azar, Hamideh Shojaei and Mina Amani*

Department of Horticultural Science and Engineering, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran.

Extended Abstract

Introduction: Cucumber is a mineral-rich vegetable known for its detoxifying and antioxidant properties. While traditional cucumber varieties produce both male and female flowers, greenhouse cucumbers mainly produce female flowers. Seed propagation is common, but the high cost of hybrid seeds and the labor-intensive production process make in-vitro micropropagation a viable alternative. This study aims to optimize tissue culture techniques for cucumber to enhance micropropagation, improve plantlet regeneration, and address hybrid seed production issues while identifying disease-resistant and salt-tolerant varieties.

Materials and Methods: This study investigated the effects of different concentrations of total nitrogen (50, 55, 60 (control), 65, and 70 mM) and sucrose (20, 30, and 40 g l^{-1}) in a factorial design within a completely randomized design with four replications on the propagation and rooting of the greenhouse cucumber cultivar Sultan, using lateral and terminal bud explants. The measured traits in this study included: (1) the percentage of established explants (the number of developed samples relative to the total number of explants) after 15 days; (2) the percentage of explants that developed nodes (the number of nodes producing lateral shoots relative to the total explants cultured) after 30 days; (3) the average shoot length after 30 days; (4) the number of shoots produced per explant after 30 days; (5) the number of leaves produced per shoot after 15 and 30 days; (6) the percentage of shoots producing roots (the ratio of rooted shoots to the total shoots cultured) after 15 and 30 days; (7) the root length per shoot (average length of roots produced on a shoot) after 30 days; and (8) the success rate of transfer (the number of developed plantlets relative to the number of plantlets transferred to mist conditions) after 15 days. The analysis of variance (ANOVA) of the data was conducted in a factorial experiment within a completely randomized design with three replications. The means of the treatments were compared using Duncan's multiple range test at a 5% significance level. Data analysis was performed using SPSS software, and graphs were created using Excel software.

Results and Discussion: The highest fresh and dry weights of the shoot were observed in the medium containing 40 g l^{-1} of sucrose, while the highest fresh weight of the shoot and callus was recorded in 70 mM of nitrogen. The culture media containing 20 and 30 g l^{-1} of sucrose and 50 to 70 mM of nitrogen were identified as suitable for shoot length. The maximum number of nodes per shoot was obtained in the medium containing 30 g l^{-1} of sucrose, and the maximum shoot length was achieved at sucrose concentrations of 20 and 30 g l^{-1}. At nitrogen concentrations of 50, 60, and 70 mM, the fresh weight of the shoot significantly increased. The lateral buds derived from terminal bud culture were rooted in MS medium without hormones, supplemented with five nitrogen concentrations, three sucrose concentrations, and 0.1 mM of IBA. The highest number of nodes per shoot, as well as the maximum shoot and root lengths, were produced in the culture medium containing 20 and 30 g l^{-1} of sucrose. The data clearly demonstrate the significant effects of sucrose and total nitrogen concentrations on the growth characteristics of cucumber in tissue culture. Sucrose plays a key role as a carbon source in tissue culture media, and its different concentrations have significant impacts on the number of nodes, shoot length, and diameter of the callus. Notably, an increase in sucrose concentration consistently

Received: Oct. 23, 2025; Revised: Dec. 03, 2025; Accepted: Dec. 04, 2025; Published Online: Dec. 27, 2025.
* Corresponding Author: Minaamani@tabrizu.ac.ir

Journal of Crop Production and Processing

Journal homepage: https://jcpp.iut.ac.ir/

led to a decrease in the number of nodes and shoot lengths, which may be due to its negative effects on the plant's metabolic processes. Total nitrogen, as an essential element for growth, was identified in this study as a key factor in increasing the fresh weight of the shoots; however, its effect was less pronounced compared to sucrose. These results may be attributed to the sufficiency of total nitrogen at the tested concentrations. Transferring the plantlets to pots and gradually changing conditions from in-vitro to greenhouse environments are crucial for reducing stress and enhancing the viability of the plants. The use of sterilized perlite as a growing medium improves aeration and prevents fungal diseases, while maintenance methods in misting conditions effectively preserve moisture and increase the survival rate of the plantlets.

Conclusions: The results of this study clearly demonstrate the significant effects of sucrose and total nitrogen concentrations on the growth characteristics of cucumber in tissue culture. Sucrose plays a key role as a carbon source in tissue culture media, and its different concentrations have significant impacts on the number of nodes, shoot length, and diameter of the callus. Notably, an increase in sucrose concentration consistently led to a decrease in the number of nodes and shoot lengths, which may be due to its negative effects on the plant's metabolic processes. Total nitrogen, as an essential element for growth, was identified in this study as a key factor in increasing the fresh weight of the shoots; however, its effect was less pronounced compared to sucrose. These results may be attributed to the sufficiency of total nitrogen at the tested concentrations. Transferring the plantlets to pots and gradually changing conditions from in-vitro to greenhouse environments are crucial for reducing stress and enhancing the viability of the plants. The use of sterilized perlite as a growing medium improves aeration and prevents fungal diseases, while maintenance methods in misting conditions effectively preserve moisture and increase the survival rate of the plantlets.

Keywords: Callus formation, In vitro culture, Plant nutrition, Tissue culture

How to Cite: Motallebi-Azar A., Shojaei H., Amani M., Optimization of culture medium for propagation and rooting of greenhouse cucumber at various nitrogen and sucrose levels. *J. Crop Prod. Process*. 2026, 15(4), 99-118. (*In Persian*). DOI: 10.47176/jcpp.15.4.38821.

Copyright © 2026 Isfahan University of Technology, Published by Isfahan University of Technology press. This work is licensed under a Creative Commons Attribution-Noncommercial 4.0 International license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/). Non-commercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited.

نشریه تولید و فرآوری محصولات زراعی و باغی، ۱۴۰۴، دوره ۱۵، شماره ۴، صص. ۱۱۸-۹۹، DOI: 10.47176/jcpp.15.4.38821

نشریه تولید و فرآوری محصولات زراعی و باغی
صفحه خانگی نشریه: https://jcpp.iut.ac.ir/

مقاله پژوهشی

بهینه‌سازی محیط کشت پرآوری و ریشه‌زایی خیار گلخانه‌ای براساس غلظت‌های مختلف نیتروژن و ساکارز

علیرضا مطلبی‌آذر، حمیده شجاعی و مینا امانی*

چکیده– در این مطالعه، تأثیر غلظت‌های مختلف نیتروژن کل (۵۰، ۵۵، ۶۰ (شاهد)، ۶۵ و ۷۰ میلی‌مولار) به‌عنوان فاکتور اول و ساکارز (۲۰، ۳۰ (شاهد) و ۴۰ گرم در لیتر) به‌عنوان فاکتور دوم بر روی پرآوری و ریشه‌زایی خیار گلخانه‌ای رقم سلطان با استفاده از ریزنمونه‌های جوانه جانبی و انتهایی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که بیشترین وزن تر و خشک شاخساره در ۴۰ گرم بر لیتر ساکارز و همچنین بیشترین وزن تر شاخساره و کالوس در ۷۰ میلی‌مولار نیتروژن مشاهده شد. محیط‌های کشت حاوی ۲۰ و ۳۰ گرم بر لیتر ساکارز و ۵۰ تا ۷۰ میلی‌مولار نیتروژن به‌عنوان محیط کشت مناسب برای طول شاخساره شناسایی شدند. حداکثر تعداد گره در هر شاخساره در محیط کشت حاوی ۳۰ گرم بر لیتر ساکارز به‌دست آمد و حداکثر طول شاخساره در غلظت‌های ۲۰ و ۳۰ گرم بر لیتر ساکارز حاصل شد. در غلظت‌های ۵۰، ۶۰ و ۷۰ میلی‌مولار نیتروژن، وزن تر شاخساره به‌طور قابل‌توجهی افزایش یافت. جوانه‌های جانبی حاصل از کشت جوانه انتهایی در محیط کشت ***MS*** بدون هورمون و با ۵ غلظت نیتروژن و سه غلظت ساکارز و ۰/۱ میلی‌مولار ایندول بوتیریک اسید (***IBA***) ریشه‌دار شدند. حداکثر تعداد گره در هر شاخساره و همچنین حداکثر طول شاخساره و ریشه در محیط کشت حاوی ۲۰ و ۳۰ گرم بر لیتر ساکارز تولید شد. نتایج این تحقیق نشان داد که غلظت‌های مختلف نیتروژن و ساکارز تأثیرات معناداری بر پرآوری و ریشه‌زایی خیار گلخانه‌ای رقم سلطان داشتند. براساس نتایج تحقیق، توصیه می‌شود که غلظت ساکارز و نیتروژن کل به‌دقت تنظیم شوند تا تأثیرات مثبت بر رشد گیاهان به حداکثر برسد و از کاهش تعداد گره‌ها جلوگیری شود. همچنین، انتقال تدریجی گیاهچه‌ها به گلخانه و استفاده از پرلایت استریل شده به‌عنوان بستر کشت می‌تواند به حفظ رطوبت و افزایش شانس زنده ماندن گیاهچه‌ها کمک کند.

واژه‌های کلیدی: تغذیه گیاه، کالوس‌زایی، کشت درون شیشه‌ای، کشت بافت.

دریافت مقاله: ۱۴۰۴/۰۸/۰۱، بازنگری: ۱۴۰۴/۰۹/۱۲، پذیرش: ۱۴۰۴/۰۹/۱۳، اولین انتشار: ۱۴۰۴/۱۰/۰۷

گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

*: نویسنده مسئول، رایانامه: Minaamani@tabrizu.ac.ir

حق انتشار این مستند، متعلق به دانشگاه صنعتی اصفهان است. ۱۴۰۴ ©.

مقاله تحت گواهی زیر منتشر شده و هر نوع استفاده غیرتجاری از آن مشروط بر استناد صحیح به مقاله و با رعایت شرایط مندرج در آدرس زیر مجاز است:

Creative Commons Attribution-Noncommercial 4.0 International license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

مقدمه

خیار یکی از سبزیجات غنی از مواد معدنی و دارای خواص سم‌زدایی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی است. اغلب ارقام خیارهای قدیمی، گل‌های نر و ماده تولید می‌کنند، درحالی‌که خیارهای گلخانه‌ای عمدتاً گل‌های ماده را تولید می‌کنند که معمولاً به‌صورت منفرد در کنار برگ‌های شاخه‌های اصلی و فرعی ظاهر می‌شوند (۲۲). در خیار گلخانه‌ای، روش متداول ازدیاد، استفاده از بذر است. با این حال، به‌دلیل هزینه بالای بذرهای هیبرید و فرآیند پیچیده و زمان‌بر تولید آن‌ها، ریزازدیادی درون شیشه‌ای به‌عنوان یک روش جایگزین و پایدار برای تولید بذر هیبرید مطرح می‌شود. نگهداری لاین‌های A، Bو R و حفظ خلوص ژنتیکی آن‌ها می‌تواند هزینه‌بر باشد و تلاقی لاین‌های A با R که منجر به تولید بذر هیبرید می‌شود نیز فرآیندی پرهزینه و دشوار است. در برخی موارد، خلوص ژنتیکی بذرهای هیبرید ممکن است پایین باشد (۲۲ و ۲۸). درمقابل، گیاهان تولیدشده در شرایط درون شیشه‌ای عاری از آلودگی هستند و قابلیت تولید تعداد زیادی گیاه را در زمان کوتاه دارند. بهینه‌سازی ترکیبات معدنی محیط کشت غذایی می‌تواند به افزایش تعداد شاخساره‌های تولیدی به ازای هر ریزنمونه کمک کند و با تأمین تغذیه مناسب، رشد شاخساره‌ها را تسریع بخشد و نیاز به تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی را کاهش دهد (۲۲، ۲۳ و ۲۸).

در مطالعات ریزازدیادی خیار، مشاهده شده است که استفاده از محیط‌های کشت متداول مانند محیط کشت موراشیگ و اسکوگ (MS)و مقادیر بالای تنظیم‌کننده‌های رشد می‌تواند منجر به تشکیل کالوس در انتهای شاخساره‌ها شود (۱۲). این پدیده به کاهش رشد و تولید شاخه‌های نامناسب منجر می‌شود. تشکیل کالوس در انتهای شاخساره‌های تولید شده، یکی از مهم‌ترین چالش‌های ریزازدیادی خیار به شمار می‌آید و ضروری است که شرایطی فراهم شود تا مواد غذایی موجود در محیط کشت به‌طور کامل صرف پرآوری و رشد شاخساره‌ها شود (۷ و ۱۳). علاوه بر این، به‌دلیل شرایط نامناسب تغذیه‌ای از نظر تعادل یونی و منابع انرژی، ریزنمونه‌ها ممکن است نتوانند به رشد بهینه دست یابند و در زمان معمول بازکشت به اندازه مناسبی نرسند. این موضوع می‌تواند کارایی فرآیند ریزازدیادی را تحت تأثیر قرار داده و کاهش دهد (۷، ۱۲ و ۱۳).

عناصر معدنی در زندگی گیاه نقش بسیار مهمی ایفا می‌کنند. به‌عنوان مثال، نیتروژن بخش اساسی از آمینواسیدها، ویتامین‌ها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک محسوب می‌شود و به‌عنوان یکی از عناصر پرنیاز شناخته می‌شود که به بیش از ۰/۵ میلی‌مولار نیاز دارد (٦). نیتروژن معدنی در محیط کشت معمولاً به دو شکل ترکیبات نیترات و ترکیبات آمونیومی وجود دارد. در برخی موارد، فرم نیترات بر آمونیوم مقدم است، اما استفاده از نیترات به‌تنهایی می‌تواند باعث افزایش pH محیط و قلیایی شدن آن شود. افزودن مقدار کمی آمونیوم به‌همراه نیترات می‌تواند از این تغییر pH جلوگیری کند (۱ و ۳). هر دو فرم و مقدار نیتروژن در شرایط درون شیشه‌ای تأثیر قابل‌توجهی بر میزان رشد سلولی و تمایز دارند. در اکثر محیط‌های کشت، مقدار کل نیتروژن بسیار بالا است و تعادل بین آمونیوم و نیترات بهینه نیست (۲ و ٦). به‌عنوان مثال، در محیط کشت MS، مقدار کل نیتروژن حدود ٦۰ میلی‌مولار است که نسبت به بسیاری از محیط‌های کشت دیگر مانند WPM و B_5 بالاتر است. بنابراین، برای بهینه‌سازی شرایط برای یک گیاه خاص و هدف ویژه، نیاز است تا مقدار نیتروژن کل در محیط کشت MS تنظیم شود (۲، ۳، ٦).

ساکارز به‌عنوان منبع اصلی کربن در کشت‌های درون شیشه‌ای نقش بسیار ضروری ایفا می‌کند. این قند نه‌تنها انرژی لازم برای رشد و توسعه سلول‌ها را تأمین می‌کند، بلکه به‌عنوان یک عامل اسمزی نیز عمل کرده و شرایط بهینه‌ای را برای جذب آب و مواد معدنی فراهم می‌آورد. ساکارز در تحریک فرآیندهای بیوشیمیایی و متابولیکی مؤثر است و به افزایش رشد و تمایز سلولی کمک می‌کند. همچنین، غلظت مناسب ساکارز در محیط کشت می‌تواند تأثیر بسزایی بر روی تولید شاخساره‌ها و توسعه ریزنمونه‌ها داشته باشد و درنتیجه به بهینه‌سازی

عملکرد کشت‌های درون شیشه‌ای کمک می‌کند (۵ و ۱۹).

کشت بافت گیاهی یکی از فناوری‌های کارآمد است که به مطالعات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاهان کمک می‌کند و در زمینه‌های ریزازدیادی، گزینش در شرایط درون شیشه‌ای، نجات جنین، تنوع سوماکلونال، هیبریداسیون سوماتیکی و انتقال ژن نقش بسزایی دارد (۱۹). هدف اصلی کشت بافت گیاهان، گسترش توانایی باززایی گیاهچه‌ها و یا گیاهان از بافت‌های ریزنمونه، کالوس، سلول‌ها یا پروتوپلاست‌ها است. باززایی گیاهان در کشت بافت در تعداد زیادی از گونه‌های گیاهی، ازجمله خیار و سایر اعضای تیره کدوئیان، امکان‌پذیر است (۲، ۸ و ۱۷). در تیره کدوئیان به‌دلیل مشکل اخته کردن در مقیاس بزرگ، تولید بذور هیبرید به اندازه کافی میسر نیست؛ بنابراین، تکنیک‌های کشت بافت و دستکاری ژنتیکی به‌منظور حل این مسائل بسیار سودمند هستند. کشت بافت در خیار به‌عنوان یک روش ازدیادی به‌کار گرفته می‌شود و برای اهداف اصلاحی، تولید گیاهان هاپلوئید و انتقال ژن مورد استفاده قرار می‌گیرد (۲، ۸ و ۲۰). کشت بافت خیار در محدوده گسترده‌ای از ارقام و با استفاده از ریزنمونه‌های متنوع، محیط کشت، غلظت تنظیم‌کننده‌های رشد و شرایط محیطی مختلف انجام شده است. به‌علاوه، کشت بافت در خیار به گزینش ساده برای انتخاب گونه‌های مقاوم به عوامل بیماری‌زا و غلظت‌های بالای نمک کمک می‌کند (۲، ۸، ۱۷، ۱۸ و ۱۹). بنابراین، هدف از پژوهش حاضر بررسی و بهینه‌سازی تکنیک‌های کشت بافت گیاهی در خیار به‌منظور افزایش کارایی ریزازدیادی، بهبود فرآیند باززایی گیاهچه‌ها و تولید گیاهان با ویژگی‌های مطلوب، شناسایی بهترین شرایط کشت شامل نوع ریزنمونه، ترکیبات محیط کشت و غلظت تنظیم‌کننده‌های رشد است.

مواد و روش‌ها

کاشت بذرها و پرورش گیاهان مادری جهت تهیه ریزنمونه‌های مورد نیاز

برای تهیه ریزنمونه، ابتدا لازم است که گیاهان استریل از طریق کشت بذرهای ضدعفونی شده پرورش یابند. بدین منظور، بذرهای خیار گلخانه‌ای از رقم سلطان از یک مرکز معتبر تأمین بذر خریداری شدند. سپس، بذرها به مدت ۱۲ ساعت در زیر آب جاری قرار داده شدند تا آلودگی‌های سطحی از بین برود. پس از آن، بذرها به مدت ۱۲ ساعت در یک پارچه نخی نرم و مرطوب نگهداری شدند تا رطوبت لازم برای جوانه‌زنی فراهم شود.

روش ضدعفونی کردن

بذرها ابتدا به مدت ۱۵ دقیقه با محلول رقیق شده مایع ظرفشویی شستشو داده شدند. سپس، به مدت ۷ دقیقه در الکل ۷۰ درصد غوطه‌ور شدند و پس از آن، به مدت ۱۵ دقیقه در محلول ۲/۵ درصد سفیدکننده حاوی ۵ درصد هیپوکلریت سدیم ضدعفونی شدند. در نهایت، بذرها سه بار با آب استریل شستشو داده شده و تا زمان کشت در آب مقطر نگهداری شدند تا اثر مواد ضدعفونی‌کننده از بین برود.

محیط کشت و شرایط نگهداری کشت‌ها

در این تحقیق، از محیط کشت MS استفاده شد. pH محیط کشت با استفاده از هیدروکسید پتاسیم و اسید کلریدریک به حدود ۵/۸ تنظیم شد. سپس، ۸ گرم آگار به ازای هر لیتر به محیط کشت اضافه شد و ظرف حاوی محیط کشت بر روی همزن قرار گرفت تا آگار به‌خوبی حل شود. پس از آماده‌سازی محیط کشت و کاهش دما تا زمانی که آگار به حالت ژل درآمد، این محیط در ظروف شیشه‌ای مناسب توزیع و سپس برای استریل کردن به اتوکلاو منتقل شد (فشار ۱/۲ اتمسفر و دما ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه). پس از اتوکلاوشدن، محیط کشت‌های داخل ظروف یا به‌طور مستقیم برای کشت استفاده شدند یا در مکانی مناسب و دور از نور مستقیم آفتاب نگهداری شدند. استوک مواد هورمونی به‌صورت مقادیر ۱۰ میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر حلال تهیه و بسته به نوع آن‌ها در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد یا زیر صفر نگهداری شدند. هنگام

مصرف، بسته به غلظت آن‌ها در محیط کشت، حجم معینی از آن‌ها استفاده شد. دمای اتاقک رشد ۲±۲۵ درجه سانتی‌گراد و فتوپریود به‌صورت ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی تنظیم شد.

آزمایش اول: کشت جوانه جانبی در محیط کشت حاوی ٤ میلی‌گرم بر لیتر بنزیل آمینوپورین (BAP)

جوانه‌های جانبی به طول ۲ سانتی‌متر به محیط کشت استریل منتقل شدند. در دو هفته اول کشت، ریزنمونه‌های آلوده و تغییر رنگ داده حذف شدند. ریزنمونه‌های سالم در صورت تغییر رنگ محیط کشت، واکشت شدند و در این مرحله، رشد جوانه‌های تک‌گره‌ای مشاهده شد. پس از گذشت ۳ تا ٤ هفته، کشت‌ها به حد نهایی رشد خود در ظروف کشت رسیدند و انجام واکشت در این مرحله ضروری بود. واکشت‌ها مشابه کشت ریزنمونه‌های اولیه در زیر هود استریل انجام شد. برای این آزمایش، ریزنمونه‌های جوانه جانبی به اندازه ۲ سانتی‌متر از دانهال‌های استریل تهیه و به محیط کشت MS حاوی تیمارهای مورد نظر و ٤ میلی‌مولار BAP منتقل شدند. در این بررسی، ۱۵ تیمار با ٤ تکرار شامل ۲ ریزنمونه در هر تکرار مورد استفاده قرار گرفت. فاکتور اول شامل نیتروژن کل در غلظت‌های ۵۰، ۵۵، ٦۰ (شاهد)، ٦۵ و ۷۰ میلی‌مولار بود و فاکتور دوم شامل غلظت‌های مختلف ساکارز (۲۰، ۳۰ (شاهد) و ٤۰ گرم بر لیتر) بود. تیمار ٦۰ میلی‌مولار نیتروژن و ۳۰ گرم ساکارز به‌عنوان نمونه شاهد انتخاب شدند، زیرا این غلظت‌ها رایج‌ترین ترکیب برای کشت بافت هستند (۷). تولید کالوس فراوان در انتهای ریزنمونه‌ها منجر به کاهش رشد آن‌ها شد. همچنین، قسمت‌های جوانه انتهایی به محیط کشت MS بدون هورمون منتقل شدند تا در صورت نیاز به ریزنمونه‌های سالم برای بازکشت یا تکرار آزمایش به‌دلیل وجود آلودگی، قابل استفاده باشند.

آزمایش دوم: کشت جوانه جانبی (در محیط کشت بدون هورمون)

نمونه‌ها شامل جوانه جانبی با اندازه ۲ تا ۳ سانتی‌متر و حاوی یک گره و محیط کشت MS حاوی ۰/۵ گرم بر لیتر کازئین هیدرولیز شده و بدون هورمون بود.

آزمایش سوم: کشت جوانه انتهایی در محیط کشت بدون هورمون (۱۵ روز پس از کشت)

به‌دلیل رشد اندک نمونه‌های جوانه جانبی در آزمایش دوم، از نمونه‌های جوانه انتهایی با اندازه ۳ تا ٤ سانتی‌متر در محیط کشت MS بدون هورمون استفاده شد که از ریزنمونه‌های حاصل از کشت برگ‌های لپه‌ای برای تهیه جوانه انتهایی استفاده شد. آزمایش با این ریزنمونه‌ها ادامه یافت و بعد از ۳ تا ٤ هفته نمونه‌ها واکشت شدند.

آزمایش چهارم: کشت جوانه انتهایی در محیط کشت بدون هورمون (۳۰ روز پس از کشت)

ریزنمونه‌های جوانه انتهایی با اندازه ۲ سانتی‌متر استفاده شد. محیط کشت پایه برای ریشه‌زایی محیط کشت MS + ۰/۱ میلی‌مولار IBA بود. پس از یک ماه درصد ریشه‌زایی، طول ریشه و وزن آن‌ها اندازه‌گیری شد.

آزمایش پنجم: تأثیر غلظت‌های مختلف ساکارز و نیتروژن کل در محیط کشت ریشه‌زایی (۱۵ روز پس از کشت)

تأثیر غلظت‌های مختلف ساکارز و نیتروژن در محیط کشت پایه برای ریشه‌زایی (محیط کشت MS + ۰/۱ میلی‌مولار IBA) در ۱۵ روز پس از کشت بررسی شد.

آزمایش ششم: تأثیر غلظت‌های مختلف ساکارز و نیتروژن کل در محیط کشت ریشه‌زایی (۳۰ روز پس از کشت)

تأثیر غلظت‌های مختلف ساکارز و نیتروژن در محیط کشت پایه برای ریشه‌زایی (محیط کشت MS + ۰/۱ میلی‌مولار IBA) در ۳۰ روز پس از کشت بررسی شد.

انتقال گیاهچه‌ها به خاک و سازگار کردن آن‌ها با شرایط غیر درون شیشه‌ای

برای انتقال گیاهان، از پرلایت ضدعفونی شده توسط دستگاه اتوکلاو (فشار ۱/۲ اتمسفر به مدت ۱۵ دقیقه) استفاده شد. برای این منظور، گیاهچه‌های ریشه‌دار شده را از محیط کشت خارج و با آب مقطر استریل شستشه شد تا محیط کشت باقیمانده روی ریشه‌ها کاملاً پاک شود. گیاهان سپس به گلدان‌های پلاستیکی حاوی پرلایت منتقل شدند. گلدان‌ها در داخل ظرف-هایی با سرپوش شفاف قرار داده و بلافاصله با آب مقطر استریل آبیاری شدند. پس از یک هفته برای تبادل هوا روی سرپوش‌ها ۳-٤ سوراخ کوچک ایجاد شد. برای تغذیه گیاهان از محلول MS رقیق (ده برابر) استفاده شد. بعد از حدود ١٤ روز، هر روز به مدت ۳-۲ ساعت سرپوش‌های پلاستیکی برداشته می‌شدند تا گیاهان کشت شده با شرایط اتاق رشد (از نظر نور، دما، طول روز و رطوبت) عادت کنند. بعد از حدود ١٦ روز سرپوش‌ها کاملاً برداشته شد.

صفات اندازه‌گیری شده

آزمایش اول: وزن تر و خشک شاخساره، وزن تر کالوس.

آزمایش دوم: طول شاخساره و ریشه.

آزمایش سوم: تعداد گره در هر شاخساره، طول شاخساره و ریشه.

آزمایش چهارم: تعداد گره در هر شاخساره، طول شاخساره، وزن تر شاخساره.

آزمایش پنجم: تعداد گره در هر شاخساره، طول شاخساره.

آزمایش ششم: تعداد گره در هر شاخساره، طول شاخساره، قطر کالوس تحتانی.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

در ابتدا آزمون نرمال بودن داده‌ها و یکنواختی واریانس‌های درون تیماری انجام شده و مورد تأیید قرار گرفت. تجزیه واریانس داده‌ها به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد. مقایسه میانگین تیمارها توسط آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SPSS و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

نتایج و بحث

آزمایش اول: کشت جوانه جانبی در محیط کشت حاوی ٤ میلی‌گرم بر لیتر BAP

- وزن تر شاخساره

اختلاف معنی‌داری بین غلظت‌های ساکارز ($p<0.01$) و نیتروژن کل از نظر وزن تر شاخساره وجود داشت ($p<0.05$). اثر متقابل ساکارز × نیتروژن کل تأثیر معنی‌داری بر وزن تر شاخساره نداشت ($p>0.05$) (جدول ۱). در پنج غلظت نیتروژن کل، بیشترین وزن تر شاخساره (۲/۹ گرم) در غلظت ۷۰ میلی‌مولار مشاهده شد (شکل ۱- الف). حداکثر وزن تر شاخساره در غلظت ٤۰ گرم بر لیتر ساکارز مشاهده شد و محیط کشت دارای ۲۰ گرم بر لیتر ساکارز، تفاوت معنی‌داری با محیط کشت دارای ۳۰ گرم بر لیتر ساکارز از لحاظ وزن تر شاخساره نداشت؛ بنابراین می‌توان گفت که با افزایش غلظت ساکارز نسبت به تیمار ۳۰ گرم بر لیتر ساکارز، وزن تر شاخساره افزایش یافته است (شکل ۱- ب). نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین غلظت‌های ساکارز از نظر وزن خشک شاخساره وجود داشت ($p<0.05$) (جدول ۱). بیشترین وزن خشک شاخساره در غلظت ٤۰ گرم بر لیتر ساکارز مشاهده شد، ولی در غلظت‌های ۲۰ و ۳۰ گرم بر لیتر کمترین وزن خشک شاخساره ایجاد شد (شکل ۱- ج).

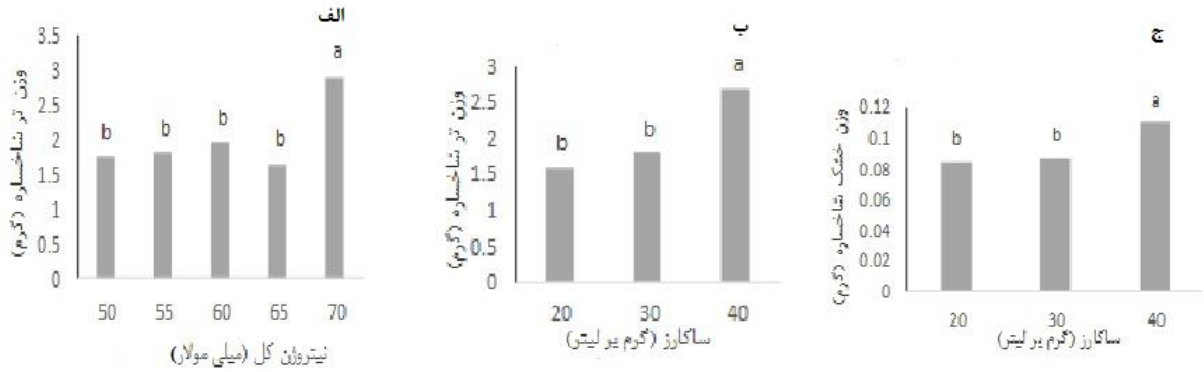
- وزن تر کالوس

وزن تر کالوس به میزان معنی‌داری از سه غلظت ساکارز و پنج غلظت نیتروژن کل متأثر شد ($p<0.01$) (جدول ۱). غلظت ٤۰

جدول ۱.تجزیه واریانس صفات اندازه‌گیری شده درغلظت‌های مختلف ساکارز و نیتروژن کل در آزمایش اول و دوم

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات (آزمایش اول)			میانگین مربعات (آزمایش دوم)	
		وزن تر شاخساره	وزن خشک شاخساره	وزن تر کالوس	طول شاخساره	طول ریشه
ساکارز	۲	۸/۲۰**	۰/۰۰۸*	۹/٤٤**	٤۸/۱**	۱/۳۹**
نیتروژن کل	٤	۲/۸۸*	۰/۰۰۳ns	۳/۳۰**	۵/۵۰ns	۲/۱۵**
ساکارز * نیتروژن کل	۸	۰/۳۲ns	۰/۰۰۱ns	۰/۳۱ns	۱۷/٤*	۰/۹۹**
خطا	٤۵	۰/۸۲	۰/۰۰۲	۰/۵٤	۸/۱٦	۰/۱۷

ns، ** و * به‌ترتیب عدم معنی‌داری، معنی‌داری در سطح احتمال یک و پنج درصد.

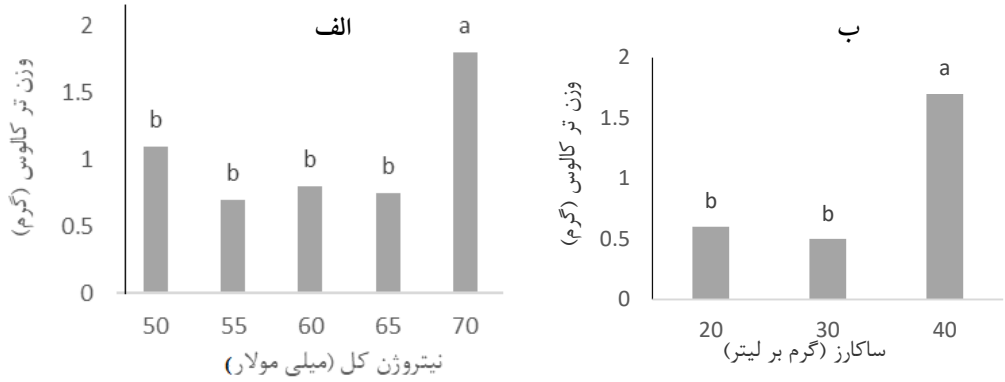


شکل ۱. متوسط وزن تر و خشک شاخساره در غلظت‌های مختلف نیتروژن و ساکارز

تیمارهای دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی‌داری با یکدیگر در آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

گرم بر لیتر ساکارز بیشترین وزن تر کالوس را ایجاد کرد (شکل ۲- الف). از طرف دیگر، حداکثر وزن تر کالوس در غلظت ۷۰ میلی‌مولار نیتروژن مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری را با سایر غلظت‌های ساکارز نشان داد. این درحالی است که بقیه غلظت-های نیتروژن کل، اختلاف معنی‌داری از لحاظ وزن تر کالوس نشان ندادند و در همه غلظت‌ها، وزن تر کالوس حداقل بود، لذا می‌توان برای اجتناب از تولید کالوس تحتانی از پایین‌ترین غلظت نیتروژن کل (۵۰ میلی‌مولار) استفاده کرد (شکل ۲- ب). در شکل ۳ تشکیل کالوس تحتانی در غلظت ۷۰ میلی‌مولار نیتروژن با ٤ میلی‌گرم بر لیتر از هورمون BAP نشان داده شده است.

باتوجه به معنی‌دار بودن اثر غلظت‌های مختلف ساکارز و نیتروژن کل درخصوص وزن تر کالوس می‌توان به این نکته توجه کرد، چرا که افزایش وزن تر کالوس در غلظت‌های بالاتر ساکارز و نیتروژن کل اتفاق می‌افتد. با توجه به نتایج به‌دست آمده برای اجتناب از بزرگتر شدن کالوس تحتانی بهتر است که از مقادیر کمتر ساکارز و نیتروژن کل استفاده شود. بررسی وزن تر و خشک شاخساره نشان می‌دهد که غلظت‌های بالای ساکارز تأثیر معنی‌داری داشته و ٤۰ گرم بر لیتر ساکارز از بالاترین وزن تر و خشک شاخساره برخوردار است. از طرف دیگر، وزن تر شاخساره از غلظت‌های مختلف نیتروژن کل متأثر شده است،



شکل ۲. متوسط وزن تر کالوس در غلظت‌های مختلف نیتروژن و ساکارز

تیمارهای دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی‌داری با یکدیگر در آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

شکل ۳. تشکیل کالوس تحتانی در غلظت ۷۰ میلی‌مولار نیتروژن کل با ٤ میلی‌گرم بر لیتر از هورمون BAP

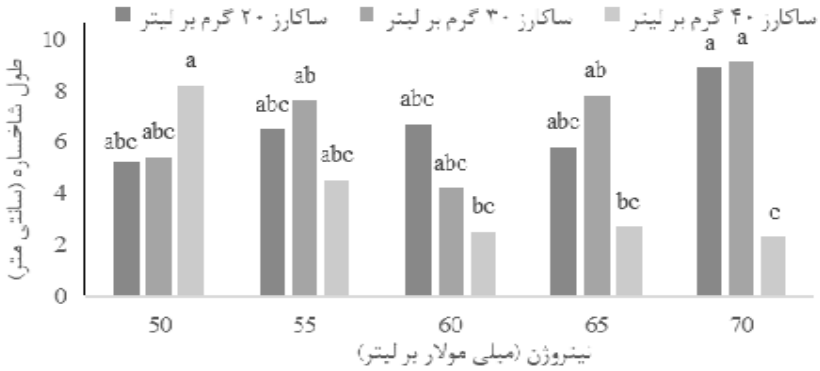
اما وزن خشک شاخساره تحت تأثیر غلظت‌های مختلف نیتروژن کل قرار نگرفته است و بالاترین وزن تر شاخساره در ۷۰ میلی‌مولار نیتروژن کل به‌دست آمده است. مقایسه وزن تر و خشک شاخساره، به نوعی نشان می‌دهد که بالابودن وزن تر شاخساره در غلظت‌های مختلف نیتروژن کل، مربوط به بالا بودن محتوای آب سلول‌ها است و به نوعی می‌توان اظهار داشت که در غلظت‌های بالای نیتروژن کل، شاخساره‌های حاصل تردتر و احتمالاً جوان‌تر از شاخساره‌هایی باشند که از غلظت‌های پایین نیتروژن کل به‌دست آمده‌اند. به‌طورکلی محتوای نیتروژن کل در تغذیه نیتروژنی گیاه بسیار مهم است (۲۱). در مطالعات ریزازدیادی خیار مشاهده شده است که بکار بردن محیط‌های کشت رایج مثل محیط کشت MS و استفاده از مقادیر بالای تنظیم‌کننده‌های رشد نظیر BAP باعث ظهور کالوس در انتهای شاخساره‌ها شود که این امر باعث کاهش رشد طولی شاخساره می‌شود (۹ و ۲٦). با این حال ممکن است وجود BAP باعث تسهیل تشکیل کالوس در انتهای شاخساره‌ها شود. این پدیده بدان علت مطرح شد که با وجود مقدار بالایی از سیتوکینین، شاخه‌های جانبی و نابجا رشد نکردند، ولی در انتهای شاخساره‌ها، ریشه تشکیل شد که این امر نشان می‌دهد که اکسین داخلی ریزنمونه‌های مورد استفاده بالا است، بنابراین در آزمایش دوم BAP به محیط کشت اضافه نشد (۲٤، ۲۵ و ۲۹).

آزمایش دوم: کشت جوانه جانبی در محیط کشت بدون هورمون

- طول شاخساره

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که بین غلظت‌های مختلف ساکارز و همچنین اثر متقابل ساکارز و نیتروژن بر طول

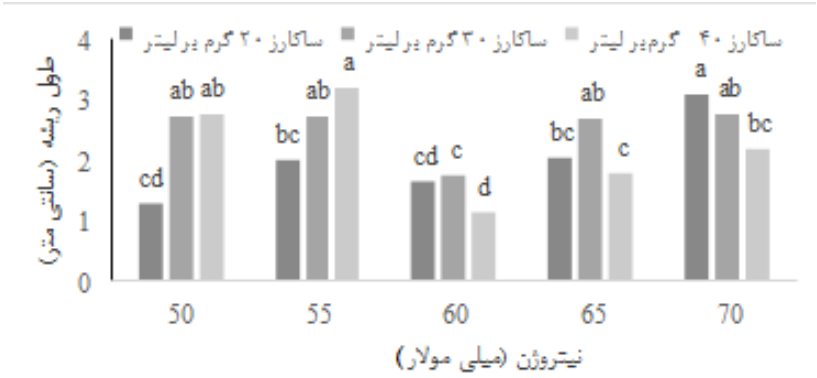
شکل ٤. متوسط طول شاخساره الف. تیمار ۷۰ میلی مولار نیتروژن × ۳۰ گرم بر لیتر ساکارز، ب. تیمار ۷۰ میلی مولار نیتروژن × ۲۰ گرم بر لیتر ساکارز، ج. تیمار ۵۰ میلی مولار نیتروژن × ٤۰ گرم بر لیتر ساکارز، د. تیمار ٦٥ میلی مولار نیتروژن × ۳۰ گرم بر لیتر ساکارز.



شکل ۵. برهم‌کنش غلظت‌های مختلف ساکارز و نیتروژن بر متوسط طول شاخساره

تیمارهای دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی‌داری با یکدیگر در آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

شاخساره اختلاف معنی‌داری وجود داشت، درحالی‌که بین غلظت‌های مختلف نیتروژن کل از نظر طول شاخساره تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۱). بیشترین میزان طول شاخساره در تیمار ۷۰ میلی‌مولار نیتروژن × ۳۰ گرم بر لیتر ساکارز مشاهده شد، درحالی‌که کمترین میزان طول شاخساره در تیمار ۷۰ میلی‌مولار نیتروژن × ٤۰ گرم بر لیتر ساکارز به‌دست آمد (شکل‌های ٤ و ۵). نتایج این تحقیق در زمینه تأثیر غلظت‌های ساکارز و نیتروژن کل بر طول شاخساره خیار نشان‌دهنده اهمیت تنظیم دقیق این عناصر در کشت بافت است. ساکارز به‌عنوان منبع اصلی کربن در محیط‌های کشت، نقش کلیدی در تأمین انرژی برای فرآیندهای متابولیکی گیاه ایفا می‌کند. براساس پژوهش‌های قبلی، غلظت‌های بالای ساکارز ممکن است منجر به افزایش فشار اسمزی در محیط کشت شود که درنهایت می‌تواند تأثیر منفی بر رشد گیاهان داشته باشد. در این تحقیق نیز مشاهده شد که با افزایش غلظت ساکارز به‌ویژه در غلظت ٤۰ گرم بر لیتر، طول شاخساره کاهش پیدا کرد. نیتروژن کل، که به‌عنوان یک عنصر ضروری برای رشد گیاه شناخته می‌شود، در این تحقیق به‌عنوان عامل مهمی در افزایش وزن تر شاخساره معرفی شد. مطالعات مختلف نشان داده‌اند که نیتروژن به‌طور مستقیم بر سنتز پروتئین‌ها و آنزیم‌های گیاهی تأثیر می‌گذارد و به همین دلیل می‌تواند رشد گیاه را تسهیل کند. در این تحقیق، اثر متقابل بین ساکارز و نیتروژن کل بر طول



شکل ٦. برهم‌کنش غلظت‌های مختلف ساکارز و نیتروژن بر متوسط طول ریشه

تیمارهای دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی‌داری با یکدیگر در آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

شاخساره نیز مورد توجه قرار گرفت و نشان داد که ترکیب مناسب این دو عنصر می‌تواند به بهبود رشد کمک کند. در غلظت ۲۰ گرم بر لیتر ساکارز، تغییرات اندکی در طول شاخساره مشاهده شد که ممکن است به این دلیل باشد که نیتروژن کل در این غلظت برای گیاه کافی بوده و اثرات مثبت آن بر رشد گیاه به وضوح دیده نمی‌شود. درمقابل، در غلظت‌های بالاتر ساکارز، نیتروژن کل تأثیر بیشتری بر طول شاخساره گذاشت و حداکثر طول شاخساره در غلظت ۷۰ میلی‌مولار نیتروژن کل ثبت شد. این یافته‌ها با تحقیقات پیشین همسو است که نشان می‌دهند نیتروژن در غلظت‌های بهینه می‌تواند رشد گیاه را به‌طور چشمگیری افزایش دهد (٦، ۱۰، ۱۵ و ۲٤).

– طول ریشه

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که بین غلظت‌های مختلف ساکارز، نیتروژن و همچنین اثر متقابل ساکارز و نیتروژن بر طول ریشه اختلاف معنی‌داری وجود داشت (جدول ۱). بیشترین میزان طول ریشه در تیمار ۷۰ میلی‌مولار نیتروژن × ۲۰ گرم بر لیتر ساکارز مشاهده شد، درحالی‌که کمترین میزان طول ریشه در تیمار ٦۰ میلی‌مولار نیتروژن × ٤۰ گرم بر لیتر ساکارز به‌دست آمد (شکل ٦). نتایج این تحقیق نشان‌دهنده تأثیر غلظت ساکارز و نیتروژن کل بر رشد و توسعه خیار در شرایط درون شیشه‌ای است. طول شاخه و ریشه به‌طور معنی‌داری از غلظت‌های مختلف ساکارز و نیتروژن کل متأثر شد. این یافته‌ها نشان می‌دهد که استفاده از غلظت‌های بهینه ساکارز و نیتروژن می‌تواند به بهبود رشد و توسعه گیاه کمک کند (۱۰، ۱٤ و ۱۵).

آزمایش سوم: کشت جوانه انتهایی در محیط کشت بدون هورمون (۱۵ روز پس از کشت)

– تعداد گره در هر شاخساره

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین غلظت‌های ساکارز از نظر تعداد گره در هر شاخساره وجود داشت (جدول ۲). بیشترین تعداد گره در هر شاخساره در غلظت ۳۰ گرم بر لیتر ساکارز مشاهده شد (جدول ۳).

– طول شاخساره

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین غلظت‌های ساکارز از نظر طول شاخساره در سطح احتمال یک درصد وجود داشت (جدول ۲). در بین سه غلظت ساکارز، کمترین طول شاخه در غلظت ٤۰ گرم بر لیتر ساکارز مشاهده شد (٥/٦ سانتی‌متر) که اختلاف معنی‌داری با سایر غلظت‌های ساکارز (که طول شاخه در این دو غلظت تقریباً برابر بود)

جدول ۲. تجزیه واریانس صفات اندازه‌گیری شده در غلظت‌های مختلف ساکارز و نیتروژن کل در آزمایش سوم و چهارم

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات در آزمایش سوم (۱۵ روز پس از کشت)			میانگین مربعات در آزمایش چهارم (۳۰ روز پس از کشت)		
		تعداد گره در هر شاخساره	طول شاخساره	طول ریشه	تعداد گره در هر شاخساره	طول شاخساره	وزن تر شاخساره
ساکارز	۲	۸/۴۵**	۱۹/۱**	۰/۱۶ns	۱۲/۹**	۳۱/۷**	۰/۳۹ns
نیتروژن کل	٤	۰/۸۵ns	٦/۱۱ns	۰/۵۷**	۲/۹۵ns	۷/۷۷ns	۱/۷۰*
ساکارز * نیتروژن کل	۸	۲/۷۰ns	٤/۳۸ns	۰/۱٤ns	۷/۱۸ns	۵/۸۷ns	۰/۷۹ns
خطا	٤۵	۱/۱۲	۲/۵۱	۰/۱٤	۳/۹۲	٤/٦۵	۰/٦۵

ns، ** و * به‌ترتیب عدم معنی‌داری، معنی‌داری در سطح احتمال یک و پنج درصد.

جدول ۳. مقایسه میانگین صفات اندازه‌گیری شده در غلظت‌های مختلف ساکارز

ساکارز (گرم بر لیتر)	صفات	
	تعداد گره در هر شاخساره	طول شاخساره
۲۰	۵/۳۲b	۷/۳۵a
۳۰	٦a	۷/۲۲a
٤۰	٤/۷b	۵/٦b

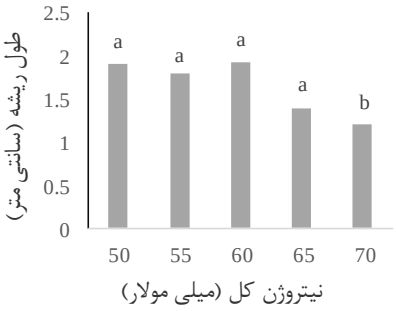
تیمارهای دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی‌داری با یکدیگر در آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

داشت (جدول ۳). طول شاخساره در تیمار حاوی ۲۰ گرم بر لیتر ساکارز نسبت به تیمار شاهد (۳۰ گرم بر لیتر) حدود ۱/۷۳ درصد افزایش را نشان داد. در مقابل، در تیمار ٤۰ گرم بر لیتر ساکارز، طول شاخساره به میزان تقریبی ۲۲/٤ درصد کاهش یافت.

– طول ریشه

طول ریشه از غلظت‌های ساکارز و اثر متقابل ساکارز × نیتروژن کل متأثر نشد، درحالی‌که به میزان معنی‌داری از غلظت‌های مختلف نیتروژن کل متأثر شد (جدول ۲). غلظت ۷۰ میلی‌مولار نیتروژن باعث کاهش معنی‌دار طول ریشه شد که طول ریشه در سایر غلظت‌های نیتروژن کل اختلاف معنی‌داری نداشتند (شکل ۷).

اختلاف معنی‌داری که بین غلظت‌های مختلف ساکارز از نظر طول شاخساره مشاهده شد، نشان‌دهنده این است که ساکارز می‌تواند به‌عنوان یک منبع کربن و انرژی برای گیاهان عمل کند (٦ و ۱۱). طول ریشه به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر غلظت‌های مختلف نیتروژن کل قرار گرفت. این نکته حائز اهمیت است که در همه غلظت‌ها، طول ریشه مناسب و حداکثر بود. این نشان‌دهنده این است که نیتروژن کل به‌عنوان یک عنصر ضروری برای رشد ریشه‌ها عمل می‌کند و افزایش غلظت آن می‌تواند به بهبود رشد ریشه‌ها کمک کند. درنهایت، نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که غلظت‌های مختلف ساکارز و نیتروژن کل تأثیرات متفاوتی بر رشد گیاهان دارند. به‌ویژه، استفاده از غلظت‌های پایین‌تر ساکارز و نیتروژن کل می‌تواند به افزایش تعداد شاخه‌های جانبی کمک کند، درحالی‌که نیتروژن



شکل ۷. متوسط طول ریشه در غلظت‌های مختلف نیتروژن

تیمارهای دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی‌داری با یکدیگر در آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

جدول ٤. مقایسه میانگین صفات اندازه‌گیری شده در غلظت‌های مختلف ساکارز

ساکارز (گرم بر لیتر)	تعداد گره در هر شاخساره	طول شاخساره
۲۰	۸/۹[a]	۱٤/۲[a]
۳۰	۹/۰۷[a]	۱/۰٤[b]
٤۰	۷/٦[b]	۹/۸[b]

تیمارهای دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی‌داری با یکدیگر در آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

کل به‌عنوان یک عامل کلیدی در افزایش طول ریشه‌ها شناخته می‌شود (٦، ۱۱ و ۲۰).

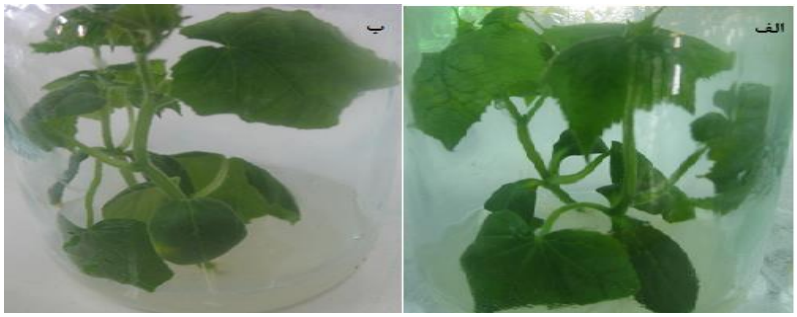
آزمایش چهارم: کشت جوانه انتهایی در محیط کشت بدون هورمون (۳۰ روز پس از کشت)

- تعداد گره در هر شاخساره

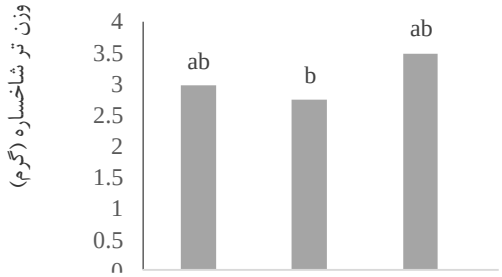
نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین غلظت‌های ساکارز از نظر تعداد گره در هر شاخساره در سطح احتمال یک درصد وجود داشت (جدول ۲). در غلظت ٤۰ گرم بر لیتر ساکارز، کمترین تعداد گره مشاهده شد که این امر می‌تواند به‌دلیل اثرات منفی غلظت‌های بالای ساکارز بر فرآیندهای متابولیکی گیاه باشد. از آنجایی که تعداد گره در هر شاخساره تحت تأثیر غلظت‌های نیتروژن کل و اثر متقابل ساکارز و نیتروژن کل قرار نگرفت، این نشان می‌دهد که ساکارز به‌عنوان یک منبع کربن می‌تواند به‌طور مستقل بر تعداد گره‌ها تأثیر بگذارد، بنابراین، استفاده از غلظت‌های پایین‌تر ساکارز (۲۰ گرم بر لیتر) می‌تواند به افزایش تعداد گره‌ها کمک کند (جدول ٤ و شکل ۸).

- طول شاخساره

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین غلظت‌های ساکارز از نظر طول شاخساره در سطح احتمال یک درصد وجود داشت (جدول ۲)، به‌طوری‌که در غلظت ۲۰ گرم بر لیتر ساکارز، بیشترین طول شاخساره (۱۲/۲ سانتی‌متر) مشاهده شد. کاهش غلظت ساکارز نسبت به شاهد (۳۰ گرم بر لیتر) می‌تواند به افزایش طول شاخساره کمک کند. از سوی دیگر، غلظت‌های مختلف نیتروژن کل و اثر متقابل ساکارز و نیتروژن کل تأثیری بر طول شاخساره نداشتند (جدول ٤). این ممکن است به این دلیل باشد که نیتروژن کل در غلظت‌های مورد بررسی به حد کافی برای تأمین نیازهای گیاهان موجود بوده و تأثیرات آن در این زمینه مشهود نبوده است.



شکل ۸. افزایش نسبی تعداد گره‌ها در کشت جوانه انتهایی. الف. تیمار ۳۰ گرم بر لیتر ساکارز، ب. ۲۰ گرم بر لیتر ساکارز.



شکل ۹. متوسط وزن تر شاخساره در غلظت‌های مختلف نیتروژن کل

تیمارهای دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی‌داری با یکدیگر در آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

– وزن تر شاخساره

نتایج جدول تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین غلظت‌های مختلف نیتروژن کل از نظر وزن تر شاخساره در سطح احتمال پنج درصد وجود داشت (جدول ۲). در غلظت ۷۰ میلی‌مولار نیتروژن کل، بیشترین وزن تر شاخساره (۳/٦۷ گرم) به‌دست آمد (شکل ۹). این نشان می‌دهد که افزایش غلظت نیتروژن کل می‌تواند به‌عنوان عامل اصلی افزایش وزن تر شاخساره عمل کند. همچنین، کمترین وزن تر شاخساره در غلظت ٦۵ میلی‌مولار نیتروژن کل مشاهده شد.

در این مرحله از آزمایش، شرایط آزمایش دوم برقرار بوده، با این تفاوت که به جای جوانه جانبی از جوانه انتهایی استفاده شده است. بررسی داده‌های حاصل از ۱۵ روز پس از کشت نشان داد که تعداد گره در هر شاخساره و طول شاخساره از غلظت‌های مختلف ساکارز و طول ریشه از غلظت‌های مختلف نیتروژن کل متأثر شد. نتایج نشان داد که غلظت پایین ساکارز (۲۰ گرم بر لیتر) و نیتروژن کل (۵۰ میلی‌مولار) در ۱۵ روز اول در بهبود پارامترهای رشدی بهتر عمل کرده‌اند و این نشان می‌دهد که برای رشد اولیه گیاهچه‌ها نیاز به مواد غذایی کمتری است. نتایج به‌دست آمده در ۳۰ روز پس از کشت، نشان داد که تعداد گره در هر شاخساره و طول شاخساره از غلظت‌های مختلف ساکارز متأثر شد، اما وزن تر شاخساره در هر سه غلظت ساکارز برابر بود. باتوجه به نتایج، غلظت پایین ساکارز در بهبود تعداد گره در هر شاخساره، تعداد شاخه جانبی، طول شاخساره و وزن تر شاخساره مؤثر بوده است. این امر نشان می‌دهد که رشد شاخساره حاصل از جوانه انتهایی نیاز به مقادیر کمتر انرژی دارد. یکی از دلایل آن می‌تواند رشد سریع شاخساره از جوانه انتهایی باشد. این درحالی است که در طی ۳۰ روز تعداد گره‌های تولیدی از ریزنمونه جوانه جانبی (در محیط کشت با و بدون BAP) به‌طور متوسط ٤ گره بود، بنابراین به‌نظر می‌رسد که ریزنمونه جوانه انتهایی برای انجام پرآوری بهتر از جوانه جانبی باشد. استقرار ۸۰ درصدی گیاهان حاصل از باززایی جوانه انتهایی در کدوتنبل براساس نتایج

جدول ۵. تجزیه واریانس صفات اندازه‌گیری شده در غلظت‌های مختلف ساکارز و نیتروژن کل در آزمایش پنجم و ششم

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات آزمایش پنجم		میانگین مربعات آزمایش ششم		
		تعداد گره	طول شاخساره	تعداد گره در هر شاخساره	طول شاخساره	قطر کالوس تحتانی
ساکارز	۲	۱۲/۸**	۱۷/٦**	۱۸/۸**	۱۰۲**	۰/٦۱**
نیتروژن	٤	۰/۳۸ns	۰/۸۸ns	۱/۱ns	۹/۹ns	۰/۳٤*
ساکارز * نیتروژن کل	۸	۰/٥٤ns	۱/٤٤ns	۱/۲ns	٥/۷ns	۰/۱٥ns
خطای آزمایشی	٤٥	۰/۹۷	۱/۰٤	۱/۷۷٤	٥/۸	۰/۱۲

ns، ** و * به‌ترتیب عدم معنی‌داری، معنی‌داری در سطح احتمال یک و پنج درصد.

مطالعات مهجبین و همکاران (۱٦) نشان می‌دهد که جوانه انتهایی منبع خوبی برای اندام‌زایی مستقیم و سریع در تیره کدوئیان است. واسودوان و همکاران (۲۷) تکنیک تولید چند شاخه‌ها را از جوانه‌های نابجا در ریزنمونه‌های جوانه انتهایی خیار شرح دادند و مشخص شد که ریزنمونه‌های جوانه انتهایی کمترین توانایی شاخه‌زایی را داشتند. غلظت‌های مختلف نیتروژن کل از بین صفات مورد اندازه‌گیری فقط روی وزن تر شاخساره تأثیر معنی‌داری داشتند. با این حال، روند خاصی با افزایش نیتروژن کل بر وزن تر شاخساره مشاهده نشد، بنابراین برای بهبود وزن تر شاخساره طول شاخساره و تعداد گره در هر شاخساره می‌توان از مقادیر پایین نیتروژن کل استفاده کرد. نتایج بالا نشان‌دهنده این است که برای پرآوری خیار از طریق جوانه انتهایی نیاز به مواد غذایی کمتری نسبت به جوانه جانبی دارد. داده‌های حاصل از کشت جوانه انتهایی در محیط کشت بدون هورمون نشان داد که کالوس تحتانی تشکیل نشد و در صورت تشکیل، اندازه آن بسیار کم بود؛ بنابراین باتوجه به آزمایش اول و دوم، می‌توان نتیجه گرفت که نوع ریزنمونه روی کالوس‌زایی از انتهای شاخساره‌ها مؤثر است. این یافته با یافته حاصل از آزمایش چهارم نیز که در آن از جوانه انتهایی استفاده شده است، مطابقت داشت. نیتروژن به‌عنوان سیگنال مولکولی در رشد گیاهان بسیار ضروری است و باعث افزایش تظاهر ژن‌های موجود در آنزیم‌هایی می‌شود که این آنزیم‌ها مسئول جذب و استفاده از نیترات هستند. به‌طورکلی، نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که غلظت‌های مختلف ساکارز و نیتروژن کل تأثیرات متفاوتی بر رشد گیاهان دارند. استفاده از غلظت‌های پایین‌تر ساکارز می‌تواند به افزایش تعداد گره‌ها و طول شاخساره کمک کند، درحالی‌که نیتروژن کل به‌عنوان یک عنصر کلیدی در افزایش وزن تر شاخساره شناخته می‌شود (۲، ٤، ۱۹ و ۲٥).

آزمایش پنجم: تأثیر غلظت‌های مختلف ساکارز و نیتروژن کل در محیط کشت ریشه‌زایی (۱٥ روز پس از کشت)

- تعداد گره در هر شاخساره

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین غلظت‌های ساکارز وجود داشت، درحالی‌که تعداد گره در هر شاخساره تحت تأثیر غلظت‌های نیتروژن کل و اثر متقابل ساکارز × نیتروژن کل قرار نگرفت (جدول ٥). در بین غلظت‌های مختلف ساکارز، کمترین تعداد گره در هر شاخساره در غلظت ٤۰ گرم بر لیتر ساکارز مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با سایر غلظت‌های ساکارز نشان داد، بنابراین افزایش غلظت ساکارز نسبت به شاهد (۳۰ گرم بر لیتر) باعث کاهش تعداد گره در هر شاخساره شده است (جدول ٦).

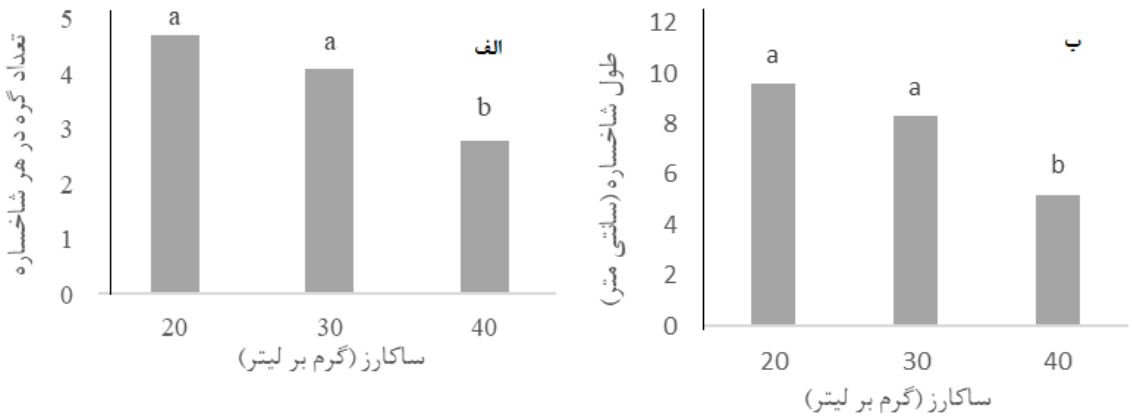
- طول شاخساره

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین غلظت‌های مختلف ساکارز از نظر طول شاخساره وجود داشت، درحالی‌که طول شاخساره تحت تأثیر غلظت‌های

جدول ٦. مقایسه میانگین صفات اندازه‌گیری شده در غلظت‌های مختلف ساکارز

ساکارز (گرم بر لیتر)	تعداد گره در هر شاخساره	طول شاخساره
٢٠	٣/٦٥[a]	٥/٠١[a]
٣٠	٣/٤٥[a]	٤/٥٧[a]
٤٠	٢/١٧[b]	٣/٢١[b]

تیمارهای دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی‌داری با یکدیگر در آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد ندارند.



شکل ١٠. متوسط تعداد گره در هر شاخساره و طول شاخساره در غلظت‌های مختلف ساکارز

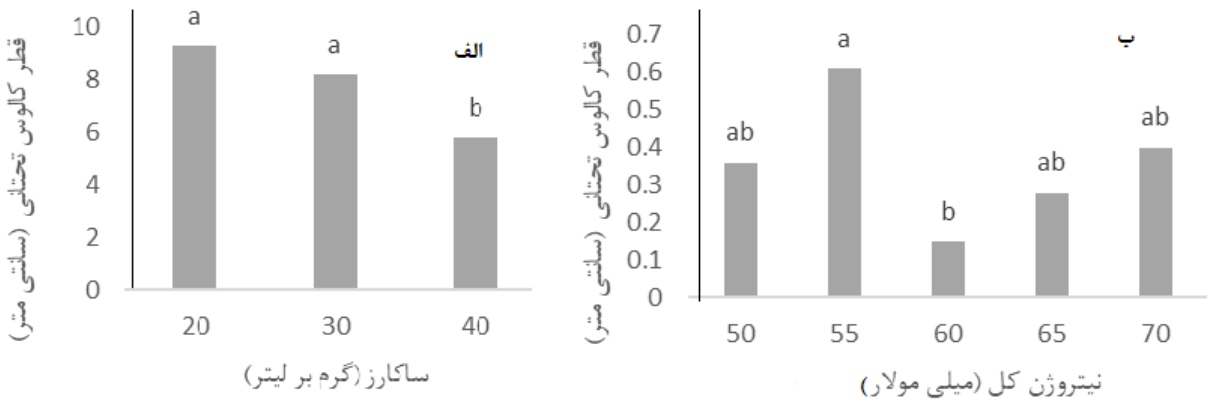
تیمارهای دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی‌داری با یکدیگر در آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

مختلف نیتروژن کل و اثر متقابل ساکارز × نیتروژن کل قرار نگرفت (جدول ٥). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که کمترین طول شاخساره (٣/٢١ سانتی‌متر) در غلظت ٤٠ گرم بر لیتر ساکارز حاصل شد که با غلظت‌های ٢٠ و ٣٠ گرم بر لیتر ساکارز اختلاف معنی‌داری از لحاظ طول شاخساره نشان داد (جدول ٦). به‌طورکلی، نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که غلظت‌های ساکارز تأثیرات قابل‌توجهی بر ویژگی‌های رشد خیار دارند، درحالی‌که نیتروژن کل و اثرات متقابل آن تأثیر معنی‌داری بر این ویژگی‌ها نداشته‌اند.

آزمایش ششم: تأثیر غلظت‌های مختلف ساکارز و نیتروژن کل در محیط کشت ریشه‌زایی (٣٠ روز پس از کشت)

– تعداد گره در هر شاخساره و طول شاخساره

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که غلظت‌های مختلف ساکارز تأثیر معنی‌داری بر تعداد گره در هر شاخساره داشتند، درحالی‌که تعداد گره در هر شاخساره از غلظت‌های مختلف نیتروژن کل و اثر متقابل غلظت‌های ساکارز × نیتروژن کل متأثر نشد (جدول ٥). کمترین تعداد گره در هر شاخساره در غلظت ٤٠ گرم بر لیتر ساکارز حاصل شد (٢/٨) که اختلاف معنی‌داری با غلظت‌های ٢٠ و ٣٠ گرم بر لیتر (شاهد) داشت، بنابراین افزایش غلظت ساکارز نسبت به شاهد (٣٠ گرم بر لیتر ساکارز) باعث کاهش تعداد گره در هر شاخساره شده است (شکل ١٠– الف). این درحالی است که غلظت‌های مختلف نیتروژن، تأثیری روی تعداد گره در هر شاخساره نداشتند. لذا می‌توان از غلظت‌های پایین‌تر نیتروژن کل برای افزایش تعداد گره در هر شاخساره استفاده نمود. همچنین، نتایج تجزیه واریانس داده‌های مربوط به طول شاخساره نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین غلظت‌های مختلف ساکارز وجود داشت، اما طول شاخساره تحت تأثیر



شکل ۱۱. متوسط قطر کالوس تحتانی در غلظت‌های مختلف ساکارز و نیتروژن کل

تیمارهای دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی‌داری با یکدیگر در آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

غلظت‌های مختلف نیتروژن کل و اثر متقابل ساکارز × نیتروژن کل قرار نگرفت (جدول ۵). کمترین طول شاخساره (۲/۵ سانتی‌متر) در غلظت ٤۰ گرم بر لیتر ساکارز مشاهده شد که با سایر غلظت‌های ساکارز اختلاف معنی‌داری نشان داد (شکل ۱۰- ب). لذا می‌توان برای افزایش طول شاخساره از غلظت‌های پایین‌تر ساکارز استفاده نمود.

- قطر کالوس تحتانی

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین غلظت‌های مختلف ساکارز و نیتروژن کل از نظر قطر کالوس تحتانی وجود داشت، درحالی‌که اثر متقابل غلظت‌های مختلف ساکارز × نیتروژن کل بر قطر کالوس تحتانی معنی‌دار نبود (جدول ۵). کمترین قطر کالوس تحتانی در غلظت ٤۰ گرم بر لیتر ساکارز حاصل شد که اختلاف معنی‌داری با سایر غلظت‌های ساکارز نشان داد. این درحالی است که بقیه غلظت‌های ساکارز، اختلاف معنی‌داری از لحاظ قطر کالوس تحتانی نشان ندادند، لذا برای کاهش قطر کالوس تحتانی می‌توان از غلظت‌های بالاتر ساکارز استفاده نمود (شکل ۱۱- الف). همچنین در غلظت ٦۰ میلی‌مولار نیتروژن کل کمترین قطر کالوس تحتانی ایجاد شد که اختلاف معنی‌داری با بقیه غلظت‌های نیتروژن کل داشت (شکل ۱۱- ب)، بنابراین افزایش غلظت ساکارز نسبت به شاهد (۳۰ گرم بر لیتر ساکارز) و کاهش غلظت نیتروژن کل نسبت به شاهد (٦۰ میلی‌مولار) احتمالاً باعث افزایش قطر کالوس تحتانی شده است.

نتایج نشان داد که غلظت پایین ساکارز (۲۰ گرم بر لیتر) و نیتروژن کل (۵۰ میلی‌مولار) در ۳۰ روز اول باعث افزایش شاخص‌های رشدی نظیر تعداد گره در هر شاخساره و طول شاخساره شده‌اند و این امر بیانگر این نکته است که برای رشد اولیه گیاهچه‌ها نیاز به مقادیر پایین ساکارز و نیتروژن کل می‌باشد. نتایج نشان داد که تعداد گره در هر شاخساره، طول شاخساره و قطر کالوس تحتانی از غلظت‌های مختلف ساکارز متأثر شد. باتوجه به نتایج، غلظت پایین ساکارز (۲۰ گرم بر لیتر) در افزایش تعداد گره در هر شاخساره و طول شاخساره مؤثر بوده است. باتوجه به معنی‌دار بودن اثر غلظت‌های مختلف ساکارز و نیتروژن کل درخصوص قطر کالوس تحتانی می‌توان نتیجه گرفت که افزایش قطر کالوس تحتانی در غلظت‌های بالای ساکارز و نیتروژن کل اتفاق می‌افتد و این امر نشان می‌دهد که جذب آب و مواد غذایی توسط کالوس در غلظت‌های بالای ساکارز و نیتروژن کل انجام گرفته است و لذا می‌توان برای جلوگیری از افزایش رشد کالوس تحتانی از مقادیر کمتر ساکارز و نیتروژن کل استفاده کرد (٤، ۷ و ۱۰).

شکل ۱۲. انتقال به گلدان

انتقال گیاهچه‌ها به خاک و سازگارکردن آن‌ها به شرایط غیر درون شیشه‌ای

گیاهچه‌هایی که رشد مطلوبی را نشان دادند، به گلدان‌های حاوی پرلایت استریل شده منتقل شدند (شکل ۱۲). پیش از انتقال، ریشه‌های گیاهچه‌ها به‌طور کامل زیر آب شسته شدند. سپس گیاهچه‌ها به گلدان‌هایی که حاوی پرلایت استریل شده بودند، منتقل شدند. انتقال گیاهان به گلخانه به‌صورت تدریجی انجام شد تا تغییرات لازم در مورفولوژی و آناتومی گیاه طی این فرآیند برای سازگاری با شرایط غیر درون شیشه‌ای ایجاد شود. به همین منظور، اطراف گلدان‌ها با نایلون پوشانده شد و به مدت ۱۵ روز در اتاق رشد با شرایط مه‌افشان نگهداری شد تا از بروز تغییرات ناگهانی محیط جلوگیری شده و گیاهان به تدریج با شرایط گلخانه‌ای سازگار شوند. درنهایت، انتقال گیاهان با توانایی زیستی بالاتر به گلدان‌های حاوی پرلایت برای نگهداری در شرایط هیدروپونیک، به‌دلیل فراهم آوردن محیطی غنی از مواد مغذی و بهینه برای رشد، می‌تواند به افزایش عملکرد و بهبود کیفیت گیاهان منجر شود. این روند به‌طور کلی به بهینه‌سازی شرایط رشد و افزایش موفقیت در کشت گیاهان از طریق روش‌های درون شیشه‌ای کمک می‌کند (۱۸، ۱۹ و ۲٤).

نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق به‌وضوح نشان‌دهنده تأثیرات قابل‌توجه غلظت‌های مختلف ساکارز و نیتروژن کل بر ویژگی‌های رشد خیار در شرایط کشت بافت است. ساکارز به‌عنوان منبع کربن در محیط‌های کشت بافت نقش کلیدی دارد و غلظت‌های متفاوت آن تأثیرات معناداری بر تعداد گره، طول شاخساره و قطر کالوس تحتانی دارند. به‌ویژه، افزایش غلظت ساکارز به‌طور مکرر منجر به کاهش تعداد گره‌ها و طول شاخساره‌ها شد که ممکن است به‌دلیل اثرات منفی آن بر فرآیندهای متابولیکی گیاه باشد. نیتروژن کل، به‌عنوان عنصر ضروری برای رشد، در این تحقیق به‌عنوان کلیدی در افزایش وزن تر شاخساره شناسایی شد، اما تأثیر آن نسبت به ساکارز کمتر بود. این نتایج ممکن است به‌دلیل کافی بودن نیتروژن کل در غلظت‌های مورد بررسی باشد. انتقال گیاهچه‌ها به گلدان و تغییر تدریجی شرایط از درون شیشه‌ای به گلخانه برای کاهش تنش و افزایش توانایی زیستی گیاهان حیاتی است. استفاده از پرلایت استریل‌شده به‌عنوان بستر کشت، به بهبود تهویه و جلوگیری از بیماری‌های قارچی کمک می‌کند و روش‌های نگهداری در شرایط مه‌افشان به حفظ رطوبت و افزایش شانس زنده ماندن گیاهچه‌ها مؤثر است.

تشکر و قدردانی

لازم است از دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز بخاطر همکاری‌های صمیمانه‌شان در انجام این مطالعه تشکر و قدردانی شود.

منابع

1. Abdelgalil, S. H., E. Mohamed, W. Jiang, H. Yu, Q. Li, P. Liu and B. N. Sallam. 2024. Influence of plant growth regulators on carbon/nitrogen metabolism of cucumber under salt stress. *European Journal of Biological Research* 14(2): 45-63.
2. Abdollahi, M. R., S. Najafi, H. Sarikhani and S. S. Moosavi. 2016. Induction and development of anther-derived gametic embryos in cucumber (*Cucumis sativus* L.) by optimizing the macronutrient and agar concentrations in culture medium. *Turkish Journal of Biology* 40(3): 571-579.
3. Alam, M. F., R. Amin, M. Uddin, S. Biswas and M. Islam. 2015. Regeneration of shoot from nodal explants of Cucumis sativus considering different hormonal concentration. *International Research Journal of Biological Sciences* 4(7): 48-52.
4. Asadi, A. 2023. In vitro callogenesis and regeneration of Cucumber plants from hypocotyl and cotyledon. *Research on Crop Ecophysiology* 18(1): 81-88.
5. Asadi, A., A. Zebarjadi, M. R. Abdollahi and J. M. Seguí-Simarro. 2018. Assessment of different anther culture approaches to produce doubled haploids in cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Euphytica* 214: 1-17.
6. Bajpai, V. K., J. E. Kim, Y. H. Park and S. C. Kang. 2017. In vivo pharmacological effectiveness of heat-treated Cucumber (*Cucumis sativus* L.) juice against CCI 4-induced detoxification in a rat model. *Indian Journal of Pharmaceutical Education & Research* 51(2): 280-287.
7. Bhojwari, S. and M. Razdan. 1996. Plant Tissue Culture: Theory and Practice a Revised. Elsevier, North Holland.
8. Dhumal, S. S., B. V. Naik and M. S. Nimbalkar. 2020. Advances in tissue culture of cucurbits: A Review. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 9(8): 2887-2910.
9. George, E. F., M. A. Hall and G. J. De Klerk. 2008. Plant Propagation by Tissue Culture. Springer, Netherlands.
10. Hamza, H. M., R. H. Diab, I. A. Khatab, R. M. Gaafar and M. Elhiti. 2024. Enhancing in vitro regeneration via somatic embryogenesis and Fusarium wilt resistance of Egyptian cucumber (*Cucumis sativus* L.) cultivars. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology* 22(1): 100360.
11. Hoang, N. N., Y. Kitaya, T. Shibuya and R. Endo. 2020. Effects of supporting materials in in vitro acclimatization stage on ex vitro growth of wasabi plants. *Scientia Horticulturae* 261: 109042.
12. Jesmin, R. and M. A. K. Mian. 2016. Callus induction and efficient plant regeneration in Cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Journal of Bioscience and Agriculture Research* 9(02): 796-803.
13. Joyia, F. A., G. Mustafa, R. Zahra, S. Munawar, M. N. Anjum and M. S. Khan. 2019. Exploiting shoot tips as an efficient explant for in vitro regeneration of cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Pure and Applied Biology* 8(2): 1824-1829.
14. Koochani, M., M. A. J. D. Ahmad, S. Arbabian, F. Ghanati and S. J. Marandi. 2020. A comparative study on the effects of ultrasound and some growth factors on somatic embryogenesis and artificial seed production in cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* 48(4): 1915-1928.
15. Li FuTong, L. F. and C. Z. Cheng ZhiHui. 2020. Optimization of in vitro culture system for cucumber (*Cucumis sativus* L.) with low regeneration frequency. *Journal of Northwest A & F University - Natural Science Edition* 48(5): 81-87.
16. Mahzabin, F., S. Parvez and M. F. Alam. 2008. Micropropagation of *Cucurbita maxima* Duch. through shoot tip culture. *Journal of Bio-Science* 16: 59-65.
17. Miguel, J. F. 2023. Influence of high concentrations of copper sulfate on in vitro adventitious organogenesis of *Cucumis sativus* L. *International Journal of Plant Biology* 14(4): 974-985.
18. Motallebi-Azar, A., S. Kazemiani and F. Yarmohamadi. 2013. Effect of sugar/osmotica levels on in vitro microtuberization of potato (*Solanum tuberosum* L.). *Russian Agricultural Sciences* 39: 112-116.
19. Motallebi-Azar, A., S. Kazemiani, F. Kiumarsie and N. Mohaddes. 2011. Shoot proliferation from node explants of potato (*Solanum tuberosum* cv. Agria). *Romanian Biotechnological Letters* 16: 6181-6186.
20. Pawełkowicz, M. E., A. Skarzyńska, T. Mróz, E. Bystrzycki and W. Pląder. 2021. Molecular insight into somaclonal variation phenomena from transcriptome profiling of cucumber (*Cucumis sativus* L.) lines. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)* 145: 239-259.
21. Ramage, C. M. and R. R. Williams. 2002. Mineral nutrition and plant morphogenesis. *In Vitro Cellular &*

Developmental Biology-Plant 38(2): 116-124.
22. Salehian, H., S. Shahnazi and M. Nazari. 2023. Production of doubled haploid plants in cucumber (*Cucumis sativus* L.) via parthenogenesis. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant* 59(4): 467-474.
23. Sorntip, A., O. Poolsawat, C. Kativat and P. A. Tantasawat. 2017. Gynogenesis and doubled haploid production from unpollinated ovary culture of cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Canadian Journal of Plant Science* 98(2): 353-361.
24. Sultana, H., L. Nahar, M. M. Hossain, T. K. Ghosh and M. S. Biswas. 2021. Response of different explants for callus induction in Cucumber. *European Journal of Biology and Biotechnology* 2(5): 71-75.
25. Sun, Y., W. Luo, Z. Li, Y. Li and L. Ni. 2017. Establishment of a high-efficiency genetic transformation system of Cucumber (*Cucumis sativus*) using csexpansin 10 (CsEXP10) gene. *International Journal of Agriculture & Biology* 19(3): 545-550.
26. Vasudevan, A., N. Selvaraj, A. Ganapathi, S. Kasthurirengan, V. Ramesh Anbazhagan and M. Manickavasagam. 2004. Glutamine: a suitable nitrogen source for enhanced shoot multiplication in *Cucumis sativus* L. *Biologia Plantarum* 48(1): 125-128.
27. Vasudevan, A., N. Selvaraj, P. S. Kumar and A. Ganapathi. 2001. Multiple shoot induction from shoot tip explants of cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Report-Cucurbit Genetics Cooperative* 24: 8-12.
28. Venkatachalam, P., U. Jinu, P. Sangeetha, N. Geetha and S. V. Sahi. 2018. High frequency plant regeneration from cotyledonary node explants of *Cucumis sativus* L. cultivar ‘Green Long’ via adventitious shoot organogenesis and assessment of genetic fidelity by RAPD-PCR technology. *3 Biotech* 8: 1-12.
29. Zhou, X. and F. Wu. 2018. Vanillic acid changed cucumber (*Cucumis sativus* L.) seedling rhizosphere total bacterial, Pseudomonas and Bacillus spp. communities. *Scientific Reports* 8(1): 4929.