

## استفاده از مانیتول به عنوان عامل تنش خشکی بر گیاهچه‌های حاصل از بذور حقیقی سیب‌زمینی در کشت درون شیشه‌ای

کبری امینی<sup>۱\*</sup>، رسول اصغری زکریا<sup>۲</sup> و ساراسادات قزاقی<sup>۲</sup>

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد اصلاح نباتات، دانشگاه محقق اردبیلی

۲- عضو هیئت علمی گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه محقق اردبیلی

### چکیده

به منظور ارزیابی درون شیشه‌ای ژنوتیپ‌های سیب‌زمینی برای تحمل به خشکی آزمایشی به صورت فاکتوریل بر اساس طرح کاملاً تصادفی با دو فاکتور انجام شد. فاکتور اول گیاهچه‌های تک گره ساقه حاصل از بذور حقیقی حاصل از آزاد گرده-افشانی پنج ژنوتیپ سیب‌زمینی شامل آگریا، کایزر، گرانولا، CIP-۹۹۴۰۰۱ و ساتینا و فاکتور دوم پنج غلظت متفاوت مانیتول (صفر، ۰/۱، ۰/۲، ۰/۳ و ۰/۴ مولار) بودند. سطوح مختلف تنش در محیط کشت MS اعمال و صفات طول ریشه، طول گیاهچه، وزن تر و خشک ریشه و وزن تر و خشک اندام‌های هوایی اندازه‌گیری شد. پاسخ ژنوتیپ‌ها و اثر متقابل ژنوتیپ × تنش معنی‌دار بود ( $p \leq 0/001$ ). با افزایش غلظت مانیتول تمامی صفات مورد مطالعه کاهش یافت. در غلظت ۰/۲ مولار مانیتول، گیاهچه‌های حاصل از بذور حقیقی ژنوتیپ CIP-۹۹۴۰۰۱ و آگریا از لحاظ وزن خشک ریشه و وزن تر ریشه به طور معنی‌دار بزرگتر از سه ژنوتیپ دیگر بودند ولی سه ژنوتیپ دیگر تفاوت معنی‌داری باهم نداشتند. محاسبه شاخص تحمل (درصد کاهش نسبت به شرایط شاهد) نشان داد که گیاهچه‌های حاصل از بذور حقیقی پروژنی CIP-۹۹۴۰۰۱ از لحاظ وزن تر و خشک ریشه و وزن تر و خشک ساقه درصد کاهش کمتری نسبت به گیاهچه‌های حاصل از بذور حقیقی چهار ژنوتیپ دیگر داشت. در حالی که، برای طول گیاهچه و طول ریشه درصد کاهش گیاهچه‌های حاصل از بذور حقیقی ژنوتیپ ساتینا کمتر از چهار ژنوتیپ دیگر بود.

**کلمات کلیدی:** این ویترو، تحمل خشکی، بذور حقیقی سیب‌زمینی، مانیتول، کشت تک گره

### مقدمه

در مناطق خشک و نیمه خشک جهان آب قابل دسترس گیاه به اندازه کافی موجود نیست و این امر به طرق مختلف باعث کاهش تولید محصولات زراعی می‌شود. بنابراین، ارقامی که در دامنه وسیعی از شرایط رطوبتی بتوانند پاسخ‌های مناسبی بدهند، مورد توجه اصلاح‌حکمران و فیزیولوژیست‌ها می‌باشند. به همین جهت امروزه بخش وسیعی از مطالعات به‌نژادی به مطالعه در زمینه واکنش گیاهان به کمبود آب و تنش خشکی اختصاص یافته است (دمانگت و همکاران، ۱۹۹۱). در این راستا استفاده

\* Email: amini\_ko86@yahoo.com

از تکنیک کشت بافت می‌تواند مکمل روش‌های به‌نژادی معمول در جهت افزایش تحمل گیاهان در برابر تنش‌های زیستی و غیر زیستی باشد (بانسال و همکاران، ۱۹۹۱). کمبود آب تنشی رایج در تولید سیب‌زمینی می‌باشد که منجر به کاهش کیفیت و عملکرد غده می‌شود (گوپال و ایواما، ۲۰۰۷). اخیراً تلاش‌های زیادی برای توسعه کولتیوارهای متحمل به خشکی صورت گرفته است. با این حال، تکنیک‌های اصلاحی مرسوم وقت گیر بوده و زحمت زیادی می‌طلبند. بنابراین، توسعه تکنیک‌های غربال سریع برای کوتاه کردن زمان در برنامه‌های اصلاحی خیلی مهم می‌باشد (گوپال و ایواما، ۲۰۰۷). در بررسی رشد نوساقه-های سیب‌زمینی در محیط کشت حاوی غلظت‌های ۶،۴،۲ درصد مانیتول، مشخص گردید که مانیتول به طور متداول باعث کاهش رشد در کشت این‌ویترو می‌شود (مدنی و همکاران، ۱۳۸۳). استفاده از بذور حقیقی سیب‌زمینی به جهت درجه هتروزیگوتی بالایی که در آن‌ها وجود دارد، می‌تواند منبع مناسبی برای شناسایی ژنوتیپ‌های متحمل سیب‌زمینی باشند. در این پژوهش بذور حقیقی چند ژنوتیپ سیب‌زمینی برای تحمل به خشکی در شرایط این‌ویترو مورد ارزیابی قرار گرفت.

### مواد و روش‌ها

بذرهای حقیقی آزادگرده‌افشان ۵ ژنوتیپ مختلف سیب‌زمینی شامل ارقام آگریا، کایزر، CIP-۹۹۴۰۰۱، گرانولا و ساتینا تهیه و با الکل ۷۰٪ و هیپوکلریت سدیم ۱٪ ضدعفونی شدند و پس از سه بار شستشو با آب مقطر استریل به محیط ریزازدیادی منتقل شدند و پس از سه هفته گیاهچه‌هایی را برای تکثیر گیاه اصلی به وجود آوردند. گره‌ها از وسط هر گیاهچه انتخاب شده، به طوری که، هر ریزنمونه گره‌دار دارای یک برگ و یک جوانه بود. ریز نمونه‌ها در لوله آزمایش پیرکس ۲۵ × ۱۵۰ میلی‌متر حاوی ۱۰ میلی‌لیتر محیط کشت، کشت شدند. برای اعمال تنش، به محیط کشت مانیتول در غلظت‌های صفر، ۰/۱، ۰/۲، ۰/۳ و ۰/۴ مولار اضافه شد.

محیط کشت به کار رفته در این آزمایش محیط کشت MS (موراشینک و اسکوگ، ۱۹۶۲) با ۳٪ ساکارز و ۰/۸٪ آگار بود که پس از تنظیم pH به حدود ۵/۸، در اتوکلاو در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد برای مدت ۲۰ دقیقه استریل شد. لوله‌های آزمایش محتوی گیاهچه‌ها در انکوباتور در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و در ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی قرار گرفت. بعد از ۴۰ روز گیاهچه‌ها از انکوباتور برداشته شده و صفات طول ریشه، طول گیاهچه، وزن تر و خشک ریشه و وزن تر و خشک اندام‌های هوایی اندازه‌گیری شد. داده‌های حاصل با استفاده از نرم‌افزارهای آماری SPSS و MSTATC مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. شاخص تحمل ژنوتیپ‌ها به صورت درصد کاهش نسبت به شرایط نرمال و با استفاده از فرمول  $100(Y_p - Y_s) / Y_p$  محاسبه گردید که در آن  $Y_p$  و  $Y_s$  به ترتیب عملکرد ژنوتیپ‌ها در شرایط شاهد و تنش ۰/۲ مولار مانیتول بود.

### نتایج و بحث

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که بین سطوح مانیتول و بین ژنوتیپ‌ها تفاوت معنی‌دار از نظر طول ریشه، طول گیاهچه، وززن تر و خشک ریشه و اندام‌های هوایی در سطح احتمال ۱٪ وجود دارد.

**جدول ۲-** تاثیر سطوح متفاوت مانیتول بر صفات مختلف در گیاهچه‌های حاصل از بذر حقیقی سیب‌زمینی و مقادیر درصد کاهش در شرایط تنش ۰/۲ مولار مانیتول نسبت به شاهد به عنوان شاخص تحمل ژنوتیپ‌های مختلف سیب‌زمینی

تحمل (%)	سطوح مانیتول					ژنوتیپ	صفت
	۰/۴	۰/۳	۰/۲	۰/۱	۰/۰۰۰		
۷۳/۶۳۸	۱/۳۷۵ <sup>j</sup>	۲/۰۰۰ <sup>ij</sup>	۳/۰۰۰ <sup>hig</sup>	۵/۱۲۵ <sup>fg</sup>	۱۱/۳۸ <sup>b</sup>	آگریا	PL (cm)
۷۷/۱۹۷	۱/۰۵۰ <sup>j</sup>	۱/۷۵۰ <sup>ij</sup>	۲/۷۲۵ <sup>hij</sup>	۵/۵۰۰ <sup>f</sup>	۱۱/۹۵ <sup>b</sup>	کایزر	
۷۱/۲۸۵	۱/۲۷۵ <sup>j</sup>	۲/۰۰۰ <sup>ij</sup>	۴/۰۰۰ <sup>gh</sup>	۷/۰۷۵ <sup>e</sup>	۱۳/۹۳ <sup>a</sup>	CIP	
۷۱/۸۹۹	۱/۱۲۵ <sup>j</sup>	۱/۴۷۵ <sup>j</sup>	۲/۷۷۵ <sup>hij</sup>	۶/۷۵۰ <sup>e</sup>	۹/۸۷۵ <sup>c</sup>	گرانولا	
۶۵/۴۰۷	۱/۱۷۵ <sup>j</sup>	۱/۵۷۵ <sup>j</sup>	۲/۹۷۵ <sup>hig</sup>	۳/۴۵۰ <sup>hi</sup>	۸/۶۰۰ <sup>d</sup>	ساتینا	
۳۹/۰۲۳	۰/۰۰۰ <sup>i</sup>	۴/۸۰۰ <sup>ef</sup>	۶/۲۵۰ <sup>de</sup>	۹/۵۵۰ <sup>ab</sup>	۱۰/۲۵ <sup>a</sup>	آگریا	RL (cm)
۵۵/۳۸۵	۰/۰۰۰ <sup>i</sup>	۱/۹۰۰ <sup>gh</sup>	۳/۶۲۵ <sup>fg</sup>	۶/۴۵۰ <sup>de</sup>	۸/۱۲۵ <sup>bc</sup>	کایزر	
۳۵/۲۷۴	۰/۰۰۰ <sup>i</sup>	۴/۵۷۵ <sup>ef</sup>	۴/۷۲۵ <sup>ef</sup>	۵/۵۷۵ <sup>def</sup>	۷/۳۰۰ <sup>cd</sup>	CIP	
۵۵/۷۲۳	۰/۰۰۰ <sup>i</sup>	۲/۲۲۵ <sup>gh</sup>	۳/۶۷۵ <sup>fg</sup>	۶/۳۷۵ <sup>de</sup>	۸/۳۰۰ <sup>bc</sup>	گرانولا	
۳۰/۳۱۵	۱/۵۷۵ <sup>h</sup>	۲/۱۵۰ <sup>gh</sup>	۴/۴۲۵ <sup>ef</sup>	۵/۴۲۵ <sup>def</sup>	۶/۳۵۰ <sup>de</sup>	ساتینا	
۵۰/۴۲۴	۰/۰۰۰ <sup>g</sup>	۱۶/۵۰ <sup>ef</sup>	۲۹/۲۵ <sup>bcd</sup>	۴۰/۲۵ <sup>b</sup>	۵۹/۰۰ <sup>a</sup>	آگریا	RFW (mg)
۶۰/۴۱۷	۰/۰۰۰ <sup>g</sup>	۹/۲۵۰ <sup>efg</sup>	۱۴/۲۵ <sup>ef</sup>	۱۹/۰۰ <sup>def</sup>	۳۶/۰۰ <sup>b</sup>	کایزر	
۲۱/۷۴۰	۰/۰۰۰ <sup>g</sup>	۱۴/۷۵ <sup>ef</sup>	۳۱/۵۰ <sup>bc</sup>	۳۳/۰۰ <sup>bc</sup>	۴۰/۲۵ <sup>b</sup>	CIP	
۶۶/۰۳۸	۰/۰۰۰ <sup>g</sup>	۱۰/۰۰ <sup>efg</sup>	۱۳/۵۰ <sup>ef</sup>	۳۰/۰۰ <sup>bcd</sup>	۳۹/۷۵ <sup>b</sup>	گرانولا	
۵۱/۵۱۴	۷/۰۰ <sup>fg</sup>	۸/۷۵۰ <sup>efg</sup>	۱۶/۰۰ <sup>ef</sup>	۲۲/۰۰ <sup>cde</sup>	۳۳/۰۰ <sup>bc</sup>	ساتینا	
۵۱/۲۸۱	۰/۰۰۰ <sup>h</sup>	۱/۵۰۰ <sup>gh</sup>	۴/۷۵۰ <sup>cd</sup>	۸/۰۰۰ <sup>b</sup>	۹/۷۵۰ <sup>a</sup>	آگریا	RDW (mg)
۷۰/۹۶۸	۰/۰۰۰ <sup>h</sup>	۰/۹۵۰ <sup>gh</sup>	۲/۲۵۰ <sup>fg</sup>	۳/۵۰۰ <sup>def</sup>	۷/۷۵۰ <sup>b</sup>	کایزر	
۳۴/۳۷۵	۰/۰۰۰ <sup>h</sup>	۱/۵۰۰ <sup>gh</sup>	۵/۲۵۰ <sup>c</sup>	۶/۵۰۰ <sup>b</sup>	۸/۰۰۰ <sup>b</sup>	CIP	
۷۸/۵۷۰	۰/۰۰۰ <sup>h</sup>	۰/۹۰۰ <sup>gh</sup>	۲/۲۵۰ <sup>fg</sup>	۹/۵۰۰ <sup>a</sup>	۱۰/۵۰ <sup>a</sup>	گرانولا	
۵۶/۶۶۶	۰/۸۵۰ <sup>gh</sup>	۱/۲۵۰ <sup>gh</sup>	۳/۲۵۰ <sup>ef</sup>	۴/۰۰۰ <sup>cde</sup>	۷/۵۰۰ <sup>b</sup>	ساتینا	
۷۹/۱۱۱	۱۵/۵۰ <sup>f</sup>	۲۰/۷۵ <sup>f</sup>	۲۳/۵۰ <sup>f</sup>	۴۰/۷۵ <sup>e</sup>	۱۱۲/۵ <sup>b</sup>	آگریا	SFW (mg)
۷۵/۰۰۰	۶/۷۵۰ <sup>f</sup>	۱۴/۵۰ <sup>f</sup>	۲۱/۰۰ <sup>f</sup>	۳۹/۰۰ <sup>e</sup>	۸۴/۰۰ <sup>c</sup>	کایزر	
۵۲/۶۰۰	۱۵/۰۰ <sup>f</sup>	۲۳/۵۰ <sup>f</sup>	۵۹/۲۵ <sup>d</sup>	۸۷/۷۵ <sup>c</sup>	۱۲۵/۰ <sup>a</sup>	CIP	
۷۸/۶۴۶	۱۰/۰۰ <sup>f</sup>	۱۲/۰۰ <sup>f</sup>	۲۲/۰۰ <sup>f</sup>	۷۵/۰۰ <sup>c</sup>	۱۰۳/۰ <sup>b</sup>	گرانولا	
۷۷/۹۸۳	۹/۵۰۰ <sup>f</sup>	۱۱/۵۰ <sup>f</sup>	۲۳/۰۰ <sup>f</sup>	۳۹/۰۰ <sup>e</sup>	۱۰۴/۵ <sup>b</sup>	ساتینا	
۷۲/۰۹۲	۲/۵۰۰ <sup>de</sup>	۳/۲۵۰ <sup>de</sup>	۶/۰۰۰ <sup>de</sup>	۱۲/۷۵ <sup>bc</sup>	۲۱/۵۰ <sup>a</sup>	آگریا	SDW (mg)
۶۶/۰۷۳	۱/۲۵۰ <sup>e</sup>	۱/۷۵۰ <sup>e</sup>	۴/۷۵۰ <sup>de</sup>	۷/۷۵۰ <sup>cde</sup>	۱۴/۰۰ <sup>bc</sup>	کایزر	
۵۱/۹۴۷	۲/۷۵۰ <sup>de</sup>	۳/۷۵۰ <sup>de</sup>	۹/۲۵۰ <sup>cd</sup>	۱۴/۰۰ <sup>bc</sup>	۱۹/۲۵ <sup>ab</sup>	CIP	
۷۲/۹۷۳	۱/۲۵۰ <sup>e</sup>	۱/۷۵۰ <sup>e</sup>	۵/۰۰۰ <sup>de</sup>	۱۴/۲۵ <sup>bc</sup>	۱۸/۵۰ <sup>ab</sup>	گرانولا	
۷۵/۳۴۱	۱/۲۲۵ <sup>e</sup>	۱/۷۵۰ <sup>e</sup>	۴/۵۰۰ <sup>de</sup>	۸/۷۵۰ <sup>cde</sup>	۱۸/۲۵ <sup>ab</sup>	ساتینا	

اثر متقابل ژنوتیپ × مانیتول نیز برای صفات مذکور معنی دار بود. مانیتول یک قند ۶ کربنه است که به طور طبیعی در بسیاری از گیاهان ساخته می‌شود. و در آنها به عنوان آنتی‌اکسیدان و تعدیل کننده تنش خشکی و شوری عمل می‌کند. از آنجایی که این قند الکلی به وسیله گیاهان متابولیزه نمی‌شود، به عنوان یک ماده اسموتیکوم در کشت بافت گیاهی استفاده می‌گردد (مدنی و همکاران، ۱۳۸۳).

در اغلب آزمایشات، مشخص شده که رشد ریشه نسبت به رشد ساقه خیلی مقاوم به کمبود آب می‌باشد (گوپال و ایواما، ۲۰۰۷). بنابراین تنش خشکی نسبت طول ریشه به طول ساقه و هم چنین نسبت طول ریشه به حجم ریشه را افزایش می‌دهد (گوپال و همکاران، ۲۰۰۷). در بررسی تنش آب بر روی ژنوتیپ‌های سیب زمینی توسط کریس جکوسوهارجو (۲۰۰۷) مشخص شد که، بر خلاف انتظار، تنش آب در شرایط این ویترو نسبت طول ریشه به طول ساقه را به طور معنی‌دار افزایش نداده است و میزان افزایش به مقدار خیلی کم بوده است. تاثیر سطوح متفاوت مانیتول بر روی این صفات در جدول ۱ آورده شده است. بر اساس طول ریشه در حالت بدون تنش بذریه حقیقی حاصل از ژنوتیپ آگریا بالاترین طول ریشه را داشت و کمترین طول ریشه را ژنوتیپ ساتینا داشت. در تنش ۰/۳ مولار مانیتول، بذریه حقیقی حاصل از ژنوتیپ آگریا و CIP-۹۹۴۰۰۱ بالاترین طول ریشه را داشته اما بین سه ژنوتیپ دیگر تفاوت معنی‌دار دیده نشد. در تنش ۰/۲ مولار، طول ساقه ژنوتیپ CIP-۹۹۴۰۰۱ به طور معنی‌دار بزرگتر از چهار ژنوتیپ دیگر بود در حالی که بین چهار ژنوتیپ تفاوت معنی‌دار وجود نداشت. در موقع تنش آبی، تجمع اسید آسزیک در ریشه، رشد ریشه را حفظ و رشد شاخسار را کاهش می‌دهد (کیرناک و همکاران، ۲۰۰۱). در تنش ۰/۲ مولار مانیتول، گیاهچه‌های حاصل از ژنوتیپ آگریا و CIP-۹۹۴۰۰۱ دارای وزن خشک و تر ریشه بزرگتری نسبت به ژنوتیپ‌های دیگر بودند ولی بین سه ژنوتیپ دیگر تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. در تنش ۰/۲ مولار مانیتول، وزن تر ساقه ژنوتیپ CIP-۹۹۴۰۰۱ بزرگتر از چهار ژنوتیپ دیگر بود در صورتی که بین چهار ژنوتیپ دیگر تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. در غلظتهای ۰/۳ و ۰/۴ مولار مانیتول، بین ژنوتیپ‌ها از لحاظ صفات طول گیاهچه، وزن تر و خشک ریشه، وزن تر و خشک ساقه اختلاف معنی‌دار وجود نداشت که این امر به علت کاهش شدید پتانسیل اسمزی محیط کشت و در نتیجه کاهش جذب مواد غذایی می‌باشد. هم چنین در غلظت ۰/۴ مولار، به جز ژنوتیپ ساتینا هیچ کدام از ژنوتیپ‌ها ریشه‌ای تولید نکردند.

## منابع

مدنی ش. احسانپور ع. الف. و ص. ولیان بروجنی. ۱۳۸۳. مطالعه تغییرات حاصل از کشت طولانی مدت نوساقه‌های سیب‌زمینی در مانیتول با استفاده از RAPD-PCR. مجله علوم دانشگاه تهران، جلد سی‌ام، شماره ۳، ص ۴۹۵-۵۰۶.

Bansal, K.C., S. Nagarajan N.P. Sukumaran., 1991. A rapid screening for drought resistance in potato (*Solanum tuberosum* L.). Potato Res. 34: 241-248.

Demangnet, A.L., P.M. Harris P.Vander Zaag., 1991. A promising method for screening drought tolerance in potato using apical cutting. Am. Potato. J. 72:72-588.

**Gopal, J. K. Iwama., 2007.** In vitro screening of potato against water –stress mediated through Sorbitol and polyethylene glycol. *Plant Cell Rep.* 26: 693-700.

**Kris Joko Suharjo, U., 2007.** Use of polyethylene glycol 8000 for rapid screening of potato (*Solanum Tubersum L.*) genotypes for water stress tolerance. A thesis submitted in partial fulfilment of the requirements for the degree of Doctor of philosophy (in plant science).

**Kirnak, H., C. Kaya, I. Tas, and D. Higgs. 2001.** The influence of water deficit on vegetative growth, physiology, fruit yield and quality in egg Plants. *Bulgarian Journal Plant Physiolog.* 27 (3-4): 34-40.

**Murashige. T., Skoog, F. 1962.** A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. *Physiol Plant* 15: 473-497.

## In vitro evaluation of drought tolerance in potato plantlets obtained from true seeds using mannitol

Amini Kobra<sup>1</sup>, Asghari-Zakaria<sup>1</sup> Rasool and Ghazaghi<sup>1</sup> Sarasadat

1. M. Sc. student and Assistant Professor Department of Agronomy and Plant Breeding  
Faculty of Agriculture, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

### Abstract

In order to evaluate in vitro potato genotypes to drought tolerance, an experiment was done as a factorial experiment with two factors based on completely randomized design. The first factor include single node explants derived from true potato seeds of five open pollinated genotypes (Agria, caesar, Geranula, CTP-994001 and satina) and the second factor included four concentrations of Mannitol (0, 0.1, 0.2, 0.3 and 0.4 M) that added in MS medium. Root and shoot length, fresh and dry weights of root and shoot were measured in plantlet that grew in medium with different concentration of mannitol. Differences between genotypes and interaction of genotypes  $\times$  mannitol were significant ( $P \leq 0/01$ ) at all of traits. All of traits decreased with increase in the concentration of mannitol. At 0.2 M concentration of mannitol, the plantlets derived from true seeds of CIP-994001 and Agria had significantly higher fresh and dry weight of root than the other three genotypes and the difference between the latter three genotypes was not significant. Tolerance index (the percentage of decreasing) traits at different 0.2 M concentration of mannitol compared with control) showed that CTP-994001 true seed plantlets had little decrease in fresh and dry weight of root and shoot in comparison with other four genotypes. And satina plantlets had lower decrease in root and shoot length than the other four genotypes.

Keyword: invitro, drought tolerance, true seed potato, mannitol, single-node culture