

ارزیابی درون شیشه‌ای گیاهچه‌های حاصل از بذر حقیقی سیب‌زمینی از نظر تحمل خشکی

کبری امینی^{*}، رسول اصغری زکریا^۲ و ساراسادات قزاقی^۲

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 بذر حقیقی حاصل از آزاد گرده- افشانی چهار پروژنی سیب‌زمینی شامل آگریا، کایزر، گرانولا و CIP-۹۹۴۰۰۱ و فاکتور دوم چهار غلظت متفاوت پلی اتیلن- گلیکول (صفر، ۳، ۶ و ۹ میلی مولار PEG 6000) بودند. سطوح مختلف تنش در محیط کشت MS اعمال و صفات طول ریشه، طول گیاهچه، وزن تر ریشه، وزن تر اندام‌های هوایی، وزن خشک ریشه و وزن خشک اندام‌های هوایی اندازه‌گیری شد. پاسخ ژنوتیپ‌ها و اثر متقابل ژنوتیپ × تنش معنی‌دار بود ($p \leq 0/001$). در بالاترین سطح تنش (غلظت ۹ میلی مولار پلی اتیلن- گلیکول)، گیاهچه‌های حاصل از بذور حقیقی پروژنی CIP-۹۹۴۰۰۱ از لحاظ طول گیاهچه، وزن تر ریشه و وزن تر ساقه به طور معنی‌دار بزرگتر از گیاهچه‌های حاصل از بذور حقیقی سه کولتیوار دیگر بود. همچنین، در همین غلظت، طول ریشه، وزن خشک ریشه و وزن خشک ساقه گیاهچه‌های حاصل از بذور حقیقی پروژنی CIP-۹۹۴۰۰۱ و گرانولا بزرگتر از کایزر و آگریا بود، اما بین این دو تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. محاسبه شاخص تحمل (درصد کاهش نسبت به شرایط شاهد) نشان داد که گیاهچه‌های حاصل از بذور حقیقی پروژنی CIP-۹۹۴۰۰۱ از لحاظ طول گیاهچه، وزن تر ریشه و وزن تر ساقه درصد کاهش کمتری نسبت به گیاهچه‌های حاصل از بذور حقیقی سه کولتیوار دیگر داشت. در حالی که، برای طول ریشه و وزن خشک ریشه درصد کاهش گیاهچه‌های حاصل از بذور حقیقی پروژنی CIP-۹۹۴۰۰۱ و کولتیوار گرانولا تقریباً برابر و کمتر از دو پروژنی دیگر بود. بنابراین، می‌توان ژنوتیپ‌های متحمل به خشکی را از بین بذور حقیقی حاصل از پروژنی CIP-۹۹۴۰۰۱- گزینش کرد.

کلمات کلیدی: این ویترو، تحمل خشکی، بذر حقیقی سیب‌زمینی و پلی اتیلن گلیکول

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 اصلاح‌حگران و فیزیولوژیست‌ها می‌باشند. به همین جهت امروزه بخش وسیعی از مطالعات به‌نژادی به مطالعه

* Email: amini_ko86@yahoo.com

در زمینه واکنش گیاهان به کمبود آب و تنش خشکی اختصاص یافته است (دمانگنت و همکاران، ۱۹۹۱). در این راستا استفاده 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 (حسن پناهی و همکاران، ۲۰۰۸). اخیراً تلاش‌های زیادی برای توسعه کولتیوارهای متحمل به خشکی صورت گرفته است. با این حال، تکنیک‌های اصلاحی مرسوم وقت گیر بوده و زحمت زیادی می‌طلبد. بنابراین، توسعه تکنیک‌های غربال سریع برای کوتاه کردن زمان در برنامه‌های اصلاحی خیلی مهم می‌باشد (گوپال و ایواما، ۲۰۰۷). گوپال و ایواما (۲۰۰۷) با بررسی گیاهچه‌های حاصل از سه ژنوتیپ سیب‌زمینی برای تحمل خشکی در شرایط این‌ویتر و نشان دادند که در غلظت‌های مختلف پلی‌اتیلن گلیکول بین ژنوتیپ‌ها اختلاف معنی‌دار وجود دارد. به طوری که، برخی از ژنوتیپ‌ها دارای ریشه‌های بیشتر، حجم ریشه و هم‌چنین وزن خشک ریشه بیشتر می‌باشند. در تحقیقی که بوسیله کریس جوکو سوهارجو (۲۰۰۷) در شرایط درون شیشه‌ای برای ارزیابی تحمل خشکی در ژنوتیپ‌های مختلف سیب‌زمینی با استفاده از پلی‌اتیلن- گلیکول ۸۰۰۰ انجام گرفت، مشخص گردید که کاهش رشد در ژنوتیپ‌های متحمل به خشکی کمتر از ژنوتیپ‌های حساس می‌باشد و هم‌چنین پلی‌اتیلن گلیکول ۸۰۰۰ به طور معنی‌داری باعث کاهش تعداد ریزغده و وزن ریزغده می‌شود. 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 این‌ویتر و مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

بذرهای حقیقی حاصل آزاد کرده‌افشانی ۳ کولتیوار مختلف سیب‌زمینی (آگریا، کایزر، و گرانولا) و کلون‌های حاصل از یک پروژنی با منشاء مرکز بین‌المللی سیب‌زمینی (CIP-۹۹۴۰۰۱) تهیه و با الکل ۷۰٪ و هیپوکلریت سدیم ۱٪ ضدعفونی شدند و پس از شستشو با آب مقطر استریل سه بار به محیط ریزازدیادی منتقل شدند و پس از سه هفته گیاهچه‌هایی را برای تکثیر گیاه اصلی به وجود آوردند. ریز نمونه‌ها در لوله آزمایش پیرکس ۲۵ × ۱۵۰ میلی متر حاوی ۱۰ میلی لیتر محیط کشت، کشت شدند. برای اعمال تنش، به محیط کشت پلی‌اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ در غلظت‌های صفر، ۳، ۶ و ۹ میلی مولار اضافه شد. محیط کشت به کار رفته در این آزمایش محیط کشت MS (موراشیک و اسکوگ، ۱۹۶۲) با ۳٪ ساکارز و ۰/۸٪ آگار بود که پس از تنظیم PH به حدود ۵/۷۷ 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، صفات طول ریشه، طول گیاهچه، وزن تر ریشه، وزن تر اندام‌های هوایی، وزن خشک ریشه و وزن 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

پلی اتیلن گلیکول بود. $100(Y_p - Y_s)/Y_p$ محاسبه گردید که در آن Y_p و Y_s به ترتیب عملکرد ژنوتیپ‌ها در شرایط شاهد و تنش ۹ میلی‌مولار پلی اتیلن گلیکول بود.

جدول ۱- تاثیر سطوح متفاوت پلی اتیلن گلیکول بر صفات مختلف در گیاهچه‌های حاصل از بذر حقیقی سیب‌زمینی و مقادیر درصد کاهش در شرایط تنش ۹ میلی‌مولار پلی اتیلن گلیکول نسبت به شاهد به عنوان شاخص تحمل پروژنی‌های مختلف سیب‌زمینی.

شاخص تحمل (%)	سطوح پلی اتیلن گلیکول				پروژنی	صفت
	۰/۰۰۹	۰/۰۰۶	۰/۰۰۳	۰/۰۰۰		
۵۳/۱	۴/۶۷۵ ^e	۸/۱۵۰ ^c	^b ۱۰/۸۸	^b ۹/۹۷۵	آگریا	طول گیاهچه (cm)
۶۶/۳	۳/۶۰۰ ^f	۴/۹۷۵ ^e	^d ۷/۲۲۵	^b ۱۰/۶۷	کایزر	
۳۳/۹	۷/۸۷۵ ^{cd}	۱۰/۰۵ ^b	^b ۱۰/۵۰	^a ۱۱/۹۳	CIP-۹۹۴۰۰۱	
۵۹/۷	۴/۸۰۰ ^e	۷/۳۲۵ ^d	۷/۳۰۰ ^d	^a ۱۱/۹۰	گرانولا	
۶۲/۹	۳/۵۷۵ ^f	۷/۵۲۵ ^d	۶/۳۰۰ ^e	۹/۶۵۰ ^b	آگریا	طول ریشه (cm)
۴۱/۲	۶/۳۲۵ ^e	۸/۶۲۵ ^c	۹/۷۰۰ ^b	۱۰/۷۵ ^a	کایزر	
۱۹/۵	۸/۱۵۰ ^{cd}	^c ۸/۶۵۰	۹/۹۰۰ ^b	۱۰/۱۳ ^{ab}	CIP-۹۹۴۰۰۱	
۱۵/۰	۸/۳۵۰ ^{cd}	۷/۹۷۵ ^{cd}	۸/۱۰۰ ^{cd}	۹/۸۲۵ ^b	گرانولا	
۵۴/۴	۲۲/۲۵ ^{gh}	۲۶/۰۰ ^{fg}	۲۴/۲۵ ^{fg}	۴۸/۷۵ ^{ab}	آگریا	وزن تر ریشه (mg)
۴۶/۴	۱۸/۵۰ ^h	۲۸/۵۰ ^{ef}	۳۵/۵۰ ^d	۳۴/۵۰ ^d	کایزر	
۳۸/۷	۳۱/۲۵ ^{de}	۴۱/۲۵ ^c	۴۷/۰۰ ^{ab}	۵۱/۰۰ ^a	CIP-۹۹۴۰۰۱	
۵۰/۳	۲۴/۵۰ ^{fg}	۴۳/۷۵ ^{bc}	۴۷/۷۵ ^{ab}	۴۹/۲۵ ^a	گرانولا	
۷۶/۰	۳۲/۷۵ ⁱ	۸۶/۵۰ ^e	۹۱/۵۰ ^d	۱۳۶/۵ ^a	آگریا	وزن تر ساقه (mg)
۷۱/۸	۳۷/۲۵ ⁱ	۵۹/۲۵ ^g	۷۸/۷۵ ^f	۱۳۲/۳ ^{ab}	کایزر	
۳۹/۱	۷۷/۷۵ ^f	۱۱۷/۸ ^c	۱۲۱/۵ ^c	۱۲۷/۸ ^b	CIP-۹۹۴۰۰۱	
۶۶/۷	۴۳/۷۵ ^h	۷۷/۷۵ ^f	۷۹/۵۰ ^f	۱۳۱/۵ ^{ab}	گرانولا	
۵۱/۷	۲/۱۲۵ ^g	۳/۸۲۵ ^d	۳/۱۷۵ ^f	۴/۴۰۰ ^b	آگریا	وزن خشک ریشه (mg)
۶۲/۹	۱/۸۷۵ ^h	۲/۲۵۰ ^g	۴/۹۵۰ ^a	۵/۰۵۰ ^a	کایزر	
۳۷/۳	۳/۱۵۰ ^f	۳/۴۵۰ ^e	۴/۲۰۰ ^c	۵/۰۲۵ ^a	CIP-۹۹۴۰۰۱	
۲۶/۵	۳/۲۵۰ ^f	۳/۵۰۰ ^e	۳/۸۲۵ ^d	۴/۴۲۵ ^b	گرانولا	
۳۸/۳	۱۱/۷۲ ^g	۱۶/۰۰ ^{ef}	۱۵/۵۰ ^{ef}	۱۹/۰۰ ^d	آگریا	وزن خشک ساقه (mg)
۳۴/۴	۱۴/۷۵ ^f	۱۶/۰۰ ^{ef}	۱۸/۵۰ ^d	۲۲/۵۰ ^b	کایزر	
۳۰/۵	۱۶/۵۰ ^e	۲۱/۰۰ ^c	۲۲/۲۵ ^b	۲۳/۷۵ ^a	CIP-۹۹۴۰۰۱	
۳۶/۷	۱۵/۰۵ ^{ef}	۱۵/۷۵ ^{ef}	۱۵/۵۰ ^{ef}	۲۴/۵۰ ^a	گرانولا	

مقایسه میانگین براساس SNK در سطح احتمال ۰/۰۵

نتایج و بحث

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که بین سطوح پلی اتیلن گلیکول و بین ژنوتیپ‌ها تفاوت معنی دار از نظر طول ریشه، طول گیاهچه، وزن تر ریشه، وزن تر اندام‌های هوایی، وزن خشک ریشه و وزن خشک اندام‌های هوایی در سطح احتمال ۰/۰۱ وجود دارد. اثر متقابل ژنوتیپ \times پلی اتیلن گلیکول نیز برای صفات مذکور معنی دار بود. با افزایش غلظت پلی اتیلن گلیکول تمامی صفات مورد مطالعه کاهش معنی داری نشان داد. تاثیر سطوح متفاوت پلی اتیلن گلیکول بر روی این صفات در جدول ۱ آورده شده است. در بالاترین سطح تنش (غلظت ۹ میلی مولار پلی اتیلن گلیکول)، بذور حقیقی حاصل از پروژنی ۹۹۴۰۰۱- CIP از لحاظ طول گیاهچه، وزن تر ریشه و وزن تر ساقه به طور معنی دار بزرگتر از بذور حقیقی حاصل از سه کولتیوار دیگر بود و هم‌چنین در همین غلظت، طول ریشه، وزن خشک ریشه و وزن خشک ساقه بذور حقیقی حاصل از پروژنی ۹۹۴۰۰۱- CIP و گرانولا بزرگتر از کایزر و آگریا بود، اما بین این دو تفاوت معنی داری مشاهده نشد. محاسبه شاخص تحمل بذور حقیقی مورد مطالعه به صورت درصد کاهش نسبت به شرایط شاهد نشان داد که بذور حقیقی حاصل از پروژنی ۹۹۴۰۰۱- CIP از لحاظ طول گیاهچه، وزن تر ریشه و وزن تر ساقه درصد کاهش کمتری نسبت به بذور حقیقی حاصل از سه کولتیوار دیگر داشت. در حالی که، برای طول ریشه و وزن خشک ریشه درصد کاهش بذور حقیقی حاصل از پروژنی ۹۹۴۰۰۱- CIP و کولتیوار گرانولا تقریباً برابر بود. بنابراین، به نظر می‌رسد می‌توان ژنوتیپ‌های متحمل به خشکی را از بین بذور حقیقی حاصل از پروژنی ۹۹۴۰۰۱- CIP گزینش کرد.

منابع

- 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.
- 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.
- Hassanpanah, D., E. Gurbanov, A. Gadimov and R. Shahriari. 2008.** Determination of yield stability in advanced potato cultivars as affected by water deficit and potassium humat in Ardabil region. *Iran. Pak. J. Biol. Sci.*, 15: 1330-1335
- 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).
- 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 polyethylene glycol (PEG)

Amini Kobra^{*1}, Asghari-Zakaria² Rasool and Sarasadat Ghazaghi³

1, 2, 3. 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 in vitro evaluation of potato genotypes to drought tolerance, an experiment was done as a factorial experiment with tow factors based on completely randomized design. The first factor include single node explants derived from true potato seeds of four open pollinated cultivarse (Agria. Kaeser, Geranula and CTP-994001) and the second factor included four concentrations of polyethylene glycol 6000 (0, 3, 6 and 9 mM) that added in MS medium. Root and shoot length, fresh and dry weights of root and shoot were measured in platlet that grown in medium with different concentration of PEG. Differeces between genotypes and interaction of genotypes \times PEG concentration were significant ($P \leq 0/01$) at all of traits. At highest level of drought stress (9 mM PEG 6000), the plantlets driven from true seeds of CIP-994001 had significantly higher root and shoot length, fresh and dry weight than the three cultivars. Also, in this concentration of PEG, root length, root and shoot dry weight of CTP-994001 and Geranula plantlets were higher than Kaeser and Agria plantlets, but significant differeses did not observed between these tow cultivars. Calculating at tolerance index (the percentage of decreasing) traits at different concentration in compared with control showed that CTP-994001 true seed plantlets had little decrease in length, fresh weight of shoot and root in compaered with other three cultivars but decreasing at root length and dry weight in plantlets of CTP-994001 and Geranula was the same and litter than other tow cultivars. Based on these results, breeders can be select drought tolerance genotypes using plantlets derived from CTP994001 true seeds.

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

* Email: anini_ko86@yahoo.com