

بررسی تنوع ژنتیکی و همبستگی فنوتیپی صفات مربوط به ریزغده زایی تحت تنش شوری و غیر شوری در بعضی از ارقام سیب زمینی در شرایط کنترل شده

منصور سلجوقیان پور^۱، منصور امید^{۲*}، اسلام مجیدی^۳، داریوش داودی^۴، پرینچهره احمدیان تهرانی^۵
۱، ۲، ۵، دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشیار و استاد، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران
۳، ۴، اعضای هیئت علمی موسسه تحقیقات بیوتکنولوژی کرج
(تاریخ دریافت: ۸۴/۱۰/۲۴ - تاریخ تصویب: ۸۶/۸/۲۳)

چکیده

به منظور بررسی تنوع ژنتیکی و تعیین همبستگی فنوتیپی صفات مربوط به ریزغده زایی تحت تنش و عدم تنش شوری در بعضی از ارقام بومی و زراعی سیب زمینی در شرایط کنترل شده آزمایشگاهی تعدادی غده از دوازده رقم و لاین سیب زمینی بنامهای رنجر-راست، MEX-32، AGB-69-1، مارین، لومان، اروکانا، سورنا، امریکن، اراکی، FLS-5، اگریا و مرفونا تهیه گردید. پس از کشت در گلخانه و رشد ساقه‌ها اقدام به جداسازی مریستم انتهائی و جانبی به اندازه ۰/۱ میلی متر گردید و هر مریستم روی یک پل کاغذی درون محیط کشت مایع پایه MS به اضافه ۲/۵ میلی گرم در لیتر جیبرلیک اسید قرار داده شد. پس از بدست آوردن گیاهچه های کامل با استفاده از کشت تک گره گیاهچه های حاصل تکثیر شدند. غلظتهای شوری مورد استفاده در محیط کشت به ترتیب شامل مقادیر ۰، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی مول در لیتر کلرید سدیم بود. برای بررسی اثرات شوری بر ریزغده زایی، بعد از حدوداً دو ماه از زمان کشت گیاهچه ها در تیمارهای شوری، آمار برداری بر اساس صفات مختلف ریزغده ها تحت دو شرایط تنش و غیر تنش شوری انجام گرفت. نتایج نشان داد که برای اکثر صفات مورد مطالعه، اختلاف معنی داری در سطح احتمال یک درصد برای فاکتورهای اصلی شامل رقم و سطوح شوری و اثرات متقابل آنها وجود داشت. بررسی تجزیه خوشه ایی و مطالعه همبستگی فنوتیپی نشان داد که یک سری از ژنها یا عوامل مختلف بطور مشترک در بروز این صفات دخالت دارند. مطالعه تنوع ژنتیکی بیانگر این است که اگر چه در شرایط تنش و عدم تنش شوری بین کلیه ارقام اختلاف وجود داشت اما ارقام تجاری در شرایط عدم تنش شوری بسیار برتر از ارقام بومی عمل کردند در حالی که همین ارقام در شرایط تنش شوری نسبت به ارقام بومی خوب عمل نکرده و از نظر صفات مورد ارزیابی در گروههای مختلف و پایین تری نسبت به بیشتر ارقام بومی قرار گرفتند.

واژه های کلیدی: سیب زمینی، کشت بافت، ریزغده زایی، تحمل شوری، تنوع ژنتیکی

مقدمه

می باشد. سیب زمینی های زراعی از خانواده سولاناسه^۱ می باشند که حدود ۱۵۰ گونه غده زا دارند. مهمترین آنها

سیب زمینی از مقوی ترین منابع غذایی انسان است و پنجمین محصول مهم دنیا بعد از برنج، گندم، ذرت و جو

1. Solanaceae
2. Solanum tuberosum
3. Andigona

سال ۱۹۹۲ توسط مرکز تحقیقات بین‌المللی سیب‌زمینی بصورت پروتکل تکثیر گزارش گردید (۴). اگر چه شوری یک دامنه ایی از پاسخهای رشدی را در سیب زمینی تحت تأثیر قرار می دهد، اما هنوز روی اثرات تنش شوری روی ریز غده زایی در شرایط کنترل شده آزمایشگاهی اطلاعات کمی وجود دارد (۸، ۵ و ۶).

اثرات منفی شوری روی ریز غده زایی سیب زمینی احتمالاً، یک نتیجه ایی از کاهش در پتانسیل اسمزی است که در نتیجه افزایش سطوح نمک در سلول ها و نهایتاً در استولن و بافت ریز غده بوده است که احتمالاً برای افزایش در وزن خشک ریز غده ها کافی است (۱۵ و ۱۹).

برای گونه های متحمل به سرما در سیب زمینی، شوری بر روی عملکرد ریز غده، اندازه ریز غده، وزن تر ریز غده، تا شوری حداکثر ۷۵ میلی مول در لیتر NaCl هیچ تأثیری وجود نداشت (۱۵).

آکان تورهان (۲۰۰۵)، عکس العمل به شوری ژنوتیپ های سیب زمینی تراریخت با بیان ژن اکسلات اکسیداز را بررسی نمود (۱۸۰). در این تحقیق عکس العمل به شوری ژنوتیپ های سیب زمینی تراریخت و غیرتراریخت در شرایط کنترل شده آزمایشگاهی و شرایط مزرعه ایی بررسی شد (۱۷).

مکانیسم های شامل شده در رشد غده در شرایط مزرعه ایی ممکن است نسبت به مکانیسم هایی که شامل رشد استولن در شرایط تنش می شود حساستر مورد توجه قرار گیرد (۶۰ و ۷۵).

سیلوا (۲۰۰۱) و مارتینز (۱۹۹۶) خصوصیات رشد در شرایط کنترل شده آزمایشگاهی از چندین گونه سیب زمینی را ارزیابی کردند و پاسخهای متقابل را برای تنش شوری با رفتار متفاوت برای هر گونه گزارش کردند. (۱۰ و ۱۵)

مطالعات زهانگ (۲۰۰۱) و سیلوا (۲۰۰۱) نشان داد که شوری احتمالاً باعث کاهش محتوای آب و مواد غذایی جذب شده در ریز غده ها می شود و منجر به افزایش در وزن خشک که احتمالاً برای توضیح افزایش مشاهده شده در محتوای نشاسته ریز غده ها کافی است (۱۵ و ۱۹).

سولانوم توبروسوم^۱ می باشد که تترابلوئید $2n=4X=48$ بوده و به دو زیر گونه توبروسوم و آندیگنا^۲ تقسیم می شوند.

تنوع ژنتیکی مبنای تمام گزینش ها است. انتخاب تیپ دلخواه نیز نیازمند تنوع می باشد با بالا رفتن تنوع ژنتیکی در یک جامعه دامنه انتخاب وسیعتر می شود با توجه به این رابطه مثبت بین میزان تنوع ژنتیکی و مقدار وقوع تغییرات تکاملی با افزایش تنوع ژنتیکی دستیابی به صفت مورد علاقه آسانتر است (۲).

در گذشته، روش های متداول اصلاحی، گونه های گیاهان زراعی گوناگون را با بهبود دادن تحمل به تنشهای محیطی توسعه داده اند (۱۸). روش های اصلاحی جدید از قبیل استفاده از تنوع سوماکلونال، هیبریداسیون بین گونه ایی، هیبریداسیون سوماتیکی و انتقال ژن، پتانسیل بهبود خصوصیات مهم ارقام گیاهان زراعی زیادی را افزایش داده است. امروزه، روش های جدید اصلاحی با روش های متداول ترکیب شده و به عنوان ابزار مفیدی در برنامه های به نژادی گیاهان در دامنه وسیعی از تحقیقات استفاده می گردند (۱۸).

اگر چه سیب زمینی به عنوان یک گیاه نیمه حساس به شوری طبقه بندی می شود ولی اختلافات ژنتیکی در تحمل به شوری میان گونه های وحشی و رقمهای زراعی سیب زمینی یافت شده است (۱۰). یافتن آنکه گونه های سولانوم تفاوت های ژنتیکی در تحمل به تنش های غیر زنده را دارا هستند نه فقط برای اصلاح کردن سیب زمینی به تنش های غیر زنده جالب است بلکه مواد بهتری برای مطالعه سازوکارهای تحمل به تنش های غیر زنده تهیه می کنند (۱۴ و ۱۰).

بطور کلی شوری اثر معنی داری روی تمام صفات در اکثر گیاهان دارد و رشد گونه های سیب زمینی مورد مطالعه با دادن دامنه شوری های کلرید سدیم محدود می شود (۱۶، ۱۲، ۷ و ۱۸).

وانگ و یو (۱۹۸۳)، اولین بار تولید ریز غده در شرایط کنترل شده در سیب زمینی را گزارش کردند. این روش در

ظاهری مطلوبتر و سالمتر بودند انتخاب گردیده و پس از شستشو با آب جاری، به مدت ۲۰ تا ۲۵ دقیقه در محلول ضدعفونی کننده حاوی ۵٪ هیپوکلریت سدیم فعال قرار داده شدند. پس از ضد عفونی سطحی و شستشو با آب مقطر استریل، غده‌ها در جعبه‌های چوبی حاوی ماسه کشت شده و در گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران نگهداری شدند. آبیاری غده‌ها در دمای تقریبی ۲۵ درجه سانتی گراد گلخانه، هر ۳ الی ۴ روز یکبار انجام شد. به منظور رشد جوانه‌های جانبی و تولید شاخه‌های فرعی برای مریستم برداری، بوته‌های ۳۰ الی ۴۵ روزه سربرداری شدند. ساقه‌های در حال رشد را جدا کرده و پس از شستشو با آب جاری، به قطعاتی به طول ۵-۶ سانتی‌متر بریده و در محلول ضدعفونی کننده حاوی ۲/۱۵٪ هیپوکلریت سدیم فعال به مدت ۲۰ دقیقه قرار داده شدند سپس سه تا چهار بار شستشو با آب مقطر استریل انجام شده و پس از ضدعفونی سطحی، با استفاده از استریو میکروسکوپ و سوزن در شرایط استریل، مریستم انتهایی را به اندازه ۰/۱ میلی‌متر جدا نموده و هر مریستم روی یک پل کاغذی درون ارلن ۲۵ میلی لیتری حاوی ۱۰ میلی لیتر محیط کشت مایع قرار داده شد. محیط کشت مورد استفاده برای کشت اولیه مریستم شامل محیط پایه MS به اضافه ۱۰۰ میلی گرم در لیتر میو اینوزیتول، ۰/۴ میلی گرم در لیتر تیامین هیدروکلرات، ۰/۵ میلی گرم در لیتر نیکوتینیک اسید، ۰/۵ میلی گرم در لیتر پیریدوکسین، ۲ میلی گرم در لیتر گلايسين، ۰/۱ میلی گرم در لیتر NAA، ۲/۵ میلی گرم در لیتر جیبرلیک اسید و ۳٪ ساکاروز بود. ارلن‌های کشت شده در اتاق رشد با فتوپریود ۱۶ ساعت نور با شدت ۳۰۰۰ لوکس و دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد و ۸ ساعت تاریکی با دمای ۱۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. واکشت نمونه‌ها هر چهار هفته یکبار به تعداد سه تا پنج واکشت به همان محیط و تحت همان شرایط برای رشد مریستم تا تولید ساقه و ریشه و بدست آوردن گیاهچه کامل انجام گرفت. بعد از رشد مریستم‌ها و گرفتن گیاهچه‌های ۷-۵ سانتیمتری گیاهچه‌های حاصل را می‌بایستی تکثیر نمود.

عکس العمل ریز غده زایی سه گونه سیب زمینی بعد از دو ماه روی محیط کشت پایه MS (موراشیگ و اسکوک ۱۹۶۲) به علاوه سطوح مختلف کلریت سدیم بررسی شد. در شرایط عدم تنش شوری، سیب زمینی گونه سولانوم توپروسوم نشان داد که وزن تر بیشتر ریز غده‌ها حداکثر تا ۲ تا ۲/۵ برابر وزن تر گونه‌های متحمل به سرما است (۱۵).

بیشترین سطح شوری، ۱۰۰ میلی مول در لیتر، کاملاً از نمو ریزغده برای تمام گونه‌ها به غیر از رشد استولن‌ها جلوگیری کرد. در خصوص رشد استولن در نبود تنش شوری وزن تر استولن یک افزایش مثبتی را نشان داد. میزان کربوهیدرات‌ها برای ریز غده‌های تحت تیمار شوری ۱۰۰ نمی‌توانست ارزیابی شود زیرا که ریز غده‌ها برای تمام گونه‌های آنالیز شده تشکیل نشدند (۱۵).

وانگ و همکاران (۲۰۰۳) نشان دادند که رشد تمام ژنوتیپ‌ها بطور معنی داری بوسیله افزایش دادن تیمار شوری تحت هر دو شرایط کنترل شده آزمایشگاهی و شرایط مزرعه‌ای محدود شده است (۱۸).

صفات مختلف در گیاهان با یکدیگر همبستگی دارند توجه به این ارتباط در طی عمل انتخاب و ارزیابی ژنوتیپ‌ها از اهمیت خاصی برخوردار می‌باشد با اطلاع از میزان همبستگی صفات امکان انتخاب غیر مستقیم برای یک صفت از طریق صفات دیگر فراهم می‌شود (۲).

هدف از این مطالعه بررسی تنوع ژنتیکی بین ارقام بومی و ارقام تجاری در شرایط تنش و عدم تنش شوری بر اساس اندازه گیری صفات مربوط به ریزغده زایی در شرایط کنترل شده آزمایشگاهی بود تا نسبت به شناسایی ارقام متحمل اقدام نموده و برای انجام مطالعات بیشتر معرفی گردند.

مواد و روشها

تعدادی غده از دوازده رقم و لاین سیب زمینی بنام‌های زنجر- راست، AGB-69-1، MEX-32، مارین، لومان، اژوکانا، سورنا، امریکن، اراکی، FLS-5، اگریا و مارفونا از بخش سیب زمینی و پیاز مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج تهیه گردید. غده‌هایی که از حیث صفات

نتایج و بحث

تجزیه واریانس برای صفات مورد مطالعه در مورد آثار شوری روی ریزغده زایی ژنوتیپ های سیب زمینی مورد آزمایش نشان داد که برای کلیه صفات مورد مطالعه، بجز دو صفت تعداد ریز غده و میانگین کوچکترین اندازه ریزغده ها اختلاف معنی داری در سطح احتمال یک درصد برای فاکتورهای اصلی شامل رقم و سطوح شوری و اثرات متقابل آنها وجود نداشت. برای صفت تعداد ریز غده اختلاف معنی داری در سطح احتمال یک درصد برای فاکتورهای اصلی شامل رقم و سطوح شوری وجود داشت ولی اثرات متقابل برای این صفت معنی دار نبود. همچنین برای صفت میانگین کوچکترین اندازه ریزغده ها اختلاف معنی داری در سطح احتمال یک درصد فقط برای فاکتور اصلی رقم وجود داشت ولی برای فاکتور اصلی سطوح شوری و اثرات متقابل صفت مورد نظر اختلاف معنی داری برای سطوح احتمال مورد نظر وجود نداشت. انجام آزمون مقایسه میانگین دانکن (جدول شماره ۱) برای سطوح شوری با توجه به صفات مورد مطالعه نشان داد که بالاترین سطح شوری (۱۰۰ میلی مول در لیتر کلریت سدیم) برای تمامی صفات در پایین ترین گروه آماری و پایین ترین سطح شوری (صفر میلی مول در لیتر کلریت سدیم) در بالاترین گروه آماری قرار گرفت. برای صفات میانگین تعداد چشم ها، میانگین اندازه ریزغده، میانگین بزرگترین اندازه ریزغده ها، میانگین تعداد چشم روی ریزغده های بزرگ و میانگین تعداد چشم روی ریزغده های کوچک سطوح شوری ۰، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی مول در لیتر کلرید سدیم با کمترین اختلاف در یک گروه آماری قرار گرفتند. برای صفات وزن تر ریزغده و وزن خشک ریز غده سطوح شوری ۰ و ۲۵ میلی مول در لیتر کلرید سدیم با کمترین اختلاف در یک گروه آماری قرار گرفتند و سطوح شوری ۷۵ و ۱۰۰ پایینترین گروه آماری را به خود اختصاص دادند. برای صفت تعداد ریز غده سطوح شوری مختلف در چهار گروه آماری مختلف قرار گرفتند که سطح شوری ۰ میلی مول در لیتر بالاترین گروه آماری و

در این حالت با استفاده از کشت تک گره در محیط کشت MS به علاوه ۲/۵ میلی گرم در لیتر جیبرلیک اسید و ۲ میلی گرم در لیتر پنتونات کلسیم اقدام به تکثیر گیاهچه های حاصل از کشت مریستم گردید. بعد از ۳ تا ۵ دوره تکثیر که هر دوره تکثیر حدود چهار هفته طول کشید گیاهچه های زیادی از گیاهچه های اولیه حاصل از رشد مریستم تولید شدند که برای انجام مراحل بعدی آزمایش به کار رفته است.

برای بررسی تنوع ژنتیکی و تعیین همبستگی فنوتیپی صفات مربوط به ریزغده زایی تحت تنش و عدم تنش شوری آزمایش در قالب آزمایش فاکتوریل (فاکتورهای مورد مطالعه شامل رقم و سطوح شوری بود) با طرح پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار که هر تکرار شامل یک ظرف شیشه مربایی ۲۵۰ میلی لیتری بود انجام شد. برای اجرای این آزمایش ابتدا محیط کشت پایه MS مایع همراه با ۸۰ گرم در لیتر ساکاروز تهیه گردید. سپس مقدار مورد نظر کلریت سدیم و مقدار ۵ میلی گرم در لیتر BA (۶- بنزیل آمینو پورین) به محیط کشت اضافه گردید و محیط کشت با pH برابر ۵/۸ تنظیم شد. سپس گیاهچه های تکثیر یافته از کشت مریستم در مراحل قبل به ظروف کشت مورد نظر (ظروف شیشه مربایی ۲۵۰ میلی لیتری) منتقل شدند. در هر ظرف کشت حدود سه گیاهچه در شرایط کاملاً سترون در زیر هود لامینار فلو کشت گردیدند. سپس ظروف کشت به اتاقک تاریک منتقل شدند دمای اتاقک تاریک بر روی $22 \pm$ درجه سانتیگراد تنظیم شد. بعد از گذشت حدوداً دو ماه از زمان کشت آمار برداری بر اساس صفاتی همچون تعداد ریز غده، وزن تر ریزغده، میانگین تعداد چشمها، میانگین اندازه ریزغده، وزن خشک ریز غده ها، میانگین کوچکترین اندازه ریزغده ها، میانگین بزرگترین اندازه ریزغده ها، میانگین تعداد چشم روی ریزغده های کوچک و میانگین تعداد چشم روی ریزغده های بزرگ تحت دو شرایط تنش و غیر تنش شوری انجام گرفت که واحد طول بر حسب سانتیمتر و واحد وزن بر حسب میلی گرم و واحد مساحت بر حسب میلیمتر مربع اندازه گیری و محاسبه گردیدند.

میانگین بین گروهها، بین ارقام سیب زمینی تحت هر دو شرایط تنش و غیر تنش شوری برای ارقام انجام گرفت. تجزیه خوشه ایی (شکل ۱) ارقام مورد مطالعه سیب زمینی تحت شرایط عدم تنش شوری براساس صفات اندازه گیری شده ذکر شده در بالا، نشان داد که این ارقام (ژنوتیپ های) مورد مطالعه سیب زمینی به چهار گروه تقسیم شدند. گروه اول شامل شش رقم اروکانا، مارفونا، سورنا، FLS-5، اگریا و رنجر- راست می باشد. گروه دوم شامل ارقام AGB-69-1، لومان و MEX-32 می باشد. گروه سوم شامل رقم اراکی می باشد. و گروه چهارم شامل ارقام مارین و امریکن می باشد. همانطور که مشاهده می شود ارقام تجاری مورد مطالعه (ارقام رنجر- راست، مارفونا و اگریا) از نظر صفات مورد ارزیابی در گروه بالاتری نسبت به ارقام دیگر (کلون های امید بخش) قرار گرفتند. همچنین بین دیگر ژنوتیپها نیز تنوع مشاهده شد. این نتایج با نتایج بدست آمده توسط سیلوا (۲۰۰۱) و زهانگ (۲۰۰۱) همخوانی دارد بطوریکه آنها نیز تفاوت بین ارقام مورد مطالعه را در شرایط بدون شوری مشاهده کردند. همچنین بر اساس تجزیه خوشه ایی (شکل ۲) ارقام مورد مطالعه سیب زمینی تحت شرایط تنش شوری با استفاده از صفات اندازه گیری شده، این ارقام به چهار گروه تقسیم شدند.

سطح شوری ۱۰۰ میلی مول در لیتر پایین ترین گروه آماری را به خود اختصاص دادند. همچنین انجام آزمون مقایسه میانگین دانکن (جدول شماره ۲) مربوط به ارقام مورد مطالعه در مورد تمام صفات اندازه گیری شده حاکی از وجود اختلاف بین این ارقام بود و ارقام مختلف بر اساس صفات مختلف در گروه های متفاوتی قرار گرفتند. بطوریکه برای ارقام مهم، (ارقامی که در سطح وسیع کشت می شوند)، همانند ارقام رنجر- راست، مارفونا و اگریا بر اساس صفات میانگین اندازه ریزغده، میانگین کوچکترین اندازه ریزغده ها، میانگین تعداد چشم ها و میانگین تعداد چشم روی ریزغده های بزرگ با کمترین اختلاف در یک گروه پایینی قرار گرفتند. بر اساس صفات تعداد ریزغده، وزن تر ریزغده و وزن خشک ریزغده رقم رنجر- راست در یک گروه و ارقام مارفونا و اگریا با کمترین اختلاف در یک گروه پایین تری قرار گرفتند. همچنین برای صفات میانگین بزرگترین اندازه ریزغده ها میانگین تعداد چشم روی ریزغده های کوچک ارقام مارفونا و رنجر- راست در یک گروه بالاتر و ارقام اگریا و رنجر- راست در یک گروه پایین تر قرار گرفتند. شکل شماره ۳ ریزغده زایی را در سطوح مختلف شوری در رقم رنجر- راست نشان می دهد. تجزیه خوشه ایی بر اساس پیوستگی

جدول ۱- مقایسه میانگین سطوح شوری برای صفات اندازه گیری شده مرتبط با ریزغده زایی طبق روش دانکن در سطح احتمال یک درصد

سطوح شوری	تعداد ریزغده	وزن تر ریزغده	میانگین تعداد چشمها	وزن خشک ریزغده ها	میانگین اندازه ریزغده	میانگین بزرگترین اندازه ریزغده ها	میانگین تعداد چشم روی ریزغده های کوچک	میانگین تعداد چشم روی ریزغده های بزرگ
۰	aA/۴	a1۷۳۸	a۴/۷	a۳۳۴/۸	a۴۵	a۶۹/۳۵	a۴	a۵/۴۰۳
۲۵	b۶/۴	a1۵۹۰	a۴/۹	a۳۰۲/۴	a۴۵	a۶۷/۷۸	a۴/۰۱۴	a۵/۵۸۳
۵۰	bc۵/۹	b1۱۹۶	a۴/۹	b۲۱۴	a۴۳	a۶۳/۹۸	a۴/۰۲۸	a۵/۶۱۱
۷۵	c۵/۱	bc۹۹۳/۷	a۴/۹	bc۱۶۸/۱	ab۴۰	ab۵۷/۴۷	a۴/۰۹۷	a۵/۷۲۲
۱۰۰	d۳/۶	c۷۳۴/۴	b۴/۱	c۱۲۴/۵	b۳۱/۵	b۴۵/۸۲	b۳/۳۰۶	b۴/۷۲۲

جدول ۲- مقایسه میانگین ارقام مورد مطالعه برای صفات اندازه گیری شده مرتبط با ریزغده زایی تحت شرایط شوری طبق روش دانکن در سطح احتمال یک درصد

شماره ارقام	تعداد ریز غده	وزن تر ریزغده	وزن خشک ریز غده	میانگین تعداد چشم	میانگین بزرگترین میانگین اندازه		میانگین کوچکترین اندازه		میانگین تعداد چشم ریزغده های بزرگ	میانگین تعداد چشم ریزغده های کوچک
					ریزغده ها	بزرگترین ریزغده ها	ریزغده ها	کوچکترین ریزغده ها		
رنجر- راست	۱۰/۷۳a	۱۸۵۰a	۳۳۸/۵a	۴/۳۰۵cd	۴۱/۱۸ab	۶۳/۲۸abc	۱۹/۰۷abc	۵/۳۳۳abc	۲/۳۳۳bcd	
مارفونا	۷/۰۶۷b	۱۲۱۶bcd	۲۱۹/۶bcd	۴/۲۱۷cd	۴۶/۹۷ab	۸۰/۳۳a	۱۳/۶۱c	۵/۵۳۳abc	۲/۹d	
اراکي	۶/۶۶۷b	۱۱۵۵bcd	۲۲۳/۴bcd	۴/۴۷۷bc	۳۲/۱۹b	۵۱/۰۱bc	۱۳/۳۶c	۴/۸۶۷bc	۲/۷abcd	
FLS-5	۶/۴۶۷bc	۱۳۶۸abc	۲۶۰/۳abc	۴/۷۸۳abc	۳۵/۹۵b	۶۰/۱۵abc	۱۱/۷۵c	۵/۹ab	۲/۶abcd	
لومان	۶/۲۶۷bcd	۱۳۹۳abc	۲۶۳/۸abc	۴/۵۶۷bc	۴۵/۵۶ab	۶۷/۰۷ab	۲۴/۰۶abc	۵/۲abc	۲/۸abcd	
امریکن-INTA	۵/۹۳۳bcd	۱۴۹۳ab	۲۸۷/۲ab	۵/۲۳۸ab	۴۲/۸۳ab	۶۵/۲۵abc	۲۰/۴۲abc	۵/۹۶۷ab	۴/۵۶۷a	
سورنا	۵/۳۳۳bcde	۱۱۸۱bcd	۲۲۰/۷bcd	۵/۲۲۱ab	۴۲/۸۳ab	۵۲/۷۵bc	۲۲/۴۶abc	۵/۸۳۳ab	۴/۶a	
اگریا	۵/۰۶۷bcde	۷۹۹/۱d	۱۴۶/۹d	۴/۶abc	۲۹/۸۹b	۴۰/۲۶c	۱۹/۵۱abc	۵/۱abc	۴abc	
مارین	۴/۵۳۳cde	۱۳۳۶bc	۲۱۹/۷bcd	abc۴/۸۹۹	۴۲/۰۱ab	۵۸/۶۲abc	۲۵/۳۹abc	۵/۳۶۷abc	۴/۳۳۳ab	
MEX-32	۴/۳۳۳de	۹۶۶/۴cd	۱۷۰/۷cd	۴/۸abc	۴۶/۵ab	۶۱/۷abc	۳۱/۲۹a	۵/۱۶۷abc	۴/۳۶۷a	
AGB-69-1	۴/۳۳۳de	۱۳۵۶abc	۲۳۱/۲bcd	۵/۳۸۹a	۵۵/۶۶a	۸۱/۵a	۲۹/۸۳ab	۶/۲۳۳a	۴/۴۶۷a	
اروکانا	۳/۷۳۳e	۸۹۲/۳cd	۱۶۲/۸cd	۳/۷d	۳۲/۶۴b	۴۸/۶۸abc	۱۶/۶۰bc	۴/۴c	۳cd	

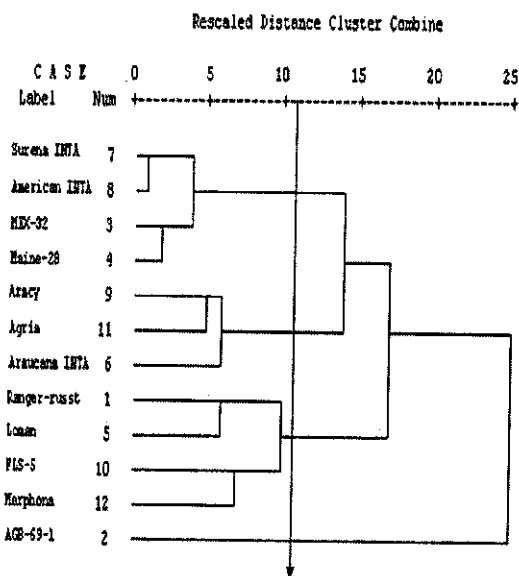
در گروه های مختلف و پایین تری نسبت به بیشتر ارقام بومی قرار گرفتند. این نتایج با نتایج حاصل از مطالعات مارتینز و همکاران (۱۹۹۶) که بیان کردند، گونه های سیب زمینی سولانوم توبروسوم (تجاری) دارای تحمل کمی به تنش های غیرزنده بخصوص شوری هستند و این در حالی است که گونه های سیب زمینی غیرتجاری اندیگنا دارای تحمل خوبی برای رشد تحت شرایط نامطلوب بخصوص دارای تحمل بیشتری نسبت به افزایش سطوح شوری هستند و همچنین سیلوا و همکاران (۲۰۰۱) که نشان دادند با افزایش سطح شوری، ریزغده زایی و رشد استولن در گونه هایی که در سطح وسیع کشت می شوند در مقایسه با گونه های غیر تجاری به شدت کاهش یافته است و ریزغده زایی و رشد ریزغده ها در سطوح بالای شوری کاملاً محدود شده است، مطابقت می کند. زهانگ (۲۰۰۱) نیز مشابه همین نتایج را بیان نمود.

بررسی نتایج مربوط به همبستگی بین صفات اندازه گیری شده در مورد ریز غده زایی در شرایط عدم تنش شوری (جدول شماره ۳) نشان داد که بین صفت تعداد ریزغده با صفت میانگین کوچکترین اندازه ریزغده ها و همچنین بین همین صفت با صفات وزن تر ریزغده و وزن

گروه اول شامل چهار رقم سورنا، امریکن، MEX-32 و مارین می باشد. گروه دوم شامل ارقام اراکی، اگریا و اروکانا می باشد. گروه سوم شامل ارقام رنجر- راست، لومان، FLS-5 و مارفونا و آخرین گروه، گروه چهارم شامل رقم- AGB-69-1 می باشد. همانطور که مشاهده می شود اختلافات ژنتیکی در تحمل به شوری میان رقم های وحشی و رقم های زراعی سیب زمینی یافت شده است ارقام تجاری مورد مطالعه (ارقام رنجر- راست، مارفونا و اگریا) از نظر صفات مورد ارزیابی در شرایط تنش شوری در گروه های مختلف و پایین تری نسبت به بیشتر کلونهای امید بخش قرار گرفتند که این امر ناشی از تحمل کمتر این ارقام نسبت به سطوح شوری است.

این نتایج حاکی از آن بود که اگر چه در شرایط تنش و عدم تنش شوری بین کلیه ارقام اختلاف وجود داشت اما ارقام تجاری در شرایط عدم تنش شوری بسیار برتر از ارقام بومی عمل کردند و از نظر صفات مورد ارزیابی در گروه بالاتری نسبت به ارقام بومی (کلونهای امید بخش) قرار گرفتند در حالی که همین ارقام در شرایط تنش شوری نسبت به ارقام بومی خوب عمل نکرده و دارای تحمل کمتری نسبت به شوری بوده و از نظر صفات مورد ارزیابی

Dendrogram using Average Linkage (Between Groups)



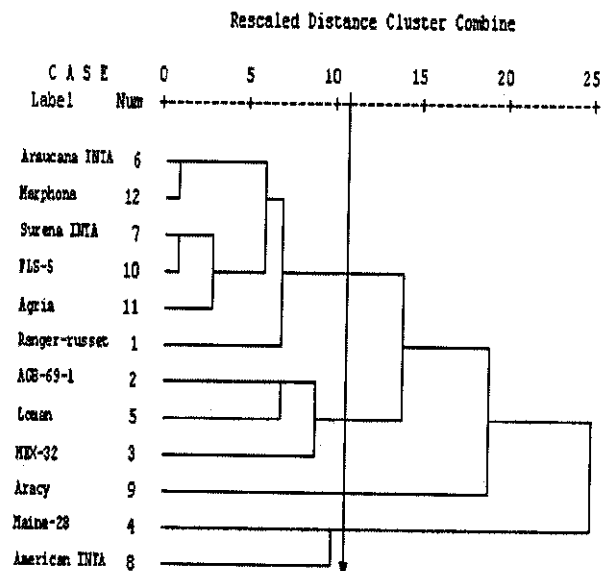
شکل ۲- تجزیه خوشه ایی ارقام سیب زمینی در شرایط شوری

بین صفت وزن تر ریزغده ها با میانگین بزرگترین اندازه ریز غده ها و صفت میانگین تعداد چشم روی ریزغده با صفت میانگین تعداد چشم روی ریزغده های بزرگ و میانگین تعداد چشم روی ریزغده های کوچک همبستگی بالا و معنی داری داشت. همچنین بین صفت وزن خشک ریزغده ها با صفت میانگین بزرگترین اندازه ریزغده ها و بین صفت میانگین اندازه ریزغده ها با صفات میانگین بزرگترین اندازه ریزغده ها و میانگین تعداد چشم روی ریزغده های بزرگ همبستگی بالا و معنی داری وجود داشت. بین صفت میانگین بزرگترین اندازه ریزغده ها با صفت میانگین تعداد چشم روی ریزغده های بزرگ و بین صفت میانگین اندازه ریزغده های کوچک با صفت میانگین تعداد چشم روی ریزغده های کوچک همبستگی بالا و معنی داری وجود داشت. این همبستگی ها نشان دهنده این است که یکسری از ژنها یا عوامل مشترک بطور مشترک در بروز این صفات دخالت دارند. نتایج این همبستگی ها در مورد صفات اندازه گیری شده روی این ارقام مورد مطالعه با نتایجی که روی بعضی از صفاتی که توسط آکان تورهان (۲۰۰۵) و سیلوا و زهانگ (۲۰۰۱) ارائه کردند همخوانی دارد.

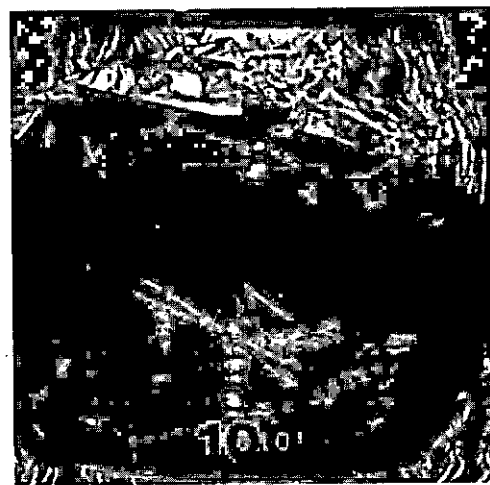
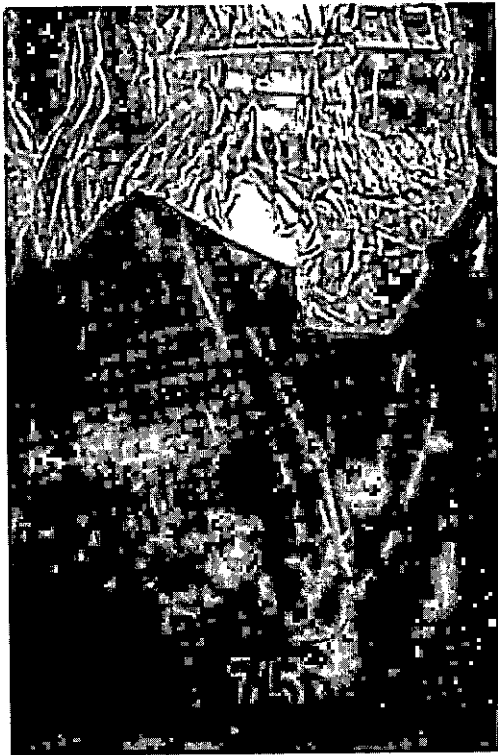
خشک ریزغده همبستگی بالا و معنی داری بصورت منفی وجود داشت. بین صفت وزن تر ریزغده با صفات وزن خشک ریزغده و میانگین تعداد چشم روی ریزغده های بزرگ و نیز بین صفت میانگین تعداد چشم روی ریزغده با صفات میانگین تعداد چشم روی ریزغده های بزرگ و میانگین تعداد چشم روی ریزغده های کوچک همبستگی بالا و معنی داری وجود داشت. بین صفت وزن خشک ریزغده با صفت میانگین تعداد چشم روی ریزغده های بزرگ و همچنین بین صفت میانگین اندازه ریز غده با صفت میانگین اندازه ریز غده های بزرگ همبستگی بالا و معنی داری وجود داشت.

بررسی نتایج مربوط به همبستگی صفات اندازه گیری شده در مورد ریز غده زایی در شرایط تنش شوری (جدول شماره ۴) نشان داد که بین صفت تعداد ریزغده با صفات وزن تر ریزغده ها و وزن خشک ریزغده ها همبستگی بالا و معنی داری بصورت منفی وجود داشت. بین صفت وزن تر ریزغده ها با صفت وزن خشک ریزغده ها و صفت میانگین اندازه ریزغده ها همبستگی معنی داری وجود داشت.

Dendrogram using Average Linkage (Between Groups)



شکل ۱- تجزیه خوشه ایی ارقام سیب زمینی در شرایط عدم شوری



شکل ۳- ریزغده زایی رقم رنجر-راست در سطوح مختلف شوری (۰، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی مول بر لیتر NaCl)

تنش فراهم سازد. در واقع ریز غده زایی در شرایط کنترل شده آزمایشگاهی به عنوان یک روش غربال کردن بالقوه برای ارزیابی تحمل به تنش ها بخصوص شوری روی ریز نمونه های گره ایی از رقم های سیب زمینی مورد توجه قرار گیرد.

با در نظر گرفتن پروتکل های تولید شده متفاوت در مورد ریز غده زایی که در مقالات برای چندین گونه سیب زمینی پیشنهاد شده، شاید امکان داشته باشد که ریز غده زایی بتواند یک روش دیگری از غربال کردن ژرم پلاسم سیب زمینی برای قابلیت آنها به ریز غده زایی تحت شرایط

جدول ۳- همبستگی فنوتیپی صفات مورد مطالعه در شرایط عدم تنش شوری

میانگین تعداد چشم ریزغده های بزرگ	میانگین تعداد چشم ریزغده های کوچک	میانگین بزرگترین اندازه ریزغده ها	میانگین کوچکترین اندازه ریزغده ها	میانگین اندازه وزن خشک ریزغده ها	میانگین تعداد چشم	وزن تر ریزغده	تعداد ریزغده
ns-0/070	ns-0/311	ns-0/154	ns-0/113**	-0/477	-0/539*	-0/252ns	-0/506*
0/807**	ns-0/090	ns-0/512	ns-0/345	ns-0/310	0/954**	0/348ns	1
0/697*	0/930**	ns-0/229	ns-0/226	ns-0/302	0/374ns	1	1
0/763**	ns-0/145	ns-0/526	ns-0/492	ns-0/270	1	1	1
ns-0/370	ns-0/229	0/908**	ns-0/462	1	1	1	1
ns-0/024	ns-0/250	ns-0/048	1	1	1	1	1
ns-0/406	ns-0/151	1	1	1	1	1	1
ns-0/405	1	1	1	1	1	1	1

جدول ۴- همبستگی فنوتیپی صفات مورد مطالعه در شرایط تنش شوری

میانگین تعداد چشم های بزرگ	میانگین تعداد چشم های کوچک	میانگین بزرگترین اندازه ریزغده ها	میانگین کوچکترین اندازه ریزغده ها	میانگین اندازه وزن خشک ریزغده ها	میانگین تعداد چشم	وزن تر ریزغده	تعداد ریزغده
ns-0/245	ns-0/226	ns-0/351	ns-0/265	ns-0/213	-0/116--0/811**	-0/787**	1
ns-0/501	ns-0/047	0/660*	ns-0/080	0/605*	0/987**	ns-0/281	1
0/859**	0/891**	ns-0/295	ns-0/505	ns-0/437	ns-0/228	1	1
ns-0/451	ns-0/003	0/602*	ns-0/001	ns-0/526	1	1	1
0/589*	ns-0/209	0/937**	ns-0/510	1	1	1	1
ns-0/190	0/692*	ns-0/178	1	1	1	1	1
0/597*	ns-0/042	1	1	1	1	1	1
0/561Ns	1	1	1	1	1	1	1

REFERENCES

منابع مورد استفاده

۱. جعفری، م. ۱۳۷۳. سیمای شوری و شوری ها. مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع. ۵۶ صفحه.

۲. عبد میثانی، س. و ع. شاه نجات بوشهری. ۱۳۷۶. اصلاح نباتات تکمیلی. انتشارات دانشگاه تهران. ۳۲۰ صفحه.
۳. میر محمد میبیدی، س. ع. م. و ب. قره یاضی. ۱۳۸۱. جنبه های فیزیولوژیک و به نژادی تنش شوری گیاهان. انتشارات دانشگاه صنعتی اصفهان. ۲۷۴ صفحه.
4. CIP (International potato center). 1999. Virus eradication, tissue culture of meristems, thermotherapy and chemotherapy. (Ed's) CIP, Lima.
 5. Evers, D., S. Overney, P. Simon, H. Greppin & J.F. Hausman. 2000. Salt tolerance of *Solanum tuberosum* L. Over expressing an heterologous osmotin-like protein. *Biol. Plantarum*, 42: 105-112.
 6. Farhatullah, R. M. & Raziuddin. 2002. In vitro Effect of salt on the vigor of potato (*Solanum tuberosum* L.) plantlets. *Biotechnology*, Vol. 1, No, 4: 73-77.
 7. Flowers T. J. 2004. Improving crop salt tolerance. *Exp. Botany*, Vol. 55, 396:307-319
 8. Heur, B. & A. Nadler. 1998. Physiological response potato plants to soil salinity and water deficit. *Plant Sci.*, 137: 43-51.
 9. Maas, E. V., & R. H. Neiman, 1978. Physiology of plant tolerance to salinity. In: G. A. Jung, ed. *Crop tolerance to suboptimal land conditions*. Vol:32, pp. 277-299. ASA Special Publ.
 10. Martinez, C.A., M. Maestri and E.G. Lani. 1996. In vitro salt tolerance and proline accumulation in Andean potato (*Solanum* spp.) differing in frost resistance. *Plant Sci.*, 116: 177-184.
 11. Meiri, A., and A. Poljackoff-Mayber. 1970. Effect of various salinity regimes on growth, leaf expansion and transpiration rate of bean plants. *Soil Sci.* 109:26-34.
 12. Mercado Jos'e A., Mar'ia A. & Sancho-Carrascosa. 2000. Assessment of in vitro growth of apical stem sections and adventitious organogenesis to evaluate salinity tolerance in cultivated tomato. *Plant Cell, Tiss. Org. Cult.* 62: 101-106.
 13. Murashige, T. & F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays of tobacco tissue cultures. *Physiol. Planta.*, 15: 473-497.
 14. Sasikala, D.P.P. & P.V. Devi Prasad. 1994. Salinity effects on in vitro performance of some cultivars of potato. *Braz. J. Plant Physiol.*, 6: 1-6.
 15. Silva JAB, Otoni WC, Martinez CA, Dias LM & Silva MAP. 2001. Microtuberization of Andean potato species (*Solanum* spp.) as affected by salinity. *Sci. Hort.* 89: 91-101.
 16. Thomas E. S., & K. N. Dimassi. 2004. Response to increasing rates of boron and NaCl on shoot proliferation and chemical composition of in vitro kiwifruit shoot cultures. *Plant Cell, Tiss. Org. Cult.* 79: 285-289.
 17. Turhan, H. 2005. Salinity response of transgenic potato genotypes expressing the oxalate oxidase gene. *Turk. J. Agric.* 29: 187-195.
 18. Wang, W.X., B. Vinocur & A. Altman. 2003. Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. *Planta*, 218: 1-14.
 19. Zhang Y, Abdalnour JE, Donnelly DJ & Barthakur NN. 2001. Effects of NaCl stress on yield of potato plants derived from previously saline conditions. *HortScience* 36: 770-771.