

## Effects of sodium chloride on growth and physiological properties of three potato cultivars under *in vitro* condition

Tooba Karami<sup>1</sup>, Mohammad Zare Mehrjerdi<sup>2\*</sup>, Mahmoud Ghorbanzadeh Neghab<sup>3</sup>

1,2,3. - Agriculture Faculty of Shirvan, University of Bojnord, Iran  
(Received: April 6, 2021 - Accepted: August 4, 2021)

### ABSTRACT

Due to the possibility of environmental factors controll, studying the physiological effects of salinity under *in vitro* conditions can be a good solution for salinity tolerant cultivars selection. This experiment was conducted as factorial based on complete randomized design with four replications. Factors included sodium chloride concentrations (0, 2, 4, 6, 8 and 10 g.l<sup>-1</sup>) and three potato cultivars (Agria, Fontane and Sante). Results showed that the response of the studied cultivars to different salinity levels was different. In general, salinity stress reduced seedling, stem and root dry weights, stem length, number of nodes and photosynthetic pigments. Leaf area and stem diameter showed different responses to different levels of stress. In response to the salt concentration increase, Sodium and potassium concentrations increased in the stem but the same was not happened in leaves. Among the studied cultivars and despite having the highest level of sodium in stems and leaves under stress conditions, Sante and Agria, tolerated higher salinity than Fontane. It seems that the ability to absorb salt and transfer it to the plant can play an important role in salinity tolerance under *in vitro* conditions.

**Keywords:** K, Na, photosynthetic pigments, salinity stress.

### اثر کلرید سدیم بر ویژگی‌های رشدی و فیزیولوژیک سه رقم سیب‌زمینی در شرایط درون‌شیشه‌ای

طوبی کرمی<sup>۱</sup>، محمد زارع مهرجردی<sup>۲\*</sup>، محمود قربانزاده نقاب<sup>۳</sup>

۱ و ۲ و ۳ - کارشناسی ارشد، استادیار و دانشیار، دانشکده کشاورزی شیروان، دانشگاه بجنورد

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱/۱۷ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۵/۱۳)

### چکیده

مطالعه اثرات فیزیولوژیک ناشی از تنش شوری در شرایط درون‌شیشه‌ای به دلیل امکان کنترل عوامل محیطی می‌تواند راهکار مناسبی برای گزینش رقم متحمل به شوری باشد؛ به همین منظور، آزمایشی به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام شد. عوامل مورد مطالعه شامل غلظت‌های مختلف کلرید سدیم (صفر، دو، چهار، شش، هشت و ۱۰ گرم در لیتر) و سه رقم تجاری سیب‌زمینی (اگریا، فونتانه و سانت) بودند. نتایج نشان داد که پاسخ ارقام مورد مطالعه به سطوح مختلف شوری متفاوت بود. به‌طور کلی، تنش شوری باعث کاهش وزن خشک گیاهچه، ساقه و ریشه، طول ساقه، تعداد گره و رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی شد. سطح برگ و قطر ساقه، پاسخ‌های متفاوتی به سطوح مختلف نشان دادند. مقدار سدیم و پتاسیم ساقه در واکنش به افزایش غلظت نمک افزایش یافت، ولی مقدار سدیم و پتاسیم برگ از این روند تبعیت نکرد. در بین ارقام مورد مطالعه، اگریا و سانت به ترتیب با داشتن بیشترین سدیم ساقه و برگ با افزایش شوری، تحمل به شوری بیشتری نسبت به فونتانه داشتند. به نظر می‌رسد که توانایی جذب نمک و انتقال آن در گیاه می‌تواند نقش مهمی در تحمل به شوری در شرایط درون‌شیشه‌ای داشته باشد.

**واژه‌های کلیدی:** پتاسیم، تنش شوری، رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی، سدیم.

### مقدمه

تحت تأثیر شوری قرار می‌گیرد. اگرچه سیب‌زمینی در گروه گیاهان نیمه حساس به شوری طبقه‌بندی شده است (Katerji *et al.*, 2000)، با این حال ارقام حساس به شوری نیز در این گیاه مشاهده می‌شود. این گیاه به‌خصوص در مرحله اولیه رشد، حساسیت بیشتری به شوری دارد (Heure and Nadler, 1998).

تنش شوری یکی مهم‌ترین تنش‌های محیطی است که می‌تواند رشد و تولید گیاهان زراعی را به‌خصوص در مناطق خشک و نیمه‌خشک کاهش دهد (Munns, 2002; Rengasamy, 2010). در این میان، سیب‌زمینی (*Solanum tuberosum* L.) به‌عنوان یک محصول زراعی مهم در تأمین امنیت غذایی، همانند سایر گیاهان زراعی

\* Corresponding author E-mail: mzarem@um.ac.ir

(Leone *et al.*, 1994; Hawkins & Lips, 1997). کشت بافت گیاهی به‌عنوان یک روش ساده و مقرون به‌صرفه برای دستیابی به گیاهان متحمل به تنش شوری و مطالعه کارکردهای سلولی دخیل در تحمل به شوری از طریق مطالعه لاین‌های سلولی متحمل به شوری در شرایط درون‌شیشه‌ای معرفی شده است (Gu *et al.*, 2004; Raoufi *et al.*, 2021). این روش می‌تواند تحت شرایط کنترل شده با زمان و مکان محدود به‌کار گرفته شود (Sakhanokho & Kelley, 2009). گیاهچه‌هایی که در شرایط درون‌شیشه‌ای رشد داده شده‌اند، با گیاهانی که در شرایط طبیعی رشد می‌کنند، از نظر ژنتیکی کاملاً یکسان هستند، در نتیجه این انتظار وجود دارد که پاسخی مشابه به تنش شوری دهند (Mills & Tal, 2004; Shibli *et al.*, 2007). مطالعات انجام شده روی سیب‌زمینی نشان داده است که گزینش در شرایط درون‌شیشه‌ای برای تحمل به شوری می‌تواند یک روش جایگزین و مقرون‌به‌صرفه برای گزینش در شرایط طبیعی باشد (Khras *et al.*, 1998; Aghaei *et al.*, 2008; Rahman *et al.*, 2008; Sudharsan, 2012; Murshed *et al.*, 2021). در اکثر مطالعات، تأثیر شوری بر خصوصیات رشدی ارقام مختلف سیب‌زمینی مورد بررسی قرار گرفته است و کمتر روابط فیزیولوژیک مؤثر در این فرآیند مورد توجه بوده است.

به‌نظر می‌رسد ارزیابی ارقام در محیط کنترل شده، با بررسی خصوصیات مرفولوژیک و فیزیولوژیک می‌تواند اطلاعات مناسبی را در جهت شناسایی راهکارهای ژنوتیپ‌های مختلف گیاهی برای مقابله با تنش شوری در اختیار پژوهشگران قرار دهد؛ بنابراین این آزمایش باهدف مقایسه تحمل شوری سه رقم سیب‌زمینی در شرایط درون‌شیشه‌ای و بررسی تأثیر تجمع یون‌های سدیم و پتاسیم در برگ و ساقه بر تحمل شوری و خصوصیات رشدی ارقام سیب‌زمینی انجام شد.

### مواد و روش‌ها

این آزمایش در مجتمع آموزش عالی شیروان به‌صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار

شوری از دو جنبه باعث ایجاد خسارت در گیاه می‌شود. یکی ایجاد تنش خشکی به‌واسطه تنظیم اسمزی نمک که جذب آب توسط گیاه را با مشکل مواجه می‌کند (Horie *et al.*, 2011; Shahzad *et al.*, 2019) و دیگری اثر سمیت یون‌های نمک که تعادل یونی را در سلول‌ها تحت تأثیر قرار داده و باعث ایجاد خسارت می‌شود (Munns & Tester, 2008). در مقیاس سلولی، تنش شوری باعث برهم خوردن تعادل یونی و تنش اسمزی، اختلال در جذب مواد غذایی و تنش اکسیداتیو (Gao *et al.*, 2015; Zeng, *et al.*, 2015) و نیز تغییراتی در رشد، تقسیم سلولی و فعالیت آنزیم‌ها می‌شود (Winicov, 1993; Gao *et al.*, 2015). کاهش رشد، مهم‌ترین پدیده در گیاهان تحت تنش شوری است که این فرآیند در سلول‌ها، بافت‌ها و اندام‌های کشت شده در محیط کشت حاوی کلرید سدیم نیز مشاهده می‌شود (Khras *et al.*, 1998; Aghaei *et al.*, 2008; Sudharsan, 2012; Murshed *et al.*, 2015). در حقیقت کاهش رشد، یک راهکار برای بقای گیاه در شرایط تنش شوری است (Queiros *et al.*, 2007).

گیاهان تعداد زیادی از شیوه‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیک را برای تحمل تنش‌های محیطی توسعه داده‌اند (Pastori & Foyer, 2002) که از آن جمله می‌توان به بسته شدن روزنه‌ها، تجمع اسمولیت‌ها، افزایش فعالیت آنتی‌پورترهای  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  و کنترل نقل و انتقال سدیم و پتاسیم و افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی اشاره کرد (Gao *et al.*, 2015; Assaha *et al.*, 2017; Liang *et al.*, 2018).

پاسخ گیاه به شوری از نظر ژنتیکی و فیزیولوژیک بسیار پیچیده است (Zhao *et al.*, 2020). گزینش برای ارقام متحمل در شرایط مزرعه، تحت تأثیر متغیرهای جغرافیایی، نوع خاک و شرایط محیطی قرار می‌گیرد (Arzani, 2008). از این‌رو انجام آزمایش‌هایی از این دست در شرایط کنترل شده می‌تواند نتایج تکرارپذیری به دنبال داشته باشد. به‌علاوه، بیشتر مطالعات پاسخ به تنش شوری در سطح گیاه کامل مورد ارزیابی قرار گرفته است؛ در نتیجه به دلیل پیچیدگی ساختمانی گیاه، جدا کردن پاسخ‌های سیستمیک از سازوکارهای سلولی مشکل است

(Digital Flam photometer) تعیین شد. پردازش داده‌ها و ترسیم نمودارها با استفاده از برنامه Excel انجام شد و تجزیه آماری و مقایسه میانگین با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد با استفاده از بسته (Agricolae (Mendiburu, 2020) صورت گرفت و نمودار همبستگی نیز با بسته Corrplot (Taiyun & Simko, 2017) در محیط R رسم شد.

### نتایج و بحث

#### وزن خشک گیاهچه و اجزای آن

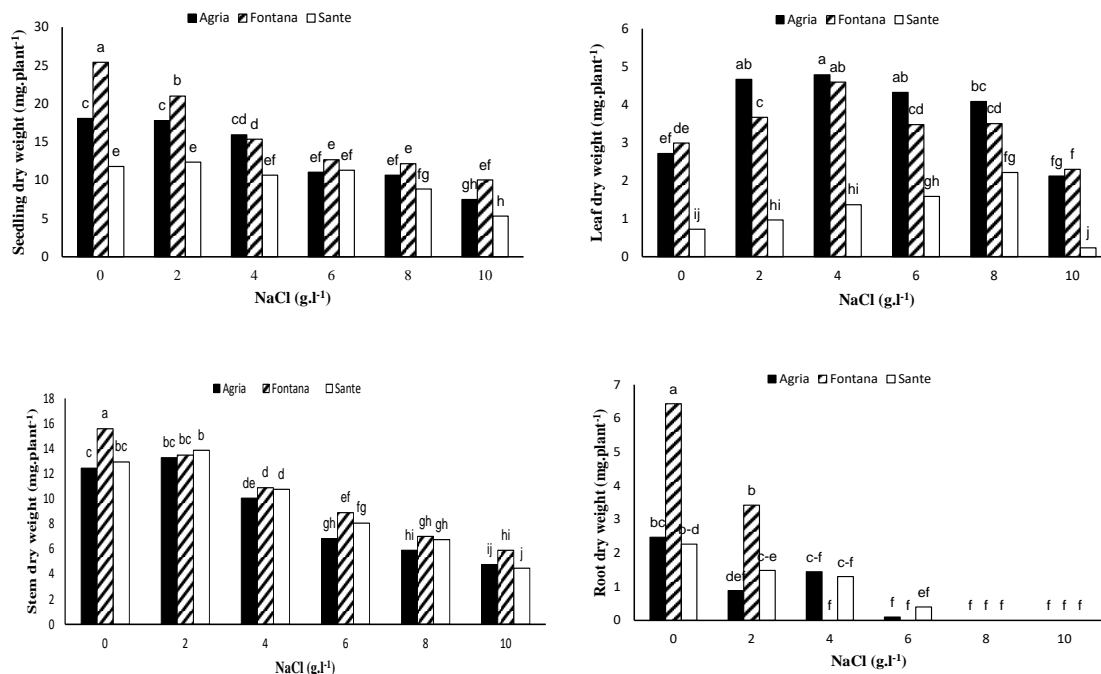
بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف NaCl روی وزن خشک گیاهچه‌های سیب‌زمینی نشان داد که با افزایش سطح شوری، از میانگین وزن خشک گیاهچه‌ها کاسته شد. در بین ارقام، وزن خشک گیاهچه در شرایط عدم تنش در رقم فونتانه بیشتر از دو رقم دیگر بود و رقم سانته کمترین وزن خشک گیاهچه را داشت. تیمار شوری دو گرم در لیتر NaCl، سبب کاهش وزن خشک گیاهچه فونتانه شد، اما در اگریا و سانته، این کاهش به ترتیب در شش و هشت گرم در لیتر NaCl مشاهده شد. در بیشترین سطح شوری به کاربرده شده، ارقام اگریا، فونتانه و سانته به ترتیب ۵۹، ۶۱ و ۵۵ درصد کاهش وزن خشک گیاهچه را نشان دادند (شکل ۱، ۲). مطالعه‌ای روی سیب‌زمینی نشان داد که تحمل به شوری رقم سانته بیشتر از اگریا و اگریا بیشتر از فونتانه بود (Khrais *et al.*, 1998). در آزمایش دیگری نیز مشخص شد که تحمل به شوری رقم سانته نسبت به فونتانه بیشتر است (Sudharsan *et al.*, 2012). بررسی تأثیر تیمار شوری بر وزن خشک برگ نشان داد که در شرایط عدم تنش، سانته کمترین وزن خشک برگ را نسبت به دو رقم دیگر داشت. تنش شوری در هر سه رقم، به افزایش و سپس کاهش وزن خشک برگ منجر شد، به نحوی که حداکثر وزن خشک برگ در رقم اگریا در سطوح دو تا شش گرم کلرید سدیم در لیتر و در فونتانه و سانته نیز به ترتیب در چهار گرم و شش و هشت گرم کلرید سدیم در لیتر به دست آمد (شکل ۱).

(در هر تکرار ۱۰ گیاهچه) انجام شد. تیمارهای مورد مطالعه شامل غلظت‌های مختلف کلرید سدیم (صفر، دو، چهار، شش، هشت و ۱۰ گرم در لیتر (صفر، ۳۴/۲، ۶۸/۴، ۱۰۲/۷، ۱۳۶/۹ و ۱۷۱/۱ میلی مولار) و ارقام تجاری سیب‌زمینی (اگریا (Agria)، فونتانه (Fontane) و سانته (Sante)) بود. گیاهچه‌های استریل حاصل از کشت بافت سیب‌زمینی از موسسه بیوتکنولوژی اصفهان تهیه شد. تیمارهای شوری در شرایط درون‌شیشه‌ای، روی ریزنمونه گره‌دار ساقه گیاهچه‌های استریل سیب‌زمینی در محیط کشت MS (Murashige & Skoog, 1962) حاوی سه درصد ساکارز، هفت گرم در لیتر آگار و با pH ۵/۸ اعمال شدند. پس از کشت، ظروف کشت به شرایط نوری ۱۶ ساعت روشنایی (۲۵۰۰-۳۰۰۰ لوکس) و هشت ساعت تاریکی در دمای  $25 \pm 1$  درجه سانتی‌گراد منتقل شدند و پس از گذشت یک ماه، ویژگی‌های مختلف مورد ارزیابی قرار گرفت (Nabati *et al.*, 2018). به منظور اندازه‌گیری صفاتی مانند طول و قطر ساقه، سطح برگ و تعداد گره، از گیاهچه‌ها تصویربرداری شد و در ادامه صفات مورد نظر با روش پردازش تصویر با استفاده از نرم‌افزار Jmicrovision v1.2.7 (Roduit, 2019) ارزیابی شدند. به منظور بررسی تأثیر شوری بر رشد گیاهچه‌ها، وزن خشک کل با اندازه‌گیری اجزای آن شامل برگ، ساقه و ریشه در تیمارها اندازه‌گیری شد.

مقدار کلروفیل  $a$  و  $b$  با استفاده از روش طیف‌سنجی اندازه‌گیری شد (Lichtenthaler & Buschmann, 2001). برای این منظور ۵۰ میلی‌گرم برگ با استفاده از یک میلی‌لیتر اتانول ۹۶ درصد عصاره‌گیری شد و در ادامه جذب عصاره با دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل T60 UV-visible) در طول موج‌های ۶۴۹ و ۶۶۴ نانومتر اندازه‌گیری شد و غلظت رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی پس از استانداردسازی بر اساس وزن نمونه برگ بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه شد. برای تعیین غلظت سدیم و پتاسیم، از روش هضم تر روی نمونه‌های ساقه و برگ استفاده شد (Thomas *et al.*, 1967) و مقدار سدیم و پتاسیم در نمونه‌های هضم شده با استفاده از دستگاه فلیم‌فتومتر (-310C

خشک ساقه در اگریا و سانته در تیمار چهار گرم کلرید سدیم در لیتر شروع شد، درحالی‌که در فونتانه آغاز کاهش در دو گرم در لیتر نمک بود (شکل ۱).

وزن خشک ساقه در رقم فونتانه در شرایط عدم تنش بیشتر از دو رقم دیگر بود. تیمار کلرید سدیم، به کاهش وزن خشک ساقه ارقام منجر شد. کاهش وزن



شکل ۱- تأثیر تیمارهای مختلف شوری بر وزن خشک گیاهچه، برگ، ساقه و ریشه در سه رقم سیب‌زمینی  
Figure 1. Effect of different salinity treatments on seedling, leaf, stem and root dry weights in three potato cultivars

داشت (Naik & Widholm, 1993).

### طول و قطر ساقه و تعداد گره

طول و قطر ساقه و تعداد گره ارقام نیز تحت تأثیر افزایش غلظت کلرید سدیم قرار گرفت. در شرایط عدم تنش، کمترین طول ساقه متعلق به رقم سانته بود. کاهش رشد ساقه‌ها در هر سه رقم با اولین سطح تنش شوری آغاز شد. این کاهش در تیمار ۱۰ گرم کلرید سدیم در لیتر برای ارقام اگریا، فونتانه و سانته به ترتیب ۸۴، ۸۶ و ۸۱ درصد نسبت به شاهد بود (شکل ۳). کاهش طول ساقه تحت تأثیر شوری در شرایط درون‌شیشه‌ای در مطالعات دیگر نیز گزارش و مشخص شده است که رابطه مثبتی بین طول ساقه و تحمل به شوری وجود دارد (Khras et al., 1998; Aghaei et al., 2008; Murshed et al., 2015; Chen et al. 2018).

در شرایط عدم تنش، بیشترین وزن خشک ریشه به رقم فونتانه تعلق داشت. رشد و باززایی ریشه‌ها در غلظت‌های بالای چهار گرم در لیتر در رقم فونتانه و بالای شش گرم در لیتر در ارقام اگریا و سانته به صفر رسید (شکل ۱). به نظر می‌رسد که با توجه به حساسیت بیشتر ریشه به تنش شوری، این صفت می‌تواند معیار مناسبی برای اندازه‌گیری تحمل به تنش شوری در گیاهان مختلف باشد. در بررسی اثر تنش شوری بر طول ریشه یازده رقم پنبه مشخص شد که طول ریشه، تأثیرپذیری بیشتری در برابر تنش نسبت به طول ساقه دارد (Noor et al., 2001). مطالعه روی به‌گزینی ارقام سیب زمینی در شرایط این ویترو و این ویو برای تحمل به شوری نشان داده است که پاسخ کشت ریشه نسبت به کشت ساقه، مشابهت بیشتری با تحمل به شوری ارقام در شرایط این ویو



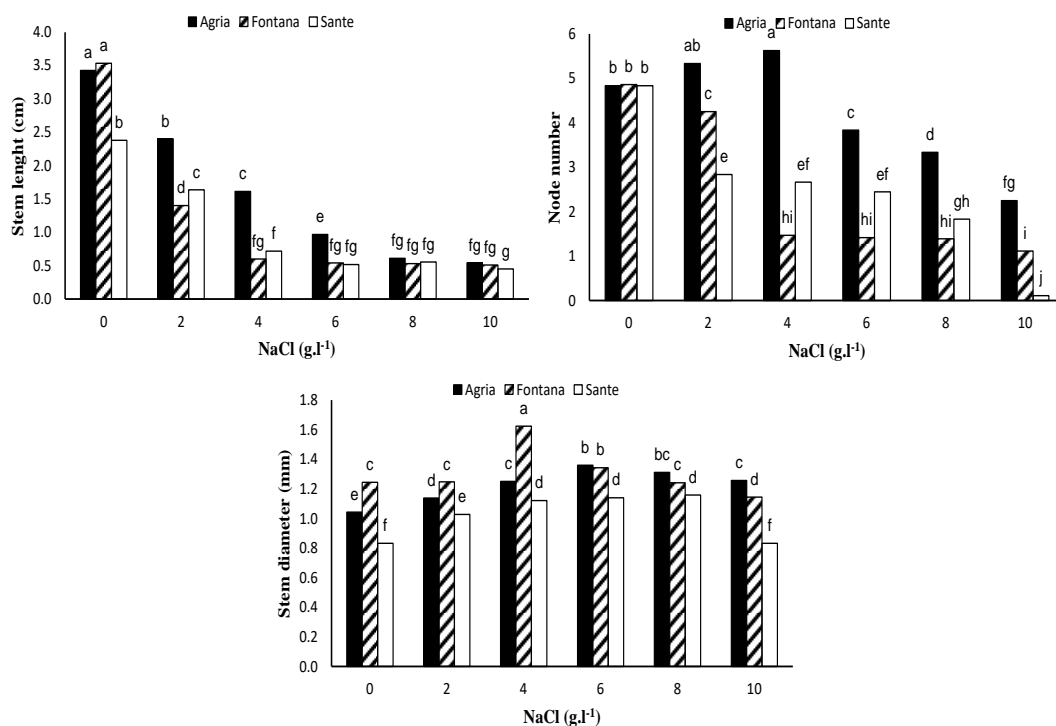
شکل ۲- تأثیر غلظت‌های مختلف کلرید سدیم روی رشد ریز نمونه‌های دو رقم سیب‌زمینی (اگریا و فونتانه) در شرایط درون شیشه‌ای.

Figure 2. Effect of different concentrations of sodium chloride on growth of micro-cut of two potato cultivars (Agria and Fontane) under *in vitro* conditions.

قطر ساقه گیاهچه‌های سیب‌زمینی در برخی از ارقام منجر شد (Murshed *et al.*, 2015; Chen *et al.*, 2018).

در شرایط عدم تنش، تعداد گره در هر سه رقم تفاوت معنی‌داری نداشت و با اعمال شوری، از تعداد گره‌ها (به جز تیمار چهار گرم کلرید سدیم در لیتر در اگریا) کاسته شد. در اگریا، تعداد گره تأثیرپذیری کمتری نسبت به تنش شوری در مقایسه با دو رقم دیگر داشت (شکل ۳). نتایج مطالعه دیگری روی گیاهچه سیب‌زمینی تحت تیمار شوری نشان داد که با وجود کاهش طول ساقه، کاهش در تعداد گره تنها در غلظت‌های بالای ۱۲۵ میلی‌مولار (۷/۳ گرم در لیتر) رخ داد (Murshed *et al.*, 2015). بر این اساس، به نظر می‌رسد که در ارتباط با صفت تعداد گره، پاسخ ارقام سیب‌زمینی به شوری متفاوت است.

بیشترین قطر ساقه در شرایط عدم تنش به رقم فونتانه تعلق داشت. در هر سه رقم مورد مطالعه، قطر ساقه در پاسخ به تیمارهای تنش شوری افزایش یافت؛ این افزایش در اگریا و سانتا (به جز تیمار ۱۰ گرم کلرید سدیم در لیتر) در تمامی سطوح تنش در مقایسه با شاهد مشاهده شد. در فونتانه، افزایش فقط در تیمارهای چهار و شش گرم کلرید سدیم در لیتر مشاهده شد و در آخرین سطح تنش، قطر ساقه نسبت به شاهد کاهش یافت (شکل ۳). افزایش قطر ساقه در پی تنش شوری می‌تواند در اثر تورم سلول‌ها در اثر تجمع نمک و متعاقب آن تنظیم اسمزی و جذب بیشتر آب به درون آن‌ها باشد. افزایش حجم بافت‌ها تحت تأثیر نمک در گیاهان دیگر نیز گزارش شده است (Gelenn, 1992; Munns, 2002). در مطالعه دیگر نیز به‌مانند نتایج آزمایش حاضر، افزایش نمک به افزایش

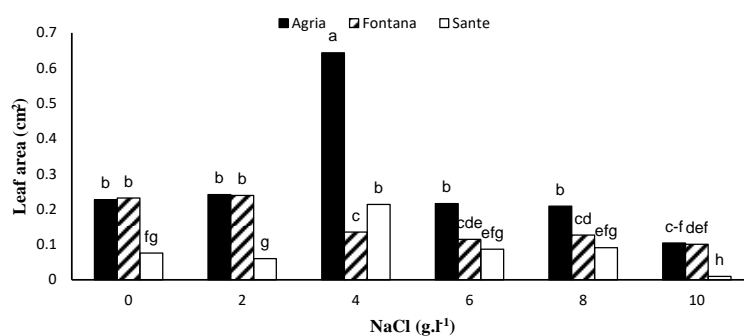


شکل ۳- تأثیر تیمارهای مختلف تنش شوری بر طول و قطر ساقه و تعداد گره در سه رقم سیب‌زمینی.  
 Figure 3. Effect of different salinity treatments on stem length and diameter and number of nodes in three potato cultivars.

کلرید سدیم در لیتر، سطح برگ را در رقم آگریا و سانته افزایش و در فونتانه کاهش داد. هر سه رقم در تیمار ۱۰ گرم کلرید سدیم در لیتر سطح برگ کمتری در مقایسه با شاهد داشتند (شکل ۴).

### سطح برگ

در شرایط عدم تنش، رقم سانته تنش کمترین سطح برگ را در مقایسه با دو رقم دیگر داشت. در هر سه رقم، سطح برگ در تیمار دو گرم کلرید سدیم در لیتر تفاوت معنی‌داری با شاهد نداشت. کاربرد چهار گرم

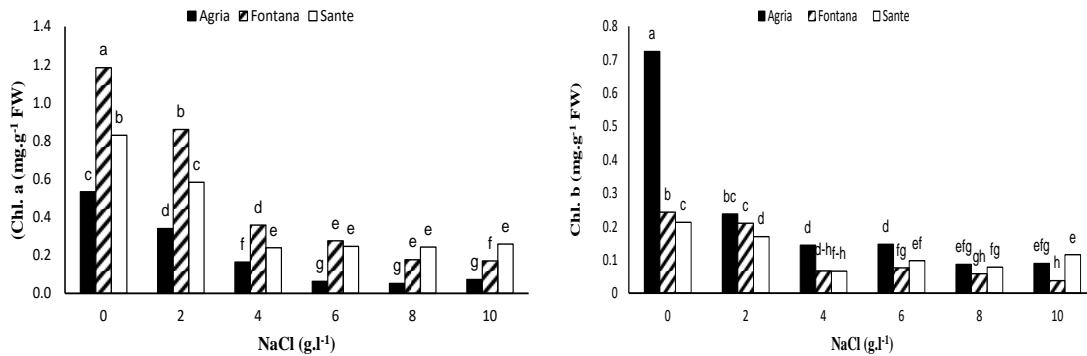


شکل ۴- تأثیر تیمارهای مختلف شوری بر سطح برگ در سه رقم سیب‌زمینی.  
 Figure 4. Effect of different salinity treatments on leaf area in three potato cultivars.

در سلولی‌های برگ و به دنبال آن کاهش بزرگ شدن سلول‌ها و تقسیم سلولی نسبت داده شده است (García-Caparrós & Lao, 2018).

کاهش سطح برگ در سیب‌زمینی در پاسخ به شوری پیش از این نیز گزارش شده است (Heuer & Nadler, 1995) که این کاهش به عدم توانایی ایجاد فشارآماس

مقدار کلروفیل *a* در ارقام آگریا، فونتانه و سانته به ترتیب ۸۶، ۸۶ و ۶۹ درصد کاهش نسبت به شاهد نشان داد که برای کلروفیل *b* این مقادیر ۸۸، ۸۴ و ۴۶ درصد بود (شکل ۵).



شکل ۵- تأثیر تیمارهای مختلف شوری بر میزان کلروفیل *a* و *b* در سه رقم سیبزمینی

Figure 5. Effect of different salinity treatments on the chlorophyll *a* and *b* contents in three potato cultivars

کروفیل و کاروتن ها سبب کاهش فعالیت فتوسنتزی می شود' (Sudhir & Murthy, 2004).

#### سدیم و پتاسیم برگ و ساقه

در شرایط عدم تنش، کمترین میزان سدیم ساقه و برگ در رقم فونتانه مشاهده شد و سانته بیشترین سدیم برگ را داشت. بررسی تغییرات مقدار سدیم ساقه و برگ در پاسخ به شوری نشان داد که با وجود این که میزان سدیم ساقه با افزایش غلظت کلرید سدیم به کار برده شده در محیط کشت افزایش یافت، در برگها چنین روندی مشاهده نشد. در شرایط تنش، بیشترین سدیم ساقه و برگ به ترتیب به ارقام سانته، آگریا و فونتانه تعلق داشت. بر اساس نتایج، میزان سدیم در برگ به مراتب بیشتر از ساقه بود (شکل ۶).

میزان پتاسیم ساقه در شرایط عدم تنش، تفاوت معنی داری بین ارقام نداشت، اما بیشترین پتاسیم برگ به ترتیب در ارقام سانته، آگریا و فونتانه یافت شد. تنش شوری به افزایش میزان پتاسیم ساقه منجر شد که این افزایش در فونتانه و آگریا در تیمار چهار گرم و در سانته در شش گرم کلرید سدیم در لیتر شروع شد اما این افزایش همانند سدیم چشمگیر نبود. تنش شوری به کاهش میزان پتاسیم برگ در آگریا منجر شد، اما در

#### کلروفیل *a* و *b*

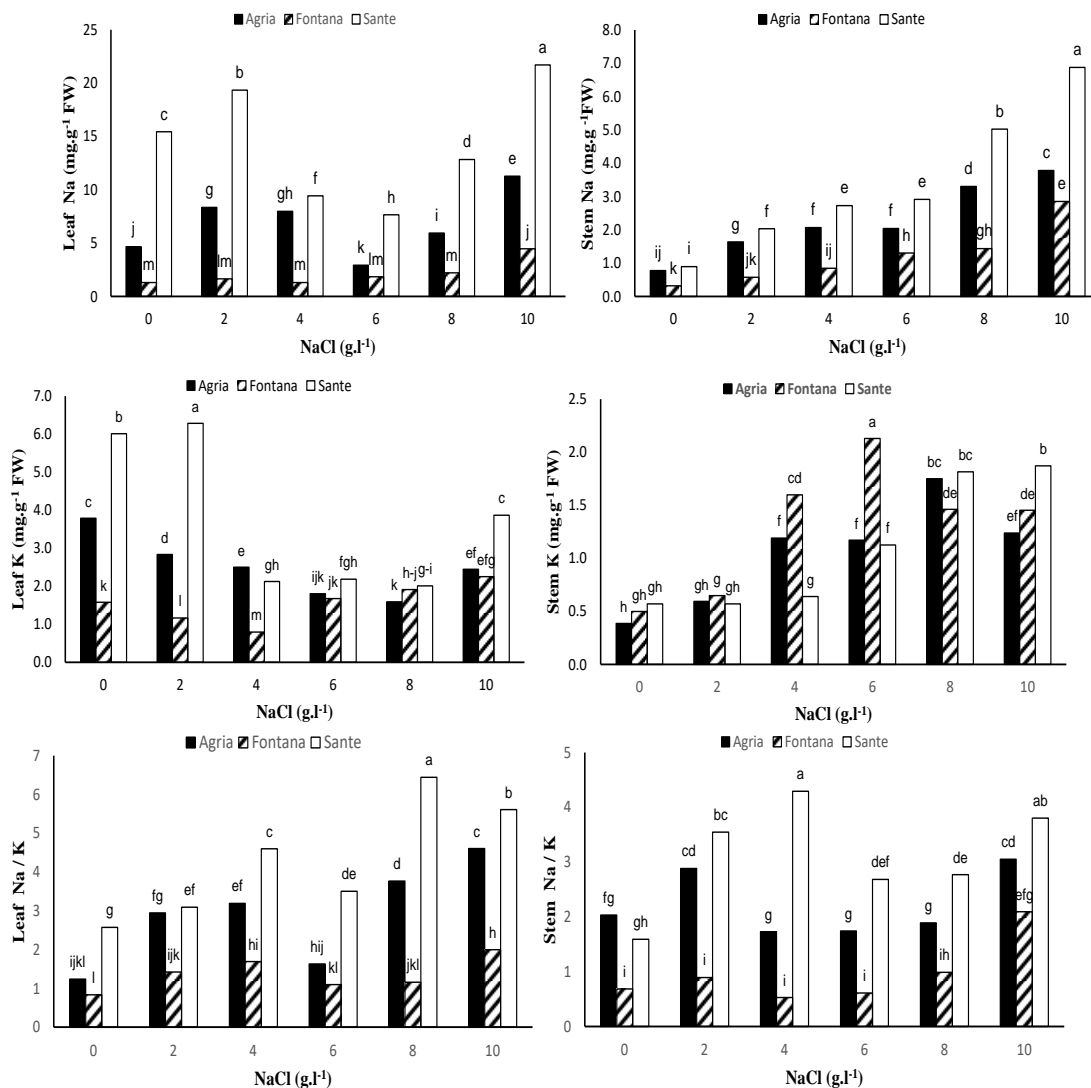
در شرایط عدم تنش، بیشترین مقدار کلروفیل *a* و *b* به ترتیب به ارقام فونتانه و آگریا تعلق داشت و در هر سه رقم، تنش شوری به کاهش مقدار کلروفیل *a* و *b* منجر شد. در تیمار ۱۰ گرم کلرید سدیم در لیتر،

این نتایج نشان داد که مقدار کلروفیل برگ به مانند رشد ریشه ها به تنش شوری حساس است. کمیت کلروفیل به عنوان شاخص حساسیت به شوری در سطح متابولیسم سلولی مورد استفاده قرار گرفته است (Chutipaijit *et al.*, 2011). حفظ کمیت کلروفیل تحت شرایط تنش شوری می تواند باعث افزایش تحمل گیاه به این تنش شود (Su *et al.*, 2011). پیشتر نیز زرد شدن برگها در پاسخ به شوری در کشت بافت سیبزمینی گزارش شده بود (Sudharsan *et al.*, 2012; Li *et al.*, 2018). کاهش مقدار کلروفیل در شرایط تنش شوری می تواند در نتیجه ممانعت از سنتز رنگدانه ها و یا به واسطه تخریب کلروپلاستها رخ دهد (Gao *et al.*, 2015; Li *et al.*, 2018). در این پژوهش، میزان کلروفیل *b* در شرایط تنش بیشتر از کلروفیل *a* بود. به نظر می رسد که در اثر تنش شوری، میزان کلروفیل *a* بیشتر تحت تاثیر تنش قرار گرفته است. افزایش تجمع سدیم کلرید در کلروپلاست گیاهان، کاهش میزان کلروفیل *a* را از طریق شکستن کلروپلاست در پی دارد و ناپایداری کمپلکس پروتئین و لیپید در گیاهان حساس به شوری، با تاثیر بر تشکیل پلاستید های جدید و به دنبال آن کاهش

نشان داد که در شرایط تنش و عدم تنش، بیشترین نسبت به رقم فونتانه تعلق داشت و در اغلب موارد، سانه نسبت پتاسیم به سدیم کمتری در مقایسه با آگریا داشت (شکل ۶).

فونتانه، شوری ابتدا میزان پتاسیم برگ را کاهش و سپس افزایش داد. در سانه در کمترین سطح شوری، میزان پتاسیم برگ بیشتر از شاهد بود و در بقیه تیمارها کاهش نشان داد (شکل ۶).

بررسی تغییرات نسبت پتاسیم به سدیم در ساقه و برگ



شکل ۶- تأثیر تیمارهای مختلف شوری بر میزان و نسبت سدیم و پتاسیم برگ و ساقه در سه رقم سیب‌زمینی  
 Figure 6. Effect of different salinity treatments on leaves and stems sodium and potassium levels in three potato cultivars

هالوفیت‌ها می‌توانند جذب سدیم و کلر را به صورت فعال کنترل کنند (Colmer *et al.*, 1995; Santa-Mari & Epstein, 2001; Ali & Yun, 2017). اما گیاهان حساس به شوری نظیر سیب‌زمینی نمی‌توانند انتشار این یون‌ها را به خوبی کنترل کنند (Shahzad *et al.*, 2019). مطالعه تأثیر شوری بر ارقام سیب‌زمینی در

بر اساس نتایج، دو رقم آگریا و سانه تمایل بیشتری به جذب و انتقال نمک نسبت به رقم فونتانه نشان دادند (شکل ۶). مطالعات سایر پژوهشگران نشان داده است که سطح بالای سدیم و در نتیجه کاهش سطح پتاسیم در اندام هوایی و ریشه، به ایجاد خسارت توسط نمک در گیاهان منجر می‌شود. با وجود این، برخی از



دنبال آن تنظیم اسمزی تنظیم اسمزی (Guo *et al.*, 2020)، احتمالاً بهبود جذب آب و متعاقب آن انتقال آب، املاح و قند از محیط کشت به برگ‌ها منجر می‌شود (Lipvaska & Vergudenhil, 1996). جذب آب باعث دو پدیده می‌شود؛ اول به‌واسطه رقیق کردن نمک، مقدار سدیم در برگ را کاهش می‌دهد که وضوح در روند کاهش سدیم در برگ اگر با هم‌زمان با افزایش غلظت نمک از دو به شش گرم در لیتر مشهود است (شکل ۶) و دوم، افزایش سطح برگ به واسطه آماس سلولی و توسعه ابعاد سلول‌های برگ است که در توسعه سطح برگ نقش مؤثر دارد.

#### همبستگی بین صفات

در این مطالعه، سطح برگ همبستگی مثبت و معنی‌داری با تعداد گره، وزن خشک برگ و نسبت پتاسیم به سدیم برگ داشت. کلروفیل برگ، همبستگی منفی و معنی‌داری با سدیم و پتاسیم ساقه داشت، درحالی‌که همبستگی بین کلروفیل با سدیم و پتاسیم برگ معنی‌دار نبود. همبستگی منفی و معنی‌داری نیز بین سدیم و پتاسیم برگ با وزن خشک برگ مشاهده شد (شکل ۷).

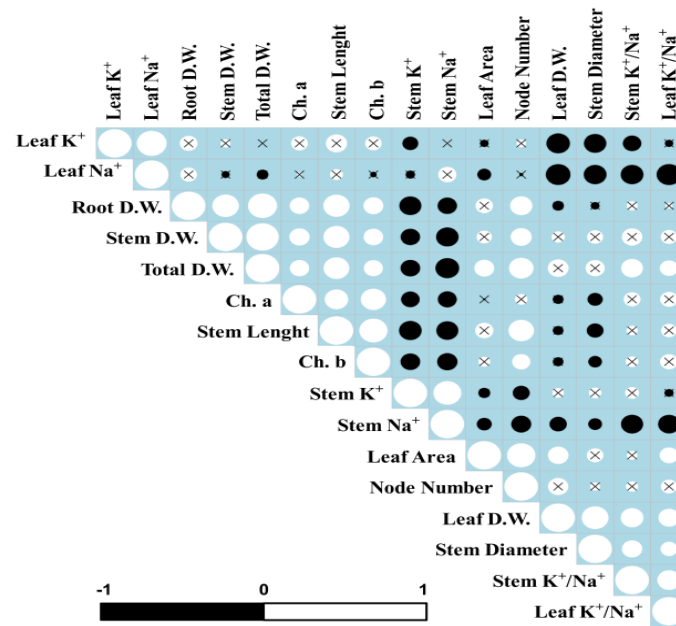
#### نتیجه‌گیری کلی

در مجموع به‌نظر می‌رسد که پاسخ ارقام مختلف به تنش شوری متفاوت بوده است. این تفاوت علاوه بر چگونگی پاسخ گیاه به شرایط القاء شده توسط تنش شوری (سمیت و خشکی) می‌تواند تحت تأثیر کنش‌های متقابل گیاه و تنش قرار گیرد و این پاسخ‌ها در شرایط درون‌شیشه‌ای در ارقام مختلف، قابل ارزیابی و تجزیه و تحلیل است. نتایج نشان داد که در بین ارقام مورد مطالعه، سانته و اگر با از تحمل نسبی بیشتری به شوری برخوردار بودند. حتی در هر دو رقم در سطح شوری کم، افزایش سطح برگ در شرایط درون‌شیشه‌ای در پی شوری مشاهده شد. به‌نظر می‌رسد که توانایی جذب نمک و انتقال آن در گیاه می‌تواند نقش مهمی در تحمل شوری در سیب‌زمینی در شرایط درون‌شیشه‌ای داشته باشد.

شرایط هیدروپونیک نشان داده است که ارقام متحمل سیب‌زمینی، مقدار بیشتری سدیم در ساقه جمع می‌کنند و در نتیجه مقدار سدیم موجود در برگ آن‌ها کمتر از ارقام حساس است (Jaarsma *et al.*, 2013). پتاسیم یکی از مهم‌ترین کاتیون‌ها برای رشد گیاه است. این ترکیب برای اسموتیک واکوئل و به‌عنوان یک کوفاکتور آنزیمی مورد نیاز می‌باشد (Britto *et al.*, 2021). با توجه به این نکته که گیاهان متحمل به شوری، غلظت‌های بالایی از پتاسیم و غلظت کمی از سدیم را در سیتوسول خود نگه می‌دارند و این کار را احتمالاً با تنظیم بیان و فعالیت انتقال‌دهنده‌های سدیم و پتاسیم و پمپ هیدروژن انجام می‌دهند (Zhu., 2003). اما در این مطالعه مقدار سدیم موجود در برگ و ساقه فونتانه (حساس) هر دو به‌مراتب کمتر از سانته و اگر با (متحمل) بود. به‌نظر می‌رسد که در شرایط درون‌شیشه‌ای، تجمع کمتر سدیم در برگ‌ها نمی‌تواند به‌تنهایی معیار مناسبی برای تحمل به شوری باشد.

تنظیم مقدار یون‌های سدیم و پتاسیم تحت کنترل انتقال‌دهنده‌های سدیم و پتاسیم است. انتقال ژن این انتقال‌دهنده به سیب‌زمینی، به افزایش تحمل به شوری این گیاه منجر شده است (Wang *et al.*, 2019). در این گیاهان تراریخته، علاوه بر کاهش غلظت سدیم در برگ و بهبود نسبت پتاسیم به سدیم، کمترین مقدار کاهش در فتوسنتز، هدایت روزنه‌ای و عملکرد گزارش شده است؛ با این حال، فعالیت این انتقال‌دهنده‌ها نیازمند مصرف انرژی است (Assaha *et al.*, 2017).

یافته‌های این مطالعه به‌خوبی نشان‌دهنده پاسخ پیچیده ارقام به شوری می‌باشد. بر اساس این نتایج و همان‌طور که در مطالعات پیشین بیان شده است (Leone *et al.*, 1994; Hawkins & Lips, 1997) به‌نظر می‌رسد که با وجود مشکل بودن جدا کردن پاسخ‌های سیستمیک از سازوکارهای سلولی، مطالعات فیزیولوژیک در محیط کنترل شده می‌تواند راهکار مناسبی برای ارزیابی این پیچیدگی‌ها باشد. در تیمارهای شوری، به دلیل جذب سدیم در برگ و به



شکل ۷- همبستگی بین صفات مختلف تحت تنش شوری در سیبزمینی. X: عدم تفاوت معنی‌دار در سطح پنج درصد.

Figure 7. Correlation between different traits under salinity stress in potato. X: Non significant correlation at 5% of probability level.

## REFERENCES

- Aghaei, K., Ehsanpour, A. A., Balali, G. & Mostajeran, A. (2008). *In vitro* screening of potato (*Solanum tuberosum* L.) cultivars for salt tolerance using physiological parameter and RAPD analysis. *American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Sciences*, 3(2), 159-164.
- Ali, A. & Yun, D. J. (2017). Salt stress tolerance; what do we learn from halophytes?. *Journal of Plant Biology*, 60, 431-439.
- Arzani, A. (2008). Improving salinity tolerance in crop plants: a biotechnological view. *In Vitro Cellular and Developmental Biology – Plant*, 44, 373-383.
- Assaha, D.V.M., Ueda, A., Saneoka, H., Al-Yahyai, R. & Yaish, M. W. (2017). The role of Na<sup>+</sup> and K<sup>+</sup> transporters in salt stress adaptation in glycophytes. *Frontiers in Physiology*, 8, 509.
- Britto, D. T., Coskun, D. & Kronzucker, H. J. (2021). Potassium physiology from Archean to Holocene: A higher-plant perspective. *Journal of Plant Physiology*, 262, 153432.
- Chen, Y. Y., Li, Z. C., Cao, J. M., Xu, S. M. & Mo, L. (2018). Response of potato virus-free seedlings to NaCl stress and evaluation of salt tolerance. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 31(10), 2052-2059.
- Chutipaijit. S., Chaum, S. & Sompornpailin, K. (2011). High contents of proline and anthocyanin increase protective response to salinity in *Oryza sativa* L. spp. indica. *Australian Journal of Crop Science*, 5, 1191-1198.
- Colmer, T. D., Epstein, E. & Dvorak, J. (1995). Differential solute regulation in leaf blades of various ages in salt sensitive wheat and salt tolerant wheat  $\times$  *Lophopyrum elongatum* (host) A. love amphiploid. *Plant Physiology*, 108, 1715-1724.
- Gao, H., Yang, H., Bai, J., Liang, X., Lou, Y. & Zhang, J. (2015). Ultrastructural and physiological responses of potato (*Solanum tuberosum* L.) seedlings to gradient saline stress. *Frontiers in Plant Science*, 5, 787.
- García-Caparrós, P., & Lao, M. T. (2018). The effects of salt stress on ornamental plants and integrative cultivation practices. *Scientia Horticulturae*, 240, 430-439.
- Gelenn, E. P., Coates, W., Riley, J. J., Kuehi, R. & Swingle, R. S. (1992). *Salicornia bigelovii* torr: sea water-irrigated forage for goats. *Animal Feed Science and Technology*, 40, 21-30.
- Gu, R., Liu, Q., Pei, D. & Jiang, X. (2004). Understanding saline and osmotic tolerance of *Populus euphratica* suspended cells. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 78, 261-265.
- Guo, H., Cui, Y. N., Pan, Y. Q., Wang, S. M., & Bao, A. K. (2020). Sodium chloride facilitates the

- secretohalophyte *Atriplex canescens* adaptation to drought stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 150, 99-108.
- Hawkins, H. J. & Lips, S. H. (1997). Cell suspension cultures of *Solanum tuberosum* L. as a model system for N and salinity response. Effect of salinity on NO<sup>3-</sup> uptake and PM-ATPase activity. *Journal of Plant Physiology*, 150, 103-109.
- Heure, B. & Nadler, A. (1998). Physiological response of potato plants to soil salinity and water deficit. *Plant Science*, 137, 43-51.
- Horie, T., Kaneko, T., Sugimoto, G., Sasano, S., Panda, S. K., Shibasaka, M. & Katsuhara, M. (2011). Mechanisms of water transport mediated by PIP aquaporins and their regulation via phosphorylation events under salinity stress in barley roots. *Plant and Cell Physiology*, 52, 663-675.
- Jaarsma, R., de Vries, R. S. M. & de Boer A. H. (2013). Effect of salt stress on growth, Na<sup>+</sup> accumulation and proline metabolism in potato (*Solanum tuberosum*) cultivars. *PLoS ONE*, 8(3), e60183.
- Katerji, N., Van-Hoorn, J., Hamdy, A. & Mastrorilli, M. (2000). Salt tolerance classification of crops according to soil salinity and to water stress day index. *Agricultural Water Management*, 43, 99-109.
- Khrais, T., Leclers, Y. & Donnelly, D. J. (1998). Relative salinity tolerance of potato cultivars assessed by *in vitro* screening. *American Journal of Potato Research*, 75, 207-210.
- Leone, A., Costa, A., Tucci, M. & Grillo, S. (1994). Comparative analysis of short- and long-term changes in gene expression caused by low water potential in potato (*Solanum tuberosum*) cell-suspension cultures. *Plant Physiology*, 106, 703-712.
- Li, J. W., Chen, H. Y., Li, J., Zhang, Z., Blystad, D. R., & Wang, Q. C. (2018). Growth, microtuber production and physiological metabolism in virus-free and virus-infected potato *in vitro* seedlings grown under NaCl-induced salt stress. *European Journal of Plant Pathology*, 152(2), 417-432.
- Liang, W., Ma, X., Wan, P. & Liu, L. (2018). Plant salt-tolerance mechanism: A review. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 495(1), 286-291.
- Lichtenthaler, H. K. & Buschmann, C. (2001). Chlorophylls and carotenoids: measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy. In: Wrolstad, R. E., Acree, T. E., An, H., Decker, E. A., Penner, M. H., Reid, D. S., Schwartz, S. J., Shoemaker, C. F. Sporns, P., Eds., *Current Protocols in Food Analytical Chemistry* (CPFA). John Wiley and Sons, New York, F4.3.1-F4.3.8.
- Lipvaska, H. & Vergudenhil, D. (1996). Uptake of mannitol from the media by *in vitro* grown plant. *plant Cells, Tissues and Organs Cultured*. 45, 103- 107.
- Mendiburu, F. (2020). *Agricolae: Statistical Procedures for Agricultural Research*. R package version. 1. 3-2. <http://tarwi.lamolina.edu.pe/~fmendiburu>. (Accessed: May 2020)
- Mills, D. & Tal, M. (2004). The effect of ventilation on *in vitro* response of seedlings of the cultivated tomato and its wild salt-tolerant relative *Lycopersicon pennellii* to salt stress. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 78, 209-216.
- Munns, R. & Tester, M. (2008). Mechanisms of salinity tolerance. *Plant Biology*, 59, 651-81.
- Munns, R. (2002). Comparative physiology of salt and water stress. *Plant, Cell and Environment*, 25, 239-250.
- Murashige, T. & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15 (3), 473-497.
- Murshed, R., Najla, S., Albiski, F., Kassem, I. & Jbour, M. (2015). Using growth parameters for *in vitro* screening of potato varieties tolerant to salt stress. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 17, 483-494.
- Nabati, J., Boroumand Rezazadeh, E., ZareMehrerjedi, M. & Kafi, M. (2018). Evaluation of effect of natural and artificial lights on potato micropropagation. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 49(2), 453-463. (In Persian)
- Naik, P. S., & Widholm, J. M. (1993). Comparison of tissue culture and whole plant responses to salinity in potato. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 33, 273-280.
- Noor, E., Azhar, F. M. & Khan, A. L. (2001). Differences in responses of *gossypium hirsutum* L. varieties to NaCl salinity at seedling stage. *International Journal of Agriculture and Biology*, 4, 345-347.
- Pastori, G. M. & Foyer, C. H. (2002). Common components, networks, and pathways of cross-tolerance to stress. The central role of "redox" and abscisic acid-mediated controls. *Plant Physiology*, 129, 460-468.
- Queiros, F., Fidalgo, F., Santos, I. & Salema, R. (2007). *In vitro* selection of salt tolerant cell lines in *Solanum tuberosum* L. *Biologia Plantarum*, 51, 728-734.
- Rahman, M. H., Islam, R., Hossain, M. & Haider, S. A. (2008). Differential response of potato under sodium chloride stress conditions *in vitro*. *Journal of Bio-Science*, 16, 79-83.
- Raoufi, A., Salehi, H., Rahemi, M., Shekafandeh, A. & Khalili, S. (2021). *In vitro* screening: The best

- method for salt tolerance selection among pistachio rootstocks. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 20(3), 146-154.
- Rengasamy, P. (2010). Soil processes affecting crop production in salt-affected soils. *Functional Plant Biology*, 37, 613-620.
- Roduit, N. (2019). JMicroVision: Image analysis toolbox for measuring and quantifying components of high-definition images. Version 1.3.1. <http://www.jmicrovision.com> (Accessed: April 2019).
- Sakhanokho, H. F. & Kelley, R. Y. (2009). Influence of salicylic acid on in vitro propagation and salt tolerance in *Hibiscus acetosella* and *Hibiscus moscheutos* (cv 'Luna Red'). *African Journal of Biotechnology*, 8, 1474-1481.
- Santa-Maria, G. E. & Epstein, E. (2001). Potassium/Sodium selectivity in wheat and amphiploid cross Wheat×*Lophopyrum elongatum*. *Plant Science*, 160, 523-534.
- Sattar, F. A., Hamooh, B. T., Wellman, G., Ali, Md. A., Shah, S. H., Anwar, Y., & Mousa, M. A. A. (2021). Growth and biochemical responses of potato cultivars under *in vitro* lithium chloride and mannitol simulated salinity and drought stress. *Plants*, 10(5), 924.
- Shahzad, B., Fahad, S., Tanveer, M., Saud, S. & Khan, I. A. (2019). Plant responses and tolerance to salt stress. In Approaches for enhancing abiotic stress tolerance in plants (pp. 61-78). *CRC Press*.
- Shibli, R. A., Kushad, M., Yousef, G. G. & Lila, M. A. (2007). Physiological and biochemical responses of tomato micro shoots to induced salinity stress with associated ethylene accumulation. *Plant Growth Regulation*, 51, 159-169.
- Su, X., Chu, Y., Li, H., Hou, Y., Zhang, B. & Huang, Q. (2011). Expression of multiple resistance genes enhances tolerance to environmental stressors in transgenic poplar (*Populus × euramericana* 'Guariento'). *PLOS One*, 6, e24614.
- Sudhersan, C., Manuel, S. J. & Ashkanani, J. (2012). *In vitro* screening of potato cultivars for salinity tolerance. *American-Eurasian Journal of Sustainable Agriculture*, 6(4), 344-348.
- Sudhir, P. & Murthy, S. D. S. (2004). Effects of salt stress on basic processes of photosynthesis. *Photosynthetica*, 42, 481-486.
- Taiyun W. & Simko, V. (2017). R package "corrplot": Visualization of a Correlation Matrix (Version 0.84). <https://github.com/taiyun/corrplot> (accessed: May 2020).
- Thomas, R. L., Sheard, R. W. & Moyer, J. R. (1967). Comparison of conventional and automated procedures for nitrogen, phosphorus, and potassium analysis of plant material using a single digestion. *Agronomy Journal*, 59, 240-243.
- Wang, L., Liu, Y., Li, D., Feng, S., Yang, J., Zhang, J., Zhang, J., Wang, D. & Gan, Y. (2019). Improving salt tolerance in potato through overexpression of *AtHKT1* gene. *BMC Plant Biology*, 19, 357.
- Winicov, I. (1993). Gene expression in relation to salt tolerance. In: Basra, A.S. (Ed.) *Stress-induced Gene Expression in Plants*. Harwood Academic Publishers, Switzerland, pp. 61-130.
- Zeng, Y., Li, L., Yang, R., Yi, X. & Zhang, B. (2015). Contribution and distribution of inorganic ions and organic compounds to the osmotic adjustment in *Halostachys caspica* response to salt stress. *Scientific Reports*, 5, 13639.
- Zhao, C., Zhang, H., Song, C., Zhu, J. K. & Shabala, S. (2020). Mechanisms of Plant Responses and Adaptation to Soil Salinity. *The Innovation*, 1(1), 100017.
- Zhu, J. K. (2003). Regulation of ion homeostasis under salt stress. *Current Opinion in Plant Biology*, 6(5), 441-445.