Plant Prod., 2022, 45(1), 109-122
https://plantproduction.scu.ac.ir/
ISSN (P): 2588-543X; **ISSN (E):** 2588-5979
Doi: 10.22055/ppd.2020.30032.1782
Received: 6 July 2019
Accepted: 20 June 2020

Plant Productions
Research Article

Microtuberization Efficiency of Three Potato (*Solanum tuberosum* L.) Cultivars under Osmotic Stress *in vitro*

Banafsheh Jamshidi[1], Marzieh Ghanbari Jahromi[2]*, Amir Mousavi[3]

1- M.Sc. Student of Horticultural Sciences, Department of Horticultural Sciences and Agronomy, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
2- Assistant Professor, Department of Horticultural Sciences and Agronomy, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
3- Associate Professor, National Institute of Genetic Engineering and Biotechnology, Tehran, Iran

Citation: Jamshidi, B., Ghanbari Jahromi, M., & Mousavi, A. (2022). Microtuberization efficiency of three potato (*Solanum tuberosum* L.) cultivars under osmotic stress *in vitro*. *Plant Productions*, 45(1), 109-122.

Abstract

Introduction

Potato (*Solanum tuberosum* L.) is one of the most important crops worldwide. It is vegetatively propagated using pieces or whole potato tubers, but a virus infection causes crop reduction to almost a half or even one third, which varies from place to place and from season to another. Micropropagation is the practice of rapidly multiplying stock plant material to produce many progeny plants, using modern plant tissue culture methods. Microtuberization in potato needs the right interaction between several factors such as cyto, sucrose and osmotic stress. The purpose of present study was to investigate microtuberization efficiency of three potato cultivars under osmotic stress and *in vitro* conditions.

Materials and Methods

This experiment was carried out based on completely randomized design (CRD) in three replications. Potato seeds of three cultivars (Agria, Savalan and HPS-II/67) were cultured on Murashige and Skoog (MS) medium. After proliferation, plantlets were transferred to the media containing nine treatments with polyethylene glycol hydrogel (PEG) at four levels (0.003, 0.006, 0.009, 0.012 M), sorbitol at four levels (0.1, 0.2, 0.3, and 0.4 M). For this purpose, potato quality, microtuberization percentage, proline concentration, chlorophyll content, and Catalase (CAT) and superoxide dismutase (SOD) activities were measured.

* **Corresponding Author:** Marzieh Ghanbari Jahromi
E-mail: ghanbari@srbiau.ac.ir

© 2022 The Author(s). Published by Shahid Chamran University of Ahvaz. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Results and Discussion

The results showed that plantlets grown under non-stressed conditions (control) possessed higher rates of leaf number, new shoot length and proliferation index compared to the under stressed conditions. Agria cultivar presented better growth characteristics under stressed conditions compared to other experimental cultivars. The highest potato destruction was observed at 0.012 M PEG in Savalan cultivar followed by 0.4 M sorbitol in all cultivars. Microtuberization percentage increased in all three cultivars by stress conditions, in which it increased with progressing in stress levels. The greatest percentage of microtuberization was obtained from Agria cultivar at 0.003 M PEG. Compared to the control, proline concentration, and also CAT and SOD activities increased under stress conditions. Moreover, total chlorophyll content decreased under the stress conditions in comparison to the control. Generally, based on the results, maximum rates of microtuberization and viability were observed in Agria followed by HPS-II/67, and the highest microtuber weight was obtained in HPS-II/67 cultivar. When plants are faced to stress conditions like osmotic stress, free radicals such as reactive oxygen species (ROS) increases. On the other hand, plants use different strategies to scavenge the generated ROS. The reduction of chlorophyll content and increases of antioxidant enzyme activities are due to increase of ROS under osmotic stress conditions.

Conclusion

At slight stress conditions, potato plants utilize the strategy to generate more tuber. Therefore, the lower concentrations of PEG can be introduced as a stimulator of microtuber.

Keywords: Drought stress, Micropropagation, PEG, Sorbitol

تولیدات گیاهی، ۱۴۰۱، ۴۵(۱)، ۱۲۲-۱۰۹
https://plantproduction.scu.ac.ir/
ISSN (P): 2588-543X; **ISSN (E):** 2588-5979
Doi: 10.22055/ppd.2020.30032.1782
تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۴/۱۵
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۳/۳۱

تولیدات گیاهی
مقاله پژوهشی

کارایی ریزغده‌زایی سه رقم سیب‌زمینی (*Solanum tuberosum* L.) تحت تنش اسمزی در شرایط درون شیشه‌ای

بنفشه جمشیدی[۱]، مرضیه قنبری جهرمی[۲]* ، امیر موسوی[۳]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد علوم باغبانی، گروه علوم باغبانی و زراعی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
۲- استادیار، گروه علوم باغبانی و زراعی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
۳- دانشیار، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری، تهران، ایران

چکیده

تحقیق حاضر به منظور بررسی کارایی ریزغده‌زایی سه رقم سیب‌زمینی (*Solanum tuberosum* L.) تحت تنش اسمزی در شرایط درون‌شیشه صورت گرفت. این آزمایش در سال ۱۳۹۷ در قالب طرح کامل تصادفی به‌صورت فاکتوریل (دو فاکتور رقم و مواد اسمتیک) با سه تکرار در مجتمع آزمایشگاهی زکریای رازی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران انجام شد. بذر سه رقم سیب‌زمینی (آگریا، ساوالان، HPS-II/67) در محیط MS کشت شدند که پس از پرآوری گیاهچه‌ها به محیط‌های حاوی نه تیمار ایجادکننده تنش اسمتیک شامل پلی‌اتیلن‌گلیکول در چهار غلظت (۰/۰۰۳، ۰/۰۰۶، ۰/۰۰۹ و ۰/۰۱۲ مولار) و سوربیتول در چهار غلظت (۰/۱، ۰/۲، ۰/۳ و ۰/۴ مولار) و یک محیط بدون عامل اسمتیک (شاهد) منتقل شدند. بر اساس نتایج به‌دست‌آمده گیاهچه‌های رشد یافته در شرایط غیرتنش (شاهد) نسبت به گیاهچه‌های تحت تیمار تنش از نظر صفات تعداد برگ، طول نوشاخه و ضریب پرآوری از مقادیر بالاتری برخوردار بودند. رقم آگریا نسبت به بقیه ارقام در شرایط تنش ویژگی‌های رشدی بهتری نشان داد. بالاترین درصد خشکیدگی به‌ترتیب در تیمار ۰/۰۱۲ مولار پلی‌اتیلن‌گلیکول در رقم ساوالان و تیمار ۰/۴ مولار سوربیتول در هر سه رقم مشاهده شد. درصد ریزغده‌زایی در هر سه رقم با ایجاد تنش جزیی (۰/۰۰۳ مولار پلی‌اتیلن‌گلیکول) نسبت به شاهد تا حدودی افزایش و در سطوح بالاتر تنش این صفت کاهش پیدا کرد. بیشترین درصد ریزغده‌زایی (۵۸/۶۶) در رقم آگریا و غلظت ۰/۰۰۳ مولار پلی‌اتیلن‌گلیکول به‌دست‌آمد. میزان تولید پرولین، آنزیم کاتالاز و سوپراکسیددیسموتاز (SOD) با ایجاد تنش نسبت به شاهد افزایش یافت. هم‌چنین، میزان کلروفیل کل با ایجاد تنش نسبت به شاهد کاهش پیدا کرد. به‌طورکلی بر اساس نتایج به‌دست‌آمده بیشترین میزان ریزغده‌زایی به‌ترتیب در ارقام آگریا (۵۸/۶۶ درصد) و HPS-II/67 (۵۳/۶۶ درصد) و بیشترین وزن ریزغده (۰/۹۶ گرم) در رقم HPS-II/67 مشاهده شد. بر اساس نتایج، تنش اسمزی ملایم در افزایش ریزغده‌زایی در گیاه سیب‌زمینی موثر واقع شد، بنابراین پلی‌اتیلن گلیکول در غلظت ۰/۰۰۳ مولار می‌تواند در تکثیر تجاری این گیاه مورد استفاده قرار گیرد.

کلیدواژه‌ها: تنش خشکی، پلی‌اتیلن‌گلیکول، ریزافزایی، سوربیتول

* **نویسنده مسئول:** مرضیه قنبری جهرمی
رایانامه: ghanbari@srbiau.ac.ir

© 2022 The Author(s). Published by Shahid Chamran University of Ahvaz. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

مقدمه

سیب‌زمینی (*Solanum tuberosum* L.) یکی از گیاهان مهم تیره سولاناسه که نقش عمده‌ای در تغذیه مردم جهان دارد؛ به‌خاطر عملکرد بالا، مقدار انرژی و پروتئین آن در واحد سطح، بیش از گندم و برنج مورد توجه است. سیب‌زمینی به دلیل سازگاری به اقلیم‌های متفاوت یکی از مهم‌ترین گیاهان صنعتی جهان محسوب (Trehan and Singh, 2013).

طبق آمار فائو تولید جهانی سیب‌زمینی در سال ۲۰۱۹ حدود ۳۸۸ میلیون تن و سطح زیرکشت آن ۲۱.۱۶۲.۴۷۱ هکتار با میانگین عملکرد ۱۸/۳۳ تن در هکتار می‌باشد که رتبه پنجم دنیا را در میان محصولات کشاورزی از نظر میزان تولید به خود اختصاص داده است (FAOSATAT, 2020; Farooq et al., 2009).

سیب‌زمینی با تعداد کروموزوم پایه ۱۲ (۲n=۲۴)، گیاهی دولپه‌ای و چندساله است که برای تولید غده خوراکی به‌صورت یکساله کشت می‌شود (Shahpiri et al., 2004)، سازگار به شرایط کشت بافت می‌باشد (Fabeiro et al., 2001). تأمین مواد گیاهی سالم و عاری از بیماری برای کشت‌های تجاری امری ضروری است که این کار با تولید گیاهان درون شیشه به‌صورت کشت بافت صورت می‌گیرد (Bagheri and Azadi, 2012). ریزازدیادی و ریزغده‌زایی روش مناسبی برای تکثیر سریع ارقام سیب‌زمینی به منظور تولید بذر همچنین، حفاظت و تبادل ژرم‌پلاسم فراهم کرده است (Gopal and Minocha, 1998، Serraj and Sinclair, 2002). این روش‌ها به‌طور مؤثری به منظور تسهیل گزینش بر اساس صفات غده شامل عملکرد (Donnelly et al., 2003; De paivaneto and Otoni, 2003) و مقاومت در برابر بیماری (Gopal and Iwama, 2007; Ranalli et al., 1994; Platt, 1992b; Jahromi et al., 2022) مورد مطالعه قرار گرفته‌اند.

تنش، نتیجه روند غیرعادی فرآیندهای فیزیولوژیکی است که از تأثیر یک یا ترکیبی از عوامل زیستی و محیطی حاصل می‌شود (Hasandokht, 2012). تنش خشکی به‌عنوان یکی از مهم‌ترین عوامل محدودکننده تولید گیاهان زراعی شناخته شده است (Prins and Verkaar, 1992). در این میان گیاه سیب‌زمینی برای دستیابی به رشد مناسب و تولید عملکرد قابل قبول به آبیاری مطلوب نیاز دارد. محدودیت در میزان آب قابل دسترس یا به عبارتی اعمال تنش خشکی، موجب تغییرات مورفولوژیک، فیزیولوژیک و کاهش رشد و نمو گیاه می‌گردد (Jaleel et al., 2007). این تغییرات (پاسخ‌ها) اساس شناسایی اثرات تنش بر عملکرد نهایی محصول می‌باشد (Platt, 1992a). سیب‌زمینی از حساسیت بالایی نسبت به تنش خشکی در همه مراحل نموی به ویژه مرحله تشکیل غده برخوردار است (Woolf, 1986; Solmon-Blackburn and Baker, 2001). تنش خشکی از طریق اثر بر فرآیندهای مختلف فیزیولوژیکی و رشد گیاه مانند فتوسنتز و تنفس سلولی منجر به کاهش جذب یون‌ها، کاهش تولید کربوهیدرات‌ها و اختلال در متابولیسم رشد می‌شود (Gopal et al., 1998; Kubo et al., 2005). طبق پژوهش‌ها رنگدانه‌های فتوسنتزی که نقش اساسی در ساختار و تأمین انرژی گیاه به جهت جذب نور و تولید ATP و NADPH ایفا می‌کنند، تحت تأثیر خشکی قرار می‌گیرند (Masoudi-Sadaghiani et al., 2011). در گیاهان، تنش خشکی ناشی از تفاوت فشار اسمزی بین خاک و گیاه است. تنظیم اسمزی راهی است که منجر به نگهداری آب و حفظ تورژسانس سلول‌های گیاهی در اثر بروز تنش می‌گردد (Masoudi-Sadaghiani et al., 2011). این فرآیند ناشی از تجمع مولکول‌ها و ترکیبات فعال اسمزی از جمله قندهای محلول و پرولین در محیط سلول می‌باشد (Shock et al., 2013). پرولین رایج‌ترین و گسترده‌ترین اسمولیتی است که در بسیاری از گیاهان به‌عنوان پاسخ طبیعی و ذاتی گیاه به تنش‌های اسمزی و خشکی تولید می‌شود (Passioura, 2007). طبق مطالعه‌ای با افزایش تنش خشکی در محیط کشت سیب‌زمینی مقدار پرولین در اندام‌های هوایی نسبت به شرایط شاهد افزایش می‌یابد (Alasdon et al., 1988).

در آزمایش غربالگری درون شیشه‌ای ریزغده سه نوع ژنوتیپ سیب‌زمینی تحت تنش آبی به وسیله‌ی پنج غلظت سوربیتول و پلی‌اتیلن‌گلیکول مورد بررسی قرار گرفت. تنش آبی در رشد گیاه تاثیر منفی گذاشته و در ژنوتیپ‌های مختلف دارای پاسخ‌های متفاوت بود. ژنوتیپ IWA-1 نسبت به IWA-3 و IWA-5 کمتر تحت تأثیر تنش قرار گرفت (Irna and Mauromicale, 2006).

در مطالعه‌ای گیاهچه‌های حاصل از بذر حقیقی شش ژنوتیپ سیب‌زمینی از نظر تحمل به خشکی به وسیله پنج غلظت دو ماده پلی‌اتیلن‌گلیکول (Polyethylene Glycole) و مانیتول (Mannitol) در شرایط درون شیشه‌ای مورد ارزیابی قرار گرفت مشخص شد با افزایش غلظت

پلی‌اتیلن‌گلیکول و مانیتول تمامی صفات مورد مطالعه به جز صفت طول ریشه به ساقه و نسبت وزن خشک ریشه به ساقه کاهش یافت. در شرایط تنش ملایم ژنوتیپ‌های CIP-994001 و ساتینا متحمل و در شرایط تنش شدید هیچ‌کدام از ژنوتیپ‌ها تحمل بالایی نشان ندادند (Amini, 2009).

با توجه به اهمیت سیب‌زمینی در اقتصاد و تغذیه بشر، نیاز به تولید بذور سالم در شرایط کشت درون شیشه‌ای با کیفیت و عملکرد بالا هم‌چنین، قطع وابستگی از نظر تهیه بذور عاری از بیماری از سایر کشورها، محسوس می‌باشد. این تحقیق با هدف ارزیابی خصوصیات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاهچه‌های رشدیافته در شرایط درون شیشه‌ای تحت تنش اسمزی، تعیین آستانه میزان تنش اسمزی مؤثر بر افزایش ریزغده‌زایی در سه رقم سیب‌زمینی و معرفی یک رقم سیب‌زمینی متحمل به تنش اسمزی انجام شد.

مواد و روش‌ها

تحقیق حاضر به منظور بررسی راندمان ریزغده‌زایی سه رقم سیب‌زمینی تحت تنش اسمزی در آزمایشگاه کشت بافت دانشگاه علوم و تحقیقات تهران در سال ۱۳۹۶ به صورت طرح فاکتوریل در سه تکرار انجام شد. فاکتور اول بذر حقیقی سه رقم سیب‌زمینی (ساوالان، آگریا، HPS-II/67) و فاکتور دوم تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی پلی‌اتیلن‌گلیکول و سوربیتول در غلظت‌های مختلف که در جدول یک ذکر گردید؛ بوده است. بذور سه رقم سیب‌زمینی به دلیل این که ارقام رایج، پرمحصول و نیز مقاومی نسبت به آفات و بیماری‌های ویروسی هستند؛ از مرکز تحقیقات کشاورزی اردبیل تهیه شد. ابتدا محیط کشت پایه MS که حاوی ۳۰ گرم در لیتر ساکارز و شش گرم در لیتر آگار و pH برابر با ۵/۷-۵/۸ و فاقد هرگونه تنظیم‌کننده رشد گیاهی بود در اتوکلاو به مدت ۱۵ دقیقه تحت دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱/۲ اتمسفر سترون شد و در زیر هود لامینار در پلیت استریل توزیع گردید. در مرحله بعد ضدعفونی بذرها (حقیقی و هموزایگوت) با الکل ۷۰ درصد به مدت یک دقیقه و سپس آبشویی با قرار دادن بذرها در ماده‌ی ضدعفونی‌کننده‌ی هیپوکلرید سدیم با غلظت ۲۰ الی ۴۰ درصد به مدت ۱۵ دقیقه انجام شد و در نهایت بذرها با آب‌مقطر استریل سه بار تقطیر تحت آبشویی قرار گرفت. پس از ضدعفونی، بذرها در محیط MS جامد کشت شدند. پلیت‌ها پس از کشت در اتاقک رشد در دمای ۳±۲۵ درجه سانتی‌گراد در شرایط ۱۶ ساعت روشنایی با شدت نور ۵۰۰۰ لوکس و هشت ساعت تاریکی قرار گرفت. سپس به منظور در دست داشتن منابع لازم برای تهیه ریزنمونه اقدام به پرآوری آن‌ها شد. بدین منظور بعد از گذشت سه الی چهار هفته که بذرها در محیط‌کشت MS فاقد تنظیم‌کننده‌های گیاهی رشد نمودند، سپس در محیط‌های کشت دارای تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی واکشت شدند. این محیط‌های کشت شامل MS مایع (فاقد آگار) و MS جامد (دارای آگار) حاوی تنظیم‌کننده‌های رشد تهیه شدند. محیط کشت MS مایع دارای تنظیم‌کننده رشد NAA با غلظت ۰/۰۲ میلی‌گرم در لیتر و MS جامد دارای تنظیم کننده‌های رشد گیاهی NAA با غلظت ۰/۰۲ میلی‌گرم در لیتر و BAP با غلظت یک میلی‌گرم در لیتر تهیه شد و در شیشه‌های استریل توزیع گردید. در مرحله بعد شاخه‌های باززا شده در یک محیط کشت حدواسط MS فاقد تنظیم‌کننده‌های رشد واکشت شدند تا نوشاخه‌ها به‌طور یکسان رشد کنند. در این مرحله نوشاخه‌های نمویافته به محیط‌های کشت دارای غلظت‌های مختلف پلی‌اتیلن‌گلیکول و سوربیتول (sorbitol) برای ایجاد تنش اسمزی منتقل شدند (جدول ۱).

Table 1. The different treatments of osmotic stress *in vitro* condition

Treatments	Medium	Concentration (molar)	Potential (MPa)
1	Control		-0.80
2	Sorbitol	0.1	-1.00
3		0.2	-1.35
4		0.3	-1.70
5		0.4	-2.05
6	PEG	0.003	-1.00
7		0.006	-1.10
8		0.009	-1.20
9		0.012	-1.30

برای این کار ریزنمونه‌های حاوی تک‌گره یا دو گره از گیاهچه‌ها تهیه شد و در محیط تنش کشت گردید. منظور از کشت تک گره (تک جوانه)، جدا کردن یک جوانه به همراه قسمتی از ساقه، به منظور تشکیل ساقه از طریق نمو جوانه بود. این روش متداول‌ترین روش تکثیر رویشی گیاهان در شرایط درون‌شیشه‌ای است (Shajari and Hasan panah, 2014). محیط‌کشت شامل غلظت‌های مختلف پلی‌اتیلن گلیکول (PEG 6000) و سوربیتول جهت ایجاد تنش اسمزی بود (شکل ۱، ۲).

در پایان خصوصیات مورفولوژیکی که شامل تعداد برگ، طول نوشاخه (میلی‌متر)، ضریب پرآوری، درصد خشکیدگی، درصد زنده‌مانی، درصد ریزغده‌زایی، طول ریزغده (میلی‌متر)، عرض ریزغده (میلی‌متر)، وزن تر ریزغده (گرم) و وزن خشک ریزغده (گرم) و خصوصیات فیزیولوژیکی مانند آنزیم کاتالاز (Aebi, 1983) و آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (Giannopolitis and Ries, 1997) و پرولین (Bates et al., 1973) و کلروفیل (Arnon, 1949) گیاهچه‌های رشدیافته سه رقم سیب‌زمینی (آگریا، ساوالان، HPS-II/67) تحت تنش اسمزی در شرایط درون شیشه‌ای مورد ارزیابی قرار گرفت.

نتایج

بر اساس نتایج جدول تجزیه واریانس اثر ساده کاربرد غلظت‌های مختلف پلی‌اتیلن‌گلیکول و سوربیتول در سه رقم سیب‌زمینی در صفات مختلف مورد بررسی مانند تعداد برگ، طول نوشاخه (میلی‌متر)، ضریب پرآوری، درصد خشکیدگی، درصد ریزغده‌زایی، طول ریزغده (میلی‌متر)، عرض ریزغده (میلی‌متر) و وزن تر ریزغده (گرم) در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲).

صفت وزن خشک ریزغده تحت تیمار غلظت‌های مختلف پلی‌اتیلن‌گلیکول و سوربیتول، رقم و اثر متقابل آن‌ها در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار شد (جدول ۲).

نتایج مطالعه دانشمندان نشان داد که اگرچه پلی‌اتیلن‌گلیکول مانند سوربیتول به‌عنوان یک حلال اسمتیک می‌باشد، ولی به‌کارگیری آن در کشت‌بافت سیب‌زمینی منجر به کاهش عملکرد ریزغده می‌شود (Lentini and Earle, 1991). محققان دیگری؛ در پژوهشی میزان تحمل به کم‌آبی را در چهار رقم سیب‌زمینی (آگریا، ساوالان، اسپریت، کایزر) مورد ارزیابی قرار دادند و نتایج نشان داد که با افزایش کم‌آبی میزان غده‌زایی کاهش پیدا کرده و بیشترین تحمل به تنش کم‌آبی را ارقام کایزر و آگریا نشان دادند (Matlabi Azar et al., 2014) که با نتایج این تحقیق مطابقت داشته است و بیشترین میزان میکروتیوبر از ترکیب تیماری رقم ساوالان در تیمار شاهد به‌دست‌آمد که با شواهد ما در میزان میکروتیوبر مغایر بود زیرا در پژوهش حاضر رقم آگریا بیشترین میزان ریزغده‌زایی را دارا بود. هم‌چنین Tofang Saz poor (2015) با بررسی اثر محدودیت آبیاری در عملکرد ارقام مختلف سیب‌زمینی (راموس، سانته، کوزیما و اگریا) گزارش کردند که رقم اگریا بیشترین کارایی مصرف آب و عملکرد را به خود اختصاص داد که این نتیجه با نتایج ما همسو است و در پژوهش حاضر نیز رقم اگریا بیشترین راندمان ریزغده‌زایی و تحمل در شرایط تنش اسمزی از خود نشان داد.

نتایج مقایسه میانگین داده‌ها بر صفت تعداد برگ نشان می‌دهد که تعداد برگ در گیاه شاهد آگریا نسبت به دیگر ارقام بالاتر بود. در اثر کاربرد پلی‌اتیلن‌گلیکول بیشترین تعداد برگ در غلظت ۰/۰۰۳ مولار رقم آگریا و کمترین تعداد آن در رقم HPS-II/67 غلظت ۰/۰۱۲ مولار مشاهده شد. در اثر کاربرد سوربیتول تعداد برگ نسبت به شاهد کاهش یافته و بالاترین میزان آن در غلظت ۰/۱ مولار رقم ساوالان و پایین‌ترین تعداد در هر سه رقم با غلظت ۰/۴ مولار به‌دست‌آمد (جدول ۳).

Figure 2. Fertilization stage in MS nutrient solution containing growth regulators

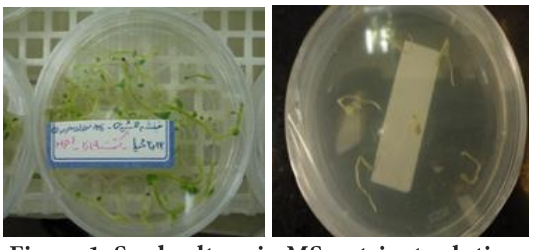

Figure 1. Seed culture in MS nutrient solution

Table 2. Analysis of variance of different poly ethylene glycol and sorbitol levels on morphological traits of three potato varieties during osmotic stress

Source of variation	Degree of freedom	Leaf number	The length of NS	Proliferation index	Withering percentage	The rate of Microtubrization	FW of microtubers	DW of microtubers	Length of microtubers	width of microtubers
Cultivar	2	702.14**	3.82**	5.08**	106.86**	5057.39**	0.62**	253.77**	179.12**	41.16**
Treatment	8	4034.65**	548.13**	277.67**	5656.58**	2336.37**	0.49**	7.95*	111.17**	21.69**
Treatment × Cultivar	16	91.3**	22.85**	2.55**	26.9**	314.9**	0.03**	8.37*	6.25**	2.87**
Error	54	11.63	0.318	0.79	5.75	64.89	0.01	5.18	4.52	0.91
Coeff var		10.92	10.52	11.39	7.83	13.97	16.93	10.7	25.9	23.34

** Significant at 1% probability level respectively; Abbreviations: FW: Fresh weight, DW: Dry weight, NS: New shoot.

Table 3. Mean comparison for different concentrations of poly ethylene glycol and sorbitol on morphological traits in three digits potato affected by osmotic stress *in vitro* condition

Treatments	Leaf number	The length of NS (mm)	Withering percentage	The rate of Microtubrization	FW of microtubers (mg)	DW of microtubers (mg)	Length of microtubers (mm)	width of microtubers (mm)	Chlorophyll (mg/kg)
Control	79.33a	10.60a	0l	54.66ab	0.74b	0.35c	11.87v	6.00b	9.40b
Agria + 0.003 PEG	66.33b	9.86a	11.30k	58.66a	0.75b	0.36c	12.00c	6.03b	9.40b
Agria + 0.006 PEG	53.67d	8.20b	23.43gh	35.66d	0.73b	0.34c	11.97c	5.80bc	8.40d
Agria + 0.009 EPG	33.30gh	4.70e	35.13e	25.66ef	0.46d	0.22de	6.80fg	4.26de	6.20i
Agria + 0.012 PEG	15.30jk	2.93gh	46.27c	6.60g	0.25f	0.09g	5.03gh	2.46f	5.60jk
Agria + 0.1 Sorbitol	34.67g	5.96cd	8.77k	45.00c	0.71bc	0/33c	10.03d	5.06c	9.70b
Agria + 0.2 Sorbitol	15.67ij	4.40ef	22.40gh	31.66e	0.64c	0.27cd	11.23cd	5.30c	8.50d
Agria + 0.3 Sorbitol	10.00lm	2.66hi	42.83cd	7.60g	0.32de	0.11f	5.20g	2.70f	5.70j
Agria + 0.4 Sorbitol	0n	0j	100a	0i	0g	0h	0j	0h	0l
Control	68.33b	9.83a	0l	49.33bc	0.87ab	0.45b	14.17b	7.30ab	10.60a
HPS + 0.003 PEG	44.30f	7.73b	10.96k	53.66b	0.96a	0.50a	15.93a	7.66a	10.20ab
HPS + 0.006 PEG	25.000i	5.26de	18.96hi	28.33ef	0.89ab	0.43b	15.40ab	7.20ab	9.50b
HPS + 0.009 PEG	19.30i	3.93fg	26.40f	22.30f	0.38d	0.23de	9.93e	4.70d	8.60d
HPS + 0.012 PEG	7.00mn	3.10g	42.10cd	5.60g	0.22f	0.11f	7.10f	3.50e	6.90gh
HPS + 0.1 Sorbitol	26.00i	6.27cd	11.80k	43.66c	0.71bc	0.41b	11.30cd	5.50c	10.30a
HPS + 0.2 Sorbitol	13.00kl	4.25ef	28.75f	30.00e	0.75b	0.40b	10.60d	4.60d	9.00c
HPS + 0.3 Sorbitol	5.30mn	2.56i	44.17c	6.60g	0.24f	0.12f	5.30g	3.10ef	7.00gh
HPS + 0.4 Sorbitol	0n	0j	100a	0i	0g	0h	0j	0h	0l
Control	66.00bc	9.60a	0l	39.30cd	0.30de	0.30c	4.90h	5.50c	8.20de
Savalan + 0.003 PEG	60.00cd	8.20b	17.50ij	43.66c	0.33de	0.30c	5.70g	5.40c	8.10de
Savalan + 0.006 PEG	50.00ef	6.30cd	22.80gh	27.66ef	0.31de	0.31c	5.20g	4.10de	7.60f
Savalan + 0.009 PEG	36.00g	6.30cd	44.20c	21.30f	0.21fg	0.20e	4.30h	3.80e	6.60hol
Savalan + 0.012 PEG	14.50kl	2.90gh	51.40b	4.60h	0.08fg	0.08g	2.45i	2.10f	5.40k
Savalan + 0.1 Sorbitol	45.00f	7.00bc	13.20jk	36.00d	0.28e	0.27cd	5.30g	5.10c	7.90e
Savalan + 0.2 Sorbitol	26.50hi	5.95cd	23.00gh	28.66ef	0.23f	0.25d	4.25h	3.40e	7.16g
Savalan + 0.3 Sorbitol	12.00kl	2.80hi	40.60d	5.60g	0.095fg	0.31c	2.60i	2.30f	5.70j
Savalan + 0.4 Sorbitol	0n	0j	100a	0i	0g	0h	0j	0h	0l

Numbers followed by the same letter are not significantly different (P<0.05), LSD test (95% confidence level).
Abbreviations: FW: Fresh weight, DW: Dry weight, NS: New shoot.

طول نوشاخه در هر سه رقم، شاهد بالاترین ارتفاع را داشته است. تحت کاربرد پلی‌اتیلن گلیکول بلندترین ارتفاع گیاه در تیمار ۰/۰۰۳ مولار در رقم آگریا و کوتاه‌ترین در غلظت ۰/۰۱۲ مولار ارقام آگریا و ساوالان مشاهده گردید. با کاربرد سوربیتول بالاترین میزان طول نوشاخه در تیمار ۰/۱ مولار رقم ساوالان حاصل شد. استفاده از این دو ماده اسمتیک و ایجاد تنش باعث کاهش میزان شاخص‌های تعداد برگ و طول نوشاخه شده است (جدول ۳).

بر طبق جدول نتایج مقایسه میانگین داده‌ها، در هر سه رقم با کاربرد پلی‌اتیلن‌گلیکول بیشترین میزان شاخص درصد خشکیدگی در رقم ساوالان با غلظت ۰/۰۱۲ مولار مشاهده شد. در اثر کاربرد سوربیتول بالاترین درصد خشکیدگی در غلظت ۰/۴ مولار و پایین‌ترین میزان در تیمار شاهد در هر سه رقم حاصل شد.

نمودار صفت ضریب پرآوری نشان داد که با ایجاد تنش اسمزی ضریب پرآوری کاهش پیدا کرده است. بهترین ضریب در گیاه شاهد آگریا بوده و با کاربرد پلی‌اتیلن گلیکول در غلظت ۰/۰۰۳ مولار رقم آگریا بالاترین ضریب پرآوری و پایین‌ترین مقدار در غلظت ۰/۰۱۲ مولار بود. با ایجاد تنش سوربیتول بیشترین و کمترین میزان به ترتیب در تیمارهای ۰/۱ و ۰/۴ مولار هر سه رقم مشاهده شد (شکل ۳).

با توجه به نتایج مقایسه میانگین، بالاترین میزان ریزغده‌زایی در رقم آگریا در گیاه شاهد و در غلظت ۰/۰۰۳ مولار پلی‌اتیلن‌گلیکول و پایین‌ترین درصد در غلظت ۰/۰۱۲ مولار رقم ساوالان مشاهده شد. در اثر تنش سوربیتول بالاترین درصد ریزغده‌زایی در تیمار ۰/۱ مولار ارقام آگریا و HPS-II/67 و پایین‌ترین در تیمار ۰/۴ مولار هر ۳ رقم مورد بررسی حاصل شد. درنهایت می‌توان نتیجه گرفت که درصد ریزغده‌زایی رقم آگریا بالاتر از HPS-II/67 و رقم HPS-II/67 بیشتر از ساوالان بوده است (جدول ۳).

بر اساس نتایج مقایسه میانگین صفت وزن تر و خشک ریزغده مشخص شده است که بیشترین وزن تر و خشک ریزغده با کاربرد پلی‌اتیلن‌گلیکول در رقم HPS-II/67 تیمار ۰/۰۰۳ مولار و کمترین میزان در تیمار ۰/۰۱۲ مولار رقم ساوالان مشاهده شد و با تنش سوربیتول بیشترین وزن تر در رقم HPS-II/67 و آگریا در تیمار ۰/۱ مولار حاصل شد (جدول ۳).

در صفات طول و عرض ریزغده بالاترین میزان در اثر کاربرد پلی‌اتیلن‌گلیکول در تیمار ۰/۰۰۳ مولار رقم HPS-II/67 و پایین‌ترین میزان در تیمار ۰/۰۱۲ مولار رقم ساوالان بود. در اثر تنش سوربیتول بالاترین طول و عرض در تیمار ۰/۱ مولار رقم HPS-II/67 و تیمار ۰/۲ مولار رقم آگریا مشاهده شد. در صفت طول و عرض ریزغده رقم HPS- II/67 نسبت به ارقام ساوالان و آگریا اندازه ریزغده بزرگتری را نشان داد (جدول ۳).

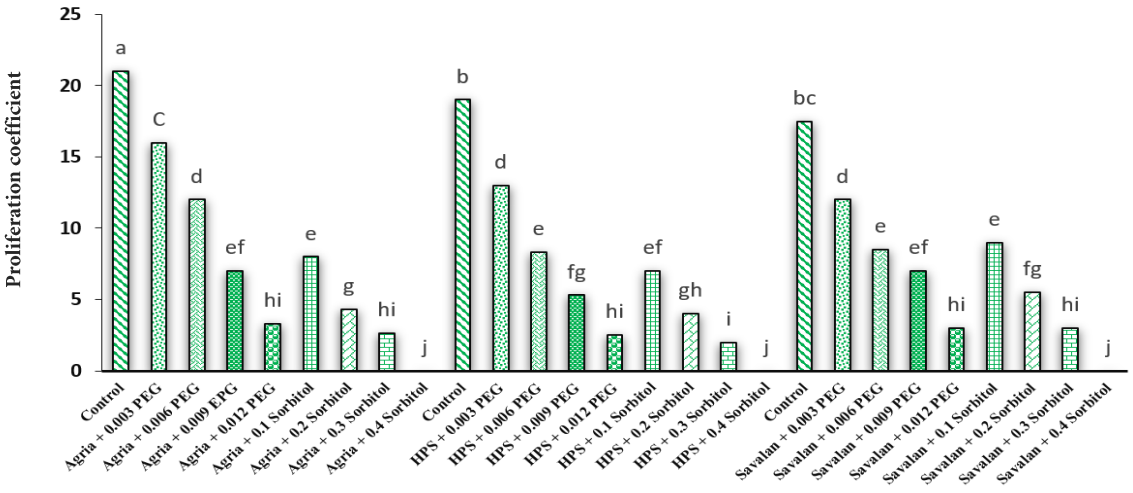

Figure 3. Different concentrations of poly ethylene glycol and sorbitol on proliferation coefficient in three digits potato affected by osmotic stress

در پژوهشی در شرایط تنش خشکی از ماده اسمتیک پلی‌اتیلن‌گلیکول در رقم آگریا استفاده شد که در نتیجه آن، اندازه‌ی ریزغده به‌طور معنی‌داری کاهش یافت، طول و قطر ریزغده در غلظت ۰/۰۰۵ مول‌برلیتر پلی‌اتیلن‌گلیکول افزایش نشان داد و با اضافه کردن مقادیر بیشتر پلی‌اتیلن‌گلیکول به محیط‌کشت بالای ۰/۰۰۵ مول بر لیتر پلی‌اتیلن‌گلیکول طول و قطر ریز غده به‌طور معنی‌داری کاهش پیدا کرد، با افزایش غلظت پلی‌اتیلن‌گلیکول بالاتر از حد تحمل گیاه؛ درصد تشکیل ریزغده به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (Najafzadeh Asl and Ehsan Pour, 2012). نتایج تحقیقات متعددی با شواهد تحقیق حاضر که با افزایش شدت تنش، درصد ریزغده‌زایی کاهش پیدا می‌کند و در تنش جزیی پلی‌اتیلن‌گلیکول درصد ریزغده‌زایی، قطر و طول ریزغده نسبت به شاهد را افزایش می‌دهد؛ همسو بوده است (Matlabi Azar et al., 2014; Najafzadeh Asl and Ehsan Pour, 2012; Lentini and Earle, 1991; Donnelly et al., 2003).

نتایج جدول تجزیه واریانس اثر ساده‌ی کاربرد غلظت‌های مختلف پلی‌اتیلن‌گلیکول و غلظت‌های مختلف سوربیتول بر کاتالاز، سوپراکسید دسموتاز، کلروفیل و پرولین در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۴).

بر اساس نتایج مقایسه میانگین؛ بیشترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز با کاربرد پلی‌اتیلن‌گلیکول در غلظت‌های ۰/۰۰۳ مولار و ۰/۰۰۶ مولار رقم HPS-II/67 و کاربرد سوربیتول با غلظت ۰/۱ مولار و ۰/۲ مولار رقم HPS-II/67 مشاهده و میزان آنزیم کاتالاز در رقم HPS-II/67 بیشتر از دو رقم دیگر حاصل شد (شکل ۴).

نتایج نشان داد که با ایجاد تنش میزان آنزیم سوپراکسید دسموتاز (SOD) نسبت به شاهد افزایش یافت. با کاربرد پلی‌اتیلن‌گلیکول بیشترین و کمترین میزان آنزیم به‌ترتیب در تیمارهای ۰/۰۰۹ و ۰/۰۱۲ مولار مشاهده شد. در تنش سوربیتول نیز بیشترین میزان آنزیم سوپراکسید دسموتاز در تیمار ۰/۲ مولار بود. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که تأثیر هر دو ماده با ایجاد تنش اسمزی باعث افزایش آنزیم SOD شده است (شکل ۵).

شاخص آنزیم کاتالاز و آنزیم سوپراکسید دیسموتاز با ایجاد تنش خشکی نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری را نشان داد، زیرا در شرایط تنش میزان آنزیم و فعالیت آن افزایش پیدا می‌کند. محققان با بررسی تنش شوری بر روی رقم Longshu No.3 تخریب تدریجی کلروپلاست و فعال شدن آنزیم کاتالاز را در این رقم سیب‌زمینی گزارش نمودند (Gao et al., 2015).

نتایج پژوهش‌های مشابه، با شواهد مطالعه اخیر مبنی بر این‌که با ایجاد تنش فعالیت آنزیم کاتالاز افزایش می‌یابد، مطابقت داشته است. بر اساس نتایج مقایسه میانگین داده‌ها در شاخص پرولین در اثر تنش اسمزی پلی‌اتیلن‌گلیکول بیشترین میزان در رقم آگریا تیمار ۰/۰۰۶ مولار و کمترین در تیمار ۰/۰۱۲ رقم ساوالان مشاهده گردید. تحت تنش سوربیتول بیشترین میزان پرولین در تیمار ۰/۱ و ۰/۲ مولار رقم آگریا و کمترین مقدار آن در تیمار ۰/۴ مولار در هر سه رقم رویت شد. در کل میزان پرولین در رقم آگریا بالاتر بوده است و بین ارقام اختلاف معنی‌داری به‌دست‌آمد و با ایجاد تنش شاخص پرولین افزایش یافت (شکل ۶).

Table 4. Analysis variance of different poly ethylene glycol and sorbitol levels on physiological traits of three potato varieties during osmotic stress

Source of variation	Degree of freedom	Mean of square			
		Catalase	SOD	Chlorophyll	Proline
Cultivars	2	0.11**	0.014ns	20.05**	0.092**
Treatment	8	0.044**	0.012**	79.42**	0.063**
Treatment × Cultivar	16	0.001**	0.01ns	0.78**	0.004**
Error	54	0.0002	0.001	0.48	0.0005
Coeff var	-	10.75	12.04	9.81	13.15

** Significant at 1% probability level respectively and ns means Meaninglessness

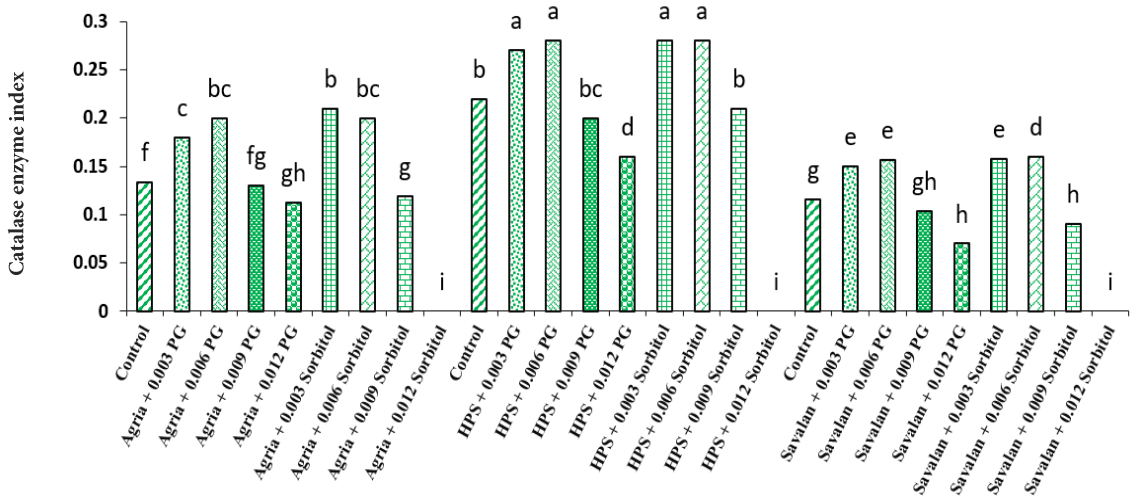

Figure 4. Different concentrations of polyethylene glycol and sorbitol on catalase enzyme index in three digits potato affected by osmotic stress

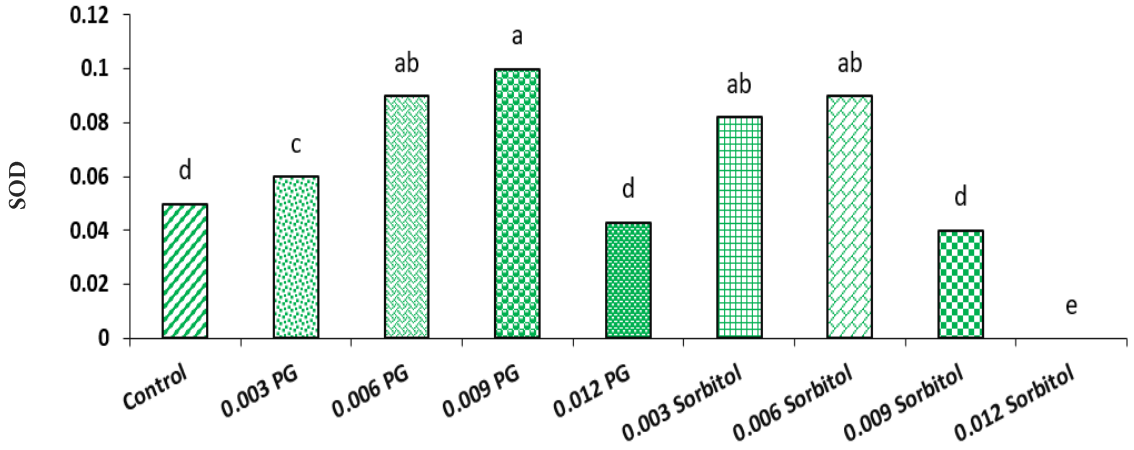

Figure 5. Different concentrations of poly ethylene glycol and sorbitol on SOD activities in three digits potato affected by osmotic stress

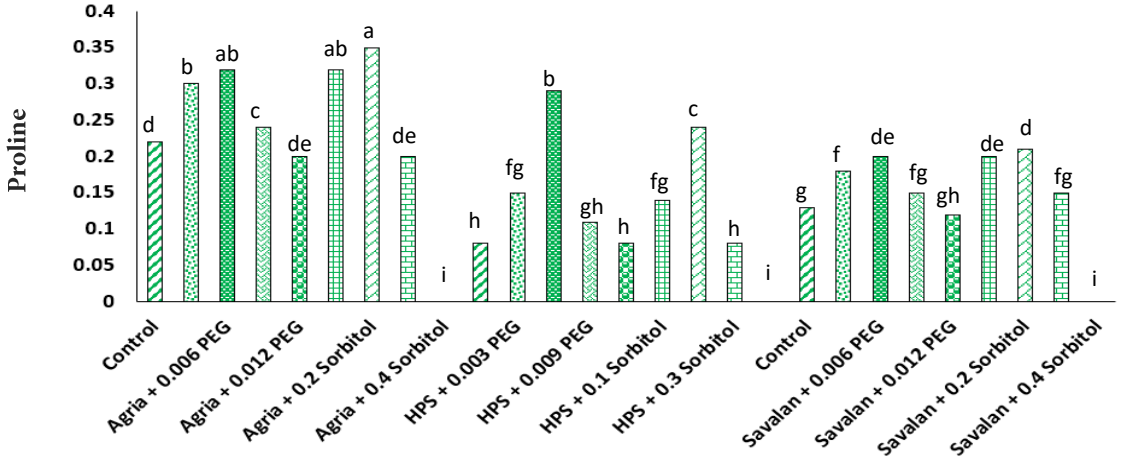

Figure 6. Different concentrations of poly ethylene glycol and sorbitol on proline index in three digits potato affected by stress osmotic

با توجه به نتایج مقایسه میانگین؛ با کاربرد پلی‌اتیلن‌گلیکول بالاترین میزان کلروفیل در گیاه شاهد و تیمار ۰/۰۰۳ مولار رقم HPS-II/67 و پایین‌ترین مقدار در تیمار ۰/۰۱۲ مولار رقم ساوالان مشاهده شد. با ایجاد تنش سوربیتول نیز بیشترین میزان کلروفیل در تیمار ۰/۱ مولار رقم HPS-II/67 و کمترین مقدار در تیمار ۰/۴ مولار هر سه رقم مشاهده شد. بنابراین میزان کلروفیل کل رقم HPS-II/67 با ایجاد تنش پلی‌اتیلن‌گلیکول و سوربیتول در بالاترین سطح نسبت به سایر ارقام بوده است. با افزایش تنش میزان کلروفیل در همه رقم‌ها کاهش پیدا کرده است (جدول ۳).

در این مطالعه شاخص کلروفیل کل در شاهد بالاترین مقدار بود و با ایجاد تنش در اثر سوربیتول و پلی‌اتیلن‌گلیکول، میزان کلروفیل کاهش پیدا کرد؛ در رقم HPS-II/67 بیشترین میزان کلروفیل مشاهده شد. بر اساس نتایج مطالعه محققان، اثر تنش خشکی تحت کاربرد پلی‌اتیلن‌گلیکول در دو رقم سیب‌زمینی (Kenebec، Concord) نشان داد که مقدار کلروفیل کل و کاروتنوئید با افزایش غلظت پلی‌اتیلن‌گلیکول نسبت به نمونه شاهد کاهش‌یافته و همین‌طور کاهش بیشتر محتوای کلروفیلی در رقم Concord ممکن است به دلیل حساسیت بیشتر و عدم سازگاری و مقاومت این رقم به تنش خشکی باشد، همچنین، کاهش مقدار کلروفیل می‌تواند به دلیل افزایش تجزیه کلروفیل یا کاهش ساخت آن باشد که با نتایج به‌دست‌آمده این پژوهش مطابق بوده است (Alasdon et al., 1988).

نتیجه‌گیری

به‌طورکلی شاخص ضریب پرآوری تیمار شاهد بالاترین میزان را داشته و در شرایط تنش بیشترین میزان ضریب پرآوری در رقم آگریا مشاهده شد. بیشترین درصد خشکیدگی (۱۰۰ درصد) در هر سه رقم تحت تیمار ۰/۴ مولار سوربیتول حاصل شد. میزان آنزیم کاتالاز و آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و پرولین در همه ارقام تحت تنش از شاهد بالاتر بوده و مقدار این آنزیم‌ها در رقم HPS-II/67 تحت شرایط تنش از سایر ارقام بیشتر بوده است. میزان کلروفیل کل نیز با ایجاد تنش کاهش پیدا کرد. درصد ریزغده‌زایی با ایجاد تنش اسمزی در کمترین غلظت پلی‌اتیلن گلیکول مقدار جزیی افزایش ولی با بالا رفتن شدت تنش اسمزی درصد ریزغده‌زایی نسبت به شاهد کاهش پیدا کرده است و در بین سه رقم مورد بررسی رقم آگریا دارای بالاترین درصد ریزغده‌زایی و رقم ساوالان پایین‌ترین میزان را دارا بودند و میزان وزن تر و خشک ریزغده با تنش کم مقداری افزایش و با بالا رفتن شدت تنش میزان وزن تر و خشک ریزغده کاهش چشمگیری نشان داد و وزن تر و خشک رقم HPS-II/67 بالاتر از دو رقم دیگر قرار گرفت. از آنجایی که در اغلب سطوح تنش رقم آگریا از ویژگی‌های رشدی از جمله ریزغده‌زایی، فعالیت آنزیمی و سایر شاخص‌های رشدی بهتری برخوردار بود می‌توان این رقم را رقم متحمل و رقم HPS-II/67 نیمه متحمل و رقم ساوالان حساس معرفی کرد. از این مطالعه می‌توان نتیجه گرفت تنش اسمزی در غلظت ۰/۰۰۳ مولار پلی‌اتیلن گلیکول باعث افزایش ریزغده‌زایی نسبت به گیاه شاهد شد. استفاده از عامل تنش اسمزی پلی‌اتیلن گلیکول در غلظت ۰/۰۰۳ مولار در گیاه سیب زمینی مؤثر واقع شد که این عامل می‌تواند در تکثیر تجاری این گیاه مورد استفاده قرار گیرد.

سپاسگزاری

نگارندگان این مقاله وظیفه خود می‌دانند از جناب آقای دکتر داوود حسن‌پناه عضو هیئت علمی مرکز تحقیقات کشاورزی اردبیل به خاطر در اختیار قرار دادن بذر ارقام مورد آزمایش سپاسگزاری نمایند.

References

Aebi, H. (1983). *Catalase.* In H. Bergmeyer (Ed). *Methods of enzymatic analysis* (PP. 273-277). Weinheim, NewYork: Verlag Chemie/Academic Press Inc.

Alasdon, A., Knutson, K. W., & Wilkinson, J. C. (1988). Relationship between microtuber and minitubers production and yield characteristics of six potato cultivars. *American Potato Journal*, 65(8), 468.

Amini, K. (2009). *Evaluation of in vitro seedlings from seed potatoes in terms of drought tolerance.* Master's thesis, Ardebil University Researcher. [In Farsi]

Arnon, D. I. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplast. Polyphenol oxide in Beta vulgaris. *Plant Physiology*, 24(1), 1-15.

Bagheri, H., & Azadi, P. (2012). *Plant tissue culture: Techniques and tests.* Mashhad: Mashhad University Jihad Publications. [In Farsi]

Bates, L. S., Waldern, R. P., & Tear, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil*, 39, 205-207.

De Paivaneto, V., & Otoni, W. C. (2003). Carbon sources and their osmotic potential in plant tissue culture does it matter?. *Scientia Horticulture*, 97(3-4), 193-202.

Donnelly, D. J., Coleman, W. K., & Coleman, S. E. (2003). Potato microtuber production and performance: a review. *American Potato Journal,* 80, 103-115.

Fabeiro, C., Santa Olalla, F., & de Juan, J. A. (2001). Yield and size of deficit irrigated potatoes. *Agricultural Water Management*, 48, 255-266.

FAOSATAT. (2020). *Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAOSTAT database.* FAO Statistics Division 09 December. 2020. <http://faostat.fao.org/site/383/default.aspx>.

Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D., & Basra, S. M. A. (2009). Plant drought stress: effects, mechanisms and management. *Agronomy for Sustainable Development*, 29, 185-212.

Gao, X., Li, Ch., Zhang, M., Wang, R., & Chen, B. (2015). Controlled release urea improved the nitrogen use efficiency, yield and quality of potato (*Solanum tuberosum* L.) on silt loamy soil. *Field Crops Research*, 181, 60-68.

Giannopolitis, C., & Ries, S. (1977). Superoxide dismutase. I. Occurrence in higher plants. *Plant Physiology*, 59, 309-314.

Gopal, J., & Iwama, K. (2007). In vitro screening of potato against water-stress mediated through sorbitol and polyethylene glycol. *Plant Cell Reports*, 26, 693-700.

Gopal, J., & Minocha, J. L. (1998). Effectiveness of *in vitro* selection for agronomic characters in potato. *Euphytica*, 103, 67-74.

Gopal, J., Minocha, J. L., & Dhaliwal, H. S. (1998). Microtuberization in potato (*Solanum tuberosum* L.). *Plant Cell Reports*, 17, 794-798.

Hasandokht, M. (2012). Vegetable production technology (1st Ed1). Tehran: Tehran University Press. [In Farsi]

Irna, A., & Mauromicale, G. (2006). Physiological and growth response to moderate water deficit of off-season potatoes in a Mediterranean environment. *Agricultural Water Management*, 82, 193-209.

Jahromi, M. G., Rahnama, H., Mousavi, A., & Safarnejad, M. R. (2022). Comparative evaluation of resistance to potato virus Y (PVY) in three different RNAi-based transgenic potato plants. *Transgenic Research*, 31, 313-323.

Jaleel, C. A., Manivannan, P., Sankar, B., Kishorekumar, A., Gopi, R., Somasundaram, R., & Panneerselvam, R. (2007). Water deficit stress mitigation by calcium chloride in *Catharanthus roseus*; effects on oxidative stress, proline metabolism and indole alkaloid accumulation. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 60, 110–116.

Kubo, T., Mori, G., & Oda, M. (2005). Factors affecting the formation and growth of microtubers in Zantedeschia plantsets. *Journal of Japan Society of Horticultural Science*, 74, 47-50.

Lentini, Z., & Earle, E. D. (1991). *In vitro* tuberization of potato clones from different maturity groups. *Plant Cell Reports,* 9, 691-695.

Masoudi-Sadaghiani, F., Abdollahi Mandoulakani, B., Zardoshti, M. R., Rasouli- Sadaghiani, M. H., & Tavakoli, A. (2011). Response of proline, soluble sugars, photosynthetic pigments and antioxidant enzymes in potato (*Solanum tuberosum* L.) to different irrigation regimes in greenhouse condition. *Australian Journal of Crop Science*, 5(1), 55-60.

Matlabi, A., Kazemiani, S., Akbari, N. (2015). Effect of osmotic pressure on in vitro microtuberization of potato cv. agria in different concentrations of sucrose and PEG. *Agricultural Biotechnology Journal*, 7(2), 171-184.

Najafzadeh Asl, S., & Ehsan Pour, A. A. (2012). Effect of drought stress on some physiological indices of two potato cultivars (Concord, Kenebec) under in vitro culture conditions. *Two Quarterly Scientific Articles of Boom*, 2(1), 70-82.

Passioura, J. B. (2007). The drought environment: physical, biological and agricultural perspectives. *Journal of Experimental Botany*, 58(2), 113-117.

Platt, H. W. (1992a). Cultivar response to fusarium storage rot as affected by two methods of seed origin propagation; clonal selections and *in vitro* culture. *American Journal of Potato Research*, 69, 179-186.

Platt, H. W. (1992b). Potato cultivar response to late blight as affected by clonal selections and *in vitro* culture. *American Journal of Potato Research*, 69, 187-193.

Prins, A. H., & Verkaar, H. J. (1992). Defoliation: Do physiological and morphological responses lead to (over) compensation? *In*: Ayres, P.G. (Ed.), *Pests and Pathogens. Plant Responses to Foliar Attack* (p. 13-21). Oxford, UK: Bios Scientific Publishers.

Ranalli, P., Ruaro, B. J., Delre, P., Dicandilo, M., & Mandilino, G. (1994). Microtuber and minitubers production and field performance compared with normal tubers. *Potato Research*, 37, 383-391.

Serraj, R., & Sinclair, T. R. (2002). Osmolyte accumulation, it really help increase crop yield under drought conditions. *Plant, Cell and Environment*, 25, 333-341.

Shahpiri, A., Omidi, M., Ahmadi Tehrani, P., & Davoudi, D. (2004). Study of tissue culture and diversity of Somaclon in potatoes. *Iranian Journal of Agricultural Science*, 35(2), 323-335. [In Farsi]

Shajari, A., & Hasan Panah, D. (2014). *Evaluation of dehydration tolerance in potato cultivars under laboratory conditions.* 1st National Conference on Medicinal Plants, Traditional Medicine and Organic Agriculture. [8 November 8 2013]. Hamedan, Hegmatan Environmental Center Assessors Center, Arya Hegmataneh Development Center, Shahid Muftah College of Hamedan.

Shock, C. C., Shock, B. M., & Welch, T. (2013). *Strategies for efficient irrigation water use.* Corvallis, Oregon, United States: Oregon State University. P. 1-7.

Solmon-Blackburn, R. M., & Baker, H. (2001). Breeding resistance virus potatoes (*Solanum tuberosum* L.) a review of traditional and molecular approaches. *Heridity*, 86, 17-35.

Tofang Saz poor, R., Roshanfekr, H., Meskarbashee, M., Bromand Nasab, S. (2015). Effect of irrigation deficit and cultivation method on some quantitative and qualitative characteristics of potato cultivars. *Plant Productions*, 38(2), 1-12. [In Farsi]

Trehan, S. P., & Singh, B. P. (2013). Nutrient efficiency of different crop species and potato varieties – in retrospect and prospect. *Potato Journal*, 40(1), 1-21.

Woolf, J. (1986). *Potato in the diet.* CIP public. pp 7-9.