

"Research Paper"

Investigation of Carotenoid Content in the Color Change of Potato Mutant Produced by Gamma Irradiation

Reza Madankan¹, Seyedeh Sanaz Ramezani², Hassan Soltanloo³, Davoud Hassanpanah⁴ and Mohamad Reza Rahemi⁵

1- Ph.D. Student, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

2- Associate Professor, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran, (Corresponding author: ramezani@gau.ac.ir)

3- Associate Professor, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

4- Associate Professor, Horticulture Crops Research Department, Ardabil Agricultural and Natural Resources Research Centre, AREEO, Ardabil, Iran

5- Faculty member of Nuclear Agriculture Research Institute, Karaj

Received: 23 May, 2023

Accepted: 23 August, 2023

Extended Abstract

Introduction and Objectives: Potato (*solanum tuberosum*) is the fourth staple food after rice, wheat and corn. It is the most important tuberous crop. Potato color flesh is one of the most important parameters in food industry and marketability. The flesh color of the tetraploid cultivars range from white to cream and yellow to dark yellow. There are a few cultivars with red or blue/pink flesh color. Based on mutant clones containing superior quantitative and qualitative traits and flesh color change in Caesar potato variety, this research was carried out with the aim of determination of the reason of color flesh change in Caesar mutant.

Material and Methods: Mutant and parent (Caesar) clone were cultivated in research farm of Ardabil Agriculture Research Center in 1397. Sampling was done in 4 replications for each clone. Changes in total carotenoid and its components were performed by spectroscopy-UV and HPLC-chromatography, respectively.

Results: Carotenoid content in mutant clone was 319.54($\mu\text{g}/100\text{ FW}$) and in parent clone was 246.36 ($\mu\text{g}/100\text{ FW}$). This result showed that content of total carotenoid in mutant was 1.3 times the carotenoid content of the parent. HPLC results showed that Lutein content was increased in mutant in comparison to parent, whereas, violaxanthin was higher in parent than mutant clone.

Conclusion: Based on our results total carotenoid content along with lutein play an important role in potato color flesh change. Our finding is in accordance with results of other researches that showed that flesh color change from cream (parent) to yellow (mutant) was affected by total carotenoid content generally and lutein specifically.

Keywords: Caesar, Carotenoid, Chromatography, Lutein, Marfona, Mutant, Potato



"مقاله پژوهشی"

ارزیابی محتوی کارتنوئید در تغییر رنگ جهش یافته سیب زمینی ایجاد شده با پرتو گاما

رضا معدن کن^۱، سیده ساناز رمضانپور^۲، حسن سلطانیلو^۳، داود حسن پناه^۴ و محمدرضا راحمی^۵

۱- دانشجوی دکتری گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
 ۲- دانشیار، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران،
 (نویسنده مسول: ramezanpours@gau.ac.ir)

۳- دانشیار، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
 ۴- دانشیار، بخش تحقیقات زراعی و باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان اردبیل (مغان)،
 سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اردبیل، ایران
 ۵- پژوهشگر پژوهشکده کشاورزی هسته‌ای کرج، کرج، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۲/۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۶/۱
 صفحه: ۲۲ تا ۳۰

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: سیب زمینی با نام علمی *Solanum tuberosum* گیاهی است یکساله از تیره سولاناسه، که برای استفاده از غده زیرزمینی آن کشت می شود. سیب زمینی چهارمین ماده غذایی مهم دنیا بعد از برنج، گندم و ذرت است و تنها و مهم ترین غذای غده‌ای دنیا می باشد. رنگ گوشت سیب زمینی یکی از مهم ترین فاکتورها در سیب زمینی می باشد. رنگ گوشت در اغلب ارقام تتراپلوئید سیب زمینی دامنه‌ای از سفید تا کرم و زرد تا زرد تیره دارد. تعداد کمی از ارقام به رنگ گوشت قرمز یا آبی/صورتی وجود دارند. زرد بودن رنگ گوشت سیب زمینی یکی از فاکتورهای تأثیرگذار برای انتخاب و معرفی ارقام در داخل کشور می باشد. با توجه به ایجاد کلون جهش یافته با خصوصیات کمی و کیفی برتر و با تغییر رنگ گوشت سیب زمینی از رقم کایزر که از ارقام با خصوصیات بسیار خوب می باشد؛ این تحقیق با هدف مشخص شدن دلایل تغییر رنگ کلون حاصل از ایجاد جهش فیزیکی پرتو گاما در رقم کایزر به انجام رسیده است.

مواد و روش‌ها: جهت تعیین تغییرات محتوی کل و اجزا کارتنوئید، تعداد ۴ تکرار از کلون‌های تغییر رنگ زرد سیب زمینی جهش یافته حاصل از پرتو تابانی گاما به همراه شاهد والدی رقم‌های کایزر و مارفونا که در مزرعه تحقیقاتی مرکز تحقیقاتی اردبیل کشت گردیده بود با استفاده از روش‌های کروماتوگرافی اسپکتروفتومتری، کروماتوگرافی مایع با کارکرد بالا و مقایسه کیفی، رنگ پوست و گوشت آنها مورد بررسی قرار گرفتند.

یافته‌ها: مطابق نتایج حاصل از اسپکتروفتومتری، میزان کارتنوئید کل لاین‌های جهش یافته کایزر و مارفونا به ترتیب برابر با ۳۱۹/۵۴ و ۳۴۴/۰۹ میکروگرم در ۱۰۰ گرم وزن تر گوشت سیب زمینی بوده و در رقم‌های والدی (شاهد) آنها به ترتیب برابر با ۳۴۶/۳۶ و ۲۹۲/۷۳ میکروگرم در ۱۰۰ گرم وزن تر بوده است. این نتایج نشان می دهد که محتوی کارتنوئید کل این دو لاین جهش یافته به ترتیب ۱/۳ و ۱/۱۸ برابر محتوی کارتنوئید والد خود می باشد. نتایج بررسی محتوی اجزا کارتنوئید نشان داد محتوی لوتئین در کلون‌های جهش یافته نسبت به شاهد افزایش داشته و نسبت و بالازانتین در ارقام مادری (شاهد) نسبت به کلون‌های جهش یافته بیشتر بوده است.

نتیجه گیری: مطابق نتایج حاصله که منطبق بر بررسی منابع انجام شده بود مشخص شد محتوی کارتنوئید کل در تغییر رنگ پوست و گوشت سیب زمینی نقش مهمی را ایفا می نماید و همچنین افزایش میزان لوتئین نیز در این امر نقش دارد و به نظر می رسد عامل تغییر رنگ گوشت سیب زمینی کلون جهش یافته حاصل نسبت به شاهد در وهله اول افزایش محتوی کارتنوئید کل و همچنین افزایش میزان محتوی لوتئین آن می باشد.

واژه‌های کلیدی: جهش یافته، سیب زمینی، کارتنوئید، کایزر، کروماتوگرافی، لوتئین، مارفونا

مقدمه

رنگ گوشت سیب زمینی یکی از مهم ترین فاکتورها در سیب زمینی می باشد. رنگ گوشت و پوست سیب زمینی بسته به مواد تشکیل دهنده آن از سفید تا قرمز تیره وجود دارد. رنگ گوشت در اغلب ارقام تتراپلوئید سیب زمینی دامنه‌ای از سفید تا کرم و زرد تا زرد تیره دارد. تعداد کمی از ارقام به رنگ گوشت قرمز یا آبی/صورتی وجود دارند (Wolters et al., 2010). ارقام سیب زمینی با رنگ گوشت زرد برای تازه خوری مناسب هستند (Hasani et al., 2020). زرد بودن رنگ گوشت سیب زمینی یکی از فاکتورهای تأثیرگذار برای انتخاب و معرفی ارقام در داخل کشور می باشد. رنگ گوشت از جمله صفات کیفی بوده و توسط تعداد معدودی ژن کنترل می شود، به همین دلیل امکان اصلاح این صفت با سهولت بیشتری امکان پذیر است. یکی از روش‌های اصلاح گیاهان، استفاده از عوامل جهش‌زای فیزیکی همانند اشعه گاما به منظور ایجاد جهش در ژن‌های کنترل کننده این صفت و در نتیجه تغییر رنگ گوشت غده می باشد. در این روش سعی می شود صفتی مطلوب بدون تغییر یا کمترین

سیب زمینی با نام علمی *Solanum tuberosum* گیاهی است یکساله از تیره سولاناسه، که برای استفاده از غده زیرزمینی آن کشت می شود. سیب زمینی چهارمین ماده غذایی مهم دنیا بعد از برنج، گندم و ذرت است و تنها و مهم ترین غذای غده‌ای دنیا می باشد (Ezekiel et al., 2013). منشا سیب زمینی کوه‌های آند در بولیوی و پرو می باشد (Vesali et al., 2021). سیب زمینی یک محصول غذایی کارآمد با تولید ماده خشک و پروتئین و مواد معدنی (مغذی) در واحد سطح در مقایسه با غلات می باشد. علاوه بر انرژی و پروتئین، سیب زمینی حاوی شماری از مواد غذایی مفید گیاهی برای سلامتی از قبیل فنولیک‌ها، فلاونوئیدها، ترکیبات آهن دار، کوکومین‌ها، آنتوسیانین‌ها و کاراتنوئیدها می باشد (Ezekiel et al., 2013). ۱۸۰ هزار هکتار از اراضی کشاورزی ایران زیر کشت سیب زمینی بوده و به طور متوسط در این اراضی ۲۷ تن در هکتار محصول تولید می شود (Hassanpanah & Hoseinzadeh, 2007).

به چشم دیده می‌شوند (Britton, 1995). شاید شناخته شده‌ترین مشتق کارتنوئید ویتامین A باشد، که در تغذیه بشر برای پیش‌ساز ویتامین A برای جلوگیری از بیماری‌های مختلف از قبیل کوری و فعالیت آنتی‌اکسیدانی مهم می‌باشند (Cazzonelli, 2011; Cazzonelli et al., 2010). لوتئین یک کارتنوئید پایدار در مقابل گرما و زآزانتین کارتنوئیدهای غالب در غده سیب‌زمینی هستند. آنها یک نقش کلیدی در ممانعت از تخریب پیشرفته ماکولا^{۱۵} بوسیله محافظت سلول‌های نورگیر از رادیکال اکسیژن آزاد تولید شده بوسیله نور بازی می‌کنند (Schalch, 1992). به‌علاوه اعتقاد بر این است که لوتئین به کاهش سرطان ریه کمک می‌کند (Khachik et al., 1992).

یکی از مهم‌ترین مسیرهای تولید رنگدانه در گیاهان مربوط به مسیر بیوسنتزی کارتنوئید می‌باشد (Dhar et al., 2015). رنگ گوشت در اغلب ارقام تتراپلوئید سیب‌زمینی دامنه‌ای از سفید کرم و زرد تا زرد تیره می‌باشد. رنگ زرد به‌وسیله حضور کارتنوئیدهای ویژه ایجاد می‌شود. کارتنوئیدهای اصلی در ارقام سیب‌زمینی زآزانتین^{۱۶}، ویلازانتین^{۱۷}، آنترازانتین^{۱۸} و لوتئین^{۱۹} می‌باشند (Breithaupt & Bamedi, 2002; Brown et al., 1993; Ezekiel et al., 2013; Nesterenko & Sink, 2003; Valcarcel et al., 2015).

کارتنوئید در گوشت همه سیب‌زمینی‌ها وجود دارد (Brown, 2005) و رنگ نارنجی و زرد گوشت سیب‌زمینی به‌ترتیب به‌دلیل وجود زآزانتین و لوتئین می‌باشد (Ezekiel et al., 2013).

روش‌های کروماتوگرافی معمولاً برای جداسازی، شناسایی کارتنوئیدها در نمونه‌های غذایی، خونی و بافت‌های گیاهی استفاده می‌شود (Kopeck et al., 2012).

این تحقیق با هدف بررسی دلایل بیوشیمیایی تغییر رنگ کلون‌های جهش‌یافته ایجاد شده از ارقام کایزر و مارفونا با صفات کمی و کیفی بهتر به‌منظور معرفی ارقام جدید انجام گردیده است.

مواد و روش‌ها

ماده گیاهی: با توجه به اهمیت استفاده از ماده گیاهی همولوگ در انجام تحقیقات (Liu et al., 2018) و نقش بسیار مهم آن در بررسی نتایج بنابراین برای انجام این بررسی از دو کلون جهش‌یافته تغییر رنگ یافته پوست و گوشت سیب‌زمینی با استفاده از اشعه گاما به‌همراه ارقام شاهد مادری استفاده گردید. کاشت کلون‌های جهش‌یافته به‌همراه شاهد در سال ۱۳۹۷ در مزرعه تحقیقاتی مرکز تحقیقات اردبیل انجام شد. نمونه‌ها از کلون‌های جهش‌یافته و شاهد (والد) در ۴ تکرار مجزا (غده) از مزرعه تحقیقاتی مرکز تحقیقات اردبیل برداشت و به‌منظور جلوگیری از تغییرات احتمالی در ترکیبات آن بلافاصله به تانک ازت منتقل گردید و سپس در یخچال ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

رنگ پوست و گوشت: رنگ پوست غده از ویژگی‌های هر کلون و رقم محسوب شده و در ۷ گروه رتبه‌بندی شد (پوست سفید معادل یک و پوست با لکه‌های آبی معادل ۷).

تغییر در سایر صفات گیاه ایجاد شود (Ahloowalia, 1982, 1990).

براساس نتایج آزمایشات سال‌های قبل، رقم کایزر که دارای شرایط پرمحصولی و متحمل به تنش کم‌آبی و رنگ گوشت غده سفید متمایل به زرد و رقم مارفونا با رنگ گوشت زرد کم‌رنگ به‌منظور ایجاد ارقام جدید با استفاده از اصلاح به‌روش جهش با خصوصیات بازارپسندی انتخاب شدند (Hassanpanah & Hoseinzadeh, 2007). با تغییر رنگ گوشت غده به رنگ زرد (موردپسند بازار) در این ارقام با استفاده از پرتوتابی، می‌توان باعث افزایش سطح زیرکشت آن و کمک به تولید داخل و در نهایت باعث افزایش سطح درآمد زارعین نمود (Hassanpanah et al., 2015). رنگ گوشت غده‌های سیب‌زمینی بایستی در زمان برداشت و قبل از اینکه در معرض نور خورشید قرار بگیرند تعیین شود.

در پژوهشی که توسط حسن‌پناه و همکاران (Hassanpanah & Hoseinzadeh, 2007; Hassanpanah et al., 2015) با هدف اصلاح رقم کایزر و مارفونا انجام گرفت ژنوتیپ‌های انتخابی دارای عملکرد غده بالا، تعداد و وزن غده در بوته بیشتر، غده‌های یکنواخت، عمق چشم سطحی و رنگ پوست و گوشت غده زرد بودند.

رنگدانه‌های موجود در سیب‌زمینی در سه گروه آنتوسیانین‌ها، فلاونوئیدها و کارتنوئیدها تقسیم می‌شوند که بسته به رنگ گوشت سیب‌زمینی مقدار آن‌ها متفاوت می‌باشد (Ezekiel et al., 2013).

آنتوسیانین‌ها گروهی از رنگدانه‌های پلی‌فنولی هستند که در سرسلسله گیاهان یافت می‌شوند (Liu et al., 2018). در طبیعت بیش از ۶۰۰ نوع آنتوسیانین تاکنون شناسایی شده است (Smeriglio et al., 2016). شش آنتوسیانین مهم گیاهان پلارگونیدین^۱، سیانیدین^۲، پتونیدین^۳، دلفینیدین^۴، پئونیدین^۵ و مالویدین^۶ هستند (Kong et al., 2003).

از دیگر رنگدانه‌های مهم سیب‌زمینی فلاونوئیدها می‌باشند که در دو گروه عمده فلاون^۷ و فلاونول^۸ دسته‌بندی می‌شوند (Liu et al., 2018). عمده‌ترین فلاونوئیدهای سیب‌زمینی عبارتند از اپیکتچین^۹، کتچین^{۱۰}، اریدیکتیول^{۱۱}، کامپیفرول^{۱۲} و نارنجین^{۱۳} و از فلاونول‌ها روتئین^{۱۴} می‌باشد (Brown, 2005). فلاونوئیدها پیش‌ساز مسیر آنتوسیانین‌ها نیز هستند (Ezekiel et al., 2013).

گزارش‌هایی از رنگدانه طبیعی که ما امروزه به‌عنوان کارتنوئید می‌شناسیم به سال ۱۸۱۷ در فلفل قرمز برمی‌گردد (Braconnot, 1817). امروزه بیش از ۶۰۰ نوع از کارتنوئیدها از ایزومرهای سیس و ترانس شناخته شده‌اند (Fraser & Bramley, 2004). کارتنوئیدها مواد چربی دوست با خصوصیت جذب نوری خاص زنجیره کربنی، با عامل رنگی طویل از پیوندهای دوگانه، همچنین مسئول واکنش‌پذیری کارتنوئیدها با عوامل اکسید کننده و رادیکال آزاد هستند (Britton, 1991, 1995). کارتنوئیدها اغلب به‌عنوان رنگدانه در برگ‌ها، میوه‌ها، سبزیجات و گل‌ها شناخته می‌شوند. حداکثر جذب نوری آنها بین ۴۶۰ تا ۵۵۰ نانومتر است و بنابراین به رنگ‌های قرمز، نارنجی و زرد

1- Pelargonidin	2- Cyanidin	3- Petunidin	4- Delphinidin	5- Peonidin	6- Malvidin
7- Flavone	8- Flavonol	9- Epicatechin	10- Catechin	11- Erodictyol	12- Kaempferol
13- Naringenin	14- Rutin	15- Macula	16- Zeaxanthin	17- Violaxanthin	18- Antheraxanthin
19- Lutein					

رنگ گوشت غده در زمان برداشت از غده‌هایی صورت گرفت که آفتاب ندیده بود. برای این منظور رنگ گوشت مواد آزمایشی براساس شدت رنگ گوشت در دامنه ۱ تا ۹ گروه‌بندی شد (سفید شیری معادل یک و زرد خیلی پررنگ معادل ۹).

رنگ گوشت غده در زمان برداشت از غده‌هایی صورت گرفت که آفتاب ندیده بود. برای این منظور رنگ گوشت مواد آزمایشی براساس شدت رنگ گوشت در دامنه ۱ تا ۹ گروه‌بندی شد (سفید شیری معادل یک و زرد خیلی پررنگ معادل ۹).

استخراج کاروتنوئیدها: برای استخراج کاروتنوئید ۳ میلی‌لیتر استون به یک گرم پودر گوشت سیب‌زمینی (برابر با ۲/۵ گرم گوشت تر سیب‌زمینی) از هر نمونه ۴ تکرار در داخل تیوپ‌ها اضافه و برای مدت ۱۰ دقیقه ورتکس گردید. محلول در دور ۱۵۰۰ g و به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. یک میلی‌لیتر از محلول رویی برداشته و نگهداری شد و ۳ میلی‌لیتر استون مجدداً به محلول اولیه اضافه و مراحل تکرار گردید. پس از استخراج مجدد ۳ میلی‌لیتر از محلول رویی برداشته و به ۱ میلی‌لیتر قبلی اضافه شد. از این محلول برای اندازه‌گیری کاروتنوئید کل به وسیله دستگاه اسپکتروفوتومتر استفاده شد. به منظور مشخص کردن ترکیب کاروتنوئید با استفاده از روش کروماتوگرافی مایع با کارکرد بالا به محلول استخراج شده فوق، محلول تترا هیدرو فوران به علاوه BHT ۰/۱ درصد اضافه نموده و اقدام به فیلتر ۰/۲ میکرومتر می‌شود (Ishiguro et al., 2010).

تعیین محتوی کل کاروتنوئید و ترکیب آن: با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر در محدوده جذب ۳۶۰ تا ۷۰۰ نانومتر اقدام به سنجش کاروتنوئید کل نمونه‌ها شد (دستگاه Cintra6, GBC). کاروتنوئید کل با استفاده از رابطه ۱ در بالاترین جذب محاسبه شد (Aflaki, 2012). تعیین جز کاروتنوئیدها با استفاده از دستگاه HPLC Agilent 1100 و Agilent, Zorbax Eclips XDB-C18, ستون

$$C = \left(\frac{A}{\epsilon \times 1 \text{ cm}} \right) \times \left(\frac{V}{M} \right) \times \left(\frac{10^6 \mu\text{g}}{1 \text{ g}} \right) \times D$$

C: غلظت (μg/g)

A: جذب در ۴۵۰ نانومتر

V: حجم در محلول (cc)

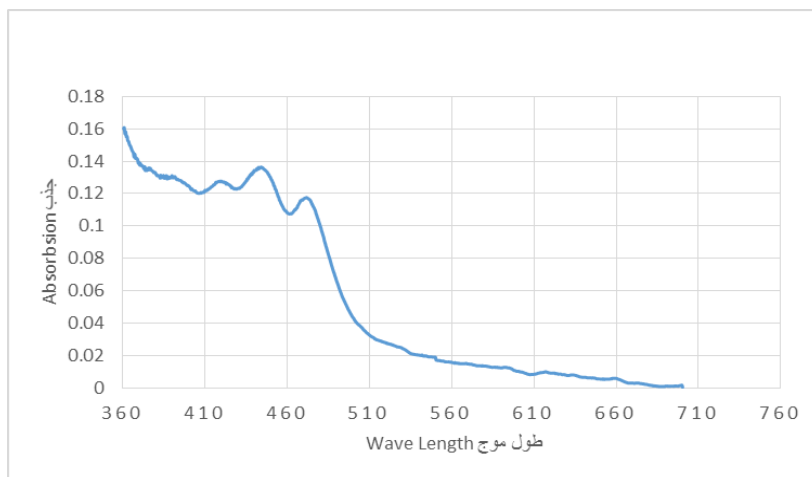
E: جذب ویژه (cm⁻¹)، 2500 for carotenoid

M: جرم نمونه (g)

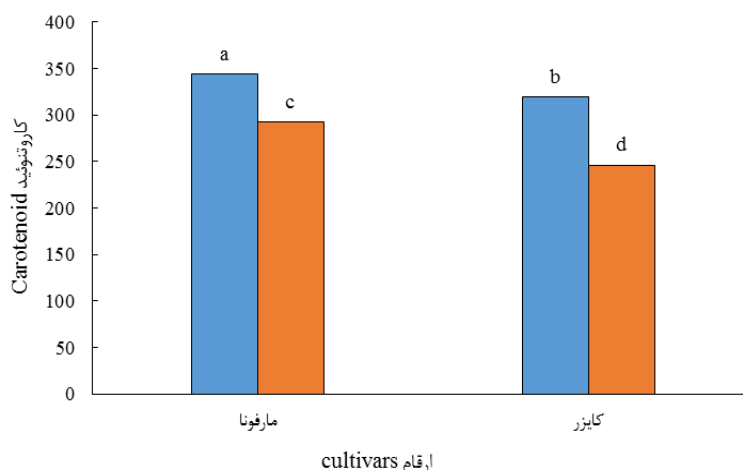
D: فاکتور رقت

نتایج و بحث

مطابق نتایج حاصل از اسپکتروفوتومتری (شکل ۱) میزان کاروتنوئید کل در جهش‌یافته و شاهد در سطح ۰/۰۱ اختلاف معنی‌دار نشان داد. میانگین میزان کاروتنوئید کل لاین‌های جهش‌یافته کایزر و مارفونا به ترتیب برابر با ۳۱۹/۵۴ و ۳۴۴/۰۹ میکروگرم در ۱۰۰ گرم وزن تر گوشت سیب‌زمینی بوده و در رقم‌های والدی (شاهد) آنها به ترتیب برابر با ۲۴۶/۳۶ و ۲۹۲/۷۳ میکروگرم در ۱۰۰ گرم وزن تر بوده است. این نتایج نشان می‌دهد که محتوی کاروتنوئید کل این دو لاین جهش‌یافته به ترتیب ۱/۳ و ۱/۱۸ برابر محتوی کاروتنوئید والد خود می‌باشد (شکل ۲).



شکل ۱- طیف اسپکتروسکوپی کاروتنوئید کل در طول موج ۳۶۰-۷۶۰ نانومتر
Figure 1. Spectral spectroscopy of total carotenoid at wavelength 360-760 nm



شکل ۲- مقایسه میانگین کاروتنوئید کل در کلون‌های جهش یافته و شاهد ارقام کایزر و مارفونا میانگین‌های دارای حروف مشابه تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۰/۰۱ درصد ندارند.

Figure 2. Average comparison of total carotenoid in mutant and control clones of Caesar and Marfona cultivars Means with same letters show non-significant difference at $p < 0.01$

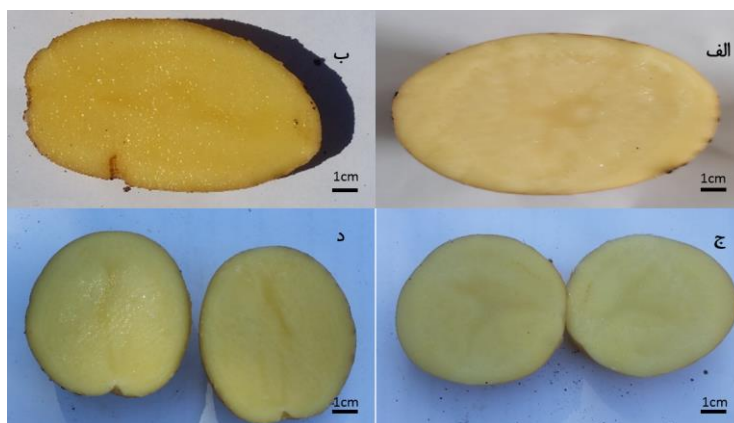
کردند. همچنین اعلام کردند ارقام با پوست یا گوشت زرد نیز دارای محتوای کاروتنوئید کل بالاتری نسبت به ارقام با رنگ زرد بسیار کم‌رنگ یا سفید بودند. به‌طور متوسط، محتوای کاروتنوئید کل پوست سیب‌زمینی دو و نیم تا سه برابر بیشتر از گوشت بود. تجزیه و تحلیل آماری نشان داد که گوشت زرد تیره دارای بالاترین میانگین کاروتنوئید بود ولی تفاوت معنی‌داری با گوشت زرد روشن ندارد (Valcarcel et al., 2015). در مطالعه دیگری که توسط لو و همکاران (Lu et al., 2001) انجام گرفت اعلام نمودند که رنگ زرد گوشت سیب‌زمینی با محتوای کاروتنوئید آن همبستگی مثبت دارد. مطابق نتایج فوق که با یافته‌های تحقیق حاضر منطبق می‌باشد جهش یافته با رنگ گوشت زرد نسبت به والد (شاهد) دارای محتوای کاروتنوئید کل بیشتری می‌باشد. مقایسه نتایج تغییر شدت رنگ اندازه‌گیری شده بر اساس شاخص کیفی با میزان کاروتنوئید کل اندازه‌گیری شده حاکی از وجود همبستگی مثبت می‌باشد. بدین معنی که با تغییر محتوای کاروتنوئید کل شاخص رنگ پوست و گوشت نیز با همسویی مثبت تغییر یافته است (جدول ۱).

براساس بررسی کیفی صورت گرفته رنگ پوست هر دو کلون جهش یافته از سفید مایل به زرد به زرد و رنگ گوشت از کرمی مایل به زرد به زرد تغییر یافت (شکل ۳ و ۴). براون و همکاران (Brown et al., 2005) نشان دادند که محتوای کل کاروتنوئید سیب‌زمینی در سیب‌زمینی‌هایی با رنگ گوشت سفید، رنگ زرد روشن و رنگ زرد تیره به ترتیب ۴۰ تا ۱۳۰، ۱۰۱ تا ۲۷۱ و ۵۰۹ تا ۷۹۵ میکروگرم در ۱۰۰ گرم وزن تر گوشت سیب‌زمینی بوده است. همچنین در تحقیق دیگر که توسط براون و همکاران (Brown et al., 2008) در ارتباط با بررسی محل کشت و روش پخت سیب‌زمینی انجام گرفت مشخص شد که واریته‌های با رنگ گوشت سفید حاوی ۵۰ تا ۱۰۰ میکروگرم کاروتنوئید در ۱۰۰ گرم وزن تر بوده است و واریته‌هایی با رنگ گوشت زرد دارای محتوای کاروتنوئید کل ۱۰۰ تا ۳۵۰ میکروگرم در ۱۰۰ گرم وزن تر اعلام نمودند. والکارل و همکاران (Valcarcel et al., 2015) سطوح بالاتری از کاروتنوئیدها کل در پوست غده‌های سیب‌زمینی در رقم بورن با حداکثر مقادیر ۲۸ و ۹ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن خشک به ترتیب در پوست و گوشت گزارش



شکل ۳- شکل ظاهری و رنگ پوست غده‌های سیب‌زمینی الف- رقم کایزر (شاهد)، ب- کلون جهش یافته کایزر، ج- رقم مارفونا (شاهد)، د- کلون جهش یافته مارفونا

Figure 3. A- Shape and skin color of potato tubers a) Caesar, b- Caesar mutant, c- Marfona, d- Marfona mutant



شکل ۴- رنگ گوشت غده‌های سیب‌زمینی الف- رقم کایزر (شاهد)، ب- کلون جهش‌یافته کایزر، ج- رقم مارفونا (شاهد)، د- کلون جهش‌یافته مارفونا

Figure 4. A- Flesh color of potato tubers a) Caesar, b- Caesar mutant, c- Marfona, d- Marfona mutant

جدول ۱- ضریب همبستگی پیرسون محتوی کاروتنوئید با رنگ پوست و گوشت

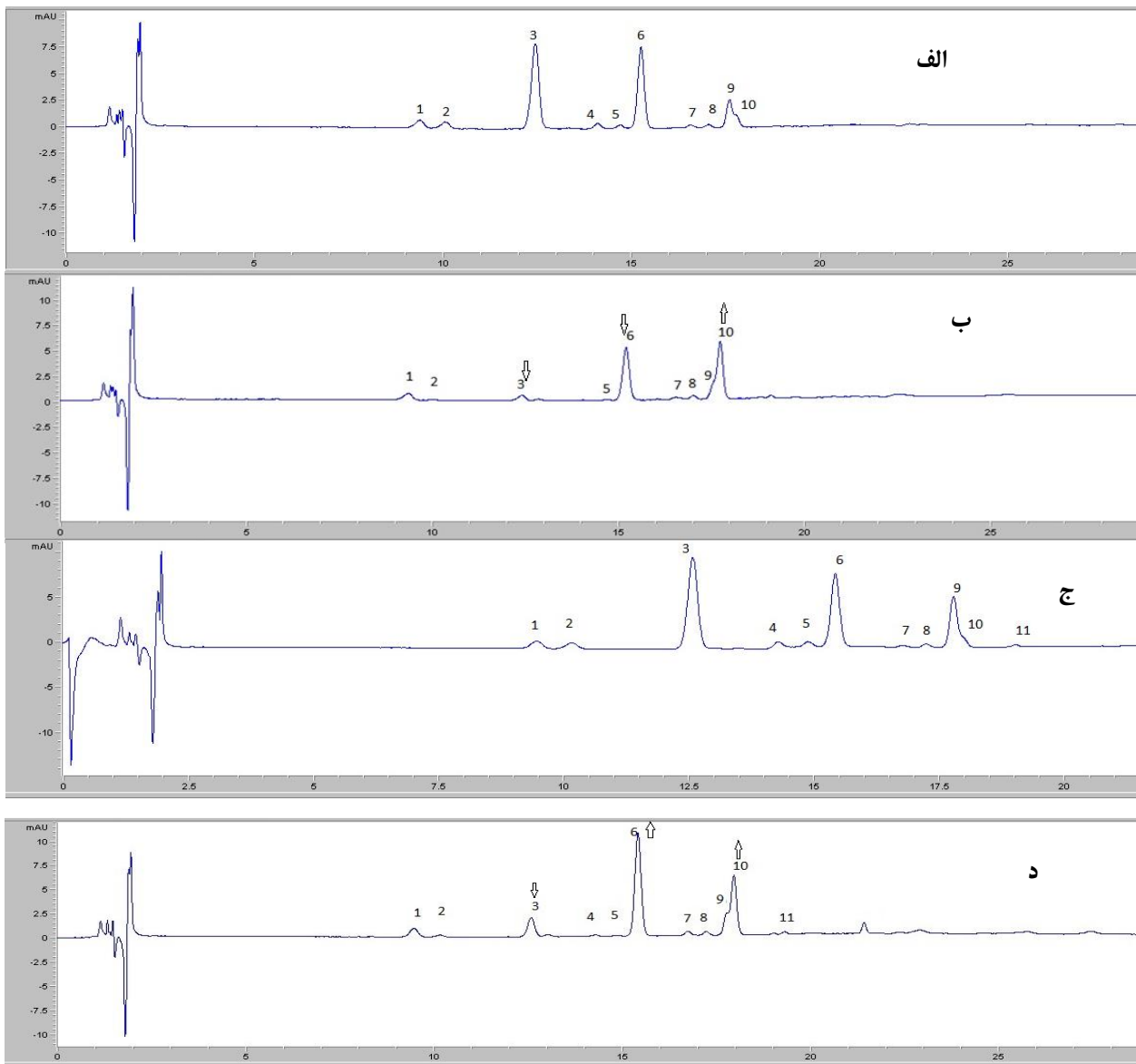
Table 1. Pearson correlation coefficient of total carotenoid content with skin and flesh color

Cart کاروتنوئید	Skin رنگ پوست	Flesh رنگ گوشت	
0.90	0.91	1	Flesh رنگ گوشت
0.84	1		Skin رنگ پوست
1			Cart کاروتنوئید

در حالی که مشخصات کاروتنوئیدی سیب‌زمینی زرد متشکل از ویولازانتین، آنترازانتین، لوتئین و زازانتین بود و سیب زمینی‌های با گوشت کرمی از بتاکاروتن، ویولازانتین و لوتئین تشکیل شده بود (Burgos et al., 2009).

در مطالعه‌ای توسط سولی و همکاران (Sulli et al., 2017) با هدف گروه‌بندی رنگ گوشت سیب‌زمینی با استفاده از محتوی کاروتنوئید با استفاده از روش کروماتوگرافی انجام گردید نشان داده شد که گروه با رنگ گوشت سفید، محتوی کاروتنوئید کل پائینی داشتند. محتوی ویولازانتین و لوتئین با کاروتنوئید کل نسبت عکس داشتند به نحوی که ژنوتیپ‌هایی که دارای نسبت بالاتر ویولازانتین به کاروتنوئید کل بودند از نسبت پائین‌تر لوتئین نسبت به کاروتنوئید کل برخوردار بودند. بر همین اساس آنها از محتوی لوتئین و آنترازانتین برای تفکیک کلون با گوشت سفید و زرد استفاده کردند. اگرچه در نتایج ارائه شده در مقاله فوق ژنوتیپ‌هایی با نتایج مخالف نظر نویسنده مقاله وجود داشت که می‌تواند با نتایج به‌دست آمده در این تحقیق انطباق داشته باشد. این تناقضات در ژنوتیپ‌هایی که غلظت کاروتنوئید آنها کمتر از ۳۵۰ میکروگرم در ۱۰۰ گرم ماده تر است دیده می‌شود (شکل ۳). مطابق مقالات براون و همکاران (Brown, 2005, 2008; Sulli et al., 2017) و سولی و همکاران (Sulli et al., 2017) محتوی لوتئین برای تفکیک ژنوتیپ‌های سفید و زرد استفاده شدند. مطابق نتایج مورد اشاره کلون‌های جهش‌یافته از محتوی لوتئین بالاتری نسبت به ارقام مادری (شاهد) برخوردار بوده و می‌توان افزایش رنگ زرد آن را به افزایش محتوی لوتئین هم نسبت داد.

ترکیبات کاروتنوئید به‌وسیله روش کروماتوگرافی مایع با کارکرد بالا و با استفاده از دستگاه Agilent 1100 انجام گردید. نتایج به‌صورت گراف‌های کروماتوگرافی ارائه شد (شکل ۵). در کروماتوگراف‌ها ۱۰ پیک دیده شد، که اولین پیک در دقیقه ۹ و آخرین پیک در دقیقه ۱۷/۸ مشاهده شد. هر پیک نمایانگر یکی از اجزا تشکیل دهنده کاروتنوئید کل سیب‌زمینی بوده است. با توجه به بررسی منابع (Burgos et al., 2009; Ishiguro et al., 2010; Khan et al., 2016; Sulli et al., 2017) و مقایسه آن با کروماتوگرافی حاضر و با توجه به اهمیت پیک‌های تغییر یافته مشخص گردید که پیک‌های ۳، ۶ و ۱۰ به‌ترتیب ویولازانتین، آنترازانتین و لوتئین بودند. نتایج نشان داد که روند تغییر در پیک‌های ۳ و ۱۰ (به‌ترتیب ویولازانتین و لوتئین) در هر دو کلون جهش‌یافته حاصله مشابه هم بود به‌طوری که روند تغییرات ویولازانتین در جهش‌یافته‌ها نسبت به شاهد‌ها کاهش بود و برعکس، این روند برای لوتئین در جهش‌یافته‌های حاصله نسبت به شاهد‌ها افزایشی بود. پیک شماره ۶ که مربوط به آنترازانتین می‌باشد روند تغییرات متفاوتی را در کلون‌های جهش‌یافته‌ها نسبت به ارقام مادری خود نشان داد. در جهش‌یافته کایزر میزان آن نسبت به شاهد روند کاهشی را نشان داد در حالیکه در جهش‌یافته مارفونا این روند نسبت به شاهد افزایشی بود. برتیه‌پت و بامدی (Breithaupt & Bamedi, 2002) الگوی کاروتنوئیدی چهار رقم سیب‌زمینی گوشت زرد و چهار رقم گوشت سفید را بررسی کردند. الگوی کاروتنوئیدی غالب ویولازانتین، آنترازانتین، لوتئین و زازانتین بود (Breithaupt & Bamedi, 2002). بورگوس و همکاران (Burgos et al., 2009) گزارش کردند که مقادیر قابل توجه و غالب زازانتین و آنترازانتین در سیب‌زمینی‌های با گوشت زرد پررنگ یافت شد



شکل ۵- کروماتوگرام کروماتوگرافی مایع با کارکرد بالا غده‌های سیب‌زمینی الف- شاهد کایزر (والد)، ب- کلون جهش یافته کایزر، ج- شاهد مارفونا (والد)، د- کلون جهش یافته مارفونا در ۴۵۰ نانومتر. پیک‌های احتمالی شناسایی شده ۳- ویالوزانتین ۶- آنترازانتین ۱۰- لوتئین
 Figure 5. HPLC chromatograms of a) Caesar, b) Caesar mutant, c) Marfona, d) Marfona mutant at 450 nm. Tentative peak identification: 3. Violaxanthin, 6. Antheraxanthin, 10. Lutein

نتیجه‌گیری کلی

مطابق نتایج حاصله که منطبق بر بررسی منابع انجام شده بود مشخص شد محتوی کارتنوئید کل در تغییر رنگ گوشت سیب‌زمینی نقش مهمی را ایفا می‌نماید. مقایسات کیفی صورت گرفته در پوست و گوشت سیب‌زمینی نشان داد که این صفات با محتوی کارتنوئید کل همبستگی مثبت داشت. همچنین افزایش میزان لوتئین نیز در این امر نقش دارد و به نظر می‌رسد عامل تغییر رنگ پوست و گوشت سیب‌زمینی کلون جهش یافته حاصل نسبت به شاهد در وهله

اول افزایش محتوی کارتنوئید کل و همچنین افزایش میزان محتوی لوتئین آن می‌باشد. برای بررسی دقیق‌تر پیشنهاد می‌شود تحقیقات مولکولی در این خصوص به انجام رساند.

تشکر و قدردانی

با سپاس از تمام کسانی که در انجام این تحقیق یاریگر ما بودند به ویژه دانشگاه گرگان و مرکز تحقیقات سیب‌زمینی اردبیل و همچنین استاد ارجمند جناب آقای دکتر جواد فصیحی.

منابع

- Aflaki, N. (2012). *Optimization of carotenoid extraction in peel and flesh of cantaloupe (Cucumis melo L.) with ethanol solvent* Université Laval].
- Ahloowalia, B. (1982). Plant regeneration from callus culture in potato. *Euphytica*, 31(3), 755-759.
- Ahloowalia, B. (1990). In vitro radiation induced mutagenesis in potato. The Impact of Biotechnology on Agriculture: Proceedings of the International Conference: "The Meeting Point Between Fundamental and Applied in vitro Culture Research", held at Amiens (France), July 10-12, 1989,
- Braconnot, H. (1817). Examen chimique du Piment, de son principe âcre, et de celui des plantes de la famille des renonculacées (Chemical investigation of the chili pepper, of its pungent principle [constituent, component], and of that of plants of the family Ranunculus). *Annales de Chimie et de Physique*,
- Breithaupt, D. E., & Bamedi, A. (2002). Carotenoids and carotenoid esters in potatoes (*Solanum tuberosum* L.): new insights into an ancient vegetable. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(24), 7175-7181.
- Britton, G. (1991). *Main lectures presented at the Ninth International Symposium on Carotenoids: held in Kyoto (Japan) 20-25 May 1990*. Blackwell.
- Britton, G. (1995). Structure and properties of carotenoids in relation to function. *The FASEB Journal*, 9(15), 1551-1558.
- Brown, C. (2005). Antioxidants in potato. *American Journal of Potato Research*, 82, 163-172.
- Brown, C. (2008). Breeding for phytonutrient enhancement of potato. *American Journal of Potato Research*, 85, 298-307.
- Brown, C., Edwards, C., Yang, C.-P., & Dean, B. (1993). Orange flesh trait in potato: Inheritance and carotenoid content. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 118(1), 145-150.
- Burgos, G., Salas, E., Amoros, W., Auqui, M., Munoa, L., Kimura, M., & Bonierbale, M. (2009). Total and individual carotenoid profiles in *Solanum phureja* of cultivated potatoes: I. Concentrations and relationships as determined by spectrophotometry and HPLC. *Journal of Food Composition and Analysis*, 22(6), 503-508.
- Cazzonelli, C. I. (2011). Carotenoids in nature: insights from plants and beyond. *Functional Plant Biology*, 38(11), 833-847.
- Cazzonelli, C. I., Nisar, N., Hussain, D., Carmody, M. E., & Pogson, B. J. (2010). Biosynthesis and Regulation of Carotenoids in Plants—micronutrients, vitamins and health benefits. *Plant Developmental Biology-Biotechnological Perspectives: Volume 2*, 117-137.
- Dhar, M. K., Sharma, R., Koul, A., & Kaul, S. (2015). Development of fruit color in Solanaceae: a story of two biosynthetic pathways. *Briefings in Functional Genomics*, 14(3), 199-212.
- Ezekiel, R., Singh, N., Sharma, S., & Kaur, A. (2013). Beneficial phytochemicals in potato—a review. *Food Research International*, 50(2), 487-496.
- Fraser, P. D., & Bramley, P. M. (2004). The biosynthesis and nutritional uses of carotenoids. *Progress in lipid research*, 43(3), 228-265.
- Hasani, F., Moslemkhany, C., Tahernezhad, Z., & Jazayeri NooshAbadi, M. (2020). Adaptation and Yield Stability Evaluation of New Potato Genotypes Using GGE Biplot Method. *Journal of Crop Breeding*, 12(35), 91-101 (In Persian).
- Hassanpanah, D., & Hoseinzadeh, A. A. (2007). *Methodology and evaluation of resistanceresource to drought stress and path analysis of yield and yield components in potato cultivars*. A. P. Final Report of Research Center of Agriculture and Natural Resources.
- Hassanpanah, D., Rahimi, M., & Vedadi, S. (2015). Evaluation of genetic diversity of potato genotypes for some traits irradiated with gamma ray in Caesar cultivar. *Journal of Crop Ecophysiology*, 9(34(2)), 215-230.
- Ishiguro, K., Yoshinaga, M., Kai, Y., Maoka, T., & Yoshimoto, M. (2010). Composition, content and antioxidative activity of the carotenoids in yellow-fleshed sweetpotato (*Ipomoea batatas* L.). *Breeding Science*, 60(4), 324-329.
- Khachik, F., Englert, G., Daitch, C. E., Beecher, G. R., Tonucci, L. H., & Lusby, W. R. (1992). Isolation and structural elucidation of the geometrical isomers of lutein and zeaxanthin in extracts from human plasma. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, 582(1-2), 153-166.
- Khan, M. Z., Takemura, M., Maoka, T., Otani, M., & Misawa, N. (2016). Carotenoid analysis of sweetpotato *Ipomoea batatas* and functional identification of its lycopene β - and ϵ -cyclase genes. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 71(9-10), 313-322.
- Kong, J.-M., Chia, L.-S., Goh, N.-K., Chia, T.-F., & Brouillard, R. (2003). Analysis and biological activities of anthocyanins. *Phytochemistry*, 64(5), 923-933.
- Kopec, R. E., Cooperstone, J. L., Cichon, M. J., & Schwartz, S. J. (2012). Analysis methods of carotenoids. *Analysis of Antioxidant-Rich Phytochemicals*, 105-148.

- Liu, F., Yang, Y., Gao, J., Ma, C., & Bi, Y. (2018). A comparative transcriptome analysis of a wild purple potato and its red mutant provides insight into the mechanism of anthocyanin transformation. *PLoS One*, *13*(1), e0191406.
- Lu, W., Haynes, K., Wiley, E., & Clevidence, B. (2001). Carotenoid content and color in diploid potatoes. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, *126*(6), 722-726.
- Nesterenko, S., & Sink, K. C. (2003). Carotenoid profiles of potato breeding lines and selected cultivars. *HortScience*, *38*(6), 1173-1177.
- Schalch, W. (1992). Carotenoids in the retina—a review of their possible role in preventing or limiting damage caused by light and oxygen. *Free radicals and aging*, 280-298.
- Smeriglio, A., Barreca, D., Bellocco, E., & Trombetta, D. (2016). Chemistry, pharmacology and health benefits of anthocyanins. *Phytotherapy research*, *30*(8), 1265-1286.
- Sulli, M., Mandolino, G., Sturaro, M., Onofri, C., Diretto, G., Parisi, B., & Giuliano, G. (2017). Molecular and biochemical characterization of a potato collection with contrasting tuber carotenoid content. *PLoS One*, *12*(9), e0184143.
- Valcarcel, J., Reilly, K., Gaffney, M., & O'Brien, N. (2015). Total carotenoids and l-ascorbic acid content in 60 varieties of potato (*Solanum tuberosum* L.) grown in Ireland. *Potato Research*, *58*, 29-41.
- Vesali, m., baradaran, r., hasanpanah, d., & Soqa al-Islami, m. j. (2021). Determining the Tolerance of Hybrids from Combination of Potato Cultivars to Different Aridity Conditions in Ardabil Province [Research]. *Journal of Crop Breeding*, *13*(37), 146-158. <https://doi.org/10.52547/jcb.13.37.146> (In Persian).
- Wolters, A.-M. A., Uitdewilligen, J. G., Kloosterman, B. A., Hutten, R. C., Visser, R. G., & van Eck, H. J. (2010). Identification of alleles of carotenoid pathway genes important for zeaxanthin accumulation in potato tubers. *Plant molecular biology*, *73*, 659-671.