

بررسی تأثیر نور طبیعی و مصنوعی بر ریز ازدیادی گیاهچه‌های سیب‌زمینی

جعفر نباتی^{۱*}، اله برومند رضازاده^۲، محمد زارع مهرجردی^۳ و محمد کافی^۴

۱، ۲ و ۴. استادیار، دانشجوی سابق دکتری و استاد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، ایران

۳. استادیار، مجتمع آموزش عالی شیروان، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۲/۵ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۴/۲۹)

چکیده

تأمین منبع نور مصنوعی برای رشد گیاهچه‌ها در کشت بافت سیب‌زمینی، مستلزم صرف هزینه‌های بالایی است. لذا بررسی با هدف تولید گیاهچه در شرایط نور طبیعی و مقایسه ویژگی‌های ریخت‌شناختی آن با گیاهچه‌های رشدیافته در نور فلورست با استفاده از آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی با نه تکرار در شرایط درون‌شیشه و چهار تکرار در شرایط گلخانه انجام شد. تیمارها شامل دو رقم آگریا و ساوالان و نور طبیعی و فلورست بودند. نتایج نشان داد، ارتفاع گیاهچه رقم ساوالان در هر دو شرایط نوری یکسان و در مقابل رقم آگریا در نور فلورست ۱/۵ سانتی‌متر ارتفاع گیاهچه بیشتری نسبت به شرایط رشد نور طبیعی داشت. طول ریشه، قطر ساقه، سطح برگ، شمار گره در بوته، شمار شاخه در بوته و وزن تر گیاهچه در هر دو رقم مورد بررسی در نور طبیعی بیشتر از نور فلورست بود. میزان افزایش سطح برگ در نور طبیعی نسبت به نور فلورست در رقم آگریا و ساوالان به ترتیب ۲۳ و ۶ درصد، شمار گره در بوته ۲/۲ و ۲۲/۵ درصد و وزن تر گیاهچه ۱۸/۹ و ۱۷/۲ درصد بود. فاصله میان‌گره‌ها در نور فلورست بیشتر از نور طبیعی بود. از نظر سطح برگ، شمار و وزن ریزگرده در بوته، گیاهان رشد یافته در شرایط نور طبیعی نسبت به فلورست برتری نشان دادند. در مجموع با توجه به تولید گیاهچه با ویژگی‌های ریخت‌شناختی مناسب در نور طبیعی و تولید بالاتر ریزگرده در گیاهان رشد یافته در شرایط نور طبیعی و فلورست، می‌توان با استفاده از نور طبیعی با میانگین شدت نور ۴۵۹۸ لوکس برای رشد گیاهچه‌ها در مرحله درون‌شیشه از هزینه‌های تولید ریزگردهای سیب‌زمینی صرفه‌جویی کرد.

واژه‌های کلیدی: آگریا، ساوالان، کشت بافت.

Evaluation of effect of natural and artificial lights on potato micropropagation

Jafar Nabati^{1*}, Elahe Boroumand Rezazadeh², Mohammad Zare Mehrjerdi³ and Mohammad Kafi⁴

1, 2, 4. Assistant Professor, Former Ph.D. Student and Professor, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran

3. Assistant Professor, Shirvan Higher Education Complex, Iran

(Received: Apr. 25, 2017 - Accepted: Jul. 20, 2017)

ABSTRACT

Providing light source for plantlet growth in potato tissue culture is expensive. So, an experiment was conducted in factorial arrangement based on completely randomized block design with nine replications under *in vitro* and four replications in greenhouse conditions to study plantlet production under natural light and comparing the morphological traits of these plantlets with the ones grown under fluorescent light conditions. Treatments consisted of two potato cultivars of Agria and Savalan and natural and fluorescent light. Results indicated that Savalan plantlets height was almost the same in both light conditions while a higher plantlet height was found in fluorescent light conditions in Agria. Root length, stem diameter, leaf area, number of nodes per plantlet, number of branches per plantlet and plantlet fresh weight was higher in natural light compared to fluorescent in both cultivars. An increase of 23 and 6 percent in leaf area, 2.2 and 22.5 percent in node number per plantlet and 18.9 and 17.2 percent in fresh weight was found in natural light compared to fluorescent light in Agria and Savalan, respectively. Longer internodes were observed in fluorescent light. Generally, according to the suitable morphological traits of plantlets grown under natural light and higher minituber production of these plants in greenhouse, reduction in minituber production costs could be achieved by using natural instead of fluorescent light in *in vitro* conditions.

Keywords: Agria, savalan, tissue culture.

* Corresponding author E-mail: jafarnabati@ferdowsi.um.ac.ir

لامپ‌های فلورسنت استفاده کردند (Fang & Jao, 2000; Nhut et al., 2002; Rocha et al., 2013; Yano & Fujiwara, 2012). به رغم کاهش مصرف نیروی الکتریسیته با استفاده از LED، هزینه اولیه تهیه این منابع نور زیاد بوده و میزان قابل توجهی انرژی نیز مصرف می‌کنند.

افزونش گیاهان بر پایه فناوری کشت بافت و در بی آن رشد در شرایط آزمایشگاهی یک فرایند همراه با صرف انرژی و نیروی کار است. حتی در کشورهای در حال توسعه که نیروی کار هزینه کمتری دارد افزایش کارایی تولید وابسته به کاهش هزینه‌ها است (Ahloowalia et al., 2002). یکی از روش‌های جایگزین در تأمین نور مورد نیاز گیاهچه‌های کشت بافتی، استفاده از نور طبیعی است. میزان شدت نور مورد استفاده در اتفاق رشد برای بیشتر گیاهان ۲۰۰۰ لوکس لامپ‌های فلورسنت با دمای 25 ± 3 درجه سلسیوس است. نور طبیعی نسبت به لامپ‌های فلورسنت متفاوت بوده و شدت نور مستقیم خورشید از ۵۰ تا ۱۳۰۰۰۰ لوکس متغیر است. بنابراین، در صورتی که بتوان از استفاده از نور طبیعی در تولید گیاهچه‌های کشت بافتی استفاده کرد، میزان هزینه‌های تولید به طور فراوانی کاهش می‌یابد (Yano & Fujiwara, 2012).

بسیاری از گیاهان کشت بافتی می‌توانند دامنه گسترده‌ای از نوسان‌های دمایی را تحمل کرده و سازگاری مناسبی به شرایط مزرعه و حتی دماهایی بالا دارند. گیاهان رشد یافته در شرایط نور محیطی ساختار محکم‌تر (خشبي‌تر) و تحمل بهتری در برابر نشاکاری در مزرعه دارند (Ahloowalia et al., 2002). امکان استفاده از نور طبیعی را در ریز ازدیادی موز (*Musa acuminata*) (cv. 'Grande Naine') را بررسی و اظهار داشتند که در گیاهچه‌هایی که در اتفاق با نور خورشید باشد ۵۷۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه و دمای ۲۳-۳۰ درجه سلسیوس و طول روز ۱۶-۱۲ ساعت رشد یافتند نسبت به گیاهچه‌های رشد یافته در نور مصنوعی با شدت نور ۶۵ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه و دمای ۲۹-۲۳ و طول روز ۱۶ ساعت، شمار نوشاخه‌های تولید شده بیشتر بود.

مقدمه

سیبزمینی (*Solanum tuberosum* L.) یکی از مهم‌ترین گیاهان زراعی است که از نظر تولید پس از گندم، برنج و ذرت در جایگاه چهارم در جهان قرار دارد (Namugga et al., 2014). این گیاه در معرض بیماری‌های مختلف قرار داشته که سبب کاهش شدید عملکرد محصول در مناطق آلوده به این عامل‌ها می‌شود (Zobayed et al., 2001). از آنجایی که سیبزمینی به روش غیرجنسي افزونش می‌شود، عامل‌های بیماری‌زا از نسلی به نسل دیگر منتقل شده و طی چند سال کشت متوالی، درصد آلودگی افزایش Zinati Fakhrebadi (2013) و عملکرد بهشت کاهش می‌یابد (Nsrolahnejad, 2013). لذا یکی از عامل‌های مهم محدود‌کننده تولید سیبزمینی در کشورهای در حال توسعه و از جمله ایران کمبود غده‌های بذری با Otroshy, 2006; Prakash & Karihaloo, 2007 کیفیت است (El-Sawy et al., 2007). به همین دلیل امروزه استفاده از روش کشت بافت برای افزونش گیاهان زراعی، باغی و ... گسترش زیادی پیدا کرده است. کاربرد این روش، افزونش سریع‌تر و تولید مواد بدون بیماری، افزایش محصول و کاهش کاربرد سم‌ها و مواد شیمیایی دیگر (Baque et al., 2011) را امکان‌پذیر می‌سازد. بنابراین کشت درون شیشه سودمندی‌های اقتصادی کلانی به همراه دارد. با این وجود هزینه‌های کشت بافت و تولید گیاهچه در شرایط آزمایشگاهی بالاست. برای افزایش بازده در کشت بافت، شرایط محیط مانند نور، دما و محیط کشت از اهمیت ویژه‌ای دارد. استفاده از لامپ‌های فلورسنت از رایج‌ترین منابع تأمین نور مصنوعی برای ریز ازدیادی است. باوجوداین، بخش عمده هزینه‌های غیر کارگری (درصد هزینه نیروی الکتریسیته) در آزمایشگاه‌های Dooley, 1991; Debergh (1991; Read, 1991) کشت بافت را شامل می‌شود (و). به همین دلیل، پژوهشگران و واحدهای کشت بافت تجاری به دنبال منبع نور جایگزین با کارایی بیشتر برای این مهم هستند. برخی از محققان از دیودهای ساطع‌کننده نور (LED) به دلیل مصرف جریان کمتر، اندازه کوچک‌تر، طول موج اختصاصی، ساختار محکم‌تر و طول عمر بیشتر به جای

با روشنی ۳۰۰ dpi تصویربرداری شدن و سپس ارتفاع بوته، طول ریشه، قطر ساقه، سطح برگ، شمار گیاهچه‌های غیرطبیعی، شمار گره در بوته، شمار شاخه در بوته و فاصله میان گره با نرم‌افزار JMVision V1.27 اندازه‌گیری شد. درنهایت وزن ترکل بوته توسط ترازویی با دقت ۰/۰۰۱ و درصد ماده خشک در سه تکرار از گیاهچه‌های هر تیمار تعیین شد. دیگر گیاهچه‌های طبیعی باقیمانده از هر تیمار به گلخانه منتقل و در جعبه‌هایی با ابعاد ۳۵×۳۵×۴۰ سانتی‌متر و در هر جعبه چهار گیاهچه کشت شد. برای تغذیه گیاهچه‌های سیب‌زمینی در طول دوره رشد از محلول غذایی هوگلند (Hoagland & Arnon, 1950) به صورت هفتگی و به میزان ۱۰۰۰ میلی‌لیتر به ازای هر جعبه استفاده شد. اسیدیتۀ محلول توسط اسید‌سولفوریک (H_2SO_4) غلیظ و هیدروکسید سدیم (NaOH) ۰/۱ مولار در حد ۵/۶ با کمک pH متر تنظیم شد. بر پایه دمای ثبت شده کمینه، بیشینه و میانگین دمای گلخانه در طول دوره رشد گیاهچه‌ها در شرایط درون شیشه به ترتیب سه، ۳۶ و ۲۴ درجه سلسیوس بود (شکل ۱).

گیاهان مورد بررسی پس از گذشت سه ماه و در پایان فصل رشد برداشت و میانگین ارتفاع بوته، سطح برگ، وزن ترکل و خشک، شمار و وزن ریزگردها در پنج گروه وزنی کمتر از ۱، ۱-۵، ۵-۱۰، ۱۰-۱۵ و بیش از ۱۵ گرم و نیز کل شمار و وزن ریزگردها در بوته اندازه‌گیری شد.

برای تجزیه‌های آماری از نرم‌افزار Minitab 16 استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها به روش آزمون LSD انجام گرفت و سطح اطمینان در همه تجزیه‌وتحلیل‌ها درصد در نظر گرفته شد.

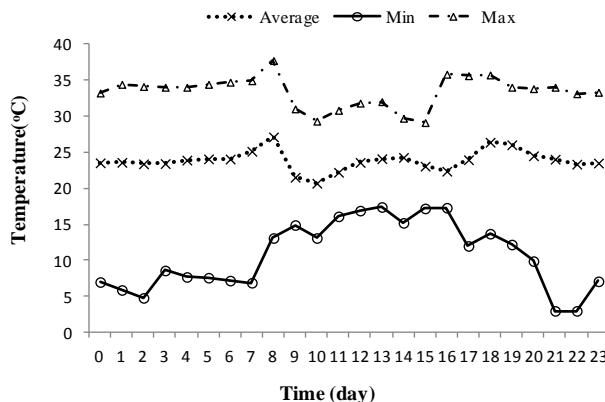
نتایج و بحث

بررسی تغییرپذیری شدت نور در گلخانه در شرایط درون شیشه نشان داد، میزان نور دریافتی گیاهچه‌ها در طول زمان کشت به طور میانگین ۲۱۰۰ لوكس در ۲۴ ساعت بود، در حالی که این میزان برای فلوروستن ۲۰۰۰ لوكس در ۲۴ ساعت بود. افزون بر این بیشینه شدت نور در گلخانه تا ۱۱۱۸۰ لوكس ثبت شد (شکل ۲).

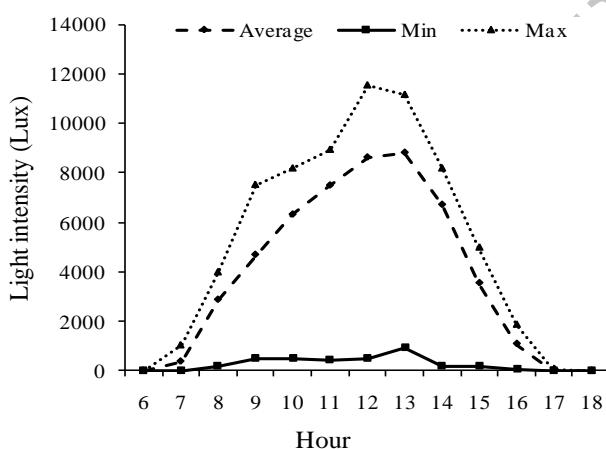
بر همین پایه و با توجه به تأثیر نور بر رشد و ریخت‌شناسی گیاهچه‌ها در شرایط درون شیشه (Hayashi *et al.*, 1993) و تأثیر کیفیت گیاهچه‌های تولیدشده در تولید ریزگردهای مناسب (Struik, 2007)، این بررسی با هدف ارزیابی تأثیر نور فلوروستن و طبیعی بر ویژگی‌های ریخت‌شناسی و رشد گیاهچه‌های سیب‌زمینی و رشد و میزان تولید ریزگرده در گیاهان به دست آمده در شرایط گلخانه و امکان جایگزینی منبع نور طبیعی به جای نور مصنوعی برای تولید گیاهچه‌های مناسب و نیز کاهش مصرف انرژی انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

این بررسی به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی با نه تکرار (هر تکرار شامل هشت گیاهچه) در آزمایشگاه کشت بافت در بهمن‌ماه و چهار تکرار (هر تکرار شامل چهار گیاهچه) در گلخانه شرکت فناوران بذر یکتا در مشهد به اجرا درآمد. عامل‌های مورد بررسی شامل نور فلوروستن (۱۳۰ وات در مترمربع) با شدت ۳۰۰۰ لوكس (در شرایط دمایی 20 ± 5 درجه سلسیوس و دوره نوری ۱۶ ساعت روشناکی و هشت ساعت تاریکی) و ۵۰ درصد نور طبیعی (با بهره‌گیری از سایبان ۵۰ درصد در شرایط گلخانه) و دو رقم سیب‌زمینی آگریا و ساوالان بود. پس از ریز ازدیادی در شرایط آزمایشگاه هر یک از تیمارها از همان آغاز در محل تعیین شده (تیمار نور فلوروستن در شرایط آزمایشگاه و تیمار نور طبیعی در شرایط گلخانه) نگهداری شدند. میزان شدت نور و دما در محل نگهداری نمونه‌ها در گلخانه در طول زمان کشت ثبت شد. مواد اولیه گیاهی لازم برای این آزمایش به صورت گیاهچه‌های سترون (استریل) درون شیشه‌ای از پژوهشکده بیوتکنولوژی منطقه مرکزی کشور- اصفهان تهیه شد. تک گره‌های گیاهچه‌های سترون دو رقم آگریا و ساوالان در محیط کشت پایه ساکارز و ۰/۷ درصد آگار با $pH=5/7$ افرونش شدند. در هر ظرف کشت، هشت گیاهچه کشت شد. گیاهچه‌ها پس از ۳۰ روز نگهداری در شرایط یادشده از محیط کشت خارج و توسط اسکنر (Laser Jet M122nf MFP) ثبت خارج و توسط اسکنر (Laser Jet M122nf MFP)



شکل ۱. تغییرپذیری دمای گلخانه در طول زمان رشد گیاهچه‌های سیب‌زمینی در شرایط درون شیشه
Figure 1. Temperature changes in greenhouse during potato plantlets growth period in *in vitro* conditions



شکل ۲. میانگین تغییرپذیری شدت نور (در روز) در طول رشد گیاهچه‌های سیب‌زمینی در شرایط درون شیشه در گلخانه
Figure 2. Light intensity changes in greenhouse during potato plantlets growth period under *in vitro* conditions

طولی ساقه شناخته شده‌اند. پاسخ طول ساقه به نسبت گیافام قرمز دور به گیافام کل خطی است، با افزایش نسبت گیافام قرمز دور به گیافام کل میزان توسعه ساقه کاهش می‌یابد (Runkle & Heins, 2001). در بررسی واکنش فیزیولوژیکی گیاهچه‌های خیار (*Cucumis sativus*) در شرایط نوری مختلف مشاهده شد که ارتفاع گیاهچه‌ها با افزایش شدت نور کاهش یافت (Hernandez & Kubota, 2016).

طول ریشه در هر دو رقم مورد بررسی در شرایط نور طبیعی بیش از نور فلورسنت بود و رقم ساوالان نسبت به آگریا طول ریشه بیشتری داشت ($P \leq 0.05$) (جدول ۲). افزایش طول ریشه در شرایط نور طبیعی نسبت به نور فلورسانست در رقم آگریا $5/8$ در رقم ساوالان $13/8$ درصد بود (جدول ۳). نقش ریشه در استقرار گیاهچه‌های تولیدی از کشت بافت تا حدی

مقایسه رشدی گیاهچه‌های سیب‌زمینی در نور فلورسنت و نور طبیعی در شرایط درون شیشه ارتفاع گیاهچه‌های سیب‌زمینی به عنوان معیاری برای انتقال به گلخانه در تولید ریزگرده مطرح بوده و گیاهچه‌هایی با ارتفاع کم‌وزیاد مناسب انتقال به گلخانه نیستند. ارتفاع گیاهچه در رقم ساوالان نسبت به آگریا و در نور فلورسنت بیشتر از نور طبیعی بود ($P \leq 0.05$) (جدول‌های ۱ و ۲). همچنین بررسی تأثیر نورهای فلورسنت و طبیعی بر ارتفاع گیاهچه دو رقم سیب‌زمینی نشان داد، ارتفاع گیاهچه رقم ساوالان در هر دو شرایط نوری یکسان و در مقابل رقم آگریا در شرایط نور فلورسنت $1/5$ سانتی‌متر ارتفاع گیاهچه بیشتری نسبت به شرایط رشد در نور طبیعی داشت (جدول ۳). حسگرهای گیرنده گیافامی (فیتوکرومی) نور قرمز و قرمز دور به عنوان کنترل‌کننده‌های رشد

تشکیل شده در شرایط درون شیشه در محیط خاک متوقف شده و تشکیل ریشه های جدید آغاز می شود که کارکرده ای اصلی ریشه در خاک را انجام می دهنند. اگر ریشه های جدید ظاهر نشوند گیاه از بین خواهد رفت. یک روش برای از بین بردن این تأثیر منفی کشت درون شیشه در شرایط نور طبیعی است (Ahloowalia *et al.*, 2002). به نظر می رسد در این بررسی رشد بیشتر ریشه گیاهچه های سیب زمینی در شرایط نور طبیعی در هر دو رقم به علت شدت بیشتر نور در این شرایط نسبت به نور فلورسنت بوده است.

وجود ساقه هایی با قطر مناسب می تواند احتمال صدمه به گیاهچه های سیب زمینی در زمان انتقال به بستر کشت در گلخانه را کاهش دهد. رقم ساوالان نسبت به رقم آگریا قطر ساقه بیشتری داشت که این اختلاف از نظر آماری نیز معنی دار بود ($P \leq 0.05$) (جدول ۲). قطر ساقه در هر دو رقم در شرایط نور طبیعی بیشتر از نور فلورسنت بود؛ این میزان افزایش در رقم آگریا و ساوالان به ترتیب $3/5$ و $2/7$ درصد بود اما این تفاوت معنی دار نبود (جدول ۳). گیاهان کشت بافتی سازگار شده با نور کم به طور معمول نازک و شکننده شده و ممکن است شیشه ای شوند که منجر به بقاء ضعیف آنها در شرایط طبیعی می شود. ساقه نازک و شکننده، مهم ترین آسیب را به گیاهان در فرایند سازگاری وارد کرده و موجب تأخیر در استقرار گیاه در شرایط طبیعی می شود (Ahloowalia *et al.*, 2002). افزایش قطر ساقه گیاهچه در شرایط نور طبیعی نسبت به نور فلورسنت، بقای گیاهچه ها را در فرایند انتقال و سازگاری افزایش خواهد داد.

است که موفقیت یا عدم ادامه رشد گیاهچه به آن وابسته است (Dole & Hamrick, 2006). افزونش موفق و اقتصادی در تولید گیاهچه گیاهان علفی نیازمند ریشه دهی سریع و یکنواخت است. گیاهچه برای موفقیت در فرایند زمان حمل و نقل و دوره گذر از شرایط تولید (خزانه یا آزمایشگاه) به شرایط طبیعی (مزروعه یا گلخانه) باید ریشه های متراکم، متعادل، Dole و زیست توده زیاد داشته باشد (Hamrick, 2006). بررسی تأثیر شدت نور بر تولید *Petunia hybrida* hort. ریشه در گیاه اطلسی (Vilm.-Andr نشان داد، با افزایش شدت نور از $1/2$ تا $8/4$ مول بر متر مربع در روز، وزن خشک ریشه افزایش یافت (Lopez & Runkle, 2008). نتایج بررسی *Hibiscus syriacus* L., *Viburnum bodnantense* Stearn, *Weigela florida* (Bunge) A. DC نشان داد، افزایش شدت نور روی ریشه های تازه Grange & Loach, (1985). پیشنهاد شده برای جلوگیری از کاهش آغازین ریشه دهی در مرحله های اولیه افزونش، ریز نمونه ها در شدت نوری بین $2/5$ تا $3/3$ مول بر متر مربع در روز برای جلوگیری از کاهش آب و پتانسیل اسمزی نگهداری شوند. پس از آغاز شدن نور به خاطر نیاز بیشتر Grange & Loach, (1985). گیاهان رشد یافته در شرایط نور مصنوعی با شدت کم، ذخایر و شبکه ریشه ای ضعیفی دارند. در زمان انتقال گیاهچه به خاک، ریشه های تشکیل شده در شرایط درون شیشه مجبور به تنظیم خود با اسیدیتۀ متغیر محلول خاک هستند. به طور معمول کارکرد ریشه های

جدول ۱. تجزیۀ واریانس (سطح احتمال) صفات مورد بررسی گیاهچه های سیب زمینی در شرایط درون شیشه
Table 1. Analysis of variance of studied characteristics in potato plantlets under *in vitro* conditions

	Sources of variance	Cultivar	Light source	Cultivar \times Light	Error	CV
df		1	1	1	32	
Plantlet height		0.022*	0.013*	0.013*		17.17
Root length		0.015*	0.007*	0.200 ^{ns}		11.16
Shoot diameter		0.001**	0.011*	0.954 ^{ns}		5.74
Leaf area		0.001**	0.078 ^{ns}	0.670 ^{ns}		19.03
Abnormal plantlets		0.408 ^{ns}	0.408 ^{ns}	0.408 ^{ns}		19.43
No. of node per plantlet		0.560 ^{ns}	0.023*	0.071 ^{ns}		13.01
Internode length		0.178 ^{ns}	0.040*	0.543 ^{ns}		16.87
No. of branch per plantlet		0.868 ^{ns}	0.001**	0.868 ^{ns}		18.61
Plantlet fresh weight		0.001**	0.006*	0.400 ^{ns}		20.22
Dry matter percentage		0.938 ^{ns}	0.358 ^{ns}	0.629 ^{ns}		20.56

*, ** و ns: معنی دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد و غیر معنی دار.

*, **, ns: Significant at 1 and 5% levels of probability and non-significant, respectively.

جدول ۲. میانگین ویژگی‌های ریخت‌شناختی گیاهچه‌های آگریا و ساوالان سیب‌زمینی در شرایط درون‌شیشه تحت تأثیر منبع‌های نور فلورسنت و طبیعی

Table 2. Mean of morphological characteristics of plantlets in Agria and Savalan potato cultivars at *in vitro* condition under fluorescent and natural light

	Cultivar		Light sources	
	Agria	Savalan	Fluorescent	Natural
Plantlet height (cm)	4.71 ^b	5.41 ^a	5.44 ^a	4.68 ^b
Root length (cm)	6.81 ^b	7.49 ^a	6.77 ^b	7.53 ^a
Shoot diameter (mm)	0.893 ^b	1.094 ^a	0.978 ^a	1.009 ^a
Leaf area (cm ²)	0.54 ^b	1.45 ^a	0.94 ^a	1.05 ^a
Abnormal plantlets (%)	12.5 ^a	9.7 ^a	9.7 ^a	12.5 ^a
No. of node per plantlet	5.41 ^a	5.55 ^a	5.19 ^b	5.76 ^a
Internode length (cm)	0.941 ^a	1.025 ^a	1.048 ^a	0.917 ^b
No. of Branch per plantlet	1.19 ^a	1.18 ^a	1.00 ^b	1.37 ^a
Plantlet fresh weight (gr)	0.134 ^b	0.277 ^a	0.186 ^b	0.229 ^a
Dry matter percentage	7.05 ^a	6.99 ^a	7.38 ^a	6.67 ^a

میانگین‌های دارای حرف‌های همسان برای هر صفت در هر تیمار در سطح ۰/۰۵ اختلاف معنی‌داری با هم ندارند.
Means with the same letter for each row and each treatment are not significantly different in probability level of 0.05%.

جدول ۳. میانگین ویژگی‌های ریخت‌شناختی گیاهچه‌های

رقمهای آگریا و ساوالان سیب‌زمینی در شرایط درون

شیشه تحت تأثیر منبع‌های نور فلورسنت و طبیعی

Table 3. Mean of morphological characteristics of plantlets in Agria and Savalan potato cultivars at *in vitro* conditions under fluorescent and natural light

Traits	Light sources			
	Fluorescent	Natural	Agria	Savalan
Plantlet height (cm)	5.48 ^a	5.41 ^a	3.95 ^b	5.41 ^a
Root length (cm)	6.60 ^b	6.93 ^b	7.01 ^{ab}	8.04 ^a
Shoot diameter (mm)	0.88 ^a	1.08 ^a	a	1.11 ^a
Leaf area (cm ²)	0.47 ^a	1.41 ^a	0.61 ^a	1.50 ^a
Abnormal plantlets (%)	9.7 ^a	9.7 ^a	15.3 ^a	9.7 ^a
No. of node per plantlet	5.35 ^{ab}	5.04 ^b	5.47 ^{ab}	6.05 ^a
Internode length (cm)	1.03 ^a	1.07 ^a	0.86 ^a	0.98 ^a
No. of Branch per plantlet	1.00 ^b	1.00 ^b	1.38 ^a	1.36 ^a
Plantlet fresh weight (gr)	0.12 ^b	0.25 ^a	0.15 ^b	0.30 ^a
Dry matter percentage	7.22 ^a	7.53 ^a	6.88 ^a	6.45 ^a

میانگین‌های دارای حرف‌های همسان برای هر صفت در هر تیمار در سطح ۰/۰۵ اختلاف معنی‌داری با هم ندارند.

Means with the same letter for each row and each treatment are not significantly different in probability level of 0.05%.

شمار گیاهچه‌های غیرطبیعی بین دو رقم مورد بررسی و نیز شرایط نوری تفاوت معنی‌داری نشان نداد (P \geq ۰/۰۵) (جدول ۱). لذا استفاده از نور طبیعی به جای نور فلورسنت در ریزازدیادی سیب‌زمینی افزون بر صرفه‌جویی در هزینه الکتریسیته و تأسیسات و لوازم آن، تأثیر منفی بر شمار گیاهچه‌های تولیدی نخواهد داشت. با توجه به اینکه افزونش گیاهچه‌های سیب‌زمینی در شرایط درون شیشه به صورت کشت گره است، وجود شمار بیشتر گره در هر گیاهچه ضریب افزونش آن را در شرایط کشت بافت بالا خواهد برد. در این بررسی از نظر شمار گره در گیاهچه اختلاف معنی‌داری بین رقم آگریا و ساوالان مشاهده نشد (P \geq ۰/۰۵); اما بررسی نتایج شرایط

وجود سطح برگ مناسب به عنوان سرمایه اولیه گیاهچه برای رشد سریع در مرحله‌های آغازین برای سیب‌زمینی اهمیت خاصی دارد، البته باید نسبت به سازگار کردن گیاهچه‌های دارای سطح برگ بیشتر برای انتقال توجه ویژه‌ای کرد. به طور کلی رقم ساوالان سطح برگ بیشتری نسبت به آگریا داشت و در هر دو رقم مورد بررسی، سطح برگ در شرایط نور طبیعی بیشتر از نور فلورسنت بود (جدول ۲). میزان افزایش سطح برگ در نور طبیعی نسبت به نور فلورسنت در رقم آگریا و ساوالان به ترتیب ۲۳ و ۶ درصد بود اما این تفاوت معنی‌دار نبود (جدول ۳). گیاهان می‌توانند رشد، نمو و فیزیولوژی خود را سازگار با شرایط محیطی تغییر دهند. این توانایی گیاهان نقش کلیدی در تحمل آن‌ها به تنش‌های محیطی و حفظ کارآمد رشد بازی می‌کند (Walters *et al.*, 2003). بررسی تأثیر شدت تشعشع نوری و کیفیت آن روی گیاه پنیر باد (*Withania Somnifera*) نتایج بررسی‌ها نشان داد، با افزایش شدت تشعشع نوری تا ۳۰ میکرومول در مترمربع در ثانیه سطح برگ روندی افزایشی داشت و افزایش شدت نور بیشتر از این مقدار سبب کاهش سطح برگ در این گیاه شد. در میان عامل‌های محیطی مؤثر بر فعالیت گیاه، کیفیت نور یکی از مهم‌ترین عامل‌های تنظیم‌کننده رشد گیاه از طریق گیرنده‌های نوری فعال است (Lee *et al.*, 2007). در این بررسی افزایش سطح برگ با استفاده از نور طبیعی در شرایط محیط کشت، نشان‌دهنده واکنش مثبت گیاهچه‌های سیب‌زمینی به افزایش شدت و کیفیت نور است.

فلورسنت مشاهده شد که ویژگی مناسبی برای پرآوری این گیاه در شرایط کشت بافت نیست. با وجود اینکه نور فلورسنت برای شرایط درون شیشه استفاده گسترده‌ای دارد، صرفه اقتصادی آن پایین است. وزن تر گیاهچه در رقم ساوالان بیش از رقم آگریا بود. همچنین در شرایط نور طبیعی نسبت به نور فلورسنت، وزن تر گیاهچه افزایش یافت (جدول ۲)؛ میزان افزایش این صفت در نور طبیعی نسبت به فلورسنت در رقم آگریا و ساوالان به ترتیب $18/9$ و $17/2$ درصد بود (جدول ۳). درصد ماده خشک گیاهچه تحت تأثیر هیچ‌یک از تیمارهای آزمایش قرار نگرفت ($P \geq 0.05$) (جدول ۲).

میزان تولید زیست‌توده در گیاهان تحت تأثیر فعالیت نورساختی (فتوسنتزی) قرار دارد (Golovatskaya & Karnachuk, 2015). نورساخت یک فرایند وابسته به انرژی نورانی است که با تغییر شدت و کیفیت نور نوسان پیدا می‌کند (Batista *et al.*, 2016). همچنین غلظت رنگدانه‌های نورساختی در شدت نور بالا افزایش می‌یابد (Alvarenga *et al.*, 2015). نتایج بررسی‌های پیشین گویای واکنش‌های متفاوت گیاهان در شرایط درون شیشه به منبع‌ها و Alvarenga *et al.*, 2015; Lopez & Runkle, 2008 در رقمهای مختلف اطلسی واکنش گیاهان به شدت نور متفاوت بود. در برخی رقمهای افزایش شدت نور موجب افزایش زیست‌توده و در شماری رقم‌ها تغییری در میزان تولید زیست‌توده مشاهده نشد (Lopez & Achillea millefolium). در بومادران (Runkle, 2008) افزایش شدت نور تا 27 میکرومول در مترمربع در ثانیه سبب افزایش تولید ماده خشک شد و افزایش شدت نور به بیش از این مقدار به دلیل جلوگیری نوری، کاهش کارایی سامانه نورساختی و کاهش تولید ماده خشک را به دنبال داشت (Alvarenga *et al.*, 2015). در این بررسی در شرایط نور طبیعی میزان ماده تر در هر دو رقم افزایش یافت اما ماده خشک تولیدی در هر دو شرایط تفاوتی با یکدیگر نداشت. به نظر می‌رسد در شرایط نور طبیعی به دلیل شدت بالاتر نور، میزان ترکیب‌های تنظیم‌کننده اسمزی در

نوری نشان داد، شمار گره در گیاهچه در نور طبیعی بیشتر از نور فلورسنت بود و اختلاف معنی‌داری با هم داشتند (جدول ۱). میزان افزایش شمار گره در گیاهچه در شرایط نور طبیعی نسبت به نور فلورسنت در رقم آگریا و ساوالان به ترتیب $2/2$ و $22/5$ درصد بود (جدول ۳).

فاصله میان‌گره‌ها تابع ارتفاع بوته و شمار گره در بوته است. در شرایط کشت بافت، وجود فاصله میان گره مناسب می‌تواند درصد برش‌های درست و گیاهچه‌های طبیعی را افزایش دهد. در این آزمایش فاصله میان‌گره‌ها تحت تأثیر رقم قرار نگرفت، اما در مقابل فاصله میان‌گره‌ها در نور فلورسنت بیشتر از نور طبیعی بود (جدول ۲). بررسی رابطه بین شمار گره در گیاهچه با ارتفاع گیاهچه در شرایط نوری متفاوت نشان داد که در نور فلورسنت ارتفاع گیاهچه افزایش و شمار گره در گیاهچه کاهش یافت و در شرایط نور طبیعی عکس این روند رخ داد. این امر بدین معناست که فاصله میان گره در گیاهچه‌های رشدیافته تحت تأثیر نور طبیعی کاهش می‌یابد. بنابراین در کشت بافت گیاهان در شرایط نور طبیعی باید به این نکته توجه کرد، میزان شدت نور بایستی به حدی باشد که فاصله میان‌گره‌ها بیشتر از حد طبیعی کاهش پیدا نکند. راهکار دیگر استفاده از نور فلورسنت برای پرآوری و استفاده از نور طبیعی برای گیاهچه‌های انتقالی به محیط در شرایط کشت بافت است.

شمار شاخه به عنوان یک عامل منفی در ریز ازدیادی سیبزمینی مطرح است. در شرایط نور طبیعی شمار شاخه در گیاهچه افزایش معنی‌داری پیدا کرد ($P \leq 0.05$) (جدول ۱ و ۳). با وجود این، میزان افزایش شمار شاخه در بوته در هر دو رقم در شرایط نور طبیعی همسان بود (جدول ۳).

افزونش پنبه (*Gossypium herbaceum*) در شرایط درون شیشه نشان داد، با افزایش شدت نور، شمار شاخه در بوته افزایش می‌یابد (Gupta *et al.*, 1997). در حالی که در تمشک (*Rubus caesius* L.) افزایش شدت نور تأثیری بر اندام‌زایی این گیاه نداشت (Fiola *et al.*, 1990) شاخه در گیاهچه در شرایط نور طبیعی نسبت به نور

وزن تر بوته در رقم آگریا ۱/۹ برابر بیش از رقم ساوالان بود ولی از نظر وزن خشک بوته اختلاف آماری معنی‌داری بین دو رقم مشاهده نشد. همچنین وزن تر و خشک بوته در بین منبع‌های نوری به لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری نشان ندادند (جدول ۵). تفاوت شمار ریزغده‌ها در بوته در بین تیمارهای مورد بررسی به لحاظ آماری معنی‌دار بود ($P \leq 0.05$) (جدول ۶)، به طوری که رقم ساوالان نسبت به آگریا و گیاهان رشد یافته در شرایط نور طبیعی نسبت به فلورسنت به ترتیب ۳۹/۹ و ۳۰/۶ درصد ریزغده‌های Asadi (2016) نیز در زمینه تأثیر منبع‌های مختلف نوری بر ویژگی‌های رشدی و تولید رقم‌های آگریا و فونتانه سیب‌زمینی مشاهده شد که گیاهان رشد یافته در شرایط نوری طبیعی و پس از آن طیف نور قرمز از بیشترین و گیاهان رشد یافته در نور فلورسنت کمترین شمار ریزغده‌ها را داشتند. از نظر وزن ریزغده در بوته نیز رقم ساوالان نسبت به آگریا برتری نشان داد و وزن ریزغده تولیدی در رقم ساوالان ۴۸ درصد بیش از آگریا بود ($P \leq 0.05$). همچنین استفاده از نور طبیعی در رشد گیاهچه‌ها سبب شد تا وزن غده‌های تولیدی در گیاهان به دست‌آمده نسبت به نور فلورسنت بالاتر باشد، هرچند که اختلاف مشاهده شده به لحاظ آماری معنی‌دار نشد (جدول‌های ۸ و ۹).

گیاه افزایش یافته و گیاهچه‌ها آب بیشتری جذب کردند که موجب تفاوت آن‌ها در میزان ماده تر تولیدی شده است. از سوی دیگر با توجه به ساختار سه کربنۀ سامانه نورساختی گیاه سیب‌زمینی و پایین بودن نقطه اشباع نوری در این گیاه، احتمال دارد شدت بالای نور به دلیل جلوگیری نوری تأثیر معنی‌داری در میزان تولید زیست‌توده نداشته باشد.

مقایسه رشد و تولید ریزغده در گیاهچه‌های سیب‌زمینی رشد کرده در نور فلورسنت و طبیعی در شرایط گلخانه ارتفاع بوته سیب‌زمینی در زمان برداشت در بین دو رقم مورد بررسی تفاوت معنی‌داری نشان داد ($P \geq 0.05$) (جدول ۴)، به طوری که ارتفاع بوته در رقم آگریا نسبت به ساوالان حدود ۶۲ درصد بیشتر بود؛ ولی بین منبع‌های نوری از نظر میانگین این صفت تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۵). سطح برگ بوته در رقم آگریا نسبت به ساوالان بیش از دو برابر بود و تفاوت مشاهده شده نیز به لحاظ آماری معنی‌دار بود ($P \leq 0.05$) (جدول ۴). از نظر تأثیر منبع نوری بر سطح برگ نیز همان‌گونه که از جدول ۵ مشاهده می‌شود، شرایط نور طبیعی سبب شد تا میانگین سطح برگ در بوته حدود ۱۱/۵ درصد افزایش یابد که البته این افزایش از نظر آماری معنی‌دار نبود ($P \geq 0.05$).

جدول ۴. تجزیه واریانس (سطح احتمال) صفات ریخت‌شناختی رقم‌های مورد بررسی سیب‌زمینی در زمان برداشت

Table 4. Analysis of variance of studied criteria in potato cultivars at harvest time

Sources of variance	df	Plant height	Leaf area	Plant fresh weight	Plant dry weight
Cultivar	1	0.001**	0.059 ^{ns}	0.016*	0.313 ^{ns}
Light source	1	0.726 ^{ns}	0.755 ^{ns}	0.808 ^{ns}	0.602 ^{ns}
Cultivar × Light	1	0.538 ^{ns}	0.149 ^{ns}	0.150 ^{ns}	0.161 ^{ns}
Error	12				
CV		17.72	18.47	19.90	13.85

*, ** و ns: معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد و غیر معنی‌دار.

*, **, ns: Significant at 1 and 5% levels of probability and non-significant, respectively.

جدول ۵. میانگین صفات ارتفاع بوته، سطح برگ، وزن تر و وزن خشک بوته رقم‌های مورد بررسی سیب‌زمینی در زمان برداشت

Table 5. Means of plant height, leaf area, fresh and dry weight of potato cultivars at harvest time

Treatments	Plant height (cm)	Leaf area (cm ²)	Plant fresh weight (g)	Plant dry weight (g)
Cultivar	Agria	54.9 ^a	353.9 ^a	22.4 ^a
	Savalan	33.8 ^b	168.3 ^a	11.7 ^b
Light sources	Natural	43.6 ^a	275.3 ^a	17.5 ^a
	Fluorescent	45.0 ^a	246.9 ^a	16.6 ^a

میانگین‌های دارای حرف‌های همسان برای هر صفت در هر تیمار در سطح ۰/۰۵ اختلاف معنی‌داری با هم ندارند.

Means with the same letter for each row and each treatment are not significantly different in probability level of 0.05%.

جدول ۶. تجزیه واریانس (سطح احتمال) شمار ریزگددها در بوته و گروههای وزنی در رقمهای سیبزمینی و شرایط نوری مورد بررسی در زمان برداشت

Table 6. Analysis of variances (probability level) of number of minitubers per plant and in weight groups in potato cultivars and light conditions at harvest time

Sources of variance	df	No. of minitubers per plant	Number of minitubers in weight groups				
			< 1g	1-5 g	5-10g	10-15g	> 15g
Cultivar	1	0.014*	0.172 ns	0.965 ns	0.145 ns	0.001**	0.139 ns
Light source	1	0.040*	0.030*	0.074 ns	0.960 ns	1.000 ns	0.207 ns
Cultivar × Light	1	0.792 ns	0.959 ns	0.215 ns	0.538 ns	0.772 ns	0.539 ns
Error	12						
CV		15.32	18.82	17.64	19.71	17.22	18.19

*,** ns: Significant at 1 and 5% levels of probability and non-significant, respectively.

ns:

معنی دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد و غیر معنی دار.

جدول ۷. میانگین شمار ریزگددها در بوته و گروههای وزنی در رقمهای سیبزمینی و شرایط نوری مورد بررسی در زمان برداشت

Table 7. Number of minitubers per plant and in weight groups in potato cultivars and light conditions at harvest time

Treatments	No. of minitubers per plant	Number of minitubers in weight groups				
		< 1g	1-5 g	5-10g	10-15g	> 15g
Cultivar	Agria	3.93 ^b	1.00 ^a	0.98 ^a	0.87 ^a	0.30 ^b
	Savalan	5.50 ^a	0.71 ^a	0.99 ^a	1.44 ^a	1.24 ^a
Light source	Natural	5.34 ^a	1.10 ^a	1.21 ^a	1.16 ^a	0.77 ^a
	Fluorescent	4.09 ^b	0.61 ^b	0.75 ^a	1.14 ^a	0.77 ^a

میانگین های دارای حرف های همسان برای هر صفت در هر تیمار در سطح ۵ درصد اختلاف معنی داری با یکدیگر ندارند.

Means with the same letter for each row and each treatment are not significantly different in probability level of 0.05%.

جدول ۸. تجزیه واریانس (سطح احتمال) وزن ریزگددها در بوته و گروههای وزنی در رقمهای سیبزمینی و شرایط نوری مورد بررسی در زمان برداشت

Table 8. Analysis of variances (probability level) of weight of minitubers per plant and in weight groups in potato cultivars and light conditions at harvest time

Source of Variances	df	Minituber weight per plant	Weight of minitubers in weight groups				
			< 1g	1-5 g	5-10g	10-15g	> 15g
Cultivar	1	0.011*	0.362 ns	0.616 ns	0.199 ns	0.001**	0.811 ns
Light source	1	0.571 ns	0.099 ns	0.287 ns	0.980 ns	0.916 ns	0.744 ns
Cultivar × Light	1	0.851 ns	0.899 ns	0.101 ns	0.521 ns	0.729 ns	0.712 ns
Error	12						
CV		20.32	17.82	16.06	18.36	17.46	18.44

*, ** ns: Significant at 1 and 5% levels of probability and non-significant, respectively.

ns:

معنی دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد و غیر معنی دار.

جدول ۹. میانگین وزن ریزگددها در بوته و گروههای وزنی در رقمهای سیبزمینی در زمان برداشت

Table 9. Weight of minitubers per plant and in weight groups in potato cultivars and light conditions at harvest time

Treatments	Minituber weight per plant	Weight of minitubers in weight groups				
		< 1g	1-5 g	5-10g	10-15g	> 15g
Cultivar	Agria	36.10 ^b	0.47 ^a	2.50 ^a	6.68 ^a	3.39 ^b
	Savālan	53.47 ^a	0.37 ^a	2.82 ^a	10.38 ^a	15.24 ^a
Light source	Natural	46.47 ^a	0.5 ^a	3.01 ^a	8.57 ^a	9.42 ^a
	Fluorescent	43.10 ^a	0.32 ^a	2.31 ^a	8.50 ^a	9.20 ^a

میانگین های دارای حرف های همسان برای هر صفت در هر تیمار در سطح ۵ درصد اختلاف معنی داری با یکدیگر ندارند.

Means with the same letter for each row and each treatment are not significantly different in probability level of 0.05%.

شمار ریزگددها در بوته در گیاهان رشد یافته در شرایط نور طبیعی و فلورسنت در عمدۀ گروههای وزنی در نور طبیعی بیش از فلورسنت بود که البته تفاوت مشاهده شده تنها در گروه وزنی کمتر از ۱ گرم معنی دار بود (جدول ۷). تفاوت وزن ریزگددها در گروههای وزنی در بین گیاهان رشد یافته در شرایط نوری مختلف به

همان‌گونه که از جدول‌های ۷ و ۹ مشاهده می‌شود، شمار و وزن ریزگددها در گروه وزنی کمتر از ۱ گرم در رقم آگریا و شمار ریزگددها در گروههای وزنی بیش از ۵ گرم در رقم ساوالان بیشتر بود. بیشترین تفاوت مشاهده شده مربوط به گروه وزنی ۱۰-۱۵ گرم بود که به لحاظ آماری نیز معنی دار بود ($P \leq 0.05$).

کاهش نوسان‌ها و مشکلات مدیریتی نیز توصیه می‌شود. با این حال، به دلیل وجود شدت نور بالا در بیشتر نقاط ایران در بیشتر فصل‌ها، محافظت گیاهچه‌ها از نور مستقیم با استفاده از انواع سایبان‌ها با توجه به شدت نور می‌بایست مدنظر قرار گیرد. در مجموع با توجه به نبود مصرف انرژی الکتریسیته در تیمار نور طبیعی و تولید گیاهچه‌هایی که در بسیاری از ویژگی‌های ریخت‌شناختی برتر از گیاهچه‌های رشد یافته در شرایط نور فلورستن بودند و نیز با توجه به نتایج بدست‌آمده از بررسی گلخانه‌ای و بیشتر بودن شمار ریزگردها در تیمار نور طبیعی، تولید گیاهچه سیب‌زمینی در شرایط نور طبیعی با میانگین شدت نور ۴۵۹۸ لوکس (شکل ۲) می‌تواند در کاهش هزینه‌های تولید ریزگردهای سیب‌زمینی مؤثر باشد.

لحاظ آماری معنی‌دار نشد (جدول ۸). در بررسی Asadi (2016)، ارزیابی شمار غده‌های با وزن ۱۰/۱ تا ۱۰ گرم در طیف‌های مختلف نوری نشان داد، نور محیط و لامپ فلورستن، به ترتیب بیشترین و کمترین شمار غده را تولید کردند. در مقابل بیشترین شمار غده در گروه‌های وزنی بیش از ۱۰ گرم مربوط به گیاهان رشد یافته در نور فلورستن، به همراه نور سفید و ترکیب طیف آبی و قرمز به نسبت ۱:۳ و کمترین شمار غده مربوط به تیمار نور محیط بود.

نتیجه‌گیری

ریز ازدیادی گیاهان در شرایط محیطی نه تنها ارزان‌تر از روش‌های رایج است، بلکه سازگارتر با محیط‌زیست نیز است. افزون بر مقرنون به صرفه بودن نور محیط برای ریز ازدیادی، استفاده از انرژی طبیعی به دلیل

REFERENCES

1. Ahloowalia, B. S., Prakash, J., Savangikar, V. A. & Savangikar, C. (2002). Low cost options for tissue culture technology in developing countries. In: Proceedings of a technical meeting organized by the joint FAO/IAEA division of nuclear techniques in food and agriculture and held in, 26-30 August, Vienna, Austria.
2. Alvarenga, I. C. A., Pacheco, F. V., Silva, S. T., Bertolucci, S. K. V. & Pinto, J. E. B. P. (2015). *In vitro* culture of *Achillea millefolium* L. quality and intensity of light on growth and production of volatiles. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 122(2), 299-308.
3. Asadi, A. (2016). Effect of different light sources in *in vitro* on growth, morphology and minituber production of potato (*Solanum tuberosum* L.) in hydroponic conditions. M.Sc. thesis. Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.
4. Baque, Md. A., Shin, Y. K., Elshmari, T., Lee, E. J. & Paek, K. Y. (2011). Effect of light quality, sucrose and coconut water concentration on the microporpagation of *Calanthe* hybrids ('Bukduseong'×'Hyesung' and 'Chunkwang'×'Hyesung'). *Australian Journal of Crop Science*, 5(10), 1247-1254.
5. Batista, D. S., de Castro, K. M., da Silva, A. R., Teixeira, M. L., Sales, T. A., Soares, L. I., Cardoso, Md. G., de Oliveira Santos, M., Viccini, L. F. & Otoni, W. C. (2016). Light quality affects *in vitro* growth and essential oil profile in *Lippia alba* (Verbenaceae). *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 52(3), 276-282.
6. Debergh, P. C. & Read, P. E. (1991). Micropropagation. In: P. C. Debergh & R. H. Zimmerman, (Eds), *Micropropagation Technology and Application*. (pp. 1-13.) Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
7. Dooley, J. H. (1991). Influences of lighting spectra on plant tissue culture. *Annual American Society Agricultural Engineering Meeting*. pp. 7530.
8. EL-Sawy, A., Bekheet, S. & Ibrahimaly, U. (2007). Morphological and molecular characterization of potato microtubers production on coumarin inducing medium. *International Journal of Agriculture and Biology*, 9(5), 675-680.
9. Fang, W. & Jao, R. C. (2000). A review on artificial lighting of tissue cultures and transplants. In: C. Kubota & C. Chun, (Eds). *Transplant Production in the 21st Century*. (pp. 108–113) Springer Science.
10. Fiola, J. A., Hassan, M. A., Swartz, H. J., Bors, R. H. & Mc Nicols, R. (1990). Effect of thidiazuron, light fluence rates and kanamycin on *in vitro* shoot organogenesis from excised Rubus cotyledons and leaves. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 20, 223-228.
11. Golovatskaya, I. F. & Karnachuk, R. A. (2015). Role of green light in physiological activity of plants. *Russian Journal of Plant Physiology*, 62, 727-740.
12. Grange, R. I. & Loach, K. (1985). The effect of light on rooting of leafy cuttings. *Scientia Horticulture*, 27, 105-111.

13. Gupta, S. K., Srivastava, A. K., Singh, P. K. & Tuli, R. (1997). *In vitro* proliferation of shoots and regeneration of cotton. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 51, 149-152.
14. Hayashi, M., Kozai, T., Tateno, M., Fujiwara, K. & Kitaya, Y. (1993). Effects of the lighting cycle on the growth and morphology of potato plantlets *in vitro* under photomixotrophic culture conditions. *Environmental Control in Biology*, 31, 169-175.
15. Hernandez, R. & Kubota, C. (2016). Physiological responses of cucumber seedlings under different blue and red photon flux ratios using LEDs. *Environmental and Experimental Botany*, 121, 66-74.
16. Hoagland, D. R. & Arnon, D. I. (1950). *The water-culture method for growing plants without soil*. (2nd ed.). Berkeley, Calif.
17. Kodym, A. & Zapata-Arias, F. J. (1998). Natural light as an alternative light source for the *in vitro* culture of banana (*Musa acuminata* cv. 'Grande Naine'). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 55(2), 141-145.
18. Lee, S. H., Tewari, R. K., Hahn, E. J. & Paek, K. Y. (2007). Photon flux density and light quality induce changes in growth, stomatal development, photosynthesis and transpiration of *Withania somnifera* (L.) dunal plantlets. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 90(2), 141-151.
19. Lopez, R. G. & Runkle, E. S. (2008). Photosynthetic daily light integral during propagation influences rooting and growth of cuttings and subsequent development of New Guinea impatiens and petunia. *HortScience*, 43, 2052-2059.
20. Murashige, T. & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15, 473-497.
21. Namugga, P., Niwagaba, P., Mateeka, B. & Barekye, A. (2014). *In vitro* agronomic performance and mini-tuber production of potato varieties. *Modern Agricultural Science and Technology*, 1(1), 65-71.
22. Nhut, D. T., Takamura, T., Watanabe, H. & Tanaka, M. (2005). Artificial light source using light-emitting diodes (LEDs) in the efficient micropropagation of *Spathiphyllum* plantlets. *Acta Hort*, 692, 137-142.
23. Otrosky, M. (2006). *Utilization of tissue culture techniques in a seed potato tuber production scheme*. Ph.D. thesis. Faculty of Agriculture Wageningen University, Netherlands.
24. Prakash, S. N. & Karihaloo, J. L. (2007). *Tissue cultural innovation for production of quality potato seed in Asia-pacific region*. Asia-Pacific Consortium on Agricultural Biotechnology (APCoAB). New Delhi.
25. Rocha, P. S. G., Oliveira, R. P. & Scivittaro, W. B. (2013). Sugarcane micropropagation using light emitting diodes and adjustment in growth-medium sucrose concentration. *Ciência Rural*, 43(7), 1168-1173.
26. Rocha, P. S. G., Oliveira, R. P. & Scivittaro, W. B. (2015). New light sources for *in-vitro* potato micropropagation. *Bioscience Journal, Uberlândia*, 31(5), 1312-1318.
27. Runkle, E. S. & Heins, R. D. (2001). Specific functions of red, far red, and blue light in flowering and stem extension of long-day plants. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 126, 275-282.
28. Struik, P. C. (2007). The canon of potato science: Minitubers. *Potato Research*, 50, 305-308.
29. Yano, A. & Fujiwara, K. (2012). Plant lighting system with five wavelength-band light-emitting diodes providing photon flux density and mixing ratio control. *Plant Methods*, 8, 46-58.
30. Zinati Fakhrabad, F. & Nsrolahnejad, S. (2013). Evaluation of resistance to the ordinary strain of potato virus Y (PVY) in four potato cultivars under greenhouse conditions. *Quarterly Journal of Research in Plant Pathology*, 2(1), 17-22. (in Farsi)
31. Zobayed, M., Armstrong, J. & Armstrong, W. (2001). Micro propagation of potato: Evaluation of closed, diffusive and forced ventilation on growth and tuberization. *Annals of Botany*, 87, 53-59.