

حجیم شدن ریزغده سیب‌زمینی (*Solanum tuberosum* L.) و رشد ناهمگن یاخته‌های پاراننشیمی در شرایط کشت بافتی

• مصطفی عبادی

استادیار گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد دامغان، ایران

• علیرضا ایرانبخش

استادیار گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گرمسار، ایران

• غلامرضا بخشی‌خانیکی

استادیار گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

تاریخ دریافت: مهرماه ۱۳۸۵ تاریخ پذیرش: مردادماه ۱۳۸۶

Email : mtf_ebadi@yahoo.com

چکیده

نقش رشد یاخته‌های پاراننشیمی در حجیم شدن ریزغده‌ها در شرایط کشت بافت، طی یک دوره‌ی ده هفته‌ای مورد مطالعه قرار گرفت. در شرایط القاء تشکیل ریزغده، تقسیمات یاخته‌ای در بخش‌های رأسی و زیررأسی جوانه‌های القاشده، آغاز شد. ریزغده‌های در حال تشکیل، در ناحیه‌ی زیررأسی دچار رشد طولی و قطری (شعاعی) شدند. رشد ریزغده‌ها در هر دو محور تا حدود روز چهل و پنجم ادامه، و تا پایان روز هفتادم، کاهش یافت. تغییر در ابعاد طولی و عرضی ریزغده‌ها نتیجه‌ی تقسیمات یاخته‌ای و افزایش تعداد یاخته‌ها در هر دو محور بود. یاخته‌هایی که در نتیجه‌ی فعالیت مریستم رأسی ریزغده‌ها به‌وجود آمده‌اند به‌مراتب بیشتر از یاخته‌های تولید شده در محور عرضی ریزغده‌ها بودند. افزایش تعداد یاخته‌های پاراننشیم مغزی نسبت به یاخته‌های پاراننشیمی نقش مهم‌تری را در رشد قطری ریزغده‌ها داشت. تعداد سلول‌های پاراننشیم مغزی زودتر از سلول‌های پاراننشیم پوست افزایش یافت. رشد قطری یاخته‌های پاراننشیم مغزی زودتر از یاخته‌های پاراننشیم پوست آغاز شد. تغییر الگوی رشد طولی به عرضی نیز در یاخته‌های پاراننشیم پوست و مغز در حجیم شدن ریزغده‌ها نقش داشت. این تغییر الگو در یاخته‌های پاراننشیم پوست زودتر از یاخته‌های پاراننشیم مغزی آغاز گردید. کاهش رشد طولی و رشد عرضی ریزغده‌ها به ترتیب توأم با کاهش فعالیت مریستم رأسی و کاهش تقسیم در بافت پوست و مغزی بود.

کلمات کلیدی: رشد یاخته‌ای، حجیم شدن زیرغده، کشت بافت، سیب‌زمینی

Pajouhesh & Sazandegi No 78 pp: 11-18

invitro microtuber enlargement of potato (*Solanum tuberosum* L.) and parenchyma cells heterogeneous growths

By: M. Ebadi. Biology Department, Islamic Azad University, Damghan Branch, Iran.

A.R. Iranbakhsh. Biology Department, Islamic Azad University, Garmsar Branch, Iran.

Gh. Bakhshi. Khanieki Biology Department, Payamnour University, Tehran, Iran.

The role of cortex and pith parenchyma cells in the *invitro* growth of microtubers was studied within the period of 10 weeks. In microtuberization induction, the cell divisions started in apical and subapical parts of the induced buds. The formed microtubers grew in length and diameter (radially). The growth of microtubers decreased within 45 day until the tenth week. The changes in length and width of microtubers were a result from the increase of cell numbers and cell divisions along axes. The cells produced from the activation of the microtuber apical meristem were more than those along the transverse axis. The increases of pith parenchyma cells had a more significant role than cortex parenchyma cells in microtuber diameter growth. The number of pith parenchyma cells increased faster than that of cortex parenchyma cells. The diameter growth of pith parenchyma cells started sooner than that of cortex parenchyma cells. The change of the growth trend from longitudinal to transverse at cortex and pith parenchyma cells were played an important role in microtuber expansion. These changes in cell parenchyma cells started sooner than pith parenchyma cells. The growth in length and width of microtubers were decreased together by the decrease of the division of the apical meristem and cortex and pith parenchyma cells.

Keywords: Cell growth, Microtuber enlargement, Tissue culture, Potato**مقدمه**

هم زمان با حجیم شدن یاخته‌ها است (۶، ۱۶). تغییرات در پارانشیم پیرامون فلوئم داخلی (پارانشیم پیرامون مغزی) و با شدت کمتر در پارانشیم پیرامون فلوئم خارجی (یا پارانشیم محیطی) در حجیم شدن غده دخالت دارند (۳۱). اما این تقسیمات سریع‌تر از رشد غده متوقف می‌شود. اندازه‌ی نهایی غده، نتیجه‌ی افزایش حجم یاخته، به ویژه در یاخته‌های پارانشیم پوستی درونی و پیرامون مغز است (۳۰).

طی نمو غده‌ها، چندین نوع از بافت‌ها در تکثیر یاخته‌ای و حجیم شدن یاخته‌ای دخالت دارند. بسیاری از پژوهش‌ها تشکیل غده‌ها را به افزایش در تعداد و اندازه‌ی یاخته‌های پارانشیمی در مغز، پوست و بافت پیرامون مغزی نسبت داده‌اند (۱، ۲، ۶، ۹، ۱۶، ۲۱، ۲۵، ۲۷، ۲۹). در هر حال، توصیف ثابتی از فرآیندها تشکیل غده‌ها وجود ندارد (۳۷). برخی از پژوهش‌ها متذکر تقسیمات یاخته‌ای در بافت مغز طی مرحله‌ی اولیه‌ی غده‌زایی شدند (۴، ۱۶، ۲۷، ۲۹). در ضمن، سایر پژوهشگران بیان کردند که یاخته‌های پارانشیم در مغز فقط به‌طور موقتی تقسیم شدند و فراوانی چنین تقسیماتی ندارند (۳۲). در حالی که سایر پژوهشگران تقسیمات طولی را در غده‌ها در شرایط *invitro* مشاهده نکردند (۲۵). روشن نیست که تقسیمات طولی یاخته‌ای در بافت مغز رخ می‌دهد یا نه؛ هر چند به‌طور گسترده پذیرفته شده است که رشد ناحیه‌ی پیرامون مغزی بیشترین نسبت بافت‌ها را در غده‌های بالغ تولید می‌کند (۳، ۱۶، ۲۲، ۲۶، ۳۱). مطالعات محدودی در سهم انواع بافت‌های متنوع، در مراحل مختلف نمو غده‌ها صورت پذیرفته است (۳۶، ۳۷). به نظر می‌رسد افزایش تقسیم یاخته‌ای تا حدود زمان حجیم شدن غده ادامه یابد (۹، ۳۷).

بنیان گذاری غده‌ها یا غده‌زایی، با تغییر رشد طولی استولون به رشد شعاعی آغاز می‌شود (۶). در سطح ریخت‌شناسی، فرآیند تشکیل غده نتیجه‌ی دو مرحله‌ی مجزا یعنی نمو استولون و غده‌زایی در نوک استولون است (۳، ۱۷). به‌طور عموم فرض شده است که رشد طولی رأس استولون‌ها هم‌زمان با شروع ضخیم شدن استولون‌ها متوقف می‌شود (۱۳، ۲۶، ۳۶). در هر حال، سایر مشاهدات نشان داده‌اند که حجیم شدن مداوم غده، به تشکیل میانگره‌های جدید از رأس بستگی دارد (۱، ۱۳). کشت قلمه‌های تک‌گره‌ای در شرایط القاء غده، نشان داده است که رشد غده‌ها در قطر ۸/۰ سانتی‌متر متوقف می‌شود. مغز و پوست در شرایط *invitro* و *invitro* در ریزغده‌زایی دخالت دارند (۳۷).

تقسیم یاخته‌ای و حجیم شدن یاخته‌ای، هر دو، در نمو ریزغده‌ها دخالت دارند (۳، ۲۷، ۳۲، ۳۶). مشخص نشده است که آیا حجیم شدن شعاعی اولیه استولون‌ها ناشی از تقسیمات یا حجیم شدن یاخته‌ای است. مشاهده‌ی برخی از پژوهشگران نشان داده است فعالیت‌های میتوزی قبل از ردیابی افزایش اندازه‌ی یاخته‌ها رخ می‌دهد (۲، ۷، ۲۲، ۲۸، ۲۹) و به احتمال تأمین ساکارز، هر دو، فرآیند را تنظیم می‌کند (۵). سایر مشاهدات نشانگر آن است که حجیم شدن شعاعی اولیه، نتیجه‌ی افزایش قطر یاخته است (۳، ۶، ۲۵، ۳۴، ۳۵). بنابراین، زمان‌بندی تقسیم یاخته‌ای و حجیم شدن یاخته‌ای نامشخص است (۳۷).

حجیم شدن اولیه‌ی ناحیه‌ی زیر رأسی استولون‌ها، نتیجه‌ی افزایش اندازه‌ی یاخته‌ها در ناحیه مغزی و به دنبال آن افزایش تقسیم یاخته‌ای،

نداشتند (شکل ۳).

بررسی‌های تشریحی نشان داد که رشد دو بافت شاخص پارانیشیم پوستی (شکل ۱C) و مغزی (شکل ۱D) در محور عرضی ریزغده‌ها نقش شاخصی در رشد عرضی ریزغده‌ها دارد. تغییر تعداد یاخته‌های پارانیشیم در شرایط القایی تغییرات محدودتری نسبت به یاخته‌های پارانیشیم مغزی داشت (شکل ۴). تعداد یاخته‌های پارانیشیمی پوست طی روز ششم تا هشتم از نظر آماری تفاوت معنی‌دار نداشتند. توأم با فعال شدن بافت مولد پارانیشیم محیطی (شکل ۱C) افزایش تکثیر یاخته‌ها در بافت پارانیشیم پوستی طی روزهای دهم تا دوازدهم مشاهده شد (از ۶ یاخته به ۱۳/۷۵ یاخته، به‌طور میانگین). طی روزهای بعدی تا روز هفتم تغییرات مشاهده شده در تعداد یاخته‌ها تفاوت معنی‌دار نداشتند (شکل ۴). تعداد یاخته‌های بافت پارانیشیم مغزی در قطر ریزغده‌ها با شیبی ملایم بین روز ششم تا دهم آغاز گردید و تا روز چهارم و پنجم افزایش یافت (شکل ۴). این افزایش هم‌زمان با فعال شدن بافت مولد پیرامون مغزی است (تصویر ۱D). تقسیم یاخته‌های پیرامونی پارانیشیم مغزی عامل اصلی در افزایش تعداد یاخته‌های پارانیشیم مغزی است (شکل ۱E). بین روزهای چهارم و پنجم تا هفتم، یاخته‌های پارانیشیم مغزی افزایش معنی‌دار نداشتند (شکل ۴). به نظر می‌رسد کاهش فعالیت بافت مولد پیرامون مغزی علت کاهش تقسیم یاخته‌های در پارانیشیم مغزی است.

عامل مهم دیگر در حجیم شدن ریزغده‌ها، افزایش طول و قطر یاخته‌های پارانیشیمی پوستی است (شکل ۱D). طول و قطر یاخته‌های پارانیشیمی از روز ششم (در قطر ریزغده‌ها) تا روز سی‌ام افزایش معنی‌داری یافتند (شکل ۵). تغییرات بعدی طول یاخته‌های پارانیشیم پوست تا روز هفتم از نظر آماری معنی‌دار نبود. از زمان القاء ریزغده‌ها تا روز چهارم و پنجم، قطر این یاخته‌ها افزایش یافت (شکل ۵). بین روزهای چهارم و پنجم تا هفتم تغییرات مشاهده شده در قطر یاخته‌ها از نظر آماری معنی‌دار نبود.

در بافت پارانیشیم پوستی تغییر الگوی رشد، یعنی برتری رشد قطری نسبت به رشد طولی یاخته‌ها، سهم مهمی در افزایش رشد قطری ریزغده‌ها داشت (شکل ۱C). این تغییر الگوی رشد بین روزهای دهم و دوازدهم رخ داد. تفاوت در رشد قطری و طولی یاخته‌های پارانیشیم پوستی تا پایان هفته‌ی دهم حفظ شد (شکل ۵). نسبت میانگین قطر به طول یاخته‌های پارانیشیم پوستی در هفته‌ی دهم ۱/۳۵ برابر بود.

هم‌زمان با افزایش تعداد یاخته‌های پارانیشیم مغزی، ابعاد این یاخته‌ها در محور طولی و عرضی نیز افزایش یافتند (شکل ۱D). طول یاخته‌های پارانیشیم مغزی نسبت به عرض آن‌ها (در قطر ریزغده‌ها) بین روزهای ششم تا روز سی‌ام با شیبی ملایم افزایش یافت (شکل ۶). تغییرات بعدی در طول این یاخته‌ها طی روزهای سی‌ام تا هفتم از نظر آماری معنی‌دار نبودند (شکل ۶). هر چند قطر این یاخته‌ها نسبت به طول آن‌ها تا روز دهم کمتر بود اما طی روزهای بعد، تغییر الگوی رشد در این یاخته‌ها منجر به افزایش رشد قطری به رشد طولی شد (شکل ۱E). قطر یاخته‌ها طی روز دهم تا چهاردهم با شیبی تند افزایش یافت. تغییرات قطر یاخته‌ها بعد از روز چهاردهم تا پایان هفته‌ی دهم از نظر آماری معنی‌دار نبود. در هفته‌ی دهم نسبت میانگین قطر به طول یاخته‌های پارانیشیم مغزی ۱/۵ برابر است.

در این پژوهش به بررسی رشد ناهمگن یاخته‌های پارانیشیم پوست و مغز، و نقش آن در حجیم شدن ریزغده‌ها پرداخته شده است.

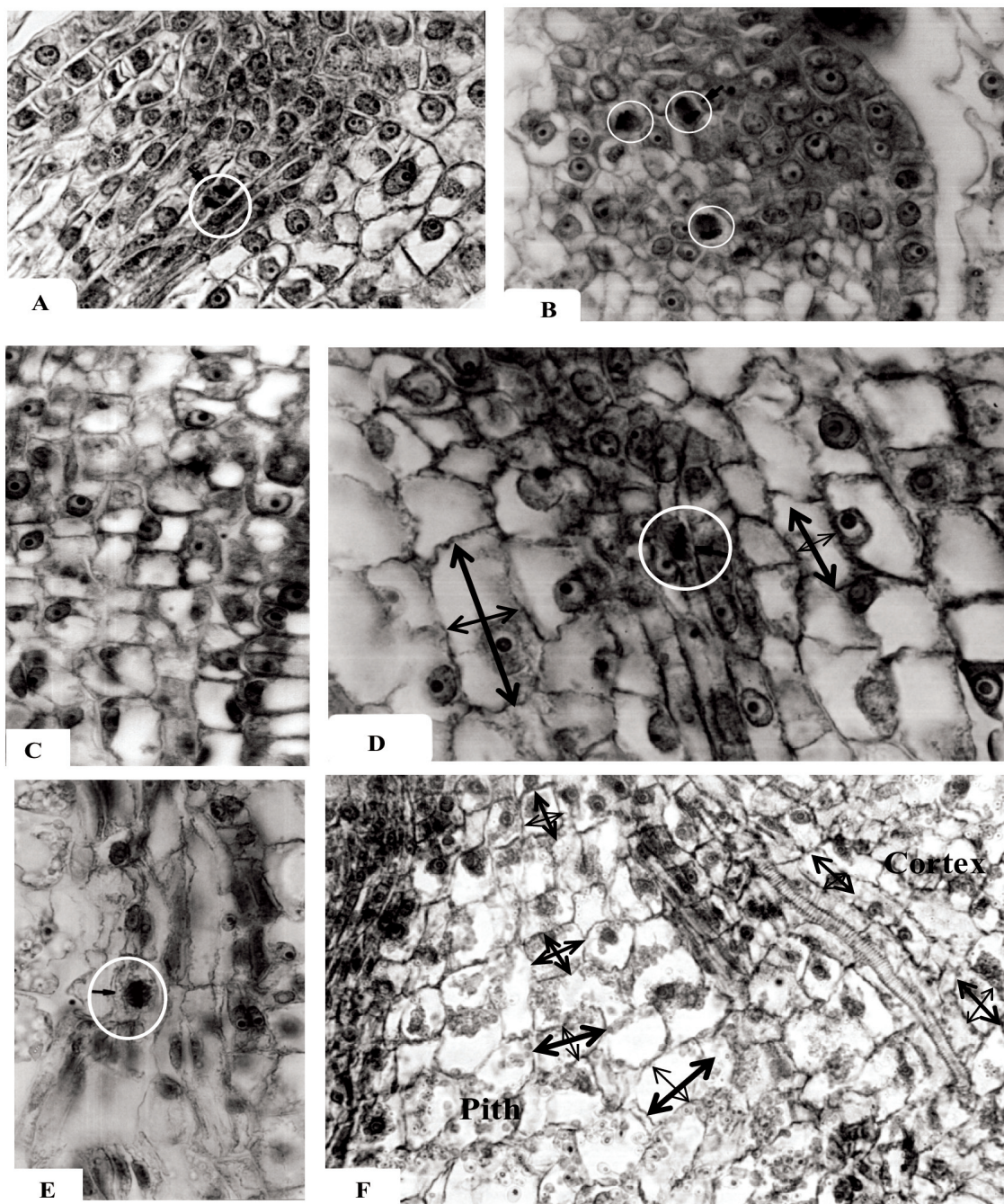
مواد و روش‌ها

ریزغده‌های حاصل از کشت بافت در محیط پایه‌ی MS (۲۳) در شرایط القایی دارای ساکارز 10 mg l^{-1} BAP، 80 gl^{-1} ، 100 mg l^{-1} ، در شرایط تاریکی و محدوده‌ی حرارتی ۲۰ درجه‌ی سانتی‌گراد (۸) در مراحل مختلف رشد (روزهای ششم، هشتم، دهم، دوازدهم، چهاردهم، سی‌ام، چهل‌وپنجم و هفتم)، در FAA (الکل اتانول ۷۰٪، فرمالین ۳۷٪، استیک اسید گلاسیال) به مدت ۲۴ ساعت تثبیت شدند (۱۸). برای هر یک از روزهای مورد بررسی از سه تکرار استفاده شد. آب‌گیری و شفاف‌سازی با استفاده از ایزوپروپانول ۳۰٪، ۴۰٪، ۵۰٪، ۷۰٪، ۹۰٪، ۱۰۰٪ (سه تعویض) صورت پذیرفت. برای نفوذ پارافین از نسبت‌های ۱:۱ ایزوپروپانول: پارافین و در نهایت پارافین خالص، و برای قالب‌گیری نمونه‌ها از پاراپلاست Merck استفاده شد (۳۳). با میکروتوم Leica برش‌های طولی و عرضی ۸ میکرومتر از نمونه‌ها تهیه شد. برای رنگ‌آمیزی نمونه‌ها از هماتوکسیلین مایر و اتوزین الکی (۷۰٪) استفاده گردید (۱۸). بعد از آب‌گیری مجدد با الکل اتانول مطلق و انتقال به گزیلول، با استفاده از چسب انتالن مقاطع چسبانده شدند. بررسی ساختارهای بافتی و یاخته‌ای مریستم‌ها و ریزغده‌ها با استفاده از میکروسکوپ نوری دوچشمی Nikon مدل Photo Alpha و اندازه‌گیری‌ها با میکروسکوپ آنالیز تصویری Leica صورت گرفت. از طرح آماری بلوک‌های کاملاً تصادفی و نرم‌افزار SAS برای مقایسه‌ی میانگین‌ها در سطح ۵٪ استفاده شد.

نتایج

با شروع تقسیمات یاخته‌ای عرضی در بخش‌های عمقی (شکل ۱A) و سپس تقسیمات یاخته‌ای طولی در ناحیه‌ی رأسی (شکل ۱B) جوانه‌های القاء شده در روز چهارم بعد از القاء، ریزغده‌ها نمو پیدا کردند. طی ده هفته‌ی مورد مطالعه، ریزغده‌ها به رشد خود ادامه دادند. میانگین طول ریزغده‌ها نسبت به میانگین عرض آن‌ها در روز ششم بیشتر بود (شکل ۲). روند رشد طی هشت هفته‌ی بعد در شرایط القایی ادامه یافت اما از سرعت کمتری برخوردار بود (شکل ۲). رشد ریزغده‌ها در محیط‌های القایی طی روزهای چهارم و پنجم تا هفتم کند شد. رشد طولی ریزغده‌ها همواره بیشتر از رشد عرضی آن‌ها است.

یکی از عوامل افزایش ابعاد طولی و قطری ریزغده‌ها، افزایش تعداد و تقسیم یاخته‌ها در هر دو محور بود (شکل ۳). روند تغییرات تعداد یاخته‌ها به ویژه یاخته‌های پارانیشیمی در محور طولی و عرضی ریزغده‌ها مشابه با روند تغییرات ابعاد ریزغده‌ها بود. تعداد یاخته‌های تولید شده در محور طولی ریزغده‌ها، همواره بیشتر از تعداد یاخته‌های تولید شده در محور عرضی ریزغده‌ها بود (شکل ۲). تفاوت میانگین تعداد یاخته‌ها در روز ششم بعد از القاء، از نظر آماری معنی‌دار بود. تعداد یاخته‌ها در محور طولی و عرضی ریزغده‌ها تا روز چهارم و پنجم افزایش یافت. در مراحل انتهایی رشد ریزغده‌ها (روزهای چهارم و پنجم تا هفتم)، فعالیت تکثیر یاخته در هر دو محور و هم‌زمان کاهش یافتند به طوری که ابعاد طولی و نیز عرضی ریزغده‌ها در این فاصله‌ی زمانی تفاوت معنی‌دار با هم



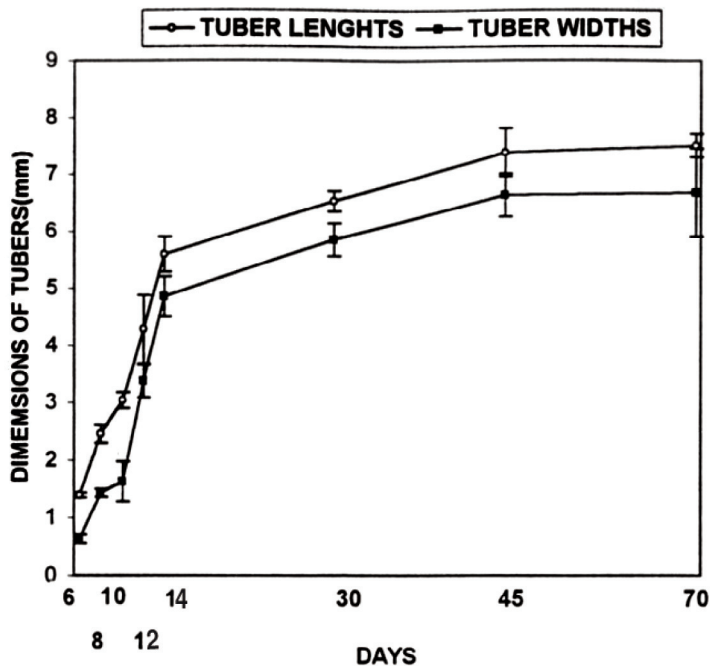
تصویر ۱- میکروگراف‌های نوری از ناحیه‌ی زیررأسی (A) (1000X) و رأسی جوانه‌ای الفاء‌شده (B) (1000X)؛ حجیم شدن پاراننشیم پوستی (C) (1000X) و مغزی (D) (1000X) و فعال شدن پاراننشیم پیرامون مغزی (E) (1000X) و تغییر الگوی رشد در پاراننشیم مغزی (F) (400X).

بحث نهایی

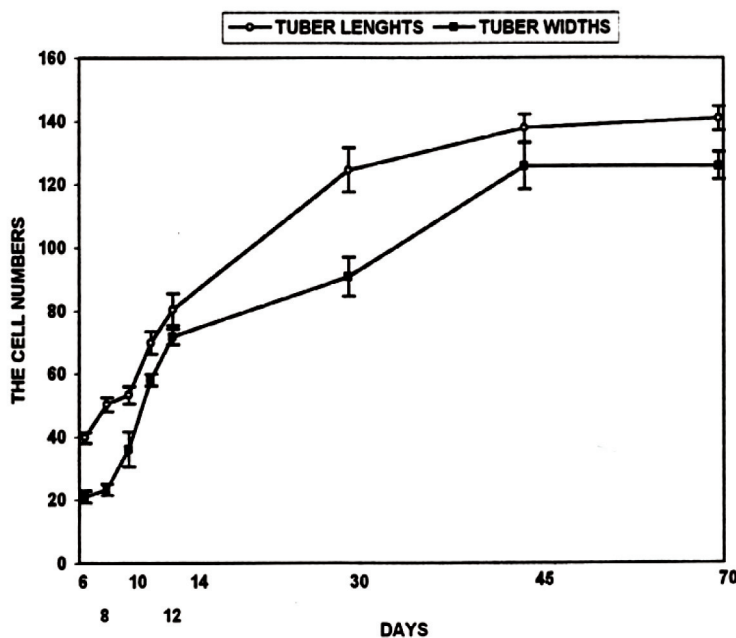
رشد می‌کنند. این نتایج با سایر پژوهش‌ها (۹، ۳۶، ۳۷) هم‌سو است. توقف رشد ریزغده‌ها در شرایط *invivo*، نتیجه‌ی توقف تقسیمات طولی در آن‌ها است اما تقسیمات تصادفی جهت‌یافته و حجیم شدن یاخته در ناحیه‌ی پیرامونی غده‌ها رخ داده. تا رسیدن غده‌ها به قطر نهایی ادامه می‌یابد (۹)، رخت‌شناختی و فرآیندهای تقسیم یاخته‌ای و حجیم شدن یاخته‌ها در غده‌های *invivo* مشابه با مراحل اولیه‌ی تشکیل غده‌های *invivo* است

در سطح یاخته‌ای، رشد شامل دو بخش تقسیم یاخته‌ای و بزرگ شدن یاخته است (۵). در شرایط *invivo* طولی شدن استولون‌ها متوقف شده، و یاخته‌های در مغز و پوست حجیم و به صورت طولی تقسیم می‌شوند که نتیجه‌ی آن متورم شدن نوک استولون و تشکیل غده است. یافته‌های این پژوهش نشان داد ریزغده‌ها حداکثر تا حدود ۸ سانتی‌متر

و مغز به ترتیب در حدود ۳۰٪، بیش از ۶۵٪ و حداکثر ۳٪ در حجم ریزغده‌های بالغ نقش دارند (۲۲). در هر حال، شدت تقسیم یاخته‌ای نسبت به حجیم شدن یاخته، نقش بیشتری در افزایش اندازه‌ی غده دارد. شدت تقسیم در پوست و در مغز بسیار کم است اما بافت پیرامون مغزی بخش عمده‌ای از غده را می‌سازد. تقسیم یاخته‌ای در این بافت



شکل ۲- تغییر ابعاد ریزغده‌ها در محور طولی و عرضی طی تشکیل ریزغده‌ها.



شکل ۳- تغییر تعداد یاخته‌ها در محور طولی و قطری ریزغده‌ها طی تشکیل ریزغده‌ها.

اما در شرایط *in vivo* با رسیدن غده‌ها به قطر ۰/۸ سانتی‌متر، رشد متوقف می‌گردد (۹، ۳۶، ۳۷).

رشد ریزغده‌ها تا حدود روز ۴۵ افزایش و تا پایان هفته‌ی دهم توقف یافت. این نتایج با یافته‌های Yu و همکاران (۳۸) همسو است. این پژوهشگران نشان دادند با رشد ریزغده‌ها غلظت کلی قند به‌طور ثابت کاهش می‌یابد و طی هفته‌ی ششم، رشد ریزغده‌ها رو به توقف می‌گذارد (۳۸). به نظر می‌رسد طی دوره‌ی القایی بین رشد ریزغده‌ها و تغییر سطح قندها در محلول غذایی هم‌سویی وجود داشته باشد. یکی از استراتژی‌های موفق برای جلوگیری از توقف رشد زود هنگام ریزغده‌ها، جلوگیری از کاهش هیدرولیز ساکارز است که باعث بهبود کارایی مصرف ساکارز در کشت ریزغده‌های سیب‌زمینی می‌گردد (۳۸). ساکارز به عنوان منبع کربنی برای رشد ریزغده‌ها تقدم بیشتری نسبت به فرآورده‌های حاصل از هیدرولیز آن دارد و مقدار ساکارز در دسترس از عامل اصلی در تعیین اندازه‌ی ریزغده‌ها است. سایر پژوهشگران نیز سطح بالای ساکارز را برای تولید ریزغده‌های بزرگتر مفید دانسته‌اند (۱۴، ۱۹، ۲۰).

تقسیمات یاخته‌ای در تمام جوانه‌ها رخ نمی‌دهد. در جوانه‌های القاء شده، طی چند روز اول، تقسیم یاخته‌ای عمدتاً در نوک جوانه رخ می‌دهد و جهت این تقسیمات عرضی است و منجر به طویل شدن جوانه می‌شود. حدود روز پنجم، جهت جدید تقسیم یاخته‌ای، یعنی تقسیمات طولی، در بخش‌های زیررأسی جوانه‌های القاء شده، رخ می‌دهد که منجر به تورم جوانه‌ی در حال نمو می‌شود (۳۶، ۳۷).

هر غده در ناحیه‌ی زیررأسی، به ویژه در جوان‌ترین میانگره‌های در حال طویل شدن، (بین برگ‌های ۱ تا ۳) (۳۷)، بنیانگذاری می‌گردد. این فرآیند با حجیم شدن شعاعی به سمت رأس استولون آغاز می‌شود. با شروع غده‌زایی فعالیت تقسیم و اندام‌زایی در مریستم رأسی استولون کاهش می‌یابد (۲۱، ۲۲). بعد از حجیم شدن مقدماتی یک میانگره‌ی منفرد، میانگره‌ی بعدی به صورت آکروپتال و شعاعی حجیم می‌شود (۲۱).

نتایج این پژوهش نشان داد که تقسیم سلول‌ها در هر دو محور طولی و عرضی و نیز، حجیم شدن سلول‌های پارانشیم پوست و مغزی در نمو ریزغده‌ها نقش داشتند. این یافته‌ها با نتایج سایر پژوهشگران (۳، ۹، ۲۶، ۲۷، ۳۲) همسو است.

در این پژوهش نقش سلول‌های پارانشیم مغزی از نظر تعداد و نیز حجیم شدن، از نظر آماری نقش معنی‌داری را در رشد طولی و قطری ریزغده‌ها داشت که نتیجه‌ی فعالیت بافت پیرامون مغزی است. حجیم شدن شعاعی اولین میان‌گره، با انجام فعالیت میتوزی، به ویژه در بافت مغزی همراه است (۲۹، ۳۰). نتایج اندازه‌گیری تعداد و حجم یاخته‌ها توسط Liu و همکاران (۲۲) در بافت غده همزمان با رشد غده نشان داده است که بافت پوست، پیرامون مغزی

توجه‌ای در بافت استولون دارد اما طی حجیم شدن غده‌ها، تعداد آن‌ها بسیار کم افزایش می‌یابد، بنابراین، ساختاری فرعی در غده‌های بالغ می‌باشد (۷). تقسیم بافت پارانشیم پیرامون مغز برای تولید بافت مغز مدت طولانی‌تری ادامه می‌یابد (۷، ۳۷). توافق عمومی وجود دارد که تغییرات در پارانشیم موجود در فلوم داخلی (پارانشیم پیرامون مغزی) و با اهمیت کمتر پارانشیم موجود در فلوم خارجی (پارانشیم پیرامونی) در حجیم شدن غده نقش شاخصی دارند (۱، ۶، ۳۱). به نظر می‌رسد زمان و مکان تقسیم یاخته‌ای و حجیم شدن یاخته‌ها در مناطق مختلف استولون‌ها و غده‌های در حال نمو متفاوت است (۳۸).

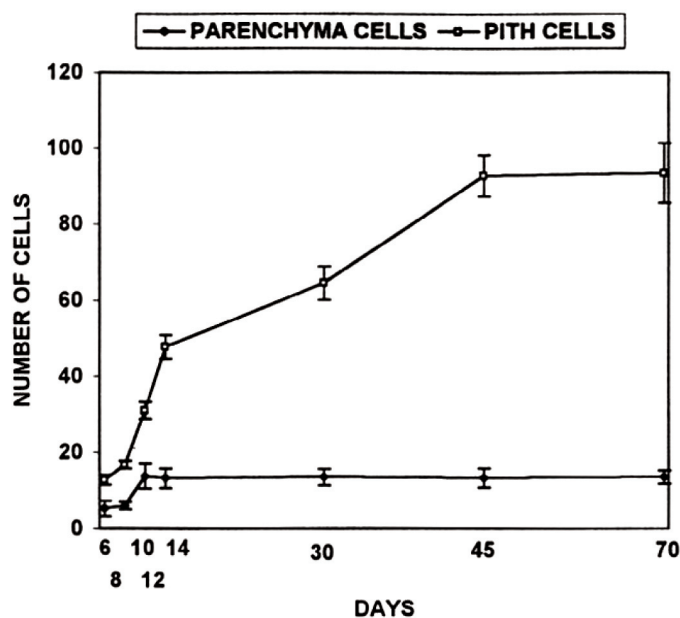
هرچند تقسیمات طولی در مغز و پوست در دوره‌ای کوتاه رخ می‌دهد به نظر می‌رسد تعداد این تقسیمات کم نیست (۳۸) و اولین تقسیمات یاخته‌ای در مغز و پوست همیشه موازی با محور طولی استولون است و منجر به متورم شدن ناحیه‌ی زیررأس غده در جهت عرضی می‌شود. هر چند این تقسیمات به‌طور تصادفی در ناحیه‌ی پیرامون مغزی در مراحل اولیه دیده شده است، رشد واقعی ناحیه‌ی پیرامونی، شامل تقسیمات یاخته‌ای و حجیم شدن یاخته‌ها است (۳۷). بنابراین، ناحیه‌ی پیرامون مغزی، بخش اصلی غده بالغ را می‌سازد.

مشخص نشده است که آیا حجیم شدن شعاعی اولیه استولون‌ها ناشی از تقسیمات یا حجیم شدن یاخته‌ای است. برخی از پژوهشگران مشاهده کردند که فعالیت‌های میتوزی قبل از ردیابی افزایش اندازه‌ی یاخته‌ها رخ می‌دهد (۱، ۲، ۷، ۲۲، ۲۸، ۲۹). سایر مشاهدات نشانگر آن است که توسعه‌ی شعاعی اولیه ناشی از افزایش قطر یاخته‌ها است (۳، ۶، ۹، ۲۴، ۲۵، ۳۴، ۳۵). بنابراین، زمان بندی تقسیم یاخته‌ای و حجیم شدن یاخته‌ای به‌طور دقیق روشن نیست. در هر حال، نتایج این پژوهش نشان داد که رشد ریزغده‌ها نتیجه‌ی رشد (تقسیم و حجیم شدن) ناهمگن سلول‌های پارانشیم پوست و مغزی است. مطالعه‌ی حجیم شدن یاخته‌ها و تقسیمات میتوزی یاخته‌ها، کلیدی برای روشن شدن چگونگی تبدیل رشد طولی استولون به رشد شعاعی است.

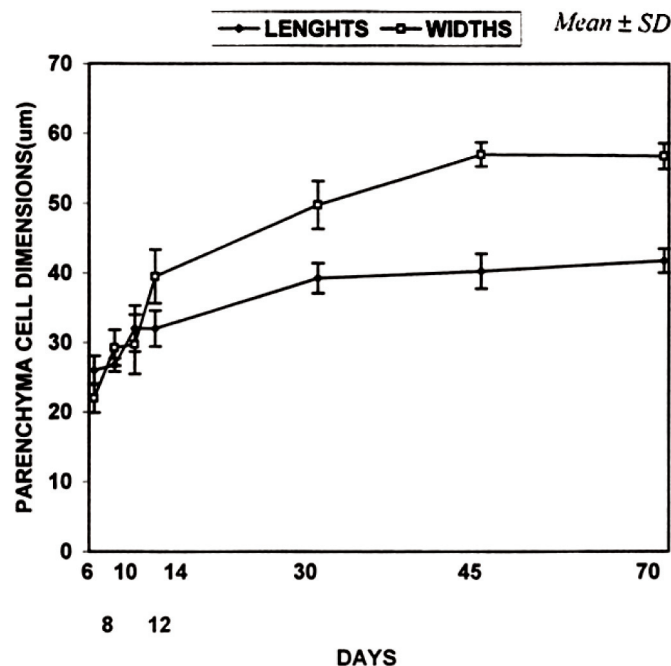
در ریزغده‌های در حال حجیم شدن، الگوی رشد در یاخته‌های پارانشیم پوستی و مغزی با تغییر مکان واکوئول‌ها منجر به برتری رشد شعاعی بر رشد طولی می‌شود. افزودن ساکارز ۸٪ به محیط کشت، باعث توقف طویل شدن شاخه‌ها و متورم شدن ناحیه‌ی زیررأسی هر یک از شاخه‌ها می‌شود (۱۲). متورم شدن این ناحیه در آغاز با حجیم شدن جانبی و به دنبال آن با تقسیمات پری‌کلینال آغاز شد. سپس یاخته‌های تقسیم شده به‌صورت جانبی حجیم شدند. تغییرات الگوی رشد توأم با بازآرایش میکروتوبول‌های قشری است (۱۵). در یاخته‌های ناحیه‌ی زیر رأسی شاخه‌های در حال طویل شدن، میکروتوبول‌ها آرایش عرضی دارند. در یاخته‌های در حال حجیم شدن میکروتوبول‌ها، نسبت به محور شاخه‌ای آرایش طولی دارند (۱۲).

منابع مورد استفاده

- 1- Artschwager EF. 1918; Anatomy of potato plant, with special reference to the ontogeny of the vascular system. Journal of Agricultural Research. 27, 187-90.
- 2- Artschwager EF. 1924; Studies on the potato tuber. Journal



شکل ۴- تغییر تعداد یاخته‌های پارانشیم پوستی و پارانشیم مغزی در محور عرضی طی تشکیل ریزغده‌ها.



شکل ۵- تغییر ابعاد طولی و قطری ی یاخته‌های پارانشیم پوستی طی تشکیل ریزغده‌ها.

بسیار مهم است (۹، ۲۲).

یافته‌های این پژوهش نشان داد تقسیم سلولی در پارانشیم پوست زودتر از سلول‌های پارانشیم مغزی متوقف می‌گردد. علت توقف تقسیم یاخته‌ای در بافت پارانشیم پوستی، فعالیت کوتاه مدت ناحیه‌ی پارانشیم درونی پوست (بخشی از بافت پیرامون مغزی) می‌باشد، به‌طوری‌که آثار این ناحیه تا روزهای دوازدهم در ریزغده‌ها قابل رویت است. هر چند یاخته‌های پوست نقش قابل

invitro tubers in abroad range of potato genotypes. Plant cell Tiss Org. Cult. 7:3-10.

12- Fujino K, Koda Y, Kikuta Y. 1995; Reorientation of cortical microtubules in the sub-apical region during tuberization in single-node stem segments of potato in culture. Plant Cell Physiol. 36:891-895.

13- Goodwin PB. 1967; The control of branch growth on potato tubers. Journal of Experimental Botany. 18: 78-86.

14- Gopal G; Chamail A; Sarkar D. 2004; *invitro* production of microtuber for consevation of potato germplasm: Effect of genotype, abscisic acid and sucrose. In vitro Cel. Dev. Biol. Pl. 40: 486-90

15- Gunning BES, Sammut M. 1990; Rearrangement of microtubules involved in establishing cell division planes start immediately after DNA synthesis and are completed just before mitosis. The Plant Cell.2, 1273-82.

16- Hayward HE. 1938; The Structure of Economic Plants. New York: Wiley.

17- Helder H, van der Maarl A, Vreugdenhil D, Struik PC. 1993; Stolon characteristics and tuber initiation in a wild potato species (*Solanum demissum* Lindl.). Potato Research.36, 317-26.

18- Johansen DD. 1940; Plant Microtechnique. McGraw-Hill Book Company.

19- Kanwal A, Ali A, Shoaib K. 2006; *Invitro* microtuberization of potato (*Solanum tuberosum* L.) cv. Kuroda- A new variety in Pakistan. International Journal of Agriculture & Biology.3: 337-340.

20- Khuri S, Moorby J. 1995; Investigation into the role of sucrose in potato cv. ESTIMA microtuber production in vitro. Annals of Botany 75: 295-303.

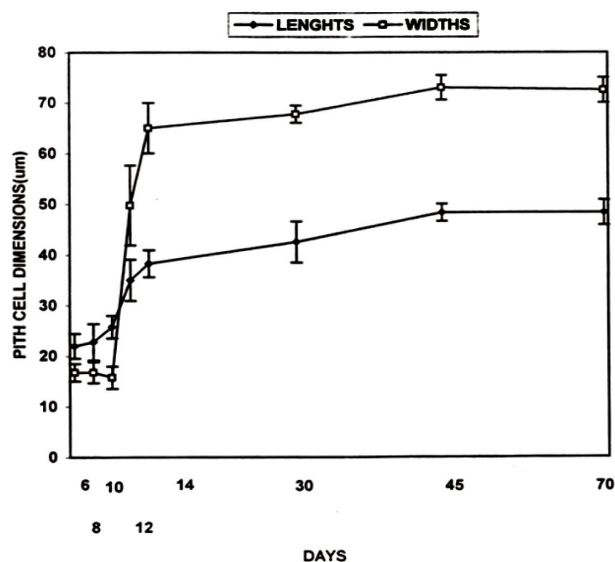
21- Leshem B, Clowes FAL. 1972; Rates of mitosis in shoot apices of potatoes at the beginning and end of dormancy. Annals of Botany.36, 687- 91.

22- Liu J, Xie C 2001; Correlation of cell division and cell expansion to potato microtuber growth in vitro. Plant cell, Tissue and organ Culture 67; 159-164.

23- Murashige T, Skoog F. 1962; A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures. Physiologia Plantarum 15, 473-97.

24- Peterson RL, Barker WG. 1979; Early tuber development from explanted stolon nodes of *Solanum tuberosum* var. Kennebec. Botanical Gazette 140(4), 398-406.

25- Peterson CA, Peterson RL, Barker WG. 1981; Observations on the structure and osmotic potentials of parenchyma



تصویر ۶- تغییر ابعاد طولی و قطری
یاخته‌های پارانشیم مغزی طی تشکیل ریزغده‌ها

of Agricultural Research.27, 809-35.

3- Booth A. 1963; The growth substances in the development of stolons. In: Ivins JD, Mithorpe FL, eds. The growth of the potato. London: Butterworth, 99-113.

4- Bradbury D. 1953; Division of starch-containing cells. American Journal of Botany.40, 286-8.

5- Chen TC, Setter, TL. 2003; Response potato cell division and growth to shade and elevated CO₂. Annals of Botany.91; 373-381.

6- Cutter EG. 1978; Structure and development of the potato plant. In: Harris PM, ed. The potato crop. The scientific basis for improvement. London: Chapman & Hall, 70-152.

7- Duncan DA, Ewing EE. 1984; Initial anatomical changes associated with tuber formation on single-node potato (*Solanum tuberosum* L.) cuttings. Annals of Botany. 53, 607-10.

8- Ebadi M, Iranbakhsh AR, Bakhshi Khaniki Gh. 2007; The study of shoot formation and microtuberization in continuous and semi-continuous bioreactor. Pakistan Journal of Biological Sciences. 10 (6): 861-867.

9- Ebadi M, Iranbakhsh AR, Bakhshi. 2007; The investigation of the ontogenic-cellular of microtuber formation in potato (*Solanum tuberosum* L.). Journal of Sciences Islamic Azad University. 16. No. 62/1. 21-34.

10- Espinoza N. 1992; Tissue culture: Micropropagation, conservation, and export of potato germplasm. CIP.

11- Estrada R , Tovar P and Dodds JH 1986. Induction of

associated with the internal phloem of potato tubers. American Potato Journal 58, 575–84.

26- Peterson RL, Barker WG, Howarth MJ. 1985; Development and Structure of Tubers. In: Li PH, ed. Potato physiology. London: Academic Press, 123–47.

27- Plaisted PH. 1957; Growth of the potato tuber. Plant Physiology.32, 445–53.

28- Reed T. 1910; On the anatomy of some tubers. Annals of Botany.24, 537–48.

29- Reeve RM, Hautala E, Weaver ML. 1969; Anatomy and compositional variations within potatoes. I. Developmental histology of the tuber. American Potato Journal.46, 361–73.

30- Reeve RM. 1970; Anatomy and compositional variations within potatoes. III. Gross compositional gradients. American Potato Journal. 47, 148-162.

31- Reeve RM, Timm H, Weaver ML. 1973a; Parenchyma cell growth in potato tubers. I. Different tuber regions. American Potato Journal.50, 49–57.

32- Reeve RM, Timm H, Weaver ML. 1973b; Parenchyma cell growth in potato tubers, II. Cell divisions vs. cell enlargement.

American Potato Journal.50, 71–9.

33- Ruzin SE. 1999; Plant Microtechnique and Microscopy. Oxford University Press.

34- Sanz MJ, Mingo-Castel A, van Lammeren AAM, Vreugdenhil D. 1996. Changes in the microtubular cytoskeleton precede *in vitro* tuber formation in potato. Protoplasma.191, 46–54.

35- Vreugdenhil D, Struik PC. 1989; An integrated view of the hormonal regulation of tuber formation in potato (*Solanum tuberosum*). Physiologia Plantarum 75, 525–31.

36- Vreugdenhil D, Xu X, Jung C S, van Lammeren AAM, Ewing E E. 1999; Initial Anatomical Changes Associated with Tuber Formation on Single-node Potato (*Solanum tuberosum L.*) Cuttings: A Re-evaluation. Annals of Botany 84: 675-680.

37- Xu X, Vreugdenhil, D. van Lammeren AAM. 1998; Cell division and cell enlargement during potato tuber formation. Journal of Experimental Botany 49: 573-582; 24.

38- Yu WC, Joyce PJ, Cameron DC, McCown, BH. 2000; Sucrose utilization during potato microtuber growth in bioreactor. Plant Cell Reports 19: 4, 407-413.

