Archive of SID

مجله علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی،(JSIAU)
سال ۲۰ ، شماره ۷۸/۱ ، زمستان ۱۳۸۹

القاء و رشد ریزغده‌های سیب‌زمینی (Solanum Tuberosum. L) رقم سانته، در پاسخ به غلظت‌های مختلف بنزیل‌آمینوپورین (BAP) و ساکارز در شرایط کشت بافتی

مصطفی عبادی
گروه زیست‌شناسی، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران
علیرضا ایرانبخش*
گروه زیست‌شناسی، واحد علی آباد کتول ، دانشگاه آزاد اسلامی، علی آباد کتول، ایران

تاریخ دریافت: ۸۸/۳/۹ **تاریخ پذیرش: ۸۸/۱۰/۲**

چکیده

مقدمه: سیب‌زمینی (*Solanum tuberosum* L.) مهم‌ترین فرآورده‌ی غذایی غیرغله‌ای جهان است. در نگاه تجاری، این محصول پس از گندم؛ برنج و ذرت، رتبه‌ی چهارم را دارد. بنابراین، شناخت چگونگی نمو غده‌ها برای بهبود کیفیت آن و نیز عوامل کنترل‌کننده‌ی بنیانگذاری و رشد غده‌ها از اهمیت زیادی برخوردار است.

هدف: اثرات غلظت‌های گوناگون بنزیل‌آمینوپورین (BAP) و ساکارز به عنوان ترکیبات القایی بر ریزغده-زایی، بر زمان ریزغده‌ایی، تعداد، وزن تر و خشک ریزغده‌ها مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی: برای مطالعه‌ی اثر تیمارهای هورمونی و قندی از کشت دو مرحله‌ای استفاده شد. در مرحله‌ی اول از محیط MS مایع دارای BAP mgl^{-1} ۰/۵ + GA_3 mgl^{-1} ۰/۴+ ساکارز gl^{-1} ۲۰ برای تکثیر شاخه‌ها استفاده شد. جداکشت‌های تک گره‌ای در برابر نور سفید (LUX ۵۰۰۰-۴۰۰۰) و بر روی شیکر، به مدت یک ماه رشد داده شدند. در مرحله‌ی دوم، از محیط‌های MS مایع القاء ریزغده‌زایی دارای غلظت‌های گوناگون ساکارز (gl^{-1} ۸۰، ۶۰، ۴۰، ۳۰) و BAP (mgl^{-1} ۱۰، ۵، ۲، ۱) در تاریکی پیوسته استفاده شد. ریزغده‌زایی طی ۱۰ هفته پس از القاء، مورد بررسی قرار گرفت.

*عهده‌دار مکاتبات: ایمیل: iranbakhshar@yahoo.com، تلفن: ۰۹۱۱۱۷۱۵۳۴۲

www.SID.ir

Archive of SID

نتایج: در محیط‌های القایی دارای غلظت‌های پایین ساکارز (gl^{-1} ۳۰)، افزایش غلظت‌های BAP اثر القایی بر ریزغده‌زایی نداشت. افزایش غلظت ساکارز تا سطح gl^{-1} ۴۰ و تنها در غلظت‌های زیاد BAP، با تاخیر زمانی در پایان هفته‌ی چهارم، ریزغده‌ها القاء شدند. در این‌حال، ریزغده‌ها از تغییر الگوی رشد مریستم انتهایی و حجیم شدن بخش زیررأسی بن رست رشد یافتند. با افزایش BAP، ریزغده‌ها بزرگتر و به صورت چسبیده به ساقه به وجود آمدند. با افزایش ساکارز تا سطح gl^{-1} ۶۰، حتی در غلظت‌های پایین BAP، القاء ریزغده‌ها طی دو هفته‌ی نخست و با تأخیر زمانی تا هفته‌ی ششم صورت پذیرفت. این ریزغده‌ها در محیط خارج از شیشه دوام زیادی نداشتند. در غلظت‌های زیاد ساکارز و BAP، افزون بر القاء ریزغده‌ها تا پایان هفته‌ی دوم، میانگین تعداد ریزغده تحت‌تاثیر قرار گرفتند. در محیط‌های القاییِ دارای غلظت‌های بالای ساکارز (gl^{-1} ۸۰)، با افزایش غلظت BAP تا mgl^{-1} ۱۰، خفتگی ریزغده‌ها افزایش یافت و از سلامتی بیش‌تری برخوردار بودند. بیشترین نسبت وزن خشک ریزغده‌ها به وزن خشک شاخه‌ها، در غلظت‌های بالای BAP mgl^{-1} ۱۰ و سطوح بالای ساکارز ۸٪ به دست آمد. محیط‌های دارای BAP mgl^{-1} ۵ و gl^{-1} ۸۰ ساکارز دارای میانگین بیشترین تعداد ریزغده بودند؛ در حالی‌که بالاترین وزن تر ریزغده‌ها در محیط‌های دارای BAP mgl^{-1} ۵ و gl^{-1} ۶۰ ساکارز به وجود آمدند. در هرحال، غلظت‌های بالای ساکارز همراه با افزایش غلظت BAP، توانستند مدت زمان القاء و تشکیل ریزغده‌ها را به کوتاه‌ترین زمان یعنی ۲ هفته برساند. ساکارز و BAP، هر دو، بر تغییرات وزن‌تر ریزغده‌ها نقش دارند. افزایش غلظت ساکارز، اثری معنی‌داری بر افزایش وزن خشک و ماده‌سازی در ریزغده‌ها دارد.

نتیجه‌گیری: برای انتخاب محیط القایی مناسب، افزون بر تعداد و وزن تر ریزغده‌های القاء شده، شاخص‌هایی چون سلامتی، مدت زمان خفتگی، و نسبت وزن خشک ریزغده‌ها به وزن خشک شاخه‌ها نیز باید مورد توجه قرار گیرند.

واژه های کلیدی: سیب‌زمینی، BAP، ساکارز، ریزغده‌زایی

مقدمه

سیب‌زمینی (*Solanum tuberosum* L.) مهم‌ترین فرآورده‌ی غذایی غیرغله‌ای جهان است. در نگاه تجاری، این محصول پس از گندم؛ برنج و ذرت، رتبه‌ی چهارم را دارد.[۱،۲] بنابراین، شناخت چگونگی نمو غده‌ها برای بهبود کیفیت آن و نیز عوامل کنترل‌کننده‌ی بنیانگذاری و رشد غده‌ها از اهمیت زیادی برخوردار است.

ریزغده‌زایی سیب‌زمینی را بسیاری از پژوهشگران مورد بررسی قرار داده‌اند.[۳-۱۰] به تقریب کلیه آزمایش‌هایی که پیش از ۱۹۷۸ صورت گرفته است دربرگیرنده‌ی کشت یک یا چند بن رست در لوله‌های آزمایش برای مطالعه‌ی بنیانگذاری غده‌ها بوده است.Wang در چهارمین گردهمایی بین المللی کشت بافت گیاهی در ۱۹۷۸روش تولید انبوه ریزغده‌ها را گزارش نمود.[۳]

Lawrence و Barker (۱۹۶۳) دریافتند که کشت‌های آنها تنها در تاریکی دائمی غده‌زایی می‌نمایند. این پژوهشگران در دوره‌های نوری ۱۶،۸ یا ۲۴ ساعتی بر روی جداکشت‌ها، غده‌ای مشاهده نکردند.[۱۱]

www.SID.ir

Archive of SID

Harmey و همکاران (۱۹۶۶) بیان کردند که افزودن تنظیم‌کننده‌های رشد تنها در صورتی نمو ریزغده‌ها را افزایش می‌دهد که ساکارز کافی (۸٪) تامین باشد. [۱۲]

Wang و Hu (۱۹۸۲) ساکارز ۳،۱، ۶، ۸ و ۹٪ را به محیط مایع دارای BAP، افزودند و دریافتند که بالاترین درصد گیاهک‌های غده‌زا در محیط ساکارز ۸٪ رخ داد. [۳] Koda و Okazawa (۱۹۸۳) با به کارگیری ساکارز ۲، ۴، ۶ و ۸٪ نتایج مشابه‌ای با Wang و Hu را به دست آورند. [۱۳]

Schilde-Rentschler و Schmiediche (۱۹۸۴) از محیط‌های MS دارای سیتوکینین (mgl^{-1} ۴ تا mgl^{-1}۱۰) و ساکارز ۶٪ تا ۸ ٪ برای ریزغده‌زایی استفاده کردند و دریافتند در صورت عدم استفاده از سیتوکینین به عنوان محرک غده‌زایی می‌بایست از دوره‌های نوری بلند با شدت زیاد و در صورت استفاده از سیتوکینین می‌بایست از دوره‌ی کوتاه نوری با شدت کم و یا تاریکی پیوسته استفاده کرد. [۴]

Hussey و Stacey (۱۹۸۴) محیط مناسب برای ریز غده‌زایی را محیط MS دارای BAP mgl^{-1} ۲ و ساکارز ۶٪ و دوره‌ی نوری ۸ ساعتی بیان کردند. Hussey و Stacey (۱۹۸۴) نشان دادند زمانی که BAP و CCC تامین باشد ساکارز ۶٪ برای ریزغده‌زایی بهینه است. [۵]

Tovar و همکاران (۱۹۸۵) محیط مناسب تکثیر را محیط MS دارای BAP mgl^{-1} ۰/۵، GA_3 mgl^{-1} ۰/۴ و NAA mgl^{-1} ۰/۰۱ و محیط مناسب برای ریزغده‌زایی را MS دارای BAP mgl^{-1} ۵، CCC mgl^{-1} ۵۰۰ و ساکارز ۸ ٪ در تاریکی اعلام کردند. [۶]

Abbot و Belcher (۱۹۸۶) ریزغده‌زایی را در محیط‌های ۳، ۶، ۹ و ۱۲٪ ساکارز مورد بررسی قرار دادند. بهترین نتایج آنها برای ریزغده‌زایی در محیط دارای ساکارز ۶٪ و BAP به دست آمد. [۱۴]

پژوهش‌های Fujino و همکاران (۱۹۹۵) نشان دادند که افزودن ساکارز ۸٪ به محیط کشت، توقف طویل شدن شاخه‌ها و متورم شدن ناحیه‌ی زیر رأسی هریک از شاخه‌ها را به دنبال دارد. [۱۵]

Gopal و همکاران (۱۹۹۸) اثر دوره‌ی نوری، شدت نور، دما، و BAP بر روی بازده، تعداد، اندازه‌ی ریزغده‌ها و تعداد چشم‌ها را در هر ریزغده در ۲۲ ژنوتیپ مورد بررسی قرار دادند. یافته‌های آنها نشان داد ژنوتیپ برهم‌کنش‌های شرایط کشت در تعیین پروتکل ویژه‌ی ژنوتیپ‌ها برای بیشترین ریزغده‌زایی، نقش معنی-داری دارد. BAP در تاریکی پیوسته و دمای پایین بازده‌ی ریزغده‌زایی و میانگین وزن ریزغده‌ها را افزایش داد. [۱۶]

Yu و همکاران (۲۰۰۰) ساکارز را به عنوان منبع کربنی معرفی کردند که برای رشد ریزغده‌ها تقدم بیشتری نسبت به فرآورده‌های حاصل از هیدرولیز آن دارد و مقدار ساکارز در دسترس را از عوامل اصلی در تعیین اندازه‌ی ریزغده‌ها دانستند . [۱۷]

عبادی و همکاران (۲۰۰۷) با کشت جداکشت‌های دو تا سه گره‌ای در بیوراکتورهای نیمه‌پیوسته ریزغده-های به دست آمده در غلظت بالای BAP ۱۰ mgl^{-1} و ساکارز ۸٪ به ریزغده‌هایی سالم با خفتگی ۳ تا ۴ ماه دست یافتند. [۱۸]

در این پژوهش به بررسی اثر غلظت های مختلف BAP و سطوح گوناگون ساکارز بر تشکیل ریزغده‌ها پرداخته شده است.

www.SID.ir

Archive of SID

مواد و روشها

برای بررسی اثر تیمار هورمونی و قندی از کشت دو مرحله‌ای استفاده شد. در مرحله‌ی اول از محیط MS[۱۸] مایع دارای ۰/۵ mgl^{-1} BAP +۰/۴mgl^{-1} GA_3 + ساکارز ۲۰ gl^{-1} [۴] برای تکثیر شاخه‌ها استفاده شد. جداکشت‌های تک گره‌ای در برابر نور سفید (۴۰۰۰-۵۰۰۰ LUX) و بر روی شیکر با ۱۱۰-۹۰ دور در دقیقه، به مدت یک ماه رشد داده شدند. در مرحله‌ی دوم، از محیط‌های MS مایع القاء ریزغده‌زایی دارای غلظت‌های گوناگون ساکارز (۸۰gl^{-1}، ۶۰، ۴۰، ۳۰) و BAP (۱۰mgl^{-1}، ۵، ۲، ۱) در تاریکی استفاده شد. ریزغده‌زایی طی ۱۰ هفته پس از القاء مورد بررسی قرار گرفت. تعداد تکرارها در هر تیمار چهار عدد بود. شاخص‌هایی چون زمان آغاز و درصد ریزغده‌زایی، میانگین تعدادغده‌های تشکیل شده، اثر غلظت‌های گوناگون BAP و ساکارز بر وزن‌تر وخشک ریزغده‌ها و نسبت وزن خشک به وزن تر مورد بررسی قرار گرفت. از طرح آماری بلوک‌های کاملاً تصادفی و نرم‌افزار SPSS برای مقایسه‌ی میانگین‌ها در سطح ۵٪ استفاده شد.

نتایج و بحث

اثر غلظت‌های گوناگون ساکارز و BAP بر زمان و روند ریزغده‌زایی

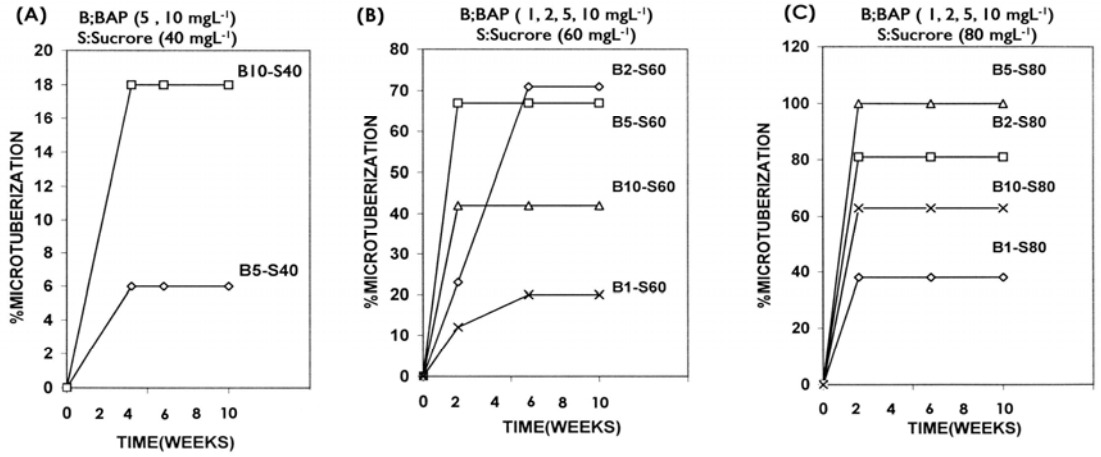
در محیط‌های القایی دارای ۳۰ gl^{-1} ساکارز، با افزایش BAP، در هیچ یک از تیمارها، ریزغده‌زایی رخ نداد. در غلظت‌های کم ساکارز در این محیط‌های القایی، تعداد زیادی شاخه‌های سفید ایستا تشکیل شدن که بر سطح آنها برگ‌های ریزی مشاهده شدند. جداکشت‌ها در محیط‌های القایی دارای ۴۰ gl^{-1} ساکارز، در محیط‌های دارای mgl^{-1} BAP ۱ و ۲ ریزغده‌زایی نکردند و تنها در آنها شاخه‌های برگ‌دار سفید رنگ ایستا القاء شد. در غلظت‌های ۵ mgl^{-1} و ۱۰ mgl^{-1} با تاخیر زمانی و در هفته‌ی چهارم ریزغده‌ها القاء شدند (شکل ۱A). کم‌ترین تعداد ریزغده‌ها در محیط القایی دارای ۵ mgl^{-1} BAP و ۴۰ gl^{-1} ساکارز مشاهده شد. با افزایشBAP تا سطح ۱۰ mgl^{-1} میانگین ریزغده‌های تشکیل شده، افزایش یافت (شکل ۱A). در محیط دارای ۵ mgl^{-1} BAP ریزغده‌ها از تغییر الگوی رشد مریستم انتهایی و حجیم شدن بخش زیرین رأس بن رست رشدیافته، به وجود آمدند. در محیط‌های القایی دارای ۱۰mgl^{-1} BAP ریزغده‌زایی تا پایان هفته چهارم انجام پذیرفت (شکل ۱A). شماری از ریزغده‌ها چسبیده به ساقه و از حجیم شدن جوانه‌های جانبی، و برخی از تغییر مریستم انتهایی بن رست‌های رشد یافته به وجود آمدند. در هر دوی این محیط‌های القایی (۵ mgl^{-1} BAP و ۱۰ mgl^{-1} BAP) تعداد ریزغده‌ها تا پایان هفته‌ی دهم ثابت باقی ماند (شکل ۱C).

در محیط‌های القایی دارای ۶۰ gl^{-1} ساکارز، نخستین ریزغده‌ها در محیط‌های دارای ۱ mgl^{-1} BAP در هفته‌ی دوم بعد از القاء و شماری با تأخیر زمانی در هفته‌ی ششم بعد از کشت تشکیل شدند (شکل ۱B). در محیط‌های القایی دارای ۶۰ gl^{-1} ساکارز، نخستین ریزغده‌ها در محیط‌های دارای ۲ mgl^{-1} BAP علاوه بر ریزغده-های اولیه، ریزغده‌های ثانویه به صورت چسبیده به ساقه، طی هفته دوم تا ششم پس از القاء بر روی شاخه‌های سفید رنگ که از رشد مریستم رأسی ریزغده‌ها اولیه شکل گرفتند (شکل ۲A). این ریزغده‌ها در محیط خارج از

www.SID.ir

Archive of SID

شیشه دوام زیادی نداشتند و به زودی پژمرده شدند (شکل ۲B). تعداد ریزغده‌ها تا پایان هفته‌ی دهم ثابت باقی ماند. شاخه‌هایی که در تماس با محیط کشت بودند دچار کال‌زایی شدند.



شکل ۱- اثر غلظت‌های مختلف BAP و ساکارز بر درصد و زمان تشکیل ریزغده‌ها. (A) تیمار القایی gl^{-1} ۴۰ ساکارز و غلظت‌های مختلف BAP. (B) تیمار القایی gl^{-1} ۶۰ ساکارز و غلظت‌های مختلف BAP. (C) تیمار القایی gl^{-1} ۸۰ ساکارز و غلظت‌های مختلف BAP.

شیشه دوام زیادی نداشتند و به زودی پژمرده شدند (شکل ۲B). تعداد ریزغده‌ها تا پایان هفته‌ی دهم ثابت باقی ماند. شاخه‌هایی که در تماس با محیط کشت بودند دچار کال‌زایی شدند.

در محیط‌های القایی دارای دارای gl^{-1} ۶۰ ساکارز و mgl^{-1} BAP ۵، نخستین ریزغده‌ها در پایان هفته‌ی دوم مشاهده شدند. تعداد ریزغده‌ها تا پایان هفته‌ی دهم ثابت باقی ماند (شکل ۱B). در این محیط‌ها ریزغده‌هایی که در سطح محیط کشت تشکیل می‌شوند، از ابعاد بزرگ‌تری برخوردار بودند (شکل ۲C). در محیط دارای mgl^{-1} BAP۱۰ و و gl^{-1} ۶۰ ساکارز، ریزغده‌ها کوچک‌تر تشکیل شدند. این ریزغده‌ها به علت کال‌زایی در سطح خود در خارج فلاسک شیشه‌ای دوام نداشتند و به سرعت پژمرده شدند (شکل ۲D). هم چنین به علت عدم خفتگی، ریزغده‌ها در درون شیشه جوانه زده، شاخه‌های سفید رنگ را به وجود آورند. در این محیط‌ها ریزغده‌های ثانویه تشکیل نشد. بسیاری از ریزغده‌ها چسبیده به ساقه بودند.

ریزغده‌های تشکیل شده در محیط القایی دارای mgl^{-1} BAP ۱ و gl^{-1} ۸۰ ساکارز، به طور عمده در انتهای بن رست کوتاه حجیم می‌شود (شکل ۲F). در محیط القایی دارای gl^{-1} ۸۰ ساکارز و mgl^{-1} BAP ۱۰ ریزغده‌ها تا پایان هفته دوم تشکیل شدند اما میانگین تعداد ریزغده نسبت به محیط‌های القایی دارای gl^{-1} ۸۰ ساکارز با mgl^{-1} ۵ و mgl^{-1} BAP ۲، میانگین ریزغده‌ها کم‌تر بود (شکل ۱B). ریزغده‌ها در سطح محیط کشت و در خارج از محیط کشت تشکیل شدند. کال‌زایی بر روی ریزغده‌های در محیط‌های دارای gl^{-1} ۸۰ ساکارز با mgl^{-1} ۲ و mgl^{-1} ۵ BAP محدود بود (شکل ۲E) ریزغده‌های تشکیل شده در این محیط‌های القایی به علت عدم خفتگی جوانه‌زنی کرده، شاخه‌های سفیدرنگ متعددی را به وجود آورند. جوانه‌زنی ریزغده با اندکی تأخیر نسبت به محیط دارای mgl^{-1} BAP ۵ در درون شیشه‌ها رخ داد.

www.SID.ir

Archive of SID

شکل ۲- ریزغده‌زایی در محیط‌های گوناگون القایی. (A) تشکیل ریزغده‌های اولیه و ثانویه بر روی بن‌رست‌ها وشاخه‌های ایستا در محیط‌های القایی دارای gl^{-1} ۶۰ ساکارز و mgl^{-1} BAP ۲ و(B) ریزغده‌هایی که در سطح آنها کال‌زایی رخ داده است. (C) ریزغده‌ها در محیط دارای gl^{-1} ۶۰ ساکارز و mgl^{-1} BAP ۵ ریزغده‌ها بزرگ‌تر و با کال زایی شدیدتر دیده می‌شود. (D) در محیط دارای mgl^{-1} BAP ۱۰ و و gl^{-1} ۶۰ ساکارز، ریزغده‌ها کوچک‌تر با کال‌زایی کم‌تر تشکیل شدند و ریزغده‌ها خفتگی نداشتند. (E) ریزغده‌های تشکیل شده در محیط‌های دارای gl^{-1} ۸۰ ساکارز با غلظت‌های mg^{-} BAP۱، mgl^{-1} ۲، mgl^{-1} ۵، mgl^{-1} ۱۰. (F) ریزغده‌های تشکیل شده در محیط القایی دارای mgl^{-1} BAP ۱ و gl^{-1} ۸۰ ساکارز، به طور عمده در انتهای بن‌رست کوتاه حجیم می‌شود. (G) ریزغده‌های تشکیل شده در محیط‌های دارای gl^{-1} ۸۰ ساکارز باmgl^{-1} BAP ۱۰ به صورت چسبیده به ساقه بودند.

در محیط‌های القایی دارای gl^{-1} ۸۰ ساکارز و غلظت‌های مختلف BAP ، در تمام تیمارهای هورمونی، ریزغده‌ها تا پایان هفته‌ی دوم بر روی شاخه‌ها تشکیل شدند و تعداد آنها تا پایان هفته‌ی دهم ثابت باقی ماند (شکل 1C). بسیاری از ریزغده‌ها به صورت چسبیده به ساقه بودند و تنها ریزغده‌های کوچک (درحد ۳mm-۲) از تغییر شکل بخش انتهایی بن رست‌های رشدیافته به وجود آمدند. نسبت به محیط‌های دارای gl^{-1} ۶۰ ساکارز با همان غلظت BAP ، ریزغده‌ها از سلامت بیشتری برخوردار بودند. شدت کال‌زایی در آنها کم‌تر بود (شکل 2E). در حضور mgl^{-1} ۸۰ ساکارز، کم‌ترین تعداد ریزغده‌ها در محیط دارای mgl^{-1} BAP۱ و بیشترین ریزغده‌زایی در محیط دارای mgl^{-1} BAP ۵ به وجود آمدند. در محیط‌های القایی دارای mgl^{-1} BAP ۵، ۲، ۱ (شکل2F) ریزغده‌های دهیدراته شدند و خفتگی ریزغده‌ها کوتاه بود. سالم‌ترین ریزغده‌ها به تقریب کروی شکل و با کم‌ترین آثار پژمردگی و با خفتگی طولانی در محیط القایی دارای gl^{-1} ۸۰ ساکارز و mgl^{-1} BAP ۱۰ تشکیل شدند (شکل 2G).

www.SID.ir

Archive of SID

اثر BAP و ساکارز بر تعداد ریزغده‌ها

بررسی اثر کلی هر یک از غلظت‌های به‌کار برده شده‌ی BAP بر میانگین تعداد کل ریزغده‌های (شکل ۳A) نشانگر وجود چهار گروه آماری است که دارای تفاوت معنی‌دار در سطح P<۰/۵ هستند. این مقایسه نشان داد در مجموع، جداکشت‌هایی که در محیط‌های القایی BAP mgl^{-1} ۵ رشد کرده‌اند، دارای بیش‌ترین تعداد ریزغده بودند و در محیط‌های القایی BAP mgl^{-1}۱ کم‌ترین تعداد ریزغده‌ها تشکیل شدند. تیمارهای هورمونی دارای BAP mgl^{-1} ۲، از نظر تعداد ریزغده‌ها در جایگاه دوم و تیمارهای هورمونی دارای BAP mgl^{-1} ۵ در گروه سوم آماری قرار گرفتند. بررسی اثر کلی غلظت‌های مختلف ساکارز در همه‌ی گروه‌های تیماری، صرف نظر از غلظت‌های مختلف BAP، نشانگر سه گروه آماری (شکل ۳B) است که بیش‌ترین تعداد ریزغده‌ها در محیط‌های القایی دارای ساکارز gl^{-1} ۸۰ و کم‌ترین آنها در محیط‌های القایی دارای ساکارز gl^{-1} ۴۰ تشکیل شدند. بررسی اثر ساکارز و BAP ، بر تعداد ریزغده‌های تشکیل شده در جداکشت‌ها در ۱۲ گروه تیماری در شکل ۳C نشان داده شده است. محیط دارای BAP mgl^{-1} ۵ و ساکارز gl^{-1} ۸۰ دارای میانگین بیشترین ریزغده بود.

رفتار جوانه‌های جانبی در محیط‌های ریزغده‌زایی

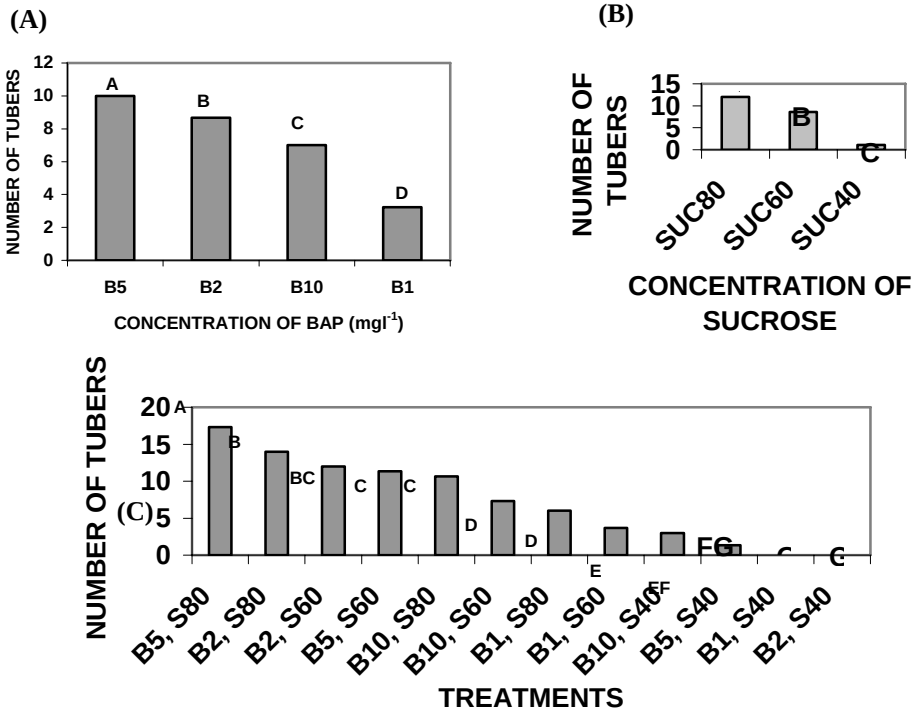
برخی از جوانه‌ها در محیط القایی به شاخه‌های ایستای سفید رنگ، برخی به بن رست‌هایی با زمین‌گرایی مثبت (شکل ۴A) و برخی از جوانه‌های مستقر بر روی شاخه‌های سبز به طور مستقیم به ریزغده (شکل ۴B) و شماری از جوانه‌ها به شاخه‌های ایستای سفید رنگ نمو می‌یابند که بر روی آنها ریزغده‌هایی با ابعاد مختلف و چسبیده به ساقه (شکل ۴C) تشکیل می‌شوند. به نظر می‌رسد تشکیل ریزغده بر روی یک شاخه از تشکیل ریزغده‌ی جدید بر روی همان شاخه جلوگیری می‌کند. بزرگ‌ترین ریزغده، غده‌هایی هستند که از تغییر الگوی رشد در جوانه‌های جانبی شاخه‌های سبز به وجود می‌آیند، کوچک‌ترین ریزغده‌ها از تغییر الگوی رشد در زیر مریستم رأسی بن رست‌ها رشدیافته با زمین‌گرایی مثبت شکل گرفتند (شکل ۴C). ریزغده‌های ثانویه بر روی از شاخه‌های حاصل رشد جوانه‌های ریزغده‌های اولیه نیز به وجود آمدند.

تغییرات وزنی ریزغده‌های القاء شده

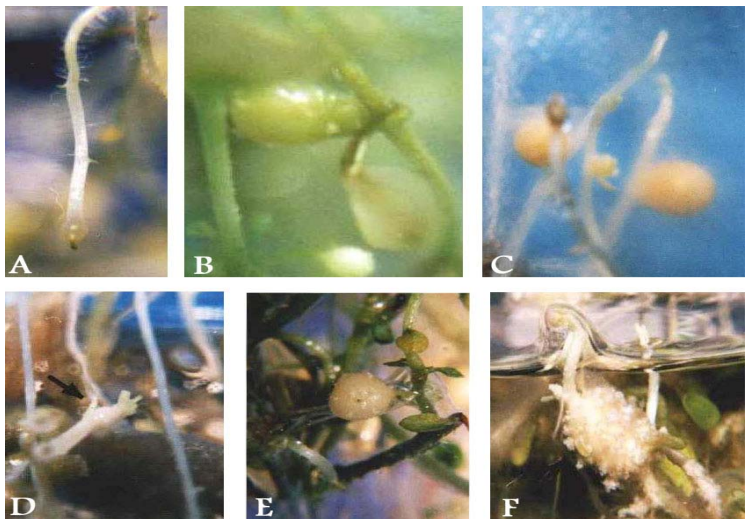
در محیط‌های القایی در هر یک از غلظت‌های BAP (شکل ۵A) افزایش غلظت ساکارز از gl^{-1} ۶۰ تا gl^{-1} ۸۰ با کاهش میانگین وزن‌تر غده‌ها، همراه بود. در حالی‌که در هر یک از غلظت‌های ساکارز (شکل ۵B)، افزایش غلظت BAP تا mgl^{-1} ۵، باعث افزایش وزن‌تر ریزغده‌ها شد اما در غلظت BAP mgl^{-1} ۱۰ میانگین وزن‌تر ریزغده‌ها کاهش یافت (شکل ۵B). بنابراین، ساکارز و BAP ، هر دو، در این کاهش‌ها و/یا افزایش وزن‌تر نقش دارند. بیشترین میانگین وزن ریزغده‌ها در محیط‌های القایی دارای BAP mgl^{-1} ۵ و ساکارز gl^{-1} ۶۰ مشاهده شد (شکل-های ۵ A, B).

www.SID.ir

Archive of SID



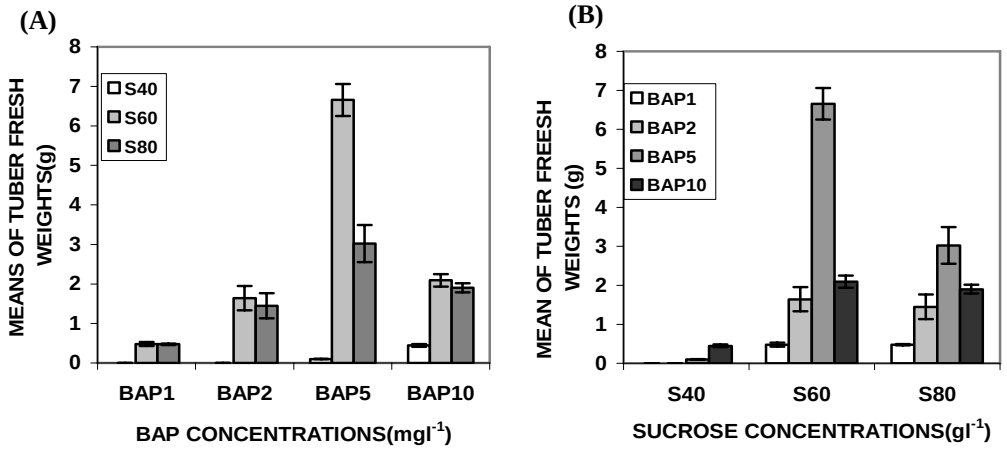
شکل ۳ – اثر غلظت‌های گوناگون ساکارز و BAP بر ریزغده‌زایی. (A) اثر غلظت‌های گوناگون BAP (mgl^{-1}) بر میانگین تعداد ریزغده‌ها. (B) اثر غلظت‌های گوناگون ساکارز (gl^{-1}) بر میانگین تعداد ریزغده‌ها. (C) اثر غلظت‌های گوناگون BAP و ساکارز، هر دو، بر تعداد ریزغده‌های تشکیل شده. (تیمارها بر اساس بیش‌ترین تعداد به کم‌ترین تعداد ریزغده‌های تشکیل شده، نشان داده شده‌اند.)



شکل ۴– رفتار جوانه‌های جانبی در محیط‌های القایی. (A) تشکیل بن رست‌هایی با زمین‌گرایی مثبت. (B) زیرغده شکل گرفته بر روی شاخه‌های سبز. (C) ریزغده‌زایی ثانویه چسبیده به ساقه بر روی شاخه‌های ایستای سفیدرنگ. (D) ریزغده‌های کاذب که فقط علائم حجیم شدن اولیه زیر رأسی را نشان می‌دهند. رشد شعاعی در آنها بسیار سریع متوقف می‌شود.(E) رشد طولی نسبی ریزغده‌ها هم زمان با حجیم شدن آنها. (F) متورم شدن مریستم‌های شاخه‌ها.

www.SID.ir

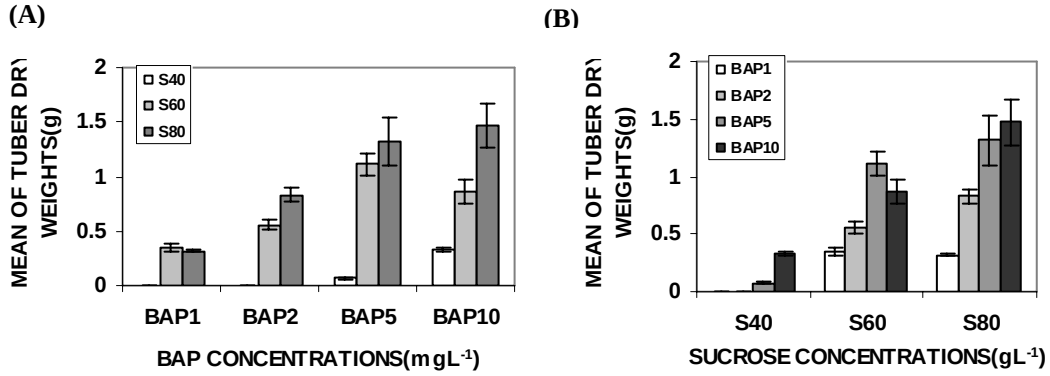
Archive of SID



شکل ۵- تغییرات وزن‌تر ریزغده‌ها در هر یک از تیمارهای القاء ریزغده‌زایی. (A) اثر غلظت‌های BAP همراه با تغییر مقدار ساکارز در محیط کشت. (B) اثر غلظت‌های ساکارز همراه با تغییر مقدار ساکارز در محیط کشت.

بررسی میانگین وزن خشک ریزغده‌ها (شکل ۶A) نشانگر آن بود که به تقریب در هر یک از غلظت‌های BAP ، افزایش غلظت ساکارز اثری معنی‌دار بر روند افزایش وزن ریزغده‌ها (شکل ۶A) نشان داد. در حالی‌که، در هر یک از غلظت‌های ساکارز (شکل ۶B)، افزایش غلظت BAP از mgl^{-1} ۱ تا mgl^{-1} ۱۰ BAP ، (به‌جزء محیط القایی دارای mgl^{-1} BAP ۱۰ و gl^{-1} ۵ ساکارز)، با ماده‌سازی بیش‌تر و وزن خشک بیش‌تر ریزغده‌ها همراه بود.

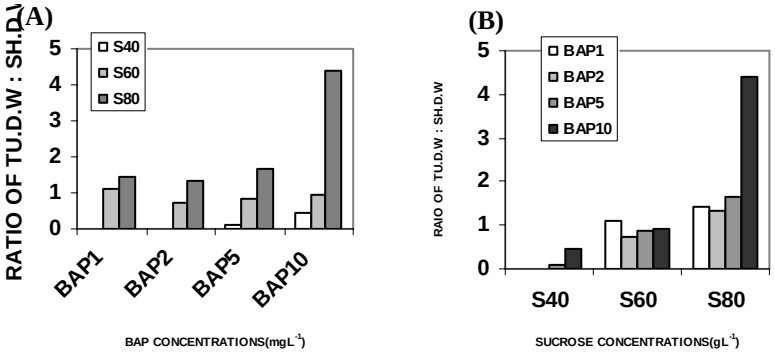
در هر یک از غلظت‌های BAP (شکل ۷A) و ساکارز (شکل ۷B)، نسبت وزن خشک ریزغده‌ها به وزن خشک شاخه‌ها، افزایش نشان داد. این افزایش به طور معنی‌داری در غلظت BAP mgl^{-1} ۱۰ و gl^{-1} ۸۰ ساکارز، نسبت به دیگر تیمارها بالاتر بود.



شکل ۶- وزن خشک ریزغده‌ها در هر یک از تیمارهای ریزغده‌زایی. (A) اثر غلظت‌های BAP همراه با تغییر مقدار ساکارز در محیط کشت. (B) اثر غلظت‌های ساکارز همراه با تغییر مقدار ساکارز در محیط کشت.

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۷- تغییرات نسبت وزن خشک ریزغده‌ها به وزن خشک شاخه‌ها در هر یک از تیمارهای ریزغده‌زایی. (A) اثر غلظت‌های BAP همراه با تغییر مقدار ساکارز در محیط کشت. (B) اثر غلظت‌های ساکارز همراه با تغییر مقدار ساکارز در محیط کشت.

در مجموع این نتایج نشان داد که تنها نمی‌توان با توجه به تعداد ریزغده‌ها یا وزن تر آنها محیط القایی مناسب را شناخت بلکه می‌بایست به سلامت، خفتگی مناسب و نسبت بالای وزن خشک ریزغده‌ها به شاخه‌ها با عنوان شاخص‌های مطلوب توجه داشت از این‌رو، یافته‌های این پژوهش نشانگر آن است که محیط القایی که دارای همه‌ی این پارامترها در حد مناسب است محیط MS دارای BAP mgl^{-1} ۱۰ و gl^{-1} ۸۰ ساکارز و تاریکی پیوسته می‌باشد.

بنیانگذاری غده‌ها در گیاه سیب‌زمینی همراه با تغییرات ریختی و بیوشیمیایی گسترده در بخش‌های هوایی و زیر زمینی آن است. از دیر باز مشخص شده است که این تغییرات به واسطه هورمون‌ها صورت می‌پذیرد. [۱۹، ۱۰]

در شرایط کشت بافتی، القاء تشکیل ریزغده با تقسیمات یاخته‌ای در بخش‌های رأسی و زیررأسی جوانه‌های القاشده، آغاز می‌شود. ریزغده‌های در حال تشکیل، در ناحیه‌ی زیررأسی دچار رشد طولی و قطری (شعاعی) شدند. افزایش تعداد یاخته‌های پارانشیم مغزی نسبت به یاخته‌های پارانشیم پوست نقش مهم‌تری را در رشد قطری ریزغده‌ها داشت. تغییر الگوی رشد طولی به عرضی نیز در یاخته‌های پارانشیم پوست و مغز در حجیم شدن ریزغده‌ها نقش داشت. این تغییر الگو در یاخته‌های پارانشیم پوست زودتر از یاخته‌های پارانشیم مغزی آغاز گردید. [۱۰]

وجود ساکارز و BAP برای ریزغده‌زایی ضروری است اما به نظر می‌رسد در مسیرهای فیزیولوژیکی گوناگون، اما، همسو با هم عمل می‌کنند. در غلظت‌های پایین BAP و ساکارز، ریزغده‌زایی رخ نمی‌دهد. در سطوح پایین ساکارز ($۴۰mgl^{-1}$)، غلظت‌های بالای BAP می‌تواند با تاخیر زمانی ۴ هفته‌ای، نمو ریزغده‌ها را القاء کنند. یافته‌های این پژوهش نشان داد که غلظت‌های بالای ساکارز همراه با افزایش غلظت BAP ، می‌توانند مدت زمان القاء و تشکیل ریزغده‌ها را به کوتاه‌ترین زمان یعنی ۲ هفته برساند.

هرچند عوامل مختلفی از جمله سن جوانه‌ها، نیروی گرانش و سن برگ در فرآیند ریزغده‌زایی دخالت دارند، نقش محرک‌های هورمونی در این زمینه بسیار بارز است. پیوند توتون بر روی سیب‌زمینی، نشان داده است که محرک‌های غده‌زایی منحصر به گونه‌های سیب زمینی نیست. این محرک می‌تواند یک ترکیب واحد و یا تعادل غلظت گروهی از ترکیبات باشد که به ضرورت همه آنها ترکیبات هورمونی نمی‌باشند. [۱۹]

www.SID.ir

Archive of SID

کار بر روی ریزغده‌زایی به طور عمده با استفاده از تنظیم‌کننده‌های رشد متمرکز شده است و نتایج آنها به طور قابل ملاحظه‌ای متنوع بوده است. از جمله پاسخ‌های به دست آمده به شماری از عوامل از جمله غلظت ساکارز، دما، دوره‌ی نوری، شدت نور، و رقم وابسته است. [۳، ۲۰]

ترغیب ریزغده‌زایی بر روی شاخه‌های کشت شده توسط سیتوکینین به ویژه BAP از سوی بسیاری از پژوهشگران مورد تأیید قرار گرفته است. [۵، ۲۱] سیتوکینین‌ها به عنوان یکی از عوامل تحریک‌کننده‌ی غده‌زایی مورد توجه بوده‌اند. [۲۲] ریزغده‌زایی *In vitro* فرآیندی پیچیده است که توسط تنظیم‌کننده‌های رشد چون بنزیل آمینو پورین (BAP) تنظیم می‌شود. [۳، ۵]

بازده ریزغده‌زایی و میانگین وزن ریزغده‌ها با اضافه کردن BAP افزایش می‌یابد. به نظر می‌رسد که BAP با ظرفیت ذاتی ژنوتیپ گیاه تداخل کرده، منجر به بنیانگذاری ریزغده‌ها می‌شود که به احتمال این عمل از طریق برهم زدن تعادل سطوح درون‌زاد تنظیم‌کننده‌های رشد رخ می‌دهد. این اثر دلیلی مهم بر اثرات تیمارهای روز بلند و حرارت بالا است. در شرایط تاریکی پیوسته، ریزغده‌زایی سریع‌تر رخ می‌دهد. [۱۶، ۲۳]

هرچند سیتوکینین، مسوول مستقیم غده‌زایی نیست اما بدون شک نقش کلیدی در تقسیم سلولی دارد و پدیدآورنده‌ی یک مرکز فعال جذبی در غده‌ی در حال نمو است. [۱۹، ۲۴]

سیتوکینین‌ها باعث افزایش معنی‌دار بنیانگذاری غده‌ها می‌شوند. سیتوکینین‌ها در مراحل اولیه‌ی رشد بن رست‌ها، فعالیت آنزیم اینورتاز اسیدی را تحریک می‌کنند که می‌تواند منجر به رشد سریع‌تر بن رست و بنیانگذاری سریع غده‌ها شود. [۲۵]

با توجه به اثرات نحوهٔ تأمین N و مقدار سیتوکینین در گیاه سیب‌زمینی، محتمل به نظر می‌رسد که سیتوکینین به عنوان «محرک» کنترل‌کننده‌ی غده‌زایی باشد. برای مثال، افزایش سیتوکینین تنها بعد از غده‌زایی در شاخه‌ها و بن رست‌ها قابل مشاهده است. [۲۶، ۲۷]

سیتوکینین جداسازی شده از برگ‌ها، ریشه‌ها، بن رست‌ها، غده‌های سیب‌زمینی از نوع زآتین‌ریبوزید (Zeatin Riboside) است. [۲۶] زآتین ریبوزید به گمان بسیار، در فرآیند غده‌زایی نقش دارد و ممکن است محرک واقعی تشکیل غده‌ها باشد. [۲۴]

ساکارز و BAP، هر دو، بر کاهش‌ها و یا افزایش وزن‌تر ریزغده‌ها نقش دارند. افزایش غلظت ساکارز، اثری معنی‌داری بر افزایش وزن خشک و ماده‌سازی در ریزغده‌ها دارد. بیشترین نسبت وزن خشک ریزغده‌ها به وزن خشک شاخه‌ها، همراه با ریزغده‌های سالم با خفتگی طولانی تنها در غلظت‌های بالای BAP ۱۰ mgl^{-1} و سطوح بالای ساکارز ۸٪ به دست آمد. ریزغده‌ها به شکل‌های گوناگون از حجیم شدن بخش انتهای بن رست‌های در حال رشد، یا به صورت ریزغده‌های ثانویه و از رشد جوانه‌های موجود بر روی ریزغده‌های اولیه، و یا به صورت ریزغده‌های چسبیده به ساقه، نمو یافتند.

سطوح به نسبت بالای ساکارز (۱۲٪-۶٪) در محیط کشت، منجر به تولید بسیار سریع غده‌ها می‌شود. [۲۸] سطوح بالای ساکارز تنها یکی از عوامل غده‌زایی است. [۱۱] هم‌چنین پاسخ سریع غده‌زایی به افزایش سطح ساکارز در محیط کشت گزارش شده است. [۳]

www.SID.ir

Archive of SID

سطح پایین غلظت ساکارز ($۴۰gl^{-1}$) منجر به کاهش رشد ریزغده‌ها و نیز تغییر روند رشد در جهت تشکیل شاخه‌ها و ریشه‌ها می‌گردد، به‌طوری که نسبت زی‌توده ریزغده‌ها به زی‌توده کل، بسیار پایین است. چنین تغییری در نسبت زی‌توده در حالتی که غلظت گلوکز و فروکتوز کم باشد نیز مشاهده می‌شود. هنگامی که غلظت قند پایین است ($۴۰gl^{-1}$ به جای $۸۰gl^{-1}$) و یا زمانی که مخلوطی از گلوکز و فروکتوز جایگزین ساکارز می‌شود، شدت رشد ریزغده‌ها کندتر می‌گردد. [۱۷] Yu و همکاران (۲۰۰۰) گزارش کردند که ساکارز به عنوان منبع کربنی برای رشد ریزغده‌ها تقدم بیشتری نسبت به فرآورده‌های حاصل از هیدرولیز آن دارد و مقدار ساکارز در دسترس از عوامل اصلی در تعیین اندازهٔ ریزغده‌ها است. [۱۷]

غلظت‌های BAP و سطح ساکارز نقش معنی‌داری بر القاء ریزغده دارد. این یافته‌ها با یافته‌های Khuri و Moorby (۱۹۹۵) [۲۹]، Teisson و Alvard (۱۹۹۹) [۳۰]، Yu و همکاران (۲۰۰۰) [۱۷] هم‌خوانی دارد. این پژوهشگران بیش‌ترین وزن ریزغده‌ها را در سطح ساکارز ۶٪ و BAP ۱ µM به دست آوردند. افزایش غلظت BAP به طور معنی‌داری بیشترین تعداد ریزغده‌ها با بیشترین وزن را القاء می‌کند. در محیط MS دارای ساکارز ۶٪، بیشترین تعداد ریزغده‌ها با بیشترین وزن در همه‌ی رقم‌ها به دست آمد.

Khuri و Moorby (۱۹۹۵) با استفاده از قندهای رادیواکتیو شده، نشان دادند ساکارز به عنوان منبع کربنی نسبت به گلوکز و فروکتوز، بیشتر به درون ریزغده‌ها انتقال می‌یابد. [۲۹]

گزارش‌های متعددی در مورد اثر منبع کربنی بر کشت ریزغده‌ها در دست است که نشان می‌دهد ساکارز با غلظتی در حدود $۸۰gl^{-1}$ غلظتی مناسب‌تر و محرکی بهتر نسبت به سایر قندها می‌باشد. [۱۱، ۳۱]

پژوهش‌های Khuri وMoorby (۱۹۹۵) در زمینه نقش ساکارز بر تولید ریزغده‌ها نشان داد افزودن ساکارز به محیط کشت به عنوان یک منبع کربنی یا اسموتیکوم (یا هر دو عمل) مد نظر می‌باشد. در مجموع ساکارز به عنوان یک منبع کربنی برای گیاه عمل کرده، اما در غلظت‌های ۸٪ ساکارز اسمولاریته مناسب برای نمو ریزغده ها را فراهم می‌کند. [۲۹]

ساکارز کربوهیدارتی است که به طور مرسوم برای تولید ریزغده‌ی سیب‌زمینی به کار گرفته شده می‌شود. ساکارز به عنوان یک منبع کربنی مناسب برای جذب و مصرف در گیاهک‌ها است اما در ساکارز ۸٪ این قند اسموتیکوم مناسبی را برای نمو ریزغده‌ها فراهم می‌کند. ساکارز دارای نقش دوگانه در نمو ریزغده‌ها: یکی این‌که منبع کربنی است که به واقع برای نمو ریزغده‌ها به نشاسته تبدیل می‌شود. نقش دیگر به عنوان اسموتیکوم غیربازدارنده، باعث حفظ اسموتیکوم بهینه‌ی ۴۰۰mM محیط کشت، طی نمو ریزغده می‌شود. [۲۹]

پاسخ رقم‌های مختلف سیب‌زمینی به افزایش ساکارز متفاوت است. برای نمونه Wood و Coke (۱۹۹۰) اعلام نمودند که بین رقم‌های مختلف سیب‌زمینی پاسخ‌هایی به‌طور کامل گوناگونی در محیط کشت دیده می‌شود. سطح ساکارز از ۴٪ به ۸٪ در به تقریب در همه‌ی رقم‌ها، غده‌زایی را افزایش داد. در نهایت می‌توان بیان داشت تغییر روش کار برحسب رقم مورد مطالعه به‌منظور ریزازدیادی در سطح آزمایشگاهی از اهمیت زیادی برخوردار است. [۳۲]

Leclerc و همکاران (۱۹۹۵) به ارزیابی مقدار اسید آبسیزیک درون‌زا و ارتباط آن با خفتگی ریزغده‌ها پرداختند. به نظر می‌رسد، مدت زمان خفتگی ریزغده‌ها یک صفت ویژه رقم سیب‌زمینی باشد و همبستگی

www.SID.ir

Archive of SID

معنی‌داری بین خفتگی در شرایط *In vitro* و *In vivo* وجود دارد. ریزغده‌های کوچکتر (کمتر از ۲۵۰ mg) دارای دوره خفتگی طولانی‌تری از ریزغده‌های بزرگتر هستند. همبستگی مثبتی بین سطوح بافتی اسیدآبسیزیک و دوره خفتگی ریزغده‌ها وجود دارد. [۳۳]

در غلظت‌های بالای ساکارز و BAP تشکیل ریزغده‌ها در پایان هفته‌ی دوم پس از القاء، به پایان می‌رسد. این یافته‌ها با گزارش‌های عبادی و همکاران (۲۰۰۷ و ۲۰۰۸) هم‌سو است. [۸، ۹]

نتیجه‌گیری

افزایش ساکارز و BAP منجر به هدایت الگوی رشد و تمایز جوانه به سمت تشکیل ریزغده‌ها می‌شود. در غلظت‌های پایین ساکارز، وزن بیشتر ریزغده‌ها نتیجه‌ی جذب بیشتر آب و در غلظت‌های بالای ساکارز و BAP تولید ریزغده‌های سالم‌تر با ماده‌سازی بیش‌تر است، هرچند در محیط القای ریزغده‌زایی دارای BAP mgl^{-1} ۵ و ۸۰ گرم بر لیتر ساکارز بیشترین تعداد ریزغده‌ها مشاهده می‌شود و با این که بالاترین وزن‌تر ریزغده‌ها در محیط BAP mgl^{-1} ۵ و ساکارز ۶٪ وجود دارد، محیط القایی دارای BAP mgl^{-1} ۱۰ و gl^{-1} ۸۰ ساکارز از برتری‌های نسبی بیشتری برای تکثیر ریزغده‌ها برخوردار است:

۱- خفتگی ریزغده‌ها در محیط القایی طولانی و بین ۳ تا ۴ ماه است که از نظر انبارداری از اهمیت زیادی برخوردار است.

۲- ریزغده‌ها با وجود وزن و ابعاد کم‌تر، از سلامت بیشتری برخوردارند و میزان پژمردگی آنها کم است.

۳- نگهداری آنها در شرایط اتاق با کم‌ترین تبخیر آب از سطح آنها همراه است.

۴- میزان ماده‌سازی در آنها در مقایسه با دیگر تیمارها بالاتر است.

۵- نسبت وزن ریزغده‌ها به وزن خشک شاخه‌ها که از نظر کشاورزی از اهمیت زیادی برخوردار است و نشانگر میزان تولید وزنی غده‌ها به رشد اندام هوایی است (ماده‌ی ذخیره شده).

Refrences:

1. Anonymous., *FAO*, **53**, 170 (1999).
2. Bradshaw, J. E., and Mackay, G.R., *Potato Gen.*, CAB International, UK (1999).
3. Wang, P.J., and Hu, C.Y., *Am. Potato J.*, **59**, 33 (1982).
4. Schilde-Rentschler, L., and Schmiediche. P.E., *Inter. Potato Center Lima Peru*, **12**(1), 1 (1984).
5. Hussey, G., and Stacey, N.J., *Annal. Bot.*, **53**, 565 (1984).
6. Tovar, P.R., Estrada, L., Schilde-Rentschler L., and Dodds, J.H., *Inter. Potato Center*, **13**(4), 1 (1985).
7. Kanwal, A., Ali, A., and Shoaib, K., *Int. J. Agri. and Biol.*, **3**, 337 (2006).
8. Ebadi, M., Iranbakhsh, A.R., and Bakhshi Khaniki, Gh., *Pakistan J. Biol. Sci.*, **10**(6), 861 (2007).
9. Ebadi, M., Iranbakhsh A.R., and Bakhshi Khaniki Gh., *Pazhohesh and Sazandegi*, **78**, 11 (2008).
10. Ebadi, M., and Iranbakhsh A.R., *J. S. I. A. U.*, **16**(62/1), 21 (2007).
11. Lawrence, C. H., and Barker, W.G., *Am. Potato J.*, **40**, 349 (1963).
12. Harmey, M.A., Crowley, M.P., and Clinch, P.E.M., *Eur. Potato J.*, **9**, 146 (1966).

www.SID.ir

Archive of SID

13. Koda, Y., and Okazava, Y., *Jap. J. Crop Sci.*, **52**, 582 (1983).
14. Abbott, A.J., and Belcher, A. R., In: Withers L. A., Alderson, P.G., *Plant tissue culture and its agricultural applications*, Butterworths, London (1986).
15. Fujino, K., Koda, Y., and Kikuta, Y., *Plant Cell Physio.*, **36**, 891 (1995).
16. Gopal, J., Minocha, J.L., and Dhaliwal, H. S., *Plant Cell Rep.*, **17**(10), 79 (1998).
17. Yu, W.C.P.J., Joyce, D.C., and Cameron-McCown, B.H., *Plant Cell Report*, **19**, 407 (2000).
18. Murashige, T., and Skoog, F., *Physio. Plant*, **15**, 473 (1962).
19. Davies, P.J., *Plant Hormones and Their Role in Plant Growth and Development*, Kluwer Academic Publishers, Boston (1988).
20. Hossain, M. J., *Plant. Tiss. Cult. Bio.*, **15**(2), 157 (2005).
21. Seabrook, E.A., and Coleman, S., *Plant. Cell Tiss. Org. Cult.*, **34**, 43 (1993).
22. Palmer, C.E., and Smith, O.E., *Nature*, **221**, 279 (1962).
23. Gopal, J., and Minocha, J. L., *Plant Breeding*, **116**(3), 293 (1997).
24. Li, P.H., *Potato physiology*, Academic Press, Boston (1985).
25. Kefi, S., Pavlista, A.D., Read, P.E., and Kachman, S. D., *Am. Potato J. Res.*, **77**(1), 57 (1998).
26. Sattelmacher, B., and Marscher, H., *Plant Physiology*, **44**, 65 (1978).
27. Sarkar, D., and Naik, P.S., *Potato res.*, **41**(3), 211 (1998).
28. Mes, M.G., and Menge, I., *Physi. Plant.*, **7**, 637 (1954).
29. Khuri, S., and Moorby, J., *Annals of Botany*, **75**(3), 295 (1995).
30. Teisson, C., and Alvard. D., *Potato res.*, **42**, 499 (1999).
31. Garner, N., and Blake, J., *Annals of Botany*, **64**(6), 663 (1989)
32. Wood, K., and Coke, L., *Proceedings of the Annual National Conference on Science and Technology* (part 2) (1990).
33. Leclerc, Y., Donnelly, D.J., Coleman, W.K., and King, R.R., *Am. Potato J.*, **72**(4), 215 (1995).

www.SID.ir