



بررسی اثرات منبع هیدرات کربن، عامل ژلی و ظرف کشت روی ریزازدیادی سه رقم سیبزمینی

زهرا موحدی^۱ و *احمد معینی^۲

^۱استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ملایر،
^۲دانشیار گروه اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۴/۲۹؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۸/۴

چکیده

سابقه و هدف: سیبزمینی (*Solanum tuberosum* L.) مهمترین گیاه مغذی و چهارمین محصول عمده دنیا به شمار می‌رود. عوامل متعددی تکثیر این گیاه از طریق کشت بافت را تحت تأثیر قرار می‌دهند که از جمله می‌توان به نوع ظرف کشت، نوع و غلظت منبع هیدرات کربن و عامل ژلی اشاره کرد. در پژوهش حاضر، اثرات این عوامل با استفاده از محیط کشت پایه MS بر ریزازدیادی سه رقم سیبزمینی شامل آگریا، ساوالان و مارفونا بررسی شد. **مواد و روش‌ها:** در این مطالعه، دو عامل ژلی (آگار به مقدار ۷ گرم در لیتر و فیتاژل به مقدار ۳/۵ گرم در لیتر)، سه منبع هیدرات کربن (ساکارز آزمایشگاهی، شکر سفید معمولی و شکر قهوه‌ای، هر یک به مقدار ۳۰ گرم در لیتر) و ظروف کشت مختلف (لوله آزمایش، ظرف شیشه‌ای با اندازه ۶۰ × ۱۱۰ میلی‌متر، ظرف شیشه‌ای با اندازه ۹۵ × ۱۵۰ میلی‌متر و ظروف مکعبی از جنس پلی پروپیلن با اندازه ۹۰ × ۹۰ × ۱۱۰ میلی‌متر) مورد بررسی قرار گرفتند. اثرات این عوامل به صورت آزمایش فاکتوریل و در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با ده تکرار بررسی شدند. بعد از ۳۰ روز، صفات مختلفی شامل متوسط طول نوساقه در هر گیاهچه، میانگین طول ریشه در هر گیاهچه، تعداد ریشه در هر گیاهچه، تعداد و اندازه برگ در هر گیاهچه بررسی شدند. سپس، گیاهان جهت شرایط برون شیشه‌ای سازگار شده و برای غده‌زایی در مزرعه کشت شدند.

یافته‌ها: به‌طورکلی نتایج آزمایش بررسی عامل ژلی نشان داد که بیشترین طول نوساقه در هر گیاهچه (۵/۱۶ سانتی‌متر) و میانگین طول ریشه در هر گیاهچه (۶/۰۶ سانتی‌متر) با استفاده از آگار به‌دست آمده است. با استفاده از این عامل ژلی، بیشترین تعداد ریشه در هر گیاهچه (۴/۷) در ارقام مارفونا و ساوالان و بیشترین تعداد گره در هر گیاهچه (۹/۲) در رقم مارفونا حاصل شد. نتایج بررسی اثر منبع هیدرات کربن نیز نشان داد که استفاده از شکر قهوه‌ای در محیط کشت برای اکثر صفات مورد مطالعه به‌طور معنی‌داری بهتر بوده است به‌طوری‌که بیشترین طول نوساقه در هر گیاهچه (۷/۰۷ سانتی‌متر)، میانگین طول ریشه در هر گیاهچه (۶/۶۱ سانتی‌متر) با استفاده از شکر قهوه‌ای به‌دست آمد. همچنین استفاده از ظرف کشت مکعبی از جنس پلی پروپیلن به‌طور معنی‌داری باعث بهتر شدن صفات طول نوساقه (۱۷/۹۶ سانتی‌متر) و میانگین طول ریشه (۱۱/۷۳ سانتی‌متر) در هر نوساقه شد.

نتیجه‌گیری: به‌طور کلی استفاده از ظرف مکعبی از جنس پلی پروپیلن و شکر قهوه‌ای تأثیر بسزایی در افزایش میزان ریزازدیادی گیاه سیب‌زمینی داشت. استفاده از این ظرف دارای مزایای متعددی می‌باشد. یکی از مهمترین مزایای ظرف مذکور این است که امکان حداقل تبادل گازی فضای داخل ظرف با هوای بیرون فراهم می‌شود.

واژه‌های کلیدی: ریزازدیادی، فیتاژل، محیط کشت، نوع ظرف کشت

مقدمه

در مقیاس جهانی، سیب‌زمینی (*Solanum tuberosum* L.) یکی از با ارزش‌ترین مواد غذایی محسوب شده و از جمله مهمترین محصولات است که قسمت عمده‌ای از نیازهای غذایی بشر را تأمین می‌کند (۱۷). محصول سیب‌زمینی عملکرد بالایی داشته و در واحد سطح و زمان، انرژی و پروتئین بیشتری نسبت به سایر محصولات غذایی تولید می‌کند. سیب‌زمینی، به‌صورت تازه و فرآوری شده منبع غذایی مهمی برای جمعیت در حال افزایش جهان است و در تغذیه دام و صنعت مورد استفاده قرار می‌گیرد (۲).

یکی از راهکارهایی که تا حد زیادی مشکل کاهش عملکرد محصول سیب‌زمینی در اثر پاتوژن‌های گیاهی، مخصوصاً ویروس‌ها را برطرف می‌کند، استفاده از بذر سالم سیب‌زمینی است. در سال‌های اخیر، بهترین روش کنترل و مبارزه با ویروس‌ها، تولید گیاهان سالم از کشت مریستم این گیاه معرفی شده است (۱۸). همچنین از کشت مریستم به‌طور موفقیت‌آمیزی برای به‌دست آوردن ذخایر ژنتیکی عاری از ویروس سیب‌زمینی استفاده می‌شود (۱).

در روش تولید گیاهچه‌های سالم از طریق کشت مریستم، جداسازی و کشت مریستم روی محیط کشت کار بسیار زمان‌بر و دقیقی است و در هر مرتبه تعداد محدودی گیاهچه به‌دست می‌آید. به همین دلیل و به‌منظور افزایش سرعت تکثیر و تولید گیاهچه‌های بیشتر از هر مریستم، امروزه گیاه سیب‌زمینی از طریق

ریزازدیادی تکثیر می‌شود (۱۸). عوامل متعددی رشد و تکثیر گیاهچه‌های حاصل از کشت مریستم را تحت تأثیر قرار می‌دهند که از جمله می‌توان به اندازه و نوع ظرف کشت، نوع و غلظت منبع هیدرات کربن و نوع عامل ژلی مورد استفاده اشاره کرد (۵). در شرایط درون شیشه‌ای، شرایط مناسب برای فتوسنتز مهیا نیست و یا اصولاً به‌علت کمبود نور، فتوسنتز انجام نمی‌شود. بافت‌های سبز در این شرایط به قدر کافی اتوتروف نیستند، بنابراین قند جزء بسیار مهمی در هر نوع کشت است. نوع و غلظت منبع هیدرات کربن می‌تواند بر رشد و نمو گیاه تأثیر بگذارد (۱۱). ساکارز، عمومی‌ترین منبع هیدرات کربن مورد استفاده در محیط کشت می‌باشد که بخش عمده‌ای از هزینه را به خود اختصاص می‌دهد. استفاده از شکر معمولی به‌جای ساکارز می‌تواند این هزینه را ۷۰-۸۰ درصد کاهش دهد (۱۵) و در برخی موارد تأثیر مثبتی بر ریزازدیادی داشته باشد. در مطالعه‌ای که بین ساکارز آزمایشگاهی و شکر معمولی در ریزازدیادی موز صورت گرفته است، مشخص شد که شکر معمولی نتایج بهتری نسبت به ساکارز آزمایشگاهی داشته است (۱۴). آگار، عمومی‌ترین عامل ژلی مورد استفاده در محیط کشت می‌باشد که پلی ساکاریدی با وزن ملکولی بالا بوده و از جلبک قرمز استخراج می‌شود (۷). فیتاژل، ژل دیگری است که در محیط کشت استفاده می‌شود که این عامل ژلی نیز نوعی پلی ساکارید بوده و از باکتری *Pseudomonas elodea* به‌دست می‌آید (۲۰). در برخی از گزارش‌ها در

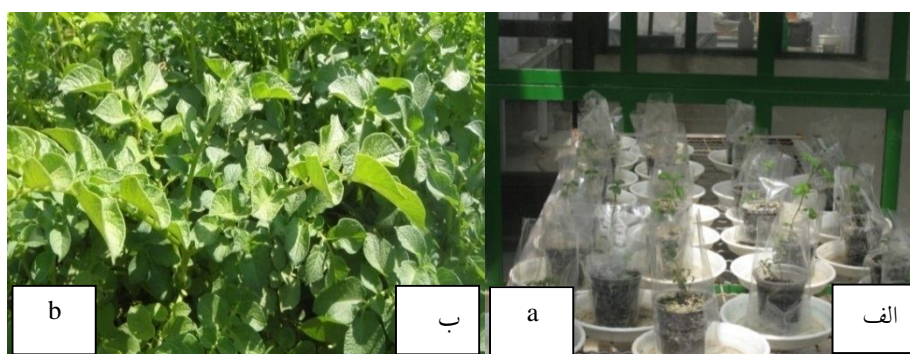
۷ گرم در لیتر و فیتاژل به مقدار ۳/۵ گرم در لیتر)، سه منبع هیدرات کربن، (ساکارز آزمایشگاهی، شکر معمولی و شکر قهوه‌ای، هریک به مقدار ۳۰ گرم در لیتر) و ظروف کشت مختلف (لوله آزمایش، ظرف شیشه‌ای با ابعاد ۱۱۰×۶۰ میلی‌متر، ظرف شیشه‌ای با ابعاد ۱۵۰×۹۵ میلی‌متر و ظروف مکعبی از جنس پلی پروپیلن با ابعاد ۹۰×۹۰×۱۱۰ میلی‌متر) روی ریزازدیادی با استفاده از محیط کشت پایه MS و نیز ریزغده‌زایی گیاهان حاصله بررسی شده است. بررسی هر کدام از عوامل مذکور به‌طور مستقل و به‌صورت آزمایش فاکتوریل (فاکتور اول نوع عامل ژلی، نوع منبع هیدرات کربن یا نوع ظرف کشت بود و رقم سیب‌زمینی فاکتور دوم را تشکیل می‌داد) در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی و با ۱۰ تکرار (هر تکرار شامل یک ریزنمونه گره‌ای بود) انجام شد. در هر سه آزمایش، شاهد شامل یک لوله آزمایش (۲ × ۲۰ سانتی‌متر) حاوی ۲۵ میلی‌لیتر محیط کشت MS بود. کشت‌ها در اتاق رشد کنترل شده با دمای °C ۲۵ و در شرایط ۸ ساعت تاریکی و ۱۶ ساعت روشنایی (۶۰۰۰ لوکس) نگهداری شدند. بعد از ۳۰ روز، صفات مختلفی شامل متوسط طول ساقه، طول ریشه، تعداد ریشه، تعداد و اندازه برگ در هر گیاهچه بررسی شدند. در مرحله بعد، گیاهان نسبت به شرایط برون شیشه‌ای سازگار شده و سپس جهت غده‌زایی به مزرعه‌ای در شهر دماوند (از نظر شرایط آب و هوایی یکی از مناسب‌ترین مناطق برای کشت سیب‌زمینی در استان تهران است) منتقل شدند و در انتهای دوره رشد، گیاهان از نظر متوسط تعداد و وزن غده در هر گیاه مورد بررسی قرار گرفتند (شکل ۱).

ریزازدیادی سیب‌زمینی از آگار (۱۶) و در برخی دیگر از فیتاژل به‌عنوان منبع عامل ژلی استفاده شده است (۲۰)، اگرچه استفاده از سایر منابع عامل ژلی نیز گزارش شده‌اند. در مطالعه‌ای که به‌منظور مقایسه آگار و ژلرایت صورت گرفته، نتایج نشان داد که برای صفات تعداد ریزغده و میانگین وزن ریزغده، ژلرایت نتیجه بهتری نسبت به آگار داشته است (۱۹). نوع عامل ژلی مورد استفاده می‌تواند روی آزمایش‌های کشت بافت تأثیر بگذارد. همچنین نوع و اندازه ظرف کشت یکی از عوامل مهم در ریزازدیادی از طریق کشت بافت می‌باشد که می‌تواند از طریق تغییر ترکیب گازی فضای داخل و نفوذ نور، روی رشد و نمو مواد گیاهی درون‌شیشه‌ای تأثیر داشته باشد. بنابراین روی طول نوساقه، میزان و سرعت ریزازدیادی، افزایش وزن تر و میزان شیشه‌ای شدن مواد گیاهی تأثیر دارد (۶).

با توجه به موارد فوق‌الذکر، هرکدام از این عوامل نقش کلیدی در رشد و نمو گیاه دارند و به همین علت در محیط‌های کشت به آن‌ها توجه می‌شود. در بعضی موارد، تغییر در نوع و غلظت آن‌ها می‌تواند منجر به بهینه‌سازی پاسخ گیاهان در شرایط کشت بافت شود. لذا هدف از این تحقیق، بررسی اثرات دو عامل ژلی، سه نوع منبع هیدرات کربن و چهار ظرف کشت مختلف روی ریزازدیادی گیاه سیب‌زمینی و نیز ریزغده‌زایی گیاهان حاصله بوده است.

مواد و روش‌ها

این تحقیق روی سه رقم تجاری شامل آگریا، مارفونا و ساوالان که بیشترین سطح زیر کشت را در ایران به خود اختصاص داده‌اند، انجام شده است. در این پژوهش از گیاهان سیب‌زمینی حاصل از کشت مریستم (۱۳) ارقام مذکور به‌عنوان مواد اولیه گیاهی استفاده شد و اثرات دو عامل ژلی (آگار آگار به مقدار



شکل ۱- گیاهان سیب‌زمینی ریزازدیادی شده: الف) مرحله سازگار شدن، ب) کشت در مزرعه.

Figure 1. Micropropagated potato plants: a) Acclimatization stage b) Plants in the field.

روش‌های ناپارامتری استفاده گردید. کلیه تجزیه‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام شدند.

نتایج و بحث

بر اساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱)، اثر ساده عامل ژلی در هر دو صفت طول ساقه و طول ریشه معنی‌دار بود ولی اثر رقم و برهمکنش عامل ژلی در رقم برای هیچکدام از صفات معنی‌دار نبود، لذا می‌توان برای اثر اصلی عامل ژلی، مقایسه میانگین بر اساس حداقل اختلاف معنی‌دار انجام داد. بر این اساس گیاهچه‌های باززایی شده در تیمار ۱ (ژل آگارآگار) بیشترین طول ساقه و بیشترین طول ریشه را داشتند (جدول ۲). برای صفات تعداد ریشه، تعداد گره، اندازه و تعداد برگ‌های گیاهچه که از آماره کای اسکوتر استفاده گردیده است، تفاوت‌های معنی‌داری بین ترکیبات تیماری برای صفات تعداد ریشه، تعداد گره و اندازه برگ در هر گیاهچه مشاهده گردید، ولی در صفت تعداد برگ‌های گیاهچه، هیچ تفاوت معنی‌داری ملاحظه نگردید (جدول ۳).

برای صفات میانگین طول نوساقه، طول ریشه در هر گیاهچه و میانگین وزن هر ریزغده سیب‌زمینی در هر گیاه که ماهیت کمی داشته و بر اساس آزمون نرمالیتی کلموگراف و اسمیروف (۱۰) نرمال بودند، تجزیه واریانس بر اساس آزمایش فاکتوریل و در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی صورت گرفت و برای مقایسه میانگین آن‌ها از آزمون حداقل اختلافات معنی‌دار (LSD) استفاده شد. برای صفات تعداد ریشه، تعداد گره و تعداد ریزغده سیب‌زمینی در هر گیاه با توجه به معنی‌دار نشدن آزمون نرمالیتی داده‌ها و عدم تأثیر تبدیل داده در این وضع، مجاز به استفاده از روش‌های پارامتری از قبیل تجزیه واریانس و مقایسه میانگین (از قبیل آزمون LSD یا دانکن) نبوده لذا از روش‌های ناپارامتری استفاده گردید. برای این منظور از آزمون کروسکال والیس (۲۱) برای پی بردن به اختلافات بین تمام ترکیبات تیماری و آزمون مان ویتنی (۳) برای مشخص کردن اختلافات دو به دو استفاده شد. در خصوص صفت اندازه برگ، این صفت به صورت کلی و از طریق اطلاق کد بررسی شدند و به همین دلیل برای این صفت نیز از

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس برای اثر عامل ژلی روی طول نوساقه و طول ریشه در هر گیاهچه سیب زمینی.

Table 1. Analysis of variance for the effect of gelling agent on the shoot length and root length per potato plantlet.

منابع تغییر S.O.V.	درجه آزادی DF	میانگین طول ریشه در هر گیاهچه (سانتی متر) Mean of root length per plantlet (cm)	طول نوساقه در هر گیاهچه (سانتی متر) Shoot length per plantlet (cm)
عامل ژلی (gelling agent)	1	6.60**	7.42**
رقم (cultivar)	2	0.04 ^{ns}	0.14 ^{ns}
عامل ژلی × رقم (cultivar × gelling agent)	2	0.01 ^{ns}	0.32 ^{ns}
خطا (error)	54	0.18	0.25

** و ^{ns} ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد، و غیرمعنی دار.

^{ns} and ** non-significant and significant at 0.01 probability level, respectively.

جدول ۲- مقایسه میانگین دو سطح عامل ژلی برای صفات طول نوساقه و طول ریشه در هر گیاهچه سیب زمینی.

Table 2. Mean comparison of two gelling agent levels on shoot length and root length per potato plantlet.

تیمار Treatment	میانگین طول ریشه در هر گیاهچه (سانتی متر) Mean of root length per plantlet (cm)	طول نوساقه در هر گیاهچه (سانتی متر) Shoot length per plantlet (cm)
آگار آگار (Agar Agar)	6.06 a	5.16 a
فیتاژل (Phytigel)	5.31 b	4.5 b

میانگین هایی که در یک ستون حروف مشابهی دارند از لحاظ آماری در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی داری ندارند.

Means followed by the same letter(s) are not significantly different at 0.05 level of probability.

جدول ۳- نتایج آزمون ناپارامتری کروسکال-والیس برای بررسی اثر عامل ژلی روی صفات تعداد ریشه، اندازه برگ، تعداد برگ و تعداد گره در هر گیاهچه سیب زمینی.

Table 3. Results of chi-square statistics of Kruskal-Wallis nonparametric test for investigating the effect of gelling agent on the number of roots, leaf size, leaf number and number of nodes per potato plantlet.

	تعداد ریشه در هر گیاهچه Number of roots per plantlet	اندازه برگ هر گیاهچه Leaf size per plantlet	تعداد برگ در هر گیاهچه Number of leaves per plantlet	تعداد گره در هر گیاهچه Number of nodes per plantlet
آماره کای اسکوئر (Chi-Square)	34.85**	36.34**	4.54**	42.41**
درجه آزادی (DF)	5	5	5	5

** معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد.

** Significant at 0.01 probability level

صفت تعداد گره در هر گیاهچه رقم مارفونا، ژل فیتاژل بهتر از ژل آگار آگار بود.

مقایسات جفتی با آزمون ناپارامتری مان ویتنی نشان داد (جدول ۴) که هر سه رقم در تیمار اول (ژل آگار آگار) در دو صفت تعداد ریشه و تعداد برگ در هر گیاهچه بهتر از تیمار دوم (فیتاژل) بودند ولی برای

جدول ۴- مقایسه میانگین جفتی تیمارها با آزمون ناپارامتری مان- ویتنی برای بررسی اثر عامل ژلی روی صفات تعداد ریشه، اندازه برگ و تعداد گره در هر گیاهچه سیب‌زمینی.

Table 4. Pair mean comparison of the treatments using Mann-Whitney nonparametric test for the effect of gelling agent on the number of roots, leaf size and number of nodes per potato plantlet

تیمار (Treatment)	رقم (Cultivar)	میانگین اصلی (Grand mean)	تعداد گره در هر گیاهچه Number of nodes per plantlet		اندازه برگ هر گیاهچه Leaf size per plantlet		تعداد ریشه در هر گیاهچه Number of roots per plantlet	
			میانگین رتبه (Mean Rank)	میانگین اصلی (Grand mean)	میانگین رتبه (Mean Rank)	میانگین اصلی (Grand mean)	میانگین رتبه (Mean Rank)	میانگین اصلی (Grand mean)
آگار آگار (Agar Agar)	اگریا (Agria)	4.4 e	40.4	1.3 a	26.5	4.6 a	42.9	
	مارفونا (Marfona)	4.6 de	41.9	1.4 a	29.1	4.7 a	43.5	
	ساوالان (Savalan)	4.4 e	39.9	1.3 a	25.5	4.7 a	41.2	
فیتاژل (Phytigel)	اگریا (Agria)	3.7abc	26.4	1.4 a	29.5	2.6 b	14.0	
	مارفونا (Marfona)	2.9 a	11.9	1.5 a	32.3	3.0 b	19.8	
	ساوالان (Savalan)	3.7abc	24.4	1.7 a	38.1	3.1 b	20.2	

میانگین‌هایی که در یک ستون حروف مشابهی دارند از لحاظ آماری در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

Means followed by the same letter(s) are not significantly different at 0.05 level of probability

فیتاژل و در گلایل، آگار تعداد نوساقه بیشتری تولید کرده‌اند. البته برای سایر صفات مطالعه شده، نتایج متفاوت دیگری به‌دست آمده است (۱۲). این نتایج نشان می‌دهد که نوع عامل ژلی در گیاهان متفاوت است و ضمناً صفات مختلف ممکن است نتایج متفاوتی داشته باشند.

بر اساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۵)، اثر ساده عامل منبع هیدرات کربن در دو صفت طول ساقه و میانگین طول ریشه در هر گیاهچه دارای تفاوت معنی‌دار بود ولی این عامل روی صفت میانگین وزن ریزغده‌های تولید شده در هر گیاه اثر معنی‌داری نداشت. اثر اصلی رقم و همچنین برهمکنش تیمار و رقم برای هیچکدام از صفات مورد مطالعه معنی‌دار نبود.

همچنین در هر سه رقم، در صورت استفاده از آگار آگار، کالوسی مشاهده نگردید ولی در هنگام استفاده از فیتاژل در هر سه رقم کالوس مشاهده شد. بر اساس این نتایج بهتر است که برای کشت ریزنمونه‌های گره‌ای سیب‌زمینی از ژل آگار آگار استفاده شود. به‌طورکلی آگار عمومی‌ترین عامل ژلی است که در ریزازدیادی مورد استفاده قرار می‌گیرد. در مطالعه‌ای که روی ژنوتیپ‌های مختلف سیب‌زمینی صورت گرفته است نتایج نشان داد که عامل ژلی آگار به‌طور معنی‌داری سرعت ریزازدیادی را در اکثر ژنوتیپ‌ها در مقایسه با فیتاژل افزایش داده است (۱۶)، اگرچه در گزارش دیگری ژلرایت نتایج بهتری از آگار داشته است (۲۰). در تحقیقی که مقایسه‌ای بین فیتاژل و آگار در ریزازدیادی رز مینیاتوری و گلایل صورت گرفته است، مشخص شده است که برای صفت تعداد نوساقه در رز مینیاتوری، استفاده از

مقایسه میانگین (جدول ۶) نشان داد که استفاده از طول ریشه در هر گیاهیچه شده است. شکر قهوه‌ای باعث بیشترین طول نوساقه و میانگین

جدول ۵- نتایج تجزیه واریانس برای بررسی اثر منبع هیدرات کربن روی صفات طول نوساقه، طول ریشه در هر گیاهیچه و میانگین وزن ریزغده در هر گیاه سیب‌زمینی.

Table 5. Analysis of variance for the effect of carbohydrate source on the shoot length, root length and minituber weight per potato plantlet

منابع تغییر S.O.V.	درجه آزادی DF	میانگین وزن ریزغده در هر گیاه (گرم) Mean of minituber weight per plant (g)	میانگین طول ریشه در هر گیاهیچه (سانتی‌متر) Mean of root length per plantlet (cm)	طول نوساقه در هر گیاهیچه (سانتی‌متر) Shoot length per plantlet (cm)
منبع هیدرات کربن (carbohydrate sources)	2	14325.80 ^{ns}	45.34 ^{**}	73.90 ^{**}
رقم (cultivar)	2	12553.10 ^{ns}	0.87 ^{ns}	0.20 ^{ns}
هیدرات کربن × رقم (cultivar × carbohydrate sources)	4	13451.20 ^{ns}	0.53 ^{ns}	0.19 ^{ns}
خطا (error)	81	13451.9	0.27	0.24

** و ns به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد، و غیرمعنی‌دار.

^{ns} and ^{**} non-significant and significant at 0.01 probability level, respectively.

جدول ۶- مقایسه میانگین تیمارها برای بررسی اثر منبع هیدرات کربن روی صفات طول نوساقه، طول ریشه و وزن ریزغده در هر گیاه سیب‌زمینی.

Table 6. Mean comparison for the effect of carbohydrate source on the shoot length, root length and minituber weight per potato plant.

تیمار* Treatment	میانگین وزن ریزغده در هر گیاه (گرم) Mean of minituber weight per plant (g)	میانگین طول ریشه در هر گیاهیچه (سانتی‌متر) Mean of root length per plantlet (cm)	طول ساقه در هر گیاهیچه (سانتی‌متر) Shoot length per plantlet (cm)
شاهد (Control)	10.54 a	4.16 c	5.06 b
تیمار ۲ (Treatment 2)	9.98 a	6.61 a	7.07 a
تیمار ۳ (Treatment 3)	9.73 a	4.9 b	4.91 b

* تیمارهای ۲ و ۳: به ترتیب شکر قهوه‌ای و ساکارز آزمایشگاهی.

Treatments 2 and 3: grade sucrose, and brown sugar, respectively.

میانگین‌هایی که در یک ستون حروف مشابهی دارند از لحاظ آماری در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

Means followed by the same letter(s) are not significantly different at 0.05 level of probability.

بر اساس آماره کای اسکوتر آزمون ناپارامتری
کروسکال والیس (جدول ۷)، بین ترکیبات تیماری
مورد مطالعه، تفاوت‌های معنی‌داری برای صفات
تعداد گره و اندازه برگ در هر گیاهیچه و تعداد غده
در هر گیاه مشاهده گردید، ولی در صفت تعداد ریشه
در هر گیاهیچه هیچ تفاوت معنی‌داری ملاحظه

ریزازدیادی گیاه سیبزمینی در ارقام Tigoni، Asante و Kenya Sifa نیز مشاهده شده است (۴). دلیل رشد بهتر گیاهان در هنگام استفاده از شکر قهوه‌ای می‌تواند به دلیل مواد مفیدی باشد که در پروسه تولید شکر سفید از شکر قهوه‌ای حذف می‌شوند. از طرفی قیمت شکر قهوه‌ای در مقایسه با ساکارز و حتی شکر سفید معمولی بسیار پایین‌تر می‌باشد. به طوری که امروزه در بسیاری از کشورها از شکر معمولی بجای ساکارز جهت ریزازدیادی استفاده می‌شود (۱۵).

نگردید. مقایسات جفتی با آزمون ناپارامتری مان ویتنی نشان داد (جدول ۸) که در صفت تعداد گره در هر گیاهچه، ارقام آگریا و ساوالان در تیمار ۳ (استفاده از ساکارز آزمایشگاهی)، رقم آگریا در تیمار ۲ (استفاده از شکر قهوه‌ای) و رقم ساوالان در تیمار شاهد (شکر سفید معمولی) بیشترین مقدار را دارا بودند. در مورد صفت اندازه برگ در هر گیاهچه نیز تیمار ۲ (استفاده از شکر قهوه‌ای) در هر سه رقم بیشترین مقدار را دارا بود. از نظر تعداد ریزغده در هر گیاه نیز رقم مارفونا بیشترین تعداد و رقم آگریا کمترین تعداد را داشتند. اثر مثبت شکر قهوه‌ای در

جدول ۷- نتایج آزمون ناپارامتری کروسکال-والیس برای اثر منبع هیدرات کربن روی صفات تعداد ریشه، اندازه برگ، تعداد گره در هر گیاهچه و تعداد ریزغده در هر گیاه سیبزمینی.

Table 7. Results of chi-square statistics of Kruskal-Wallis nonparametric test for the effect of carbohydrate source on the number of roots, leaf size, number of nodes and number of minituber per potato.

	تعداد ریزغده در هر گیاهچه number of minitubers per plantlet	تعداد گره در هر گیاهچه number of nodes per plantlet	اندازه برگ در هر گیاهچه leaf size per plantlet	تعداد ریشه در هر گیاهچه number of roots per plantlet
آماره کای اسکوئر Chi-Square	70.31**	50.42**	38.99**	3.42 ^{ns}
درجه آزادی DF	8	8	8	8

** و ns به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد و غیرمعنی دار.

^{ns} and ** non-significant and significant at 0.01 probability level, respectively.

جدول ۸- مقایسه میانگین جفتی تیمارها با آزمون ناپارامتری مان- ویتنی برای بررسی اثر منبع هیدرات کربن روی صفات اندازه برگ، تعداد گره در هر گیاهچه و تعداد ریزغده در هر گیاه سبب زمینی.

Table 8. Pair mean comparison of the treatments using Mann-Whitney nonparametric test for investigating the effect of carbohydrate source on the leaf size, number of nodes per plantlet and number of minitubers per potato plant

تیمار (Treatment)	رقم (Cultivar)	تعداد ریزغده در هر گیاه		تعداد گره در هر گیاهچه		اندازه برگ در هر گیاهچه	
		Number of minitubers per plant		Number of nodes per plantlet		Leaf size per plantlet	
		میانگین اصلی (Grand mean)	میانگین رتبه (Mean Rank)	میانگین اصلی (Grand mean)	میانگین رتبه (Mean Rank)	میانگین اصلی (Grand mean)	میانگین رتبه (Mean Rank)
تیمار شاهد (Control)	اگریا (Agria)	3.9 c	12.9	4.6 b	35.3	1.3 b	31.5
	مارفونا (Marfona)	11.8 a	73.3	4.6 b	34.3	1.4 b	35.3
	ساوالان (Savalan)	8.8 b	48.9	4.4 a	30.7	1.3 b	31.8
تیمار ۲ (Treatment 2)	اگریا (Agria)	5.1 c	21.2	6.4 a	71.8	2.2 a	66.5
	مارفونا (Marfona)	11.7 a	71.6	6.6 b	75.1	2.5 a	66.3
	ساوالان (Savalan)	9.2 b	52.2	6.2 b	68.4	2.6 a	69.5
تیمار ۳ (Treatment 3)	اگریا (Agria)	4.3 c	15.3	4.4 a	30.7	1.6 b	40.1
	مارفونا (Marfona)	11.6 a	72.1	4.5 a	33.2	1.4 b	35.2
	ساوالان (Savalan)	8.1 b	42.6	4.4 b	29.4	1.3 b	31.8

تیمارهای ۲ و ۳: به ترتیب شکر قهوه‌ای و ساکارز آزمایشگاهی.

Treatments 2 and 3: grade sucrose, and brown sugar, respectively.

میانگین‌هایی که در یک ستون حروف مشابهی دارند از لحاظ آماری در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

Means followed by the same letter (s) are not significantly different at 0.05 level of probability.

میانگین وزن ریزغده در هر گیاه معنی‌دار شده و همچنین برهمکنش تیمار در رقم برای هیچکدام از صفات معنی‌دار نبود لذا فقط برای اثرات اصلی مقایسه میانگین انجام شد.

بر اساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۹)، اثر عامل ساده نوع ظرف کشت در هر سه صفت طول نوساقه و میانگین طول ریشه و وزن ریزغده در هر گیاهچه معنی‌دار شده است. اثر اصلی رقم فقط برای

جدول ۹- نتایج تجزیه واریانس تیمارها برای بررسی اثر نوع ظرف کشت روی صفات طول نوساقه، طول ریشه در هر گیاهچه و وزن ریزغده در هر گیاه سیب زمینی.

Table 9. Analysis of variance for investigating the effect of culture container on the shoot length, root length and mean of minituber weight per potato plantlet.

منابع تغییر S.O.V.	درجه آزادی DF	میانگین وزن ریزغده در هر گیاه (گرم) Mean of minituber weight per plant (g)	میانگین طول ریشه در هر گیاهچه (سانتی متر) Mean of root length per plantlet (cm)	طول نوساقه در هر گیاهچه (سانتی متر) Shoot length per plantlet (cm)
نوع ظرف (culture container)	3	16.81**	28.34**	732.90**
رقم (cultivar)	2	368.10**	0.62 ^{ns}	136.20 ^{ns}
نوع ظرف × رقم (cultivar × culture container)	6	2.21 ^{ns}	0.53 ^{ns}	127.19 ^{ns}
خطا (error)	108	1.9	0.34	93.23

** و ^{ns} به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد و غیرمعنی دار.

^{ns} and ** non-significant and significant at 0.01 probability level, respectively.

بر این اساس (جدول ۱۰)، بیشترین مقدار طول نوساقه و میانگین طول ریشه در هر گیاهچه مربوط به تیمار ۴ (ظروف مکعبی از جنس پلی پروپیلن) و در مورد صفت میانگین وزن ریزغده در هر گیاه نیز بهترین تیمار، شاهد بود. بر اساس نتایج به دست آمده (جدول ۱۱) بیشترین وزن ریزغده در هر گیاه توسط رقم آگریا و کمترین مقدار توسط رقم مارفونا به دست آمد.

جدول ۱۰- مقایسه میانگین ظروف کشت برای صفات طول نوساقه، طول ریشه در هر گیاهچه و وزن ریزغده در هر گیاه سیب زمینی.

Table 10. Mean comparison of culture containers for shoot length, root length per plantlet and minituber weight per potato plant

تیمارها Treatments	میانگین وزن ریزغده در هر گیاه (گرم) Mean of minituber weight per plant (g)	میانگین طول ریشه در هر گیاهچه (سانتی متر) Mean of root length per plantlet (cm)	طول ساقه در هر گیاهچه (سانتی متر) Shoot length per plantlet (cm)
تیمار ۱ (Treatment 1)	11.54 a	4.16 d	6.06 b
تیمار ۲ (Treatment 2)	9.98 c	8.31 c	10.16 b
تیمار ۳ (Treatment 3)	9.73 b	9.91 b	11.91 b
تیمار ۴ (Treatment 4)	9.6bc	11.77 a	17.96 a

تیمارهای ۱، ۲، ۳ و ۴: به ترتیب لوله آزمایش، ظرف شیشه‌ای با ابعاد ۱۱۰×۶۰ میلی‌متر، ظرف شیشه‌ای با ابعاد ۱۵۰×۹۵ میلی‌متر و ظرف مکعبی از جنس پلی پروپیلن با ابعاد ۹۰×۹۰×۱۱۰ میلی‌متر.

Treatments 1, 2, 3 and 4: test tube, glass bottle (110 × 60 mm), glass bottle (150 × 95 mm), polypropylene container (90 × 90 × 110 mm), respectively.

میانگین‌هایی که در یک ستون حروف مشابهی دارند از لحاظ آماری در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

Means followed by the same letter(s) are not significantly different at 0.05 level of probability.

جدول ۱۱- مقایسه میانگین ارقام آگریا، مارفونا و ساوالان برای صفات مورد مطالعه در آزمایش بررسی اثر نوع ظرف کشت در ریزازدیادی گیاه سیب‌زمینی.

Table 11. Mean comparison of the treatments for cultivars Agria, Marfona and Savalan in investigating the effect of the culture container on potato micropropagation.

رقم Cultivar	میانگین وزن ریزغده در هر گیاه (گرم) Mean of minituber weight per plant (g)	میانگین طول ریشه در هر گیاهچه (سانتی‌متر) Mean of root length per plantlet (cm)	طول ساقه در هر گیاهچه (سانتی‌متر) Shoot length per plantlet (cm)
آگریا (Agria)	13.53 a	8.92 a	10.3 a
مارفونا (Marfona)	7.46 c	8.45 a	13.66 a
ساوالان (Savalan)	10.31 b	8.41 a	10.7 a

میانگین‌هایی که در یک ستون حروف مشابهی دارند از لحاظ آماری در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

Means followed by the same letter(s) are not significantly different at 0.05 level of probability

گیاهچه نیز تیمار ۴ (ظرف مکعبی از جنس پلی پروپیلن) در هر سه رقم بیشترین مقدار را دارا بود. از نظر تعداد ریشه در هر گیاهچه، رقم مارفونا در تیمار ۲ (ظرف شیشه‌ای با ابعاد ۱۱۰×۶۰ میلی‌متر)، بیشترین مقدار را به خود اختصاص داد. از نظر تعداد ریزغده در هر گیاه نیز رقم مارفونا بیشترین تعداد و رقم آگریا کمترین تعداد را داشتند. نتایج تحقیقی که در ریزازدیادی هلو (۹) و همچنین موز (۸) صورت گرفته است نیز رشد بهتر این گیاهان در ظروف مکعبی از جنس پلی پروپیلن را تأیید می‌کند.

بر اساس آماره کای اسکوتر آزمون ناپارامتری کروسکال والیس (جدول ۱۲)، بین ترکیبات مختلف تیماری، تفاوت‌های معنی‌داری برای صفات تعداد گره و اندازه برگ و تعداد ریشه و تعداد ریزغده در هر گیاه مشاهده گردید. مقایسات جفتی با آزمون ناپارامتری مان ویتنی نشان داد (جدول ۱۳) که در صفت تعداد گره در هر گیاهچه، رقم مارفونا در تیمار ۲ (ظرف شیشه‌ای با ابعاد ۱۱۰×۶۰ میلی‌متر) بیشترین تعداد و هر سه رقم در تیمار ۱ (لوله آزمایش) کمترین تعداد را داشتند. در مورد صفت اندازه برگ در هر

جدول ۱۲- نتایج آزمون ناپارامتری کروسکال- والیس در آزمایش بررسی اثر نوع ظرف روی صفات تعداد ریشه، اندازه برگ، تعداد گره در هر گیاهچه و تعداد ریزغده در هر گیاهچه در ریزازدیادی گیاه سیب‌زمینی.

Table 12. Results of chi-square statistics of Kruskal-Wallis nonparametric test for investigating the effect of culture container on the number of roots, leaf size, number of nodes and number of minituber per potato plant.

	تعداد ریزغده در هر گیاهچه number of minitubers per plantlet	تعداد گره در هر گیاهچه number of nodes per plantlet	اندازه برگ در هر گیاهچه leaf size per plantlet	تعداد ریشه در هر گیاهچه number of roots per plantlet
آماره کای اسکوتر Chi-Square	103.31**	77.42**	97.99**	60.42**
درجه آزادی DF	11	11	11	11

** و ^{ns} به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد و غیرمعنی‌دار.

^{ns} and ** non-significant and significant at 0.01 probability level, respectively.

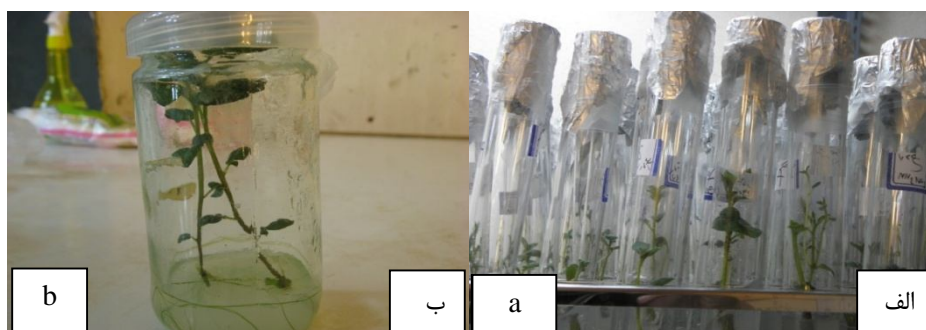
جدول ۱۳- مقایسه میانگین جفتی تیمارها با آزمون ناپارامتری مان-ویتنی برای بررسی اثر نوع ظرف کشت روی صفات تعداد ریشه، اندازه برگ، تعداد گره در هر گیاهچه و تعداد ریزغده در هر گیاه سیبزمینی.

Table 13. Pair mean comparison of the treatments using Mann-Whitney nonparametric test for investigating the effect of culture container on the number of roots, leaf size, number of nodes per plantlet and number of minitubers per potato plant.

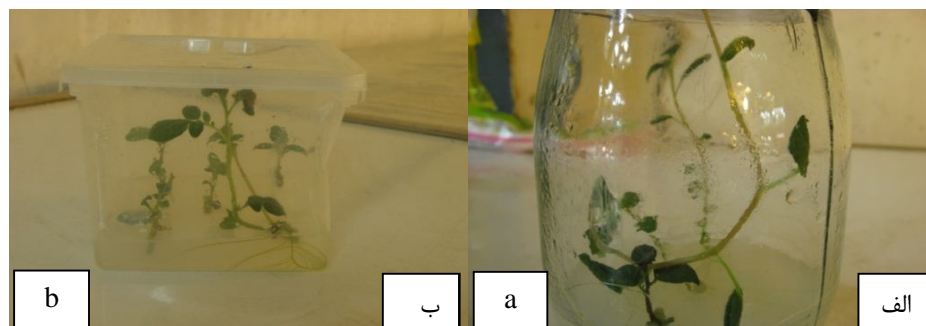
تیمارها (Treatments)	رقم (Cultivar)	تعداد ریزغده در هر گیاه Number of minitubers per plant		تعداد گره در هر گیاهچه Number of nodes per plantlet		اندازه برگ در هر گیاهچه Leaf size per plantlet		تعداد ریشه در هر گیاهچه Number of roots per plantlet	
		میانگین اصلی Grand) (mean	میانگین رتبه Mean) (Rank	میانگین اصلی Grand) (mean	میانگین رتبه Mean) (Rank	میانگین اصلی Grand) (mean	میانگین رتبه Mean) (Rank	میانگین اصلی Grand) (mean	میانگین رتبه Mean) (Rank
تیمار ۱ (Treatment 1)	اگریا (Agria)	9.3 ^e	17.2	1.3 ^c	15.2	1.4 ^d	15.3	4.6 ^c	18.6
	مارفونا (Marfona)	3.12 ^a	105.6	1.4 ^c	16.1	1.3 ^d	16.7	4.7 ^c	22.4
	ساوالان (Savalan)	8.7 ^c	67.2	1.3 ^c	15.2	1.4 ^d	15.3	4.7 ^c	22.5
تیمار ۲ (Treatment 2)	اگریا (Agria)	4.5 ^e	23.7	2.6 ^{ab}	71.4	3.1 ^c	51.5	6.7 ^c	68.4
	مارفونا (Marfona)	12.0 ^a	102.1	2.5 ^a	89.3	3.2 ^c	54.3	7.3 ^{ab}	80.4
	ساوالان (Savalan)	8.1 ^{cd}	58.1	2.5 ^{ab}	83.7	3.1 ^c	49.1	6.1 ^{ab}	66.5
تیمار ۳ (Treatment 3)	اگریا (Agria)	4.4 ^e	23.3	3.3 ^{ab}	71.9	3.7 ^b	72.5	6.9 ^{ab}	76.7
	مارفونا (Marfona)	11.8 ^a	101.4	2.8 ^{ab}	83.5	3.8 ^b	76.2	6.8 ^{ab}	72.7
	ساوالان (Savalan)	8.9 ^c	67.8	3.2 ^{ab}	73.6	4.1 ^b	81.6	6.4 ^b	62.9
تیمار ۴ (Treatment 4)	اگریا (Agria)	4.3 ^e	21.4	2.8 ^{ab}	70.1	4.7 ^a	97.3	6.6 ^{ab}	67.7
	مارفونا (Marfona)	10.1 ^b	86.9	2.4 ^b	61.6	4.7 ^a	97.9	6.9 ^{ab}	74.8
	ساوالان (Savalan)	7.3 ^d	51.2	2.5 ^{ab}	73.7	4.7 ^a	97.8	7.6 ^a	94.4

میانگین‌هایی که در یک ستون حروف مشابهی دارند از لحاظ آماری در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

Means followed by the same letter(s) are not significantly different at 0.05 level of probability.



شکل ۲- گیاهچه‌های سیب‌زمینی درون شیشه‌ای، سه هفته پس از کشت در الف) لوله آزمایش ب) ظرف شیشه‌ای (۱۱۰×۶۰ میلی‌متر).
Figure 2. *In vitro* potato plantlets, three weeks after culture in :a) Test tube and b) Glass Bottle (110 × 60 mm)



شکل ۳- گیاهچه‌های سیب‌زمینی درون شیشه‌ای، سه هفته پس از کشت در الف) ظرف شیشه‌ای (۱۵۰×۹۵ میلی‌متر)، ب) ظرف مکعبی از جنس پلی پروپیلن (۹۰×۹۰×۱۱۰ میلی‌متر).
Figure 3. *In vitro* potato plantlets, three weeks after culture in :a) Glass Bottle (150 × 95 mm) and b) Polypropylene container (90 × 90 × 110 mm).

نسبی داخل ظرف و نیز گازهایی مانند اتیلن در حالت ایتیمم قرار گیرند و در نتیجه رشد و نمو بسیار خوب حاصل شود و ضمناً از شیشه‌ای شدن گیاهچه‌ها و رشد و نمو غیر طبیعی آن‌ها جلوگیری شود. اجزا محیط کشت یعنی نمک‌ها، منبع هیدرات کربن، عامل ژلی و همچنین ظرف می‌توانند سرعت ریزازدیادی و هزینه‌های تولید را تحت تأثیر خود قرار دهند. مواد شیمیایی محیط کشت کمتر از ۱۵ درصد هزینه تولید را تشکیل می‌دهند (۸) در حالی‌که هزینه‌های مربوط به عامل ژلی و منبع هیدرات کربن حدود ۷۰ درصد را به خود اختصاص می‌دهند، بنابراین با انتخاب مناسب محیط کشت و گاهی اوقات تعویض ظرف کشت و منبع هیدرات کربن می‌توان هزینه‌های تولید را کاهش داده و در زمان صرفه‌جویی نمود.

نتیجه‌گیری کلی

به‌طورکلی در ظروف مکعبی از جنس پلی پروپیلن، رشد و نمو گیاهچه‌ها بسیار ایده‌آل بود و حداقل علائم غیرطبیعی در گیاهان باززایی شده مشاهده می‌شد. گیاهان در ظروف مکعبی از جنس پلی پروپیلن رشد ریشه‌ای بسیار خوبی داشتند و همچنین رشد و نمو اندام‌های هوایی فوق‌العاده بود. رشد و نمو بسیار خوب سیستم ریشه‌ای و اندام‌های هوایی در این ظروف می‌تواند به دلایل مختلفی از جمله ابعاد این ظرف، شکل مکعبی آن و در نتیجه افزایش سطح عبور نور، بهینه بودن فضای داخل ظرف و در نتیجه ترکیب گازی موردنیاز برای رشد و نمو گیاهچه‌ها باشد. همچنین یکی از مهمترین مزایای این ظروف این است که امکان تبادل گازی فضای داخل ظرف با بیرون وجود دارد بگونه‌ای که هیچگونه میکروارگانیسمی وارد نمی‌شود و ضمناً این تبادل گازی باعث می‌شود که میزان رطوبت

منابع

1. Bajaj, Y.P.S. 1986. Biotechnology in agriculture and forestry. 2: Crops. Springer Verlag, Berlin: 1-608.
2. Bowen, W.T. 2003. Water Productivity and Potato Cultivation. In: J.W. Kijne, R. Barker and D. Molden (eds). Water Productivity in Agriculture: Limits and Opportunities for Improvement. CAB International 2003. Pp: 229-238.
3. Corder, W.G., and Foreman, D.I. 2009. Nonparametric Statistics for Non-Statisticians: A step-by-step Approach. Wiley. 264p.
4. Demo, P., Kuria, P., Nyende, A.B., and Kahangi, E.M. 2008. Table sugar as an alternative low cost medium component for *in vitro* micro-propagation of potato (*Solanum tuberosum* L.). Afr. J. Biotechnol, 7(15): 2578-2584.
5. Edwin, F.G., Hall, M.A., and De Klerk, G.J. 2008. Plant Propagation by Tissue Culture. Spinger, Dordrecht, the Netherlands, 479p.
6. Islam, M.D., Dembele, D.P., and Keller, E.R.J. 2005. Influence of explants, temperature and different culture vessels on *in vitro* culture for germplasm maintenance of four mint accessions. Plant. Cell. Tiss. Org. 81: 123-130.
7. Jain, N., and Babbar, S.H. 2002. Gum katira- a cheap gelling agent for plant tissue culture media. Plant. Cell. Tiss. Org. 71: 223-229.
8. Kacar, Y.A., Biçen, B., Varol, I., Mendi, Y.Y., Serçe, S., and Cetiner, S. 2010. Gelling agents and culture vessels affect *in vitro* multiplication of banana plantlets. G.M.R, 9(1): 416-424.
9. Kornova, K., and Popov, S. 2007. Effect of the *in vitro* container type on growth characteristics of the microplants in *in vitro* propagation of GF 677. I Balkan Symp Fruit Grow. 825: 277-282.
10. Korosteleva, O. 2013. Nonparametric Methods in Statistics with SAS Applications. Chapman and Hall/CRC. 195p.
11. Krikorian, A.D. 1995. Hormones in tissue culture and micropropagation. In Davies, P.J. (ed.). Plant hormones: Physiology, Biochemistry and Molecular Biology. Kluwer, Dordrecht, pp. 774-796.
12. Nestakova, M., Havrlentova, M., and Farago, J. 2000. Effect of gelling agents on *in vitro* multiplication of two ornamental plants. Biologica Bratislava, 55(4): 409- 411.
13. Rahimian, N., Moieni, A., and Shams bakhsh, M. 2013. Investigation of some virus – elimination methods and their effects on minituber yield in potato (*Solanum tuberosum* L.). Iran. J. Field Crop Sci., 44: 623- 634. (In Persian)
14. Ramesh, Y., Ramanujam, V., and Ramassamy, V. 2014. Effect of gelling agents and Carbon sources in *in vitro* multiplication of banana (*Musa paradisiaca* L.) var. Robusta. I.J.A.B.I.R, 4(2), Pp: 153-157.
15. Savangikar, V.A. 2002. Role of low cost options in tissue culture. In: Low cost options for tissue culture technology in developing countries. Proc. of technical organized by the joint FAO/IAEA division of nuclear techniques in food and agriculture, 2002, IAEA.
16. Sharma, S., Venkatasalam, EP., Patial, R., Latawa, J., and Singh, S. 2011. Influence of gelling agents and nodes on the growth of potato microplant. Potato J. 38(1): 41-46.
17. Spooner, D.M., McLean, K., Ramsay, G., Waugh, R., and Bryan, G.J. 2005. A single domestication for potato based on multilocus amplified fragment length polymorphism genotyping. PNAS, 102: 14694-99.
18. Struik, P.C. 2007. Above-ground and below-ground plant development. In: D. Vreugdenhil (ed), J. Bradshaw, C., Gebhardt, F., Govers, D.K.L., Mackerron, M.A., Taylor and H.A., Ross. Potato Biology and Biotechnology Advances and Perspectives. Elsevier Ltd, Oxford, UK. 219-236.

19. Uranbey, S., Parmaksız, İ., Sancak, C., Çöçü, S., and Özcan, S. 2004. Temperature and gelling agent effects on in vitro microtuberization of potato (*Solanum tuberosum* L.). *Biotechnol Biotec EQ*, 18(2): 89-94.
20. Veramendi, J., Villafranca, M.J., Sota, V., and Mingo-Castel, A.M. 1997. Gelrite as an alternative to agar for micropropagation and microtuberization of *Solanum tuberosum* L. cv. Baraka. *In Vitro Cellular Dev. Biol- Plant*, 33: 195-199.
21. Wasserman, L. 2007. *All of Nonparametric Statistics*. Springer. 270p.

