

감자의 耐暑性 器內檢定 및 真正種子의 器內塊莖形成體系 開發

金賢準* · 金和泳¹ · 柳承烈 · 金竝鉉 · 金正幹

農村振興廳 高嶺地農業試驗場, ¹江陵大學校 生命科學大學 園藝學科

Development of *In vitro* Systems for Heat Tolerance Screening and Tuberization of True Potato Seeds

KIM, Hyun Jun* · KIM, Hwa Yeong¹ · RYU, Seung Yeol · KIM, Byeong Hyeon · KIM, Jeong Kan

Alpine Agricultural Experiment Station, RDA, Pyeongchang, 232-950, Korea; and

¹Dept. of Horticulture, Kangnung National University, Kangnung, 210-702, Korea. *Corresponding author

For the establishment of early selection of heat-tolerant clones through *in vitro* tuberization of true potato seeds, different temperature treatments for *in vitro* tuberization were investigated. The ratios of tuberization at 20°C on var. Superior and DTO-33 treated with 5 mg/L of BAP and 500 mg/L of CCC, were 85 % and 92 %, respectively. At 30°C, the ratio of tuberization on DTO-33 was 37 %, which revealed strongly heat-tolerant clone. In culture system of *in vitro* tuberization, the number of tubers per flask at 20°C on non-subculture incubation was more than that on subculture incubation. The condition of non-subculture and short-day treatment for 4 weeks was good for production as 10.6 tubers per flask, which was very similar to that of long-day treatment. On the other hand, tuber diameter on long-day treatment was greater as 11.2 mm than on short-day treatment. Therefore, *in vitro* tuberization from true potato seeds could be induced under the condition of long-day treatment at darkness.

Key words: subculture, DTO-33, true potato seed, *Solanum tuberosum* L. Superior.

감자는 저온성작물로서 대부분의 감자 품종은 25°C 이상의 고온에서 재배할 경우 塊莖의 형성 및 비대가 저해되어 수량이 크게 감소된다(Bodlaender et al., 1964). 반면에 耐暑性 감자 품종의 경우는 25°C 이상의 高溫에서도 수량이 크게 감소되지 않는다(Levy, 1991). 그러나 내서성 검정은 일반적으로 平暖地 高溫條件에서 포장검정에 의존하고 있어 감자의 바이러스를 매개하는 진딧물의 밀도가 높아 種薯의 바이러스 感染率이 높다(Kozlowska, 1963).

현행의 감자 育種體系는 實生 1年次에 真正種子로부터 생산된 작은 塊莖을 實生 2년차에 增殖한 후 實生 3年次에 비로소 收量檢定이 가능한 양의 種薯를 확보할 수 있다. 따라서 현행의 육종체계에서 耐暑性 품종을 육성하기 위해서는 實生 3년차 이후 괴경의 일부를 진딧물의 밀도가 낮은 고랭지에서 栽培하여 種薯를 생산하고 나머지 塊莖은 평난지 고온조건에서 재배하여 내서성을 검정하므로 實生 2년차까지는 耐暑性에 대한 선발이 불가능하고 非耐暑性 系統까지

도 유지증식하여야 한다. 그러나 實生 1년차에 耐暑性을 검정할 수 있는 체계가 확립될 경우 耐暑性 系統의 조기선발이 가능하므로 育種年限의 단축이 가능하다(Henshaw and Roca, 1976; Hussay et al., 1984; Roca et al., 1978).

한편 감자는 生長點培養에 의한 無病個體의 회득 및 新梢의 器內 大量急速增殖이 가능하며(Espinoza et al., 1984), 增殖된 新梢로부터 器內塊莖을 유기할 수 있다는 보고는 있으나(Kim, 1976; Jeoung, 1987), 真正種子를 器內에서 發芽시켜 器內小塊莖을 유기하는 방법은 시도된 바가 없다. 감자 實生의 耐暑性을 器內에서 검정하기 위해서는 우선 真正種子의 발아 및 증식배지 구명과 塊莖形培養 체계의 확립이先行되어야 할 것이다. 따라서 감자 真正種子의 器內塊莖形成을 이용한 耐暑性 系統의 조기 선발체계를 확립하여 真正種子의 기내배양조건과 기내괴경형성 방법을 구명코자 시험을 수행하였다.

재료 및 방법

耐暑性 檢定을 위한 器內 塊莖形成培養條件 究明

감자 品種은 秀美와 耐暑性 계통인 DTO-33이었으며, 각 품종의 器內培養 新梢를 공시재료로 사용하였다. 新梢의 器內塊莖形成 배양은 100 mL 삼각플라스크 당 10개의 신초를 넣어 증식한 후 無菌床內에서 증식배지를 제거하고 괴경형 성배지로 교체한 후 암조건으로 옮겨 배양하였다. 신초증식 배지는 Murashige & Skoog (MS) 基本培地에 Sucrose 3%, Kinetin 1 mg/L 및 GA₃ 1 mg/L 를 첨가한 液體培地를 사용하였으며, 괴경형성배양의 기본배지는 MS + Sucrose 8% 의 액체배지이었다. 耐暑性 검정을 위한 괴경형성배양 조건을 구명하고자 塊莖形成 培養培地의 生장조절제 농도 및 괴경형성 배양 온도를 달리하여 실험을 수행하였으며, 생장 조절제의 농도는 무처리, BAP 5 mg/L + CCC 500 mg/L, BAP 5 mg/L + CCC 1,000 mg/L 그리고 BAP 10 mg/L + CCC 1,000 mg/L 등이었고, 塊莖形成培養 온도는 20°C, 25°C와 30°C로 하였다.

眞正種子의 器內塊莖形成培養方法 究明

공시재료는 Denali 품종을 母本으로 하고 장려품종인 秀美를 父本으로 하여 생산된 眞正種子를 사용하였다. 眞正種子는 거즈에 싸서 흐르는 수돗물에 2~3 일간 수세한 후 초 음파세척기로 10분간 세척하여 Sodium Hypochlorite 1% 용액에 5분간 침지 소독하였다. 소독된 種子는 種子發芽培地 (MS + Sucrose 30 g/L + Kinetin 3 mg/L + GA₃ 0.1 mg/L)에 접종하여 실생을 양성하였고, 양성된 실생의 繼代培養에는 新梢增殖培地 (MS + Kinetin 1 mg/L + GA₃ 1 mg/L) 를 사용하였으며, 塊莖形成培地는 실험 1에서 괴경 형성의 효과가 좋은 MS + Sucrose 30 g/L + BAP 5 mg/L + CCC 500 mg/L을 사용하였다. 實生의 器內塊莖形成에 미치는 增殖回數의 영향을 구명하고 괴경형성 배양에 적합한 식물체의 생육상태를 조정하기 위하여 新梢增殖 횟수를 0, 1, 2회로 하고, 塊莖形成培養 前處理로서 無處理(暗處理), 2週 短日處理, 4週 短日處理 등 3개 처리로 하여 塊莖形成培養을 실시하였으며 괴경수, 괴경크기 등을 조사하였다.

결과 및 고찰

耐暑性 檢定을 위한 器內塊莖形成培養條件 究明

감자의 괴경형성을 촉진하는 여러 가지 생장조절물질들이 많이 보고되어 있으나(Goodwin and Brown, 1984; Wang and Hu, 1982; Madec, 1963), 그 중 cytokinin 종류의 일종인

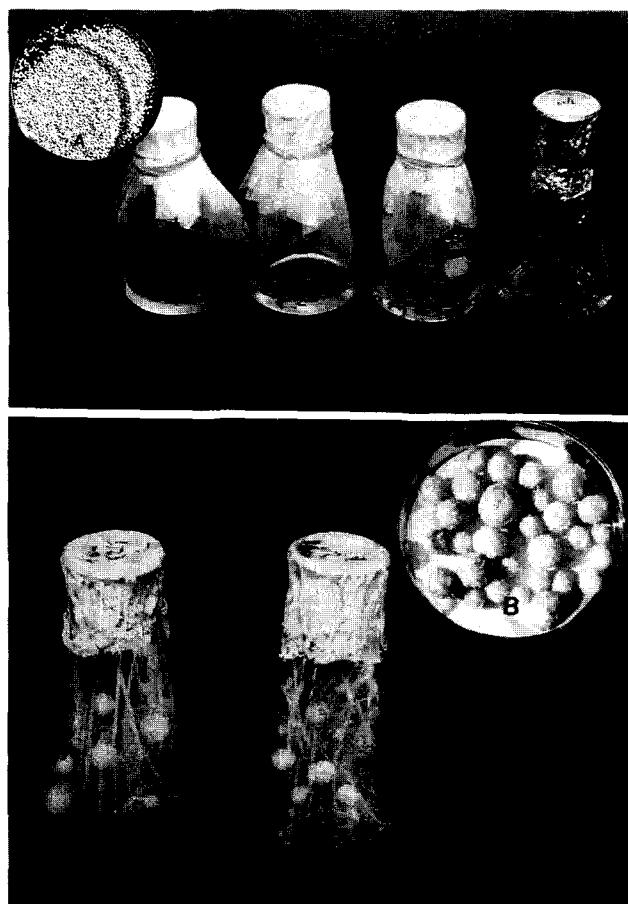


Figure 1. In-vitro tuberization of true potato seeds at 1 day(1), 1 week(2), 2 weeks(3), 4 weeks(4), 9 weeks(5 : Superior, 6 : DTO-33) after inoculating for the heat tolerance screening. A : True potato seeds. B : Microtubers harvested.

Benzylamino Purine (BAP)과 生長抑制物質인 Chloro Cholin Chloride (CCC)가 효과적인 것으로 나타나 BAP와 CCC의 농도를 달리하여 塊莖形成을 유도하였다. 각 溫度別, 培地別 塊莖形成率(Table 1)을 보면 20°C에서는 DTO-33과 秀美 모두 BAP 5 mg/L + CCC 500 mg/L 처리에서 85%와 92%로 가장 높았으며, 온도가 높을수록 塊莖形成率이 떨어지는 경향이었다(Figure 1).

감자의 塊莖形成은 日長과 溫度의 변화나 배지에 첨가된 영양물질의 농도에 따라서 차이가 있다는 많은 연구결과가 있으며, 본 실험에 사용된 BAP는 Cytokinin 종류로서 塊莖誘起 中의 細胞의 分裂(Koda, 1982), 濱粉合成酵素의 活性(Obata and Suzuki, 1979)과 塊莖으로의 영양물질 이동(Okazawa, 1970) 등 塊莖形成과 직접적인 관계가 있는 것으로 보고되었다. 또한 CCC는 Cytokinin의 효과를 강화하고 菩枝의 生長을 억제시킨 후에 괴경형성을 유도한다고 하였는데(Hussey and Stacey, 1984), 본 실험에서는 고농도의 CCC(1,000 mg/L)가 오히려 塊莖形成을 억제시키는 결과를 가져왔다.

Table 1. Effects of temperature and plant growth regulators on the in vitro tuberization of potato shoots.

Temp.	Growth regulator	DTO-33				Superior			
		No. of shoots /flask	No. of tubers /flask	Rate of tuberization (%)	Tuber diameter (mm)	No. of shoots /flask	No. of tubers /flask	Rate of tuberization (%)	Tuber diameter (mm)
20°C	Control	10.1	7.1	70b ^a	10.5a	15.2	11.1	73b	8.3b
	BAP 5 mg/L + CCC 500 mg/L	7.1	6.0	85a	8.9b	12.3	10.4	92a	10.6a
	BAP 5 mg/L + CCC 1,000 mg/L	13.2	9.1	69b	6.4c	11.3	7.2	63c	8.7b
	BAP 10 mg/L + CCC 1,000 mg/L	11.5	5.2	45c	6.3c	13.9	7.9	57c	7.5c
	Mean	10.5	6.9a	67.3a	8.0a	13.2	9.2a	71.0a	8.7a
25°C	Control	9.8	5.4	55b	6.3b	11.8	7.4	63a	7.3ab
	BAP 5 mg/L + CCC 500 mg/L	15.3	9.2	60a	7.5a	16.9	10.6	63a	7.8a
	BAP 5 mg/L + CCC 1,000 mg/L	16.4	9.2	56b	7.2a	13.2	6.9	53b	6.9b
	BAP 10 mg/L + CCC 1,000 mg/L	14.7	8.4	57ab	2.8c	15.4	7.1	46c	4.4c
	Mean	14.1	8.1a	57.0a	6.0ab	14.3	8.0a	56.3b	6.6b
30°C	Control	12.2	3.7	30b	4.5b	12.6	2.0	16a	4.0ab
	BAP 5 mg/L + CCC 500 mg/L	12.5	5.1	37a	6.5a	13.3	1.9	15a	3.5b
	BAP 5 mg/L + CCC 1,000 mg/L	19.3	4.1	21c	3.7c	11.4	1.6	9c	4.5a
	BAP 10 mg/L + CCC 1,000 mg/L	9.4	3.1	33b	4.9b	15.5	2.0	13b	3.5b
	Mean	13.3	4.0b	30.3b	4.9b	13.2	1.9b	13.2c	3.8c

^aMean separation in columns by Duncan's multiple range test at 5% level.

특히 30°C 고온에서의 두 품종간의 塊莖形成率을 비교해 보면 비교적 耐暑性이 강한 DTO-33은 BAP 5 mg/L + CCC 500 mg/L에서 수미의 15%에 비해 37%의 塊莖形成率을 보여 고온에서의 塊莖形成 가능성을 보였다(Table 1). 이러한 결과는 감자 莖葉에 50°C의 고온을 240 분간 處理하여 耐暑性을 검정한 결과 타 품종에 비해 DTO-33이 비교적 강하였다는 보고(Li, 1983)와 유사함을 볼 수 있다. 또한 Gawronska 등 (1992)은 본 시험에 공시한 DTO-33과 비슷한 계통인 DTO-28로 내서성을 검정하였던 바 Russet Burbank나 Desirée보다 고온 하에서 光合成 능률이 높았으며 乾物率도 높다는 사실을 보고하였다. 따라서 포장에서 耐暑性이 강한 系統이 器內에서도 고온 하에서 괴경형성을 이 높은 것을 알 수 있었다. 내서성이 약한 수미는 고온 하에서의 평균 괴경형성율이 13.2%로서 DTO-33의 30.3%에 비해 매우 낮았다.

耐暑性이 약한 秀美의 경우 新梢增殖培地를 塊莖形成培地로 교체할 때 플라스크에 남아 있던 液體增殖培地의 GA₃의 영향이 고온 하에서 더욱 커진 것으로 추측되었으며, 이는 Midmore (1984)나 Struik 등(1989a, 1989b)의 보고와 같이

고온하의 암조건에서 GA₃가 鋏枝形成과 복지의 신장을 촉진하여 塊莖形成이 지연된 것으로 보아 GA₃가 괴경형성에 매우 불리한 것으로 나타나 추후 배지 교체시 GA₃의 영향을 줄이기 위해 멸균수로 깨끗이 씻던가 아니면 증식 배양된 新梢를 固體塊莖形成 培地에 절단하여 접종하는 것이 고온에서의 괴경형성을 높일 수 있을 것으로 판단된다. 일반적으로 耐暑性 品種은 조생종에서 많이 발견되는데(Levy et al., 1991), 포장에서는 수미와 DTO-33의 숙기가 비슷한 것으로 나타났으나 器內에서는 秀美에 비해 DTO-33의 塊莖形成이 5-6일 정도 빠른 것으로 생각되었다. 한편 Burton(1981)은 포장에서 20°C 이상에서 온도가 5°C 상승할 때마다 光合成率이 25%씩 감소한다고 하였으며, van der Zaag과 Doornbos(1987)는 식물체가 장기간 고온조건에 놓이면 지상부 생육의 미발달로 塊莖 生육이 매우 불량하다고 하였으나 본 실험에서는 일단 플라스크 내에서 식물체를 키운 후에 塊莖形成培地로 옮겨 암조건에서 장기간 塊莖形成을 유도하였기 때문에 식물체가 고온의 영향을 받지 않아 두 품종 모두가 30°C에서 20% 이상의 괴경형성을 보인 것으로 생각된다.

Table 2. Effect of subculture time and short-day(8hr) treatment on in-vitro tuberization of true potato seed.

Time of Subculture	Short-day treatment	No. of tubers / flask	Tuber diameter (mm)
0	control	10.4	11.2
	2 weeks	8.2	8.9
	4 weeks	10.6	8.2
	Mean	9.7aa	9.4a
1	control	7.0	8.0
	2 weeks	8.0	7.8
	4 weeks	4.5	6.0
	Mean	6.5ab	7.3ab
2	control	5.3	6.9
	2 weeks	5.2	6.2
	4 weeks	3.3	7.4
	Mean	4.6b	6.8b

^aMean separation in columns by Duncan's multiple range test at 5% level.

결론적으로 耐暑性系統인 DTO-33은 생장조절제를 달리하고 암조건을 주면 고온인 30°C에서 수미에 비해 器內小塊莖을 생산할 수 있는 가능성성이 있어 추후 감자의 신계통들에 대한 耐暑性 검정을 할 수 있을 것으로 생각되었다.

真正種子 器內塊莖形成培養方法 究明

감자 괴경에서 生長點을 채취하여 배양할 경우 繼代培養新梢를 절단하여 배양하면 新梢의 활력이 낮고 증식속도가 매우 느리다(Hussey et al., 1981). 따라서 真正種子로부터 양성된 實生個體의 경우도 1~2회 증식할 경우 新梢의 활력이 높아질 것으로 예상되어 真正種子를 器內에서 빌아시켜 증식을 하지 않고 그대로 塊莖形成培養으로 옮기는 경우와 액체增殖培地에서 1회 또는 2회 繼代培養을 한 후 塊莖形成培養으로 옮기는 경우 塊莖形成에 미치는 영향을 보았다. 또한 塊莖形成培養前處理로 短日處理期間을 無處理, 2주處理, 4주處理로 하여 真正種子의 器內塊莖形成에 미치는 효과를 검토한 결과는 Table 2와 같다. Yiem 등(1990)은 繼代培養回數가 器內塊莖形成에 미치는 영향을 보면 5~10회보다 15~20회가 塊莖形成數가 다소 높은 것으로 나타났으나 본 실험에서는 繼代培養을 하지 않는 경우가 계대배양을 할 경우보다 플라스크 당 塊莖數가 많았다.

실험 1은 塊莖에서 新梢를 획득하여 증식시켜 器內小塊莖을 얻은 경우이지만 실험 2에서는 兩親交配에서 생산된 真正種子(True Potato Seed)로서 일반 塊莖과의 생육양상이 매우 다르다. 더욱이 이 真正種子는 virus에 감염이 안되고 營養繁殖이 아닌 有性繁殖에서 유래된 정상적인 種子로서 胚 및 胚乳 등을 모두 가지고 있어(Cutter, 1978) 감자 幼植物에서 얻은 新梢보다 器內 활력이 매우 클 것으로 예상하였으나 본 실험에 공시된 Denali × 秀美 조합의 真正種子는 新梢 生育이 매우 연약한 반면 塊莖形成率이 높은 것으

로 보아 種子內에 괴경형성촉진물질이 포함되어 있어 繼代培養 한 것보다 塊莖化率이 높은 것으로 생각된다. 한편 감자의 괴경형성은 여러 가지 환경적인 요인에 의해 영향을 받는데 그 중 가장 잘 알려진 조건은 日長이다. Garner와 Allard (1923)가 최초로 日長이 감자 塊莖形成과 관련이 있다고 밝힌 후 日長과 塊莖形成과의 관계에 대해 많이 연구되었는데 8시간의 日長과 야간 저온은 괴경형성을 촉진시킨다고 하였다. 본 실험에서는 8시간 短日處理 4주에서 塊莖形成數가 가장 많았는데 이와 비슷한 방법으로 Wang과 Hu (1982)는 500 mL flask 당 50개 器內小塊莖을 얻은 바 있다. 그러나 일부 보고에서는 暗處理가 塊莖크기를 늘린다는 보고(Tober et al., 1985)가 있는데 본 실험에서도 無處理(암조건)에서 塊莖數는 短日處理보다 적지만 塊莖크기가 가장 높아 上記 보고와 일치하는 경향이었다.

그러나 繼代培養과 短日處理를 하지 않은 無處理의 경우도 플라스크당 塊莖數가 10.4개로 4주간 短日處理區와 차이가 없었으며 오히려 塊莖크기는 11.2 mm로서 短日處理보다 증가한 경향이었다. 따라서 真正種子를 發芽培地에 接種하여 實生을 養成한 후 塊莖形成培地로 교체하여 短日處理없이 暗培養함으로써 真正種子로부터 器內塊莖形成을 유도할 수 있었다. 결론적으로 真正種子에 의해서도 器內小塊莖을 생산할 수 있으며 일반 괴경에서 유래된 新梢 生育과 큰 차이가 없어 真正種子에 의한 器內小塊莖 生产체계가 확립될 경우 耐寒性, 耐病性 등 많은 抵抗性檢定 및 선발을 연중 시기에 관계없이 器內에서 용이하게 할 수 있을 것으로 예상된다.

적  요

감자 真正種子의 器內塊莖形成을 이용한 耐暑性 系統의 조기선발체계 확립을 목표로 溫度에 따른 器內塊莖形成的 배양조건을 구명하기 위해 수행하였다. 각 溫度別, 培地別 塊莖形成率을 보면 20°C에서는 DTO-33, 秀美 두 품종 모두 BAP 5 mg/L + CCC 500 mg/L 處理에서 85%, 92%로 가장 높았으나, 溫度가 올라갈수록 塊莖形成率이 떨어지는 경향이었다. 특히 30°C 高溫에서의 두 품종간 塊莖形成率을 보면 비교적 耐暑性이 강한 DTO-33은 BAP 5 mg/L + CCC 500 mg/L에서 37%의 塊莖形成을 보여 내서성이 강한 계통으로 생각되었다. 한편 진정종자의 器內塊莖形成培養體系究明試驗에서는 繼代培養을 하지 않을 경우가 繼代培養을 할 경우보다 플라스크당 塊莖數가 많았으며 繼代培養 無處理, 4주간 短日處理區가 플라스크당 塊莖數 10.6개로서 가장 많았다. 그러나 繼代培養과 短日處理를 하지 않은 無處理의 경우도 플라스크당 塊莖數가 10.4개로 4주간 短日處理구와 차이가 없었으며 오히려 塊莖크기는 11.2 mm로서 短日處理보다 나은 경향이었다. 따라서 真正種子를 發芽培地에 接種하여 實生을 養成한 후 塊莖形成培地로 교체하여

短日處理 없이 暗培養하므로 真正種子로부터 器內塊莖形成을 유도할 수 있을 것으로 판단되었다.

인용 문헌

- Bodaender KBA, Lust C, Marinus J (1964) The induction of second-growth in potato tubers. *Eur Potato J* 7: 57-71
- Burt RL (1964) Influence of short periods of low temperature on tuber initiation in the potato. *Eur Potato J* 7: 197-208
- Burton WG (1981) Challenges for stress physiology in potato. *Amer Potato J* 58: 3-14
- Cutter EN (1978) Structure and development of the potato plant. In : EH Roberts eds, *The potato crop*. Chapman and Hall, London. pp.70-152
- Driver CM, Hawkes JG (1943) Photoperiodism in the potato. In: "Imperial bureau of plant breeding and genetics", London. No. 36: 1-35
- Espinoza N, Estrada R, Tobar P, Bryan J, Dodds JH (1984) Tissue culture micropropagation, conservation and export of potato germplasm. Specialized technology document No. 1. CIP, Lima, Peru.
- Garner WW, Allard HA (1923) Further studies on photoperiodism, the responses of the plant to relative length of day and night. *J Agric Res* 23: 872-920
- Gawronska H, Thornton MK, Dwelle RB (1992) Influence of heat stress on dry matter production and photoassimilate partitioning by four potato clones. *Amer Potato J* 69: 653-664
- Goodwin PB, Brown G (1980) Field performance of potato shoot-tips proliferated in culture. *Potato Res* 23: 449-452
- Gregory LE (1965) Physiology of tuberization in plant (Tuber and tuberous roots). *Encyclopedia Plant Physiology* 15: 1328-1354
- Henshaw GG and Roca WM (1976) Report of the planning conference on exploration and maintenance of germplasm resources CIP, Lima, Peru
- Hussey G, Stacey NJ (1981) In vitro propagation of potato (*Solanum tuberosum* L.). *Ann Bot* 48: 789-796
- Hussey G, Stacey NJ (1984) Factors affecting the formation of in vitro tubers of potato (*Solanum tuberosum* L.). *Ann Bot* 53: 565-578
- Jeoung H (1986) Microtuber production from shoot-tip culture. *Ann. Rep. Natl. Proj.* (N 118[5]-2545-5). Ministry of Science and Technology, pp 89-109
- Jeoung H (1987) Formation of potato microtubers in vitro. *Ann. Rep. Natl. Proj.* (BSN 7009-20-4). Ministry of Science and Technology, pp 66-95
- Joyce RA, Steckel A, Gray N (1979) Drought tolerance in potatoes. *J Agric Sci Camb* 92: 375-381
- Kim YC (1976) Tissue culture of *Solanum tuberosum* L. as a method of rapid vegetative propagation Dip. Thesis, Uni-Sydney
- Koda Y (1982) Changes in levels of butanol and water soluble cytokinins during the life cycle of potato tubers. *Plant Cell Physiol* 23: 843-849
- Kozlowska A (1963) Difference in growth and metabolism of potatoes grown in the mountains and in the lowland. *Eur Potato J* 6: 143-159
- Levy D, Kastenbaum E, Itzhak Y (1991) Evaluation of parents and selection for heat tolerance in the early generations of a potato (*Solanum tuberosum* L.) breeding program. *Theoretical and Applied Genetics* 82: 130-136
- Li RH (1983) Heat adaptability of the potato. In : *Research for the potato in the year 2000*. des CIP, Lima pp 117
- Madeć P (1963) Tuber-forming substances in the potato. In Ivins JD, Milthrop FL (eds.) *The growth of potato*. Ed Betterworths, London. pp 121-130
- Menzel BM (1983) Tuberization in potato at high temperatures : interaction between shoot and root temperature. *Ann Bot* 52: 5-69
- Midmore DJ (1984) Soil temperature effects on emergence, plant development and yield. *Field Crops Res* 8: 255-271
- Obata-Sasamete H, Suzuki (1979) Activities of enzymes relation to starch synthesis and endogenous level of growth regulators in potato stolon tips during tuberization. *Physiol Plant* 45: 320-324
- Okazawa Y (1970) Physiological significance of endogenous cytokinin occurred in potato tubers during their development period. *Proc Crop Sci Jpn* 39: 171-176
- Ortiz MG, Lozoya SH (1987) Potato microtubers : Technology validation in Mexico. *Amer Potato J* 64: 535-544
- Pohjakallio O (1953) On the effect of day-length on the yield of potato. *Physiol Plant.* 6: 140-149
- Roca WM, Espinoza NO, Roca MR, Bryan JH (1978) A tissue culture method for the rapid propagation of potatoes. *Amer Potato J* 55: 691-701
- Slater JW (1968) The effect of night temperature on tuber initiation of the potato. *Eur Potato J* 11: 14-22
- Struik PC, Geertsema I, Custers CH (1989a) Effects of shoot, root and stolon temperatures on the development of the potato (*Solanum tuberosum* L.) plant. I. Development of the haulm. *Potato Res* 32: 133-141
- Struik PC, Geertsema I, Custers CH (1989b) Effect of shoot, root and stolon temperatures on the development of the potato (*Solanum tuberosum* L.) plant. II. Development of the stolons. *Potato Res* 32: 143-149
- Tobar R, Estrada R, Schilde RL, Dodds JH (1985) Induction and use of *in vitro* potato tubers. Circular 13: 1-6. CIP, Lima.
- van der Zaag DE, Doornbos JH (1987) An attempt to explain difference in the yielding ability of potato cultivars based on differences in cumulative light interception, utilization efficiency of foliage and harvest index. *Potato Res* 38: 551-568
- Vayda ME (1994) Environmental Ed stress and its impact on potato yield. In JE Bradshaw, *Potato genetics*. CAB international. pp 239-261
- Wang PJ, Hu CY (1982) In vitro mass tuberization and virus-free seed potato production in Taiwan. *Amer Potato J* 59: 33-39
- Yiem MS, Park YH, Kim JK, Kim SY, Cho HM, Hahn BH (1990) Studies on seed potato (*Solanum tuberosum* L.) multiplication by microtuberization and its practical use. *Res. Rept. RDA(H)* 32: 46-53