10.22092/rafhc.2015.106542

**نشریه علمی- ترویجی یافته‌های تحقیقاتی در گیاهان زراعی و باغی**
**جلد ۴، شماره ۱، سال ۱۳۹۴**

# کارایی آب داغ در اخته کردن کاهو (*Lactuca sativa* L.) به منظور تولید بذر هیبرید

پیام خطیب[۱]، جمالعلی الفتی[۲] و یوسف حمیداوغلی[۲]

۱- دانش‌آموخته سابق دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان، رشت
۲- اعضاء هیأت علمی گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان، رشت

**تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۸/۱۴ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱۲/۸**

## چکیده

**خطیب پ، الفتی ج‌ع، حمیداوغلی، ی (۱۳۹۴)** کارایی آب داغ در اخته کردن کاهو (*Lactuca sativa* L.) به منظور تولید بذر هیبرید. **نشریه علمی- ترویجی یافته‌های تحقیقاتی در گیاهان زراعی و باغی ۴ (۱): ۵۱ - ۴۳.**

**این آزمایش برای بررسی کارایی دما و زمان‌های مختلف اعمال تیمار آب داغ در مراحل مختلف رشد زایشی بر اخته کردن فیزیکی کاهو در تولید بذور هیبرید انجام شد. برای اعمال تیمار، شاخه‌های جانبی از گل‌آذین را به مدت ۲۰، ۳۵، ۵۰ و ۶۵ ثانیه، یک بار در مرحله شکوفایی جوانه و یک بار در مرحله جوانه گل (دو روز قبل از شکوفایی) در آب با دو سطح دمایی ۴۰ و ۵۰ درجه سانتی‌گراد (آب داغ) و ۲۵ درجه سانتی‌گراد به عنوان شاهد فرو برده شد. نتایج تجزیه واریانس نشان داد دماهای مختلف آب تأثیر معنی‌داری بر درصد بذور هیبرید تشکیل شده داشت در حالیکه مرحله کاربرد آب داغ و اثرات متقابل آنها تأثیری بر درصد بذور هیبرید نداشت. بیشترین درصد بذور هیبرید (۹۴/۵۷ درصد) و گرده‌های نابارور (۸۴/۰۷ درصد) با کاربرد آب داغ ۵۰ درجه سانتی‌گراد بدست آمد. استفاده از اخته کردن با آب داغ یک روش ساده و بدون نیاز به هزینه کارگری زیاد است و برای اصلاح کاهو قابل توصیه می‌باشد.**

**واژه‌های کلیدی: جوانه گل، خودگشنی، دگرگشنی، رشد زایشی، صفات نشانگر و گرده‌افشانی.**

آدرس پست الکترونیکی نگارنده مسئول: jamalaliolfati@gmail.com

**مقدمه**

کاهو (*Lactuca sativa* L.)، گیاهی یک‌ساله و خودبارور از خانواده‌ی گل ستاره‌ای‌ها (Asteraceae) است که دارای ۲n = ۲x =۱۸ کروموزوم دیپلوئید می‌باشد (۲) و مهم‌ترین سبزی در گروه سبزی‌های برگی است (۹، ۱۰ و ۱۳). گل‌آذین کاهو کاپیتول و شامل ۲۴ گلچه است (۱۳) که هر کدام با گلبرگ زبانه‌ای زرد رنگ و مجموعه‌ای از برگه‌های روی هم افتاده احاطه شده است. پنج پرچم به شکل استوانه‌ای داشته و خامه دوشاخه آن صبح هنگام باز و در زمان طویل شدن از میان آنها عبور می‌کند (۲۲). همه‌ی گلچه‌ها در یک روز فقط یک بار باز می‌شوند (۴ و ۱۶). در بعضی گونه‌ها، گلها تنها نیم ساعت باز می‌مانند، اما در روزهای ابریِ خنک این مدت طولانی‌تر است و حتی ممکن است تا دو بعد از ظهر طول بکشد (۴). ساختمان گل کاهو خودگشنی را تشویق می‌کند به طوری که در خلال بزرگ شدن و طویل شدن کلاله و عبور آن از درون میله پرچم‌ها، لوب‌های کلاله بتدریج باز شده و روی پرچم پیچ خورده با دانه گرده روی بساک تماس پیدا می‌کند (۴) در نتیجه این گیاه تا حد زیادی خودبارور است و امکان دگرگرده‌افشانی در آن خیلی پایین است (۱۳).

بنابراین، در کاهو خودباروری اجباری روی می‌دهد که به تشکیل یک میوه فندقه در هر گلچه منتهی می‌شود و طی دو هفته بالغ می‌شود. بطور متوسط تنها یک درصد دگرگرده‌افشانی طبیعی در کاهو گزارش شده است (۲۶). حشرات عهده‌دار دگرگشنی کاهو هستند زیرا گرده‌های کاهو کاملاً چسبنده است (۲۲).

تحقیقات نشان می‌دهد که اسپری کردن تنظیم کننده رشد اسید جیبرلیک ($GA_3$) روی جوانه‌های گل کاهو سبب نرعقیمی می‌شود و می‌توان از این پدیده در تولید بذر هیبرید استفاده نمود (۶) اما به هرحال هزینه این روش بالاست. چیدن سرگل‌ها با تیغ یا قیچی کوچک و حذف لوله گرده به کمک یک انبرک ریز قبل از اینکه خامه و کلاله به طور کامل طویل شود یکی از اولین روش‌های استفاده شده برای تولید هیبرید در کاهوست که ممکن است تا ۱۰۰ درصد به تولید بذر هیبرید بیانجامد و کاملاً از خودگشنی کاهو جلوگیری نماید (۸ و ۲۸) اما استفاده از این روش به دلیل ظرافت ساختمان گل و احتمال سقط تخمدان بسیار سخت و پر زحمت است و نیاز به تجربه بالایی دارد. پیش از همه اینها الیور (۲۰) ثابت کرده بود که با شستشوی دانه گرده به کمک یک جریان نازک و پرفشار آب در زمانی که کلاله اغلب گلچه‌ها خارج شده‌اند، باعث اخته شدن آن می‌شود ولی این روش مشکلاتی را در تشخیص زمان مناسب، امکان از دست رفتن خاصیت ارتجاعی خامه و رطوبت بیش از حد کلاله برای دگرگشنی به همراه دارد. این مشکلات سبب شده که جدیداً استفاده از آب داغ برای اخته‌کردن برخی گیاهان استفاده شود. نتایج تحقیقی نشان داد که میزان جوانه‌زنی گرده‌ی

گل‌های آکاسیا (*Acacia auriculiformis*) که در آب داغ با دماها و زمان‌های مختلف تیمار شدند کاهش داد (۲۱).

در مطالعات قبلی مشخص شد که در کاهو وجود آنتوسیانین در برگ به عدم وجود آن (۱، ۳، ۱۵ و ۲۵)، شکل برگ مجعد (بریده) به (غیر بریده) (۱۴ و ۱۵)، رنگ بذر بالغ سیاه به سفید و زرد (۵، ۱۵ و ۲۵) غالب است. دستیابی به بذور $F_1$ و اخذ اطلاعات از تولیدکنندگان بذر برای همه‌ی افراد سخت و حتی غیر ممکن است، و نیاز به ترویج روش‌های قابل دسترس مانند روش‌های اخته کردن فیزیکی دارد. بر همین اساس این آزمایش برای بررسی کارایی دما زمان‌های مختلف اعمال تیمار آب داغ بر اخته کردن فیزیکی کاهو در تولید بذور هیبرید کاهو انجام شد.

## مواد و روش‌ها

برای انجام این پژوهش براساس بررسی‌های فنوتیپی، رقم آویفلورا ۲۶۸۰ (Aviflora 2680) که دارای آنتوسیانین در برگ، شکل برگ بریده و بذر سیاه بود به عنوان والد پدری و در مقابل از رقم پاریس آیلند (Paris island) که فاقد آنتوسیانین برگ، شکل برگ غیر بریده و بذر سفید است به عنوان والد مادری استفاده شد. این آزمایش بصورت فاکتوریل با سه عامل مرحله اعمال تیمار آب داغ، دمای آب داغ و مدت زمان اعمال تیمار آب داغ در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. بطوری که تکرارها برای هر ترکیب تیماری، شامل سه شاخه از سه بوته‌ی مختلف بودند. حدود نیم تا یک ساعت قبل از طلوع آفتاب، جوانه گل‌هایی که در آن روز باز می‌شدند برای اخته کردن و گرده‌افشانی انتخاب شدند (۱۸). به علت وجود شیره زیاد لاتکس در کاهو ممکن است در هنگام کار با گل‌ها، هر عامل خارجی مثل تماس پوست دست، قطرات آب و غیره خروج ناگهانی شیره را منجر سازد. برای اعمال تیمار آب داغ با استفاده از یک ظرف فلزی، هیتر برقی و دماسنج جیوه‌ای، آب را به دو سطح دمایی ۴۰ و ۵۰ درجه سانتی‌گراد رسانده و شاخه‌های جانبی از گل‌آذین را به مدت ۲۰، ۳۵، ۵۰ و ۶۵ ثانیه، یک بار در مرحله شکوفایی جوانه و یک بار در مرحله جوانه گل (دو روز قبل از شکوفایی) در آب فرو برده شد. از آب مقطر سرد به عنوان شاهد استفاده شد. بعد از اینکه گلچه‌ها تیمار شدند، تا زمان مناسب گرده‌افشانی یعنی پس از طلوع آفتاب که گرده‌ی والد نر آزاد می‌شود، از پاکت‌های کاغذی برای پوشش گلها استفاده شد. با جدا کردن گل از والد پدری و کشیدن آن روی انگشت دست یا کاغذ از وضعیت آزادسازی گرده اطمینان حاصل شد. به دنبال تیمار گل‌ها با تیمارهای آب داغ، قطرات آب حذف و گیاه با جریان هوای یک سشوار کوچک خشک شد. از تکه‌های کوچک روزنامه نیز می‌توان برای جذب آب استفاده کرد (۲۰). قبل و بعد از هر گرده‌افشانی ابزار آلات و دست‌ها را با الکل و

سپس با آب مقطر شستشو داده تا هم از شیره لاتکس پاک شود و هم احتمال آلودگی به گرده‌های ارقام دیگر رفع شود. تلاقی‌های انجام شده اتیکت‌گذاری شدند. یک روز بعد از گرده‌افشانی پاکت را برداشته تا گل در شرایط طبیعی قرار گیرد و امکان شیوع آفات و بیماری‌ها مرتفع گردد. حدود دو هفته پس از گرده‌افشانی بذرها جمع‌آوری شدند. بذرهای برداشت شده در دمای اتاق خشک شدند و میزان رطوبت آنها به ۸-۵ درصد رسید (۱۱). برای پس‌رسی، بذرها به مدت دو ماه در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۳۰ درصد قرار گرفتند. پس از بررسی رنگ بذرهای حاصل، آنها را در گلخانه‌ای پلاستیکی در شهرستان جویبار کشت و از نظر صفات شکل و آنتوسیانین در برگ مورد بررسی قرار گرفت. در این مرحله تمام بذور گل‌هایی که بعد از اخته کردن و تلاقی مختلف بدست آمده بودند به همراه بذرهای والدین آنها در خطوط جداگانه‌ای کشت شدند. بعد از اینکه نتاج به مراحل ۴-۳ برگی رسیدند، گیاهچه‌هایی که حاصل دگرگشنی (هیبرید) بودند از روی آنتوسیانین برگ، شکل برگ بریده و بذر سیاه از گیاهچه‌های خویش آمیخته شناسایی شدند و بر این اساس درصد بذور هیبرید که نشان از کارایی سطوح مختلف آب داغ بر اخته کردن کاهو داشت محاسبه شد (شکل ۱).

شکل ۱- بررسی فنوتیپی نتاج به منظور تعیین درصد بذور هیبرید $F_1$. الف) کشت و بررسی تمام بذور $F_1$ (پیکان نشان دهنده‌ی خودگشن). ب) پاریس آیسلند (والد مادری). پ) هیبرید $F_1$. ت) آویفلورا ۲۶۸۰ (والد پدری)

جوانه‌زنی گرده بوته‌های والد مادری تیمار شده در پتری‌های حاوی محیط رشد گرده (حاوی ۴۰ درصد ساکاروز + ۱۰۰ پی پی ام اسید بوریک + ۱۰۰ پی‌پی‌ام کلسیم نیترات) به هر دو مرحله از جوانه گل بررسی شد. به این منظور دانه‌های گرده کشت شده درون پتری‌ها را ۳۰ دقیقه با دور ۵۰ شیکر نموده و بعد از سه ساعت در زیر میکروسکوپ نوری، مقدار جوانه‌زنی گرده‌ها مورد بررسی قرار گرفت (۷). در نهایت مقایسه میانگین‌ها با آزمون توکی در نرم‌افزار آماری SAS انجام شد.

## نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس نشان داد دماهای مختلف آب تأثیر معنی‌داری بر درصد بذور هیبرید تشکیل شده در سطح احتمال پنج درصد داشت در حالی که مرحله کاربرد آب داغ و اثرات متقابل آنها تأثیری بر درصد بذور هیبرید نداشت (جدول ۱). هر چند اثر مدت زمان کاربرد آب داغ بر درصد تشکیل بذر هیبرید غیر معنی‌دار شد اما نتایج مقایسه میانگین نشان داد که با افزایش مدت زمان، درصد بذور هیبرید نیز افزایش یافت. همچنین بین تیمارهای آب داغ و شاهد همواره تفاوت وجود داشت (جدول ۲).

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس تأثیر تیمارهای اخته کردن جوانه گل با آب داغ بر درصد بذور هیبرید و درصد گرده‌های نابارور حاصل از تلاقی کاهوی پاریس آیسلند به عنوان والد ماده در آویفلورا ۲۶۸۰ به عنوان والد نر

| منابع تغییرات | درجه آزادی | میانگین مربعات | |
|---|---|---|---|
| | | درصد بذور هیبرید | درصد گرده‌های نابارور |
| مرحله | ۱ | ۱۰۰/۴۵$^{ns}$ | ۸۳/۹۵$^{ns}$ |
| دما | ۱ | ۲۷۱/۷۰$^{*}$ | ۳۸۶/۲۴$^{**}$ |
| مدت زمان | ۳ | ۱۲۳/۶۰$^{ns}$ | ۱۱۶/۲۶$^{*}$ |
| مرحله × دما | ۱ | ۱/۶۵$^{ns}$ | ۰/۸۴$^{ns}$ |
| مرحله × زمان | ۳ | ۳۳/۴۸$^{ns}$ | ۱۳/۶۴$^{ns}$ |
| دما × زمان | ۳ | ۵/۸۱$^{ns}$ | ۷/۴۷$^{ns}$ |
| مرحله × دما × زمان | ۳ | ۱۲/۸۴$^{ns}$ | ۳/۸۰$^{ns}$ |
| خطای آزمایشی | ۳۲ | ۴۸/۶۱ | ۲۶/۸۵ |
| درصد ضریب تغییرات | | ۷/۵۶ | ۶/۳۷ |

* و **: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.
ns: غیرمعنی‌دار

بیشترین درصد بذور هیبرید (۹۴/۵۷ درصد) با کاربرد آب داغ ۵۰ درجه سانتی‌گراد بدست آمد (جدول ۲). نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارهای مختلف آب داغ بیانگر مؤثر بودن

جدول ۲- نتایج مقایسه میانگین تاثیر تیمارهای اخته کردن جوانه گل با آب داغ بر درصد بذور هیبرید و درصد گرده‌های نابارور حاصل از تلاقی کاهوی پاریس آیسلند به عنوان والد ماده در آویفلورا ۲۶۸۰ به عنوان والد نر

| تیمار | | درصد بذور هیبرید | درصد گرده‌های نابارور |
|---|---|---|---|
| زمان (ثانیه) | ۶۵ | ۹۵/۹۳a | ۸۴/۶۳a |
| | ۵۰ | ۹۳/۶۶a | ۸۳/۰۸ab |
| | ۳۵ | ۹۰/۳۲a | ۷۹/۰۴ab |
| | ۲۰ | ۸۸/۸۴a | ۷۸/۱۹b |
| دما (سانتی گراد) | ۵۰ | ۹۴/۵۷a | ۸۴/۰۷a |
| | ۴۰ | ۸۹/۸۱b | ۷۸/۴۰b |
| شاهد | | ۱۶/۲۴c | ۴۹/۵۷c |

میانگین‌هایی در هر ستون، که دارای حداقل یک حرف مشترک می‌باشند بر اساس آزمون توکی در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

کاربرد دما و مدت زمان‌های مختلف کاربرد آب داغ بر درصد گرده‌های نابارور، به ترتیب در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد بود در حالی که مرحله کاربرد آب داغ و اثرات متقابل آن با دما و زمان تیمار آب داغ بی‌تأثیر بود (جدول ۱).

نتایج مقایسه میانگین اثر تیمارهای مختلف آب داغ بر درصد گرده‌های نابارور همسو با نتایج مربوط به درصد بذور هیبرید بود (جدول ۲). بدین صورت آب داغ با دمای ۵۰ درجه سانتی گراد بیشترین درصد گرده‌های نابارور (۸۴/۰۷ درصد) را تولید نمود. با افزایش مدت زمان کاربرد آب داغ درصد گرده‌های نابارور نیز افزایش یافت و این درحالی است که بین کارایی مدت زمان ۶۵ ثانیه، ۲۰ ثانیه و شاهد تفاوت وجود داشت (جدول ۲). در این آزمایش دمای بیش از ۵۰ درجه سانتی گراد باعث پژمردگی غیر قابل برگشت گل‌ها و دمای ۶۰ درجه سانتی گراد باعث از بین رفتن آن شد (شکل ۲). با این وجود برای جلوگیری از خسارت احتمالی، تعیین دما و مدت زمان کاربرد تیمار آب داغ برای گونه‌های مختلف مهم است. در تحقیقی که بر گل‌های آکاسیا صورت گرفت، ریزش گل‌های آن در دمای بیش از ۴۸ درجه سانتی گراد با آب داغ مشاهده شد. آسیب به محور گل‌ها در دمای بیش از ۵۲ درجه سانتی گراد اتفاق افتاد و همه‌ی محورها در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد از بین رفتند (۲۱). همانند این بررسی استفاده از آب داغ برای عقیم کردن گل‌های گیاهان مختلف از جمله گندم (۱۷)، توتون (۱۲) ذرت خوشه‌ای (۲۴) بررسی شد و نتایج آنها نیز همسو با نتایج این تحقیق حاکی از کارایی مناسب این روش است.

بنابراین با این تیمار اخته‌کردن با آب داغ

شکل ۲- اثر دماهای مختلف بر گل‌آذین رقم پاریس آیسلند از بین رفتن گل‌آذین در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ ثانیه (سمت راست) و پایداری گل‌آذین و باروری تا دمای ۵۰ درجه بمدت ۲۰ ثانیه (سمت چپ).

سطح بالایی از دگرگشنی و ناباروری گرده اتفاق افتاد، اما میزان آن با افزایش دما و زمان افزایش یافت. علاوه بر دما ممکن است بالا رفتن رطوبت نسبی در نتیجه اعمال این تیمار نیز بر جوانه‌زنی گرده مؤثر باشد البته واکنش دانه گرده توتون به تنش‌های رطوبت بالا (۹۵ درصد، چهار ساعت) و دمای بالا (۳۸ و ۴۵ درجه سانتی‌گراد، چهار ساعت) بررسی شد ولی هیچ یک از شرایط تنش بر توانایی گرده مؤثر نبود و تنش رطوبت نسبی یا دمای بالا به تنهایی بر قدرت گرده اثرگذار نبود، به طوریکه جوانه‌زنی گرده در رطوبت نسبی بالا در ۳۸ درجه به تأخیر افتاد ولی در دمای ۴۵ درجه جوانه‌زنی با شکست مواجه شد (۲۳). همچنین تیمار آب داغ ممکن است با از بین بردن ناسازگاری بین ارقام یا گونه‌ها در افزایش درصد تلاقی‌ها نقش داشته باشد (۱۹).

اخته کردن با آب داغ روش رایجی است که برای غیرفعال کردن گرده‌ها استفاده می‌شود و به مهارت کارگر نیاز ندارد (۲۷) و بر پایه نتایج این تحقیق و حصول نتایج قابل قبول در خصوص کارایی این روش می‌توان در برنامه‌های اصلاحی کاهو از این روش ارزان، آسان و سریع استفاده نمود.

## توصیه ترویجی

استفاده از آب داغ ۵۰ درجه سانتی‌گراد برای اخته کردن کاهو با حداقل هزینه و حداکثر کارایی به منظور تولید بذر هیبرید قابل توصیه می‌باشد تا از طریق تولید بذور هیبرید میزان تولید و کیفیت کاهو افزایش یابد.

## منابع


1. **Bremer AH (1931)** Einfluss der tageslange auf die wachstumsphasen des salats. Genetische untersuchungen. Gartenbauwiss 4: 469-483
2. **Davey MR, Anthony P, Van Hooff P, Power JB, Lowe KC (2007)** Biotechnology in agriculture and forestry. Transgenic crops iv, Springer Perlin Heidelberg, 470 p
3. **De Vries IM (1990)** Crossing experiments of lettuce cultivars and species (*Lactuca* sect. *Lactuca*, Compositae). Plant Sys. Evo. 171: 233-248
4. **Deppe C (2000)** Breed your own vegetable varieties: The gardener's & farmer's guide to plant breeding & seed saving. Chelsea green, Publishing 350 p
5. **Durst CE (1930)** Inheritance in lettuce. Illinois Agricultural Experiment State Bulletin. American Association for the Advancement of Science 356 p
6. **Eenink AH (1977)** Induction of male sterility in lettuce (*Lactuca sativa* L.) by application of gibberellic acid: a technical note. Euphytica 26: 31-32
7. **Eenink AH (1983)** Preliminary results of research on storage and in vitro germination of lettuce pollen as an aid in lettuce breeding. Euphytica 32: 521-526
8. **Ernst-Schwarzenbach M (1932)** Zur genetik und fertilitat von *Lactuca sativa* L. und *Chichorum endivia* L. Archiv. Der Julius Klaus Stiftiung fur Verebungs for achung, Sozialanthropogie und Rassenhygiene 7: 1-35
9. **Factfish (2012)** Geography and agriculture: Crop Lettuce and chicory in Factfish. Retrieved March 29, 2014, from http:// www. factfish. com/ catalog /crop
10. **Food and agriculture organization of the united nations (2012)** Faostat: production crops in FAO. Retrieved March 29, 2014, from http://faostat.fao.org
11. **George RAT (1999)** Vegetable seed production. Wallingford, CAB Int. 122-135
12. **Kandasamy MK, Kristen U (1989)** Ultrastructural responses of tobacco pollen tubes to heat shock. Protoplasma 153: 104-110
13. **Křístková E, Doležalová I, Lebeda A, Vinter V, Novotná A (2008)** Description of morphological characters of lettuce (*Lactuca sativa* L.) genetic resources. Hort. Sci. 35 (3): 113-129
14. **Lindqvist K (1958)** Inheritance of lobed leaf from in Lactuca. Hereditas 44: 347-377.
15. **Lindqvist K (1960)** Inheritance studies in lettuce. Hereditas 46: 387-470
16. **McGregor SE (1976)** Insect pollination of cultivated crop plants. U.S. Department of Agriculture. 411 p
17. **Mukasa Y, Suzuki T, Honda Y (2007)** Emasculation of Tartary buckwheat (*Fagopyrum tataricum* Gaertn.) using hot water. Euphytica 156: 319-326
18. **Nagata RT (1992)** Clip and wash method of emasculation for lettuce. Hortscience 27 (8): 907-908
19. **Nasrallah ME, Wallace DH (1967)** Immunogenetics of self-incompatiblity in *Brassica oleracea* L. Heredity 22: 519-527
20. **Oliver GW (1910)** New methods of plant breeding. U.S. Bureau of plant Ind. Bul: 167 p
21. **Otsuka J, Yamaguchi S, Chigira O, Kato K (2010)** Application of hot water emasculation to (*Acacia auriculiformis*) for controlled pollination. J. Forest Res. 15: 210-216
22. **Ryder EJ (1979)** Leafly salad vegetables. Avi Publishing Company. pages 13-94

23. **Shivanna KR, Linskens HF, Cresti M (1991)** Responses of tobacco pollen to high humidity and heat stress: viability and germinability in vitro and in vivo. Sexual Plant Repr. 4: 104-109
24. **Smith CW, Frederiksen RA (2000)** Sorghum: origin, history, technology, and production. John Wiley & Sons, New York, United States. 825 pp
25. **Thompson RC (1938)** Genetic relations of some color factors in lettuce. U. S. Dept. Agr. Technical Bulletin No. 620
26. **Thompson RC, Whitaker TW, Bohn GW, Horn C (1958)** Natural cross-pollination in lettuce. Proc. Am. Soci. Hort. Sci. 72: 403-409
27. **Tong L, Yoshida T (2008)** Can hot-water emasculation be applied to artificial hybridization of indica-type cambodian rice? Plant Prod. Sci. 11: 132-133
28. **Watts LE (1975)** The response of various breeding lines of lettuce to beet western yellows virus. Ann. App. Bio. 81: 393