تأثیرات هورمون‌ها و موقعیت ریزپیوندی مریستم انتهای ساقه چریش[1] بر روی پایه زیتون تلخ[2]

شهرزاد نصیری: دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات
فرانسواز برنارد،حسین شاکر: دانشگاه شهید بهشتی
رمضان علی خاوری نژاد: دانشگاه تربیت معلم

چکیده

درخت چریش[1] از گیاهان بومی هندوستان است. این درخت قابلیت رشد سریعی دارد و در کشاورزی و صنعت دارای کاربردهای تکنولوژیک بسیاراست. دراین پژوهش تأثیر تیمارهای هورمونی اکسین،سیتوکینین و اسید سالسیلیک طی رشد *invitro*، *invivo*، سن پایه و موقعیت‌های مکانی پیوند، بر روی درصد موفقیت ریزپیوندی بررسی شده است. عمل ریزپیوندی مریستم انتهایی ساقه چریش بر روی پایه زیتون تلخ[2] با موفقیت انجام شد و گیاهان ریزپیوندی از مقاومت مناسبی در برابر سرما برخوردار شدند. بیش‌ترین درصد موفقیت ریزپیوندی در گیاهچه‌های پایه ۲ و۳ برگی به ترتیب به میزان ٣٩/١٦و ٤٠/١ در موقعیت هیپوکوتیل پایه نسبت به سایر موارد بود. تیمارهای مضاعف اکسین و سیتوکینین باعث افزایش درصد موفقیت ریزپیوندها در پایان هفته چهارم به میزان ١٨/٣٣نسبت به شاهد شدند. تیمار با سالیسیلیک اسید در مراحل اولیه رشد موجب کاهش ماندگاری ریزپیوندها به میزان ٣% نسبت به شاهد شد، ولی موجب افزایش درصد موفقیت رشد و سلزگاری ریزپیوندها هنگام انتقال به خاک نسبت به شرایط محیطی به میزان ٨/٣٣گردید.

مقدمه

درخت چریش از عمده‌ترین درختان صنعتی و دارویی کشت شده در مناطق گرم جهان است[١٣]،[٢٤]. کشاورزان از این درخت برای محافظت انواع محصولات زراعی و نیز به عنوان سایبان استفاده می‌کند[١٣]. از میوه، دانه، برگ، ریشه و پوست این درختان برای درمان بیماری‌های قارچی، باکتریایی و سوختگی‌های پوستی استفاده می‌شود[٦]،[٢٦] و به دلیل داشتن مواد طبیعی به ویژه آزاد یراختین[3] در برگ و مغز دانه، در دفع آفات زراعی مورد استفاده قرار می‌گیرد[٢٦]. این درخت از گیاهان بومی هندوستان و کشور برمه است که از آن برای احیای جنگل‌های برخی از کشورهای قاره افریقا استفاده شده است. درخت چریش در مناطق گرم، رشد بسیار خوبی دارد. گونه زیتون تلخ از تیره چریش است، ولی برخلاف آن نسبت به سرما مقاوم است. یکی از

واژه‌های کلیدی: درخت چریش، درخت زیتون تلخ، ریزپیوندی، کشت بافت، هورمون

١-*Azadirachta indica A. juss* ٢ - *Melia azedarach L.* ٣ - *Azadirachtin*

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-12-23]

روش‌های افزایش توانایی گیاهان در مقابل شرایط نامطلوب زیستی و غیرزیستی پیوند گیاهان است. پیوند موجب جوان شدن گیاهان می‌شود[۱۱]،[۱۵]،[۱۶]،[۲۲]. امروزه از تکنولوژی ریزپیوندی برای افزایش سازگاری پیوند و موفقیت پیوند در علوم کشاورزی استفاده می‌شود. روش ریزپیوندی نوک ساقه‌های جوان بر روی دانه‌رست در گیاهان مختلف ازجمله پسته[۱]،[۲۸]،Cashew[۲۰] صورت گرفته است. از طریق ریزپیوندی می‌توان به دانه‌رست‌های سالم و عاری از ویروس دست یافت[۲۳]،[۲۵]. ریزپیوندی روش مناسبی برای جای‌گزین کردن پیوند گیاهانی است که در طبیعت پیوند آن‌ها بسیار دشوار است یا صورت نمی‌گیرد[۲۱]. این پژوهش در راستای انجام ریزپیوندی بین دو گونه چریش و زیتون تلخ در شرایط آزمایشگاهی صورت گرفته است، تا بتوان گیاهچه‌های مقاومی در شرایط دشوار تولید کرد[۳۱].

مواد و روش‌ها

آماده سازی پایه‌ها

دانه‌رست‌های حاصل از کشت آزمایشگاهی دانه‌های زیتون تلخ به عنوان پایه مورد استفاده قرار گرفتند. دانه‌های تازه از ضلع جنوبی پارک شهر تهران جمع‌آوری و با آب شهر شست وشو شدند. سترون کردن دانه به ترتیب زیر انجام شد :

- قرار دادن دانه‌ها در اتانل ۹۶ درجه به مدت ۱ دقیقه
- شست وشوی سطح دانه‌ها با آب مقطر استریل۲ بار تقطیر
- قرار دادن دانه‌ها در هیپوکلریت سدیم ۱% به مدت ۲۰ دقیقه
- شست وشوی سطح دانه‌ها با آب مقطراستریل ۲بار تقطیر سه مرتبه

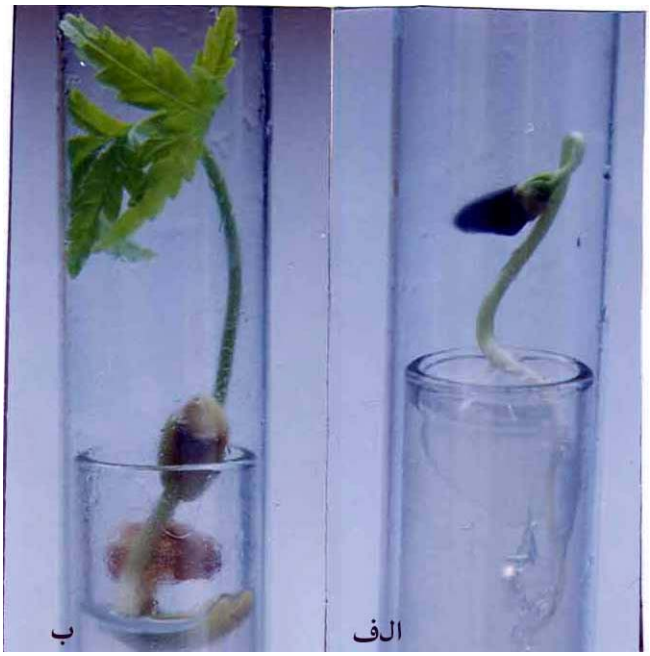
دانه‌های استریل شده درون ظرف‌های پتری حاوی کاغذ صافی واتمن و پنبه مرطوب در شرایط استریل کشت شدند و به مدت ۱۴-۹ روز در تاریکی و دمای $۲۵\pm ۲^{o}C$ قرار گرفتند. پس از جوانه زدن دانه‌ها، هریک از دانه‌رست‌ها به درون لوله‌های آزمایش ($۲\times ۱۴\ cm$) محتوی محیط کشت MS منتقل شدند. هریک از لوله‌های فوق با لوله آزمایش دیگر ($۴\times ۱۴\ cm$) پوشانده شدند(شکل۱ الف).

آماده‌سازی پیوندک

نوک انتهای ساقه‌های دانه‌رست چریش به عنوان پیوندک مورد استفاده قرار گرفت. برای این منظور دانه‌های تازه چریش از شهر بندرعباس و جزیره قشم جمع‌آوری شد و در کیسه‌های پلی‌اتیلنی سوراخ‌دار با دمای $۴\pm ۱^{o}C$ به تهران منتقل شدند. سترون کردن سطح دانه‌ها و کشت آن‌ها همانند دانه‌های زیتون تلخ انجام شد. پس از۱۵ روز از کشت دانه‌های چریش؛ نوک ساقه دانه‌رست‌های حاصل قطع و در ظروف شیشه محتوی آب مقطر استریل قرار گرفتند.این قطعات۳ میلی‌متری که از نوک ساقه‌ها با دقت زیادی تهیه شده بودند برای ریزپیوندی

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-12-23]

مورد استفاده قرار گرفتند(شکل ۱ ب).



شکل ۱- رشد گیاه پس از گذشت سه هفته از کشت دانه‌های استریل
الف) زیتون تلخ ب) چریش

روش ریزپیوندی

پس از برداشتن لوله فوقانی در اتاق کشت و شرایط سترون، سر دانه‌رست‌های پایه زیتون تلخ در ناحیه محور زیرلپه(هیپوکوتیل) و نیز برخی در ناحیه محور روی لپه (اپی‌کوتیل) ریزبرش‌هایی به شکل V تا منطقه آوندی زده شدند. سپس پیوندک بین دو بخش بریدگی قرار گرفت و لبه‌های برش به هم چسبانده شد و لوله آزمایش فوقانی مجددا بر روی سیستم کشت قرار گرفت.

شرایط آزمایش

برای بررسی اثرتیمارهای هورمونی بر روی رشد ریزپیوند، از محیط کشت MS همراه با هورمون‌های مختلف گیاهی، ویتامین‌ها و ساکاروز ۳% به همراه آگار ۰/۸% استفاده شد. سالیسیلیک اسید(SA) اندول استیک اسید(IAA) و بنزیل آمینو پورین(BAP) به ترتیب با غلظت‌های ۰/۶۴؛ ۰/۰۵و۰/۲ میلی‌گرم برلیتر قبل از اتوکلاو محیط کشت به صورت این طرح‌های مقایسه‌ای به محیط کشت پایه اضافه شدند:

- ***تیمار اول:*** بدون تنظیم‌کننده‌های رشد
- ***تیمار دوم:*** با حضور SA و BAP + IAA
- ***تیمار سوم***: با حضور SA
- ***تیمار چهارم :*** باحضور BAP + IAA

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-12-23]

PH محیط کشت قبل از مرحله استریل در ۵/۸ تثبیت شد. شرایط نگهداری دانه‌رست‌های پایه پیوندک و گیاهچه‌های ریزپیوندی با دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی ودمای $25\pm2^{o}C$فراهم شد پس از گذشت ۲ ماه از عمل ریزپیوندی، گیاهچه‌های حاصل به خاک منتقل شدند. تعداد نمونه‌های آزمایش شده برای هر تیمار ۲۰ عدد بود و آزمایش ۳ بار تکرار شده است.

روش‌های آماری

با استفاده از نرم افزار SPSS و به کمک آزمون « Student _T test » آنالیز واریانس بررسی‌های آماری انجام شد. $P < ۰/۰۱$ مرز استنتاج آماری برای بررسی اختلاف میانگین‌ها بوده است. از شاخص‌هایی که بررسی شده است، میانگین‌ها و انحراف معیارها است که پراکندگی اعداد را نشان می‌دهند. هیستوگرام‌ها به وسیله نرم افزار رایانه‌ای Excel رسم شدند.

نتایج و بحث

مراحل ریزپیوندی چریش بر روی پایه زیتون تلخ به دقت صورت گرفت(شکل ۲الف وب). پس از عمل ریزپیوندی، کالوس رشد یافته در محل پیوند مشاهده شد(شکل۲ب و ج). ٤ هفته پس از انجام ریزپیوندی؛ پیوندک‌ها در محل پیوند رشد خود را آغاز کردند و۲ ماه پس از انجام ریزپیوندی، گیاهچه‌های حاصل به خاک ورمی کولیت استریل منتقل شدند و برای سازگار شدن با شرایط گلدانی تا ٤ هفته با محلول غذایی ساکس آبیاری و با پوشش پلاستیکی منفذدار یا حباب‌های شیشه‌ای مناسب پوشیده شدند.این گیاهچه‌ها پس از زمان سازگاری به خاک منتقل شدند(شکل۳ الف و ب).

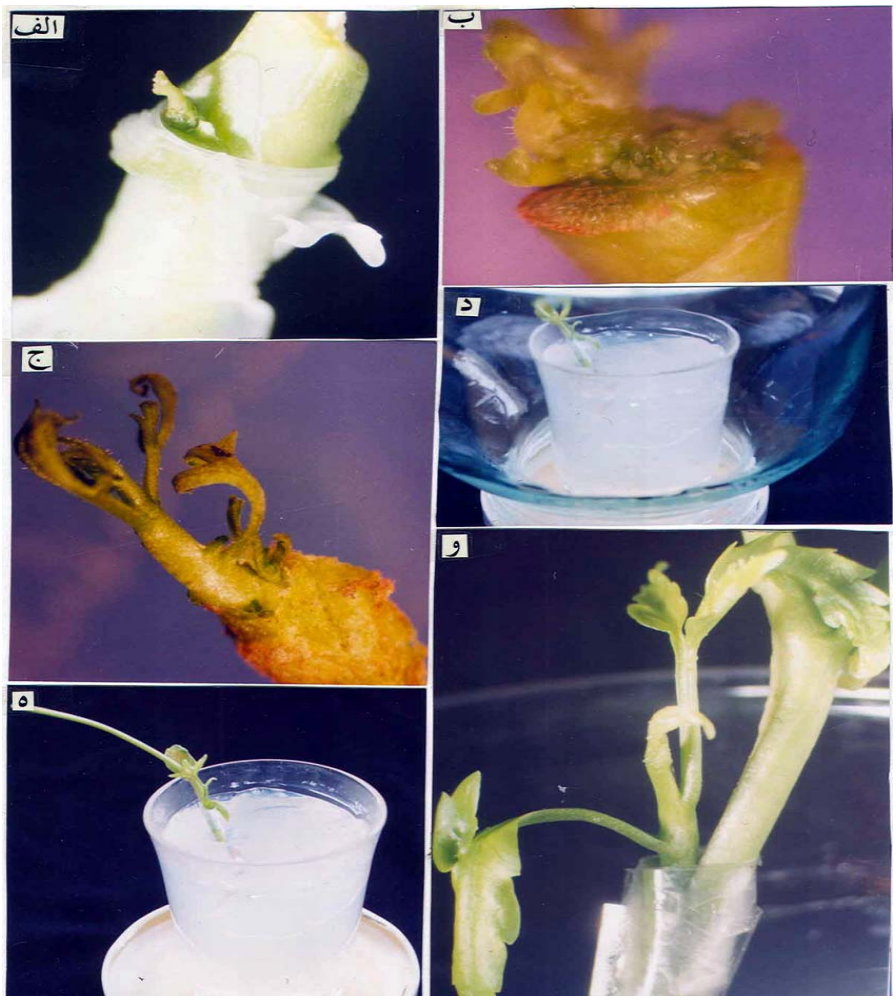
موفقیت ریزپیوندهای چریش بر روی زیتون تلخ به عوامل مختلفی بستگی دارد از آن جمله می‌توان به سن پایه‌های زیتون تلخ[۲۲]؛ و موقعیت‌های ریزپیوندی بر روی گیاهچه‌های پایه[۵] اشاره کرد. بر اساس نتایج به دست آمده درصد موفقیت ریزپیوندی در گیاهچه‌های پایه ۲ و۳ برگی نسبت به گیاهچه‌های ۵ برگی به طور معنی‌داری ($P<۰/۰۱$) بیش‌تر بوده است.(جدول۱و شکل٤)[۲۰].

میزان موفقیت ریزپیوندی در منطقه هیپوکوتیل در مقایسه با منطقه اپی‌کوتیل دانه‌رست‌های پایه به طور معنی‌دار بیش‌تر بوده است(جدول۱ و شکل٤ الف و ب).

یکی از دلایل این مورد را می‌توان به میزان تمایز در دو منطقه اپی‌کوتیل و هیپوکوتیل نسبت داد. ناحیه هیپوکوتیل به طور معمول تمایز یافتگی کم‌تری دارد و بنا براین توان تمایززدایی و همگن شدن آن با پیوندک بیش‌تر از ناحیه اپی‌کوتیل است. امروزه برای افزایش میزان موفقیت ریزپیوندی روش‌های مختلفی به کار می‌رود[۱۹]،[۲٦]،[۲۹]. یکی از این روش‌ها، استفاده از تیمارهای هورمونی در طول رشد ریز پیوند است

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-12-23]

[۱۷]،[۲۷]،[۲۹]،[۳۲]. در این پژوهش نیز از تیمارهای مختلف هورمونی استفاده شد و ویژگی‌های ریزپیوند و به ویژه میزان درصد موفقیت آن‌ها و پایداری گیاهچه‌ها برای انتقال به خاک بررسی و مقایسه شد. نتایج این آزمایش‌ها در جدول۱ آورده شده است. با توجه به نتایج داده‌های این جدول می‌توان نتیجه گرفت که در مجموع تیمار نوع دوم یعنی محیط‌های کشت دارای سالسیلیک اسید همراه با IAA و BAP برای موفقیت ریزپیوندی مخصوصاً زمانی که پایه محور زیرلپه‌ای باشد، شرایطی مناسب‌تری است.



شکل ۲- ریزپیوندی چریش بر روی زیتون تلخ

الف- ریزپیوندی چریش بر روی پایه زیتون تلخ در محیط کشت درون شیشه‌ای استریل (×۷۵)

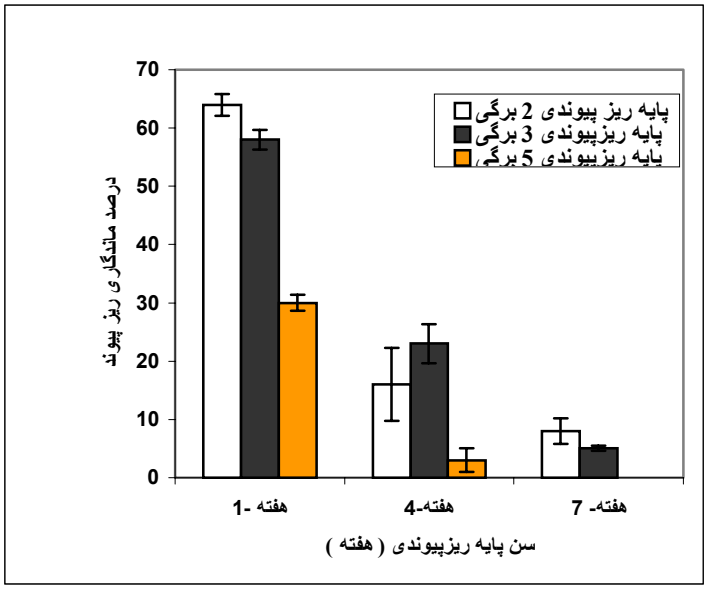
ب- موفقیت ریزپیوندی چریش بر روی پایه زیتون تلخ پس از گذشت دو هفته (×۸۵)

ج- رشد مریستم انتهایی ساقه چریش (M) روی پایه زیتون تلخ پس ازگذشت سه هفته، نموکالوس(C) ریزمنطقه پیوند مشخص است (×٤٠)

د- رشد ریزپیوند پس از گذشت ۹ هفته (×۱/۵). ه- رشد ریزپیوند پس از گذشت ۱۰ هفته (×۱/۵). و- رشد ریزپیوند پس از گذشت ۱۲ هفته (×۲۵)

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-12-23]

شکل۳- ریزپیوند مریستم انتهایی ساقه چریش بروی پایه زیتون تلخ، و سازش گیاهچه‌های حاصل به شرایطبیعی
الف- انتقال گیاهچه ریزپیوندی به خاک وسازش تدریجی آن‌ها با شرایط طبیعی دراتاق رشد بعد از گذشت ۳ماه (×۲۵) ب- رشد گیاهچه ریزپیوندی در اتاق رشد (×۱۰)

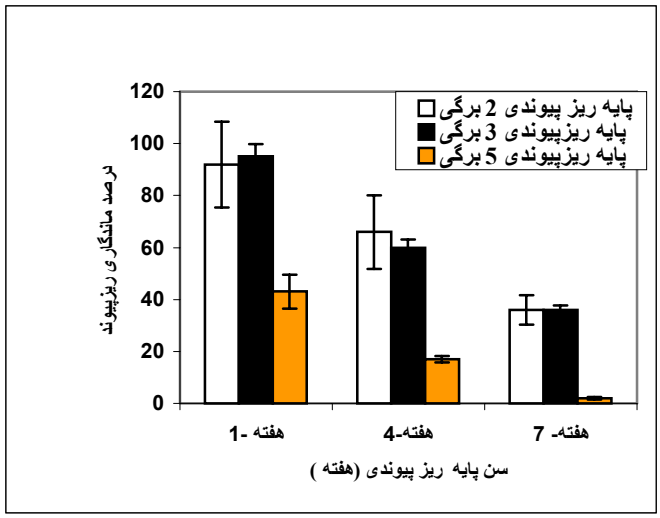


الف

شکل ٤- تأثیرات سن پایه و موقعیت محل ریزپیوندی بر روی درصد موفقیت ریزپیوندی

الف- درصد ماندگاری ریزپیوندهای مریستم انتهایی ساقه چریش که در موقعیت اپی‌کوتیل پایه زیتون تلخ پیوند شده است

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-12-23]



ب

شکل ٤- تأثیرات سن پایه و موقعیت محل ریزپیوندی بر روی درصد موفقیت ریزپیوندی ب- درصد ماندگاری ریزپیوندهای مریستم انتهایی ساقه چریش که در موقعیت هیپوکوتیل پایه زیتون تلخ پیوند شده است

براساس نتایج به دست آمده، تیمارهای هورمونی، سازگاری ریزپیوندها درهنگام انتقال به خاک را افزایش می‌دهند. اثرات اسیدسالسیلیک در مراحل مختلف ریزپیوندی متفاوت بوده است. SA بر روی ریزپیوندها در مراحل اولیه تشکیل آن‌ها اثر منفی دارد. ولی تیمار ریز پیوندها باSA در مرحله انتقال به خاک، میزان موفقیت آن‌ها را افزایش می‌دهد. اثر باز دارندگی SA بر روی مراحل اولیه رشد ریزپیوندی، از طریق تولید اکسیژن فعال(AOS) ضمن واکنش‌های تنفسی است[۱۸]. درجه سمیتAOS به دلیل خود القایی پراکسیداسیون لیپیدها است[۱۲]،[۳۲]، که می‌تواند موجب انحلال مولکولی و مرگ سلول‌ها شود. آب اکسیژنه (H_2O_2) در اکنش‌های چوبی شدن[٦]،[۹] و اتصالات عرضی پروتئین‌های ساختاری دیواره سلولی نقش اساسی دارد[٤]. چوبی شدن دیواره‌های سلولی هنگام تنش آبی نیز صورت می‌گیرد. SA موجب تنش شدید آبی در طول تیمار می‌شود[٤]. کاهش پتانسیل آبی در پایه ممکن است عامل رشد پیوندک باشد[۳]. در مشاهدات ما برای SA خارجی نقشی در این حدود در نظر گرفته شده است، در این بررسی‌ها به این نتیجه رسیدیم که SA باعث تحریک سیستم مقاومت گیاهچه‌های ریزپیوندی و سازگاری ریزپیوندهای انتقال یافته به خاک در مقابل تهاجم پاتوژن‌ها می‌شود.SA با تنظیم پتانسیل آبی موجب اثرهای مثبتی بر روی ریزپیوندهای در حال رشد در زمان انتقال آن‌ها به شرایط خاک (in vivo) می‌شود. نتایج حاصله نشان داده است که ریزپیوندهای تیمار شده باSA نسبت به سایر تیمارها در شرایط طبیعی خاک به راحتی رشد می‌کنند[۸]،[۱۰]،[۲۰]. تیمار گیاهچه‌های ریزپیوندی با BAP+IAA موجب افزایش درصد موفقیت ریزپیوندها می‌شود. این افزایش به طور معنی‌داری در منطقه محور زیر لپه‌ای بیش‌تر از منطقه محورروی لپه‌ای است. استفاده ازSA همراه باIAA + BAP باعث کاهش اثرات تحریکی IAA + BAP بر روی موفقیت ریز پیوندها می‌شوند(جدول۱).

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-12-23]

تشکر وسپاس‌گزاری

این پژوهش به کمک دانشگاه شهید بهشتی ودانشگاه آزاد واحدعلوم و تحقیقات صورت گرفته است. همچنین از جناب آقای دکتر احمد مجد به خاطر پیشنهادات و راهنمایی‌های ایشان قدردانی و تشکر می‌کنیم.

جدول ۱ ـ درصد موفقیت ریزپیوندی در طی رشد درون شیشه‌ای

منابع

1. A.Abousalim, and SH. Mantel, Micrografting of pistachio (Ppstacia vera L.cv.Mateur Plant Cell Tissue Organ Cultuer29 (1992) 231-234.
2. T.S. Aronen, J. Krajnakova, H.M. Haggman, and L.A. Ryynane, Genetic fidelity of cryoprese-rved embryogenic cultures of open-pollinated Abies cephalonica. PlantSci)142, 2 (1999) 72-163.
3. C.J. Atkinson, M. Policarpo, A.D. Webster, and G. Kingswell.Drought toerance of conal Malus determined from measurements of stomatal conductance and water potential.Tree Physiology, 20 (2000) 557.
4. R.R. Barkosky, and F.A. Einhelling, Effects of salicylic acid on plant – water relationships. J. Chem. Ecology, 19,2 (1993) 237-247.
5. F. Ben-Abdallah, A. Fnayou, A. Ghorbel, A.B. Kuden, and Dennis, F.GJr. Micrografting as a new rapaid method for selection of indigenous Tunisian grapevine varieties, Acta-Horticulture, 441 (1997) 237-244.
6. R.N. Chopra, et al. Glossary of Indian Medicinal Plants P.31 CSIR. New Dehli.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-12-23]

7. P. Danthu, Vegetative propagation of adult Faidherbia albda by branch root cutting. ICRISAT, Patancheru, (1992) 87-92.
8. P. Danthu, B. Hane, P. Sagna, and Y.K.Gassama, New Forests .Restoration of rooting competence in mature Faidherbia albda, a Sahelian leguminous tree, through serial root sucker micrografting, 24 (2002) 239-244.
9. R.A. Dcan, and J. kuc, Rapid lignification in responses to wounding and infection as a mechanism for induced systemic protection in cucumber. Physiol. Mol. Plant Pathol, 31 (1987) 69-81.
10. P. Drosdzik, C.D. Wacker, E.A. Sanders, and Pollet. Genotoxic effects of dimethyl sulfoxidetreatmentsintheassay,D.http//www.r2bd.hawhamburg.de/`m4100012/gentox/eemshr .pdf(2003).
11. F.F. Ermel, J. Kervella, A.M. Catesson, and J.L. Poessel, Localized graft incompatibility in pear/quince(Pyrus communis/Cydonia oblonga)combinations: multivariate analysis of histologi-cal data from 5 month – old grafts. Tree physiology, 19 (1999) 645-654.
12. D. Ewald, and U. Kretzschmar, The influence of microgafting in vitro on tissue culture behavior and vegetative propagation of old European larch trees . Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 44 (1996)249-252.
13. Gupta, B.N. and Sharma, K.K. Neem: a wonder tree, Dehrs Dun, 168p(1998).
14. L. Harvengt, A. Meier-Dinkel, E. Dumas and Collin. Establishment of cryopreserved gene bank of European elms . Can.J.For,Res, 34 (2004) 43-55.
15. L.C. Huang, C.K. Hsiao, S.H. Lcc, B.L. Huang, and T. Murashige, Restoration of vigor and rooting competence in stem tissue of mature citrus by repeating grafting of their shoot onto freshly grminated seedlings in vitro. In vitro Cell. Dev. Biol., 28(1992) 30-32.
16. L.C. Huang, S. Liuse, B.L. Huange, T. Murashige, E.F.M. Madhi, .and R.V. van Gundy, Rejuvenation of Sequoia sempervirens by repeated grafting of shoot tips onto juvenile rootstocks in vitro. Plant Physiol.,98 (1992) 166-173.
17. R. Jonard, Micrografting and its application to tree improvement. In Biotechnology in agriculture and forestry. I.Trees (Bajaj ,Y.P.S.Ed.) Springer –Verlag Berlin (1985) 31-48.
18. H. Kauss, and W. Jeblick, Preteratment of Parsley suspension cultures with salicylic acid enhances spontaneous and elicited production of H_2O_2. Plant Physiol, 108 (1995)1171-1178.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-12-23]

19.K, S.,Cai, Q. and Skirvin, R.M. Micrografting speeds growth and fruiting of protoplast - derived cones of Kiwi fruit (Actinidia deliciosa). J.Of Horticultural Science,68(1993)837-840.

20. Mneney.EandMantell.S.Invitromicrograftingofcashew,Pla.Cell.Tis.Org.Cult, 6(2001) 49-58.

21. O. Monteuuis, In vivo grafting and in vitro micrografting of Acacia mangium: impact of ortet age. Silvae- Genetica, 44, 4 (1995) 190-193.

22. S. Mukhopadhyay, B.C. Sharma, R.K. Scngupta, P.S. Nath, J. Rai, and A. Gurung, Micropropagation of Darjeeling orange (Citrus reticulata Blanco) by shoot – tip grafting. J.Horticultural Science, 72, 3(1997) 493-499.

23. T. Murashige, W.P. Bitters, M. Rangan, E.M. Naucer, C.N. Roistacher, and Holliday, P.B.A technique of shoot grafting and its utilization towards recovering virus free Citrus cones. HortScience, 7 (1972) 118-119.

24. National Research council. Neem: a tree for solving global problems. National Academy Press, Washington , D.C. 141 (1992).

25. L. Navaro, and J. Juarez, Tissue culture techniques used in Spain to recover virus –free Citrus plants. Acta Horticulturae, 78 (1977) 425-435.

26. M. Parkinson, and M.M. Ycoman, Graft formation in cultured explanted internodes. New Phytologist, 91 (1982) 711-719.

27. S.N. Okpani, and G.C. Ezeukwa, Inflammatory and antipyretic action of Azadirachta indica. Planta. Med. 41 (1981) 34-39.

28. A.Onay, Pirinc,V.Yilirm,H and Basaran.D.In vitro microgerfting of mature pistachio. Plan.Cel.Tis.Org,Cult. 77 (2004) 215-219.

29. V.A. Parthasarathy, V. Nagaraju, and A.A.S. Rahman, In vitro grafting of Citrus reticulata Blanco. Folia-Horticulturae, 9, 2 (1997) 87-90).

30. Reed, B.M. Implementing cryogenic storge of clonally propagated plants. Cryo Lett. 22 (2001) 97-104.

31. M.C. Sanchez, A. Ballester. and A.Vieitez., M. Reinvigoration treatments for microporpagation of mature chestnut tree.Ann.Sci.For. 54 (1997) 359-370.

32. S.M.S.D. Ramanayake, and A. Kovoor, In vitro grafting of cashew (Anacardium occidentaleL.). Journal of Horticultural Science and Biotechnology, 74(2), 265-268.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-12-23]