Archive of SID

مجله علوم و فنون باغبانی ایران جلد ۲ شماره های ۳ و ۴ صفحه های۸۵ تا ۹۴ (۱۳۸۰)

افزایش درون شیشه ای پرتقال (*Citrus sinensis* L. Osbeck) با اندام زایی مستقیم در قطعات روپه[1]

IN VITRO PROPAGATION OF SWEET ORANGE (*CITRUS SINENSIS* L. Osbeck) BY DIRECT ORGANOGENESIS IN EPICOTYL SEGMENTS

محمود دژم، مرتضی خوشخوی و اختر شکافنده[2]

چکیده

آزمایش هایی برای افزایش درون شیشه ای[3] پرتقال با استفاده از ریزنمونه های[4] روپه[5] به طول ۵ میلی متر انجام گرفت. ریزنمونه ها از دانهال های درون شیشه ای تهیه شده و روی محیط کشت پایهٔ موراشیگی واسکوگ[6] (MS) که به آن غلظت های مختلف بنزیل آدنین[7] (BA) و نفتالن استیک اسید[8] (NAA) افزوده شده بود، قرار گرفتند. پس از ۶۰ روز، باززایی شاخساره از ریزنمونه ها بررسی گردید. بالاترین درصد باززایی و بیشترین تعداد شاخساره های نابجا[9] در غلظت های ۱ و ۲ میلی گرم در لیتر BA حاصل شد و با افزایش غلظت BA، تولید شاخساره های نابجا کاهش یافت. غلظت های ۰/۵ و ۱ میلی گرم در لیتر NAA، تأثیر معنی داری در باززایی و تعداد شاخساره های نابجا نداشتند، ولی در غلظت های کم BA، موجب افزایش طول شاخساره های نابجا گردیدند، به طوری که بیشترین طول شاخساره های نابجا، در غلظت ۱ میلی گرم در لیتر BA به همراه ۱ میلی گرم در لیتر NAA حاصل شد. برای ریشه زایی شاخساره های تولید شده، از محیط کشت پایه با نصف غلظت MS به همراه ۳ درصد ساکارز، ۷/۵ گرم در لیتر آگار واکسین های NAA و یا ایندول بوتیریک

۱- تاریخ دریافت ۷۹/۹/۲۷ تاریخ پذیرش ۸۰/۳/۱۰

۲- به ترتیب دانشجوی دکترای علوم باغبانی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، استاد بخش باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز و استادیار سازمان پژوهش های علمی و صنعتی ایران، پژوهشکده فارس، شیراز، جمهوری اسلامی ایران.

۳- *In vitro* propagation ۴- Explants ۵- Epicotyl ۶- Murashige and Skoog ۷- Benzyl adenine
۸- Naphthaleneacetic acid ۹- Adventitious shoots

www.SID.ir

Archive of SID

اسید[1] (IBA) استفاده شد. فروبری پایین شاخساره ها در محلول های ۱۰۰۰ میلی گرم در لیتر NAA یا IBA به مدت ۵ ثانیه و انتقال آنها به محیط کشت پایه با نصف غلظت MS، نیز برای ریشه زایی مورد بررسی قرار گرفت. در این پژوهش، بیشترین درصد ریشه زایی در محیط های حاوی IBA حاصل شد و NAA تأثیر مطلوبی در ریشه زایی نداشت. اضافه کردن NAA به محیط کشت موجب تولید پینه[2] در پایین شاخساره ها گردید. بیشترین درصد ریشه زایی و تعداد و طول ریشه، در غلظت ۱۰ میلی گرم در لیتر IBA به دست آمد. گیاهک ها پس از انتقال به گلدان های حاوی آمیختهٔ ۵۰٪ خاک و ۵۰٪ شن، به مدت ده روز با محلول یک هشتم غلظت نمک های MS آبیاری شده و به تدریج به محیط بیرون سازگار شدند.

مقدمه

مرکبات یکی از مهمترین گروه های درختان میوه می باشند که در نواحی نیمه گرمسیری و گرمسیری جهان کشت می شوند. تولید جهانی مرکبات در سال ۱۹۹۸، بالغ بر ۱۰۰ میلیون تن بوده است (۸). به طور معمول، افزایش مرکبات توسط کوپیوند سیری[3] روی پایه های گزینش شده انجام می شود. از آن جایی که بیشتر گونه ها و دورگه های مرکبات، به دلیل رویان زایی خورشی[4]، چند رویانی[5] هستند، در افزایش بذری گیاهان شبیه به اصل[6] را تولید می نمایند و بنابراین افزایش پایه های مرکبات، به وسیله بذرهای حاصل از گرده افشانی باز صورت می گیرد (۱۹).

با این حال، ریزافزایی و باززایی گیاه در گونه های مرکبات حائز اهمیت می باشد. افزایش پایه های حاصل از برنامه های بهنژادی به وسیله بذر به زمان طولانی نیاز دارد، در حالی که افزایش چنین گیاهانی با ریزنمونه های رویشی، سریعتر صورت می گیرد (۹). پاره ای از گونه های مرکبات، بذرهای تک رویانی تولید می نمایند که ریزافزایی این گونه ها، امکان تولید جمعیت گیاهی یکنواخت را فراهم می سازد (۱۱). افزون بر این، وجود یک سیستم کارآمد باززایی گیاه به روش اندام زایی[7]، اولین قدم در تغییر ژنتیکی و انتقال ژن به این گونه ها می باشد (۷).

پرتقال یکی از مهمترین گونه های مرکبات می باشد که ارقام متعددی از آن جهت تولید میوه کشت می‌گردند. افزون بر این، در بسیاری از موارد از پرتقال به عنوان پایه نیز استفاده می شود (۱۹).

۱- Indolebutyric acid ۲- Callus ۳- Sheild budding ۴- Nucellar embryogenesis ۵- Polyembryonic
۶- True-to-type ۷- Organogenesis

www.SID.ir

Archive of SID

در پرتقال اندام زایی درون شیشه ای، با استفاده از انواع ریزنمونه های جوان و بالغ از قبیل، نوک شاخساره[1] (۱)، برگ (۳)، میان گره های ساقه (۱، ۳، ۴)، محور روپه (۲، ۱۰)، محور زیرلپه[2] (۱۰) و ریشه (۲، ۱۸) گزارش شده است. جوانه های نابجا در بیشتر موارد به صورت مستقیم (۱، ۲، ۴، ۱۰، ۱۱) و در پاره ای موارد نیز به صورت غیرمستقیم (۳) با عبور از مرحلهٔ پینه زایی ایجاد شده اند. در تمامی پژوهش های انجام شده، سایتوکینین BA، جهت باززایی شاخسارهٔ ها ضروری بوده است، هرچند غلظت بهینهٔ آن، با توجه به نژادگان، ریزنمونه و سایر شرایط متفاوت گزارش شده است. ریشهٔ زایی شاخساره های تولید شده نیز با توجه به نژادگان[3]، محیط کشت و نوع و غلظت اکسین ها، متفاوت گزارش شده است (۱، ۳، ۴).

هدف از این پژوهش بررسی ریزافزایی پرتقال، به وسیلهٔ ایجاد شاخساره های نابجا در قطعات محور روپه و تعیین اثر مواد تنظیم کنندهٔ رشد گیاهی، در انگیزش و رشد شاخساره ها و ریشهٔ زایی این گیاه بوده است.

مواد و روش ها

میوه های رسیدهٔ پرتقال رقم محلی از درختان با گرده افشانی آزاد از شهرستان داراب واقع در جنوب استان فارس جمع آوری شده و به آزمایشگاه کشت بافت سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران مرکز فارس منتقل شدند. پس از جداسازی و شستشوی بذرها، هر دو پوستهٔ بذر جدا گردیدند. گندزدایی سطحی بذرها با محلول ۰/۵٪ هیپوکلریت سدیم به مدت ۱۵ دقیقه انجام شد و سپس سه مرتبه با آب مقطر سترون شده آبکشی شدند. کشت بذرها در لوله های آزمایش ۲۵۰ × ۱۵۰ میلی متری که محتوی ۱۵ میلی لیتر محیط کشت پایهٔ MS (۱۳) به همراه ۷/۵ گرم در لیتر آگار بودند، انجام شد. لوله های محتوی بذر، به مدت ۱۰ روز در تاریکی و پس از آن به مدت ۲۰ روز، تا قبل از استفاده، در شرایط ۱۶ ساعت روشنایی در شبانه روز قرار گرفتند. دمای اتاق رشد ۳±۲۵ درجهٔ سانتیگراد و شدت نور موجود حدود ۱۰۰۰ لوکس بود.

ریزنمونه های روپه با طول ۵ میلی متر از دانهال های[4] درون شیشه ای تهیه شده و به صورت افقی در لوله های آزمایش قرار داده شدند. در این مرحله برای انگیزش جوانه های نابجا و تولید شاخساره، از محیط کشت پایه با ۷/۵ گرم در لیتر آگار و BA با غلظت های ۲، ۱ و ۴ میلی گرم در لیتر همراه یا بدون NAA در غلظت های ۰/۵ و ۱ میلی گرم در لیتر استفاده شد. ریزنمونه های کشت شده به مدت ۲۰ روز در تاریکی و به دنبال آن ۴۰ روز در ۱۶ ساعت روشنایی در شبانه روز قرار داده شدند.

۱- Shoot tip ۲- Hypocotyl ۳- Genotype ۴- Seedlings

www.SID.ir

Archive of SID

برای ریشه زایی شاخساره های نابجای تولید شده، از محیط کشت پایه با نصف غلظت، همراه با ۳ درصد ساکارز، ۷/۵ گرم در لیتر آگار و ۱۰ میلی گرم در لیتر NAA یا IBA و یا ۵ میلی گرم در لیتر NAA به همراه ۵ میلی گرم در لیتر IBA استفاده شد. در بخش دیگری از پژوهش های ریشه زایی، بعد از فروبری پایین شاخساره ها به مدت ۵ ثانیه در محلول های ۱۰۰۰ میلی گرم در لیتر NAA یا IBA، روی محیط کشت پایه با نصف غلظت همراه با ۳ درصد ساکارز و ۷/۵ گرم در لیتر آگار کشت شدند. شرایط نگهداری شاخساره های کشت شده به مدت ۱۰ روز در تاریکی و سپس ۲۰ روز در ۱۶ ساعت روشنایی در شبانه روز تنظیم گردید. در تمامی موارد، ظروف حاوی محیط کشت، به مدت ۲۰ دقیقه، در اتوکلاو با دمای ۱۲۱ درجه سانتیگراد و فشار بخار ۱/۰۵ کیلوگرم بر سانتیمتر مربع گندزدایی شدند.

برای سازگاری، گیاهک های ریشه دار شده به گلدان های حاوی آمیختهٔ ۵۰٪ خاک و ۵۰٪ شن منتقل شدند و بر روی آنها کیسه های پلاستیکی شفاف قرار داده شد و در دمای ۳ ± ۲۵ درجه سانتیگراد و شدت نور ۲۰۰۰ لوکس قرار گرفتند. آبیاری گلدان ها ابتدا با محلول یک هشتم غلظت نمک های MS به مدت ۱۰ روز و پس از آن با آب معمولی انجام شد و به مرور گیاهان با محیط بیرون سازگار شدند.

در پایان آزمایش های باززایی شاخساره، تعداد ریزنمونه های تولید کنندهٔ شاخسارهٔ نابجا، تعداد شاخساره های نابجا در هر ریزنمونه و میانگین طول آنها یادداشت شدند. در انتهای آزمایش های ریشه زایی نیز، تعداد شاخساره های ریشه دار شده، تعداد ریشه ها و میانگین طول آنها یادداشت شدند. تمامی آزمایش ها در قالب طرح کاملاً تصادفی و با دستکم ۱۰ تکرار و هر تکرار شامل سه ریز نمونه انجام گرفت. داده ها به صورت آماری تجزیه شده و مقایسهٔ میانگین ها بر اساس آزمون جدید چند دامنه ای دانکن در سطح ۵ درصد توسط نرم‌افزار SAS صورت گرفت.

نتایج

تولید شاخساره نابجا

ریزنمونه های محور روپه پس از قرار گرفتن روی محیط کشت، در محل بریدگی، شروع به تورم نموده و به تدریج جوانه های نابجا از محل بریدگی ها پدیدار شدند. در محیط کشت حاوی ۱ میلی گرم در لیتر BA، کمترین زمان برای پدیدارشدن جوانه های نابجا دیده شد، به طوری که جوانه ها پس از ۱۰ روز قابل مشاهده بودند. پس از انتقال کشت ها به روشنایی، جوانه ها شروع به رشد طولی و توسعهٔ برگ نمودند.

میزان تولید شاخساره های نابجا در تیمارهای مختلف مواد تنظیم کننده رشد از ۵۰ تا ۱۰۰٪ متغیر بود (جدول ۱). در محیط کشت پایه، ۸۰ ٪ ریزنمونه ها، شاخساره های نابجا تولید نمودند. بیشترین میزان تولید شاخساره های نابجا در غلظت های ۱ و ۲ میلی گرم در لیتر BA حاصل شد و با افزایش غلظت BA به ۴ میلی‌گرم در لیتر، تولید شاخساره

www.SID.ir

Archive of SID

های نابجا کاهش یافت. همچنین در غلظت ۴ میلی گرم در لیتر BA، وجودNAA، موجب کاهش بیشتر تولید شاخساره های نابجا شد، به طوری که در غلظت ۱ میلی گرم در لیتر NAA، تولید شاخساره‌های نابجا به کمترین حد رسیده و اختلاف معنی داری در سطح ۵ ٪ نسبت به غلظت های ۱ و ۲میلی‌گرم در لیتر BA دیده شد (جدول ۱).

جدول ۱- اثر تیمارهای تنظیم کنندهٔ رشد گیاهی روی تشکیل شاخساره های نابجا در کشت قطعات روپه پرتقال.

Table 1. Effects of plant growth regulator treatments on adventitious shoot formation in epicotyl cultures of sweet orange.

طول شاخساره (میلی متر) Shoot length (mm)	تعداد شاخساره Shoot No.	ریزنمونه های تولید کنندهٔ شاخسارهٔ نابجا (٪) Explants producing adventitious shoots (%)	تنظیم کننده های رشد (میلی گرم در لیتر) Growth regulators (mg l^{-1})
4.71 cde	3.40 bc	80.00 ab †	0
5.17 cde	16.75 a	100.00 a	1 BA
6.08 bcd	15.75 a	100.00 a	2 BA
2.60 e	7.40 b	80.00 ab	4 BA
8.25 ab	13.60 a	100.00 a	1 BA + 0.5 NAA
4.15 de	19.37 a	100.00 a	2 BA + 0.5 NAA
3.40 de	0. 80 c	60.00 ab	4 BA + 0.5 NAA
9.48 a	15.70 a	100.00 a	1 BA + 1 NAA
7.06 abc	13.25 a	100.00 a	2 BA + 1 NAA
3.40 de	1.10 c	50. 00 b	4 BA + 1 NAA

† Means in each column with the similar letters are not significantly different at 5% level of probability using DNMRT.

† در هر ستون، میانگین هایی که دارای حروف یکسانی می باشند، در سطح ۵ درصد آزمون چند دامنه ای جدید دانکن تفاوت معنی داری با هم ندارند.

در این پژوهش بیشترین تعداد شاخسارهٔ نابجا در غلظت ۲ میلی گرم در لیتر BA و ۰/۵ میلی گرم در لیتر NAA حاصل شد، ولی در مجموع در غلظت های ۱ و ۲ میلی گرم در لیتر BA همراه یا بدون NAA، تفاوت معنی داری در سطح ۵ ٪ بین تعداد شاخساره های تولید شده دیده نشد (جدول ۱). با افزایش غلظت BA، تعداد شاخساره های تولید شده کاهش یافت و اختلاف معنی داری بین شاخساره های تولید شده در ۴ میلی گرم در لیتر BA و ۱ و ۲ میلی گرم در لیتر BA مشاهده شد.

متوسط طول شاخساره ها در تیمارهای مختلف متفاوت بود. بیشترین طول شاخساره در تیمار ۱ میلی گرم در لیتر BA و ۱ میلی گرم در لیتر NAA حاصل شد. در این آزمایش با افزایش غلظت BA از طول شاخساره ها

www.SID.ir

Archive of SID

کاسته شد، به طوری که تفاوت معنی داری در سطح ۵ ٪، بین غلظت های ۱ و ۲ میلی گرم در لیتر BA و ۴ میلی گرم در لیتر BA پدید آمد. افزودن NAA به محیط کشت باعث افزایش طول شاخساره ها گردید. متوسط طول شاخساره ها، در غلظت ۱ میلی گرم در لیتر BA به تنهایی، نسبت به غلظت ۱ میلی گرم در لیتر BA همراه با ۰/۵ یا ۱ میلی گرم در لیتر NAA، در سطح ۵ ٪، تفاوت معنی داری داشتند. هر چند در غلظت ۱ میلی گرم در لیتر BA، تفاوت معنی داری در طول شاخساره ها بین ۰/۵ و ۱ میلی گرم در لیتر NAA مشاهده نشد، ولی با افزایش غلظت BA به ۲ میلی گرم در لیتر، این تفاوت معنی دار گردید (جدول ۱). شکل ۱، شاخساره های نابجای تولید شده در کشت قطعات روپه پرتقال را در صفر، ۱ و ۲ میلی گرم در لیتر BA به همراه ۱ میلی گرم در لیتر NAA پس از ۶۰ روز نشان می دهد.

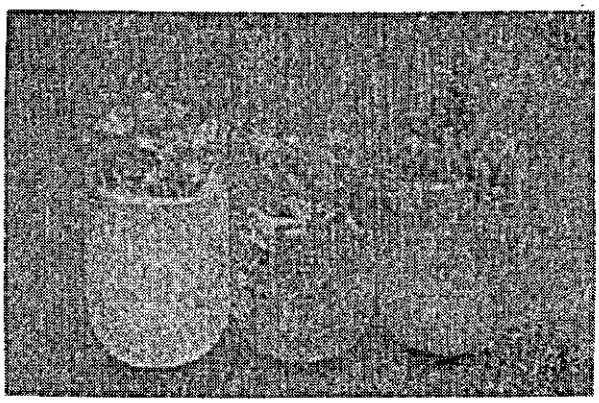

Fig. 1. Adventitious shoots produced from epicotyl segments of sweet orange in 0, 1 mg l^{-1} BA and 2 mg l^{-1} BA + 1 mg l^{-1} NAA, from left to right, respectively.

شکل ۱- شاخساره های نابجای تولید شده از قطعات روپه پرتقال به ترتیب از چپ به راست در صفر، ۱ میلی گرم در لیتر BA و ۲ میلی گرم در لیتر BA به همراه ۱ میلی گرم در لیتر NAA.

در این پژوهش، بیشترین تعداد و طول ریشه در تیمار حاوی ۱۰ میلی گرم در لیتر IBA حاصل شد (شکل ۲). هر چند تعداد ریشه ها، در تیمار حاوی ۱۰ میلی گرم در لیتر IBA با تیمار ۵ میلی گرم در لیتر IBA به همراه ۵ میلی گرم در لیتر NAA، و روش فروبری پایین شاخساره ها در محلول ۱۰۰۰ میلی گرم در لیتر IBA، تفاوت معنی داری نشان دادند ولی در متوسط طول ریشه ها بین این سه تیمار ریشه زایی اختلاف معنی داری مشاهده نشد (جدول ۲). تیمارهای حاوی NAA دارای کمترین تعداد و طول ریشه بودند و نسبت به تیمارهای دارای IBA، در سطح ۵ درصد تفاوت معنی داری داشتند (جدول ۲).

سازگاری

گیاهک های ریشه دار شده پس از انتقال به گلدان، به خوبی سازگار گردیدند. برداشتن تدریجی کیسه های پلاستیکی شفاف قرار گرفته روی گلدان ها، موجب سازگاری گیاهک ها به شرایط معمولی گردید، ولی در نهایت تا ۲ ماه پس از انتقال گیاهک ها به گلدان، حدود ۱۵٪ آن‌ها از بین رفتند.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲- اثر تیمارهای تنظیم کنندهٔ رشد گیاهی روی ریشه زایی شاخساره های نابجا در پرتقال.

Table 2. Effects of plant growth regulator treatments on rooting of adventitious shoots in sweet orange.

طول ریشه (میلی متر) Root length (mm)	تعداد ریشه Root No .	کشت های ریشه دار شده (٪) Rooted cultures (%)	تیمارها (میلی گرم در لیتر) Treatments (mg l^{-1})
25.08 bc	0.49 d	41.63 bc†	0
12.16 dc	0.56 d	43.30 bc	10 NAA
41.62 a	2.49 a	100.00 a	10 IBA
32.25 ab	1.83 b	93.75a	5 NAA + 5 IBA
5.00 d	0.16 d	16.67 c	1000 NAA††
35.47 ab	1.27 c	72.20 ab	1000 IBA††

† Means in each column with the similar letters are not significantly different at 5% level of probability using DNMRT.

†† 5 second dip of basal ends of shoots in above solution and transferring to half strength basal medium .

† در هر ستون، میانگین هایی که دارای حروف یکسانی می باشند، در سطح ۵ درصد آزمون چند دامنه ای جدید دانکن تفاوت معنی داری با هم ندارند.

†† فروبری پائین شاخساره به مدت ۵ ثانیه در محلول فوق و انتقال به محیط کشت پایه با نصف غلظت.

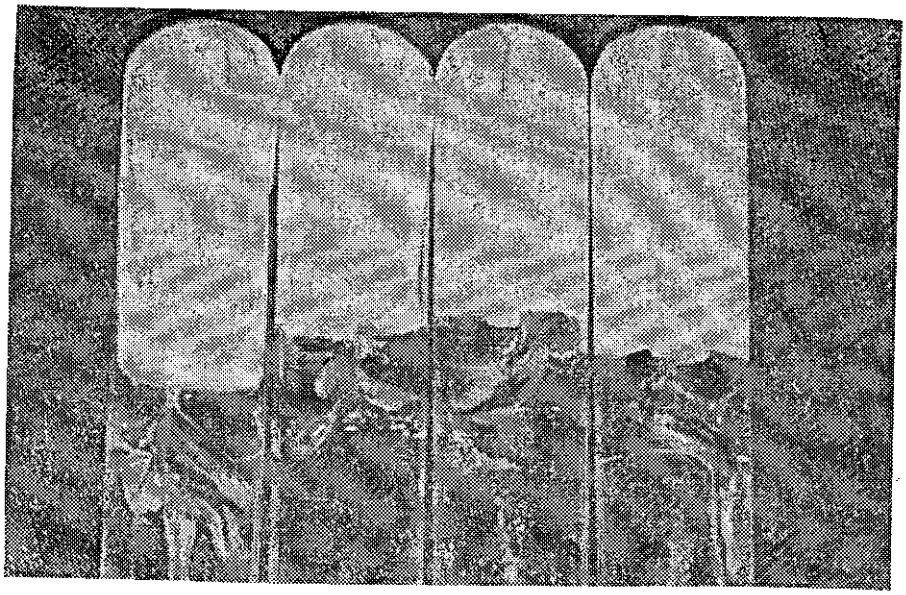

Fig. 2. Rooting of sweet orange shoots in a medium containing 10 mg l^{-1} IBA.

شکل ۲- ریشه زایی شاخساره های پرتقال در محیط کشت حاوی ۱۰ میلی گرم در لیتر IBA .

بحث

در این پژوهش، ریزنمونه های روپه پرتقال رقم محلی داراب درمحیط کشت پایه واکنش نشان داده و شاخساره های نابجا تولید نمودند. بیشترین درصد باززایی و تعداد شاخساره های نابجا در غلظت های ۱ و ۲ میلی گرم در لیتر BA مشاهده گردید. با افزایش غلظت BA به ۴ میلی گرم در لیتر، تولید شاخساره های نابجا کاهش یافت که با

www.SID.ir

Archive of SID

آزمایش های انجام شده بر روی ریزنمونه های روپه و زیر لپه پرتقال رقم 'موزامبی'[۱] مطابقت دارد (۱۰). در کشت قطعات میان گره دانهال های گریپ فروت، نارنج و آلیمو[۲]، BA با غلظت ۱ میلی گرم در لیتر موجب بیشترین میزان باززایی شاخساره ها شده است و با افزایش غلظت BA، از میزان باززایی و تعداد شاخساره ها کاسته شده است (۶). غلظت های ۰/۵ و ۱میلی گرم در لیتر BA، باعث تولید بیشترین شاخسارهٔ نابجا در کشت قطعات روپه در گونهٔ *Citrus mitis* شده است و غلظت های بالاتر BA، اثر جلوگیری کنندگی داشته اند (۱۶). از طرفی در کشت قطعات میان گره دانهال های لیمو ترش و نارنگی گزارش شده است که غلظت بهینهٔ BA برای باززایی شاخساره ها، ۷/۵ گرم در لیتر می باشد (۱۵). مور[۳] (۱۱) نیز در کشت ریزنمونه های میان گره دانهال های نارنج، نارنگی 'کلئوپاترا'[۴] و کاریزو سیترانج[۵]، گزارش کرده است که غلظت ۵ میلی گرم در لیتر BA، برای تولید شاخساره های نابجا، بهینه می باشد و حتی در غلظت ۱۰ میلی گرم در لیتر نیز شاخسارهٔ نابجا تولید شده است. تفاوت های موجود در غلظت بهینهٔ BA برای باززایی شاخساره های نابجا، ممکن است به دلیل تفاوت های نژادگانی، نوع و سن ریزنمونه ها، مقادیر داخلی مواد رشد گیاهی و حتی نحوهٔ قرار دادن ریزنمونه ها در محیط کشت باشد.

در رابطه با تأثیر اکسین ها بر باززایی شاخساره ها گزارش های متفاوتی وجود دارد. ادریس و بورگر[۶] (۵) گزارش کرده اند که در 'ترویرسیترانج'[۷]، غلظت های ۰/۱ تا ۱ میلی گرم در لیتر NAA، برای تولید شاخساره از ریزنمونه های روپه ضروری می باشد. در آزمایش دیگری نیز تأثیر مثبت و معنی دار NAA و یا ایندول استیک اسید (IAA) بر باززایی شاخساره ها از ریزنمونه های روپه 'ترویرسیترانج' گزارش شده است (۱۲). ولی مور (۱۱) گزارش کرده است که در غلظت های پایین BA، NAA از تولید شاخساره های نابجا جلوگیری می نماید. در این پژوهش غلظت های ۰/۵ و ۱ میلی گرم در لیتر NAA، تأثیر معنی داری بر تولید شاخساره ها نداشت که با نتایج حاصل از آزمایش های بارلاس و اسکنه[۸] (۱) مطابقت دارد.

بیشترین طول شاخساره ها در غلظت ۱ میلی گرم در لیتر BA به همراه ۰/۵ و ۱ میلی گرم در لیتر NAA حاصل شد و با افزایش غلظت BA از طول شاخساره ها کاسته شد. در کشت ریزنمونه های روپه 'ترویرسیترانج' نیز افزایش غلظت BA از ۱ به ۵ میلی گرم در لیتر، موجب کاهش طول شاخساره ها شده است (۱۲).

۱- 'Mosambi' ۲- Alemow ۳- Moore ۴- 'Cleopatra' mandarin ۵- 'Carrizo' citrange ۶- Edriss and Burger

۷- 'Troyer citrange' ۸- Barlass and Skene

www.SID.ir

Archive of SID

در این آزمایش میانگین طول شاخساره های تولید شده در مجموع ۰/۵۴ سانتی متر بود که نسبت به متوسط طول شاخساره های تولید شده در کشت ریزنمونه های میانگره نارنج (۰/۱۸ سانتی متر)، گریپ فروت (۰/۲۱ سانتی متر) و آلیمو (۰/۴۸ سانتی متر) گزارش شده توسط قوربل و همکاران (۶) بیشتر می باشد که ممکن است به دلیل تفاوت های نژادگانی، ریزنمونه و محیط کشت باشد.

بیشترین درصد ریشه زایی در این پژوهش، در محیط های حاوی IBA حاصل شد و NAA در ریشه زایی تأثیر مطلوبی نداشت، در حالی که در گزارش های متعددی در مرکبات، NAA نسبت به IBA، نتایج بهتری نشان داده است (۱، ۹، ۱۴). افزودن NAA به محیط کشت موجب تولید پینه در پایین شاخساره ها گردید. چنین وضعیتی در کشت شاخساره های نابجای حاصل از قطعات روپه در ترویرسیترانج نیز گزارش شده است (۱۲). سینگ و همکاران[۱] در لیمو و نارنگی گزارش کردند که با افزایش غلظت اکسین در محیط کشت، درصدریشه زایی، تعداد ریشه ها و طول آن ها کاهش می یابد. ولی در این آزمایش با افزایش غلظت IBA از ۵ به ۱۰ میلی گرم در لیتر درصد ریشه زایی و تعداد و طول ریشه ها افزایش یافت که ممکن است به دلیل شرایط متفاوت باززایی شاخساره ها، و تفاوت در حساسیت شاخساره ها به اکسین در رقم مورد آزمایش باشد. هر چند در این آزمایش، تفاوت معنی داری بین درصد ریشه زایی و طول ریشه ها در محیط های کشت حاوی IBA و روش فروبری در محلول IBA مشاهده نشد، ولی تعداد ریشه ها اختلاف معنی داری نشان دادند که ممکن است به دلیل وجود دائمی IBA در محیط کشت و تأثیر مثبت آن در افزایش تعداد آغازنده های ریشه باشد.

REFERENCES منابع

1. Barlass, M. and K.G.M. Skene. 1982. *In vitro* plantlet formation from C*itrus* species and hybrids. Sci. Hort. 17:333-341.
2. Burger, D.W. and W.P. Hackett. 1986. Gradients of adventitious bud formation on epicotyl and root sections of C*itrus*. Plant Sci. 43:229-232.
3. Chaturvedi, H.C. and G.C. Mitra. 1974. Clonal propagation of C*itrus* from somatic callus cultures. HortScience 9:118-120.
4. Duran-Vila, N., V. Ortega and L. Navarro. 1989. Morphogenesis and tissue culture of three C*itrus* species. Plant Cell, Tiss. Org. Cult. 16:123-133.
5. Edriss, M.H. and D.W. Burger. 1984. *In vitro* propagation of 'Troyer ' citrange from epicotyl segments. Sci. Hort. 23:159-162.

۱- Singh *et al.*

www.SID.ir

Archive of SID

6. Ghorbel, R., L. Navarro and N. Duran-Vila. 1998. Morphogenesis and regeneration of whole plants of grapefruit (*Citrus paradisi*), Sour orange (*C. aurantium*) and alemow (*C. macrophylla*). J. Hort. Sci. Biotech.73:323-327.

7. Gmitter, F.G. Jr., J.W. Grosser and G.A. .Moore. 1992. *Citrus*, In: Hammerschlag, F.A. and R.E. Litz, (eds.). Biotechnology of Perennial Fruit Crops. CAB International, Wallingford, Oxon. U.K. 335-369.

8. Jackson, D.I. and N.E. Looney (eds.). 1999. Temperate and Subtropical Fruit Production. CAB International, Wallingford, Oxon, U.K. 321 p.

9. Kitto, S.L. and M.J. Young. 1981. *In vitro* propagation of carrizo citrange. HortScience 16:305-306.

10. Maggon, R. and B.D. Singh. 1995. Promotion of adventitious bud regeneration by ABA in combination with BAP in epicotyl and hypocotyl explants of sweet orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck). Sci. Hort. 63:123-128.

11. Moore, G.A. 1986. *In vitro* propagation of *Citrus* rootstocks. HortScience 21:300-301.

12. Moreira-Dias, J.M., R.V. Molina, Y. Bordon, J.L. Guardiola and A. Garcia- Luis. 2000. Direct and indirect shoot organogenic pathways in epicotyl cutting of 'Troyer' citrange differ in hormone requirement and in their response to light. Ann. Bot. 85:103-110.

13. Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiol. Plant. 15:473-497.

14. Normah, M.N., S. Hamidah and F.D. Ghani. 1997. Micropropagation of *Citrus halimii*-An endangered species of south-east Asia. Plant Cell, Tiss. Org. Cult. 50:225-227.

15. Perez-Molphe-Balch, E. and N. Ochoa-Alejo. 1997. *In vitro* plant regeneration of Mexican lime and mandarin by direct organogenesis. HortScience 32:931-934.

16. Sim, G.E., C.J. Goh and C.S. Loh. 1989. Micropropagation of *Citrus mitis* Blanco-Multiple bud formation from shoot and root explants in the presence of 6-benzylamino purine. Plant Sci. 59:203-210.

17. Singh, S., B.K. Ray, S. Bhattacharyya and P.C. Deka. 1994. *In vitro* propagation of *Citrus reticulata* Blanco and *Citrus limon* Burm. F. HortScience 29:214-216.

18. Sauton, A., A. Mouras and A. Lutz. 1982. Plant regeneration from *Citrus* root meristems. J. Hort. Sci. 57:227-231.

19. Wutscher, H.K. 1979. *Citrus* rootstocks. Hort. Rev. 1:237-269.

www.SID.ir