J. of Nuclear Sci. and Tech.
No. 37, pp. 29-34, 2006
Archive of SID
مجله علوم و فنون هسته‌اي
شماره ۳۷، صفحات ۳٤-۲۹، ۱۳۸۵

القاء موتاسیون در نارنگی به منظور ایجاد تنوع ژنتیکی در جهت تولید موتانت‌هایی با صفات کیفی برتر (با استفاده از پرتوهای گاما)

مسعود رحیمی*، فرامرز مجد، ابراهیم جهانگیرزاده، سیروس ودادی، اسفندیار رحمانی، نرگس نشان
مرکز تحقیقات کشاورزی و پزشکی هسته‌ای، سازمان انرژی اتمی ایران، صندوق پستی: ٤٩٨-٣١٤٨٥، کرج - ایران

چکیده: تنوع ژنتیکی از عوامل ضروری اصلاح نباتات است. ایجاد جهش (موتاسیون) در ازدیاد ذخایر متنوع ژنتیکی بسیار مؤثّر و در بهبود ارقام درختان میوه و محصولات گیاهی دیگر مفید است. پیشرفت‌های اخیر در زی‌فن‌شناسی روش‌های جدیدی را برای ریزازدیادی و ذزیابی گیاهان با صفت برتر حاصل از جهش و دگرگونی ایجاد کرده است. در این کار پژوهشی، نارنگی رقم کلمانتین به عنوان رقم مناسب که تطابق‌پذیری خوبی با شرایط جوی شمال کشور دارد انتخاب شده است. از صفات نامناسب این رقم، می‌توان تعداد زیاد دانه در میوه را نام برد. در این کار پژوهشی پرتوهای گاما به عنوان موتاژن فیزیکی با ذزهای ۳۵ Gy، ۴۰، ۴۵ روی جوانه‌های جانبی بعد از کشت بخشینه انتهایی و تولید گیاهان عاری از ویروس بکار برده شد. جوانه‌های پرتو دیده بر روی پایه نارنج پیوند زده شدند (M_1V_1). برای از بین بردن کایمرا در سه نسل هرس انجام گرفت و در نهایت گیاهان M_1V_3 به زمین اصلی منتقل شدند. پس از رسیدن به سن میوه‌دهی بر اساس صفات موردنظر، انتخاب صورت گرفت که در نتیجه، تعدادی درختچه با میوه‌های بدون هسته و تعدادی درختچه زودرس و دیررس بدست آمد.

واژه‌های کلیدی: موتاسیون، مرکبات، STG، جهش القائی، جهش‌های سوماتیک، خارج بدن، جهش‌زاها

Induction Mutation in Tangerine for Creating Genetic Variation to Produce Mutants With Desirable Character (using gamma rays)

M. Rahimi*, F. Majd, E. Jahangirzadeh, S. Vedadi, E. Rahmani, N. Neshan
Nuclear Research Centre for Agriculture and Medicine, AEOI, P.O. Box: 31485-498, Karaj - Iran

Abstract: Genetic variation is an essential factor for the crop breeding. Induced mutations are highly effective to enhance the natural genetic resources, and have assisted in developing the improved cultivars of fruits and other crops. The recent advances in biotechnological techniques have the potential to provide efficient methods of vegetative propagation, screening techniques and genetic improvement through the mutation. On this basis, we selected tangerine (Celemantin cv) as a well-adapted, and highly consumed citrus fruit which has a disadvantage of containing too many seeds in it's flash. We applied physical mutagen (γ-ray) with dose rates of (35,40 and 45 Gy) for lateral bud after shoot tip grafting (stg) and production of contaminated-free plants. The irradiated buds were grafted to sour orange as root stocks (M_1V_1) and chimera dissolved by further vegetative propagation. Finally, the M1V3 plants were transferred to the field and after the production of the fruits, selection has been made. The results have showed that radiation was able to produce seedless, early and late ripening and cold resistance samples. Tangerine (Clemantine Cv) has also shown that it possesses a high yield of production.

Keywords: ***Mutation, Citrus, STG, Induced Mutation, Somatic Mutations, In Vitro, Mutagens***

*email: Mahrahimi@yahoo.com
تاریخ دریافت مقاله: ۸۴/۴/۶ تاریخ پذیرش مقاله: ۸۵/۲/۲۳

www.SID.ir

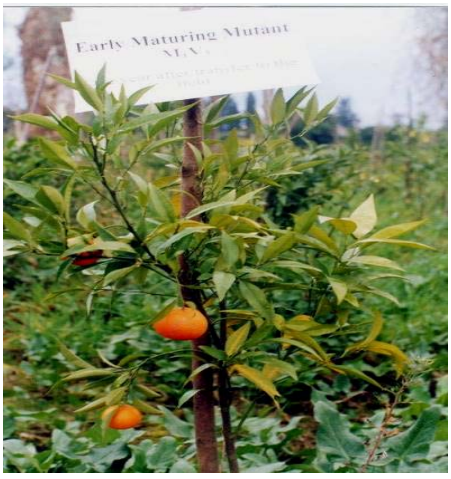
Archive of SID

۱- مقدمه

مرکبات[۱] از خانواده Rutaceae و زیر خانواده Aurantioideae می‌باشند؛ در این زیر خانواده ۳۳ جنس مختلف وجود دارد که ارقام متفاوت پرتقال و نارنگی را نیز شامل می‌شود [۱]. رقم Poncirus که دارای میوه‌های ریز و پربذر بوده و به عنوان پایه مورد استفاده قرار می‌گیرد نیز از همین زیر خانواده است (شکل ۱ درخت نارنگی).

درختان مرکبات در معرض آفت‌های متعدد قارچی، باکتریایی و ویروسی قرار دارند. اندام‌های مختلف گیاه از جمله برگ، شاخه، تنه، ریشه یا میوه‌ها ممکن است به این آفت‌ها مبتلا شوند. برای جلوگیری از این آفت‌ها باید گیاهانی که وارد چرخهٔ اصلاح می‌شوند عاری از عوامل بیماری‌زا باشند. بیماری‌های مرکبات در همهٔ نواحی مرکبات‌خیز مشاهده نمی‌شوند؛ در شرایط آب و هوای ایران فقط برخی از عوامل بیماری‌زا دیده می‌شود. بسیاری از ویروسها که از طریق مواد گیاهی آلوده از چندین دهه گذشته وارد کشور ما شده‌اند همچنان شیوع دارند [۲]. با استفاده از تکنیک میکرو پیوند (STG)[۲] که عبارت است از پیوند زدن بافت بخشینه [۳] انتهایی شاخه‌های جوان به طول تقریبی ۰/۱ تا ۰/۲ میلی‌متر بر روی پایه، می‌توان گیاه عاری از ویروس پرورش داد [۳]. ناحیه بخشینه بنابر دلایل زیر ممکن است عاری از ویروس باشد:

- رشد سریع این ناحیه
- عدم وجود آوند
- وجود مواد شیمیایی نامناسب برای رشد ویروس [۴].



شکل ۱- درخت نارنگی.

رتم کلمانتین به طور طبیعی «خودناسازگار»[۴] است، اما وقتی در شرایطی قرار گیرد که گرده‌هایی از درختان دیگر در اختیار آن باشد میوه هسته‌دار تولید خواهد کرد. در صورت ایجاد تغییرات ژنتیکی و القای صفت تولید میوه بدون نیاز به گرده، میوه بدون هسته تولید خواهد شد [۳]. برای بر طرف‌سازی این معضل می‌توان از پرتوتابی با اشعهٔ گاما برای ایجاد تنوع ژنتیکی و صفات مطلوب، بدون برهمزدن کلّ ژنوم استفاده کرد.

گیاهچه‌ها پس از عاری‌شدن از عوامل بیماری‌زا وارد چرخه اصلاح می‌شوند. ابتدا جوانه‌ها مورد پرتوتابی قرار می‌گیرند، در صورتی که جهش ایجاد شده مانعی برای ادامه حیات سلول‌های بافت نباشد و این سلول‌ها قابلیت رقابت با سایر سلول‌های بافت را داشته باشند، ممکن است تقسیمات سلولی را انجام دهند و تولید بافت کایمرا نمایند. با توجه به اینکه جهش در تمام لایه‌های جنینی جوانه پرتوتابی شده امکان وقوع مساوی دارد و با توجه به تفاوت تعداد سلول‌ها در لایه‌های جنینی امکان وجود بخش‌های جهشی و غیرجهشی با اندازه‌های متفاوت در بعضی از جوانه‌های نسل بعد وجود دارد. بر همین اساس، Donini(۱۹۹۸) عملیات هُرس تا سه نسل جهت امکان تولید نهال‌های غیر کایمرا را پیشنهاد داد زیرا برای رهایی از وضعیت کایمرا ادامه تکثیر به صورت غیرجنسی ضروری است [۵].

Donini در ایتالیا موفّق به معرفی ۹ رقم جهشی (موتانت) در مرکبات، زیتون و سیب‌زمینی شده است. این رقمهای جهشی دارای صفاتی مانند زودرسی میوه، دیر گل‌دهی (برای مقاومت در برابر سرمای بهاره)، کوتاه بودن ارتفاع درخت و تغییراتی در رنگ سیب‌زمینی می‌باشند. وی در مقاله خود تحت عنوان برنامه‌های موتاسیون بریدینگ برای اصلاح گیاهانی که از طریق غیرجنسی تکثیر می‌یابند و در ایتالیا تحت کد IAEA–SM-311/25 در سمپوزیوم موتاسیون بریدینگ برای اصلاح نباتات به چاپ رسیده است اظهار می‌دارد: اصلاح از طریق موتاسیون بریدینگ به عنوان ابزاری معتبر برای اصلاح نباتات مطرح است و می‌تواند در کنار برنامه‌های اصلاحی سنتی خیلی مفید باشد. در فلسطین اشغالی Spiegel-Roy توانسته است درختان مرکبات فاقد بذر را در گریپ فروت، لیمو، پرتغال به روش موتاسیون به دست آورد. به اعتقاد این محقق، فقدان بذر در میوه توسط تعداد اندکی از ژن‌ها کنترل می‌شود.

www.SID.ir

Archive of SID

۲- مواد و روش‌ها

برای تهیه پایه، هم از بذر کامل استفاده شد و هم از بذرهایی که درون میوه‌های گیاه بصورت نارس از درخت چیده شدند. برای آلودگی‌زدایی، بذرها را به مدت یک دقیقه در الکل ۷۰٪ و به مدت ۲۰ دقیقه در محلول ۲۰٪ هیپوکلرید سدیوم قرار داده و سه بار با آب مقطر استریل شستشو، سپس پوسته روی آن جدا شد. در مورد بذرهایی که درون میوه قرار داشتند، ابتدا میوه‌ها را در محلول ۱۰٪ هیپوکلرید سدیوم قرار داده و پس از خارج کردن بذرها و جداسازی پوست روی آنها در شرایط استریل، دوباره با محلول ۲۰٪ هیپوکلرید سدیوم به مدت ۱۰ دقیقه ضدعفونی و در محیط MS حاوی ۷٪ آگار قرار داده و در شرایط تاریکی مطلق با دمای محیطی ۲۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. پس از گذشت چند روز، بذرها شروع به رشد کرده و بعد از ۲ یا ۳ هفته از گیاهچه‌هایی که اپیکوتیل آنها در محل پیوند ۵-۳ سانتی‌متر طول و ۱/۸-۱/۶ میلی‌متر قطر داشت استفاده شد؛ قسمت انتهایی ریشه از ۴ تا ۶ سانتی‌متری لپه قطع و لپه‌ها و جوانه‌های فرعی هم از گیاهچه‌ها حذف شدند.

برگ‌های اولیه و بخش انتخابی اپیکوتیل نیز بریده شد به نحوی که ارتفاع اپیکوتیل به ۱/۵ تا ۲ سانتی‌متر رسید. برای ایجاد شکاف بصورت ⊥ ابتدا یک شکاف افقی سپس دو شکاف عمودی ایجاد گردید. برای تهیه پیوندک، از جوانه‌های نارنگی استفاده شد (شکل ۲). برای ایجاد جوانه تازه، باید به گیاه تنش وارد شود. برای این منظور، ۴۵ الی ۵۰ روز قبل از آماده شدن پایه، کلیه برگهای گیاهچه‌های نارنگی قطع می‌شوند. جوانه‌های تازه که دارای ساقه و برگ تُرد و ظریف بودند، پس از ضدعفونی کردن، همراه با پایه‌ها برای تیمار، درون محلول‌های 2.4-D10µg/L و BAP5mg/L، مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شدند. سپس به کمک استریومیکروسکوپ، پس از حذف برگ‌های اضافی در حالی که مریستم حاوی ۳ برگچه ابتدایی بطول‌های ۰/۱ و ۰/۲ میلی‌متر بود، بر روی پایه‌ای که قبلاً توسط شکاف‌های افقی و عمودی ایجاد شده بود قرار داده شد و به همراه نمونه‌های شاهد (بدون تیمار هورمونی) به محیط MS مایع حاوی ۷۰ گرم در لیتر ساکارز و ویتامین‌های محیط وایت منتقل شدند، و مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در تاریکی با شرایط دمایی ۲۹ درجه سانتی‌گراد نگهداری شده سپس به محیط دیگر با رژیم نوری ۱۰۰۰ لوکس و دمای ۲۹ درجه سانتی‌گراد انتقال یافتند.

نمونه‌های موفّق به گلدان انتقال داده شدند تا پس از رشد، برای تکثیر به عنوان پیوندک مورد استفاده قرار گیرند. پیوندک نارنگی کلمانتین از درختان مادری سالم تهیه و با محلول کاپتان ضدعفونی شد و سر شاخه‌های حامل پیوندک با چسب باغبانی پوشیده شدند شکلهای ۳ و ۴ نمونه‌های موفّق پیوند را نشان می‌دهند. شاخه‌های حاوی پیوندک با دُزهای ۳۵، ۴۰ و ۴۵ گری پرتوهای گاما، پرتوتابی شده و بلافاصله به مؤسسه تحقیقات مرکبات رامسر منتقل و بر روی پایه نارنج موجود در گلدان‌های پلاستیکی در گلخانه به تفکیک پیوند زده شده (M_1V_1) از گرفتن پیوندهای موفق سر برداری شد و پس از رشد کافی (M_1V_1) نسبت به هُرس آنها اقدام گردید بطوریکه دو جوانه در هر نهال باقی گذاشته شد و بقیه که حدود ۵ جوانه از هر نهال بود بر روی پایه‌های نارنج موجود در کیسه پلاستیکی پیوند زده شدند (M_1V_2).

شکل ۲- پیوند بر پایه پونسیروس.

شکل ۳- پیوند ناموفق.

www.SID.ir

Archive of SID

شکل ٤- پیوند موفق.

پس از رشد کافی نهال‌های M_1V_2، بار دیگر به هُرس آنها اقدام شد و در هر نهال دو جوانه باقی گذاشته و بقیه، حدود ۵ جوانه از هر نهال بر روی پایه‌های نارنج موجود در کیسه پلاستیکی پیوند زده شد M_1V_3. هدف از انجام پیوند مستمر از M_1V_1 تا M_1V_3 رسیدن به خلوص کامل در جهشی‌هاست. پس از رشد کافی نهال‌ها که بالغ بر ۱۸۷۶ اصله بودند، در زمستان ۷۹ و بهار ۸۰ قطعه زمینی در ایستگاه تحقیقات مرکبات خرم‌آباد تنکابن مشخص و نسبت به آماده‌سازی آن (تراش، گونیا کردن، گودال‌کنی، تهیه ترکیب خاکی مناسب) اقدام شد و نهال‌ها ضمن کد گذاری و نصب پلاک بر اساس دْز پرتودهی، ردیف و شماره درخت بر روی هر ردیف با فاصله ۱/۵*۱/۵ متر کاشته شدند. سال‌های ۱۳۸۰ تا ۱۳۸۴ نسبت به داشتِ (تغذیه، سمپاشی بر علیه مینوز، آبیاری، مبارزه با علف‌های هرز، قیم بستن و ...) نهال‌های هرس شده اقدام شد. با توجه به هدف طرح، که دستیابی به جهش‌هایی با صفات کیفی برتر بوده است پس از باردهی در سال‌های ۱۳۸۲ و ۱۳۸۳، مطالعه بر روی میوه آنها از دیدگاه زودرسی، دیررسی، کم‌بذری پربذری، مقاومت میوه در مقابل سرمای اتفاقی در مزرعه و میانگین وزن میوه با استفاده از ترازو، حداقل بذر، حداکثر بذر و میانگین بذر در میوه و تعیین میزان مواد جامد محلول بوسیله انکسارسنج (رفراکتومتر) در نمونه‌های ۲۵ تایی انجام گرفت.

۳- نتایج

توان جوانه‌زنی بذرهای پونسیروس پس از گذشت ۲ ماه کاهش می‌یابد؛ چنانچه بذرها درون ظروف دربسته در یخچال نگهداری شوند افزایش می‌یابد. تداوم توان جوانه‌زنی بذرهایی که درون میوه‌های نارس می‌باشند بیشتر است. دوبار استریل کردن بذرها، در کاهش آلودگی‌های قارچی آنها بسیار مؤثر بود. کندن پوستهٔ خارجی این بذرها سبب کاهش زمان جوانه‌زنی آنها می‌شود.

قبل از اینکه پیوندک شروع به رشد کند تعداد زیادی جوانهٔ نابجا در محل برش رشد می‌کرد که می‌بایست همهٔ آنها قطع شوند، تا پیوندک امکان رشد بیشتری داشته باشد.

در ۴۰ ٪ از نمونه‌هایی که با هورمون 2.4-D تیمار شده بودند و در ۱۶٪ از نمونه‌ها که باهورمون BAP تیمار شدند پیوند با موفقیت همراه بود، اما در نمونه‌های شاهد میزان موفقیت پیوند ۶٪ بود (جداول ۱ و ۲).

در مشاهدات مزرعه‌ای طی بررسی دو ساله:

- با توجه به زودرسی و رنگ‌گیری میوه‌ها، تعداد ۱۰ نوع موتانت زودرس شناسایی شد.
- با در نظر گرفتن دیررسی میوه‌ها بر حسب تأخیر در رنگ‌گیری آنها، تعداد ۱۳ نوع موتانت دیررس شناسایی شد. در بعضی از موتانت‌ها از نظر شکل ظاهری میوه، تغییرات فاحشی نسبت به کلمانتین دیده می‌شود.

جدول ۱- خلاصه نتایج تجزیه واریانس تأثیر پیش تیمار و ساکارز بر درصد موفقیت‌آمیز بودن پیوند.

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات درصد موفقیت پیوند
پیش تیمار	۱	۴۷۷/۰۴**
ساکارز	۳	۲۵۶۲/۷۹**
ساکارز*پیش تیمار	۳	۶۱۰/۴۶**
خطا	۱۶	۷۳/۳۶
cv	-	۱۷/۳۲

**: اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪

جدول ۲- مقایسه میانگین غلظت‌های ساکارز بر درصد موفقیت‌آمیز بودن پیوند.

غلظت ساکارز ($g.1^{-1}$)	درصد موفقیت پیوند
۷۰	۲۸/۳۳ a
۸۵	۱۴/۶۷ b
۱۰۰	۳/۸۳ c
۱۱۵	۲/۶ c

www.SID.ir

Archive of SID

- از دیدگاه بی‌بذری و کم‌بذری که هدف اجرای طرح بوده است، در بررسی‌های مزرعه‌ای تعداد ۲۲۶ نوع موتانت انتخاب و از هر کدام ۲۵ عدد میوه از قسمت‌های مختلف درخت برداشت شده و در آزمایشگاه از دیدگاه میانگین وزن میوه، حداقل تعداد بذر، حداکثر میانگین تعداد بذر و درجه بریکس (مواد جامد محلول) مورد بررسی قرار گرفتند.
- با توجه به بررسی آزمایشگاهی موتانت‌ها از دیدگاه کم‌بذری یا بی‌بذری، تعداد ۶ نوع کاملاً بی‌بذر بودند و تعداد ۲۱ نوع به عنوان کم‌بذر انتخاب شدند.
- از نظر رویشی، تغییرات قابل توجهی که قابلیت تمایز داشته باشند وجود نداشت.
- با توجه به دژهای پرتودهی مورد استفاده (۳۵، ۴۰، ۴۵ گری)، در نسل m_1v_1 مشاهده شد که هر چه دژ پرتوها بالا رفته میزان گیرایی پیوند کاهش یافته است به طوری که تعداد نهال‌های بدست آمده در نسل m_1v_3 در دژهای ۳۵، ۴۰، ۴۵ گری به ترتیب ۸۹۶، ۷۵۲، ۲۲۸ نهال پیوندی بوده است.
- بین نهال‌ها ۲۰ نهال مقاوم به سرما شناسایی شد که با توجه به سرمای منطقه مازندران برای ازدیاد در این منطقه بسیار مناسب است.
- تعدادی نهال دیررس با بار بسیار خوب شناسایی شد که آنها برای ازدیاد در مناطق جنوب کشور مناسبند. تعدادی نهال با مقدار بذر کمتر از ۷ عدد در هر میوه، همچنین ۳ نهال دارای میوه بدون هسته شناسایی شد (از هر نهال حداقل ۴ میوه و از نهال بدون هسته بیش از ۲۵ میوه مورد بررسی قرار گرفت که در میوه این نهال‌ها حتی یک بذر هم وجود نداشت).

٤- بحث

همهٔ جوانه‌ها و پایه‌هایی که با هورمون‌ها تیمار شده بودند، در محل پیوند ابتدا تولید کالوس[۵] کردند و پس از گذشت چند روز جوانه‌ها شروع به رشد نمودند. گاهی میزان کالوس‌زایی در حد بالایی بود به صورتی که جوانه در زیر توده‌ایی از کالوس پنهان می‌گردید که بایستی در رابطه با میزان هورمون و مدت تیمار آن، بررسی مجدد صورت گیرد.

استفاده از مریستم انتهایی برای تولید گیاهان عاری از ویروس یکی از بهترین روشی بوده که گیاه ایجاد شده برخلاف درختان نوسلار (جنین‌های غیرجنسی) فاقد خصوصیات جوانی مانند پرتیغ بودن و دیر به میوه رفتن می‌باشد. در کنار این تکنیک با استفاده از گرما درمانی می‌توان بسیاری از ویروس‌ها را حذف نمود. البته باید توجه داشت با استفاده از روش گرما درمانی به همراه کشت مریستم انتهایی تعداد زیادتری از ویروس‌ها را می‌توان حذف نمود. بعضی از محققین گزارش کردند که پیش تیمار پیوندک و یا پیوندک و پایه با محلول 2,4-D، Kin و یا BAP موجب افزایش میزان موفقیت ریزپیوندی می‌شود (ادریس ۱۹۸۴) [۶]. استارانتینو و کاروسو (۱۹۸۸)، دریافتند که با فرو بردن پایه و پیوندکها به مدت ۱۰ دقیقه در محلول «۰/۵ $mg.l^{-1}$» BAP، درصد جوانه‌زنی و رشد پیوندکها از ۷۳٪ به ۹۱٪ افزایش می‌یابد [۷]. پارتاساراتی و همکاران (۱۹۹۷)، نیز گزارش کردند، پیش تیمار پیوندکهای نارنگی مندارین (رقم Khasi) با محلول ۱۰$\mu g.l^{-1}$ 2,4-D موجب افزایش قابل توجه گیرایی پیوندها می‌گردد [۸].

مزیت کاربرد این پیش تیمارها را می‌توان به تأثیری که در تحریک تولید کالوس و جوش خوردن محل پیوند دارند نسبت داد. قند جزء بسیار مهمی از محیط کشت است و چون شرایط رشد معمولاً برای فتوسنتز کافی نیست، اضافه کردن آن به این محیط ضروری است. به طور معمول، با افزایش غلظت قند، رشد و نمو افزایش می‌یابد تا به حد مطلوبی برسد، سپس در غلظت بالا، کاهش می‌یابد (بوکسیوس ۱۹۸۶) [۹]. اکثر محققین، برای «کشت درون شیشه‌ای» مرکبات از ساکارز با غلظت‌های ۳ و ۵ درصد استفاده کرده‌اند، اما جهت ریزپیوندی، مقادیر بیشتری مورد استفاده قرار گرفته است. ناوارو و همکاران (۱۹۹۲) در تحقیقی بر روی ریزپیوندی مرکبات، بالاترین میزان موفقیت پیوندها را با غلظت ۷۵$g.l^{-1}$ ساکارز به دست آوردند [۳]. جونارد (۱۹۸۶) دریافت که افزایش غلظت ساکارز از ۳۰-۵۰$g.l^{-1}$ به ۸۵$g.l^{-1}$ موجب بهبود درصد موفقیت پیوندها از ۴۰٪ به ۹۵٪ می‌گردد [۱۰]. با توجه به گزارشهای محققان کشورهای آفریقای جنوبی، فلسطین و ایتالیا در مورد نتایج کاربرد پرتو در کاهش بذر در نارنگی کلمانتین و دستیابی به جهش‌های بی‌بذر و کم‌بذر در سایر مرکبات، از جمله گریپ فروت، لیمو و پرتغال،

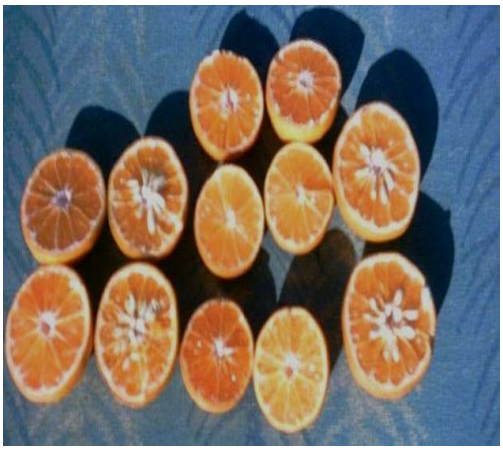
www.SID.ir

Archive of SID

ایجاد جهش‌های زودرس و دیررس مؤید نتایج بدست آمده از اجرای این طرح می‌باشد. شکل ۵ کایمرای حاصل از پرتوتابی و شکل ۶ میوه‌های هسته‌دار و بدون هسته ناشی از پرتوتابی نهال‌های نارنگی را نشان می‌دهد.

با در نظر گرفتن نظریه همبستگی مثبت بین میزان بذر با درشتی میوه، با توجه به میانگین وزن میوه در گروه‌های بی‌بذر، کم‌بذر و پربذر، که به ترتیب ۴۶/۴۷، ۵۷/۶۵ و ۸۷/۰۴ گرم است می‌توان اذعان کرد که این نظریه در نتیجه این طرح نیز صادق است.

شکل ۵- نمونه کایمرا.



شکل ٦- نمونه‌های بدون هسته مونانت- هسته‌دار شاهد.

پی‌نوشت‌ها:

۱- Citrus

۲- STG: Shoot Tip Grafting

۳- Meristem Tip

۴- Self in Compatibility

۵- Callue

References:

1. ر. فتوحی قزوینی، "تولید کلونهای عاری از ویروس ارقام نارنگی انشو از طریق کشت تخمک‌های نارس شده،" انتشارات دانشگاه گیلان (۱۳۷۷).

2. ح. شیبانی،"باغبانی،" جلد چهارم. مرکز نشر سپهر (۱۳۴۲).

3. L. Navarro, "Citru shoot tip grafting in vitro," In: Biotechnology in Agriculture and Forestry, Vol. 18, Bajaj, Y.P.S. (ed). Springer Verlag, Berlin Heidelberg (1991).

4. S. Bhoswanis and M.K Razdan, "Plant Tissus Culture," Elsevier, (1983).

5. Donini, "Mutagenesis applied for the improvement of vegetgetively propagated plants," International Atomic Energy Agency, (1994).

6. M.H. Edriss and D.W. Burger, "Micrografting shoot tip culture of Citrus on three trifoliata rootstock," Sci. Hort, **23**, 255-259 (1984).

7. A. Starrantino, and A. Caruo, "The shoot tip grafting technique applied in citriculture," Acta Hort, (1988).

8. V.A. Parthasaarathy, V. Nagaraju, S.A.S. Rahman, "In vitro grafting of Citrus reticulate Blanco," Folia. Hort, 9/2, 87-90 (1997).

9. P. Boxus, P. Druart, "Virus-free trees through tissue culture," In: Biotechnology in Agriculture and Forestry. Vol. **1**. Bajaj, Y.P.S. (ed). Springer-Verlag, Berlin Heidelberg (1986).

10. R. Jonard, "Micrografting and its applications to tree improvement," In: Biotechnology in Agriculture and Forestry. Vol. 1. Bajaj, Y.P.S. (ed). Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, (1986).

www.SID.ir