مجله بیوتکنولوژی کشاورزی
علمی-پژوهشی و ISC

ارزیابی نوع پایه، غلظت ساکاروز و سیستم حمایت کننده محیط کشت در گیرایی و سازگاری ریزپیوندی لیموی آب (Citrus aurantifulia)

زینب پارسایی[۱]، محمد هدایت[۲*]، ساسان راستگو[۳]، فرشته بیات[۴]

[۱] دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر، ایران.

[۲] استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر، ایران.

[۳] استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر، ایران.

[۴] استادیار گروه اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۱/۲۶، تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۳/۱۲

چکیده

ریزپیوندی لیموی آب شیراز روی چهار پایه نارنج میوه ریز، نارنج میوه درشت، لیموی آب شیراز و لیمو خارکی در چهار سیستم حمایت کننده محیط کشت شامل پل کاغذی، پرلایت، ورمی‌کولایت با محیط نیم‌غلظت MS و پل کاغذی با غلظت کامل MS هر یک به همراه ساکاروز به میزان ۶۰ و ۷۵ گرم در لیتر مورد ارزیابی قرار گرفتند. هم‌چنین سازگاری و رشد گیاهچه‌های ریزپیوندی در سه نوع بستر کشت پرلایت، ورمی کولایت و پرلایت- ورمی‌کولایت بررسی شدند. تجزیه آماری ریزپیوندی و سازگاری به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با پنج تکرار انجام شد. براساس نتایج تیمارهای مستقل، بیش‌ترین میزان گیرایی ریزپیوندی نوک شاخساره لیموی آب روی پایه‌های بذری لیمو خارکی به‌دست آمد. هم‌چنین بهترین ریزپیوندی در بالاترین غلظت ساکاروز به میزان ۷۵ گرم بر لیتر محیط کشت مشاهده گردید. در مجموع، بیش‌ترین میزان گیرایی ریزپیوندی نوک شاخساره لیموی آب روی پایه‌های بذری لیمو خارکی و نارنج میوه درشت در محیط کشت‌های پرلایت و پل کاغذی با نیم غلظت MS به همراه ۷۵ گرم بر لیتر ساکاروز به‌دست آمد. پس از ریزپیوندی، گیاهچه‌ها از محیط کشت‌های درون شیشه‌ای به بستر کاشت انتقال یافتند. حداکثر سازگاری ریزپیوندی بر اساس تعداد برگ و طول پیوندک پس از ۵ هفته توسط پایه‌های بذری لیمو خارکی و نارنج میوه درشت در بسترهای کشت پل پرلایت- ورمی‌کولایت مشاهده شد.

واژه‌های کلیدی: *پایه بذری مرکبات، پرلایت، پل کاغذی، ریزپیوندی، ورمی‌کولایت.*

* نویسنده مسئول: محمد هدایت تلفن: ۰۹۱۷۷۱۴۳۶۵۰ Email: m.hedayat@pgu.ac.ir

مقدمه

مرکبات یکی از محصولات مهم اقتصادی جهان بوده، به گونه‌ای که جنبه صنعتی یافته و منبع پر درآمدی برای کشورهای تولیدکننده به شمار می‌رود. بدین صورت که از تمام قسمت-های مرکبات استفاده می‌گردد. گل جهت تهیه عطر و مربا، بذر برای استحصال روغن صنعتی، پوست میوه برای تهیه مربا و اسانس و قسمت خوراکی میوه به صورت تازه، آب‌میوه، کنسانتره و نکتار مورد استفاده قرار می‌گیرد. مرکبات از تیره سداب‌سانان (Rutaceae) و زیرتیره اورانتیوئیده (Aurantioideae) است (Navarro, 1992). سیتروس (Citrus) مهم‌ترین و بزرگ‌ترین جنس مرکبات با درختان همیشه سبز به طول ۲ تا ۱۰ متر ارتفاع با میوه‌ی سته پرتقالی (Hesperidium) به همراه بذرهای اغلب چند رویانی و گاهی میوه بکرزا مشاهده می‌شود. این گیاهان بومی مناطق جنوب شرقی آسیا می‌باشد (Aleza *et al*., 2009). مناطق عمده تولید مرکبات در عرض جغرافیایی بالاتر از ۲۰ درجه شمالی یا جنوبی قرار دارند و ایران نیز یکی از تولید کننده‌های عمده مرکبات شناخته می‌شود (Fotouhi Ghazvini & Fattahi Moghaddam, 2016). در این راستا یکی از مهم‌ترین عوامل محدود کننده تولید مرکبات، وجود بیماری‌های ویروسی، شبه ویروسی و مایکوپلاسمایی است (Al- Taha *et al*., 2007; Hartl *et al*., 2012). برای برطرفی این مشکل باید مرکباتی عاری از هر گونه عوامل بیماری‌زا از جمله ویروس‌ها و شبه ویروس‌ها تولید کرد. اولین بار موراشیگی و همکاران در سال ۱۹۷۲ روش ریزپیوندی نوک شاخساره برای تولید مرکبات عاری از بیماری را ابداع و توانستند بر این مشکل چیره شوند (Navarro, 1992). آن‌ها توانستند تعدادی مرکبات سالم بوسیله پیوند نوک شاخساره از گیاهان بیمار روی پایه‌های سالم رشد یافته در شرایط درون شیشه‌ای، به-دست آورند. این فن‌آوری موجب تولید گیاهان عاری از بیماری و هم‌چنین فاقد خصوصیات نونهالی شد. علت حذف عوامل بیماری‌زا، کندی حرکت پاتوژن‌ها به سمت مریستم انتهایی و سرعت رشد و تقسیم زیاد مریستمی در محیط کشت بافت بود (Fifaei *et al*., 2007). مزیت‌های دیگر ریزپیوندی بهبود رشد، افزایش پتانسیل محصول‌دهی گیاهان پیوندی، افزایش سریع گیاهچه‌ها، تولید نهال بدون فاز نونهالی و افزایش سازگاری شناخته شد (Dass *et al*., 1997; Shahsavar, 2004). از طرفی رابطه بین پایه و پیوندک و میزان سازگاری آن‌ها با هم یکی از عوامل مهم در درصد جوش خوردن پیوند محسوب می‌گردید. Sertkaya (2004) اثر پایه-های مختلف در ریزپیوندی نوک شاخساره پرتقال واشنگتن ناول را مورد بررسی قرار داد. از این آزمایش نتیجه گرفت پیوند پرتقال روی نارنج، بهترین پایه برای نمو سریع و گیرایی گیاه می-باشد. Lahoty *et al*. (2013) از نوک شاخساره گیاهان گلخانه‌ای نارنگی و دانهال‌های درون شیشه‌ای پرتقال، نارنج و سیترنج به منظور پایه،

استفاده نمود. بیش‌ترین موفقیت پیوند با پایه‌های نارنج به‌دست آمد. Nateghzadeh (2013) بررسی ریزپیوندی نوک شاخساره پرتقال واشنگتن ناول بر دو پایه دانهالی لیموی آب شیراز و نارنج را انجام داد. بالاترین میزان موفقیت پیوند زمانی حاصل شد که از پایه دانهالی نارنج و محیط کشت موراشیگی و اسکوک (MS) حاوی ۶۰ گرم در لیتر ساکاروز استفاده شد. Singh *et al.* (2008) مشاهده کردند که بقا ریزپیوندی بستگی به اندازه نوک شاخساره و غلظت ساکاروز دارد و با افزایش اندازه‌ی پیوندک از ۰/۲ به ۰/۷ سانتی‌متر و غلظت ساکروز از ۵ به ۷/۵ درصد میزان موفقیت ریزپیوندی افزایش یافت. غلظت ساکروز محیط کشت نیز اثر قابل توجهی در موفقیت ریزپیوندی داشت و بیش‌ترین گیرایی در غلظت ۷/۵ درصد گزارش شد (Hussain *et al.* 2014). هم‌چنین رشد و نمو گیاه ریزپیوندی با افزایش غلظت ساکاروز، افزایش می‌یابد. به نظر می‌رسد که ساکارز نقش کلیدی در بالا بردن قدرت ترمیم بافت، بهبود رشد و نمو و کوتاه شدن زمان ترمیم بافت را به عهده دارد (Nateghzadeh, 2013). بنابراین، میزان گیرایی موفق ریزپیوندی و سازگاری در روش ریزازدیادی حائز اهمیت است. و استفاده از فن‌آوری که بتواند در این زمینه موثر باشد، ضروری به نظر می‌رسد. از طرف دیگر پایه‌های مختلف دارای ویژگی‌های خاص خود هستند که ممکن است در میزان موفقیت ریزپیوندی تفاوت‌های آشکاری نشان دهند. بنابراین در پژوهش حاضر این مساله مورد توجه قرار گرفت و هدف از اجرای این پژوهش بررسی گیرایی ریزپیوندی لیموی آب روی چهار نوع پایه‌ی مرکبات عبارتند از بذر لیمو آب شیراز، لیمو خارکی، نارنج (با دو اکوتیپ میوه ریز و میوه درشت) بود. این پژوهش با کاربرد چهار سیستم حمایت کننده محیط کشت شامل پرلایت، ورمی‌کولایت و پل کاغذی با MS نیم غلظت و پل کاغذی با غلظت MS کامل به همراه دو غلظت ۶۰ و ۷۵ گرم در لیتر ساکاروز برای بهبود گیرایی و سازگاری پیوند انجام شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در آزمایشگاه کشت بافت دانشکده کشاورزی دانشگاه خلیج فارس به شرح زیر انجام شد. پایه‌های مورد استفاده از بذر چهار گونه مرکبات محلی شامل لیمو خارکی (Citrus×limon)، لیمو آب شیراز (*C. aurantiifulia*)، نارنج (*C. aurantium* L.) با دو اکوتیپ میوه ریز و میوه درشت تهیه شد. بذرها پس از جدا سازی از میوه، شسته، پوسته غشایی جدا و ۴ ساعت زیر آب روان جهت حذف بازدارنده‌های تندش، قرار گرفتند. سپس زیر دستگاه جریان هوا لامینار به ترتیب ۳۰ ثانیه در اتانول ۷۰٪ و ۳۰ دقیقه هیپوکلریت سدیم تجاری ۳۰٪ گندزدای شدند. پس از سه بار آب شویی با آب مقطر استریل، هر بذر در تیمار تهیه شده درون شیشه‌های مکارتی کشت شدند.

شیشه‌های مکارتی حاوی محیط کشت MS نیم غلظت به همراه ۶۰ و ۷۵ گرم در لیتر ساکاروز فاقد آگار و به جای آن از سیستم‌های حمایت کننده محیط کشت شامل پرلایت، ورمی کولایت و پل کاغذی و هم‌چنین پل کاغذی با MS کامل بودند. سیستم‌های حمایت کننده پرلایت و ورمی-کولایت قبل از کاربرد به مدت یک ساعت با آب مقطر شسته و کاغذ صافی به‌عنوان پل کاغذی مورد استفاده قرار گرفت. در آخرین مرحله شیشه‌ها توسط اتوکلاو در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و ۱/۲ اتمسفر به مدت ۲۰ دقیقه سترون گردیدند. پس از آن ظروف زیر دستگاه جریان هوای خنک و بذرها درون آن‌ها کشت و به اتاق رشد با دمای ۲±۲۵ درجه سانتی‌گراد و تاریک به مدت یک هفته نگه‌داری شدند. سپس ۱۰ روز در روشنایی ۱۶ ساعته جهت رشد و آماده شدن پایه‌ها برای پیوند قرار گرفتند. تهیه و آماده سازی پیوندک: جهت تهیه پیوندک، از شاخساره‌های پرآوری شده لیموی آب شیراز که در محیط کشت MS حاوی یک میلی گرم بر لیتر بنزیل آدنین به‌دست آمده، استفاده شد (شکل ۱).

شکل ۱- پرآوری جوانه لیموی آب شیراز پس از ۴ هفته.

Figure 1- Proliferation of the lime bud after 4 weeks.

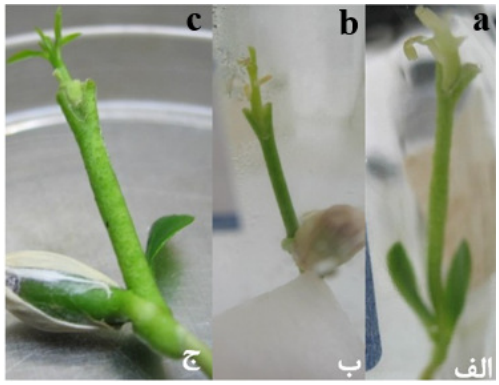
ریزپیوندی: زیر دستگاه جریان هوای لامینار، دانهال‌های چهار نوع مرکبات ۱۷ روزه را از رو لپه سربرداری و ریشه‌ها به طول ۵ سانتی‌متر هرس شدند. سپس برش عمودی به عمق ۵ میلی‌متر روی قسمت سربرداری شاخساره زده شد. جهت تهیه پیوندک، انتهای نوک شاخساره لیموی آب به طول ۸-۵ میلی متر به صورت گوه‌ای بریده شد. سپس پیوندک، درون شکاف عمودی پایه به گونه‌ای که لایه زاینده پایه و پیوندک با یک‌دیگر در تماس بوده و اتصال آوندی بین آن‌ها برقرار شود، قرار گرفت. پس از ریزپیوندی، پیوندها در محیط کشت همانند تیمارهای پایه قرار گرفته و به اتاق رشد با شرایط ۱۶ ساعت روشنایی منتقل شدند. میزان گیرایی

ریزپیوند پس از گذشت ۱۴ روز بدین شرح یاد داشت برداری شد. به منظور بررسی توانایی گیرایی پیوند، به پیوندهای موفقیت‌آمیز که شروع به رشد نمودند عدد ۳، پیوند با کمی گیرایی، بدون رشد و یا تغییر رنگ عدد ۲ و پیوندک خشک یا سفید شده عدد یک تعلق گرفت (شکل۲). تجزیه داده‌ها: آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با ۵ تکرار اجرا شد. فاکتورهای آزمایش شامل چهار گونه بذر (لیموی آب، لیمو خارکی، نارنج میوه ریز و میوه درشت) فاکتور اصلی و دو غلظت ساکاروز (۶۰ و ۷۵ گرم بر لیتر) و چهار نوع سیستم حمایت کننده (پرلایت، ورمی‌کولایت و پل کاغذی با نیم غلظت MS و پل کاغذی با MS کامل) فاکتور فرعی بودند. تجزیه داده‌ها از طریق نرم‌افزار SAS و مقایسه میانگین‌ها به روش آزمون چند دامنه‌ای جدید دانکن در سطح ۵ درصد انجام شد.

سازگارسازی: پس از گذشت ۱۴ روز از انجام ریزپیوندی، گیاهچه‌ها جهت سازگاری از محیط حمایت کننده پرلایت و ورمی‌کولایت به گلدان درپوش‌دار حاوی همان محیط حمایت کننده و ریزپیوندهای محیط پل کاغذی به گلدان حاوی پرلایت، ورمی‌کولایت و مخلوط مساوی از پرلایت و ورمی‌کولایت منتقل شدند.

هم‌چنین جهت جلوگیری از تشابه اسمی با بسترهای سازگاری ورمی‌کولایت و پرلایت، به‌نام بسترهای سازگاری پل پرلایت، پل ورمی‌کولایت و پل پرلایت- ورمی‌کولایت گذاشته شدند. برای سازگاری، یک روز پس از انتقال درپوش شفاف روی گلدان‌ها نیم بند قرار گرفت. بدین ترتیب هر روز درپوش‌ها کمی بیشتر باز گردید. پس از یک هفته درپوش‌ها به طور کامل از روی گلدان‌ها برداشته شدند. هم‌چنین در روزهای نخست آبیاری با محیط MS نیم غلظت و به ترتیب در مراحل بعد از غلظت کاسته و در هفته دوم تنها از آب مقطر جهت آبیاری استفاده گردید. پس از گذشت دو هفته، گیاهان سازگار به گلدان‌های پلاستیکی حاوی مخلوطی از پرلایت، ورمی کولایت و کوکوپیت به نسبت ۱:۱:۱ منتقل و با محلول رقیق شده هوگلند تغذیه و پس از دو هفته دیگر گلدان‌ها به گلخانه انتقال یافتند.

تجزیه داده‌های سازگاری: پس از گذشت ۵ هفته گیاهان ریزپیوندی موفق در بستر سازگاری، به طور کامل تمام پیوندها زنده مانده و سازگاری خوبی با محیط به‌دست آوردند. لذا سرعت رشد شامل طول پیوندک و تعداد برگ‌های تولید شده مورد ارزیابی قرار گرفت. بنابر این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با ۵ تکرار اجرا شد. فاکتورهای آزمایش شامل چهار پایه پیوندی (لیموی آب، لیمو خارکی، نارنج میوه ریز و درشت) و ۵ نوع بستر کشت (پل پرلایت، پل ورمی‌کولایت، پل پرلایت- ورمی‌کولایت، پرلایت و ورمی‌کولایت) بودند. تجزیه آماری با کمک نرم‌افزار SAS و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای جدید دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.



شکل ۲- بررسی گیرایی پیوند پس از ۱۴ روز الف) پیوندک سفید شده، ب) پیوند بدون رشد و ج) پیوند کامل.

Figure 2- Study of grafting after 14 days a) scion blanched b) scion without growth and c) successful grafting.

نتایج و بحث

گیرایی ریزپیوندی: نتایج تجزیه واریانس ریزپیوندی نوک شاخساره لیموی آب بر چهار پایه بذری، نارنج میوه ریز و میوه درشت، لیموی آب و لیمو خارکی در محیط حمایت کننده پل کاغذی، پرلایت و ورمی‌کولایت با MS نیم غلظت و پل کاغذی با MS کامل در دو غلظت ۶۰ و ۷۵ گرم بر لیتر ساکاروز نشان داد به جز اثر متقابل پایه بذری با محیط حمایت کننده و هم-چنین اثر متقابل پایه بذری با غلظت ساکاروز، با سایر اثرات در سطح یک درصد معنی‌دار شدند (جدول۱). مقایسه میانگین اثر متقابل محیط حمایت کننده با ساکاروز نشان داد بیش‌ترین موفقیت گیرایی ریزپیوندی مربوط به محیط حمایت کننده پرلایت و پل‌کاغذی با نیم غلظت MS به همراه ۷۵ گرم بر لیتر ساکاروز بود، که تفاوت معنی‌داری با سایر تیمارها داشت (جدول۲). به نظر می‌رسد ساکاروز با غلظت بالا به همراه محیط حمایت کننده پرلایت و پل کاغذی با MS نیم غلظت توانسته تحریک بیش-تری در تقسیم یاخته‌های بین پایه و پیوندک ایجاد کند، به گونه‌ای که انگیزش تولید پینه موجب تسریع در جوش خوردن محل اتصال پایه به پیوندک فراهم گردید. گزارش شده بیش‌ترین موفقیت پیوند برای دانهال‌های ۱۴ روزه پرتقال واشنگتن ناول، زمانی حاصل شد که غلظت ساکاروز از ۲۰ به ۳۶ درصد افزایش یافت (Naz *et al*. 2007). این پژوهش از نظر کاربرد مواد کربوهیدراتی با پژوهش حاضر مطابقت دارد. به نظر می‌رسد افزایش ساکاروز به عنوان تامین کننده انرژی فعل و انفعالات مورد نیاز تقسیم یاخته‌ای حائز اهمیت است.

جدول ۱- تجزیه واریانس گیرایی ریزپیوند لیمو آب روی پایه‌های نارنج میوه ریز، نارنج میوه درشت، لیمو آب و لیمو خارکی در محیط‌های حمایت کننده پرلایت، ورمی‌کولایت، پل کاغذی با نیم غلظت MS و پل کاغذی با MS کامل در غلظت ۶۰ و ۷۵ گرم بر لیتر ساکاروز.

Table 1- Analysis of variance for micrografting of lime on rootstocks small-fruited and big-fruited sour orange, lime and lemon in culture medium supporting systems perlite, vermiculite, paper bridge supplemented with half MS and paper bridges with full MS with 60 or 75 g L^{-1}sucrose.

Sources of Variation منبع تغییرات	d.f. درجه آزادی	Means square میانگین مربعات
Medium Supporting محیط حمایت کننده	3	3.008**
Sucrose ساکاروز	1	9.02**
Rootstock پایه	3	17.17**
Sucrose × Medium Supporting ساکاروز × محیط حمایت کننده	3	1.07**
Medium Supporting × Rootstock محیط حمایت کننده × پایه	9	0.25*
Sucrose × Rootstock ساکاروز × پایه	3	0.24 ns
Sucrose × Medium Supporting × Rootstock ساکاروز × محیط حمایت کننده × پایه	9	0.22**
Error خطا	128	0.11
Total Error خطای کل	159	
C.V. ضریب تغییرات		16.82

ns، * و **: عدم تفاوت معنی‌دار و معنی‌دار در سطح ۵ درصد و ۱ درصد.

ns, *and**: non-significant, significant at 5% and significant at 1% level.

بررسی اثر مستقل میانگین داده‌های محیط حمایت کننده مشخص نمود بیش‌ترین گیرایی پیوند در محیط پرلایت و پل کاغذی نیم غلظت MS به‌دست آمد که اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها در سطح ۵ درصد نشان داد (جدول۲). در این ارتباط پیشینه پژوهشی مشاهده نگردید، ممکن است دلیل افزایش میزان گیرایی پیوند، بهبود محیط کشت در افزایش قدرت جذب مواد توسط گیاه باشد. در نهایت، منجر به افزایش توانایی بازسازی و تکثیر یاخته‌ها در جهت جوش خوردن پیوند می‌گردد. در مقابل پل کاغذی با MS کامل و ورمی‌کولایت، میزان موفقیت پایین-تری نشان دادند، به نظر می‌رسد این روش توانایی جذب مواد غذایی در پایه‌های پیوندی را کاهش و در نتیجه منجر به کاهش گیرایی شد.

جدول ۲- اثر متقابل محیط حمایت کننده و غلظت ساکاروز بر گیرایی ریزپیوند.

Table 2- Interaction of medium supporting system and sucrose concentration on micrografting.

ساکاروز Sucrose (gL^{-1})	سیستم محیط حمایت کننده Medium Supporting System			
	پرلایت Perlite	ورمی‌کولایت Vermiculite	پل کاغذی با MS نیم غلظت Paper Bridge with $\frac{1}{2}$ MS	پل کاغذی با MS کامل Paper Bridge with Full MS
60	1.9^{bc*}	1.6^{d}	1.7^{cd}	1.6^{d}
75	2.5^{a}	2.0^{b}	2.5^{a}	1.6^{d}
میانگین Average	2.22^{A}	1.80^{B}	2.10^{A}	1.60^{C}

اعداد هر ستون که حروف مشترک دارند از نظر آماری در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

Numbers in each column with common letters are not statistically significant at the 5% level

* اعداد در نظر گرفته شده شامل: پیوند موفقیت‌آمیز عدد ۳، پیوندک فاقد رشد عدد ۲ و پیوندک سفید و یا خشک شده عدد ۱

Considered number: successfully grafted 3, scion without growth 2, scion blanched or dried 1

مقایسه میانگین اثر دو گانه نوع پایه و محیط حمایت کننده نشان داد بیش‌ترین میزان گیرایی پیوند به پایه لیمو خارکی در محیط پرلایت به‌دست آمد که از نظر آماری تفاوت معنی‌داری با سایر تیمارها مشاهده شد (جدول۳). گزارش دادند پایه لیمو خارکی بیش‌ترین میزان موفقیت در پیوند نوک شاخساره نارنگی ناگپور را داشت (Lahoty *et al*. 2013). این گزارش با نتایج به‌دست آمده از نظر نوع پایه موفق در یک راستا قرار دارد. گیرایی پیوند ضمن تاثیر نوع پایه، ترکیب محیط کشت و سیستم حمایت کننده نیز تاثیرگذار است (Nateghzadeh, 2014). در این پژوهش بهترین نتیجه، نشان از تاثیر محیط حمایت کننده پرلایت بر گیرایی پیوند دارند. به‌نظر می‌رسد پرلایت می‌تواند موجب جذب بهتر مواد مغذی مورد نیاز تکثیر یاخته جهت تسریع جوش خوردن پیوند گردد. مقایسه میانگین نوع پایه نشان داد لیمو خارکی با اختلاف معنی‌داری با سایر پایه‌ها، بهترین گیرایی را دارد (جدول۳). نتایج پژوهشی نشان داد ریزازدیادی ارقام گلابی بومی ایران در شرایط درون شیشه به راحتی امکان پذیر است، اما صفات رشد و تکثیر آن‌ها تحت تاثیر ژنوتیپ گیاه قرار می‌گیرد (Bakhtiari *et al*. 2017). در پژوهشی Hamaraie *et al*. (2003) در موفقیت ریزپیوندی گریپ‌فروت بدین نتیجه رسیدند تنوع پایه‌ها به دلیل واکنش سازگاری بین اجزا پیوند است. ارزیابی پایه‌ها جهت حداکثر موفقیت ریزپیوندی با یک نوع خاص از پایه به‌طور قطع در فن‌آوری تجاری ریزپیوندی جهت تکثیر به تعداد زیاد، بسیار موثر است.

جدول ۳- اثر متقابل پایه و محیط حمایت کننده بر گیرایی ریزپیوند.

Table 3- Interaction of rootstock and medium supporting system on micrografting.

سیستم محیط حمایت کننده Medium Supporting System	پایه Rootstock			
	لیمو آب Lime	لیمو خارکی Lemon	نارنج (میوه ریز) Sure Orange (Small-fruit)	نارنج (میوه درشت) Sure Orange (Big-fruit)
پرلایت Perlite	1.7 e*	3.0 a	1.6e	2.6 bc
ورمی‌کولایت Vermiculite	1.0 f	2.3 cd	1.6 e	2.3 cd
پل کاغذی با MS نیم غلظت Paper Bridge with $\frac{1}{2}$ MS	1.5 e	2.7 b	1.6 e	2.6 bc
پل کاغذی با MS کامل Paper Bridge with Full MS	1.7 e	2.3 cd	1.7 e	2.2 d
میانگین Average	1.30 D	2.57 A	1.45 C	2.42 B

اعداد هر ستون که حروف مشترک دارند از نظر آماری در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

Numbers in each column with common letters are not statistically significant at the 5% level

* اعداد در نظر گرفته شده شامل: پیوند موفقیت‌آمیز عدد ۳، پیوندک فاقد رشد عدد ۲ و پیوندک سفید و یا خشک شده عدد ۱

Considered number: successfully grafted 3, scion without growth 2, scion blanched or dried 1

پیوند نارنگی روی رقم‌های مختلف نیز مشخص شد تفاوت در ریزپیوندی ممکن است به‌دلیل سازگاری و شرایط فیزیولوژی پایه و پیوندک باشد (Lahoty *et al*. 2013). به‌نظر می‌رسد سازگاری فیزیولوژیکی بین پایه و پیوندک به توجه به ژنوتیب گیاه از مهم‌ترین عوامل گیرایی پیوند باشد. مقایسه میانگین برهم‌کنش پایه و ساکاروز نشان داد بیش‌ترین میزان پیوند، پایه‌ی لیمو خارکی و نارنج میوه درشت به همراه ۷۵ گرم بر لیتر ساکاروز بود (جدول۴). هم‌چنین در میانگین غلظت‌های ساکاروز، بیش‌ترین گیرایی در ۷۵ گرم بر لیتر حاصل شد که با ۶۰ گرم در لیتر اختلاف معنی‌داری داشت (جدول۴). در پژوهشی گزارش دادند غلظت ساکاروز محیط کشت اثر قابل توجهی در موفقیت ریزپیوندی دارد و بیش‌ترین میزان به‌دست آمده ۷/۵ درصد بود (Hussain *et al*. 2014). در پژوهشی دیگر نشان دادند میزان بقا ریزپیوندی از ۳۰/۵۵ به ۵۱/۸۸ درصد، با افزایش غلظت ساکاروز از ۵ به ۷/۵ درصد، بهبود یافت (Sharma *et al*. 2007). هم‌چنین گزارش شد رشد و نمو گیاه ریزپیوندی با افزایش ساکاروز، افزایش یافت (Gmitter *et al*. 1990). به نظر می‌رسد ساکاروز نقش کلیدی در بالا بردن قدرت ترمیم بافت‌های آسیب دیده دارد. بدین صورت که با افزایش فعل و انفعالات یاخته‌ای موجب کوتاه شدن زمان ترمیم بافت، بهبود رشد و نمو و افزایش تشکیل پینه در اتصال آوندها بین پایه و پیوندک دارد.

جدول ۴- اثر متقابل پایه و غلظت ساکاروز بر گیرایی ریزپیوند.

Table 4- Interaction of rootstock and sucrose concentration on micrografting.

پایه Rootstock	ساکاروز Sucrose (g L^{-1})	
	60	75
لیموی آب Lime	1.0 e*	1.5 d
لیمو خارکی Lemon	2.4 b	2.7 b
نارنج (میوه ریز) Sure Orange (Small-fruit)	1.1 e	1.7 d
نارنج (میوه درشت) Sure Orange (Big-fruit)	2.1 c	2.7 a
میانگین Average	1.70 B	2.17 A

اعداد هر ستون که حروف مشترک دارند از نظر آماری در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

Numbers in each column with common letters are not statistically significant at the 5% level

* اعداد در نظر گرفته شده شامل: پیوند موفقیت‌آمیز عدد ۳، پیوندک فاقد رشد عدد ۲ و پیوندک سفید و یا خشک شده عدد ۱

Considered number: successfully grafted 3, scion without growth 2, scion blanched or dried 1

نتایج مقایسه میانگین اثر سه گانه نوع پایه، محیط حمایت کننده و ساکاروز بر گیرایی موفقیت آمیز ریزپیوندی در جدول ۵ نشان داد بیش‌ترین میزان پیوند در پایه‌های لیمو خارکی در محیط پرلایت با ۶۰ و ۷۵ گرم بر لیتر ساکاروز و پل کاغذی نیم غلظت به همراه ۷۵ گرم بر لیتر ساکاروز و پایه نارنج میوه درشت در محیط پرلایت و پل کاغذی نیم غلظت MS به همراه ۷۵ گرم در لیتر ساکاروز به‌دست آمد که تفاوت معنی‌داری با سایر تیمارها مشاهده شد (شکل۳- ج). کم‌ترین میزان پیوند در پایه‌های لیمو آب و نارنج میوه ریز در تمام محیط‌های حمایت کننده همراه با ۶۰ گرم بر لیتر ساکاروز به‌دست آمد (جدول۵). از آن‌جایی که گزارش مشابه‌ی در خصوص اثرات متقابل این سه عامل مشاهده نگردید، این پژوهش مشخص نمود جهت تسریع در جوش خوردن پیوند می‌تواند نوع پایه، محیط حمایت کننده و غلظت ساکاروز نقش مهمی ایفا کند. سازگارسازی: پس از انتقال گیاهان موفق پیوندی از محیط کشت‌های درون شیشه‌ای به بستر کشت‌های سازگاری، بعد از گذشت ۵ هفته به طور موفقیت‌آمیزی تمام پیوندها زنده و سازگاری خوبی با محیط به‌دست آوردند. نتایج تجزیه واریانس سرعت رشد در بسترهای کشت پرلایت، ورمی کولایت، پل پرلایت، پل ورمی کولایت و پل پرلایت- ورمی کولایت به همراه چهار نوع پایه پیوندی شامل لیموی آب، لیمو خارکی، نارنج میوه ریز و نارنج میوه درشت نشان داد به‌جز اثر متقابل پایه و بستر کشت در میانگین تعداد برگ پیوندک در سطح ۵ درصد، سایر موارد در احتمال یک درصد معنی‌دار شدند (جدول۶).

جدول ۵- اثر متقابل نوع پایه بذری، محیط حمایت کننده و غلظت ساکاروز بر گیرایی ریزپیوند.

Table 5- Interaction of rootstock, medium supporting system and sucrose concentration on micrografting.

پایه Rootstock	سیستم محیط حمایت کننده Medium Supporting System							
	پرلایت Perlite		ورمی‌کولایت Vermiculite		پل کاغذی با MS نیم غلظت Paper Bridge with $\frac{1}{2}$ MS		پل کاغذی با MS کامل Paper Bridge with Full MS	
	ساکاروز (Sucrose (gL^{-1})							
	60	75	60	75	60	75	60	75
لیمو آب Lime	1.2 d*	2.2 bc	1.0 d	1.0 d	1.0 d	2.0 c	1.0 d	1.0 d
لیمو خارکی Lemon	3.0 a	3.0 a	2.2 bc	2.4 bc	2.4 bc	3.0 a	2.2 bc	2.4 bc
نارنج (میوه ریز) Sure Orange (Small-fruit)	1.2 d	2.0 c	1.2 d	2.0 c	1.2 d	2.0 c	1.0 d	1.0 d
نارنج (میوه درشت) Sure Orange (Big fruit)	2.2 bc	3.0 a	2.0 c	2.6b	2.2 bc	3.0 a	2.2 bc	2.2 bc

اعداد هر ستون که حروف مشترک دارند از نظر آماری در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

Numbers in each column with common letters are not statistically significant at the 5% level

* اعداد در نظر گرفته شده شامل: پیوند موفقیت‌آمیز عدد ۳، پیوندک فاقد رشد عدد ۲ و پیوندک سفید و یا خشک شده عدد ۱

Considered number: successfully grafted 3, scion without growth 2, scion blanched or dried 1

عمده‌ترین مشکل استقرار گیاهان از شرایط درون شیشه‌ای به محیط بیرون، خشکیدگی است که با کاهش سریع آب قبل از سازگاری، منجر به مرگ گیاهک می‌گردد. گزارش شده برگ گیاهان حاصل از کشت بافت، با کم‌ترین موم روی کوتیکول، بیش‌ترین فضای بین سلولی در مزوفیل و پاسخ کند به بسته شدن روزنه‌ها، موجب تسریع کاهش آب در گیاه می‌گردد (Chand *et al.* 2013). به‌علاوه، اتصالات آوندی بین سیستم ریشه و شاخساره و هم‌چنین پیوندک به صورت کامل انجام نشده، بنابر این گیاهان کشت بافتی به تنش آبی بسیار حساس‌اند (Abbasi *et al.*, 2008). در پژوهش صورت گرفته پس از ۵ هفته تمام پیوندها به‌طور کامل سالم و در حال رشد بودند. به‌نظر می‌رسد تیمارهای انجام شده در ایجاد مقاومت و سازگاری سریع گیاه نقش مهمی داشته و موجب انتقال موفق ریزنمونه‌ها گردید. گزارش‌های موفقیت‌آمیز زیادی روی گیاهان مختلف مانند پرتقال واشنگتن ناول (Fifaei *et al.*, 2007; Sertkaya, 2004)، چند گونه کاکتوس (Estrada-Luna *et al.* 2002) و پسته (Can *et al.*, 2006) ذکر شده که با این پژوهش هم‌سو است.

جدول ۶- تجزیه واریانس سازگاری گیاهان ریزپیوندی شده در بستر کشت‌های سازگاری.

Table 6- Analysis of variance for acclimatization micrografting plant on bed culture.

منبع تغییرات Sources of Variation	درجه آزادی d.f.	میانگین مربعات Means square	
		طول پیوندک Length Scion	تعداد برگ No. Leaf
بستر کشت Bed Culture	4	12.91 **	10.50 **
پایه Rootstock	3	3.50 **	4.38 **
پایه × بستر کشت Bed Culture × Rootstock	12	0.59 **	0.80 **
خطا Error	80	0.16	0.42
خطای کل Total Error	99		
ضریب تغییرات CV		19.62	12.65

* و **: معنی‌دار در سطح ۵ درصد و معنی‌دار در سطح ۱ درصد.

* and ** Significant at 5% and 1% level

بدین صورت پس از گذشت ۵ هفته نتایج رشد سازگاری پیوندها شامل طول و تعداد برگ به شرح زیر مورد بررسی قرار گرفت.

میانگین اثر متقابل نوع پایه بذری و بستر کشت نشان داد طول ۴ سانتی‌متری پیوندک روی پایه لیمو خارکی کشت شده در بستر پل پرلایت- ورمی‌کولایت بلندترین طول سازگار یافته بوده، که به‌جز پیوند پایه نارنج میوه درشت در بستر پل پرلایت- ورمی‌کولایت با سایر تیمارها از نظر آماری تفاوت معنی‌داری نشان داد (جدول۷). میانگین داده‌های پایه‌های پیوندی مشخص گردید که لیمو خارکی بلندترین طول پیوندک را دارد که با سایر پایه‌های پیوندی از نظر آماری تفاوت معنی‌داری نشان داد (جدول۷). هم‌چنین میانگین نتایج مستقل بسترهای کشت مشخص نمود بیش-ترین میزان رشد پیوندک در بستر پل پرلایت- ورمی‌کولایت به‌دست آمد که با سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری داشتند (جدول۷).

اثر متقابل پایه بذری در بستر کشت نشان داد بیش‌ترین تعداد برگ به میزان ۸/۸ مربوط به پایه لیمو خارکی و نارنج میوه درشت در بستر پل پرلایت- ورمی کولایت بود. این تیمارها به همراه تیمار پایه نارنج میوه ریز در بستر پل پرلایت- ورمی‌کولایت با سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری نشان داد (جدول۸). کمترین تعداد برگ در تمامی پایه‌ها بستر پرلایت می‌باشد (جدول۸). میانگین تاثیر پایه نشان داد بیش‌ترین تعداد برگ مربوط به پایه لیمو خارکی و نارنج میوه درشت بوده که اختلاف معنی‌داری با سایر پایه‌ها داشت (جدول۸). هم‌چنین میانگین داده‌های بسترهای کشت مشخص گردید بیش‌ترین تعداد برگ در بستر پل پرلایت- ورمی‌کولایت به‌دست آمد، که با سایر تیمارها دارای اختلاف معنی‌داری است (جدول ۸).

جدول ۷- اثر متقابل پایه و بستر کشت بر طول پیوندک (سانتی‌متر).

Table 7- Interaction of rootstock and bed culture on length scion (cm).

پایه Rootstock	بستر کشت Bed Culture					
	پل پرلایت Bridge Perlite	پل ورمی‌کولایت Bridge Vermiculite	پل ورمی‌کولایت Bridge Perlite-Vermiculite	پرلایت Perlite	ورمی‌کولایت Vermiculite	میانگین Average
لیموی آب Lime	2.0 cd*	2.0 cd	2.0 cd	1.0 f	1.2 ef	1.64 C
لیموی خارکی Lemon	2.2 c	3.0 b	4.0 a	1.4 ef	1.6 de	2.44 A
نارنج (میوه ریز) Sure Orange (Small-Fruit)	2.0 cd	2.2 c	2.8 b	1.0 f	1.4 ef	1.88 B
نارنج(میوه درشت) Sure Orange (Big-Fruit)	2.2 c	2.8 b	3.8 a	1.2 ef	1.6 de	2.32 A
میانگین Average	2.10 C	2.5 B	3.15 A	1.15 E	1.45 D	

اعداد هر ستون که حروف مشترک دارند از نظر آماری در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

Numbers in each column with common letters are not statistically significant at the 5% level

جدول ۸- اثر متقابل پایه و بستر کشت بر تعداد برگ‌های رشد یافته.

Table 8- Interaction of rootstock and bed culture on number of leaves grown.

پایه Rootstock	بستر کشت Bed Culture					
	پل پرلایت Bridge Perlite	پل ورمی‌کولایت Bridge Vermiculite	پل ورمی‌کولایت Bridge Perlite-Vermiculite	پرلایت Perlite	ورمی‌کولایت Vermiculite	میانگین Average
لیموی آب Lime	4.0 efg*	5.2 d	7.8 b	2.8 i	3.6 fghi	4.68 B
لیموی خارکی Lemon	4.4 def	7.2 bc	8.8 a	3.0 hi	3.8 fgh	5.44 A
نارنج (میوه ریز) Sure Orange (Small-Fruit)	3.8 fgh	6.4 c	8.0 ab	3.0 hi	3.4 ghi	4.92 B
نارنج (میوه درشت) Sure Orange (Big-Fruit)	4.8 de	7.4 b	8.8 a	3.0 hi	3.8 fgh	5.56 A
میانگین Average	4.25 B	6.55 B	8.35 A	2.95 E	3.65 D	

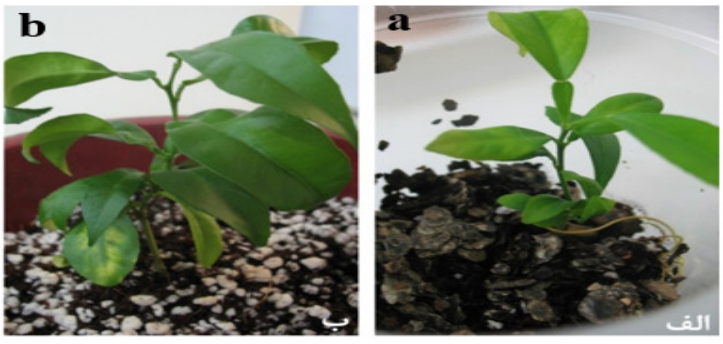
اعداد هر ستون که حروف مشترک دارند از نظر آماری در سطح۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

Numbers in each column with common letters are not statistically significant at the 5% level.

در آزمایش بررسی ریزپیوندی نوک شاخساره پرتقال واشنگتن ناول بر روی ۷ پایه مرکبات مشاهده شد پس از گذشت یک سال از پیوند در شرایط گلخانه بیش‌ترین طول شاخساره روی پایه‌های لیموخارکی و نارنج به‌دست آمد (Sertkaya, 2004). در تحقیقی دیگر موفقیت پیوند لیموی آب و لیمو خارکی را تنها برروی پایه لیمو خارکی مشاهده کردند (Navarro 1992). در پژوهشی Danthu *et al.* (2004) نشان دادند با توجه به گیرایی خوب ریزپیوندی درخت کنار بنگالی با ۷ گونه پایه، اما بقای گیاه در گلخانه وابسته به نوع پایه‌ها است. در پژوهشی روی انجماد حفاظت شده (Cryopreservation) ۸ گونه مرکبات پس از مرحله آب شدن، جهت بهبودی کامل، ریزنمونه‌ها روی پایه‌ها پیوند شدند. مشخص گردید بهترین سازگاری و رشد را گونه نارنج و لیموی آب دارد (Volk *et al.*, 2012). به‌نظر می‌رسد سازگاری فیزیولوژیکی بین پایه و پیوندک از مهم‌ترین عوامل گیرایی پیوند باشد. در پژوهشی Lahoty *et al.* (2013) نشان دادند بیش‌ترین بقا پیوند در محیط کشت حاوی ورمی کولایت، پرلایت، کوکوپیت و خاک به نسبت‌های مساوی به‌دست آمد. به‌نظر ترکیب پرلایت و ورمی‌کولایت در آزمایش حاضر توانسته شرایط مناسبی برای بقا در گلدان و نمو ریشه طی این مدت که منجر به سازگاری کامل گردیده، فراهم نماید.

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد در مراحل ریزپیوندی لیموی آب می‌توان به جای آگار از سیستم‌های حمایت کننده ارزان‌تر و مناسب‌تر استفاده نمود. هم‌چنین افزایش ساکاروز و کاهش MS در گیرایی ریزپیوندی ضروری است. در نهایت بهترین پایه‌ها برای لیموی آب شیراز، نارنج میوه درشت و لیمو خارکی تشخیص داده شد.



شکل۳- سازگاری گیاه ریزپیوندی شده الف) سازگاری پس از یک ماه، ب) انتقال گیاه سازگار به گلدان جدید و گلخانه پس از دو ماه.

Figure 3- acclimatized micrografted plant a) acclimatization after 1 month, b) Transfer plant acclimatized to new pots and greenhouses after 2 months.

منابع

Abbasi M, Khan MM, Fatima B, Iftikhar Y, Mughal SM, Jaskani MJ, Khan IA, Abbas H (2008). Elimination of citrus tristeza clostero virus (CTV) and production of certified citrus plants through shoot-tip micrografting. Pakistan Journal of Botany 40: 1301-1312.

Aleza P, Juarez J, Ollitrault P, Navarro L (2009). Production of tetraploid plants of non-apomictic citrus genotypes. Plant Cell Report 28: 1837–1846.

Al- Taha HAK, Jasim AM, Abbas MF (2012). Somatic embryogenesis and plantlet regeneration from nucleus tissue of local orange (Citrus sinensis L.). Acta agriculturale Slovenica 99: 185- 189.

Bakhtiari F, Mozafari J, Abdollahi H (2017). A study on growth, propagation and rooting of Iranian native pears for developing in vitro conservation system. Journal of Agricultural Biotechnology 8:17-34.

Can C, Ozaslan M, Toremen H, Sarpkaya K, Iskender E (2006). In vitro micrografting of pistachio, pistacia vera L. var. Siirt, on wild pistachio rootstocks. Journal of Cell and Molecular Biology 5: 25-31.

Chand L, Sharma S, Dalal R, Poonia AK (2013). In vitro shoot tip grafting in Citrus species. Agriculture Reviews 34: 279-284.

Danthu P, Toure MA, Soloviev P, Sagna P (2004). Vegetative propagation of Ziziphus mauritiana var. Gola by micrografting and its potential for dissemination in the Sahelian Zone. Agroforestry Systems 60: 247–253.

Dass HC, Vijakumari N, Singh A (1997). In vitro shoot tip grafting in Nagpur mandarin. Indian Journal of Horticulture 44: 28-29.

Estrada-Luna AA, López-Peralta C, Cárdenas-Soriano E (2002). In vitro micrografting and the histology of graft union formation of selected species of prickly pear cactus (*Opuntia spp*.). Scientia Horticulturae 92: 317–327.

Fotouhi Ghazvini R, Fattahi Moghaddam J (2016). Growing Citrus in Iran. University of Guilan Press. Iran.

Fifaei R, Golein B, Taheri H, Tadjvar K (2007). Elimination of citrus tristiza virus of Washington navel orange (*C. sinensis* L. Osbeck.) through shoot tip grafting. International Journal of Agriculture and Biology 9: 27- 30.

Gmitter FG, Ling XB, Dang, X. (1990). Induction of triploid citrus plants from endosperm calli in vitro. Theoretical Applied Genetics. 80: 788-790.

Hamaraie MA, Osman A, Mohamed E, Ali A (2006). Propagation of grapefruit by shoot tip micrografting.In: Proceedings of the Meetings of the National Crop Husbandry Committee 38th. Agricultural Research Corporation, Wad Medani, Sudan. pp. 215-219.

Hartl D, Katarina hancevic M, Rosin J, Gatin Z (2006). Citrus tristeza virus indexing and elimination from Satsuma mandarin (Citrus unshiu Marc.) cv. Kuno. Pomologia Croatica 12: 285-294.

Hussain G, Wani MS, Mir MA, Rather ZA, Bhat KM (2014). Micrografting for fruit crop improvement. African Journal of Biotechnology 13: 2474- 2483.

Lahoty P, Singh J, Bhatnagar P, Raipurohit D, Singh B (2013). In vitro multiplication of Nagpur mandarin (Citrus reticulata Blanco.) through STG. Vegetos 26: 318- 324.

Nateghzade R (2013). Micrografting of Washington navel orange (citrus sinensis) by shoot tip grafting. MSc.Thesis. Callege of Agriculture and Natural Resources, Persian Gulf University, Iran. (In Farsi)

Navarro L (1992). Citrus shoot tip grafting in vitro. In: Y.P.S. Bajaj (Ed), Biotechnology in Agriculture and Forestry, High-Tech and Micropropagation II. Springer. pp: 327- 338.

Naz AA, Jaskani MJ, Haidar A, Qasim M (2007). In vitro studies on micrografting technique in two cultivars to produce virus- free plants. Pakistan Journal Botany 39: 1773-1778.

Sertkaya M (2004). Effects of different rootstocks in micrografting on growing of Washington navel orange plants obtained by shoot-tip grafting. Journal Biotechnology and Biotechnological Equipment 18: 82-88.

Shahsavar AR (2004). Comparison of Different Citrus Rootstocks for Micrografting. Iranian Journal of Horticultural Science and Technology 5: 109- 116. (In Farsi)

Sharma S, Singh B, Rani G, Hallan AA (2007). Production of Indian citrus ring spot virus free plants of Kinnow employing chemo therapy coupled with shoot tip grafting. Journal Central European Agriculture 8: 1-8.

Singh M, Sharma S, Rani G, Hallan V, Zaidi AA, Virk GS, Nagpal A (2008). In vitro micrografting for production of Indian citrus ring spot virus free plants of kinnow mandarin (Citrus nobilis Lour. x C. deliciosa Tenora.). Plant Biotechnology Reports 2: 137-143.

Volk GM, Bonnart R, Krueger R, Lee R (2012). Cryopreservation of citrus shoot tips using micrografting for recovery. CryoLetters 33: 418-426.

Evaluation rootstock, sucrose concentration and culture medium supporting systems in the micrografting and acclimatization of lime (Citrus aurantifulia)

Parsaei Z.[1], Hedayat M.[2*], Rastgoo S.[3], Bayat F.[4]

[1] Graduated M.Sc. Student, Dep. of Horticulture Science, College of Agriculture and Natural Resources, Persian Gulf University, Bushehr. Iran.
[2] Assistant Professor, Dep. of Horticulture Science, College of Agriculture and Natural Resources, Persian Gulf University, Bushehr. Iran.
[3] Assistant Professor, Dep. of Horticulture Science, College of Agriculture and Natural Resources, Persian Gulf University, Bushehr. Iran.
[4]Assistant Professor, Dep. of Breeding Science, College of Agriculture and Natural Resources, Persian Gulf University, Bushehr. Iran.

Abstract

Micrografting of lime were evaluated on four different citrus rootstocks; small-fruited sour orange, big-fruited sour orange, lime and lemon in four culture medium supporting systems including paper bridge, perlite and vermiculite supplemented with half MS and paper bridge supplemented with full MS each one with 60 or 75 g L^{-1} sucrose. Also, micrografted plantlets were evaluated in three beds including perlite, vermiculite, and perlite-vermiculite for acclimatization and growth. Statistical analysis of micrografting and acclimatization was done as factorial in a completely randomized design with 5 replications. According to independent treatments results, the most rate of successful micrografting of lime shoot tip was achieved on seedling rootstocks of lemon. Also, the best micrografting were observed at the highest concentration of sucrose at 75 gL^{-1} media culture. In general, the most rate of successful micrografting of lime shoot tip was obtained on seedling rootstocks of lemon and big fruit sour orange in culture medium supporting systems of perlite and paper bridge with half MS containing 75 gL^{-1} sucrose. After micrografting, the plantlets were transplanted from the in vitro to the culture medium. The highest survival rate and adaptation of micrografted lime based on the number of leaves and length of scion after 5 weeks was obtained with lemon and big-fruited sour orange rootstocks micrografted in paper bridge culture medium and transferred to the perlite- vermiculite bed.

Key words: *Citrus rootstocks, Micrografting, Paper bridge, Perlite, Vermiculite.*

[*] Corresponding Author: Hedayat M. Tel: 09177143650 Email: m.hedayat@pgu.ac.ir