برهمکنش تنظیم کننده‌های رشد، نوع محیط کشت و ریزنمونه‌های پایه مکزیکن لایم (*Citrus aurantifolia* L. 'Mexican Lime') بر القاء و پرآوری پینه

حسین امین*[۱]، اختر شکافنده[۲]

[۱]استادیار بخش تولیدات گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی داراب، دانشگاه شیراز، شیراز

[۲]دانشیار بخش علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی شیراز، دانشگاه شیراز، شیراز

*نویسنده مسئول: hamin350@gmail.com

چکیده

پژوهش حاضر به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با چهار تکرار برای یافتن برهمکنش بهینه محیط کشت، ریز نمونه و تنظیم کننده‌های رشد گیاهی جهت القا تولید و پرآوری پینه در مکزیکن لایم انجام شد. ریزنمونه‌ها شامل تخمدان تلقیح نشده، تخمک‌ها و آبدانک میوه‌های نابالغ بودند که پس از سترون‌سازی از میوه‌ها جدا شدند و روی محیط‌های کشت MS، MT و H+H همراه با ۰/۵ میلیگرم در لیتر 2,4-D قرار گرفتند. پس از ۲۱ روز پینه‌های تولیدی به محیط کشت همسان حاوی تنظیم کننده‌های رشد BA با غلظت‌های ۰، ۱، ۲، ۳ و ۴ میلی‌گرم در لیتر و NAA با غلظت‌های ۰، ۰/۱، ۰/۲، ۰/۳ و ۰/۴ میلی‌گرم در لیتر منتقل و برای دو دوره ۲۱ روزه دیگر در اتاق رشد نگهداری شدند. نتایج نشان داد که سرعت رشد پینه در ریزنمونه‌های مختلف مورد آزمایش در حضور تنظیم کننده‌های BA و NAA افزایش یافت ولی تاثیر غلظت‌های مختلف این دو تنظیم کننده رشد، در ریزنمونه‌ها و محیط کشت‌های مختلف، متفاوت بود. نوع و غلظت تنظیم کننده‌های رشد، نوع ریزنمونه و ترکیب شیمیایی محیط کشت همگی در رشد و پرآوری پینه‌ها تاثیر گذار بودند. میزان پینه به دست آمده و کیفیت آنها هم نیز تحت تاثیر همین سه عامل قرار گرفت.

کلمات کلیدی: BA، NAA، محیط کشت

مقدمه

مکزیکن لایم یا لیموی آب شیراز سال‌های زیادی است که در مناطق جنوبی ایران کشت می‌شود. این رقم دارای قدرت رشد بالا و عملکرد زیاد است به طوری که این دو صفت مهم سبب شده تا به عنوان یکی از پایه‌های مهم تجاری در جنوب کشور مورد استفاده وسیع قرار گیرد (فتوحی قزوینی و فتاحی مقدم، ۱۳۸۹). بهره‌گیری از کشت درون شیشه‌ای برای گونه‌های مختلف مرکبات توسط پژوهشگران زیادی گزارش شده است. القای تولید پینه و پرآوری آن از اولین قدم‌ها در گیاه‌افزایی در محیط درون شیشه‌ای به حساب می‌آید. موفقیت تولید پینه باکیفیت به عوامل متعددی از جمله محیط کشت، غلظت تنظیم‌کننده‌های رشد، ژنتیک و نوع ریزنمونه‌ها وابسته است (امین، ۱۳۹۳). Vardi و همکاران (۱۹۹۰)، Moore و همکاران (۱۹۹۲) به گونه‌ای موفقیت‌آمیز پرآوری پینه‌های حاصل از کشت بافت یاخته‌های داندرون چندین گونه مرکبات را گزارش کرده‌اند. Sharma و همکاران، (۲۰۰۹) به منظور انگیزش پینه از ریز نمونه‌های نوک شاخه و گره‌های راف لمون وترویر سیترنج، از محیط کشت موراشیگی و اسکوگ همراه با ۰/۵ میلی گرم در لیتر کاینتین، ۲ میلی گرم در لیتر 2,4-D و ۲ میلی گرم در لیتر NAA استفاده کردند. Kumar و Richa (۲۰۱۲)، تاثیر مقادیر مختلف 2,4-D، NAA و BAP را روی انگیزش پینه و باززایی گیاه در *C. limonia*، *C. limon* و *C. pectinifera* مورد بررسی قرار دادند. این پژوهشگرها از قطعه‌های برگ، نوک شاخه، قطعه‌های جوانه جانبی و محور روی لپه به عنوان ریز نمونه روی محیط کشت MS استفاده کردند. بیشترین میزان تشکیل پینه از قطعه‌های جوانه جانبی *C. limonia* و در تیمار ۳ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D برای پرآوری پینه گزارش کردند.

پژوهش‌های مختلفی در مورد القا و پرآوری تولید پینه در مرکبات انجام شده، اما گزارش‌ها در ارتباط با برهمکنش محیط کشت، نوع ریزنمونه و غلظت تنظیم کننده‌های رشد بر القای پینه در مکزیکن لایم محدود است. به همین دلیل

IrHC2019

پژوهش حاضر برای یافتن تلفیق بهینه محیط کشت، ریز نمونه و تنظیم کننده‌های رشد گیاهی جهت القا تولید و پرآوری پینه در مکزیکن لایم انجام شد.

مواد و روش‌ها

جمع آوری ریز نمونه‌های گیاهی

سری اول ریز نمونه‌های مورد استفاده در این پژوهش، تخمدان تلقیح نشده و سری دوم ریز نمونه‌ها شامل تخمک‌ها و آبدانک میوه‌های نابالغ مکزیکن لایم بودند. جهت تهیه ریزنمونه‌های سری اول در اوایل فروردین، گل‌های بسته و برای تهیه ریزنمونه‌های سری دوم در اواسط اردیبهشت تا اواسط خردادماه، میوه‌های نابالغ، جمع آوری و به آزمایشگاه کشت بافت منتقل شدند.

سترون کردن ریزنمونه‌ها

ریزنمونه‌های سری اول پس از انتقال به آزمایشگاه، ابتدا با آب معمولی و سپس در زیر هود لامینار با اتانول ۷۰٪ به مدت ۵ دقیقه و کلراکس ۱٪ (حاوی۵/۲۵ ٪ هیپوکلریت سدیم) به مدت یک دقیقه گندزدایی و پس از آن با آب مقطر سترون سه بار آبکشی شدند. به منظور سترون کردن میوه‌های نابالغ، میوه‌ها پس از انتقال به آزمایشگاه، ابتدا با آب معمولی و سپس در زیر هود لامینار با محلول کلراکس ۱۰٪ (حاوی ۵/۲۵ ٪ هیپوکلریت سدیم) همراه با سه قطره مایع شوینده به مدت ۱۰ دقیقه گند زدایی و پس از آن با آب مقطر سترون سه بار آبکشی شدند. پیش از آنکه میوه‌ها به صورت طولی برش داده شوند، به مدت چند ثانیه روی شعله قرار گرفتند.

انگیزش پینه

سه نوع محیط کشت MS، MT و H+H که به هر یک غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D اضافه شده بود، جهت القای پینه زایی مورد استفاده قرار گرفت. در تمامی محیط‌های کشت، pH روی۵/۷ ±۰/۱ تنظیم و از ۳۰ تا ۵۰ گرم سوکروز به عنوان منبع کربوهیدرات استفاده شد، محیط‌های کشت با کاربرد ۷ تا ۸ گرم در لیتر آگار جامد شدند و تمامی آن‌ها در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس و فشار ۱/۲ اتمسفر به مدت ۱۸ دقیقه اتوکلاو شدند. جهت کشت ریز نمونه‌های سری اول، تخمدان‌ها به صورت طولی برش داده شدند و روی محیط کشت قرار گرفتند. در کشت سری دوم ریزنمونه‌ها، ابتدا میوه‌ها به صورت طولی برش داده شدند سپس تخمک‌های نابالغ و آبدانک‌ها به نحوی که آسیب نبینند جدا و به محیط کشت منتقل شدند. سپس ظروف پتری در شرایط دمایی ۲۸°C و به مدت سه هفته در تاریکی کامل نگهداری شدند.

پرآوری پینه

برای بررسی اثر تنظیم کننده‌های رشد بر پرآوری پینه‌های تولیدی، از تنظیم کننده‌های رشد BA با غلظت‌های ۰، ۱، ۲، ۳ و ۴ میلی‌گرم در لیتر و NAA با غلظت‌های ۰، ۰/۱، ۰/۲، ۰/۳ و ۰/۴ میلی‌گرم در لیتر استفاده شد. پینه‌های تولیدی، پس از ۲۱ روز از ریزنمونه‌های اولیه جدا شدند، به طور جداگانه به محیط‌های کشت MS، MT و H+H با تنظیم کننده‌های رشد یاد شده منتقل و در اتاق رشد نگهداری شدند. پس از ۲۱ روز، یادداشت برداری‌ها بر اساس اندازه گیری وزن تر صورت گرفت و پینه‌های هر ریزنمونه روی محیط کشت‌های تازه MS، MT و H+H با همان ترکیب تنظیم کننده‌های مرحله پیش قرار گرفتند و در شرایط دمایی و نوری اتاق رشد، به مدت ۲۱ روز نگهداری شدند. سپس یادداشت برداری‌های این مرحله نیز بر اساس اندازه گیری وزن تر صورت گرفت و در پایان، بر اساس محاسبه اختلاف وزن پینه‌ها در تیمارهای مختلف تنظیم کننده‌های رشد در محیط‌های مختلف کشت، سرعت رشد پینه‌ها محاسبه شد.

شرایط دمایی و نوری اتاق رشد

کشت‌های انجام شده، در اتاق رشد و در شرایط دمایی ۲۸ درجه سلسیوس، طول روز ۱۶ ساعت روشنایی، ۸ ساعت تاریکی و شدت نور ۳۵ تا ۴۰ میکرومول بر متر در ثانیه که توسط لامپ‌های فلورسنت فراهم می‌شد، نگهداری شدند.

IrHC2019

آنالیز آماری

این پژوهش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با ۴ تکرار و ۵ ریزنمونه در هر تکرار انجام شد. مقایسه میانگین‌ها در سطح احتمال ۵ درصد و به کمک آزمون LSD و نرم افزار NTSYS صورت گرفت.

نتایج و بحث

مقایسه میانگین‌های تاثیر تنظیم کننده‌های رشد و نوع ریزنمونه بر میانگین سرعت رشد در جدول ۱ آمده است. نتایج نشان می‌دهد که بدون در نظر گرفتن نوع و غلظت‌های مختلف تنظیم کننده‌های رشد، نوع ریزنمونه به طور معنی داری روی میانگین سرعت رشد پینه تاثیرگذار است به طوری که ریزنمونه آبدانک در مقایسه با ریزنمونه‌های تخمدان و تخمک بیشترین سرعت رشد پینه (۲۰۷/۳ میلی‌گرم در سه هفته) را داشته است.

جدول «۱» تاثیر غلظت‌های مختلف BA و NAA و نوع ریزنمونه بر سرعت رشد پینه (mg/3weeks) در پایه مکزیکن لایم روی محیط کشت MS.

ریز نمونه	NAA(mg/l)	BA(mg/l) ۱	۲	۳	۴	میانگین ریزنمونه و NAA	میانگین ریزنمونه
تخمدان	۰/۱	۶۲/۸^{q}	۷۷/۳^{pq}	۹۳/۰$^{m-q}$	۹۱/۰$^{m-q}$	۸۱/۰^{E}	۱۱۱/۷^{B}
	۰/۲	۱۰۲/۶$^{j-q}$	۱۰۶/۰$^{i-q}$	۱۵۶/۳^{fgh}	۱۰۲/۷$^{j-q}$	۱۱۶/۹^{CD}	
	۰/۳	۱۴۱/۰$^{g-k}$	۱۲۲/۰$^{g-o}$	۱۶۲/۰^{efg}	۱۲۵/۷$^{g-n}$	۱۳۷/۷^{C}	
	۰/۴	۸۵/۰$^{m-q}$	۱۰۳/۳$^{i-q}$	۱۱۴/۰$^{h-p}$	۱۴۲/۳$^{g-j}$	۱۱۱/۲^{D}	
تخمک	۰/۱	۱۱۶/۰$^{h-p}$	۱۱۵/۲$^{h-p}$	۹۵/۶$^{l-q}$	۱۰۸/۳$^{i-p}$	۱۰۸/۸^{D}	۱۱۷/۵^{B}
	۰/۲	۸۳/۰$^{n-q}$	۱۶۳/۷^{efg}	۹۷/۳$^{k-q}$	۱۳۱/۳$^{g-m}$	۱۱۸/۸^{CD}	
	۰/۳	۸۶/۰$^{n-q}$	۱۳۳/۳$^{g-m}$	۱۲۲/۳$^{g-o}$	۱۴۱/۰$^{g-k}$	۱۲۰/۷^{CD}	
	۰/۴	۹۹/۳$^{j-q}$	۱۲۱/۰$^{g-p}$	۱۲۵/۰$^{g-o}$	۱۴۲/۰$^{g-j}$	۱۲۱/۸^{CD}	
آبدانک	۰/۱	۱۳۳/۳$^{g-m}$	۱۴۷/۷^{ghi}	۲۳۹/۰^{bcd}	۲۰۵/۳^{de}	۱۸۱/۳^{B}	۲۰۷/۳^{A}
	۰/۲	۱۴۰/۰$^{g-l}$	۱۹۵/۳^{def}	۳۱۲/۰^{a}	۲۸۱/۷^{ab}	۲۳۲/۲^{A}	
	۰/۳	۸۱/۰^{opq}	۲۶۴/۳^{bc}	۲۶۶/۳^{bc}	۲۷۸/۰^{ab}	۲۲۲/۴^{A}	
	۰/۴	۱۱۳/۳$^{h-p}$	۱۶۰/۷^{fg}	۲۶۹/۶^{abc}	۲۲۹/۰^{cd}	۱۹۳/۲^{B}	
میانگین اثر BA		۱۰۳/۶^{C}	۱۴۲/۵^{B}	۱۷۱/۰^{A}	۱۶۴/۸^{A}		

میانگین‌هایی که در هر ردیف یا ستون دارای حداقل یک حرف مشترک کوچک یا بزرگ هستند، اختلاف معنی داری در سطح ۵٪ آزمون LSD ندارند (حروف بزرگ اثرهای اصلی و حروف کوچک برهمکنش‌ها را نشان می دهند).

بررسی تاثیر غلظت‌های مختلف BA بر میانگین سرعت رشد پینه‌ها نشان داد که غلظت ۳ میلی‌گرم در لیتر BA بیشترین تاثیر را بر میانگین سرعت رشد پینه داشت، به گونه‌ای که سرعت رشد در این غلظت (۱۷۱/۰ میلی‌گرم در سه هفته) با میانگین سرعت رشد در غلظت‌ها ی ۱ و ۲ میلی گرم در لیتر (به ترتیب ۱۰۳/۶ و ۱۴۲/۵ میلی‌گرم در سه هفته) تفاوت معنی داری در سطح ۵ درصد آزمون LSD نشان داد. مقایسه اثر NAA بر میانگین سرعت رشد در پینه هر سه نوع ریزنمونه نشان داد که در پینه تخمدان بیشترین سرعت رشد مربوط به غلظت ۰/۳ میلی‌گرم در لیتر NAA بود (۱۳۷/۷ میلی‌گرم در سه هفته) در حالی که بیشترین سرعت رشد پینه در تخمک مربوط به تیمار ۰/۴ میلی‌گرم در لیتر

IrHC2019

NAA (۱۲۱/۸ میلی‌گرم) بود، اگرچه با سایر غلظت‌ها تفاوت معنی داری نداشت و در آبدانک، مربوط به غلظت ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر NAA (۲۳۲/۲ میلی‌گرم) بود که با غلظت ۰/۳ میلی‌گرم در لیتر تفاوت معنی داری نداشت. برهمکنش ریزنمونه و غلظت‌های مختلف BA×NAA بر سرعت رشد پینه نشان داد که برهمکنش بین نوع ریزنمونه، غلظت‌های مختلف BA و NAA بر سرعت رشد پینه وجود دارد (جدول۱). بیشترین سرعت رشد پینه (۳۱۲ میلی‌گرم در سه هفته) مربوط به ریزنمونه آبدانک بودکه در غلظت ۳ میلی‌گرم در لیتر BA و ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر NAA مشاهده شد. سرعت رشد آبدانک در این غلظت‌ها به طور معنی داری بیشتر از سرعت رشد پینه‌های تخمدان و تخمک در غلظت‌های بیان شده بود و برعکس بهترین سرعت رشد پینه حاصل از تخمک در غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر BA و ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر NAA به دست آمد که اختلاف معنی داری را نسبت به پینه‌های حاصل از تخمدان و آبدانک در غلظت‌های بیان شده نشان داد.

از آنجا که برای رشد پینه، افزودن سایتوکنین به محیط کشت ضروری بود، از BA که یکی از سایتوکینین‌های بسیار موثر در کشت ریزنمونه‌های گیاهی است در غلظت‌های مختلف بهره گیری شد. سایتوکینین‌ها تقسیم یاخته‌ای را تسریع می‌کنند (علیزاده، ۱۳۹۰). همچنین به این دلیل که وجود اکسین در محیط کشت، مرحله دیگری از چرخه تقسیم یاخته‌ای را القا می‌کند (علیزاده، ۱۳۹۰) و از آنجا که NAA یکی از اکسین‌های ضعیف به حساب می‌آید، جهت افزایش کارایی و تاثیرگذاری BA بر تقسیم و طویل شدن یاخته‌ها در محیط کشت بهره‌گیری شد. استفاده از BA و NAA برای رشد پینه‌های مرکبات توسط پژوهشگران دیگری نیز گزارش شده است (Saway *et al.*, 2005).

نتایج بهره‌گیری از این دو تنظیم کننده رشد نشان داد که سرعت رشد پینه در ریزنمونه‌های مختلف مورد آزمایش در حضور تنظیم کننده‌های BA و NAA افزایش یافت ولی تاثیر غلظت‌های مختلف این دو تنظیم کننده رشد، در ریزنمونه‌ها و محیط کشت‌های مختلف، متفاوت بود. به گونه‌ای که از بین غلظت‌های ۱ تا ۴ میلی‌گرم در لیتر BA، بیشترین میانگین سرعت رشد مربوط به غلظت ۳ میلی‌گرم در لیتر BA بود. اثر برهمکنش BA و NAA بر سرعت رشد پینه نشان داد که در هر سه ریزنمونه غلظت‌های بین ۲ تا ۳ میلی‌گرم در لیتر BA همراه با غلظت‌های ۰/۲ تا ۰/۳ میلی‌گرم در لیتر NAA بیشترین تاثیر را بر سرعت رشد داشتند. اثر برهمکنش BA و NAA بر سرعت رشد پینه نشان داد که در هر سه ریزنمونه غلظت‌های بین ۲ تا ۳ میلی‌گرم در لیتر BA همراه با غلظت‌های ۰/۲ تا ۰/۳ میلی‌گرم در لیتر NAA بیشترین تاثیر را بر سرعت رشد داشتند. نتایج حاصل از این پژوهش با نتایج گزارش شده قبلی در ارتباط با تاثیر BA و NAA بر پرآوری پینه در مرکبات و سایر گونه‌ها مطابقت داشت (Shahid *et al.*, 2011; Kumar and Richa, 2012).

سایتوکنین‌ها از ترکیب‌های هستند که در محیط کشت به سرعت جذب بافت‌های ریزنمونه می‌شوند و همراه بودن آنها با یک اکسین، ضمن آن که سرعت جذب را افزایش می دهد تا حدودی مانع از اکسیداسیون و باند شدن آنها می شود. همچنین عقیده بر آن است که واکنش یک ریزنمونه به محیط کشت به وجود غلظت خاصی از اکسین و سایتوکینین وابسته است و نسبت این دو در نهایت تعیین کننده واکنش بیولوژیکی ریزنمونه خواهد بود (علیزاده، ۱۳۹۰).

نتایج نشان داد که در بین سه ریزنمونه، پینه‌های آبدانک دارای بالاترین سرعت رشد بودند به طوری که اختلاف میانگین سرعت رشد مربوط به این ریزنمونه با دو ریزنمونه دیگر از نظر آماری معنی دار بود. مقایسه میانگین‌های سرعت رشد پینه در دو محیط کشت نیز نشان داد که به طور کلی میانگین سرعت رشد پینه در محیط کشت MT بیشتر از میانگین سرعت رشد در محیط کشت MS بود.

اسیدهای آلی مانند سیتریک و آسکوربیک اسید به عنوان یکی از منابع تاثیر گذار در تشکیل و رشد پینه شناخته شده‌اند

(Unger and Feng, 1978) و از آنجائی که تاثیرگذاری ترکیب‌هایی مانند شیره نارگیل، عصاره مالت و عصاره مخمر بر رشد یاخته‌ها در کشت بافت اثبات شده و مشخص شده که این ترکیب‌ها از طریق فعال کردن RNA و تشدید فعالیت

IrHC2019

آنزیم‌ها و پروتئین‌ها بر رشد یاخته موثرند، (علیزاده، ۱۳۹۰) به نظر می‌رسد ترکیب‌های آلی و به خصوص اسید سیتریک و آسکوربیک موجود در آبدانک‌ها در مجاورت BA و NAA تاثیری مشابه اثرهای شیره نارگیل، عصاره مالت و عصاره مخمر داشته باشند.

بر اساس نتایج به دست آمده، چندین عامل مهم از جمله نوع و غلظت تنظیم کننده‌های رشد، نوع ریزنمونه و ترکیب شیمیایی محیط کشت همگی در رشد و پرآوری پینه‌ها تاثیر گذار بودند. میزان پینه به دست آمده و کیفیت آنها هم نیز تحت تاثیر همین سه عامل قرار گرفت.

منابع

امین، ح. ۱۳۹۳. بررسی درون شیشه ای تنوع همگروه بدنی برای تولید ژنوتیپ‌های متحمل به خشکی در سه پایه مرکبات. پایاننامه دکتری، دانشگاه شیراز. ۲۲۴ ص.

فتوحی قزوینی، ر. و فتاحی مقدم، ج. ۱۳۸۹. پرورش مرکبات در ایران. انتشارات دانشگاه گیلان، ۳۰۵ ص.

علیزاده، م. ۱۳۹۰. راهنمای کاربران کشت بافت و ریزازدیادی. انتشارات نوروزی، ۳۲۲ص.

Kumar, G. and Richa, S.. 2012. In Vitro Micropropagation of Different species of Citrus. Research Journal of Biotechnology, 7(4): 96-101.

Moore, G. A., Jacono, C. C., Neidigh, J. L., Lawrence, S. D. and Cline, K. 1992. Agrobacterium-mediated transformation of citrus stem segments and regeneration of transgenic plants. Plant Cell Reports, 11: 238-242.

Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant. 15: 473-479.

Saway, A., Gomaa, A., Reda, A. and Danial, N. 2005. Somatic embryogenesis and plant regeneration from undeveloped ovules of citrus. Arab Journal of Biotechnology, 9 (1):189-202.

Shahid A. Kh., Roshan, Z., Nisar, A., Muhammad, S., Hina, F., Mubarak, A. Kh., Nighat, S. and Riaz, A. 2011. In Vitro regeneration of plantlets from unpollinated ovary culture in sweet orange (Citrus sinensis L. Osbeck). African Journal of Biotechnology, 10(67): 15130-15134.

Sharma, S., Prakash, A. and Tele, A. 2009. *In Vitro* Propagation of citrus Rootstocks. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca, 37(1): 84-88.

Unger, J. W. and Feng, K. A. 1978. Growth and differentiation of juice vesicles of orange grown In Vitro. American Journal of Botany, 65: 511–515.

Vardi, A., Frydman, A. S., Galun, E., Gonen, P. and Bliechman, S. 1990. Citrus cybrids- transfer of Micro Citrus organelles into Citrus cultivar. Acta Horticulturae, 280: 239-245.

Interaction of plant growth regulators, type of explant and culture media on callus induction and proliferation in Citrus aurantifolia L. ‘Mexican Lime’

Hossein Amin[1*], Akhtar Shekafandeh[2]

[1]Assistant Prof. of Department of Plant Production, Darab College of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran

[2]Associate Prof. of Department of Horticulture, Shiraz College of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran

**Corresponding author: hamin350@gmail.com*

Abstract

The presentstudy was carried out in a factorial in completly randomized design with four replications for finding the optimized interaction between culture media, explant and type of plant growth regulator for callus induction and proliferation in *Citrus aurantifolia* L. ‘Mexican Lime’. After sterilization, the explants (unfertilized ovary, ovules and juice vesicles) were transferred from fruits to MS, MT and H+H media completed with 2,4-D (0.5 mg l^{-1}). After 21 days calluses were transferred to respected MS, MT and H+H media completed with BA (0, 1, 2, 3, 4 mg l^{-1}) and NAA (0, 0.1, 0.2, 0.3 0.4 mg l^{-1}) and were kept in growth chamber for two 21 day periods. Comparison of Interaction between explants, plant growth regulators and culture media indicated that callus growth increased when BA and NAA were present, however different concentrations and type of plant growth regulators and also culture media and explants had varied effects on callus growth and proliferation. In conclusion quality and quantity of callus depended on culture media, type of plant growth regulator and types of explant

Keywords: BA, Culture Media, NAA

IrHC2019