

## بررسی چندجینی در بذور نارنج (*Citrus aurantium*) جمع‌آوری شده از نقاط مختلف استان‌های مازندران و گلستان

کامبیز مشایخی<sup>۱</sup>، \* بهنام کامکار<sup>۲</sup> و فاطمه عاصمی<sup>۳</sup>

استادیار گروه باغبانی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، استادیار گروه زراعت، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان،  
دانشجوی دوره کارشناسی گروه باغبانی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

تاریخ دریافت: ۸۶۷/۲۴؛ تاریخ پذیرش: ۸۶۱۱/۲۴

### چکیده

به منظور بررسی اثر مکان (عوامل اقلیمی) بر پدیده چندجینی در نارنج (*Citrus aurantium*) و ارتباط میزان نشاسته بذر با بروز پدیده جنین‌زایی رویشی و حالت چندجینی، بذور نارنج از چهار منطقه تنکابن، بابل، ساری و گرگان جمع‌آوری و درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، میزان چندجینی و درصد نشاسته موجود در آن‌ها تعیین شد. بر اساس نتایج به دست آمده مکان جمع‌آوری بذور روی تمامی صفات مورد مطالعه به جز سرعت جوانه‌زنی تأثیر معنی‌داری داشت. بذور جمع‌آوری شده از تنکابن در تمامی صفات مورد مطالعه (به جز سرعت جوانه‌زنی) بیشترین مقدار را به خود اختصاص داد، به نحوی که تفاوت معنی‌داری بین درصد جوانه‌زنی و درصد چندجینی در بذور تنکابن نسبت به سه مکان جمع‌آوری دیگر وجود داشت. درصد جوانه‌زنی در بذور متعلق به مناطق ساری، گرگان و بابل در مقایسه با بذور منطقه تنکابن به ترتیب ۱۱، ۱۴/۸ و ۱۵ درصد کاهش نشان داد، حال آن که کاهش درصد چندجینی نسبت به بذور جمع‌آوری شده از تنکابن به ترتیب برابر ۱۴/۶، ۲۲/۶ و ۲۶/۹ درصد بود، بدین معنی که بیشترین درصد چندجینی در تنکابن و کمترین درصد در ساری مشاهده شد. ضرایب همبستگی بین میانگین درازمدت عوامل اقلیمی و صفات مورد مطالعه نشان داد که بیشتر بودن میزان بارندگی منطقه تنکابن به‌ویژه در فصل تابستان از عوامل مهم افزایش معنی‌دار درصد چندجینی در این منطقه در مقایسه با سایر مناطق مورد مطالعه شده است. ضرایب همبستگی بین درصد جوانه‌زنی و درصد چندجینی با درصد نشاسته به ترتیب برابر ۰/۷ و ۰/۶۵ بود. بین درصد جوانه‌زنی و درصد چندجینی نیز همبستگی بالایی در حدود ۰/۸۳ به دست آمد، حال آن که سرعت جوانه‌زنی با درصد نشاسته و درصد جوانه‌زنی همبستگی معنی‌داری نداشت. نتایج نشان داد که دمای حداکثر محیط رشد درخت مادری نارنج بیشترین تأثیر مثبت را بر درصد بذور جوانه زده داشت، در حالی که دمای حداقل و میانگین دما تأثیر معنی‌داری بر این پدیده نشان ندادند. همچنین میزان بارندگی در طی رشد گیاه مادری بر درصد بذور جوانه‌زده درون میوه‌ها تأثیری منفی داشت همچنین حداکثر و حداقل دمای محیط رشد گیاه مادری بر تجمع نشاسته درون بذر نارنج تأثیری منفی داشت، حال آن که میزان بارندگی تأثیر مثبت و معنی‌داری بر تجمع نشاسته درون بذر داشت. بروز چندجینی با دمای حداکثر همبستگی منفی و با بارندگی مناطق مورد مطالعه همبستگی مثبت نشان داد.

واژه‌های کلیدی: نارنج، چندجینی، جنین‌زایی رویشی، جوانه‌زنی بذر، عوامل محیطی

## مقدمه

در طبیعت تعداد زیادی از گیاهان آوندی وجود دارند که در کنار تکثیر جنسی از طریق رویشی نیز به روش‌های مختلف تولیدمثل می‌نمایند، به صورتی که حتی در بعضی از آنها این نوع تکثیر رویشی کاملاً جایگزین ازدیاد آنها از طریق جنسی می‌شود (هینز و شمیت، ۱۹۹۵). تکثیر غیرجنسی این گیاهان به دو شکل یکی توسط اندام‌های رویشی مانند غده، پیاز و غیره و دوم به صورت آگاموسپرمی<sup>۱</sup> که شامل تمام حالات اپومیکسی<sup>۲</sup> می‌باشد، انجام می‌شود (مارتین، ۱۹۷۶). در حالت دوم در بعضی از گیاهان علاوه بر تشکیل جنین از طریق جنسی<sup>۳</sup> امکان تشکیل جنین بدون این که اندام‌های نر و ماده با یکدیگر امتزاج حاصل نمایند و عمل لقاح انجام گیرد، وجود دارد. بذرهایی که از این طریق تشکیل می‌شوند، بذور غیرجنسی<sup>۴</sup> نامیده می‌شوند (نیومن، ۱۹۹۵؛ روئاد و پاگز، ۱۹۹۵). بروز این پدیده در تعدادی از گونه‌های متعلق به تیره‌های گیاهی از قبیل تیره تاج خروس<sup>۵</sup>، تیره شب بو<sup>۶</sup>، تیره سماقیان<sup>۷</sup>، تیره شاه بلوط<sup>۸</sup>، تیره کدوئیان<sup>۹</sup>، تیره سوسنی‌ها<sup>۱۰</sup>، تیره پنیرکیان<sup>۱۱</sup>، تیره سرخدار<sup>۱۲</sup> و بعضی از تیره‌های گیاهی دیگر به‌ویژه تیره مرکبات<sup>۱۳</sup> گزارش شده‌است (ناگمانی و همکاران، ۱۹۹۵؛ شارما و تروپه، ۱۹۹۵).

در هر حال در اغلب موارد در هر بذر این گیاهان یک و یا چندین جنین غیرجنسی و گاهی همراه با سلول تخمی که ناشی از فعالیت‌های جنسی است، به وجود می‌آید (نوگلر، ۱۹۸۴). این پدیده که در گیاهانی مانند

نارنج و انبه غالباً به حالت چندجنینی<sup>۱۴</sup> بروز می‌نماید، اولین بار در سال ۱۷۱۹ توسط لی اون بوک<sup>۱۵</sup> در بذر نارنج مشخص گردید. وجود چندجنینی طبیعی فقط محدود به گیاه نارنج نبوده، بلکه این پدیده در تعداد زیادی از گونه‌های دیگر گیاهی که به بازدانگان و نهاندانگان تعلق دارند نیز مشاهده شده‌است (استراسبرگر و همکاران، ۱۹۷۸؛ کریشناراج و وسیل، ۱۹۹۵؛ شارما و تورپه، ۱۹۹۵؛ چندلر و یانگ، ۱۹۹۵). در تعداد زیادی از سوزنی برگان مانند درخت کاج میلاد<sup>۱۶</sup> حالت چندجنینی یک پدیده عمومی در طی جنین‌زایی طبیعی<sup>۱۷</sup> این گیاهان می‌باشد (کونگ و همکاران، ۱۹۹۹).

در جنین‌زایی نابجا جنین‌های دیپلوئید مستقیماً از سلول‌های سوماتیکی بافت خورش و لایه سلولی اطراف آن حاصل می‌شوند و به‌عنوان جنین‌های خورش<sup>۱۸</sup> نامیده می‌شوند. در اغلب موارد این نوع از اپومیکسی است که منجر به ایجاد حالت چندجنینی می‌گردد. لذا جنین‌های خورشی در اغلب موارد همراه با جنین‌های جنسی به وجود می‌آیند (هینز و اش‌میت، ۱۹۹۵؛ آسکر و جرلینگ، ۱۹۹۲).

جنبه‌های مختلف جنین‌زایی غیرجنسی در گیاهان نهان دانه و بازدانه در طبیعت توسط بسیاری از محققان مورد بحث و بررسی قرار گرفته‌است (راقاوان و شارما، ۱۹۹۵؛ نوگلر، ۱۹۸۴؛ فری و همکاران، ۱۹۹۵؛ براون و همکاران، ۱۹۹۵؛ لیتز و همکاران، ۱۹۹۵؛ شاندرلر و یانگ، ۱۹۹۵؛ بکوار و پولمن، ۱۹۹۵؛ مشایخی، ۲۰۰۷؛ لاکشمن و آمبگوکار، ۱۹۸۴؛ کولتونوف، ۱۹۹۳).

در طبیعت می‌توان جنین‌زایی رویشی و چندجنینی را به‌ویژه در مواقعی که فعالیت جنسی ضعیف باشد و یا حتی در صورت عدم وجود ناتوانی جنسی، به‌عنوان یک جانشین برای تکثیر جنسی نباتات در نظر گرفت. در هر صورت برخلاف این که جنین‌زایی رویشی و بروز حالت چندجنینی در تعدادی از گیاهان مانند درختان خانواده

- 1- Agamospermy
- 2- Apomixis
- 3- Amphimixis
- 4- Apomictic seed
- 5- *Aerva tomentosa* Forsk
- 6- *Arabis lyalli*
- 7- *nacardium occidentale* L.
- 8- *Quercus marcolepis* Kotschy
- 9- *Cucumis anguria*
- 10- *Lilium elegans* و *Allium mutans*
- 11- *Gossypium barbadense* L. *Gossypium barbadense* × *davidsonii*
- 12- *Torreya nucifera* و *Taxus cuspidate*
- 13- *Citrus aurantifolia* و *Citrus reticulate* Blanco.

- 14- Polyembryonie
- 15- Leeuwen Boek
- 16- *Picea glauca* (Moench)
- 17- *In vivo*
- 18- Nucellar embryonie

اختیاری تعادل بین تکثیر جنسی و غیرجنسی تحت تأثیر هر دو عامل حرارت و فتوپریود قرار دارد. نوکس (۱۹۶۷) گزارش نمود که در طی تکامل گل آذین گیاه *Dicanthium aristatum* یک همبستگی بین طول تابش نور خورشید و شدت بروز حالت آپومیکسی وجود دارد (شارما و تورپه، ۱۹۹۵). در هر صورت تعداد بررسی‌های دقیقی که در این رابطه و در گیاهان مختلف انجام شده باشد بسیار کم است، به طوری که بحث و اظهار نظر دقیق روی چگونگی اثر عوامل محیطی بر رفتار آپومیکسی گیاهان را مشکل می‌نماید. مثلاً درباره اثر شرایط تغذیه گیاه مادری بر روی پیدایش و تشکیل جنین رویشی طبیعی اطلاعات دقیقی وجود ندارد. در بررسی فوروژاتو و اوها (۱۹۶۹) بر روی گیاه نارنج هیچ‌گونه همبستگی بین موقعیت تغذیه‌ای درخت و تشکیل جنین‌های غیرجنسی نشان داده نشد (شارما و تورپه، ۱۹۹۵). توضیحات قبل نشان می‌دهد که خصوصیات فیزیولوژیکی گیاهان نیز بر روی این پدیده بی‌تأثیر نیست. به‌طور مثال مشاهدات نشان داده است که سن گیاه نیز بر روی این پدیده موثر است. برخی مشاهدات نشان داده که گیاهان نارنج مسن‌تر نسبت به جوان‌ترها در هر بذری تعداد بیشتری جنین غیرجنسی دارند (فوراژاتو و همکاران، ۱۹۵۷؛ به نقل از شارما و تورپه، ۱۹۹۵). از طرف دیگر ظاهراً عامل و یا عواملی که باعث بروز پدیده جنین‌زایی رویشی طبیعی می‌گردند، تأثیر خود را از طریق سنتز یک‌سری از مواد بیوشیمیایی بروز می‌دهند که از طریق پیوند نیز قابل انتقال می‌باشد.

هدف از این مطالعه بررسی اثر مکان جمع‌آوری بذور (شرایط اقلیمی متفاوت) بر پاسخ چندجنینی و جوانه‌زنی در بذور نارنج و رابطه آن با برخی از عوامل تعیین‌کننده این پاسخ‌ها بوده است.

### مواد و روش‌ها

این پژوهش در آزمایشگاه گروه باغبانی دانشکده‌های کشاورزی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام گردید. در اواخر پاییز ۱۳۸۴، بذور نارنج بالغ از میوه‌های به‌دست آمده از درختان نارنج در چهار منطقه

مرکبات و مخروطیان به‌عنوان یک پدیده معمول و پرتکرار شناخته شده است، ولی به‌جز برخی عوامل موثر بر بروز این پدیده در لوله آزمایش، علت وقوع این پدیده در طبیعت عمدتاً ناشناخته باقی مانده است (اوربانک و همکاران، ۲۰۰۴؛ روخ و همکاران، ۲۰۰۱).

پدیده آپومیکسی در تعداد زیادی از گونه‌های گیاهی به‌صورت ثابت، ژنتیکی می‌باشد؛ در صورتی که در گونه‌های گیاهی دیگر این پدیده فقط در مواقع دورگ‌گیری و بروز اختلال در به‌وجود آمدن جنین جنسی بروز می‌نماید (نیومن، ۱۹۹۵؛ کریشناراج و وسیل، ۱۹۹۵؛ ساویدان، ۲۰۰۰).

این واقعیت که پدیده آپومیکسی توسط عوامل ژنتیکی کنترل می‌گردد، در انواع مختلفی از گیاهان گزارش شده است (بیکنل و همکاران، ۲۰۰۰؛ پسینو و همکاران، ۱۹۹۹؛ ریچاردز، ۱۹۹۶). جنین‌زایی رویشی در طبیعت یک روند تمایزی است که جهت نگهداری نسل و نژاد به‌کار رفته و تحت عوامل ژنتیکی کنترل می‌شود (نیومن، ۱۹۹۵). در خانواده سداب<sup>۱</sup> و بعضی از گیاهان دیگر یک ژن غالب است که در بروز پدیده جنین‌زایی خورشی دخیل است (بیکنل و همکاران، ۲۰۰۰). در هر حال برخلاف ذاتی بودن پدیده آپومیکسی و بروز حالت چندجنینی در گیاهانی که این صفت در آنها مشاهده می‌شود، اما مشاهدات نشان داده‌اند که عوامل محیطی در بروز این پدیده موثر می‌باشند (نیومن، ۱۹۹۵). به‌رغم این که تشکیل جنین‌های رویشی در طبیعت با خصوصیات ژنتیکی گیاه در ارتباط می‌باشد، اما عوامل محیطی مانند دمای محیط در بروز این پدیده موثر بوده و شرایط را برای بروز آن آماده می‌نمایند. به‌عنوان نمونه در قسمتی از درخت نارنج که به سمت شمال قرار دارد، نسبت به سمتی از درخت که رو به جنوب قرار دارد، بذور میوه‌ها دارای تعداد بیشتری جنین رویشی هستند. البته عوامل محیطی موثر بر جنین‌زایی رویشی طبیعی فقط منحصر به دمای محیط نبوده و سایر عوامل محیطی مانند طول مدت تابش نور نیز می‌توانند آن را متأثر سازند (کریشناراج و وسیل، ۱۹۹۵). به‌طور مثال مشخص شده که در آپومیکسی

مختلف در شمال ایران شامل شهرهای تنکابن، بابل، ساری و گرگان جمع‌آوری شدند. سپس از هر توده بذر مربوط به هر محل به صورت تصادفی شصت عدد بذر انتخاب شده و در سه تکرار (هر تکرار شامل بیست عدد بذر) کشت شدند. جهت مطالعه پاسخ جوانه‌زنی بذور، ابتدا بذور نارنج پس از قرار گرفتن در اتانول ۷۰ درصد به مدت یک دقیقه، سه بار با آب مقطر شسته شده، سپس جهت ضدعفونی سطحی، بذور به مدت ۳۰ دقیقه در هیپوکلرید سدیم ۲/۵ درصد قرار گرفتند و با آب مقطر استریل شده سه بار شستشو شدند. بذور پس از قرار گرفتن در آب مقطر استریل در زیر هود لامینار به درون پتری‌دیش‌های درب‌دار حاوی کاغذهای صافی ضدعفونی شده منتقل و توسط آب مقطر استریل شده مرطوب گردیدند و به همین نحو تا آخر آزمایش با آب مقطر استریل مرطوب نگهداشته شدند. این پتری‌دیش‌ها در شرایط تاریکی و در داخل انکوباتور و در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. بذرها به مدت چهار هفته هر روزه پایش و بذور با ریشه‌چه حداقل چهار میلی‌متر، به‌عنوان بذور جوانه‌زده منظور شدند و سرعت جوانه‌زنی برحسب بذور در روز از تقسیم تعداد بذور جوانه‌زده بر زمان تا پایان جوانه‌زنی محاسبه گردید.

جهت مشخص نمودن تعداد جنین‌های موجود در هر بذور، عملیات استریل کردن و کشت بذور از روشی که در مطالعه جوانه‌زنی بذور به آن اشاره شد، استفاده شد، با این تفاوت که یک هفته بعد از جوانه‌زنی اولین بذور در پتری‌دیش‌ها، تعداد جنین‌های داخل هر بذور در زیر میکروسکوپ دو چشمی با بزرگ‌نمایی ۱۰×۲۰ مورد بررسی و شمارش قرار گرفتند.

برای اندازه‌گیری درصد نشاسته، بذورهای مربوط به هر منطقه آسیاب شد. سپس از هر تیمار هر بار یک گرم از

بذور آسیاب‌شده توزین و میزان نشاسته درون آنها توسط دستگاه اسپکتوفتومتر (شوفر، ۱۹۷۰) اندازه‌گیری گردید. اعداد به دست آمده برای هر تیمار میانگین سه بار اندازه‌گیری می‌باشد.

داده‌های صفات مورد مطالعه براساس طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی و با استفاده از رویه ANOVA در نرم‌افزار آماری SAS در سه تکرار آنالیز شدند و مقایسه میانگین آنها در سطح احتمال ۵ درصد با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن انجام شد. ضرایب همبستگی صفات نیز با استفاده از رویه CORR در نرم‌افزار SAS محاسبه شدند.

## نتایج و بحث

ارتباط بین درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی و درصد چندجنینی با درصد نشاسته درون بذور: یکی از خصوصیات بارز جنین‌زایی رویشی در لوله آزمایش وجود مقادیر زیاد نشاسته در سلول‌های جنین‌زا می‌باشد و در صورت اثبات رابطه بین نشاسته بذور و بروز جنین‌زایی رویشی در طبیعت، بررسی این‌که میزان نشاسته بذور تا چه حد با عوامل محیطی در ارتباط است، از اهمیت زیادی برخوردار است. در این راستا آزمون این‌که آیا نشاسته بذور باعث تسریع سرعت جوانه‌زنی و درصد جوانه‌زنی می‌شود یا خیر، موضوع درخور تاملی است.

نتایج بررسی رابطه بین درصد نشاسته درون بذور با بروز پدیده جنین‌زایی رویشی در طبیعت نشان داد که مکان روی سرعت جوانه‌زنی تأثیر معنی‌داری ندارد. تأثیر عامل مذکور روی درصد جوانه‌زنی و درصد چندجنینی در سطح احتمال ۱ درصد و روی درصد نشاسته درون بذور در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۱).

جدول ۱- جدول آنالیز واریانس صفات مورد مطالعه براساس میانگین مربعات صفات مورد مطالعه.

منابع تغییر	درجه آزادی	درصد جوانه‌زنی	سرعت جوانه‌زنی (بذور در روز)	درصد نشاسته اندازه‌گیری شده درون بذور	درصد چندجنینی
تکرار	۲	۰/۰۰۵۸	۰/۰۰۶۴	۰/۱۲	۰/۰۰۶
مکان	۳	۰/۶۷۰**	۰/۰۰۴۵	۰/۰۲*	۰/۰۰۵۹**
خطا	۶	۰/۰۰۳۶	۰/۰۰۶۱	۰/۰۷۶	۰/۶۳۰۰
کل	۱۱	---	---	---	---

\* و \*\* به ترتیب معنی‌دار بودن در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد را نشان می‌دهند.

نتایج مقایسه میانگین (جدول ۲) نشان داد که بذور تنکابن ضمن حصول حداکثر مقادیر درصد جوانه‌زنی و درصد چندجینی از نظر این صفات با بذور ساری، گرگان و بابل تفاوت معنی‌داری داشت، حال آن که تفاوت بین این دو صفت در بین بذور جمع‌آوری شده از مناطق ساری، گرگان و بابل معنی‌دار نبود.

نتایج نشان داد که بذور جمع‌آوری شده از تنکابن از نظر تمام صفات مورد مطالعه به‌جز سرعت جوانه‌زنی نسبت به بذور سایر مناطق برتری معنی‌داری داشت، حال آن که از نظر درصد نشاسته اندازه‌گیری شده برخلاف

داشتن مقدار نشاسته بیشتر نسبت به سایر مناطق اختلاف معنی‌داری با بذور جمع‌آوری شده از ساری نشان نداد. ضرایب همبستگی بین درصد جوانه‌زنی با درصد نشاسته درون بذر ۰/۷ و ضریب همبستگی بین درصد چندجینی با درصد نشاسته برابر ۰/۶۵ بود (جدول ۳). اطلاعات جدول ۳ نشان می‌دهد که بین درصد جوانه‌زنی و درصد چندجینی نیز همبستگی بالا و معنی‌داری (۰/۸۳) وجود دارد، در صورتی که همبستگی سرعت جوانه‌زنی با درصد نشاسته و درصد جوانه‌زنی بسیار پایین و غیرمعنی‌دار بود (جدول ۳).

جدول ۲- مقایسه میانگین درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، درصد نشاسته اندازه‌گیری شده درون بذر و درصد چندجینی.

مکان	درصد جوانه‌زنی	سرعت جوانه‌زنی (بذر در روز)	درصد نشاسته اندازه‌گیری شده درون بذر	درصد چندجینی
تنکابن	۹۰a	۰/۱۸۴a	۰/۰۱۴a	۸۶/۶۶a
ساری	۸۰/۲b	۰/۲۴۷a	۰/۰۰۹ab	۷۴/۰۰b
گرگان	۷۶/۶۶b	۰/۲۲۹a	۰/۰۰۷b	۶۷/۰۰b
بابل	۷۷/۳۱b	۰/۱۶۳a	۰/۰۰۴۵b	۶۳/۳۳b

میانگین‌های دارای حروف مشترک دارای اختلاف معنی‌دار نیستند.

جدول ۳- جدول ضرایب همبستگی بین درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، درصد نشاسته درون بذر و درصد چندجینی.

درصد جوانه‌زنی	سرعت جوانه‌زنی (بذر در روز)	درصد نشاسته درون بذر	درصد چندجینی
۱/۰۰			
۰/۱۲	۱/۰۰		
۰/۷	۰/۰۰۰۶	۱/۰۰	
۰/۸۳*	۰/۰۲۷	۰/۶۵	۱/۰۰

\* معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد.

در این بررسی مشاهده شد که بروز چندجینی در گیاه نارنج با مقدار نشاسته درون بذر این گیاه (جدول‌های ۲ و ۳) که آن هم خود با شرایط محیط رشد گیاه مانند درجه حرارت محیط، میزان و اختلاف دمای روز و شب و شدت و مدت نور دریافتی توسط گیاه وابسته است، ارتباط زیادی دارد (کونگ و همکاران، ۱۹۹۹؛ شارما و تورپه، ۱۹۹۵). از طرف دیگر این ارتباط بین میزان نشاسته درون بذور و بروز حالت چندجینی دارای شباهت بسیار زیادی به همبستگی بین میزان نشاسته موجود در سلول‌های جنین‌زا و تشکیل جنین‌های رویشی

از آنها در درون لوله آزمایش می‌باشد (مشایخی، ۲۰۰۷). بنابراین نتایج این بررسی و واقعیتی که در مورد سلول‌های جنین‌زا در درون لوله آزمایش وجود دارد این است که هرچه میزان نشاسته افزایش یابد، حالت جنین‌زایی رویشی و حالت چندجینی نیز افزایش می‌یابد. بنابراین این‌طور به‌نظر می‌رسد که در شرایط روز بلند که با افزایش فتوسنتز همراه است، بر میزان چندجینی نیز افزوده شود. سلول‌های جنین‌زایی که در بافت خورش قرار دارند از سایر سلول‌های اطراف خود از نظر اندازه و تراکم سیتوپلاسم‌شان متمایز می‌باشند. این سلول‌های

کوچک واجد سیتوپلاسم متراکم (مشایخی و همکاران، ۲۰۰۵) دارای محتوی نشاسته زیادی نیز می‌باشند. سپس در مراحل بعدی این سلول‌های جنین‌زا توسط قطع پلاسمودسماتا و همچنین تشکیل یک دیواره سلولی جدید در محل دیواره اولیه سلول، خود را از سلول‌های مجاور جدا می‌نمایند. سپس این سلول‌ها دقیقاً مراحل مشخصی را که در جریان جنین‌زایی جنسی طی می‌گردد، می‌گذرانند (نیومن ۱۹۹۵؛ مونیر، ۱۹۹۵؛ یونگ، ۱۹۹۵).

به عقیده کونگ و همکاران (۱۹۹۹)، انواع مختلف چندجنینی که در طی جنین‌زایی رویشی و زایشی گیاهان بروز می‌کند ممکن است ناشی از تأثیر هورمونی و یا سایر عوامل محیطی که شرایط هورمونی درون گیاه و در نتیجه جنین‌زایی را متأثر می‌نمایند، باشد (کونگ و همکاران، ۱۹۹۹، نیومن، ۱۹۹۵). همچنین می‌توان گفت که در جنین‌زایی رویشی چندجنینی تقسیمی<sup>۱</sup> معلول از بین رفتن قطبیت در جنین به واسطه تغییر در سنتز اکسین‌ها است. بدین شکل که در نتیجه کاهش سرعت رشد مرکز اصلی رشد در جنین، چندین مرکز رشدی ظاهر می‌گردند که نتیجه آن بروز حالت چندجنینی تقسیمی می‌باشد (کونگ و همکاران، ۱۹۹۹). در همین رابطه بکوار و پولمن (۱۹۹۹) معتقدند که بررسی مراحل اولیه موفولوژیکی در جنین‌زایی جنسی و تعیین خصوصیات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی مربوط به مراحل تکاملی آن راهنمای خوبی برای فهمیدن هرچه بیشتر جنین‌زایی رویشی می‌باشد. بدین منظور میزان ابسیسیک اسید موجود در طی تکامل مگاگامتوفیتی و بافت جنین بررسی شد. نتایج نشان داد که در مراحل اولیه تکامل جنین مقدار ابسیسیک اسید درون آنها بسیار زیاد بود. همچنین در کاج رزینوز<sup>۲</sup> در مرحله تکاملی جنین و از مرحله‌ای که سلول تخم (زیگوت) به مرحله پیش‌جنینی تبدیل می‌شود، پتانسیل اسمزی محیطی که گامتوفیت را احاطه نموده بود، به‌طور تدریجی افزایش یافت و مقداری منفی شد و بعد از آن ثابت باقی ماند. همچنین میزان قندها در ماده‌ای که گامتوفیت در آن معلق بود از ابتدای تکامل جنین به‌طور تدریجی افزایش یافت،

درحالی‌که لیپید اغلب در مرحله پیش‌لپه‌ای تا مراحل اولیه تکامل لپه‌ای در جنین‌های تشکیل شده، افزایش یافت (بکوار و پولمن، ۱۹۹۵). بنابراین به‌نظر می‌رسد که در مراحل اولیه تشکیل و تکامل جنین، هر چه میزان ابسیسیک اسید بیشتر باشد، امکان جنین‌زایی ثانویه و بروز حالت چندجنینی نیز کاهش می‌یابد (این مساله در این تحقیق در مورد میزان بارندگی و کاهش تنش خشکی به شکلی کاملاً مشخص دیده می‌شود. همچنین مشخص شد که دماهای زیاد و کم نیز می‌توانند به‌عنوان عوامل تنش‌زا که احتمالاً سبب تغییر در ABA درونی می‌شوند، کاهش جنین‌زایی ثانویه را سبب می‌شوند). البته لازم به ذکر است که اثر متقابل بین ابسیسیک اسید و ژیرالین‌ها در رابطه با متابولیسم نشاسته بر روی این حالت نمی‌تواند نادیده گرفته شود. به‌نظر می‌رسد که در مراحل اولیه تشکیل و تمایز جنین میزان کربوهیدرات‌ها نقش موثرتری بر چندجنینی دارند. به‌عنوان نمونه مگاگامتوفیت در گیاه سیکاد<sup>۳</sup> از ابتدا حاوی مقدار زیادی کربوهیدرات می‌باشد که شرایط تغذیه‌ای مناسبی را برای القای جنین‌زایی، تکامل جنین‌های جنسی آن و بروز حالت چندجنینی فراهم می‌کند (لیتز و همکاران، ۱۹۹۵) که با نتایج به‌دست آمده در این بررسی روی میزان نشاسته در بذر مطابقت دارد. البته همان‌طور که قبلاً نیز اظهار گردید، هرچه جنین‌ها در مراحل ابتدایی‌تر تکامل باشند، بیشتر تحت تأثیر عوامل موثر بر بروز حالت چندجنینی قرار می‌گیرند.

**ارتباط بین درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، درصد چندجنینی، درصد نشاسته درون بذور با شرایط آب و هوایی:** روند تغییرات میانگین متغیرهای اقلیمی در چهار منطقه مورد مطالعه که از اطلاعات ثبت شده در ایستگاه‌های هواشناسی جمع‌آوری شد، در شکل ۱ نشان داده شده‌اند. در بعضی موارد مشاهده شد که با بروز تغییر در شرایط محیطی جنین‌زایی رویشی نیز دستخوش تغییر شد. نتایج به‌دست آمده در این تحقیق اثر عوامل محیطی بر این پدیده را مورد تأیید قرار داد (جدول ۴). نتیجه به‌دست آمده با نتایج سایر محققان مبنی بر تأثیر دریافت دمای بیشتر بر افزایش تعداد جنین و تأثیر بازدارنده

1- Cleavage polyembryony

2- *Pinus resinosa*

3- *Ceratozamia mexicana*

دماهای بالاتر از ۳۰ درجه سانتی‌گراد بر بروز پدیده چندجینی انطباق دارد (کریشناراج و واسیل، ۱۹۹۵). نتایج به دست آمده نشان داد که افزایش دمای محیط رشد گیاه مادری بر تجمع نشاسته درون بذر نارنج تأثیر منفی داشت. نتایج نشان دهنده آن است که دمای حداکثر محیط رشد گیاه مادری بیشترین همبستگی منفی را با تجمع نشاسته درون بذر نارنج نشان داده و این مساله برای میانگین دمای حداکثر در کل سال، در طول بهار و در طول تابستان صادق بوده است.

ضرایب همبستگی (جدول ۴) نشان داد که دمای حداکثر محیط رشد درخت مادری نارنج بیشترین تأثیر مثبت را بر روی درصد بذر جوانه زده دارد، در حالی که دماهای حداقل و متوسط تقریباً تأثیری بر این پدیده نشان نمی‌دهند. میزان بارندگی در طی رشد گیاه مادری تأثیر منفی بر درصد بذر جوانه زده درون میوه‌های آن داشته است.

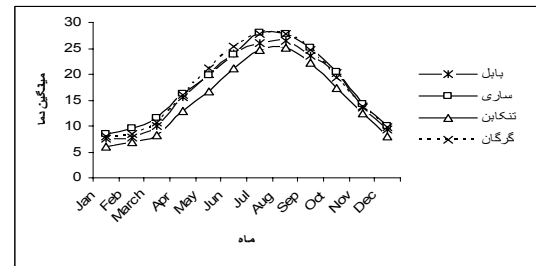
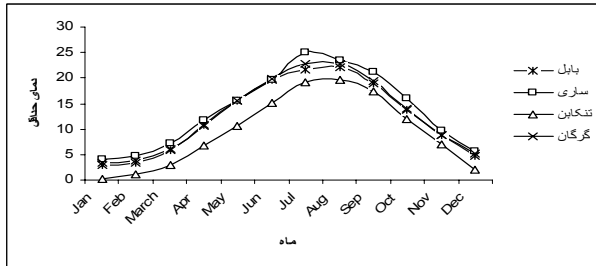
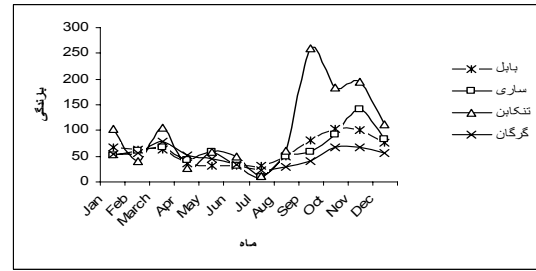
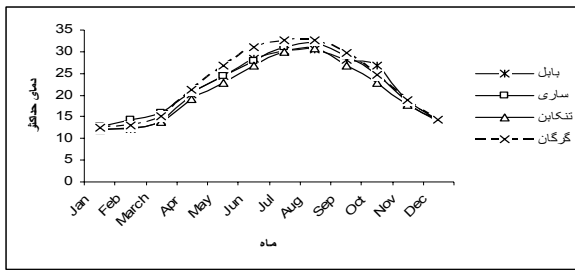
بر اساس جدول همبستگی صفات (جدول ۴) میزان بارندگی منطقه تأثیر بسیار زیادی بر تجمع نشاسته درون بذر دارد، به نحوی که بالاترین ضرایب همبستگی بین متغیرهای اقلیمی مورد مطالعه و درصد تجمع نشاسته در تمام موارد کل سال، فصل بهار و فصل تابستان به متغیر

بارندگی مربوط بود. در این حالت بیشترین همبستگی مثبت با میانگین بارش در فصل تابستان بوده است که در سطح ۱ درصد معنی دار شده است. دمای حداکثر نیز بیشترین تأثیر منفی را بر تشکیل چندین جنین در درون هر بذر داشته است، به نحوی که ضرایب همبستگی بین این متغیر در تمام طول سال، در فصل بهار و در فصل تابستان منفی بوده است (جدول ۴)، در صورتی که بروز حالت چندجینی در بذر نارنج به مقدار زیادی با میزان بارندگی مناطق مورد مطالعه همبستگی مثبت داشته است. این پدیده که میزان بارندگی بر چندجینی مرکبات تأثیر می‌گذارد تاکنون گزارش نشده، اما به نظر می‌رسد که در این شرایط میزان بارندگی می‌تواند با کاهش تنش خشکی در ارتباط باشد، زیرا همان‌طور که بکوار و پولمن (۱۹۹۵) نیز اظهار نموده‌اند، کاهش سنتز ابسیسیک اسید که ناشی از رفع تنش بر روی گیاه مادری می‌باشد، میزان چندجینی را افزایش می‌دهد. شکل ۱ و توضیحات فوق توجیه‌کننده بالاتر بودن صفات مورد بررسی در منطقه تنکابن است. بررسی روند تغییرات میانگین بلند مدت بارندگی در منطقه تنکابن و تفاوت آن با دیگر مناطق مورد مطالعه و بالاتر بودن کمیت صفات مورد مطالعه در این منطقه نیز نشان‌دهنده نقش تأثیرگذار بارندگی است (شکل ۱).

جدول ۴- ضرایب همبستگی صفات مورد بررسی با میانگین دمای حداقل، دمای حداکثر، بارندگی و میانگین دما.

زمان	متغیر	سرعت جوانه‌زنی	درصد نشاسته	درصد چند جنینی
بهار	دمای حداکثر	۰/۶۸۳	-۰/۲۸	-۰/۴۳
	دمای حداقل	۰/۳۶۸	-۰/۸۶*	-۰/۸۹*
	بارندگی	۰/۷۲	۰/۷۳	۰/۶۳
تابستان	میانگین دما	۰/۵۶	-۰/۷۲	-۰/۸۱*
	دمای حداکثر	۰/۷۷	-۰/۳۵	-۰/۴۸
	دمای حداقل	۰/۶۴	-۰/۶	-۰/۶۳
	بارندگی	-۰/۳۲	۰/۸۹	۰/۹۳**
	میانگین دما	۰/۷۵	۰/۵۵	۰/۶۳
	دمای حداکثر	۰/۶۸	-۰/۵۵	-۰/۶۶
کل سال	دمای حداقل	-۰/۰۹	-۰/۱۶	-۰/۰۴
	بارندگی	-۰/۴۱	۰/۸۳*	۰/۹*
	میانگین دما	۰/۰۹	۰/۳۲	-۰/۲۳

\*\* و \* : معنی دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد.



شکل ۱- میانگین درازمدت تغییرات متغیرهای اقلیمی (دما بر حسب درجه سانتیگراد و بارندگی بر حسب میلی‌متر).

در دماهای کمتر و بیشتر از دماهای ذکر شده هیچ بذری بکرزایی تولید نشد که شبیه نتایج به‌دست‌آمده در این تحقیق می‌باشد، اما در تیمار ۱۵ درجه سانتی‌گراد تعداد بذور رویشی به‌دست آمده نسبتاً زیاد بود که دخالت داشتن عوامل دیگر در بروز این پدیده را نشان می‌دهد و موید نقش عامل حرارتی در القاء پارتنوریز و تشکیل جنین در سلول تخم پنبه از طریق بکرزایی است که شبیه این پدیده در بررسی حاضر نیز مشاهده شد. البته بایستی عنوان نمود که به‌نظر بعضی از محققان در انواع مختلف اپومیکیسی تشکیل جنین‌های رویشی در اغلب موارد در اثر گرده‌افشانی تحریک می‌شود و بعد از آن تحت‌تأثیر سایر عوامل تحریک‌کننده مانند درجه حرارت زیاد و یا کم قرار دارند (نیومن و همکاران، ۱۹۹۵). اما علی‌رغم این اظهارات و بررسی‌هایی که تاکنون بر روی ارتباط حالت چندجنینی با اندازه بذری، بدشکلی میوزی، دوبریل شدن کروموزم‌ها در سینرژیدها، اشتقاق پیش‌جنین‌های جنسی، جوانه‌زدن بند ناف و چندجنینی خورشکی انجام شده، هیچ‌کدام نتوانسته‌اند دلیل و علت قطعی بروز این پدیده در طبیعت را مشخص نمایند (لاکشمیانان و آمبگوکار، ۱۹۸۴؛ ناگمانی و همکاران، ۱۹۹۵). در هر حال دلیل بروز این پدیده هرچه که هست، بنا به عقیده نیومن (۱۹۹۵) بروز این پدیده در طبیعت در گیاهانی که آمادگی آن را

البته ظاهراً تأثیر عوامل محیطی بزرگ‌ترین تأثیر رویشی تمام گیاهان یکسان نبوده و در گونه‌های مختلف گیاهی متفاوت است. به‌عنوان نمونه بررسی‌ها نشان داده که در گیاه جتینا<sup>۱</sup> درجه حرارت خیلی‌پائین از طریق ایجاد اختلال در لقاح گامت‌ها باعث بروز چندجنینی می‌شود، در صورتی‌که در گیاه انجیر هندی<sup>۲</sup> این درجه حرارت خیلی زیاد است که باعث تمایز و ظهور جنین غیرجنسی خورشکی که همراه با فقدان لقاح است، می‌گردد (کریشناراج و وسیل، ۱۹۹۵). ژو و کان (۱۹۹۸) نیز امکان القای مصنوعی بکرزایی و تولید جنین رویشی توسط روش‌های مختلف شیمیایی، فیزیکی و بیولوژیکی در گیاه پنبه<sup>۳</sup> را آزمون نمودند. بررسی این محققان نشان داد که بهترین زمان جهت القاء پارتنوریز در تخمک این گیاه ۱ تا ۴ روز قبل از باز شدن گل‌ها می‌باشد. نتایج به‌دست آمده از تیمارهای حرارتی اعمال‌شده توسط آنها نشان داد که در محدوده دمایی بین ۳۶ تا ۴۲ درجه سانتی‌گراد بیشترین تعداد جنین رویشی هاپلوئید تشکیل شد، در حالی‌که اثر دماهای زیاد روی نارنج در پنبه سبب بروز اثرات عکس می‌شود. در تحقیق ژو و کان (۱۹۹۸)

- 1- *Genetiana*
- 2- *Opuntia australian*
- 3- *Gossypium hirsutum*



دارند صرف نظر از شکل پدید آمدن آن همانند جنین‌زایی رویشی در لوله آزمایش به مقدار زیادی تحت تأثیر تنظیم‌کننده‌های رشد درونی و به‌ویژه افزایش اکسین داخلی می‌باشد که خود تحت تأثیر شرایط محیط قرار دارد.

مطالعه جنین‌زایی رویشی طبیعی از جنبه بررسی‌های تئوریک قضیه و همچنین کاربرد عملی دارای سودمندی‌های زیادی می‌باشد. به‌طور مثال گیاهان را می‌توان از طریق بذر کلون کرد و یا اگر این طریق دست‌کاری ژنتیکی امکان‌پذیر باشد، می‌تواند به‌عنوان روشی بسیار مؤثر جهت حفظ خصوصیات برتر به‌وجود آمده، در اصلاح نباتات به‌کار رود (ژو و کان، ۱۹۹۸). اما متأسفانه تاکنون امکان این‌که پتانسیلی که در این پدیده طبیعی نهفته است را بتوان به‌طور کامل در اختیار گرفت پیش نیامده است. از طرف دیگر این پدیده در تعداد کمی از گونه‌های گیاهان وجود دارد و اغلب کارهایی که در این زمینه انجام شده است نیز بیشتر بر روی گیاهان خانواده مرکبات متمرکز شده‌اند. از این رو میزان اطلاعات موجود درباره جنین‌زایی غیرجنسی در طبیعت و به‌ویژه در مورد گیاهان دیگر بسیار کم و پراکنده است.

با توجه به نتایج این تحقیق پیشنهاد می‌شود که جمع‌آوری بذور از مناطق دیگر با شرایط اقلیمی متفاوت صورت پذیرد و مجدداً همبستگی بین متغیرهای اقلیمی و

صفات مورد مطالعه بررسی شوند. همچنین مطالعات تغییرات هورمونی نیز برای توجیه هر چه بهتر نتایج توصیه می‌شود.

واقعیتی که نتایج این تحقیق نشان داد و می‌توان نتایج آن را از جنین‌زایی درون شیشه به جنین‌زایی رویشی طبیعی نیز نسبت داد، تأثیر عوامل موثر بر آسیمیلایون مواد غذایی و به‌ویژه کربوهیدرات‌ها بر بروز این پدیده است. اینکه سلول‌های جنین‌زای درون شیشه نشاسته زیادی دارند (مشایخی، ۲۰۰۷)، تاکنون در مورد بذور مرکبات گزارش نشده و نتایج این بررسی نشان داد که از نشاسته درون بذور مرکبات می‌توان به‌عنوان یک شاخص جهت مشخص نمودن پتانسیل جنین‌زایی رویشی و حالت چندجینی در آنها استفاده کرد. تجمع این قبیل مواد از عوامل محیطی نیز تأثیر می‌پذیرد. تأثیر مثبت و بارز بارندگی بر افزایش تجمع نشاسته درون بذر و همچنین افزایش بروز چندجینی در مرکبات که از جمله یافته‌های این تحقیق بود، بر تأثیرپذیری تجمع مواد از عوامل محیطی صحنه گذاشت. به تأثیر دما بر این صفات در سایر مطالعات نیز اشاره شده ولی آنچه نتیجه این تحقیق را از سایر منابع موجود در این زمینه متمایز می‌کند، تأثیر واضح بارندگی بر بروز و تشدید حالت چندجینی در نارنج است.

## منابع

1. Asker, S., and Jerling, L. 1992. Apomixis in plants. CRC Press, Boca Raton, Fla., USA
2. Becwar, M.R., and Pullman, G.S. 1995. Somatic embryogenesis in loblolly pine (*Pinus taeda* L.). In: Jain, M.S., Gupta P.K. and R.J. Newton (ed.), Somatic Embryogenesis in Woody Plants, Gymnosperms. Kluwer Academic Publishers, Netherlands. Vol. 3, 287-301.
3. Bicknell, R.A., Borst, N.K., Koltunow, A.M. 2000 Monogenic inheritance of apomixis in two Hieracium species with distinct developmental mechanisms. Heredity 84:228-237
4. Brown, D.C.W., Finstad, K.I., and Keller, W.A. 1995. Somatic embryogenesis in herbaceous dicots. In T. A. Thorpe (ed.): in vitro embryogenesis in plants. Kluwer Academic Publishers, pp: 345-415.
5. Chandler, S.F., and Young, R. 1995. Somatic embryogenesis in *Pinus radiata* Don, In Jan, M. S., Gupta, P.K., and R.J. Newton (eds), Somatic Embryogenesis in Woody Plants, Kluwer Academic Publishers, Netherlands, Vol. 3: 243-255.
6. Ferri, A.M.R., Palmer, C.E., and Keller, W.A. 1995. Haploid embryogenesis. In T. A. Thorpe (ed.): in vitro embryogenesis in plants. Kluwer Academic Publishers, pp:309-344.
7. Heinze, B., and Schmidt, J. 1995. Mutation work with somatic embryogenesis in woody plants. In: Jain, M.S., Gupta P.K. and R.J. Newton (ed.), Somatic Embryogenesis in Woody Plants, History, Molecular and Biochemical Aspects, and Applications. Kluwer Academic Publishers, Netherlands. Vol. 1: 379-398.

8. Koltunow, A.M. 1993. Apomixis: embryo sacs and embryo formed without meiosis or fertilization in ovules. *Plant Cell* 5:1425–1437
9. Kong, L., Attree, S.M., Evans, D.E., Binarova, P., Yeung, E.C., and Fowke, L.C. 1999. Somatic embryogenesis in white spruce: Studies of embryo development and cell biology. In Jan, M.S., Gupta, P.K. and R.J. Newton (eds.), *Somatic Embryogenesis in woody Plants*, Kluwer Academic Publishers. Netherlands, Vol. 4: 1-28.
10. Krishnaraj, S., and Vasil, I.K. 1995. Somatic embryogenesis in herbaceous monocots. In T.A. Thorpe (ed.): *In vitro embryogenesis in plants*. Kluwer Academic Publishers, Netherlands, pp. 417-470.
11. Lakshmanan, K.K., and Ambegaokar, K.B. 1984. Polyembryony. In: Johri, B.M. (ed): *Embryology of Angiosperms*. Springer, Berlin. Chapter 9: 445-474.
12. Litz, R.E., Chvez, V.M., and Moon, P.A. 1995. Somatic embryogenesis in the Cycadales. In Jan, M.S., Gupta, P.K. and R.J. Newton (eds.), *Somatic Embryogenesis in woody Plants*, Kluwer Academic Publishers. Netherlands, Vol. 3, 1-15.
13. Martin, E.A. (ed.). 1976. *A dictionary of life sciences*. The Macmillan Press Ltd. 374 P.
14. Mashayekhi, K. 2007. *Vegetative embryogenesis*. Makhtoomgholi Faraghi (Sarli) Press. 483 p.
15. Mashayekhi, K., Sahsavand, M., Sharifani, M., and Kalati, H.R. 2005. The investigation of induction possibility of somatic embryogenesis without 2,4-D in cucumber. In *Proceeding of the 4<sup>th</sup> Iranian Horticultural Sciences Congress*, Ferdowsi University of Mashhad- Iran. P. 445.
16. Monnier, M. 1995. Culture of zygotic embryos. In T. A. Thorpe (ed.). In *In T. A. Thorpe (ed.) In vitro embryogenesis in plants*. Kluwer Academic Publishers, Netherlands 117-153.
17. Nagmani, R., Diner, A.M., Garton, S., and Zipf, A.E. 1995. Anatomical comparison of somatic and zygotic embryogeny in conifers. In Jan, M.S., Gupta, P.K. and R.J. Newton (eds.), *Somatic Embryogenesis in woody Plants*, Kluwer Academic Publishers. Netherlands, Vol. 1: 23-48.
18. Neumann, K.H. 1995. *Pflanzliche Zell und Gewebekulturen*. Verlag Eugen Ulmer, 304 p.
19. Nogler, G.A. 1984. Gametophytic apomixes. In: B.M. Jori (ed.) *Embryology of Angiosperms*. Springer, Berlin, Heidelberg, New York, 575-518.
20. Nogler, G.A. 1984. Gametophytic apomixis. In: Johri BM (ed) *Embryology of angiosperms*. Springer, Berlin Heidelberg New York
21. Pessino, S.C., Ortiz, J.P.A., Hayward, M.D., Quarin, C.L. 1999. The molecular genetics of gametophytic apomixis. *Hereditas* 130: 1–11.
22. Raghavan, V., and Sharma, K.K. 1995. Zygotic embryogenesis in gymnosperms and angiosperms. In *In T. A. Thorpe (ed.) In vitro embryogenesis in plants*. Kluwer Academic Publishers, Netherlands 73-115.
23. Richards, A.J. 1996. Why is gametophytic apomixis almost restricted to polyploids? The gametophyte- expressed lethal model. *Apomixis Newslett* 9:1–3
24. Roche, D., Hanna, W.W., and Ozias-Akins, P. 2001. Is supernumerary chromatin involved in gametophytic apomixes of polyploid plants?. *Sex Plant Reprod*, 13: 343–349.
25. Ruaud, J.N., and Paques, M. 1995. Somatic embryogenesis and rejuvenation of trees. In Jan, M.S., Gupta, P.K. and R.J. Newton (eds.), *Somatic Embryogenesis in woody Plants*, Kluwer Academic Publishers. Netherlands, Vol. 1, 99-118.
26. Savidan, Y. 2000. Apomixis: genetics and breeding. *Plant Breed Rev*, 18:13–85
27. Schopfer, P. 1970. *Experimente yur Pflanzen Physiologie, Eine Einführung*. Verlag Rombach Freiburg, 418p.
28. Sharma, K.K., and Thorpe, T.A. 1995. Asexual embryogenesis in vascular plants in nature. In T.A. Thorpe (ed.): *In vitro embryogenesis in plants*. Kluwer Academic Publishers, Netherlands, 17-72.
29. Strasburger, E., Noll, F., Schenck, H., and Schimper, A.F.W. 1978. *Lehrbuch der Botanick*. Gustav Fischer Verlag. Stuttgart. New York. 1078p.
30. Urbanek, A., Zechmann, B., and Muller, M. 2004. Plant regeneration via somatic embryogenesis in Styrian pumpkin: cytological and biochemical investigations. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, Vol. 79: 329-340.
31. Yeung, E.C. 1995. Structural and development patterns in somatic embryogenesis In *In T. A. Thorpe (ed.) In vitro embryogenesis in plants*. Kluwer Academic Publishers, Netherlands 117-153
32. Zhou, S.Q., and Qian, D.Q. 1998. Parthenogenesis and haploid breeding in *Gossypium hirsutum*. In Y.P.S. Bajaj 1998 (ed.) *Biotechnology in Agriculture and Forestry Vol. 42: Cotton*. Springer Verlag. Berlin Heidelberg. pp.194-214.

## **Study of polyembryogenesis in orange (*Citrus aurantium*) seeds collected from different regions of Mazandaran and Golestan provinces**

**K. Mashayekhi<sup>1</sup>, \*B. Kamkar<sup>2</sup>, F. Asemi<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Assistant Prof., Dept. of Horticultural Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran, <sup>2</sup>Assistant Prof., Dept. of Agronomy, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran, <sup>3</sup>Former B.Sc., Dept. of Horticultural Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran

---

---

### **Abstract**

In order to evaluate the effects of site (climatic factors) on polyembryogenesis and vegetative embryogenesis phenomenon and determination of its relationship with seed starch content in orange (*Citrus aurantium*), orange seeds were collected from four separate sites located in North of Iran including Tonkabon, Babol, Sari and Gorgan. Germination percentage and rate, polyembryony percentage and starch contents of collected seeds were measured. Results indicated that collection site had significant effects on all studied characteristics except germination rate. The highest measured values for all mentioned traits (except germination rate) were belonged to Tonkabon's seeds, as statistical differences between achieved means for germination rate and percentage of Tonkabon's seeds were significantly different than other collected seeds. Germination percentage of Sari, Gorgan and Babol seeds decreased 11, 14.8, 15%, respectively in comparison with Tonkabon's seeds, while these values for polyembryony percentage were 14.6, 22.6 and 26.9%, respectively. Correlation coefficients between climatic factors and studied traits indicated that higher precipitation in Tonkabon, specially during summer has been one of important affecting factors on studied traits in this site. Also, correlation coefficient between germination rate and polyembryony with seed starch percentage were 0.7 and 0.65, respectively. A high correlation coefficient also was achieved between germination rate and polyembryony percentage ( $R^2=0.83^*$ ), while correlation coefficients between germination rate and seed starch percentage & germination rate were not significant. Results indicated that highest positive effect on germination percentage belonged to maximum temperature, while minimum temperature didn't affect it. Precipitation quantity had negative effect on germination percentage. Also, mean temperature had negative effect on starch accumulation in seeds, while precipitation effect was positive and significant. Polyembryony also had a negative and significant correlation with maximum temperature, but a positive correlation with precipitation.

**Keywords:** Orange; Polyembryony; Vegetative embryogenesis; Seed germination; Environmental factors