

تأثير نوع ومكونات الوسط الغذائي والجزء النباتي في نشوء أصلي الحمضيات فولكاماريانا واليوسفي كليوباترا خارج الجسم الحي

إيمان وهاب عبادي
البستنة والغابات/وزارة الزراعة

محمد شهاب حمد
كلية الزراعة/جامعة بغداد

الخلاصة :

اجري البحث في مختبر زراعة الأنسجة النباتية التابع للشركة العامة للبستنة والغابات / وزارة الزراعة من أيلول 2013 لغاية آب 2014 لتحديد أفضل جزء نباتي (العقد المفردة وإطراف الأفرع) والوسط الغذائي (MT و WPM) في استجابة أصلي الحمضيات Volkameriana و Cleopatra mandarin للنشوء خارج الجسم الحي. حصلت أفضل استجابة في وسط MT المجهز بتركيز 1.0 ملغم.لتر⁻¹ من BA للأصل فولكاماريانا فأعطى (50%) مقارنة بالوسط WPM الذي أعطى (10%) لنفس الأصل وتفوق على الأصل اليوسفي كليوباترا الذي أعطى استجابة بلغت (30% و 0%) لنفس التركيز وللوسطين على التوالي. وقد تفوقت العقد المفردة معنويًا على أطراف الأفرع في كل المعاملات ولأصلي الحمضيات. أعطى الوسطين الغذائيين المجهزان بتركيز (1.0 و 1.5) ملغم.لتر⁻¹ BA 0.3 ملغم.لتر⁻¹ NAA و 0.5 ملغم.لتر⁻¹ Kin. أعلى استجابة مئوية بلغت (50%) لكلا الأصلين. بينما أعطى التركيزان (1.0 و 1.5) ملغم.لتر⁻¹ من BA أعلى نسبة مئوية لاستجابة العقد المفردة بلغت 60% لكلا التركيزين في الوسطين الغذائيين MT و WPM المضاف إليهما (0.5 و 40) ملغم.لتر⁻¹ من GA₃ وكبريتات الأدينين على التوالي.

Influence of Kind and Medium Components and Explant on in vitro Initiation of Volkameriana and Cleopatra Mandarin Rootstock

Mohammed Sh. Hamad

Iman Wahab Abady

Abstract:

This study was conducted in tissue culture laboratory of the general company for Horticulture and Forestry/ Ministry of Agriculture/ Iraq from September 2013 to August 2014 to determine the best explants (single nodal segment and tip shoots) and medium (MT,WPM) for in vitro culture initiation the citrus rootstocks (Volkameriana , Cleopatra mandarin). Best response was in MT medium that supplemented with 1.0 mg.L⁻¹ BA for Volkameriana rootstock which gave 50% compared with 10% for WPM medium for the same rootstock and superiority on Cleopatra mandarin which gave response 30% and 0.0% to same concentrate and two medium respectively. The results showed high significant difference for the single node at tip shoots in all BA treatments in volkameriana and Cleopatra with increasing concentrate of BA 1.0 and 1.5 mg.L⁻¹ that added to MT medium and WPM supplemented with 0.3 mg/L⁻¹ NAA and 0.5mg/L⁻¹ kin. that gave the highest response percentage for the single node was 50% for both

rootstocks. While the two concentrate 1.0 and 1.5 mg.L⁻¹ BA which gave a high percentage to the single node response was 60% for two mediums WPM and MT which Was to them 0.5, 40 mg.L⁻¹ from GA₃ and ADS respectively.

المقدمة :

تنتمي الحمضيات إلى العائلة السذبية Rutacea التي تضم عدداً من الأجناس من أهمها Citrus الذي يضم اربع مجاميع وكذلك الجنس Poncirus والجنس Fortunella (المنيسي، 1975 و Ladaniya ، 2008). تمتاز الحمضيات بالرائحة العطرية بسبب وجود الغدد الزيتية في معظم أنسجة النبات وثمارها عنبه Berry ومن النوع المسمى Hesperidum (إبراهيم و خليف ، 1990). تكثر أشجار الحمضيات بطريقتين الإكثار باستخدام البذور التي تعتمد غالباً في إنتاج الأصول للتطعيم عليها بالأصناف المرغوبة والإكثار اللاجنسي وهي طريقة الإكثار الخضري التقليدي (Hartman وآخرون 1997). تعتبر عملية الإكثار الخضري بالتطعيم هي إحدى وسائل انتقال المسببات المرضية وخاصة الفايروسية ولذلك يتطلب وجود أصول خالية من المسببات المرضية أو يكون مقاوماً للأمراض الفايروسية وخطر مرض هو التدهور السريع Tresteza والتي تسبب موت أعداد كبيرة منها (Neumann وآخرون، 2009) وتعتبر حشرة المن هي الوسيلة لنقل هذا المرض بالإضافة إلى استعمال الأدوات أثناء التطعيم والتقليم (أغا وداود، 1991) وتعد الاوكسينات والساييتوكاينينات من المكونات المهمة للأوساط الغذائية التي لها تأثير مباشر في نمو الجزء المزروع ومن خلال مراجعة الدراسات السابقة أكد الكثير من الباحثين أهمية إضافة الساييتوكاينين والاكسين والجبرلين الى الوسط الغذائي للحصول على أفضل نشوء وتضاعف وتجذير للأجزاء النباتية خارج الجسم الحي لأصول الحمضيات (Sharma وآخرون ، 2009) و(Kiran Singh، 2012). ويعد أصل الفولكاماريانا واليوسفي كليوباترا من أصول الحمضيات التي تستعمل على نطاق واسع نظراً للمواصفات العالية وتأثيراتها الايجابية على الطعوم (Schinor وآخرون ، 2011) و(Kacar وآخرون ، 2011) وتعد طريقة

الإكثار خارج الجسم الحي طريقة بديلة وفعالة للإكثار لما لها من مزايا عديدة أهمها إمكانية الحصول على أعداد كبيرة وعدم التقيد بوقت أجراءها. لذلك اتجه الباحثون لإنتاج شتلات خالية من الاصابة الفايروسية عن طريق استخدام المرستيم ألقمي خارج الجسم الحي للتطعيم عليها لإنتاج أصول سليمة وبأعداد كبيرة (الرفاعي والشوبكي ، 2002). وبناء على ذلك فقد هدفت هذه الدراسة إلى تحديد 1- أفضل جزء نباتي وأفضل وسط غذائي ملائم لنشوء المزروعات 2- تحديد أفضل تركيز من الساييتوكاينين BA في النسبة المئوية للاستجابة لأصلي الحمضيات قيد الدراسة.

المواد وطرائق العمل :

أ-تحضير الأجزاء النباتية :

اختيرت العقل الطرفية بطول 5 سم من شتلات الفولكاماريانا واليوسفي كليوباترا بعمر 6 أشهر والمزروعة في أكياس بلاستيكية سعة 2 كغم في الظلة الخشبية. نقلت الأجزاء النباتية إلى المختبر وتركت تحت ماء الحنفية لمدة 5 دقائق وغسلت بالماء والصابون السائل للتخلص من الأتربة والمواد العالقة وقسمت إلى الأجزاء التالية:

- 1-إطراف الأفرع tip shoots بطول 1.5 سم.
- 2-عقل ساقية ذات عقدة واحدة single node cuttings بطول 1.5 سم وبالتحديد العقدة الرابعة من أطراف الأفرع (Sharma وآخرون ، 2009). ثم نقلت الى كابينة انسياب الهواء الطبقي لغرض التعقيم السطحي.

ب- تعقيم الأجزاء النباتية :

تم تعقيم الأجزاء النباتية بغمرها في محلول كلوريد الزئبق بتركيز 0.1% لمدة 5 دقائق داخل منضدة التعقيم (George وآخرون ، 2008). ثم غسلت بالماء المقطر المعقم ثلاث مرات لأزاله بقايا المادة

المعقمة ونقلت إلى أطباق بتري معقمة لاستئصال القمم النامية والعقد. وقد استخدم 10 تكرارات لكل أصل ومعاملة وبمعدل أنبوبة اختبار لكل تكرار تحتوي على جزء نباتي واحد.

ج- إعداد الوسط الغذائي :

استعمل الوسطين الغذائيين WPM (Lloyd) وآخرون ، (1980) و MT (Murashig و Tucker 1969) كلا على انفراد واللذين تم تحضيرهما مختبريا على شكل محاليل أساس Stock solution للعناصر الكبرى والصغرى في قناني منفردة ثم اضيف إليها مجموعة الفيتامينات والمركبات العضوية الخاصة بكل وسط وتضاف منظّمات النمو النباتية بالتراكيز المطلوبة وفقا لكل تجربة وقد عقمت في المؤصدة على درجة حرارة 121 م° وضغط 1.04 كغم.سم⁻² ولمدة 20 دقيقة.

د- زراعة الأجزاء النباتية :

بعد اكمال عملية التعقيم السطحي في منضدة انسياب الهواء الطبقي نقلت الأجزاء النباتية إلى أطباق معقمة وقطعت نهايات العقد والإطراف بحيث أصبح طولها 1 سم وزرعت على الأوساط الغذائية المعقمة وحضنت الزروع في غرف النمو بدرجة حرارة 25 ± 2 م° وشدة إضاءة 2000 لوكس و16 ساعة ضوء و8 ساعة ظلام. وقد تم دراسة تأثير BA بالتراكيز (0.0, 0.5, 1.0, 1.5) ملغم.لتر⁻¹ مع تركيز 0.3 ملغم.لتر⁻¹ NAA + 0.5 ملغم.لتر⁻¹ Kin. المضافة للوسطين الغذائيين وكذلك دراسة تأثير BA بالتراكيز (0.0, 0.5, 1.0, 1.5) ملغم.لتر⁻¹ مع 0.5 ملغم.لتر⁻¹ GA₃ + 40 ملغم.لتر⁻¹ كبريتات الأدينين المضافة للوسطين الغذائيين في النسبة المئوية للنشوء.

التحليل الإحصائي :

نفذت التجارب باستخدام التصميم العشوائي الكامل Completely randomized design (CRD) وبتجارب عاملية وب عشرة تكرارات ثم إجراء اختبار T وقورنت المتوسطات على وفق اختبار اقل فرق معنوي L.S.D عند مستوى احتمال 5% (الساهوكي ووهيب 1990) .

النتائج والمناقشة :

تنشئة الزروع :

1-تأثير تراكيز BA في الأوساط المجهزة بتركيز 0.3 ملغم.لتر⁻¹ NAA و 0.5 ملغم.لتر⁻¹ Kin. في نشوء الزروع لأصلي الحمضيات:

تشير نتائج الجدول (1-أ) إلى حصول فروق معنوية بين أصلي الحمضيات قيد الدراسة إذ تفوق الأصل فولكاماريانا معنوياً على الأصل اليوسفي كليوباترا في النسبة المئوية للاستجابة فبلغ 26% مقارنة بالأصل اليوسفي كليوباترا الذي أعطى 15% وكان للتداخل بين الأصلين و تراكيز BA تأثيراً معنوياً في النسبة المئوية للاستجابة إذ أعطى الأصل فولكاماريانا نسبة استجابة بلغت 30% عند التركيز 1.0 ملغم.لتر⁻¹ من BA- التي تفوقت على التركيز (0.5 و 1.5) ملغم.لتر⁻¹ BA للأصل اليوسفي كليوباترا وقد يعود السبب إلى الاختلافات الوراثية بين الأصلين وإلى المحتوى الهرموني والذي ينعكس على الاحتياجات من منظّمات النمو.

جدول (1-أ) تأثير تداخل نوع الأصل وتراكيز BA في نسبة الاستجابة .

المعدل	تراكيز BA ملغم . لتر ⁻¹				الأصل
	1.5	1.0	0.5	0.0	
26	25	30	28	20	فولكاماريانا
15	10	15	10.	25	اليوسفي كليوباترا
8	16				ا.ف.م 0.05

¹ من BA في نسبة الاستجابة وأعطت 40% واختلف معنويًا عن جميع التداخلات الأخرى باستثناء الوسط الغذائي MT المجهز بالتركيزين (0.5 ، 1.5) ملغم.لتر⁻¹ اللذان أعطيا نسيه مئوية للاستجابة بلغت (33% ، 28%) على التوالي.

يشير الجدول (1-ب) إلى تفوق الوسط الغذائي MT معنويًا على الوسط الغذائي WPM في النسبة المئوية للاستجابة بلغ 30% و 5% على التوالي. كما يشير الجدول نفسه إلى وجود فروق معنوية عند تداخل نوع الوسط الغذائي مع تراكيز BA ، إذ تفوق الوسط الغذائي MT المجهز بتركيز 1.0 ملغم.لتر⁻¹

جدول (1-ب) تأثير تداخل نوع الوسط الغذائي وتراكيز BA في النسبة المئوية للاستجابة .

المعدل	تراكيز BA ملغم . لتر ⁻¹				نوع الوسط الغذائي
	1.5	1.0	0.5	0.0	
30	28	40	33	20	MT
5	8	5	5	3	WPM
8	16				ا.ف.م 0.05
المعدل	18	23	19	12	المعدل
	11.				أ.ف.م

إي استجابة تذكر . ويوضح الجدول نفسه إلى تفوق الأصل فولكاماريانا معنويًا في نسبة الاستجابة إذ أعطى 26% وحقق الأصل اليوسفي كليوباترا أقل نسبة مئوية للاستجابة بلغت 10% . كما حقق الوسط الغذائي MT أعلى نسبة مئوية للاستجابة بلغت 30% وتفوق معنويًا على الوسط الغذائي WPM الذي أعطى نسبة مئوية للاستجابة بلغت 5%.

تشير نتائج جدول (1-ج) إلى وجود فروق معنوية في معدل النسبة المئوية للنشوء عند تداخل نوع الأصل مع نوع الوسط الغذائي. إذ تفوق الأصل فولكاماريانا المزروع في الوسط الغذائي MT في النسبة المئوية للاستجابة وأعطى أعلى نسبة بلغت 41% وتفوق على جميع المعاملات الأخرى وبلغ أقل نسبة استجابة الأصل اليوسفي كليوباترا المزروع في الوسط الغذائي WPM والذي لم يحقق

جدول (1-ج) تأثير تداخل نوع الأصل ونوع الوسط الغذائي في النسبة المئوية للاستجابة .

نوع الأصل	نوع الوسط الغذائي		المعدل
	WPM	MT	
فولكاماريانا	41	10	26
اليوسفي كليوباترا	19	0	10
ا.ف.م 0.05	11		8
المعدل	30	5	
ا.ف.م 0.05	8		

WPM للأصل اليوسفي كليوباترا باستثناء التركيز 1.0 ملغم.لتر⁻¹ BA في الوسط MT في حين لم يختلف معنوياً عن جميع معاملات BA- المجهز للوسط MT المزروع فيه الأصل فولكاماريانا وبلغ أقل نسبة مئوية للاستجابة في الوسط الغذائي WPM للأصل اليوسفي كليوباترا الذي لم يعط أي استجابة تذكر .

أوضحت نتائج الجدول (1- د) وجود فروق معنوية عند تداخل نوع الأصل مع نوع الوسط الغذائي وتراكيز BA- ، إذ تفوق الأصل فولكاماريانا المزروع في الوسط الغذائي MT المجهز بتركيز 1.0 ملغم.لتر⁻¹ من BA- وأعطى نسبة مئوية للنشوء وبلغت 50% وختلف معنوياً عن جميع معاملات BA- في الوسطين MT و

جدول (1-د) تأثير التداخل بين نوع الأصل ونوع الوسط الغذائي وتراكيز BA في نسبة المئوية للاستجابة.

تراكيز BA ملغم . لتر ¹⁻				نوع الوسط الغذائي	نوع الأصل
1.5	1.0	0.5	0.0		
35	50	45	35	MT	فولكاماريانا
15	10	10	5	WPM	
20	30	20	5	MT	اليوسفي كليوباترا
0	0	0	0	WPM	
22				ا.ف.م 0.05	

اليوسفي كليوباترا. ويبين الجدول ان تجهيز الوسط الغذائي بتراكيز مختلفة BA- مع إضافة الجبرلين وكبريتات الأدينين للأصلين فولكاماريانا واليوسفي كليوباترا قد حقق فروقات معنوية إذ تفوق الأصل فولكاماريانا معنوياً على الأصل اليوسفي كليوباترا فبلغ 24% و11% على التوالي. بينما كان التداخل بين نوع الأصل وتراكيز BA تأثيراً معنوياً في نسبة الاستجابة باستثناء معاملة المقارنة فبلغ 35% عند التركيز 1.0 ملغم.لتر⁻¹ من BA للأصل فولكاماريانا مقارنة بالأصل اليوسفي كليوباترا الذي أعطى نسبة استجابة بلغت 13% عند نفس التركيز من BA.

2-تأثير تراكيز البنزويل أدنين المضافة الى الوسطين الغذائيين والمزودين بتركيز 0.5 ملغم.لتر⁻¹ من الجبرلين و 40 ملغم . لتر⁻¹ كبريتات الأدينين في نشوء الزروعات لأصلي الحمضيات.

يشير الجدول (2-أ) إلى وجود فروق معنوية عند تداخل أصلي الحمضيات قيد الدراسة مع تراكيز BA- ، إذ تفوق التركيز 1.0 ملغم.لتر⁻¹ وأعطى أعلى نسبة مئوية للاستجابة في الأصل فولكاماريانا بلغ 35% والذي لم يختلف معنوياً عن جميع تراكيز BA- للأصلا نفسه باستثناء معاملة المقارنة بينما اختلف معنوياً عن جميع تراكيز BA للأصل

جدول (2- ا) تأثير تداخل نوع الأصل وتراكيز BA في النسبة المئوية للاستجابة

نوع الاصل	تراكيز BA ملغم . لتر ⁻¹				المعدل
	0.0	0.5	1.0	1.5	
فولكاماريانا	13	28	35	23	24
اليوسفي كليوباترا	8	13	13	10	11
ا.ف.م 0.05	16				8

التوالي. وتشير نتائج الجدول نفسه إن التداخل بين الوسط الغذائي MT والتركيز 1.0 ملغم. لتر⁻¹ BA تعطي أعلى نسبة استجابة بلغت 40% والتي اختلفت معنوياً عن جميع تداخلات الوسط WPM إضافة الى معاملة المقارنة للوسط MT.

يبين الجدول (2- ب) إن لنوع الوسط الغذائي مع إضافة الجبرلين وكبريتات الأدينين وعند وجود تراكيز مختلفة من BA تأثير معنوي في النسبة المئوية للاستجابة إذ تفوق الوسط الغذائي MT على الوسط الغذائي WPM فبلغ 32% و 3% على

جدول (2- ب) تأثير تداخل نوع الوسط الغذائي وتراكيز BA في النسبة المئوية للاستجابة

نوع الوسط الغذائي	تراكيز BA ملغم . لتر ⁻¹				المعدل
	0.0	0.5	1.0	1.5	
MT	20	35	40	33	32
WPM	0	5	8	0	3
ا.ف.م 0.05	16				8

استجابة بلغت 3% ، وتشير نتائج الجدول نفسه إلى التفوق المعنوي للأصل فولكاماريانا إذ أعطى 25% على الأصل اليوسفي كليوباترا الذي أعطى 11% في النسبة المئوية للاستجابة.

يبين الجدول (2- ج) إن التداخل بين الوسط الغذائي MT والأصل فولكاماريانا قد أعطى أعلى نسبة مئوية للاستجابة بلغت 43% التي تفوقت معنوياً على جميع التداخلات وتفوق الوسط الغذائي MT معنوياً على الوسط الغذائي WPM إذ أعطى نسبة

جدول (2- ج) تأثير التداخل بين نوع الأصل ونوع الوسط الغذائي في النسبة المئوية للنشوء.

نوع الأصل	نوع الوسط الغذائي		المعدل
	WPM	MT	
فولكاماريانا	6	43	25
اليوسفي كليوباترا	0	21	11
ا.ف.م 0.05	11		8
المعدل	3	32	
ا.ف.م 0.05	8		

استجابة بلغت 55% قد تفوق معنوياً على جميع التداخلات باستثناء تداخل الأصل نفسه في وسط MT المزود بتركيز (0.5 ، 1.5) ملغم لتر⁻¹ من BA.

تشير نتائج الجدول (2- د) إلى تفوق الأصل فولكاماريانا المزروع في الوسط MT والمزود بتركيز 1.0 ملغم لتر⁻¹ BA الذي أعطى نسبة

جدول (2- د) تأثير التداخل بين نوع الأصل ونوع الوسط الغذائي وتركيز BA في النسبة المئوية للاستجابة.

تراكيز BA ملغم . لتر ¹⁻				نوع الوسط الغذائي	نوع الاصل
1.5	1.0	0.5	0.0		
45	55	45	25	MT	فولكاماريانا
0	15	10	0	WPM	
20	25	25	15	MT	اليوسفي كليوباترا
0	0	0	0	WPM	
22				ا.ف.م 0.05	

3- تأثير الجزء النباتي المستخدم

يشير جدول (3) إلى تفوق العقد المفردة على أطراف الفروع في كل معاملات BA لأصل الحمضيات فولكاماريانا واليوسفي كليوباترا. إن زيادة تراكيز BA في الوسطين الغذائيين MT وWPM أعطى أعلى استجابة لعقد الأصلين فولكاماريانا واليوسفي كليوباترا بلغت 50% للتركيزين (1.0 ، 1.5) ملغم لتر⁻¹ على التوالي وبين الجدول (4) إلى تفوق التركيزين (1.0، 1.5) ملغم لتر⁻¹ من BA اللذان أعطيا أعلى نسيه استجابة للعقد المفردة بلغت 60% لكليهما واختلف معنوياً عن بقية المعاملات الأخرى ولم يختلفا معنوياً فيما بينهما، وقد يعود السبب في ذلك إلى الحالة الفسيولوجية للنبات الأم (George وآخرون ، 2008). أو ربما يعود السبب إلى تجمع المواد الغذائية والهرمونية في أنسجة العقد بكمية أكبر مقارنة بإطراف الفروع

قد يعود سبب تفوق وسط MT على وسط WPM على وجود بعض الأملاح في وسط MT وعدم وجودها في وسط WPM مثل نترات البوتاسيوم حيث تعتبر النترات بصورتها المختزلة وغير المختزلة المصدر الرئيسي لعنصر النتروجين والذي يدخل في بناء البروتين وبالتالي فإنه يدخل في البناء الحيوي للسايتوكاينين . بالإضافة إلى وجود كلوريد الكوبلت وايدريد البوتاسيوم وكذلك يختلف في كمية السكرز وفي تركيز بعض المركبات العضوية. ويلعب السايتوكاينين دور مهم في تشجيع البراعم الجانبية لعقد أصلي الحمضيات حيث يعمل على تحفيز البراعم الجانبية من خلال القضاء على السيادة القمية وبذلك تشجع على بناء الأوعية الناقلة في البراعم الجانبية إذ تحفز وتزيد من سرعة انتقال المغذيات إليها وبالتالي تحفز من نمو البراعم . ويعزى سبب استخدامه بالنشوء إلى فعاليته العالية المتأينة من تركيبه الكيميائي وطول السلسلة الجانبية وعدد الأواصر المزدوجة حيث يمتلك ثلاث أواصر مزدوجة وبالتالي زيادة كفاءته في تحفيز انقسام الخلايا (محمد ويونس ، 1991) و (Taiz و Zeiger ، 2010).

جدول (3) النسبة المئوية لاستجابة الأجزاء النباتية لأصلي الحمضيات فولكاماريانا واليوسفي كليبواترا في الوسط الغذائي المجهز 0.3 ملغم.لتر⁻¹ NAA و 0.5 ملغم.لتر⁻¹ Kin. بعد 6 أسابيع من الزراعة.

نسبة الاستجابة %			تركيز BA ملغم. لتر ⁻¹
اختبار T	المعدل		
25 N.S	30	العقد المفردة	0.0
	10	اطراف الفروع	
28 N.S	40	العقد المفردة	0.5
	15	أطراف الفروع	
27 *	50	العقد المفردة	1.0
	10	أطراف الفروع	
27 *	50	العقد المفردة	1.5
	10	أطراف الفروع	

جدول (4) النسبة المئوية لاستجابة الأجزاء النباتية لأصلي الحمضيات فولكاماريانا واليوسفي كليبواترا في الوسط المجهز 0.5 ملغم.لتر⁻¹ جبرلين و 40 ملغم.لتر⁻¹ كبريتات الأدنين بعد 6 أسابيع من الزراعة.

نسبة الاستجابة %			تركيز BA ملغم. لتر ⁻¹
اختبار T	المعدل		
22	15	العقد المفردة	0.0
	10	أطراف الفروع	
28 N.S	40	العقد المفردة	0.5
	15	أطراف الفروع	
22 *	60	العقد المفردة	1.0
	10	أطراف الفروع	
27 *	60	العقد المفردة	1.5
	10	أطراف الفروع	

المصادر:

الساهوكي ، مدحت ووهيب ، كريمة احمد. 1990. تطبيقات في تصميم وتحليل التجارب. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي. العراق. محمد، عبد العظيم كاظم واليونس ، مؤيد احمد. 1991. أساسيات فسيولوجيا النبات. الجزء الثالث. كلية الزراعة. جامعة بغداد. العراق. المنيسي ، فيصل عبد العزيز. 1975. الموالح، الأسس العلمية لزراعتها. الطبعة الأولى. دار المطبوعات الجديدة- الإسكندرية.

FAO Stat. 2012. Food and Agriculture Organization of United Nations

إبراهيم ، عاطف محمد وخليف ، محمد نظيف حجاج . 1995. الفاكهة المستديمة الخضرة زراعتها، رعايتها، وإنتاجها، الطبعة الأولى- جامعة الإسكندرية. اغا، ذنون وداود ، داود عبد الله ، 1991. إنتاج الفاكهة المستديمة الخضرة-الجزء الثاني. جامعة الموصل. العراق. الرفاعي ، عبد الرحيم توفيق والشوبكي ، سمير عبد الرزاق. 2002. تقنيات القرن 21 لتحسين النبات باستخدام زراعة الأنسجة. دار الفكر العربي. دار الفكر العربي. القاهرة-مصر.

- Propagators Society Proceedings, 30, 421-427.
- Murashige, T. and D. P. H. Tucker. 1969. Growth factor requireme of citrus tissue culture. In; International Citrus Symposium, 1,P.1155-1169.
- Neumann. , K .H ; A. Kumar and J. Iman. 2009. Plant Cell and culture_ Atool in Biotechnology, Basics and Application. Veriag Berlin Heidelberg.
- Sharma, S. A. Prakash and A. Tele. 2009. *In vitro* propagation of *Citrus* rootstock. BOT. Hort. Agrobot .37(1):84-88.
- 17-Schinor, E.H.; F.A. De Azevedor ; F.A. De Assis and B.M. Mendes. 2011. *In vitro* organogenesis in some *Citrus* species. Rev, Bras Frutic.33:526-531.
- Taiz, L and E, Zeiger.2010. Plant Physiology. Sinauer Assciates Inc. Publishers . Sunderland
- <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>
- George , E.F.;M.A. Hall and G.J. De Klerk. 2008. Plant Propagation By tissue culture. Vol.1.The Background, 3thEdition, Pulpished bySpringer, Dordrecht, the Netherlands.
- Hartmann , H.T. ; D.E. K ester ; F. T. Davies ; R.L. Genever . 1997. Plant Propagation : Principles and Practices.
- Kacar,Y.A.;Mendi;O.Simsek;T.Yesiloglu and M.Boncuk.2011.In vitro plant regeneration of carrizo citrange and cleopatra mandarin by organogenesis.Acta Hort.892:305-310.
- Ladaniya, M.2008. Citrus fruit, technology and Evolusion, Academic Press.
- Kour, K. and B.Singh. 2012. *In vitro* multiplication of rough lemon *Citrus Jambhiri* (Lush). Journal of Agriculture and Veterinary Science. .1(4):5-9.
- Lloyd , C. and McCown, B. (1980) Commercially - feasible micro-Propagation of mountain Laurel, *Katutia Latifilin*, by use of Shoot-tip culture – Internatinal Plant