



## ریزازدیادی گیاه فلفل دلمه ای در شرایط کشت درون شیشه

اطرشی محمود<sup>۱\*</sup>، مرادی کوثر<sup>۱</sup>

پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی منطقه مرکزی کشور

\*otroschy@yahoo.com

### چکیده

اثرهورمون های مختلف رشد و ذغال فعال بر روی ریزازدیادی فلفل دلمه ای (Gold flame) با استفاده از کشت تک گره مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد اضافه نمودن زغال فعال به محیط کشت روشی مفید جهت رشد گیاهچه ها و ریشه دار کردن آنها بوده و از طرف دیگر مانع تشکیل کالوس در انتهای ریزنمونه ها می شود. همچنین نشان داده شد که بهترین تیمار برای ریزازدیادی فلفل دلمه ای، محیط کشت پایه MS حاوی ۲ میلی گرم در لیتر BAP و ۰/۵ میلی گرم در لیتر IBA می باشد. ریزنمونه های رشد کرده در محیط کشت MS حاوی ۰/۵ میلی گرم در لیتر IBA ریشه دار شدند. ۷۰ تا ۹۰ درصد از گیاهچه های منتقل شده به گلخانه زنده مانده و رشد نمودند.

واژگان کلیدی: تنظیم کننده های رشد گیاهی، ریزازدیادی، زغال فعال، کشت تک گره، فلفل دلمه ای (*Capsicum annuum* L.)

### مقدمه

فلفل دلمه ای با نام علمی (*Capsicum annuum* L.) گیاهی یکساله متعلق به خانواده Solonaceae می باشد که زیستگاه اصلی آن کشور مکزیک و آمریکای جنوبی است (Sanatombi and Sharma, 2007). این گیاه دارای خواص دارویی بسیار ارزشمند بوده و در درمان بسیاری از بیماریها از جمله بیماری های قلبی، فشار خون بالا، چاقی، دیابت و افزایش اشتها کاربرد دارد (Nuez et al., 1996). در رویکرد سنتی، این گیاه به وسیله بذر تکثیر می گردد. تکثیر و ازدیاد فلفل در ایران معمولاً از طریق کاشت بذرهای وارداتی از دیگرکشورها صورت می گیرد که این بذرهای، با قیمت بالا وارد شده و ضمن تحمیل هزینه بر اقتصاد، کشور را با مشکلات و محدودیت های وارداتی نیز مواجه می کند. لذا استفاده از تکنیک های مختلف کشت بافت در جهت تکثیر فلفل و تولید گیاهانی با کیفیت بالا و عاری از عوامل بیماریزا می تواند گامی مهم در جهت رفع مشکلات موجود در مسیر تولید و تکثیر آن، کاهش هزینه های اولیه کشت و کار این گیاه، ترغیب تولید کنندگان به سرمایه گذاری در این زمینه و در نهایت ایجاد زمینه مناسب اشتغال کشاورزی گردد. تاکنون پژوهشگران مختلفی در سطح دنیا تلاش کرده اند تا از طریق تکنیک های مختلف کشت بافت، روش مناسب و مقرون به صرفه ای برای ازدیاد فلفل دلمه ای پیدا کنند (Phillips and Hustenberger, 1985; Harini, 1993; Christopher and Rajam, 1996; Hyde and Phillips, 1996; Hussain et al., 1999). تکثیر این گیاه با استفاده از تکنیک کشت بافت از قسمت های مختلف گیاه از جمله جوانه های انتهایی، جوانه های جانبی، ساقه، هیپوکوتیل و کوتیلدون گزارش شده است (Agrawal et al., 1989). ولی اکثر روش های ریزازدیادی فلفل به شدت وابسته به رقم (*C. baccatum*, *C. frutescens* and *C. praetermissum*) خاصی بوده و در مورد ارقام دیگر کارایی چندانی نداشته است (Agrawal et al., 1989). در این تحقیق برای اولین بار تکثیر فلفل دلمه ای و ریزازدیادی آن از طریق کشت ریزنمونه حاصل از میانگه در رقم تجاری Gold flame انجام گردید. همچنین ریشه دار شدن شاخصاره های تولیدی، مقاوم سازی گیاهچه ها جهت سازگاری با محیط طبیعی و انتقال آنها به شرایط گلخانه نیز مورد ارزیابی قرار گرفت.



## مواد و روش ها

### آماده سازی و کشت بذرها

در ابتدا به منظور ضدعفونی نمودن سطحی بذرها (Gold flame) به مدت ۶۰ ثانیه در الکل ۹۶٪ غوطه ور گردیده و پس از سه بار شستشو با آب مقطر استریل، به مدت ۲۰ دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم (۲۰٪) به همراه یک قطره تویین ۲۰٪ قرار گرفتند. در مرحله بعد بذرها سه مرتبه با آب مقطر استریل شستشو داده شدند. برای جوانه زنی، بذرها در یک ارلن حاوی ۵۰ میلی لیتر محیط پایه MS (Murashige and Skoog, 1962) استریل کشت داده شده و در اتاق رشد تحت فتوپریود ۱۶ ساعت نور و ۸ ساعت تاریکی با شدت نور ۲۴۰۰ لوکس و دمای ۲۴°C به مدت ۵ هفته نگهداری شدند.

### کشت تک گره

ظروف حاوی گیاهچه های ۵-۴ هفته ای (با اندازه تقریبی ۱/۵-۱ سانتی متر) حاصل از کشت بذرها در شرایط استریل از ارلن کشت خارج شدند. در مرحله بعد، ساقه آن ها به نحوی برش داده شد که هر ریزنمونه حاصل دارای ۱ گره باشد. سپس هر ۵ عدد از ریزنمونه ها به صورت عمودی در ظروف کشت حاوی ۵۰ میلی لیتر از محیط پایه MS حاوی غلظت های متفاوت از تنظیم کننده های مختلف رشد گیاهی واکشت شدند. این تنظیم کننده های رشد شامل سیتوکینین های BAP (۱-۲) -۰ میلی گرم بر لیتر) و kin (۱-۲) -۰ میلی گرم بر لیتر) و اکسین های IBA (۰/۵-۰/۲-۰ میلی گرم بر لیتر) و یا NAA (۰/۵-۰/۲-۰ میلی گرم بر لیتر) بودند (جدول ۱).

جدول ۱- تنظیم کننده های رشد گیاهی مورد استفاده در آزمایش

محیط کشت پایه	BAP (میلی گرم بر لیتر)	IBA (میلی گرم بر لیتر)	NAA (میلی گرم بر لیتر)
MS	۰	۰	-
MS	۱	۰/۲	-
MS	۲	۰/۵	-
MS	۰	-	۰
MS	۱	-	۰/۲
MS	۲	-	۰/۵
	KIN (میلی گرم بر لیتر)		
MS	۰	-	-
MS	۱	۰	-
MS	۲	۰/۲	-
		۰/۵	-
MS	۰	-	۰
MS	۱	-	۰/۲
MS	۲	-	۰/۵

علاوه بر هورمون های یاد شده، همه محیط کشتها دارای ۳ درصد ساکارز، ۶ گرم در لیتر آگار و ۰/۴٪ ذغال فعال نیز بودند. pH محیطها در ۵/۸ تنظیم شده و عمل سترون سازی آنها در اتوکلاو با فشار ۱ اتمسفر و دمای ۱۲۱°C برای مدت ۲۰ دقیقه انجام گردید. ریزنمونه های کشت شده در اتاق رشد با شرایط ذکر شده در بالا و به مدت ۴ هفته نگهداری شدند پس از آن که گیاهچه ها به مطلوب

رشد خود رسیدند، جهت انجام دور بعدی کشت تک‌گره مورد استفاده قرار گرفتند و یا مقاوم‌سازی شده و به گلخانه انتقال داده شدند.

سازگار سازی و انتقال به گلخانه

قبل از کشت گیاهچه‌های حاصل در شرایط گلخانه، عمل سازگار سازی آن‌ها در فیتوترون صورت گرفت. برای این کار، گیاهچه‌ها در شرایط *in vitro* به گلدان‌های حاوی ترکیب پیت‌ماس و کوکوپیت با نسبت ۳/۱ منتقل شده و در اتاق رشد فیتوترون تحت شرایط رطوبت نسبی ۷۵ درصد، دمای  $25^{\circ}\text{C}$  و شرایط نوری ۳۰۰۰ لوکس برای مدت ۲۰ روز نگهداری شدند. در مرحله بعد گیاهچه های سازگار شده به گلخانه منتقل گردیده و تحت شرایط درجه حرارت شب ۱۲ درجه سانتیگراد، طول روز ۱۶ ساعت و طول شب ۸ ساعت قرار گرفتند. این طرح بصورت چند آزمایش فاکتوریل مجزا با طرح پایه تصادفی و ۳ تکرار به اجرا در آمد. ظروف حاوی گیاهچه های کشت شده به صورت تصادفی (نقشه چیدن تصادفی ظروف با استفاده از برنامه نرم افزاری Excel تهیه گردید) در داخل اتاق رشد قرار گرفتند

### نتایج و بحث

در این مطالعه اثر افزودن غلظت‌های مختلف هورمون های سیتوکینین (KIN, BAP) به تنهایی یا در ترکیب با هورمون های اکسین (IBA, NAA) به محیط پایه MS در رشد ریزنمونه های فلفل دلمه‌ای حاصل از تک‌گره مورد بررسی قرار گرفت. در شروع کار از محیط کشت MS به همراه BAP و IBA بدون ذغال فعال استفاده شد، نتیجه نشان داد ریزنمونه ها، ۲ هفته پس از کشت در این محیط بدون تولید ریشه در انتها کالوس دار شدند (شکل ۱) (جدول ۲).

جدول ۲- اثر تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی بر پارامترهای رشد در ریزنمونه‌های فلفل دلمه‌ای

تعداد ریشه در هر ریزنمونه	طول ریشه (cm)	طول ساقه (cm)	تعداد شاخه فرعی	ذغال فعال %/۴	IBA (میلی گرم برلیتر)	BAP (میلی گرم برلیتر)
۱/۱۳	۳/۰۰	۱/۱۳	۰/۰۴	+	۰	۰
۰/۷۸	۰/۲	۰/۷۸	۰/۰۲۷	-	۰	۰
۱/۲۰	۴/۰۰	۱/۲۰	۰/۲۹	+	۰	۱
۰/۸۳	۰/۳۵	۰/۸۳	۰/۰۹	-	۰	۱
۱/۱۸	۶/۰۰	۱/۱۸	۰/۴۴	+	۰	۲
۰/۸۱	۰/۳	۰/۸۱	۰/۲	-	۰	۲
۱/۱۴	۲/۰۰	۱/۱۴	۰/۳۴	+	۰	۰
۰/۸۶	۰/۲	۰/۸۶	۰/۰۴	-	۰	۰
۱/۱۹	۳/۰۰	۱/۱۹	۰/۱۸	+	۰/۲	۱
۰/۸۱	۰/۳	۰/۸۱	۰/۰۵	-	۰/۲	۱
۱/۱۸	۳/۰۰	۱/۱۸	۰/۲۶	+	۰/۵	۲
۰/۷۵	۰/۳۵	۰/۷۵	۰/۰۷	-	۰/۵	۲

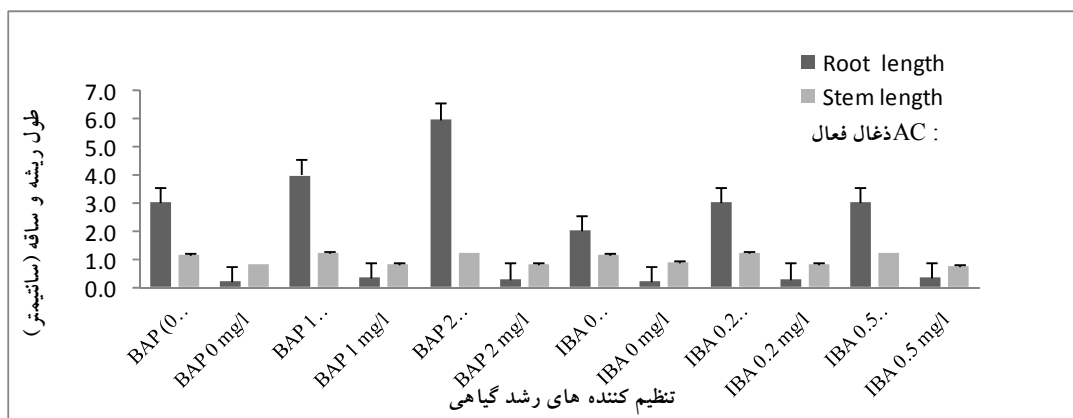
+ : ذغال فعال اضافه شده به محیط

- : فاقد ذغال فعال

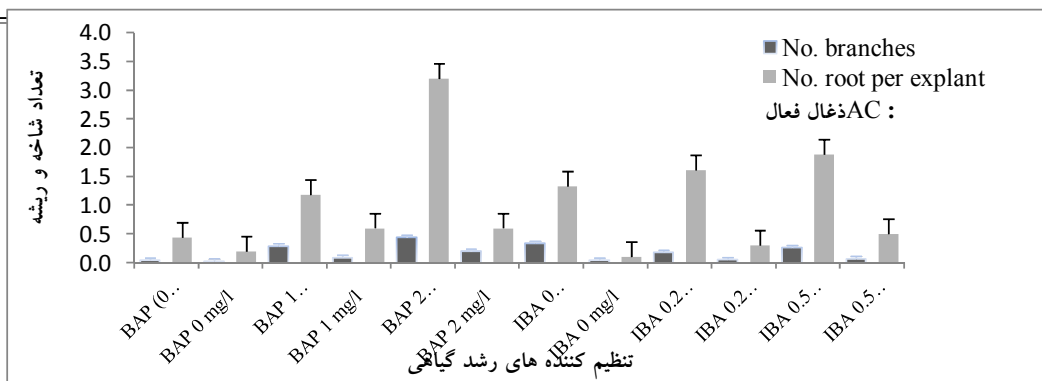


شکل ۱- تولید کالوس در انتهای ریزنمونه تک گره فلفل دلمه‌ای، ۲ هفته پس از کشت در محیط MS با ترکیبات هورمونی مختلف از BAP و IBA، فاقد ذغال فعال، در این شرایط از تولید ریشه به شدت ممانعت شد.

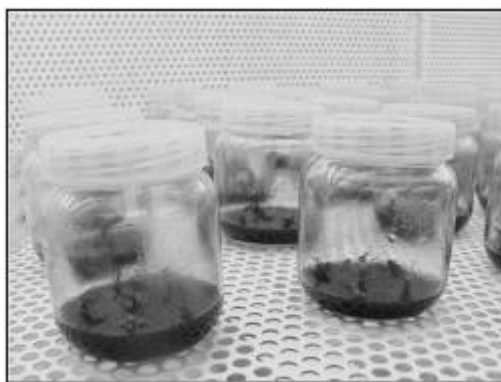
جهت رفع این مشکل، در مرحله بعد، ۰/۴٪ ذغال فعال به محیط‌های کشت بازرایی اضافه شد. پاسخ ریزنمونه‌ها به این محیط مثبت بود و همانطور که در شکل ۴ نشان داده شده این ریزنمونه‌ها بدون اینکه هیچ حالت کالوسی در انتهای آن‌ها مشاهده شود بخوبی رشد کرده و حتی برخی از آن‌ها ریشه‌دار هم شدند (جدول ۴). مقایسه میان تاثیر حضور و عدم حضور ذغال فعال بر پارامترهای بازرایی در گیاه فلفل در شکل های ۲ و ۳ نشان داده شده است.



شکل ۲- اثر ذغال فعال در محیط بازرایی فلفل بر پارامترهای رشد (طول ریشه و ساقه)



شکل ۳- اثر ذغال فعال در محیط باززایی فلفل بر پارامترهای رشد (تعداد شاخه و ریشه)



شکل ۴- رشد مناسب ریزنمونه های فلفل حاصل از تک گره در محیط باززایی حاوی ذغال فعال با ترکیب هورمونی BAP ۲ میلی گرم بر لیتر و IBA ۰/۵ میلی گرم بر لیتر، ۳۰ روز پس از کشت

با گذشت ۳۵ روز از کشت تک گره های فلفل دلمه ای در محیط های مختلف، هر گیاهچه ۲-۳ شاخه تولید نمود. آزمایش ها نشان داد که نوع هورمون ها و غلظت های مختلف آن ها تاثیرات متفاوتی بر پارامترهای رشدی چون طول ساقه، تعداد شاخه فرعی، برگ و ریشه، طول ریشه و درصد ریشه زایی ریزنمونه های کشت شده فلفل داشته است (جدول ۳).



جدول ۳- اثر تنظیم کننده های گیاهی (NAA، IBA، KIN، BAP) حاوی ذغال فعال بر میانگین اندازه های پارامترهای رشدی در ۴ ریزنمونه های فلفل دلمه ای پس از ۳۵ روز

هورمون های رشد	تعداد شاخه فرعی	طول ساقه (cm)	تعداد برگ	فاصله میانگره (cm)	ریشه زایی (%)	تعداد ریشه در هر ریزنمونه	طول ریشه (cm)
BAP	۰/۰۸**	۸/۲۹**	۳۰/۴۸**	۰/۱۹**	۱۰۰۰۸/۲۶**	۳۶/۲۹**	۱۹۷/۰۳**
KIN	۰/۰۰ <sup>ns</sup>	۶/۸۱**	۱۴/۳۶ <sup>ns</sup>	۰/۰۸*	۲۷۱/۸۵ <sup>ns</sup>	۱/۹۱ <sup>ns</sup>	۱۱/۸۷ <sup>ns</sup>
IBA	۰/۰۰ <sup>ns</sup>	۰/۲۵ <sup>ns</sup>	۹/۶۲ <sup>ns</sup>	۰/۰۰ <sup>ns</sup>	۴۹۸/۵۲**	۲۰/۸۹**	۲۲/۹۵**
NAA	۰/۰۰ <sup>ns</sup>	۰/۹۱ <sup>ns</sup>	۴۷/۶۱ <sup>ns</sup>	۰/۰۱ <sup>ns</sup>	۴۸۷/۸۶*	۰/۱۴ <sup>ns</sup>	۲/۹۴ <sup>ns</sup>
BAP+IBA	۰/۰۰ <sup>ns</sup>	۰/۵۹ <sup>ns</sup>	۴/۷۵ <sup>ns</sup>	۰/۰۶*	۱۱۲۷/۸*	۱۲/۰۹*	۷/۳۵ <sup>ns</sup>
BAP+NAA	۰/۰۰ <sup>ns</sup>	۱/۴۷ <sup>ns</sup>	۴۰/۴۳ <sup>ns</sup>	۰/۰۲*	۱۶۹۱/۸**	۶/۹۳*	۲۰/۰۸*
KIN+IBA	۰/۰۰*	۰/۵۷ <sup>ns</sup>	۱/۱۸ <sup>ns</sup>	۰/۰۳ <sup>ns</sup>	۵۵۱/۸۵**	۱/۳۷ <sup>ns</sup>	۷/۹۱*
KIN+NAA	۰/۰۰ <sup>ns</sup>	۰/۵۴ <sup>ns</sup>	۶/۳۱*	۰/۰۴ <sup>ns</sup>	۴۴۴/۰۷*	۳/۲۹ <sup>ns</sup>	۱۶/۳۵*

ns: معنی دار نیست. \*: در سطح  $p \leq 0.05$  معنی دار است. \*\*: در سطح  $p \leq 0.01$  معنی دار است.

بعنوان یک نتیجه مهم در آزمایش ما نشان داده شد که در هفته چهارم پس از کشت تک گره، حداکثر تعداد جوانه ها در محیط پایه MS حاوی ۲ میلی گرم بر لیتر BAP و فاقد هر گونه اکسین به دست آمد، هر چند برای رسیدن به بیشترین درصد ریشه زایی در ریزنمونه ها، افزودن ۰.۵ میلی گرم بر لیتر IBA ضروری است (جدول ۴).

جدول ۴- اثر تنظیم کننده های رشد گیاهی به همراه ذغال فعال بر پارامترهای مختلف رشد ریزنمونه های فلفل دلمه ای ۳۵ روز پس از کشت در شرایط ۱۶ ساعت نور و ۸ ساعت تاریکی

داده های دارای حروف مشترک از نظر آماری معنی دار نیستند.	BAP (میلی گرم بر لیتر)	IBA (میلی گرم بر لیتر)	تعداد برگ	فاصله میانگره (cm)	تعداد ریشه در هر ریزنمونه	طول ریشه (cm)	درصد ریشه زایی (%)
۰	۰	۰	۲/۹۳h	۰/۲۵ abc	۱/۶۷f	۲/۲۰e	۱۱/۳۳e
۰	۰/۲	۰/۲	۳/۷۳gh	۰/۱۷c	۲/۴۷d	۲/۰۷e	۲۲/۶۷de
۰	۰/۵	۰/۵	۴/۸۰dg	۰/۱۸bc	۳/۴۷ad	۴/۸۰abc	۲۵/۳۳de
۱	۰	۰	۵/۱۳d	۰/۲۵abc	۲/۲۷d	۴/۴۷bcd	۲۳/۳۳de
۱	۰/۲	۰/۲	۵/۲۰cd	۰/۲۹abc	۲/۶۷d	۳/۳۳bcde	۲۱/۶۰de
۱	۰/۵	۰/۵	۵/۰۷d	۰/۲۲bc	۴/۰۷a	۳/۰۷cde	۳۶/۰۰cd
۲	۰	۰	۸/۰۷a	۰/۳۶a	۴/۱۷a	۲/۴۷de	۵۰/۶۷ab
۲	۰/۲	۰/۲	۶/۸۷ab	۰/۲۲bc	۳/۶۰ad	۸/۸۷a	۴۰/۶۷abc
۲	۰/۵	۰/۵	۶/۴۰Bc	۰/۳۱ab	۵/۰۷a	۵/۴۰ab	۵۴/۰۰a

ریزنمونه های ریشه دار نشده حاصل از مرحله باززایی جهت القای ریشه زایی به محیط پایه حاوی هورمون های IBA (۰/۵ میلی گرم بر لیتر) یا NAA (۰/۵ میلی گرم بر لیتر) منتقل شدند حدود ۸۰٪ از ریزنمونه ها در این محیط ریشه دار شدند. (جدول ۵).

جدول ۵- اثر نوع اکسین بر ریشه دهی در محیط حاوی ۰/۴٪ ذغال فعال

نوع و غلظت اکسین (میلی گرم بر لیتر)	تعداد ریشه	طول ریشه (cm)	ریشه زایی (%)
IBA			
۰	-	-	-
۰/۲	-	-	-
۰/۵	۱/۶۱	۵/۲۲	۸۴/۴
NAA			
۰	-	-	-
۰/۲	-	-	۴۸/۵
۰/۵	۲/۷۱	۴/۰۲	-

جهت واكشت نمودن گیاهچه‌ها از بهترین محیط حاصل از نتایج به دست آمده استفاده گردید. این امر باعث شد که در مدت زمان نسبتاً کوتاهی تعداد زیادی گیاهچه باززایی شده فلفل دلمه‌ای تولید شود. این گیاهچه‌ها پس از سازگاری در اتاق رشد فیتوترون برای سازگار شدن به محیط طبیعی، به گلخانه منتقل شدند (شکل ۵). حدود ۷۰-۹۰٪ از گیاهچه‌های تولید شده در شرایط کشت بافت مورد اشاره، در شرایط گلخانه نیز زنده مانده، رشد مطلوبی از خود نشان دادند.



شکل ۵- گیاهچه حاصل از محیط کشت MS به همراه ۲ میلی گرم بر لیتر BAP و ۰/۵ میلی گرم بر لیتر IBA، سازگار شده در فیتوترون، آماده انتقال به محیط طبیعی

تا کنون مطالعات زیادی در زمینه باززایی فلفل دلمه‌ای و اثر هورمون‌های مختلف بر ریزازدیادی آن با روش‌های متنوع کشت بافت گزارش شده است

( Arroyo and Revilla, 1991; Christopher and Rajam, 1994; Ezura *et al.*, 1993; Szasz *et al.* 1995; Agrawal *et al.*, 1988; Phillips and Hubstenberger, 1985; Gunay and Rao, 1978). در این مطالعات، اثر نوع ارقام، هورمون‌ها و ریزنمونه‌های مختلف از جمله ریشه، کوتیلدون، هیپوکوتیل و ساقه (نودال) بر باززایی این گیاه مورد بررسی و مطالعه قرار گرفته است. در مجموع به نظر می‌رسد، که کارا بودن روش‌های ارائه شده در این مقالات به شدت به رقم مورد مطالعه



بستگی داشته است. در این مطالعه، برای اولین بار از روش کشت ساقه تک‌گره، روش مناسبی برای ازدیاد یکی از ارقام تجاری Gold flame مورد استفاده در ایران شده است. در مراحل ابتدایی آزمایش از محیط‌های بدون ذغال فعال برای باززایی ساقه دارای تک‌گره استفاده گردید که نتیجه آن عدم رشد مناسب شاخه، کالوسی شدن قاعده ریزنمونه و عدم تولید ریشه بود. (به دلیل فنل تولید شده توسط ریزنمونه می باشد، که از رشد گیاه ممانعت می کند). برای حل این مشکل ذغال فعال به میزان ۰/۴٪ به محیط کشت باززایی حاوی هورمون‌های رشد اضافه شد. ذغال فعال اثر قابل ملاحظه‌ای در رشد ریزنمونه‌ها و القای تولید ریشه در آن‌ها داشت، ضمن این که مانع تولید کالوس در قاعده ریزنمونه های کشت شده در محیط شد. از آنجا که ذغال فعال بعنوان یک ماده جاذب رنگ و متابولیت‌های مختلف شناخته می‌شود، احتمال می رود افزودن آن به محیط باعث جذب ترکیبات فنلی و دیگر مواد بازدارنده رشد از محیط کشت شده باشد (Pan and van Staden, 2004; Dennis, 2008). در این مطالعه بهترین تیمار جهت باززایی ریزنمونه-های گیاه فلفل محیط پایه دارای سیتوکینین BAP (۲ میلی گرم در لیتر) بود که اثر مثبتی بر پارامترهای باززایی نظیر شاخه‌زایی، تولید برگ و حتی القای ریشه‌زایی در هر ریزنمونه داشت. این نتیجه، با نتایج سایر مطالعات انجام شده توسط دیگر پژوهشگران مطابقت دارد. در این راستا نشان داده شده است که استفاده از BAP در غلظت ۱۰ میلی گرم بر لیتر بهترین تیمار جهت باززایی فلفل از ریزنمونه های نوک ساقه می‌باشد (Christopher and Rajam, 1994). در مطالعه دیگری نیز نشان داده شده که بهترین تیمار برای تولید انبوه فلفل با استفاده از جوانه های راسی، استفاده از محیط کشت MS حاوی ۵ میلی گرم بر لیتر BAP بوده است (Sanatombi and Sharma, 2007). مشخص شده که استفاده از سیتوکینین دیگر یعنی KIN به تنهایی یا در ترکیب با هورمون های دیگر به اندازه BAP در باززایی گیاه نقش نداشته و تنها تعداد کمی از ریزنمونه های گیاه فلفل در محیط‌های حاوی این تنظیم‌کننده رشد گیاهی باززایی شده‌اند (Agrawal et al., 1989 Phillips and Hubstenberger, 1985). همچنین NAA اگرچه دارای پتانسیل خوبی در القاء ریشه می باشد، اما در این تحقیق مشخص شد که نسبت به IBA، اثر کمتری دارد (Husain et al. 1999). ریزنمونه‌های باززایی شده پس از ریشه‌زایی در محیط حاوی IBA، جهت مقاوم سازی به فیتوترون و سپس به محیط گلخانه منتقل شدند. حدود ۷۰-۹۰٪ از گیاهچه های حاصل از کشت بافت در گلخانه ماندگاری خوبی نشان داده و رشد مطلوبی داشتند. گیاهان رشد یافته پس از طی مراحل رویشی گل داده و میوه نیز تولید نمودند. در مجموع روش بکار گرفته شده در این تحقیق که از طریق کشت ساقه دارای تک‌گره از گیاهان حاصل از بذر یا حاصل از تک‌گره‌های با واکشت متوالی صورت گرفت، روش مناسبی جهت ریزازدیاد و کشت انبوه این رقم می‌باشد.

#### منابع

1. Agrawal, S., Chandra, N. and Kothari, S. L. (1988) Shoot-tip culture of pepper for micropropagation. Current Science 57: 1347-1349.
2. Agrawal, S., Chandra, N. and Kothari, S. L. (1989) Plant regeneration in tissue cultures of pepper (*Capsicum annuum* L. cv. *Mathania*). Plant Cell Tissue Organ Culture 16: 47-55.
3. Arroyo, R. and Revilla, M. A. (1991) *In vitro* plant regeneration from cotyledon and hypocotyl segments in two bell pepper cultivars. Plant Cell Reports 10: 414-416.





- 
- 4.Christopher, T. and Rajam, M. V. (1994) *In vitro* clonal propagation of *Capsicum* spp. Plant Cell Tissue Organ Culture 38: 25-29.
- 5.Christopher, T. and Rajam, M. V. (1996) Effect of genotype, explant and medium on in vitro regeneration of red pepper. Plant Cell Tissue Organ Culture 46: 245-250.
- 6.Ezura, H., Nishimiya, S. and Kasumi, M. (1993) Efficient regeneration of plants independent of exogenous growth regulators in bell pepper (*Capsicum annuum* L.). Plant Cell Reports 12: 676- 680.

### **Micropropagation of *Capsicum annuum* L. under tissue culture condition**

<sup>†1</sup>Mahmoud Otrshy,<sup>1</sup>Kosar Moradi, , <sup>1</sup>Mojtaba Khayam Nekouei,  
1-Agricultural Biotechnology Research Institute, Center of Iran (ABRICI), P.O. Isfahan, Iran  
<sup>†</sup>Corresponding  
otroshy@yahoo.com

#### **Abstract**

An experiment was carried out to examine the effects of activated charcoal and different combinations of plant growth regulators for micropropagation of Goldflame using nodal culture. Adding activated charcoal improved growth and root system of plantlets, on the other hand no callus on the bottom of explants was formed. The best response was observed on medium containing 2 mg/l BAP and 0.5 mg/l IBA, especially for number of buds per explant and percentage of rooting. The explants grown on the medium containing IBA 0.5 mg/l were rooted. 70-90% of plantlets transferred to the greenhouse were survived and grown.

**Key words:** Activated charcoal, *Capsicum annuum* L., *In vitro* micropropagation, Nodal cutting, Plant growth regulators.