

مقایسه ی نوع پایه و سیستم های حمایت کننده محیط کشت در گیرایی ریز پیوندی لیمو آب

زینب پارسایی*^۱، محمد هدایت^۲، ساسان راستگو^۳، فرشته بیات^۳

۱- دانشجوی ارشد دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه خلیج فارس، بوشهر. ۲- استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه خلیج فارس، بوشهر. ۳- استادیار گروه اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه خلیج فارس، بوشهر
*نویسنده مسئول: zeinab.parsaei@yahoo.com

چکیده

ریزپیوندی، یکی از روش های پیشرفته در تولید درختان پیوندی عاری از بیماری است. در این مطالعه گیرایی ریزپیوندی لیمو آب روی پایه های نارنج ریز و درشت، لیمو آب و لیمو خارکی در سیستم های حمایت کننده محیط کشت شامل پل کاغذی، پرلایت، ورمی کولایت با محیط نیم غلظت MS و پل کاغذی با غلظت کامل به همراه ساکارز به میزان ۶۰ و ۷۵ میلی گرم در لیتر و مورد بررسی قرار گرفت. نتایج بدست آمده نشان داد بیشترین میزان گیرایی پیوند مربوط به پایه نارنج درشت و لیمو خارکی در سیستم های حمایت کننده شامل پرلایت و پل کاغذی حاوی محیط نیم غلظت MS به همراه ۷۵ گرم بر لیتر ساکارز بود.

کلمات کلیدی: پایه، ریزپیوندی، ساکارز، سیستم حمایت کننده، لیمو آب شیراز.

مقدمه

مرکبات از مهمترین درختان میوه نیمه گرمسیری محسوب می شوند و نقش مهمی در اقتصاد کشورهای تولید کننده دارند. یکی از مهمترین عوامل محدود کننده در تولید مرکبات، وجود بیماری های ویروسی، شبه ویروسی و مایکوپلاسمایی است (خدیوی، ۱۳۹۰). برای برطرف کردن این مشکل و تولید مرکبات عاری از بیماری پژوهش هایی صورت گرفته و روش هایی ابداع شده است در این رابطه موراشیگی و همکاران روشی به نام ریزپیوندی نوک شاخساره ای ابداع کردند و به این ترتیب توانستند بر این مشکل چیره شوند (فتوحی قزوینی، ۱۳۷۷). موخو پادهای و همکاران (۱۹۷۷) برای پایه ی نارنج، دانهال های ۲۱ روزه را برای ریزپیوندی مناسب تر تشخیص دادند. هوسی و همکاران (۱۹۷۹) مشاهده کردند که برای پایه نارنج سه برگ دان نهال هایی که سه روز از تندش بذر آن ها گذشته، مناسب تر هستند. در مطالعه ی مشابهی که توسط حسین و همکاران (۲۰۱۴) صورت گرفت گزارش کردند که غلظت سوکروز محیط کشت اثر قابل توجهی را در موفقیت ریزپیوندی دارد و بیشترین موفقیت گیرایی پیوند در غلظت ۷/۵ درصد سوکروز به دست آمده است و بیان کردند که رشد و توسعه ی گیاه ریزپیوندی با افزایش غلظت سوکروز، افزایش می یابد. به نظر می رسد که ساکارز نقش کلیدی در بالا بردن قدرت ترمیم بافت، بهبود رشد و نمو و کوتاه شدن زمان ترمیم بافت را به عهده دارد. از آن جایی که میزان گیرایی موفق ریزپیوندی و سازگار یافته در روش ریزازدیادی حائز اهمیت است. هم چنین هر کدام از پایه ها دارای ویژگی هایی خاص خود هستند که ممکن است در میزان موفقیت ریزپیوندی تفاوت های آشکاری نشان دهند. بنابراین در پژوهش حاضر این مسئله مورد توجه قرار گرفته است و هدف از اجرای این پژوهش بررسی گیرایی ریزپیوندی لیمو آب روی چهار نوع پایه ی عبارتند از نارنج ریز، نارنج درشت، لیمو آب شیراز و لیمو خارکی بود. این پژوهش در سه سیستم های حمایت کننده محیط کشت شامل پرلایت، ورمی کولایت و پل کاغذی و دو غلظت MS (نیم غلظت و کامل) انجام شد.

مواد و روش ها

تهیه ی پایه: پایه هایی بذری در نظر گرفته شده اند عبارتند از نارنج ریز، نارنج درشت، لیموی آب شیراز و لیمو خارکی است. بدین صورت که پس بذرگیری از میوه، ابتدا بذره‌های بدست آمده با مقدار ماده شوینده شسته شده تا مواد ژلاتینی اطراف بذر برطرف شود. سپس پوسته رویی بذرها جدا شده و به مدت نیم روز جهت خروج بازدارنده های رشد، زیر آب جاری قرار داده شدند. در نهایت در زیر دستگاه جریان هوا لامینار توسط محلول ۳۰ درصد هیپوکلریت سدیم تجاری به مدت ۳۰ دقیقه گندزدای و سپس سه بار با آب مقطر استریل، آبکشی شدند. پس از آن هر بذر مربوط به هر پایه در شیشه‌های مکاری که حاوی سیستم‌های حمایت کننده محیط کشت مختلف پرلایت، ورمی کولایت و پل کاغذی با محیط نیم غلظت MS و پل کاغذی با MS کامل کشت داده شدند.

تهیه پیوندک: برای تهیه ی پیوندک شاخساره های جوان لیموی آب شیراز حاوی ۳ یا ۴ جوانه جهت تهیه ی ریز نمونه از گیاه مادری چیده و به آزمایشگاه کشت بافت منتقل گردیدند. جهت برطرف کردن اولیه آلودگی سطحی، ریزنمونه ها ابتدا به مدت ۱۵ دقیقه در بشر حاوی آب و مایع ظرفشویی شسته شدند. سپس به مدت یک ساعت زیر آب روان قرار گرفتند. جهت گندزدایی نهایی شاخه ها در زیر دستگاه جریان هوا در محلول ۲۰ درصد هیپوکلریت سدیم تجاری، به مدت ۳۰ دقیقه غوطه ور و گندزدایی گردید، سپس ۳ بار توسط آب مقطر استریل شست و شو شدند. پس از گندزدایی ریزنمونه ها حاوی یک یا دو جوانه در بهترین محیط کشت پرآوری شامل محیط کشت MS جامد حاوی بنزیل آدنین به غلظت ۰/۵ و فاقد گروه اکسین کشت شدند. در هر شیشه کشت سه ریزنمونه قرار داده و زیر نوری با شدت ۱۰۰۰۰ لوکس و دمای ۲۷ درجه سانتی گراد جهت پرآوری نگه‌داری شدند.

ریزپیوندی: برای شروع کار ابتدا دانه‌های چهار نوع پایه نارنج ریز و درشت، لیموی آب شیراز و لیمو خارکی با سن ۱۶ روز از محیط کشت بیرون آورده و به روی سرامیک فرار داده می شوند و توسط اسکالپل اپیکوتیل پایه سربرداری شده و ۱/۵ سانتی متر از ساقه باقی گذاشته و بقیه قطع می گردد. انتهای ریشه و لپه ها نیز حذف می شوند. سپس در قسمت انتهایی ساقه از محل مقطع برشی به ابعاد یک میلی متر ایجاد شده و مرستم انتهایی جوانه همراه با ۲ تا ۳ برگ اولیه (به اندازه ی ۰/۲ تا ۰/۳ میلی متر) به صورت گوه‌ای جدا شده و در برش پایه قرار داده می شود. سپس هر گیاه پیوندی به شیشه های مکاری که حاوی محیط کشت مایع MS مشابه محیط کشت قبلی پایه خود بودند انتقال می یابد. شیشه ها در شرایط دمایی ۲۷ درجه سانتی گراد و نور ۱۰۰۰۰ لوکس قرار گرفتند. پس از سه هفته، یادداشت برداری از موفقیت ریزپیوندی به صورت عددی صورت گرفت. بدین صورت که پیوندک هایی که بر روی پایه به طور کامل سالم و رشد مطلوبی دارد عدد ۳، آنهایی که بر روی پایه رشد مناسبی نداشته و کمرنگ شده اند، عدد ۲ و پیوندک هایی که خشک شده و گیرایی نداشته اند، عدد ۱ داده شده است.

نتایج و بحث

بررسی اثر متقابل نوع پایه، سیستم‌های حمایت کننده محیط کشت و غلظت ساکارز با هم بر میزان گیرایی موفقیت آمیز ریزپیوندی نشان داده شد که بیشترین میزان گیرایی پیوند مربوط به پایه لیمو خارکی در محیط کشت حاوی پرلایت با هر دو غلظت ۶۰ و ۷۵ گرم بر لیتر ساکارز و محیط کشت پل کاغذی به همراه ۷۵ گرم بر لیتر ساکارز و هم‌چنین پایه نارنج درشت در محیط کشت های پل کاغذی با محیط نیم غلظت MS و پرلایت حاوی ۷۵ گرم بر لیتر ساکارز بدست آمد. در حالی که کمترین میزان موفقیت در گیرایی پیوند بر روی پایه ی لیموی آب شیراز که در محیط کشت های ورمی کولایت و پل کاغذی با MS کامل به همراه هر دو غلظت سوکروز و محیط کشت های پرلایت و پل کاغذی با محیط نیم غلظت MS دارای ۶۰ گرم بر لیتر ساکارز و هم‌چنین پایه نارنج ریز در محیط کشت های پل کاغذی با MS کامل با ۲ غلظت ساکارز و محیط کشت های پرلایت، پل کاغذی با محیط نیم غلظت MS و ورمی کولایت به همراه ۶۰ گرم بر لیتر ساکارز مشاهده شد. در کل بیشترین گیرایی پیوند مربوط به پایه لیمو خارکی و کمترین گیرایی پیوند در پایه لیموی آب شیراز و نارنج ریز مشاهده شد (جدول ۱).

جدول ۱- مقایسه میانگین اثر متقابل نوع پایه، سیستم‌های حمایت کننده محیط کشت و غلظت ساکارز بر گیرایی پیوند لیموی آب

سیستم‌های حمایت کننده								پایه
پرلایت	ورمی کولایت	پل کاغذی با MS 1/2		پل کاغذی با MS کامل				
						ساکارز (g/l)		
۶۰	۷۵	۶۰	۷۵	۶۰	۷۵	۶۰	۷۵	
۱/۲d*	۲/۲bc	۱d	۱d	۱d	۱d	۱d	۱d	لیموی آب شیراز
۳a	۳a	۲/۲bc	۲/۴bc	۲/۴bc	۲/۴bc	۲/۴bc	۲/۴bc	لیمو خارکی
۱/۲d	۲c	۱/۲d	۲c	۱/۲d	۲c	۱d	۱d	نارنج ریز
۲/۲bc	۳a	۲/۲bc	۲/۶ ab	۲/۲bc	۲c	۲/۲bc	۲/۲bc	نارنج درشت

میانگین‌ها با حروف مشترک از نظر آماری و بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد با یکدیگر دارای تفاوت معنی دار نیستند. * اعدادهای موجود بر اساس، گیرایی کامل پیوندک عدد ۳، پیوندک سفید شده عدد ۲ و پیوندک خشک شده عدد ۱ محاسبه و قرار داده شده است.

ناز و همکاران (۲۰۰۷) در پژوهش خود نشان دادند که بیشترین گیرایی پیوند با استفاده از دانهال های ۱۴ روزه رشد کرده در شرایط تاریکی به دست آمد و بهبود موفقیت پیوند از ۳٪ به ۷٪ به دلیل افزایش غلظت ساکارز از ۲۲-۲۰٪ به ۳۸-۳۶٪ بهبود یافت. ناطق زاده و همکاران (۱۳۹۲) در طی بررسی تاثیر غلظت ساکارز محیط کشت بر میزان گیرایی پیوند لیموی آب شیراز و نارنج، مشاهده کردند که بین دو غلظت ساکارز تفاوت معنی داری وجود دارد. ۶۶/۶۷ درصد موفقیت با کاربرد ۶۰ گرم بر لیتر ساکارز به دست آمد در حالی که ۳۰ گرم بر لیتر ساکارز تنها ۳۷/۷۸ درصد گیرایی پیوند به دست آمد. گزارشات ذکر شده با نتایج حاصل از نظر میزان افزایش ساکاروز هم‌سو است. به نظر می‌رسد افزایش تعداد یاخته در محل پیوند جهت جوش خوردن نیاز به کربوهیدرات زیاد به عنوان منبع انرژی دارد. هم‌چنین لاهوتی و همکاران (۲۰۱۳) اظهار داشتند که تفاوت در موفقیت ریزپیوندی بر روی پایه های مختلف ممکن است به دلیل سازگاری و شرایط فیزیولوژی پایه و پیوندک باشد. اغلب سن متفاوت پایه اثر متفاوتی را در میزان موفقیت گیرایی پیوند دارد که این ممکن است به مرحله ای از توسعه سلول های پارانشیمی متشکل از بافت کالوس باشد که در ایجاداتصال در محل پیوند نقش بسزایی را ایفا می کند. در پژوهشی که توسط هامارایی و همکاران (۲۰۰۳) صورت گرفت دریافتند که موفقیت پیوند نوک شاخساره ی گریپ فروت بر روی دانهال جوانه زده درون شیشه ای نارنج از ۳۰ به ۶۰ درصد و میزان رشد پیوند از ۸/۷ به ۱۳/۸ میلی متر مربوط به افزایش غلظت سوکروز از ۲/۵ به ۷/۵ درصد بوده است.



نگاره ۱- ریزپیوندی موفق پس از ۳ هفته

منابع

۱. خدیوی، ع. ۱۳۹۰. میوه کاری. انتشارات آموزش و ترویج کشاورزی. چاپ دوم. ۳۰۰-۲۸۵.
۲. فتوحی قزوینی، ر. ۱۳۷۷. پرورش مرکبات در ایران. انتشارات دانشگاه گیلان. ۱۵۰ صفحه.
۳. ناطق زاده، ر.، هدایت، م.، باوی، ز.، محمدی، ن. و جوکاری، س. ۱۳۹۲. بررسی تاثیر غلظت های ساکارز بر درصد جوانه زنی بذری و ریزپوندی لیموی آب شیراز و نارنج. همایش مباحث نوین در علوم باغبانی. ۱-۴.
4. Hosoi, T., H. Machida, A. Ooishi and T. Miura. 1979. Studies on shoot tip grafting of citrus. Bulletin of the Faculty of Agriculture Shizuoka University 29: 11- 17.
5. Hussain, G., Wani, M.S., Mir, M.A., Rather, Z.A. and Bhat, K.M. 2014. Micrografting for fruit crop improvement. 2474- 2483.
6. Lahoty, L., J. Singh, P. Batanagar, D. Rajpurohit and S. K. Jain. 2013. Shoot tip grafting in Nagpur mandarin (*Citrus reticulata* Blanco). Plant Archives Vol 13 No. 1, pp: 173-175.
7. Mukhopodhyay, S., J. Ray, B. C. Sharma, A. Gurung, P. K. Sengupta and P. S. Nath. 1977. Micrografting of dareeling orange (*Citrus reticulata* Blanco) by shoot tip grafting. J. Hort. Sci Biotech. 72 (3): 493- 996.
8. Naz, A. A., M. J. Jaskani, A. Haidar, M. Qasim. 2007. In vitro studies on micrografting technique in two cultivars to produce virus- free plants. Pak. J. Bot. 39: 1773-1778.

Comparison of rootstock type and system supporting medium in lime (*Citrus × latifolia*) micrografting

Z. Parsaei^{1*}, M. Hedayat², S. Rastgoo², F. Bayat³

1-M. Sc of Horticultural Science, Persian Gulf University, Bushehr. 2-Assistant Professor, Dep. of Horticulture Science, Persian Gulf University, Bushehr. 3- Assistant Professor, Dep. of Breeding Science, Persian Gulf University, Bushehr.

*Corresponding author: zeinab.parsaei@yahoo.com

Abstract

Micro-grafting, one of the advanced techniques in the production of hybrid trees free of disease. in this study Successfully appeal micro-grafting mexican lime on rootstock big and small orange, mexican lime and rough lemon in systems supporting medium of Including Paul paper, perlite, vermiculite with the half concentration of MS and paper bridge with full concentration and with 60 and 75 mg per liter sucrose were examined. The results showed most of the Successfully micrografting related to rootstock big orange and rough lemon in the system supporting perlite and bridges paper containing half the concentration of MS with 75 grams per liter sucrose.

Keywords: rootstock. Micro-grafting. Sucrose. support systems. Mexican lime (*Citrus aurantifolia*) .