

تأثیر چندین متغیر بر ریز پیوندی درون شیشه‌ای پرتفال واشنگتن ناول روی پایه‌های نارنج و رافلمون

سیب گل خوشکام

محقق مرکز تحقیقات کشاورزی جیرفت و کهنوچ

اهمیت مرکبات به لحاظ پخش و گسترش آن در جهان از یک سو و نقش آن در تغذیه، سلامت و اقتصاد جوامع بشری از سوی دیگر حائز اهمیت است. در حال حاضر در تمامی مناطق مرکبات خیز دنیا بیماریهای ویروسی و شبه ویروسی مخرب ترین و لایحل ترین مشکل در صنعت مرکبات است که کاهش شدید عملکرد و کیفیت باعث زوال باعهای مرکبات می‌گردد. برای ریشه کنی و حذف این عوامل بیماری زا از تکنیک ریزپیوندی در شرایط درون شیشه‌ای استفاده می‌گردد. این تحقیق جهت بررسی عوامل تاثیر گذار بر درصد موفقیت این تکنیک ریزپیوندی پرتفال واشنگتن ناول روی پایه‌های نارنج و رافلمون به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با اعمال چهار تیمار و پنج تکرار انجام شد. میوه‌های رسیده نارنج و رافلمون از درختان با گرد افسانی آزاد از باع مرکبات در مرکز تحقیقات کشاورزی جیرفت و کهنوچ جمع آوری و ضممن حذف پوسته اول و دوم، ضد عفونی شده و روی محیط کشت MS با ۳ درصد ساکاروز و ۷/۵ گرم در لیتر آگار در شرایط نور و تاریکی در دمای ۲۶-۲۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲-۳ هفته پرورش یافتند. نوک شاخسارهای پرتفال واشنگتن ناول به اندازه ۰/۱۲ تا ۰/۱۴ میلی متر با القاء فلشهای رشد به وسیله هرس در دو تا سه نوبت در فاصله زمانی ۲ هفته تهیه شد. با اعمال غلظتهاي ۳۰، ۴۵، و ۶۰ گرم در لیتر ساکاروز، غلظتهاي ۱، ۲، و ۳ برابر ویتامینهاي موجود در محیط کشت MS، پيش تیمار هورمونهاي بنتزیل آدنین به غلظت ۱۰ میکروگرم در لیتر، توفردي به غلظت ۰/۵ میلی گرم در لیتر و پرورش پایه‌ها در شرایط نور و تاریکی عمل ریز پیوندی انجام شد. نتایج نشان داد که در پایه نارنج کاربرد تیمار ۳۰ گرم در لیتر ساکاروز، غلظت ویتامین برابر با غلظت ویتامینهاي محیط کشت MS، پيش تیمار هورمونهاي بنتزیل آدنین و توفردي و پرورش پایه‌ها در شرایط نور و در پایه رافلمون غلظت ۳۰ گرو در لیتر ساکاروز، غلظت ویتامینها دو برابر غلظت ویتامینهاي محیط کشت MS، پيش تیمار هورمونهاي بنتزیل آدنین و توفردي و پرورش پایه‌ها در شرایط نور بالاترین موفقیت را در بر داشت.

کلمات کلیدی: ریز پیوندی، مرکبات جیرفت

مقدمه:

کشت بافت در مرکبات به منظور تحقیقات پایه‌ای، کاربردی و اصلاحات برای تولیدات اقتصادی همچنین حذف عوامل بیماری زای ویروسی و شبه ویروسی به کار می‌رود. به منظور عاری سازی از عوال بیماری زای ویروسی و شبه ویروسی کشت جنین نوسولار، کشت تخمک و ریزپیوندی نوک شاخساره در شرایط درون شیشه به کار گرفته می‌شود. در حال حاضر در تمامی مناطق مرکبات خیز دنیا بیماریهای ویروسی و شبه ویروسی مخرب ترین و لایحل ترین مشکل در صنعت مرکبات هستند که باعث کاهش شدید عملکرد و از بین رفتن آنها می‌شوند. در حال حاضر برای حذف این عوامل بیماری زا در گونه‌های علفی از کشت نوک مریستم و گرما درمانی استفاده می‌گردد(19). با توجه به اهمیت مریستم از نظر استعداد تقسیم سلولی و به خاطر عدم تمایز (عدم وجود آوندلهای چوبی و آبکش) و نیز به خاطر این که سرعت رشد مریستم بیشتر از سرعت حرکت ویروس است، امروزه از این اندام به عنوان منبع گیاهی عاری از عوامل بیماری زای ویروسی و شبه ویروسی جهت تولید گیاهان عاری از این عوامل بیماری زا، استفاده می‌کنند. وایت در سال ۱۹۳۴ نشان داد که ویروس موزاییک به صورت ناهمگنی در قسمتهای ریشه توتون، توزیع شده است، به طوری که تجمع آنها به سمت ریشه کم و نوک ریشه فاقد ویروس است. البته بعداً شواهد نشان داد که همیشه نوک ریشه و مریستم ساقه فاقد ویروس نیستند. در سال ۱۹۵۲

مورل و مارتین ایده جالبی از کشت مریستم انتها بی کوک آلوده به ویروس در محیط این ویترو، ارائه کردند. آنها اولین کسانی بودند که از کشت مریستم انتها بی کوک و سبب زمینی آلوده به ویروس، گیاهان عاری از ویروس به دست آوردند.

مواد و روش‌ها:

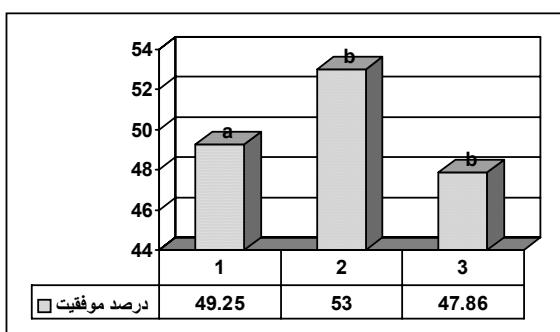
این پژوهش به صورت آزمایش فاکوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با اعمال چهار تیمار و پنج تکرار در دو آزمایش، ریزپیوندی پرتقال رقم واشنگتن ناول روی دو پایه نارنج و راف لمون در شرایط درون شیشه ای انجام شد. محیط کشت پرورش گیاهان پیوند شده، همان محیط کشت پایه MS بدون آگار و اعمال تیمارهای غلطهای ساکاروز ۶۰، ۴۵ و ۳۰ گرم در لیتر، ویتامین های گلایسین، میواینوزیتول، میکوتینیک اسید، پریدوکسین HCl و تیامین HCl با غلظت معمول محیط MS، دو برابر و سه برابر استفاده از هورمونهای BA به غلظت ۱۰ میکرو گرم در لیتر و ۲,۴-D به غلظت ۰/۵ میلی گرم در لیتر تهیه شد. پایه های پرورش یافته در شرایط نور و تاریکی (اتیوله) با سن دو هفته از لوله های کشت بیرون کشیده شده و ضمن هرس شد. پایه های کوتیلدونها، با آب مقطر استریل شسته شده و یک قسمت از اعمال کاربرد توفوردی و بنزیل آدنین به غلظت ۰/۵ میلی گرم و ۱۰ میکرو گرم به ترتیب به صورت فروبری سریع به مدت ۵ ثانیه و ایجاد شکاف به شکل T بر عکس به عمق حدود یک میلیمتر از هر طرف و باز کردن پوست در دو طرف شکاف عمودی و قرار دادن پیوندک فرو برده شده در محلول هورمونی مذکور به مدت ۵ ثانیه و قرار دادن آن در محل شکاف عمل پیوند انجام شد. گیاهچه های پیوند شده از میان شکاف موجود در پلهای کاغذی موجود در لوله های حاوی محیط کشت مستقر می شوند و ابتدا به مدت ۲۴ ساعت در شرایط کاملاً تاریکی و بعد در شرایط با فتوپریود ۱۶ ساعت روشنایی ۱۵۰۰-۱۰۰۰ لوكس و ۸ ساعت تاریکی در دمای -۲۷ درجه سانتی گراد به مدت ۵ هفته و برای سازگاری بهتر با شرایط گلخانه به مدت ۷-۱۰ روز در شدت نور ۱۰۰۰۰ لوكس قرار گرفتند. بعد از این مدت درصد موفقیت پیوند در هر کدام از تیمارها، وضعیت استقرار گیاهچه و سلامت آنها را، وجود یا عدم تشکیل جوانه های انتها بی، اثراست پایه و پیوندک و اثر نور یا تاریکی در این طرح مورد بررسی قرار گرفت. بعد از طی این مراحل، گیاهچه های با پیوند موفق در مرحله یک برگی و آغاز مرحله دو برگی به گردانهای محتوی ۵۰ درصد خاک لومی رسی و ۵۰ درصد شن منتقل شدند و با محیط بیرون سازگاری یافتند.

نتایج:

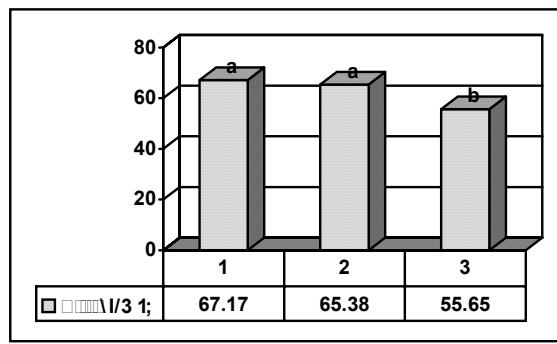
خصوصیات رویشی پایه های مورد آزمایش در دو شرایط نور و تاریکی

پایه ها	پرورش پایه ها در		پرورش پایه ها در		پرورش پایه ها در		پرورش پایه ها در		پرورش پایه ها در		پرورش پایه ها در	
	شرایط نور	شرایط تاریکی	درصد	میانگین وزن	میانگین طول	میانگین قطر	میانگین وزن	میانگین طول	میانگین قطر	میانگین وزن	میانگین طول	میانگین قطر
نارنج	درصد	میانگین وزن	میانگین طول	میانگین قطر	درصد	میانگین وزن	میانگین طول	میانگین قطر	میانگین وزن	میانگین طول	میانگین قطر	
	جوانه زدن	وزن تر (گرم)	خشک (گرم)	خشک (cm)	جوانه زدن	وزن تر (گرم)	خشک (گرم)	خشک (cm)	جوانه زدن	وزن تر (گرم)	خشک (گرم)	
Raf	۱۰۰a	۰/۳۲ a	۰/۰۴۸ a	۱۱ a	۱/۶ a	۱۰۰ a	ab ۰/۲۹	ab ۰/۲۹	۰/۰۳۲ b	۱۲ a	۱/۸ ab	
لمون	۹۸/۲ ab	۰/۳۸ a	۰/۰۴۱ a	۸ ab	۱/۶ ab	ab ٪۹۶	ab ٪۹۶	ab ٪۹۶	۰/۰۳۹ a	۹ a	۲ ab	

درصد جوانه زدن پایه نارنج در هر دو شرایط نور و تاریکی صد درصد است و در پایه راف لمون در شرایط نور ۹۸/۲ و در شرایط تاریکی ۹۶ درصد بوده است. ولی تفاوت معنی داری بین آنها وجود ندارد. میانگین وزن تر پایه نارنج در شرایط نور ۰/۳۴ گرم و در شرایط تاریکی ۰/۲۹ گرم بدست آمد که تفاوت معنی داری بین آنها وجود ندارد. میانگین تر وزن پایه راف لمون در شرایط نور ۰/۳۸ گرم و در شرایط تاریکی ۰/۳۶ می باشد که تفاوت معنی داری بین آن دو وجود ندارد. میانگین وزن خشک هر دو پایه نارنج و راف لمون در شرایط نور نسبت به شرایط تاریکی افزایش داشت و تفاوت بین آنها معنی دار است. بر اساس نتایج به دست آمده وزن خشک بیشتر در شرایط نور به ازدیاد ماده خشک تولیدی در اثر فتوستتر و سوخت و ساز مواد می باشد.



نمودار شماره ۲: مقایسه میانگین اثر مقادیر مختلف
ویتامین ها
در درصد موفقیت ریزبیوندی روی پایه راف لمون



نمودار شماره ۱: مقایسه میانگین اثر مقادیر مختلف
ویتامین هادر در درصد موفقیت ریزبیوندی روی پایه نارنج

بالاترین عملکرد در پایه نارنج با کاربرد ۳۰ گرم در لیتر ساکاروز ، ۱ برابر غلاظت ویتامین ، پیش تیمار هورمونی و پرورش پایه ها در شرایط نور و در پایه راف لمون با کاربرد ۳۰ گرم در لیتر ، ۲ برابر غلاظت ویتامین ، پیش تیمار هورمونی و پرورش پایه ها در شرایط تاریکی به دست آمد.

منابع:

1: Fourie, cj. 1991. Improved shoot tip Grafting of *citrus* inligtings bulle tin, navarsing sinstituu . vir, sitrus, en , sutbvopiese vrugte . 223: 10-12 .

An Investigation of the effects of Variable on Shoot-tip grafting of Washengton navel sweet orange onto sour orange and Roughlemon root stocks.

Sibgol Khoshkam

Jiroft and Kahnooj shahid Moghboli Agricultural Research center

Abstract:

Citrus are important, they have two main role. One role is distribution and development in the World, another role is in nourishing, security and economy of society. At the present time, Virus and Virus like are destructive and irremediable problem in the citrus region, that causes intensive decrease in quality and decadence of citrus gardens. Shoot-tip grafting technic in vitro condition is used for eradicating and eliminating disease factors. In the survey of effective factors in precent success of shoot-tip grafting technic, Washington novel orange on the root stocks of sour orang and Roughlemon is performed With survey effects of Various concentration of sucrose, existing Vitamines in plantation of MS medium and growth regulators such as BA and 2,4-D and nourishment root stocks in light and dark condition in

form of factorial experiment in random plan with applying four treatments and five replications. Ripe fruits of orange and Roughlemon are collected from free pollinated trees in agricultural research center of Jiroft and Kahnoj, first and second crust is Deleted, then disinfected and cultivated, In the MS medium with 3 precent Secrose and 5/7 g/li Agar in light and dark condition with 26-27 °C , during from tow weeks, in the size of 0/12 to 0/14 mm, with use of growth flashes and pruning. With applying concentrations 30, 45, 60 gr/li Socrose, equal concentration 1, 2, 3 existing Vitamines in MS medium, for treatment of BA hormones with 10 mgr/li concentrations,0/5ml/li 2,4-D and nourishment root stocks in light and dark condition, shoot- tip grafting process is performed. Results showed that, in the root stock of sour orange, treatment 30 gr/li sucrose, equal vitamin concentration with Vitamin concentrations of MS medium,pretreatment of BA, 2,4-D hormones, nourishment root stocks in light condition and 30 gr/li sucrose concentrations in the root stock Roughlemon, double concentrations of Vitamines, pretreatment of BA, 2,4-D hormones , nourishment of root stocks in light condition, is successful.