جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی
جلد سیزدهم، شماره ششم، بهمن- اسفند ۱۳۸۵
www.magiran.com/jasnr
www.sid.ir

کارائی تکنیک پیوند نوک شاخه در تولید پرتقال واشنگتن ناول عاری از ویروس تریستزا

*رضا فیفائی[۱]، صغری خوشکام[۲]، حشمت ا... رحیمیان[۳]، یحیی تاجور[۱] و حسین طاهری[۱]

[۱]اعضاء هیأت علمی موسسه تحقیقات مرکبات کشور، [۲]محقق پژوهشکده بیوتکنولوژ ی کشاورزی کرج،
[۳]استاد گروه گیاهپزشکی دانشکده علوم کشاورزی مازندران

تاریخ دریافت: ۸٤/٦/۹ ؛ تاریخ پذیرش: ۸٤/۱۲/۱۳

چکیده

در این مطالعه که به منظور تولید نهال عاری از ویروس تریستزا در پرتقال رقم واشنگتن ناول انجام شد از آزمایش فاکتوریل درقالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تیمار، چهار تکرار و ده گیاهچه به عنوان واحدآزمایشی استفاده گردید. برای اجرای آن، بافت مریستم نوک شاخه پرتقال واشنگتن ناول آلوده به ویروس به همراه دو آغازه برگی[۱] به طول دو دهم تا چهار دهم میلی‌متر از آن جدا شده و روی اپی‌کوتیل سربرداری شده گیاهچه‌های ترویر سیترنج و سیتروملو پرورش یافته درمحیط کشت مصنوعی، زمانی که سه تا پنج سانتی‌متر طول داشتند به دو روش تی معکوس و مماس با لایه زاینده آوندی گیاهچه پایه که قبلاً سربرداری شده بود پیوند گردید. گیاهان پیوندی پس از انتقال به محیط کشت مایع در اطاقک رشد با دمای ثابت ۲۷ درجه سانتی‌گراد و دوره روشنایی ۱٦ ساعت با شدت ۱۰۰۰ – ۵۰۰۰ لوکس استقرار یافتند. بعد از گیرایی پیوند، زمانی که پیوندک دارای دو برگ نمو یافته بود به ترکیب خاکی مناسب منتقل شدند. جهت بررسی آلودگی گیاهان حاصله، از گیاه محک و آزمون سرولوژیکی الایزا استفاده گردید و کلیه گیاهچه‌های پیوندی عاری از ویروس تریستزا بودند. نتایج حاصله نشان داد که قرار دادن نوک شاخه در شکاف تی معکوس موفقیت بیشتری در گیرایی پیوند داشته همچنین بین پایه‌های مورد استفاده اختلاف معنی‌دار مشاهده نگردید.

واژه‌های کلیدی: پیوند نوک شاخه، ویروس تریستزای مرکبات، محیط کشت ام اس، گیاه محک، آزمون الایزا

مقدمه

کاهش رشد، عملکرد و کیفیت میوه، محدودیت در استفاده از پایه‌ها، توقف باردهی درختان و در نهایت زوال آنها که ناشی از بیماری‌های ویروسی و شبه ویروسی است زیان‌های اقتصادی فراوانی در باغ‌های مرکبات دنیا و ایران ایجاد نموده است. به‌عنوان مثال بیماری ویروسی تریستزا به تنهایی حدود ۵۰ میلیون درخت را طی ٤۰ تا ۵۰ سال گذشته از بین برده است (فرگوسن و همکاران، ۲۰۰۰).

روش غالب در گذشته برای گریز از آلودگی به بیماری‌های ویروسی و شبه ویروسی مرکبات، انتخاب دانهال‌های نوسلار از ارقام چند جنین بود. حسن روش مذکور بر این پایه استوار است که اکثریت ویروس‌های مرکبات طی مراحل جنین‌زایی

*- مسئول مکاتبه: rezafifaei@yahoo.com

1- Two leaf primordium

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

حذف شده و انتقال نمی‌یابند و گیاهان نوسلار که با روش جنین‌زایی غیرجنسی تولید می‌شوند همان خصوصیات گیاهان مادری را دارا هستند. تنها محدودیت کاربرد این روش، طولانی بودن دوره نو نهالی در نهال‌های نوسلار حاصله می‌باشد. از جمله معایب دیگر نوسلارها می‌توان به رشد رویشی زیاد، تیغ دار بودن و ... اشاره نمود (نائور و همکاران، ۱۹۸۳).

یکی دیگر از روش‌های تولید گیاهان مرکبات عاری از ویروس، گرما درمانی می‌باشد که گیاهان حاصله، خصوصیات نونهالی ندارند. اما این روش برای حذف برخی از انواع بیماری‌های شبه ویروسی مثل اگزوکورتیس و زایلوپوروسیس مؤثر نبوده است (اسکاریا و همکاران، ۱۹۹٦). بنابراین بایستی روشی به کار گرفته شود که هم بیماری‌های ویروسی و شبه ویروسی را حذف کند و هم خاصیت نونهالی را به همراه نداشته باشد. بدین منظور از کشت جوانه انتهایی در آزمایشگاه استفاده گردید. روشی که در سطح وسیع برای تولید گیاهان علفی سالم به کار گرفته شد اما همه تلاش‌های مذکور برای به دست آوردن یک نهال مرکبات از این طریق بی نتیجه ماند (ادریس و همکاران، ۱۹۸٤)

موراشیگی و همکاران در سال ۱۹۷۲ توانستند تعداد کمی نهال مرکبات را با روش پیوند نوک شاخه گیاهان بیمار روی پایه‌های جوان درحال رشد در آزمایشگاه به‌دست آورند که بعضی از این گیاهان، عاری از اگزوکورتیس و فاقد خصوصیات نونهالی بودند. این روش به نام پیوند نوک شاخه[1] نامگذاری شد. با کمک این روش بیماری‌های تریستزا، اگزوکورتیس، استابورن وکاچکسیا خیلی آسان حذف شده و تقریباً ۱۰۰ درصد گیاهان تولیدی با روش STG عاری از این بیماری‌ها هستند. گسترده ترین برنامه‌های مرکبات در اسپانیا بر مبنای STG صورت گرفته و ۳۱ میلیون درخت سالم از این طریق تولید و در باغات این کشور کشت گردیده است (ناوارو وهمکاران، ۱۹۷۵، ۱۹۸۸ و ۱۹۹۲). تکنیک STG

1- Shoot- tip grafting (STG)

علاوه بر سالم سازی، در قرنطینه ارقام وارداتی و ممانعت از ورود عوامل بیماریزای ویروسی و شبه ویروسی نیز کاربرد دارد (دی لانگ، ۱۹۷۸).

تریستزا از لحاظ اقتصادی، مهمترین عامل بیماریزای ویروسی مرکبات و یکی از مشکلات اصلی تولید آن در جهان می‌باشد که توسط ناقلین منتقل می‌شود (رحیمیان و همکاران، ۱۳۷۹). میلیون‌ها درخت روی پایه نارنج در آرژانتین، برزیل، ایالات متحده، اسپانیا و ونزوئلا از بین رفته و یا غیر اقتصادی شدند و سایر کشورهایی که از پایه نارنج استفاده می‌کنند نیز مورد تهدید جدی این بیماری هستند. این بیماری که از آسیا منشأ گرفته و با مواد آلوده گیاهی و شته‌های ناقل به نقاط مختلف دنیا انتشار یافته است تمامی گونه‌ها، ارقام، دورگ‌های بین جنسی و برخی از خویشاوندان مرکبات را تحت تأثیر قرار داده و در سال ۱۳٤۲ با ورود پیوندک و نهال ارقام زودرس نارنگی به نام‌های ایشی کاوا و سوجی یاما از ژاپن وارد کشور شد (زارعی و همکاران، ۱۳۷٦).

عامل بیماری یک ویروس رشته‌ای شکل[2] و قابل انعطاف به ابعاد تقریبی ۲۰۰۰ × ۱۲ نانومتر می‌باشد. این ویروس، یک ریبونوکلئیک اسید (آر ان ا)[3] تک رشته‌ای با وزن مولکولی تقریباً $۶/۵ \times ۱۰^{۶}$ را در بر می‌گیرد. پوشش[4] پروتئینی اولیه، وزن مولکولی ۲٦۰۰۰ کیلو دالتون دارد. رشته قابل انعطاف آن، نسبت به تکه تکه شدن حساس است. آلودگی فقط با ذرات دارای طول کامل پایه‌گذاری می‌شود. این ویروس اساساً محدود به آوند آبکش است اما در پوست بیرونی[5] شاخه‌های جوان نیز مشاهده شده است (فرگوسن و همکاران، ۲۰۰۰).

مطالعات دیگری نشان داد کاربرد غلظت‌های مختلف توفوردی وکینیتین در زمان‌های مختلف به‌عنوان پیش تیمار پیوندک‌ها تأثیری بر موفقیت ریز پیوندی ندارد. در این آزمایش‌ها بیشتر پیوندک‌ها از بین رفته و یا به حالت

2- Clostrovirus
3- RNA
4- Capsid
5- Cortex

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

رکود فرو رفتند. علاوه بر آن تعداد گیاهان پیوندی که با موفقیت منتقل شدند بسیار کم بود و آزمون گیاهان تولیدی نیز انجام نشد (شهسوار و همکاران، ۱۹۹٤). زارعی و رحیمیان (۱۳۷۰) گزارش کردند از مجموع ۵۰ پیوند انجام شده ۱۰ پیوند موفق بوده و پیوندک‌ها پس از انجام پیوند شروع به رشد نمودند. نتایج مطلوب‌تر از پیوندک‌هایی که پس از قطع از درختان باغ به‌مدت ۲٤ ساعت در کیسه‌های پلاستیکی تیره در یخچال نگهداری شده بودند به‌دست آمد.

تحقیق حاضر به‌منظور تولید نهال عاری از بیماری ویروسی تریستزا در پرتقال رقم واشنگتن ناول انجام شد و در واقع کارآیی تکنیک پیوند نوک شاخه در عاری سازی رقم مزبور از ویروس تریستزا مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

مرحله اول: در این مرحله، برخی از عوامل مؤثر بر ریزپیوندی نوک شاخه پرتقال واشنگتن‌ناول مورد بررسی قرار گرفته و مطالعه مذکور بر اساس روش استاندارد ارائه شده توسط ناوارو و همکاران (۱۹۹۲) می‌باشد. در این بررسی، از آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تیمار در چهار تکرار و ده گیاهچه در هر تکرار به‌عنوان واحد آزمایشی استفاده گردید. متغیرها شامل: پایه‌های مختلف در دو سطح (۱- ترویرسیترنج ۲- سیترومِلو) و روش‌های مختلف قرار دادن پیوندک روی پایه در دو سطح (۱ـ قرار دادن نوک شاخه روی اپی‌کوتیل سربرداری شده به‌طوری که مقطع پیوندک مماس با لایه زاینده باشد. ۲ـ پیوند تی معکوس)

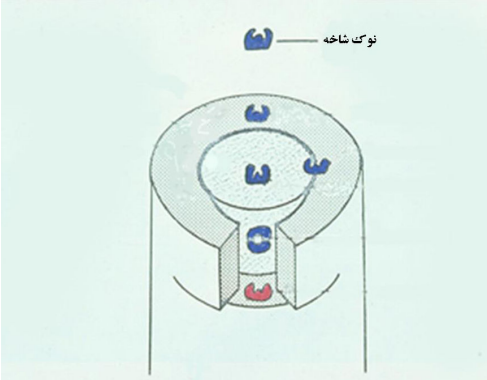
عملیات مرحله اول عبارتند از: ۱- تهیه پایه: جهت تهیه پایه، ابتدا پوسته‌های بذور آزمایشی را برداشته سپس به مدت ۱۰ دقیقه در محلول هیپوکلریت‌سدیم شش دهم درصد و توئین۲۰[1] یک دهم درصد غوطه‌ور و پس از آن سه مرتبه با آب مقطر استریل شستشو گردید. هر بذر در یک لوله آزمایش مستقل به ابعاد ۱۵۰×۲۵ میلی‌متر محتوی ۲۵ سانتی‌متر مکعب محیط کشت ام اس[2] که با یک درصد آگار جامد شده بود کاشته شد. لوله‌های کشت به‌مدت دو هفته در محیط تاریک با دمای ثابت ۲۷ درجه‌سانتی‌گراد نگهداری شدند.

تهیه پیوندک: بعد از تکثیر نهال‌های واشنگتن‌ناول نوسلار روی پایه پونسیروس تریفولیاتا، مایه‌زنی انجام شده و بعد از تندش جوانه‌ها، ابتدا شاخه‌ها به طول سه سانتی‌متر انتخاب، سپس برگ‌های آن حذف به‌طوری که طول شاخه با جوانه انتهایی به یک سانتی‌متر کاهش یافت.

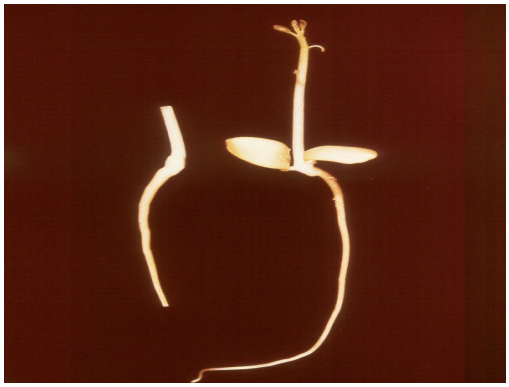
پیوند: ابتدا دانهال پایه، تحت شرایط استریل از لوله آزمایش خارج و سربرداری شد به‌طوری که حدود یک و نیم سانتی‌متر از اپی‌کوتیل باقی ماند. همچنین نوک ریشه را قطع کرده به نحوی که اندازه باقی مانده به چهار تا شش سانتی‌متر تقلیل یافت. لپه‌ها و جوانه‌های جانبی آن نیز حذف گردید. جهت آماده‌سازی پیوندک، تمامی برگ‌های باقیمانده باستثنای سه برگ آخر با استفاده از ابزار برش و بینوکولار حذف و نوک شاخه متشکل از مریستم انتهایی و سه برگ آخر به اندازه دو دهم تا چهار دهم میلی‌متر در شکاف تی معکوس یا سطح اپی‌کوتیل در لبه سربرداری شده پایه قرار گرفت.

1- Tween 20
2- MS (Murashigue and Skoog)

شکل ۱ـ منبع تهیه پیوندک.



شکل ۲- نحوه انجام دو روش پیوند



شکل ۳- آماده سازی دانهال‌های پایه جهت انجام پیوند

کاشت گیاهان پیوندی در شرایط آزمایشگاهی: گیاهان پیوندی در محیط کشت مایع متشکل از محلول ام اس، ویتامین‌های وایت[1] و محلول ساکارز با غلظت ۷۵ گرم در لیتر به مقدار ۲۵ سانتی‌متر مکعب در هر لوله آزمایش به ابعاد ۱۵۰×۲۵ میلی‌متر کاشته شده و در دمای ثابت ۲۷ درجه‌سانتی‌گراد و طول دوره روشنایی ۱۶ ساعت نگهداری شدند.

مرحله دوم: پس از اجرای مرحله اول و کسب موفقیت، شروع به تولید نهال در لوله آزمایش نموده و طرح وارد مرحله دوم گردید. در این مرحله، نهال‌های پیوندی به‌طور مستقیم به خاک منتقل می‌شوند. این نهال‌ها بایستی حداقل دارای دو برگ باشند که معمولاً سه تا شش هفته پس از پیوند، به این مرحله می‌رسند. بعد از آن، نهال‌های پیوندی به گلدان‌های محتوی ترکیب خاکی استریل با بخار آب و مناسب برای رشد مرکبات انتقال می‌یابند. روی این گلدان‌ها، به وسیله کیسه‌های پلی‌اتیلنی پوشانده شده و دور گلدان‌ها با نوارهای لاستیکی بسته شده و در قسمتی از گلخانه و در سایه که دمای آن روی ۱۸– ۲۵ درجه سانتی‌گراد تنظیم و کنترل شده قرار گرفتند. بعد از هشت تا ده روز نوار دور کیسه‌های پلی‌اتیلنی باز شده ولی کیسه‌های مذکور روی نهال باقی ماند. هشت تا ده روز بعد از باز شدن نوار، این کیسه‌ها برداشته شده و گیاهان پیوندی تحت شرایط منظم گلخانه‌ای به رشد خود ادامه دادند. این روش نیازمند شرایط بسیار کنترل شده گلخانه‌ای و مراقبت‌های مداوم است و بسیاری از آزمایشگاه‌های دنیا در هنگام انتقال نهال، به دلیل آلودگی و رشد ضعیف تلفات زیادی را متحمل شده‌اند (ناوارو و همکاران، ۱۹۹۲؛ دی پاسکوال و همکاران، ۱۹۹۹).

1- White’s vitamins

شکل ٤- انتقال گیاهان حاصل از پیوند نوک شاخه به خاک.

مرحله سوم: بعد از کسب موفقیت در ریزپیوندی و انتقال گیاهان تولیدی، این مرحله اجرا گردید. در این قسمت، جهت حصول اطمینان از تولید نهال‌های سالم پرتقال واشنگتن‌ناول، از گیاه محک و روش تست الایزا استفاده شد.

گیاه محک بیماری مذکور، لایم است که بسیار حساس بوده و بعد از مایه‌زنی علائم بیماری را سریعاً نشان می‌دهد. جهت انجام این کار، حداقل دو پیوندک از هر یک از نهال‌های تولیدی، تهیه و روی یک دانهال کی‌لایم پیوند شد. پس از موفقیت در پیوند، آن‌ها را هرس شدید نموده تا شاخه‌های جدید بوجود آید. سپس در شرایط گلخانه‌ای خنک قرار داده شدند. در صورت وجود آلودگی، پس از چند هفته علائم روشن شدن رگبرگ‌ها و قاشقی شدن برگ‌ها روی گیاهان محک ظاهر خواهد شد.

جهت انجام تست الایزا، از برگ‌ها و سرشاخه‌های جوان نهال‌های تولیدی، نمونه‌برداری و عصاره‌گیری کرده سپس عصاره مذکور در بافر رقیق شده و پس از طی مراحل مختلف آزمون الایزا، در صورت وجود آلودگی، تغییر رنگ درون چاهک‌های پلیت[1] مشاهده خواهد شد که نمایانگر واکنش آنتی‌بادی و عصاره است که در واقع واکنش مثبت همان آلودگی به تریستزا تلقی می‌گردد (رویستاکر، ۱۹۹۱).

نتیجه و بحث

جدول‌های ۱ و ۲ مبین تجزیه واریانس صفت مورد مطالعه (موفقیت پیوند) و مقایسه میانگین‌های آن می‌باشد که بررسی‌ها نشان می‌دهد روش پیوند در سطوح یک و پنج درصد معنی‌دار بوده و پیوند تی معکوس نسبت به روش قرار دادن نوک شاخه روی اپی‌کوتیل سربرداری شده ارجحیت دارد. ضمناً پایه‌های مختلف (ترویرسیترنج و سیتروملو) اثر معنی‌داری بر موفقیت پیوند نداشته است.

جدول ۱- تجزیه واریانس صفت مورد مطالعه (موفقیت پیوند).

منابع تغییرات	درجه آزادی(df)	مجموع مربعات(ss)	میانگین مربعات(ms)	Fمحاسبه شده	سطح احتمال
نوع پایه	۱	۵۰۶,۲۵۰	۵۰۶,۲۵۰	۳,۵۲۱۷	۰,۰۸۵۱
روش پیوند	۱	۱٤۰٦,۲۵۰	۱٤۰٦,۲۵۰**	۹,۷۸۲٦	۰,۰۰۸۷
اثر متقابل	۱	۱۵٦,۲۵۰	۱۵٦,۲۵۰	۱,۰۸۷۰	۰,۳۱۷۷
خطا	۱۲	۱۷۲۵,۰۰۰	۱٤۳,۷۵۰	-	-

1- Plate wells

جدول ۲- مقایسه میانگین‌های صفت مورد مطالعه به روش دانکن.

تیمارها	میانگین	آزمون مقایسه دانکن% 5
گذاشتن نوک شاخه روی اپی‌کوتیل سربرداری شده پایه ترویرسیترنج	۷۲/۵۰۰	A
پیوند نوک شاخه به‌روش تی معکوس روی پایه ترویرسیترنج	٤۷/۵۰۰	AB
قراردادن نوک شاخه روی اپی‌کوتیل سربرداری شده پایه سیتروملو	۵۵/۰۰۰	B
پیوند نوک شاخه به‌روش تی معکوس روی پایه سیتروملو	٤۲/۵۰۰	B

بررسی‌ها نشان داد بین پایه‌های مورد استفاده در این پژوهش (ترویرسیترنج و سیتروملو) اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید و در واقع پایه اثر معنی‌داری بر گیرایی و موفقیت ریزپیوندی نداشت که این مسئله با نتایج حاصله از آزمایش‌ها ناوارو و همکاران ایشان مطابقت دارد. ناوارو معمولاً در آزمایش‌ها خود از پایه ترویر سیترنج استفاده می‌کند امتیاز این پایه در سه برگچه‌ای بودن آن است به‌طوری که این صفت به عنوان مارکر عمل نموده و پایه و پیوندک به آسانی از همدیگر قابل شناسایی هستند.

همچنین تجزیه واریانس داده‌ها، مبین آن است که روش پیوند تی معکوس نسبت به روش قرار دادن نوک شاخه روی اپی کوتیل سربرداری شده ارجحیت دارد و درصد گیرایی پیوند بالاتر است. ناوارو در آزمایش‌ها خود اختلاف معنی‌داری بین این دو روش مشاهده نکرده است لیکن پیوند به روش تی معکوس به‌صورت استاندارد درآمده زیرا جوانه در این حالت به راحتی رشد کرده و با شاخه‌های نابجا اشتباه نمی‌شود.

اسکاریا و رویستاکر روش جدیدی را در نحوه پیوندزنی به کار بردند. به این ترتیب که از پیوند گاوه‌ای[1] استفاده نموده و آن را با روش پیوند تی معکوس مقایسه نمودند. لیکن تفاوت معنی‌داری بین این دو روش مشاهده نگردید.

برخی مطالعات نشان داد پایه ترویر سیترنج از بین پایه‌های مورد استفاده شامل نارنج، ترویر سیترنج، پونسیروس و راف لمون، بهتر از سایرین بود همچنین بیشترین موفقیت پیوند زمانی حاصل شد که پیوندک در شکاف تی معکوس قرار داده شد. موارد مذکور با نتایج حاصل از این تحقیق مطابقت دارد. همچنین بررسی‌ها نشان داد استفاده از پیوندک‌های دارای دو آغازه برگی نقش مؤثری در تولید گیاهان عاری از بیماری ویروسی کانکیوگام دارد (چالوی و رحیمیان، ۱۹۹۲).

در تحقیق حاضر انتقال مستقیم گیاهان پیوندی به خاک (انتقال از شرایط آزمایشگاهی به محیط بیرون) با موفقیت بالایی صورت گرفته و به‌طور معمول بیش از ۹۰ درصد نهال‌های انتقال یافته رشد خوبی داشته و به بقاء خود ادامه دادند که با نتایج حاصل از مطالعات ناوارو مطابقت دارد. این روش نیازمند شرایط مساعد گلخانه‌ای و مراقبت‌های مداوم است و اکثر تلفات نهال‌های منتقل شده به دلیل عدم ایجاد شرایط مطلوب گلخانه‌ای است.

همچنین تست الایزای نمونه‌های انتقال یافته و استفاده از نبات محک جهت حصول اطمینان از سلامت آنها نشان داد که نمونه‌های مزبور عاری از ویروس تریستزا شده و روش پیوند نوک شاخه در حذف عامل بیماری‌زا موفقیت آمیز بوده است.

لذا بر اساس نتایج حاصله به نظر می‌رسد تکنیک پیوند نوک شاخه با بهره‌گیری از روش پیوند تی معکوس روی پایه‌های سه برگچه‌ای نقش بسیار مؤثری در حذف ویروس تریستزا داشته و می‌تواند جایگزین مناسبی برای روش‌های قدیمی سالم سازی همانند نوسلار گیری، گرما درمانی و ... باشد. علاوه‌بر آنکه می‌توان از این تکنیک در برنامه‌های سالم‌سازی، قرنطینه ارقام وارداتی و جداسازی ویروس‌ها در آلودگی‌های مرکب نیز بهره‌مند شد. گیاهان حاصله با این روش، خصوصیات نونهالی نداشته و معمولاً دو سال بعد از پیوند تشکیل گل و میوه می‌دهند. در این تحقیق از روش پیوند نوک شاخه در تولید تعداد محدودی

1- Wedge grafting

نهال عاری از بیماری ویروسی تریستزا استفاده شده که تجاری کردن آن و تولید نهال سالم و عاری از بیماری‌های ویروسی و شبه ویروسی و همچنین استفاده توام آن با گرما درمانی می‌تواند نقش مؤثری در تحقق اهداف کشاورزی و توسعه این روش ایفا نماید. البته بایستی بدین نکته نیز توجه نمود که ریشه کنی و امحاء درختان آلوده نیز بایستی به‌طور همزمان انجام شود تا علاوه‌بر در اختیار داشتن منابع مادری سالم محیط سالمی نیز داشته و با افزایش عملکرد و کیفیت محصول، گام مؤثرتری در خودکفایی کشور عزیزمان در تولید نهال‌های سالم و عاری از بیماری برداشته شود.

منابع

۱.رحیمیان، ح.، علوی، و. و شایگان، ج. ۱۳۷۹. زوال درختان پرتقال روی پایه نارنج نشانه‌ای بر احتمال آغاز انتقال طبیعی ویروس تریستزای مرکبات در مازندران.خلاصه مقالات چهاردهمین کنگره گیاهپزشکی ایران، شهریور ۱۳۷۹، صفحه ۱۳۲.

۲.زارعی، ع. و رحیمیان، ح. ۱۳۷٦. عاری‌سازی دو رقم نارنگی انشو از ویروس تریستزا توسط پیوندک نوک شاخه. مجله بیماریهای گیاهی، جلد ۳۳، صفحه ۸۹-۸٤.

3.Chalavi, V., Raeini saraj, M., and Rahimian, H. 1992. Elimination of Concave gum pathogen from Thomson navel trees through shoot tip grafting. Proc. Int. Soc. Citriculture, 814.

4.Delang, J.H. 1978. Shoot tip grafting, a modified procedure. Citrus and sub.fruit J. 53: 13-15.

5.De pasquale, F., Giuffrida, S., and Carimi, F. 1999. Minigrafting of shoots, roots, inverted roots, and somatic embryos for rescue of invitro citrus regenerants. J. Amer. Soc. Hort. Sci.124 (2): 152-157.

6.Edriss, M.H., and Burger, D.W. 1984. Micrografting shoot tip culture of citrus on three trifoliate rootstocks. Scientia Hort. 23: 255-259.

7.Ferguson, J.J., and Garnsey, S.M. 2000. Citrus viruses and Virus-like diseases. Available on the WWW: URL:http://edis. ifas. ufl. Edu/BODY_CH088.

8.Navarro, L. 1992.Citrus shoot tip grafting invitro.Biotechnology in agriculture and orestry,V.18,327-338.

9.Navarro, L. 1988. Application of shoot tip grafting in vitro to woody species. Acta Hort. 227: 43-55.

10.Navarro, L., Roistacher, C.N., and Murashigue, T. 1975. Improvement of shoot tip grafting invitro for virus-free citrus. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 100: 471-479.

11.Nauer, E.M., Roistacher, C.N., Carson, T.L., and Murashigue, T. 1983. Invitro shoot tip grafting to eliminate citrus viruses and virus-like pathogens produces uniform budlines. Hortscience 18(3): 308-309.

12.Roistacher, C.N. 1991. Graft-transmissible diseases of citrus. Handbook for detection and diagnosis FAO publication.

13.Shahsavar, A., and Khosh-khui, M. 1994. The effects of several variables on shoot tip grafting of Clementine mandarin onto Troyer citrange. Iran agricultural research 13:1-18.

14.Skaria, M., Roistacher, C.N., and Da graca, J.V. 1996. A virus – free Citrus budwood program for Texas. Proc. Int.soc. Citriculture, 366-368.

J. Agric. Sci. Natur. Resour., Vol. 13(6), Feb-Mar 2007
www.magiran.com/jasnr

Application of STG technique for production of Washington navel sweet orange free of tristeza virus

R. Fifaei[1], S. Khoshkam[2], H. Rahimian[3], Y. Tadjvar[1] and H. Taheri[1]
[1]Scientific members of Iran Citrus Research Institute (Ramsar), [2]Researcher of Agricultural Biotechnology Institute (Karaj), [3]Professor College of Agriculture, Mazandaran University (Sari), Iran.

Abstract

In this research, that was carried out for produce CTV free plants, factorial design based on complete randomized design with four treatments and four replications was used. Each treatment had 10 plantlets. Shoot-tip of infected Washington navel orange by tristeza containing meristem and two leaf primordia was excised (0.2 – 0.4 mm). It was grafted on Troyer Citrange and Citrumelo seedlings by two methods, inverted T–budding and in contact with the vascular ring. These seedlings had 3-5 cm length. Grafted seedlings were planted on liquid medium and incubated on growth chamber in 27 °c and 16 hours photoperiod with 1000 lux illumination. If grafting was successful, plants were transplanted on suitable soil. Shoot-tip grafted plants were tested by DAS ELISA against tristeza virus. All of them were not infected. The results showed that inverted T- budding was more successful. There were no significant differences between used root stocks.

Keywords: Shoot-tip grafting (STG); Citrus tristeza virus (CTV); MS medium; Indicator plant; ELISA test