

विषाणु रहित लिलियम के स्वस्थ पौधों का उत्पादन

राजाराम, अर्पणा मेहरा, विपिन हल्लन एवं ए ए जैदी
पुष्प विज्ञान विभाग, हिमालय जैवसम्पदा प्रौद्योगिकी संस्थान
पालमपुर 176 061 (हि.प्र.)

सारांश : व्यावसायिक पुष्प उत्पादन के क्षेत्र में लिलियम (कुमुदनी) का विश्व में विशेष स्थान है, क्योंकि इन कर्तित पुष्पों की सुन्दरता, आकर्षण, आकार व रंग इन्हें अत्यधिक लोकप्रिय बनाते हैं। लिली की बहुत सी प्रजातियाँ हैं जिनमें ओरियंटल, एशियाटिक, टाइगर, एवं लिलियम लांजीफ्लोरम बहुत ही प्रचलित हैं। अन्तर्राष्ट्रीय बाजार में लिलियम बहुत प्रचलित एवं मूल्यवान शल्क कन्द वाला अलंकृत पौधा है। भारतवर्ष में इनके पुष्पों की माँग व खेती की संभावना दिन-प्रतिदिन बढ़ती ही जा रही है। मुख्यतः प्रतिकूल मौसम में विदेशों में जब ये फूल नहीं उगते, तब भारत में इनका उत्पादन करके निर्यात द्वारा इनसे विदेशी मुद्रा अर्जित करने की अत्यधिक सम्भावना है।

Commercial Production of Healthy Plants of Virus free Lilies

Raja Ram, Arpana Mehra, Vipin Hallan & A A Zaidi
Floriculture Division, Institute of Himalayan Bioresource Technology, Palampur 176 061 (H.P.)

Abstract

Lilies are among the top ten cut flowers of the world. It is very important flower and it is quite diverse in form and colour. The lilies are high in demand in floriculture industries both as cut flower and pot plant. Lilies are commonly grown in hills having mild climate and also in the plains during the winter season. In India planting material is being imported at very high cost but the material has been often found to be infected with viral diseases. The limiting factor in large-scale cultivation of lilies is its susceptibility to large number of diseases caused by viruses. Viruses are important considerations for successful commercial production of planting material. As lilies are propagated vegetatively, therefore all infected bulbs used for forcing, propagate the virus from one generation to the other. Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA), electron microscopy (EM) and reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) have been used to efficiently index the viruses from liliium bulbs. In order to improve the quality of lilies, tissue culture techniques plays an important role for liliium industry recovering virus-free planting materials as well as their mass multiplication from virus infected plants.

प्रस्तावना

कुमुदिनी में सामान्यतः कन्द प्रपत्र द्वारा वानस्पतिक प्रवर्धन होता है तथा संक्रमित पौधों के कारण विषाणु एक पीढ़ी से दूसरी पीढ़ी में संचरित होते रहते हैं। जिसके कारण पौधों की बहुत बड़ी संख्या स्वयं ही विषाणु से संक्रमित हो जाती है। परिणामस्वरूप, वानस्पतिक प्रवर्धन विषाणुओं के संचय और फैलाने में अप्रत्याशित रूप में सहायक सिद्ध होता है।

कुमुदिनी के विषाणु

संसार के उन समस्त भागों में जहाँ लिली की खेती की जाती है, विषाणुओं का संक्रमण और उनके द्वारा होने वाले नुकसान

का वर्णन मिलता है, ऐसे देश जहाँ लिलियम की खेती या उत्पादन किया जाता है मुख्यतः यूरोप, अमेरिका, इजराइल, भारत, चीन, जापान और कोरिया हैं जहाँ पर लिली को संक्रमित करने वाले विषाणुओं का पता लगाया गया है। कुमुदिनी के प्रमुख विषाणुआ. म. लिली सिम्प्टमलेस (*Lily symptomless*) ट्यूलिप ब्रेकिंग वाइरस (*Tulip breaking virus*), ट्यूलिप बैंड ब्रेकिंग वाइरस (*Tulip band breaking virus*), लिली वाइरस एक्स (*Lily virus X*), ट्यूलिप टॉप ब्रेकिंग वाइरस (*Tulip top breaking virus*), ट्यूलिप वाइरस एक्स (*Tulip virus X*), कुकुम्बर मोजैक वाइरस (*Cucumber mosaic virus*), लिली रियो वाइरस (*Lily Reo virus*), टोमेटो रिंगस्पॉट वाइरस (*Tomato ringspot virus*), टोवैको रैटल

वाइरस (*Tobacco rattle virus*) इत्यादि है। ये सभी विषाणु कुमुदिनी की खेती को संक्रमित करते हैं तथा इसके कारण पुष्प उद्योग को बहुत बड़ा नुकसान उठाना पड़ता है।

विषाणुओं द्वारा पौधों व कन्दों पर उत्पन्न लक्षण

इन विषाणुओं के कारण पौधों व कन्दों के ऊपर विभिन्न प्रकार के लक्षण उत्पन्न होते हैं, जैसे रोगग्रस्त शल्क कन्दों पर भूरे रंग के गोलाकार चित्तीदार धब्बे, तने का छोटा होना, पत्तियाँ समय से पूर्व गिर जाना, पत्तियों के ऊपर किर्मीर के लक्षण उत्पन्न हो जाना सम्मिलित हैं। इन लक्षणों के आधार पर रोगी पौधे को उखाड़कर अलग किसी गड्ढे में दबा देना चाहिए अन्यथा यह विषाणु संक्रमित पौधे अन्य पौधों को भी संक्रमित कर सकते हैं। किसान एवं शोधकर्ता इन लक्षणों के आधार पर एलाइजा (ELISA), आर.टी.पी.सी. आर (RT-PCR) इलैक्ट्रॉन सूक्ष्मदर्शी (EM) द्वारा विषाणुओं के संक्रमण के बारे में जानकारी प्राप्त कर सकते हैं तथा अन्य पौधों को इन से होने वाली क्षति से बचा सकते हैं (प्लेट I A, B, C, D).

लिलियम के प्रकार

कर्तित पुष्प वाली लिलियम को चार भागों में वर्गीकृत किया गया है : 1. एशियाटिक हाइब्रिड, 2. ओरियंटल हाइब्रिड, 3. लिलियम स्पेसियम, 4. लिलियम लांजीप्लोरम,

उपरोक्त सभी लिलियम के कन्दों को कर्तित पुष्प के रूप में सम्पूर्ण संसार में उगाया जाता है, और लिलियम के आकर्षित व रंग-बिरंगे पुष्पों की मांग पुष्प बाजार में बहुत अधिक है।

भारत में लिलियम की खेती

लिलियम की खेती उन सभी स्थानों पर की जा सकती है, जहाँ तापमान 18-27°C के बीच में रहता हो, मैदानी क्षेत्रों में इसकी खेती सर्दियों में की जाती है। भारत में मुख्यतः दिल्ली, हरियाणा, पंजाब, उत्तरांचल (नैनीताल, अल्मोड़ा) बंगलौर, कर्नाटक, महाराष्ट्र (पूना, अहमदनगर, नासिक) हिमाचल प्रदेश (कांगड़ा, चम्बा, मण्डी, कुल्लु शिमला, सोलन) में सफलतापूर्वक की जाती है।

विषाणु रहित लिली के पौधों का उत्पादन

यद्यपि फफूँदी एवं बैक्टीरिया द्वारा उत्पन्न बीमारियों का उपचार विभिन्न रसायनों के प्रयोग द्वारा किया जा सकता है, परन्तु पौधों को इतनी आसानी से विषाणुमुक्त नहीं किया जा सकता है, तथा एक बार विषाणुग्रस्त होने पर अनेक सावधानियों रखनी पड़ती हैं ताकि विषाणु संक्रमित पौधे से विषाणुओं का प्रसार न हो पाए। विषाणुमुक्त पौधों के उत्पादन के लिए ऊतक संवर्धन (tissue culture) तकनीक का उपयोग विभिन्न शल्क कन्दों और प्रकन्दों की अच्छी उपज वाली

जातियों एवं बहुतायत (mass multiplication) गुणन प्रवर्धन के लिए किया जाता है (चित्र 1)।

इस विधि में विषाणु ग्रस्त पौधों के सिरा विभज्योतक (0.2-0.5 nm) को एक सूक्ष्मदर्शी की सहायता से निकालकर ऊतक संवर्धन माध्यम में डाल दिया जाता है। यद्यपि कुछ बड़े आकार के विभज्योतक सिरों जिनमें सूक्ष्म पत्तियाँ भी सम्मिलित हों, का प्रयोग निश्चित रूप से शीघ्र ही परिणाम दे सकता है, परन्तु ऐसे पौधों का विषाणुमुक्त होना आवश्यक नहीं है। दो या तीन सप्ताह के उपरान्त कटे हुए भाग की कोशिकाओं की कार्यशीलता एवं जननवृद्धि के कारण नई कोपलें, पादपक, किण या भ्रूण का विकास हो जाता है तथा बाद में पूर्णरूप से विकसित पौधे बन जाते हैं।

कन्द प्रपत्र को काट कर ऊतक संवर्धन माध्यम में डालने पर प्रपत्र के कटे हुए भाग या निचले भाग से 4 या 5 सप्ताह के बाद बहुत से नये पादपक बनने शुरू हो जाते हैं, इन पादपकों के बड़े हो जाने पर इनसे भी विभज्योतक सिरा लिया जा सकता है और अधिक संख्या में विभज्योतक सिरों प्राप्त किये जा सकते हैं। इनको रासायनिक माध्यम में डालने के पश्चात् अधिक संख्या में पौधे प्राप्त कर सकते हैं (प्लेट I E)।

विभज्योतक शिखाग्र में विषाणु न होने के निम्नलिखित कारण हैं: 1. विभज्योतक में प्रवहन प्रणाली का न होना जिससे विषाणु प्रवाह में बाधा उत्पन्न होती है। 2. इन भागों में मेटाबोलिक (metabolic) प्रक्रिया एक अन्य कारण हो सकता है, जिससे विषाणु की वृद्धि रुक जाती है या विषाणु का पनपना रुक जाता है। 3. इन भागों में ऑक्सिजन का प्रचुर मात्रा में पैदा होना जिससे विषाणुओं के जनन प्रक्रिया में बाधा उत्पन्न हो जाती है। 4. विषाणु प्रक्रमण रोकने के लिए कोशिकाओं में आन्तरिक प्रतिरक्षा प्रणाली का स्वतः विकास होना।

लिली के विषाणु संक्रमित पौधों से भी विषाणु मुक्त पौधों का विकास सम्भव है लेकिन इसके उत्पन्न नये पौधों को या जिस पौधे से कर्तोतक (explant) लेते हैं, दोनों का ही ताप उपचार 30-42°C पर एक माह के लिए किया जाता है। यदि इस विधि से भी पौधे विषाणुमुक्त नहीं होते हैं तब इनका ताप व प्रतिविषाणु रसायन द्वारा उपचार किया जाता है। कभी कभी विभज्योतक शिरा के साथ निम्न ताप उपचार किया जाता है, इस विधि से भी विषाणुमुक्त पौधों का विकास सम्भव है^{2,3}।

दिये गये माध्यम से स्टॉक धोल तैयार करने के पश्चात् उसमें से आवश्यकतानुसार, माध्यम को लेकर उसका पीएच NaOH के लवण से 5.8 तक रखते हैं फिर इसे अगार 8 g/L के हिसाब से मिलाकर गर्म करते हैं ताकि अगार सम्पूर्ण रूप से घुल जाय फिर माध्यम को शीशियों में डालकर ऑटोक्लेव करने के पश्चात् इन शीशियों को +4°C पर रख देना चाहिए।

ऊतक संवर्धन में प्रयोग होने वाला रासायनिक माध्यम

Macronutrients	mg/L	
KNO ₃	1650	
NH ₄ NO ₃	1900	
CaCl ₂	440	स्टॉक 1
MgSO ₄ ·7H ₂ O	370	
KH ₂ PO ₄	170	
Micronutrients	µg/L	
MnSO ₄ ·4H ₂ O	22300	
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	8600	स्टॉक 2
H ₃ BO ₃	6200	
KI	830	
CuSO ₄ ·5H ₂ O	25	
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	250	
COCl ₂ ·6H ₂ O	25	
FeSO ₄ ·7H ₂ O	27850	स्टॉक 3
Na ₂ EDTA	37250	
Vitamin/L		
Inositol	100mg	
Thiamine HCl	100µg/L	स्टॉक 4
Nicotinine Acid	500µg/L	
Pyridoxin HCl	500µg/L	
Amino Acids		
Glycine	2mg/L	स्टॉक 5

प्रारंभिक पादपक उत्पन्न करने के लिए [(MS (1962) Medium)]

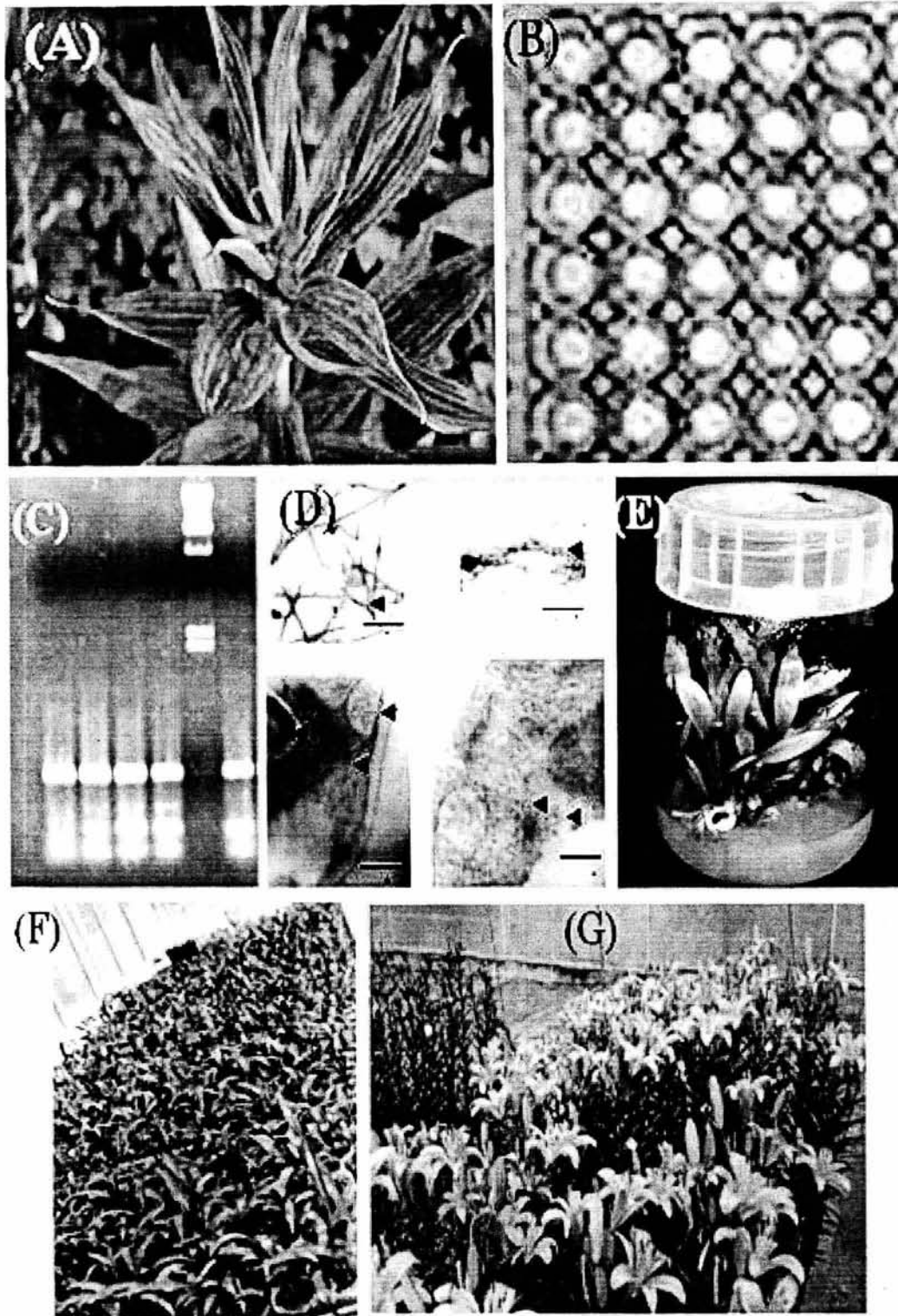
(1)	सुक्रोज	30.0 g/L	एन.ए.ए	1.0 mg/L
	अगार	8.0 g/L	बीएपी	0.5 mg/L
	पीएच	5.7		

परिणाम - पादपक या छोटे कन्द (bulblet)

(2) MS (1962) Medium

सुक्रोज	30 g/L	अगार	8 g/L
एन.ए.ए.	0.5 mg/L	काइनेटिन	10 mg/L
पीएच	5.8		

परिणाम : छोटे आकार के कन्द प्ररोह सहित



चित्र 1— विषाणुमुक्त कुमुदिनी (लिली) का उत्पादन : (A) एशियाटिक हाइब्रिड लिली के पत्तों पर मोजेक के लक्षण, (B) एलाइज़ा विधि द्वारा विषाणुओं की जांच, (C) आर टी पी-सी आर विधि से कुकुम्बर मोजेक वाइरस की जांच, (D) इलेक्ट्रॉन माइक्रोस्कोप विधि से लिली सिम्टमलेस वाइरस की जांच, (E) विषाणुमुक्त लिली का संवर्धन, (F) पौध घरों में विषाणुमुक्त लिलियम का कठोरीकरण, (G) विषाणुमुक्त लिली के पौधे

सारणी 1— पुष्प उत्पादन के लिए कन्दों का आकार

कन्द	कन्द का आकार (परिधि में)
एशियाटिक हाइब्रिड	10-12 cm, 12-14 cm, 14-16 cm और 16 से ऊपर
ओरियंटल हाइब्रिड	16-18 cm, 20-22 cm, 22 cm से ऊपर
लिलियम स्पेसियस	18-20 cm, 20-22 cm और 22 cm से ऊपर
लिलियम लॉजीफ्लोरम	14-16 cm, 16-18 cm, 18-20 cm, 20-22 cm और 22 cm से भी अधिक

सारणी 2 — कीटनाशक रसायनों द्वारा लिलियम के विषाणु वाहकों का नियन्त्रण

क्र. सं.	विषाणु	वाहक	नियन्त्रण विधि
1.	लिली सिम्प्टमलेस	एफिड (माइजस पर्सिकी)	मैलाथियान 1 mL/L या रोगार 1 mL/L
2.	ट्यूलिप ब्रेकिंग वाइरस	एफिड (माइजस पर्सिकी)	मैलाथियान 1mL/L या रोगार 1 mL/L
3.	ट्यूलिप बैंड ब्रेकिंग वाइरस	एफिड (माइजस पर्सिकी)	मेटासिड 1 mL/L या रोगार 1 mL/L
4.	ट्यूलिप टॉप ब्रेकिंग वाइरस	एफिड (माइजस पर्सिकी)	मेटासिड 1 mL/L
5.	कुकुम्बर मोजैक वाइरस	एफिड (माइजस पर्सिकी)	मेटासिड 1 mL/L या रोगार 1 mL/L
6.	नर्सिससु मोजैक वाइरस	एफिड (माइजस पर्सिकी)	मेटासिड 1 mL/L या रोगार 1 mL/L
7.	एराविज मोजैक वाइरस	एफिड (माइजस पर्सिकी)	मेटासिड 1mL/L या रोगार 1 mL/L
8.	लिली वाइरस एक्स	संक्रमित पौधों के द्वारा	संक्रमण रहित पौधे लगाए तथा स्वच्छ निर्जर्मिक कृषि औजार का प्रयोग करें
9.	ट्यूलिप वाइरस एक्स	संक्रमित पौधों के द्वारा	संक्रमण रहित पौधे लगाए तथा स्वच्छ निर्जर्मिक कृषि औजार का प्रयोग करें
10.	टोमेटोरिंगसॉट वाइरस	सूत्रकृमि के द्वारा भूमि में मिलाएं	थाइमेट 10-जी या फ्यूराडॉन का पौधे लगाने से पहले 10 g/m ²
11.	टोबैको रैटल	सूत्रकृमि के द्वारा भूमि में मिलाएं	थाइमेट 10-जी या फ्यूराडॉन का पौधे लगाने से पहले 10 g/m ²

कीटनाशकों का प्रयोग 15-15 दिन के अन्तराल पर करें।

कर्तोतक की तैयारी व संरोपण

विभज्योतक सिरा या कन्दों के स्केल को बहते हुए पानी में अच्छी तरह से साफ कर लेना चाहिए जिससे इसमें लगी हुई मिट्टी एवं अन्य गन्दगी साफ हो जाए। साफ किए गये कर्तोतकों को Tween-20 के दो या तीन बूंद पानी में मिलाकर पुनः साफ कर लेना चाहिए, इसके पश्चात आटोक्लेव पानी से चार बार साफ करना चाहिए। ट्वीन-20 के बाद इन कर्तोतक को 70% अल्कोहल से कुछ सेकेंड के लिए साफ करना चाहिए। अन्त में इन कर्तोतकों को 0.1% परक्यूरिक क्लोराइड में 2 मिनट तक डालकर रखने के पश्चात् तीन से चार बार आटोक्लेव पानी से स्वच्छ कर लेना चाहिए।

संरोपण से पहले जिन बोतलों, शीशियों व परखनली में माध्यम डाला गया है, उसको लेमिनार फ्लो में यू.वी. लाइट से संक्रमण उपचार के लिए 15-20 मिनट के लिए रखा जाता है फिर साफ किए हुए कर्तोतकों के छोटे टुकड़े काट कर लेमिनार फ्लो के अन्दर

शीशियों में चिमटी से अन्दर डाल देना चाहिए फिर इन शीशियों को कल्चर रूम में रख देना चाहिए। इस कल्चर का तापमान 20-25°C तक होना चाहिए तथा 16 घण्टे प्रकाश व 8 घण्टे अंधेरा होना अत्यन्त आवश्यक है। 3-4 सप्ताह के पश्चात् कल्चर किये गए कर्तोतक के आस-पास से नये छोटे-छोटे कन्द प्ररोह के साथ निकलना प्रारम्भ हो जाते हैं। इन छोटे-छोटे कन्दों को पुनः नई शीशियों में सब-कल्चर करते रहना चाहिए, इस प्रकार इनका बहुतायत से गुणन केवल ऊतक संवर्धन माध्यम से ही किया जा सकता है और सम्पूर्ण वर्ष भर पौधे प्राप्त किये जा सकते हैं।

उपसंवर्ध

लिली के कल्चर जब अधिक मात्रा में तैयार हो जाएं तब कल्चर की दशा के अनुसार, कल्चर और सब-कल्चर करते रहना चाहिए। सब-कल्चरिंग के समय 0.3-0.6 cm व्यास तक के छोटे कन्दों को अलग कर लेना चाहिए कन्द तथा बहुत ही छोटे तथा जो तैयार नहीं

हुए उनको सब- कल्चर कर देना चाहिए जिससे वह बड़े कन्द बना सकें। इस प्रकार लिली के छोटे पौधे प्रत्येक माह या 15-15 दिन के अन्तराल पर छोटे आकार के कन्दों को शीशियों से निकालने के पश्चात् उनको अच्छी तरह से साफ करने के लिए हल्के गुनगुने पानी में ब्रुश से जड़ों के चारों तरफ लगे हुए माध्यम को अलग करने के पश्चात् कठोरीकरण के लिए कठोरीकरण गृह में 3 सप्ताह के लिए रखते हैं। इस कठोरीकरण गृह की आर्द्रता 90% तक होनी चाहिए। नहीं तो ऊतक संवर्धित कोमल पौधे मर जाते हैं। कठोरीकरण हो जाने के पश्चात् पौधों को पॉलीहाउस में लगा देते हैं तथा इसकी मृदा जैविक पदार्थों से युक्त व बलुई-दोमट होनी चाहिए (प्लेट 1F)। इस मृदा में यह ऊतक संवर्धित कन्द धीरे धीरे बड़े होने लगते हैं।

इन ऊतक संवर्धित छोटे आकार के कन्दों को बड़ा कन्द बनने में करीब 12-18 माह लग जाते हैं, तब जाकर इनका आकार 16-18cm परिधि वाला कन्द बनता है। इस प्रकार लिली के कन्दों का एक उत्पादन चक्र बन सकता है तथा प्रत्येक माह अच्छे आकार के कन्द प्राप्त हो सकते हैं (सारणी 1)।

इन विषाणु रहित लिली के कन्दों के स्केल के द्वारा भी छोटे आकार के कन्द बनाये जा सकते हैं। इसके लिए लिली के स्केल को रेत में लगाकर, रेत की सतह को हर समय नम बनाये रखने की आवश्यकता होती है तथा प्रवर्धन गृह का तापमान 20-25°C रहने से स्केल सूखते नहीं है। अधिक तापमान हो जाने पर प्रवर्धन गृह के ऊपर 50% छाया वाला हरा नेट डालने से इस गृह का तापमान बनाये रखने में सहायता मिलती है, स्केल के द्वारा लगाये गये स्केल से 4 सप्ताह के बाद नये छोटे आकार के कन्द बनना शुरू हो जाते हैं तथा 8 सप्ताह के पश्चात स्केल से छोटे कन्दों को निकालकर 2 g/L बेवीस्टीन से उपचार करने के पश्चात इनको पॉलीहाउस में लगा देना चाहिए, लेकिन स्केल के द्वारा साल भर पौधे तैयार नहीं किये जा सकते। केवल ऊतक संवर्धन ही एक ऐसा माध्यम है, जिससे पौधे सम्पूर्ण वर्ष भर तैयार हो सकते हैं। विषाणुओं की रोकथाम के लिए रोगवाहकों पर नियन्त्रण भी आवश्यक है। सामान्यतः

कीटनाशी रसायनों का प्रयोग इसी उद्देश्य के लिए किया जाता है (सारणी 2)।

विषाणु मुक्त पौधों से लाभ

विषाणु संक्रमित लिली के शल्कन्द से उत्पन्न पौधे विषाणुमुक्त पौधों से 25-50% तक छोटे होते हैं। विषाणुमुक्त शल्कन्दों से अच्छी गुणवत्ता वाले फूल उत्पन्न होते हैं। तने की लम्बाई, प्रति तने में फूलों की संख्या, पत्तियों की लम्बाई, कलिका तथा फूलों का आकार, विषाणुमुक्त पौधों पर अच्छे पाए गये हैं। इन फूलों को काटकर रखने पर वे अधिक दिनों तक ताजा रहते हैं। विषाणुमुक्त पौधों की ऊंचाई तथा पत्तियों का फैलाव संक्रमित पौधों की तुलना में 70% तक अधिक होता है। विषाणु मुक्त पौधे संक्रमित पौधों की तुलना में सदैव लम्बे तथा उनके पुष्प लम्बे, संख्या में अधिक तथा विकसित होते हैं।

आभार

लेखक डा. परमवीर सिंह आहूजा, निदेशक, आईएचबीटी, पालमपुर तथा डीवीटी भारत सरकार, नई दिल्ली, के आभारी हैं जिनके आर्थिक अनुदान एवं सहयोग तथा उत्साहवर्धन के फलस्वरूप यह लेख तैयार हो सका।

संदर्भ

1. मैथ्यूज आर ई एफ, प्लांट वायरोलॉजी. न्यूयार्क, एकेडमिक प्रेस, (1981).
2. सिम्पिकिन्स आई, वॉकी डी जी ए एवं नीले एच ए, कैमिकल सैप्रेशन ऑफ वायरस इन कल्चर्ड प्लांट टिशूज, एनल्स ऑफ एप्लाइड बायोलॉजी, 99 (1981) 161-169.
3. कर्था के के, मेरिस्टेम कल्चर एण्ड क्रायोप्रिसर्वेशन मेथड्स एप्लिकेशन्स इन प्लांट टिशू कल्चर (टीए थ्रोप, ईडीएस) (1981) पी पी 181-211, एकेडमिक प्रेस, न्यूयार्क.
4. होलिग्स एम एवं स्टोन ओ एम, टेक्निकल प्रॉब्लम इन द प्रोडक्शन ऑफ वायरस टेस्टेड प्लांटिंग मैटीरियल. साइनिसिया हार्टिकल्चर, 20 (1968) 57-72.