

तन्तु प्रजनन् (Tissue Culture) प्रविधि द्वारा रोगमुक्त सूक्ष्म वीउ (Micro-tuber) आलु उत्पादन

डा. शम्भु प्रसाद धिताल*
र विनेश मान शाखः

परिचय

आलु एक यस्तो वाली हो जसमा आलु दाना नै वीउको रूपमा प्रयोग गरिने हुनाले भाइरसजन्य (विषाणुजनित) रोगहरु पुरानो पुस्ताबाट नयाँ पुस्तामा सदैँ आउँदछ र उत्पादकत्वमा ठूलो ह्रास ल्याउँदछ । आलुमा ३० भन्दा बढी प्रकारका भाइरस रोगहरु लाग्ने भएतापनि नेपालमा हालसम्म ६ प्रकारका आलुमा लाग्ने भाइरस रोगहरु जस्तै पात दोत्रिने भाइरस (PLRV), भाइरस एक्स (PVX), भाइरस वाई (PVY), भाइरस एस (PVS), भाइरस ए (PVA) र भाइरस एम् (PVM) को अध्ययन तथा अनुसन्धान कार्य भइरहेको छ । स्वस्थ वीउ आलु उत्पादनको लागि क्लोनल सेलेक्सन (clonal selection), मास सेलेक्सन (mass selection), कलमी (stem cuttings), आलुको टुसा रोपण (sprout cuttings) तथा तन्तु प्रजनन् (tissue culture) प्रविधिहरु प्रमुख हुन् । माथि उल्लेखित प्रविधिहरु मध्ये तन्तु प्रजनन् प्रविधिबाट कम समयमा धेरै परिमाणमा गुणस्तरयुक्त स्वस्थ विरुवा (plantlets) तथा सूक्ष्म वीउहरु (micro-tuber) उत्पादन गर्न सकिन्छ । हाल आएर यस प्रविधिको महत्व निकै बढ्दै गएको देखिन्छ ।

तन्तु प्रजनन् (Tissue Culture) प्रविधि द्वारा रोगमुक्त विरुवा उत्पादन

विरुवको कुनै पनि प्रजनन्शील भाग मुना, पात, डाँठ, जराको सानो अंशबाट नियन्त्रित वातावरणमा कम समयमा कुनै निश्चित उद्देश्यका साथ विरुवाहरु उत्पादन गर्ने प्रविधिलाई तन्तु प्रजनन् (tissue culture) प्रविधि भनिन्छ । यस प्रविधिमा विरुवाको जात र आवश्यकता अनुसार उपयुक्त पौष्टिक खाद्यतत्वहरु समावेश गरी शीशा वा प्लाष्टिकको भाँडोमा कीटाणुरहित वातावरणमा प्रकाश, सापेक्षिक आर्द्रता र तापक्रमलाई नियन्त्रण गरी पूर्ण विरुवाको रूपमा हुर्काउन र बढाउन सकिन्छ । नेपालमा प्रयोगमा आइरहेको तापक्रम विधि (Thermo-therapy) र टिप कल्चर विधि (Meristem tip culture) द्वारा उन्नत जातका आलुलाई भाइरस रोगहरुबाट मुक्त पार्न सबभन्दा पहिले वीउ आलुलाई ३७-३९ डिग्री सेल्सियस तापक्रममा करिब २-४ हप्तासम्म राखी टुसाउन दिइन्छ । टुसालाई काटी आवश्यक रसायनद्वारा सतह निर्मलीकरण (surface sterilization) गरीसकेपछि, कीटाणुरहित अवस्थामा ल्यामिनार बेन्चभित्र स्टेरियोस्कोपिक माइक्रोस्कोपको सहायताले सानो भन्दा सानो (०.२ - ०.३ मि.मि. मोटो) टुप्पा (apical meristem) काटिन्छ । उक्त मेरिस्टेमको टुप्पालाई सबै आवश्यक तत्व भएको भोल एमएस मिडिया (MS liquid media) सहितको टेस्ट ट्यूब भित्र रहेको फिल्टर पेपरको पुल माथी राखेर २०±२ डिग्री सेल्सियस तापक्रम र प्रति दिन १६ घण्टा, २००० लक्स प्रकाश भएको नियन्त्रित कोठा (incubation room) मा राखेर हुर्काइन्छ । ८-१० हप्ता पछि उक्त टुप्पाबाट जरा, डाँठ र पातको विकास हुन थाल्दछ । त्यसपछि उक्त विरुवालाई एमएस अगर मिडियामा स्थानान्तर गरीन्छ र केही हप्ता पछि आलुको पूर्ण विरुवाको रूपमा विकास हुन्छ । त्यसबाट आवश्यक विरुवा बनाउनको लागि आँख्ला काटेर (नोडल कटिड) प्रसारण गरीन्छ र विरुवा ठूलो भएपछि डस-इलाइजा (DAS-ELISA) प्रविधिद्वारा भाइरस रोगको जाँच गरीन्छ र भाइरसमुक्त प्रमाणित भएको विरुवाबाट मात्र आवश्यकता अनुसार को विरुवहरु प्रसारण गरीन्छ ।

सूक्ष्म वीउ (Micro-tuber) भनेको के हो ?

मेरिस्टिम टिप कल्चर (meristem tip culture) प्रविधि द्वारा आलुमा लाग्ने भाइरस तथा अन्य रोगहरु मुक्त उन्नत जातको आलुको बोटलाई तन्तु प्रजनन् (tissue culture technology) प्रविधिद्वारा द्रुतगतिमा प्रसारण गरीन्छ । प्रशस्त मात्रामा प्रसारण गरीसकेपछि, विरुवाहरुलाई पुनः उपयुक्त भाँडोमा उपयुक्त तत्वहरु राखी

*लेखक द्वय बृष्टि वैज्ञानिक, राष्ट्रिय आलुवाली अनुसन्धान कार्यक्रम, नेपाल कृषि अनुसन्धान परिषद्, खुमलटार, ललितपुर

उचित तापक्रम र उज्यालोको व्यवस्था मिलाई हुर्कन दिइन्छ, जसमा आलुका स-साना दानाहरु फल्दछन् । तन्तु प्रजनन् प्रयोगशालामा शीशा भित्र हुर्काएको बोटमा फलेको आलुका यस्ता स-साना दाना लाई सूक्ष्म वीडु आलु (micro-tuber) भनिन्छ ।

सूक्ष्म वीडु (Micro-tuber) आलुको उत्पादन प्रविधि

टेष्ट ट्यूब, जाम बोटल, प्लाष्टिक भाँडो वा अन्य उपयुक्त भाँडोमा तन्तु प्रजनन् प्रविधिबाट विरुवा उत्पादन गरे जस्तै सूक्ष्म वीडु (Micro-tuber) आलु पनि उत्पादन गर्न सकिन्छ । सूक्ष्म वीडु आलु धेरै प्रकारका मिडियाहरुको प्रयोग गरी फलाउन सकिन्छ । तर सस्तो मिडियाको प्रयोग गरी ठूला भन्दा ठूला साइजका वीडु आलु धेरै संख्यामा फलाउनु महत्वको विषय हुन जान्छ, जसले गर्दा लागत खर्च घट्न जाने र उत्पादित वीडु आलु विना कठिनाई सिधै कृषकको खेतबारीमा प्रयोग गर्न सकिने हुन्छ । सूक्ष्म वीडु आलु उत्पादनका लागि एम्.एस. मिडियामा, ०.८% अगर र ६-८% सुक्रोज हालेर तयार गरेको मिडियामा भाइरसमुक्त विरुवाहरु प्रसारण गरी ६-७ हप्ता सम्म 20 ± 2 डिग्री सेल्सियस तापक्रम र दिनको १६ घण्टा उज्यालो (२००० लक्स) अवस्थामा विरुवा हुर्काउने र त्यसपछि अगर नराखेको १/२ एम्.एस. मिडियामा ८% सुक्रोज र वृद्धिवर्द्धक रसायन (plant growth substances) वि.ए.पि. (BAP) (१ पिपिएम्) र वि-९ (B-9) (२०० पिपिएम्) समावेश गरी तयार पारेको भोल त्यसै भाडोमा थपेर अर्को १ हप्ता पछि २४ सै घण्टा अर्ध्याँरो अवस्थामा पुनः ६-८ हप्ता राखेपछि, विरुवको आँख्लामा स-साना आलुका दाना फल्दछन् (Dhital and Lima, 2004) (चित्र १) । विरुवा मर्दै जाँदा आलुदाना छिपिंदै जान्छ, र पूर्ण छिप्पेपछि दाना निकाल्नु पर्दछ, र उपयुक्त तवरले भण्डारण गर्नुपर्दछ ।



चित्र १. प्रयोगशालामा तन्तु प्रजनन् प्रविधिद्वारा प्रसारण गरीएका बोटल भित्रका विरुवमा फलेका रोगमुक्त सूक्ष्म वीडु (Micro-tuber) आलु दानाहरु ।

तालिका १ आलुका विभिन्न जातहरुमा १/२ एम् एस मिडिया, सुक्रोज, इनअर्गानिक न्यूट्रेंट र विरुवाको वृद्धिवर्द्धक रसायनहरु समावेश गरी सूक्ष्म वीडु आलु उत्पादन *

आलुको जात	सूक्ष्म वीडु दाना/बोट		औसत (मि.ग्रा.)	साइजको विवरण (%)		
	संख्या	तौल (मि.ग्रा.)		०.०१ - ०.५ ग्रा.	०.५ - १ ग्रा.	१ ग्रा.
सुपेरिएर	१.६	१०७०	६६९	५०.०	२५.०	२५.०
अर्लिभ्याली	१.८	१२९०	७१७	५०.०	२७.८	२२.२
गोल्डन भ्याली	१.२	१२४०	१०३३	३३.३	२५.०	४१.७
उइन्टर भ्याली	१.४	१२२९	८७८	३९.०	२३.०	३८.०

* १/२ एम् एस मिडियम, ८ % सुक्रोज, रसायनिक मल-२, वि.ए.पी (१० एमजी/लि) वि-९ २०० एमजी) थप गरेको (Dhital and Lima, 2004) ।

सूक्ष्म वीउ (Micro-tuber) को महत्व

तन्तु प्रजनन् प्रविधिबाट प्रसारित विरुवहरुको जस्तै बाह्रै महिनाको उपलब्धता, थोरै समयमा धेरै प्रसारण गर्न सकिने, रोगमुक्तताको निश्चितता र थोरै ठाउँ तथा खर्चमा ओसार पसार गर्न सकिने फाइदाहरुका अतिरिक्त सूक्ष्म वीउ आलुलाई कम्तीमा चार महिना सम्म अध्यारोमा भण्डारण गरेर राख्दा पनि खासै असर नपर्ने हुन्छ। सूक्ष्म वीउ आलुलाई शीशा अथवा जालीघरमा वा सिधै सरकारी फार्म तथा कृषकस्तरमा रोप्न उच्च गुणस्तरको पूर्व मूल-वीउ तथा मूल वीउ आलु उत्पादन गर्न सकिन्छ, जसबाट शीशा वा जालीघरमा लाग्ने खर्च र समयलाई कटौती गरी छोटो समयमा सस्तो र गुणस्तरीय वीउ आलु उपलब्ध हुनसक्दछ।

सूक्ष्म वीउ (Micro-tuber) आलुको भण्डारण तथा व्यवस्थापन

अन्य प्रमुख वालीहरुको तुलनामा आलुको भण्डारण तथा ओसारपसारले निकै महत्वपूर्ण स्थान ओगटेको हुन्छ भने त्यसमा पनि सूक्ष्म वीउ आलु निकै साना हुने भएकोले यस दृष्टिले अझै बढी महत्वपूर्ण हुन्छ। शीत भण्डारणमा भण्डार गर्ने उपयुक्त तापक्रम ४ डिग्री सेल्सियस हो। दाना आलुको सुषुप्तावस्था दानाभिन्नको वृद्धि नियन्त्रण गर्ने तत्वहरु (plant hormones) को अनुपातमा भरपर्ने हुन्छ। तसर्थ सूक्ष्म वीउको दाना फलाउन प्रयोग भएको विधि अनुसार त्यसको सुषुप्तावस्था फरक फरक हुन सक्छ। अध्यारो अवस्थामा फलाएको सूक्ष्म वीउ आलुको सुषुप्तावस्था सात महिना सम्मको हुन्छ भने आठ घण्टा अवधि र एक हजार लक्सको उज्यालोमा फलाइएको सूक्ष्म वीउ आलुको सुषुप्तावस्था दुई महिनाको मात्र हुन्छ। यसरी उत्पादित सूक्ष्म वीउ आलुको सुषुप्तावस्था त्यसमा प्रयोग गरीने विरुवाको वृद्धिवर्द्धक रसायनहरु (plant growth substances) मा पनि भर पर्दछ।

भण्डारणबाट भिकेपछि रोप्नु भन्दा पहिला आंशिक उज्यालोमा राखी राम्रोसंग टुसाउन दिनुपर्दछ। फलेका सूक्ष्म वीउका साइज, आवश्यकता, उपलब्ध सुविधा आदिका आधारमा उक्त वीउ आलु पूर्ण नियन्त्रित जालीघरमा वा वीउ उत्पादन गर्न प्रशिक्षण पाइसकेका वीउ आलु उत्पादक कृषक समूहहरुलाई प्राविधिकको रेखदेखमा उपलब्ध गराउन सकिन्छ।

सन्दर्भ सामग्रीहरु:

- Dhital, S.P. (2005). Establishment of efficient virus elimination and seed production system of potato (*Solanum tuberosum* L.) under *in vitro* and *in vivo* conditions. Doctoral dissertation. Kangwon National University, Republic of Korea.
- Dhital, S.P and H.T. Lima. (2004). Micro-tubreization response in several genotypes of potato (*Solanum tuberosum* L.) by direct addition of liquid medium to *in vitro* plantlets. Journal of the Korean Society for Horticultural Science. 45(6): 281-286.
- Wong, P.J. and C.Y. Hu, 1982. *In vitro* micro-tuberization and virus free seed potato production in Taiwan. Ame. Potato Journal. 59:33-37.