بررسی تاثیر تنظیم کننده‌های رشد در کشت بافت کاکتوس

ناصر عباسی قادی[۱*]، هادی پور میرزایی[۲]، ابوالفضل لولایی[۳]

۱- سازمان فنی و حرفه ای کشور،ایران. ۲- وزارت آموزش وپرورش ، اداره آموزش و پرورش صومعه سرا ۳-اداره کل منابع طبیعی و آبخیزداری استان تهران، تهران، ایران.

*نویسنده مسئول: naserabasi13571357@gmail.com

چکیده

به منظور ارزیابی توان باززایی درون شیشه ای کاکتوس، در محیطهای کشت شامل MS حاوی هورمونهای رشد گیاهی (NAA و BA) و MS فاقد هورمون کشت گردیدند. دراین تحقیق پنج فاکتور مورد مطالعه قرار گرفتند. فاکتورها شامل تعداد و طول شاخه‌ها، ، تعداد و طول ریشه و تعداد جوانه است. بیشترین تعداد شاخساره (۶/۵۳) در ۲ میلی‌گرم درلیتر BA و ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر NAA و بیشترین طول شاخساره با میانگین (۷/۹۷سانتی‌متر) و در تیمار ۲ میلی‌گرم درلیتر BA و تعداد جوانه (۶/۱) در محیط حاوی ۰/۲ میلی‌گرم درلیتر NAA و ۲ میلی‌گرم درلیتر BA بدست آمد. پارامترهای ریشه به طور معنی‌داری تحت تاثیر محیط کشت دارای ۴ میلی‌گرم در لیتر BA و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر NAA قرار گرفت. بیشترین طول ریشه تحت تاثیر محیط کشت دارای ۴ میلی‌گرم در لیتر BA و ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر NAA قرار گرفت.

کلمات کلیدی: ریزازدیادی، کاکتوس، تنظیم کننده‌های رشد گیاهی

مقدمه

کاکتوس‌ها از گروه گیاهان گوشتی و از تیره Cactaceae، چند ساله، دولپه‌ای و دارای تخمدان تحتانی هستند. میوه آنها سته تک خانه‌ای است. اغلب بی برگ بوده و فقط آثاری از برگ که باچشم غیرمسلح قابل مشاهده نیست جز در جنس پرسیکا وجود دارد(قاسمی‌قهساره، و کافی. ۱۳۸۴) کاکتوس‌ها به طور کلی دارای رشد کندی بوده و ظرفیت باروری (تولید گل و بذر) اندکی دارند. اگرچه استفاده از روش های سنتی از جمله بذر، قلمه و پیوند برای ازدیاد کاکتوس مرسوم است اما کندی رشد و نمو، مشکل جدی در ازدیاد این گیاه محسوب می‌شود و راندمان تولید با این روشها اندک بوده و به فضای قابل توجه‌ای مورد نیاز است (Luna, et al., . 2008.) کاکتوس‌ها گیاهانی کم نیاز، روشنایی پسند، بردبار، گرمادوست، سازگار به گرما، خشکی و کم آبی و استوار در برابر دگرگونی‌های آب و هوایی هستند. در ایران پرورش و نگهداری این گیاه پیشینه‌ی چندانی نداشته است. کاکتوس‌ها بومی ایران نیستند و برخی از آنها به عنوان زینتی وارد ایران شده‌اند(مطلق‌زاده، ر. ۱۳۷۸). پالپ میوه اوپونتیا منبع خوبی از کلسیم و پتاسیم و منیزیم است و بذر آن غنی از سولفور آمینو اسید است. میوه کاکتوس حاوی مقادیر بسیار زیادی ویتامین C و رنگدانه بتالاین است. مصرف کاکتوس باعث کاهش خطرات اکسیداتیو لیپیدی می‌گردد. کاکتوس اپونتیا باعث کاهش کلسترول به مقدار (۱۲٪)، تری گلیسرید (۱۲٪)،گلوکز (۱۱٪) و اسیداوریک خون میزان (۱۰٪) می‌گردد (Kritz and Efthimiou. 2002) در اهمیت اقتصادی کاکتوس ها می توان گفت که به عنوان منبع سبزی و غذای حیوانات (علوفه) و بادشکن و تثبیت کننده خاک، استفاده می‌شود. اپونتیا فیکوس ایندیکا مانع فرسایش خاک می‌شود[۳۶]. کشت سلول و بافت گیاهی که به عنوان کشت *in vitro* و یا کشت استریل به عنوان ابزاری مهم در مطالعات پایه و کاربردی و دارای کاربردهای تجاری است (باقری و صفاری، ۱۳۸۳) کشت بافت به دلیل اساس آن ویژگی توانمندی که بیان می‌کند هر سلول گیاهی دارای کلیه اطلاعات ژنتیکی لازم برای تبدیل شدن به

یک گیاه کامل است، (حسندخت و ابراهیمی، ۱۳۸۵). تکثیر گیاهان در شرایط آزمایشگاهی، روشی بسیار مفید جهت تولید داروهای گیاهی با کیفیت است. امروزه تکثیر درون شیشه‌ای یکی از جنبه‌های تجاری تکثیر خزانه‌ای بسیاری از گیاهان بوده و روند رو به افزایشی دارد(خوشخوی، ۱۳۷۸). ریزازدیادی روشی موثر برای ازدیاد سریع و موفقیت آمیز کاکتوس است. با این روش می-توان در مدت زمان کوتاه نسبت به تولید انبوه گیاهان کاکتوس درتمام طول سال اقدام نمود(Luna, et al., . 2008) عوامل فیزیکی موثر درکشت درون شیشه‌ای موثر می باشد شامل، شامل نور، رطوبت، اتمسفر گازی، دما است. هدف از این مطالعه، بررسی جوانه‌زنی بذر کاکتوس (*Opuntia ficus-indica*) و همچنین ایجاد یک سیستم ساده برای تولید سریعتر نهال‌هایی با کیفیت بالاتر و هزینه کمتر است. با استفاده از این روش می‌توان با اختصاص زمان کمتر در تمام فصول سال تعداد مورد نیاز از نهال‌ها را تهیه و از آنها به منظورتثبیت شن و ماسه های روان درمناطق کویری و برای بیابان‌زدایی سطح وسیعی از مناطق خشک کشور ارسال نمود. ضمناً این کاکتوس‌ها در تغذیه دام نیز مورد استفاده قرار می‌گیرند که به این ترتیب کمبود غذای دام آن مناطق را هم برطرف خواهند کرد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش‌ها در قالب طرح فاکتوریل و بر پایه طرح کاملاً تصادفی اجرا گردید. در پاییز ۱۳۹۳ میوه و بذرها کاکتوس (*Opuntia ficus-indica*) از گلخانه تهیه شد. از ترکیبات شیمیایی مختلفی جهت انجام آزمایش‌ها استفاده‌شد. در ادامه تهیه محلول‌های غذایی پایه، تهیه محلول غذایی پایه ازعناصر پرمصرف، تهیه محلول غذایی پایه از عناصر کم مصرف محیط ، تهیه محلول غذایی پایه آهن، تهیه محلول غذایی پایه ویتامین‌ها، تهیه محلول پایه تنظیم کننده‌های رشد گیاهی و تهیه محیط کشت انجام شد. و سپس آماده سازی بذرها که از میوه های بالغ تهیه ی و چینه سرمایی نیز انجام و سپس گندزدایی انجام و سپس کشت بذرها در محیط کشت گرفت. پس از ۴۰ روز از کشت درون شیشه‌ای بذرها، گیاهک‌هایی که در شرایط استریل رشد کرده بودند جدا گردید و کلادودها عاری از آلودگی در زیر هود به قطعاتی با سه آرئول تقسیم شد و هر یک از ریزنمونه‌ها در شیشه شفاف که حاوی محیط کشت با غلظت‌های مختلف تنظیم‌کننده رشد بوده کشت گردید. ترکیبات عناصر مورد استفاده درتیمارهای مختلف ، که BAدر سه غلظت (۰، ۰/۱ و ۰/۲) و NAA در دو غلظت (۰، ۲ و ۴) در سه تکرار در قالب سطح بلوک های کامل تصادفی مورد ازمایش قرار گرفت. در انتها صفات تعداد شاخساره و طول آن و تعداد جوانه، تعداد و طول ریشه مورد بررسی قرار گرفت. جهت تجزیه و تحلیل آماری آزمایش‌ها در سطح احتمال ۵ درصد مورد بررسی و از نرم افزار SPSS استفاده شد.

نتایج

با توجه به جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) نتایج نشان داده است که بین غلظت های مختلف کاربرد BAو NAA ، در شاخص تعداد شاخساره بیشترین تعداد مربوط به تیمار (BA۰/۲*۲NAA) با مقدار ۶/۵۳ بوده است. با توجه به نتایج تجزیه واریانس بین سایر غلظت های بکار رفته اختلاف معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد مشاهده شده است. در بررسی شاخص تعداد ریشه، بیشترین تعداد مربوط به تیمار(BA۰/۱*۴NAA) و کمترین تعداد مربوط به شاهد بوده است. در بررسی نتایج شاخص طول شاخساره، بیشترین مقدار در تیمار (BA۰/۲*۰NAA) با مقدار (۷/۹۷ cm) مشاهده گردیده است که بین این تیمار با تیمار (BA۰/۲*۲NAA)هیچگونه اختلاف معنی داری مشاهده نشده است. نتایج تجزیه واریانس نشان داده که بین غلظتهای مختلف به کار رفته در بررسی شاخص طول ریشه اختلاف معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد مشاهده شده است. با توجه به نتایج در غلظت (BA۰/۲*۲NAA)بیشترین طول ریشه با ۴/۸۵ مشاهده شده است. در بررسی شاخص تعداد جوانه، بین غلظت های مختلف

به کار رفته در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی داری مشاهده شده است. با توجه به نتایج بیشترین تعداد جوانه مربوط به تیمار (۰/۲*۲NAA)با ۶/۱ جوانه بوده است.

جدول ۱- تجزیه واریانس داده ها در تیمارهای مختلف

منابع تغییر	تعداد شاخساره	تعداد ریشه	طول شاخساره	طول ریشه	تعداد جوانه
BA۰*۰NAA	۱/۴۰e	۵/۲۵d	۰/۷۲d	۱/۳e	۰/۸de
BA۰*۲NAA	۱/۵۰e	۵/۵۲d	۰/۸۵d	۱/۸d	۱/۱d
BA۰*۴NAA	۱/۵۳e	۱/۹۸e	۰/۶۵d	۱/۷d	۱/۲d
BA۰/۱*۰NAA	۳/۲۰d	۶/۱۵c	۳/۵۵c	۲/۴c	۲/۳c
BA۰/۱*۲NAA	۳/۴۰d	۷/۱ab	۳/۲۳c	۴/۲b	۲/۱c
BA۰/۱*۴NAA	۴/۱۳c	8/3a	۳/۱۳c	۴/۷b	۲/۳c
BA۰/۲*۰NAA	۵/۶۰b	۶/۵bc	۷/۹۷a	۴/۴b	۵/۴b
BA۰/۲*۲NAA	۶/۵۳a	۶/۹bc	۷/۳۲ab	۴/۵۵b	۶/۱a
BA۰/۲*۴NAA	۶/۱۰ab	۷/4b	۶/۹b	۵/۳a	۵/۲b

اعداد با حروف مشابه در هرستون دارای اختلاف معنی داری در سطح ($P<0.05$) نمی باشند.

بحث

داباکسن و پریک (۲۰۰۳) در کشت درون شیشه‌ای کاکتوس سالکوربیوتیا مناسبترین شرایط فیزیولوژیکی رشد برای فعالیت آرئولها را دمای ۲۷درجه سانتی‌گراد دانست .. در بسیاری از گونه‌های گیاهی شرایط رشد گیاه مادری بر رشد نمونه‌های کشت درون شیشه‌ای اثر می گذارد. نتایج نشان می‌دهد که دما، نور، طول روز و شرایط تغذیه‌ای گیاهان مادری به طور مشخصی پاسخ ریزنمونه‌ها را تحت تاثیر قرار می‌دهد (خوشخوی، ۱۳۷۷). آلیو و مصطفی (۲۰۰۷) نیز برای ازدیاد کاکتوس اوپونتیا بهترین نتیجه در تولید شاخساره را از ترکیب ۱ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۰/۲۵ میلی‌گرم IAA بدست آوردند . ریشه‌دهی صددرصد اوپونتیا در محیطی حاوی ۵ میلی گرم درلیتر IBA بدست می‌آید (Juarez, and Passera. 2002).در خانواده کراسوله محیط کشت حاوی ۵ میلی‌گرم در لیتر IBA بیشترین ریشه‌دهی را در مقایسه با ۵ میلی گرم درلیتر IAA موجب شد ([Yong-li, male and Long Zi-li. 2007). استراد لونا و همکاران (۲۰۰۸) در ریزازدیادی کاکتوس زینتی اوپونتیالانگرا بیشترین تعداد شاخه (۶ عدد) از هر ریزنمونه کلادود را در حضور ۵ میلی‌گرم BA بدست آوردند. آنها گزارش نمودند که روش کشت عمودی کلادودها در مقایسه با کشت افقی آنها توانست تولید شاخه از هر ریزنمونه و طول شاخساره را به‌طور معنی داری افزایش دهد. استراد لونا و همکاران (۲۰۰۸) در ریزازدیادی کاکتوس زینتی اپونتیا لانیگرا بلندترین‌شاخه و را در هنگام استفاده از ۵۰٪ محیط کشت MS با ساکارز ۲/۵ و ۵ گرم در لیتر بدست آوردند (Luna, et al., . 2008.). کارلوس و همکاران (۲۰۰۴) در کشت درون شیشه‌ای گونه‌های کاکتوسهای توربینی کارپوس مشاهده نمودند که ریشه‌دهی شاخه‌ها در محیط کشت MS از ۵۴/۲ الی ۹۲/۲٪ رسید و درصد بقا گیاهان انتقال

یافته به خاک به طور متوسط ۹۶/۶٪ گردید (Figueroa, et al., 2006). استرادلونا و همکاران (۲۰۰۸) و خالافالا و همکاران (۲۰۰۷) نشان دادند که با افزایش غلظت BA در تعداد شاخساره افزایش چشمگیری دیده شد. ریزازدیادی کاکتوس *Opuntia lanigera* که توسط استرادلونا و همکاران (۲۰۰۸) انجام گرفت با نتایج این پژوهش مطابقت دارد. خالافالا و همکاران (۲۰۰۷) گزارش کردند در ریزازدیادی *O.ficus-indica* با به کار بردن NAA تعداد ریشه افزایش یافت که با نتایج این آزمایش مطابقت داشت .

منابع

۱. باقری، ع. و م. صفاری. ۱۳۸۳ .مبانی کشت بافت گیاهی (ترجمه). انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد.

۲. حسندخت، م. ر. و ر. ابراهیمی. ۱۳۸۵. مبانی کشت بافت گیاهی. انتشارات مرزدانش.

۳. خوشخوی، م. ۱۳۷۷. فنون کشت بافت گیاهی برای گیاهان باغبانی. ترجمه انتشارات دانشگاه شیراز.

۴. خوشخوی، م. ۱۳۷۸. گیاه‌افزایی (ازدیاد نباتات). جلد سوم، ترجمه انتشارات دانشگاه شیراز.

۵. قاسمی‌قهساره، م. و م. کافی. ۱۳۸۴. گلکاری علمی و عملی، جلد اول، انتشارات گلبن، اصفهان. ۳۳۵ص.

۶. مطلق‌زاده، ر. ۱۳۷۸. جهان کاکتوسها،انتشارات فرهنگ جامع، تهران. ۲۵۵ ص.

7. Carlos Antonio Davila-Figueroa, MA.DE.I.Ourdes DE LA ROSA-Carllillo.And Eugfnioperez-Molphe-Balch. 2006. *In vitro* propagation of eight species or subspecies of *Turbinigarpus* (Cactaceae). *In vitro* Cell. Dev. Biol. Plant. 41: 540–545.

8. Cecilia Juarez, M and Bernardo Passera C. 2002. *In vitro* propagation of *0puntia ellisiana* Griff. and acclimatization to field conditions. J. Biocell (Mendosa). 26: 1-18.

9. Estrada-Luna, A. A., Martinez-Hernandez, J.J., Estela Torres, M. and F. Chable-Moreno. 2008. *In vitro* micropropagation of the prickly pear cactus *Opuntia lanigera* Salm- Dyck and effects of sprayed GA_3 after transplantation to *ex vitro* conditions. Scientia Horticulturae 117: 378-385.

10. khalafalla, M. M., Abdellatef, E., Mohamed Ahmed, M.M., and M.G. Osman .2007. Micropropagation of cactus (*Opuntia ficus-indica*) as strategic tool to combat desertification in arid and semi arid regions. Int. J. Sustain. Crop Prod. 2(4):1-8.

11. Liu Yong-li, male, Long Zi-li. 2007. Organ formation and plant regeneration *in vitro* tissue culture of Crassula arborescens. Journal of Zhejiang University.33(6): 591-596.

12. Wolfram RM, Kritz H, Efthimiou Y.. 2002. Effect of Prickly pear (*Opuntia robusta*) on glucose- and lipid-metabolism in non-diabetics with hyperlipidemia-a pilot study. Wien Wochenschr. 114(19-20): 840-846.

Investigation of Effects of plant growth regulators in in vitro propagation of cactus

N. Abasi Ghadi[1*], H . Pourmirzaei[2], A. Lolaei

1-Technical and Vocational Training Organization, Iran.2-Ministry of Education , Iran Department of Education Somesara.3- Forest, range and watershed org.Tehran Province, Tehran, Iran.

*Corresponding author: naserabasi13571357@gmail.com

Abstract

In order to determine in vitro regeneration potential of date cactus were transferred to hormone free half-concentration MS medium and MS containing growth regulator hormone. In order to study five factors was conducated.Factors were condition number and length of shoots, number and length of root and number of buds. The highest numbers of shoots (6.53) were obtained in the medium which was supplemented with 2 $mg.L^{-1}$ BA +0. 2 $mg.L^{-1}$ NAA and The highest length of shoots were (7.97 cm) with by media enriched with 2 $mg.L^{-1}$ BA + 0.2 $mg.L^{-1}$ NAA and the bud numbers (6.1) were gained in the medium which was supplemented with 0.2 $mg.L^{-1}$ NAA and 2 $mg.L^{-1}$ BA. Root parameters significantly were affected by media enriched with 4 $mg.L^{-1}$ BA + 0.1 $mg.L^{-1}$ NAA. The highest highest length of 4 $mg.L^{-1}$ BA +0.2 $mg.L^{-1}$ NAA.

Key words: Micro propagation, Cactus, Plant growth regulators