

ریزیوندی (Micrografting) در کاکتوس با کاربرد هورمون اکسین (IBA)

علیرضا لادن مقدم^۱، لطف اله رضایی*^۲، زهرا اوراقی اردبیلی^۳

۱ و ۲*، ۳- دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرمسار، دانشکده کشاورزی، گروه باغبانی، گرمسار، ایران، صندوق پستی: ۳۵۱۹۶۱۶۵۹۳

rezaei.semnan@gmail.com

چکیده

عمل پیوند به عنوان یکی از روش‌های تکثیر تجاری در کاکتوس مرسوم بوده و به روش‌های متفاوت انجام شده است. با توجه به اینکه گونه‌های رنگی کاکتوس مثل گونه ژیمنو فاقد کلروفیل بوده و لازم است به منظور بقا بر روی پایه‌ای دارای کلروفیل پیوند شوند و تهیه پیوندک از آن‌ها مشکل است، در این تحقیق از روش ریز پیوندی که در آن کوچکترین قطعه قابل پیوند (آرئول) به عنوان پیوندک کاربرد دارد استفاده شده است. میکروپیوندهای گونه ژیمنو *Gymno calycium* بر روی پایه تریکو سرئوس *Tryco sereus* پیوند شدند. در این تحقیق اثر کاربرد تیمار هورمون اکسین خارجی بر روی ریزیوندی گیاه کاکتوس ارزیابی شد. ایندول بوتیریک اسید (IBA) به عنوان اکسین استفاده شد. تیمار اکسین خارجی در چهار غلظت ۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ ppm و در ۳ سطح زمانی ۳ و ۹ و ۱۵ روز بعد از عمل پیوند استفاده شد. اندازه گیری فاکتورهای وزن گیاه، درصد گیرایی پیوندها، تعداد آرئول‌ها، قطر پیوندک و قطر لایه زاینده کامبیومی انجام شد. بهترین نتایج در تیمار ۱۰۰ ppm اکسین خصوصا در ۱۵ روزه مشاهده گردید. نتایج بدست آمده از این تحقیق دلالت بر آن دارد که تیمار اکسین در غلظت بهینه منجر به افزایش موفقیت پیوند می شود.

کلمات کلیدی: ریز پیوندی، کاکتوس، اکسین، IBA، میکرو پیوند، آرئول، گیاه زینتی.

مقدمه

کاکتوس‌ها از تیره Cactaceae بوده و بومی آمریکای مرکزی و جنوبی هستند (۱). در بیابان‌های این قاره پهناور بیش از ۲۰۰ گونه از کاکتوس‌ها به اشکال و اندازه‌های مختلف در حال رشد و نمو می‌باشند (۲). از صفات مشترک این گیاهان وضع کنگره ای یا بندبند بودن ساقه‌ها است (۳) خانواده کاکتوس به سه زیر خانواده تقسیم می‌شود (پرسکیا، اوپانسیا و سرئه) (۲) به طور کلی پرورش کاکتوس‌ها در ایران با وجود آفتاب زیاد و خاک مملو از مواد معدنی خصوصاً مواد آهکی که در مورد سایر گل‌ها از محدودیت‌ها محسوب می‌شود به آسانی میسر است (۱). پیوند یکی از تکنیک‌های قدیمی است که در پرورش گونه‌های مختلف کاکتوس کاربرد دارد (۵). ولی در تکثیر تجاری محدودیت‌هایی مثل انتقال باکتری و قارچ همچنین استرس از دست دادن آب را دارد (۴). این مسائل با استفاده از روش ریز پیوندی (میکروگرافتینگ) که تحت شرایط کنترل شده و با دقت بالاتری انجام می‌شود تقریباً حل شده است (۶)، به علاوه ریز پیوندی فوایدی مثل محدود کردن انتقال ویروس‌ها، دوباره بلوغ شدن اندام‌های پیر، کاهش طول دوره تولید، اتصال بهینه پایه و پیوندک و تولید بیشتر محصول را دارد (۷). ریز پیوندی روش بسیار مناسبی جهت تولید تجاری گونه‌های کاکتوس می‌باشد (۷). مطالعات زیادی برای افزایش گیرایی پیوند گونه‌های مختلف گیاهی با استفاده از هورمون اکسین انجام شده است (۸). مصرف هورمون اکسین موجب افزایش قطر لایه زاینده و افزایش گیرایی پیوند شد (۹). اثر هورمون اکسین در گیرایی پیوند ارقام سیب درختی مورد مطالعه قرار گرفت و مشخص شد کاربرد IBA با غلظت ۲/۲

میکرومول در گیرایی پیوند بسیار موثر است (۹). این روش در برخی از کشورها مثل آلمان و هندوستان به عنوان روشی نو در تکثیر کاکتوس به کار می‌رود. *Gymno calycium* به دلیل نداشتن کلروفیل لازم است جهت بقا بر روی پایه‌ای مناسب پیوند شود (۱۰). برخی از وارته‌های *Gymno calycium* دارای رنگ زمینه قرمز تیره و صورتی است، بسیار کند رشد است و محدودیت زیادی از نظر جوانه زنی دارد (عمدتاً تولید بذر ندارد) (۱۰). این گونه، ترکیب رنگی بسار مناسبی با پایه‌های کاکتوس سبز رنگ ایجاد می‌کند و از نظر بازارپسندی متقاضیان زیادی دارد و عمدتاً با قیمت‌های بسیار بالا در بازار به فروش می‌رسد. هورمون اکسین به عنوان ماده موثر بر رشد و تمایز و نمو به کار می‌رود. هدف از این تحقیق انتخاب روشی مناسب جهت تکثیر انبوه کاکتوس‌های رنگی در کوتاهترین زمان با توجه به گرانی بذور و جوانه زنی سخت و طولانی مدت این گونه‌های کمیاب و همچنین بررسی اثرات غلظت‌های مختلف هورمون اکسین بر روی پیوند است.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی به کار رفته

۱- کاکتوس های *Tryco sereus* که بوسیله قلمه تکثیر یافته‌اند به عنوان پایه استفاده شده است. این پایه‌ها از گلخانه شرکت کسری شهرستان سمنان تهیه گردید.
Gymno calycium به وسیله بذر تکثیر یافته و در زمان استفاده حدود ۳ سانتی‌متر قطر داشتند که از آن‌ها تعدادی ارئول جهت انجام پیوند جداسازی شد. این گونه نیز از شرکت گل و گیاه کسری تهیه شد.

آماده سازی نمونه‌ها جهت پیوند

پایه‌های گونه *Tryco sereus* تحت شرایط کنترل شده تکثیر یافتند و پایه‌های با اندازه ۹ سانتی متر ارتفاع و قطر ۲.۵ سانتی متر درون گلدان‌های جداگانه جهت اعمال تیمارها استفاده شدند.

Gymno calycium بوسیله بذر تکثیر داده شد. آرثول‌ها از گونه مذکور با کاتر جداسازی شده و در محل برش خورده پایه مستقر شدند و بوسیله چسب پیوند تا زمان اتصال پیوندی بین لایه و پیوندک ثابت ماندند. تیمارهای ایندول بوتیریک اسید (IBA) با غلظت‌های مختلف ۰، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ ppm و در سه زمان ۳ و ۹ و ۱۵ روز در ۱۰ گروه تیماری اعمال شد که تیمارها شامل

A1 (50-3, 50-9, 50-15),
A2 (100-3, 100-9, 100-15),
A3 (150-15, 150-3, 150-9),
و (شاهد) C بود. پایه‌های پیوند شده تا زمان گرفتن پیوند در درجه حرارت‌های ۲۰-۱۶ درجه سانتی گراد و رطوبت ۴۵ درصد محیط باقی ماندند. کلیه عملیات مذکور درون گلخانه یاشاسی گرم انجام شد.

اندازه گیری‌های انجام شده

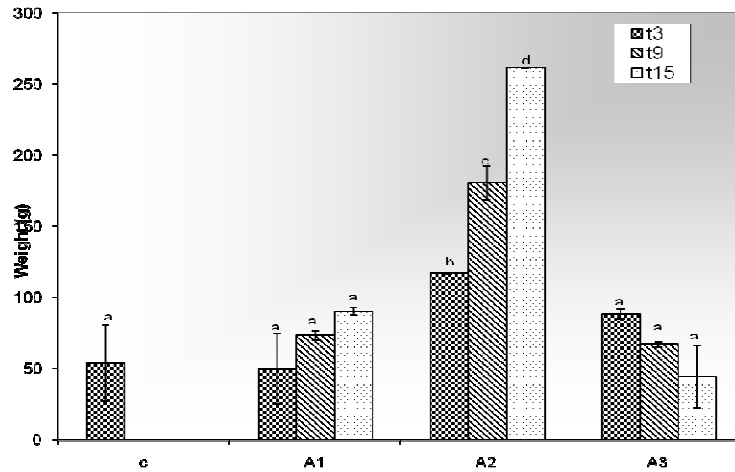
۳۰ روز پس اعمال تیمارها، اندازه گیری‌ها انجام شد. وزن گیاه برحسب گرم در هر گیاه ($g\ plant^{-1}$)، درصد گیرایی پیوند، تعداد آرثول‌ها، قطر پیوند برحسب میلی متر (mm) و قطر لایه زاینده کامبیومی گزارش شد.

آنالیز آماری: آنالیز آماری اطلاعات به صورت آنالیز واریانس دو عاملی در ۱۰ گروه تیماری و در ۳ تکرار مختلف با استفاده از نرم افزار SPSS انجام شد. نتایج به صورت میانگین و انحراف معیار گزارش شده و مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن انجام گردید.

نتایج

وزن گیاه

اکسین در غلظت مناسب باعث افزایش معنی دار وزن گیاه شد که بیشترین افزایش در تیمارهای 100ppm مشاهده شد (شکل ۱). تیمارهای ۵۰ و ۱۰۰ فقط در زمان‌های به ترتیب ۱۵ و ۳ روز باعث افزایش معنی دار وزن گیاه گردید اما این افزایش به طور معنی داری کمتر از تیمار ۱۰۰ بود. بر اساس آنالیز آماری اثر فاکتور اکسین ($p < 0.001$) و اثر فاکتور زمان ($p = 0.002$) و همچنین برهمکنش شان ($p < 0.001$) معنی دار بود.

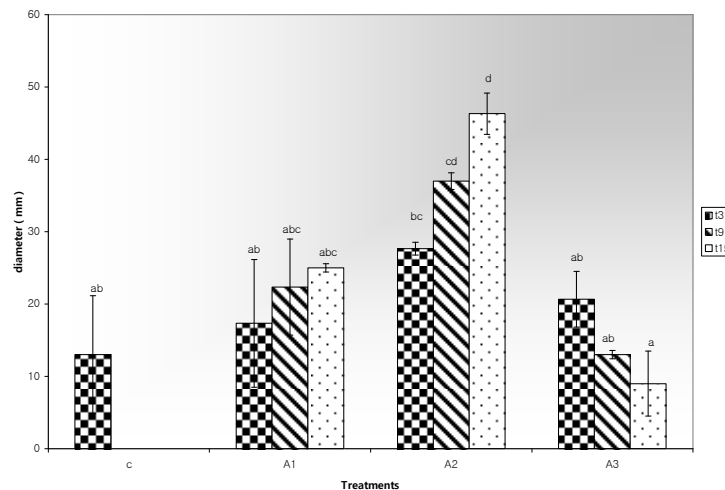


شکل ۱: اثر تیمارهای مختلف اکسین بر روی وزن گیاه ($X \pm SE$) بر حسب گرم در هر گیاه ($g plant^{-1}$) در گروه های تیماری مختلف (C : 0, A1: 50ppm , A2: 100ppm , A3: 150ppm)

نبود اما افزایش قطر در تیمارهای 100-9, 100-15 معنی دار بود. اثر اکسین ($p < 0.001$) معنی دار بود اما اثر عامل زمان و برهمکنش دو عامل بی معنی بود (شکل ۲).

قطر پیوندک

کمترین افزایش میزان قطر پیوندک در تیمارهای 150-15 و C دیده شد که با شاهد اختلاف معنی داری نداشت (شکل ۲). در تیمارهای: 150-3, 50-3, 50-9, 50-15, 100-3, افزایش مشاهده شده در قطر نسبت به شاهد معنی دار

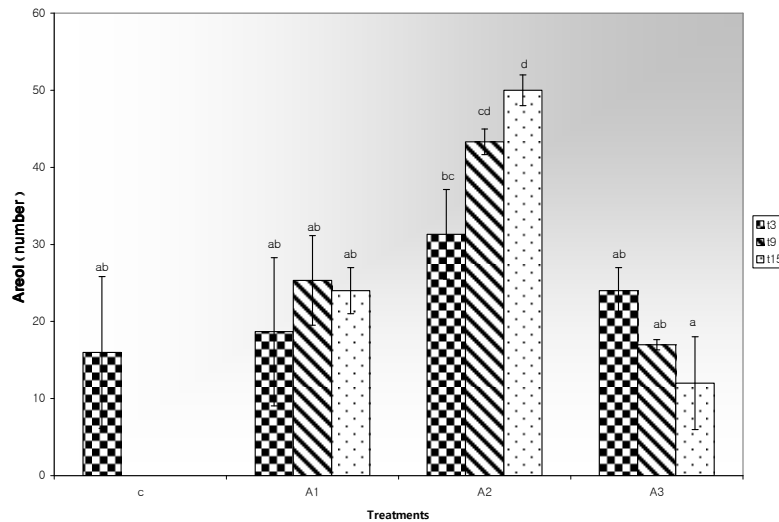


شکل ۲: اثر تیمارهای مختلف اکسین بر روی قطر پیوندک ($X \pm SE$) بر حسب میلی متر (mm) در گروه های تیماری مختلف (C : 0, A1: 50ppm , A2: 100ppm , A3: 150ppm)

تعداد آرئول‌ها

بیشترین تعداد آرئول مربوط به تیمار 9-100، 100-15 بود که تفاوت معنی داری با شاهد داشت اما افزایش‌های مشاهده شده در سایر تیمارها معنی دار نبود

(شکل ۳). اثر فاکتور اکسین ($p < 0.001$) معنی دار بود اما اثر عامل زمان و برهمکنش دو عامل بی معنی بود.

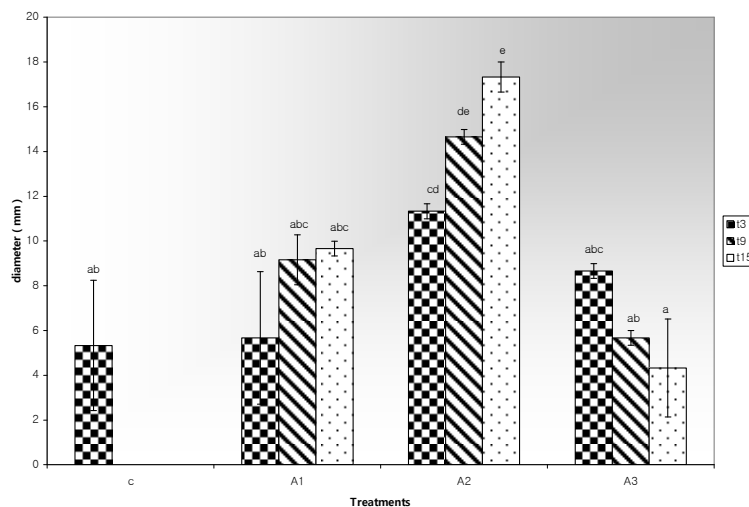


شکل ۳: اثر تیمارهای مختلف اکسین بر روی برروی تعداد آرئول ($X \pm SE$) در گروه‌های تیماری مختلف (C : 0, A1: 50ppm , A2: 100ppm , A3: 150ppm)

قطر لایه زاینده کامبیومی

بیشترین افزایش قطر لایه کامبیومی در تیمار 100-3, 100-9, 100-15 مشاهده شد که به طور معنی داری بالاتر از شاهد بود (شکل ۴). تیمارهای 50-9, 50-15, 150-3 نیز باعث افزایش قطر این

لایه شدند. اثر اکسین ($p < 0.001$) معنی دار بود اما اثر عامل زمان بی معنی بود و اثر برهمکنش دو عامل در ($p < 0.05$) معنی دار بود.



شکل ۴: اثر تیمارهای مختلف اکسین بر روی بر روی قطر لایه زاینده کامبیومی ($X \pm SE$) در گروه‌های تیماری مختلف (C : 0, A1: 50ppm , A2: 100ppm , A3: 150ppm)

تیمارهای 100-3, 100-9, 100-15, 150-3 مشاهده شد اما دیگر تیمارها تفاوت معنی داری با شاهد نداشتند (جدول ۱).

درصد گیرایی پیوند

میزان اکسین در تیمارهای: 100-15, 150-3 باعث افزایش درصد گیرایی گردید که بالاترین درصد در

جدول ۱: اثر تیمارهای مختلف اکسین بر روی درصد گیرایی پیوند

شماره نمونه	شاهد	50 ppm			100 ppm			150 ppm		
		روزه ۳	روزه ۹	روزه ۱۵	روزه ۳	روزه ۹	روزه ۱۵	روزه ۳	روزه ۹	روزه ۱۵
درصد گیرایی روز ۳۰	۴۰	۴۰	۶۰	۸۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۶۰	۴۰

کالوس و نهایتاً کاهش درصد گیرایی پیوندها می‌شود (۸). نشان داده شده که هورمون اکسین با غلظت مناسب در اتصال آوندی بین پایه و پیوندک اثر قابل توجهی دارد (۸). این اثر توسط محققین مختلف با متدهای متفاوت نشان داده شده است و نتیجه اینکه اکسین اثر کنترلی در تمایز بافت‌های آوندی در گیاهان عالی دارد (۸).

بحث

نتایج ما نشان داد که اکسین در غلظت 100ppm دارای اثرات معنی داری بر پارامترهای اندازه گیری شده در این تحقیق داشت. از مسایل مهمی که در گیرایی پیوند کاکتوس بسیار موثر است، افزایش قطر لایه زاینده و تحریک سرعت رشد سلول‌ها در محل پیوند می‌باشد. از آنجا که کاکتوس‌ها عمدتاً کند رشد هستند طولانی شدن مدت رشد سلول‌ها باعث کندی تشکیل

اکسین در غلظت های بالاتر از بهینه اثرات بازدارندگی رشد دارد. به طور طبیعی گوشتی بودن کاکتوس و لغزندگی سطح تماس پایه و پیوندک با روش های معمول پیوند در صد گیرایی زیر ۵۰ درصد می باشد و عمدتاً ۱۵ تا ۲۰ روز بعد از عمل پیوند در صورت مساعد بودن کلیه شرایط پیوند زنی لایه کاکتوس در محل پیوند تشکیل می شود. کاربرد اکسین با اثر مستقیم در افزایش تراکم سلول های کالوس سرعت عمل پیوند را بالا برده و در اتصال بهتر بین پایه و پیوندک اثر قابل توجهی دارد. اکسین با افزایش قطر لایه زاینده کامبیومی و افزایش تراکم کالوس تشکیل شده گیرایی پیوند را تا ۱۰۰ درصد افزایش می دهد (۸).

اما آنچه در نتایج این آزمایش از اهمیت ویژه ای برخوردار است درصد گیرایی پیوندها است. با توجه به اینکه در روش های معمول پیوند و بدون کاربرد اکسین عمدتاً ۵۰ درصد پیوند ها موفق بوده و هزینه های بالایی را به تولید کننده تحمیل می کند، می توان با استفاده از غلظت و زمان مناسب هورمون اکسین و استفاده از روش ریزی پیوندی درصد گیرایی را تا ۱۰۰ درصد نیز افزایش داد. از روش ریزی پیوندی در افزایش سرعت تکثیر و محدود کردن انتقال ویروس ها استفاده شده و مشخص شده در گيرائی پیوند از روش معمولی بسیار بهتر است (۱۱ و ۱۲). شاید از دلایل افزایش تراکم کالوس در برش انتهایی پایه و اثر آن در افزایش اتصال بین پایه و پیوندک تجمع هورمون اکسین در محل برش به دلیل انتقال قطبی اکسین درونی و تحریک آن توسط مصرف خارجی اکسین باشد نهایتاً اینکه چنانچه کلیه فاکتورهای موثر در عمل پیوند اعم از فاکتورهای محیطی و فاکتورهای درونی گیاه مناسب باشند. کاربرد غلظت مناسب اکسین پیشنهاد می شود که گیرایی پیوند

در این تحقیق نشان داده شد که هورمون اکسین با غلظت مناسب در افزایش سرعت رشد سلول های پایه و پیوندک بسیار موثر بوده و این سرعت رشد باعث افزایش سرعت اتصال بین پایه و پیوندک شده و درصد گیرایی را به میزان قابل توجهی افزایش می دهد. افزایش تعداد گره های رشدی (آرئول ها) و تحریک رشد جوانه های جانبی ایجاد شده از محل گره ها از اثرات مثبت کاربرد اکسین بوده چرا که در حل مسئله تحقیق و تامین نیاز به پیوندک کمک شایانی می کند و از نظر اقتصادی بسیار حائز اهمیت است.

مطالعات تشکیل اوند در پیوند جوانه و ریشه آندیو تشکیل کالوس در تعدادی از آنژیوسپرم ها نشان داد جوانه های پیوند شده باعث القای تمایز آوندی در بافت های پایه می شوند بر اساس این مطالعات مشخص شد: فرایند گیرایی پیوند شامل دو مرحله است:

الف) تشکیل کالوس بر روی سلول های پایه و پیوندک همراه بانروی کششی ایجاد شده بین پایه و پیوندک.

ب) ایجاد اتصال آوندی بین پایه و پیوندک در اثر افزایش تراکم کالوس در محل پیوند و این افزایش تراکم کالوس با کاربرد هورمون اکسین به شدت افزایش می یابد (۸ و ۱۰).

نتایج ما دلالت بر آن داشت که غلظت 100ppm هورمون IBA بخصوص با تکرار کاربرد در زمان های ۳ و ۹ و ۱۵ روز بعد از عمل پیوند در افزایش رشد سلول ها به عنوان اساس گیرایی پیوند مناسب است. غلظت های ۵۰ و ۱۵۰ اثرات تحریک کنندگی قابل ملاحظه ای را نداشت. البته در تیمارهای 3-150 , 15-50 اثرات مثبتی دیده شد. به نظر می رسد که غلظت ۵۰ کمتر از حد بهینه است و غلظت ۱۵۰ بیش از حد بهینه است و

5. Hartmann, H.T.; Kester, D.E.; Davies, F.T. and Geneve, R.L., 1997. The Biology of Grafting. In: Plant Propagation: Principles and Practices, Prentice Hall, New Jersey, pp: 392-436.
6. Burger, D.W., 1984. Micrografting A tool For The Plant Propagator, Proceedings of International Plant Propagators Society, 34 PP 244-253.
7. C-Lopez, Peralta and Cardenas Soriano, 2002. In vitro micrografting and the histology of graft union formation of selected species of prickly pear cactus (*Opuntia* spp.), *sci.Hort* 92PP:317-327
8. Shimomura, T. and Fuzihara, K., 1977. Physiological study of graft union formation in cactus, *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 45(4): 397-406.
9. Cesar, J.; Oliveira Nunes, D. E., Monita Fiori, D. E., 2005. Morphologic characterization in apple micrografts, 27(1) PP: 80-83.
10. Stoll, M., 1940. Versuch Uber die Verwendbarkeit der b-I-V Rebenveredlung, 14PP:151-168
11. Alan, T. and Propagating, Plants, 2003. pp, 231-253.
12. Gebhardt, K. and Goldbah, H., 1988. Establishment Graft Union Charactreistics and Growth Of *Prunus* Micrografts, *Physiol Plant* 72PP:153-159.

کاکتوس را از ۴۰٪ به ۱۰۰٪ افزایش می دهد و این موضوع بخصوص در روش ریز پیوندی که قطعه پیوند شده بسیار کوچکتر از شرایط معمول است، اهمیت ویژه‌ای دارد.

سپاسگزاری

از همکاران محترم در سازمان جهاد کشاورزی استان و خانم میراعمداد که در اجرای طرح و نگارش مقاله ما را همراهی نموده‌اند صمیمانه تشکر می‌کنیم.

منابع

۱. قهرمان، ا.، ۱۳۷۳. گیاهشناسی پایه، جلد دوم، صفحات ۲۹۸ تا ۳۹۲.
۲. خلیقی، ا.، ۱۳۷۴. گلکاری (پرورش گیاهان زینتی ایران)، صفحات ۱۶۸ تا ۱۷۷.
۳. حسنی زاده، ح.، ۱۳۷۱. گلکاری برای همه (پرورش گل در خانه، باغ و آپارتمان، جلد دوم، صفحه ۱۱).
۴. هارتمن، اچ، تی؛ کستر، دی. ای. و خشخوی، م.، ۱۳۷۵. ازدیاد نباتات (مبانی و روش‌ها)، جلد دوم، صفحه ۷۱۱.