Archive of SID

باززایی گیاه دارویی کور *Capparis spinosa* L. با استفاده از کشت قطعات هیپوکوتیل

علی موافقی*، قادر حبیبی و محبوبه علی اصغر پور

تبریز، دانشگاه تبریز، دانشکده علوم طبیعی، گروه علوم گیاهی

تاریخ دریافت ۸۵/۱/۲۵ تاریخ پذیرش: ۸۶/۳/۲۳

چکیده

کور با نام علمی *Capparis spinosa* L. از گیاهان دارویی بوته‌ای و چند ساله اقلیم‌های گرم و خشک است که در طول تابستان رشد می‌کند. علی‌رغم نیاز روزافزون برای تکثیر انبوه این گیاه اطلاعات کمی در مورد روشهای ازدیاد آن وجود دارد. با اینکه تکثیر آن معمولا از طریق بذر یا قلمه‌زنی صورت می‌گیرد، اما جوانه‌زنی بذرها به سالها زمان نیاز دارد و تولید ریشه بر روی قلمه‌ها به سختی انجام می‌شود. در پژوهش حاضر تولید شاخساره و ریشه بر روی قطعات جداکشت هیپوکوتیل این گیاه در جهت باززایی در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفته است. در محیط کشت MS حاوی ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر NAA و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP بیشترین تولید مستقیم شاخساره‌های نوپدید مشاهده شد. افزایش مقدار NAA تولید شاخساره را مهار نمود و باعث تولید کالوس گردید. ریشه‌زایی قطعات جداکشت در محیط کشت حاوی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA بهینه بود. بنابراین شاخساره‌های تشکیل شده از هم جدا و به این محیط انتقال یافت. پس از ٤ هفته ریشه‌های تشکیل شده در پای شاخساره‌ها قابل مشاهده بود. گیاهان کامل تولید شده به خاک منتقل شد. این گیاهان به رشد و نمو خود در شرایط غیر استریل گلخانه ادامه دادند.

واژه های کلیدی: کور، باززایی، کشت بافت، هیپوکوتیل

* نویسنده مسئول، تلفن تماس: ۰۹۱٤۳۱۱٤۳٤٥، پست الکترونیک:Email: movafeghi@tabrizu.ac.ir

مقدمه

کور یا کبر با نام علمی *Capparis spinosa* L. گیاهی بوته‌ای، یک‌پایه و چندساله است که در اقلیم‌های گرم و خشک رشد می‌کند. این گیاه نه تنها به کمبود آب و حرارت بالا مقاومت قابل ملاحظه‌ای نشان می‌دهد، بلکه مقاوم به سرما نیز می‌باشد و می‌تواند تا دمای ۸- درجهٔ سانتی‌گراد نیز به حیات خود ادامه دهد (١٤، ١٥ و ١٨). کور در برخی مناطق ایران بویژه در استان‌های جنوبی و غربی در خاک‌های دارای pH قلیایی یافت می شود.

گیاه کور دارای استفاده غذایی و دارویی گسترده‌ای است و از این نظر اهمیت اقتصادی قابل ملاحظه‌ای دارد. از زمان های دور کور در آسیا از جمله ایران، برخی کشورهای افریقایی و همچنین جنوب اروپا بدلیل طعم تند موجود در بخشهای زایشی، بویژه جوانه‌های مولد گل (غنچه‌های نشکفته) و میوه‌های نارس، بعنوان چاشنی مصرف غذایی داشته است (۲ و ۱۰). پوست ریشه گیاه بعنوان مادهٔ مقوی، مدر و قابض کاربرد سنتی دارد و همچنین در درمان بسیاری از بیماری‌ها نظیر بیماری‌های کلیه، کبد، طحال، پوستی، کم‌خونی، اعصاب، نقرس، دیابت و روماتیسم استفاده می‌شود (۳، ۷، ۸ و ۱۷). استفاده دارویی بدلیل غنی بودن ریشه و جوانه‌های مولد گل و میوه‌ها از ترکیبات دارویی نظیر فلاونوئیدها، ساپونین‌ها، پکتین‌ها، اسانسها و بویژه گلیکوزیدها و گلیکوزینولاتها است (۹، ۱۱، ۱۲ و ١٤). با توجه به ترکیبات ارزشمند بیوشیمیایی متعدد در این گیاه و قیمت بالا، گاهی از جوانه‌های زایشی و میوه‌های نارس آن بعنوان خاویار

www.SID.ir

Archive of SID

گیاهی یاد می‌شود (۱۰). سالانه از کشورهای ترکیه، قبرس و یونان ۵ میلیون دلار میوه نارس کور فقط به آمریکا صادر می شود. در سه دهه اخیر بدلیل افزایش تقاضا و بهره برداری بی رویه از بخش های زایشی و همچنین مشکلات موجود در زمینه تکثیر این گونه، جمعیت آن در جهان و از جمله ایران با کاهش روبرو شده‌است (۱۰، ۱٦).

تکثیر گیاه کور بطور سنتی از طریق بذر و قلمه‌زنی صورت می‌گیرد که هر دو با مشکلات عملی مواجه می باشند. بذرها دو پوسته ای(Bitegmic) هستند که سلولهای هر دو پوسته در زمان رسیدگی چوبی و ضخیم می شود (۱۹). از اینرو بذر کور دارای خواب مکانیکی است و درصد جوانه‌زنی در صورت فراهم بودن شرایط محیطی مطلوب در حد کمتر از ۵ درصد است (۱ و ۱۳). جوانه زنی بذرها در شرایط طبیعی گاه به سالها زمان نیاز دارد. تکثیر رویشی از طریق قلمه‌زنی نیز بدلیل ریشه زایی اندک و درصد پایین رشد قلمه‌ها به دشواری صورت می گیرد (۱٦).

همانند بسیاری از گیاهانی که دارای اهمیت اقتصادی هستند، تکثیر آزمایشگاهی کور با استفاده از فنون کشت بافت می‌تواند بعنوان جایگزینی برای روش‌های ازدیاد سنتی در نظر گرفته شود. بعلاوه باززایی از طریق قطعات جداکشت در جهت حفظ ژنوتیپ های خاص نیز حائز اهمیت است (٤). قطعات جداکشت در شرایط آزمایشگاهی می‌توانند به دو طریق شاخه‌های نابجا تولید کنند. در اکثر مطالعات تشکیل مریستمهای شاخساره بطور غیر مستقیم، یعنی پس از تشکیل کالوس و بر روی آن، صورت می‌گیرد (۵ و ٦). گرچه باززایی از طریق کالوس در تولید انبوه گیاهان اهمیت قابل ملاحظه‌ای دارد اما در این شرایط امکان تنوع سوماکلونی بالا بوده و برای تکثیر رویشی با هدف حفظ ژنوتیپ‌های معین چندان مناسب نمی‌باشد. از طرف دیگر برای تولید کالوس معمولا مدت زمان نسبتا طولانی در حدود چند ماه مورد نیاز است.

روش دوم که انجام آن در شرایط آزمایشگاهی دشوارتر است، تشکیل مستقیم مریستم‌های شاخساره بر روی بافت‌های جداکشت می‌باشد. سرعت تولید شاخساره مستقیم بالاتر بوده و در نتیجه با توجه به پایین بودن تغییرات سوماکلونال برای ریزازدیادی، بسیار باارزش است (٤ و ۵).

در آزمایشات باززایی کشت بافت‌های جداکشت معمولاً استفاده از بخش های هوایی برای تولید شاخساره‌های نابجا رایج تر است و نتایج مطلوب‌تری نیز دارد. در این میان قطعات هیپوکوتیل بدلیل قابلیت رشد سریع و عدم تمایزیابی شدید به سمت اندام‌ها بیشتر مورد استفاده قرار می‌گیرند (۵ و ٦). در این کار پژوهشی باززایی گیاه کور از طریق قطعات جداکشت هیپوکوتیل مورد بررسی قرار گرفت و شرایط لازم برای تولید کالوس، شاخساره، ریشه و گیاه کامل مشخص شد.

مواد و روشها

شرایط کشت آزمایشگاهی: بذرهای کور از منطقه خواجه واقع در حومه شهرستان اهر جمع آوری شد. بذرها بمدت ۲۰ دقیقه دراسید سولفوریک ۹۸٪ قرار گرفتند تا قسمت‌های بیرونی پوسته در اسید حل شود. سپس بمدت ۲۰ دقیقه با محلول هیپوکلریت سدیم ۵ درصد به مدت ۱۵ دقیقه استریل شد. کشت آنها پس از سه بار شستشو با آب مقطر استریل در محیط کشت پایه موراشیج و اسکوگ MS (Murashige and Skoog) در اطاقک رشد و با شرایط نوری حدود ۲٤۰۰ لوکس و دوره نوری ۱٦ ساعت روشنایی، ۸ ساعت تاریکی در دمای ۲ ± ۲۵ درجه سانتی‌گراد انجام شد. پس از ۱٤ روز از هر دانه‌رست یک قطعه هیپوکوتیل بطول ۷–۵ mm بریده شد و بعنوان قطعه جداکشت به محیط های حاوی هورمون منتقل گردید.

هورمون‌های مورد استفاده نفتالین استیک اسید NAA (Naphthalene Acetic Acid) و ایندول بوتیریک اسید

www.SID.ir

Archive of SID

(Indole Butyric Acid) IBA بعنوان اکسین‌های مصنوعی غیرفنوکسی و ٦-بنزیل آمینوپورین (BAP6-benzyl aminopurine) ، کینتین و زاتین بعنوان سیتوکینین، بودند. غلظت اکسین ها ۰/۵ تا ۲ میلی گرم در لیتر و سیتوکینین ها ۰/۵ تا ۵ میلی گرم در لیتر به تنهایی و یا در ترکیب با همدیگر در محیط کشت بود که با شاهد (بدون هورمون) مقایسه شد. پس از افزودن هورمون pH محیط کشت روی ۵/۷ ± ۰/۰۵ تنظیم گردید و عمل استریل کردن در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱ اتمسفر بمدت ۱۸ دقیقه انجام شد. ۱۰ میلی‌لیتر از هر محیط کشت در ٤ تکرار داخل پتری‌دیش‌های یکبار مصرف استریل با ابعاد ۱/۲ × ٦ سانتی‌متر توزیع، و در هر ظرف ٤ قطعه هیپوکوتیل کشت داده شد. نمونه‌ها در اطاقک رشد در شرایط نوری حدود ۲٤۰۰ لوکس با دوره نوری ١٦ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی در دمای ۲ ± ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت.

ارزیابی آماری نتایج: رشد و نمو قطعات جداکشت هر هفته زیر لوپ بررسی و پس از ٤ هفته واکشت آنها انجام شد. شاخص‌های آماری هر تیمار پس از ٤ و ۸ هفته محاسبه گردید. میانگین میزان تولید کالوس بر اساس قطر کالوس بین ۰-٤ تعیین شد و سپس اندازه گیری رشد کالوس با استفاده از شاخص کالوس با فرمول زیر انجام گرفت (۲۱).

تولید شاخساره توسط شاخص شاخساره و تولید ریشه توسط شاخص ریشه‌زایی با استفاده از فرمول‌های زیر ارزیابی گردید.

$$\text{شاخص کالوس} = \frac{\text{میانگین میزان تولید کالوس} \times \text{تعداد قطعات کال داده}}{\text{تعداد کل قطعات جداکشت}} \times ۱۰۰$$

$$\text{شاخص شاخساره} = \frac{\text{میانگین میزان تولید شاخساره} \times \text{تعداد قطعات شاخه داده}}{\text{تعداد کل قطعات جداکشت}} \times ۱۰۰$$

$$\text{شاخص ریشه زایی} = \frac{\text{میانگین میزان تولید ریشه} \times \text{تعداد قطعات ریشه داده}}{\text{تعداد کل قطعات جداکشت}} \times ۱۰۰$$

میانگین میزان تولید شاخساره و میانگین میزان تولید ریشه بر اساس تعداد شاخساره‌ها و ریشه‌های نوپدید به پنج گروه تقسیم بندی شدند. مقدار صفر، زمان قبل از القای شاخساره یا ریشه می باشد، که به ازای هر ٤ شاخساره یا ریشه تشکیل شده یک واحد به آن افزوده می شود (۲۱).

تجزیه واریانس یکطرفه اثر تنظیم کننده های رشد روی شاخص کالوس، شاخص شاخساره و اندیس ریشه در

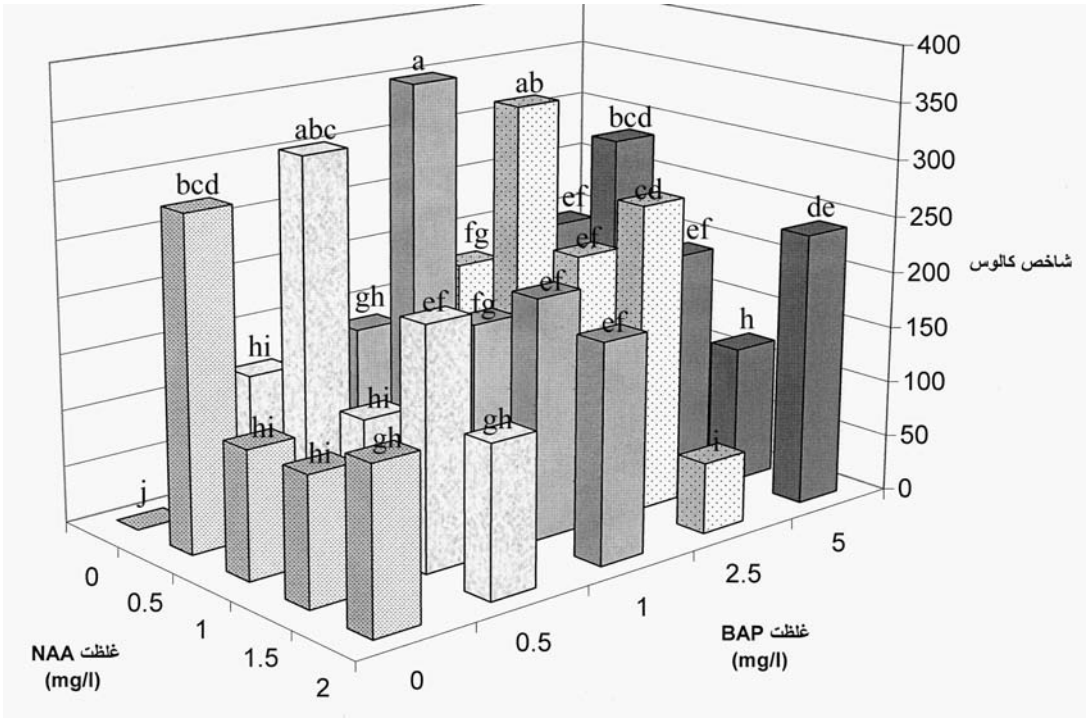
www.SID.ir

Archive of SID

قالب طرح پایه کاملا تصادفی در ٤ تکرار از طریق نرم افزارهای SAS و MSTATC انجام گرفت. مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال ۰/۰۵ انجام شد. با توجه به معنی دار بودن اثرات متقابل دو تنظیم کننده رشد مورد استفاده برای تشکیل کالوس (NAA و BAP)، این اثرات به اثرات ساده هر فاکتور در سطوح فاکتور دیگر تجزیه و میانگین آنها دو به دو مورد مقایسه قرار گرفت.

نتایج

تولید کالوس: قطعات جداکشت هیپوکوتیل کور تمایل زیادی به تشکیل کالوس در تیمار های هورمونی مختلف بکار رفته از خود نشان دادند. در اولین سری از آزمایشهای بررسی اثر تنظیم کننده‌های رشد، از محیط پایه MS حاوی غلظت های متفاوتی از NAA و BAP استفاده شد (شکل ۱). پس از گذشت ۱ هفته تشکیل کالوس بر روی قطعات جداکشت در تمامی محیط‌های کشت بکار رفته بجز محیط‌های شاهد فاقد هورمون قابل مشاهده بود. شاداب ترین کالوس ها با رنگ زرد مایل به سبز در محیط‌های کشت دارای ترکیب تیماری ۰/۵ یا ۱ میلی‌گرم در لیتر NAA و ۰/۵ یا ۱ میلی‌گرم در لیتر BAP تولید شد (شکل ۲-الف و ۲-ب). با وجود این، پس از گذشت دو تا سه هفته در بافت‌های تولید شده تحت تیمار دارای مقادیر بالاتر NAA (۱/۵ و ۲ میلی‌گرم در لیتر) و BAP (۲/۵ و ۵ میلی‌گرم در لیتر) تولید ترکیبات فنلی آغاز شده و رنگ کالوس ها تیره می‌شد. این مشکل در محیط‌های با مقادیر کمتر هورمونها وجود نداشت.



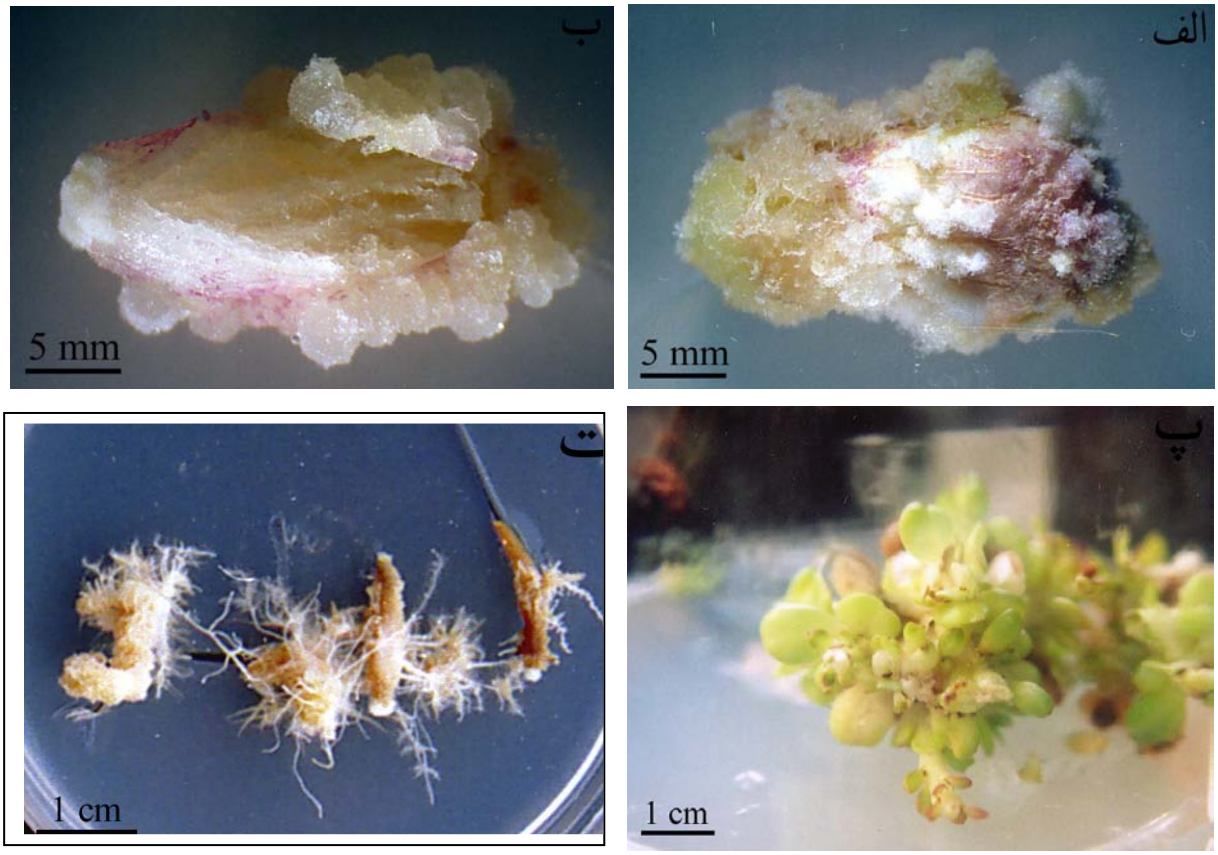
شکل ۱: مقایسه میانگین‌های شاخص کالوس در غلظت‌های متفاوت NAA و BAP. حروف نشاندهنده کلاس آماری است و مقادیر با حروف مشابه در سطح احتمال ۰/۰۱ بر اساس روش دانکن اختلاف معنی داری ندارند. بالاترین مقدار شاخص کالوس مربوط به محیط‌های دارای غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA و ۰/۵ تا ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP می‌باشد.

www.SID.ir

Archive of SID

محاسبه شاخص کالوس و تجزیه آماری داده‌ها پس از یک واکشت ۸ هفته ای نشان داد که اثر تیمارهای NAA و BAP به تنهایی و همچنین اثرات متقابل آنها معنی دار است. بیشترین مقدار شاخص کالوس در محیط‌های کشت حاوی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA و ۱ میلی‌گرم در لیتر BAP مشاهده گردید (شکل ۱).

با جایگزین کردن کینتین و زاتین بجای BAP تشکیل کالوس بر روی قطعات جداکشت هیپوکوتیل تشدید شد اما تولید شاخساره صورت نگرفت. با توجه به اینکه کالزایی هدف اصلی این کار پژوهشی نبود از ذکر نتایج آماری این آزمایشات خودداری می‌شود.



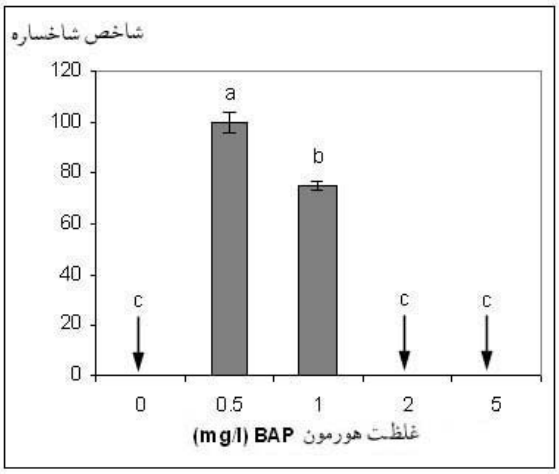
شکل ۲- پاسخ قطعات جداکشت هیپوکوتیل به تیمارهای هورمونی. الف و ب: کالوس تولید شده بترتیب در محیط‌های کشت حاوی ۱ mg/l NAA + ۰/۵ mg/l BAP و ۰/۵ mg/l NAA + ۰/۵ mg/l BAP؛ پ: تشکیل جوانه‌های متعدد شاخساره روی قطعات جداکشت تحت تاثیر BAP ۰/۵ mg/l + ۰/۱ mg/l NAA؛ ت: تشکیل ریشه بر روی قطعات جداکشت در حضور ۰/۵ mg/l NAA.

تولید شاخساره: با توجه به تولید کالوس از قطعات هیپوکوتیل در تمام غلظت‌های بکار رفته از NAA و BAP در آزمایش قبل، کمی رشد در محیطهای فاقد NAA دارای غلظتهای متفاوت BAP ، و تشکیل توده‌های سلولی قهوه‌ای رنگ، در سایر آزمایشها از غلظت نسبتا کم NAA یعنی ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر در محیطهای دارای BAP در محیط کشت MS استفاده شد. پس از بیست روز تشکیل مستقیم شاخساره نوپدید بر روی قطعات هیپوکوتیل در محیط کشت دارای ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر NAA بهمراه ۰/۵ یا ۱ میلی‌گرم در لیتر BAP مشاهده شد. جوانه‌های تشکیل شده رشد قابل ملاحظه‌ای داشتند و در پایان ماه اول دارای ۲ تا ٤ برگ قابل شمارش بودند (شکل ۲-پ)، که اندازه گیری شاخص شاخساره برای آنها امکان پذیر است. محاسبه میانگین و تجزیه واریانس یکطرفه اندیس

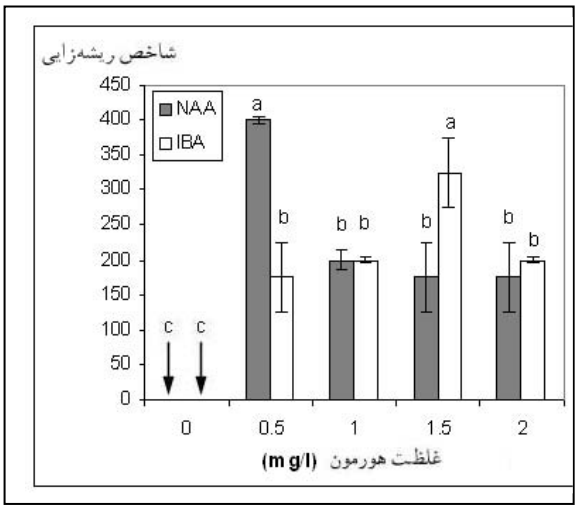
www.SID.ir

Archive of SID

شاخساره معنی‌دار بودن اثر غلظت هورمون سیتوکینین بکار رفته را تایید نمود. بیشترین میانگین اندیس شاخساره در محیط کشت دارای ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر NAA و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP بدست آمد (شکل ۳).



شکل۳: میانگین شاخص شاخساره در حضور ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر NAA و غلظت‌های متفاوت BAP. ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP که بیشترین مقدار شاخساره را تولید کرده است. حروف نشانگر کلاس آماری و پیکان ها نشان دهنده عدم تولید شاخساره (شاخص شاخساره برابر صفر) می باشد.



شکل ٤: مقایسه میانگین شاخص ریشه زایی محاسبه شده قطعات هیپوکوتیل در حضور اکسین‌های NAA و IBA. بیشترین مقدار ریشه زایی در حضور ۰/۵ میلی گرم در لیتر NAA و ۱/۵ میلی گرم در لیتر IBA صورت گرفت. حروف نشانگر کلاس آماری و پیکان ها نشان دهنده عدم تولید ریشه (شاخص ریشه زایی برابر صفر) می باشد.

تولید ریشه: برای تعیین غلظت مناسب جهت ریشه‌زایی ابتدا قطعات هیپوکوتیل را برش داده شدند و در محیط کشت MS حاوی غلظت‌های متفاوت NAA یا IBA بعنوان دو اکسین موثر در ریشه زایی کشت داده شد. پس از دو هفته ظهور ریشه‌ها بطور کاملا مشخص بر روی قطعات جداکشت در تیمارهای هر دو نوع اکسین قابل مشاهده بود و با گذشت زمان بر تعداد و اندازه ریشه‌ها افزوده می‌شد (شکل ۲–ت). پس از یک ماه شاخص ریشه‌زایی برای محیط‌های کشت محاسبه و آنالیز آماری انجام شد. مقایسه میانگین شاخص محاسبه شده برای تیمارها مشخص کرد که اثر انواع اکسین و غلظت‌های مختلف آنها بر ریشه‌زایی معنی دار است و بیشترین مقدار شاخص ریشه‌زایی به تیمار ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA مربوط می‌باشد (شکل ٤).

تولید گیاه کامل: با توجه به نتایج، برای القای تشکیل ریشه در شاخساره‌های تولید شده روی قطعات هیپوکوتیل، ابتدا شاخساره‌های نوپدید از یکدیگر جدا و سپس به ظروف کشت ۱۰۰ میلی لیتری حاوی محیط کشت MS دارای ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA منتقل شد (شکل ۵–الف). در این محیط کشت همزمان با القای تشکیل ریشه (شکل ۵–ب) طول شاخساره‌ها شدیدا افزایش یافت (شکل ۵–پ)، بطوریکه نیاز به استفاده از هورمون ژیبرلین برای افزایش طول شاخساره‌ها نبود. پس از یک ماه گیاهچه‌های کامل تولید و گیاهان باززایی شده به گلدانهای کوچک حاوی ۳۰٪ هوموس و ۷۰٪ ماسه انتقال یافت و تمامی آنها در شرایط غیر استریل در گلخانه به حیات خود ادامه دادند (شکل ۵–ت).

بحث و نتیجه گیری

در زمینه تکثیر گیاه کور با استفاده از روش های کشت بافت فقط یک گزارش با استفاده از کشت قطعات بریده شده انتهای شاخه وجود دارد (١٦). در این مطالعه بخش های هوایی گیاه کامل در حال رشد از رویشگاه‌های طبیعی

www.SID.ir

Archive of SID

جمع آوری و انتهای شاخه‌ها در حضور غلظت‌های بالا سیتوکینین کشت داده شد تا جوانه‌های جانبی به رشد خود ادامه دهد. سپس با انتقال جوانه‌های رشد یافته به محیط‌های کشت با قدرت کمتر و دارای IBA ابتدا در قاعده آنها کالوس تشکیل و در مرحله بعد تولید ریشه القا گردید. این روش باززایی، از طرفی به وجود گیاهان رشد یافته در طبیعت وابسته است و از طرف دیگر میزان آلودگی بر روی قطعات جداکشت، بدلیل محدود بودن شرایط استریل کردن بافت‌های بالغ، زیاد است. ایراد اساسی دیگر این پژوهش همانند مطالعات مشابه در کشت سرشاخه این است که چون برای تحریک رشد جوانه‌ها از غلظت‌های بالای سیتوکینین استفاده می شود، غلظت این هورمون در بافت‌های در حال رشد افزایش یافته و در نتیجه در مراحل بعدی در حضور اکسین‌های اضافه شده جهت ریشه زایی تشکیل کالوس اجتناب ناپذیر است. تولید کالوس در مراحل باززایی امکان تنوع سوماکلونال را در سلول های تولید شده بالا می برد و همچنین زمان لازم برای باززایی را افزایش می دهد (٤). از طرف دیگر تشکیل ریشه بر روی بافت کالوس بطور غیریکنواخت و پراکنده صورت می گیرد (٦).

شکل ۵- تشکیل گیاهان کامل باززایی شده در محیط کشت حاوی NAA ۰/۵ mg/l الف: رشد سریع جوانه‌های نوپدید جداشده پس از دو هفته؛ ب: تولید ریشه در قاعده شاخساره‌های نوپدید تحت تاثیر NAA؛ پ: رشد طولی قابل توجه گیاهان کامل باززایی شده در ظروف کشت پس از یک ماه؛ ت: گیاهان کامل باززایی شده پس از انتقال به خاک.

www.SID.ir

Archive of SID

در پژوهش حاضر BAP بدلیل اثر سریع آن در القای شاخساره و همچنین قیمت مناسب آن نسبت به سایر سیتوکینین ها انتخاب شد. آزمایشات نشان داد که استفاده از مقدار کم NAA در حدود ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر در محیط‌های کشت برای القای تشکیل شاخساره بر روی قطعات هیپوکوتیل موثر است و مانع از نکروزه شدن بافتها می‌شود. این نتایج با گزارشات قبلی در مورد اثر مثبت مقادیر جزئی NAA همراه با سیتوکینین‌ها در محیط‌های کشت تولید شاخساره در گیاهان متعلق به تیره‌های دیگری نظیر داتوره، بارهنگ و میخک مطابقت دارد (٤، ٢٠ و ٢١). نظر به تولید شاخساره بر روی قطعات جداکشت هیپوکوتیل با استفاده از غلظت‌های پایین BAP ، مقدار سیتوکینین در شاخساره‌های تشکیل شده بمیزان مورد استفاده در حضور NAA جهت ریشه زایی نبود در نتیجه تولید کالوس تحریک نشد. از اینرو در مرحله بعد ریشه زایی مستقیم بدون گذر از کالوس تحت تاثیر NAA در قاعده شاخساره انجام شد.

القای ریشه زایی قطعات جداکشت توسط اکسین‌های پاسخی متعارف است که در مدت زمان نسبتا کوتاهی در حضور هر دو هورمون NAA و IBA صورت گرفت. این دو هورمون بعنوان اکسین‌های مصنوعی پایدار غیر فنوکسی در محیط‌های کشت گیاهی برای ایجاد ریشه در اکثر گونه‌ها بکار می رود (٤ و ٦). با اینحال غلظت بهینه آنها نسبت به همدیگر برای قطعات جداکشت یک گونه و همچنین از یک گونه به گونه دیگر متفاوت است. گاهی با انتقال شاخساره‌های نوپدید به محیط‌های کشت بدون سیتوکینین یا با مقدار کم سیتوکینین استفاده از ژیبرلین‌ها جهت افزایش رشد طولی ضروری است (۵). در مورد گیاه کور همزمان با تولید و رشد ریشه شاخساره‌های نوپدید در محیط‌های ریشه زا رشد بسیار سریعی نشان دادند بطوریکه نیازی به کاربرد هورمون رشد ژیبرلین نبود. از اینرو امکان انتقال سریع به محیط برون شیشه (ex vitro) در مدت زمان کوتاهی پس از تشکیل ریشه‌ها امکان پذیر شد.

نتایج بدست آمده روشی را برای باززایی گیاه کور با استفاده از کشت قطعات هیپوکوتیل در مدتی حدود ۱۰ هفته ارائه می نماید. این روش می تواند جهت تولید انبوه گیاه دارویی کور مورد استفاده قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

از آقایان دکتر حکمت شعار و دکتر خسروشاهلی اساتید محترم گروه زیست شناسی دانشگاه تبریز بدلیل همکاری در تفسیر نتایج صمیمانه قدردانی می گردد. از مدیریت محترم تحصیلات تکمیلی دانشگاه تبریز جهت تامین بخشی از هزینه های پژوهش سپاسگزاری می شود.

منابع

1 – Ayanoglu, F., and Mert, A., (1999). The effect of different stratification duration and chemical treatment on the emergence of the seeds of two Caper species (*Capparis spinosa* L. and *Capparis ovata* Desf.). Turk. J. Bot., 5: 77-80

2- Calis, I., Kuruuzum, A., and Ruedi, P., (1999). 1H-indole-3 acetonitrile glycosides from *Capparis spinosa* fruits. Phytochemistry, 50: 1205-1208.

3- Chhaya, G., and Mishra, S. H., (1999). Antihepatotoxic activity of p- methoxy benzoic acid from *Capparis spinosa*. J. Ethnopharmacol., 66: 187-192

4- Debnath, M., Malik, C.P., and Bisen, P.S., (2006). Micropropagation: a tool for the production of high quality plant-based medicines. Curr. Pharm. Biotechnol., 7: 33-49

5- Dixon, R.A., and Gonzales R.A., (1996). Plant cell culture: a practical approch. IRL Press, Oxford, UK.

6- Dodds, J.H., and Roberts L.W., (1987). Experiments in plant tissue culture. Cambridge Unversity Press, UK.

7- Eddouks, M., Lemhardi, A., and Michel, J.B., (2004). Caraway and caper: potential anti-hyperglycaemic plants in diabetic rats. J. Ethnopharmacol., 94: 143-148

www.SID.ir

Archive of SID

8- Germano, M.P., De-Pasquale, R., De-Angelo, S., Catania, S., Silvari, V., and Costa, S., (2002). Evaluation of extracts and isolated fraction from *Capparis spinosa* L. buds as an antioxidant source. J. Agric. Food Chem., 50: 1168-1171

9- Khanfar, M.A., Sabri, S.S., Zarga, M.H., Zeller, K.P., (2003). The chemical constituents of *Capparis spinosa* of Jordanian origin. Nat. Prod. Res., 17: 9-14

10- Kontaxis, D.C., (1999). Capers: A new crop for California. California University Press, USA.

11- Matthaus, B., and Ozcan, M., (2002). Glucosinolate composition of young shoots and flower buds of capers (*Capparis* species) growing wild in Turkey. J. Agric. Food Chem., 50: 7323-7325.

12- Matthaus, B., and Ozcan, M., (2005). Glucosinolates and fatty acid, sterol, and tocopherol composition of seed oils from *Capparis spinosa* Var. spinosa and *Capparis ovata* Desf. Var. canescens (Coss.) Heywood. J. AgricFood Chem., 53: 7136 -7141.

13- Orphanos, P.I., (1983). Germination of caper (*Capparis spinosa* L.) seeds. J. Hortic. Sci., 58: 267-270.

14- Panico, A.M., Cardile, V., Garufi, F., Pugila, C., Bonina, F., and Ronsisvalle, G., (2005). Protective effect of *Capparis spinosa* on chondrocytes. Life Sci., 77: 2479-2488.

15- Rhizopoulou, S., Heberlein, K., and Kassianou, A., (1997). Field water relations of *Capparis spinosa*. J. Arid Environ., 36: 237-248.

16- Rodrigues, R., Rey, M., Cuozzo, L. and Ancora, G., (1990). In vitro propagation of caper (*Capparis spinosa* L.). In Vitro Cell. Dev. Biol., 26: 531-536.

17- Sharaf, M., El-Ansari, M.A., and Saleh, N.A., (2000). Quercetin *triglycoside* from *Capparis spinosa*. Fitoterapia, 71: 46-9.

18- Sophia, R., and George, K. P., (2003). Development and structure of drought-tolerant leaves of the Mediterranean shrub *Capparis spinosa* L. Ann. Botany, 92: 377-383.

19- Sozzi, G.O., and Chiesa, A., (1995). Improvement of caper (*Capparis spinosa* L.) seed germination by breaking seed coat-induced dormancy. Sci. Hortic., 62: 255-261.

20- Van Altvorst, A.C., Bruinsma, T., Koehorst, H.D.M., and Dons, H.J.M., (1992). Regeneration of carnation (*Dianthus caryophylus* L.) using leaf explants. Acta Hortic., 307: 109-116

21- Wakhlu, A.K., and Barna, K.S., (1989). Callus initiation, growth and plant regeneration in *Plantago ovata* Forsk. cv.GI-2. Plant Cell Tiss. Organ Cult., 17: 235-241

Plant regeneration of *Capparis spinosa* L. using hypocotyl explants

movafeghi A., Habibi Gh and Aliasgarpoor M.

Plant Sciences Dept., Faculty of Natural Sciences, University of Tabriz, Tabriz, I. R. of IRAN

Abstract

Capparis spinosa L. (Capparidaceae) is one of the few perennial medicinal shrubs, which grows entirely during long summer in the Mediterranean regions. In spite of the increasing worldwide demand for the product of caper crop, little information on the propagation of this plant is available. Caper propagation is usually carried out by seeds and cuttings. However, seed germination performance and rooting of cuttings have serious problems. The objectives of this study were to develop a satisfactory shoot proliferation and rooting procedure on hypocotyl explants for in vitro propagation of caper. The optimum bud formation occurred after 4 weeks on the MS medium supplemented with 0.1 mg/l NAA and 0.5 mg/l BAP. An increase in level of NAA was inhibitory to the formation of shoots. Rooting of the explants on the media containing 0.5 mg/l NAA was the best. Therefore, small regenerated shoots were excised and

www.SID.ir

Archive of SID

transferred to root initiation medium. After four weeks roots were observed on the stem bases. The regenerated plantlets were successfully transferred into soil under non-sterile conditions for further development.

Key words: caper, regeneration, tissue culture, hypocotyl

www.SID.ir