Archive of SID

دو فصلنامهٔ علمی-پژوهشی تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران
جلد ۲۰، شمارهٔ ۱، صفحهٔ ۱٤٤-۱۳٤ (۱۳۹۰)

ریزازدیادی گونه کلیر (*Capparis decidua*) از طریق کشت سرشاخه درختان برگزیده و دانهال‌های کلیر

طیبه سهیلا نراقی*[۱]، میترا امام[۲]، عباس قمری‌زارع[۳]، غلامرضا دمی‌زاده[٤] و آناهیتا شریعت[٥]

۱*- نویسنده مسئول مکاتبات، کارشناس خبره، موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، گروه تحقیقات زیست فناوری منابع طبیعی
پست الکترونیکی: tnaraghi@rifr-ac.ir

۲- مربی پژوهش، گروه تحقیقات زیست‌فناوری منابع طبیعی، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، تهران

۳- استادیار، گروه تحقیقات زیست‌فناوری منابع طبیعی، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، تهران

٤- مربی پژوهش، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان هرمزگان

٥- کارشناس‌ارشد، گروه تحقیقات زیست‌فناوری منابع طبیعی، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، تهران

تاریخ دریافت: ۱۳۸۹/۰۹/۲۰ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۰۳/۲۹

چکیده

گونه کلیر (*Capparis decidua*) از گیاهان بیابانی مقاوم به خشکسالی طولانی‌مدت است که خاص مناطق رویشی جنوب ایران (استان‌های هرمزگان، بوشهر، سیستان و بلوچستان) می‌باشد. با توجه به عدم زادآوری طبیعی این گونه در سال‌های اخیر، تکثیر غیرجنسی پایه‌های سالم این گونه از طریق کشت بافت، می‌تواند منجر به حفاظت از این منابع ژنتیکی با ارزش شود. تحقیق حاضر جهت کشت درون شیشه‌ای و تکثیر گونه کلیر از طریق ریزنمونه جنین و جوانه (دانهال‌ها و درختان برگزیده) انجام شده است. بذرها پس از سترون‌سازی شکافته شده و جنین‌های داخل آنها، در محیط کشت‌های MS و MCM درون ویال‌های شیشه‌ای و محیط‌های حاوی مقادیر مساوی ورمیکولایت، پیت و پرلیت سترون‌سازی‌شده در دو گروه، آبیاری شده با محیط کشت MS و بدون آن درون ظروف کشت Magenta GA7 کشت شدند. ۷٤ درصد جنین‌ها پس از ۳ هفته در ظروف کشت Magenta GA7 جوانه زدند و دانهال‌ها تشکیل شدند. سرشاخه‌های این دانهال‌ها و درختان برگزیده در محیط کشت‌های MS (N/2) و MCM حاوی ترکیبات مختلف هورمونی اکسین و سیتوکینین کشت شدند. در مرحله شاخه‌زایی، بیشترین تعداد شاخه (٤/٥) در محیط کشت MCM با ترکیب هورمونی ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر BA، ۰/۳ میلی‌گرم در لیتر 2iP، ۰/۰۱ میلی‌گرم IBA و ۰/٥ میلی‌گرم در لیتر GA3 برای هر دو نوع سرشاخه با منشاء دانهال و برگزیده بدست آمد. بیشترین درصد ریشه‌زایی (۸۹٪) با قرار دادن شاخه‌ها در محیط MS (N/2) به همراه ۰/٥ میلی‌گرم در لیتر IBA و در ظروف کشت Magenta GA7 حاوی خاک سترون‌سازی‌شده پیت و ورمیکولایت بدست آمد. گیاهچه‌ها پس از طی مراحل مختلف سازگاری در نهالستان اداره کل منابع طبیعی شهرستان جاسک کشت شدند.

واژه‌های کلیدی: کلیر، کشت درون شیشه‌ای، سرشاخه، کشت جنین جنسی و دانهال.

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

کلیر گیاهی به ارتفاع تا ۱۵ متر و با انشعاب‌های شاخه‌ای فراوان و بلند از تیره Capparidaceae می‌باشد (Mozaffarian, 1996). این گیاه به‌دلیل تثبیت تپه‌های شنی و حفاظت از خاک و نیز به‌عنوان منبع سوخت و الوار در مناطق بیابانی اهمیت زیادی دارد (Saghafi Khadem, 2000). کلیر دارای تاج پوشش کروی و متراکم و سیستم ریشه‌ای عمیق بوده و نسبت به خشکی، گرما، آتش‌سوزی و وزش باد بسیار مقاوم است، به دلیل وجود مشکلاتی از قبیل زادآوری طبیعی پایین گیاه و موفقیت اندک در تولید نهال، استفاده کمتری از این گونه در کنترل بیابان صورت گرفته‌است. عدم موفقیت جوانه‌زنی بذرها در اثر خواب ناشی از عواملی نظیر موانع فیزیکی (سختی پوشش بذر که مانع جذب و یا حرکت آب، گاز و یا مواد شیمیایی در بذر می‌گردد)، عوامل فیزیولوژیکی (که از رشد و تکامل جنین جلوگیری می‌کند)، پدیده‌های پس‌رسی و وقوع خواب ثانویه می‌باشد.

اطلاعات کمی راجع به خصوصیات و نحوه رویاندن بذر کلیر (*C. decidua*) در شرایط این ویترو وجود دارد. مطالعاتی بر روی گونه کور (*C. spinosa L*) که از نظر گیاهشناسی خویشاوندی نزدیکی با آن دارد انجام شده‌است. بذر کور گرد بوده و به‌ویژه در سمت ریشه‌چه کمی پهن است. قطر بذر ۳ میلی‌متر بوده و پوسته (Testa) آن شامل سلول‌های فشرده‌ای می‌باشد که از سمت بیرون به وسیله موسیلاژ (Musilage) پوشانده شده‌است و جنین به صورت مارپیچی در بخش مرکزی بذر قرار داشته و به وسیله بافت ذخیره‌ای احاطه شده است. پوسته بذر و سایر قسمت‌های اطراف جنین مانع اصلی در سبز شدن بذر می‌باشند (Orphanos, 1983). در نظر برخی از محققان بذر گیاهان این جنس دو پوسته‌ای (Bitegmic) می‌باشد. در تیمارهای مختلف جهت شکستن دوره خواب گونه کور بیشترین درصد جوانه‌زنی بذر در تیمار با اسید سولفوریک غلیظ و بعد خیساندن بذرها در ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر جیبرلین به مدت ۹۰ دقیقه یا تیمار بذرها با اسیدسولفوریک غلیظ و بعد اضافه‌کردن ۰/۲ درصد نیترات پتاسیم به محیط کشت به‌ترتیب ۹٤ و ۹۳/۲۵ درصد بدست آمد، همچنین در تیمار بذرها با آب ۸۵ درجه سانتی‌گراد، در اثر آسیب رسیدن به رویان، درصد سبز شدن بذرها به صفر رسید (Sozzi & Chiesa, 1995). در بررسی مسائل و مشکلات تولید نهال کلیر Fayaz (1997) نشان داد که کاشت میوه‌های کامل بهترین روش تکثیر این گیاه می‌باشد. در تحقیقات انجام شده توسط Deora و Shekhawat (1995) ریزازدیادی کلیر از طریق کشت میانگره‌های درختان بالغ انجام شد. علاوه بر این برای ریزازدیادی گونه کلیر از ریزنمونه‌های گره‌ای درختان بالغ و ریزنمونه گره‌لپه‌ای، لپه و هیپوکوتیل از دانهال بذری استفاده شده است. ریزنمونه‌ها در محیط کشت MS به همراه هورمون BA ٤ تا ۵ هفته پس از کشت اولیه تولید شاخه کردند. بهترین جوانه‌های شاخه در بین ریزنمونه‌های گره‌لپه‌ای در غلظت ۵ میلی‌گرم در لیتر BA بدست آمد که در دومین بازکشت و کاهش میزان BA تا ۳ میلی‌گرم در لیتر بیشترین تعداد شاخه را شاهد بودند. ریشه‌زایی با IBA در سطح ۱ میلی‌گرم در لیتر انجام گردید. در نهایت گیاهچه‌های ریشه‌دار به گلدان‌های حاوی خاک باغچه و پیت ماس انتقال یافتند (Tyagi & Kotarai, 1997). البته می‌توان با بررسی تأثیر شرایط محیطی بر زنده‌مانی نهال‌های کلیر با مقایسه تیمارهای مختلف بذر در افزایش جوانه‌زنی و ترکیب خاک مناسب به منظور تولید نهال در نهالستان به نتایج مهمی دست یافت (Damizadeh, 2005). از کاشت جنین‌های بالغ جنسی

www.SID.ir

Archive of SID

کلیر نیز برای تولید جنین سوماتیکی استفاده شده‌است. در این تحقیق محیط کشت مایع MS (Murashige & Skoog, 1962) به همراه ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BA با حذف مرحله تولید کالوس به طور مستقیم از لایه زیر اپیدرمی، جنین غیرجنسی تولید نمودند. بعد با تیمار ABA و ۱ میلی‌گرم در لیتر BA این جنین‌ها را سبز کردند. با این روش از هر جنین جنسی ۲۳۰ جنین غیرجنسی در مدت ۱۵ هفته بدست آمد. جنین‌ها پس از ۸ هفته رویانده شده و گیاهچه‌های سازگار به گلدان منتقل شدند (Tyagi *et al*, 2005). پژوهش حاضر تلاشی برای تکثیر گیاه کلیر، از طریق کشت سرشاخه دانهال‌ها و کشت سرشاخه درختان برگزیده در محیط کشت‌های مختلف در شرایط درون شیشه‌ای می‌باشد.

مواد و روشها

میوه‌های با پوست و گوشت صورتی مایل به قرمز کلیر در اواسط خرداد ماه از رویشگاه طبیعی کلیر در منطقه سیریک واقع در ۸۰ کیلومتری جنوب شرقی میناب جمع‌آوری گردید، بعد بذرها به مدت هفت روز به منظور نرم شدن پوسته بذر، حذف موسیلاژ و شکستن دوره خواب بذر در معرض آب جاری قرار گرفتند. بذرها با سه تیمار: ۱- محلول هیپوکلریت سدیم ۱ درصد (سفیدکننده تجارتی ۲۰ درصد حجمی حاوی قطره‌ای مایع ظرفشویی) به مدت ۳ دقیقه و در انتها محلول کلرید جیوه (HgCl2) ۰/۱ درصد به مدت ۳۰ ثانیه، ۲- محلول کلرید جیوه ۰/۱ درصد به مدت دو دقیقه، ۳- محلول هیپوکلریت سدیم ۱ درصد به مدت پنج دقیقه ضدعفونی شده و در زیر هود مخصوص کشت بافت با استفاده از لوپ شکافته شده و در صورت مشاهده جنین در بافت مگاگامتوفیت، جنین‌ها با احتیاط خارج و در محیط کشت‌های MS و MCM (McCown, 1982) درون ویال‌های شیشه‌ای و محیط کشت‌های حاوی مقادیر مساوی ورمیکولایت، پیت و پرلیت سترون شده در دو گروه (آبیاری شده با محیط کشت MS و بدون آن) درون ظروف کشت Magenta GA7 کشت شدند. پس از تشکیل دانهال‌ها سرشاخه‌های آنها قطع شده و پس از سترون‌سازی در محیط‌های MS (N/2) و MCM و هورمون‌های IBA، BA، TDZ، 2iP، NAA و GA3 کشت شدند. غلظت و ترکیب تیمارهای هورمونی در جدول ۱ آورده شده است.

جدول ۱- تیمارهای هورمونی در کشت سرشاخه دانهال‌ها (مقادیر بر حسب میلی‌گرم بر لیتر)

نوع هورمون / ترکیب هورمونی	2iP	BA	TDZ	GA	NAA	IBA
T/1	–	–	۰/۱	۰/۵	۰/۰۱	–
T2	۰/۳	۰/۱	–	۰/۵	۰/۰۱	–
T3	۰/۳	–	–	۰/۵	۰/۰۱	–
T4	–	–	۰/۱	۰/۵	–	۰/۰۱
T5	۰/۳	۰/۱	–	۰/۵	–	۰/۰۱
T6	۰/۳	۰/۱	–	۰/۵	–	۰/۰۱

www.SID.ir

Archive of SID

سرشاخه‌های درختان برگزیده کلیر در اسفند ماه از همان منطقه برداشت و سترون‌سازی شدند. برای سترون کردن جوانه‌ها از محلول کلرید جیوه ۰/۱ درصد و در زمان‌های (۲۰، ۳۰، ٤٠ ثانیه، ۱ و ۲ دقیقه) مورد استفاده قرار گرفت. همچنین به همراه محلول‌ها، چند قطره مایع ظرفشوئی یا صابون مایع به‌عنوان عامل مرطوب‌کننده برای جلوگیری از تشکیل حباب روی سطح نمونه و نفوذپذیری بیشتر محلول سترون‌سازی افزوده شد. برای حذف این محلول‌ها در هر مرحله، جوانه‌ها ۳ بار با آب مقطر سترون شده، شستشو داده شدند. ریزنمونه‌ها در محیط کشت‌های MS(N/2) و MCM در غلظت و ترکیب‌های هورمونی جدول شماره ۲ کشت شدند.

جدول ۲- تیمارهای هورمونی در کشت سرشاخه درختان برگزیده (مقادیر بر حسب میلی‌گرم بر لیتر)

نوع هورمون / ترکیب هورمونی	2iP	BA	TDZ	GA	IBA
P1	۰/۳	–	–	۰/۵	۰/۰۱
P2	۰/۳	۰/۱	–	۰/۵	۰/۰۱
P3	۰/۳	–	۰/۱	۰/۵	۰/۰۱
P4	۰/۳	–	–	–	۰/۰۱

برای آزمون آماری صفات مربوط به درصد نهال‌های تشکیل شده، ضریب ازدیاد یا قدرت تکثیر (متوسط تعداد جوانه و شاخه در هر تکرار)، رشد طولی شاخه‌ها و سبزینگی (با تبدیل کیفیت رنگ برگ‌ها به شاخص‌های عددی) اندازه‌گیری شد. قبل از انجام تجزیه واریانس به‌منظور دست‌یابی به پراکنش نرمال، کلیه داده‌های مربوط به درصد دانهال‌ها (x) با استفاده از نرم‌افزار SPSS13 تبدیل شده ($\sqrt{(x+۰/۵)}$) و بعد مورد تجزیه واریانس قرار گرفتند. سایر نتایج نیز در قالب آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی در نرم‌افزار SPSS13 تجزیه و تحلیل شده و میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح ۰/۰۱ دسته‌بندی شدند.

برای ریشه‌زایی از تیمارهای شامل کشت در محیط کشت‌های MS (N/2) ، MCM و محیط کشت ۱/۲ غلظت املاح ماکروی MS حاوی هورمون‌های IBA (۰/۵ و ۱ میلی‌گرم در لیتر) و NAA (۰/۵ و ۱ میلی‌گرم در لیتر)، قرار دادن شاخه‌ها در ظروف کشت Magenta GA7 حاوی خاک سترون‌شده پیت و ورمیکولایت آبیاری شده با محیط کشت MS(N/2) به همراه هورمون IBA (۰/۵ میلی‌گرم در لیتر) استفاده گردید. گیاهچه‌ها پس از طی مراحل مختلف سازگاری در نهالستان اداره کل منابع طبیعی شهرستان جاسک کشت شدند.

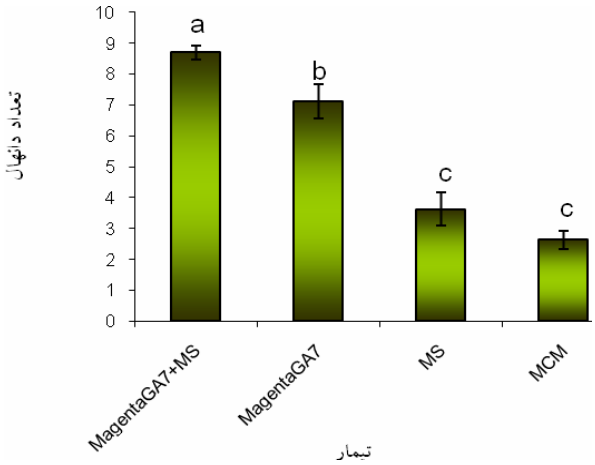
نتایج

مراحل رشد و نموی جنین‌ها، تأثیر قابل توجهی در فراوانی جوانه‌زنی و رشد آنها دارد. جنین‌های بذرهای برگرفته از میوه‌های رسیده، یک هفته پس از قرارگیری روی محیط‌های کشت، شروع به متورم شدن کردند. ظهور اولین ریشه‌چه‌ها ۲ هفته پس از کشت رؤیت شد. در اواخر هفته سوم ساقه‌چه‌ها تشکیل و اولین برگ‌ها ظاهر

www.SID.ir

Archive of SID

شدند. بیشتر دانهال‌ها دارای یک ریشه اولیه به همراه ریشه‌های ثانویه بودند. تجزیه و تحلیل آماری تعداد دانهال‌ها نشانگر اختلاف معنی‌داری در محیط کشت‌ها در سطح ۱ درصد بود (شکل ۱). همچنین بین تیمارهای سترون سازی، اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد مشاهده شد. استفاده از هیپوکلریت سدیم یک درصد (سفیدکنندهٔ تجارتی ۲۰ درصد حجمی حاوی قطره‌ای مایع ظرفشویی) به مدت ۳ دقیقه و در انتها محلول کلرید جیوه ۰/۱ درصد به مدت ۳۰ ثانیه و همچنین محیط کشت MS حاوی نسبت‌های ۱:۱:۱/۴ ورمیکولایت، پیت و پرلیت سترون شده در ظروف Magenta GA7، از نظر تعداد دانهال تشکیل شده به‌عنوان محیط کشت بهینه جهت کشت جنین توصیه می‌گردد.



شکل ۱- میانگین تعداد دانهال

حروف مشابه نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد با آزمون دانکن می‌باشد.

سترون‌سازی جوانه‌های برگرفته از دانهال‌ها با استفاده از محلول کلرید جیوه ۰/۱ درصد در مدت زمان ۳۰ ثانیه انجام شد. در مرحله سترون سازی جوانه‌های درختان برگزیده، بالاترین میزان استقرار جوانه (٥٤ درصد) در تیمار شستشو با محلول کلرید جیوه ۰/۱ درصد برای زمان ٤٠ ثانیه بدست آمد.

تجزیه واریانس میانگین مربعات سرشاخه دانهال‌ها بیانگر اختلاف معنی‌دار تیمار محیط کشت در صفت‌های ضریب ازدیاد، رشد طولی و سبزینگی بود. اما تأثیر هورمون‌های رشد فقط بر ضریب ازدیاد و سبزینگی دارای اختلاف معنی‌دار بود و رشد طولی عدم تفاوت را نشان داد (جدول ۳). در این آزمایش تلفیق دو نوع سیتوکینین 2iP و BA تأثیر بیشتری بر عوامل رشد داشت، همچنین هورمون اکسین IBA نسبت به اکسین NAA در ترکیب‌های مشابه عملکرد بهتری داشته است، در نتیجه محیط کشت MCM با ترکیب هورمونی 2iP (۰/۳ میلی‌گرم در لیتر)، BA (۰/۱ میلی‌گرم در لیتر)، GA3 (۰/۵ میلی‌گرم در لیتر) و IBA (۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر) بیشترین میزان ضریب ازدیاد، رشد طولی و سبزینگی را داشت.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۳- مقایسه میانگین عوامل رشد سرشاخه‌های دانهال

تیمار	ضریب ازدیاد	سبزینگی
MS+T1	۱/۲۰ ± ۰/۱۹ c	۱/۱۸ ± ۰/۳٦ c
MS+T2	۱/۵۸ ± ۰/۲۲ b	۲/۰۸ ± ۰/۰۸ bc
MS+T3	۱/۲۸ ± ۰/۱۸ c	۲/۲۷ ± ۰/۵۹ bc
MS+T4	۱/۲۲ ± ۰/۲۰ c	۱/۱۷ ± ۰/۱۹ c
MS+T5	۲/۰۸ ± ۰/۵۰ ab	۲/۳٤ ± ۰/۷۷ bc
MS+T6	۱/٤٦ ± ۰/۱۱ bc	۲/٤۸ ± ۰/۱۰ bc
MCM+T1	۱/۲۹ ± ۰/۱۵ c	۲/٤۵ ± ۰/۳ bc
MCM+T2	۲/۱٦ ± ۰/٤۵ ab	۲/۷۰ ± ۰/۲۲ ab
MCM+T3	۱/۲۱ ± ۰/۱۱ c	۳/۰۵ ± ۰/٤۱ a
MCM+T4	۱/۵۲ ± ۰/۲۸ b	۲/۳۵ ± ۰/۱۹ bc
MCM+T5	۲/۳٦ ± ۰/۱۳ a	۳/۱۵ ± ۰/۳۳ a
MCM+T6	۱/٦۳ ± ۰/۱۳ b	۳/۳۳ ± ۰/۲٤ a

میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حداقل یک حرف مشابه هستند براساس آزمون دانکن دارای تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد نمی‌باشد. میانگین خطای استاندارد به‌صورت $\bar{X}\pm SE$ نشان داده شده است.

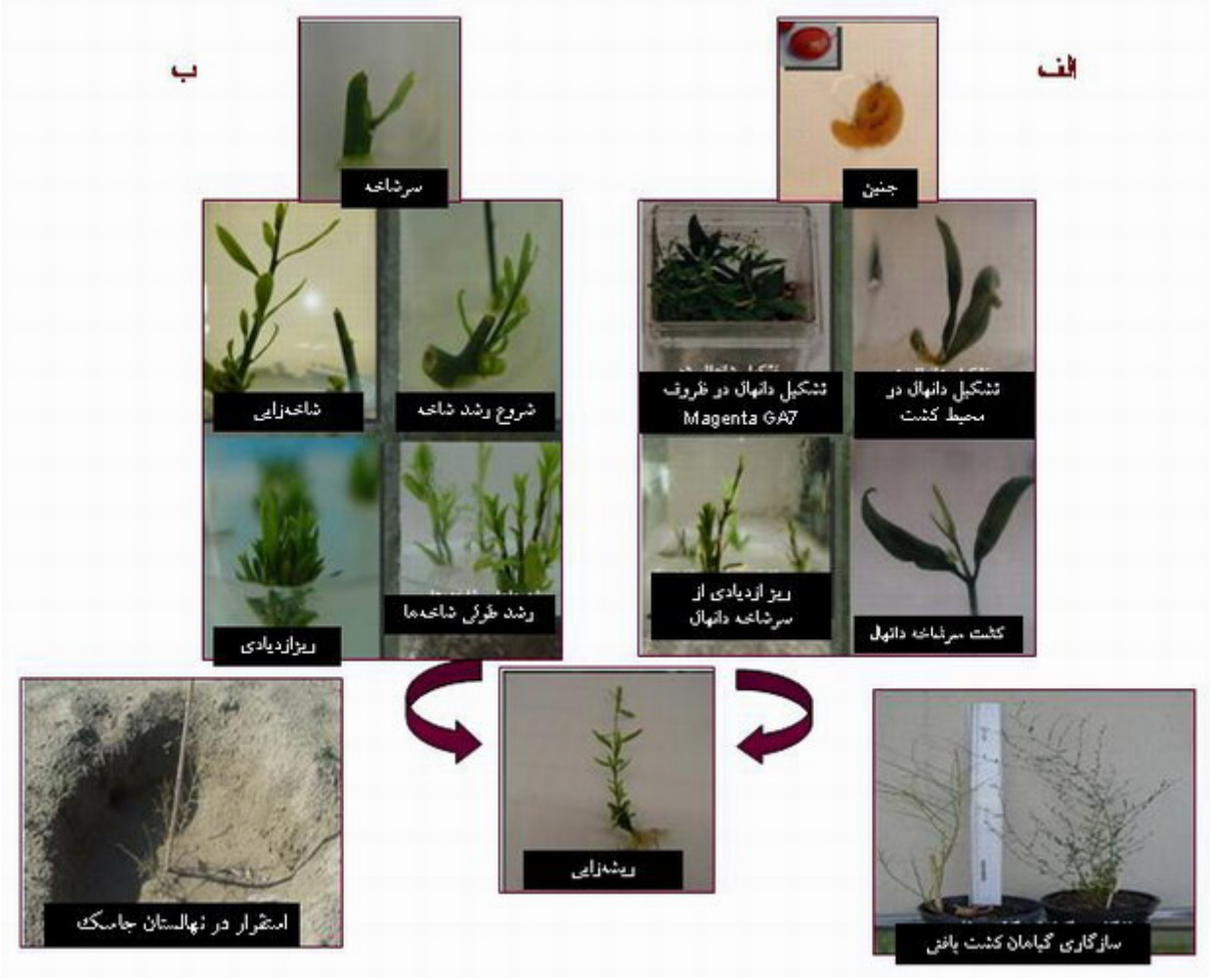
جدول ٤- مقایسه میانگین‌های عوامل رشد سرشاخه‌های درختان برگزیده

تیمار	ضریب ازدیاد	رشد طولی (سانتی‌متر)
MCM+P1	۳/۰٤ ± ۰/۲۸ b	۱/۵۰ ± ۰/۱٦ ab
MCM+P2	٤/۵٤ ± ۰/۵۹ a	۲/۱۸ ± ۰/۱۱ a
MCM+PT3	۲/٤٤ ± ۰/٤۸ bc	۱/۱۱ ± ۰/۱۱ b
MCM+P4	۲/۰۷ ± ۰/٤۲ bc	۱/٤۲ ± ۰/٤٤ ab
MS+P1	۲/۵۲ ± ۰/۱۱ bc	۱/٤۲ ± ۰/۳۹ ab
MS+P2	۳/۰۵ ± ۰/۲٤ b	۱/٤۳ ± ۰/۳۱ ab
MS+P3	۲/۱۵ ± ۰/۸٤ bc	۰/۷٤ ± ۰/۲۲ b
MS+P4	۱/۵۰ ± ۰/۵۱ c	۱/۲٦ ± ۰/۵۸ ab

میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حداقل یک حرف مشابه هستند براساس آزمون دانکن دارای تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد نمی‌باشد. میانگین خطای استاندارد به‌صورت $\bar{X}\pm SE$ نشان داده شده است.

www.SID.ir

Archive of SID



شکل۲- مسیر ریزازدیادی کلیر: الف- از سرشاخه دانهال ب- از سرشاخه درخت برگزیده

نتایج تجزیه واریانس مربوط به رشد سرشاخه‌های درختان برگزیده نشانگر معنی‌دار بودن کلیه عوامل رشد (ضریب ازدیاد، رشد طولی و سبزینگی) در تیمار محیط کشت و معنی‌دار بودن صفت ضریب ازدیاد و رشد طولی در تیمارهای هورمون بود. مقایسه میانگین‌های عوامل رشد (میانگین ضریب ازدیاد و رشد طولی) در جدول شماره ٤ تحت تأثیر محیط کشت و اثر متقابل هورمون و محیط کشت نشان می‌دهد که محیط کشت MCM به همراه ۰/۳ میلی‌گرم در لیتر BA، ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر 2iP، ۰/۰۱ میلی‌گرم IBA و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر GA3 بیشترین میزان تولید شاخه (٤/۵) رشد طولی شاخه (۲/۱۸ سانتی‌متر) را دارا می‌باشد. شکل ۲ مسیر ریزازدیادی جوانه‌های درختان برگزیده را نشان می‌دهد.

شاخه‌های طویل شده به مدت یک ماه در محیط کشت فاقد هر گونه هورمون کشت گردیدند و بعد شاخه‌ها به محیط‌های کشت حاوی هورمون ریشه‌زا انتقال یافتند. بیشترین درصد ریشه‌زایی (۸۹ درصد) با قرار دادن شاخه‌ها در ظروف کشت Magenta GA7 حاوی مخلوط

www.SID.ir

Archive of SID

۳۰ گرم خاک سترون‌سازی‌شده (پیت، ورمیکولایت) و ۵۰ میلی‌گرم محلول محیط کشت MS (نصف غلظت نیترات) واجد ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر IBA بدست آمد (جدول ٤). گیاهچه‌های ریشه‌دار شده برای انجام سازگاری تدریجی به گلدانهای حاوی مقادیر مساوی ورمیکولایت و پیت سترون سازی شده انتقال یافتند. نهال‌های به ارتفاع ۳۰-۲۰ سانتیمتر در بهمن ماه ۸۵ در یکی از رویشگاه‌های طبیعی این گونه در نهالستان منابع طبیعی شهرستان جاسک کشت شدند.

بحث

اعمال پیش تیمار شستشوی مداوم بذرها با آب جاری باعث گردید تا ساختارهای چوبی شده سلول‌های پوسته بذر نرم شده و به این ترتیب خارج ساختن جنین از داخل بافت ذخیره‌ای سالم به سهولت انجام شود. همچنین این تیمار منجر به تغییر نسبت هورمون اسید آبسیزیک درونی بذر (عامل خواب بذر) به نفع جیبرلین شد که خود پس از انتقال به لایه الورن با فعال سازی آنزیم‌های تجزیه‌کننده ذخیره غذایی بذر، موجبات تغذیه جنین و در نهایت جوانه‌زنی بذر را فراهم نمود. فعال شدن سازوکار فرایندهای فیزیولوژیکی بذر تحت تأثیر آب سرد تا حدودی به مثابه تیمار چینه سرمایی (Stratification) بوده است. در تحقیق‌های مشابهی توسط (Naraghi, 2005) و (Zhiri, 1994) در نتیجه اعمال تیمار آب جاری تولید نهال با موفقیت روبرو شده‌است.

محیط کشت MS و ظروف کشت Magenta GA7 از عوامل مؤثر در ایجاد ریشه‌چه و دانهال می‌باشد. براساس نتایج (Qaiser & Qadir, 1971) بذرهای کلیر در تاریکی سبز نمی‌شوند و فقط در روشنایی جوانه می‌زنند. بنابراین به نظر می‌رسد که بافت خاک در ظروف Magenta GA7 به همراه محیط کشت از دو جنبه در سبز شدن جنین‌ها اهمیت دارد، نخست آنکه سبک بودن خاک سبب افزایش میزان نفوذ نور به داخل می‌شود، از طرف دیگر در این ظروف خاک رطوبت کمتری را به نسبت محیط کشت جامد در خود نگه می‌دارد و تبادلات گازی (گاز کربنیک و اکسیژن) نیز بهتر انجام می‌شود و از آنجایی‌که کلیر گونه‌ای بیابانی است، درصد دانهال‌های زنده در آن بیشتر می‌شود.

در تجزیه و تحلیل آماری صفات مورد مطالعه در این تحقیق با کشت هر نوع سرشاخه (دانهال و درخت برگزیده) محیط کشت MCM اختلاف کاملاً معنی‌داری را با محیط دیگر نشان داد، که به‌عنوان محیط کشت بهینه جهت شاخه‌زایی و تکثیر معرفی می‌گردد. یکی از عوامل تعیین‌کننده کارآیی محیط، کشت نوع املاح و مجموع قدرت یونی آن می‌باشد (Bonga & Aderkas, 1992). عواملی که در هر مورد مناسب بودن یک محیط کشت را برای گونه‌ای خاص یا مرحله خاصی از رشد تعیین می‌کند غلظت یونی، نیتروژن کل، نسبت آمونیوم به نیترات، کمبود کلسیم و حساسیت کلریدی بافت است. بنابراین به‌طورکلی گیاهان چوبی با محیط‌های کشتی که قدرت یونی کمتری دارند سازگارند و برای شروع کار بهتر است از محیط‌هایی با غلظت کم نمک استفاده شود (McCown & Sellmer,1982). محیط کشت MCM که دارای قدرت یونی کمتری از محیط MS است، نیز در این تحقیق این نظریه را اثبات نمود.

در پژوهش اخیر نقش هم‌زمان دو سیتوکینین در تولید شاخه‌های متعدد و جوانه‌های نابجا بر شاخه بسیار زیاد بوده است. اثر مثبت کاربرد تلفیقی سیتوکینین‌ها در

www.SID.ir

Archive of SID

افزایش ضریب ازدیاد و رشد شاخه توسط محققان دیگر نیز مورد بررسی قرار گرفته است. ازجمله Lakishma) (Sita, 1993 با تلفیق BA و Kin در محیط کشت MS بر *E. tereticornis* و Deora و Shekhaawat (1995) نیز با اعمال ترکیب‌های متفاوت سیتوکینین‌ها بر شاخه‌های *Capparis deciduas* افزایش رشد طولی و ازدیاد شاخه را مشاهده کردند.

به‌منظور تحریک شاخه‌ها به ریشه‌زایی، اعمال پیش تیمار محیط کشت بدون هورمون کاملاً ضروری می‌باشد. القای تشکیل ریشه بوسیله اکسین به تجمع فلاونوئیدها منجر شده که این اتفاق در محیط واجد سیتوکینین صورت نمی‌گیرد، پس حداقل یک‌ماه قبل از تیمار اکسین برای القاء ریشه، باید شاخه‌ها در محیط بدون هورمون کشت شوند. در تحقیقی Curir (1990) تأثیر فلاوونوئیدها بر القای تشکیل ریشه توسط اکسین در شاخه‌های اکالیپتوس را مورد بررسی قرار داده و نتیجه گرفت، بهترین تیمار ریشه‌زایی (۸۹ درصد) در تحقیق مذکور با نتایج Mohammad و Patel (1989) مطابقت داشت. آنها گزارش کردند که ساقه‌های گونه‌های چوبی در صورتی که برای ۷ هفته روی پیت، پرلیت با محیط کشت MCM در ۱/۵ برابر غلظت املاح معدنی و ۲/۷ میکرومول NAA قرار داده شوند، ریشه‌زایی خوبی نشان می‌دهند.

گیاهان ریزازدیادی شده معمولا نسبت به نشا کردن حساس می‌باشند، بنابراین گیاهان باید زمانی که از محیط کشت به خاک منتقل شدند به نحو مناسبی سازگار شوند. برگ‌های چنین گیاهچه‌هایی فاقد مواد چربی و محافظ پوستی بوده و دارای روزنه‌های غیر طبیعی هستند. این کاستی‌ها علاوه بر این‌که موجب ازدست‌رفتن مقدار زیادی آب از گیاه می‌شود، کنترل تبادل گازی را نیز مختل می‌سازد. به علاوه، چون بهترین تیمار ریشه‌زایی در ظروف کشت Magenta GA3 به دست آمد و در این ظروف امکان تبادلات گازی در زمان رشد بهتر صورت گرفت، در نتیجه گیاهچه‌ها از کیفیت بالایی برخوردار بودند و سازگاری آنها در شرایط گلخانه به خوبی انجام شد. به گزارش (Damizadeh, 2005) در بین خاک‌های آزمایشی برای کاشت کلیر، تلفیق خاک‌های (۳/۴ شن + ۱/۴ خاک باغچه) و (۱/۲ شن +۱/۲ خاک باغچه) به‌ترتیب با ۵۵/۸ و ۵۱/۳ درصد نهال زنده تفاوت بسیار معنی‌داری با سایر خاک‌ها که از بافت سنگینی برخوردار بودند، نشان دادند.

منابع مورد استفاده

- Bonga, J.M. and Aderkas, P.V., 1992. *In vitro* Culture of trees. Kluwer Academic Publishers, 236 p.
- Curir, P., VanSumere, C.F., Termini, A., Barthe, P., Marchesini, A. and Dolci, M., 1990. Flavonoid accumulation is correlated with adventitious root formation in *Eucalyptus gunnii* Hook micropropagated through axillary bud stimulation. Journal of Plant Physiology, 92: 1148–1153.
- Damizadeh, Gh.R., 2005. Effect of environmental conditions on survival of *Capparis decidua* seedling. Iranian Journal of Forests and Poplar Reasearch, 12(4): 509-531.
- Deora, N.S, and Shekhawat, N.S ., 1995. Micropropagation of (*Capparis decidua* Forsk.) Edgew,- a tree of arid horticulture. Plant Cell Reports, 15: 278-281.
- Lakishma Sita, G., 1993. Micropropagation of *Eucalyptus*: 263-280. In: Ahuja, M.R., Micropropagation of Woody Plants. Kluwer Academic Publisher, Netherlands, 507 p.
- Fayaz, M., 1997. The investigation of constraints and problems of growing *Capparis decidua*. Final report, Research Institute of Forests and Rangelands. Tehran, I.R.Iran
- McCown, B. H. and Sellmer, J. C., 1982. Media and physical environment. 4-17.In: Bonga, J.M. and Durzan, D. J., Cell and Tissue Culture in Forestry.

www.SID.ir

Archive of SID

– Sozzi, G. O. and Chiesa, A., 1995. Somatic embryogenesis in *Capparis decidua* (Forsk.) Edgew- A multipurpose agroforestry plant. Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology, 14: 197-200.
– Tyagi, P. and Kothari , S. L., 1997. Micropropagation of *Capparis decidua* through *in vitro* shoot proliferation on nodal explants of mature tree and seedling explants. Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology, 6: 19-23
– Tyagi, P., Khanduja, S and Kothari, S. L., 2005. Somatic embryogenesis in *Capparis decidua* (Forsk.) Edgew- A multipurpose agroforestry plant, Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology, 14: 197-200.
– Zhiri, M., Jaziri, A., Hames, J., Vanhaelen, M. and Shimomura, K., 1994. Factors affecting the *in vitro* rapid germination of Taxus embryos and the evaluation of Taxol content in the plantlets. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 39: 261 – 263.
VoL 1, General Principles and Biotechnology. Martinus Nijhoff Publishers, Pordrecht 422 P.
– Mohammad, G. H. and Patel, K. R., 1989. Tissue culture micropropagation of Douglas- fir. New Forestry, 3: 125-139
– Mozaffarian, V., 1996. A Dictionary Of Iranian Plant Names. Farhang Mo'aser Publishers, Tehran, 98 p
– Murashige, T. and Skoog, F., 1962. A revised medium for rapid growth and bio- assays with tobacco tissue culture. Physiologia Plantarum, 15: 473 –597.
– Naraghi, T. S., 2005. *In vitro* propagation of *Taxus bacccata* through zygotic embryo culture. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research, 12: 335-343
– Orphanos, P. I., 1983. Germination of Caper (*Capparis spinosa L.*) seeds. Journal of Horticultural Science. 58:2. 267-270
– Qaiser, M. and Qadir, S. A., 1971. A contribution to the autecology of *Capparis decidua* (Forsk.) Edgew. Pakistan Journal of Botany, 3: 37-60.
– Saghafi Khadem, F., 2000. Flora of Iran, No 30: Capparaceae. Research Institute of Forests and Rangelands Publishers, 61 p

www.SID.ir

Archive of SID

In vitro propagation of *Capparis decidua* through shoot tip culture of seedlings and mature trees

T.S. Naraghi[*1], M. Emam[2], A. Ghamrizare[3], Gh. Damizadeh[4] and A. Shariat[5]

1*- Corresponding author, B.Sc., Research Institute of Forests and Rangelands. Tehran, I.R.Iran. E-Mail: tnaraghi@rifr-ac.ir .
2- M.Sc., Research Institute of Forests and Rangelands. Tehran, I.R.Iran .
3- Assist., Prof., Research Institute of Forests and Rangelands. Tehran, I.R.Iran .
4- M.Sc., Agriculture and Natural Research Center, Bandar-Abbas, I.R.Iran .
5- M.Sc., Research Institute of Forests and Rangelands. Tehran, I.R.Iran .

Received: 10.12.2010 Accepted: 18.06.2011

Abstract

Capparis decidua is a desert plant resistant to longtime drought conditions, special to southern part of Iran (Hormozgan, Bushehr and Sistan and Baluchistan Provinces). Due to lack of seed germination, asexual regeneration of intact trees of the species by tissue culture may save genetic resources of the valuable species. This research was performed in order to use *in vitro* culture and proliferation of seedling and mature trees to regenerate *Capparis decidua*. Mature seeds were collected from selected trees in natural habitat of the species located in Sirik forests of Hormozgan Province during June. Embryos were aseptically sterilized and transferred in different mediums (MS N/2, MCM and Magenta GA7 vessels with vermiculite, peat and perlite in 1:1:1 ratio, irrigated with and without MS medium). After 3 weeks, 74% of the embryos produced seedlings. Shoot tips of the seedlings and mature trees, were sterilized and cultured on MCM and MS mediums. At shooting stage, MCM containing 0.3 mgl^{-1} BA, 0.5 mgl^{-1} 2ip, 0.1 mgl^{-1} IBA and 0.5 mgl^{-1} GA3 was the best medium. The highest rate of rooting (89%) was achieved on MS (N/2) containing 0.5 mg/l IBA, in Magenta vessels containing sterile vermiculate and peat. The plantlets were successfully transferred to the soil at Natural Resource Research of Jask.

Key words*: Capparis decidua* (Forsk), *In vitro* culture, Shoot tip, Embryo culture and seedling.

www.SID.ir