

نقش اسید سالیسیلیک در جنین زایی سوماتیکی غیر مستقیم هوهوبا

فاطمه حسینی (۱)، آروین محمد جواد (۲) و (۳)، حسین شاهسوند حسنی (۲)، امین باقی زاده (۳)، قاسم محمدی نژاد (۲)، علی اصغر پهلوان پور (۴)

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی دانشگاه شهید باهنر کرمان، ۲- دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید باهنر کرمان، ۳- مرکز بین المللی علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی کرمان، ۴- مرکز تحقیقات کشاورزی فارس

در این بررسی، اثرات اسید سالیسیلیک بر روی جنین زایی سوماتیکی هوهوبا بررسی شد. یک ماه پس از کشت ریزنمونه های برگ روی محیط موراشیگ و اسکوگ که با سطوح مختلف تنظیم کننده های رشد توفوردی و اسید سالیسیلیک تکمیل شده بود، کالوس ها شروع به رشد کردند و سپس به محیط تازه با همان سطوح تنظیم کننده واگشت گردیدند. بیشترین درصد کالوس زایی روی محیط حاوی ۴/۵۲ میکرومول توفوردی و ۱۰۰ میکرومول اسید سالیسیلیک بدست آمد. برای افزایش درصد کالوس زایی، با افزایش غلظت توفوردی به ۴/۵۲ نتیجه مورد نظر بدست می آید، ولی اگر بخواهیم از غلظت های پایین تر توفوردی استفاده نماییم (۲/۲۶ میکرومول) اضافه کردن ۱۰ میکرومول اسید سالیسیلیک الزامی است. فرآیند تمایز جنین های سوماتیک از کالوس های مختلف پس از انتقال کالوس های جنین زا به محیط بلوغ و جوانه زنی که حاوی BA و IBA و SA بود مشاهده گردید. تیمار ۱۰ میکرومول اسید سالیسیلیک نسبت به شاهد اختلاف معنی داری را برای تولید جنین نشان داد.

واژه های کلیدی: جنین زایی سوماتیکی غیر مستقیم، اسید سالیسیلیک، توفوردی، هوهوبا

مقدمه

هوهوبا درختچه ای همیشه سبز و دوپایه متعلق به خانواده سایموندسیاسه می باشد. ارزش تجاری هوهوبا به علت دانه اش است، چون دارای موم مایعی است که خصوصیتی شبیه به روغن نهنگ دارد. جنین زایی سوماتیکی سیستمی ارزشمند برای آنالیز فاکتورهای محیطی که بر جنین زایی بذری اثر می گذارند می باشد، زیرا مکانیزم های تنظیمی یکسانی در هر دو سیستم رخ می دهد (زهو و همکاران، ۲۰۰۶). همچنین، بازنمونه های تولید شده از رویان زایی اختلاف ژنتیکی کمتری را نسبت به بازنمونه های تولید شده از طریق اندام زایی نشان می دهند (آروین، ۱۳۸۲). از اسید سالیسیلیک برای تحریک جنین زایی سوماتیکی در گونه های هویج و نوعی شمعدانی استفاده شده است (کویروز و همکاران، ۲۰۰۶). همچنین، اسید سالیسیلیک باعث رشد سلول شده و تعداد و کیفیت جنین های سوماتیک را افزایش داده است (کویروز و همکاران، ۲۰۰۱). تا به حال گزارشی از اثر اسید سالیسیلیک بر جنین زایی سوماتیکی هوهوبا منتشر نشده است. بنابراین، در این گزارش ما اثر اسید سالیسیلیک را بر جنین زایی سوماتیکی در هوهوبا مورد بررسی قرار می دهیم.

مواد و روش ها

برای تولید جنین های سوماتیک، ریزنمونه های برگ ژنوتیپ END که در گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید باهنر کاشته شده بود جدا شده و به آزمایشگاه آورده شدند. پس از ضد عفونی، با اسکالپل به طول ۲-۱/۵ سانتی متر بریده شدند و از سطح زیرین روی محیط $MS \frac{1}{2}$ که توسط هاماما و همکاران (۲۰۰۱) توصیه شده بود قرار گرفتند. برای اعمال تیمار ها BA در غلظت ثابت ۲/۲ میکرومول و $D - 2.4$ در غلظت های ۰/۴۵، ۲/۲۶ و ۴/۵۲ میکرومول و

اسید سالیسیلیک در غلظت های ۰، ۱۰، ۱۰۰، ۵۰۰ میکرومول به محیط کشتها افزوده شدند. زمانیکه کالوس در حاشیه های برگ تشکیل شد، برگ ها به محیط بلوغ و جوانه زنی منتقل شدند، ترکیب محیط بلوغ و جوانه زنی مشابه محیط القای جنین می باشد، فقط در محیط بلوغ از غلظت های ثابت ۳/۴۴ میکرومول IBA و ۰/۴۴ میکرومول BA استفاده شد و اسید سالیسیلیک نیز در غلظت های ۰، ۱۰، ۱۰۰، ۵۰۰ میکرومول به محیط اضافه گردید.

نتایج و بحث

در مرحله القا جنین های سوماتیک، تولید کالوس از بافت برگ پس از ۳۰ روز شروع گردید. به طور کلی، بیشترین درصد کالوس زایی در غلظت های بالای توفوردی (۴/۵۲ میکرومول) مشاهده شده است. برای افزایش درصد کالوس زایی، با افزایش غلظت توفوردی به ۴/۵۲ نتیجه مورد نظر بدست می آید، ولی اگر بخواهیم از غلظت های پایین تر توفوردی استفاده نماییم (۲/۲۶ میکرومول) اضافه کردن ۱۰ میکرومول اسید سالیسیلیک الزامی است. یک ماه پس از انتقال کالوس های جنین زا به محیط های بلوغ و جوانه زنی، تولید پیش جنین ها و سپس جنین های کروی از کالوس ها شروع شد. مقایسه میانگین های سطوح مختلف اسید سالیسیلیک نشان داد که ۱۰ میکرومول اسید سالیسیلیک، افزایش معنی داری در تعداد جنین های سوماتیک نسبت به شاهد داشته است. همچنین، هاو و همکاران. (۲۰۰۶) گزارش کردند که در محیط جنین زایی حاوی ۰/۵ میلی مول اسید سالیسیلیک و عصاره کالوسهای جنین زای هویج، ۴ تا ۵ برابر جنین زایی سوماتیکی نسبت به شاهد افزایش یافته است. کوپروز و همکاران. (۲۰۰۶) نیز گزارش کردند که غلظت های پیکومول اسید سالیسیلیک باعث دو برابر شدن رشد سلول و جنین زایی سوماتیکی در قهوه شده است. اسید سالیسیلیک از تولید اتیلن جلوگیری می کند و باعث بلوکه کردن تبدیل آنزیم ۱-آمینو سیکلو پروپان-۱- کربوکسیلیک اسید به اتیلن می شود (کوپروز و همکاران. ۲۰۰۶). بنابراین، به علت خصوصیت کلاته کردن سالیسیلاتها، بعضی از بازدارنده هایی که در کشت های جنین زا وجود دارند غیر فعال و جنین زایی سوماتیکی تحریک می شود.

منابع

- ۱- آروین، م. ج. (۱۳۸۱). کشت بافت درختان چوبی، تالیف: ج. م. بونگا، پ. ون. آدرکاس. انتشارات دانشگاه شهید باهنر کرمان.
- 2-Hamama , L., Bazziz , M. and Letouze , R., 2001. Somatic embryogenesis and plant regeneration from leaf tissue of jojoba. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*. **65**: 109-113.
- 3- Quiroz-figueroa, F., Mendez-zeel, M., Larque-Saavedra, A., Loyola-Vargas, V. M., 2001. Picomolar concentration of salicylates induce cellular growth and enhance somatic embryogenesis in *Coffea arabica* tissue culture. *Plant Cell Rep*. **20**: 679-684 .
- 4- Quiroz-Figueroa, F., Rojas-Herrera, R., Galaz-Avalos, R. M., Loyola-Vargas, V. M., 2006. Embryo production through somatic embryogenesis can be used to study cell differentiation in plants. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*. **86**:285-301 .
- 5-Zhou, L., Xu, X., Cao, J., Xi, T., 2006. The role of salicylic acid and carrot embryogenic callus extracts in somatic embryogenesis of naked oat (*Avena nuda*). *Plant Cell Tissue and Organ Culture*. **85**: 109-113.

The role of salicylic acid on indirect somatic embryogenesis in jojoba
**Hosseini, F¹. Arvin, M. J^{2,3}. Shamsavand Hassani, H². Baghizade, A³. Mohamadinejad, Gh².
Pahlavanpour, A. A⁴**

¹Agricultural Biotechnology MS.c student of Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran; ² college of agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran; ³ International Center for Science, High Technology and Environmental Science, Kerman, Iran; ⁴ Agricultural Research Center, Shiraz, Iran

Abstract

in this study, effects of SA was investigated in jojoba somatic embryogenesis. one month after of culture leaf explants on Murashige and Skoog medium supplemented with various concentration of plant growth regulators such as 2,4-D and SA, calluses growth were started and then they were subcultured on fresh and same media. The investigations was shown that the treatment containing 4.52 μM 2,4-D plus 100 μM SA have been best medium for callogenesis. For to enhance callogenesis, arbitrary results were achieved with to enhance 2,4-D concentration to 4.52 μM . But, if we want to be used from lower concentration of 2,4-D (2.26 μM), thus the addition of 10 μM SA is necessary. Somatic embryos differentiation process from different calluses were observed after transfer of embryogenic calluses on maturation and germination medium, that this medium was containing of BA, IBA and SA. Among the various concentration of SA tested, 10 μM SA was shown significant effect than the control at the number of embryos per cultures.

Key words: Indirect somatic embryogenesis, Salicylic acid, 2,4-D, Jojoba