

## بررسی تاثیر سالیسیلیک اسید بر میزان جنین زایی رویشی آبکش ثانویه هویج در محیط کشت B5

سمیرا حسینی (۱)، کامبیز مشایخی (۲)، عظیم قاسم نژاد (۳)

- ۱- دانشجوی کارشناسی ارشد باگبانی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ۲- دانشیار گروه باگبانی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ۳- استادیار گروه باگبانی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.

جنین زایی رویشی ابزار کارآمدی است که جهت تولید گیاهان برتر یا تراریخته مورد استفاده قرار می‌کشد. هدف از این تحقیق بررسی چگونگی تاثیر سالیسیلیک اسید یا اورتو هیدروکسی بنزوئیک اسید (SA) بر روی جنین زایی رویشی بافت فلوئم (آبکش ثانویه) هویج در محیط کشت B5 (گامبورک) می‌باشد. در این پژوهش تیمارها در غالب طرح کاملاً تصادفی اعمال شدند، به منظور بررسی تاثیرات سالیسیلیک اسید بر جنین زایی رویشی محلول هایی با غلظت های ۰، ۰/۵، ۱/۵، ۲، ۳، ۰/۵ میلی مولار به محیط کشت B5 اضافه گردید. میزان جنین زایی رویشی در تیمارهای ۰/۵، ۱/۵، ۲، ۳ میلی مولار به طوریکه با افزایش غلظت سالیسیلیک اسید از ۰/۵ میلی مولار به بالا جنین زایی رویشی کاملاً متوقف شد. جنین های تشکیل شده در غلظت ۰/۵ میلی مولار با اختلاف معنی داری بیشتر از جنین زایی در تیمار شاهد بود.

**واژه های کلیدی:** سالیسیلیک اسید ، جنین زایی رویشی ، فلوئم ، محیط کشت.

### مقدمه

سالیسیلیک اسید از جمله مواد فنلی که دارای حلقه آروماتیک و یک گروه هیدروکسیل است (راسکین ۱۹۹۲). دارای نقش اساسی در تنظیم اکثر فرایندهای گیاهی از جمله جنین زایی رویشی است. جنین زایی رویشی به فرآیند به دست آوردن جنین از بافت های رویشی گیاه (بدون امتزاج گامت ها) گفته می شود، یکی از کارآمدترین روش ها برای مطالعات مربوط به تولید گیاهان تراریخته (دست ورزی شده ژنتیکی) می باشد (نویمن و همکاران، ۱۹۹۶؛ لیتز و گری، ۱۹۹۵). بر این اساس تحقیقات مختلفی بر روی تاثیر این ماده بر روی مواد گیاهی در محیط های کشت بافت انجام گرفته است. راستان و همکاران در سال ۱۹۸۹ گزارش کردند که سالیسیلیک اسید در غلظت های ۵۰ میکرو مولار سبب تحریک جنین زایی رویشی در هیپوکوتیل هویج می شود در دو رگه ای از شمعدانی جنین زایی در غلظت ۲۰ میکرومولار تحریک شده بود (هاتچینسون و ساکستن، ۱۹۹۶).

### مواد و روش ها

بافت آبکش ثانویه هویج در محیط کشت B5 (گامبورک) حاوی تیمارهای سالیسیلیک اسید در پنج غلظت ۰/۵، ۱/۵، ۲، ۳ میلی مولار در چهار تکرار در غالب طرح کاملاً تصادفی آماده و اعمال شد. بعد از چهار هفته از زمان کشت نمونه ها در محیط کشت القا به منظور بررسی تاثیر سالیسیلیک اسید بر روی رشد آنها نمونه ها وزن گردید. نمونه ها پس از واکنش و حذف D-۴ و سالیسیلیک اسید به مدت چهار هفته در مرحله ظهور قرار گرفتند. به منظور بررسی میزان

جنین زایی و تغییرات مورفولوژیکی توسط استریوسکوپ مجهر به مانیتورینگ با بزرگنمایی ۴۰ و ۲۰ مشاهده و عکسبرداری گردیدند.

### نتایج و بحث

در غلظت های بالای  $0.5\text{ mM}$  میلی مولار هیچ گونه رشدی و یا تولید کالوس در مرحله القا مشاهده نشد. تولید بیشتر کالوس در غلظت های  $0.5\text{ mM}$  تفاوت ناشی از حضور سالیسیلیک را در غلظت مناسب نشان می دهد این نتایج مشابه نتایج کارس ول و همکاران بود(کارس ول و همکاران، ۱۹۸۹). بیشترین میزان کل جنین های سوماتیکی در زمانی بدست آمد که غلظت سالیسیلیک اسید  $0.5\text{ mM}$  بود. این تفاوت معنی دار نشان داد که در این غلظت میزان جنین زایی در مقایسه با انواع شاهد افزایش پیدا کرده است. با بالا رفتن غلظت سالیسیلیک اسید نه تنها جنین زایی انجام نمی شود بلکه از آن ممانعت می شود، طبق پژوهش های راستان و همکاران دلیل کاهش جنین زایی رویشی در غلظت های بالا سالیسیلیک اسید، سنتز زیاد اتیلن می باشد و به عقیده وی غلظت های پائین سالیسیلیک اسید سبب توقف سنتز اتیلن می شود (راستان ۱۹۸۹). اتیلن سبب کاهش جنین زایی رویشی در اکسپلنت های مختلف هویج می شود. تاثیر سالیسیلیک اسید روی سنتز اتیلن ناشی از تاثیرات بازدانده سالیسیلیک اسید روی فعالیت آنزیم تبدیل کتنده ۱- آمینو سیکلو پروپان-۱- کربوکسیک اسید (ACC) به اتیلن می باشد و این طریق از سنتز اتیلن جلوگیری می کند. تعیین غلظت مناسب سالیسیلیک اسید به موارد زیادی از جمله به نوع محیط کشت، نوع ریزنمونه، رقم و بسیاری موارد دیگر بستگی دارد. لذا نمی توان یک غلظت واحد را برای جنین زایی رویشی گیاهان پیشنهاد داد.

### منابع:

- Carswel, G.K, Johnson, C.M, Shillito, R.D. and. Harms C. T. 1989. O- acethylsalicylic acid promotes colony formation from protoplast of an elite maize inbreed. Plant cell Rep., 8: 282-284.
- Hutchinson, M.J., Saxena, P. K. 1996. Acetylsalicylic acid enhances and synchronizes thidiazuron-induced somatic embryogenesis in geranium (*Pelargonium x hortorum* Bailey) tissue cultures. Plant Cell Rep 15:512–515
- Litz, R. E., and Gray, D. J. 1995. Somatic embryogenesis for agricultural improvement World Journal of Microbiology & Biotechnology, 11:416-425.
- Newman, P. O., Krishnaraj, S., and Saxena, P. K. 1996. Regeneration of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.): somatic embryogenesis and shoot organogenesis from hypocotyl explants induced with 6-benzyladenine. Int. J. Plant Sci. 157: 554–560.
- Raskin, I. 1992. Salicylate, a new plant hormone. Plant Physiol 99:799–803.
- Roustan, j.p., Latche, A. and J. Fallow 1989 : Inhibition of Ethylene Production and Stimulation of Carrot Somatic Embryogenes by Salicylic Acid. Plant Cell Rep. 8, 182-185.
- Tisserat, B., Murashige, T. 1977. Plant Physiol. 60:437-439.

## Effect of salicylic acid on somatic embryogenesis of carrot

S.Hossein<sup>1</sup>, K. Mashayekhi<sup>2</sup>, A.Ghasemnejad<sup>3</sup>

<sup>1</sup> M. Sc. Student of Horticulture. Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources. <sup>2</sup>Assistant Professor of Horticulture Department. Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources. <sup>3</sup>Assistant Professor of Horticulture Department. Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

### Abstract

Somatic embryogenesis is a well known method to plant micropropagation and the production of transgenic plants. The aim of present study was to investigate the effect of salicylic acid on somatic embryogenesis of phloem tissue of carrot in B5 medium. The experiment was carried out in B5 medium based on complete randomized design with five concentrations of salicylic acid including 0, 0.5, 1.5, 2, 3 mM/l. Medium containing 0.5 mM/l salicylic acid produced the highest number of embryogenesis. Additional concentration of salicylic acid stopped the embryogenesis. Obtained results indicated that salicylic acid can be used to induce somatic embryogenesis in plants especially plants with weak embryogenesis potency.