

اثرات تیديازورون و استیل سالیسیلیک اسید بر روی جنین زایی سوماتیکی مستقیم در هوهوبا

فاطمه حسینی (۱)، محمد جواد آروین (۲) و (۳)، حسین شاهسوند حسینی (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 آزمایش، اثر استیل سالیسیلیک اسید و تیديازورون بر روی جنین زایی سوماتیکی مستقیم از برگ گیاه هوهوبا روی محیط نصف MS مورد بررسی قرار گرفته است. در تمامی تیمارها جنین ها بدون دخالت فاز کالوس بصورت مستقیم از سطوح جراحی دیده برگ تولید شده اند. استیل سالیسیلیک اسید به تنهایی اثری در تعداد جنین ها نداشته است و با افزایش غلظت، تعداد جنین ها را کاهش داده است. اما، تیديازورون و استیل سالیسیلیک اسید در ترکیب با هم اثر معنی داری در تعداد جنین ها داشته اند. بنابراین در این مطالعه، تیمار ۱۰ میکرومول استیل سالیسیلیک اسید و ۵۰ میکرومول تیديازورون به عنوان بهترین ترکیب تیماری شناخته شد.

واژه های کلیدی: هوهوبا، جنین زایی سوماتیکی مستقیم، تیديازورون، استیل سالیسیلیک اسید

مقدمه

هوهوبا درختچه ای روغنی و بومی قسمتی از کویر سونوران قاره آمریکاست و در شمال مکزیک، کالیفرنیا و آریزونا آمریکا نیز به طور طبیعی می روید. دانه گیاه هوهوبا دارای روغنی بی نظیر در بین تمام گیاهان است، که یقیناً آینده درخشانی در اقتصاد دارد. امروزه جنین زایی سوماتیکی با توجه به پدیده توتی پتسی به عنوان یک ویژگی ذاتی در گیاهان عالی مطرح شده است. در جنین زایی مستقیم نسبت به روش غیر مستقیم، سلول برنامه ریزی مجدد کوتاهتری را برای بیان جنین زایی نیاز دارد (کویروز و همکاران، ۲۰۰۶). همچنین، باززایی گیاه از کشت های کالوس باعث ایجاد تغییرات ژنتیکی و سیتولوژیکی که اغلب مطلوب نیستند می شود، بنابراین جنین زایی مستقیم در تولید محصولات کاربردی تر است (خان و همکاران، ۲۰۰۶). تیديازورون تعداد زیادی جنین سوماتیک را به تنهایی یا در ترکیب با سایر تنظیم کننده های رشد القا می کند (میتلا و همکاران، ۲۰۰۳). همچنین، کاربرد استیل سالیسیلیک اسید به همراه تیديازورون باعث دو برابر شدن تعداد جنین ها نسبت به کاربرد تیديازورون به تنهایی شده است (هاچینسون و ساگزنا، ۱۹۹۶). در این آزمایش سعی بر این بود که اثر این دو ماده بر جنین زایی سوماتیکی و تعداد جنین در بافت برگ هوهوبا مورد بررسی قرار گیرد.

مواد و روش ها

برای القای جنین زایی سوماتیکی، پس از ضد عفونی برگ ها، با اسکالپل به طول ۲-۱/۵ سانتی متر بریده شدند و روی محیط ۱/۲ MS که توسط هاماما و همکاران (۲۰۰۱) توصیه شده بود قرار گرفتند. در این محیط ها از تیديازورون در غلظت های (۰، ۱۰، ۵۰، ۱۰۰ میکرومول) و استیل سالیسیلیک اسید در غلظت های (۰، ۱۰، ۵۰ میکرومول) استفاده شد. پس از گذشت ۳۰ روز تشکیل جنین از بافت برگ شروع گردید و جنین ها به محیط قبلی شان واگشت گردیدند. در

این مرحله جنین های کروی تشکیل شدند. همچنین، پس از ۶۰ روز جنین ها وارد مراحل قلبی و کوتیلدونی شدند و تعداد آنها به کمک استریو میکروسکوپ شمارش گردید.

نتایج و بحث

تشکیل جنین از قطعات برگ هوهوبا پس از گذشت یک ماه شروع شد. بررسی ها نشان داد که، استیل سالیسیلیک اسید به تنهایی اثر معنی داری بر میانگین تعداد جنین ها نداشته است و با افزایش غلظت استیل سالیسیلیک اسید و در غیاب تیدیازورون جنین زایی کاهش پیدا کرده است. اما زمانیکه استیل سالیسیلیک اسید و تیدیازورون با هم در محیط کشت استفاده می شوند، اختلاف معنی داری در تعداد جنین ها مشاهده شده است. استیل سالیسیلیک اسید در غلظت های زیاد (۱۰ و ۵۰ میکرومول) و در ترکیب با غلظت های زیاد تیدیازورون (۵۰ و ۱۰۰ میکرومول) باعث افزایش تعداد جنین ها شده است. بنابراین، ترکیب ۱۰ میکرومول استیل سالیسیلیک اسید و ۵۰ میکرومول تیدیازورون بهترین ترکیب تیماری شناخته شد. در این تیمار ۸۵ درصد از بافت ها قادر به تولید جنین هستند. هاجینسون و ساگزنا (۱۹۹۶) گزارش کردند که زمانیکه استیل سالیسیلیک اسید در غلظت های ۲۰-۱ میکرومول با ۱۰ میکرومول تیدیازورون ترکیب می شود، برای القای جنین زایی در ژرانیوم موثر است. هونگ و همکاران (۲۰۰۸) نیز مشاهده نمودند که در حضور تیدیازورون، غلظت های کم استیل سالیسیلیک اسید (۱ و ۰/۱ و ۰/۰۱ میکرومول) باعث تحریک جنین زایی در بافت برگ اراکید شده است. افزودن تیدیازورون به محیط کشت باعث ایجاد استرس در بافت شده و سطوح نسبتاً زیادی از مواد معدنی و متابولیت های دیگر در بافت تشکیل می شوند، که تجمع این مواد ممکن است فاکتور مهمی در القای جنین زایی سوماتیکی باشد (مورتی و همکاران، ۱۹۹۸).

منابع

- ۱- محسن زاده، س. زالپور، ن. ۱۳۷۴. هوهوبا. سنبله، شماره ۶۳.
- 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., 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.
- 4- Khan, H., Siddique, I., Anis, M. 2006. Thidiazuron induced somatic embryogenesis and plant regeneration in *Capsicum annum*. *Biologia Plantarum*. 50: 789-792.
- 5- Mithila, J., Hall, J. C., Victor, J. M. R., Saxena, P. K. 2003. Thidiazuron induced shoot organogenesis at low concentrations and somatic embryogenesis at high concentration on leaf and petiol explants of African violet (*Saintpaulia ionantha* wendl.). *Plant Cell Reports*. 21: 408-414.
- 6-Hutchinson, M. J., Saxena, P. K., 1996. Acetylsalicylic acid enhanced and synchronizes thidiazuron-induced somatic embryogenesis in geranium (*pelargonium * hortorum* Bailey) tissue culture. *Plant Cell Reports*. 15: 512-515.
- 7-Hong. P. I., Chen, J. T., Chang, W. C., 2008. Effects of salicylic and acetylsalicylic acid on direct somatic embryogenesis in *oncidium*. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology*. 17: 149-153.
- 8-Murthy, B. N. S., Murth, S. J., Saxena, P. k. 1998. Thidiazuron: A potent regulator of *in vitro* plant morphogenesis. *In Vitro Cell. Dev. Biol Plant*. 34: 267-275.

Effects of thidiazuron and acetylsalicylic acid on direct somatic embryogenesis in jojoba

Hosseini, F¹. Arvin, M. J^{2,3}. Shahsavand Hassani, H². Baghizade, A³. Mohamadinejad, Gh².
Pahlavanpour, A. A⁴

1- Agricultural 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 experiment, effects of thidiazuron and acetylsalicylic acid on somatic embryogenesis were investigated using leaf explant of jojoba on ½ MS medium. At the all treatments embryos produced directly from leaf wound surfaces without an intervening calluse phase. Acetylsalicylic acid alone wasn't effect in number of embryos and in higher concentration reduced the number of embryos. Thidiazuron and acetylsalicylic acid in combination together had significant effect in number of embryos. Thus, in this study, 10 µM ASA plus 50 µM TDZ was the best treatment combination.

Key words: Jojoba, Direct somatic embryogenesis, Thidiazuron, Acetylsalicylic acid