پژوهش و سازندگی
در زراعت و باغبانی
شماره ۶۷، تابستان ۱۳۸۴

اثرات اسید سالیسیلیک بر افزایش مقاومت محورهای جنینی زیتون تلخ (*Melia azedarach* L.) در برابر سرما و انجماد سخت

• **بهزاد کاویانی**، گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد رشت
• **فرانسوا برنارد**، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید بهشتی، تهران
• **حسین شاکر**، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید بهشتی، تهران
• **غلامرضا حدادچی**، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه منابع طبیعی،گرگان

تاریخ دریافت: بهمن ماه ۱۳۸۳ تاریخ پذیرش: تیر ماه ۱۳۸۴

Email: Kaviani_102003@yahoo.com

چکیده

نگهداری ژرم پلاسم، در شرایط درون شیشه، یکی از بهترین روش‌های ذخیره خزانه ژنتیکی گیاهی است. به کارگیری این روش برای نگهداری گیاهان در حال انقراض و یا گیاهان دارای ارزش اقتصادی و دارویی حایز اهمیت است. گیاه زیتون تلخ به سبب برخورداری از چوب مرغوب، ارزش اقتصادی بالایی دارد. محورهای جنینی زیتون تلخ (*Melia azedarach* L.) درون کپسول‌های آلژینات کلسیم همراه با سوکروز (هفتاد و پنج صدم مولار) و اسید سالیسیلیک (۰، ۵۰ و ۲۰۰ میکرومولار) پوشش دار (کپسوله) شدند. توانایی زیستی محورهای جنینی کپسوله شده در دو شرایط انجماد سخت به کمک ازت مایع و یا نگهداری به مدت چهار ماه در چهار درجه سانتی گراد مورد ارزیابی قرار گرفتند. در هر دو حالت غلظت ۲۰۰ میکرومولار اسید سالیسیلیک به طور قابل توجهی درصد توانایی زیستی محورهای جنینی کپسوله شده را افزایش داد. محورهای جنینی فاقد کپسول بعد از قرارگیری در ازت مایع بقایی نداشتند. اما درصد توانایی زیستی محورهای جنینی کپسوله شده همراه با تیمار ۲۰۰ میکرومولار اسید سالیسیک تا ۷۱ درصد افزایش نشان داد. در شرایط سرما نیز توانایی زیستی به طور قابل توجهی از ۳۳ درصد در محورهای جنینی شاهد تا ۸۳ درصد در محورهای جنینی تیمار شده با غلظت ۲۰۰ میکرومولار اسید سالیسیلیک افزایش یافت. مقایسه توانایی زیستی محورهای جنینی نشان داد که کپسوله کردن با اسید سالیسیلیک در بقای محورهای جنینی نگهداری شده در انجماد سخت، نسبت به سرما نقش مؤثرتری دارند.

کلمات کلیدی: نگهداری در سرما، شرایط انجماد سخت، *Melia azedarach* L.، اسید سالیسیلیک، کپسوله کردن

Pajouhesh & Sazandegi No 67 pp: 44-49

Effects of salicylic acid on enhancing the resistance of embryonic axes of Persian lilac (*Melia azedarach* L.) against cold and cryopreservation

By: Kaviani, Department of Horticulture, Agriculture Faculty, Islamic Azad University, Rasht Branch. Iran
F. Bernard. Department of Biology, Sciences Faculty, Shahid Beheshti University.Tehran.Iran
H. Shaker. Department of Biology, Sciences Faculty, Shahid Beheshti University.Tehran. Iran
Gh. Haddadchi, Department of Biology, Sciences Faculty, Natural Resources University,Gorgan. Iran

Archive of SID
Pajouhesh & Sazandegi

www.SID.ir

In vitro conservation of germplasm is one of the best methods of plant gene pool storage. Application of this method is important for conservation of high economic and medicinal value plants and for plants that are becoming exctinct. *Melia azedarach* L. has high economic value, because of its high wood quality.Embryonic axes of Persian lilac (*Melia azedarach* L.) were encapsulated into calcium alginate capsules with sucrose (0.75M) and salicylic acid (0, 50, 200µm). Viability of encapsulated embryonic axes were studied in two conditions of cryopreservation in liquid nitrogen or preservation for 4 months at 4°C In both cases 200µm salicylic acid enhanced significantly the percentage of viability of encapsulated embryonic axes. Non-encapsulated embryonic axes did not survive after liquid nitrogen treatment. But the percentage of viability of encapsulated embryonic axes increased to 71% with 200µm SA. Also, in cold conditions, viability increased considerably from 33% in control embryonic axes to 83% in treated with 200µm SA embryonic axes. Comparison of embryonic axes viability showed that encapsulation with SA is more effective in retaining viability of embryonic axes preserved in cryopreservation than cold preservation.

Keywords: Cold preservation, Cryopreservation, *Melia azedarach* L., Salicylic acid, Encapsulation.

مقدمه

حفاظت ژرم پلاسم[۱] در شرایط آزمایشگاهی (درون شیشه[۲])، اغلب توسط شرایطی که سرعت رشد بافت را به یک حد کمینه کاهش می‌دهد، نظیر کاهش دما، حذف برخی عناصر مغذی از محیط کشت و یا افزایش یک کاهنده رشد به محیط کشت تحقق می‌یابد. پوشش دار کردن[۳] بافت‌ها درون کپسول‌های آلژینات[۴] (بذر مصنوعی[۵]) با محدود کردن تنفس بافت‌ها، رشد آنها را به مقدار قابل توجهی کاهش می‌دهد (۲). ذخیره این بافت‌ها در شرایط مذکور امکان پذیر خواهد بود. با به کارگیری این روش نشان داده شد که امکان ذخیره سازی شبه جنین‌های کپسوله شده ی پسته خوراکی (*Pistacia vera*) در دمای چهار درجه سانتی گراد به مدت شصت روز وجود دارد. بعد از این مدت نسبت مناسبی از آنها به گیاهچه تبدیل شدند (۹).

سرشاخه‌های پوشش دار شده چند گونه گیاهی خاص مناطق گرمسیری که حتی در دمای بیست و بیست و پنج درجه ی سانتی گراد نگهداری شده بودند با یک نسبت بسیار بالایی توانایی زیستی[۶] را بعد از دوازده ماه حفظ کردند (۷). مفید بودن کپسوله کردن برای نگهداری ژرم پلاسم به اثبات رسیده است، اگرچه این روش در حال حاضر برای نگهداری کوتاه مدت یا میان مدت ژرم پلاسم مورد استفاده قرار میگیرد. ولی برای نگهداری دراز مدت ژرم پلاسم گیاه، نگهداری در شرایط انجماد سخت[۷] مناسب تر است. در این شرایط فعل و انفعالات درون سلولی متوقف شده، بافت‌ها بدون رشد نگهداری می‌شوند و تغییرات ژنتیکی طی دوره طولانی مدت ذخیره سازی اتفاق می‌افتد. اما بافت‌ها باید شرایط سخت این روش را تحمل کنند، به طوری که در اغلب موارد آبگیری[۸] بالای بافت‌ها برای افزایش مقاومت به شرایط انجماد سخت در ازت مایع (LN) و ذوب شدن[۹] بعدی برای باز زایی بافت‌ها در محیط‌های کشت و ادامه رشد و نمو آنها، ضروری است.

مطالعات تجربی زیادی در خصوص افزایش توانایی زیستی بافت‌ها طی این مراحل انجام شده است. در برخی از این مطالعات، پیش تیمارهایی برای محافظت از بافت‌ها در برابر انجماد معرفی شده است که می‌تواند در برخی موارد طولانی و پیچیده باشد. سوکروز، که تحمل به آبگیری را افزایش داده و باعث حفظ توانایی زیستی بافت‌ها می‌شود اغلب به عنوان پیش تیمار مورد استفاده قرار میگیرد (۴). پیش تیمار با اسید آبسیسیک نیز می‌تواند تحمل به آبگیری را افزایش دهد (۱۲).

در روش نگهداری ژرم پلاسم در شرایط انجماد سخت، کپسوله کردن ژرم پلاسم درون تیله‌های آلژینات قبل از آبگیری (به دلیل افزایش مقاومت بافت‌های گیاه به خشک شدن و انجماد) همراه با سایر پیش تیمارها، مفید است (۳). عموماً بافت‌هایی مانند بافت‌های مریستمی که میزان آب آنها کم است و سیستم واکوئلی توسعه نیافته ای دارند، به تنش‌های حاصل از این روش‌ها مقاوم ترند. بر عکس بافت‌های دانه‌های حساس به تنش‌ها، تحمل این تیمارها را ندارند، بنابر این استفاده از محورهای جنینی[۱۰] جدا شده، به دلیل دارا بودن آب کمتر و در نتیجه مقاومت بیشتر به تنش‌ها مناسب تر است (۵ ، ۱۰).

در این بررسی تأثیر اسید سالیسیلیک[۱۱] (SA) (یک ماده طبیعی که به طور معمول در عکس العمل گیاه به تنش‌های زیستی و فیزیکی به کار می‌رود) (۱۱)، بر روی محورهای جنینی زیتون تلخ که تحت تاثیر تنش‌های حاصل از نگهداری در شرایط سرما و انجماد سخت قرار گرفته بودند، مطالعه شد. زیتون تلخ، یک درخت بومی شرق آسیای میانه است. چوب این گیاه مرغوب بوده و در صنعت به ویژه در ساختن وسایل چوبی مورد استفاده قرار می‌گیرد. از قسمت‌های مختلف این گیاه نیز در پزشکی و داروسازی استفاده می‌شود.

www.SID.ir

مواد و روش‌ها

تهیه نمونه ی گیاهی و محیط کشت

محورهای جنینی از دانه‌های میوه‌های رسیده جمع آوری شده از استان مازندران جدا شدند. دانه‌ها ابتدا به مدت یک دقیقه در اتانول هفتاد درصد (حجمی) سترون و پس از شستشو با آب مقطر، به مدت پانزده دقیقه توسط هیپوکلریت سدیم پانزده درصد (وزن به حجم) گندزدایی شدند. بعد از سه بار شستشوی دانه‌ها با آب گندزدایی شده، محورهای جنینی به طول حدود یک میلی متر جدا شده و برای آزمایش در محیط کشت قرار گرفتند. تمام آزمایش‌ها در محیط MS (۸) (مخلوط نمک پایه و ویتامین‌ها) همراه با دو میلی گرم در لیتر گلوتامین انجام شد.

کپسوله کردن و آبگیری

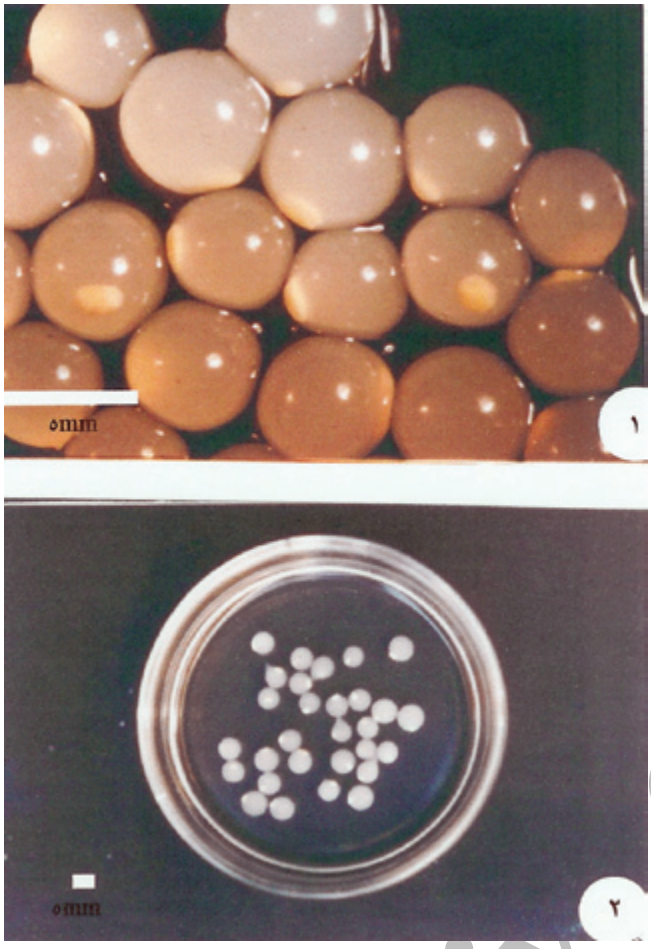
به منظور کپسوله کردن، محورهای جنینی در محیط کشت MS حاوی سه درصد (وزن به حجم) آلژینات سدیم (شرکت سازنده؛ فلوکه[۱۲]، کد؛ ۲۱۰۵۴) هفتاد و پنج صدم مولار سوکروز و SA (۰، ۵۰ و ۲۰۰ میکرومولار) (شرکت سازنده؛ مرک[۱۳]، کد؛ ۱۵۹۴۰۹) معلق شدند. بعد از نیم ساعت محورهای جنینی به صورت مجزا با پنس از محیط فوق برداشته شده و به درون محیط MS با همان مقادیر سوکروز و SA و نیز حاوی صد میلی مولار کلرید کلسیم (وزن به حجم) (شرکت سازنده؛ مرک، کد؛ ۱۰۲۰۸۳)، غوطه ور شدند. کپسول‌های آلژینات که هر کدام حاوی یک محور جنینی بودند (شکل ۱)، به مدت سی دقیقه در محیط مذکور به آهستگی تکان داده شدند. در مورد تیمار شاهد (محورهای جنینی کپسوله نشده) محورها به مدت یک ساعت در محیط مایع MS حاوی همان مقدار سوکروز و SA معلق شدند. محورهای جنینی کپسوله شده و فاقد کپسول به ظروف پتری خالی بدون در پوش منتقل و به مدت یک ساعت در معرض جریان هوای سترون یک اتاقک کشت[۱۴] خشک شدند.

تعیین میزان رطوبت

برای تعیین میزان رطوبت محورهای جنینی، گروه‌های حاوی پانزده محور جنینی در محیط کشت مایع MS حاوی همان مقادیر سوکروز و SA به مدت یک ساعت به آرامی تکان داده شدند. بعد از آن، محورهای جنینی به مدت یک ساعت همانند روش شرح داده شده، خشک شدند. محورهای جنینی آبگیری شده، وزن گردیده و در دمای صد و ده درجه ی سانتی گراد به مدت بیست ساعت آب‌گیری شدند و مقدار رطوبت، از تفاضل وزن آنها در دو حالت بیان گردید. این آزمایش سه مرتبه تکرار شد.

نگهداری در سرما

برای نگهداری در شرایط سرما، محورهای جنینی کپسوله شده در دو شرایط ذخیره شدند. یک سری در ظروف پتری بر روی کاغذ صافی مرطوب شده با آب و سری دیگر در ظروف پتری خالی نگهداری شدند. ظروف پتری با پارافیلم مسدود شده و در تاریکی و دمای چهار درجه سانتی گراد به مدت صد و بیست روز قرار داده شدند.



شکل۱- نمایشی از محورهای جنینی پوشش دار شده (تیله‌ها)
(۱) زیر لوپ (×۱۰) (مقیاس در میلی متر) (۲) در اندازه ی طبیعی (مقیاس در میلی متر)

نگهداری کوتاه مدت در ازت مایع

برای نگهداری کوتاه مدت در شرایط انجماد سخت، بعد از آبگیری، نمونه‌ها به درون لوله‌های پلی پروپیلن گندزدایی شده منتقل و به طور مستقیم به مدت یک ساعت در LN غوطه ور شدند. برای شاهد یک سری محورهای جنینی بلافاصله بعد از جدا شدن از دانه‌ها، بدون هیچ پیش تیماری به مدت یک ساعت در LN قرار گرفتند. سپس این محورها به سرعت از طریق انتقال لوله‌ها به حمام آب گرم سی و هفت درجه ی سانتی گراد به مدت دو دقیقه، ذوب شده و در نهایت محورهای جنینی مستقیماً به محیط کشت مناسب انتقال یافتند.

برای بررسی دقیق تحمل محورهای جنینی در دراز مدت، به شرایط انجماد سخت لازم است محورهای جنینی سال‌ها در این شرایط باقی بمانند. از آنجایی که در برودت ۱۹۶- درجه سانتی گراد فعالیت سوخت و سازی محورهای جنینی به سرعت و به طور کامل متوقف می‌شود، از جنبه نظری می‌توان زمان یک ساعت را معادل زمان‌های طولانی تر در نظر گرفت.

Archive of SID
www.SID.ir

باززایی محورهای جنینی

بعد از نگهداری در شرایط سرما یا انجماد سخت، نمونه‌ها روی محیط کشت جامد MS (حاوی آگار ـ آگار هشت دهم درصد) (شرکت سازنده؛ مرک، کد؛ ۱۰۱۶۱۴) همراه با سوکروز سه درصد کشت گردیدند. محیط‌های کشت در دمای بیست و پنج درجه سانتی گراد با دوره نوری شانزده ساعت روشنایی و هشت ساعت تاریکی قرار داده شدند. درصد توانایی زیستی محورهای جنینی، پانزده روز بعد از انتقال به محیط کشت ثبت گردید و طول محورهای جنینی جوانه زده، اندازه گیری شد.

تجزیه و تحلیل آماری

در تمام آزمایش‌ها، هر تیمار شامل شش تکرار بود و تمام آزمایش‌ها دو یا چهار بار بر حسب نوع آزمایش تکرار شد و در جدول، شرح هر آزمایش مشخص گردید. داده‌ها با استفاده از تجزیه ی واریانس(ANOVA) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند و میانگین آنها در سطح احتمال پنج درصد مقایسه شد.

نتایج و بحث

در دو حالت مورد آزمایش (نگهداری در شرایط سرما و انجماد سخت) بافت‌ها در معرض یک تنش آبی بالا قرار میگیرند. در این دو حالت، برای مقاومت به تیمار، بافت‌ها باید تحمل خود را به آبگیری افزایش دهند. در مقایسه با نتایج حاصل از محورهای جنینی کاملیای زینتی (*Camellia japonica*) که بعد از قرارگیری در معرض خشکی جزیی، در برابر انجماد مقاومت نشان دادند (۵)، محورهای جنینی فاقد کپسول زیتون تلخ حتی آنهایی که با سوکروز و آبگیری به مدت یک ساعت پیش تیمار شده بودند، بعد از قرار گرفتن در معرض LN مقاومت نکردند. در این حالت، پیش تیمار SA همراه با سوکروز نیز مقاومت این بافت‌ها را افزایش نداد (جدول ۱). شایان توجه است که در این شرایط آزمایشی، پیش تیمار SA قبل از خشک کردن محورهای جنینی، مقدار رطوبت را به طور شدید کاهش نداد (جدول ۲). بر طبق برخی گزارش‌ها محورهای جنینی کپسوله شده ی زیتون تلخ می‌توانند مقاومت بهتری را نشان دهند (۳)، در این بررسی مشخص شد که با حضور هفتاد و پنج صدم مولار سوکروز در محیط کپسوله کردن نسبت توانایی زیستی محورهای جنینی بعد از انجماد به چهل و دو درصد میرسد (جدول ۱). سوکروز در طول انجام آزمایش و در غلظت بالا باید در تماس با محورهای جنینی قرار داشته باشد. این عمل توسط کپسوله کردن محورهای جنینی در تیله‌های آلژینات انجام می‌شود. پیش کشت با غلظت بالای سوکروز به میزان قابل توجهی پتانسیل اسمزی را منفی می‌کند و در نتیجه غلظت شیره ی درون سلولی را افزایش می‌دهد (۱۵). سوکروز درون سلولی می‌تواند به عنوان یک عامل اصلی در القای تحمل محورهای جنینی به آبگیری عمل نماید (۶). اما اگر SA (۵۰ یا ۲۰۰ میکرومولار) همراه با سوکروز به آلژینات اضافه شود، درصد بقا به طور قابل توجهی (تا هفتاد و یک درصد با تیمار (SA) (۲۰۰ میکرومولار) افزایش می‌یابد (جدول ۱). از نتایج حاصل می‌توان استنباط کرد که SA نقش قابل توجهی در مقاومت بافت‌ها به انجماد ایفا می‌نماید. کاربرد SA خارجی می‌تواند باعث افزایش SA درون‌زا شود (۱۳)، که می‌تواند نقش فعالی در فرایند مقاومت به خشکی داشته باشد. SA درون زا یک علامت القایی برای پاسخ‌های دفاعی ویژه گیاهان است (۱۴). نشان داده شده است که SA به عنوان یک ترکیب کاهنده تنش در برابر تنش آب عمل میکند. بنابراین محورهای جنینی که به مدت یک ساعت پیش تیمار شده و همراه با SA، کپسوله شدند می‌توانند نسبت به تنش آبی حاصل از آبگیری و انجماد سخت مقاومت بیشتری داشته باشند.

برای نگهداری در شرایط سرما نیز تنش آب بسیار بالاست زیرا از طرفی تنش آب در دمای پایین تحریک می‌شود و از طرف دیگر در شرایط این آزمایش تنش مذکور با ذخیره ی محورهای کپسوله شده در ظروف پتری خالی بدون حمایت آبی تشدید می‌شود. Maruyama و همکاران حفاظت و نگهداری مناسب‌تر بافت‌های کپسوله شده را روی آب حاوی آگار (یک درصد) نشان دادند. در این وضعیت به سبب عدم حضور عناصر غذایی، رشد متوقف می‌شود (۷).

نتایج این بررسی نشان داد که ذخیره بافت‌های کپسوله شده بدون حمایت غذایی و در شرایط بسیار سخت خشکی امکان پذیر است. بنابراین در این شرایط، رشدی انجام نخواهد شد و محورهای جنینی میزان بالایی از توانایی زیستی را بعد از چهار ماه نگهداری در چهار درجه سانتی گراد حفظ می‌کنند. حضور SA (۲۰۰ میکرومولار) در محیط کپسوله کردن به طور قابل توجهی درصد توانایی زیستی محورهای جنینی را در این شرایط

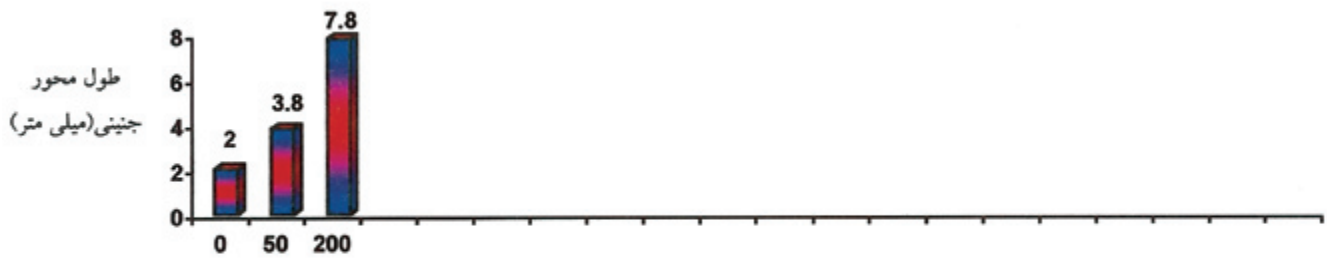
جدول۱- اثر اسید سالیسیلیک بر توانایی زیستی محورهای جنینی کپسوله شده و فاقد کپسول زیتون تلخ

اسید سالیسیلیک (میکرومولار)	درصد توانایی زیستی محورهای جنینی		
	محورهای جنینی بدون پیش تیمار و فاقد کپسول	محورهای جنینی با پیش تیمار و فاقد کپسول*	محورهای جنینی با پیش تیمار و کپسوله شدن**
۰	۰	۰	۴۲ ± ۱۰
۵۰	–	۰	۶۳ ± ۱۰
۲۰۰	–	۰	۷۱ ± ۹

* SA به عنوان پیش تیمار همراه با ۷۵٪ مولار سوکروز در محیط مایع MS با حرکت آهسته به مدت یک ساعت قبل از آب گیری و انجماد.

** SA به عنوان پیش تیمار همراه با ۷۵٪ مولار سوکروز در محیط کپسوله کردن، در این محیط محورهای جنین به مدت یک ساعت قبل از آب گیری و انجماد نگهداری می شوند

Archive of SID
www.SID.ir



شکل۲ـ نمودار اثر اسید سالیسیلیک در محیط کپسوله کردن بر روی رشد محورهای جنینی زیتون تلخ، نگهداری شده در شرایط انجماد. اندازه گیری‌ها پانزده روز بعد از انتقال محورهای جنینی کپسوله شده از ازت مایع به محیط کشتMS انجام شد.

جدول۲- میزان رطوبت محورهای جنینی پیش تیمار شده

اسید سالیسیلیک (میکرومولار)	پیش تیمار یک ساعت قبل از خشک کردن روی محیط MS		
	محورهای جنینی بدون پیش تیمار و فاقد کپسول	۰/۷۵ مولار سوکروز + ۵۰ میکرومولار SA	۰/۷۵ مولار سوکروز + ۲۰۰ میکرومولار SA
قبل از خشک کردن	۳۲/۲۳ ± ۴/۶	۳۷/۹۷ ± ۷/۹۷	۳۵/۵۸ ± ۴/۸۹
بعد از خشک کردن یک ساعته	۱۶/۷۷ ± ۱/۴۹	۱۸/۲۷ ± ۲/۲۸	۱۷/۲۸ ± ۲/۲۸

* داده‌ها از میانگین پانزده محور جنینی برای هر یک از سه تکرار هر تیمار محاسبه گردید

جدول۳- اثر اسید سالیسیلیک بر توانایی زیستی محورهای جنینی کپسوله شده ی زیتون تلخ

اسید سالیسیلیک (میکرومولار)	درصد توانایی زیستی محورهای جنینی	
	در ظروف پتری خالی	درصد توانایی زیستی محورهای جنین زیتون تلخ در شرایط مختلف
۰	۳۳ ± ۱۴	۰
۵۰	۵۸ ± ۱۵	۰
۲۰۰	۸۳ ± ۱۱	۰

افزایش می‌دهد (جدول۳). با توجه به نتایج حاصل از بررسی حاضر، به منظور نگهداری محورهای جنینی در شرایط سرما در حالت آبگیری روش فوق پیشنهاد می‌شود. نتایج این بررسی نشان داد که ذخیره محورهای کپسوله شده بر روی کاغذ صافی مرطوب، باعث از دست رفتن کامل توانایی زیستی نمونه‌ها می‌شود. این مسئله می‌تواند به سبب خشک شدن کاغذ صافی باشد. این خشک شدن باعث آبگیری بیشتر از محورهای جنینی کپسوله شده و انتشار عناصر (سوکروز،SA و عناصر غذایی) از کپسول‌ها به کاغذ را نیز باعث می‌شود؛ به طوری که آنها نمی‌توانند در مدت زمانی که در تماس با محورهای جنینی هستند نقش حفاظتی خود را ایفا نمایند.

غلظت‌های مورد استفاده ی SA در این آزمایش‌ها به هیچ وجه در نمو محورهای جنینی مداخله نکردند و باززایی بهتر محورهای جنینی که از حمایت غلظت بالاتر SA (۲۰۰ میکرومولار) در طی نگهداری در شرایط

Archive of SID
www.SID.ir

انجماد برخوردار بودند (شـکل ۲) احتمالا از حمایت بهتر تمامیت بافت‌ها توسط SA ناشی می‌شود.

استفاده از کپسوله کردن، آبگیری و غلظت بالای سوکروز و مانیتول به عنوان پیش تیمار، برای افزایش مقاومت ژرم پلاسم گیاهان به تنش سرما و انجماد سخت بسیار مفید است. تحقیق برای یافتن ترکیبات ثانویه به عنوان پیش تیمار نیز کماکان ادامه دارد.

نگهداری ژرم پلاسـم در شـرایط رشـد حداقل برای پایدار مانـدن و حفاظت برخی گونه‌ها. گزارش شـده اسـت (۳، ۱۰، ۱۵). در تحقیق حاضر علاوه بر کپسـوله کردن و آبگیری که توسـط برخی محققان مورد استفاده قـرار گرفت (۱، ۳)، SA نیز مورد ارزیابی قـرار گرفته و نقش مثبت آن در حفاظت از محورهای جنینی در برابر تنش سـرما و انجماد سـخت نشـان داده شـد. به ویژه اسـتفاده از SA در کپسول‌های حاوی محورهای جنینی نگهداری شده در سرما پیشنهاد می‌شود. حضور SA درون کپسول‌ها، کمک بسـیار زیادی به حفظ توانایی زیسـتی محورهای جنینی نگهداری شده در شـرایط خشـک ظروف پتری خالی می‌نماید، که تا کنون در کار محققان مشاهده نشده است.

نتیجه اینکه افزایش SA در محیط کپسـوله کردن می‌تواند در افزایش تحمل بافت‌ها به تنش‌ها و به ویژه برای گونه‌هایی که به آبگیری حسـاس هستند بسیار موثر باشد.

پاورقی‌ها

1 - Germplasm
2- In vitro
3- Encapsulation
4- Alginate capsules
5- Artificial seed
6- Viability
7- Cryopreservation
8- Dehydration
9 - Thawing
10- Embryonic axes
11- Salicylic acid
12- Fluke
13- Merck
14 - Laminar air flow

اختصارات: MS– موراشیگی و اسکوگ، LN– ازت مایع، SA– اسید سالیسیلیک

منابع مورد استفاده

1-Blakesley, D., Al-Mazrooei S. Henshaw, G.G., 1995; Cryopreservation of embryonic tissue of sweet potato (*Ipomoea batatas*): Use of sucrose and dehydration for cryoprotection. Plant Cell Rep. 15: 259-263.

2-Brodelius, P., Linse, L., Nilsson, K., 1982; Viability and biosynthetic capacity of immobilized plant cells. In: A Fujiwara (Ed.), Plant Tissue Culture P.371.Proc 5 th Int Cong of Plant Tissue and cell Culture Mazuren, Tokyo.

3-Dereuddre. J., Scottez, C., Arnaud, Y. Duron, M., 1990; Resistance of alginate-coated axillary shoot tips of pear tree (*Pyrus communis* L., Beurre Hardy) in vitro plantlets to dehydration and subsequent freezing in liquid nitrogen: Effect of previous cold hardening. C R Acad Sci Paris III 310: 317-323.

4-Dumet, D., Engelmann, F. Chabrillange, N. Duval,Y. Dereuddre, J., 1993; Importance of sucrose for the acquisition of tolerance to dessication and cryopreservation of oil palm somatic embryos. Cryo-letters 14: 243-250.

5-Janeiro, L.V., Vieitez, A.M., Ballester, A., 1996; Cryopreservation of somatic embryos and embryonic axes of *Camellia japonica* L. Plant Call Rep. 15: 699-703.

6-Koster, K.L., Leopold, A.C., 1988. Sugar and dessication tolerance in seeds. Plant Physiol. 88: 829-832.

7-Maruyama, E., Kinoshita, L., Ishii, K., Ohba, K., 1997; Germplasm conservation of the tropical forest trees, *Cedrela odorata* L., *Guazuma crinita* Mart. and *Jacaranda mimosaefolia* D. Don., by shoot tip encapsulation in calcium-alginate and storage at 12-25 ^{oC}. Plant Cell Rep. 16: 393-396.

8-Murashige, T., Skoog, F., 1962; A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol Plant 15: 473-497.

9-Onay, A., Jeffree, C.E., Yeoman, M.M., 1996; Plant regeneration from encapsulated embryoids and an embryogenic mass of pistachio, *Pistacia vera* L. Plant Cell Rep. 15: 723-726.

10-Radhamani, J., Chandel, K.P.S., 1992; Cryopreservation of embryonic axes of trifoliate orange (*Poncirus trifoliata* (L.) RAF). Plant Cell Rep 11: 372-374.

11-Raskin, L., 1992. Role of salicylic acid in plants. Annual Rev. Plant Physiol and Plant Mol. Biol. (USA) 43: 439-463.

12-Senaratna, T., Mekersie, B.D., Bowley, S.R., 1989; Dessication tolerance of Alfafa (*Medicago sativa* L.) somatic embryos. Influence of abscisic acid, stress pretreatments and drying rates. Plant Sci. 65: 253-259.

13-Seo, S., Ishizuka, K., Ohashi, Y., 1995; Induction of salicylic acid beta- glucosidase in tobacco (*Nicotiana tabacum*) leaves by exogenous salicylic acid. Plant and Cell Physiol. 36(3): 447-453.

14-Shah, J., Klessig, D.F., 1999; Salicylic acid: Signal perception and transduction. In: P.P.J. Hooykaers, M.A. Hall and K.R., Libbenga (Eds.) Biochemistry and Molecular Biology of plant hormones. pp.513-541. Elsevier seience, Amsterdam, Netherlands.

15-Uragami, A., Sakai, A., Nagai, A., 1990; Cryopreservation of dried axillary buds from plantlet of *Asparagus officinalis* L. grown in vitro. Plant Cell Rep. 9: 328-331

Archive of SID
www.SID.ir