

THE EFFECTS OF COLCHICINE-INDUCED AUTOTETRAPLOIDY ON SELECTED CHARACTERISTICS OF NURUOZAK (*SALVIA LERIIFOLIA*)

A. ESTAJI¹, B. HOSSEINI², E. GHOTBI RAVANDI³,
F. SEFIDKON⁴, E. DEHGHAN^{5, 6*}

^{1,2} Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Urmia University, Nazlo Campus, P.O.Box 165, Urmia, Iran

³ Department of Biology, Faculty of Sciences, Shahid Bahonar University of Kerman, P.O. Box 76169133, Kerman, Iran

⁴ Medicinal Plants Research Division, Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, Iran

⁵ Department of Plant Biotechnology, Ferdowsi University of Mashhad, P.O. Box 9177948978, Mashhad, Iran

⁶ Corresponding author: Department of Biochemistry, UT Southwestern Medical Center, Dallas, Texas 75390
E-mail: es.dehghanshahreza@gmail.com

Nuruozak (*Salvia leriifolia* Benth), is a perennial herbaceous plant that is endemic to Iran and has recently been introduced as a medicinal plant. Artificial polyploidy is an efficient method to increase the production of secondary metabolites and can result in a whole spectrum of genetic, molecular and physiological modifications. In order to produce an autotetraploid population of nuruozak, various concentrations of colchicine (0.00, 0.05, 0.10, 0.20 or 0.50 % w/v) were applied to the seeds and shoot apical meristems of young seedlings at the fourth leaf-stage. Microscopic studies, flow cytometry analysis and chromosome counting were conducted to select tetraploid nuruozak plants. Furthermore, the effects of ploidy level on the essential oil content and composition and biomass production of nuruozak plants, as well as selected structural and physiological characteristics were studied. Based on the number of the obtained tetraploids, treatment of shoot apical meristems was more efficient than seed treatment. Structural and phytochemical characteristics, chlorophyll content and photosynthetic rate were affected by the increase in ploidy level. In addition to the higher potential in biomass production, tetraploid plants produced eight new compounds which were absent in diploids.

Key words: *Salvia leriifolia*, colchicine, flow cytometry, tetraploidy.

ВЛИВ АВТОТЕТРАПЛОЇДІЇ, ІНДУКОВАНОЇ КОЛХИЦИНОМ, НА ОБРАНІ ОЗНАКИ *SALVIA LERIIFOLIA*

Salvia leriifolia Benth – багаторічна трав'яниста рослина, ендемік Ірану, яка нещодавно була визнана

як лікарська. Штучна поліплоїдія є ефективним методом збільшення продукції вторинних метаболітів, що може викликати цілий спектр генетичних, молекулярних та фізіологічних змін. Для отримання автотетраплоїдної популяції *S. leriifolia* проводили обробку насіння та апікальних меристем молодих проростків на стадії чотирьох листків колхацином в різних концентраціях (0.00, 0.05, 0.10, 0.20, 0.50 % w/v). Для відбору тетраплоїдних рослин застосували мікроскопічний аналіз, рідинну цитометрію та підрахунок хромосом. Крім того, вивчали вплив рівня плоїдності на вміст ефірних олій, склад та накопичення біомаси рослин, а також на обрані структурні та фізіологічні ознаки. За кількістю отриманих тетраплоїдів обробка апікальних меристем виявилась більш ефективною, ніж обробка насіння. Збільшення рівня плоїдності впливало на структурні та фітохімічні ознаки, вміст хлорофілу та інтенсивність фотосинтезу. Тетраплоїдні рослини на додаток до збільшення накопичення біомаси продукували вісім нових сполук, які були відсутні у диплоїдів.

ВЛИЯНИЕ АВТОТЕТРАПЛОИДИИ, ИНДУЦИРОВАННОЙ КОЛХИЦИНОМ, НА ВЫБРАННЫЕ ПРИЗНАКИ *SALVIA LERIIFOLIA*

Salvia leriifolia Benth – многолетнее травянистое растение, эндемик Ирана, которое недавно было признано как лекарственное. Искусственная полиплоидия является эффективным методом увеличения продукции вторичных метаболитов, что может вызвать целый спектр генетических, молекулярных и физиологических изменений. Для получения автотетраплоидной популяции *S. leriifolia* семена и апикальные меристемы молодых проростков на стадии четырех листьев обрабатывали колхацином в разных концентрациях (0.00, 0.05, 0.10, 0.20, 0.50 % w/v). Для отбора тетраплоидных растений применяли микроскопический анализ, жидкостную цитометрию и подсчет хромосом. Кроме того, изучали влияние уровня плоидности на содержание эфирных масел, состав и накопление биомассы растений, а также на выбранные структурные и физиологические признаки. По количеству полученных тетраплоидов обработка апикальных меристем оказалась более эффективной, чем обработка семян. Увеличение уровня плоидности влияло на структурные и фитохимические признаки, содержание хлорофилла и интенсивность фотосинтеза. Тетраплоидные растения в дополнение к увеличению накопления биомассы, производили восемь новых соединений, которые отсутствовали у диплоидов.

REFERENCES

1. Hosseinzadeh, H., Sadeghnia, H.R., Imanshahidi, M., and Fazly Bazzaz, B.S., Review of the pharmacological and toxicological effects of *Salvia leriifolia*, *Iran. J. Basic Med. Sci.*, 2009, vol. 12, no. 1, pp. 1–8.
2. Hosseinzadeh, H., Haddadkhodaparast, M.H., and Arash, A., Antiinociceptive, anti-inflammatory and acute toxicity effects of *Salvia leriifolia* Benth. seed extract in mice and rats, *Phytother. Res.*, 2003, vol. 17, no. 4, pp. 422–425.
3. Yemets, A.I., and Blume, Ya.B., Progress in plant polyploidization based on antimicrotubular drugs, *Open Hortic. J.*, 2008, vol. 1, pp. 15–20.
4. Dhawan O.P., and Lavania U.C., Enhancing the productivity of secondary metabolites via induced polyploidy: a review, *Euphytica*, 1996, vol. 87, no. 2, pp. 81–89.
5. Gao, S.L., Zhu, D.N., Cai, Z.H., and Xu, D.R., Autotetraploid plants from colchicine-treated bud culture of *Salvia miltiorrhiza*, Bge, *Plant Cell Tissue Organ. Cult.*, 1996, vol. 47, pp. 73–77.
6. Estaji, A., Hosseini, B., Dehghan, E., and Pirzad, A., Seed treatments to overcome dormancy of Nuruozak (*Salvia leriifolia* Benth.), *Int. Res. J. Appl. Basic Sci.*, 2012, vol. 3, no. 10, pp. 2003–2008.
7. Dehghan, E., Hakkinen, S.T., Oksman-Caldentey, K.M., and Shahriari Ahmadi, F., Production of tropane alkaloids in diploid and tetraploid plants and in vitro hairy root cultures of Egyptian henbane (*Hyoscyamus muticus* L.), *Plant Cell Tissue Organ. Cult.*, 2012, vol. 110, no. 1, pp. 35–44.
8. Lichtenthaler, H.K., and Wellburn, A.R., Determination of total carotenoids and chlorophylls *a* and *b* of leaf in different solvents, *Biochem. Soc.*, 1985, vol. 11, no. 5, pp. 591–592.
9. Gregory, M.J., Menary, R.C., and Davies, N.W., Effect of drying temperature and air flow on the production and retention of secondary metabolites in saffron, *J. Agric. Food Chem.*, 2005, vol. 53, no. 15, pp. 5969–5975.
10. Adams, R.P., *Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy*, Carol Stream, Allured Publ. Co, 2007.
11. Ghotbi Ravandi, E., Rezanejad, F., Zolala, J., and Dehghan, E., The effects of chromosome-doubling on selected morphological and phytochemical characteristics of *Cichorium intybus* L., *J. Hortic. Sci. Biotech.*, 2013, vol. 88, no. 6, pp. 701–709.
12. Omidbaigi, R., Yavari, S., and Hassani, M.E., Induction of autotetraploidy in dragonhead (*Dracocephalum moldavica* L.) by colchicine treatment, *J. Fruit Ornament. Plant Res.*, 2010, vol. 18, no. 1, pp. 23–35.
12. Rubuluza, T., Nikolova, R.V., Smith, M., and Hannweg, K., In vitro induction of tetraploid in *Colophospermum mopane* by colchicine, *S. Afr. J. Bot.*, 2007, vol. 73, no. 2, pp. 259–261.
13. Zhang, L.Y., Guo, Q.G., Li, X.L., Zeng, H., Tan, J.M., and Liang, G.L., Study on the relationship between the number of chloroplast in stomata guard cell and the ploidy of loguati cultivars, *J. Fruit Sci.*, 2005, vol. 22, no. 3, pp. 229–233.
14. Warner, D.A., and Edwards, G.E., Effects of polyploidy on photosynthetic rates, photosynthetic enzymes, contents of DNA, chlorophyll, and sizes and numbers of photosynthetic cells in the C₄ dicot *Atriplex confertifolia*, *Plant Physiol.*, 1989, vol. 91, no. 3, pp. 1143–1151.
15. Mathura, S., Fossey, A., and Beck, S., Comparative study of chlorophyll content in diploid and tetraploid black wattle (*Acacia mearnsii*), *Forestry*, 2006, vol. 79, no. 4, pp. 381–388.
16. Kondorosi, E., Roudier, F., and Gendreau, E., Plant cell-size: growing by ploidy? *Curr. Opin. Plant Biol.*, 2000, vol. 3, no. 6, pp. 488–492.
17. Warner, D., and Edwards, G.E., Effects of polyploidy on photosynthesis, *Photosynth. Res.*, 1993, vol. 35, no. 2, pp. 135–147.
18. Levin, D.A., *The role of chromosomal change in plant evolution*, Oxford, Univ. Press, 2002.
19. Leitch, I.J., and Bennett, M.D., Polyploidy in angiosperms, *Trends Plant Sci.*, 1997, vol. 2, no. 12, pp. 470–476.

Received 28.01.14