

بررسی اثرات برخی از تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی بر رویان زایی پیکری و بافت شناسی مراحل آن در گیاه گوجه فرنگی واریته Y

احمد مجد،* شیمیا پورمحمد فتالی، معصومه میرزایی

گروه زیست شناسی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال

دریافت: ۱۳۸۹/۸/۲ - پذیرش: ۱۳۸۹/۱۰/۲۶

چکیده

گوجه فرنگی گیاهی متعلق به تیره solanaceae و با نام علمی *Lycopersicon esculentum* Mill (L). var. Y است. به علت داشتن ویتامین‌ها و آنتی‌اکسیدان‌ها، اهمیت غذایی و دارویی ویژه‌ای دارد. با استفاده از زیست فناوری گیاهی در کشت بافت و رویان زایی، می‌توان بهینه‌سازی کالوس‌ها، تولید کالوس‌های رویان‌زا و تکثیر این گیاه در مقیاس کلان و به نحو دلخواه را امکان‌پذیر ساخت. در پژوهش حاضر جدا کشت‌های ریشه، محور زیر لپه، برگ لپه‌ای، محور روی لپه، تک‌گره و برگ‌ها که از دانه رست‌های سترون در محیط کشت پایه موراشیگ اسکوگ ایجاد شده بودند، مورد استفاده قرار گرفتند. جدا کشت‌ها را به قطعات ۴ تا ۷ میلی متری تقسیم و در تیمارهای مختلف به همراه غلظت‌ها و نسبت‌های متفاوتی از هورمون‌ها کشت شدند. نتایج حاصل نشان داد جدا کشت‌های ریشه‌ای و ساقه‌ای، در محیط پایه موراشیگ اسکوگ همراه (۵ میلی گرم بر لیتر بنزیل آمینو پورین و ۲ میلی گرم بر لیتر ایندول استیک اسید)، بعد از گذشت ۳ هفته در تاریکی کالوس زایی کردند و پس از تشکیل رویان‌نماها به مرحله رویان‌کروی رسیدند، با واکشت آنها در محیط کشت پایه موراشیگ اسکوگ فاقد هورمون بعد از گذشت ۲ هفته و در روشنایی، رویان‌های قلبی شکل تمایز یافتند. در واکشت دوم، رویان‌های قلبی شکل را به محیط کشت پایه موراشیگ اسکوگ محتوی (۲ میلی گرم بر لیتر ایندول استیک اسید و ۲ میلی گرم بر لیتر نفتالین استیک اسید)، منتقل گردید. بعد از گذشت ۳ هفته دیگر و در روشنایی، رویان‌های قلبی به رویان‌های اژدری تمایز یافتند. واکشت تعدادی از این نمونه‌ها در همان محیط کشت قلبی موجب تشکیل محورهای هوایی برگ دار شد و ریشه زایی نیز صورت گرفت.

کلمات کلیدی: ایندول استیک اسید، بنزیل آمینو پورین، رویان زایی پیکری، گوجه فرنگی، نفتالین استیک اسید

مقدمه

شبهه یک رویان زیگوتی است. از رویان زایی پیکری به عنوان یک مدل سیستمی برای مطالعه رویان زایی تخمی استفاده شده است. رویان زایی پیکری نظیر رویان زایی زیگوتی شامل مراحل ایجاد پیش رویان، رویان گویچه‌ای، رویان قلبی شکل، رویان اژدری و لپه‌ای می‌باشد، که از مسیری متفاوت نمو می‌یابند (بین اسپرم و تخم‌زا لقاح رخ نمی‌دهد) و در واقع تولید رویان‌های پیکری یک رویداد غیر جنسی است (Simola, 2000; Tarre, et al., 2004).

کشت بافت به ویژه رویان زایی پیکری از موارد زیست فناوری گیاهی است که می‌توان همواره با تغییر شرایط محیط کشت، غلظت‌های هورمونی متفاوت، تغییر شرایط فیزیکی و شیمیایی به بهینه‌سازی آن پرداخت. در این مسیر سلول‌ها، بافت‌ها و اندام‌های گیاهی در شرایط درون شیشه‌ای، رویان تولید می‌کنند. یک رویان پیکری از نظر فرایند رویان زایی

مواد و روش‌ها

بذرهای گیاه گوجه فرنگی *Lycopersicum (L.) var. Y, esculentum Mill* از شرکت بذر و نهال اصفهان تهیه شدند. زیر دستگاه لامینار بذرها به مدت ۱ دقیقه در اتانول ۷۰ درصد و سپس ۲۰ دقیقه در هیپوکلیت سدیم ۳۰ درصد به همراه ۱ قطره توئین ۲۰ قرار گرفتند و پس از آن با آب مقطر استریل ۳ بار شستشو شدند. از کاغذ صافی استریل برای خشک کردن بذرها استفاده شد. پس از سترون سازی، بذرها بر روی محیط کشت پایه موراشیگ اسکوگ (Murashig- Skoog, 1962) بدون هورمون در شرایط نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و دمای ۲۴ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد کشت شدند.

بذرها پس از ۱۲ روز جوانه زدند و با گذشت ۳۰ روز از رویش بذرها، دانه رست‌های سترون تشکیل شدند. از دانه رست‌ها برای تهیه جدا کشت‌ها استفاده شد. زیر دستگاه لامینار جدا کشت‌های ریشه ای، محور زیر لپه، برگ لپه ای، ساقه ای، برگ و تک گره به قطعات ۴ تا ۷ میلی متری تقسیم شدند. محیط کشت پایه موراشیگ اسکوگ را برای القا، بلوغ و جوانه زنی رویان‌های پیکری آماده کردیم. جدا کشت‌ها در محیط پایه موراشیگ اسکوگ محتوی غلظت‌های هورمونی ۵ میلی گرم بر لیتر بنزیل آمینو پورین و ۲ میلی گرم بر لیتر ایندول استیک اسید در دمای ۲۴ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد، در شرایط تاریکی برای القای رویان زایی نگهداری شدند.

واکشت اول نمونه‌ها پس از مدت ۳ هفته در محیط کشت پایه موراشیگ اسکوگ فاقد هورمون به همراه غلظت‌های ۳۰ و ۴۰ گرم بر لیتر ساکارز و واکشت دوم نمونه‌ها (رویانه‌های حاصل) پس از ۲ هفته دیگر نیز در محیط کشت پایه موراشیگ اسکوگ محتوی غلظت‌های هورمونی ۲ میلی گرم بر لیتر ایندول استیک اسید و ۲ میلی گرم بر لیتر نفتالین استیک اسید انجام شد. برای اطمینان از رویان‌زا بودن کالوس‌ها، تعدادی از کالوس‌های رویان‌زا را با فیکساتور FAA (فرمالدئید ۳٪، اتانول ۸۰٪ و استیک اسید خالص به نسبت‌های ۲، ۱۷، ۰/۵ میلی لیتر) برای مدت سه ساعت و نیم

مطالعه درباره رویان زایی پیکری جنبه‌های علمی و کاربردی زیادی دارد. بیشترین کاربرد آن در تکثیر رویشی گیاهان در مقیاس کلان می‌باشد. در برخی از موارد رویان زایی پیکری در مقایسه با سایر روش‌های تکثیر غیر جنسی برتری دارد، زیرا امکان تکثیر انبوه گیاهان را با استفاده از بیوراکتورها را فراهم می‌کند. برای القای رویان‌های پیکری از سلول‌های گیاهی در طی رویان زایی باید ژن‌های خاصی در زمان و مکان مناسب در گیاه بیان شوند (Karkonen, 2001). در اغلب موارد رویان‌های پیکری یا کشت‌های رویانی قابلیت ذخیره شدن را دارند که به این ترتیب امکان ایجاد یک بانک ژنی برای گیاهان میسر می‌شود. کشت‌های رویانی، هدف مناسب و قابل توجهی برای ایجاد و مطالعه تغییرات ژنتیکی می‌باشند (Von Arnold et al., 2002).

گیاه گوجه فرنگی یکی از مهم ترین و پر مصرف ترین سبزی‌ها و محصولات میوه ای کشاورزی در جهان است که از نظر تأمین مواد غذایی مورد توجه می‌باشد (Maynard et al., 198; Kinet et al., 1997; Fei et al., 2004; Fei et al., 2006).

گوجه فرنگی به عنوان یک میوه ضد سرطان به خصوص سرطان ریه، معده و پروستات شناخته شده است. لیکوپن موجود در گوجه فرنگی یک آنتی آکسیدان قوی می‌باشد که خطر ابتلا به سرطان را کاهش می‌دهد و عامل مؤثری در جلوگیری از آپاندیس حاد محسوب می‌شود (Sies & Stahl, 1998; Stacewicz et al., 2005; Giovannucci, 1999; Sarwarkhan et al., 2006; Daigny et al., 1996). با توجه به اهمیت تغذیه ای، خواص آنتی اکسیدانی و ضدتوموری گوجه فرنگی، پژوهش حاضر با اهداف زیر تدوین و اجرا شده است:

- ۱- بهینه سازی شرایط کشت در شیشه گیاه گوجه فرنگی
- ۲- القای کالوس، تولید کالوس‌های رویان‌زا و رویان‌های پیکری گیاه گوجه فرنگی و فراهم آوردن زمینه تولید بذر مصنوعی آن.

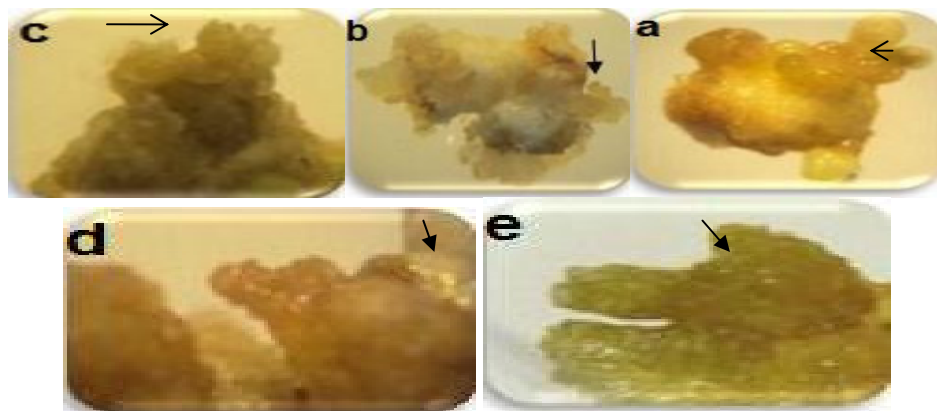
محیط کشت پایه موراشیگ اسکوگ با هورمون‌های (۵) میلی گرم بر لیتر بنزیل آمینو پورین و ۲ میلی گرم بر لیتر ایندول استیک اسید) تشکیل کالوس‌های رویان‌زا و میزان رشد کالوس‌ها را افزایش داد.

۳ هفته پس از تشکیل کالوس‌ها، در واگشت اول اجتماعات سلولی تشکیل و به رویان‌های کروی تبدیل شدند (شکل 1a). با انتقال رویان‌های کروی به محیط کشت پایه موراشیگ اسکوگ فاقد هورمون با مقادیر مختلف ساکارز (۳۰ و ۴۰ گرم بر لیتر) مراحل نمو رویانی طی شد. با گذشت ۲ هفته دیگر در روشنایی، رویان‌های کروی به رویان قلبی شکل تمایز یافتند (شکل 1b,c) در واگشت دوم، رویان‌های قلبی شکل به محیط کشت پایه موراشیگ اسکوگ محتوی (۲) میلی گرم بر لیتر ایندول استیک اسید و ۲ میلی گرم بر لیتر نفتالین استیک اسید) منتقل شدند. بعد از گذشت ۳ هفته دیگر در روشنایی، رویان‌های قلبی به رویان اژدری تمایز یافتند (شکل 1 d,e) در واگشت سوم، محیط کشت پایه موراشیگ اسکوگ محتوی (۲) میلی گرم بر لیتر ایندول استیک اسید و ۲ میلی گرم بر لیتر نفتالین استیک اسید)، پس از ۳ هفته محورهای هوایی برگ دار تشکیل شدند و ریشه‌زایی نیز صورت گرفت (شکل 1 f,g). به منظور اطمینان از رویان‌زا بودن کالوس‌ها به ترتیبی که در بخش مواد و روش‌ها توضیح داده شد از آنها برش‌های میکروتومی تهیه گردید. در این برش‌ها مراحل رویان‌کروی (شکل 2a,b)، رویان قلبی (شکل 2c,d)، رویان اژدری (شکل 2 e,f,g) دیده شد.

تثبیت کردیم. پس از گذراندن مراحل آبگیری با درجات رو به افزایش اتانول، اشباع سازی از تولوئن به عنوان حلال پارافین و سپس پارافین، نمونه‌ها در پارافین قالب گیری شدند و از آنها برش‌های میکروتومی تهیه شد. رنگ آمیزی برش‌ها به وسیله هماتوکسیلین - ائوزین انجام شد و پس از مشاهده میکروسکوپی برش‌ها، از نمونه‌های مناسب عکسبرداری گردید.

نتایج

۳ هفته پس از کشت، نتایج حاصل از کالوس نهایی جداکشت‌های ریشه‌ای، محور زیر لپه، برگ لپه‌ای، محور روی لپه، تک گره و برگ در محیط کشت پایه موراشیگ اسکوگ محتوی هورمون‌های (۵) میلی گرم بر لیتر بنزیل آمینو پورین و ۲ میلی گرم بر لیتر ایندول استیک اسید) مورد ارزشیابی قرار گرفتند. جداکشت‌های ساقه‌ای و ریشه‌ای، کالوس‌های کرم رنگ و متراکمی را تولید کردند. جداکشت‌های تک گره و محور زیر لپه کالزایی متوسط و جداکشت‌های برگ لپه‌ای کالزایی کمتری داشتند. در نمونه‌های شاهد (محیط‌های بدون هورمون) تغییری مشاهده نشد. طی ۳ هفته کالوس‌ها در تاریکی پس از تشکیل رویان‌ها به مرحله رویان‌کروی رسیدند. بیشترین درصد کالزایی و بیشترین درصد تشکیل رویان‌کروی از جداکشت‌های ریشه‌ای و ساقه‌ای و در محیط کشت پایه موراشیگ اسکوگ دارای (۵) میلی گرم بر لیتر بنزیل آمینو پورین و ۲ میلی گرم بر لیتر ایندول استیک اسید) مشاهده شد (شکل 1 a).





شکل ۱: مراحل متفاوت رویان زایی از جداگشت‌های ساقه ای و ریشه ای در محیط کشت پایه موراشیگ اسکوگ

a- رویان‌های کروی حاصل از جداگشت ساقه ای (۵ میلی گرم بر لیتر بنزیل آمینو پورین و ۲ میلی گرم بر لیتر ایندول استیک اسید)

b- رویان‌های قلبی تشکیل شده بر روی کالوس رویان زا در محیط کشت پایه موراشیگ اسکوگ فاقد هورمون

c- رویان قلبی حاصل از جداگشت ریشه ای در محیط کشت پایه موراشیگ اسکوگ فاقد هورمون

d- رویان اژدری حاصل از جداگشت ریشه ای در محیط کشت پایه موراشیگ اسکوگ محتوی (۲ میلی گرم بر لیتر ایندول استیک اسید و ۲ میلی

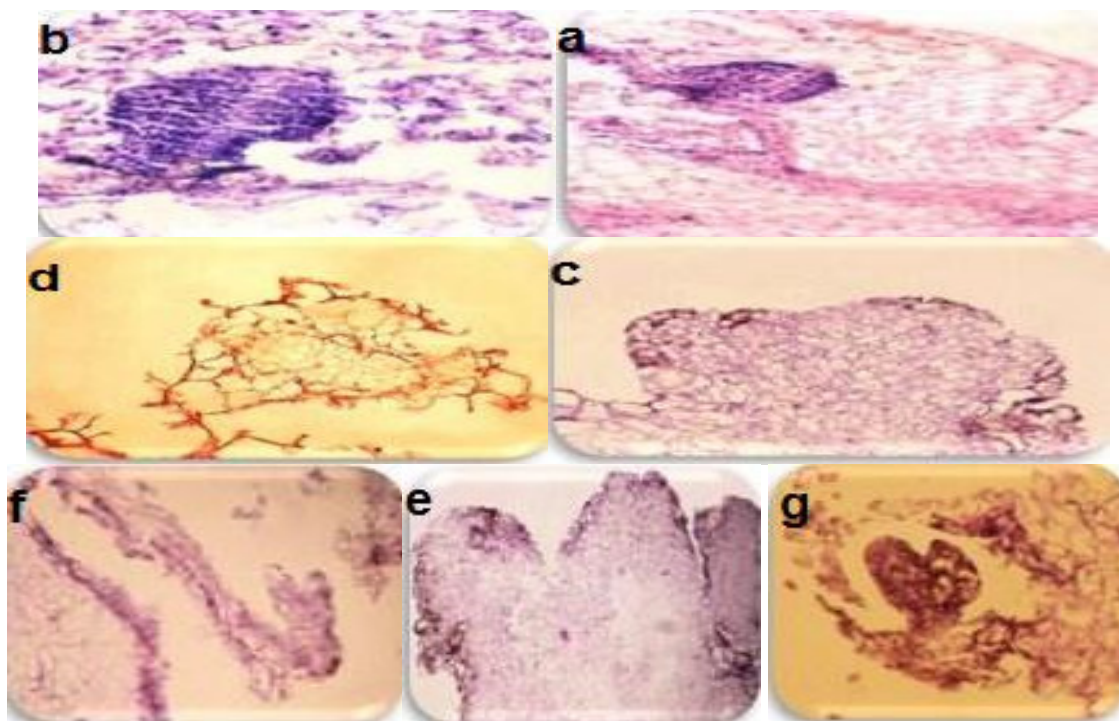
گرم بر لیتر نفتالین استیک اسید)

e- رویان اژدری حاصل از جداگشت ساقه ای در محیط کشت پایه موراشیگ اسکوگ محتوی (۲ میلی گرم بر لیتر ایندول استیک اسید و ۲ میلی

گرم بر لیتر نفتالین استیک اسید)

f- تشکیل اندام ریشه و ساقه برگ دار از رویان پیکری

g- ریشه زایی القا شده به وسیله اکسین‌ها در رویان پیکری



شکل ۲: برش‌های میکروتومی از کالوس‌های رویان زا و نمایش مراحل متفاوت رویانی در آنها.

a, b- برش میکروتومی از رویان‌های کروی (گویچه ای) حاصل از جداگشت ساقه. $\times 10$

c, d- رویان قلبی حاصل از جداگشت ریشه ای $\times 20$

e, f, g- رویان اژدری حاصل از جداگشت ساقه ای $\times 20$

بحث

نتایج با گزارش‌های AzadMandal و Gupta (۲۰۰۲)؛ Sandhya و همکاران (۲۰۰۴)؛ Daigny (۱۹۹۶)؛ Onay (۱۹۹۵) و Sharry و Teixeira (۲۰۰۶) همسویی دارد. اثر اکسین در القای رویان‌های پیکری و ریشه دار شدن رویان‌ها در بسیاری از گونه‌های گیاهی گزارش شده است (Chen & Zimmerman, 1993; Uddin & Berry, 1988)؛ (Bernard et al., 2007; Jayasree et al., 2001). در آزمایش‌های پژوهش حاضر نیز استفاده هم‌زمان از ایندول استیک اسید و نفتالین استیک اسید موجب القای ریشه‌زایی رویان‌ها شد.

نتیجه‌گیری نهایی

تفاوت در توان کالزایی جداگشت‌ها می‌تواند مربوط به تفاوت فعالیت‌های متابولیکی و مقدار هورمون‌های درون‌زا باشد. تیمار با اکسین برون‌زا شاید بتواند به عنوان یک وضعیت تنش‌زا توسط بافت‌ها تلقی شود و روند تقسیمات معمولی را به سوی رویان‌زایی متحول سازد. مشاهدات عمومی نشان می‌دهد که برای القاء و افزایش رویان‌زایی پیکری وجود یک اکسین ضروری است. هورمون‌های ایندول استیک اسید و بنزیل آمینو پورین، در غلظت‌های متفاوت بر کالوس‌زایی اثر القایی مثبتی داشتند و موجب القای تشکیل کالوس‌های رویان‌زا در گیاه گوجه‌فرنگی شدند. افزایش غلظت ساکارز در محیط کشت می‌تواند توان رویان‌زایی را افزایش دهد و کاربرد توأم اکسین‌ها بر ریشه‌زایی رویان‌ها اثر القایی مثبت دارد.

References

- Azad Mandal, A. and Gupta, S., (2002). Direct somatic embryogenesis of safflower—a scanning electron microscopic study. *Current Science*, vol. 83, 1140:1138-1139
- Bernard, f., Shaker Bazarnov, H., Javadi Khatab, L., Shafiei Darabi, A., Sheidai, M., (2007). *Ferula gummosa* Boiss. embryogenic culture and karyological changes. *Pakistan Journal of Biological sciences*, 10(12):1977-1983
- Bhatia, P., Ashwath, N., Senaratna, T., Midmore, D., (2004). Tissue culture studies of tomato (*Lycopersicon esculentum*). *Plant Cell Tissue Organ Culture*. 78:1-21.

نتایج نشان می‌دهند که جداگشت‌های مختلف برای تولید کالوس‌های رویان‌زا توانایی یکسانی ندارند. این نتایج با گزارش‌های (Cardi et al., 1993; Zapata et al., 1981) همسویی دارند. دلیل این مطلب تفاوت سن سلول‌ها در جداگشت‌ها، ذخایر و مقدار هورمون‌های درون‌زا باشد. هورمون‌های ایندول استیک اسید و بنزیل آمینو پورین، در غلظت‌های متفاوت برای تمامی جداگشت‌ها بر کالوس‌زایی اثر القایی مثبتی داشتند و حضور آنها می‌تواند موجب القای تشکیل کالوس‌های رویان‌زا در گیاه گوجه‌فرنگی گردد. این نتایج با گزارش‌های (Chaudhry et al., 2010) که غلظت و نوع هورمون‌ها را برای کالزایی مؤثر دانسته‌اند هم‌سو می‌دارند. محققان از جمله Gill و همکاران (۱۹۹۵) بر روی دو واریته مختلف گوجه‌فرنگی پژوهشی انجام دادند و با استفاده از محیط کشت پایه موراشیگ اسکوگ محتوی ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر بنزیل آمینو پورین، به مدت ۶ هفته، رویان‌های پیکری را تولید کردند. پس از آن Philip و همکاران (۱۹۹۶) با کشت جداگشت‌هایی از بخش هیپوکتیل چهار واریته مختلف گوجه‌فرنگی در محیط کشت پایه موراشیگ اسکوگ محتوی ۶ میلی‌گرم بر لیتر بنزیل آمینو پورین، توانستند رویان‌های پیکری تولید کنند. در گیاه گوجه‌فرنگی هورمون بنزیل آمینو پورین یک تنظیم‌کننده رشد مهم و ضروری برای تشکیل رویان‌های پیکری می‌باشد (Chen & Adachi, 1994; Gill et al., 1995; Sandhya et al., 2004; Rzepka et al., 2007). نتایج آزمایش‌های پژوهش حاضر نیز نقش مثبت بنزیل آمینو پورین، در تشکیل کالوس‌های رویان‌زا و رویان‌های پیکری را نشان داد و با گزارش‌های پژوهشگران مذکور همسویی دارد. رشد کالوس و رویان‌زایی پیکری تا حدی تحت تأثیر مقادیر مختلف ساکارز بود. با افزایش مقدار ساکارز از ۳۰ به ۴۰ گرم در لیتر محیط کشت، تعداد رویان قلبی افزایش یافت.

- Kinet, J. M., and Peet, M.m., (1997).** Tomato. In.H.C.Wien. the physiology of vegetable crops. cab Inter national. pp.207-258.
- Maynard, D. N., and Lorenz, O.A., and Knott, J.E. (1980).** Knott's Handbook for Vegetable Growers. John Wiley and Some Inc. USA. 460p.
- Murashinge, T., and Skoog, F., (1962).** A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Plant Physiol. 15:pp. 473-497.
- Onay, A., Jeffree, C.E., Yeoman, M., (1995).** Somatic embryogenesis in cultured immature kernels of Pistachio, *Pistacia vera* L. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 15: 192-195.
- Philip, O. Newman, S., and Praveen, 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(5): 554-560.
- Ruf, S., Hermann, M., Berfr, I.J., Carrer, H., and Bock, R., (2001).** Stable genetic transformation of tomato plastids and expression of foreign protein in fruit. Nature Biotech., 19: 870-875.
- Rzepka-Plevnes, D., Kulpa, D., Kurek, J., (2007).** Somatic embryogenesis in callus cultures of tomato *Lycopersicon peruvianum* (L.) mill., Zeszyty Problemowe Postepow Naukrolniczych, 523: 185-193.
- Sandhya, A., Kamlesh, K., Sharma, D.R., (2004).** Factors affecting secondary somatic embryogenesis and embryo maturation in *Morus alba* L. Scientia Horticulturae, 102: 359-368.
- Sarwarkhan, M., Usman, M., Lilla, M., (2006).** Facile plant regeneration from tomato leaves induced with spectinomycin. Pak. J. Bot., 38(4): 947-952.
- Sharry, K., and Teixeira, G. (2006).** Effective Organogenesis, Somatic Embryogenesis and Salt Tolerance Induction *In Vitro* in the Persian Lilac Tree (*Melia azedarach* L.). Plant Biotechnology, Plant Biotechnology, Volume II, Global Science Books, 324:319-320.
- Sies, H., Stahl, W. (1998).** Lycopene: antioxidant and biological effects and its bioavailability in the human. Proc. Exp. Biol. Med, 218: 121-124.
- Cardi, T., Iannamico, V., Anbrosio, FD., Filippore, E., and Lurpin, PF., (1993).** *In vitro* regeneration and cytological characterisation of shoots from leaf explants of three accessions of *Solanum commersoni*. Plant Cell Tissue Organ Culture. 34: 107-114.
- Chaudhry, (2010).** Tissue culture studies in tomato (*Lycopersicon esculentum*) var. moneymaker. Pak. J. Bot., 42(1): 155-163.
- Chen, LZ. and Adachi, T., (1994).** Plant regeneration via somatic embryogenesis from cotyledon protoplasts of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill). Breed. Sci. 44: 337-338.
- Daigny, G., Paul, H., Sangwan, R.S., Sangwan-Narreel, B.S., (1996).** Factors influencing secondary somatic embryogenesis in *Malus x domestica* Borkh. Plant Cell Rep. 16, 153-157.
- Fei, Z., Tang, X., Alba, R., White, JA., Ronning, CM., Martin, GB., Tanksley, SD., and Giovannoni, JJ., (2004).** Comprehensive EST analysis of tomato and comparative genomics of fruit ripening. Plant Journal, Tissue Organ Culture, 40:47-59.
- Fei, Z., Tang, X., Alba, R., and Giovannoni J., (2006).** Tomato Expression Database (TED): a suite of data presentation and analysis tools. Nuc. Acids Res. 34: 766-770.
- GILL, R., Malik, A., Sanago, M.H.M., and Saxena P.K., (1995).** Somatic embryogenesis and plant regeneration from seedling cultures. Journal of plant physiology of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill). Journal of plant physiology 0176-1617, ISSN, vol. 147, pp. 273-276.
- Giovannucci, E., (1999).** Tomatoes, tomato-based products, lycopene and cancer: review of the epidemiological literature. J. Natl. Cancer Inst, 91: 317-331.
- JayaSree, T., Pavan, U., Ramesh, M., Rao, A.V., Jagan Mohan Reddy, K., & Sadanandam, A., (2001).** Somatic embryogenesis from leaf cultures of potato. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 64: 13-17.
- Karkonen, A., (2001).** Plant tissue culture as models for tree: somatic embryogenesis of *Tilia cordata* and lignin biosynthesis in *Picea abies* suspension cultures as case studies, division of plant physiology univer sity of Helsinki, 75:22-23.

- Von Arnold, S., Sabata, I., Bozhkov, P., Dyachok, J., and Filonova, L., (2002).** Development pathways of Somatic Embryogenesis. *Plant Cell Tissue and Organ Cult*, 69: 233-249.
- Yadav, NR., and Sticklen, MB. (1995).** Direct and efficient plant regeneration from leaf explants of *Solanum tuberosum* L. cv. Bintje. *Plant Cell. Tissue and Organ Culture*, 14: 645-647.
- Zapata, F.J., and Sink, K.C., (1981).** Somatic embryogenesis from *Lycopersicon peruvianum* leaf mesophyll protoplasts, *Journal Article*, Volume 59, Number 51, 523: 185-193.
- Zimmerman, K., (1993).** Somatic embryogenesis: a model for early development in higher plants, *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 5: 1411-1423.
- Simola, L., (2000).** Hrry Waris, apineer in somatic embryogenesis, In: Tain SM, Gupta PK, Newton KJ. *somatic embryogenesis in woody plants*.73: 61-6.
- Stacewicz, S., BowenPE, M., (2005).** Role of lycopene and tomato products in prostate health. *Biochim. Biophys. Acta*. 1740: 202-205.
- Tarre, E., Magioli, C., Margis-Pinheiro, M., Sachetto-Machetto- Martins, G., (2004).** In vitro somatic embryogenesis and adventitious root initiation have a common origin in (*Solanum melongena* L.) *Revista Brasil. Bot.*, V.27, p.79-84.
- Uddin, A., and Berry, D., (1988).** Investigations on the somatic embryogenesis in tomato. *Hort Science*, 23: 755-757.

**Study effects of some plant growth regulators on somatic
embryogenesis and its histological stages in tomato
(*Lycopersicum esculentum* L. var. Y)**

Majd, A., *Poor Mohammad Fatali, Sh., Mirzaei, M.

Department of Biology, faculty of science Islamic Azad University, North Tehran Branch

Abstract

Tomato is a plant of *Solanaceae* family with scientific name *Lycopersicum esculentum* Mill (L). var Y, Because of having vitamins and antioxidants, has nutritive and medical importance. With using plant biotechnology in tissue culture and somatic embryogenesis, the optimal callus production, and availability of embryogenesis calluses resulted in proliferation of this plant in large scale with desirable way, is possible. In current study, root, hypocotyle, cotyledon, epicotyle, nodes, and leaves explants that obtained from sterile seedlings in basic medium MS, were used. Explants were divided to 7-4 mm sections. Results indicated that root and stem in basic medium MS containing (5mg l⁻¹BAP +2 mg l⁻¹IAA), after 3 weeks in dark callus, with formation of embryonoids reached to globular embryo step. In basic medium MS without hormone, after 2 other weeks culture in light, subculture were differentiated to heart embryos. In second subculture, heart embryo transferred to basic medium MS containing 2mg l⁻¹NAA⁺² mg l⁻¹IAA, and after 3 weeks other culture in light, differentiated to torpedo embryos. Subculture of some samples in same medium resulted in forming of leaved. It appeared that increasing amount of auxin causes the roots are formed.

Key word: Somatic embryogenesis, Tomato; NAA-Napthelene acetic acid, BAP-6 benzyl amino purine, IAA-Indole acetic acid, MS-Murashige and Skoog