Archive of SID

اثر پیش تیمار 2,4-D و تنظیم کننده‌های رشد گیاهی بر باززایی گوجه *فرنگی* (*Solanum lycopersicum* L.)

آرزو عزیز خواجه و ابراهیم دورانی*

تبریز، دانشگاه تبریز، دانشکده کشاورزی، گروه به نژادی و بیوتکنولوژی گیاهی

تاریخ دریافت: ۹۵/۳/۱۸ تاریخ پذیرش: ۹۶/۳/۱۶

چکیده

به دلیل اهمیت و جایگاه گوجه *فرنگی* در رژیم غذایی انسان، یک سیستم باززایی درون شیشه‌ای تکرار پذیر برای تراریختی ژنتیکی با کاربرد تجاری در آن ضروری است. تقسیم فعال سلولی در زمان تلقیح بافتهای گیاهی با *آگروباکتریوم* در موفقیت تراریختی نقش بسیار تعیین کننده‌ای دارد. برای این منظور در این تحقیق اثر پیش تیمار یک اکسین قوی به همراه چند تیمار تنظیم کننده رشد گیاهی دیگر بر اندام‌زایی دو رقم زراعی گوجه *فرنگی* شامل گیلاسی و فلات ۱۱۱ مورد مطالعه قرار گرفت. ریزنمونه‌های کوتیلدون و هیپوکوتیل هفت روزه در محیط کشت پایه MS تکمیل شده با ۳ درصد ساکارز و ۰/۶ درصد آگار و غلظتهای مختلفی از IAA، NAA و BAP قرار داده شدند. پیش تیمار 2,4-D اثری بر باززایی نداشت و فقط منجر به تشکیل کالوس شد و پس از واکشت این کالوسها در محیط کشتهای حاوی تنظیم کننده‌های رشد گیاهی دیگر نیز باززایی مشاهده نشد. بالاترین درصد باززایی در رقم گیلاسی در محیط کشت حاوی BAP (۳ یا ۱/۵ میلی گرم بر لیتر) به اضافه ۰/۱ میلی گرم بر لیتر IAA مشاهده شد. بیشترین تعداد شاخساره تشکیل شده از کوتیلدونهای رقم گیلاسی در محیط کشت حاوی BAP (۳ یا ۱/۵ میلی گرم بر لیتر) به اضافه ۰/۱ میلی گرم بر لیتر IAA مشاهده شد. ریشه‌زایی شاخساره‌ها در محیط کشت حاوی ۲ میلی گرم بر لیتر IBA صورت گرفت.

واژه‌های کلیدی: باززایی، پیش تیمار 2,4-D، کشت بافت، گوجه *فرنگی*.

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۴۳۱۵۵۴۱۰، پست الکترونیکی: uliaie@yahoo.com

مقدمه

گوجه *فرنگی* (*Solanum lycopersicum L.*) دومین سبزی متداول در دنیا پس از سیب زمینی است؛ که در قرن اخیر محبوبیت استثنایی پیدا کرده و تقریباً در هر کشوری کشت می شود (۱). گوجه *فرنگی* به دلیل تعداد کروموزوم کم (2n=2x=24) و اطلاعات جامعی که در مورد ژنتیک آن وجود دارد، یک گیاه مناسب برای مطالعات آزمایشگاهی است (۶). تولید گوجه *فرنگی* تحت تأثیر تنشهای زیستی و غیر زیستی بسیاری است. از این رو نیاز است تکنیکهای مهندسی ژنتیک این گیاه در جهت تولید ارقام مقاوم به تنشهای زیستی و غیر زیستی توسعه یابند. به عنوان یک بخش اساسی در تولید گیاهان تراریخته، تهیه دستورالعملهای باززایی مؤثر گیاهان ضروری است (۲۷). القای کالوس و باززایی از ریزنمونه‌های مختلف در گوجه *فرنگی* گزارش شده و مشخص شده که کالوس‌زایی و باززایی در این گیاه بستگی به عوامل متعددی از قبیل ژنوتیپ، ریزنمونه، تنظیم کننده‌های رشد گیاهی و سن ریز نمونه دارد (۱۰). مطالعات فراوانی برای انتخاب بهترین ریزنمونه در گوجه *فرنگی* صورت گرفته است ولی نتایج حاصل از آنها بسیار متفاوت بوده‌اند. به عنوان مثال دوزیامان و همکاران (۱۹۹۴) (۸)، و جیانگ و همکاران (۲۰۰۳) (۱۳) برگ را به عنوان بهترین ریزنمونه معرفی کرده‌اند، در حالی که پلاستیرا و پردیکاریس (۱۹۹۷) (۲۰)،

www.SID.ir

Archive of SID

و منگ و همکاران (۱۹۹۸) (۱۷) باززایی خوبی از ریز نمونه‌های هیپوکوتیل به دست آورده‌اند. تنظیم کننده های رشد مختلفی در کشت درون شیشه‌ای *گوجه فرنگی* به کار گرفته شده‌اند، ولی IAA و BAP متداول‌ترین تنظیم کننده ها در کشت بافت *گوجه فرنگی* بوده‌اند و ترکیب این دو باززایی از ریزنمونه‌های *گوجه فرنگی* را بهبود بخشیده است (۲۱ و ۲۴). از بین سیتوکنینهای Zeatin، BAP و Kin که برای القای جوانه‌های نا به جا در *گوجه فرنگی* به کار گرفته شده اند، بالاترین درصد القای جوانه-های نا به جا و بیشترین تعداد جوانه‌ها مربوط به محیط کشتهای حاوی Zeatin و کمترین آنها مربوط به محیط کشتهای حاوی Kin بوده؛ در بین اکسینها نیز در محیط کشتهای حاوی IAA نسبت به محیط کشتهای حاوی IBA و NAA درصد القای جوانه‌های نا به جا و تعداد جوانه‌ها بیشتر بوده است(۳ و ۲۷).

باززایی در کشت بافت یا از طریق اندام‌زایی (القای شاخساره و ریشه) و یا از طریق جنین‌زایی سوماتیکی صورت می‌گیرد (۱۴). ترکیبات محیط کشت از قبیل آگار، نیترات نقره، غلظت تنظیم کننده‌های رشد و همچنین استفاده از پیش تیمار ریزنمونه‌ها با 2,4-D عوامل تعیین کننده در بازده باززایی گیاه و به تبع آن بازده تولید گیاهان تراریخته است (۲۶). به کارگیری برخی پیش تیمارها می-تواند فرآیند باززایی را تسریع یا بهبود بخشد. پیش تیمار ریزنمونه‌های برگ *کدو* (*Cucurbita pepo* L.) با Kin و *خربزه* (*Cucumis melo* L.) با 2,4-D موجب بهبود جنین-زایی سوماتیکی شده است (۱۵). پیش تیمار 2,4-D در کشت بافت *Panax ginseng* نیز موجب بهبود جنین‌زایی سوماتیکی مستقیم از ریزنمونه‌های TCL(Thin Cell Layer) ، بدون پیمودن مرحله کالوس‌زایی، شده و در *برنج* (*Oryza sativa* L.) موجب اندام‌زایی مستقیم شده است (۱۸).

هدف از این پژوهش بررسی اثر برخی از تنظیم کننده‌های رشد و پیش تیمار 2,4-D بر کالوس‌زایی و باززایی *گوجه فرنگی* ارقام گیلاسی و فلات ۱۱۱ می‌باشد.

مواد و روشها

این پژوهش در آزمایشگاه کشت بافت گروه به‌نژادی و بیوتکنولوژی گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز انجام شد. بذور *گوجه فرنگی* ارقام گیلاسی و فلات ۱۱۱ که از شرکت آذر سبزینه تبریز تهیه شدند، به دلیل عملکرد بالا و بازار پسندی در این آزمایش مورد استفاده قرار گرفتند. بذور در شرایط استریل زیر هود لامینار به مدت ۱۵ دقیقه با هیپوکلریت سدیم ۲/۵ درصد ضدعفونی شدند، سپس سه مرتبه و هر بار به مدت سه دقیقه با آب مقطر استریل شستشو داده شدند. بذور استریل برای جوانه‌زنی در شیشه‌های استریل حاوی ۳۵ میلی لیتر محیط کشت MS $\frac{1}{2}$ به تعداد ۱۵ بذر در هر شیشه کشت شدند. محیط کشت پایه حاوی نمکهای MS، ویتامینهای B5، ۳۰ گرم بر لیتر ساکارز و ۶ گرم بر لیتر آگار بود و pH آن قبل از اتوکلاو روی ۵/۷ تنظیم شده بود. کشتها در اتاق کشت تحت دمای ۲±۲۵ و فتوپریود ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی قرار گرفتند. پس از هفت روز از آنها برای تهیه ریزنمونه‌های استریل استفاده شد. ریزنمونه‌های کوتیلدون (به ابعاد تقریبی ۰/۵× ۰/۷ میلی متر) و هیپوکوتیل (به طول تقریبی ۱ سانتیمتر) از هر دو رقم تهیه و در تیمارهای یک هفته و دو هفته در محیط کشت MS تکمیل شده با ۲ میلی گرم بر لیتر 2,4-D قرار داده شدند و سپس در محیط کشت MS تکمیل شده با ترکیبی از تنظیم کننده های رشد گیاهی مختلف (جدول ۱) واکشت شدند. تیمار شاهد نیز با کشت ریزنمونه‌ها در محیطهای اندام زایی جدول یک فراهم گردید. برای هر تیمار سه تکرار و در هر تکرار شش ریزنمونه در یک پتری دیش در نظر گرفته شد.

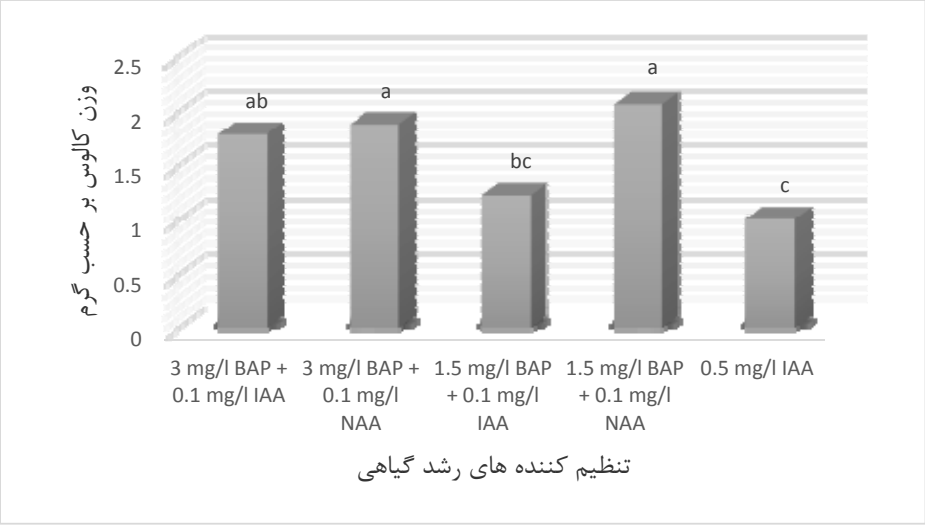
www.SID.ir

Archive of SID

کلیه کشتها پس از سه هفته واکشت شدند و بعد از شش هفته درصد باززایی، تعداد شاخساره به ازای هر ریزنمونه و وزن کالوسها یادداشت شد و داده‌ها پس از بررسی مفروضات، بر اساس آزمایش فاکتوریل با دو فاکتور ریزنمونه و تنظیم کننده رشد گیاهی بر پایه طرح بلوکهای کامل تصادفی با استفاده از نرم افزار SPSS تجزیه و تحلیل گردید و مقایسه میانگین به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد. به منظور ریشه‌زایی، شاخساره‌های تشکیل شده از ریزنمونه جدا و در محیط کشت MS تکمیل شده با ۲ میلی گرم بر لیتر IBA کشت شدند. پس از ۱۰ روز گیاهچه‌های ریشه‌دار شده به خاک منتقل شدند و پس از طی مراحل سازگاری به گلخانه انتقال یافتند. به‌منظور سازگار کردن گیاهچه‌ها، آنها در خاک استریل کشت شده و زیر یک پوشش پلاستیکی در اتاق رشد قرار گرفتند. به مرور زمان سوراخهایی در این پوشش پلاستیکی برای جریان یافتن هوا ایجاد شد و پس از ۱۰ روز پوشش پلاستیکی حذف شد. گیاهچه‌ها به مدت یک هفته دیگر در اتاق رشد نگهداری شدند سپس به گلخانه انتقال یافتند.

نتایج و بحث

در پژوهش حاضر، پیش تیمار ریزنمونه‌های کوتیلدون و هیپوکوتیل هر دو رقم *گوجه فرنگی* گیلاسی و فلات ۱۱۱ به مدت یک (شکل ۶ الف) و دو هفته (شکل ۶ ب) با 2,4-D و سپس واکشت آنها در محیط کشت MS تکمیل شده با تنظیم کننده‌های رشد گیاهی (جدول ۱)، منجر به کالوس‌زایی در ۱۰۰ درصد ریزنمونه‌های هر دو رقم شد و باززایی مشاهده نشد. نتایج تجزیه و تحلیلهای آماری مشخص کرد که وزن کالوسها در پیش تیمار با 2,4-D به مدت یک هفته متأثر از نوع تنظیم کننده‌های رشد گیاهی به کار گرفته شده در محیط کشت بعدی است و بیشترین وزن کالوس مربوط به محیط کشت تکمیل شده با ۳ میلی گرم بر لیتر BAP به اضافه۰/۱ میلی گرم بر لیتر NAA با میانگین ۱/۸۸۵۸ گرم، و محیط کشت تکمیل شده با ۱/۵ میلی گرم بر لیتر BAP به اضافه ۰/۱ میلی گرم بر لیتر NAA با میانگین ۲/۰۷۰۶ گرم بود (شکل ۱).



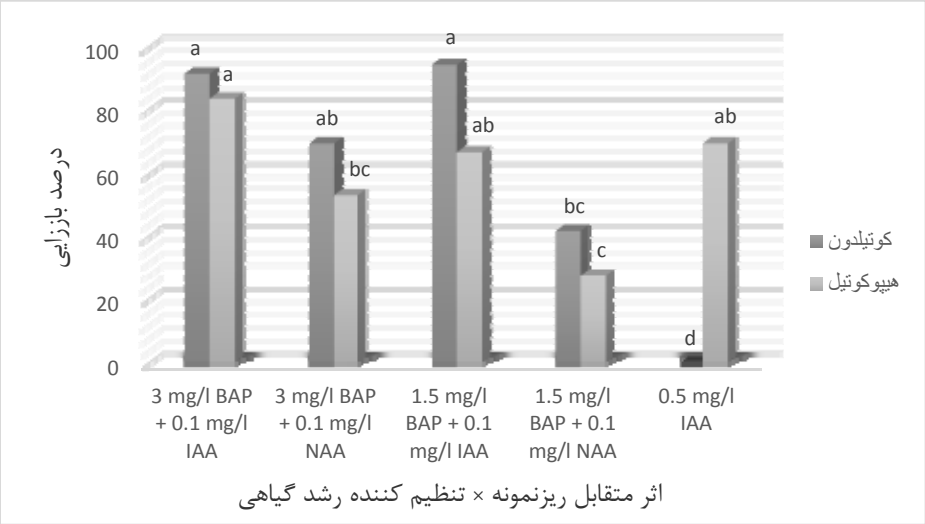
شکل ۱- میانگین اثر تنظیم کننده‌های رشد بر وزن کالوسهای حاصل از ریزنمونه‌هایی که ابتدا به مدت یک هفته با ۲ میلی گرم بر لیتر 2,4-D پیش تیمار شده و سپس در محیط کشت حاوی این تنظیم کننده-ها (جدول ۱) واکشت شده‌اند.

www.SID.ir

Archive of SID

در حالی که در پیش تیمار ریزنمونه‌ها با 2,4-D به مدت دو هفته و سپس واکشت آنها در محیط کشت MS تکمیل شده با تنظیم کننده‌های رشد گیاهی مختلف، وزن کالوسها تنها از نوع ریزنمونه متأثر شد و بیشترین وزن کالوس مربوط به ریزنمونه کوتیلدون با میانگین ۰/۴۴۳ گرم بود. میانگین وزن کالوسهای مربوط به ریزنمونه‌های هیپوکوتیل نیز ۰/۲۴۶ گرم بود. پیش تیمار مواد گیاهی با تنظیم کننده های رشد، موجب افزایش میزان باززایی در چندین گونه گیاهی شده است (۴ و ۲۸). برای مثال پیش تیمار ریزنمونه‌ها با 2,4-D در*برنج* موجب افزایش باززایی شده است (۱۸). طبق نظر چن و همکاران (۲۰۰۱)، اکسین تقسیم و توسعه سلولهای گیاهی را از طریق پروتئین متصل شونده به اکسین ABP1 تنظیم می‌کند (۷). ولی پیش تیمار 2,4-D بر باززایی *گوجه فرنگی* ارقام گیلاسی و فلات ۱۱۱ تأثیری نداشت.

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده های مربوط به کشتهای شاهد نشان داد که اثر رقم و اثر متقابل تنظیم کننده رشد گیاهی × ریزنمونه بر درصد باززایی معنی‌دار است. رقم گیلاسی با میانگین ۷۰ درصد نسبت به رقم فلات ۱۱۱ با میانگین ۴۹/۴۴۴ درصد، باززایی بهتری داشت و ریزنمونه‌های کوتیلدون و هیپوکوتیل کشت شده در محیط کشت MS حاوی ۳ میلی گرم بر لیتر BAP به اضافه ۰/۱ میلی گرم بر لیتر IAA، و ریزنمونه کوتیلدون کشت شده در محیط کشت MS تکمیل شده با ۱/۵ میلی گرم بر لیتر BAP و ۰/۱ میلی گرم بر لیتر IAA بیشترین درصد باززایی را داشتند(شکل۲).

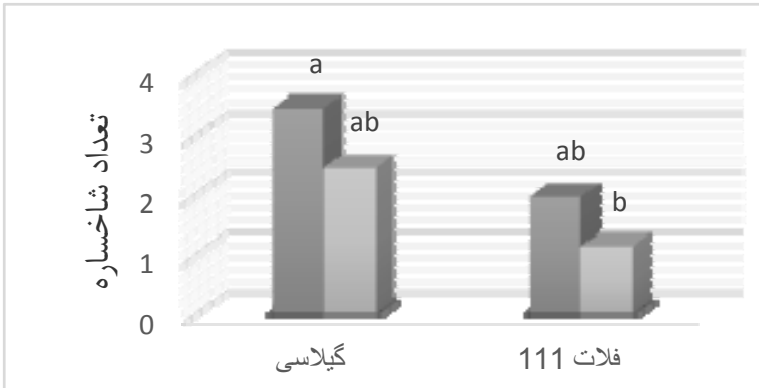


شکل ۲- میانگین اثر متقابل ریزنمونه × تنظیم کننده رشد گیاهی بر درصد باززایی

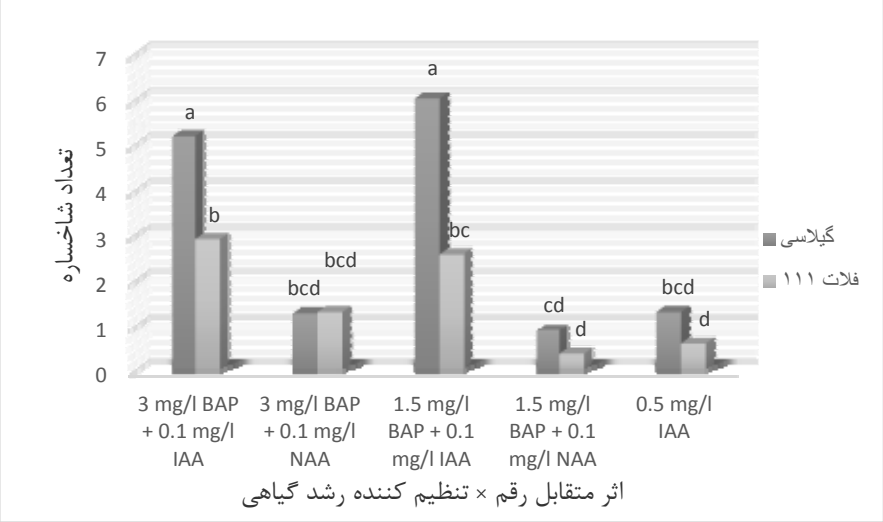
اثر رقم، ریزنمونه، تنظیم کننده رشد گیاهی و اثرات متقابل آنها بر صفت تعداد شاخساره به ازای هر ریزنمونه معنی‌دار بود (شکلهای ۳، ۴ و ۵) و مقایسه میانگینها به روش دانکن در سطح احتمال ۵ درصد نشان داد که بیشترین تعداد شاخساره باززا شده به ازای هر ریزنمونه مربوط به کوتیلدونهای رقم گیلاسی کشت شده در محیط کشت MS تکمیل شده با ۳ یا ۱/۵ میلی گرم بر لیتر BAP به اضافه ۰/۱ میلی گرم بر لیتر IAA است. (شکل ۶ پ). مطالعات پیشین نشان داده‌اند که IAA و BAP تنظیم کننده‌های رشد مناسبی در کشت بافت *گوجه فرنگی* هستند و ترکیب این دو می‌تواند باززایی از ریزنمونه‌های *گوجه فرنگی* را بهبود بخشد (۳ و ۲۷) که این مطلب با نتایج پژوهش حاضرمطابقت دارد.

www.SID.ir

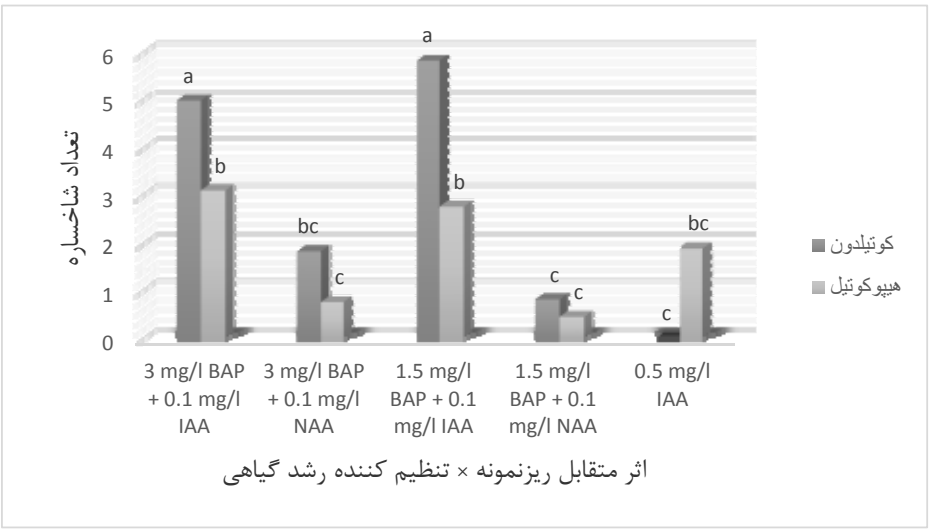
Archive of SID



شکل ۳- میانگین اثر متقابل رقم × ریزنمونه بر تعداد شاخساره تشکیل شده به ازای هر ریزنمونه



شکل ۴- میانگین اثر متقابل رقم × تنظیم کننده رشد گیاهی بر تعداد شاخساره تشکیل شده به ازای هر ریزنمونه



شکل ۵- میانگین اثر متقابل ریز نمونه × تنظیم کننده رشد گیاهی بر تعداد شاخساره تشکیل شده به ازای هر ریزنمونه

www.SID.ir

Archive of SID

معمولاً گیاهچه‌ها یا به طور مستقیم (۹) و یا پس از تشکیل کالوس اولیه (۱۲) از ریزنمونه، باززا می‌شوند. در این پژوهش باززایی در هر دو رقم (ارقام *گوجه فرنگی* گیلاسی و فلات ۱۱۱) و هر دو ریزنمونه (کوتیلدون و هیپوکوتیل) در محیط کشتهایی که با ترکیبی از یک اکسین (IAA یا NAA) و سیتوکنین (BAP) تکمیل شده بودند پس از طی مرحله کالوس‌زایی اولیه صورت گرفت. ولی در محیط کشتهایی که فقط دارای ۰/۵ میلی گرم بر لیتر IAA بودند، باززایی در ریزنمونه‌های هیپوکوتیل به طور مستقیم (بدون تشکیل کالوس) همراه با تولید ریشه مشاهده شد و ریزنمونه‌های کوتیلدون فقط تولید ریشه کردند (شکل ۶ ج). گزارشات قبلی حاکی از آن است که وجود IAA در محیط کشت *گوجه فرنگی* باعث ریشه‌زایی می‌گردد (۱۱، ۱۶ و ۲۳)، ولی در این پژوهش در حضور IAA علاوه بر ریشه‌هایی که در مراحل اولیه تشکیل شدند، شاخساره‌های زیادی پس از چند روز از ریزنمونه‌های هیپوکوتیل باززا شدند که قبلاً در جایی گزارش نشده بود. شاخساره‌های تشکیل شده در نهایت از ریزنمونه اصلی جدا شدند و پس از ریشه دار شدن در محیط ریشه‌زایی حاوی ۲ میلی گرم بر لیتر IBA (شکل ۶ د) به خاک منتقل شدند (شکل ۶ ه) تا پس از طی مراحل سازگاری در محیط بیرون کشت شوند.

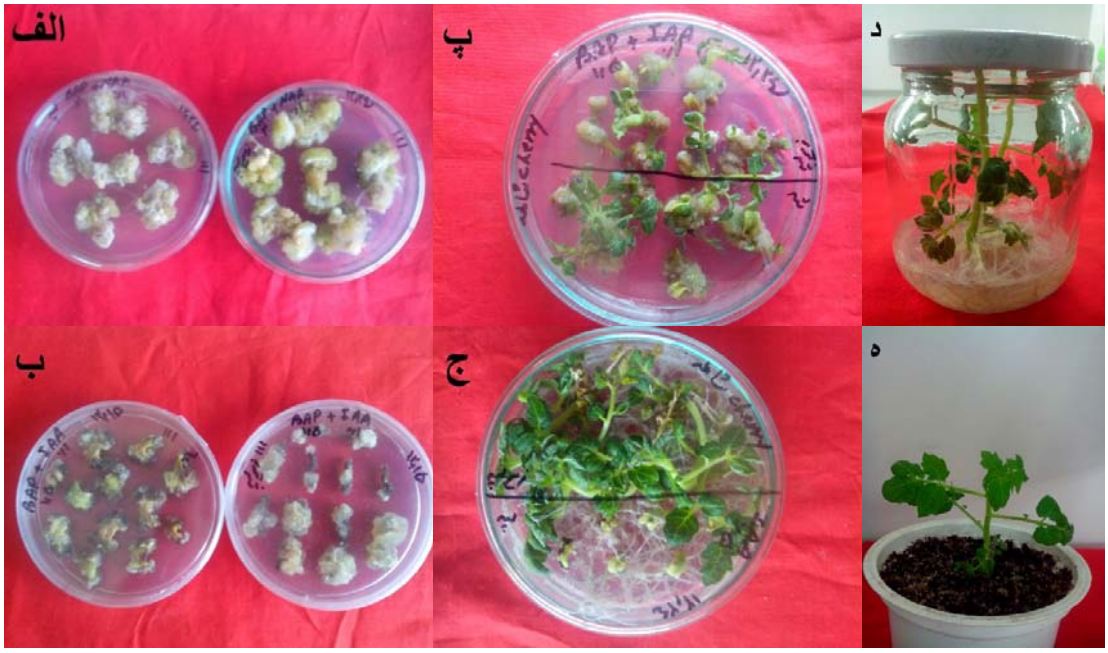
گوجه فرنگی دارای اهمیت غذایی و دارویی بالایی است و تنشهای زیستی و غیرزیستی متعددی تولید آن را تحت تأثیر قرار می‌دهد، از این رو آزمایشگاههای بسیاری در حال انجام تحقیقاتی برای دستورزی کیفیت مواد مغذی و تولید ارقام مقاوم به انواع تنشها از طریق تراریختی ژنتیکی هستند. همراه بودن یک سیستم باززایی و انتقال ژن موفق، در مطالعات پایه و کاربردی بسیار کمک کننده است. یک سیستم باززایی درون شیشه‌ای مطلوب برای تراریختی ژنتیکی مؤثر با کاربرد تجاری ضروری است (۲). گزارشاتی مبنی بر نقش مثبت پیش تیمار 2,4-D در افزایش میزان باززایی وجود دارد (۱۵ و ۱۸). بسیاری از ژنوتیپهای *گوجه فرنگی* پاسخهای منحصر به فردی نسبت به تنظیم کننده‌های رشد گیاهی در طول باززایی می‌دهند (۱۶). تغییر در مقدار و نوع تنظیم کننده‌های رشد گیاهی، درصد باززایی و تعداد شاخساره‌های تولید شده به ازای هر ریزنمونه را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۲۰). بعلاوه باززایی در ژنوتیپهای مختلف نیاز به ریزنمونه‌های خاصی دارد، این تفاوت‌ها قابل توارث هستند و می‌توانند به وسیله ژنهای سیتوپلاسمی و هسته‌ای کنترل شوند (۱۹). در این پژوهش اثر پیش تیمار 2,4-D و تنظیم کننده‌های رشد گیاهی بر باززایی دو رقم *گوجه فرنگی* گیلاسی و فلات ۱۱۱ مورد مطالعه قرار گرفت. پیش تیمار 2,4-D تأثیری بر باززایی نداشت و فقط منجر به کالوس‌زایی شد. عملکرد رقم گیلاسی نسبت به رقم فلات ۱۱۱ بهتر بود؛ به طوری که بیشترین درصد باززایی مربوط به کوتیلدونها و هیپوکوتیلهای رقم گیلاسی، و بیشترین تعداد شاخساره تشکیل شده مربوط به ریزنمونه‌های کوتیلدون رقم گیلاسی بود که در محیط کشتهای حاوی ۳ یا ۱/۵ میلی گرم بر لیتر BAP به اضافه ۰/۱ میلی گرم برلیتر IAA کشت شده بودند. گزارشهای مختلفی مبنی بر نقش مؤثر IBA در القای ریشه در ژنوتیپهای مختلف *گوجه فرنگی* وجود دارد (۵، ۲۲ و ۲۵) بنابراین برای ریشه‌دار کردن شاخساره‌های تشکیل شده از غلظت ۲ میلی گرم بر لیتر IBA استفاده شد.

جدول ۱- تنظیم کننده‌های رشد گیاهی به کار رفته در محیط کشت اندام‌زایی

شماره ترکیب	هورمون (mg/l)		
	BAP	IAA	NAA
۱	۳	۰/۱	۰
۲	۳	۰	۰/۱
۳	۱/۵	۰/۱	۰
۴	۱/۵	۰	۰/۱
۵	۰	۰/۵	۰

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۶- الف: کالوسهای حاصل از پیش تیمار 2,4-D به مدت یک هفته، ب: کالوسهای حاصل از پیش تیمار 2,4-D به مدت دو هفته، پ: باززایی از کوتیلدون و هیپوکوتیل گوجه *فرنگی* رقم گیلاسی در محیط کشت حاوی BAP و IAA، ج: باززایی از ریزنمونه‌های هیپوکوتیل و ریشه‌زایی ازریزنمونه‌های کوتیلدون در محیط کشت حاوی ۰/۵ میلی گرم بر لیتر IAA، د: ریشه‌زایی در محیط کشت دارای ۲ میلی گرم بر لیتر IBA، ه: انتقال گیاهچه‌های ریشه‌دار به خاک.

منابع

1- Abu-El-Heba, G.A., Hussein, G.M. and Abdalla, N.A. 2008. A rapid and efficient tomato regeneration and transformation system. Agric. For Res. 58: 103-110.

2- Bhatia, P., Ashwath, N. and Midmoe, D.J. 2005. Effects of genotype. Explant orientation, and wounding on shoot regeneration in tomato. *In Vitro* Cell Dev. Biol. Plant. 41: 457-464.

3- Bhatia, P., Nanjappa, A., Tissa, S. and David, M. 2004. Tissue Culture studies in tomato (*Lycoperiscon esculentum*). Plant Cell, Tiss. Org. Cult. 78: 1-21.

4- Burnett, L., Arnoldo, M., Yarrow, S. and Huang, B. 1994. Enhancement of shoot regeneration from cotyledon explants of *Brassica napus* ssp. *oleifera* through pretreatment with auxin and cytokinin and use of ethylene inhibitors. Plant Cell, Tiss.Org. Cult. 37: 253–256.

5- Chaudhry, S., Abbas, A., Ahmed, Y.H. and Anjum, M.A. 2010. Tissue culture studies in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) var. *Moneymaker*. Pakistan J. Bot. 42: 155-163.

6- Chaudhry, Z., Feroz, I., Ahmed, W., Rashid, H., Mizra, B. and Qureshi, A. 2001. Varietal response of *Lycopersicon esculentum* to callogenesis and regeneration. Online: J. Boil. Sci. 1: 1138-1140.

7- Chen, J.G., Shimomura, S., Sitbon, F., Sandberg, G. and Jones, A.M. 2001. The role of auxin binding protein 1 in the expansion of tobacco leaf cells. Plant J. 28: 607–617.

8- Düzyaman, E., Tanrisever, A. and Günver, G. 1994. Comparative studies on regeneration of different tissues of tomato *in vitro*. Acta Horti. 366: 235-242.

9- Dwivedi; K., Srivastava, P., Verma, H.N. and Chaturvedi, H.C. 1990. Direct regeneration of shoots from leaf segments of tomato (*Lycopersicon esculentum*) cultured *in vitro* and production of plants. Indian J. Exp. Biol. 28: 32–35.

10- Guillermo, P., Canepa, L.N., Zorzoli, R. and Picardi, L.A. 2003. Diallel analysis of *in vitro* culture traits in the genus Lycopersicon. Horti. Sci. 38: 110-112.

www.SID.ir

Archive of SID

11- Gunay, A.L. and Rao, P.S. 1980. *In vitro* propagation of hybrid tomato plants (*Lycopersicon esculentum* L.) using hypocotyl and cotyledon explants. Ann. Bot. 45: 205–207.

12- Jawahar, M., Mohamed, S.V. and Jayabalan, N. 1997. *In vitro* callus culture and plant regeneration from different explants of *Lycopersicon esculentum* Mill. J. Phytol. Res. 10: 75–78.

13- Jiang, Y.P. 2003. Studies on the establishment of tomato transgene system *in vitro* culture. Master thesis. Guangxi University. China.

14- Jimenez, V.M. 2001. Regulation of *in vitro* somatic embryogenesis with emphasis on the role of endogenous hormones. Rev. Bras. Fisiol. Veg. 13: 197-223.

15- Kintzios, S., Sereti, E.,·Bluchos, P., Drossopoulos, J.B., Kitsaki, C.K. and Liopa-Tsakalidis, A. 2002. Growth regulator pretreatment improves somatic embryogenesis from leaves of squash (*Cucurbita pepo* L.) and melon (*Cucumis mel*o L.). Plant Cell Rep. 21: 1-8.

16- Kurtz, S.M. and Lineberger, R.D. 1983. Genotypic differences in morphogenic capacity of cultured leaf explants of tomato. J. Am. Soc. Hort. Sci. 108: 710–714.

17- Meng, X.D., Zhang, W.H., Ma, H. and Liu, W.B. 1998. Study on technique of plant regeneration from tomato cotyledon and hypocotyl. Journal of Shandong Agric. Uni. 29:101-104.

18- Nhut, D.T., Van, K.T.T., VanLe, B. and Thrope, T.A. 2003. Thin cell layer culture system: regeneration and transformation applications. Springer Science and Business Media. pp. 517.

19- Ohki, S., Bigot, C. and Mousseau, J. 1978. Analysis of shoot forming capacity *in vitro* in two lines of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) and their hybrids. Plant Cell Physiol. 19: 27–42.

20- Plastira, V.A. and Perdikaris, A.K. 1997. Effect of genotype and explant type in regeneration frequency of tomato *in vitro*. Acta Horti.447: 231–234..

21- Rashid, R., Bhat, J.A., Bhat, Z.A., Dar, W.A. and Shafi, W. 2012. Calluse formation and organogenesis of tomato (*Solanum lycopersicum* L.). Vegetos. 25: 243-248.

22- Sakthivel, S. and Manigandan, V. 2011. Tissue culture studies in tomato (*Lycopersicon esculentum* PKM-1) from cotyledonary leaf explants. Int. J. Chem. Pharm. Sci. 2: 22-25.

23- Selvi, D.T. and Khader, M.A. 1993. *In vitro* morphogenetic capacity of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) var. *PKM1*. South Indian Hort. 41: 251–258.

24- Sherkar, H.D. and Chavan, A.M. 2014. Studies on calluse induction and shoot regeneration in tomato. Sci. Res. Rep. 4: 89-93.

25- Vikram, G., Kairamkonda, M., Kagithoju, S., Mangamoori, L. and Swamy, N.R. 2011. Effect of plant growth regulators on *in vitro* organogenesis in cultivated tomato (*Solanum lycopersicum* L.). J. Res. Bio. 1: 263-268.

26- Wang, H., Tsang, E., MeNeil, J., Hannam, C., Brown, D. and Miki, B. 2003. Expression of *cry1Ac* and GUS in cabbage and cauliflower. Acta Horti. 625: 464-475.

27- Wang, L., Tang, Y., Li, X.M., Li, J., Ma, C. and Li, H.X. 2011. A review on tomato regeneration. J Agric. Sci. Tech. B1: 163-167.

28- Yancheva, S.D., Golubowicz, S., Fisher. E., Lev-Yadun, S. and Flaishman, M.A. 2003. Auxin type and timing of application determine the activation of the developmental program during *in vitro* organogenesis in apple. Plant Sci. 165: 299–309.

www.SID.ir

Archive of SID

The effects of 2,4-D pretreatment and plant growth regulators on *tomato* (*Solanum lycopersicum* L.) regeneration

Aziz Khajeh A. and Dorani E.

Plant Breeding and Biotechnology Dept., Agriculture Faculty, Tabriz University, Tabriz, I.R. of Iran

Abstract

Because of the importance of *tomato* in the human diet, a reproducible *in vitro* regeneration system with commercial applications is necessary for its genetic transformation. Active cellular division at the time of inoculation of plant tissues by *Agrobacterium*, has a crucial role in plant transformation efficiency. To achieving this purpose, the effects of an auxin pretreatment, flowed with other plant growth regulator treatments on *tomato* organogenesis was investigated. Cotyledon and hypocotyl explants were prepared from seven day seedlings and were placed on MS medium supplemented with 3% sucrose and 0.6% agar and different concentrations of IAA, NAA and BAP. Pretreatment of explants with 2,4-D had no effect on plant regeneration; but lead to callus formation. Calli didn't produce shoot in other mediums. The highest percentage of regeneration was observed in Cherry cultivar in mediums containing BAP (3 or 1.5 mg/l) + 0.1 mg/l IAA. The highest shoot formation was noted in cotyledon explants of Cherry *tomato* in MS mediums supplemented with 3 or 1.5 mg/l BAP + 0.1 mg/l IAA. Rooting of shoots was done in medium containing 2 mg/l IBA.

Key words: regeneration, tissue culture, *tomato*, 2,4-D pretreatment.

www.SID.ir