مجله ایمنی زیستی

دوره ۱۶، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۲

ISSN 2716-9804 الکترونیکی، ISSN 2717-0632 چاپی

نوساقه‌زایی درون‌شیشه‌ای از ریزنمونه لپه‌ای در گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum* L.)

نوع مقاله: پژوهشی

فاطمه قانعی استلخی[۱#]، شیرین روزبهانی[۱#]، راحله کریمی آشتیانی[۲*]

۱- کارشناسی ارشد، گروه بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

۲- استادیار گروه بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

به یک اندازه در تدوین مقاله مشارکت داشته‌اند.

r.karimi@modares.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۱/۲۲، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۲/۱۹

صفحه ۱۶-۱

چکیده

گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum* L.) گیاهی چندساله و خودگشن از خانواده بادنجانیان است. به دلیل مصرف فراوان و اهمیت آن به‌عنوان یک گیاه مدل، نیاز به تولید این گیاه رو به افزایش است. از اینرو، رویکردهای مهندسی ژنتیک و ویرایش ژنومی می‌تواند در جهت تولید بیشتر و کارآمد گوجه‌فرنگی توام با حفظ ویژگی‌های مطلوب آن کارآمد باشد. داشتن دستورالعمل بهینه انتقال ژن و باززایی در گیاهان جهت انجام موفقیت‌آمیز ویرایش ژنومی اجتناب‌ناپذیر است. در این پژوهش، اثر تنظیم‌کننده‌های رشد سیتوکینین BAP و Zeatin در ترکیب با تنظیم‌کننده‌ی رشد اکسین IAA و ویتامین‌های محیط کشت B5 و MS در محیط کشت پایه MS بر روی باززایی نوساقه در رقم Micro-Tom گوجه‌فرنگی بررسی شد. نتایج نشان داد که تیمار T4 شامل ترکیب هورمونی Zeatin (2 mgL^{-1}) + IAA (0.1 mgL^{-1}) و ویتامین‌های B5 برای صفت القاء نوساقه با میانگین ۶/۵۴ موثرترین تیمار مورد استفاده در باززایی رقم Micro-Tom گوجه‌فرنگی بود. نتایج به‌دست آمده از این پژوهش می‌تواند زمینه را برای بهبود کارایی انتقال ژن در مطالعات ژنومیک عملکردی این رقم گوجه‌فرنگی فراهم سازد.

واژه‌های کلیدی: Micro-Tom، تنظیم‌کننده‌های رشد سیتوکینین، القا نوساقه، انتقال ژن، کشت بافت.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2024-11-21]

مقدمه

خانواده بادنجانیان (سیب‌زمینیان یا *سولاناسه*) (*Solanaceae*) خانواده‌ای از گیاهان گلدار شامل ۹۸ جنس و حدود ۲۷۰۰ گونه است که پراکندگی جهانی دارد و بیشترین تنوع گونه‌های آن در آمریکای جنوبی و مرکزی یافت می‌شود (Lee. 2006; Olmstead and Bohs, 2006; Motti. 2021). بادنجانیان شامل طیف وسیعی از گیاهان یک ساله، چند ساله، درختچه‌ها و درختان هستند و گونه‌های مختلف آنها در تمام مناطق معتدل و برخی مناطق گرمسیری وجود دارند که به تنوع مورفولوژیکی و اکولوژیکی آنها نسبت داده می‌شود. از نظر اقتصادی مهمترین جنس این خانواده *Solanum* است که شامل گونه‌هایی چون گوجه‌فرنگی (*S. lycopersicum*)، سیب‌زمینی (*S. tuberosum*) و بادمجان (*S. melongena*) است. یکی دیگر از جنس‌های مهم این خانواده *Capsicum* است که هم فلفل چیلی و هم فلفل دلمه‌ای در این جنس قرار دارند (Motti. 2021).

گوجه‌فرنگی گیاهی چندساله است اما به صورت یکساله کشت می‌شود. این گیاه دولپه، خودگشن و دیپلوئید با 2n=2x=24 کروموزوم بوده و ژنوم آن به‌طور کامل توالی‌یابی شده است (Sato et al. 2012; Su et al. 2021). گوجه‌فرنگی دارای مواد مغذی مهمی مانند لیکوپن، بتاکاروتن، فلاونوئیدها، ویتامین C و مشتقات هیدروکسی سینامیک اسید است و به همین دلیل ارزش غذایی زیادی در رژیم غذایی انسان دارد. علاوه‌بر این، با کشف فعالیت‌های ضد اکسیداتیو لیکوپن و عملکردهای ضد سرطانی، در سال‌های گذشته به محبوبیت فوق‌العاده‌ی آن افزوده شده است (Raiola et al. 2014; Wu et al. 2011; Puah et al. 2021). گوجه‌فرنگی نه تنها به صورت تازه، بلکه به حالت سوپ، سس، آب میوه یا پودر کنسانتره نیز فرآوری و مصرف می‌شود. این گیاه دارای ساقه‌های سمپودیال (sympodial) است و تنها گیاه مدل با برگ‌های مرکب است (Gerszberg et al. 2015).

اگرچه مرکز تنوع گوجه‌فرنگی وحشی در پرو است، تجزیه و تحلیل ژنتیکی ارقام اولیه نشان داده است که مرکز تنوع گوجه‌فرنگی‌های کشت شده در مکزیک است. گوجه‌فرنگی در انتقال گسترده گیاهان، معروف به مبادله کلمبیا (Columbian exchange)، در قرن شانزدهم به سایر نقاط جهان تحت استعمار اروپا معرفی شده است. در سال ۱۷۵۳، لینه گوجه‌فرنگی را در جنس *Solanum* قرار داد و آن را *Solanum lycopersicum* نامید. یک سال بعد، فیلیپ میلر، در یک دسته‌بندی متفاوت، این گیاه را به جنس *Eulycopersicon* منتقل کرد و آن را *Lycopersicum esculentum* نامید (Foolad. 2007; Peralta and Spooner, 2007).

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2024-11-21]

تعیین جنس گوجه‌فرنگی برای مدت طولانی موضوع مورد توجه و بحث بسیاری از دانشمندان بود تا اینکه در نهایت استفاده از داده‌های مولکولی (نقشه‌برداری ژنوم) و دانسته‌های مورفولوژیکی منجر به تایید دسته‌بندی گوجه‌فرنگی در جنس *Solanum* و زیرجنس *Lycopersicon* (subgenus) شد (Foolad. 2007). گوجه‌فرنگی دارای گل‌های دوجنسه با چندین گلبرگ زرد رنگ بوده و میوه‌های آن گوشتی هستند. سطح زیر کشت گوجه‌فرنگی در سال ۱۳۹۹ در جهان حدود ۵ میلیون هکتار و در ایران حدود ۷۷ هزار هکتار و نیز تولید جهانی حدود ۱۸۹ میلیون تن و در ایران حدود ۳ میلیون تن بوده است (FAO. 2021). برخورداری از ویژگی‌های مفیدی از جمله امکان رشد در شرایط مختلف کشت، چرخه زندگی به نسبت کوتاه، توانایی تولید بذر زیاد، ژنوم به نسبت کوچک (۹۵۰ مگا جفت باز)، روش آسان کنترل گرده افشانی و هیبریدشدن، توانایی تکثیر غیرجنسی با پیوند و امکان باززایی گیاهان کامل از ریزنمونه‌های مختلف، گوجه‌فرنگی را به مدلی عالی برای برنامه‌های پژوهشی پایه و کاربردی تبدیل ساخته است. بنابراین گوجه‌فرنگی می‌تواند بینش جدیدی در مورد فرآیندهای زیستی ارائه دهد که با استفاده از گیاهان مدل دیگر مانند *آرابیدوپسیس* و برنج قابل دستیابی نیست (Bai and Lindhout, 2007; Sato et al. 2012). از طرفی به دلیل افزایش روزافزون تقاضای مصرف‌کنندگان، نیاز به افزایش تولید در این گیاه وجود دارد. از این رو می‌توان از روش‌های مهندسی ژنتیک و ویرایش ژنومی در جهت پاسخ به نیاز روز افزون بازار بهره جست. نیاز به دستورالعمل بهینه باززایی پس از انتقال ژن (transformation) به گیاهان به‌منظور ویرایش و دست‌ورزی موفقیت‌آمیز ژنتیکی آنها امری اجتناب ناپذیر است. اگرچه بسیاری از گروه‌های پژوهشی برای تولید گیاه گوجه‌فرنگی ویرایش‌شده تلاش کرده‌اند، اما همچنان تولید بهینه گوجه‌فرنگی تراریخته برای مطالعات تکمیلی عملکردی موفقیت‌آمیز نبوده است. بنابراین مطالعات ژنومیک عملکردی گوجه‌فرنگی به وضوح به یک دستورالعمل انتقال ژن با کارایی بالا نیاز دارد (Sun et al. 2006; Tóth et al. 2022). به این ترتیب بررسی‌های متعددی به‌منظور بهینه‌سازی انتقال ژن و محیط کشت باززایی ریزنمونه‌های انتقال داده شده گوجه‌فرنگی انجام شده است (van Eck et al. 2018).

کارایی باززایی تحت تاثیر محیط کشت پایه (Saeed et al. 2019)، تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی (plant growth regulators; PGRs) (Gubiš et al. 2003; Saeed et al. 2019)، سن گیاه (Davis et al. 1991; Rai et al. 2012; Titeli et al.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2024-11-21]

2021)، موقعیت ریزنمونه (Yaroshko et al. 2023)، جهت‌گیری ریزنمونه (آداکسیال (adaxial) یا آباکسیال (abaxial)) (Bhatia et al. 2005; Lee et al. 2020) و تراکم ریزنمونه (Lee et al. 2020) است. باززایی نوساقه‌های گوجه‌فرنگی از طریق ارگانوژنز در چندین مطالعه با استفاده از ریزنمونه‌های برگ، لپه (cotyledon) و هیپوکوتیل (hypocotyl) به دست آمده است (McCormick et al. 1986; Van Roekel et al. 1993; ÖKtem et al. 1999; Pozueta-Romero et al. 2001; Hashmi et al. 2022). در یک مطالعه اخیر که اثر تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی و محیط کشت MS (Murashige and Skoog) حاوی ویتامین‌های B5 در حضور هورمون‌های IAA (Indole-3-acetic acid) و BAP (6-benzylaminopurine) بر نرخ باززایی ریزنمونه‌های لپه و هیپوکوتیل گوجه‌فرنگی رقم MT1 را مورد بررسی قرار داده بود، بیشترین تعداد نوساقه به میزان ۶/۲۵ از ریزنمونه‌های لپه‌ای برای محیط کشت MS حاوی ویتامین‌های B5 و هورمون‌های IAA و BAP به غلظت‌های ۰/۵ mgL^{-1} و ۲ mgL^{-1} گزارش شد (Ahmed et al., 2023).

مطالعات قبلی نشان داد که کارایی نوساقه‌زایی ریزنمونه‌های حاصل از لپه‌های گوجه‌فرنگی (در سنین ۸ تا ۱۴ روزگی) نسبت به ریزنمونه‌های حاصل از هیپوکتیل، ساقه و برگ بیشتر است (Hamza and Chupeau, 1993; Hashmi et al. 2022; Lee et al. 2020). محیط کشت پایه استفاده شده برای باززایی نوساقه‌های گوجه‌فرنگی، محیط MS (Murashige et al. 1962) بوده و ویتامین‌های استفاده شده در این فرآیند ویتامین‌های MS و B5 (Gamborg et al. 1968) هستند.

تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی شامل اکسین و سیتوکینین‌ها تنظیم‌کننده‌های کلیدی برای تعیین تمایز سلولی و تمایز زدایی در مطالعات کشت بافت گیاهی هستند. با وجود اهمیت اکسین و سیتوکینین‌ها، سازوکارهای مولکولی زیربنایی عملکرد آنها به تازگی آشکار شده است (Duclercq et al. 2011; Ikeuchi et al. 2019). دستکاری تعادل نسبت سیتوکینین به اکسین خارجی می‌تواند به نفع یک الگوی رشدی (ریشه‌زایی، نوساقه‌زایی، کالوس‌زایی) باشد. به‌منظور باززایی نوساقه از ریزنمونه‌های مختلف با ترکیب‌های متفاوتی از تنظیم‌کننده‌های Zeatin و BAP استفاده شده است (Ichimura et al. 1995; Sato et al. 2012; Vikram et al. 2012; Koul et al. 2014; Kumari et al. 2017; Lee et al. 2020).

با این وجود، دانسته‌هایی از مقایسه اثر هورمون Zeatin و BAP و غلظت ویتامین محیط کشت مورد استفاده بر روی باززایی نوساقه همزمان در

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2024-11-21]

یک رقم مشخص از گوجه‌فرنگی در دست نیست. هدف از این پژوهش بررسی اثر غلظت ویتامین (MS و B5) و نوع تیمار هورمونی (BAP + IAA و Zeatin + IAA) محیط کشت بر روی باززایی نوساقه از ریزنمونه لپه در رقم Micro-Tom گیاه گوجه‌فرنگی است.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و تهیه ریزنمونه

در این پژوهش از بذرگوجه‌فرنگی رقم Micro-Tom (*Solanum lycopersicum* cv. Micro-Tom) استفاده شد. ابتدا بذور در داخل هود لامینار اتاق کشت بافت استریل شدند. برای استریل کردن بذرها، ابتدا از الکل ۷۰ درصد به مدت ۳۰ ثانیه و سه مرحله آب‌شویی و سپس از آب وایتکس (سدیم هیپوکلرید) ۱۰ درصد (حجمی/حجمی) به مدت ۵ دقیقه و چهار مرتبه آب‌شویی استفاده شد (شکل ۱-a). در نهایت بذور در محیط کشت ½MS با gL^{-1} ۳۰ شکر و 7gL-1 آگار-آگار کشت شدند (شکل ۱-b).

تمامی محیط کشت‌ها در دمای ۱۲۱°C با فشار ۱/۰۲ بار به مدت ۲۰ دقیقه اتوکلاو شدند و pH آنها قبل از اتوکلا روی ۵/۷ تنظیم شد. نگهداری نمونه‌های کشت شده در اتاق رشد با دمای ۲۵°C به مدت ۴۸ ساعت در شرایط تاریکی انجام شد. پس از گذشت ۴۸ ساعت تاریکی نمونه‌های کشت شده در شرایط نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی قرار داده شدند.

کشت ریزنمونه‌ها

در این مرحله از آزمایش از ریزنمونه‌های لپه‌های ۱۰ روزه استفاده شد (شکل ۱). برای تهیه ریزنمونه‌های لپه، دو برش، یکی در ابتدای برگ لپه‌ای و دیگری در انتهای برگ لپه‌ای با استفاده از تیغ اسکالپل استریل ایجاد شد. سپس برگ لپه‌ای از قسمت وسط به دو نیم تقسیم شد و از هر دو بخش ایجاد شده به‌عنوان ریزنمونه استفاده شد. این آزمایش، برای بررسی باززایی مستقیم نوساقه از ریزنمونه‌های لپه‌های ۱۰ روزه انجام شد. ریزنمونه‌ها در چهار تیمار شامل دو تیمار هورمونی Zeatin و BAP با IAA و دو تیمار ویتامینی MS و B5 با gL^{-1} ۳۰ شکر و 7gL-1 آگار-آگار با pH =۵/۷ کشت و در اتاق رشد با دمای ۲۵°C و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی نگهداری شدند (جدول ۱).

غلظت تیامین (thiamin) در محیط کشت MS و B5 به ترتیب mgL^{-1} ۰/۱ و mgL^{-1} ۱۰، غلظت پیرودوکسین (pyridoxine) این محیط کشت‌ها به ترتیب mgL^{-1} ۰/۵ و mgL^{-1} ۱ و غلظت اسید نیکوتینیک (nicotinic acid) آنها به ترتیب mgL^{-1} ۰/۵ و mgL^{-1} ۱ است. زیرکشت ریزنمونه‌ها هر دو هفته در محیط کشت جدید با همان ترکیب تیماری انجام شد. ۱۲ ریزنمونه در

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2024-11-21]

هر پلیت شیشه‌ای کشت شدند. قطر پلیت‌های شیشه‌ای ۱۰ سانتی‌متر بود که هر پلیت حاوی ۲۰ میلی‌لیتر محیط کشت بود.

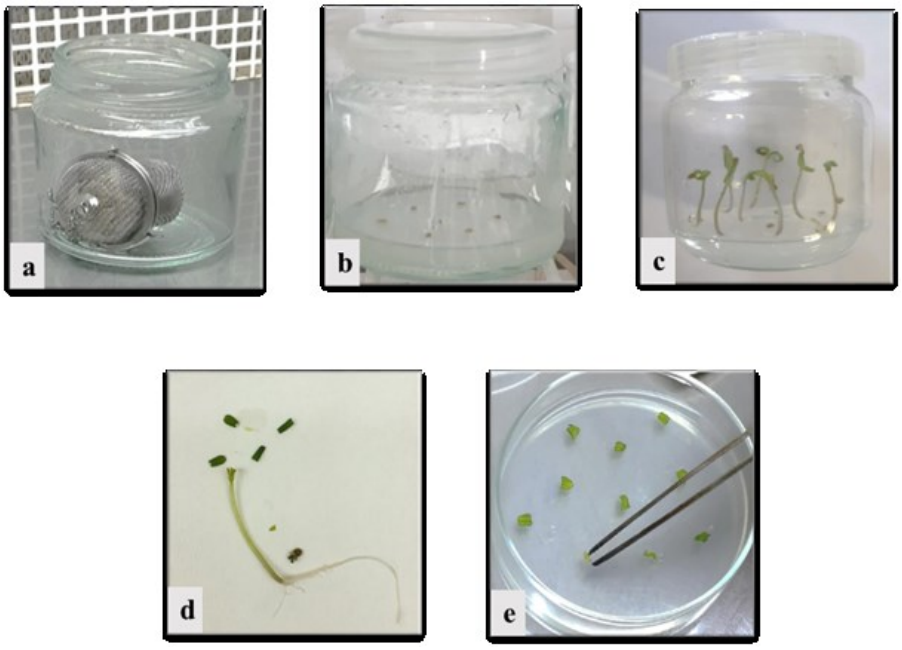
جدول ۱- تیمارهای مورد استفاده در القا نوساقه‌زایی از ریزنمونه های لپه ای در گوجه فرنگی

Zeatin (mg L^{-1})	BAP (mg L^{-1})	IAA (mg L^{-1})	vitamin	treatment
0	2.5	0.1	MS	T1
0	2.5	0.1	B5	T2
2	0	0.1	MS	T3
2	0	0.1	B5	T4

صفات مورد مطالعه

بعد از گذشت ۶ هفته از زمان کشت، داده‌برداری از تعداد نوساقه در هر پلیت (۱۲ ریزنمونه در هر پلیت) انجام شد. برای بدست آوردن میانگین تعداد نوساقه‌ها در هر ریزنمونه، اعداد به دست آمده تقسیم بر عدد ۱۲ شدند.

نوساقه‌ها جهت ریشه‌دار شدن در محیط کشت پایه MS حاوی ۲ mg L^{-1} هورمون IBA کشت شده و در نهایت گیاهان ریشه‌دار جهت سازگاری به گلدان‌های حاوی پرلیت-پیت ماس (۱:۱) منتقل شدند (شکل ۲).



شکل ۱- مراحل تهیه و کشت ریزنمونه‌ها، a) ضدعفونی کردن بذرها، b) کشت بذرها در محیط ½MS، c) ظهور لپه‌های ۱۰ روزه، d) برش ریزنمونه‌ها، e) کشت ریزنمونه‌ها در محیط باززایی.

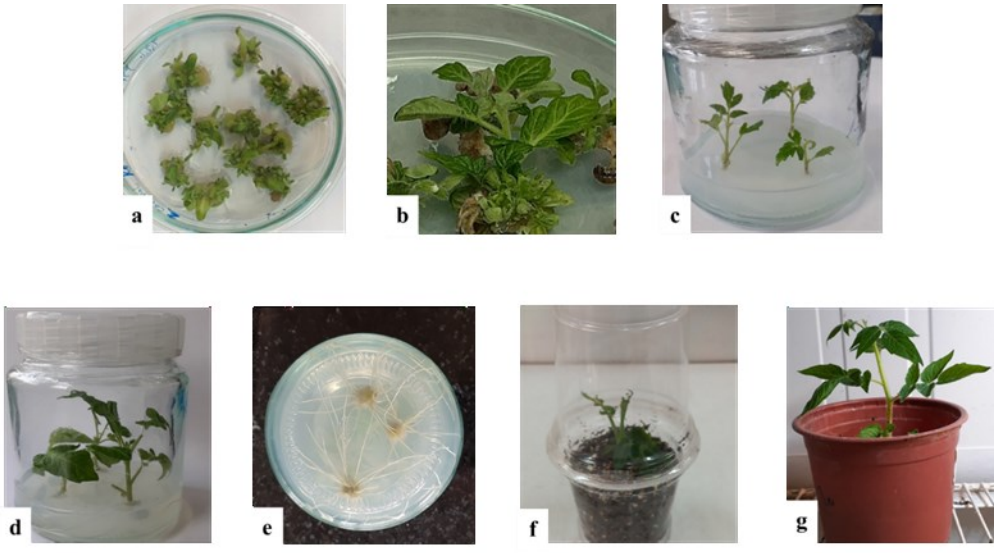
[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2024-11-21]

تجزیه و تحلیل داده‌ها

باززایی مستقیم نوساقه با صفت تعداد نوساقه از ریزنمونه لپه‌ای با چهار تیمار در قالب طرح کاملا تصادفی در سه تکرار انجام شد. داده‌ها با نرم‌افزار SPSS تجزیه و تحلیل شده و میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD مقایسه شدند.

نتایج و بحث

در این پژوهش اثر چهار تیمار شامل دو تیمار هورمونی (Zeatin و BAP با IAA) و دو تیمار (غلظت) ویتامینی (MS و B5) روی نوساقه‌زایی از ریزنمونه‌های لپه‌ای ۱۰ روزه مورد بررسی قرارگرفت (جدول ۱). پس از گذشت ۲ هفته از کشت ریزنمونه‌ها علائمی از ظهور نوساقه‌های القاء شده در هر چهار تیمار اعمال شده، مشاهده شد (شکل ۲-a). شش هفته پس از کشت، نوساقه‌های توسعه یافته در پلیت‌ها قابل مشاهده بودند (شکل۲-b). در این مرحله نوساقه‌ها از ریزنمونه‌های لپه‌ای جداسازی شده و در محیط باززایی به‌منظور رشد و تکثیر واکشت شدند (شکل ۲-c). هشت هفته بعد از کشت، نوساقه‌ها به محیط ریشه‌زایی (حاوی $2\ mg\ L^{-1}$ هورمون IBA) منتقل شده (شکل ۲-d و e) و پس از گذشت ده هفته، نوساقه‌های ریشه‌دار شده در ظرف‌های پلاستیکی به‌منظور سازگاری کشت شدند (شکل ۲-f) و سپس به گلدان انتقال یافتند (شکل ۲-g).



شکل ۲- مراحل ظهور نوساقه از ریزنمونه‌های کشت شده تا سازگاری گیاه‌چه‌ها. a)) ظهور علائم القای نوساقه (دو هفته بعد از کشت)، (b) نوساقه‌های توسعه‌یافته (شش هفته بعد از کشت)، (c) واکشت نوساقه‌های توسعه یافته در محیط باززایی (شش هفته بعد از کشت) ، (d) و (e) نوساقه ریشه‌دار (هشت هفته بعد از کشت)، (f) سازگاری نوساقه‌های ریشه‌دار شده (ده هفته بعد از کشت) و (g) کشت نوساقه‌های سازگارشده در گلدان.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2024-11-21]

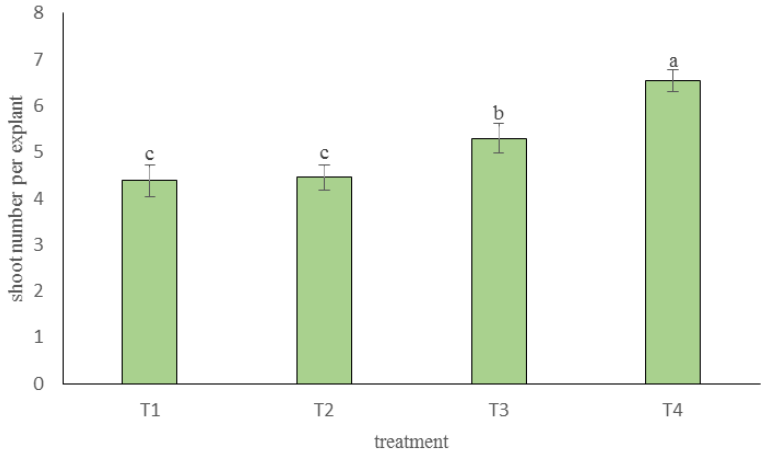
با توجه به مطالعات پیشین، فراوانی تشکیل نوساقه از ریزنمونه‌های گوجه‌فرنگی به ژنوتیپ‌ها، انواع ریزنمونه‌ها و تنظیم‌کننده‌های رشد وابسته است (Mamidala and Nanna, 2011). برای ارزیابی عملکرد تیمارهای اعمال شده صفت تعداد نوساقه مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که بین تیمارهای مورد بررسی جهت نوساقه زایی از ریزنمونه‌های لپه در رقم Micro-Tom تفاوت معنی‌داری از نظر صفت تعداد نوساقه در سطح ۵ درصد وجود داشت (جدول ۲).

جدول ۲- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) برای صفت تعداد نوساقه در باززایی گوجه‌فرنگی رقم Micro-Tom

source of variation	degrees of freedom	mean square
between group	3	1.829*
within group	8	0.373
C.V. (%)	-	8.87

*Statistically significant at 5% level.

نتایج مقایسه میانگین نشان داده که ترکیب تیماری T4 (۲ mgL^{-1} Zeatin + ۰/۱ mgL^{-1} IAA + ویتامین‌های محیط کشت B5) با میانگین تعداد نوساقه ۶/۵۴ در هر ریزنمونه، از بیشترین نرخ باززایی برخوردار بود. از طرفی، کمترین میانگین تعداد نوساقه در هر ریزنمونه مربوط به ترکیب تیمار T1 (۲/۵ mgL^{-1} BAP + ۰/۱ mgL^{-1} IAA + ویتامین‌های MS) برابر با ۴/۳۸ بود (شکل ۳).



شکل ۳- نمودار مقایسه میانگین برای تعداد نوساقه در هر ریزنمونه در تیمارهای مختلف (جدول ۱). میانگین‌های دارای حروف مشترک اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد همان ستون ندارند.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2024-11-21]

با وجود اینکه فرآیند انتقال ژن به گوجه‌فرنگی به‌طور گسترده مورد بررسی قرار گرفته است، اما هنوز مشکلاتی در رابطه با باززایی برای به دست آوردن تعداد مطلوب گیاهان منتقل شده وجود دارد. این مشکلات باعث شده است که نیاز به جستجوی راه‌حل‌هایی جهت بهبود این فرآیند احساس شود. در این زمینه، شرایط مناسب محیط کشت مورد استفاده در فرآیند باززایی گیاهان از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. محیط کشت MS که متداول‌ترین محیط کشت مورد استفاده در مطالعات کشت بافتی است، به دلیل ترکیب مناسب اجزای آن برای تغذیه گیاهان، مورد استفاده قرار می‌گیرد. با این حال در بسیاری از مطالعات، از محیط کشت‌های تغییریافته MS با هدف افزایش کارایی باززایی درگیاهان متفاوت استفاده می‌شود. از جمله تغییراتی که در این محیط‌ها اعمال می‌شود شامل تغییراتی در غلظت و نسبت اجزای محیط کشت، افزایش غلظت انواع ویتامین‌ها و هورمون‌ها، و استفاده از محیط کشت غنی‌شده با مواد مغذی است (Doğan. 2022; Dalton. 2020).

پژوهش حاضر به‌منظوردستیابی به یک دستورالعمل باززایی آسان و کارآمد برای نوساقه‌زایی در ریزنمونه‌های لپه‌ای گیاه گوجه‌فرنگی، دو عامل ترکیب هورمونی محیط کشت و ویتامین‌های محیط کشت را مورد بررسی قرار داد. در این پژوهش، اثر ویتامین‌های MS و ویتامین‌های B5، که شامل تیامین، پیریدوکسین و نیکوتینیک اسید هستند، بر روند باززایی از ریزنمونه‌های لپه‌ای در گوجه‌فرنگی رقم Micro-Tom مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که در مقایسه بین تیمارهایی که ترکیب هورمونی یکسان اما ترکیب ویتامینی متفاوت داشتند، به ویژه در مقایسه بین تیمار T4 (Zeatin + IAA و ویتامین‌های محیط کشت B5) و تیمار T3 (IAA + Zeatin و ویتامین‌های محیط کشت MS)، میانگین تعداد نوساقه در هر ریزنمونه برای تیمار حاوی ویتامین‌های B5 نسبت به تیمار حاوی ویتامین‌های MS بیشتر بود. این مطلب به خوبی اثر قابل توجه ویتامین‌های محیط کشت B5 در مقایسه با ویتامین‌های محیط کشت MS در بهبود نوساقه‌زایی از ریزنمونه‌های لپه‌ای گوجه‌فرنگی را نشان می‌دهد. دلیل این مسئله به نقش ویتامین‌های B5 در رشد مناسب، سوخت و ساز سلولی و تقسیم سلول‌های گیاهی مرتبط است (Robbins. 1951; Linsmaier and Skoog, 1965; Butenko and Chailakian, 1968). این ویتامین‌ها از اهمیت ویژه‌ای برخوردار بوده و به ویژه وجود تیامین (ویتامین B1) در بیشتر گونه‌ها حیاتی است. تیامین به‌عنوان یک کوآنزیم در دکربوکسیلاسیون اسیدهای کتو عمل می‌کند و در سوخت و ساز سلولی در کل گیاه مهم است (Colinas and Fitzpatrick, 2015).

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2024-11-21]

حذف تیامین از محیط کشت باعث کاهش رشد کالوس در بیشتر گونه‌ها می‌شود (Linsmaier and Skoog, 1965; Butenko and Chailakian, 1968). اثر مثبت تیامین بر نوساقه زایی در شرایط آزمایشگاهی در گونه‌هایی مثل گل رز نشان داده شده است (Razaji et al. 2021). همچنین، در گیاه سیب‌زمینی شیرین، حذف تیامین از محیط کشت گیاه، منجر به کاهش رشد آن نسبت به محیط حاوی تیامین شد (Vollmer et al. 2022). نیکوتینیک اسید بر سوخت و ساز کربوهیدرات و فعالیت مریستمی تأثیر می‌گذارد (Torres. 1989). در گیاهان، پیریدوکسین (ویتامین B6) در واکنش‌های آنزیمی مربوط به سوخت و ساز اسید آمینه نقش دارد و یک کوآنزیم در واکنش‌های دکربوکسیلاسیون اسید آمینه است (Torres. 1989). مطالعات نشان داده‌اند که کمبود پیریدوکسین باعث کاهش فعالیت مریستمی می‌شود (Boll. 1954a; Boll. 1954b; Butenko and Chailakian, 1968). نتایج این پژوهش همسو با مطالعات پیشین نقش ویتامین‌های B5 در رشد سلولی گیاه گوجه‌فرنگی (Kaur and Bansal, 2010; Pino et al. 2010) و اثر بهینه افزایش غلظت تیامین در محیط کشت پایه MS بر باززایی ریزنمونه‌های این گیاه (Cortina and Culiáñez-Macià, 2004) تحت شرایط آزمایشگاهی را نشان می‌دهد.

همچنین در این پژوهش اثر ترکیب هورمونی BAP و Zeatin با IAA بر القاء نوساقه زایی در ریزنمونه‌های لپه‌ای رقم Micro-Tom گوجه‌فرنگی مورد بررسی قرار گرفت. پژوهشگران گزارش داده‌اند که افزودن تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی در محیط کشت بر روی نوساقه‌زایی حاصل از لپه‌های گوجه‌فرنگی موثر است (Gubis et al. 2004). بر اساس آزمایشات مقدماتی نویسندگان (نتایج نشان داده نشده‌اند) و بررسی منابع، ترکیب هورمونی BAP و Zeatin با IAA بیشترین ترکیب هورمونی مورد استفاده در باززایی نوساقه در گوجه‌فرنگی بودند (Nogueira et al. 2001; Gubis et al. 2004; Namitha. 2013). در مطالعات پیشین هورمون‌های BAP (با غلظت mgL^{-1} ۲/۵-۲) و Zeatin (با غلظت mgL^{-1} ۲-۱/۵) به همراه IAA (با غلظت mgL^{-1} ۱/۵-۰/۰) در روند بررسی ایجاد نوساقه در گیاه گوجه‌فرنگی مورد استفاده قرارگرفتند که در همه‌ی آن‌ها اثر هورمون Zeatin بر روند افزایش نرخ باززایی ریزنمونه‌ها مورد تایید قرار گرفت (Mamidala and Nanna, 2009; Pawar et al. 2012; Vikram et al. 2012; Sandhya et al. 2022).

در مطالعه‌ی حاضر اثر غلظت mgL^{-1} ۲/۵ هورمون BAP و غلظت mgL^{-1} ۲ هورمون Zeatin همراه با غلظت mgL^{-1} ۰/۱ هورمون IAA بر روند القاء نوساقه‌زایی ریزنمونه‌های لپه‌ای گوجه‌فرنگی

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2024-11-21]

مورد بررسی قرارگرفت. با توجه به نتایج به دست آمده، اثر ترکیب هورمونی IAA+Zeatin بر روند القاء نوساقه‌زایی بیشتر از اثر ترکیب هورمونی IAA+BAP بوده است (شکل ۳) که این تاثیر مثبت و معنی‌دار ترکیب هورمونی IAA+Zeatin در مقایسه با ترکیب هورمونیIAA+BAP بر نوساقه‌زایی از لپه‌های گوجه‌فرنگی بود. علاوه‌بر این، تاثیر متقابل میان هورمون‌های Zeatin و IAA در این پژوهش نشان می‌دهد که تعادل هورمونی خاصی ممکن است برای بهینه‌سازی روند باززایی در گیاهان مختلف ضروری باشد. Zeatin به‌عنوان یک سیتوکینین، در تنظیم تقسیم سلولی و توسعه نوساقه نقش دارد، در حالی که IAA، به‌عنوان یک اکسین، در ریشه‌زایی و توسعه اندام‌های گیاهی نقش اساسی ایفا می‌کند (Tank et al. 2015). این هم‌افزایی بین هورمون‌ها نشان می‌دهد که برای دستیابی به بهترین نتایج باززایی، توجه به تعادل مناسب میان هورمون‌های اکسین و سیتوکینین ضروری است. طبق نتایج پژوهش حاضر، علاوه‌بر اینکه اثر هورمون های IAA، BAP و Zeatin بر نوساقه‌زایی از لپه‌های گوجه‌فرنگی مورد تایید قرار گرفت، تاثیر ویتامین‌های MS و B5 و اثر متقابل آنها نیز همزمان ارزیابی شدند، که طی این روند محیط کشت حاوی هورمون Zeatin در حضور ویتامین‌های B5 نسبت به MS، نرخ باززایی بیشتری را نشان داد.

در کل نتایج نشان داد که تیمارهای T3 و T4 که حاوی هورمون Zeatin بودند نسبت به تیمارهای T1 و T2 فاقد Zeatin تاثیر بیشتری بر روی باززایی ریزنمونه‌ها داشتند. تیمار T3 اختلاف معنی‌داری نسبت به تیمارهای T1 و T2 نداشت، اما با توجه به اینکه تیمار T4 اختلاف معنی‌داری با این تیمارها داشت، به همین جهت این تیمار به‌عنوان محیط کشت باززایی با کارایی بالا پیشنهاد می‌شود. این مطلب بیانگر اینست که هم‌افزایی میان هورمون‌های Zeatin + IAA و ویتامین‌های محیط کشت B5 به‌طور قابل توجهی روند باززایی را بهبود ببخشیده است.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که استفاده از تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی و ویتامین‌ها در نوساقه‌زایی گیاه گوجه‌فرنگی موثر است. بهینه سازی محیط کشت باززایی حاوی ترکیب هورمونی IAA+Zeatin در محیط کشت پایه MS به همراه ویتامین‌های B5، تفاوت معنی‌دار را در سطح ۵ درصد نشان داد که دارای بیشترین نرخ باززایی است. هورمون Zeatin یک سیتوکینین طبیعی است که موجب القای تقسیم سلولی می‌شود، بنابراین استفاده از این هورمون در این ترکیب تیماری منجر به افزایش تقسیم سلولی و افزایش پتانسیل القاء و باززایی نوساقه‌ها می‌شود.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2024-11-21]

نتایج مقایسه میانگین نشان داد که تیمارهای T3 و T4 که حاوی هورمون Zeatin بودند نسبت به تیمار های T1 و T2 بدون Zeatin بر باززایی ریزنمونه‌ها اثر مثبت بیشتری نشان دادند، و با توجه به اینکه تیمار T4 اختلاف معنی‌داری با تیمارهای T1 و T2 داشت، بدین ترتیب تیمار T4 به‌عنوان محیط کشت باززایی با بیشترین تاثیر بر روی باززایی ریزنمونه‌ها پیشنهاد می‌شود. ادغام دانش فعلی مربوط به تاثیرات هورمونی و ویتامینی می‌تواند به توسعه استراتژی‌های موثرتر برای باززایی و انتقال ژن گیاهی منجر شود. نتایج این پژوهش نشان داد که اعمال تغییرات در محیط کشت، به‌ویژه افزایش غلظت ویتامین‌ها و هورمون‌ها، می‌تواند بهبود معناداری در فرآیند باززایی گیاهان گوجه‌فرنگی ایجاد کند و به‌عنوان یک راه حل مناسب برای بهبود کارایی این فرآیند مطرح شود. دستورالعمل باززایی به دست آمده در این پژوهش می‌تواند به‌طور عملی در دستورزی ژنتیکی گیاه گوجه‌فرنگی رقم Micro-Tom مورد استفاده قرار گیرد.

سپاسگزاری

این اثر تحت حمایت مادی صندوق حمایت از پژوهشگران و فناوران کشور (INSF) برگرفته شده از طرح شماره ۴۰۰۴۹۱۹ انجام شده است. همچنین از راهنمایی و همکاری‌های ارزنده دکتر ولی‌الله فرضی‌فرد در انجام این پژوهش قدردانی می‌شود.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2024-11-21]

References فهرست منابع

Ahmed S, Wan Azizan WAS, Akhond MAY, Juraimi AS, Ismail SI, Ahmed R, Md Hatta MA. 2023. Optimization of In Vitro regeneration protocol of tomato cv. MT1 for genetic transformation. Horticulturae. 9(7): 800.

Bai Y and Lindhout P. 2007. Domestication and breeding of tomatoes: what have we gained and what can we gain in the future? Annals of Botany. 100(5): 1085-1094.

Bhatia P, Ashwath N, Midmore DJ. 2005. Effects of genotype, explant orientation, and wounding on shoot regeneration in tomato. *In Vitro* Cellular & Developmental Biology-Plant. 41: 457-464.

Boll WG. 1954a. Investigation into the function of pyridoxin as a growth factor for excised tomato roots. Plant Physiology. 29(4): 325.

Boll WG. 1954b. The role of vitamin B6 and the biosynthesis of choline in the excised tomato root. Archives of Biochemistry and Biophysics. 53(1): 20-28.

Butenko RG and Chailakian MK. 1968. Plant tissue culture and plant morphogenesis, Jerusalem: Israel Program for Scientific Translations. 1-291.

Colinas M and Fitzpatrick TB. 2015. Natures balancing act: examining biosynthesis de novo, recycling and processing damaged vitamin B metabolites. Current Opinion in Plant Biology. 25: 98-106.

Cortina C and Culiáñez-Macià FA. 2004. Tomato transformation and transgenic plant production. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 76: 269-275.

Dalton SJ. 2020. A reformulation of Murashige and Skoog medium (WPBS medium) improves embryogenesis, morphogenesis and transformation efficiency in temperate and tropical grasses and cereals. Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC). 141(2): 257-273.

Davis ME, Daniel Lineberger R, Raymond Miller A. 1991. Effects of tomato cultivar, leaf age, and bacterial strain on transformation by *Agrobacterium tumefaciens*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 24: 115-121.

Doğan M. 2022. Influence of different concentrations of Murashige and Skoog medium on multiple shoot regeneration of Staurogyne repens (Nees) Kuntze. Journal of Engineering Technology and Applied Sciences. 7(1): 61-67.

Duclercq J, Sangwan-Norreel B, Catterou M, Sangwan RS. 2011. De novo shoot organogenesis: from art to science. Trends in plant science. 16(11): 597-606.

FAO. 2021. FAOSTAT. Food and agricultural commodities production. Available at https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize. FAO, Rome, Italy.

Foolad MR. 2007. Genome mapping and molecular breeding of tomato. International Journal of Plant Genomics. 64: 1-52.

Gamborg OLc, Miller RA, Ojima K. 1968. Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. Experimental Cell Research. 50(1): 151-158.

Gerszberg A, Hnatuszko-Konka K, Kowalczyk T, Kononowicz AK. 2015. Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) in the service of biotechnology. Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC). 120(3): 881-902.

Gubiš J, Lajchova Z, Farago J, Jurekova Z. 2003. Effect of genotype and explant type on shoot regeneration in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) *in vitro*. Czech Journal of Genetics and Plant Breeding. 39(1): 9.

Gubis J, Lajchová Z, Faragó J, Jureková Z. 2004. Effect of growth regulators on shoot induction and plant regeneration in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Biologia-Bratislava. 59(3): 405-408.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2024-11-21]

Hamza S and Chupeau Y. 1993. Re-evaluation of conditions for plant regeneration and Agrobacterium-mediated transformation from tomato (*Lycopersicon esculentum*). Journal of Experimental Botany. 44(12): 1837-1845.

Hashmi MH, Saeed F, Demirel U, Bakhsh A. 2022. Establishment of highly efficient and reproducible Agrobacterium-mediated transformation system for tomato (*Solanum lycopersicum* L.). In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant. 58(6): 1066-1076.

Ichimura K, Uchiumi T, Tsuji K, Oda M, Nagaoka M. 1995. Shoot regeneration of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) in tissue culture using several kinds of supporting materials. Plant Science. 108(1): 93-100.

Ikeuchi M, Favero DS, Sakamoto Y, Iwase A, Coleman D, Rymen B, Sugimoto K. 2019. Molecular mechanisms of plant regeneration. Annual Review of Plant Biology. 70: 377-406.

Kaur P and Bansal KC. 2010. Efficient production of transgenic tomatoes via *Agrobacterium*-mediated transformation. Biologia Plantarum. 54(2): 344-348.

Koul B, Srivastava S, Sanyal I, Tripathi B, Sharma V, Amla DV. 2014. Transgenic tomato line expressing modified *Bacillus thuringiensis* cry1Ab gene showing complete resistance to two lepidopteran pests. SpringerPlus. 3(1): 1-13.

Kumari A, Ray K, Sadhna S, Pandey AK, Sreelakshmi Y, Sharma R. 2017. Metabolomic homeostasis shifts after callus formation and shoot regeneration in tomato. PLOS ONE. 12(5): e0176978.

Lee MH, Lee J, Jie EY, Choi SH, Jiang L, Ahn WS, Kim CY, Kim SW. 2020. Temporal and spatial expression analysis of shoot-regeneration regulatory genes during the adventitious shoot formation in hypocotyl and cotyledon explants of tomato (cv. Micro-Tom). International Journal of Molecular Sciences. 21(15): 5309.

Lee MR. 2006. The Solanaceae: foods and poisons. Journal-Royal College of Physicians of EdinburgH. 36(2): 162.

Linsmaier EM and Skoog F. 1965. Organic growth factor requirements of tobacco tissue cultures. Physiologia Plantarum. 18(1): 100-127.

Mamidala P and Nanna RS. 2009. Efficient *in vitro* plant regeneration, flowering and fruiting of dwarf tomato cv. Micro-Msk. Plant Omics. 2(3): 98-102.

Mamidala P and Nanna RS. 2011. Effect of genotype, explant source and medium on *in vitro* regeneration of tomato. International Journal of Genetics and Molecular Biology. 3(3): 45-50.

McCormick S, Niedermeyer J, Fry J, Barnason A, Horsch R, Fraley R. 1986. Leaf disc transformation of cultivated tomato (*L. esculentum*) using *Agrobacterium tumefaciens*. Plant Cell Reports. 5: 81-84.

Motti R. 2021. The Solanaceae family: Botanical features and diversity. The Wild Solanums Genomes. 1-9.

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

Namitha KK. 2013. Morphogenetic potential of tomato (*Lycopersicon esculentum*) cv.'Arka Ahuti'to plant growth regulators. Notulae Scientia Biologicae. 5(2): 220-225.

Nogueira FTS, Costa MG, Figueira ML, Otoni WC, Finger FL. 2001. *In vitro* regeneration of 'Santa Clara'tomato plantlets and its natural mutant 'Firme'. Science Agrotec Lavras. 25: 36-71.

ÖKtem HA, BÜLbÜL Y, ÖKtem E, YÜCel M. 1999. Regeneration and agrobacterium-mediated transformation studies in tomato (*Lycopersicon esculentum* Miller). Turkish Journal of Botany. 23(5): 345-348.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2024-11-21]

Olmstead RG and Bohs L. 2006. A summary of molecular systematic research in Solanaceae. International Solanaceae Conference: Genomics Meets Biodiversity. 745: 255-268.

Pawar BD, Jadhav AS, Kale AA, Chimote VP, Pawar SV. 2012. Zeatin induced direct *in vitro* shoot regeneration in tomato (*Solanum lycopersicum* L.). The Bioscan. 7(2), 247-250.

Peralta IE and Spooner DM. 2007. History, origin and early cultivation of tomato (Solanaceae). Genetic Improvement of Solanaceous Crops. 2: 1-27.

Pino LE, Lombardi-Crestana S, Azevedo MS, Scotton DC, Borgo L, Quecini V, Figueira A, Peres, LEP. 2010. The Rg1 allele as a valuable tool for genetic transformation of the tomato 'Micro-Tom' model system. Plant Methods. 6(1): 23.

Pozueta-Romero J, Houlné G, Cañas L, Schantz R, Chamarro J. 2001. Enhanced regeneration of tomato and pepper seedling explants for Agrobacterium-mediated transformation. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 67: 173-180.

Puah BP, Jalil J, Attiq A, Kamisah Y. 2021. New insights into molecular mechanism behind anti-cancer activities of lycopene. Molecules. 26(13), 3888.

Rai GK, Rai NP, Kumar S, Yadav A, Rathaur S, Singh M. 2012. Effects of explant age, germination medium, pre-culture parameters, inoculation medium, pH, washing medium, and selection regime on *Agrobacterium*-mediated transformation of tomato. *In Vitro* Cellular & Developmental Biology-Plant. 48: 565-578.

Raiola A, Rigano MM, Calafiore R, Frusciante L, Barone A. 2014. Enhancing the health-promoting effects of tomato fruit for biofortified food. Mediators of Inflammation. 13: 1-16.

Razaji M, Ataei Azimi A, Yosefirad M. 2021. Evaluation of the effect of cytokinins, thiamine (VB1), brassinosteroids, and auxins on organogenesis potential, and protoplast isolation in Rosa damascena Mill in vitro condition. Journal of Plant Process and Function. 10(43): 11-16.

Robbins WJ. 1951. Vitamin and amino acid requirements for the growth of higher plants. Plant Growth Substances. 63.

Saeed W, Naseem S, Gohar D, Ali Z. 2019. Efficient and reproducible somatic embryogenesis and micropropagation in tomato via novel structures-Rhizoid Tubers. PLoS One. 14(5): e0215929.

Sandhya D, Jogam P, Venkatapuram AK, Savitikadi P, Peddaboina V, Allini VR, Abbagani S. 2022. Highly efficient Agrobacterium-mediated transformation and plant regeneration system for genome engineering in tomato. Saudi Journal of Biological Sciences. 29(6): 103292.

Sato S, Tabata S, Hirakawa H, Asamizu E, Shirasawa K, Isobe S, Kaneko T, Nakamura Y, Shibata D, Aoki K. 2012. The tomato genome sequence provides insights into fleshy fruit evolution. Nature. 485(7400): 635-641.

Su X, Wang B, Geng X, Du Y, Yang Q, Liang B, Meng G, Gao Q, Yang W, Zhu Y, Lin T. 2021. A high-continuity and annotated tomato reference genome. BMC Genomics. 22(1): 1-12.

Sun HJ, Uchii S, Watanabe S, Ezura H. 2006. A highly efficient transformation protocol for Micro-Tom, a model cultivar for tomato functional genomics. Plant and Cell Physiology. 47(3): 426-431.

Tank JG, Pandya RV, Thaker VS. 2015. IAA and zeatin controls cell division and endoreduplication process in quiescent center cells of Allium cepa root. Indian Journal of Plant Physiology. 20: 124-129.

Titeli VS, Zafeiriou I, Laskaridou A, Menexes G, Madesis P, Stavridou E, Nianiou-Obeidat I. 2021. Development of a simple and low-resource regeneration system of two Greek tomato varieties. Agriculture. 11(5): 412.

Torres KC. 1989. Effects of carbohydrates, vitamins, and gelling agents on callus growth and plantlet regeneration. In K. C. Torres (Ed.), Tissue Culture Techniques for Horticultural Crops, 136-147. Boston, MA: Springer US.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2024-11-21]

Tóth M, Tóth ZG, Fekete S, Szabó Z, Tóth Z. 2022. Improved and highly efficient *Agrobacterium rhizogenes*-mediated genetic transformation protocol: Efficient tools for functional analysis of root-specific resistance genes for *Solanum lycopersicum* cv. Micro-Tom. Sustainability. 14(11): 6525.

van Eck J, Keen P, Tjahjadi M. 2018. *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation of tomato. In S. Kumar, P. Barone & M. Smith (Eds.), Transgenic Plants: Methods and Protocols, 225-234. New York, NY: Springer New York.

van Roekel JSC, Damm B, Melchers LS, Hoekema A. 1993. Factors influencing transformation frequency of tomato (*Lycopersicon esculentum*). Plant Cell Reports. 12(11): 644-647.

Vikram G, Madhusudhan K, Srikanth K, Laxminarasu M, Swamy NR. 2012. Zeatin induced direct multiple shoots development and plant regeneration from cotyledon explants of cultivated tomato (*'Solanum lycopersicum'*L.). Australian Journal of Crop Science. 6(1): 31-35.

Vollmer R, Espirilla J, Sánchez JC, Arroyo L, Acosta M, Flores G, Rojas A, Ellis D, Azevedo V. 2022. Thiamine improves in vitro propagation of sweetpotato [*Ipomoea batatas* (L.) Lam.]–confirmed with a wide range of genotypes. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 152(2): 253-266.

Wu Z, Sun S, Wang F, Guo D. 2011. Establishment of regeneration and transformation system of *Lycopersicon esculentum* MicroTom. British Biotechnology Journal. 1(3): 53-60.

Yaroshko O, Pasternak T, Larriba E, Pérez-Pérez JM. 2023. Optimization of callus induction and shoot regeneration from tomato cotyledon explants. Plants. 12(16): 2942.

In vitro Shoot Induction from Cotyledon in *Solanum lycopersicum* L.

Fatemeh Ghanei-Estalkhi[1,#], Shirin Rouzbahani[1,#], Raheleh Karimi-Ashtiyani[*2]

1- Master's Degree, Department of Biotechnology, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

2- Assistant Professor, Department of Biotechnology, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

[#] Both are equal contributors to this work and designated as co-first authors

r.karimi@modares.ac.ir

Abstract

Tomato, *Solanum lycopersicum* L., is a self-pollinated perennial plant from the Solanaceae family. Due to its high consumption and importance as a model plant, there is a need to increase its production. Genetic engineering and editing can be used to produce tomatoes more efficiently while maintaining their desirable characteristics. To achieve successful editing in the genome of plants, an optimal protocol for the desired plant transformation and regeneration is necessary. In this research, the effect of cytokinin growth regulators BAP and Zeatin complemented with Auxin growth regulator and vitamins B5 and MS on shoot regeneration in tomato cv. Micro-Tom was investigated. The results showed that the T4 treatment including the hormonal combination of 0.1 mgL^{-1} IAA + 2 mgL^{-1} Zeatin and B5 vitamins was the most effective treatment used in the regeneration of tomato cv. Micro-Tom for the new shoot induction trait with an average of 6.54. The results obtained from this research can provide the basis for improving the efficiency of transformation in functional genomic studies of this tomato cultivar.

Keywords: Micro-Tom, Cytokinin Growth Regulators, Shoot Regeneration, Transformation, Tissue Culture.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2024-11-21]