DOI: 10.22034/cmr.2023.2311 مقاله پژوهشی، صفحات ۲۶۰-۲۴۸

اثر ریزنمونه، سدیم نیتروپروساید و سیلیکون در اندام‌زایی درون شیشه‌ای گوجه‌فرنگی (*Lycopersicon esculentum* Mill.)

حانیه جیران پور خامنه و ابراهیم دورانی*

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

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۰/۱۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۷/۱۹

چکیده

در پژوهش حاضر، اثر سدیم نیتروپروساید و سیلیکون روی اندام‌زایی ریزنمونه‌های لایه نازک کوتیلدونی با برش‌های عرضی ریز یک میلی‌متری گوجه‌فرنگی (*Lycopersicon esculentum* Mill.) مورد مطالعه قرار گرفت. این تحقیق در سه آزمایش صورت گرفت. در آزمایش اول ریزنمونه‌های ۸ و ۱۲ روزه در محیط‌کشت MS تکمیل شده با ۲ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر IAA کشت داده شدند. ریزنمونه های دوازده روزه تقریبا در محیط کشت بکارگرفته شده بدون پاسخ به اندام زایی نکروزه شده و از بین رفتند در حالی که ریزنمونه‌های ۸ روزه اندام‌زایی قابل توجهی داشتند. در آزمایش دوم اثر نوع ریزنمونه و تنظیم‌کننده‌های BAP به تنهایی و در ترکیب با NAA و IAA در بهبود اندام‌زایی ریزنمونه‌های مذکور مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج این آزمایش نشان داد که تقریبا تمامی تیمارها بالای ۹۰ درصد اندام‌زایی داشتند. در تجزیه تعداد شاخساره، تیمار ۲ میلی-گرم در لیتر BAP و ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر IAA بیشترین تعداد شاخساره را نشان داد. نتایج آزمایش سوم نشان داد که غلظت‌های ۱۰، ۱۵ و ۳۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید به ترتیب موجب افزایش معنی دار تعداد شاخساره، افزایش طول شاخساره و همچنین افزایش القاء ریشه گردید. غلظت‌های ۵۰ و ۵ میلی‌گرم در لیتر سیلیکون موجب افزایش شاخساره در ریزنمونه‌ها گردید ولی افزودن۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر سیلیکون موجب عدم باززایی شده و شاخساره‌ای هم تشکیل نشد. افزودن مکمل سیلیکون و سدیم نیتروپروساید در غلظت‌های بالا تاثیر معنی‌داری بر درصد باززایی کوتیلدون و لایه نازک سلولی گیاه گوجه‌فرنگی نداشتند.

واژه‌های کلیدی: اندام‌زایی کشت درون‌شیشه‌ای، باززایی، تنظیم‌کننده‌ی رشد، ریزنمونه، کشت‌بافت.

* نویسنده مسئول، شماره تلفن: ۰۴۱۳۳۳۹۲۱۶۰ ، پست الکترونیکی: dorani@tabrizu.ac.ir

مقدمه

در بین محصولات صیفی، گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum L.*) بیشترین اهمیت را در جهان داراست و پس از سیب‌زمینی و سیب‌زمینی شیرین، بیشترین حجم تولید تره‌بار جهانی را دارد (۱۷). گوجه-فرنگی از لحاظ ارزش غذایی بسیار کم کالری (۲۲ کیلوکالری در هر ۱۰۰ گرم) عاری از کلسترول، سرشار از فیبر و ویتامین‌های مختلف (A، C و E) و موادمعدنی می‌باشد (۳۰). علاوه براین گوجه‌فرنگی یک منبع عالی از موادمغذی مفید برای سلامتی از جمله بتاکاروتن و لیکوپن است (۱۸).

کشت گوجه‌فرنگی به دلیل آلودگی به آفات، بیماری‌ها و تنش‌های غیرزیستی متحمل خسارات زیادی می‌شود. کاربرد روش‌های جدید اصلاحی از جمله مهندسی ژنتیک برای اصلاح ژنتیکی این گیاه برای مقاومت به آفات و بیماری‌ها بیش از پیش ضروری به نظر می‌رسد (۵).

بدون یک سیستم قابل اطمینان، تکرار پذیر و کارآمد برای باززایی گیاهان یکسان ژنتیکی از توده کوچکی از سلول‌های تراریخته، تولید گیاه کامل اصلاح شده ژنتیکی امکان پذیر نیست (۵). بنابراین اولین قدم در تراریختی

DOI: 10.22034/cmr.2023.2311 مقاله پژوهشی، صفحات ۲۶۰-۲۴۸

گیاهان دستیابی به یک روش موثر و موفق در اندام‌زایی و کشت درون شیشه‌ای گیاهان می‌باشد. موفقیت در پاسخ به باززایی گوجه‌فرنگی به طور عمده بستگی به ژنوتیپ، نوع ریزنمونه، نوع و غلظت تنظیم کننده‌های رشد گیاهی دارد. امروزه به عنوان یک اصل علمی پذیرفته شده است که بدون تنظیم کننده‌های رشد گیاهی، کشت درون‌شیشه‌ای گیاهان تقریبا ناممکن است. انتخاب ریزنمونه مناسب برای اندام‌زایی درون‌شیشه‌ای در گوجه‌فرنگی بطور قابل توجهی وابسته به ژنوتیپ گیاه است (۱۵). رقم محلی بناب یکی از ارقام خوش طعم محلی گوجه فرنگی است که با توجه به هزینه‌های بالای بذور هیبرید در بخش قابل توجهی از استان آذربایجان‌شرقی کشت می‌شود. مطالعات پایه در کشت درون شیشه‌ای آن می تواند یک قدم رو به جلو در اصلاح مولکولی این گیاه باشد. ارقام ارزشمند تجاری گوجه‌فرنگی، با استفاده از روش‌های مختلف کشت‌بافت شامل کشت‌جوانه انتهایی، جنین‌زایی سوماتیکی (Somatic embryogenesis)، اندام‌زایی مستقیم از ریزنمونه‌ها تکثیر شده‌اند (۱۴). یکی از ریزنمونه‌های که در کشت‌بافت و مهندسی ژنتیک به طور موفقیت‌آمیزی مورد استفاده قرار گرفته است، کشت لایه نازک سلولی (Thin cell layers)(TCL) است. فناوری لایه نازک سلولی روشی است که در آن امکان مطالعه سلولی، فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و تغییرات مولکولی که در یک برنامه ریخت‌زایی مانند جنین‌زایی سوماتیک، شاخه‌زایی و ریشه‌زایی اتفاق می‌افتد، وجود دارد. اساس این روش استفاده از ریزنمونه‌های بسیار کوچک است (۲۳). این ریزنمونه‌ها از اندام‌های مختلف گیاه مانند قسمت‌های مختلف گل، ریشه، ریزوم، ساقه، برگ، اپی‌کوتیل، هیپوکتیل و جنین بریده می‌شوند (۱۱).

جهت باززایی گوجه‌فرنگی، شمار زیادی از تنظیم کننده-های مختلف گیاهی با غلظت‌های مختلف مورد استفاده قرار گرفته است. مقدار و نوع تنظیم کننده‌های رشد بر میزان درصد پاسخ ریزنمونه‌ها و تعداد شاخه‌های تولید شده توسط ریزنمونه تاثیر می‌گذارد (۵). BAP در ترکیب با IAA باعث باززایی شاخه‌ها و القای شاخساره از ریزنمونه-های گوجه‌فرنگی شد و همچنین مشاهده شد که مقدار بالای اکسین منجر به ایجاد مقدار زیادی ریشه می‌شود (۳۸).

با آن که سیلیکون به عنوان یک عنصر ضروری در گیاهان در نظر گرفته نمی‌شوند ولی مطالعات متعددی نشان داده اند که استفاده از سیلیکون در محیط کشت‌بافت باعث افزایش رشد کالوس، باززایی شاخه‌ها و القای ریشه و تحریک جنین‌زایی و بهبود خصوصیات ریخت‌شناسی، آناتومی و فیزیولوژیکی گیاهچه‌ها می‌شود (۴).

سدیم‌نیتروپروساید نیز یکی از ترکیباتی است که نقش آن در ریخت‌زایی گیاهان به اثبات رسیده است (۳۱). نیتریک اکساید در تنظیم فرایندهای تکوینی مختلف و رشد گیاه از جمله در رشد ریشه، تنفس، گل دهی و مرگ سلولی نقش دارد (۱۳). سدیم نیتروپروساید (یک دهنده نیتریک اکساید) توانایی القای شاخساره را افزایش می‌دهد و همچنین به بافت‌ها اجازه می‌دهد تا دوباره احیا و باززا شوند (۲۵).

در این مقاله اثر ترکیب سیلیکون، سدیم نیتروپروساید در ریزازدیادی توده محلی بناب گوجه‌فرنگی با استفاده از ریزنمونه لایه نازک سلول‌های کوتیلدونی گزارش می‌شود.

مواد و روشها

این پژوهش در آزمایشگاه زیست فناوری دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز انجام شد. بذور گوجه‌فرنگی رقم بناب از مرکز تحقیقات کشاورزی آذربایجان‌شرقی تهیه شد. بذور در شرایط استریل زیر هود لامینار ابتدا به مدت ۹۰ ثانیه در اتانول ۷۰ درصد و سپس با هیپوکلریت سدیم (وایتکس) ۲/۵ درصد به مدت ۱۵ دقیقه ضد عفونی شد و در محیط‌کشت ½MS حاوی نمک‌های MS، ویتامین‌های B5، ۳۰ گرم بر لیتر ساکارز و ۶ گرم بر لیتر آگار کشت شدند (۵). در آزمایش اول ریزنمونه‌های کوتیلدونی

DOI: 10.22034/cmr.2023.2311 مقاله پژوهشی، صفحات ۲۶۰-۲۴۸

(کوتیلدون کامل با قاعده برش یافته) و قطعات کوتیلدونی با برش‌های عرضی یک میلی‌متری به عنوان لایه نازک از کوتیلدون‌های ۸ و ۱۲ روزه حاصل از کشت استریل بذور رقم مذکور تهیه و در یک محیط‌کشت MS تکمیل شده با ۲ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر IAA قرار داده شدند. از هر نوع ریزنمونه ۵ عدد در هر پتری کشت شدند. کشت‌ها در اتاق رشد با دمای ۲۵±۲ درجه سلسیوس و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی با شدت نور در حد ۲۰۰۰ لوکس نگهداری شدند (۳۴).

در آزمایش دوم بعد از مشخص شدن بهترین سن ریزنمونه‌ها اثر تنظیم کننده‌های BAP (۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ میلی‌گرم در لیتر) به تنهایی و در ترکیب با NAA (۰/۲ و ۰/۴ میلی‌گرم در لیتر) و IAA (۰/۲ و ۰/۴ میلی‌گرم در لیتر) در بهبود ظرفیت اندام‌زایی رقم مذکور با استفاده از دو ریزنمونه کوتیلدونی و لایه نازک سلولی در یک آزمایش فاکتوریل برمبنای طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرارمورد مطالعه قرار گرفتند.

در آزمایش سوم پس از انتخاب بهترین تیمار برای شاخه-زایی ریزنمونه‌های مذکور، برای به‌دست‌آوردن بهترین ترکیب از اثر سدیم نیتروپروساید (۱۰، ۱۵ و ۳۰ میکرو مولار) و سیلیکون (۵، ۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر) هر کدام به صورت تکی و در ترکیب با هم در یک آزمایش فاکتوریل برمبنای طرح کاملا تصادفی انجام شد. برای این منظور ریزنمونه‌ها در محیط‌کشت تکمیل شده با تنظیم - کننده‌های رشد گیاهی بهینه شده در ترکیب با یکی از تیمارهای مذکور قرار داده شدند.

این آزمایش به صورت فاکتوریل مجزا با طرح پایه کاملاً تصادفی در ۳ تکرار به اجرا در آمد. پس از انجام آزمایش-ها، اطلاعات مربوط به درصد باززایی و میانگین تعداد شاخه باززا شده برای هر ریزنمونه محاسبه گردیدند. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها به کمک نرم‌افزار (SPSS V ۲۶) صورت گرفت و مقایسه میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن ($P\leq0/05$) انجام شد. جهت رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده گردید.

نتایج و بحث

طی آزمایش مقدماتی جهت تشخیص بهترین نوع و سن ریزنمونه رقم بناب گوجه‌فرنگی، دو ریزنمونه کوتیلدون و TCL (قطعات کوتیلدونی با برش‌های عرضی یک میلی‌متر) در محیط‌کشت حاوی ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر IAA و ۲ میلی‌گرم در لیتر BAP کشت شدند (شکل ۱ الف). طی نتیجه ی این آزمایش کوتیلدون‌های ۱۲ روزه باززایی مناسبی نداشتند ولی ریزنمونه‌های ۸ روزه بهترین میزان باززایی و تعداد شاخساره را داشتند. به طوری که اختلاف میزان باززایی به حدی بود که نیاز به آنالیز اماری برای تعیین معنی داری آنها نبود. لذا ریزنمونه‌های ۸ روزه که بهترین باززایی را داشتند به عنوان بهترین سن ریزنمونه برای بقیه آزمایش انتخاب شدند (شکل ۱ ب). سن ریزنمونه در موفقیت کشت‌بافت مؤثر بوده و بافت‌های نرم و جوان در مقایسه با بافت‌های پیر برای کشت‌بافت انعطاف پذیرتر هستند. سلول‌های تشکیل دهنده بافت‌های جوان واکوئل‌های کوچک‌تری داشته و در آن‌ها نسبت هسته به کل سلول زیادتر است، بنابراین توانایی و فعالیت این سلول‌ها نسبت به سلول‌های پیرتر برای تقسیم‌سلولی بیشتر می‌باشد (۵). بافت‌های جوان‌تر از نظر فیزیولوژیکی پاسخ بهتری به کشت درون شیشه‌ای نشان می‌دهند و به همین دلیل ریزنمونه‌هایی که از بافت‌های مسن‌تر گرفته شده‌اند اغلب قدرت باززایی ندارند. همچنین استریل کردن ریزنمونه‌های جوان‌تر برای دستیابی به یک کشت عاری از آلودگی راحت‌تر است (۵). دایی و همکاران (۱۹۸۸) گزارش کردند که ظرفیت باززایی در گوجه فرنگی با افزایش سن ریزنمونه کاهش یافت. در این مطالعه افزایش سن چهار روزه ریزنمونه ها در توده زراعی بناب ظرفیت باززایی را تا نزدیک صفر کاهش داد.

DOI: 10.22034/cmr.2023.2311 مقاله پژوهشی، صفحات ۲۶۰-۲۴۸

شکل ۱- الف) عدم پاسخ کوتیلدون‌ها و TCLهای ۱۲ روزه رقم بناب به اندام‌زایی پس از یک ماه. ب) کوتیلدون‌ها و TCLهای بریده شده از برگ گیاه گوجه‌فرنگی. ج) اندام‌زایی گوجه فرنگی در محیط حاوی ۲ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۰/۲ میلی‌گرم بر لیتر IAA. د) اندام زایی گیاه گوجه‌فرنگی در حضور ۱۵ میکرومولار SNP. ن) اندام زایی گیاه گوجه‌فرنگی در حضور ۵ میلی‌گرم در لیتر سیلیکون. و) اندام زایی گیاه گوجه‌فرنگی در حضور ۵۰ میلی‌گرم در لیتر سیلیکون. ه) عدم اندام زایی گیاه گوجه‌فرنگی در حضور ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر سیلیکون.

بعد از مشخص شدن بهترین سن ریزنمونه‌ها در آزمایش اول، اثر ریزنمونه و تنظیم کننده‌های BAP (۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ میلی‌گرم در لیتر) به تنهایی و در ترکیب با NAA (۰/۲،۰/۴ میلی‌گرم در لیتر) و IAA (۰/۲،۰/۴ میلی‌گرم در لیتر) در بهبود ظرفیت اندام‌زایی رقم بناب در یک آزمایش فاکتوریل برمبنای طرح کاملا تصادفی با ۳ تکرار مطالعه و سپس نمونه‌ها هر دو هفته یکبار به محیط‌کشت جدید منتقل شدند. تجزیه واریانس نشان داد که اثر ریز نمونه در هر دو صفت اندام‌زایی غیر معنی دار بود و اختلافی بین دو ریز نمونه در این رقم از لحاظ قدرت باززایی وجود نداشت. ولی دو ریزنمونه در ترکیب‌های تنظیم کننده گیاهی متفاوت پاسخ متفاوتی را نشان دادند (جدول ۱).

هر چند در این بررسی دو ریزنمونه از لحاظ اندام‌زایی تفاوت معنی‌داری نداشتند ولی با توجه به اینکه از هر کوتیلدون گیاه گوجه‌فرنگی می‌توان حدود ۵ تا ۸ لایه نازک سلولی به عرض ۱ میلی‌متر تهیه کرد، کارایی آن در ریز ازدیادی آن به مراتب بیشتر می‌تواند باشد.

مقایسه میانگین ۲۰ ترکیب تنظیم کننده‌های رشد گیاهی برای درصد باززایی ریزنمونه‌ها و تعداد شاخساره‌های باززا شده از هر ریزنمونه به ترتیب در شکل‌های ۲ و ۳ آمده است. نتایج مربوطه نشان می‌دهد که بطور کلی تمامی تیمارها به جز تیمار ۱ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۰/۲ میلی-گرم در لیتر IAA آن هم تنها در مورد ریزنمونه TCL، باززایی بالای ۹۰ درصد را داشتند.

بیشترین تعداد شاخساره بدست آمده فقط به ترکیب تنظیم کننده‌های رشد ۲ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر IAA تعلق داشت. بقیه‌ی ترکیب‌های تنظیم کننده‌های رشدی از نظر آماری به طور معنی‌داری تعداد شاخساره کمتری نسبت به این ترکیب نشان داده‌اند (شکل ۱ ج).

نوع ریزنمونه مورد استفاده برای کشت‌بافت و باززایی، نه تنها در تعداد ریزنمونه باززا شده، بلکه در تعداد شاخساره تولید شده از هر ریزنمونه هم مؤثر است (۳۵).

DOI: 10.22034/cmr.2023.2311 مقاله پژوهشی، صفحات ۲۶۰-۲۴۸

جدول ۱- تجزیه واریانس داده‌های مربوط به صفات درصد باززایی و تعداد شاخساره مورد مطالعه در آزمایش اول (BAP همراه با NAA و IAA).

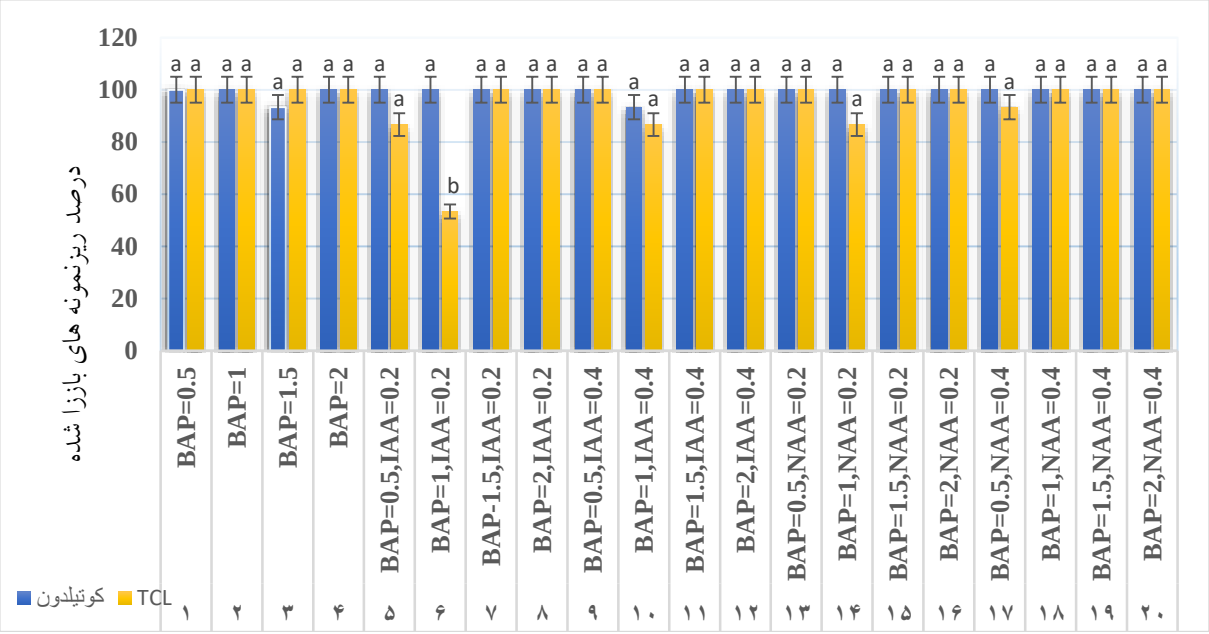
		میانگین مربعات	
منابع تغییرات	درجه آزادی	درصد باززایی	تعداد شاخساره
ریزنمونه	۱	۴۸۰^{ns}	۰/۱۱۵^{ns}
ترکیب تنظیم کننده رشد گیاهی	۱۹	۱۹۳/۶۸۴*	۴/۳۸۴*
ریزنمونه*ترکیب تنظیم کننده‌های رشد گیاهی	۱۹	۱۸۵/۲۶۳*	۰/۸۱۲*
خطای آزمایش	۸۰	۳۳/۳۳۳	۰/۰۶۷
کل	۱۱۹	_	_
ضریب تغییرات(٪)	_	۵/۹۳	۱۴/۳۱

انتخاب نوع ریزنمونه، نوع و غلظت تنظیم کننده‌های رشد گیاهی برای موفقیت در باززایی درون شیشه‌ای دارای اهمیت زیادی است و توانایی ریزنمونه‌های مختلف از لحاظ موفقیت در کشت درون شیشه‌ای متفاوت می‌باشد (۱۲). کشت‌بافت گوجه‌فرنگی و باززایی گیاه در شرایط آزمایشگاهی از ریزنمونه‌های مختلف (از جمله لپه خرد شده بذر، هیپوکتیل‌ها، برگ‌ها، بخش‌های ساقه و دمبرگ) از طریق مسیر ارگانوژنز صورت گرفته است (۳۸). درصد باززایی ریزنمونه‌ها در ژنوتیپ‌های مختلف بررسی شده و کوتیلدون و هیپوکتیل‌ها بهترین گزینه برای باززایی گوجه فرنگی محسوب می‌شوند (۴۰). در رقم مورد مطالعه استفاده از هر دو نوع ریزنمونه اثر یکسانی را در قدرت اندام‌زایی داشتند و هر دو ریزنمونه اندام‌زایی خوبی را داشتند. استفاده از برش‌های نازک سلولی به عنوان ریزنمونه، باعث افزایش کالوس‌زایی، جنین‌زایی و در نهایت باززایی و افزایش تعداد شاخساره می‌گردد. مشخص شده است که ریزنمونه‌های TCL به دلیل اینکه تعداد سلول کمتر و معینی دارند، سطح تماس این ریزنمونه‌ها با محیط-کشت افزایش می‌یابد و قابلیت جذب موادغذایی و ترکیبات هورمونی در آنها نسبت به نمونه‌های بزرگتر بهتر و سریعتر می‌شود. مزیت کشت‌بافت به روش TCL این است که این سیستم دارای سلول‌های مشابه از نظر فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی هستند و می‌توانند تمام الگوهای مورفوژنز را باهم آغاز کنند و با استفاده از فاکتورهای مختلف، انواع فرآیندهای ریخت‌زایی را در سیستم کشت لایه نازک سلولی القاء کنند (۲۱ و ۳۴). استفاده از لایه‌های سلولی نازک عرضی (tTCL) بریده‌شده از مریستم‌های آپیکال ساقه نهال‌های دو هفته‌ای برنج (*Oryza sativa* L.) موجب تولید مستقیم شاخساره برنج، در یک بازه زمانی کوتاه، با عملکرد بالا و بدون نیاز به خرده‌کشتی شد (۲۳). استفاده از روش لایه نازک سلولی در گیاه استویا (*Stevia rebaudiana*) موجب افزایش کارایی بافت این گیاه شد (۲۷).

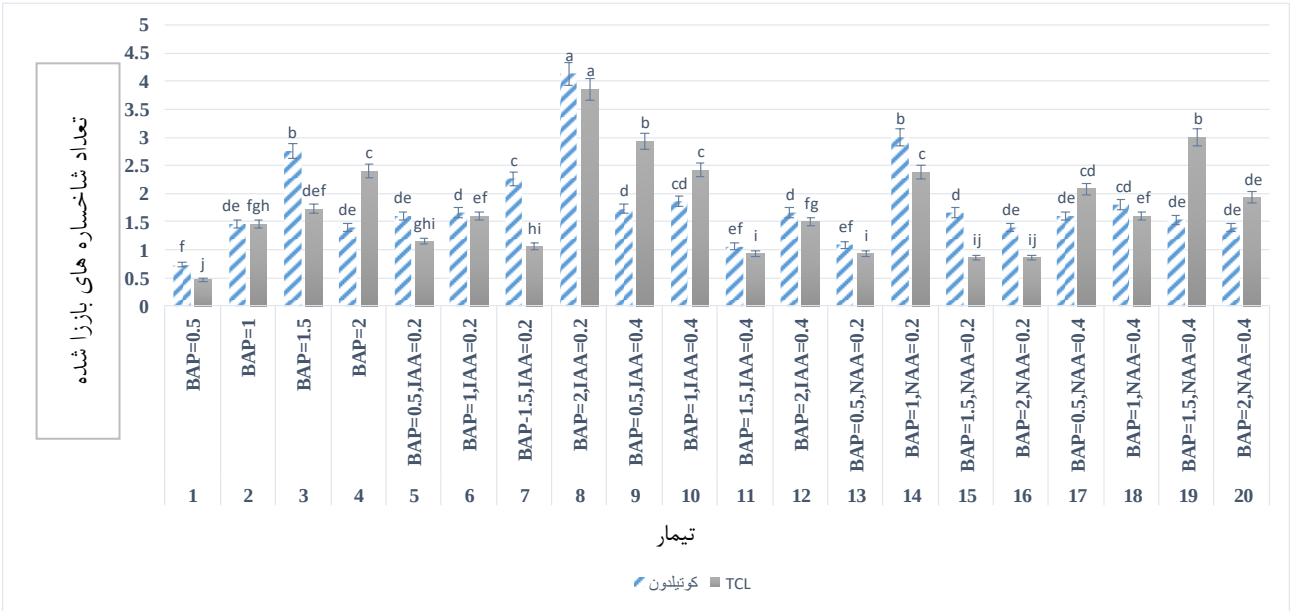
بیشترین تعداد شاخساره در محیط‌کشت حاوی ۲ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر IAA حاصل شد که مطابق با مطالعه ویکرام و همکاران (۲۰۱۱) بود که گزارش کردند که در ترکیب BAP همراه با IAA، بازه غلظت ۳- ۳/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر IAA بیشترین تعداد شاخساره را به ازای ریزنمونه تولید می‌کند (۳۶). محمد و همکاران (۲۰) نیز گزارش کردند که بیشترین تعداد شاخساره در محیط‌کشت حاوی ۲ میلی‌گرم درلیتر BAP در ترکیب با ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر IAA حاصل شد. پاسخ به باززایی و القای جوانه به حضور BAP در محیط بستگی دارد (۲۲ و ۳۶). تحقیقات نشان داد که محیط‌کشت حاوی سیتوکنین زآتین و اکسین IAA در تمام موارد به طور معنی‌داری بهتر از ترکیب محیط‌کشت حاوی BAP و NAA بود (۷). در محیط‌کشت حاوی ترکیبی از BAP و IAA میزان باززایی مشابه با محیط‌کشت حاوی

مقاله پژوهشی، صفحات ۲۶۰-۲۴۸
DOI: 10.22034/cmr.2023.2311

سیتوکنین زآتین با IAA بوده است (۳ و ۱۶). BAP در ترکیب با IAA باعث باززایی شاخه‌ها و القای شاخساره از ریزنمونه‌های گوجه‌فرنگی شد و همچنین مشاهده شد که مقدار بالای اکسین منجر به ایجاد مقدار زیادی ریشه می‌شود (۴۰).



شکل ۲- میانگین درصد ریزنمونه‌های باززا شده کوتیلدون و TCL با اعمال ۲۰ ترکیب تنظیم کننده‌های رشد گیاهی مختلف.
*حروف مشابه نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در سطح احتمال یک درصد می‌باشد.



شکل ۳- میانگین تعداد شاخساره‌های باززا شده از کوتیلدون‌ها و TCL با اعمال ۲۰ ترکیب تنظیم کننده‌های رشد گیاهی مختلف.
* حروف مشابه نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در سطح احتمال یک درصد می‌باشد.

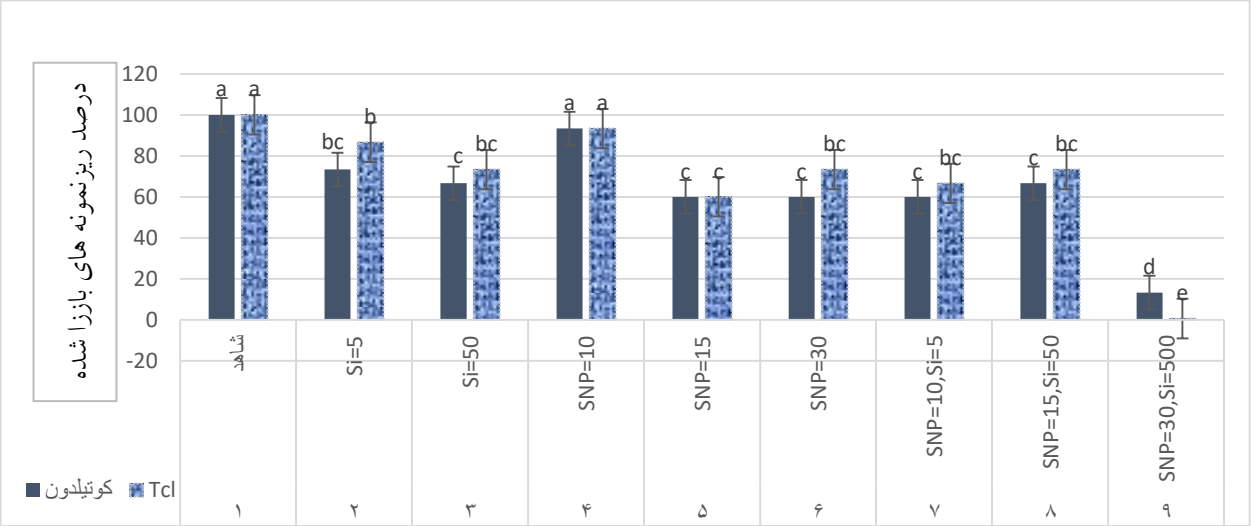
مقاله پژوهشی، صفحات ۲۶۰-۲۴۸
DOI: 10.22034/cmr.2023.2311

پس از انتخاب بهترین تیمار برای شاخه‌زایی ریزنمونه‌های مذکور، آزمایش سوم برای به‌دست‌آوردن بهترین ترکیب از اثر سدیم نیتروپروساید و سیلیکون در قالب فاکتوریل مبتنی بر طرح کاملاً تصادفی انجام شد. برای این منظور ریزنمونه‌های منتخب در محیط‌کشت تکمیل شده با تنظیم کننده‌های رشد گیاهی بهینه شده در ترکیب با یکی از تیمارهای مذکور قرار داده شدند.

اثر سیلیکون و سدیم نیتروپروساید در اندام‌زایی درون شیشه‌ای گوجه فرنگی: در جهت بهبود کیفی و کمی اندام زایی درون‌شیشه‌ای گوجه فرنگی رقم بناب اثر دو ترکیب سدیم نیتروپروساید و سیلیکون مورد مطالعه قرار گرفت. تجزیه آماری داده‌های بدست آمده برای صفات درصد باززایی و تعداد شاخساره نشان داد که اثر ریزنمونه غیر معنی‌دار بود ولی بین تیمارها هم از نظر درصد باززایی و هم از نظر تعداد شاخساره در سطح احتمال ۱ درصد اختلاف معنی‌دار وجود داشت و اثر متقابل ریزنمونه با تیمار تکمیلی در صفت درصد باززایی غیر معنی دار ولی در تعداد شاخساره باززا شده معنی دار بود (جدول ۲) (شکل های ۴ و ۵).

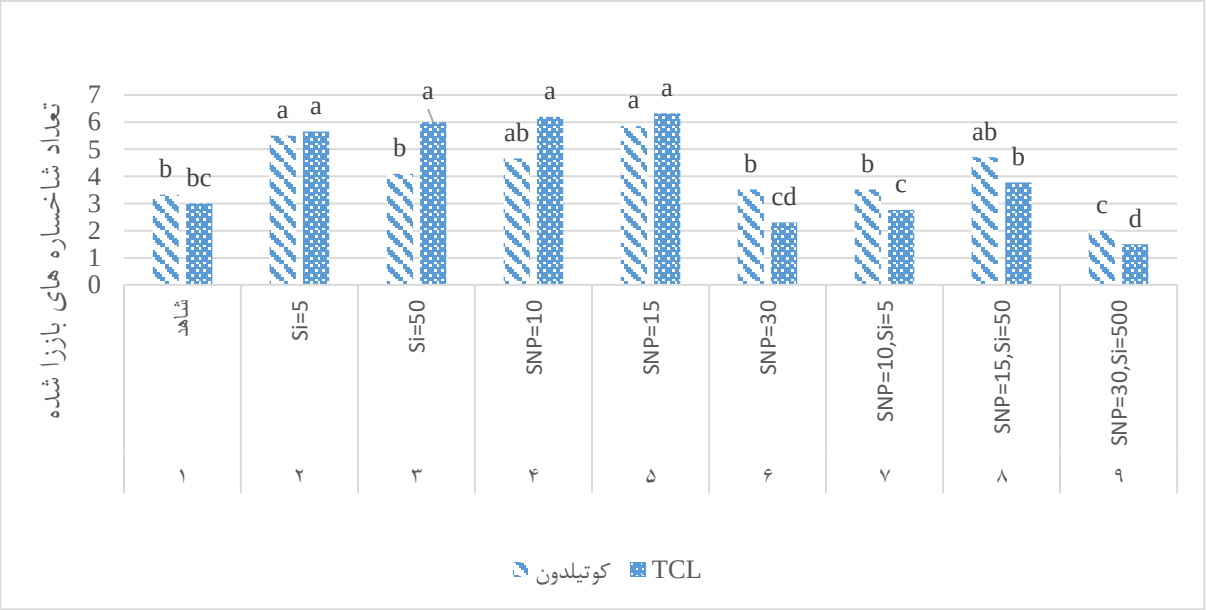
جدول ۲- تجزیه واریانس داده‌های مربوط به صفات درصد باززایی و تعداد شاخساره مورد مطالعه در آزمایش سوم.

		میانگین مربعات	
منابع تغییرات	درجه آزادی	درصد باززایی	تعداد شاخساره
ریزنمونه	۱	۶۶/۶۶^{ns}	۰/۰۲۱^{ns}
ترکیب تنظیم کننده‌های رشد گیاهی	۸	۴۵۹۶/۲۹*	۱۳/۱۴۳*
ریزنمونه*ترکیب تنظیم کننده‌های رشد گیاهی	۸	۱۰۰ ^{ns}	۱/۷۶۸*
خطای آزمایش	۳۶	۶۶/۶۶	۰/۴۳
کل	۵۳	_	_
ضریب تغییرات(٪)	_	۰/۱۰۵	۵/۰۲



شکل۴- میانگین درصد ریزنمونه‌های باززا شده کوتیلدون و TCL در پاسخ به ترکیب منتخب آزمایش دوم همراه با دو نوع مکمل سیلیکون و سدیم نیتروپروساید. *حروف مشابه نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در سطح احتمال یک درصد می‌باشد.

مقاله پژوهشی، صفحات ۲۶۰-۲۴۸
DOI: 10.22034/cmr.2023.2311



شکل ۵- میانگین درصد تعداد شاخساره از کوتیلدون‌ها و TCL در پاسخ به ترکیب منتخب آزمایش دوم همراه با دو نوع مکمل سیلیکون و سدیم نیتروپروساید. *حروف مشابه نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در سطح احتمال یک درصد می‌باشد.

مقایسه میانگین تیمارها نشان داد که اضافه کردن ۱۰ و ۱۵ میکرومولار SNP به محیط اندام زایی موجب افزایش تعداد شاخساره و رشد طولی شاخه‌ها و در غلظت ۱۵ میکرومولار باعث تولید ریشه نیز شد (شکل ۱ د). در حالی که اضافه کردن ۳۰ میکرومولار SNP موجب کاهش تعداد شاخساره نسبت به شاهد شده و همچنین باززایی را هم کاهش داد ولی در این میزان از SNP موجب تولید ریشه بیشتر شد.

از عوامل تعیین کننده در اندام زایی مستقیم درون شیشه‌ای در گوجه فرنگی تنظیم کننده های رشد گیاهی و غلظت مناسب آن است. در بین تنظیم کنندهای سیتوکنینی استفاده از غلظت بالاتری از BAP در ترکیب با غلظت‌پایین تری از اکسین‌های طبیعی مانند IAA نتایج بهتری را در اندام زایی بهمراه دارد. عزیز خواجه و دورانی (۱۳۹۷) بیشترین تعداد اندام زایی درون‌شیشه‌ای را در گوجه فرنگی از محیط کشت تکمیل شده با ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر IAA گزارش کردند (۲). در مطالعه حاضر بهترین اندام زایی از تیمار ۲ میلی‌گرم در لیتر BAP همراه ۰/۲ میلی گرم در لیتر IAA حاصل شد (شکل ۳) که هر چند رقم های مورد استفاده در این دو مطالعه متفاوت بودند ولی نتایج تقریبا به هم نزدیک بود. در مطالعه ای بر روی اندام زایی گیاه دارویی هندوانه ابوجهل انجام گرفت بهترین اندام زایی در حضور یک اکسین قوی مانند NAA با غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر و BAP با میزان پایین تری (۱ میلی‌گرم در لیتر) بدست آمد (۱). این تفاوت‌های فاحش در میزان مناسب تنظیم کننده های مورد استفاده می تواند به خاطر تفاوت در میزان هورمون‌های داخلی ریزنمونه گیاهی متاثر از گونه و نوع بافت باشد.

تحقیقات انجام شده در مورد اثرات مثبت مکمل SNP نشان داد که این مکمل در تقسیم‌سلولی و همچنین در باززایی و تکثیر شاخه‌ها نقش دارد. استفاده از سدیم نیتروپروساید (SNP) به‌عنوان اهداکننده NO در نشاء گوجه-فرنگی (*Lycopersicon esculentum* Mill.) باعث ظهور و افزایش طول ریشه‌جانبی شد (۸). در تکثیر آزمایشگاهی چای کوهی در محیط‌کشت MS استفاده از ۲/۲ میکرومولار BAP همراه با ۱۰ میکرومولار SNP باعث افزایش تکثیر

DOI: 10.22034/cmr.2023.2311 مقاله پژوهشی، صفحات ۲۶۰-۲۴۸

شاخساره‌ها شد. استفاده از ۲۰ میکرومولار SNP بیشترین طول شاخه (۱/۸± ۱۷/۵ میلی‌متر) را نشان داد. با این حال، SNP (۱۰-۴۰ میکرومولار) باعث بروز علائم بیش از حد رطوبت ۳۰-۱۰۰٪ در گیاهچه‌ها شد (۲۹). در آزمایشی بر روی والریانا محیط‌کشت حاوی ۱/۵ میلی‌گرم برلیتر NAA همراه با ۱۵ میکرومولار SNP موجب تشکیل حداکثر تعداد کالوس (۹۱/۱۸٪) گردید. ولی استفاده مکمل SNP به تنهایی و بدون NAA به طور قابل توجهی باعث کاهش کالوس‌زایی شد و باززایی اغلب بافت‌ها را میسر کرد. استفاده از ۱۵ میکرومولار SNP حداکثر شاخه‌زایی (۸۹/۳۲٪) در شرایط آزمایشگاهی را نشان داد. در این آزمایش هیچ محیط القایی ریشه جداگانه‌ای لازم نبود زیرا محیط‌کشت حاوی SNP برای تولید ریشه کافی بود ۲۷). این اثر SNP در غلظت بالای آن (۳۰ میکرو مولار) در ریشه زایی گوجه فرنگی حتی در حضور سیتوکنین در این مطالعه مشاهده شد. نیتریک اکساید در غلظت‌های پایین (۲۰۰-۱۰ میکرومولار) موجب افزایش تعداد و طول ریشه‌های گیاه همیشه بهار گردد. درحالی که در غلظت‌های بالا (۱۰۰۰ میکرومولار) موجب سرکوب ریشه‌های گیاه همیشه بهار شد (۱۸).

غلظت‌های۵۰ و ۵ میلی‌گرم در لیتر سیلیکون، موجب افزایش شاخساره‌های ایجاد شده گردید (شکل ۱ ن - و). اضافه کردن ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر مکمل سیلیکون کلا موجب متوقف شدن باززایی و در نتیجه عدم رشد ریزنمونه شده و شاخساره‌ای هم تشکیل نشد (شکل ۱ ه). سیلیکون دارای مزیت‌هایی از جمله افزایش ظرفیت فتوسنتز، افزایش مقدار کلروفیل‌ها، کاهش تعرق، افزایش رشد گیاه و افزایش مقاومت مکانیکی سلول می‌باشد (۴۰). در آزمایشی برروی گونه‌ای گیاه ارکیده با افزایش مقدار سیلیکون از ۰/۰۱ به ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر رشد گیاهچه‌ها افزایش یافت. بیشترین مقدار رشد گیاهچه‌ها زمانی رخ داد که مقدار سیلیکون از ۰/۵ به ۱ میلی‌گرم در لیتر افزایش یافت (۳۹). در مطالعات قبلی گزارش شده است که استفاده از سیلیسیم میتواند با افزایش جذب نیتروژن و فرایند متابولیسم اولیه کارایی استفاده از نیتروژن را افزایش دهد (۳۲). مطالعات زیادی تاثیر مثبت کاربرد عنصر سیلیسیم بر بیان ژن‌های دخیل در سیستم دفاعی گیاهان نظیر چالکون سنتاز، فنیل آلانین آمونیالیاز، پراکسیداز، کیتیناز و سایر ژن‌های مربوط را تایید کرده‌اند (۳۸).

اضافه کردن مکمل سیلیکون و سدیم نیتروپروساید در غلظت‌های بالا، تاثیر چندانی بر درصد باززایی کوتیلدون و لایه نازک سلولی گیاه گوجه‌فرنگی نداشت و درمورد تیمارهای مکمل ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر سیلیکون و ۳۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید تعداد شاخساره‌ها از نظر آماری به شکل معنی‌داری کمتر از شاهد نیز بودند. نکته جالب اینکه ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر سیلیکون به تنهایی باعث ایجاد تنش در ریزنمونه شد ولی درصورت استفاده همزمان از SNP و سیلیکون در غلظت بالا تا حدودی سدیم نیتروپروساید از اعمال تنش توسط سیلیکون جلوگیری کرده و موجب باززایی ریزنمونه‌ها شد. نتایج مشابهی را از اثرات غلظت بالای سدیم نیتروپروساید در رشد مزرعه‌ای گوجه فرنگی گزارش شده است (۸). اندرسون و منسفایلد (۱۹۷۹) اثرات NO را وابسته به غلظت آن می‌دانند (۹).

اضافه‌کردن ۵۰ میلی‌گرم در لیتر سیلیکون همراه با ۱۵ میکرومولار سدیم نیتروپروساید موجب افزایش تعداد شاخساره‌های باززا شده از کوتیلدون و لایه نازک سلولی گیاه گوجه‌فرنگی شد.

نتیجه گیری

گوجه‌فرنگی دارای اهمیت غذایی و دارویی بالایی است و تنش‌های زیستی و غیر زیستی متعددی تولید آن را تحت تأثیر قرار می‌دهد، از این رو در 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.

DOI: 10.22034/cmr.2023.2311 مقاله پژوهشی، صفحات ۲۶۰-۲۴۸

یک سیستم باززایی درون شیشه‌ای مطلوب برای تراریختی ژنتیکی مؤثر با کاربرد تجاری ضروری است (۴). بسیاری از ژنوتیپ‌های گوجه‌فرنگی پاسخ‌های منحصر به فردی نسبت به تنظیم کننده‌های رشد گیاهی در طول باززایی می-دهند (۱۷). یکی از روش‌هایی که در کشت‌بافت و مهندسی ژنتیک به طور موفقیت‌آمیزی مورد استفاده قرار گرفته است، لایه نازک سلولی (TCL) است. استفاده از این روش موجب افزایش کارایی کشت‌بافت‌ها در گونه‌های مختلف گیاهی شده است (۲۲). در این پژوهش مشخص شد که کشت لایه نازک سلولی در گوجه‌فرنگی به صرفه و کاربردی است.

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 (۲۴). در این پژوهش بهترین ترکیب از بین ۲۰ تیمار تنظیم کننده رشد گیاهی برای تولید شاخساره بیشتر، ترکیب ۲ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر IAA انتخاب شد.

علاوه بر موادغذایی محیط‌کشت، استفاده از یک سری مواد مکمل آلی در اندام‌زایی گیاهان در کشت درون‌شیشه‌ای و سازگاری آنها به محیط طبیعی تاثیر مثبتی داشته است (۳۱). در این پژوهش از بین غلظت‌های مورد بررسی، استفاده از سدیم نیتروپروساید در غلظت‌های ۱۰ و ۱۵ میکرومولار باعث افزایش تعداد شاخساره شد. استفاده از سیلیکون در غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر باعث افزایش تعداد شاخساره و در غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر، موجب عدم باززایی و تولید شاخساره گردید. استفاده همزمان از سدیم نیترو پروساید و سیلیکون در غلظت‌های مختلف موجب کاهش درصد باززایی و تعداد شاخساره شد.

منابع

۱- ق. ز.، ا. معصومی اصل. و ر. امیری فهلیانی. ۱۳۹۶. بررسی باززایی مستقیم گیاهچه در دو جمعیت گیاه دارویی هندوانه ابوجهل (*Citrullus colosynthis* L.) با استفاده از انواع ریزنمونه و تنظیم کننده‌های رشد. مجله پژوهشهای سلولی و مولکولی (زیست شناسی ایران). ۳۰ (۳): ۲۶۴-۲۷۳

۲- عزیز خواجه، آ. و ا. دورانی. ۱۳۹۷. اثر پیش تیمار 2,4-D و تنظیم کننده‌های رشد گیاهی بر باززایی گوجه فرنگی (*Solanum lycopersicum* L.). مجله پژوهشهای سلولی و مولکولی (زیست شناسی ایران). ۳۱(۱): ۶۷-۷۵.

3- Ahsan, N., Lee, S.H., Lee, D.G., Anisuzzaman, M., Alam, M., Yoon, H.S., Choi, M. *et al.* 2007. The effects of wounding type, preculture, infection method and cocultivation temperature on the Agrobacterium-mediated gene transfer in tomatoes. Annals of Applied Biology, 151(3): 363-372.

4- Al Murad, M., Khan, A.L. and Muneer, S. 2020. Silicon in horticultural crops: cross-talk, signaling, and tolerance mechanism under salinity stress. Plants, 9(4): 460.

5- Alatar, A.A., Faisal, M., Abdel-Salam, E.M., Canto, T., Saquib, Q., Javed, S.B., El-Sheikh, M.A. *et al.* 2017. Efficient and reproducible in vitro regeneration of Solanum lycopersicum and assessment genetic uniformity using flow cytometry and SPAR methods. Saudi Journal of Biological Sciences, 24(6): 1430-1436.

6- Bhatia, P., Ashwath, N. and Midmore, D.J. 2005. Effects of genotype, explant orientation, and wounding on shoot regeneration in tomato. In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant, 41(4): 457-464.

7- Bhatia, P., Ashwath, N., Senaratna, T. and Midmore, D. 2004 .Tissue culture studies of tomato (*Lycopersicon esculentum*). Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 78(1): 1-21.

8- Cedergreen, N. and Madsen, T.V. 2003. Nitrate reductase activity in roots and shoots of aquatic macrophytes. Aquatic Botany, 76(3): 203-212.

9- Corpas, F.J., Barroso, J.B., Carreras, A., Quirós, M., León, A.M., Romero-Puertas, M.C., Esteban, F.J. *et al.* 2004. Cellular and subcellular localization of endogenous nitric oxide in young and senescent pea plants. Plant physiology, 136(1): 2722-2733.

DOI: 10.22034/cmr.2023.2311 مقاله پژوهشی، صفحات ۲۶۰-۲۴۸

10- Correa-Aragunde, N., Graziano, M. and Lamattina, L. 2004. Nitric oxide plays a central role in determining lateral root development in tomato. Planta, 218(6): 900-905.

11- Da Silva, J.A.T. and Dobránszki, J. 2013. Plant thin cell layers: a 40-year celebration .Journal of Plant Growth Regulation, 32(4): 922-943.

12- Feher, A., Pasternak, T.P. and Dudits, D. 2003. Transition of somatic plant cells to an embryogenic state. Plant Cell, Tissue and Organ culture, 74(3): 201-228.

13- Floryszak-Wieczorek, J., Milczarek, G ,. Arasimowicz, M. and Ciszewski, A. 2006. Do nitric oxide donors mimic endogenous NO-related response in plants Planta, 224(6): 1363-1372.

14- Gao, N., Shen, W., Cao, Y., Su, Y. and Shi, W. 2009. Influence of bacterial density during preculture on Agrobacterium-mediated transformation of tomato. Plant Cell, Tissue and Organ Culture (Pctoc), 98(3): 321-330.

15- George, E.F., Hall, M.A. and De Klerk, G.-J. 2008. The components of plant tissue culture media II: organic additions, osmotic and pH effects, and support systems, Plant propagation by tissue culture. Springer, pp. 115-173.

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

17- Ishag, S., Osman, M.G. and Khalafalla, M.M. 2009. Effects of growth regulators, explant and genotype on shoot regeneration in tomato (*Lycopersicon esculentum* cv *Omdurman*). Int. J. Sustain. Crop Prod, 4(6): 7-13.

18- Kalloo, G. 2012. Genetic improvement of tomato, 14. Springer Science and Business Media.

19- Kurtz, S.M. and Lineberger, R.D. 1983. Genotypic differences in morphogenic capacity of cultured leaf explants of tomato. Journal of the American Society for Horticultural Science, 108(5): 710-714.

20- Liao, W., Xiao, H. and Zhang, M. 2009. Role and relationship of nitric oxide and hydrogen peroxide in adventitious root development of marigold. Acta physiologiae plantarum, 31(6): 1279-1289.

21- Mohamadi-Nasab, A., Motalebi-Azar, A. and Moktarzadeh, S. 2017. The effect of Naphthaleneacetic Acid and two cytokinins on callus and shoot induction from hypocotyls thin cell layer explants in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill). Agriculture and Forestry/Poljoprivreda Sumarstvo, 63(1).

22- Mohamed, A.-a.N., Ismail, M.R. and Rahman, M.H. 2010. In vitro response from cotyledon and hypocotyls explants in tomato by inducing 6-benzylaminopurine. African Journal of Biotechnology, 9(30): 4802-4807.

23- Nhut, D.T., Van Le ,B. and Van, K.T.T. 2000. Somatic embryogenesis and direct shoot regeneration of rice (*Oryza sativa* L.) using thin cell layer culture of apical meristematic tissue. Journal of Plant Physiology, 157(5): 559-565.

24- Nhut, D.T., Van Le, B. and Van, K.T.T. 2001 . Manipulation of the morphogenetic pathways of Lilium longiflorum transverse thin cell layer explants by auxin and cytokinin. In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant, 37(1): 44-49.

25- Pandey, S., Sundararajan, S., Ramalingam, S. and Pant, B. 2020. Effects of sodium nitroprusside and growth regulators on callus, multiple shoot induction and tissue browning in commercially important Valeriana jatamansi Jones. Plant Cell, Tissue and Organ Culture (Pctoc), 142(3): 653-660.

26- Plastira, V.A. and Perdikaris, A .1996. effect of genotype and explant type in regeneration frequevcy of tomato invitro, III International Symposium on In Vitro Culture and Horticultural Breeding 447, pp. 231-234.

27- Ramírez-Mosqueda, M.A. and Iglesias-Andreu, L.G. 2016. Direct organogenesis of Stevia rebaudiana Bertoni using thin cell layer (TCL) method. Sugar Tech, 18(4): 424-428.

28- Rodrigues, F.Á., McNally, D.J., Datnoff, L.E., Jones, J.B., Labbé, C., Benhamou, N., Menzies, J.G. *et al*. 2004. Silicon enhances the accumulation of diterpenoid phytoalexins in rice:

مقاله پژوهشی، صفحات ۲۶۰-۲۴۸ DOI: 10.22034/cmr.2023.2311

a potential mechanism for blast resistance. Phytopathology, 94(2): 177-183.

29- Sarropoulou, V. and Maloupa, E. 2017. Effect of the NO donor “sodium nitroprusside”(SNP), the ethylene inhibitor “cobalt chloride”(CoCl 2) and the antioxidant vitamin E “α-tocopherol” on in vitro shoot proliferation of Sideritis raeseri Boiss. and Heldr. subsp. raeseri. Plant Cell, Tissue and Organ Culture (Pctoc), 128(3): 619-629.

30- Seymour, G.B., Taylor, J.E. and Tucker, G.A. 2012. Biochemistry of fruit ripening. Springer Science and Business Media.

31- Siddiqui, M.H., Al-Whaibi, M.H. and Basalah, M.O. 2011. Role of nitric oxide in tolerance of plants to abiotic stress. Protoplasma, 248(3): 447-455.

32- Singh, K., Singh, R., Singh, J., Singh, Y. and Singh, K. 2006. Effect of level and time of silicon application on growth, yield and its uptake by rice (*Oryza sativa*). Indian Journal of Agricultural Science, 76(7): 410-413.

33- Tripathi, P., Tripathi, R.D., Singh, R.P., Dwivedi, S., Goutam, D., Shri, M., Trivedi, P.K. *et al* .2013 .Silicon mediates arsenic tolerance in rice (*Oryza sativa* L.) through lowering of arsenic uptake and improved antioxidant defence system. Ecological Engineering, 52: 96-103.

34- Van, D.T., Ferro, N. and Jacobsen, H.-J. 2010. Development of a simple and effective protocol for Agrobacterium tumefaciens mediated leaf disc transformation of commercial tomato cultivars. GM Crops, 1(5): 312-321.

35- Van, K.T.T. and Van Le, B. 2000. Current status of thin cell layer method for the induction of organogenesis or somatic embryogenesis, Somatic embryogenesis in woody plants. Springer, pp. 51-92.

36- Vikram, G., Srikanth, K. and Swamy, N.R. 2011. Effect of plant growth regulators on in vitro organogenesis in cultivated tomato (*Solanum lycopersicum* L.). J Res Biol, 1(4): 263–268.

37- Wangkaew, B. 2019. Silicon concentration and expression of silicon transport genes in two Thai rice Varieties. CMU J. Nat Sci, 18: 358-372.

38- Wayase, U. and Shitole, M. 2014. Effect of plant growth regulators on organogenesis in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) cv. Dhanashri. International Journal of Pure and Applied Sciences and Technology, 20(2): 65.

39- Yin, L., Wang, S., Tanaka, K., Fujihara, S., Itai, A., Den, X. and Zhang, S. 2016. Silicon-mediated changes in polyamines participate in silicon-induced salt tolerance in S orghum bicolor L. Plant, Cell and Environment, 39(2): 245-258.

40- Zhang, W., Hou, L., Zhao, H. and Li, M. 2012. Factors affecting regeneration of tomato cotyledons. Bioscience Methods, 3.

41- Zhuo, T.-S. 1995. The detection of the accumulation of silicon in Phalaenopsis (*Orchidaceae*). Annals of Botany, 75(6): 605-607.

مقاله پژوهشی، صفحات ۲۶۰-۲۴۸ DOI: 10.22034/cmr.2023.2311

Effect of explant, sodium nitroprusside and silicon on in-vitro organogenesis of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.)

Jeiranpour Khameneh H. and Dorani E.*

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

Abstract

In the present study, the effect of nitroprusside and silicon on the organogenesis of cotyledonary thin cell layer explants of tomato of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) was studied. This research was conducted in three independent experiments. In the first experiment, cotyledon explants and thin cell layers with 1 mm transverse sections of 8 and 12 days old cotyledons were cultured in MS medium supplemented with 2 mg/L BAP and 2 0.0 mg/L of IAA. Obviously almost all 8-day-old explants regenerated shoots but 12-day-old explants get the necrosis without any organogenesis. After determining the best age of the explant, in the second experiment the effect of BAP alone and in combination with NAA and IAA was evaluated in improving the organogenesis of tomato using both explants. The results showed that almost all Plant regulator combination had more than 90% organogenesis. In the analysis of the number of shoots, the medium supplemented with 2 mg/L of BAP and 0.2 mg/L of IAA showed the highest shoots number per explant. In the third experiment adding 10, 15 and 30 µM of nitroprusside, significantly increased the shoot induction frequency, number of shoots per explants and root induction, respectively. The addition of 50 and 5 mg/L of silicon to the culture medium increased the number of shoots per explants, but adding 500 mg/L of silicon completely stopped the organogenesis.

Key words: In vitro organogenesis, Regeneration, Tissue culture, Plant growth regulator, Explant.