مجله علوم کشاورزی ایران
جلد ۳۵، شماره ۲، سال ۱۳۸۳ (۲۹۹-۲۹۳)

ارزیابی کالوس‌زایی وباززایی ژنوتیپ‌های برنج ازطریق کشت بساک

حبیب الله عارفی[۱]، محمد نوروزی[۲] و نادعلی باقری[۳]
۱، ۲، کارشناسان موسسه تحقیقات برنج کشور در مازندران ۳، دانشجوی کارشناسی ارشد
تاریخ پذیرش مقاله ۸۲/۷/۲۳

خلاصه

این تحقیق بمنظور ارزیابی ژنوتیپ ۵ رقم برنج و بعضی از F1های حاصل از این ارقام در کشت بساک انجام پذیرفت. واکنش این ارقام و تعدادی از آنها در ایجاد کالوس و قدرت باززایی از کالوس‌ها در محیط کشت‌های مختلف کالوس‌زایی بنام‌های G1, FJ4, FJ1 و L8 مشتق شده از محیط کشت اصلی موراشیک واسکوگ مورد مطالعه و ارزیابی قرار گرفتند. با بررسی و تعیین درصد کالوس‌های ایجاد شده ازبساک و تعداد گیاهچه‌های باززایی شده از کالوس‌ها در محیط کشت‌های فوق، ارقام و F1های حاصل مورد ارزیابی قرار گرفتند.مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن نشان داد که بهترین محیط کشت کالوس‌زایی ازبین چهار محیط کشت مشتق شده از N6 محیط کشت FJ4 بوده ومهمترین رقم از نظر عکس‌العمل ژنوتیپ‌ها به تولید کالوس، رقم قصرالدشتی بود (۴۸/۵٪) ونتاج (F1) حاصل ازرقم قصرالدشتی با رقم IR28 (۳ /۲۹٪) بیشترین مقدار کالوس را تولید کردند. در مورد محیط کشت باززایی، محیط کشت SK11 برتر بود و رقم قصرالدشتی ونتاج حاصل از تلاقی‌های رقم قصرالدشتی با IR28 ورقم سالاری با رقم IR28 بیشترین باززایی را در این محیط کشت (SK11) نشان داده است.

واژه‌های کلیدی : برنج، کالوس، باززایی، ژنوتیپ، کشت بساک، محیط کشت

مقدمه

کشت بساک روشی را برای تولید لاین‌های خالص در مدت کوتاهی فراهم می‌کند که نسبت به روش‌های سنتی که نیاز به چندین نسل دارد نیز ترجیح داده می‌شود (۱، ۲، ۳). نگوین و همکاران (۱۹۹۳)، تأثیر اثر متقابل ژنوتیپ و محیط کشت را بر روی تشکیل کالوس ارقام ایندیکا ازطریق کشت بساک که مورد مطالعه قرار دادند بیان کردند که اثر متقابل ژنوتیپ و محیط کشت معنی‌دار بوده و تشکیل کالوس بین ۱/۸ تا ۲۸ درصد متغیر بوده که بیشترین کالوس زایی را به ترتیب در محیط کشت‌های L8, G1 و Fj1 داشته اند و همچنین دامنه باززایی برای ارقام مورد آزمایش از۱۳ درصد تا ۲۵ درصد متغیر بوده که بیشترین باززایی را در محیط کشت SK11 با یک میلی گرم بر لیتر نکوتنیک‌اسیداستیک(NAA) و ۱ میلی‌گرم برلیترکاینیتین (Kin) داشته است.

دراز و همکاران (۱۹۹۱) بطور کلی ارقام برنج ژاپونیکا در تولید کالوس و باززایی در کشت بساک نسبت به ارقام ایندیکا بیشتر واکنش نشان داده اند وگاهی هیبریدها F1 نیز بیشتر ازوالدین خود واکنش نشان می‌دهند. کیم وهمکاران (۱۹۹۱) گزارش کردند که مهمترین واکنش به کشت بساک را هیبرید ژاپونیکا × ژاپونیکا و به دنبال آن هیبرید ایندیکا × ژاپونیکا و سپس تلاقی‌های ایندیکا × ایندیکا دارند.

یان و همکاران (۱۹۹۶) با مطالعه تجزیه قابلیت ترکیب‌پذیری نشان دادند که اثر افزایشی ژن در کنترل کالوس‌زایی و باززایی زیاد بوده، بطوریکه ارقام ژاپونیکا قابلیت ترکیب پذیری بیشتری برای باززایی گیاه سبز را داشته‌اند. سان و همکاران (۱۹۹۲) گزارش داده‌اند که واکنش کشت بساک ارقام برنج ایندیکا در شرایط طول روز و درجه حرارتی که گیاهان رشد کرده‌اند، مؤثر بوده ومیزان تشکیل کالوس در

مکاتبه کننده: حبیب‌اله عارفی

گیاهان مادری تحت شرایط رطوبت با طول روز کوتاه یا رطوبت با درجه حرارت پایین رشد کرده بیشترین مقدار بوده است و بالاترین میزان کالوس‌زایی (۴۲/۲٪) در شرایط دمای ۲۵/۷ درجه سانتی گراد و طول روز ۱۴ ساعت به دست آمده است، همچنین نسبت گیاهچه‌های سبز به آلبینو تحت شرایط طول روز کوتاه بیشتر بوده است. بجاج (۱۹۹۱) گزارش نموده که قابلیت کالوس‌ها برای باززایی گیاه سبز نیز در مرحله نمو و پیشرفت رشدی میکروسپور تعیین می‌شود، کالوس‌های بدست آمده ازمیکروسپورها در مراحل پیشرفته، ظرفیت کمتری برای باززایی گیاه سبز داشته وگیاهان باززایی شده بیشتر آلبینو می‌باشند.

کریم و زاپاتا (۱۹۹۱) در مطالعاتشان گزارش نمودند که بیشترین موفقیت در کالوس‌زایی را از کشت بساک‌هایی که دارای میکروسپور در مراحل اواخر تک هسته‌ای تا مراحل اولیه دو هسته‌ای بوده‌اند، بدست آوردند. زاپاتا و همکاران (۱۹۹۸) محیط کشت ، یکی از اجزای مهم برای تولید کالوس از بساک می‌باشد و نیازهای غذایی برای تشکیل آندروژنسیس و برای رشد جنین‌های تشکیل شده متفاوت بوده، دریافتند که محیط کشتهای مختلف برای ژنوتیپهای مختلف متفاوت میباشد، که محیط کشت N6 بهترین نتیجه را در کشت دانه گرده جدا شده از رقم ژاپونیکا (Taipei 309) داشته، در حالیکه بعضی از رقم ایندیکا (IR-34) بهترین واکنش را در محیط کشت E10 (تغییر یافته محیط کشت B5) داشته است. زانگ وهمکاران (۱۹۹۲) در مطالعه‌ای برروی تأثیر ۸ تیمار هورمونی مختلف در کشت بساک برنج گزارش داده‌اند که ترکیبی شامل دو میلی گرم بر لیتر تو، فور، دی (2, 4- D) و یا دو میلی گرم بر لیتر نفتالین اسید استیک (NAA) ویک میلی گرم بر لیتر کاینتین یا ۰/۵ میلی‌گرم‌برلیتربنزیل‌آمینو پورین(BAP) بالاترین میزان تشکیل گیاهچه سبز را برای هیبریدهای ژاپونیکا×ایندیکا داشته است.

مواد و روش‌ها

در سال زراعی ۱۳۷۸ تعداد ۵ رقم برنج بنام‌های آمل ۳، IR28، قصرالدشتی، سالاری و رشتی و بذور دورگ حاصل از تلاقی دای‌آلل یکطرفه بین والدین که در سال قبل تهیه شده‌اند در خزانه بذرپاشی گردیدند. سپس والدین و ۶ عدد از دورگ‌ها در خزانه هنگامی که ارتفاع نشا به ۲۰ سانتی‌متر رسیدند به زمین اصلی انتقال و نشا کاری به صورت تک نشا به فاصله ۲۵×۲۵ سانتی‌متر انجام شد و پس از مراقبتهای زراعی از گیاهان در زمین اصلی، آنگاه که فاصله گوشوارک برگ پرچم پنجه ها در بوته تا برگ ما قبل خود ۹-۵ سانتی متر شد اقدام به جمع‌آوری پنجه‌های اولیه (۴-۳ پنجه در یک بوته) نمودیم که در این حالت سلول‌های دانه‌های گرده در مرحله اواخر تک‌هسته‌ای به ابتدای مرحله دو هسته ای می باشد. که در این مرحله دانه گرده بهترین عکس‌العمل را نسبت به ایجاد کالوس از خود نشان می‌دهند، ساقه‌های جمع‌آوری شده را پس از حذف برگهای اضافی با آب مقطر شسته و با الکل اتیلیک ۷۰٪ ضد عفونی شدند و سپس در داخل فویل آلومینیم پیچیده و به مدت ۸ روز در دمای ۸ درجه‌سانتی‌گراد در یخچال نگهداری نمودیم سپس خوشه‌ها را در داخل اطاق کشت زیر دستگاه لامینارفلو از غلاف خارج وگلچه‌ها را در داخل کلراکس ۲۰٪ به مدت ۲۰ دقیقه ضدعفونی کردیم و آنگاه، بساکها را از گلچه خارج و بر روی چهار محیط کشت مختلف کالوس‌زایی G1وFj1, Fj4,L8 مشتق شده ازN6 که نوع و مقدار قند و هورمون‌های تنظیم کننده رشد در این محیط کشت‌ها متفاوت بوده‌اند (جدول شماره ۱) کشت داده‌ایم.حدود ۶۰ پرچم در هر پتری دیش پلاستیکی کاملا استریل شده (به ابعاد ۱۵×۶) محتوی ۶ میلی‌لیتر محیط غذایی کالوس‌زا قرار گرفتند. سپس‌پتری‌دیش‌ها (۲۴۰عدد) را پس از ایزوله‌کردن با پارافیلم آنها را کاملا با ورق آلومینیم پیچانده شدند و به مدت چهار هفته در انکوباتور در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد در تاریکی مطلق قرار داده وهنگامی‌که قطر کالوس‌ها به اندازه ۴-۲ میلی‌متر شدند پس از تعیین درصد کالوس‌زایی رقم‌ها و F1ها در محیط کشت مختلف، آنها را را به سه محیط غذایی مختلف باززایی M7, SK11 و M5 مشتق شده از MS که میزان ونوع قند و هورمونهای رشد متفاوت بودند (جدول شماره ۱) انتقال داده شده‌اند و در اطاق روشنایی (۱۰۰۰ لوکس) تحت شرایط ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند پس از گذشت سه هفته آنگاه که کالوس‌ها رنگ سبز به خود گرفتند پس ازشمارش و تعیین درصد کالوس‌های باززایی شده به لوله‌های آزمایش به طول ۲۰ سانتی متر حاوی همان محیط کشت MS انتقال داده شدند و

تحت شرایط طول روز ۱۴ ساعت روشنایی و ۱۰ ساعت تاریکی با درجه‌حرارت ۲۴ و ۲۱ درجه سانتی گراد به ترتیب در روز و شب نگهداری نموده و پس از آنکه گیاهچه‌ها به اندازه کافی در داخل لوله آزمایش رشد نمودند جهت رشد بیشتر ریشه‌ها و سازگاری با محیط طبیعی به محلول یوشیدا انتقال داده شده‌اند و تحت شرایط خاص فوق نگهداری شدند و پس ازسه هفته آنها را از محیط کشت یوشیدا (۱۹۷۶) به داخل گلدان حاوی خاک زراعی منتقل و تا رسیدن کامل در آنجا نگهداری شدند که پس از شناسایی بوته های هاپلوئید آنها را تحت تیمار ۰/۱ درصد کلشی‌سین برای ۵-۴ ساعت قرار گرفتند. پس از این مرحله ازبوته‌های دوبار رشد یافته بذرگیری شده وجهت ارزیابی مزرعه‌ای کشت خواهند شد. برای تجزیه آماری از آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با ۱۲ تکرار استفاده گردید و همچنین از تبدیل داده‌های مناسب جهت نرمال نمودن داده‌ها از نرم افزار Word و Mstatc جهت تجزیه و تحلیل استفاده شده است.

نتایج و بحث

نتایج این مطالعه حاکی از این است که تمامی ارقام و هیبریدهای مورد آزمایش، کالوس تشکیل شده و در محیط کشت‌های مختلف باززایی واکنش‌های متفاوتی نشان داده‌اند (جدول‌های ۳، ۴، ۵ و ۶). تجزیه واریانس داده‌ها برای کالوس‌زایی نشان دهنده اینست که بین ارقام و تلاقی‌ها و همچنین بین محیط کشت‌ها از نظر تولید کالوس اختلاف معنی‌داری در سطح یک درصد (P<۰/۰۱) وجود داشته است (جدول۲). در این بررسی رقم قصرالدشتی با میانگین تولید کالوس ۲۳/۱ درصد بهترین رقم از بین ارقام مورد آزمایش بوده است (جدول ۳).

جدول ۱ - تنظیم کننده‌های رشد (میلی‌گرم در لیتر) برای محیط کشت کالوس‌زایی و باززایی

تنظیم کننده‌های رشد	محیط کشت کالوس‌زا				محیط کشت باززایی		
	G1	L8	FJ4	FJ1	M7	SK11	M5
Kinitin	۰/۷	۲	۰/۵	۰/۵	۱/۶	۱	۴
2.4- D	۲	۰/۵	۱	۰/۵	۱/۵	۱	۱
NAA	۲/۵	۳/۵	۲/۵	۲/۵	—	۱	—
BAP	—	—	—	—	—	۱	—
قند	۴٪ساکارز	۵٪ساکارز	۲٪مالتوز	۴٪ساکارز	۳٪ساکارز	۴٪ساکارز	۳٪ساکارز

جدول ۲- نتایج تجزیهٔ واریانس کالوس‌زایی و باززایی

منبع تغییرات	میانگین مربعات	
	کالوس زایی	باززایی
واریته	۸۵۹/۰۴**	۰/۳۳**
محیط کشت	۵۸۳۰/۴۵**	۱/۶۶**
واریته × محیط کشت	۴۵۳/۳۸**	۰/۲۱**
تلاقی (هیبریدها)	۳۵۹/۷**	۰/۱۳**
محیط کشت	۲۳۰۱/۸۸**	۱/۳۵**
هیبریدها × محیط کشت	۱۸۵/۴۶**	۰/۰۷۵**

** اختلاف معنی‌دار در سطح یک درصد

جدول ۳- کشت بساک ارقام در محیطهای غذایی کالوس‌زا ومقایسه میانگین درصد کالوس تولید شده با استفاده‌ازآزمون‌دانکن(P <۰/۰۱)

والدین	محیط غذایی	تعداد پرچم کشت داده شده	تعداد کالوسهای ایجاد شده	درصد کالوس تولید شده
آمل ۳	FJ1	۶۰۰	۱۶۰	۲۶/۶ C
	FJ4	۶۰۰	۱۸۵	۳۰/۸ B
	L8	۶۰۰	۲۲	۳/۶ I
	G1	۶۰۰	۲۱	۳/۵ I
IR28	FJ1	۷۲۰	۱۳۵	۱۸/۷۵ De
	FJ4	۷۲۰	۱۹۷	۲۷/۳ C
	L8	۷۲۰	۲۸	۳/۸ I
	G1	۷۲۰	۳۹	۵/۴ Ki
قصرالدشتی	FJ1	۶۶۰	۱۱۳	۱۷/۵ Ef
	FJ4	۶۶۰	۳۲۱	۴۸/۵ A
	L8	۶۶۰	۷۷	۱۱/۶ Gh
	G1	۶۶۰	۹۹	۱۵ Fg
سالاری	FJ1	۹۶۰	۱۲۵	۱۳ G
	FJ4	۹۶۰	۱۸۹	۱۹/۶ De
	L8	۹۶۰	۷۰	۷/۳ Ijk
	G1	۹۶۰	۹۰	۹/۳ Hij
رشتی	FJ1	۹۶۰	۱۱۶	۱۲ Gh
	FJ4	۹۶۰	۲۰۵	۲۱/۶ D
	L8	۹۶۰	۶۷	۶/۹ Jkl
	G1	۹۶۰	۱۰۷	۱۱/۱ Ghi

جدول۴-کشت‌بساک هیبریدها در محیطهای غذایی کالوس‌زا ومقایسه میانگین درصد کالوس تولید شده با استفاده‌ازآزمون‌دانکن(P <۰/۰۱)

والدین	محیط غذایی	تعداد پرچم کشت‌داده‌شده	تعداد کالوسهای ایجاد شده	درصد کالوس تولید شده
آمل ۳ × رشتی	FJ1	۹۰۰	۱۵۱	۱۶/۷cde
	FJ4	۹۰۰	۱۵۲	۱۶/۸ cde
	L8	۹۰۰	۱۰۱	۱۱/۲ fghi
	G1	۹۰۰	۱۴۸	۱۶/۵ cde
سالاری ×آمل ۳	FJ1	۹۶۰	۱۴۸	۱۵/۴ def
	FJ4	۹۶۰	۱۶۲	۱۶/۹ cde
	L8	۹۶۰	۱۰۳	۱۰/۷ ghij
	G1	۹۶۰	۴۷	۴/۸ kl
قصرالدشتی× آمل۳	FJ1	۱۲۰۰	۲۵۴	۲۱/۲ bc
	FJ4	۱۲۰۰	۲۵۹	۲۱/۶ b
	L8	۱۲۰۰	۵۴	۴/۵ ki
	G1	۱۲۰۰	۱۰۵	۸/۸ hijk
قصرالدشتی× IR28	FJ1	۱۱۴۰	۱۹۶	۱۷/۲ bcde
	FJ4	۱۱۴۰	۳۳۴	۲۹/۳ a
	L8	۱۱۴۰	۱۸۷	۱۶/۴ cde
	G1	۱۱۴۰	۸۲	۷/۲ hijkl
سالاری × IR28	FJ1	۱۲۰۰	۱۷	۱۴/۱ efg
	FJ4	۱۲۰۰	۱۸۷	۱۵/۵ cde
	L8	۱۲۰۰	۴۳	۳/۵ l
	G1	۱۲۰۰	۶۵	۵/۴ jkl
رشتی ×IR28	FJ1	۹۶۰	۱۲۲	۱۲/۷ fgh
	FJ4	۹۶۰	۱۹۸	۲۰/۶ bcd
	L8	۹۶۰	۶۴	۶/۶ ijkl
	G1	۹۶۰	۸۲	۸/۵ hijk

تلاقی قصرالدشتی × IR28 با میانگین ۱۷/۵ درصد برترین تلاقی از نظر کالوس‌زایی در این آزمایش بوده وهمچنین مقایسه بین محیط کشت‌های مختلف نشان داد که محیط کشت FJ4 با 1mg/L 2,4-D+ 0.5 mg/L Kin+2.5 mg/LNAA برتری معنی داری نسبت به سایر محیط کشت‌ها از نظر کالوس‌زایی داشته است و محیط کشت‌های G1,FJ1 و L8 به ترتیب در گروه‌های بعدی آزمون دانکن قرار گرفتند (جدول ۴).

جدول ۵- انتقال کالوسهای حاصل از والدین به محیط غذایی باززایی و مقایسه میانگین درصد باززایی با استفاده ازآزمون دانکن (P<۰/۰۱)

والدین	محیط غذایی	تعدادکالوسهای انتقال‌داده شده	تعداد کالوسهای باززایی شده	درصد گیاهچه
آمل ۳	M5	۴۵	۱	۲/۲ b
	M7	۴۵	_	—
	Sk11	۴۵	۶	۱۳/۳ b
IR28	M5	۴۵	_	—
	M7	۴۵	۲	۴/۴ b
	Sk11	۴۵	۶	۱۳/۳ b
قصرالدشتی	M5	۴۵	۲	۴/۴ b
	M7	۴۵	۳	۶/۶ b
	Sk11	۴۵	۱۹	۴۲/۲ a
سالاری	M5	۴۵	۳	۶/۶ b
	M7	۴۵	۱	۲/۲ b
	Sk11	۴۵	۵	۱۱/۲ b
رشتی	M5	۴۵	۱	۲/۲ b
	M7	۴۵	۳	۶/۶ b
	Sk11	۴۵	۵	۱۱/۱۱ b

مقایسه میانگین اثر متقابل محیط کشت‌های کالوس‌زایی ارقام نشان داد که قصرالدشتی در محیط کشت FJ4 بیشترین میزان کالوس (۴۸/۵٪) را تولید نموده و در گروه اول آزمون چند دامنه‌ای دانکن قرار گرفت. همچنین کمترین میزان کالوس‌زایی (۳/۵٪) را در این مطالعه رقم آمل ۳ در محیط کشت G1 با 2mg/L 2,4-D+ 0.7mg/l Kin+2.5mg/ L NAA تولید نموده است (جدول۳). همچنین مقایسه میانگین اثر متقابل محیط کشت کالوس‌زا و هیبریدها نشان داد که تلاقی رقم‌های قصرالدشتی × IR28 در محیط کشت FJ4 بیشترین درصد کالوس‌زایی (۲۹/۳٪) را تولید نموده است و برتری معنی‌داری نسبت به سایر هیبریدها داشت و تلاقی رقم‌های سالاری × IR28 در محیط کشت کالوس‌زایی L8 با 0.5mg/L 2,4-D+2.0mg/L Kin+3.5mg/L NAA کمترین میزان کالوس (۳/۵٪) را تولید نموده است (جدول ۴).

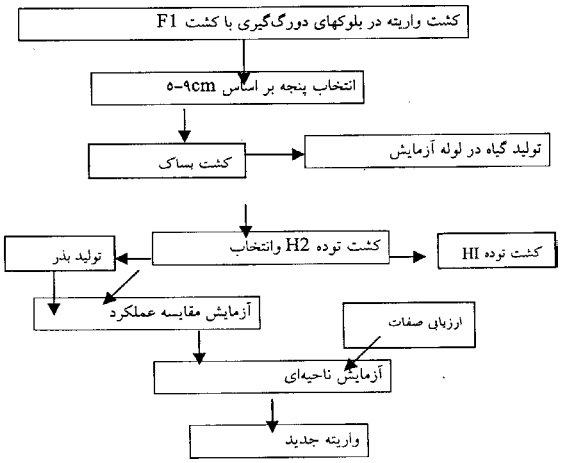
جدول ۶- انتقال کالوسهای حاصل از والدین به محیط غذایی باززایی و مقایسه میانگین درصد باززایی با استفاده ازآزمون دانکن (P<٪۱)

والدین	محیط غذایی	تعداد کالوسهای انتقال‌داده شده	تعداد کالوسهای باززایی شده	درصد کالوسهای باززایی شده
رشتی × آمل ۳	M5	۶۰	–	—
	M7	۶۰	–	—
	Sk11	۶۰	۵	۸/۳ b
سالاری ×آمل ۳	M5	۶۰	—	—
	M7	۶۰	—	۱/۶ b
	Sk11	۶۰	۵	۸/۳ b
قصرالدشتی× آمل۳	M5	۶۰	۱	۱/۷ b
	M7	۶۰	—	—
	Sk11	۶۰	۶	۱۰ b
قصرالدشتی × IR28	M5	۶۰	۱	۱/۷ b
	M7	۶۰	۲	۳/۳ b
	Sk11	۶۰	۷	۱۱/۷ a
سالاری × IR28	M5	۶۰	۲	۳/۳ b
	M7	۶۰	۱	۱/۷ b
	Sk11	۶۰	۶	۱۰ b
رشتی ×IR28	M5	۶۰	۲	۳/۳ b
	M7	۶۰	—	—
	Sk11	۶۰	۵	۸/۳ b

تجزیه واریانس داده‌های حاصل ازباززایی حاکی از معنی‌دار شدن ارقام، تلاقی‌ها، محیط کشت باززایی در سطح یک درصد (P<۰/۰۱) می‌باشد (جدول ۲). مقایسه میانگین ارقام از نظر میزان باززایی نشان داد که رقم قصرالدشتی با متوسط تعداد ۸ کالوس باززایی شده (٪۱۷/۶۷) در محیط کشت‌های M5 , M7 و SK11 بیشتر از سایر ارقام باززایی داشته ولی در بین سایر ارقام از نظر میزان باززایی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد(جدول ۵). همچنین در بین هیبریدها بیشترین درصد باززایی هیبرید قصرالدشتی × IR28 در محیط کشت SK11 بوده وکمترین درصد باززایی، هیبرید سالاری × آمل ۳ در محیط کشت M7 مشاهده شده است (جدول۶). ازبین محیط کشت‌های باززایی، محیط کشت باززایی SK11 با یک میلی‌گرم بر لیتر نفتالین اسید استیک و کینیتین و بنزیل آمینو پورین نسبت به سایر محیط کشت‌های باززایی برتری معنی‌داری داشته و محیط کشت‌های باززایی M7 و M5 با همدیگر تفاوت معنی‌داری نداشته‌اند (جدول ۶).

مقایسه ارقام ومحیط کشت نشان داد که واریته قصرالدشتی در محیط کشت باززایی SK11 (٪۴۲/۲) برتری معنی‌داری در سطح یک درصد نسبت به سایر محیط کشت و ارقام داشته ولی بین بقیه محیط کشت‌ها و ارقام اختلاف معنی‌داری در آزمون دانکن (در سطح یک درصد) مشاهده نشده است (جدول ۵). همچنین مقایسه اثر متقابل هیبریدها ومحیط کشت‌های باززایی نشان داد که تلاقی رقمهای قصرالدشتی × IR28 در محیط کشت SK11 بیشترین میزان باززایی (٪۱۱/۷) را داشته و برتری معنی داری در سطح یک درصد با سایر آثار متقابل داشته ولی بین سایر آثار متقابل اختلاف معنی‌داری در سطح یک درصد مشاهده نشد (جدول ۶). بطور کلی دامنه کالوس‌زایی در بین ارقام و هیبریدهای مورد آزمایش از ٪۳/۵ تا ٪۴۸/۵ متغیر بوده و کمترین کالوس‌زایی را رقم آمل ۳ در محیط کشت G1 و تلاقی رقم های سالاری × IR28 در محیط کشت L8 داشته و بیشترین کالوس‌زایی را رقم قصرالدشتی در محیط کشت FJ4 داشته است (جدول ۳ و ۴). همچنین دامنه باززایی ارقام وهیبریدهای مورد آزمایش از صفر تا ۴۲/۲ درصد متغیر بوده که بیشترین درصد باززایی را رقم قصرالدشتی در محیط کشت SK11 داشته است (جدول۵ و ۶).

مراحل مختلف اصلاح گیاه برنج از طریق کشت بساک



برتری کالوس‌زایی هیبریدهای رقم رشتی × آمل ۳ و قصرالدشتی × IR28 نسبت به والدین‌شان (رقم رشتی و IR28 بترتیب برای‌هیبریدهای اول‌و دوم)با مشاهدات کروکن (۱۹۹۵)، یان‌و همکاران (۱۹۹۶) مبنی بر افزایش واکنش هیبریدها نسبت به والدین خود مطابقت دارد. از نتایج فوق می‌توان چنین استنباط نمود که قابلیت کالوس‌زایی و باززایی کاملا تحت تأثیر ژنوتیپ می‌باشد چرا که رقم قصرالدشتی بیشترین کالوس و باززایی را دارا بود نتاج آن نیز دارای همین خصوصیت می باشد.

سپاسگزاری

از همکاری آقایان : مهندس عبدا... رمضانی بخاطر مساعدت در انجام امور اجرای این تحقیق در آزمایشگاه و مهندس محمد زمان نوری دلاور بخاطر ارشادات در امور محاسبات آماری کمال تشکر و سپاس را دارم و از واحد کامپیوتر مهندس کیانی بخاطر تایپ کامپیوتری ونهایتا از کلیه همکاران که در اجرای این مطالعه قبول زحمت نموده‌اند قدردانی می‌نمایم.

مراجع مورد استفاده **REFERENCES**

۱. باقری،ع. و م.صفاری. ۱۳۷۶. مبانی کشت بافت گیاهی. انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد

۲. یزدی صمدی،ب. و س.عبد میشانی. ۱۳۷۰. اصلاح نباتات زراعی – انتشارات مرکز دانشگاهی

۳. هنرنژاد،ر. ۱۳۷۲.کاربرد کشت سلولها و بافتهای گیاهی در اصلاح نباتات. کنگره زراعت و اصلاح نباتات

4. Bajaj, Y.P.S. 1991. Biotechnology in Agriculture and forestry, Vol 14, Rice Springer-Verlag . Berlin Heidelderg.
5. Croughan, T.D. 1995. Anther culture for double haploid production. In: Gamborg, O.L. Plant. cell(ed). Plant cell Tissue and organ culture. P:143-154.
6. Draz, A. E., J. Zapata, & G. S. Khush. 1991. Development of dihaploid rice lines through anther culture (II). International rice research news letter. 16(5): 6-7.
7. Karim. N. H. & F. J. Zapata. 1991. Rice. Plantlet development through anther culture. Indica. Journal of plant physiology. 32 (2): 119-124.
8. Kim. H. S., Y. T. Lee, S. Y. Lee, & T. S. Kim. 1991. Anther culture effeciency in different rice genotypes under different cold pretreatment durations and culture tempreratures. Research reports of the rural development administration. Biotechnology. 33: 5-13.
9. Nguyen, M., F. J. Zapata, & M. Don-Nguyen. 1993. Effect of interaction anther culture of vietnamese indica rice (Oryza sativa L). between genotype and culture medium on cullus induction and plant regeneation of anther culture of vietnamese indica rice (Oriza sativa L.) International Rice Research Notes. 19(3): 10-11.
10. Sun, Z. X., H. M. Si, X. Y. Zahan, & S. H. Chen. 1992. The effect of thermo- photoperiod for doner plant growth on anther culture of indica rice. In: C.B. You (Ed.), Biotechnology on agriculture. Proceedings of the first Asian pacific conference on Agricultural Biotechnology, Beijing China, 20-24 August 1992. Current plant science and Biotechnology on agriculture. 15: 361-364.
11. Yan, J. Q., Q. Z. Xue, & J. Zhu. 1996. Genetic studies of anther culture ability in rice (*Oryza sativa* L.). Plant cell, tissue and organ culture.45(3): 253-258.
12. Yoshida, S ., D. A . Forno, J. H. Cock, & K. A. Gomz. 1976. Routine procedures for growing ricse plants in culture solution pages 61-66 in laboratory manual for physiological studies of rice. International Rice Research Institute, Los Banos, Laguna, Philippines.
13. Zapata, F. J., R. K. Aldemita, E, S. Ella, & M. S. Cho .1998. Isolated micropore culture of rice at the IRRI.In: Rice Genetic II. Proc. Second Intl. Rice Res. Genet. Symp. 14-18 May 1990. PP.311-319, IRRI, Manila.
14. Zhang, Z. X., Y. W. Xiang, Y. Y. Wang, A. Z. Zhang, & X. M. Zhon. 1992. A study of the effect of. different horwone treatments on rice anther culture. Journal of South west agricultural university. 14 (4): 351-355.

Iranian, J. Agric. Sci. Vol. 35, No. 2, 2004

An Investigtion of Callus Induction and Regeneration of Rice Genotypes (*Oryza sativa* L.) by Anther Culture

H. AREFI[1], M. NOROUZI[2] AND N. A. BAGHERI[3]
1, 2, Experts, State Rice Research Institute, Mazandaran
3, Former Graduate Student
Accepted, Oct. 15, 2003

SUMMARY

This study was conducted to evaluate callus induction and plant regeneration from anther in 5 rice genotypes as well as F1 rice plants. In the study callus induction medium N_6 modified (FJ, FJ_4, G_1 and L_8) and induction medium Murashige & Skoog's modified (M_5, M_7 and SK_{11}) were used. The results indicated that FJ_4 was the best for callus induction with Ghasrod – dashti (48.5%) and F_1 from Ghasroddashti× IR28 (29.3%) exhibiting the maximum induction. Also regeneration in SK_{11} medium was better than in other media in Ghahsrod-Dashti (42.2%) and F_1 (Ghasrod-dashti × IR28) (11.7%) and Salari ×IR28 (10%).

Key words: Callus, Regeneration, Anther culture, Rice (*Oryza sativa* L.)