تأثیر ژنوتیپ و محیط کشت کالوس‌زایی بر کارایی کشت بساک هیبریدهای برنج ایندیکا × ایندیکای هتروتیک

خدیجه علی‌زاده یلوجه[1*]، محمود سلوکی[1]، ابوبکر جوهرعلی[2]، علی اکبر عبادی[2] و آذرخش ترابی[2]

(تاریخ دریافت: ۱۳۸۶/۱۰/۴ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۷/۱۰/۲۴)

چکیده

در این تحقیق پاسخ به کشت بساک سه هیبرید برنج ایندیکا × ایندیکای هتروتیک (بهار۱، IR75221H و IR69688H) روی چهار محیط کشت کالوس‌زا (N6، N6 تغییریافته، Chu و Chu تغییریافته) در مؤسسه تحقیقات برنج کشور بررسی شد. هیبریدهای مورد مطالعه از طریق تعیین درصد کالوس‌های ایجاد شده از بساک‌های مرحله اواسط تک هسته‌ای تا اوایل مرحله دو هسته‌ای و تعداد گیاهچه‌های باززایی شده از کالوس‌ها در محیط‌های کشت فوق، مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که ژنوتیپ، ترکیب محیط کشت و اثر متقابل آنها روی درصد کالوس‌زایی، باززایی گیاه سبز، باززایی گیاه آلبینو و باززایی کل به‌طور معنی‌داری اثر داشتند. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بهترین هیبرید از نظر عکس‌العمل به تولید کالوس، هیبرید IR75221H (۱/۶۴٪) و به باززایی کل (۱۲/۲۴٪) و گیاه سبز(۳/۴۳٪)، هیبرید بهار۱ بودند. بیشترین گیاه آلبینو را هیبرید IR75221H (۱۰/۶۶٪) و کمترین آن را هیبرید IR69688H (۶/۴۵٪) تولید نمودند. بهترین محیط کشت کالوس‌زایی برای تولید کالوس محیط کشت N6 تغییریافته (۲٪) و برای باززایی کل (۲۱/۸۲٪)، تولید گیاه سبز (۵/۶٪) و آلبینو (۱۶/۲۲٪) محیط کشت Chuتغییریافته بودند. هر چند ژنوتیپ‌ها در محیط‌های کشت مختلف نتایج گوناگونی نشان دادند و پاسخ به کشت بساک آنها کم بود ولی با تغییر در محیط‌های کشت می‌توان پاسخ به کشت بساک را افزایش داد.

واژه‌های کلیدی: باززایی، برنج هیبرید، کالوس، کشت بساک و محیط کشت

مقدمه

جیوی و توان گزارش کردند که از زمانی که اولین گیاه برنج هاپلوئید از طریق کشت بساک توسط نیزکی و اونو در سال ۱۹۶۸ تولید شد، اصلاح گرهای گیاهی کوشش‌هایی را برای کشت بساک و کاربرد آن در برنامه‌های اصلاحی شروع کردند(۱۱).

کشت بساک سریع‌ترین و مؤثرترین روش جهت تولید گیاهان هاپلوئید، دابل هاپلوئید و آزاد نمودن رقم جدید محسوب می‌شود. مزیت اصلی کاربرد هاپلوئیدها در یک برنامه اصلاحی تولید لاین‌های خالص در یک زمان کوتاه است (۱۳).

تأثیر عوامل زیادی مانند ژنوتیپ (۱۲،۱۱ و۲۳)، ترکیبات تشکیل‌دهنده محیط کشت (۱۱،۱۰ و ۲۱)، شرایط محیطی گیاهان بخشنده (۲۰)، مرحله نمو دانه گرده (۶ و ۱۰) و ترکیبات هورمون‌های رشدی (۲۴ و ۲۶) روی کشت بساک

۱. به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و استادیار اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل

۲. به ترتیب محقق، عضو هیئت علمی و کارشناس مؤسسه تحقیقات برنج کشور، رشت

* : مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: alizadeh_k_h@yahoo.com

[Downloaded from iutjournals.iut.ac.ir on 2024-05-19]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1388.13.47.19.7]

مطالعه شده است. در تحقیقی روی هیبریدهای برنج ایندیکا × باسماتی مشخص شد که درصد کالوس‌زایی و باززایی گیاه سبز در هیبریدهای مختلف متفاوت بوده و محیط کشت القای کالوس و اثر متقابل ژنوتیپ و محیط کشت روی کالوس‌زایی و باززایی گیاه سبز تأثیر می‌گذارد (۳). تأثیر ژنوتیپ و محیط کشت کالوس‌زایی روی گیاهان دیگر مانند گندم (۱ و ۱۴)، جو (۲۲)، کلزا (۵) وعلف چاودار (۴) نیز مطالعه شده است.

ارقام ایندیکای برنج نسبت به ارقام ژاپونیکا پاسخ کمتری به کشت بساک نشان می‌دهند. به‌طور کلی تمایل ژنوتیپ‌ها و هیبریدهای مختلف برنج به کشت بساک به ترتیب زیر است: ژاپونیکا/مومی، ژاپونیکا/ژاپونیکا، ژاپونیکا، ژاپونیکا/ایندیکا، ایندیکا/ایندیکا و ایندیکا (۲۳).

گزارش شده است که برنج‌های ایندیکای رشد کرده در مزرعه نسبت به آنهایی که در گلخانه یا درگلدان‌های نزدیک مزرعه رشد کرده‌اند، پاسخ بیشتری به کشت بساک نشان می‌دهند (۲۰).

یکی دیگر از فاکتورهای مؤثر در کشت بساک مرحله رشدی میکروسپور است. در اغلب موارد مرحله اوایل تا اواسط تک هسته‌ای میکروسپورها برای پاسخ به نرزایی در برنج مناسب است (۶ و ۱۰).

در مطالعه‌ای که روی تأثیر ۸ تیمار هورمونی مختلف در کشت بساک برنج انجام شد، مشخص شده که ترکیبی شامل ۲ میلی‌گرم در لیتر تو، فور- دی (2,4-D) یا ۲ میلی‌گرم در لیترنفتالین استیک اسید ((Naphtalin Asetic Asid (NAA) و ۱ میلی‌گرم در لیتر کینتین یا ۰/۵ میلی‌گرم در لیتربنزیل آمینو پورین ((Banzil Amino Purin (BAP) بالاترین میزان تشکیل گیاهچه سبز را برای هیبریدهای ژاپونیکا × ایندیکا داشته است (۲۶). در مطالعه دیگری روی برنج‌های ایندیکا، ژاپونیکا و هیبریدهای بین آنها مشخص شد که ترکیبی از هورمون‌های 2,4-D، NAA و BAP در مقایسه با هورمون 2,4-D به تنهایی برای القای کالوس اثربخشی بهتری داشته است. 2,4-D تجزیه گرده دوهسته‌ای را کاهش می‌دهد، NAA نرزایی را در نخستین مرحله کشت القا می‌کند و BAPتوسعه چند سلولی را القا می‌نماید (۲۴).

درصد پایین القای کالوس، باززایی گیاه سبز و تولید بالای گیاه آلبینو از مشکلات اصلی در کاربرد موفقیت‌آمیز فن کشت بساک در برنامه‌های اصلاحی برنج ایندیکاست. کوشش‌هایی برای اصلاح پاسخ به کشت بساک در برنج ایندیکا انجام شده است. در بین فاکتورهای مؤثر بر کشت بساک فاکتور ژنتیکی نقش مهمی در این زمینه دارد (۱۲ و ۱۶). برای بهینه کردن وضعیت کشت، ترکیبات تشکیل‌دهنده محیط کشت کالوس‌زایی و باززایی گیاه سبز نیز کاری صورت گرفته است (۳).

هدف از تحقیق حاضر بررسی درصد کالوس‌زایی، باززایی گیاه سبز، تعیین بهترین هیبرید از نظر پاسخ به کشت بساک و تعیین بهترین محیط کشت کالوس‌زایی در گیاه برنج بود.

مواد و روش‌ها

در سال زراعی ۱۳۸۵ سه هیبرید برنج ایندیکا × ایندیکای هتروتیک به نام‌های بهار۱، IR75221H و IR69688H در خزانه بذرپاشی گردیدند. هنگامی که ارتفاع نشاها به ۲۰ سانتی‌متر رسید به زمین اصلی منتقل شده و نشاکاری به‌صورت تک نشاء به فاصله ۲۵ × ۲۵ سانتی‌متر در مزرعه آزمایشی مؤسسه تحقیقات برنج کشور در رشت مطابق با روش‌های معمول اجرا گردید. زمانی که فاصله گوشوارگ برگ پرچم پنجه‌ها در بوته تا برگ ماقبل آن به ۵ تا ۹ سانتی‌متررسید، جمع‌آوری پنجه‌های اولیه (۳-۴ پنجه در بوته) انجام شد. در این مرحله دانه‌های گرده در مرحله اواسط تک هسته‌ای تا اوایل مرحله دوهسته‌ای بودند. مرحله دقیق مورفولوژیکی از طریق بررسی‌های میکروسکوپی بر مبنای روش کوودهوری و مندل تعیین شد (۷). بدین منظور بساک‌ها از گلچه‌های وسطی خوشه انتخاب و پس ازله کردن آنها روی لام با استوکارمن رنگ آمیزی شدند و سلول‌های میکروسپور در زیر میکروسکوپ نوری

[Downloaded from iutjournals.iut.ac.ir on 2024-05-19]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1388.13.47.19.7]

(OLYMPUS Model: CX31) بررسی و مرحله دقیق تکاملی آنها تعیین گردید. ساقه‌های جمع‌آوری شده پس از حذف برگ‌های اضافی و شستشو با آب به‌وسیله الکل اتیلیک ۷۰٪ ضدعفونی شدند. ساقه‌های مذکور پس از مرطوب شدن با آب مقطردر لایه‌ای از دستمال کاغذی و فویل آلومینیومی پیچیده و به‌مدت ۸-۱۰ روز در دمای ۸ درجه سانتی‌گراد در یخچال نگه‌داری شدند. سپس خوشه‌ها از غلاف خارج و در زیر کابینت لامینار ایر فلو در داخل محلول ۱٪ هیپوکلریت سدیم به‌مدت ۲۰ دقیقه ضدعفونی شده و بساک‌ها از گلچه خارج و بر روی چهار محیط کشت مختلف کالوس‌زایی N6 (۸)، N6 تغییریافته ، Chu (۹) و Chu تغییر یافته کشت داده شدند. تغییرات در محیط کشت N6 شامل تغییر در ترکیب هورمونی (۲ میلی‌گرم در لیترNAA، ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر2,4-D و۰/۵ میلی‌گرم در لیترکینتین به‌جای ۲ میلی‌گرم درلیتر2,4-D) و اضافه شدن ۲۵۰میلی‌گرم در لیتر هیدرولیزات کازئین و تغییرات در محیط کشت Chu شامل تغییردر ترکیب هورمونی (۱/۵ میلی‌گرم در لیترNAA، ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر2,4-D و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر زآتین به‌جای ۱ میلی‌گرم در لیتر2,4-D و۰/۱ میلی‌گرم در لیتر زآتین) و اضافه شدن ۲۵۰میلی‌گرم در لیتر هیدرولیزات کازئین، ۱۰۰۰میلی‌گرم در لیترعصاره مخمرو ۱۰ میلی‌گرم در لیترنیترات نقره بود. حدود ۵۰ بساک در هر پتریدیش پلاستیکی کاملاً استریل شده (به ابعاد ۱۰×۵۵ میلی‌متر) محتوی ۶ میلی لیتر محیط غذایی کالوس‌زا قرار گرفتند. برای هر ژنوتیپ به ازای هر محیط کشت سه تکرار در نظر گرفته شد. هر تکرا شامل ۱۶ عدد پتریدیش است، در نتیجه برای هر تکرار ۸۰۰ بساک کشت شد. پتریدیش‌ها پس از ایزوله شدن با پارافیلم به‌مدت ۴-۸ هفته در انکوباتور در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد در تاریکی مطلق قرار داده شده و هنگامی که قطر کالوس‌ها به اندازه ۲-۴ میلی‌متر رسیدند پس از تعیین درصد کالوس‌زایی، به محیط غذایی باززایی N6 با ترکیب هورمونی ۱ میلی‌گرم در لیترNAA، ۱ میلی‌گرم در لیترکینتین و ۱ میلی‌گرم در لیتر BAP انتقال داده شده و در اتاق روشنایی تحت شرایط ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. درصد کالوس‌زایی از نسبت تعداد بساک‌هایی که تولید کالوس نمودند به تعداد کل بساک‌های کشت شده، به‌دست آمد.

پس از گذشت سه هفته که کالوس‌ها رنگ سبز به خود گرفتند و پس از شمارش و تعیین درصد گیاهان سبز، در صد گیاهان آلبینو و درصد باززایی کل به لوله‌های آزمایش محتوی محیط کشت MS بدون هورمون برای ریشه‌زایی و رشد بیشتر شاخه‌ها انتقال داده شده و تحت همان شرایط نگه‌داری شدند. درصد گیاهان سبز یا آلبینو و باززایی کل از نسبت تعداد کالوس‌هایی که تولید گیاه سبز یا آلبینو و گیاه نمودند به تعداد کل کالوس‌های کشت شده به‌دست آمدند.

زمانی که گیاهچه‌ها در داخل لوله آزمایش باززایی شدند، جهت رشد بیشتر ریشه‌ها و سازگاری با محیط طبیعی به محلول یوشیدا (۲۵) انتقال داده شده و در فایتوترون تحت شرایط ۱۴ ساعت روشنایی و ۱۰ ساعت تاریکی با دماهای ۲۴ و ۲۱ درجه سانتی‌گراد به ترتیب در روز وشب نگه‌داری شدند. پس از سه هفته گیاهچه‌ها از محیط کشت یوشیدا به گلدان‌های حاوی خاک زراعی منتقل و تا رسیدن کامل در آنجا نگه‌داری شدند (مراحل مختلف کشت بساک در شکل ۱ آورده شده است).

تجزیه آماری بر اساس آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار انجام شد. ابتدا تبدیل داده‌ها به روش $\sqrt{X+0/5}$ جهت نرمال‌سازی مشاهدات انجام و سپس تجزیه واریانس و مقایسه میانگین (به روش LSD(Least Significant Difference Test) با استفاده از نرم افزارSAS صورت پذیرفت.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس در جدول ۱ نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین ژنوتیپ‌ها، محیط‌های کشت کالوس‌زایی و اثر متقابل آنها برای تمام صفات مورد مطالعه وجود داشت، که این

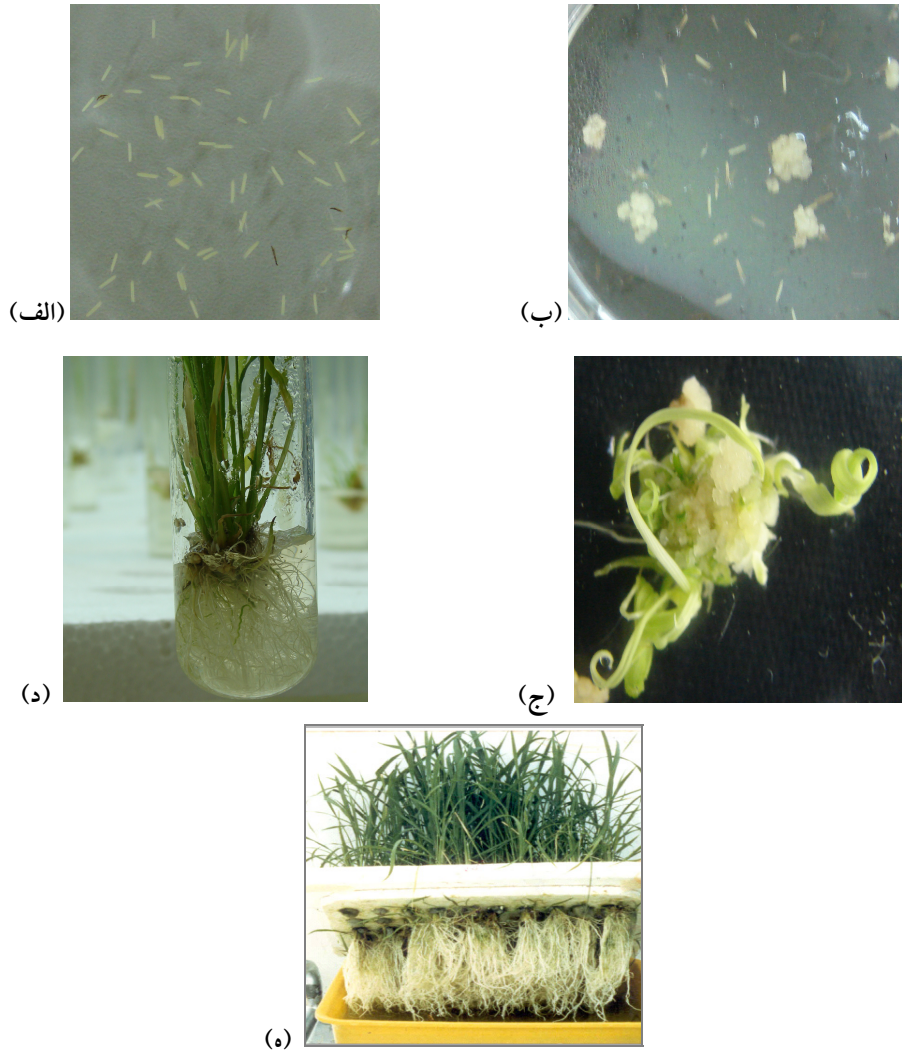
[Downloaded from iutjournals.iut.ac.ir on 2024-05-19]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1388.13.47.19.7]

جدول۱. میانگین مربعات منابع تغییر برای ۴ صفت نرزایی مورد بررسی

منابع تغییر		میانگین مربعات			
	درجه آزادی	درصد کالوس‌زایی	درصد گیاهان سبز	درصد گیاهان آلبینو	درصد باززایی کل
ژنوتیپ	۲	۰/۱۹۷**	۲/۹۳۹**	۱/۱۱۵**	۰/۹۲۳**
محیط کشت	۳	۰/۴۹۳**	۴/۶۰۰**	۱۹/۵۱۴**	۲۵/۲۶۵**
ژنوتیپ × محیط کشت	۶	۰/۱۸۴**	۱/۵۹۴**	۰/۲۰۴**	۰/۵۴۴**
خطا	۲۴	۰/۰۰۳	۰/۰۰۱	۰/۰۲۶	۰/۰۲۲
CV%		۴/۵۹	۲/۱۸	۵/۹۷	۵/۰۱

** : معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪



شکل۱. مراحل مختلف کشت بساک. الف: بساک‌های توزیع شده بر روی محیط کشت. ب: کالوس‌های ایجاد شده روی بساک ها. ج: باززایی گیاهچه از کالوس ها. د: باززایی گیاهچه در لوله آزمایش پس از دو هفته. ه: توسعه بیشتر ریشه‌ها در محلول کشت یوشیدا پس از دو هفته.

[Downloaded from iutjournals.iut.ac.ir on 2024-05-19]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1388.13.47.19.7]

نشان‌دهنده وابستگی صفات به ژنوتیپ، محیط کشت کالوس‌زایی و اثر متقابل آنها بود. بیشنی و همکاران (۳) با تحقیق روی هیبریدهای برنج ایندیکا × باسماتی، جیوی و توان (۱۱) با تحقیق بر روی ارقام مختلف برنج، هی و همکاران (۱۲) با تحقیق روی برنج‌های ایندیکا این وابستگی‌ها را تأیید کردند.

معنی‌دار بودن اثر متقابل ژنوتیپ و محیط کشت نشان داد که ژنوتیپ‌ها در محیط‌های کشت مختلف اختصاصی عمل می‌کنند. به این معنی که بعضی از ژنوتیپ‌ها در بعضی از محیط‌های کشت کالوس‌زایی پایینی داشتند، اما ژنوتیپ دیگر در همان محیط کشت بیشترین کالوس‌زایی را نشان داد (۳). به‌عنوان مثال هیبرید IR75221H بیشترین کالوس‌زایی را در محیط کشت Chu تغییر یافته داشت ، در حالی‌که هیبرید IR69688H بیشترین کالوس‌زایی را در محیط کشت N6 تغییر یافته نشان داد. نتایج مقایسه میانگین ژنوتیپ‌ها، میانگین محیط‌های کشت کالوس‌زایی و اثر متقابل آنها به ترتیب در جدول‌های ۳،۲ و ۴ نشان داده شده است. نتایج مقایسه میانگین ژنوتیپ‌ها (جدول ۲) نشان داد که هیبرید IR75221H از نظر درصد کالوس‌زایی بهترین هیبرید بود. هیبرید بهار۱ از نظر باززایی کل اختلاف معنی‌داری با سایر هیبریدها نشان داد. از نظر باززایی گیاهان سبز، هیبرید بهار۱ برترین هیبرید بود. از نظر باززایی گیاهان آلبینو، هیبرید IR75221H بیشترین گیاه آلبینو را تولید کرد.

تولید گیاه آلبینو به‌عنوان یکی از معایب کشت بساک مطرح می‌باشد. در هر سه هیبرید مورد مطالعه تولید گیاه آلبینو بیشتر از گیاه سبز بود که این با نتایج بیشتر محققین مطابقت دارد (۳،۲ و ۱۱). معمولاً ژنوتیپ‌هایی که باززایی زیادی نشان می‌دهند به القاء کالوس پاسخ مطلوبی نداده و درمقابل ژنوتیپ‌هایی با القاء کالوس زیاد باززایی گیاه سبز پایینی دارند (۱۲). در تحقیق حاضر نیز نتایج مشابهی حاصل شد به‌طوری‌که هیبرید IR75221H با کالوس‌زایی بالا و عدم تولید گیاه سبز مشاهده شد. در حالی‌که هیبرید بهار۱ با درصد کالوس‌زایی پایین‌تر و تولید گیاه سبز بالا به‌دست آمد. که این تأیید کننده نظریه مستقل بودن توارث صفات مؤثر در کشت بساک از یک‌دیگر است. نظریه استقلال صفات نرزایی در تحقیقی بر روی هیبریدهای برنج ایندیکا × باسماتی نیز اثبات شده است (۳).

مقایسه میانگین محیط‌های کشت کالوس‌زایی (جدول ۳) نشان داد که از نظر درصد کالوس‌زایی محیط کشت N6 تغییریافته و از نظر باززایی کل، تولید گیاه سبز و آلبینو کالوس‌های به‌دست آمده از محیط کشت Chu تغییریافته به‌طور معنی‌داری بهترین بودند. برتری محیط کشت N6 برای تولید کالوس برنج توسط محققین دیگر نیز به اثبات رسیده است (۱۱ و ۲۳).

در تحقیقی روی هیبریدهای ایندیکا × ژاپونیکا مشخص شد که ترکیبی از هورمون‌های 2,4-D، NAA و BAP در مقایسه با هورمون 2,4-D به تنهایی برای القای کالوس بهتر است (۲۴). در تحقیق حاضر نیز محیط کشت تکمیل شده با ترکیبی از هورمون‌های 2,4-D، NAA و کینتین در مقایسه با 2,4-D به تنهایی برای القای کالوس بهتر بود.

برتری محیط کشت Chu تغییریافته برای باززایی گیاهان در برنج‌های ایندیکا توسط چو و همکاران گزارش شده است (۹). در تحقیقات گذشته مشخص شده است که استفاده از مالتوز به‌جای ساکارز تولید کالوس‌های جنین‌زا و باززایی گیاه سبز را افزایش می‌دهد (۱۰ و ۱۷). در این تحقیق نیزکالوس‌های به‌دست آمده از محیط کشت حاوی مالتوز باززایی گیاه سبز بیشتری داشت. مالتوز مسیر جنین‌زایی مستقیم و تشکیل گیاه از گرده در گیاهان دیگر نیز مانند گندم (۱۸) و جو (۱۹) را افزایش داده است. از طرفی محققین بر این عقیده اند که ساکاروز به سرعت در محیط کشت به گلوکز و فروکتوز شکسته شده و بعد از گذشت سه هفته از کشت، محیط کشت فاقد ساکاروز می‌گردد، در حالی‌که هیدرولیز شدن مالتوز در یک دوره زمانی مشابه به‌طور معنی‌داری کندتر ازهیدرولیز شدن ساکاروز می‌باشد. هم‌چنین سمیت ساکاروز برای میکروسپورها

[Downloaded from iutjournals.iut.ac.ir on 2024-05-19]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1388.13.47.19.7]

جدول۲. مقایسه میانگین ژنوتیپ‌ها برای ۴ صفت اندازه‌گیری شده در هیبریدهای مختلف ایندیکا × ایندیکای برنج با استفاده از آزمون LSD

ژنوتیپ	درصد کالوس‌زایی	درصد گیاهان سبز	درصد گیاهان آلبینو	درصد باززایی کل
IR75221H	۱/۶۴a	۰/۰۰c	۱۰/۶۶ a	۱۰/۶۶ b
IR69688H	۱/۲۸b	۱/۹۷ b	۶/۴۵ c	۸/۴۲ c
بهار۱	۱/۱۹ b	۳/۴۳ a	۸/۸۱ b	۱۲/۲۴ a

میانگین‌هایی که حداقل یک حرف مشترک دارند، در سطح احتمال ۵٪ تفاوت معنی‌داری ندارند.

جدول۳. مقایسه میانگین محیط‌های کشت کالوس‌زایی برای ۴ صفت اندازه‌گیری شده در هیبریدهای مختلف ایندیکا × ایندیکای برنج با استفاده از آزمون LSD

محیط‌های کشت کالوس‌زایی	درصد کالوس‌زایی	درصد گیاهان سبز	درصد گیاهان آلبینو	درصد باززایی کل
N6 تغییر یافته	۲/۰۰a	۱/۵۹ b	۶/۳۳ c	۸/۰۷ c
N6	۱/۴۳b	۰/۰۰ c	۰/۰۰ d	۰/۰۰ d
Chu تغییر یافته	۱/۲۳c	۵/۶۰ a	۱۶/۲۲ a	۲۱/۸۲ a
Chu	۰/۸۱d	۰/۰۰ c	۱۲/۰۰ b	۰۰/۱۲ b

میانگین‌هایی که حداقل یک حرف مشترک دارند، در سطح احتمال ۵٪ تفاوت معنی‌داری ندارند.

جدول۴. مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپ و محیط کشت کالوس‌زایی برای ۴ صفت اندازه‌گیری در هیبریدهای مختلف ایندیکا× ایندیکای برنج با استفاده از آزمون LSD

		صفات			
ژنوتیپ	محیط کشت	درصد کالوس‌زایی	درصد گیاهان سبز	درصد گیاهان آلبینو	درصد باززایی کل
بهار۱	N6	۱/۵۲cd	۰/۰۰ d	۰/۰۰ f	۰/۰۰ g
	Chu	۰/۴۰g	۰/۰۰ d	۱۱/۱۱ b	۱۱/۱۱ d
	N6M	۲/۱۰b	۴/۷۷ c	۶/۲۸ d	۱۱/۰۵ d
	ChuM	۰/۷۳f	۸/۹۳ a	۱۷/۸۶ a	۲۶/۷۹ a
IR75221H	N6	۱/۴۳cd	۰/۰۰ d	۰/۰۰ f	۰/۰۰ g
	Chu	۱/۶۱c	۰/۰۰ d	۱۶/۵۷ a	۱۶/۵۷ c
	N6M	۱/۴۶ cd	۰/۰۰ d	۷/۸۹ c	۷/۸۹ e
	ChuM	۲/۰۴ b	۰/۰۰ d	۱۸/۱۸ a	۱۸/۱۸ c
IR69688H	N6	۱/۳۴d	۰/۰۰ d	۰/۰۰ f	۰/۰۰ g
	Chu	۰/۴۳ g	۰/۰۰ d	۸/۳۳ c	۸/۳۳ e
	N6M	۲/۴۴a	۰/۰۰ d	۴/۸۲ e	۴/۸۲ f
	ChuM	۰/۹۲e	۷/۸۷ b	۱۲/۶۳ b	۲۰/۵ b

میانگین‌هایی که حداقل یک حرف مشترک دارند، در سطح احتمال ۵٪ تفاوت معنی‌داری ندارند.

[Downloaded from iutjournals.iut.ac.ir on 2024-05-19]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1388.13.47.19.7]

به‌علت حساسیت میکروسپورها به فروکتوز می‌باشد در حالی‌که مالتوز از دو مولکول گلوکز تشکیل شده است (۱۵). افزودن مکمل‌های آلی مانند هیدرولیزات کازئین و عصاره مخمر منجر به بهبود باززایی از کالوس‌ها می‌شود (۲۱). افزودن ۱۰ میلی‌گرم در لیتر نیترات نقره ($AgNO_3$) به‌عنوان یک ترکیب آنتی اتیلن به محیط القای کالوس، بنا به اظهار نظرمحققین فراوانی باززایی گیاه سبز را در ارقام ایندیکا دو برابر نموده است (۱۷). در تحقیق حاضر نیزکالوس‌های به‌دست آمده از محیط کشت حاوی هیدرولیزات کازئین، عصاره مخمرو نیترات نقره باززایی گیاه سبز بیشتری نشان داد.

مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپ و محیط کشت کالوس‌زایی (جدول ۴) نشان داد که هیبریدهای IR69688H و بهار۱ با این‌که در محیط کشتN6 تغییریافته بیشترین کالوس‌زایی را داشتند ولی همین هیبریدها در محیط‌های کشت دیگر کالوس‌زایی پایینی نشان دادند. هیبرید IR75221H در محیط کشت Chu تغییریافته بیشترین کالوس‌زایی را داشت ولی در محیط‌های کشت دیگر کالوس‌زایی پایین‌تری نشان داد. هیبریدهای بهار۱، IR69688H و IR75221H با این‌که در محیط کشت Chu تغییریافته بیشترین باززایی کل و گیاهان سبز را داشتند ولی همین هیبریدها در محیط‌های کشت دیگر باززایی کل و گیاهان سبز پایین‌تری نشان دادند.

وابستگی پاسخ به کشت بساک به اثر متقابل ژنوتیپ و محیط کشت توسط بیشنی و همکاران (۳) با تحقیق روی هیبریدهای ایندیکا × باسماتی و هی و همکاران (۱۲) با تحقیق بر روی برنج‌های ایندیکا تأیید شده است.

در تحقیق حاضر مشخص گردید که هر چند ژنوتیپ‌ها در محیط‌های کشت مختلف نتایج گوناگونی نشان دادند و با توجه به این‌که منبع اصلی هیبریدهای استفاده شده در این تحقیق ارقام ایندیکا بودند و این ارقام پاسخ پایین‌تری به کشت بساک داشتند، ولی با تغییر در محیط‌های کشت و افزودن مواد محرکی نظیر هیدرولیزات کازئین و عصاره مخمر، می‌توان پاسخ به کشت بساک را در این نوع ارقام افزایش داد. بنابراین برای افزایش پاسخ به کشت بساک در تحقیقات آتی استفاده از این مواد و بهینه کردن غلظت آنها می‌تواند راه‌گشای مناسبی در ارقام ایندیکا (که ارقام ایرانی هم اغلب منشا ایندیکا دارند) باشد.

منابع مورد استفاده

1. Arzani, A. and K. Chaghamirza. 1998. Anther culture of Iranian wheat germ plasm using Mc17, B5, N6 and MS media. Iran Agric. Res. 17: 91-102.
2. Asaduman, M., M. A. Bari, M. H. Rahman, N. Khatun, M. A. Islam and M. Rahman. 2003. *In vitro* plant regeneration through anther culture of five rice varieties. Online J. Bio. Sci. 3: 167 - 171.
3. Bishnoi, U. S., R. K. Jian, K. R. Gupta, V. K. Chowdhury and J. B. Chowdhury. 2000. High frequency androgenesis in Indica × Basmati rice hybrids using liquid Culture media. Plant Cell, Tiss. Org. Cult. 61: 153 – 159.
4. Bradley, D. E., A. H. Bruneau and R. Qu. 2001. Effects of cultivar, explant treatment and medium supplements on callus induction and plant regeneration in perennial ryegrass. Int. Turfgrass So. Res. 9: 152 – 157.
5. Burbulis, N., R. Kupriene and L. Zilenaite. 2004. Embryogenesis, callogenesis and plant regeneration from anther cultures of spring rape (*Brassica napus* L.). Acta Universitatis Latviensis, Biology 676: 153 – 158.
6. Challef, R. S. and A. Stolarz. 1981. Factors influencing the frequency of callus formation among cultured rice anthers. Physiol Plant 5: 201– 206.
7. Chowdhury, B. and A. B. Mandal. 2001. Microspore embryogenesis and fertile plantlet regeneration in a salt susceptible × salt tolerant rice hybrid. Plant Cell, Tiss. and Org. Cult. 65: 141-147.
8. Chu, C. C., C. C. Wang and C. S. Sun. 1978. The N6 medium and its application to anther culture of cereal crops. *In*: Proc. Symp. Plant Tiss. Cult., Sci. Press, Peking. 5: 45 – 50.
9. Chu, Q. R., H. X. Cao and S. D. Linscombe. 2005. A novel medium for introduction of embryogenic callus in rice anther culture of Southern U.S. crosses. In: www.LSUAgCenter.com.
10. Datta, S. K. 2005. Androgenic haploids: Factors controlling development and its application in crop improvement. Current Sci. 89: 1870– 1878.
11. Gioi, T. D. and V. D. Thuan. 2004. Anther culture from crosses between IR64 and new plant type rice cultivars.

[Downloaded from iutjournals.iut.ac.ir on 2024-05-19]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1388.13.47.19.7]

Omon Rice 12 : 27 – 32.
12. He, T., Y. Yang, S. B. Tu, M. Q. Yu and X. F. Li. 2006. Selection of enterspecific hybrids for anther culture of Indica rice. Plant Cell, Tiss. and Org. Cult. 86: 271 – 277.
13. Jiang, J., J. W. Gibbons, K. A. K. Moldenhauer and F. N. Lee. 2002. Applying doubled haploid thecnology to accelerate rice breeding and enrich rice germplasm. Breed. Genet. and Physiol. 5: 53 – 65.
14. Lantos, C., S. Paricsi, A. Zofajova, J. Weyen and J. Pauk. 2006. Isolated microspore culture of wheat (*Triticum aestivum* L.) with Hungevian cultivars. Acta Biologica Szegediensis 50: 31 – 35.
15. Last, D. J. and R. I. S. Brettell. 1990. Embryo yield in wheat anther culture is influenced by the choece of sugar in the culture medium. Plant cell Rep. 9: 14 – 16.
16. Laxmi, G. V. and G. M. Reddy. 1997. Anther culture of indica rice: Thechnical improvements in callus induction and green plant regeneration. J. Gen. and Bre. 51: 595- 301.
17. Lentini, Z., P. Reyes, C. P. Martinez and W. M. Roca. 1995. Androgenesis in highly recalcitrant rice genotypes with maltoz and silvernitrate. Plant Sci. 110 : 127 – 138.
18. Navarro – Alvarez, N., P. S. Baenzigar, K. M. Eskridge, S. D. Shelton, V. D. Gustafson and M. Hugo. 1994. Effect of sugars in wheat anther culture media. Plant Bre. 112 : 53 – 62.
19. Powell, W. W., T.B. Thomas and D. M. Thompson. 1992. The agronomic performance of anther culture derived plants of barley produced via pollen embryogenesis. Ann. Appl. Biol. 120 : 137 – 150.
20. Raina, S. K. and F. J. Zapata. 1997. Enhanced anther culture efficiency of Indica rice (*Oryza sativa* L.) through modification of anther culture media. Plant Bre. 116 : 305 – 315.
21. Roy, B. and A. B. Mandal. 2005. Anther culture response in indica rice and variations in major aromatic characters emang the androclones of a Scented cultivar, Karnal local. Afr. J. Biotech. 4: 235–240.
22. Savaskan, C., I. Szarejko and M. C. Toker. 1999. Callus production and plant regeneration from anther culture of some Turkish barley cultivars. Tr. J. Bot. 23: 359 – 365.
23. Thuan, O. T., V. D. Thuan and B. B. Bong. 2001. study on anther culture of F1 plants from crocess between aromatic and improved rice cultivars. Omon Rice 9 : 41 – 45.
24. Trejo – Tapia, G., U. M. Amata, G. S. Morales, A. D. J. Sanchez, B. M. Bonfil, M. Rodriguez – Monroy and A. Jimenez – Aparicio. 2002. The effect of cold – pretreatment, auxins and carbon source on anther culture of rice. Plant Cell, Tiss. and Org. Cult. 71: 41 – 46.
25. Yoshida, S., D. Forno, J. H. Cock and K. Gornez. 1976. Laboratory Manual for Physiological Studies of Rice. The Int. Rice Res. Inst., Philippines.
26. Zhang, Z. X., Y. W. Xiang, Y. Y. Wang, A. Z. Zhang and X. M. Zhon. 1992. A study of the effect of different hormone treatments on rice anther culture. J. Stud. West Agric. Univ. 14 : 351 – 355.

[Downloaded from iutjournals.iut.ac.ir on 2024-05-19]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1388.13.47.19.7]