جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی
سال نهم - شماره اول - بهار ۱۳۸۱
www.magiarn.com/jasnr

مطالعه کالوس زایی و باززایی گیاه از طریق کشت جنین رسیده در ارقام مختلف برنج
(Oryza satuva L.)

کریم قربانپور[۱]، نادعلی بابائیان جلودار[۱] و مصطفی ولی زاده [۲]
[۱] دانشکده کشاورزی دانشگاه مازندران؛ [۲] دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز

تاریخ دریافت: ۸۰/۲/۲۶ ؛ تاریخ پذیرش: ۸۰/۷/۲۸

چکیده

مطالعه حاضر به منظور ارزیابی پاسخ ۵ رقم برنج (سنگ طارم، طارم محلی، طارم دیلمانی، حسنی و حسن سرایی) جهت مطالعه درصد کالوس زایی و باززایی گیاه از کالوس اجرا گردید. کشت بذر روی دو محیط کشت موراشیگ و اسکوک (MS) و لاینس مایر و اسکوک (LS) انجام گرفت. بذور ارقام بعد از پوست کنی و ضدعفونی روی محیط کشتهای القاء کالوس MS و LS حاوی ۲، ۲/۵ و ۳ میلی گرم در لیتر 2-4-D کشت گردیدند. سپس نمونه ها درداخل انکوباتور تحت شرایط تاریکی و در دمای ۱ ± ۲۶ درجه سانتی گراد جهت القای کالوس زایی نگهداری شدند. درصد کالوس زایی و جنین زا بودن کالوسها در ارقام مختلف مورد مقایسه قرار گرفتند. در مرحله بعدی کالوس های جنین زا روی محیط کشت باززایی MS و LS که حاوی نسبت های مختلفی از هورمونهای کاینتین (۱، ۲، ۳ میلی گرم در لیتر)، بنزیل آمینو پورین (۱، ۲، ۳ میلی گرم در لیتر) و نفتالین استیک اسید (۰/۵، ۱، ۲ میلی گرم در لیتر) بود، منتقل شدند و تحت رژیم ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی در دمای ۱ ± ۲۶ درجه سانتی گراد قرار داده شدند. نتایج بدست آمده نشان داد که ارقام دیلمانی و حسن سرایی به ترتیب با میانگین های ۷۲/۸۳٪ و ۷۲/۲۵٪ کالوس زایی در یک گروه و ارقام حسنی، طارم محلی و سنگ طارم به ترتیب با میانگین های ۶۵/۴۸٪، ۶۴/۵۰٪ و ۶۰/۹۵٪ در گروه دوم قراردارند. از نظر درصد باززایی نیز ارقام دیلمانی و طارم محلی دارای بیشترین درصد باززایی بودند و ارقام حسنی، سنگ طارم و حسن سرایی به ترتیب بعد از آنها قرار گرفته اند. ارقام مذکور نسبت به محیط کشت کالوس زایی و باززایی LS پاسخ بهتری را نشان دادند.

واژه های کلیدی: کالوس زایی، باززایی، کشت جنین و ارقام مختلف برنج.

مقدمه

با توجه به اینکه ۳۵٪ نیاز غذایی جمعیت جهان را برنج تأمین می کند و بدلیل افزایش روز افزون جمعیت و کاهش زمین های سطح زیر کشت بعلت از بین رفتن آنها در اثر فرسایش، شوری و غیره، بنابراین اهمیت اصلاح این گیاه جهت

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

افزایش عملکرد با بهره گیری از تکنیک کشت بافت و مهندسی ژنتیک همگام با اصلاح به روش سنتی ضروری به نظر می رسد. از طرفی جهت تولید گیاهان ترا ریخته از طریق تکنیک مهندسی ژنتیک نظیر آگروباکتریوم یا ریز تزریقی و یا تکثیر گیاهان F1 حاصل از تلاقیها و ایجاد واریانت های مقاوم به استرس ها، داشتن اطلاعات اولیه در مورد کالوس زایی و باززایی گیاه لازم می باشد.

خانا و رینا (۵) اثر متقابل بین محیط کشت و ژنوتیپ در واریته های برنج ایندیکا را مورد مطالعه قرار دادند وگزارش دادند اثر متقابل معنی داری بین آنها وجود دارد که درصد کالوس زایی و باززایی متأثر از ژنوتیپ گیاه مادری می باشد.

سراج و همکاران (۱۳) نیز نتایج مشابهی را با استفاده از کشت جنین های بالغ و نابالغ ۱۵ واریته ایندیکا جهت تعیین پاسخ آنها به کشت بافت گزارش دادند. گزارشهای متعددی نیز در مورد پاسخ بهتر واریته های ژاپونیکا نسبت به ایندیکا وجود دارد (۳ و ۱۰) . به همین دلیل اصلاح گیاهان گروه ژاپونیکا بیشتر از تیپ ایندیکا از طریق کشت بافت انجام گرفته است. در مورد پاسخ گیاه برنج به کشت بافت تحقیقات زیادی انجام گرفته است. در این میان جنین نارس به کشت بافت پاسخ بهتری داده است (۱۱)، اما به دلیل سهولت استفاده ا زجنین رسیده ، پژوهشگران ترجیح می دهند از این نوع جنین برای مطالعات خود استفاده نمایند.

بنابراین طرح مورد نظر جهت تعیین بهترین محیط کشت کالوس زایی و باززایی گیاه و همچنین تعیین بهترین نسبت هورمونی در ارقام مختلف برنج ایرانی از جمله سنگ طارم، طارم محلی، طارم دیلمانی، حسنی و حسن سرایی انجام پذیرفت.

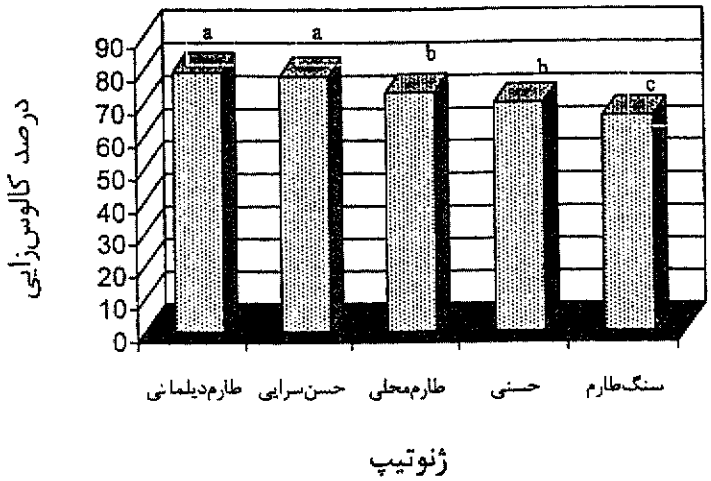
مواد و روشها

بذور ارقام مورد مطالعه (سنگ طارم، طارم محلی، طارم دیلمانی، حسنی و حسن سرایی) از موسسه تحقیقات کشاورزی برنج آمل تهیه گردیدند. بعد از پوست کنی، بذور معیوب و شکسته، جدا شد و بذور سالم با استفاده از هیپوکلریت سدیم ۲/۵٪ (وایتکس) به مدت ۳۰ دقیقه با ۲-۱ قطره توین ۲۰- ضدعفونی گردیدند. سپس بذور به داخل محفظه لامینارفلو منتقل شدند و دو الی سه مرتبه با آب مقطر استریل شستشو داده شدند. بذور کامل برنج بطور مستقیم روی محیط کشت القاء LS و MS تکمیل شده با سه نسبت مختلف هورمون توفوردی (۲، ۲/۵ و ۳ میلی گرم در لیتر)، ۰/۳ گرم در لیتر کازئین هیدرولیزات، ۳٪ سوکروز و ۰/۸٪ آکار (فلوکا) کشت گردیدند (۷ و ۹). در ظرف هر پتری که حاوی ۱۵ میلی لیتر محیط کشت بود ۱۰ عدد بذر قرار داده شد و درب پتریها توسط پارافیلم بسته شدند. نمونه ها جهت کالوس زایی در شرایط تاریکی و در دمای ۱± ۲٦ درجه سانتی گراد به مدت ٤-۳ هفته در داخل انکوباتور قرار داده شدند. بعد از این مدت درصد کالوس زایی در هر پتری دیش بطور جداگانه به عنوان یک تکرار یادداشت برداری گردیدند. سپس کالوس های جنین زا براساس صفات مورفولوژیکی تعیین و جهت تکثیر روی محیط کشت مشابه همراه با ۱٪ سوربیتول واکشت شدند. بعد از ۳-۲هفته درصد کالوس های رشد یافته و قهوه ای شده یادداشت گردیدند. کالوس های جنین زا جهت تعیین بهترین محیط کشت باززایی و نسبت هورمونی بر روی محیط کشت LS و MS همراه با هورمون های اکسین NAA(۰/۵ ، ۱، ۱/۵ میلی گرم در لیتر) و دو هورمون سیتوکینین کاینتین (۱، ۲، ۳ و ٤ میلی گرم در لیتر) و BAP (۱، ۲، ۳ و ٤

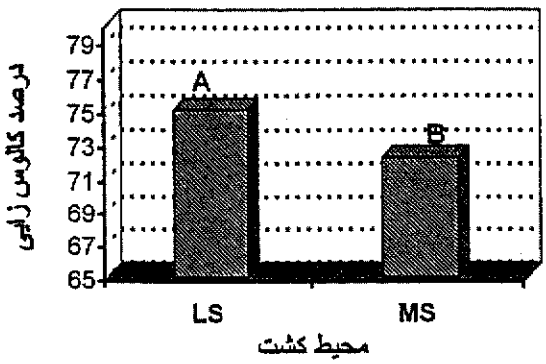
جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

میلی گرم در لیتر) کشت گردیدند و تحت رژیم ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و در دمای ۲۶ درجه سانتی گراد قرار داده شدند (شکل های ۱ و ۲). در پایان دوره درصد باززایی گیاه از هر رقم روی هر محیط کشت و نسبت هورمونی بطور جداگانه یادداشت گردیدند و براساس آنها بهترین محیط کشت و نسبت هورمونی تعیین گردید. داده های خام بدست آمده از طریق فرمول $\sqrt{X+0.5}$ تبدیل گردیدند. در مجموع آزمایش ۵ نوبت تکرار شد. داده های به دست آمده در قالب آزمایش فاکتوریل ۳×۲×۵ بر پایه طرح کاملاً تصادفی (هورمون × محیط کشت × ژنوتیپ) اجرا گردید و داده های بدست آمده با استفاده از نرم افزار MSTATC تجزیه و تحلیل آماری گردیدند.

گیاهان بدست آمده بعد از این که به اندازه ۳-۲ سانتی متری رسیدند به داخل لوله آزمایش برروی محیط کشت ریزازدیادی LSB2 منتقل شدند و بعد از آن نیز جهت ریشه زایی بر روی محیط کشت LSN2 کشت شدند (شکل۳).



شکل ۱- درصد کالوس زایی ژنوتیپ های مختلف برنج در دو محیط کشت LS و MS .



شکل ۲- مقایسه میانگین درصد کالوس زایی ارقام مختلف برنج تحت دو محیط کشت LS و MS.

بعد از ایـن کـه گیاهچـه بـه انـدازه کـافی ریشـه دارشدند به داخل گلدان بـا خـاک استریل منتقـل شدند. گیاهان جهت سازگار شدن با محیط بـیرون در زیر پلاستیک و تحت نور مصنوعـی بـه مـدت یک هفته قرار داده شـدند. در نـهایت گیاهـان بـه گلخانه منتقل شده و تا رسیدن بذور تحت مراقبت های ویژه قرار گرفتند (شکل٤).

نتایج و بحث

درصد کالوس زایی ارقام مختلـف برنـج روی محیط های کشت LS و MS در جـدول تجزیـه واریانس ۱ نشـان داده شـده اسـت. همـانطور کـه ملاحظه می شود جدول فوق تفـاوت معنـی داری را (در سطح احتمال یک درصد) بین ژنوتیپ های مورد مطالعه ، از نظر درصد کـالوس زایـی نشـان می دهد.

کـرودا و همکـاران (٦) اثـرات هـتروزیس و قـابلیت ترکیـب پذیـری از طریـق ارزیـابی رشـد کالوس در برنج را مورد مطالعه قـرار دادنـد. آنـها اظهار داشتند که اثـر ژنتیکـی غـالبیت و افزایشـی مسئول کنترل تولید کـالوس در ارقـام مختلـف می باشد.

ژنوتیـپ بـه عنـوان فـاکتور اصلـی در القـای کالوس و باززایی گیـاه از طریـق کشـت بـافت در غلات شـناخته شـده اسـت . در بیشـتر مـوارد، مـاهیت صحیح فاکتورهای ژنتیکـی درگیـر در مسائل آزمایشگاهی هنـوز کـاملا مشـخص نشـده است ولی واریته ها نه تنها از نظر پاسخ به محیـط های کشت های مختلف متفاوت هستند بلکه اثـر متقابل آنها نیز به محیط کشت در مراحل مختلـف رشد متفاوت می باشد (۱ و ٦).

ماچـی و همکـاران در سـال ۱۹۹۸ پاسـخ بـه کالوس زایـی را در ۱۰۷ ژنوتیـپ گنـدم از طریـق کشت بساک و جنین مورد مطالعه قـرار دادنـد. در این بررسی ۸۳ ژنوتیپ از طریـق کشـت بسـاک و ۹۷ ژنوتیپ از طریق کشت جنیـن، کـالوس تولیـد کردند. متخصصین فوق گزارش دادند که پاسخ بـه کشـت بـافت از طریـق فاکتورهـای غـیر همبسـته کنترل مـی شـود کـه ممکـن اسـت در هسـته یـا سیتوپلاسم قرار گرفته باشند (٦و ۸).

مقایسـه میـانگین هـای کـالوس زایـی ارقـام مختلـف توسـط آزمـون چنـد دامنـه ای دانکـن (P<٪۱) انجام گرفت . نتایج مقایسه میانگین بیـن ژنوتیپ ها نشان داد کـه ۵ ژنوتیـپ بـه سـه گروه مجزا تقسیم شـدند. گروه اول شـامل دو ژنوتیـپ طارم دیلمانی و حسن سرایی به ترتیب با میـانگین کـالوس زایـی ۸۰ و ۷۸/٦۷ درصـد و گروه دوم شامل دو ژنوتیپ، طارم محلی و حسنی به ترتیـب با میانگین کـالوس زایـی ۷۳/٦۷ و ۷۰/۳۳ درصـد کالوس تولیـد کردنـد. بـالاخره گروه سـوم شـامل سنگ طارم با میانگین کالوس زایی ٦٦/۳۳ درصـد بود. این نشان می دهد که کالوس زایی و بـاززایی از طریق فاکتورهای ژنتیکی موجود در هسته و یـا سیتوپلاسم کنترل می شود کـه ایـن عـامل بـاعث شده است پاسخ به تکنیک کشـت بـافت در بیـن گونه های اصلی برنج و حتی در بین واریتـه هـای داخل یک گونه نیز متفاوت باشد (٦) (شکل ۱).

با توجه به جدول تجزیه واریانس ۱ اختـلاف معنی داری در سـطح احتمـال ۵٪ بیـن دو محیـط کشت LS و MS جهت کالوس زایی در بین ارقام وجود دارد. مقایسـه میـانگین آنـها نشـان دهنـده برتری محیط کشت LS نسبت به MS در رابطه با ژنوتیپ های مورد مطالعه می باشد (شکل ۲). این دو محیط کشت در بیشتر مطالعـات کشـت بـافت جهت کشت جنین بالغ و نابـالغ بـا هـدف تولیـد کالوس و باززایی گیاه مورد استفاده قرار گرفته اند . یکی از معیارهای مهم جهت موفقیـت در امـر کشت بافت تعیین محیط کشت مناسب مـی باشـد که به عـوامل متعددی از جملـه نـوع ریزنمونـه، ژنـوتیپ، شـرایط رشـد گیـاه مـادری و مـرحـله

فیزیولوژیکی رشد بستگی دارد(۱ و۲).

راب و همکاران (۱۲) میزان باززایی گیاه را از طریق جنین زایی سوماتیکی از کالوس های القاء شده جنین های رسیده برنج بر روی ٤ محیط کشت مورد ارزیابی قرار دادند. طبق گزارش آنها رقم Taipi-۳۰۹ بالاترین درصد کالوس زایی (۹۸ درصد) را روی محیط کشت LS و بالاترین فراوانی و درصد کالوس های جنین زا (٦٨ درصد) را نیز روی محیط کشت LS تولید نموده است. فراوانی کالوس زایی و کالوس های جنین زا در روی محیط کشت MS به ترتیب ۹۵ و ٥٦ درصد گزارش نموده اند.

غلظت و نسبت اکسین به سیتوکینین تا حد زیادی بستگی به ژنوتیپ و مقدار هورمون های موجود در محیط کشت دارد. در این خصوص گیاهان تک لپه ای اساسا جهت کالوس زایی نیاز به اکسین دارند (۱، ۲ و ۳). بنابراین سومین فاکتور در این آزمایش نسبت های مختلف هورمون 2,4-D بود.

همانطوریکه در جدول تجریه واریانس ۱ نشان داد شده است فاکتور هورمون در سطح یک درصد اثر معنی داری را در تولید کالوس نشان می دهد. مقایسه میانگین های آنها در جدول ۲ آمده است.

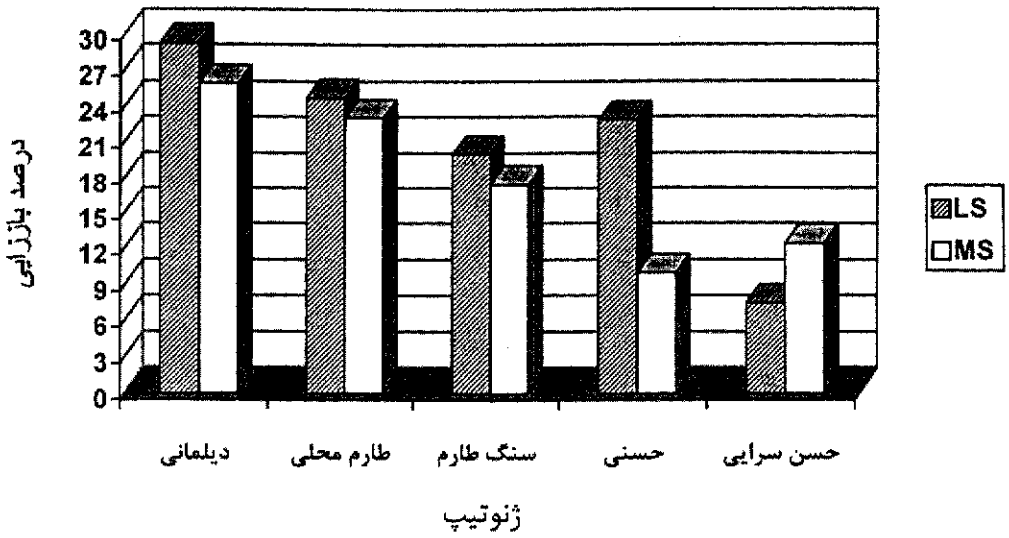
افزایش غلظت هورمون اکسین تا حدی باعث افزایش تشکیل کالوس شده و بعد از آن باعث کاهش تولید آن می گردد. بنابراین باید حالت تعادلی بین هورمون ها جهت کالوس زایی و باززایی وجود داشته باشد. این پارامترها بستگی به ریز نمونه ها و گونه های گیاهی دارد (۲،۱ و ۳). افزایش غلظت هورمونی از یک حد بهینه در محیط کشت اثر ممانعت کننده ای بر روی هورمون های داخلی ریز نمونه می گذارد و باعث کاهش میزان تولید کالوس می گردد(۳،۱ و٤).

جدول ۱- تجریه واریانس درصد کالوس زایی ارقام مختلف برنج روی دو محیط کشت LS و MS.

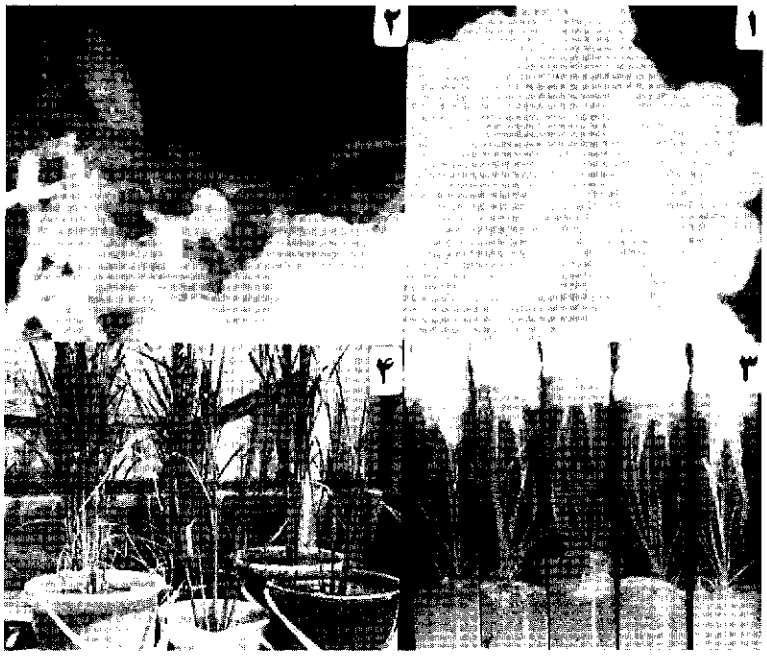
منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات
ژنوتیپ	٤	۹٦۱/۲۰۸*
محیط کشت	۱	۲۹۷/٦٥۱*
محیط کشت × ژنوتیپ	٤	۱۷/۳۰۱*
هورمون	۲	٥۰۹۰/۹۳۳*
هورمون × ژنوتیت	۸	۳۸/۸۱۱*
هورمون × محیط کشت	۲	٦٦/٦٥٤*
ژنوتیپ × محیط کشت × هورمون	۸	۳۰/۱۰٤*
اشتباه آزمایشی	۱۲۰	٤۳/۱۱٤*

جدول ۲- میانگین اثر نسبت های هورمونی.

نسبت اکسین 2,4-D	مقایسه میانگین (٪۱)	مقایسه میانگین (٪٥)
۲/٥ میلی گرم درلیتر	۸۰/۸A	۸۰/۸A
۳ میلی گرم در لیتر	۷۸/۱۳A	۷۸/۱۳ B
۲ میلی گرم درلیتر	٦۲/۱٤B	٦۲/۱٤C



شکل ۳- میانگین درصد بازرایی ارقام مختلف برنج در دو محیط کشتLS وMS.



شکل ٤- تصویری از کالوس جنین زا(۱)، مرحله تمایز زایی در کالوس های جنین زا(۲)، انتقال گیاه به داخل لوله آزمایش(۳)، انتقال گیاه به گلخانه (٤).

نتایج بدست آمده از این آزمایش با گزارش سراج و همکاران (۱۳) که بر نقش اکسین ها در کالوس زایی تاکید داشتند، مطابقت دارد. آنها اظهار داشتند که اکسین به عنوان یکی از مهمترین تنظیم کننده های رشد برای تمایز مجدد یا عدم تمایز در گیاهان تک لپه ای می باشد. گزارشهایی هم در رابطه با اثر بازدارندگی از رشد در غلظت بالای D-٤، ۲ موجود است. ماچی و همکاران (۱۹۹۸) گزارش دادند که این دامنه نسبت به ژنوتیپ های مختلف متفاوت است و بستگی به هورمون های داخلی آن ریز نمونه دارد(۸).

از نظر مورفولوژی کالوس های تولید شده به دو گروه تقسیم می شوند. گروه اول به عنوان کالوس های جنین زا دارای رنگ زرد مایل به سفید، گره دار، خشک، شکننده و فشرده بودند اما گروه دوم که کالوس های غیر جنین زا بودند دارای زنگ زرد مایل به قهوه ای ترد، آبدار و لزج با سطح صاف بودند.

نتیجه این آزمایش نشان داد که کالوس های جنین زا در رقم طارم دیلمانی بیشتر از ارقام دیگر بودند، بعد از آن به ترتیب ارقام طارم محلی، حسنی، سنگ طارم و حسن سرایی بودند. طارم محلی نیز کالوس ها ی فشرده به رنگ زرد مایل به سفید را با فراوانی زیاد تولید نمود. کالوس های تولید شده در رقم حسنی فشردگی کمتری داشته و با کوچکترین تکان پخش می شدند ولی در مقایسه با ارقام دیگر، دیرتر فنله می شدند. کالوس ها در سنگ طارم اکثرا لزج و آبدار بودند و سریعتر از دیگر ارقام فنله می شدند. رقم حسن سرایی نیز به مقدار کم کالوس های جنین زا تولید کرد. قدرت کالوس زایی ارقام بر روی هورمون ۲ میلی گرم در لیتر تو- فور- دی نسبت به تیمارها ی دیگر کمتر بود. رشد کلئوپتیل در این تیمار بیشتر از تیمارهای هورمونی دیگر بود و رشد ریشه های نابجا نیز فقط در این تیمار هورمونی مشاهده شد. با قرار گرفتن بذور در شرایط روشنایی، رشد کلئوپتیل به مراتب بیشتر از تیمار تاریکی شد.

نوع محیط کشت، نسبت و نوع هورمون ها ی مورد استفاده در محیط کشت و همچنین شرایط محیطی کشت از جمله فاکتورهای مهم کنترل کننده در باززایی گیاه از کالوس می باشد. جهت تحریک اندام زایی در کالوس های جنین زا رعایت نسبت های هورمونی اکسین و سیتوکینین ضروری می باشد. این موضوع بسته به ژنوتیپ های مختلف فرق می کند. حساسیت کالوس های جنین زا به این نسبت های مختلف هورمونی، به وجود غلظت هورمون های داخلی کالوس برمی گردد که آن هم متعاقباً تحت تاثیر فاکتورهای ژنتیکی می باشد (۱، ۲ ، ۳ ،٤ و ۵).

براساس نتایج بدست آمده رقم سنگ طارم به نسبت هورمونی ۰/۵ و ۲ میلی گرم در لیتر NAA و کاینتین پاسخ خوبی داد و رقم حسن سرایی به نسبت هورمونی ۱ و ۳ میلی گرم در لیتر NAA و کاینتین و ارقام طارم محلی ، طارم دیلمانی و حسنی به نسبت هورمونی ۱، ۱ و ۳ میلی گرم در لیتر NAA ، کاینتین و BAP پاسخ خوبی نشان دادند. درصد باززایی ارقام در شکل ۳ نشان داده شده است.

همچنین ارقام حسنی، طارم محلی، طارم دیلمانی و سنگ طارم در محیط کشت LS باززایی بهتری نسبت به محیط کشت MS داشتند. تنها رقم حسن سرایی عکس العمل خوبی به محیط کشت باززایی MS نشان داد. ارقام حسن سرایی و حسنی گیاهچه های ضعیفی تولید کردند که دارای رشد ضعیفی بودند.

خانا و رینا اثر متقابل ژنوتیپ و محیط کشت را جهت کالوس زایی و باززایی مورد مطالعه قرار دادند و اظهار داشتند که باززایی گیاه از طریق

فاکتورهای ژنتیکی کنترل می شود. گزارشهای فراوانی در زمینه کنترل باززایی گیاه در ارقام مختلف از طریق ژنوتیپ وجود دارد که مبنی بر برتری ژنوتیپ های ژاپونیکا برایندیکا است (۵).

از تکنیک کشت این ویترو در برنج می توان بطور وسیعی جهت تکثیر سریع کلونی ژنوتیپ های بخصوص گیاهی بهره جست که این تکنولوژی به تکثیر کلونی یا کلون سازی موسوم است، مثل تکثیر ژنوتیپ هتروزیگوت در سطح وسیع، تکثیر یک ژنوتیپ خود ناسازگار، تکثیروالد عقیم در برنامه تولید بذور هیبرید، تکثیر مواد ژنتیکی عاری از ویروس، حفظ و تبادل بین المللی ذخایر توارثی و همچنین گزینش این ویترو برای مقاومت به تنش های محیطی و غیر محیطی، با استفاده از تنوع موجود در طبیعت یا تنوع سوماکلونی ناشی از کشت بافت. همچنین از تکنیک کشت بافت در مهندسی ژنتیک به منظور انتقال ژن مورد نظر و یا دست ورزی ژنتیکی استفاده می شود. با توجه به دست‌ورزی های ژنتیکی در برنج، استفاده از کشت کالوس در گیاه برنج برای تراریزش ژنتیکی بسیار حائز اهمیت است . در تمامی موارد ذکر شده فوق، باززایی گیاهچه از کالوس نقش حیاتی در میزان کارآیی این روش ایفاد می نماید(۱،۲،۳، و ٤).

سپاسگزاری

بدین وسیله از زحمات آقایان دکتر علیزاده، مهندس آقازاده، فرساد، اترکچالی، شاهسواری و همچنین مسئولیت محترم دانشگاه مازندران بدلیل تأمین اعتبار مالی صمیمانه سپاسگزاری می نمایم.

منابع

۱. افشاری پور، س. ۱۳۷۲. مبانی کشت بافت گیاهی. معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان.
۲. باقری ، ع . و م . صفاری . ۱۳۷٦ . مبانی کشت بافت گیاهی . انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد.
3. Bajaj, Y.P.S. 1991. Biotechnology in agriculture and forest 14: rice. Springer, Verlag. Germany.
4. Dixon, R.N. and R.A. Gonzales. 1996. Plant cell culture: A Practical Approach. Oxford University Press.
5. Khanna, H.K., and S.K. Raina. 1998. Genotype × culture medium interaction effects on regeneration responses of three *Indica* cultivars. Plant cell, Tiss. Org. cult. 52: 145-153.
6. Kuroda, S.,H. Kato and R. Ikeda. 1998. Heterosis and combining ability for callus growth rate in rice. Crop Sci. 38: 333-336.
7. Linsmaier, E.M., and F. Skoog. 1965. Organic growth factor requirements of tabacco tissue culture, Physiol. Plant. 18: 101-127.
8. Machii, H., H. Mizuno, T. Hrabayashi, H. Li, and T. Hagio. 1998. Screening wheat genotypes for high callus induction and regeneration capability from anther and immature embryo culture. Plant Cell, Tiss. Org. Cult. 53: 67- 74.
9. Murashige, T. and F. Skoog. 1962 . A revised medium for rapid growth and bioassays with tabacco tissue cultures. Physiol. Plant. 15: 473-497.
10. Ozgen, M.,M. Turet, S. Ozcan. And C. Sancak, 1996. Callus induction and plant regeneration from immature and mature embryos of winter durum wheat genotypes. Plant Breeding . 115: 455- 458.
11. Raman, R.,G.S. Chahal, and H.S. Dhaliwal. 1994. Screening of genotypes for callus
12. induction and plant regeneration in rice. Crop Improvement. 21:30-36.

13. Rueb. S., M. Leneman, R.A. Schilperoot, and L.A.M. Hensgens. 1994. Efficient plant regeneration through somatic embryogenesis from callus inducted on mature rice embryos (Oryza sativa L.). Plant Cell Tiss. Org. Cult. 36: 259-264.
14. Seraj, Z.I., A. Islam, M.O. Faruque, T. Devi and S. Ahmed. 1997. Identification of the regeneration potential of embryo derived calli from various indica rice varieties. Plant Cell, Tiss. Org. Cult. 48: 9-13.

J. Agric. Sci. Natur. Resour., Vol.9(1), Spring 2002
www.magiran.com/jasnr

Investigation of callus induction and plant regeneration through tissue culture in Iranian rice cultivars

K. Ghorbanpour[1], N. Babaeian Jelodar[1] and M. Valizadeh[2]
[1]Faculty of Agricultural Sciences, Mazandaran University, Sari, Iran; [2] Faculty of Agriculture, Tabriz University, Tabriz, Iran.

Abstract

This research was performed in order to evaluate five Iranian rice cultivars (cvs. Sang-e-Tarum, Mahalli- Tarum, Deilamani- Tarum, Hassani and Hassan saraie) for studying the percent of callus induction and plant regeneration on two culture medium of Murashige and Skoog (MS) and Linesmair and Skoog (LS). After dehusking and sterilization, seeds were cultured on the callus induction medium MS and LS including 2, 2.5 and 3 mg/l 2, 4-D. Then , petri dishes were incubated at 26±1 ^{oC}. The percent of callus induction and embryogenic callus were compared in different varieties. Then, the embryogenic calli were transferred on LS and MS medium, with different proportion of hormones such as kinetin(1, 2 . 3 mg/l) , BAP (1, 2. 3 mg/l) and NAA (05, 1, 2 mg/l). The callus incubated in the dark or under fluorescent light at 26±1^{oC} for plant regeneration. Results showed that the first group included two cultivars of Deilamani Tarum and Hassan saraie with average of callus induction 80 and 78.67 percent representatively, second group included two genotypes of Mahalli Tarum and Hassani with average of callus inductuin 70.33 and 73.67 percent, representatively and third group included Sang-e- Tarum that its average callus induction was 66.33 percent. There were many differences in regeneration between Iranian rices; cv. Deilamani Tarum had the maximum percent of regeneration between studied cultivars and cvs. Mahalli Tarum, Hassani, Sang-e-Tarum and Hassan saraie placed after that. The results showed that LS medium was better for callus induction and plant regeneration in the different cultivates.

Keywords: Tissue culture; Callus induction; Plant regeneration; Pice Culture.