کالوس‌زایی و باززایی گیاهچه از جنین بالغ، در لاین‌های اینبرد و هیبریدهای ذرت

محمدرضا صلواتی[۱]، احمد ارزانی[۲]، آقافخر میرلوحی[۲] و احمد بانکه‌ساز[۳]

چکیده

مطالعه حاضر به منظور ارزیابی واکنش ژنوتیپ‌های رایج ذرت در ایران (هیبریدها و لاین‌های اینبرد آنها) برای کالوس‌زایی و باززایی از کشت جنین بالغ انجام شد. در این مطالعه از ۲۵ ژنوتیپ، مشتمل بر ۱۲ لاین اینبرد، ۱۱ هیبرید سینگل کراس، و یک هیبرید دبل کراس و یک کمپوزیت آزاد گرده افشان استفاده گردید. جنین بالغ لاین‌های اینبرد و هیبریدهای ذرت در دو محیط کشت MS و N6 کشت شده و ارزیابی کالوس‌زایی با استفاده از صفات وزن تر کالوس، وزن خشک کالوس، رشد نسبی کالوس و سرعت رشد کالوس صورت گرفت.

نتایج این آزمایش نشان داد که واکنش ارقام به کالوس‌زایی و باززایی گیاهچه، از کالوس حاصل از جنین بالغ بسیار متفاوت است. بیشترین ظرفیت تولید کالوس (بر اساس وزن تر و خشک) در لاین اینبرد IL۸، هیبریدهای SC۹ (IL۶×IL۱۰)، و SC۷ (IL۴ × IL۸)، و بالاترین میزان رشد نسبی و سرعت رشد کالوس به ترتیب در لاین اینبرد IL۱ و هیبرید SC۹ مشاهده شد. محاسبه هتروزیس بر اساس والد برتر، نشان داد که SC۹ برای صفات وزن تر، وزن خشک و سرعت رشد کالوس، دارای بالاترین درصد هتروزیس در بین هیبریدهای مورد مطالعه است. اثر متقابل ژنوتیپ و محیط کشت نیز برای صفات وزن تر کالوس، رشد نسبی کالوس و سرعت رشد کالوس معنی‌دار شد. به عنوان مثال، در محیط کشت MS هیبرید SC۹، و در محیط کشت N6 لاین اینبرد IL۸، بیشترین سرعت رشد کالوس را داشتند. بین سرعت رشد کالوس در زمان‌های مختلف (۸، ۱۲، ۱۶ و ۲۰ روز پس از کشت) اختلاف معنی‌داری وجود داشت. سرعت رشد کالوس در هشت روز پس از کشت کمترین مقدار را داشت، و به تدریج تا شانزده روز پس از کشت افزایش یافت، اما بعد از این مدت کاهش پیدا کرد. سرعت رشد کالوس دارای دامنه‌ای بین ۰/۵۱ در لاین اینبرد IL۱۱، تا ۰/۷۴ در هیبرید SC۹ بود. مقایسه ژنوتیپ‌ها نشان داد که اینبرد لاین‌های IL۱ و IL۱۰ و هیبریدهای سینگل‌کراس SC۲ و SC۴ از بالاترین میزان باززایی گیاه برخوردارند. با توجه به اهمیت باززایی گیاه، که وابستگی زیادی به ژنوتیپ دارد، می‌توان نتیجه‌گیری نمود که لاین‌های اینبرد IL۱ و IL۱۰، و نیز هیبریدهای SC۲ (سینگل‌کراس ۷۰۴) و SC۴ (سینگل‌کراس ۳۰۱)، برای به کارگیری در برنامه‌های اصلاحی متکی به کشت بافت در ذرت قابل توصیه می‌باشند.

واژه‌های کلیدی: *Zea mays* L.، کشت جنین بالغ، کالوس‌زایی، باززایی

---

۱. دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و کارشناس ارشد اصلاح نباتات انستیتو توتون تیرتاش
۲. به ترتیب دانشیار و استادیار زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان
۳. کارشناس بخش تحقیقات ذرت، موسسه اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-03-29]
[DOR: 20.1001.1.24763594.1379.4.4.4.3]

مقدمه

کشت جنین گیاهی[1] یکی از قدیمی‌ترین شاخه‌های کشت بافت گیاهی است، که به طور کاربردی و در تحقیقات بنیادی و به نژادی گیاهان به کار می‌رود. این روش بر مبنای جداسازی جنین در شرایط سترون، و انتقال آن به یک محیط کشت مناسب به منظور ادامه رشد و نمو تحت شرایط بهینه، پایه گذاری شده است (۱۴). قابلیت نمو یک سلول یا بافت در حضور محرکی خاص مثل هورمون تو، فور- دی (D- ۴ و ۲) در محیط کشت، به توانایی رقابت آن بستگی دارد. با توجه به این که عموماً بیشترین رقابت جنین‌زایی (کالوس‌های شبه جنین)، در میان بافت‌های غیر مریستمی گیاه، از جمله جنین، گیاهچه و ساختارهای گل صورت می‌گیرد، بنابراین، از جنین به عنوان مناسب‌ترین ریز نمونه برای ایجاد کالوس‌زایی در محیط کشت استفاده می‌شود (۱۰).

به طور کلی دو نوع کالوس جنین‌زا در ذرت تولید می‌شود. کالوس‌های نوع اول که دارای ظاهری فشرده و سفید رنگ هستند و در محیط‌های کشت موراشیک و اسکوگ (MS) با غلظت زیاد سوکروز (شش درصد) یافت می‌شوند (۱). در مقابل، کالوس‌های نوع دوم از نظر ساختمانی گرد و شکننده، زرد کم رنگ، دارای رشد سریع، ظرفیت باززایی بالا و تمایز نیافته (بجز در مناطق گلبولی شکل پیش جنینی) هستند، و در محیط کشت MS و نیچ (N6) با غلظت پایین سوکروز (دو درصد) به دست می‌آیند. کالوس‌های خرد شونده برای تولید کشت‌های سوسپانسیون یا پروتوپلاست، که دارای ظرفیت باززایی باشند، ارزشمند است (۱).

واسیل و همکاران (۲۴) گزارش نمودند که جنین‌های ذرت هرگاه بر روی محیط غذایی حاوی تو، فور- دی (D- ۴ و ۲) کشت شوند، قادر به تولید کالوس اندام‌زا هستند. این کالوس از ازدیاد سلولی بافت اسکوتلوم در طرف انتهای ریشه حاصل می‌شود. بدین ترتیب که پس از تشکیل بافت متورمی در ناحیه گره لپه‌ای جنین ذرت، توده‌ای متراکم، شفاف و سفید متمایل به زرد از کالوس تشکیل می‌گردد. آنها با استفاده از محیط کشتی حاوی ۰/۵-۱ میلی گرم در لیتر D- ۴ و ۲ با ۶-۱۲% سوکروز، بهترین نتایج را در پرآوری کالوس به دست آوردند. راپلا (۱۹) پرآوری کالوس را در سطح زیر اسکوتلوم، زمانی که محور جنینی در تماس با محیط کشت بود، مشاهده نمود، و کالوس‌هایی از نوع کالوس جنین‌زای روشن، فشرده و شفاف به دست آورد. برونسما و همکاران (۵) میزان جذب D- ۴ و ۲ را ۱، ۳ و ۵ روز بعد از کشت، در وزن کالوس تر کشت شده اندازه‌گیری کردند، و گزارش نمودند که تفاوت قابلیت جنین‌زایی در دو لاین اینبرد ذرت A۱۸۸ (جنین‌زا) و A۶۳۲ (غیر جنین‌زا) به دلیل تفاوت جذب D- ۴ و ۲ نبوده است. هم‌چنین، آنالیز کربن ۱۴ نشان‌دار موجود در D- ۴ و ۲ محیط کشت، نشان داد که ۲۴ ساعت بعد از کشت حدود ۷۰% D- ۴ و ۲ موجود در بافت کشت شده در لاین اینبرد A۱۸۸ و ۳۷ درصد D- ۴ و ۲ موجود در بافت کشت شده در لاین A۶۳۲ بود. آنها در نهایت نتیجه‌گیری کردند که تفاوت‌های تمایزی در کشت‌های جنین نارس لاین‌های جنین‌زا و غیر جنین‌زا، ممکن است ناشی از تفاوت در سطح D- ۴ و ۲ آزاد و متابولیسم آن باشد.

واسیل و همکاران (۲۵) مشاهده نمودند که اسکوتلوم جنین‌های نارس ذرت، کالوس جنین‌زای فشرده و زرد روشن ایجاد کردند، که از آنها جنین‌های غیرجنسی ایجاد شد. کالوس‌های نرم و جنین‌زا، با واکشت کردن هر سه هفته یک بار، برای مدت یک سال زنده باقی ماندند، و بعد از این دوره هنوز قابلیت تشکیل جنین‌های غیرجنسی را دارا بودند. بنا به گزارش گرین و فیلیپ (۱۰)، کشت‌های کالوس حاصل از جنین ذرت، بیشتر از اسکوتلوم و روی محیط کشت MS حاوی دو میلی گرم در لیتر D- ۴ و ۲ ایجاد می‌شوند. محیط کشت حاوی چهار میلی گرم D- ۴ و ۲ در کالوس‌زایی جنین تأثیر کمتری داشته است. محیط کشت حاوی یک میلی گرم در لیتر D- ۴ و ۲ بیشتر سبب رشد ریشه و اندام هوایی جنین کشت شده ذرت گردیده و تشکیل کالوس را از اسکوتلوم محدود نموده است.

1. Plant embryo culture

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1379.4.4.4.3]

غلظت‌های بالای سوکروز موجب تشکیل کالوس متراکم هم از اسکوتلوم و هم از بافت متورم گره محور جنینی گردیده است. در گزارش واسیل و همکاران (۲۴)، تأثیر غلظت D- ۴ و ۲ بر کیفیت و کمیت کالوس جنین‌زای حاصل از جنین ذرت، به اندازه تأثیر سوکروز نیست. وضعیت قرارگیری جنین ذرت روی محیط کشت، بدین صورت که اسکوتلوم به طرف بالا و گره محور جنینی در تماس با محیط کشت باشد، در تحریک پرآوری و تشکیل بافت کالوس جنین‌زا نقش دارد (۲۴). در گندم نیز بهترین طریقه تولید کالوس‌های جنینی از بافت‌های اسکوتلومی و اپی بلاستی، جنین نارس یا جنین بالغ شناخته شده است (۱۲).

بنا به گزارش تعدادی از پژوهشگران (۳، ۱۱، ۱۵ و ۲۴)، کشت‌های کالوس حاصل از جنین‌های نارس ذرت، هم از طریق تشکیل جوانه‌های ساقه و هم از طریق تشکیل جنین‌های غیرجنسی، باززایی می‌شوند. هم‌چنین، گزارش شده که ممکن است گیاهچه ذرت از کنار ساختمان‌های متراکم و سفید رنگی موسوم به اندام‌های اسکوتلومی[1] باززایی شوند. در مطالعات دیگری (به نقل از ۱۰) روی گیاهان مختلف از جمله گندم، مشخص گردید که ساختمان‌های برگی شکل تشکیل شده در هنگام باززایی، در حقیقت همان جنین‌های غیرجنسی هستند که در حال جوانه‌زنی می‌باشند. باززایی کالوس‌های حاصل از گره محور جنینی ذرت (۲۴) و کالوس‌های اسکوتلومی (۱۵) جنین نارس، از طریق جنین‌زایی سوماتیکی انجام می‌شود.

از تولید کالوس برای تکثیر کلونی ژنوتیپ‌ها، گزینش این ویترو برای مقاومت به تنش‌های زنده و غیر زنده، و در مهندسی ژنتیک به منظور انتقال ژن مورد نظر استفاده می‌شود. با توجه به دستاوردهای ژنتیک مولکولی ذرت، استفاده از کشت کالوس در این گیاه برای ترانسفورماسیون ژنی حائز اهمیت زیادی است (۳، ۸ و ۱۳). بنابراین، ضرورت مطالعه واکنش ژنوتیپ‌ها به کالوس‌زایی، و شناسایی محیط کشت مناسب برای رشد کالوس و باززایی گیاهچه‌ها بدیهی می‌نماید. مطالعه حاضر به بررسی واکنش لاین‌های اینبرد و هیبریدهای رایج ذرت در ایران، از لحاظ کالوس‌زایی و باززایی از ریزنمونه جنین بالغ در دو محیط کشت MS و N6 پرداخته است.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و محیط کشت القای کالوس

از بذرهای ۲۵ ژنوتیپ ذرت، مشتمل بر ۱۲ لاین‌اینبرد، ۱۱ هیبرید سینگل کراس، یک هیبرید دبل کراس و یک کمپوزیت تهیه شده از بخش تحقیقات ذرت موسسه اصلاح و تهیه بذر و نهال کرج استفاده شد (جدول ۱). این آزمایش در سال ۱۳۷۶، در آزمایشگاه کشت بافت‌های گیاهی دانشکدهٔ کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان اجرا گردید.

برای سترون‌سازی بذرهای رسیده، ابتدا از اتانول ۷۰% به مدت یک دقیقه، و سپس از محلول ۱% هیپوکلریت سدیم به مدت ۲۰ دقیقه استفاده شد. بعد از آب‌شویی با آب مقطر استریل، از جنین بذرها برای القای کالوس استفاده گردید (۶ و ۷). دو محیط کشت القایی MS (۱۸) و N6 (۷)، حاوی عناصر پرمصرف، کم مصرف و ویتامین‌ها، که به آن دو میلی گرم در لیتر D-۴ و ۲، یک میلی گرم در لیتر کاینتین، ۲۰ میلی مولار ال- پرولین و ۲۰۰ میلی گرم در لیتر کازوئین هیدرولیزات و پنج درصد سوکروز اضافه شده بود، مورد استفاده قرار گرفت.

برای نیمه جامد سازی محیط کشت، از ۲/۴ گرم در لیتر آگارز (نوع A۱، سیگما) استفاده شد، بدین ترتیب که چهار جنین بالغ هر ژنوتیپ مورد مطالعه در یک ظرف پتری با قطر پنج سانتی متر، در هر کدام از محیط‌های کشت القایی (MS و N6) قرار داده شد، و در دمای ۲۸ درجه سانتی گراد در تاریکی نگهداری گردید. لازم به توضیح است که، در این آزمایش جنین‌ها از طرف محور جنینی روی محیط کشت قرار گرفتند، به طوری که اسکوتلوم به طرف بالا قرار داشت. برای هر رقم در هر محیط کشت، هفت تکرار در نظر گرفته شد.

1. Scutellar bodies

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1379.4.4.4.3]

جدول ۱. کد، نام مخفف[۱]، ژنوتیپ و منشأ لاین‌های اینبرد و هیبریدهای ذرت مورد مطالعه

کد	نام مخفف	لاین اینبرد / هیبرید	مشنأ
۱	$IL_{۱}$	B۷۳	آمریکا
۲	$IL_{۲}$	L۱۰۵	یوگسلاوی سابق
۳	$IL_{۳}$	MO۱۷/۱۱-۱	آمریکا
۴	$IL_{۴}$	K۷۲۲	کرج
۵	$IL_{۵}$	S۶۱	یوگسلاوی سابق
۶	$IL_{۶}$	TVA۹۲۶	یوگسلاوی سابق
۷	$IL_{۷}$	K۱۲۶۴/۱	کرج
۸	$IL_{۸}$	K۱۲۶۳/۸	کرج
۹	$IL_{۹}$	K۷۱۸/۳	کرج
۱۰	$IL_{۱۰}$	FC۳۹۳	یوگسلاوی سابق
۱۱	$IL_{۱۱}$	K۱۳۶۹	کرج
۱۲	$IL_{۱۲}$	TD۸۱/۱-۱۱	یوگسلاوی سابق
۱۳	$SC_{۱}$	$IL_{۱}\times IL_{۲}$=SC۷۱۱	
۱۴	$SC_{۲}$	$IL_{۲}\times IL_{۳}$=SC۷۰۴	
۱۵	$SC_{۳}$	$IL_{۱}\times IL_{۴}$=SC۶۰۴	
۱۶	$SC_{۴}$	$IL_{۴}\times IL_{۵}$=SC۳۰۱	
۱۷	$SC_{۵}$	$IL_{۵}\times IL_{۶}$=SC۱۰۸	
۱۸	$SC_{۶}$	$IL_{۴}\times IL_{۷}$	
۱۹	$SC_{۷}$	$IL_{۴}\times IL_{۸}$	
۲۰	$SC_{۸}$	$IL_{۶}\times IL_{۹}$	
۲۱	$SC_{۹}$	$IL_{۶}\times IL_{۱۰}$	
۲۲	$SC_{۱۰}$	$IL_{۱۱}\times IL_{۱۲}$	
۲۳	$SC_{۱۱}$	$IL_{۱۲}\times$OH۴۳/۱Ht	
۲۴	Co	KO۶	آمریکا (آریزونا)
۲۵	DC	(R۵۹×R۳۱۹)×(W۵۳R×W۳۷A)=DC۳۷۰	

۱. IL = لاین اینبرد

SC = سینگل کراس

DC = دبل کراس

CO = کمپوزیت

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1379.4.4.4.3]

بررسی واکنش ژنوتیپ‌ها

میزان متوسط قطر کالوس حاصل از رشد جنین در ۸، ۱۲، ۱۶ و ۲۰ روز پس از کشت، برای هر ژنوتیپ در هر کدام از محیط‌های کشت یادداشت‌برداری شد. برای محاسبه متوسط قطر کالوس در ۸، ۱۲، ۱۶ و ۲۰ روز پس از کشت با استفاده از بینوکولار، طول کالوس در جهت بلندترین محور، و بزرگ‌ترین عرض عمود بر این محور اندازه‌گیری، و از میانگین این دو پارامتر برای محاسبه متوسط قطر کالوس استفاده گردید (۲۳). سپس به منظور محاسبه سرعت رشد کالوس (CGR) در زمان‌های یادداشت‌برداری شده، از تقسیم متوسط قطر کالوس بر زمان یادداشت‌برداری مطابق فرمول‌های زیر استفاده به عمل آمد:

$CGR_1=d_8/8$ $CGR_2=d_{12}/12$

$CGR_3=d_{16}/16$ $CGR_4=d_{20}/20$

در این فرمول‌ها d_8، d_{12}، d_{16} و d_{20} به ترتیب متوسط قطر کالوس (میلی‌متر) در ۸، ۱۲، ۱۶ و ۲۰ روز پس از کشت بوده و CGR_1 تا CGR_4 به ترتیب سرعت رشد کالوس (میلی‌متر در روز) در ۸ تا ۲۰ روز پس از کشت می‌باشند. در نهایت، برای محاسبه متوسط رشد کالوس (میلی‌متر قطر در روز)، میانگین سرعت رشد کالوس در چهار زمان یادداشت‌برداری شده مطابق با گزارش ارزانی و میراجاق (۲) مورد استفاده قرار گرفت.

با توجه به اهمیت استفاده از معیار وزن کالوس در ارزیابی، و این که استفاده از روش مستقیم توزین به دلیل آسیب‌دیدگی و آلوده شدن کالوس‌ها برای همه تکرارها امکان‌پذیر نبود، برای تخمین وزن تر و خشک کالوس از معادلات رگرسیون استفاده شد (۲۳). معادلات رگرسیون لگاریتمی ($Y = aX^b$) برای برآورد وزن تر و خشک کالوس (میلی گرم)، از طریق رابطه وزن تر و خشک کالوس‌های یک تکرار با متوسط قطر کالوس (میلی‌متر) در زمان‌های مختلف یادداشت‌برداری، و در کلیه تیمارهای سایر تکرارها به کار رفت. لازم به ذکر است که به منظور جلوگیری از خطرات برون‌یابی رگرسیونی، قطعات نمونه کالوس انتخابی برای محاسبات به گونه‌ای انتخاب شد که داده‌های حاصل از قطر کالوس‌های آزمایش اصلی در محدوده مشاهدات قطری این نمونه کالوس قرار داشته باشند. سپس با استفاده از فرمول ارائه شده توسط گالیبا و همکاران (۹) میزان رشد نسبی کالوس RGR محاسبه شد.

$RGR=[(\ln w_2-\ln w_1)(t_2-t_1)]\times 10^3$

که در آن $\ln w_1$ لگاریتم پایه ده وزن تر کالوس در هشت روز (t_1) بعد از کشت، و $\ln w_2$ لگاریتم پایه ده وزن تر کالوس در ۲۰ روز (t_2) بعد از کشت می‌باشد.

باززایی گیاهان

بعد از گذشت سه هفته از القای کالوس، کالوس‌ها به محیط باززایی منتقل گردیدند. در این مرحله محیط کشت MS_R برای باززایی استفاده شد، که این محیط کشت حاوی عناصر پرمصرف، کم مصرف و ویتامین‌های محیط کشت پایه MS به اضافه یک میلی‌گرم در لیتر IAA، یک میلی‌گرم در لیتر BA، سه درصد سوکروز و ۲۰ گرم در لیتر آگارز بود. ظروف حاوی محیط کشت باززایی، پس از نام‌گذاری و مسدود شدن با پارافیلم، در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد و طول روز ۱۶ ساعت، در انکوباتور نگهداری شدند. در نهایت، برای محاسبه فراوانی باززایی گیاهچه، تعداد کل گیاهچه‌های حاصل از ۱۰۰ کالوس کشت شده مورد استفاده قرار گرفت.

تجزیه آماری

برای تجزیه آماری نتایج از طریق تجزیه واریانس با استفاده از برنامهٔ مدل عمومی رگرسیون (GLM) و مقایسه میانگین‌های صفات با آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار فیشر (LDS)، از نرم‌افزار کامپیوتری اس. ا. اس (۲۲) استفاده گردید. به منظور تجزیه واریانس صفات وزن تر کالوس، وزن خشک، رشد نسبی کالوس، متوسط سرعت رشد کالوس و باززایی گیاهچه، از آزمایش فاکتوریل با دو عامل ژنوتیپ و محیط کشت استفاده شد. تجزیه واریانس سرعت رشد کالوس (میلی‌متر در روز) در چهار زمان (۸، ۱۲، ۱۶ و ۲۰ روز پس از کشت)، به صورت طرح کرت‌های یک بار خرد شده در زمان انجام گردید.

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1379.4.4.4.3]

نتایج و بحث

تفاوت بین ژنوتیپ‌ها از لحاظ رشد نسبی کالوس و متوسط رشد کالوس، در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). لاین اینبرد IL۱، و دبل‌کراس ۳۷۰، به ترتیب با ۱۱۷/۷ و ۱۱۶/۹ میلی گرم، دارای بیشترین مقدار رشد نسبی کالوس بودند، و به همراه لاین اینبرد IL۱۱، با مقدار ۱۱۱/۵، در گروه اول آزمون LSD ($P<0/01$) قرار گرفتند. از بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه، هیبرید SC۹ و لاین‌های اینبرد IL۸ و IL۱۰، به ترتیب با مقادیر ۷۲/۶۶ و ۸۶/۱ میلی‌گرم، کمترین مقدار رشد نسبی کالوس را داشته و در گروه آخر این آزمون قرار گرفتند (جدول ۲).

از لحاظ متوسط سرعت رشد کالوس، هیبرید SC۹ و دبل کراس ۳۷۰، به ترتیب با ۰/۷۳۸ و ۰/۷۳۱ میلی‌متر قطر در روز، بیشترین، و لاین اینبرد IL۱۱ و هیبرید SC۱۱، به ترتیب با مقادیر ۰/۵۰۵ و ۰/۵۴۵ میلی‌متر در روز، کمترین متوسط سرعت رشد کالوس را در بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه داشتند. نتیجه قابل توجهی که با مشاهده جدول ۲ به دست می‌آید، این است که هیبرید SC۱۱ و دبل کراس ۳۷۰ واکنش کاملاً متفاوتی برای رشد نسبی کالوس و سرعت رشد کالوس نشان دادند، به طوری که دبل کراس ۳۷۰ دارای بیشترین مقادیر، و SC۱۱ دارای کمترین مقادیر برای هر دو صفت بودند. لاین اینبرد IL۸ از نظر رشد نسبی کالوس از پایین‌ترین رتبه برخوردار بود، اما سرعت رشد کالوس مناسبی داشته و جزو برترین ژنوتیپ‌ها می‌باشد. هم‌چنین، لاین اینبرد IL۱۱ بر خلاف لاین IL۸ دارای رشد نسبی کالوس مناسب بوده، اما کمترین مقدار سرعت رشد کالوس را داشت. با توجه به این که رشد نسبی کالوس براساس وزن تر کالوس و سرعت رشد کالوس براساس قطر کالوس محاسبه شده است، می‌توان دریافت که لاین اینبرد IL۱۱، اگر چه در طی دوره رشد افزایش نسبی کمی در قطر کالوس نشان داده، اما وزن تر آن افزایش زیادی داشته است. این موضوع نشان دهنده بالاتر بودن وزن نسبی کالوس این لاین، احتمالاً به دلیل جذب آب بیشتر است. با حالت عکس در مورد لاین اینبرد IL۸ می‌توان دریافت که وزن تر کالوس در طی دوره رشد تفاوت چندانی نداشته، اما قطر کالوس در این لاین افزایش بیشتری نسبت به دیگر ژنوتیپ‌ها داشته است. این امر ممکن است به دلیل کم بودن وزن حجمی کالوس این ژنوتیپ، به خاطر جذب آب کمتر باشد. شایان ذکر است که وزن تر کالوس به عنوان برآورد بهتری از رشد کالوس نسبت به قطر کالوس گزارش شده است (۲ و ۲۳).

محاسبه درصد هتروزیس براساس والد برتر برای رشد نسبی کالوس، نشان داد که تنها هیبریدهای SC۷ و SC۹، به ترتیب با ۸/۲ و ۱/۲ درصد، دارای هتروزیس برای این صفت بودند، و هیبریدهای دیگر برای این صفت هتروزیس نشان ندادند. هم‌چنین، SC۹ بیشترین درصد هتروزیس (۲۱/۸) را برای سرعت رشد کالوس داشت، در حالی که هیبرید سینگل کراس ۷۱۱ با ۶/۹ درصد هتروزیس در مرتبه دوم قرار گرفت.

اثر متقابل ژنوتیپ و محیط کشت نیز برای رشد نسبی کالوس و سرعت رشد کالوس معنی‌دار بود. مقایسه میانگین این اثر متقابل، نشان داد که لاین IL۱۱ در محیط کشت MS با ۱۲۴/۴ میلی‌گرم بیشترین مقدار رشد نسبی کالوس را داشت، در حالی که در محیط کشت N6، هیبرید دبل کراس ۳۷۰ با ۱۲۲/۸ میلی‌گرم دارای بیشترین مقدار رشد نسبی کالوس بود. مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپ و محیط کشت برای متوسط سرعت رشد کالوس نشان داد که هیبرید SC_9 بیشترین مقدار را در محیط کشت MS با ۰/۸۳ میلی‌متر قطر در روز داشته، و لاین اینبرد IL۸ و کمپوزیت KO۶، به ترتیب با ۰/۷۵ و ۰/۷۴ میلی‌متر قطر در روز، بیشترین مقدار متوسط سرعت رشد کالوس در محیط کشت N6 را داشتند (شکل ۱). این امر نشان می‌دهد که شرایط مطلوب برای هر رقم، در محیط کشت معینی فراهم می‌شود. این نتایج با گزارش راپلا (۱۹)، که اثر متقابل معنی‌داری برای کالوس‌زایی از جنین نارس در هفت ژنوتیپ ذرت و دو محیط کشت به دست آورد، هماهنگی دارد.

اثر متقابل ژنوتیپ در زمان برای سرعت رشد کالوس نیز معنی‌دار بود. مقایسه میانگین در ژنوتیپ‌های ذرت، برای

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1379.4.4.4.3]

جدول ۲. مقایسه میانگین‌های کالوس‌زایی جنین بالغ (وزن تر و خشک و رشد نسبی کالوس) و باززایی کالوس‌ها در لاین‌های اینبرد و هیبریدهای ذرت مورد مطالعه

نام مخفف	وزن تر	وزن خشک	رشد نسبی کالوس	باززایی گیاهچه
IL_1	۲۴۴/۷$^{b-d}$	۹/۳۳۴$^{b-d}$	۱۱۷/۷^{a}	۷۱/۴^{a}
IL_2	۲۴۷/۳$^{b-d}$	۹/۴۴۰$^{a-d}$	۹۹/۲۹$^{b-d}$	۲۶/۸^{cd}
IL_3	۲۷۶/۶$^{a-d}$	۱۰/۳۹$^{a-c}$	۱۰۶/۹$^{a-c}$	۴۴/۶$^{a-d}$
IL_4	۲۷۵/۹$^{a-d}$	۱۰/۳۷$^{a-c}$	۹۴/۱۹$^{c-e}$	۲۶/۸^{cd}
IL_5	۲۸۴/۶$^{a-c}$	۱۰/۴۸$^{a-c}$	۱۰۳/۵$^{a-c}$	۴۴/۶$^{a-d}$
IL_6	۲۴۲/۲$^{b-d}$	۹/۳۸۷$^{a-d}$	۱۰۲/۷$^{a-d}$	۱۷/۹^{d}
IL_7	۲۴۴/۸$^{b-d}$	۹/۴۴۶$^{a-d}$	۱۰۳/۳$^{a-c}$	۵۳/۶$^{a-c}$
IL_8	۲۸۹/۱^{ab}	۱۰/۷۳$^{a-c}$	۸۰/۳۳^{ef}	۳۵/۷$^{b-d}$
IL_9	۲۶۸/۲$^{a-d}$	۱۰/۱۳$^{a-c}$	۹۶/۹۲$^{b-e}$	۳۵/۷$^{b-d}$
IL_{10}	۲۲۳/۲$^{d-f}$	۸/۹۸۳$^{c-e}$	۸۶/۱۰$^{d-f}$	۶۲/۵^{ab}
IL_{11}	۱۷۴/۸^{f}	۷/۴۰۸^{e}	۱۱۱/۵^{ab}	۴۴/۶$^{a-d}$
IL_{12}	۲۶۶/۴$^{a-d}$	۱۰/۰۹$^{a-c}$	۹۴/۹۰$^{c-e}$	۳۵/۷$^{b-d}$
SC_1	۲۷۱/۲$^{a-d}$	۱۰/۱۹$^{a-c}$	۹۳/۹۹$^{c-e}$	۴۴/۶$^{a-d}$
SC_2	۲۸۵/۴$^{a-c}$	۱۰/۵۷$^{a-c}$	۱۰۶/۸$^{a-c}$	۶۲/۵^{ab}
SC_3	۲۷۴/۲$^{a-d}$	۱۰/۴۳$^{a-c}$	۱۰۷/۴$^{a-c}$	۵۳/۶$^{a-c}$
SC_4	۲۷۵/۲$^{a-d}$	۱۰/۳۰$^{a-c}$	۱۰۳/۵$^{a-c}$	۶۲/۵^{ab}
SC_5	۲۳۴/۴$^{c-e}$	۹/۱۷۳$^{b-e}$	۹۹/۸۶$^{b-d}$	۴۴/۶$^{a-d}$
SC_6	۲۳۴/۸$^{c-e}$	۹/۲۱۹$^{b-e}$	۹۰/۸۸$^{c-e}$	۲۶/۸^{cd}
SC_7	۲۹۴/۷^{ab}	۱۰/۸۶^{ab}	۱۰۱/۹$^{a-d}$	۴۴/۶$^{a-d}$
SC_8	۲۸۴/۵$^{a-c}$	۱۰/۵۵$^{a-c}$	۱۰۳/۱$^{a-c}$	۲۶/۸^{cd}
SC_9	۳۱۰/۷^{a}	۱۱/۲۷^{a}	۱۰۳/۹$^{a-c}$	۳۵/۷$^{b-d}$
SC_{10}	۲۸۶/۰$^{a-c}$	۱۰/۶۲$^{a-c}$	۱۰۳/۱$^{a-c}$	۲۶/۸^{cd}
SC_{11}	۱۸۶/۷^{ef}	۷/۷۸۵^{de}	۷۲/۶۶^{f}	۱۷/۹^{d}
Co	۲۷۴/۲$^{a-d}$	۱۰/۴۲$^{a-c}$	۱۰۷/۴$^{a-c}$	۴۴/۶$^{a-d}$
DC	۲۸۰/۵$^{a-c}$	۱۰/۳۶$^{a-c}$	۱۱۶/۹^{a}	۴۴/۶$^{a-d}$
LSD	۵۳/۷۸	۱/۸۸۷	۱۶/۶۰	۳۱/۷۸

میانگین‌هایی که دارای حروف مشابه نیستند، با یکدیگر اختلاف معنی‌دار دارند ($P<0/01$).

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1379.4.4.4.3]

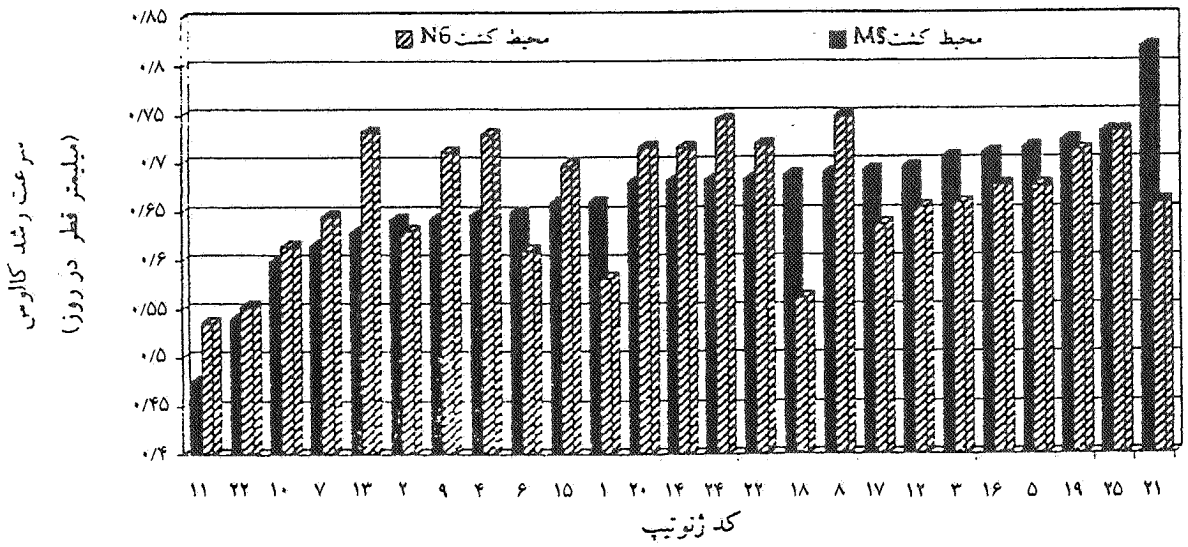
جدول ۳. مقایسه میانگین‌های اثر متقابل ژنوتیپ و زمان برای سرعت رشد کالوس در لاین‌های اینبرد و هیبریدهای ذرت مورد مطالعه

نام مخفف	روز پس از کشت (میلی‌متر)				میانگین
	۸	۱۲	۱۶	۲۰	
IL_1	۰/۶۲۷۴$^{a-e}$	۰/۵۹۱۵^{de}	۰/۶۹۵۵$^{a-e}$	۰/۵۶۵۶$^{a-g}$	۰/۶۱۹۹^{gh}
IL_2	۰/۶۰۹۶$^{b-e}$	۰/۶۶۵۲$^{b-d}$	۰/۶۸۵۶$^{a-e}$	۰/۵۸۳۳$^{d-g}$	۰/۶۳۵۹$^{d-h}$
IL_3	۰/۶۷۷۷$^{a-d}$	۰/۶۶۹۶$^{b-d}$	۰/۷۳۲۴$^{a-c}$	۰/۶۴۵۸$^{b-f}$	۰/۶۸۱۴$^{a-f}$
IL_4	۰/۶۷۲۱$^{a-e}$	۰/۷۲۵۴^{ab}	۰/۷۱۱۲$^{a-e}$	۰/۶۳۹۹$^{b-f}$	۰/۶۸۷۲$^{a-e}$
IL_5	۰/۷۰۱۱$^{a-c}$	۰/۷۰۰۹$^{a-d}$	۰/۷۳۴۶$^{a-c}$	۰/۶۴۴۴$^{b-f}$	۰/۶۹۵۳$^{a-c}$
IL_6	۰/۵۹۸۵$^{c-f}$	۰/۶۳۳۹$^{b-d}$	۰/۶۵۸۷$^{b-c}$	۰/۶۲۵۱$^{c-g}$	۰/۶۲۹۰$^{f-h}$
IL_7	۰/۶۱۷۴$^{b-e}$	۰/۶۱۸۳$^{b-d}$	۰/۶۴۵۳$^{c-e}$	۰/۶۳۹۹$^{b-f}$	۰/۶۳۰۲$^{e-h}$
IL_8	۰/۶۷۴۴$^{a-d}$	۰/۷۹۲۴^{a}	۰/۷۰۰۱$^{a-e}$	۰/۷۰۶۸$^{a-c}$	۰/۷۱۸۴$^{a-c}$
IL_9	۰/۶۳۹۷$^{a-e}$	۰/۷۰۳۱$^{a-b}$	۰/۶۹۸۹$^{a-e}$	۰/۶۶۳۷$^{b-e}$	۰/۶۷۶۳$^{b-g}$
IL_{10}	۰/۵۵۸۳$^{e-g}$	۰/۶۵۴۰$^{b-d}$	۰/۵۹۸۴^{ef}	۰/۶۱۴۶$^{c-g}$	۰/۶۰۶۳^{h}
IL_{11}	۰/۴۸۱۳^{g}	۰/۴۹۵۵^{e}	۰/۵۲۵۹^{f}	۰/۵۱۹۳^{g}	۰/۵۰۵۵^{i}
IL_{12}	۰/۶۳۴۱$^{a-e}$	۰/۷۰۰۹$^{a-d}$	۰/۶۸۸۹$^{a-e}$	۰/۶۷۴۱$^{b-e}$	۰/۶۷۴۵$^{b-g}$
SC_1	۰/۶۴۵۳$^{a-e}$	۰/۷۰۹۸$^{a-c}$	۰/۶۹۰۱$^{a-e}$	۰/۶۷۵۵$^{b-e}$	۰/۶۸۰۱$^{b-f}$
SC_2	۰/۶۸۴۸$^{a-d}$	۰/۶۸۳۳$^{a-d}$	۰/۷۴۸۴$^{a-c}$	۰/۶۷۵۶$^{b-e}$	۰/۶۹۸۰$^{a-c}$
SC_3	۰/۶۴۹۱$^{a-e}$	۰/۶۰۷۴$^{c-e}$	۰/۶۴۹۱$^{c-e}$	۰/۸۰۴۴^{a}	۰/۶۷۷۵$^{b-g}$
SC_4	۰/۶۶۱۴$^{a-e}$	۰/۷۰۶۸$^{a-c}$	۰/۷۱۸۹$^{a-d}$	۰/۶۸۴۵$^{b-d}$	۰/۶۹۲۹$^{a-d}$
SC_5	۰/۶۲۹۶$^{a-e}$	۰/۶۸۵۵$^{a-d}$	۰/۶۹۲۱$^{a-e}$	۰/۶۴۸۱$^{b-f}$	۰/۶۶۳۸$^{c-h}$
SC_6	۰/۵۸۶۲$^{d-g}$	۰/۶۶۷۴$^{b-d}$	۰/۶۱۴۳$^{d-f}$	۰/۶۲۸۱$^{b-g}$	۰/۶۲۴۰$^{f-h}$
SC_7	۰/۶۸۶۶$^{a-d}$	۰/۷۱۸۸$^{a-c}$	۰/۷۵۱۳$^{a-c}$	۰/۷۱۱۳$^{a-c}$	۰/۷۱۷۰$^{a-c}$
SC_8	۰/۶۸۶۶$^{a-d}$	۰/۶۸۷۵$^{a-d}$	۰/۷۲۷۹$^{a-d}$	۰/۶۸۷۵$^{b-d}$	۰/۶۹۷۴$^{a-c}$
SC_9	۰/۷۱۵۶^{ab}	۰/۷۲۷۷^{ab}	۰/۷۶۹۲^{ab}	۰/۷۴۱۱^{ab}	۰/۷۳۸۴^{a}
SC_{10}	۰/۶۸۶۶$^{a-d}$	۰/۶۸۷۵$^{a-d}$	۰/۷۲۷۹$^{a-d}$	۰/۶۹۹۵$^{a-c}$	۰/۷۰۰۴$^{a-c}$
SC_{11}	۰/۴۸۹۱^{fg}	۰/۶۳۶۱$^{b-d}$	۰/۵۱۱۴^{f}	۰/۵۴۴۷^{fg}	۰/۵۴۵۳^{i}
Co	۰/۶۸۵۵$^{a-d}$	۰/۷۱۸۸$^{a-c}$	۰/۷۴۳۶$^{a-c}$	۰/۷۰۴۱$^{a-c}$	۰/۷۱۲۹$^{a-c}$
DC	۰/۷۳۳۴^{a}	۰/۶۹۴۲$^{a-d}$	۰/۷۷۳۷^{a}	۰/۷۲۴۷$^{a-c}$	۰/۷۳۱۵^{ab}
LSD	۰/۱۱۴۴	۰/۱۱۴۴	۰/۱۱۴۴	۰/۱۱۴۴	۰/۰۵۷۹۷

میانگین‌هایی که دارای حروف مشابه نیستند، با یکدیگر اختلاف معنی‌دار دارند ($P<0/01$).

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1379.4.4.4.3]



شکل ۱. اثر متقابل ژنوتیپ و محیط کشت در سرعت رشد کالوس حاصل از کشت جنین بالغ، در لاین‌های اینبرد و هیبریدهای ذرت مورد مطالعه

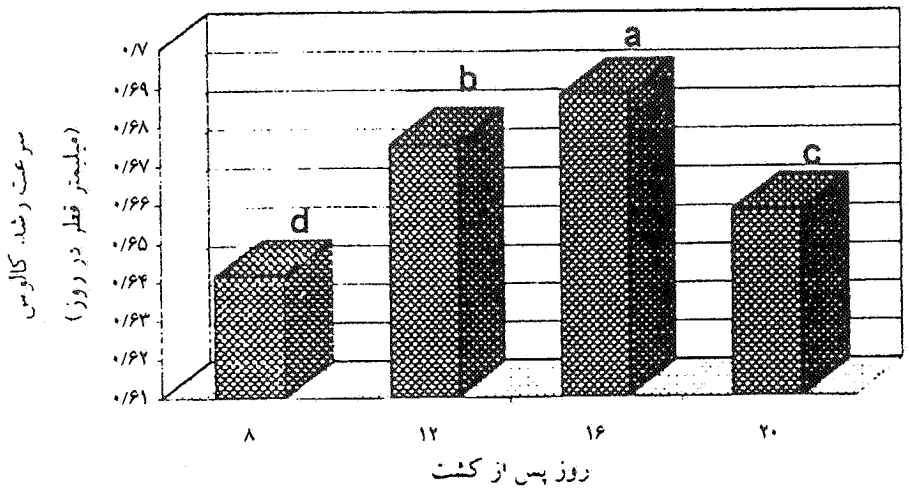
سرعت رشد کالوس در زمان‌های مختلف کشت، نشان داد که حداکثر رشد کالوس برای هر رقم در زمان معینی صورت می‌گیرد (جدول ۳). به طوری که هشت روز پس از کشت هیبرید دبل کراس ۳۷۰، ۰/۷۳ میلی‌متر قطر در روز رشد داشت. پس از دوازده روز لاین IL۸ با ۰/۷۹ میلی‌متر در روز، هیبرید دبل کراس ۳۷۰ با ۰/۷۷ میلی‌متر در روز، و هیبرید سنیگل‌کراس ۶۰۴ با ۰/۸۰ میلی‌متر بعد از ۱۶ روز کشت، از بیشترین سرعت رشد کالوس برخوردار بودند. به طور کلی، سرعت رشد کالوس در هشت روز پس از کشت کمترین میزان و در شانزده روز پس از کشت بیشترین مقدار را دارا بود (شکل ۲).

بعضی از پژوهشگران تفاوت مشاهده شده بین ژنوتیپ‌ها را تحت تأثیر هورمون‌های مترشحه داخلی گیاه می‌دانند، که احتمالاً تظاهر یک یا تعدادی ژن در کنترل آن بی‌تأثیر نیست (۱۲ و ۲۱). روزاتی و همکاران (۲۰) نیز گزارش کردند که، کالوس‌زایی در فراوانی کمتر از حد مورد انتظار، ممکن است به دلیل وجود دمای بالا در طول رشد، و در نتیجه بر هم خوردن تعادل هورمونی در جنین‌ها باشد.

نتایج تجزیه واریانس وزن تر و خشک کالوس حاصل از جنین بالغ ذرت، تفاوت معنی‌داری را در سطح احتمال یک درصد بین ژنوتیپ‌ها نشان داد. مقایسه میانگین‌های ژنوتیپ‌های مورد مطالعه برای وزن تر کالوس، نشان داد که هیبرید SC۹ با میانگین ۳۱۰/۷ میلی گرم کالوس بیشترین میزان تولید وزن تر کالوس را در محیط‌های کشت و زمان‌های مختلف داشته، و به همراه لاین اینبرد IL۸ و هیبرید SCv، به ترتیب با ۲۸۹/۱ و ۲۹۴/۷ میلی‌گرم وزن تر کالوس، در بالاترین رتبه قرار گرفتند (جدول ۲).

از بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه، لاین‌های اینبرد IL۱۰ و IL۱۱ و هیبرید SC۱۱ کمترین میزان وزن تر کالوس را داشته و به ترتیب با میانگین‌های ۲۲۳/۳، ۱۷۴/۸ و ۱۸۶/۷ گرم وزن تر در آخرین رتبه قرار گرفتند. مقایسه میانگین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه، برای وزن خشک کالوس، نشان داد که ژنوتیپ‌هایی که بیشترین و کمترین وزن تر کالوس را داشتند، بیشترین و کمترین وزن خشک را نیز دارند، به طوری که هیبریدهای SC۹ و SCv، به ترتیب با میانگین‌های ۱۱/۲۷ و ۱۰/۸۶ میلی‌گرم، بیشترین وزن خشک و لاین اینبرد IL۱۱ با ۷/۴۱ میلی‌گرم کمترین وزن خشک کالوس را داشتند (جدول ۲). این نتایج حاکی از تنوع

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-03-29]
[DOR: 20.1001.1.24763594.1379.4.4.4.3]



شکل ۲. مقایسه سرعت رشد کالوس در زمان‌های مختلف (روز پس از کشت) در کالوس‌های حاصل از جنین بالغ

ژنتیکی مشاهده شده بین ژنوتیپ‌های ذرت مورد مطالعه می‌باشد، که با گزارش پژوهشگران دیگر (۱، ۱۴، ۱۸ و ۲۳) مطابقت دارد.

اثر متقابل ژنوتیپ و محیط کشت برای وزن تر کالوس معنی‌دار بود (شکل ۳). با مقایسه میانگین‌های اثر متقابل ژنوتیپ و محیط کشت مشخص شد که هیبرید SC۹ با میانگین ۳۵۶/۶ میلی‌گرم در محیط کشت MS، و سینگل کراس ۷۱۱ با میانگین ۳۰۲/۴ میلی‌گرم در محیط کشت N6، بیشترین میزان وزن تر کالوس را داشتند (شکل ۳). از طرف دیگر، لاین اینبرد IL۱۱ با میانگین‌های ۱۶۲/۱ میلی‌گرم در محیط کشت MS و ۱۸۷/۴ میلی‌گرم در محیط کشت N6، کمترین مقدار وزن تر کالوس را در دو محیط کشت به خود اختصاص داد (شکل ۳). راپلا (۱۹) گزارش کرد که اثر متقابل ژنوتیپ و محیط کشت در تعیین درصد و نوع کالوس حاصل از جنین نارس ذرت نقش عمده‌ای دارد، به طوری که بعضی از ژنوتیپ‌ها در محیط کشت MS و بعضی دیگر در محیط کشت YP حداکثر تولید کالوس را دارند.

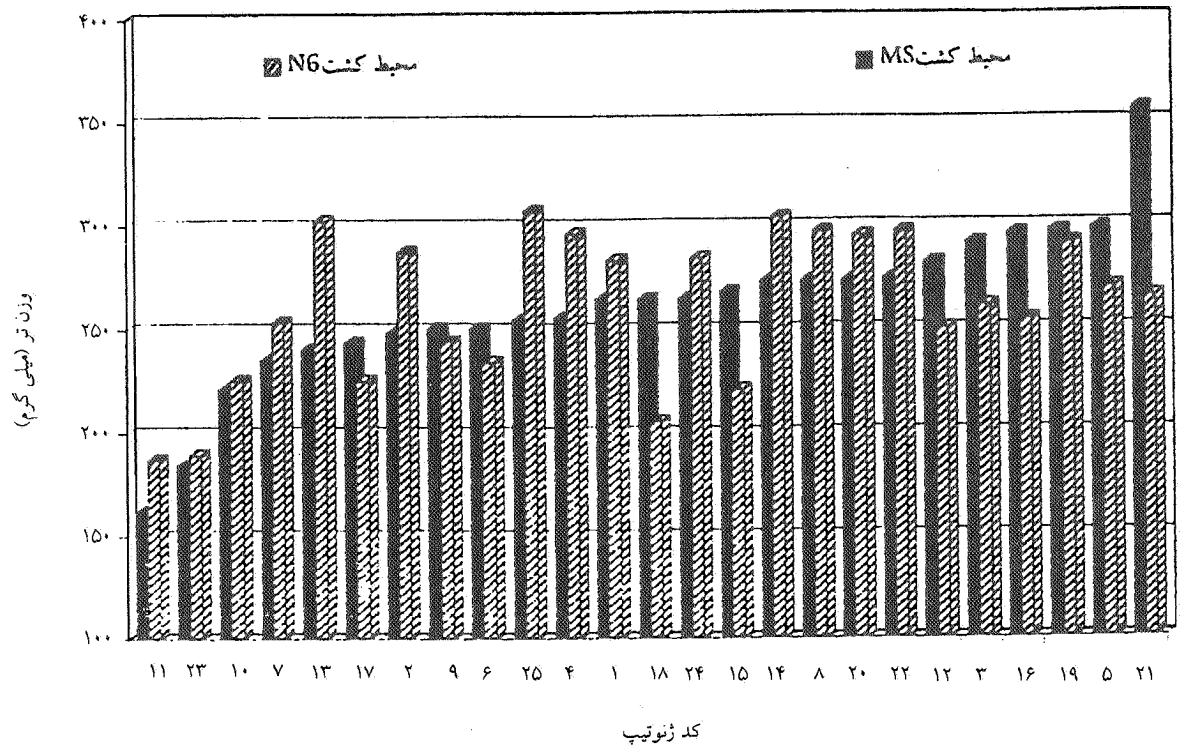
در مطالعه حاضر نیز مشخص شد که شرایط مطلوب رشد برای هر رقم، در یک محیط کشت خاص به دست می‌آید. به عنوان مثال، هیبرید SC۹ بیشترین وزن تر و خشک کالوس را در محیط کشت MS، و هیبرید دبل کراس ۳۷۰ در محیط کشت N6 نشان داد (شکل ۳ و ۴). اثر متقابل ژنوتیپ در محیط کشت برای وزن خشک کالوس نیز معنی‌دار شد (شکل ۴). مقایسه این اثر متقابل نشان داد که هیبرید SC۹ در محیط کشت MS با مقدار ۱۲/۵۲ میلی‌گرم، و لاین اینبرد IL۸، هیبرید سینگل‌کراس ۷۱۱ و دبل‌کراس ۳۷۰ در محیط کشت N6، به ترتیب با ۱۱/۱۷، ۱۱/۰۶ و ۱۱/۰۶ میلی‌گرم بیشترین وزن خشک کالوس را داشتند (شکل ۴).

در بررسی انجام شده روی ۱۵ ژنوتیپ جو، برای تعیین اثر ژنوتیپ، محیط کشت و اثر متقابل این دو عامل گزارش شد که ژنوتیپ مهم‌ترین عامل در تعیین مورفولوژی و مقدار کالوس است (۴). ماتیاس و سیمپسون (۱۷) نیز با مقایسه هشت ژنوتیپ گندم، تفاوت معنی‌داری در کالوس‌زایی از جنین نارس مشاهده کردند. لو و همکاران (۱۵) یازده هیبرید ذرت را برای کالوس‌زایی از جنین نارس مورد بررسی قرار داده و گزارش کردند از نظر میزان و نوع کالوس (نوع یک یا دو) تشکیل شده از جنین، بین ژنوتیپ‌ها تفاوت معنی‌داری وجود دارد. در گزارش دیگری، اثر معنی‌دار ژنوتیپ و محیط کشت بر درصد کالوس‌زایی و جنین غیرجنسی در ذرت مشاهده گردید (۱۷).

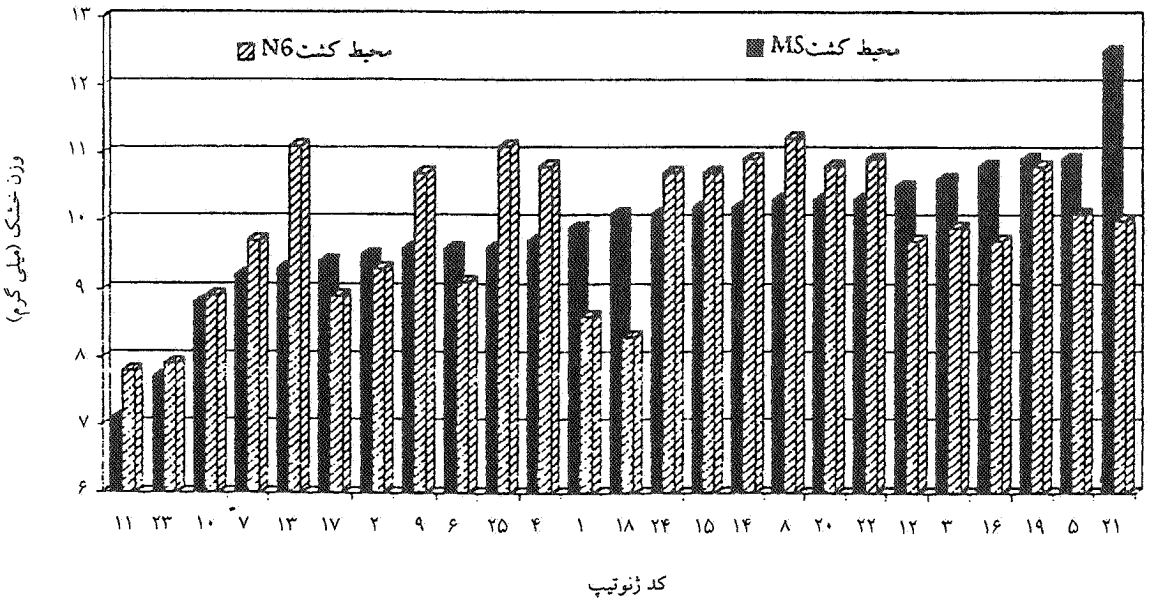
مقایسه میانگین ژنوتیپ در ذرت مورد مطالعه از لحاظ

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1379.4.4.4.3]



شکل ۳. اثر متقابل ژنوتیپ و محیط کشت بر وزن تر کالوس حاصل از جنین بالغ، در لاین‌های اینبرد و هیبریدهای ذرت مورد مطالعه



شکل ۴. اثر متقابل ژنوتیپ و محیط کشت بر وزن خشک کالوس حاصل از جنین بالغ، در لاین‌های اینبرد و هیبریدهای ذرت مورد مطالعه

باززایی گیاهچه، نشان داد که لاین اینبرد IL۱ با ۷/۴%، لاین اینبرد IL۱۰ و هیبریدهای سینگل کراس ۷۰۴ و ۳۰۱ با ۶۲/۵% گیاهچه باززایی شده، بالاترین رتبه را به خود اختصاص دادند (جدول ۲). لاین اینبرد IL۵ و سینگل کراس

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1379.4.4.4.3]

SC۱۱ هر دو با ۱۷/۹٪ باززایی از کالوس‌های منتقل شده به محیط کشت باززایی ،کمترین تولید گیاهچه را داشتند. در گندم نان (۱۷)، گندم دوروم (۲) و ذرت (۱، ۶، ۱۶، ۱۹ و ۲۰) تأثیر معنی‌دار و مهم ژنوتیپ در عملکرد کالوس‌زایی و باززایی حاصل از جنین تأکید شده است.

با توجه به این که باززایی در کشت کالوس به لحاظ وابستگی به ژنوتیپ، در روش انتخاب در سطح سلولی، و ترانسفورماسیون ژنتیکی حائز اهمیت است، براساس نتایج این آزمایش، لاین اینبرد IL۱ و IL۱۰، و هیبریدهای سینگل‌کراس ۷۰۴ و ۳۰۱ با عملکرد کالوس‌زایی و باززایی مناسب، برای طرح اصلاحی ذرت متکی به کشت کالوس قابل توصیه می‌باشند.

منابع مورد استفاده

1. Armstrong, C. L. and R. L. Phillips. 1988. Genetic and cytogenetic variation in plant regeneration from organogenic and friable embryogenic tissue culture of maize. Crop Sci. 28: 363-369.
2. Arzani, A. and S. S. Mirodjagh. 1999. Response of durum wheat cultivars to immature embryo culture, callus induction and *in vitro* salt stress. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 58: 67-72.
3. Brettschneider, R., D. Becker and H. Lorz. 1997. Efficient transformation of scutellar tissue of immature maize embryos. Theor. Appl. Genet. 94: 737-748.
4. Bregitzer, P. 1992. Plant regeneration and callus type in barley: Effect of genotype culture medium. Crop Sci. 32: 1108-1112.
5. Bronsema, F. B. F., P. Redig, W. J. F. Van Oostveen, H. A. Vanonckelen and A. M. Van Lammeren. 1996. Uptake and biochemical analysis of 2,4-D in cultured zygotic embryos of *Zea mays*. L. J. Plant Physiol. 149: 363-371.
6. Bronsema, F. B. F., W. J. F. Van Oostveen and A. M. Van Lammeren. 1997. Comparative analysis of callus formation and regeneration on cultured immature maize embryos of the inbred lines Al88 and A632. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 50: 57-65.
7. Chu, C. C. 1978. The N6 medium and its applications to anther culture of cereal crops. pp. 45-50, *In*: Proc. Plant Tissue Culture Symp. Science, Peking, China.
8. D'Halluin, K., E. Bonne, M. Bossut, M. D. Beuckeleer and J. Leemans. 1992. Transgenic maize plant by tissue electroporation. The Plant Cell 4: 1495-1505.
9. Galiba, B., G. Kocsy, R. Kaur-Sawhney, J. Sutka and A. W. Galston. 1993. Chromosomal localization of osmotic and salt strees-induced differential alternations polyamine content in wheat. Plant Sci. 92: 203-211.
10. Green, C. E. and R. L. Phillips. 1975. Plant regeneration from tissue culture of maize. Crop Sci. 15: 419-421.
11. Emons, A. M. C. and H. D. Does. 1993. Origin and development of embryo and bud primordia during maturation of embryogenic calli of *Zea mays* L. Can. J. Bot. 71: 1349-1356.
12. Hess, J. R. and G. Carman. 1998. Embryogenic competence of immature wheat embryos: Genotype, donor plant, environment, and endogenous hormone levels. Crop Sci. 38: 249-253.
13. Ishida, Y., H. Saito, S. Onta, Y. Hiel, T. Komari and T. Kumashiro. 1996. High efficiency transformation of maize (*Zea mays* L.) mediated by *Agrobacterium tumefaciens*. Nature Biotech. 14: 745-750.
14. Kumar De, K. 1995. An Introduction to Plant Tissue Culture. New Central Book Agency LTD, India.

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1379.4.4.4.3]

15. Lu, C., V. Vasil and I. K. Vasil. 1983. Improved efficiency of somatic embryogenesis and plant regeneration in tissue culture in maize (*Zea mays* L.). Theor. Appl. Genet. 66: 285-289.
16. Machii, H., H. Mizuno, T. Hirabayashi, H. Li and T. Hagio. 1988. Screening wheat genotype for high callus induction and regeneration capability from anther and immature embryo culture. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 53: 67-74.
17. Mathias, R. J. and E. S. Simpson. 1986. The interaction of genotype and culture medium on the tissue culture response of wheat (*Triticum aestivum* L. em. Thell) callus. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 7: 31-37.
18. Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiol. Plantarum 15: 473-497.
19. Rapela, M. A. 1984. Indirect somatic (nonzygotic) embryogenesis in maize tissue culture. Maize Genet. Coop. News. 58: 110-112.
20. Rosati, C., P. Landi and R. Tuberosa. 1994. Recurrent selection for regeneration capacity from immature embryo-derived calli in maize. Crop Sci. 34: 343-347.
21. Santos, M. A., T. Camara, P. Rodriguez, I. Claparols and J. M. Torne. 1996. Influence of exogenous proline on embryogenic and organogenic maize callus subjected to salt stress. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 47: 59-65.
22. SAS Institute. 1993. SAS/STAT User's Guide. Version 6, 4th Ed., SAS Institute, Cary, NC, USA.
23. Taylor, R. J. and G. A. Secor. 1992. Average tissue diameter as a non-destructive determinant of potato protoplast-derived callus growth. Envir. Exp. Bot. 32: 43-48.
24. Vasil, V., C. Y. Lu and I. K. Vasil. 1983. Proliferation and plant regeneration from nodal region of *Zea mays* L. (maize, Gramineae) embryos. Am. J. Bot. 70: 951-954.
25. Vasil, V., I. K. Vasil and C. Y. Lu. 1984. Somatic embryogenesis in long-term callus culture of *Zea mays* L. (Gramineae). Am. J. Bot. 71: 158-161.

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1379.4.4.4.3]