

مطالعه باززائی در ارقام مختلف جو

منصور امیدى^۱، پریچهر احمدیان تهرانی^۲، محمدرضا قنادها^۳،
علی اکبر شاهنجات بوشهری^۴ و بدرالدین ابراهیم سید طباطبائی^۵
۱، ۲، ۳، ۴، ۵، استادیار، استاد، دانشیار و استادیاران دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران
تاریخ پذیرش مقاله ۸۰/۱۱/۳

خلاصه

جهت مطالعه باززائی در جو، ۴ ژنوتیپ دو ردیفه و ۴ ژنوتیپ شش ردیفه با مبدا ایرانی و ژاپنی از کلکسیون غلات گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران انتخاب گردید. دو هفته بعد از گردهافشانی، جنین نارس آنها در محیط موراشیگ و اسکوگ با ۲ میلی گرم در لیتر 2, 4-D کشت گردید. کالوس‌های حاصل بعد از قطع اندام تمایز یافته تقریباً بعد از یک ماه در همان محیط واکشت شدند. در این مطالعه تنوع بین ژنوتیپ‌ها، درون ژنوتیپ‌ها (گیاه)، درون گیاه (خوشه)، تاریخ کشت گیاه دهنده جنین نارس در مزرعه و گلخانه، و اثر محل کشت گیاه دهنده جنین نارس در خاک برای صفات طول ساقه باززا شده، طول ریشه باززا شده، مجموع طول ریشه و ساقه باززا شده، طی دو واکشت، باززائی طی دو واکشت، تعداد ساقه در هر کالوس، و اثر اندازه جنین نارس طی واکشت‌های اول و دوم بررسی گردید. در تمام آزمایشات رقم شش ردیفه زرجو کمترین میزان باززائی را برای تمام صفات مطالعه شده دارا بود و ارقام دو ردیفه شماره ۱۷ کلکسیون و شش ردیفه شماره ۱ ژاپنی در بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه بالاترین رتبه را دارا بودند. با مطالعه شرایط مزرعه و گلخانه مشخص گردید که برای بروز صفات مربوط به باززائی، گیاه دهنده ریز نمونه باید در شرایط مطلوب و در تاریخ مناسب کشت گردد. صفات مربوط به باززائی در بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه تنوع بسیار خوبی نشان دادند. در بین گیاهان یک ژنوتیپ تنوع کمتر و در بین خوشه‌های یک گیاه تنوع بسیار کمتری مشاهده گردید. مناسب‌ترین اندازه جنین در بین نمونه‌های مورد مطالعه، بزرگتر از ۰/۵ و کوچکتر از ۱/۶ میلی متر شده بود که در بین آنها نیز اندازه بزرگتر از ۰/۵ میلی متر و کوچکتر از ۱/۱ میلی متر بهترین پاسخ را داد. ضمناً جنین‌های بزرگتر از ۱/۶ میلی متر بیشترین ساقه‌دهی و جنین‌های کوچکتر از ۰/۵ میلی متر بیشترین ریشه‌دهی را طی واکشت اول داشتند.

واژه‌های کلیدی: جو، باززائی، دو ردیفه، شش ردیفه، واکشت، جنین نارس.

مقدمه

باززائی از طریق کشت بافت در گونه‌های اهلی و وحشی زیادی از جو علاوه بر هیبریدهای بین و داخل گونه‌ای دیده شده است. وسعت باززائی گیاه اساساً تحت تأثیر ریز نمونه، ژنوتیپ و شرایط کشت در آزمایشگاه می‌باشد (۱). در باززائی گیاه، اندام‌های نارس و بافت‌های مرستمی موفق‌تر از اندام‌های رسیده هستند (۳، ۵، ۱۸). رابطه بین ژنوتیپ گیاه و

پاسخ به شرایط کشت آزمایشگاهی به خصوص باززائی در مطالعات متعددی گزارش شده است (۵، ۷، ۱۰، ۱۶). در یکی از این مطالعات ۹۱ نمونه جو زراعی برای شروع کالوس دهی، قدرت رشد کالوس‌ها و همچنین قدرت باززائی ژنوتیپ‌های مختلف بررسی گردید. که در آن فقط ۶ ژنوتیپ قدرت باززائی داشتند (۷). از رابطه بین ژنوتیپ و میزان باززائی استنباط شد که قدرت مورفوژنیک به وسیله ژن‌های خاصی تنظیم می‌شود.

جنین‌های نارس به طول ۱/۲-۰/۸ میلی‌متر، ۱۴-۱۲ روز بعد از گرده‌افشانی در محیط MS و N6 با ۲ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D کشت شدند. اندازه کالوس در ۷ ژنوتیپ و ۴۹ تلاقی بین آن تفاوت نشان دادند و مشخص گردید که این صفات تحت کنترل ژنتیکی هستند. یک اثر ژنتیکی غیر آلی برای باززائی مشخص شد (۹).

در آزمایشی روی ۱۱ رقم زراعی جو، جنین نارس آنها با طول ۲-۱ میلی‌متر روی محیط MS با ۱ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D کشت شد و در آن باززائی و تعداد ساقه‌های سوماتیکی در هر کالوس مشاهده شد (۲۰).

از ۵ رقم زراعی جو، جنین نارس آنها با طول ۰/۱ تا ۱/۵ میلی‌متر و برگ جوان آنها کشت گردید. دو رقم عکس‌العمل بسیار محدودی به کشت هر دو نوع ریز نمونه از نظر تولید کالوس داشتند، در صورتیکه سه رقم دیگر کالوس‌های جنین‌زا فراوانی از هر دو ریز نمونه تولید کردند (بین ۲۵٪ تا ۶۰٪). برای یکی از این سه رقم جنین نارس پاسخ بهتری داد. کالوس‌دهی در دو رقم بستگی به اندازه جنین نداشت. در صورتیکه در دو رقم دیگر اگر چه تفاوت معنی‌داری بین طول ۱-۰/۶ میلی‌متر با طول ۱/۱-۱/۵ وجود نداشت، ولی بیشترین میزان کالوس جنین‌زا را طول ۱/۱-۱/۵ میلی‌متر تولید نمود. جنین‌های با طول بزرگتر از ۱/۵ میلی‌متر نیز ارزیابی شدند که تولید کالوس خوبی نداشتند (۱۹).

در آزمایشی بر روی جو با استفاده از کشت جنین نارس و با استفاده از QTL، مشخص گردید که توان تولید کالوس و توان باززائی به وسیله ژن‌های چندگانه^۱ و ژن‌های منفرد^۲ کنترل می‌شود که مجزا از همدیگر هستند (۱۲).

در مطالعه حاضر هدف بررسی باززائی در ارقام مختلف جوهای شش ردیفه و دو ردیفه ایرانی و ژاپنی بوده است بدین صورت که صفات مختلف مربوط به باززائی، اثر ژنوتیپ‌های مختلف، اثر گیاه داخل هر ژنوتیپ، اثر خوشه در هر گیاه، اثر اندازه جنین، و اثر تاریخ کشت و محل کشت گیاه دهنده جنین نارس بررسی شد.

برای اطمینان از دخالت داشتن زمینه ژنتیکی در باززائی، لازم است که لاین‌های آنیوپلوئید و آلپولاسمیک جو تهیه شوند و کنترل هسته‌ای و سیتوپلاسمی باززائی بررسی شود. این مطالعات اخیراً در گندم نان انجام شده که نشان می‌دهد کروموزوم‌های ۴B و ۲BS برای باززائی اساسی هستند (۴، ۱۳).

القاء کالوس و نگهداری آن، همچنین باززائی گیاه در جو در شرایط محیطی بررسی و از بعضی از محیط‌های پایه، تیمارهای هورمونی و افزودنی‌های آمینواسیدی استفاده شده است تا باززائی گیاه بهینه شود. در بین محیط‌های مختلف آزمایش شده محیط غذایی MS عمومی‌ترین محیط بوده است (۸، ۱۵، ۱۶، ۱۷). برای بهینه کردن باززائی گیاه و کالوس، از بسیاری از تنظیم کننده‌های رشد استفاده شده است. در اکثر مطالعات 2,4-D برای شروع کالوس‌دهی در غلظت‌های بین ۱ تا ۵ میلی‌گرم در لیتر استفاده شده است (۱۱، ۱۴).

در آزمایشی اثرات ژنوتیپ و محیط کشت روی ۱۵ ژنوتیپ جو بررسی شد. در این آزمایش محیط‌های تغییر یافته B5، MS و CC به کار برده شد. ریز نمونه به کار برده شده جنین نارس با طول ۳-۱ میلی‌متر بود. مقدار ۳ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D استفاده شد. محیط باززائی بدون 2,4-D و با شکر دو برابر (۶۰ گرم در لیتر ساکارز) بود و در پایان گیاهان باززا شده شمارش شدند. در این تحقیق کالوس‌های جنین‌زا از تمام ژنوتیپ‌ها به دست آمد. توان باززائی تحت تأثیر ژنوتیپ، محیط کشت و اثر متقابل ژنوتیپ در محیط کشت بود. ژنوتیپ مهمترین عامل در پاسخ به کشت بود و توان باززائی برای تمام ژنوتیپ‌ها پایدار نبود (۲).

در یک مطالعه بر روی ۹۱ ژنوتیپ جو، جنین نارس آنها به طول ۲-۰/۵ میلی‌متر در محیط‌های MS، B5، B، N و SH با ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D کشت شد. واکنش هر یک ماه صورت گرفت. در محیط باززائی 2,4-D به میزان ۰ و ۱ میلی‌گرم در لیتر کاهش یافت. در اینجا هدف بررسی اثر ژنوتیپ و محیط کشت روی شروع کالوس‌دهی، نگهداری کالوس و باززائی بود. در ۴۵ ژنوتیپ کالوس دهی شروع شد و در ۴۶ ژنوتیپ دیگر کالوس ایجاد نشد. ژنوتیپ‌ها در باززائی تفاوت نشان دادند و حداکثر باززائی ۱۵٪ بود (۶).

در مطالعه‌ای دیگر جهت بررسی کالزائی و باززائی در ارقام جو، ۷ رقم جو در یک طرح دای‌الل ۷×۷ بررسی گردید.

1 . Multiple genes

2 . Individual genes

مواد و روشها

چهار ژنوتیپ جو شش ردیفه به نام‌های شماره ۱ ژاپنی، شماره ۵ کلکسیون، والفجر، زرجو و چهار ژنوتیپ دو ردیفه به نام‌های شماره ۱۱ ژاپنی، شماره ۱۷ کلکسیون، گرگان ۴ و ارس با مبداهای ایرانی و ژاپنی از کلکسیون غلات دانشکده کشاورزی کرج انتخاب شدند و در آزمایش به ترتیب از شماره ۱ تا شماره ۸ نامگذاری شدند. در انتخاب ارقام سعی بر این بود تنوع مورفولوژیکی بیشتری بین ارقام وجود داشته باشد.

ارقام در سال ۱۳۷۶ در ۳ تاریخ کاشت ۷۶/۷/۲۰، ۷۶/۸/۱۱ و ۷۶/۹/۴ در مزرعه و در ۳ تاریخ کاشت ۷۶/۷/۱۵، ۷۶/۸/۱۱ و ۷۶/۹/۲۸ در گلخانه دانشکده کشاورزی کرج کشت شدند. در مزرعه بذور روی خطوط ۳ متری با فاصله بین خطوط ۲۵ سانتی‌متر کشت شدند. برای هر رقم در هر تاریخ کشت یک کرت ۴ ردیفه کشت شد. شرایط کاشت و داشت طبق عرف محل انجام شد. در گلخانه در هر گلدان سفالی با قطر ۲۵ سانتی‌متر ۱۰ بذر کشت که ۴ گیاه باقی ماند و برای هر تاریخ کشت از هر رقم ۴ گلدان کشت گردید.

حدود ۲ هفته بعد از گرده‌افشانی زمانی که دانه‌ها در اواخر مرحله شیری بودند خوشه‌ها برداشت و بلافاصله به آزمایشگاه منتقل شدند. در آزمایشگاه جهت سترون کردن، ریشک‌ها قطع شد و دانه‌های هر خوشه جدا و در پارچه آستری نازک که برای مشخص شدن، شماره دوزی شده بود ریخته و منگنه شدند بعد در زیر لامینارفلو به مدت ۱ دقیقه در الکل ۷۰٪ قرار داده شدند و بلافاصله به مدت ۱۷ دقیقه در محلول تجاری سدیم هیپوکلراید (به غلظت ۲/۵٪ NaOCl) قرار داده شدند سپس ۳ دفعه با آب مقطر سترون شستشو داده شد. با استفاده از بینوکولر و در زیر لامینارفلو جنین‌های نارس با ابعاد ۰/۳ تا ۲/۵ میلی‌متر از دانه جدا شدند و در روی محیط کشت جامد در ظروف پتری ۱۰ سانتی‌متری به صورتی که اسکوتلوم در بالا باشد کشت شدند. در هر پتری ۱۵ عدد جنین کشت گردید.

محیط کشت شامل محیط پایه MS^۱ بود که ۲ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D^۲، ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر پیریدوکسین اسید^۳، ۱

میلی‌گرم در لیتر تیامین اسید^۴، ۲ میلی‌گرم در لیتر گلیسین^۵، ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر نیکوتینیک اسید^۶، ۳۰ گرم در لیتر ساکارز و ۷ گرم در لیتر آگار به آن اضافه گردید. PH محیط ۵/۸ با استفاده از NaOH تنظیم گردید. محیط کشت در اتوکلاو به مدت ۲۰ دقیقه تحت دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار یک بار سترون شد و در ظروف پتری سترون شده تقسیم گردید. در هر پتری حدود ۲۵ میلی‌لیتر محیط کشت توزیع گردید.

در گیاهان مزرعه از هر ژنوتیپ ۱۰ گیاه و از هر گیاه ۳ خوشه و از هر خوشه ۱۵ جنین نارس بعد از سترون شدن در یک پتری کشت گردید. در گیاهان گلخانه با توجه به شرایط محدود کننده گلخانه که تعداد خوشه‌های یک گیاه و نیز تعداد دانه در هر خوشه کافی نبود ۱۰ گیاه از تاریخهای مختلف کشت انتخاب و جنین‌های نارس آنها کشت گردید.

پتری‌های کشت شده تحت شرایط سترون و در دمای ۱±۲۵ درجه سانتی‌گراد و در تاریکی در اتاقک رشد قرار داده شدند و بعد از ۴ تا ۵ هفته به همان محیط واگشت شدند.

برای کشت جنین‌های هر خوشه، اندازه جنین، تاریخ کشت بذور مادری در خاک، تاریخ کشت جنین در پتری و محل کشت گیاه دهنده جنین (مزرعه - گلخانه) مشخص گردید. جنین‌ها با اندازه تعیین شده آنالیز شدند و یکبار نیز در ۴ دسته (<۰/۵، ۰/۵-۱، ۱/۱-۱/۵ و >۱/۵) آنالیز آماری شدند.

در واگشت اول و دوم طول ساقه باززائی شده (LS)^۷، طول ریشه باززائی شده (LR)^۸، مجموع طول ریشه و ساقه در هر واگشت (LS_۱LR_۱ و LS_۲LR_۲)، مجموع طول ریشه و ساقه در دو واگشت (LSLR)، باززائی طی دو واگشت (REG)^۹ و تعداد ساقه در هر کالوس (NSH)^{۱۰} اندازه‌گیری شد. بدین صورت اثر ژنوتیپ، گیاه، خوشه، اندازه جنین، تاریخ کشت در خاک و اثر مزرعه و گلخانه برای صفات مذکور اندازه‌گیری شد. ضمناً در هر

4. Thiamin HCl

5. Glycine

6. Nicotinic acid

7. Length of Stem

8. Length of root

9. Regeneration

10. Number of shoot

1. Murashige & Skoog

2. 2, 4- Dichlorophenesisy acetic acid

3. Pyridoxine HCl

REG) معنی‌دار و برای تعداد ساقه در کالوس (NSH) نیز معنی‌دار گردید. طرح آشیانه‌ای با بررسی دو فاکتور (ژنوتیپ و دسته‌های اندازه جنین) برای صفات LS1، LS1+LR1، LSLR، REG نیز معنی‌دار شد. در بررسی اثر ژنوتیپ در طرح کاملاً تصادفی صفات LS1، LS1+LR1، LS2، LS2+LR2، LSLR، REG و NSH کاملاً معنی‌دار گردید. در بررسی میانگین صفاتی که معنی‌دار شدند برای اندازه ساقه و ریشه باززائی شده در واگشت اول (LS1، LS1+LR1) رقم دو ردیفه گرگان ۴ بهترین و رقم شش ردیفه زرگو برای این دو صفت کمترین میزان را دارا بودند. برای همین دو صفت در واگشت دو رقم شش ردیفه شماره ۵ کلکسیون بالاترین میزان و رقم شش ردیفه زرگو مجدداً کمترین میزان صفت را دارا بودند (جدول ۱).

برای LSLR رقم گرگان ۴ بالاترین میانگین و برای REG و NSH رقم شماره ۵ کلکسیون بالاترین میزان و برای این ۳ صفت رقم شش ردیفه زرگو کمترین مقدار را دارا بودند (جدول ۱).

به طور کلی با شرایط کشت گیاه دهنده جنین در گلخانه، برای باززائی ارقام دوردیفه گرگان ۴ و شش ردیفه شماره ۵ کلکسیون بهترین و رقم شش ردیفه زرگو نامناسب‌ترین رقم می‌باشند.

واگشت اندام‌های تمایز یافته قطع گردید. داده‌های حاصل با استفاده از نرم‌افزار SAS و EXCEL مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت و با توجه به پراکنش نرمال، داده‌ها بدون هیچگونه تغییر در مقایسه‌ها به کار برده شدند.

مطالعات آماری برای صفات مطالعه شده در طرح‌های آشیانه‌ای برای ژنوتیپ، گیاه، اندازه جنین (SE) و دسته‌های اندازه جنین (SEC)، طرح‌های آشیانه‌ای برای ژنوتیپ و دسته‌های اندازه جنین (SEC)، طرح‌های کاملاً تصادفی برای ژنوتیپ، گیاه، خوشه، اندازه جنین (SE) و دسته‌های اندازه جنین (SEC) صورت گرفت. جهت بررسی اثر تاریخ کشت و اثر محل کاشت گیاه دهنده ریز نمونه از طرح کرت‌های خرد شده با فاکتور اصلی تاریخ کشت و محل کاشت استفاده گردید.

نتایج و بحث

کالوس حاصل از گیاهان کشت شده در گلخانه در ژنوتیپ‌های مختلف در طرح آشیانه‌ای برای صفات طول ساقه در واگشت اول و دوم (LS1 و LS2) و مجموع طول ساقه و ریشه در واگشت اول و دوم (LS2+LR2 و LS1+LR1) کاملاً معنی‌دار شد و برای مجموع طول ریشه و ساقه طی دو واگشت (LRLS) نیز کاملاً معنی‌دار و برای باززائی به طور کلی

جدول ۱- مقایسه میانگین‌های ۸ ژنوتیپ با روش دانکن برای باززائی در محیط MS حاصل از کشت جنین‌های نارس نمونه‌های حاصل از گیاهان کشت شده در گلخانه*

ژنوتیپ	واگشت اول			واگشت دوم			طی دو واگشت	
	LS1	LR1	LS1+LR1	LS2	LR2	LS2+LR2	REG	NSH
۱	۰/۹۰bc	۰/۰۰a**	۰/۶۹cd	۰/۰۰b	۰/۰۰a	۰/۰۰b	۰/۳۴b	۰/۱۷d
۲	۱/۸۳bc	۰/۰۰a	۱/۱۷bcd	۱/۱۰a	۰/۰۰a	۰/۸۹a	۱/۱۱a	۰/۸۹a
۳	۲/۶۱ab	۰/۰۶a	۱/۷۶bcd	۰/۵۱a	۰/۰۰a	۰/۴۲b	۲/۱۸ab	۰/۵۰b
۴	۰/۱۰	۰/۰۰a	۰/۰۶d	۰/۰۰b	۰/۰۰a	۰/۰۰b	۰/۰۶b	۰/۳d
۵	۴/۳۷a	۰/۰۰a	۲/۳۷ab	۰/۰۰b	۰/۰۰a	۰/۰۰b	۲/۳۷b	۰/۱۸cd
۶	۱/۰۹bc	۰/۰۸a	۰/۹۴bcd	۰/۲۴b	۰/۰۳a	۰/۲۱b	۱/۱۷bc	۰/۲۲cd
۷	۴/۲۴a	۰/۰۰a	۳/۴۲a	۰/۰۰b	۰/۰۰a	۰/۰۰b	۳/۴۲a	۰/۴۲bc
۸	۱/۹۰bc	۰/۰۲a	۰/۵۱bcd	۰/۰۰b	۰/۰۰a	۰/۰۰b	۰/۵۱bc	۰/۱۶cd

* REG بر حسب گروه‌بندی (۱، ۲ و ۳)، NSH تعداد ساقه در هر کالوس و بقیه صفات بر حسب سانتی‌متر

** میانگین‌های مشخص شده با حروف متفاوت در هر ستون در سطح ۵٪ اختلاف معنی‌دار دارند.

جدول ۲- مقایسه میانگین‌های ۸ ژنوتیپ با روش دانکن برای باززائی در محیط MS حاصل از کشت جنین‌های نارس نمونه‌های حاصل از گیاهان کشت شده در مزرعه *

ژنوتیپ	واکشت اول		واکشت دوم			طی دو واکشت			
	LR1	LS1	LS2	LS1+LR1	LR2	LS2+LR2	REG		NSH
۱	۰/۵۷ a	۷/۳۰ a**	۰/۳۱ ab	۵/۷۰ ab	۰/۰۰ B	۰/۲۵ bc	۵/۹۹ a	۱/۹۷ a	۰/۵۸ a
۲	۰/۸۳ C	۱/۹۶ c	۰/۲ b	۱/۷۸ d	۰/۰۰ b	۰/۰۲ c	۱/۸۰ d	۰/۷۹ b	۰/۳۸ b
۳	۰/۰۸ c	۱/۴۲ cd	۰/۰۰ b	۱/۱۳ de	۰/۰۰ b	۰/۰۰ c	۱/۱۲ e	۰/۶۴ b	۰/۳۰ bc
۴	۰/۰۰ c	۰/۴۹ d	۰/۰۰ b	۰/۳۷ e	۰/۰۰ b	۰/۰۰ c	۰/۳۸ e	۰/۳۸ c	۰/۱۹ c
۵	۰/۱۳ c	۶/۵۲ a	۰/۴۳ a	۴/۴۵	۰/۰۰ b	۰/۳۳ b	۴/۷۸ b	۱/۲۹ a	۰/۶۵ a
۶	۰/۲۷ b	۲/۴۵ c	۰/۵۱ a	۱/۶۹ d	۰/۱۰ a	۰/۵۲ a	۲/۲۲ d	۰/۸۲ b	۰/۵۲ a
۷	۰/۲۶ b	۴/۰۹ b	۰/۰۵ b	۲/۲۹ c	۰/۰۰ b	۰/۰۴ c	۳/۳۳ c	۱/۳۳ a	۰/۵۲ a
۸	۰/۰۳ c	۵/۲۴ b	۰/۱۲ b	۲/۸۲ bc	۰/۰۰ b	۰/۱۰ bc	۳/۹۲ bc	۱/۱۳ a	۰/۵۷ a

* REG بر حسب گروه‌بندی (۱، ۲ و ۳)، NSH تعداد ساقه در هر کالوس و بقیه صفات بر حسب سانتی‌متر

** میانگین‌های مشخص شده با حروف متفاوت در هر ستون در سطح ۵٪ اختلاف معنی‌دار دارند.

برای تمام صفات مربوط به باززائی نیز رقم شش ردیفه زرجو نامناسب‌ترین رقم بود (جدول ۳).

به طور کلی رقم شش ردیفه زرجو نامناسب‌ترین رقم در بین ارقام مورد مطالعه برای باززائی است. این رقم در تولید تعداد کالوس مناسب‌ترین رقم بود بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که کالوس‌های تولیدی این رقم عمدتاً غیر جنین‌زا بوده و رشد محدودی نیز دارند چون از نظر اندازه کالوس بهترین رقم، دو ردیفه شماره ۱۷ کلکسیون بود و این رقم در واکشت دوم بهترین باززائی را داشت و برای هر سه صفت در واکشت اول و صفات LSLR و NSH رقم شش ردیفه شماره ۱ ژاپنی بهترین بود. پس مناسب‌ترین رقم برای باززائی را می‌توان ارقام شش ردیفه شماره ۱ ژاپنی و رقم دو ردیفه شماره ۱۷ کلکسیون نام برد. تأثیر ژنوتیپ در باززائی و کالزائی جو توسط گولتین و همکاران (۱۹۸۶)، هانزل و همکاران (۱۹۸۵)، و رنگل و جلاسکا (۱۹۸۶) نیز بیان شده است.

اثر گیاه

کالوس حاصل از جنین نارس گیاهان کشت شده در گلخانه در طرح آشیانه‌ای^۱ برای گیاه (در ژنوتیپ) برای صفات LS1،

کالوس‌های حاصل از جنین نارس گیاهان کشت شده در مزرعه برای تمام صفات مطالعه شده مربوط به باززائی در هر سه طرح مورد مطالعه کاملاً معنی‌دار شدند. در بررسی میانگین‌های صفات مربوط به باززائی در واکشت اول برای هر سه صفت، ژنوتیپ شش ردیفه شماره ۱ ژاپنی بهترین و برای همین صفات در واکشت دوم ژنوتیپ دو ردیفه شماره ۱۷ کلکسیون بهترین بودند (جدول ۲). برای صفات LSLR، REG و NSH نیز ژنوتیپ شش ردیفه شماره ۱ ژاپنی بهترین و برای همه صفات ذکر شده رقم شش ردیفه زرجو نامناسب‌ترین رقم بودند (جدول ۲).

بسیاری از محققین از جمله باجاج (۱۹۹۰) تأثیر محل کشت گیاه دهنده ریز نمونه در کشت بافت جو را ذکر کرده‌اند. بدون توجه به محل کشت گیاه دهنده جنین نارس، نتایج حاصل کاملاً شبیه به نتایج حاصل از مزرعه بود یعنی در هر سه طرح مطالعه شده همه صفات مربوط به باززائی کاملاً معنی‌دار بودند. در بررسی میانگین‌های صفات، برای صفات مربوط به واکشت اول رقم شش ردیفه شماره ۱ ژاپنی بهترین و برای همین صفات در واکشت دوم رقم دو ردیفه شماره ۱۷ کلکسیون بهترین بودند (جدول ۳). البته برای صفات LSLR و NSH رقم شش ردیفه شماره ۱ ژاپنی بهترین ولی برای REG مناسب‌ترین ژنوتیپ، رقم دو ردیفه گرگان ۴ بود (جدول ۳).

جدول ۳- مقایسه میانگین‌های ۸ ژنوتیپ با روش دانکن برای باززائی در محیط MS حاصل از کشت جنین‌های نارس نمونه‌های حاصل از گیاهان کشت شده در مزرعه و گلخانه*

ژنوتیپ	واکشت اول		واکشت دوم			طی دو واکشت			
	LS1	LR1	LS1+LR1	LS2	LR2	LS2+LR2	LSLR		
۱	۵/۷۶a**	۰/۴۳ a	۴/۵۳ a	۰/۲۶abc	۰/۰۰b	۰/۱۹ bc	۴/۷۵ a	۱/۰۰bc	۰/۴۹ a
۲	۱/۹۴c	۰/۰۷d	۱/۶۷ d	۰/۲۳ abc	۰/۰۰ b	۰/۱۷ bc	۱/۸۵ e	۰/۸۵cde	۰/۴۷ a
۳	۱/۶۳ c	۰/۰۸ d	۱/۲۶ d	۰/۱۰ bc	۰/۰۰ b	۰/۰۸ bc	۱/۳۳ c	۰/۶۷E	۰/۳۴ a
۴	۰/۴۴ d	۰/۰۰ d	۰/۳۲e	۰/۰۰ c	۰/۰۰ b	۰/۰۰ c	۰/۳۳ d	۰/۳۳f	۰/۱۶ c
۵	۶/۲۰a	۰/۱۱cd	۴/۰۸ab	۰/۳۵ ab	۰/۰۰ b	۰/۲۷ ab	۴/۳۵ a	۱/۱۲ ab	۰/۵۷ a
۶	۲/۰۲ c	۰/۲۱ bc	۱/۴۹ d	۰/۴۴ a	۰/۸۴ a	۰/۴۴a	۱/۹۴ c	۰/۷۰de	۰/۴۴ ab
۷	۴/۱۱ b	۰/۲۳ b	۳/۳۱ bc	۰/۰۴ c	۰/۰۰ b	۰/۰۳ c	۳/۳۴ b	۱/۲۶ a	۰/۵۰ a
۸	۴/۲۲ b	۰/۰۲ d	۳/۱۵ c	۰/۰۹ bc	۰/۰۰ b	۰/۰۷ bc	۳/۲۲ b	۰/۹۰ cd	۰/۴۵ ab

* REG بر حسب گروه‌بندی (۱، ۲ و ۳)، NSH تعداد ساقه در هر کالوس و بقیه صفات بر حسب سانتی‌متر

** میانگین‌های مشخص شده با حروف متفاوت در هر ستون در سطح ۵٪ اختلاف معنی‌دار دارند.

مورد مطالعه احتمالاً اثر محیط بالا بوده است. این موضوع نیاز به بررسی و مطالعات بیشتری دارد.

اثر خوشه

همانگونه که قبلاً ذکر شد اثر خوشه فقط در گیاهان حاصل از مزرعه بررسی گردید که در طرح آشیانه‌ای برای خوشه (در ژنوتیپ در گیاه) صفات LS2، LR1، LS2، LR2، LS2+LR2 و NSH کاملاً معنی‌دار شدند و در طرح کاملاً تصادفی هیچکدام از صفات مورد مطالعه معنی‌دار نشدند. پس می‌توان بیان داشت که خوشه‌های یک گیاه تشابه بیشتری داشته‌اند. ضمناً اثر محیط نیز در اینجا وجود داشته است.

اثر اندازه جنین

در بررسی مقدماتی اثر اندازه جنین (SE) در طرح کاملاً تصادفی برای باززائی کالوس‌های حاصل از جنین نارس گیاهان کشت شده در گلخانه برای صفات LS2، LR2، LS2+LR2 و NSH کاملاً معنی‌دار گردید. در بررسی کاملتر، دسته‌های اندازه جنین (SEC) مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت که در طرح کاملاً تصادفی LS1، LS1+LR1 و LRLS کاملاً معنی‌دار شد. در طرح آشیانه‌ای، SEC (در ژنوتیپ در گیاه) فقط برای LS1 معنی‌دار شد. در طرح آشیانه‌ای، SEC (در ژنوتیپ) برای LS1، LS1+LR1 و LRLS معنی‌دار گردید. در بررسی میانگین‌های دسته‌های اندازه جنین برای صفاتی که معنی‌دار شدند

LS2، LS1+LR2، LS2+LR2 و LRLS کاملاً معنی‌دار و برای NSH معنی‌دار شد. در طرح کاملاً تصادفی برای LS1، LR1 و LS2، REG معنی‌دار و برای NSH کاملاً معنی‌دار گردید. لذا می‌توان بیان داشت که گیاهان مختلف در یک ژنوتیپ در شرایط گلخانه‌ای این آزمایش از نظر طول ساقه در واکشت اول و دوم و نیز مجموع طول ساقه و ریشه طی دو واکشت تفاوت معنی‌دار داشتند و از نظر تعداد ساقه در کالوس نیز متفاوت بودند.

کالوس حاصل از جنین نارس گیاهان کشت شده در مزرعه در طرح آشیانه‌ای برای گیاه (در ژنوتیپ) برای صفت REG معنی‌دار نشد و برای LS1+LR1 و LRLS معنی‌دار و برای بقیه صفات کاملاً معنی‌دار شد ولی در طرح کاملاً تصادفی برای LR2 و NSH کاملاً معنی‌دار و برای LR1 و REG معنی‌دار و برای بقیه صفات معنی‌دار نشد. لذا می‌توان بیان داشت که گیاهان مختلف در یک ژنوتیپ در شرایط کشت شده در مزرعه از نظر اکثر صفات مطالعه شده متفاوت می‌باشند و بدون توجه به مکان کشت گیاه دهنده ریز نمونه، عمدتاً طول ریشه تفاوت معنی‌داری نشان می‌دهد.

با توجه به نتایج نسبتاً متفاوت حاصل شده از گلخانه و مزرعه و ناخالصی بسیار کم در داخل یک رقم می‌توان بیان داشت که در بررسی گیاهان مختلف یک ژنوتیپ برای صفات

طرح آشیانه‌ای، SEC (در ژنوتیپ در گیاه) برای LS2 و LR2 کاملاً معنی‌دار و برای LS1 معنی‌دار شد و SEC (در ژنوتیپ) برای LS1، LS1+LR1 و LRLS کاملاً معنی‌دار گردید. در بررسی مقایسه میانگین‌های ۴ دسته اندازه جنین برای صفات معنی‌دار شده، دسته سوم (جنین‌های بزرگتر از ۱ میلی‌متر و کوچکتر از ۱/۶ میلی‌متر) مناسب‌ترین بود (جدول ۶). رویز و همکاران (۱۹۹۲) تأثیر اندازه جنین نارس در بازرانی بعضی از ژنوتیپ‌های جو مورد مطالعه را ذکر نموده‌اند.

اثر تاریخ کشت گیاه دهنده جنین نارس

جهت بررسی اثر تاریخ کشت در خاک گیاه دهنده جنین نارس از طرح کرت‌های خرد شده استفاده گردید. با توجه به اهمیت کمتر تاریخ کشت نسبت به ژنوتیپ، تاریخ کاشت به عنوان فاکتور اصلی به کار برده شد. در گلخانه گیاهان جو برای گرفتن جنین نارس جهت تولید کالوس و بازرانی در سه تاریخ در گلدان کشت گردیدند که در بررسی صفات مربوط به بازرانی صفات LS1، LS1+LR1 و LRLS کاملاً معنی‌دار و صفت NSH معنی‌دار شد (جدول ۷). در بررسی میانگین صفات، برای صفات مربوط به طول ساقه، تاریخ کشت سوم مناسب‌ترین بود و برای NSH نیز به ترتیب تاریخ کشت دوم و سوم بهترین بود (جدول ۸). لذا با توجه به اینکه کشت سوم سرما داده نشد و با توجه به نتایج حاصل در بخش دیگر این تحقیق که سرما باعث ریشه‌دهی برای بازرانی می‌گردد شاید بتوان این نتیجه را گرفت که عدم سرمادهی باعث رشد مناسب‌تر ساقه‌دهی در کالوس و بازرانی می‌گردد که با توجه به اینکه گزارشی در این مورد مشاهده نگردیده نیاز به تحقیقات بیشتری می‌باشد.

جنین‌های با اندازه بزرگتر (دسته ۴) بهترین ساقه دهی را در واگشت اول داشتند و بهترین ریشه‌دهی در واگشت اول را جنین‌های با اندازه کوچکتر (دسته ۱) دارا بودند (جدول ۴). لذا با توجه به اینکه برای اکثر صفات تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید، مخصوصاً برای کل بازرانی و تعداد ساقه در کالوس تفاوت معنی‌دار نبود (جدول ۴) می‌توان دو دسته وسط (اندازه‌های بزرگتر از ۰/۵ میلی‌متر و کوچکتر از ۱/۶ میلی‌متر) را مناسب‌تر ذکر کرد که توان ریشه‌دهی و ساقه‌دهی آنها در حد متوسط باشد.

برای بازرانی در ریز نمونه‌های حاصل از گیاهان کشت شده در مزرعه، اندازه جنین (SE) در طرح کاملاً تصادفی فقط برای طول ریشه در واگشت اول و دوم (LR2، LR1) معنی‌دار نشد و برای بقیه صفات مورد مطالعه کاملاً معنی‌دار بود. برای SEC در طرح کاملاً تصادفی نیز تقریباً همان نتایج حاصل گردید. در طرح آشیانه‌ای SEC (در ژنوتیپ در گیاه در خوشه) برای صفات مربوط به واگشت دوم و NSH کاملاً معنی‌دار گردید و SEC (در ژنوتیپ) برای LS2، LS1+LR1، LS2+LR2 و LRLS کاملاً معنی‌دار و برای NSH نیز معنی‌دار گردید. در بررسی میانگین‌های ۲ دسته اندازه جنین به استثناء طول ریشه در واگشت اول و دوم (LR2) (LR1)، دسته سوم (اندازه بزرگتر از ۱ میلی‌متر و کوچکتر از ۱/۶ میلی‌متر) مناسب‌ترین بود (جدول ۵).

بدون توجه به محل کشت گیاه دهنده جنین نارس، در طرح کاملاً تصادفی برای SE، صفات LS1 و LS1+LR1 کاملاً معنی‌دار شدند و برای SEC در این طرح علاوه بر دو صفت فوق LRLS نیز کاملاً معنی‌دار و REG و NSH معنی‌دار شدند. در

جدول ۴- مقایسه میانگین‌های ۴ دسته اندازه جنین نارس با روش دانکن برای بازرانی در محیط MS حاصل از گیاهان کشت شده در گلخانه

دسته‌اندازه‌های جنین (SEC)	واگشت اول			واگشت دوم			طی دو واگشت	
	LS1	LR1	LS1+LR1	LS2	LR2	LS2+LR2	REG	NSH
۱	۴/۶۰ ab**	۲/۲۰ a	۴/۰۰ ab	۰/۰۰ a	۰/۰ a	۰/۰۰ a	۱/۴۰ a	۰/۶۰ a
۲	۱/۴۳ b	۰/۰۰ b	۱/۳۲ b	۰/۱۹ a	۰/۰۰ b	۰/۱۳ a	۰/۵۶ a	۰/۳۶ a
۳	۲/۵۷	۰/۰۳ b	۲/۶۱	۰/۰۰ a	۰/۰۰ c	۰/۰۰ a	۰/۸۷ a	۰/۴۲ a
۴	۷/۷۸ a	۰/۰۰ b	۷/۷۸ a	۰/۰۰ a	۰/۰۰ d	۰/۰۰ a	۱/۳۳ a	۰/۶۷ a

* REG: بر حسب گروه‌بندی (۱، ۲ و ۳)، NSH تعداد ساقه در هر کالوس و بقیه صفات بر حسب سانتی‌متر

** میانگین‌های مشخص شده با حروف متفاوت در هر ستون در سطح ۵٪ اختلاف معنی‌دار دارند.

جدول ۵- مقایسه میانگین‌های ۲ دسته اندازه جنین نارس با روش دانکن برای طول ریشه و ساقه و باززائی در محیط MS حاصل از گیاهان کشت شده در مزرعه

دسته‌اندازه‌های جنین (SEC)	واکشت اول			واکشت دوم			طی دو واکشت	
	LS1	LR1	LS1+LR1	LS2	LR2	LS2+LR2	REG	NSH
۱	۴/۱۵b**	۰/۳۴a	۴/۴۱ b	۰/۳۲ b	۰/۰۳ a	۰/۳۲ b	۱/۸۳ b	۰/۹۱ b
۲	۱۰/۵۶ a	۰/۵۲ a	۱۰/۵۸ a	۱/۰۲ a	۰/۱۳ a	۱/۰۳ a	۲/۲۲ a	۱/۲۳ a

* REG بر حسب گروه‌بندی (۱، ۲ و ۳)، NSH تعداد ساقه در هر کالوس و بقیه صفات بر حسب سانتی‌متر
 **: میانگین‌های مشخص شده با حروف متفاوت در هر ستون در سطح ۵٪ اختلاف معنی‌دار دارند.

جدول ۶- مقایسه میانگین‌های ۴ دسته اندازه جنین نارس با روش دانکن برای طول ریشه و ساقه و باززائی در محیط MS حاصل از گیاهان جو کشت شده در مزرعه و گلخانه *

دسته‌اندازه‌های جنین (SEC)	واکشت اول			واکشت دوم			طی دو واکشت	
	LS1	LR1	LS1+LR1	LS2	LR2	LS2+LR2	REG	NSH
۱	۴/۶۰ab**	۰/۲۰a	۴/۰۰ ab	۰/۰۰ a	۰/۰۰ a	۰/۰۰ a	۱/۴۰ a	۰/۶۰ a
۲	۲/۵۱b	۰/۲۶ a	۳/۶۵ b	۰/۲۹ a	۰/۰۲ a	۰/۲۸ a	۱/۵۳ a	۰/۷۸ a
۳	۸/۷۵ a	۰/۴۱ a	۸/۸۴ a	۰/۸۱ a	۰/۱۰ a	۰/۸۰ a	۱/۹۱ a	۱/۰۵ a
۴	۷/۷۸ ab	۰/۰۰ a	۷/۷۸ ab	۰/۰۰ a	۰/۰۰ a	۰/۰۰ a	۱/۳۳ a	۰/۶۷ a

* REG بر حسب گروه‌بندی (۱، ۲ و ۳)، NSH تعداد ساقه در هر کالوس و بقیه صفات بر حسب سانتی‌متر
 **: میانگین‌های مشخص شده با حروف متفاوت در هر ستون در سطح ۵٪ اختلاف معنی‌دار دارند.

جدول ۷- میانگین مربعات واریانس طول ریشه و ساقه و باززائی در محیط MS حاصل از کشت جنین‌های نارس نمونه‌های حاصل از جو کشت شده در ۳ تاریخ در گلخانه در طرح کرت‌های خرد شده

منابع تغییر آزادی	واکشت اول			واکشت دوم			طی دو واکشت		درجه آزادی	تاریخ کاشت
	LS1	LR1	LS1+LR1	LS2	LR2	LS2+LR2	REG	NSH		
۱۵۳/۰۸**	۰/۰۱	۱۲۸/۷۶**	۲/۴۴	۰/۰۱	۱/۵۶	۱۳۷/۸۵**	۱/۶۸	۱/۰۲	۲	تاریخ کاشت
۷/۴۵	۰/۰۲	۸/۰۸	۱/۸۴	۰/۰۰	۱/۵۹	۸/۷۹	۰/۶۳	۰/۳۱	خطا ۱	
(df=۹۵)	(df=۹۵)	(df=۱۰۵)	(df=۹۵)	(df=۹۵)	(df=۱۰۴)	(df=۱۰۴)	(df=۱۰۵)	(df=۱۰۵)		
۳۸/۳۷**	۰/۱۰**	۲۷/۰۱**	۲/۸۹	۰/۰۱	۲/۳۸	۳۲/۳۷**	۴/۰۹**	۲/۲۴**	۷	ژنوتیپ
۱۲۱/۲۶**	۰/۰۱*	۸۹/۹۴**	۱/۵۸	۰/۰۱	۱/۷۷	۸۹/۱۳**	۳/۵۴**	۱/۰۲**	۱۲	تاریخ کشت × ژنوتیپ
۹/۰۴	۰/۰۳	۸/۸۱	۱/۶۲	۰/۰۱	۱/۲۶	۹/۹۵	۰/۶۴	۰/۳۶	خطا ۲	
(df=۱۷۴)	(df=۱۷۴)	(df=۲۷۴)	(df=۱۸۳)	(df=۱۸۳)	(df=۲۷۴)	(df=۲۷۳)	(df=۲۷۰)	(df=۲۷۰)		

با توجه به نتایج حاصل از گلخانه و مزرعه، عدم تفاوت اکثر صفات در گلخانه ناشی از شرایط یکسان گلخانه برای سه تاریخ کشت می‌باشد، به استثناء سرمادهی که اثر آنرا در ساقه‌دهی مشاهده نمودیم. در مزرعه سه تاریخ کشت متفاوت بود و تاریخ کشت اول، طول دوره رشد طولانی‌تر و شرایط رشدی مناسب‌تری را برای گیاه دهنده جنین نارس فراهم آورد.

در مزرعه نیز گیاهان جو برای گرفتن جنین نارس در سه تاریخ کشت گردیدند که در بررسی صفات مربوط به باززائی فقط طول ساقه در واکشت اول (LS1) و باززائی به طور کلی (REG) معنی‌دار شدند (جدول ۹). در بررسی میانگین صفات مربوط به باززائی به استثناء طول ریشه در باززائی دوم (LR2)، میانگین بقیه صفات در گروه‌های مختلف قرار گرفتند که برای همه آنها تاریخ کشت اول مناسب‌ترین زمان بود (جدول ۱۰).

جدول ۸- مقایسه میانگین‌های ۳ تاریخ کشت گیاه جو دهنده جنین نارس در گلخانه برای طول ریشه و باززائی

در محیط MS با روش دانکن*

تاریخ کاشت در گلخانه	واکشت اول			واکشت دوم			طی دو واکشت		
	LS1	LR1	LS1+LR1	LS2	LR2	LS2+LR2	LSLR	REG	NSH
۱	۰/۷۸c**	۰/۰۲a	۰/۵۹c	۰/۰۹ab	۰/۰۱a	۰/۰۸a	۰/۶۷c	۰/۳۴b	۰/۱۸b
۲	۲/۲۳b	۰/۰۴a	۱/۶۱b	۰/۵۰a	۰/۰۰a	۰/۳۵a	۱/۹۹b	۰/۶۰a	۰/۴۱a
۳	۴/۲۸a	۰/۰۳a	۳/۲۵a	۰/۰۰b	۰/۰۰a	۰/۰۰a	۳/۲۵a	۰/۶۷a	۰/۳۳ab

* REG: بر حسب گروه‌بندی (۱، ۲ و ۳)، NSH: تعداد ساقه در هر کالوس و بقیه صفات بر حسب سانتی‌متر

** میانگین‌های مشخص شده با حروف متفاوت در هر ستون در سطح ۵٪ اختلاف معنی‌دار دارند.

جدول ۹- تجزیه واریانس میانگین مربعات برای طول ریشه و ساقه و باززائی در محیط MS حاصل از

کشت جنین‌های نارس نمونه‌های حاصل از گیاهان جو کشت شده در ۳ تاریخ در مزرعه در طرح کرت‌های خرد شده

منابع تغییر	درجه آزادی	واکشت اول			واکشت دوم			طی دو واکشت		
		LS1	LR1	LS1+LR1	LS2	LR2	LS2+LR2	LSLR	REG	NSH
تاریخ کاشت	۲	۶۰/۹۹*	۰/۵۵	۳۰/۴۲	۳/۵۳	۰/۰۰	۳/۱۲	۳۱/۷۳	۳/۴۰*	۰/۸۰
خطا ۱	—	۱۸/۹۰	۰/۲۵	۱۴/۰۷	۱/۳۳	۰/۰۷	۱/۱۳	۱۶۹/۶۰	۱/۱۰	۰/۴۴
		(df=۴۴۱)	(df=۴۴۱)	(df=۵۰۶)	(df=۴۴۶)	(df=۴۴۶)	(df=۵۰۵)	(df=۵۰۵)	(df=۵۰۴)	(df=۵۰۴)
ژنوتیپ	۷	۴۰۴/۲۵**	۲/۲۸**	۳۱۱/۶۱**	۴/۸۸**	۰/۱۲**	۵/۴۵**	۳۳۲/۰۵**	۱۰/۳۳**	۲/۴۷**
تاریخ کشت × ژنوتیپ	۷	۸۶/۲۵**	۰/۲۸	۵۹/۷۱	۱/۸۵	۰/۰۱	۱/۸۹	۶۳/۳۲	۴/۱۵**	۲/۱۶**
خطا ۲	—	۳۷/۷۵	۰/۳۱	۲۹/۶۷	۱/۷۰	۰/۰۴	۱/۴۳	۳۳/۲۱	۱/۲۷	۰/۳۸
		(df=۶۴۷)	(df=۶۵۰)	(df=۹۹۴)	(df=۷۳۷)	(df=۷۳۶)	(df=۹۹۰)	(df=۹۹۰)	(df=۹۸۶)	(df=۹۸۶)

* و **: به ترتیب معنی‌دار در سطح ۵٪ و ۱٪

جدول ۱۰- مقایسه میانگین‌های ۳ تاریخ کشت گیاه جو دهنده جنین نارس برای طول ریشه و ساقه و باززائی در محیط MS با روش دانکن *

تاریخ کاشت در مزرعه	واکشت اول			واکشت دوم			طی دو واکشت	
	LS1	LR1	LS1+LR1	LS2	LR2	LS2+LR2	REG	NSH
۱	۴/۴۰a**	۰/۲۵a	۳/۳۰a	۰/۲۴a	۰/۰۳a	۰/۲۲a	۲/۵۳a	۱/۰۵a
۲	۲/۰۴b	۰/۰۵b	۱/۵۲b	۰/۱۷ab	۰/۰۱a	۰/۱۵ab	۰/۶۷b	۰/۶۳b
۳	۱/۸۰b	۰/۱۰b	۱/۵۶b	۰/۰۳b	۰/۰۰a	۰/۰۲b	۱/۵۸b	۰/۹۰a

* REG بر حسب گروه‌بندی (۱، ۲ و ۳)، NSH تعداد ساقه در هر کالوس و بقیه صفات بر حسب سانتی‌متر
 ** میانگین‌های مشخص شده با حروف متفاوت در هر ستون در سطح ۵٪ اختلاف معنی‌دار دارند.

جدول ۱۱- تجزیه واریانس مرکب میانگین مربعات طول ریشه و ساقه و باززائی در محیط MS حاصل از کشت جنین‌های نارس حاصل از گیاهان جو کشت شده در مزرعه و گلخانه در طرح مرکب

منابع تغییر	درجه آزادی	واکشت اول			واکشت دوم			طی دو واکشت	
		LS1	LR1	LS1+LR1	LS2	LR2	LS2+LR2	REG	NSH
محل	۱	۶۲۶/۰۸**	۵/۱۲**	۵۵۰/۷۷**	۰/۳۳	۰/۰۴	۰/۰۱	۵۴۳/۲۲**	۶۲/۳۵**
ژنوتیپ	۷	۷۰۳/۸۴**	۳/۵۵**	۵۱۶/۶۹**	۵/۳۶**	۰/۲۶**	۶/۲۴**	۵۲۸/۱۵**	۱۸/۵۶**
محل × ژنوتیپ	۷	۱۶۶/۸۷**	۱/۰۵**	۱۲۸/۹۴**	۶/۷۷**	۰/۴	۶/۱۳**	۱۶۱/۶۰**	۷/۲۸**
خطا	—	۲۵/۷۷	۰/۲۸	۲۴/۳۴	۱/۷۸	۰/۰۵	۱/۶۰	۲۷/۵۶	۱/۱۷

* و **: به ترتیب معنی‌دار در سطح ۵٪ و ۱٪

جدول ۱۲- مقایسه میانگین‌های دو محل کشت گیاه دهنده جنین نارس برای طول ریشه و ساقه و باززائی در محیط MS در جو با روش دانکن *

محل کشت گیاه دهنده	واکشت اول			واکشت دوم			طی دو واکشت	
	LS1	LR1	LS1+LR1	LS2	LR2	LS2+LR2	REG	NSH
گلخانه	۱/۸۵a	۰/۰۳a	۱/۳۶a	۰/۲۴a	۰/۰۱a	۰/۱۸a	۱/۵۵a	۰/۴۹b
مزرعه	۳/۴۹a	۰/۱۸a	۲/۶۸a	۰/۲۰a	۰/۰۲a	۰/۱۸a	۲/۸۶a	۰/۹۴a

* بر حسب سانتی‌متر

** میانگین‌های مشخص شده با حروف متفاوت در هر ستون در سطح ۵٪ اختلاف معنی‌دار دارند.

اثر محل کشت گیاه دهنده جنین

این فاکتور به صورت تجزیه مرکب با دو مکان مورد بررسی قرار گرفت و برای صفات مربوط به واکشت اول (LS1، LR1، LS1+LR1) و صفات REG، NSH و LSLR کاملاً معنی‌دار گردید (جدول ۱۱). در بررسی میانگین‌ها برای اکثر صفات میانگین مزرعه حتی تا دو برابر بالاتر از میانگین صفات در گلخانه بود (جدول ۱۲). جهت بررسی کاملتر از آزمون T نیز

استفاده گردید که نتایج کاملاً مشابه حاصل شد. در اینجا نیز گیاهان کشت شده در مزرعه چون شرایط مناسبی برای رشد داشته صفات مربوط به باززائی را به خوبی بروز دادند در صورتی که شرایط سخت گلخانه مانع بروز تفاوت‌ها گردید. این موضوع با نتایج تمام تحقیقات مطابقت دارد چون در همه تحقیقات شرایط مناسب رشد گیاه دهنده بافت را لازم ذکر کرده‌اند.

REFERENCES

1. Bajaj, Y. P. S. 1990. Somaclonal Variation in crop improvement I. Springer – Verlag Berlin Heidelberg. Pp: 685.
2. Bregitzer, P. 1992. Plant regeneration and Callus type in barley: Effect of genotype and culture medium. Crop Sci. 32: 1108-1112.
3. Dale, P. J., and E. Deambrogio. 1979. A comparison of callus induction and plant regeneration from different explants of *Hordeum vulgare*. Z. Pflanzenucht. 94: 65-77.
4. Felsenburg, T., M. Feldman, and E. Galun. 1987. Aneuploid and alloplasmic lines as tools for the study of nuclear and cytoplasmic control of culture ability and regeneration of scutellar calli from common wheat. Theor. Appl. Genet. 74: 801-810.
5. Goldstein, C. S., and W. E. Kronstad. 1986. Tissue culture and plant regeneration from immature embryo explants of barley, *Hordeum vulgare*. Theor. Appl. Genet. 71: 631-636.
6. Hang, A. and P. Bregitzer, 1993. Chromosomal variations in immature embryo – derived calli from six barley cultivars. J. Hered. 84: 105-108.
7. Hanzel, J. J., J. P. Miller, M. A. Brinkman, and E. Fendons. 1985. Genotype and Media effects on callus formation and regeneration in barley. Crop Sci. 25: 27-31.
8. Katoh, Y., T. Hasegawa, T. Suzuki, and T. Fujii, 1986. Plant regeneration from the callus derived from mature embryos of hiproly barley *Hordeum distichum* L. Agric Biol Chem 50: 761-762.
9. Komatsuda, T., S. Enomoto, and K. Nakajim. 1989. Genetics of callus proliferation and shoot differentiation in barley. Heredity 80(5): 345-350.
10. Luhrs, R., and H. Lorz. 1987. Plant regeneration in vitro from embryogenic cultures of spring and winter type barley (*Hordeum vulgare* L.). Varieties. Theor. Appl. Genet. 75: 16-25.
11. Lupotto, E. 1984. Callus induction and plant regeneration from barley mature embryos. Ann Bot 54: 523-529.
12. Mono, Y., H. Takahashi, K. Sato, and K. Taked. 1996. Mapping genes for callus growth and shoot regeneration in barley (*Hordeum vulgare* L.). Breeding Sci. 46: 137-142.
13. Mathias, R. J., and K. Fukui. 1986. The effect of specific chromosome and cytoplasm substitutions on the tissue culture response of wheat (*Triticum aestivum*) Callus. Theor. Appl. Genet. 71: 797-800.
14. Orton, T. J. 1979. A quantitative analysis of growth and regeneration from tissue cultures of *Hordeum vulgare*, *H. jubatum* and their interspecific hybrid. Env. Exp. Bot. 19: 319-335.
15. Rengel, Z. 1987. Embryogenic callus induction and plant regeneration from cultured *Hordeum vulgare*. Mature embryos. Plant Physiol Biochem. 25: 43-48.
16. Rengel, Z., and S. Jelaska. 1986a. Somatic embryogenesis and plant regeneration from seedling tissues of *Hordeum vulgare*. L. J. Plant Physiol 16: 385-392.
17. Rengel, Z., and S. Jelaska. 1986n. Theeffect of L – proline on somatic embryogenesis in long-term callus culture. Of *Hordeum vulgare*. Acta. Bot. Croat 45: 71-75.
18. Rotem, Abarbanell, D., and A. Breiman. 1989. Plant regeneration from immature and mature embryo explants of *Hordeum marinum*. Plant Cell Tissue & Organ Culture 16: 207-216.
19. Ruiz, M. L., J. Rueda, M. I. Pelaez, F. T. Espino, M. Cadela, A. M. Vazquez. 1992. Somatic embryogenesis, plant regeneration and somaclonal variation in barley. Plant cell tiss. Org. Cult. 28: 97-101.
20. Venketeswaran, S. 1963. Tissue culture studies on *Vicia faba* . 2. Cytology. Caryologia 16: 91-100.

A Study on Regeneration Induction in Barley

**M. OMIDI¹, P. AHMADIAN TEHRANI², M. R. GHANADHA³,
A. A. SHAHNEJAT BOUSHEHRI⁴, B. A. SEIED TABATABAIE⁵**

**1, 2, 3, 4, 5, Assistant Professor, Professor, Associate professor,
Assistant Professors, Faculty of Agriculture,
University of Tehran. Karaj, Iran**

Accepted Jan. 23, 2002

SUMMARY

This study was conducted to determine the genotypic effect on regeneration induction in barley using 4 two – row and 4 six – row Japanese and Iranian barley selected from the cereal collection, Department of Agronomy, College of Agriculture, University of Tehran. Two weeks after pollination, immature embryos were dissected and planted in petri dishes using a solid MS medium with 2 mg/L of 2, 4-D. The petri dishes were incubated at 25±1 °C. The induced calli were sub – cultured on the same medium after about one month. In this study, the following variables were analyzed: length of stem and root, regeneration rate, number of shoots in every callus, and size of immature embryo. Zarjo (a six – row genotype) showed the lowest of regeneration for all studying parameters and barley No. 17 (a two – row genotype) and Japanese barley No.1 (a six – row genotype) showed the highest regeneration rate. The analysis of variance indicated a significant effect of genotype on the variables, while there was a lower significant effect on plant within genotypes and lowest significant effect of spike per plant. The optimum size of immature embryo was between 0.5 and 1.6 mm, the best size being between 0.5 and 1.1 mm.

Key words: Barley, Regeneration, Two – row barley, Six – row barley, Immature embryo.