

## اثر ژنوم‌های هومولوگ بر تولید گامت‌های کاهش نیافته در هیبریدهای حاصل از تلاقی گندم و آجیلوپس

### Effect of Homologous Genomes on Unreduced Gamete Formation in wheat and Aegilops Crosses

ژاله فخری<sup>۱</sup>، قادر میرزاقدری<sup>۲</sup>، سمیرا احمدیان<sup>۱</sup> و هدیه بدخشان<sup>۳</sup>

۱، ۲ و ۳- به ترتیب دانشجویان سابق کارشناسی ارشد، دانشیار و استادیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه کردستان، سنندج

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۱/۲۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۵/۲۱

#### چکیده

فخری، ژ.، میرزاقدری، ق.، احمدیان، س. و بدخشان، ه. ۱۳۹۵. اثر ژنوم‌های هومولوگ بر تولید گامت‌های کاهش نیافته در هیبریدهای حاصل از تلاقی گندم و آجیلوپس. مجله به‌نژادی نهال و بذر ۱-۳۲: ۳۸۱-۳۶۹.

در هیبریدهای بین گونه‌ای بسته به ترکیب ژنتیکی والدین، گامت‌های کاهش نیافته به وفور تشکیل شده و فراوانی تشکیل آنها بیشتر از گونه‌های والدی است. تحقیق حاضر با هدف بررسی گامت‌های کاهش نیافته در هیبریدهای حاصل از تلاقی گندم نان ( $2n = 6x = 42$ , AABBDD) با دو گونه *Aegilops cylindrica* ( $2n = 4x = 28$ ;  $C^cC^cD^cD^c$ ) و *Ae. triuncialis* ( $2n = 4x = 28$ ;  $U^tU^tC^tC^t$ ) انجام شد. فرض این بود که دانه‌های گرده کاهش نیافته با فراوانی بیشتری در هیبریدهای گندم × آجیلوپس تریانسالیس که فاقد ژنوم هومولوگ هستند ( $2n = ABDU^tC^t$ )، نسبت به هیبریدهای گندم × آجیلوپس سیلیندریکا که ژنوم هومولوگ دارند ( $2n = ABDD^cC^c$ )، تشکیل می‌شود. این فرض از طریق بررسی میوز، میزان دانه‌های گرده کاهش نیافته، کارایی دانه گرده و میزان بذردهی در هیبریدها مورد تأیید قرار گرفت. عدم وجود ژنوم‌های هومولوگ در هیبریدهای گندم × آجیلوپس تریانسالیس، میوز را در ۳ درصد سلول‌های مادر گرده به میوز غیر کاهشی سوق داد. محصول چنین تقسیم غیر کاهشی به صورت دانه‌های گرده کاهش نیافته و تولید بذر  $F_2$  در این نوع هیبرید تظاهر پیدا کرد.

واژه‌های کلیدی: گندم، تلاقی بین گونه‌ای، هیبریداسیون، پلی‌پلویدی، گامت کاهش نیافته، کارایی دانه گرده.

مقدمه

(First Division Restitution) و

SDR (Second Division Restitution) رخ می‌دهد. در FDR گامت‌های  $2n$  تولید شده از نظر ژنتیکی معادل میوزی هستند که در آن تقسیم اول (میوز I) حذف شده باشد. از آن‌جا که یکی از وقایع مهم در میوز I کراسینگ‌اور و نوترکیبی است، در گامت‌های حاصل از FDR نوترکیبی رخ نمی‌دهد و در نتیجه هتروزیگوستی والدین به گامت‌ها منتقل شده و به طور ژنتیکی مشابه با والد خود هستند. این نوع از تقسیم غیرکاهشی میوز به وفور در گامتوژنز نر و ماده و همچنین گامتوژنز ماده گیاهان آپومیکت و جانوران پارتنوژنز مشاهده شده و منجر به تولید فرزندان کلونی (مشابه با والدین) می‌شود. در مقابل، گامت‌های  $2n$  حاصل از SDR تنها جزئی از هتروزیگوستی والدین را حفظ کرده و گامت‌های حاصل مشابه با محصول نوعی از میوز هستند که در آن تقسیم دوم رخ نداده باشد (de Storme and Geelen, 2013).

در هیبریدهای بین گونه‌ای بسته به ترکیب ژنتیکی والدین، گامت‌های کاهش نیافته به وفور تشکیل شده و فراوانی تشکیل آن‌ها بیشتر از گونه‌های والدی است (Silkova et al., 2011)؛ Ramsey and Schemske, 1998)، به طوری که تشکیل بذرهاي آمفی‌پلوئید خود به خودی (حاصل از امتزاج گامت‌های کاهش نیافته) بر روی بوته‌های  $F_1$  دور از انتظار نبوده و بسیاری از گونه‌های آمفی‌پلوئید به ویژه در طایفه

گندم نان (*Triticum aestivum* L.)؛ AABBD (2n = 6x = 42) یک آلوپلوئید مربوط به خانواده پواسه، زیرخانواده پوییده و طایفه گندمیان است (Huang et al., 2002). انسان دوازده هزار سال پیش در خاورمیانه گندم دیپلوئید و تتراپلوئید را اهلی کرد و برای اولین بار در ناحیه هلال حاصلخیز مورد کشت قرار داد (Harlan and Zohary, 1966). در حدود هشت هزار سال قبل گندم آلوپلوئید و از آن جمله گندم نان طی تلاقی گندم امر (Emmer; AABB genome) و گونه آجیلوپس تاوشی (*Aegilop stauschii*)؛ DD (2n = 2x = 14) تشکیل شد (Gu et al., 2004; Petersen et al., 2006)؛ Huang et al., 2002). تولید گندم‌های پلی‌پلوئید از طریق تولید و امتزاج گامت‌های کاهش نیافته در هیبریدهای بین گونه‌ای به وجود آمده است. در واقع گامت‌های کاهش نیافته عامل اصلی در ایجاد پلی‌پلوئیدها در طبیعت بوده است (Mason and Pires, 2015)؛ de Storme and Mason, 2015) به طوری که در حدود ۷۰٪ گیاهان گلدار و حدود ۵٪ بازدانگان پلی‌پلوئید هستند (Harlan and Zohary, 1966).

تولید گامت‌های کاهش نیافته در هیبریدهای بین گونه‌ای غالباً از طریق دو نوع میوز غیر کاهشی به نام‌های FDR

گندمیان در طبیعت از این طریق به وجود آمده‌اند (Tiwari et al., 2008؛ Xu and Dong, 1992؛ Loureiro et al., 2009؛ Blanco et al., 1983؛ Islam and Shepherd, 1980؛ Maan and Sasakuma, 1977). هر اندازه دو

والد مورد تلاقی اختلاف ژنتیکی بیشتری با یک‌دیگر داشته باشند احتمال وقوع تقسیم غیر کاهشی بیشتر بوده و گامت‌های کاهش نیافته با فراوانی بیشتری تولید می‌شوند. در صورتی که قسمتی از ژنوم در دو گونه تلاقی داده شده با یک‌دیگر مشابه باشند، ممکن است در میوز هیبریدهای  $F_1$  تعداد نسبتاً زیادی بیوانت‌های میله‌ای و حلقوی تشکیل شود. این موضوع می‌تواند تقسیم میوز را به حالت نرمال یا غیر کاهشی سوق داده و لذا احتمال تشکیل گامت‌های  $2n$  به میزان قابل توجهی کاهش پیدا می‌کند (Tayalé and Parisod, 2013). اگر قسمتی از ژنوم دو گونه مورد تلاقی با یک‌دیگر هومولوژی داشته باشد، ترکیبی از یونیوانت‌ها و بیوانت‌ها در متافاز I میوز تشکیل شده که در آن بیوانت‌ها به صورت کاهشی و یونیوانت‌ها به صورت متعادل تقسیم می‌شوند. چنین مکانیسمی که نوعی بینابینی از گامت‌های کاهش نیافته را (نسبت به گامت‌های حاصل از FDR و SDR) به وجود می‌آورد، IMR (Indeterminate Division Restitution) نامیده شده است (Lim et al., 2001). عوامل ژنتیکی و اپی‌ژنتیکی (Schmidt et al., 2015)؛

مطالعات زیادی در رابطه با هیبریدهای بین گونه‌ای حاصل از گندم‌های تتراپلوئید و آجیلوپس‌های دیپلوئید وجود دارد (Matsuoka et al., 2013؛ Zhang et al., 2007؛ Wang et al., 2010) ولی اطلاعات در مورد میوز هیبریدهای بین گونه‌ای حاصل از ارقام گندم نان و گونه‌های تتراپلوئید آجیلوپس اندک است. در مطالعه‌ای روی هیبریدهای حاصل از چند رقم مختلف گندم نان و گونه تتراپلوئید آجیلوپس تریانسالیس، تولید گامت‌های کاهش نیافته از طریق میوز غیر کاهشی FDR منجر به تولید آمفی‌پلوئیدهای کامل و جزئی شد و اثر ژنوتیپ‌های مختلف گندم نان بر میزان تولید گامت‌های کاهش نیافته، معنی‌دار بود (Mirzaghaderi and Fathi, 2015). هیبرید حاصل از تلاقی گندم دوروم و آجیلوپس تاوشی تولید گامت‌های کاهش نیافته می‌کند. در این گونه هیبریدها اغلب کروموزوم‌ها در متافاز I به صورت یونی‌والنت دیده می‌شوند (Wang et al., 2010؛ Zeng et al., 2014)؛ Zhang et al., 2007). این در حالی است که هیبرید حاصل از تلاقی گندم دوروم و آجیلوپس تاوشی تتراپلوئید

گندمیان در طبیعت از این طریق به وجود آمده‌اند (Tiwari et al., 2008؛ Xu and Dong, 1992؛ Loureiro et al., 2009؛ Blanco et al., 1983؛ Islam and Shepherd, 1980؛ Maan and Sasakuma, 1977). هر اندازه دو والد مورد تلاقی اختلاف ژنتیکی بیشتری با یک‌دیگر داشته باشند احتمال وقوع تقسیم غیر کاهشی بیشتر بوده و گامت‌های کاهش نیافته با فراوانی بیشتری تولید می‌شوند. در صورتی که قسمتی از ژنوم در دو گونه تلاقی داده شده با یک‌دیگر مشابه باشند، ممکن است در میوز هیبریدهای  $F_1$  تعداد نسبتاً زیادی بیوانت‌های میله‌ای و حلقوی تشکیل شود. این موضوع می‌تواند تقسیم میوز را به حالت نرمال یا غیر کاهشی سوق داده و لذا احتمال تشکیل گامت‌های  $2n$  به میزان قابل توجهی کاهش پیدا می‌کند (Tayalé and Parisod, 2013). اگر قسمتی از ژنوم دو گونه مورد تلاقی با یک‌دیگر هومولوژی داشته باشد، ترکیبی از یونیوانت‌ها و بیوانت‌ها در متافاز I میوز تشکیل شده که در آن بیوانت‌ها به صورت کاهشی و یونیوانت‌ها به صورت متعادل تقسیم می‌شوند. چنین مکانیسمی که نوعی بینابینی از گامت‌های کاهش نیافته را (نسبت به گامت‌های حاصل از FDR و SDR) به وجود می‌آورد، IMR (Indeterminate Division Restitution) نامیده شده است (Lim et al., 2001). عوامل ژنتیکی و اپی‌ژنتیکی (Schmidt et al., 2015)؛

پاکت‌گذاری شدند. از هر رقم حداقل پانزده سنبله و مجموعاً چهل سنبله تلاقی داده شد. بذره‌های هیبرید بدون نیاز به تیمار هورمونی یا انجام نجات جنین تشکیل شده و در زمان رسیدگی کامل برداشت شدند. هیبریدهای حاصل از تلاقی ارقام نوید و امید با آجیلوپس سیلیندریکا به ترتیب NC و OC و با آجیلوپس تریانسالیس NT و OT نام‌گذاری شدند.

#### خودباروری بوته‌های هیبرید

پانزده بذر NC، شانزده بذر از OC، شانزده بذر از NT و ده بذر از OT در تشتک پتری کشت شده و زمان رسیدن ساقه‌چه به ۲ تا ۳ سانتی‌متر، هر بذر به طور مجزا در گلدان در گلخانه کاشته شده و در مرحله سه برگی در پاییز سال ۱۳۹۳ به مزرعه دانشکده کشاورزی دانشگاه کردستان منتقل شدند. در بهار سال بعد، بوته‌های غیر هیبرید (گندم) در مرحله گلدهی به راحتی قابل تشخیص بوده و از مزرعه حذف شدند. سنبله بوته‌های هیبرید برای اطمینان از خودباروری، پاکت‌گذاری شدند و درصد تشکیل بذر نسبت به تعداد گلچه‌های خودبارور شده برای هر نوع تلاقی محاسبه شد.

#### بررسی‌های میوزی

برای بررسی مراحل مختلف تقسیم میوز از جمله متافاز I و بررسی دانه‌های گرده، سنبله‌ها در مرحله تقسیم میوز جدا و در محلول تثبیت اتانول، اسید استیک (به نسبت سه به یک) به

( $2n = 4x = 28$ ; DDDD) فاقد توانایی انجام میوز غیرکاهشی و تولید گامت کاهش نیافته است (Wang et al., 2010). این نتایج نشان می‌دهد که حضور کروموزوم‌های هومولوگ در هیبریدهای بین گونه‌های و جفت شدن آن‌ها در میوز، از تقسیم غیر کاهشی جلوگیری می‌کند. با این وجود هنوز اثر وجود ژنوم‌های هومولوگ ولی از گونه‌های مختلف در هیبریدهای حاصل از تلاقی آن‌ها مورد بررسی قرار نگرفته است. تحقیق حاضر با هدف بررسی گامت‌های کاهش نیافته در هیبریدهای حاصل از تلاقی گندم نان ( $2n = 6x = 42$ , AABBDD) با دو گونه آجیلوپس سیلیندریکا ( $2n = 4x = 28$ ; C<sup>c</sup>C<sup>c</sup>D<sup>d</sup>D<sup>d</sup>) و آجیلوپس تریانسالیس ( $2n = 4x = 28$ ; U<sup>t</sup>U<sup>t</sup>C<sup>c</sup>C<sup>c</sup>) انجام شد. هیبریدهای حاصل از تلاقی گندم - سیلیندریکا دارای ژنوم ABDD<sup>c</sup>C<sup>c</sup> و هیبریدهای حاصل از تلاقی گندم - تریانسالیس دارای ژنوم ABDU<sup>t</sup>C<sup>c</sup> هستند.

#### مواد و روش‌ها

دو رقم مختلف گندم نان به نام‌های نوید و امید با یک نمونه *Aegilops cylindrica* (S386) و یک نمونه *Ae. triuncinalis* تلاقی داده شدند. برای انجام تلاقی‌ها در بهار ابتدا تعدادی از سنبله‌های هر رقم گندم اخته و پاکت‌گذاری شدند. بعد از یک تا سه روز هنگامی که مادگی‌ها آماده پذیرش دانه گرده شدند، با گرده گونه آجیلوپس گرده افشانی و

روی سطح لام پخش شده و با اضافه کردن یک قطره رنگ الگسندر و رنگ آمیزی به کمک حرارت انجام شد. با این روش دانه‌های گرده فعال صورتی رنگ شده و بقیه رنگ نمی‌گیرند. از نمونه‌ها با استفاده از دوربین دیجیتالی متصل به میکروسکوپ عکس‌برداری شد. از هر نوع تلاقی حداقل چهار دانه گرده فعال بررسی شده و قطر آنها اندازه‌گیری شد. سایر سنبله‌های  $F_1$  تا رسیدگی کامل در مزرعه نگهداری شدند و تعداد بذر تشکیل شده در هر نوع هیبرید نسبت به تعداد گلچه به عنوان شاخصی از باروری شمارش شد.

## نتایج و بحث

### تلاقی‌ها و تولید بذر $F_1$

در این تحقیق بذرهای  $F_1$  بدون نیاز به تیمار هرمونی یا نجات جنین به دست آمدند. از هر رقم حداقل پانزده سنبله و مجموعاً چهار سنبله تلاقی داده شدند که در نتیجه ۷۵ بذر هیبرید به دست آمد. نرخ جوانه‌زنی برای ۵۷ بذر  $F_1$  بررسی شده در تشتک پتری، ۱۰۰ درصد بود. پس از جدا کردن تعدادی مریستم ریشه (برای شمارش کروموزومی)، گیاهچه حاصل از این بذرها به گلدان و سپس در پاییز به مزرعه منتقل شدند. شمارش کروموزوم‌های نوک ریشه در تعدادی از بذرها وجود ۳۵ کروموزوم را در بذرها نشان داده و هیبرید بودن آنها را تایید کرد (شکل ۱a). علاوه بر این هیبرید بودن بوته‌های  $F_1$  از طریق شکل ظاهری متفاوت

مدت دو الی سه ساعت تثبیت شدند. بساک‌ها با استوارسین رنگ آمیزی شده و له کردن آنها روی لام به کمک استیک اسید ۴۵٪ انجام شد. از سلول‌ها در مرحله متافاز I میوز در زیر میکروسکوپ عکس‌برداری شد. سلول مادر گرده پس از میوز چهار سلول به هم پیوسته به نام تتراد به دست می‌دهد. با این حال ممکن است در هیبریدهای بین گونه‌ای علاوه بر تتراد، دیاد (دو سلول به هم پیوسته) نیز تشکیل شود که در نهایت به دانه‌های گرده کاهش نیافته تبدیل می‌شوند. لذا نسبت تعداد دیاد تقسیم بر (تعداد دیاد به اضافه دو برابر تعداد تتراد) در هر بساک بررسی شده به عنوان نسبت دانه‌های گرده (یا گامت) کاهش نیافته در نظر گرفته شد. از هر تلاقی تعداد پنج بساک از گلچه‌های بیرونی و وسط پنج سنبله مختلف مورد بررسی قرار گرفت.

### بررسی کارایی دانه گرده و میزان باروری

برای تعیین کارایی دانه‌های گرده در هیبریدها، دانه‌های گرده با رنگ الگسندر (Peterson *et al.*, 2010) رنگ آمیزی شدند. بدین منظور در زمانی که سنبله‌ها به طور کامل ظاهر شدند، پرچم بوته‌های متفاوت مربوط به هر نوع هیبرید به طور جداگانه درون میکروتیوپ‌های حاوی محلول فیکساتیو (اتانول و استیک اسید به نسبت سه به یک) به مدت دو تا سه ساعت تثبیت شد. دانه‌های گرده هر پرچم تثبیت شده به وسیله یک سوزن نوک تیز بر

سنبله در مزرعه، قابل تشخیص بودند.

می‌شود که طی آن کروماتیدها جدا و به قطبین می‌روند (Mirzaghaderi and Fathi, 2015).

نتیجه چنین تقسیمی در سلول مادر گرده ایجاد دیاد (به جای تتراد که در میوز معمولی تشکیل می‌شود) است. فراوانی تولید دانه‌های گرده کاهش نیافته در هیبریدهای NC و OC، صفر و در هیبریدهای NT و OT به ترتیب ۶/۴ و ۵/۰ درصد برآورد شد.

#### کارایی دانه گرده

بین هیبریدهای حاصل از تلاقی گندم × آجیلوپس ترانسسیالیس و گندم × آجیلوپس سیلیندریکا، تفاوت معنی‌داری در فراوانی دانه‌های گرده کارا وجود داشت (جدول ۱). فراوانی دانه‌های گرده کارا در هیبریدهای گندم × آجیلوپس سیلیندریکا کمتر از یک درصد بود در حالی که این مقدار برای هیبریدهای گندم × آجیلوپس ترانسسیالیس OT و NT به ترتیب ۴/۷۸ و ۲/۷ درصد به دست آمد. همچنین میانگین قطر دانه‌های گرده فعال در هیبریدهای گندم × آجیلوپس ترانسسیالیس به طور معنی‌داری بیشتر از هیبریدهای گندم × آجیلوپس سیلیندریکا بود (۶۰/۹۶ میکرومتر در مقابل ۳۹/۹۵ میکرومتر؛  $p\text{-value} < 0/001$ ).

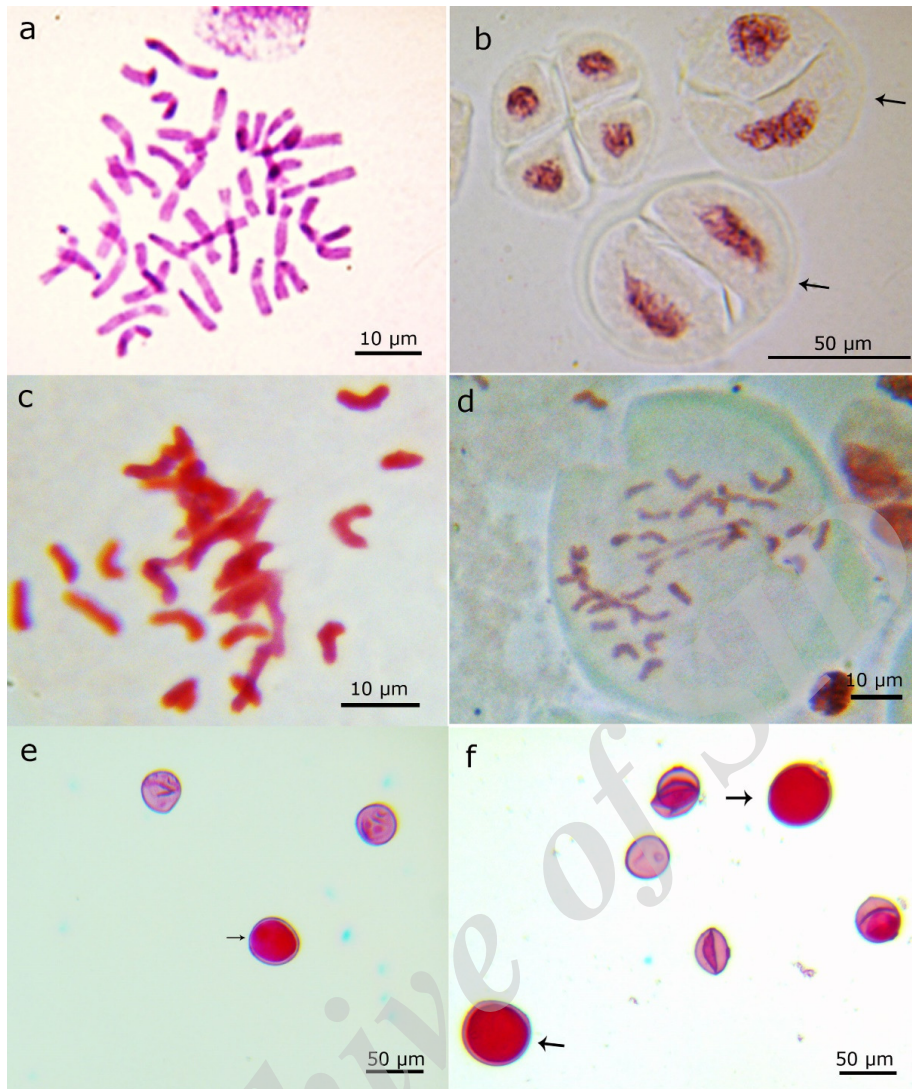
#### باروری هیبریدها

بذردهی (باروری) هیبریدهای گندم × آجیلوپس ترانسسیالیس و

#### تقسیم میوز در هیبریدها

در بررسی تقسیم میوز در سنبله نارس بوته‌های هیبریدهای گندم × آجیلوپس سیلیندریکا (با ژنوم  $ABDD^cC^c$ )، میوز به صورت طبیعی انجام و هیچ موردی از میوز کاهشی مشاهده نشد و محصول میوز همگی به صورت تتراد بود. کروموزوم‌ها در مرحله متافاز I در این هیبرید به صورت ترکیبی از یونی والنت‌ها و بیوالنت‌های حلقوی و میله‌ای بوده و به طور متوسط ۵-۷ بیوالنت حلقوی، ۶-۷ بیوالنت میله‌ای و ۰-۲ تری‌والنت مشاهده شد (شکل ۱c). بی‌والنت‌ها احتمالاً از اتصال کروموزوم‌های ژنوم‌های D و  $D^c$  به وجود آمدند.

در مقابل، تقسیم غیر کاهشی و در نتیجه آن گامت‌های کاهش نیافته در هیبریدهای گندم × آجیلوپس ترانسسیالیس (با ژنوم  $ABDU^tC^t$ ) با فراوانی متوسط ۰/۱ مشاهده شد. شکل کروموزوم‌ها در متافاز I میوز در این نوع هیبرید غالباً ۲۱ یونی والنت و ۷ بیوالنت میله‌ای بود (شکل ۱d). تشکیل گامت‌های کاهش نیافته در هیبریدهای گندم × آجیلوپس ترانسسیالیس از طریق رنگ‌آمیزی بافتی مطالعه شده و عدم وقوع تقسیم اول میوز (FDR) به عنوان مکانیسم غالب معرفی شده است. بدین معنی که تقسیم اول میوز در این هیبرید دچار وقفه شده و فقط تقسیم دوم میوز انجام



شکل ۱- میوز در هیبریدهای حاصل از تلاقی‌های گندم نان × آجیلوپس تریانسالیس و گندم نان × آجیلوپس سیلندریکا

(a) کروموزوم‌های متافازی میتوزی در یکی از سلول‌های نوک ریشه بذر هیبرید NT که وجود ۳۵ کروموزوم را نشان می‌دهد. (b) تلوفاز II و دیاکینز در سه سلول مادر گرده گیاه هیبرید گندم نان × آجیلوپس تریانسالیس. پیکان‌ها دیادها را نشان می‌دهند. (c) متافاز I در سلول مادر گرده گیاه هیبرید گندم نان × آجیلوپس سیلندریکا که یازده بی‌والنت میله‌ای و حلقوی نشان می‌دهد. (d) متافاز I در سلول مادر گرده گیاه هیبرید گندم نان × آجیلوپس تریانسالیس که هفت بی‌والنت‌های میله‌ای را نشان می‌دهد، e و (f) رنگ‌آمیزی دانه‌های گرده به ترتیب در هیبریدهای گندم نان- آجیلوپس سیلندریکا و گندم نان × آجیلوپس تریانسالیس برای تعیین دانه‌های گرده فعال. پیکان‌ها دانه‌های گرده فعال را نشان می‌دهند.

Fig. 1. Meiosis in bread wheat-*Ae. triuncialis* and bread wheat-*Ae. cylindrica* hybrids

a) Mitotic chromosome spread from a meristematic cell in the root tip of NT hybrid showing 35 chromosomes. b) Telophase II and diakinesis of meiosis in pollen mother cells (PMCs) of bread wheat-*Aegilops triuncialis*. Arrows point to the dyads. c) Metaphase-anaphase I in a pollen mother cell of bread wheat-*Ae. cylindrica* hybrid showing eleven ring and rod bivalents. d) Metaphase I in PMCs of bread wheat-*Ae. triuncialis* hybrids predominantly showed seven rod bivalents. e and f) Pollen staining for viability test of pollens in *Triticum aestivum*-*Aegilops cylindrica* and *Triticum aestivum*-*triuncialis* hybrids. Arrows point to the viable pollens

چنین میوز غیر کاهشی در هیبریدهای بین گونه‌ای طایفه گندمیان بارها مشاهده شده است (Matsuoka *et al.*, 2013؛ Zhang *et al.*, 2010؛ Silkova *et al.*, 2011). برای مثال مشاهده شده است که کروموزوم‌های در هیبریدهای گندم دوروم × آجیلوپس تاوشی به صورت یونی والنت طوری در متافاز I میوز قرار می‌گیرند که کایتوکورها رو به قطبین قرار گرفته و به صورت قرینه به رشته‌های دوکی متصل می‌شوند. چنین آرایشی منجر به میوز غیر کاهشی از نوع FDR می‌شود (Cai *et al.*, 2010). چنین میوزی همچنین در هیبریدهای گندم × چاودار از طریق روش FISH در روی سلول‌های مادر گرده، تایید شده است (Zeng *et al.*, 2014).

چنین نتایجی به طور کلی این فرض را تایید می‌کند که در هیبریدهای بین گونه‌ای، احتمال میوز غیر کاهشی و تولید گرده‌های کاهش نیافته تحت تاثیر میزان قرابت ژنتیکی والدین آنها است به طوری که در هیبریدهای حاصل از والدین دارای خویشاوندی ژنتیکی کم، نرخ تولید گامت‌های کاهش نیافته بیشتر است. از آنجا که در چنین حالتی کروموزوم‌ها در متافاز I اغلب به صورت یونی والنت باقی مانده یا ندرتاً بیوالنت (غالباً میله‌ای) تشکیل می‌دهند، تصور می‌شود که میوز غیر کاهشی، وابسته به فراوانی یونی والنت‌ها است (de Storme and Mason, 2015). از طرف دیگر، هیبریدهای حاصل از تلاقی والدین

گندم × آجیلوپس سیلیندریکا کاملاً متفاوت بود. در حالی که دانه‌های گرده فعال در هیبریدهای گندم × آجیلوپس سیلیندریکا مشاهده شد، هیچ بذری روی گیاهان مختلف این نوع از هیبریدها تشکیل نشد. با این وجود میزان بذردهی در هیبریدهای گندم × آجیلوپس تریانسالیس به طور متوسط ۰/۶۳ درصد بود. هیبریدهای NT و OT به ترتیب ۰/۷۵ و ۰/۵۲ درصد بذر  $F_2$  تولید کردند (جدول ۱). بذره‌های  $F_2$  ظاهری توپر داشتند که نشان‌دهنده تشکیل موفق آندوسپرم در بذر بود.

فرض این تحقیق این بود که دانه‌های گرده کاهش نیافته با فراوانی بیشتری در هیبریدهای گندم × آجیلوپس تریانسالیس با ژنوم  $ABDU^tC^t$  (فاقد ژنوم همولوگ) نسبت به هیبریدهای گندم × آجیلوپس سیلیندریکا با ژنوم  $ABDD^cC^c$  (دارای ژنوم همولوگ)، تشکیل می‌شود. این فرض از طریق بررسی میوز، میزان دانه‌های گرده کاهش نیافته، کارایی دانه گرده و میزان بذردهی در هیبریدهای مربوطه مورد تأیید قرار گرفت. میوز در هیبریدهای گندم × آجیلوپس سیلیندریکا به صورت کاهشی انجام شد به طوری که محصول نهایی میوز همواره به صورت تتراد بوده و هیچ گامت کاهش نیافته‌ای مشاهده نشد. به همین دلیل بذر به ندرت در این نوع هیبرید تشکیل شد. در مقابل، هیبریدهای گندم × آجیلوپس تریانسالیس، میوز غیر کاهشی از نوع FDR در ۵/۷ درصد از سلول‌های مادر گرده مشاهده شد.



جدول ۱- فراوانی دانه گرده کاهش نیافته (2n)، کارایی دانه گرده، قطر دانه گرده و میزان بذردهی (باروری) در گیاهان هیبرید حاصل از تلاقی‌های گندم نان × آجیلوپس تریانسالیس و گندم نان × آجیلوپس سیلیندریکا

Table 1. Frequency of unreduced gamete (2n), pollen viability, pollen diameter and seed set (fertility) on F<sub>1</sub> hybrids derived from *Triticum aestivum*-*Aegilops triuncialis* and *T. aestivum*-*Ae. cylindrical*

هیبرید	گرده کاهش نیافته	کارایی گرده	قطر گرده فعال	باروری			
				تعداد سنبله بررسی شده	تعداد گلچه خودبارور شده	تعداد بذر تشکیل شده	تعداد بذر تشکیل شده
Hybrid	Unreduced gamete (%)	Pollen viability (%)	Viable pollen diameter (μm)	No. of evaluated spikes	No. of selfed spikeletes	No. of seeds set	Seed set (%)
NT	6.4a	4.78a	61.43a	106	2120	16	0.75
OT	5.0a	2.70b	60.50a	120	3260	17	0.52
NC	0.0b	0.43c	37.52c	111	1845	0	0.00
OC	0.0b	0.26c	42.39b	105	1774	0	0.00

اعداد با حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار بر اساس LSD<sub>0.05</sub> است.

Values with different letters in each column indicate significant difference based on LSD<sub>0.05</sub>.

NT: Wheat cv. Navid × *Aegilops triuncialis*

NC: Wheat cv. Navid × *Ae. cylindrical*

OT: Wheat cv. Omid × *Ae. triuncialis*

OC: Wheat cv. Omid × *Ae. cylindrical*

(Xu and Joppa, 2000). نتیجه تقسیم میوز در هیبریدهای گندم × آجیلوپس سیلیندریکا همواره به صورت تتراد بوده و هیچ موردی از دیاد مشاهده نشد. به همین صورت میوز در هیبریدهای بین گونه‌ای گندم دوروم × آجیلوپس تاوشی تتراپلوئید که دارای ترکیب ژنومی ABDD بودند، فقط به صورت کاهش‌ی انجام شده و دو ژنوم D در هیبریدها از تقسیم میوز غیر کاهش‌ی جلوگیری کرد (Wang et al., 2010). در تحقیق حاضر، گرچه ژنوم‌های D و D<sup>c</sup> در هیبریدها مربوط به دو ژنوم مختلف بودند، با این وجود هنوز از تقسیم غیر کاهش‌ی در هیبریدهای

خویشاوند که نسبتی از ژنوم آن‌ها با هم همولوژی دارد، به طور معمول متحمل میوز کاهش‌ی می‌شوند. در این حالت تعداد زیاد بیوانت میله‌ای و حلقوی در متافاز I، میوز را به سمت حالت غیر کاهش‌ی سوق می‌دهد. در این حالت فراوانی تشکیل دانه‌های گرده فعال به میزان خویشاوندی والدین بستگی دارد به طوری که هیبریدهای حاصل از تلاقی والدین خیلی نزدیک به یکدیگر، دانه‌های گرده کاهش یافته و فعال بیشتری تولید می‌کنند. علاوه بر این، نرخ تولید گامت‌های کاهش نیافته ممکن است تحت تاثیر ژنوتیپ و اثر متقابل ژنوتیپ × محیط نیز قرار گیرد (Mason et al., 2011)؛

گندم × آجیلوپس سیلیندریکا جلوگیری کردند. میانگین میزان باروری هیبریدهای  $F_1$  که از طریق فراوانی بذرهای  $F_2$  برآورد شد در هیبریدهای گندم × آجیلوپس تریانسالیس ۰/۶۳ درصد بود. این مقدار کمتر از مقدار ۱/۸۲ درصد است که قبلاً برای هیبریدهای گندم × آجیلوپس تریانسالیس گزارش شده بود (Loureiro *et al.*, 2009). در تحقیقی دیگر میزان باروری هیبریدهای  $F_1$  در تلاقی‌های حاصل از تلاقی پنج رقم گندم × آجیلوپس تریانسالیس به طور متوسط ۳/۵ درصد گزارش شد (Mirzaghaderi and Fathi, 2015). در تریتیکوم تورجیدوم × آجیلوپس تاوشی زیر گونه استرانگولاتا (*ssp. strangulata*) و هیبریدهای تریتیکوم تورجیدوم × آجیلوپس تاوشی زیر گونه تاوشی (*ssp. tauschii*)، متوسط درصد تشکیل بذر به ترتیب ۴/۹۳ و ۷/۹۷ درصد گزارش شده است (Zhang *et al.*, 2010). تشکیل کمتر بذر در تحقیق حاضر نسبت به تحقیقات قبلی در

هیبریدهای گندم × آجیلوپس سیلیندریکا ممکن است به دلیل اثر ژنتیکی و یا ژنتیکی-محیطی باشد. در مقابل عدم باروری هیبریدهای گندم × آجیلوپس سیلیندریکا به دلیل عدم تشکیل دانه‌های گرده کاهش نیافته و فراوانی خیلی کم دانه‌های گرده فعال (جدول ۱) بود. در تایید این موضوع، ژانگ و همکاران بیان کردند که تعداد بذر حاصل از خودباروری (نسبت به تعداد گلچه‌های خودبارور شده) در هیبریدهای بین گونه‌ای تریتیکوم تورجیدوم × آجیلوپس تاوشی، شاخص خوبی از میزان تشکیل گامت‌های کاهش نیافته است (Zhang *et al.*, 2007). آن‌ها میزان باروری (برآورد شده از طریق نسبت بذردهی) را در این هیبریدها، ۲۵ درصد گزارش کردند. به طور کلی نتایج تحقیق حاضر می‌تواند در ایجاد گیاهان آمفی‌پلوئید از طریق گامت‌های کاهش نیافته کاربرد داشته باشد. چنین گیاهانی با سطح پلوئیدی بالاتر می‌تواند به عنوان پلی در انتقال ژن‌های صفات مطلوب از گونه‌های وحشی به گونه‌های زراعی به کار روند.

## References

- Blanco, A., Simeone, R., Tanzarella, O.A., and Greco, B. 1983. Morphology and chromosome pairing of a hybrid between *Triticum durum* Desf. and *Haynaldia villosa* (L.) Schur. Theoretical and Applied Genetics 64: 333-7.
- Cai, X., Xu, S.S., and Zhu, X. 2010. Mechanism of haploidy-dependent unreductional meiotic cell division in polyploid wheat. Chromosoma 119: 275-285.

- de Storme, N., and Geelen, D. 2013.** Sexual polyploidization in plants—cytological mechanisms and molecular regulation. *New Phytologist* 198: 670-684.
- de Storme, N., and Mason, A. 2015.** Plant speciation through chromosome instability and ploidy change: Cellular mechanisms, molecular factors and evolutionary relevance. *Current Plant Biology* 1: 10-33.
- Gu, Y.Q., Coleman-Derr, D., Kong, X., and Anderson, O.D. 2004.** Rapid genome evolution revealed by comparative sequence analysis of orthologous regions from four Triticeae genomes. *Plant Physiology* 135: 459-470.
- Harlan, J.R., and Zohary, D. 1966.** Distribution of wild wheats and barley. *Science* 153: 1074-1080.
- Huang, S., Sirikhachornkit, A., Su, X., Faris, J., Gill, B., Haselkorn, R., and Gornicki, P. 2002.** Genes encoding plastid acetyl-CoA carboxylase and 3-phosphoglycerate kinase of the *Triticum/Aegilops* complex and the evolutionary history of polyploid wheat. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 99: 8133-8138.
- Islam, A.K.M.R., and Shepherd, K.W. 1980.** Meiotic restitution in wheat barley hybrids. *Chromosoma* 68: 252-261.
- Lim, K.B., Ramanna, M.S., de Jong, J.H., Jacobsen, E., and van Tuyl, J.M. 2001.** Indeterminate meiotic restitution (IMR): a novel type of meiotic nuclear restitution mechanism detected in interspecific lily hybrids by GISH. *Theoretical and Applied Genetics* 103: 219-230.
- Loureiro, I., Escorial, C., Garcia-Baudin, J.M., and Chueca, M.C. 2009.** Spontaneous wheat-*Aegilops biuncialis*, *Ae. geniculata* and *Ae. triuncialis* amphiploid production, a potential way of gene transference. *Spanish Journal of Agricultural Research* 7: 614-620.
- Maan, S.S., and Sasakuma, T. 1977.** Fertility of amphihaploids in Triticinae. *Journal of Heredity* 57: 76-83.

- Mason, A. S., Nelson, M., Yan, G., and Cowling, W. 2011.** Production of viable male unreduced gametes in Brassicainterspecific hybrids is genotype specific and stimulated by cold temperatures. *BMC Plant Biology* 11: 103.
- Mason, A. S., and Pires, J.C. 2015.** Unreduced gametes: meiotic mishap or evolutionary mechanism? *Trends in Genetics* 31: 5-10.
- Matsuoka, Y., Nasuda, S., Ashida, Y., Nitta, M., Tsujimoto, H., Takumi, S., and Kawahara, T. 2013.** Genetic basis for spontaneous hybrid genomedoubling during allopolyploid speciation of common wheat shown by natural variation analyses of the paternal species. *PLoS One* 8: e68310.
- Mirzaghaderi, G., and Fathi, N. 2015.** Unreduced gamete formation in wheat: *Aegilops triuncialis* interspecific hybrids leads to spontaneous complete and partial amphiploids. *Euphytica* 206: 67-75.
- Petersen, G., Seberg, O., Yde, M., and Berthelsen, K. 2006.** Phylogenetic relationships of Triticum and Aegilops and evidence for the origin of the A, B, and D genomes of common wheat (*Triticum aestivum*). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 39: 70-82.
- Peterson, R., Slovin, J.P., and Chen, C. 2010.** A simplified method for differential staining of aborted and non-aborted pollen grains. *International Journal of Plant Biology*, 1: e13.
- Ramsey, J. and Schemske, D.W. 1998.** Pathways, mechanisms, and rates of polyploid formation in flowering plants. *Annual Review of Ecology and Systematics* 29: 467-501.
- Schmidt, A., Schmid, M.W., and Grossniklaus, U. 2015.** Plant germline formation: common concepts and developmental flexibility in sexual and asexual reproduction. *Development* 142: 229-241.
- Silkova, O.G., Shchapova, A.I., and Shumny, V.K. 2011.** Patterns of meiosis in ABDR amphihaploids depend on the specific type of univalent chromosome division. *Euphytica* 178: 415-426.

- Tayalé, A., and Parisod, C. 2013.** Natural pathways to polyploidy in plants and consequences for genome reorganization. *Cytogenetic and Genome Research* 140: 79-96.
- Tiwari, V.K., Rawat, N., Neelam, K., Randhawa, G.S., Singh, K., Chhuneja, P., and Dhaliwal, H.S. 2008.** Development of *Triticum turgidum* subsp. *durum* – *Aegilops longissima* amphiploids with high iron and zinc content through unreduced gamete formation in F1 hybrids. *Genome* 51: 757-766.
- Wang, C.-J., Zhang, L.-Q., Dai, S.-F., Zheng, Y.-L., Zhang, H.-G., and Liu, D.-C. 2010.** Formation of unreduced gametes is impeded by homologous chromosome pairing in tetraploid *Triticum turgidum* × *Aegilops tauschii* hybrids. *Euphytica* 175: 323-329.
- Xu, S., and Joppa, L. 2000.** First-division restitution in hybrids of Langdon durum disomic substitution lines with rye and *Aegilops squarrosa*. *Plant Breeding* 119: 233-241.
- Xu, S.J., and Dong, Y.S. 1992.** Fertility and meiotic mechanisms of hybrids between chromosome autoduplication tetraploid wheats and *Aegilops* species. *Genome*, 35: 379-384.
- Zeng, D.-Y., Hao, M., Luo, J.-T., Zhang, L.-Q., Yuan, Z.-W., Ning, S.-Z., Zheng, Y.-L., and Liu, D.-C. 2014.** Amphitelic orientation of centromeres at metaphase I is an important feature for univalent-dependent meiotic nonreduction. *Journal of Genetics* 93: 531-534.
- Zhang, L.-Q., Liu, D.-C., Zheng, Y.-L., Yan, Z.-H., Dai, S.-F., Li, Y.-F., Jiang, Q., Ye, Y.-Q., and Yen, Y. 2010.** Frequent occurrence of unreduced gametes in *Triticum turgidum*–*Aegilops tauschii* hybrids. *Euphytica* 172: 285-294.
- Zhang, L.-Q., Yen, Y., Zheng, Y.-L., and Liu, D.-C. 2007.** Meiotic restriction in emmer wheat is controlled by one or more nuclear genes that continue to function in derived lines. *Sexual Plant Reproduction* 20: 159-166.