

قابلیت ترکیب و وراثت پذیری تشکیل کالوس و باززایی شاخساره از کشت بساک در گوجه فرنگی (*Lycopersicon esculentum* Mill.)

علیرضا مطلبی آذر^۱، محمود خسروشاهی^۲، مصطفی ولی زاده^۳، سیروس مسیحا^۴،
احمد معینی^۵ و زهرا شریانیلو^۶
۱، ۲، ۳، ۴، ۶، استادیار، دانشیار، استادان و کارشناس دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز
۵، استادیار، دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس
تاریخ پذیرش مقاله ۸۳/۹/۴

خلاصه

پاسخ به کشت بساک چهار لاین گوجه فرنگی و نتایج حاصل از تلاقی نیمه دیالال بین آنها در سه محیط کشت مورد توصیه برای گوجه فرنگی (M_1 ، M_2 و M_3) مورد تجزیه و تحلیل ژنتیکی قرار گرفت. درصد تشکیل کالوس، میزان باززایی شاخساره و نیز قطر کالوس (بعنوان معیار رشد آن) مورد ارزیابی قرار گرفت. تجزیه واریانس نشان داد که اختلافات معنی داری بین ژنوتیپها، محیطهای کشت و اثر متقابل بین آنها وجود دارد. از اینرو قابلیت ترکیب عمومی (GCA) و خصوصی (SCA) برای صفات اندازه گیری شده، محاسبه و آزمون گردید. میانگین مربعات GCA برای تمام صفات در محیط M_1 معنی دار بود ولی در محیط M_2 ، میانگین مربعات GCA در صفت باززایی شاخساره و در محیط M_3 فقط در مورد قطر کالوس و درصد باززایی شاخساره معنی دار شد. در این موارد، واریانس GCA از واریانس SCA بزرگتر بود و وراثت پذیری خصوصی از متوسط (۶۵٪) تا زیاد (۹۳٪) تغییر کرد. بنابراین شاید بتوان گفت که درصد تشکیل کالوس و باززایی شاخساره بوسیله اثر ژنتیکی - افزایشی کنترل می شود. واریانس SCA فقط در مورد قطر کالوس در محیطهای کشت M_2 و M_3 معنی دار بود و فقط در محیط کشت M_2 واریانس SCA، از واریانس GCA بزرگتر بوده و وراثت پذیری خصوصی بسیار پایین برآورد گردید. بنابراین بنظر می رسد که رشد کالوس ممکن است در محیط کشت M_2 توسط اثر ژنتیکی - غیر افزایشی کنترل گردد. در بین لاینهای مورد مطالعه، Micro-Tina و MSK8 دارای قابلیت ترکیب عمومی مثبت و معنی دار برای تشکیل کالوس و باززایی شاخساره بودند لذا این لاینها را می توان برای بهبود پاسخ به کشت بساک در گوجه فرنگی پیشنهاد کرد.

واژه های کلیدی: تلاقی دیالال، قابلیت ترکیب خصوصی، قابلیت ترکیب عمومی، کشت بساک،

گوجه فرنگی، وراثت پذیری

مقدمه

برنامه های اصلاح گوجه فرنگی (*Lycopersicon esculentum* Mill.) اکثراً بر تولید و گزینش گیاهان هموزیگوت استوار است. برای بدست آوردن گیاهان کاملاً هموزیگوت لازم است که عمل خودباروری مواد گیاهی هتروزیگوت طی چند نسل انجام شده و

نسلهای در حال تفکیک از طریق روشهای اصلاحی مانند بالک تک بذری اداره شوند (۱). به همین دلیل به نژادگران به روشهایی علاقمند هستند که بتواند گیاهان کاملاً هموزیگوت را در حداقل زمان تولید کرد (۳). در گوجه فرنگی می توان از طریق نرزاری^۱ از

1. Androgenesis

مکاتبه کننده: علیرضا مطلبی آذر

e-mail: motallebi2002@yahoo.com

گیاهچه سبز تحت کنترل ژنتیکی بوده و این صفات بصورت چندژنی^۳ کنترل می‌شوند. با این حال توارث هر صفت مستقل از دیگری بود (۲، ۳، ۸، ۲۳).

الفای نرزایی در *Festuca*، *Lolium* و هیبرید حاصل از آنها (*Festulolium*) مطالعه گردید و مشخص شد که قابلیت پاسخ بساک، الفای جنین از گرده، توسعه جنین به گیاه کامل توسط ۲ تا ۳ ژن بزرگ اثر یا خوشه ای از آنها کنترل می‌شود و می‌توان ژنوتیپ‌های با ارزشی را با گیاهان مادری دارای پاسخ بالا، تلاقی داد تا ژنهای مفید انتقال یابند (۱۲). همچنین دو دوره پاسخ نرزایی در ذرت مورد بررسی قرار گرفت و مشخص شد که پاسخ نرزایی کنترل ژنتیکی داشته و پیشرفت ژنتیکی موثری برای تمام مراحل فرآیند نرزایی وجود دارد (۱۵).

در گوجه‌فرنگی اهمیت ژنوتیپ در پاسخ نرزایی از بساک مورد مطالعه قرار گرفته است. ولی تحقیقی در مورد نحوه وراثت‌پذیری پاسخ نرزایی و قابلیت ترکیب مواد اصلاحی انجام نشده است. لذا هدف از انجام این پژوهش شناخت اساس ژنتیکی پاسخ نرزایی از بساک در گوجه‌فرنگی از طریق روش دیپال بود و با توجه به اینکه معمولاً بین ژنوتیپ و محیط اثر متقابل وجود دارد، لذا طرح آمیزش دیپال در سه محیط کشت مختلف اجرا شد تا برآوردی از اجزای واریانس ژنتیکی در سه محیط مختلف بدست آید.

مواد و روش‌ها

لاین‌های گوجه‌فرنگی (*Micro-Gemma* و *Micro-Tina*)، تهیه شده از اسکوت و هابوگ، دانشگاه فلوریدا^۴ و *MoneyMaker* و *MSK8*، تهیه شده از مرکز منابع ژنتیکی گوجه فرنگی، دانشگاه کالیفورنیا^۵ در اسفند سال ۸۰ در گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز کشت شد. نشاها در اوایل اردیبهشت سال ۸۱ در فواصل یک متر بین ردیف و ۷۰ سانتی‌متر روی ردیف (از هر لاین ۱۵ بوته) در مزرعه کشت

کشت بساک، طی مدت زمان کوتاهی لاین‌های هموزیگوت بدست آورد (۶، ۲۲). موفقیت در این روش به چندین عامل بستگی دارد که عمدتاً عبارتند از: ژنوتیپ گیاه مادری (۱۱، ۱۹، ۲۵، ۲۶)، شرایط رشدی گیاه مادری (۲۲، ۲۶)، پیش تیمار (۶، ۲۲، ۲۵) و ترکیب محیط کشت (۱۴، ۱۸، ۲۵).

اثر ژنوتیپ گیاه مادری و ترکیب محیط کشت در پاسخ نرزایی با استفاده از کشت بساک توسط تعداد زیادی از محققین در گوجه فرنگی گزارش شده است. این گزارشات نشان می‌دهد که تعداد زیادی از ژنوتیپ‌های گوجه‌فرنگی به کشت بساک پاسخ نمی‌دهند. در عوض ژنوتیپ‌های خاصی مانند رقم *Roma* (رقم نر عقیم) قادر به تولید تعداد زیادی گیاه هاپلوئید/دابل هاپلوئید می‌باشند (۱۰، ۲۴، ۲۵، ۲۶). به همین دلیل اطلاع از وراثت‌پذیری پاسخ نرزایی و بررسی قابلیت ترکیب^۱ مواد اصلاحی می‌تواند در بهبود کارایی کشت بساک بسیار مفید باشد (۱۵).

تلاقی دیپال^۲ یکی از عمده‌ترین طرح‌های آمیزشی برای برآورد قابلیت ترکیب، واریانس افزایشی و غالبیت، درجه غالبیت، اثر معکوس و نیز وراثت‌پذیری صفات می‌باشد (۱۱). این روش برای بررسی ژنتیک پاسخ‌های نرزایی در ذرت (۱۹)، تری‌تیکاله (۴)، گندم (۱۳)، جو (۲۰)، برنج (۱۶) و کلم تکمه‌ای (۱۷) مورد استفاده قرار گرفته است. برآورد وراثت‌پذیری عمومی پاسخ نرزایی از طریق روش دیپال در گندم ۷۰-۶۰ درصد (۱۳)، تری‌تیکاله ۶۶ درصد (۴) و جو ۴۸ درصد (۲۰) گزارش گردید. همچنین برآورد وراثت‌پذیری خصوصی پاسخ نرزایی در کلم تکمه‌ای ۴۸ درصد (۱۷) و جو ۲۴ درصد (۲۰) بود. در برنج وراثت‌پذیری خصوصی پاسخ نرزایی بسیار بالا (۹۲ درصد) برآورد شد (۱۶). در ذرت نیز مقدار وراثت‌پذیری بالا برآورد شد و دو دوره گزینش توانست پاسخ نرزایی را بهبود بخشد (۱۵). از طرف دیگر در تری‌تیکاله مشخص گردیده است که برای صفات نرزایی، واریانس قابلیت ترکیب عمومی (*GCA*) بزرگتر از واریانس قابلیت ترکیب خصوصی (*SCA*) است (۴). در مطالعات دیگر نیز مشخص شده است که کالوس زایی، باززایی و تولید

3. Polygenic

4. Scott and Habaugh, University of Florida

5. Tomato Genetic Resource Center, University of California, Davis

1. Combining ability

2. Diallel

محیط کشت سوم (M^۳) شامل : MS+0.02 mg 2,4-D +2 mg kin و سپس انتقال به MS +0.3 mg Zeatin (۹).

در این تحقیق ۱۰ ژنوتیپ گوجه فرنگی (شامل ۴ والد و ۶ هیبرید) و ۳ محیط کشت به عنوان دو فاکتور به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار مورد بررسی قرار گرفتند. هر واحد آزمایشی شامل ۳ ظرف پتری و هر پتری شامل ۵ بساک بود. بعد از هشت هفته، درصد تشکیل کالوس (توده سلولی بزرگتر از ۲ میلی‌متر) و قطر کالوس و بعد از دوازده هفته، فراوانی باززایی شاخساره اندازه‌گیری شد. تجزیه واریانس با استفاده از متوسط هر واحد آزمایشی و با نرم‌افزار SAS انجام شد و میانگینها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد مقایسه شدند و برای تجزیه‌های قابلیت ترکیب از روش چهارم، مدل مخلوط B گریفینگ (۱۱) از نرم‌افزار Diallel-1 استفاده شد.

نتایج

القای نرزیایی پس از اعمال پیش تیمار در بساکهای کشت شده اتفاق افتاد و کالوسهای بزرگتر از ۲ میلی‌متر پس از ۴-۳ هفته مشاهده شد (شکل ۱-A). این کالوس ها طی هشت هفته به رشد خود ادامه دادند (شکل ۱-B). در برخی از کالوسها، شاخه‌زایی در طی هشت الی دوازده هفته اتفاق افتاد (شکل ۱-C). شاخساره‌های بزرگتر از ۲ سانتی‌متر به محیط ریشه‌زایی (شکل ۱-D) و پس از توسعه ریشه در شرایط مه‌فشان (شکل ۱-E) به خاک انتقال یافتند. در نهایت گیاهان حاصل به گلخانه انتقال داده شدند.

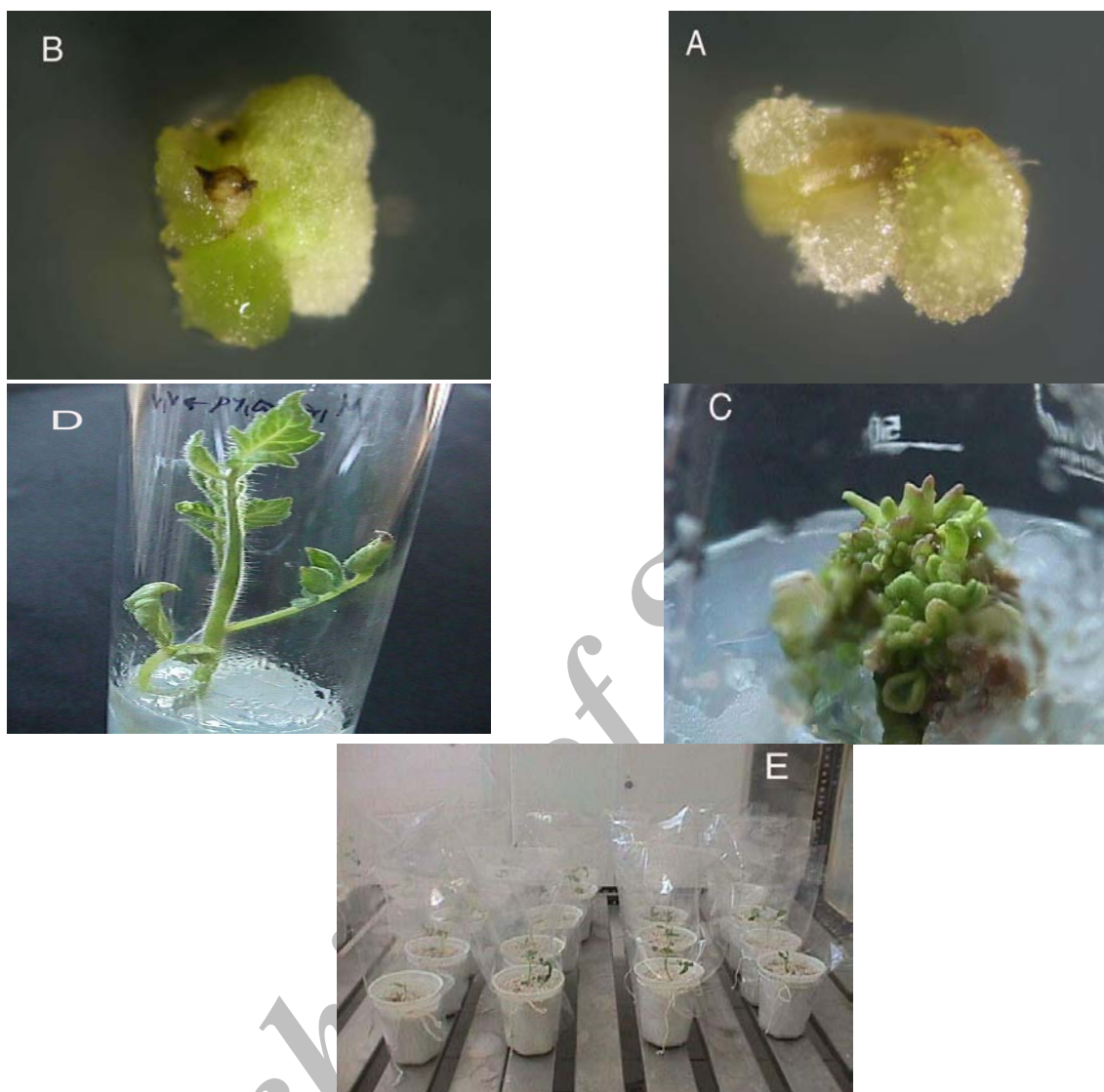
تجزیه واریانس صفات اندازه‌گیری شده نشان داد که ژنوتیپ و محیط کشت تاثیر معنی‌داری روی درصد تشکیل کالوس، قطر کالوس و درصد باززایی شاخساره داشته و در ضمن اثر متقابل ژنوتیپ × محیط کشت برای این صفات معنی‌دار بود (جدول ۱). مقایسه میانگین والدین و هیبریدها برای صفات اندازه‌گیری شده در سه محیط کشت در اشکال ۲ الی ۴ نشان داده شده است. والدین در هر سه محیط کشت از درصد تشکیل کالوس و قطر کالوس تقریباً برابری برخوردار بودند. با این حال

شدند. تلاقی بین این لاین‌ها بصورت نیمه دیالل انجام شد و بذور ۴ لاین و ۶ هیبرید حاصل از آنها جمع‌آوری شد.

بذور والدین و هیبریدها در سه نوبت (۲۰ بهمن، ۳۰ بهمن و ۱۰ اسفند ماه سال ۸۱) در گلخانه کشت گردید. گیاهان مادری در شرایط دمایی $4^{\circ}\text{C} \pm 25$ در طی روز و $4^{\circ}\text{C} \pm 18$ در طی شب تحت شرایط روز بلند (طبیعی) رشد داده شدند. تقریباً ساعت ۸ صبح، گل‌های ۴-۵ میلی متری طی ۲۵ روز از زمان آغاز گلدهی جمع‌آوری شدند (۱۸). این گلها حاوی بساکهای ۱/۷-۲/۵ میلی‌متری بوده و میکروسپورها در مرحله پروفاز اول تا متافاز دوم (تقریباً نزدیک به مرحله تک هسته‌ای) واقع بودند (۲۱، ۲۲). گلها به مدت ۵ دقیقه در اتانل ۷۰ درصد و ۱۵ دقیقه در محلول ۲/۵ درصد سفیدکننده تجاری (با ۰.۵ کلر فعال) ضدعفونی سطحی شدند. بساکهای مناسب، تحت شرایط استریل از گلها جداسازی شده و به ظروف پتری ۱۵×۶۰ میلی‌متری حاوی ۱۰ میلی‌لیتر از محیط کشت، منتقل گردیدند. کشتهای بمدت ۴۸ ساعت در دمای 4°C و شرایط تاریکی، پیش تیمار شدند. کشتهای پیش تیمار شده به مدت ۴ هفته در تاریکی قرار داده شدند. سپس به شرایط روشنایی (با فتو پرود ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی) با شدت نور $80 \mu\text{mol s}^{-1} \text{m}^{-2}$ منتقل گردیدند. هشت هفته پس از کشت، درصد تشکیل کالوس، قطر کالوس و پس از دوازده هفته بعد از کشت درصد باززایی شاخساره اندازه‌گیری شد. شاخساره‌های با بیش از ۲ سانتی‌متر به محیط ریشه‌زایی (MS + ۲mg/IIBA + ۰/۵mg/IGA₃) به مدت دو هفته انتقال داده شدند. شاخساره‌های توسعه یافته به پرلیت و سپس به خاک منتقل شدند و برای سازگاری با محیط در شرایط مه‌فشان (با رطوبت تقریبی ۸۰ درصد) قرار گرفتند و عمل سازگاری با محیط در مورد آنها اجرا شد. برای بررسی اثر محیط روی توارث‌پذیری پاسخ نرزیایی از سه محیط کشت به شرح زیر استفاده گردید:

محیط کشت اول (M^۱) شامل : MS +2 mg/l IAA+1 mg/l 2ip (۱۸).

محیط کشت دوم (M^۲) شامل : Doy's Basal Medium +5 mg/l kin+2 mg/l NAA و سپس انتقال به محیط MS+1 mg/l Zeatin + 0.025 mg/l IAA (۲۲).



شکل ۱- مراحل مختلف نرزیایی از کشت بساک گوجه فرنگی. A و B - تشکیل و رشد کالوس. C - شاخه زایی از کالوس. D - رشد شاخساره در محیط ریشه زایی. E - انتقال به سیستم میست.

MoneyMaker به طور معنی داری نسبت به سه والد دیگر از قابلیت نرزیایی پایینی برخوردار بود. هیبریدها واکنش‌های متفاوتی به محیط کشت نشان دادند به طوریکه هیبریدهای Micro-Tina x MSK8 ، Micro-Tina x MoneyMaker و MSK8 x MoneyMaker در محیط کشت M1 از درصد تشکیل کالوس و قطر کالوس بیشتری نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها در این محیط کشت و دو محیط کشت دیگر برخوردار بودند ($P < 0.05$) (شکل‌های ۲ و ۳). درصد باززایی شاخساره در والدین متفاوت بوده و لاین‌های Micro-Gemma و MSK8 (به

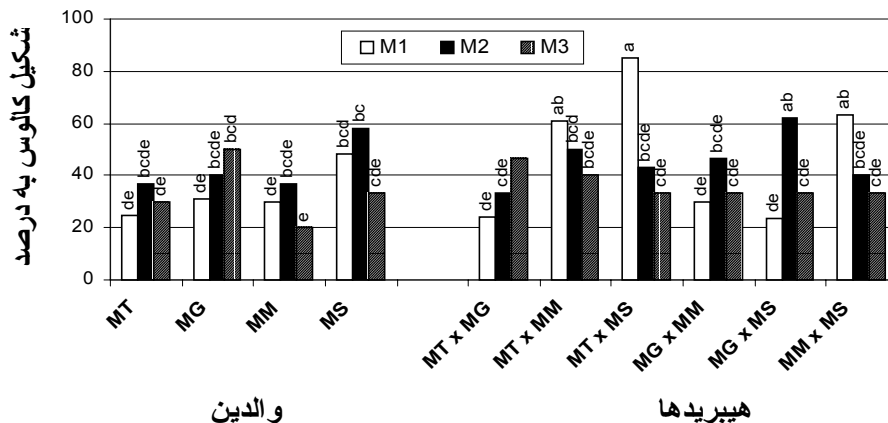
جدول ۱- تجزیه واریانس صفات اندازه‌گیری شده در کشت بساک گوجه فرنگی.

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات		مناخ
		درصد تشکیل کالوس	قطر کالوس	
محیط کشت	۲	۷۱.۰*	۱۹/۲۳**	۵۷.۰*
ژنوتیپ	۹	۶۳.۰**	۱۰/۲۵**	۱۱۶.۰**
ژنوتیپ × محیط کشت	۱۸	۶۲.۰**	۶/۱۱۶**	۲۱.۰*
اشتباه آزمایشی	۶۰	۱۹.۰	۰/۶۹۵	۱.۰
ضریب تغییرات (%)	—	۳۴/۰۷	۱۲/۸۰	۳۸/۵۱

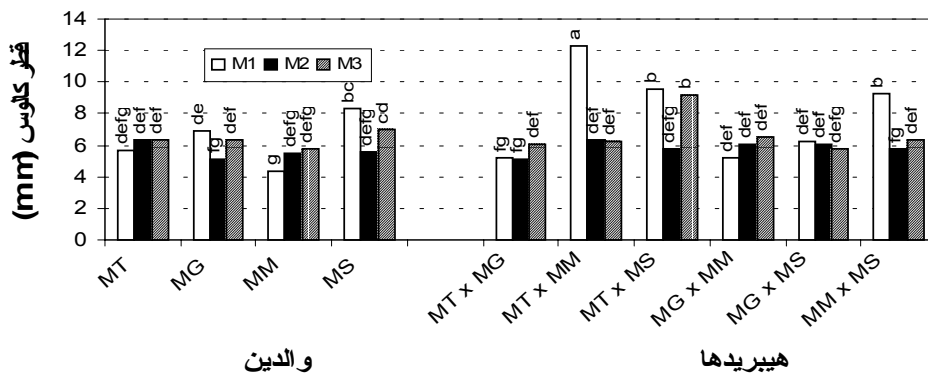
* معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد ** معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد.

هیبریدهای Micro-Tina و Micro-Tina x Moneymaker و MSK8 x از درصد باززایی بیشتر برخوردار بودند (شکل ۴). در حالت کلی برای صفات مورد مطالعه، میانگین هیبریدها بیشتر از میانگین والدین بود (شکلهای ۲ الی ۴).

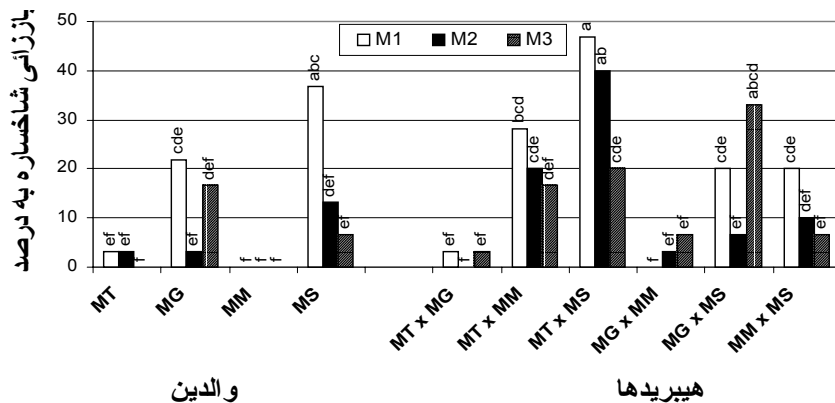
ترتیب با ۲۱/۷ و ۳۶/۷ درصد) دارای بالاترین درصد باززایی شاخساره بودند. در حالی که دو والد دیگر پتانسیل باززایی بسیار ضعیفی داشتند. هیبریدهای حاصل از این دو گروه والدین واکنشهای متفاوتی به سه محیط کشت نشان دادند و



شکل ۲- میانگین درصد تشکیل کالوس در والدین و هیبریدهای گوجه فرنگی در سه محیط کشت. MT= Micro-Tina, MG= Micro-Gemma, MM= Moneymaker, MS=MSK8.



شکل ۳- میانگین قطر کالوس در والدین و هیبریدهای آنها در سه محیط کشت. MT= Micro-Tina, MG= Micro-Gemma, MM= Moneymaker, MS=MSK8.



شکل ۴- میانگین درصد باززایی شاخساره در والدین و هیبریدهای گوجه فرنگی در سه محیط کشت. MT= Micro-Tina, MG= Micro-Gemma, MM= Moneymaker, MS=MSK8.

جدول ۲. تجزیه واریانس قابلیت ترکیب عمومی و خصوصی برای تشکیل کالوس، قطر کالوس و باززایی شاخساره در سه محیط کشت مورد بررسی.

منابع تغییرات	درجه آزادی	محیط کشت M _۱			محیط کشت M _۲			محیط کشت M _۳		
		تشکیل کالوس (%)	قطر کالوس (mm)	باززایی شاخساره (%)	تشکیل کالوس (%)	قطر کالوس (mm)	باززایی شاخساره (%)	تشکیل کالوس (%)	قطر کالوس (mm)	باززایی شاخساره (%)
ژنوتیپ	۵	۱۹۷۰**	۲۹/۹**	۸۷۰**	۲۹۰ ^{ns}	۰/۷**	۶۵۰**	۹۰ ^{ns}	۵/۳۹**	۴۹۵/۱۲*
GCA	۳	۳۰۱۰**	۴۸/۴**	۱۲۶۰**	۱۰۰ ^{ns}	۰/۱۶ ^{ns}	۸۱۰**	۱۱۰ ^{ns}	۷/۷۳۱**	۶۷۸/۲**
SCA	۲	۴۱۰**	۲/۱۹ ^{ns}	۲۹۰**	۵۷۰ ^{ns}	۱/۶۱**	۴۲۰**	۷۰ ^{ns}	۷/۸۸**	۲۲۰/۵*
اشتباه آزمایش	۱۲	۹۳/۳	۳/۲۴	۱۱۲	۱۵۲/۵	۰/۱۹۰	۱۶۰/۸۳	۳۷۷/۵	۰/۸۷۱	۱۲۷/۵

* معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد، ** معنی دار در سطح احتمال یک درصد و ns غیر معنی دار.

هر سه محیط کشت بیشتر از اثر غیر افزایشی ژنها (غالبیت) است. محاسبه درجه غالبیت نیز همین نتیجه را ارایه داد، به طوری که در این صفات درجه غالبیت از صفر تا ۰/۹۷ (عدم غالبیت تا غالبیت ناقص) متغیر بود. در حالی که در مورد صفت قطر کالوس در محیط کشت M_۲ واریانس GCA بسیار کوچکتر از واریانس SCA بوده و درجه غالبیت انحراف زیادی از یک نشان می دهد. بنابراین به نظر می رسد که برآورد بالایی از درجه غالبیت حاصل شده است (جدول ۳).

برآوردهای وراثت پذیری عمومی پاسخ نرزاری از ۹۶/۲۴ تا ۹۹/۰۸ درصد و برآوردهای وراثت پذیری خصوصی از صفر تا ۹۳/۸ درصد متغیر بود (جدول ۳). وراثت پذیری عمومی و خصوصی صفات نرزاری در محیط کشت M_۱ بالاتر از دو محیط دیگر برآورد گردید. در مورد درصد تشکیل کالوس، وراثت پذیری خصوصی در محیط M_۱ ۸۷/۹۰ درصد بود. در محیط کشت M_۱ و M_۳، وراثت پذیری خصوصی قطر کالوس به ترتیب ۹۶/۶۸ و ۷۹/۸۲ درصد برآورد گردید. با این حال، برآورد وراثت پذیری خصوصی درصد باززایی شاخساره در محیط کشت M_۲ متوسط (۶۵/۰۷) و در محیط های کشت دیگر تقریباً بالا بود (۸۰/۸۲ و ۷۴/۴۲ درصد برای محیط کشت M_۲ و M_۳) (جدول ۳).

برآورد قابلیت ترکیب عمومی والدین در سه محیط کشت نشان داد که ارقام Micro-Tina و MSK8 با مقادیر مثبت، معنی دار ($P < 0/05$) و مطلوب GCA برای درصد تشکیل کالوس و درصد باززایی شاخساره بهترین ترکیب شونده های عمومی بودند. در حالی که رقم Micro-Gemma به طور

تجزیه واریانس قابلیت ترکیب عمومی و خصوصی برای صفات اندازه گیری شده به طور جداگانه برای هر محیط کشت با استفاده از روش چهار، مدل مخلوط B گریفینگ محاسبه گردید (جدول ۲) و نشان داد که در محیط کشت M_۱، میانگین مربعات قابلیت ترکیب عمومی برای هر سه صفت معنی دار است. لکن میانگین مربعات قابلیت ترکیب خصوصی در این محیط فقط برای درصد تشکیل کالوس و درصد باززایی شاخساره معنی دار بود. در محیط کشت M_۲، میانگین مربعات قابلیت ترکیب عمومی برای درصد تشکیل کالوس و قطر کالوس غیر معنی دار و برای درصد باززایی شاخساره معنی دار بود. همچنین در این محیط، میانگین مربعات قابلیت ترکیب خصوصی برای قطر کالوس و درصد باززایی شاخساره معنی دار بدست آمد. در محیط کشت M_۳ میانگین مربعات قابلیت ترکیب عمومی و خصوصی در مورد قطر کالوس و درصد باززایی شاخساره معنی دار و در مورد درصد تشکیل کالوس غیر معنی دار بود (جدول ۲).

برآوردهای اجزای واریانس ژنتیکی، درجه غالبیت و وراثت پذیری صفات اندازه گیری شده در جدول ۳ خلاصه شده است. در این جدول به علت غیر معنی دار بودن اثر ژنوتیپ در مورد درصد تشکیل کالوس در محیط M_۲، M_۳، اجزای واریانس ژنتیکی برآورد نشد. همان طور که در این جدول ملاحظه می شود به غیر از صفت قطر کالوس در محیط کشت M_۲ در سایر محیط ها، واریانس GCA بزرگتر از واریانس SCA بود. بنابراین اثر افزایشی ژنها در توارث صفات پاسخ نرزاری در

M2 (P<0/05) و در تلاقی Micro-Tina x Micro-Gemma و در تلاقی MSK8 x MoneyMaker در محیط M3 (P<0/05) مشاهده شد. در مورد صفت قطر کالوس بالاترین قابلیت ترکیب خصوصی معنی‌دار (P<0/05) در محیط‌های کشت M1 و M2 و متعلق به تلاقی‌های Micro-Tina x MoneyMaker و Micro-Gemma x MSK8 و در محیط کشت M3 متعلق به تلاقی‌های Micro-Tina x MSK8 و MoneyMaker× و Micro-Gemma (P<0/05) بود (جدول ۵).

در مورد صفت درصد باززایی شاخساره، به غیر از تلاقی‌های MoneyMaker x MSK8 و Micro-Tina x Micro-Gemma سایر تلاقی‌ها از قابلیت ترکیب خصوصی مثبتی و معنی‌داری (P<0/05) در محیط کشت M1 و M2 برخوردار بودند در حالی که در محیط کشت M3 بالاترین ترکیب خصوصی معنی‌دار (P<0/05) متعلق به تلاقی‌های Micro-Tina x MoneyMaker و Micro-Gemma x MSK8 بودند (جدول ۵).

معنی‌داری (P<0/05) ضعیف‌ترین ترکیب شونده، محسوب گردید (جدول ۴).

در محیط کشت M1 ارقام Micro-Tina و MoneyMaker با مقادیر مثبت و معنی‌دار (P<0/05) قابلیت ترکیب عمومی برای قطر کالوس و نیز Micro-Tina در محیط M3 به طور معنی‌داری (P<0/05) مطلوب‌ترین ترکیب شونده عمومی محسوب شدند. با این حال قابلیت ترکیب عمومی این صفت در محیط M3 تغییرات ناچیزی را بین والدین نشان داد (P>0/05) (جدول ۴).

برآوردهای قابلیت ترکیب خصوصی تلاقی‌های مورد بررسی در جدول ۵ آورده شده است. بالاترین قابلیت ترکیب خصوصی معنی‌دار (P<0/01) برای صفت تشکیل کالوس در تلاقی Micro-Tina x MoneyMaker و Micro-Tina x MSK8 Gemma در محیط کشت M1، در تلاقی Micro-Gemma x MoneyMaker و Micro-Tina x MSK8 در محیط کشت

جدول ۳- اجزای واریانس ژنتیکی، درجه غالبیت و وراثت‌پذیری صفات مورد اندازه‌گیری در سه محیط کشت

	محیط کشت M1			محیط کشت M2			محیط کشت M3			
	تشکیل کالوس (%)	قطر کالوس (mm)	باززایی شاخساره (%)	تشکیل کالوس (%)	قطر کالوس (mm)	باززایی شاخساره (%)	تشکیل کالوس (%)	قطر کالوس (mm)	باززایی شاخساره (%)	
V _{GCA}	۱۴۸۹/۴۴	۲۳/۶۵۸	۶۱۱/۳۱	- ^x	- ^y	۳۷۸/۱۸	- ^x	۳۱۷/۸۵	۳/۷۲	۳۱۷/۸۵
V _{SCA}	۳۷۸/۹	۲/۱۱	۲۵۲/۶۷	-	۱/۵۴۷	۳۶۲/۴	-	۱۷۸/۰	۱/۵۹	۱۷۸/۰
V _A ¹	۲۹۷۸/۸	۴۷/۳۱	۱۲۲۲/۵۲	-	-	۷۵۶/۳۶	-	۶۳۵/۷۱	۷/۴۴	۶۳۵/۷۱
V _D ²	۳۷۸/۹	۲/۱۱	۲۵۲/۶۷	-	-	۳۶۲/۴	-	۱۷۸/۰	۱/۵۹	۱۷۸/۰
\overline{D} ³	۰/۵۰۴	۰/۲۹۸	۰/۶۴۲	-	-	۰/۹۷	-	۰/۷۴	۰/۶۵۳	۰/۷۴
h_B^2 (%) ⁴	۹۹/۰۸	۹۷/۸۶	۹۷/۵۳	-	-	۹۶/۲۴	-	۹۵/۵۳	۹۶/۸۸	۹۵/۵۳
h_N^2 (%) ⁵	۸۷/۹۰	۹۳/۶۸	۸۰/۸۲	-	-	۶۵/۰۷	-	۷۴/۴۲	۷۹/۸۲	۷۴/۴۲

x: غیر معنی‌دار، y: مقدار V_{GCA} ناچیز می‌باشد.

۱: واریانس افزایشی، ۲: واریانس غالبیت، ۳: درجه غالبیت، ۴: وراثت‌پذیری عمومی و ۵: وراثت‌پذیری خصوصی.

جدول ۴- اثر قابلیت ترکیب عمومی والدین برای صفات اندازه‌گیری شده در سه محیط کشت

والدین	تشکیل کالوس (%)			قطر کالوس (mm)			باززایی شاخساره (%)		
	M1	M2	M3	M1	M2	M3	M1	M2	M3
Micro-Tina	۱۳/۵۸**	-۵/۵۸ns	۵/۰ns	۲/۰۹**	۰/۱۰۱ns	۰/۹۵*	۹/۵۸*	۱۰/۰**	-۱/۶ns
Micro-Gemma	-۳۳**	۲/۲۵ns	۱/۶۶ns	-۴/۰۵**	-۰/۲ns	-۰/۵ns	-۱۷/۹**	۱۵/۰**	۰/۰ns
MoneyMaker	۵/۵۸ns	-۰/۵۸ns	-۱/۶۶ns	۱/۸۴*	-۰/۰ns	-۰/۷*	۵/۴۱ns	-۳/۳ns	-۶/۶ns
MSK8	۱۳/۹۱**	۳/۹۱ns	۳/۹۱ns	۰/۱۰۹*	۰/۱۴ns	۰/۳۲ns	۱۳/۷۵**	۸/۳۳*	۸/۳*

ns: عدم اختلاف معنی‌دار با صفر، *: اختلاف معنی‌دار با صفر در سطح احتمال ۵ درصد، اختلاف معنی‌دار با صفر در سطح احتمال ۱ درصد.

جدول ۵- اثر قابلیت ترکیب خصوصی والدین برای صفات اندازه گیری شده در سه محیط کشت

باززایی شاخساره (%)			قطر کالوس (mm)			تشکیل کالوس (%)			هیبریدها
M۳	M۲	M۱	M۳	M۲	M۱	M۳	M۲	M۱	
-۹/۴۴**	-۸/۱۱*	-۸/۰۵*	-۰/۸۵*	-۰/۵۹*	-۰/۳۹۱ns	۳/۳۳ns	-۹/۲۷*	-۴/۱ns	P ₁ × P ₂
۱۰/۵۵**	۰/۰ns	۴/۴۴ns	-۰/۴۴ns	۰/۳۳۳*	۰/۶۹۷ns	۰/۰ns	۱۰/۲۲**	-۵/۴۴	P ₁ × P ₃
۱/۱۱ns	۸/۳*	۳/۷۱ns	۱/۴۰۲*	۰/۲۸۵ns	-۰/۴۰۵ns	-۳/۳۳ns	-۰/۹۴ns	۹/۵**	P ₁ × P ₄
۱/۱۱ns	۸/۳*	۳/۷۱ns	۱/۴۰۲*	۰/۲۸۵ns	-۰/۴۰۵ns	-۳/۳۳ns	-۰/۹۴ns	۹/۵۶**	P ₂ × P ₃
۱۰/۵۵**	۰/۰ns	۴/۴۴ns	-۰/۴۴ns	۰/۳۳۳*	۰/۶۹۷ns	۰/۰ns	۱۰/۲۲**	-۵/۴۷ns	P ₂ × P ₄
-۹/۴۴**	-۸/۱۱*	-۸/۰۵*	-۰/۸۵*	-۰/۵۹*	-۰/۳۹۱ns	۳/۳۳ns	-۹/۲۷*	-۴/۱ns	P ₃ × P ₄

ns: عدم اختلاف معنی دار با صفر، *: اختلاف معنی دار با صفر در سطح احتمال ۵ درصد، اختلاف معنی دار با صفر در سطح احتمال ۱ درصد.

بحث

در این بررسی، ۴ لاین گوجه فرنگی به صورت نیمه دیال با همدیگر تلاقی داده شدند و پاسخ نرزیایی آنها در سه محیط کشت توصیه شده برای کشت بساک گوجه فرنگی، مورد بررسی قرار گرفت. والدین و هیبریدهای F₁ حاصل از آنها در درجات متفاوتی از درصد تشکیل کالوس، قطر کالوس و درصد باززایی را در سه محیط کشت مورد بررسی نشان دادند. همچنین صفات مرتبط با پاسخ نرزیایی از اثر متقابل ژنوتیپ و محیط کشت نیز متأثر شدند. به طوری که هیبریدهای Micro-Tina x Moneymaker، Micro-Tina x MSK8 و MSK8 x Moneymaker در محیط کشت M₁ از درصد تشکیل کالوس و قطر بیشتری نسبت به سایر ژنوتیپها در این محیط کشت و دو محیط کشت دیگر برخوردار بودند. درصد باززایی شاخساره در والدین متفاوت بوده و لاین های Micro-Gemma و MSK8 (به ترتیب با ۲۱/۷ و ۳۶/۷ درصد) دارای بالاترین و دو والد دیگر دارای حداقل درصد باززایی شاخساره بودند. هیبریدهای حاصل از این دو گروه والدین واکنشهای متفاوتی به سه محیط کشت نشان دادند و هیبریدهای Micro-Tina x Moneymaker و Micro-Tina x MSK8 از درصد باززایی بیشتر برخوردار بودند. در حالت کلی، برای صفات مورد مطالعه، میانگین هیبریدها بیشتر از میانگین والدین بود. واکنش متفاوت ژنوتیپهای گوجه فرنگی به شرایط کشت (ترکیبات محیط کشت، غلظت قند، پیش تیمار و...)، توسط تعدادی از محققین مورد بررسی قرار گرفته است (۱۱، ۱۹، ۲۵، ۲۶، ۲۷). بر اساس

نظر این محققین پاسخ نرزیایی، عمدتاً از ژنوتیپ گیاه مادری متأثر شده و موفقیت در تولید گیاهان هاپلوئید/ دابل هاپلوئید وابسته به بررسی تعداد زیادی ژنوتیپ است تا ژنوتیپهایی با واکنش خوب مورد گزینش قرار گیرند.

تنها گزارشی که در مورد نحوه توارث نرزیایی در گوجه فرنگی وجود دارد، مربوط به تلاقی رقم نر عقیم (دارای ژن جهش یافته ms10³⁵) با ارقام نر بارور (فاقد پاسخ نرزیایی) بود. در این تحقیق مشخص شد که هیبریدهای حاصل، از پاسخ نرزیایی بالایی برخوردار بودند و این ژن جهش یافته در حالت هموزیگوت مغلوب (msms)، دارای حداکثر و در حالت هتروزیگوت (Msms) دارای متوسط پاسخ نرزیایی بود و بنابراین ثابت شد که وجود ژن جهش یافته مغلوب می تواند در پاسخ نرزیایی نقش داشته باشد (۲۶).

نتایج تجزیه و تحلیل های ژنتیکی با استفاده از روش چهار، مدل مخلوط B گریفینگ نشان داد که در محیط کشت M₁ برای تمام صفات میانگین مربعات قابلیت ترکیب عمومی معنی دار بود. میانگین مربعات قابلیت ترکیب خصوصی در محیط کشت M₁ برای درصد تشکیل کالوس و درصد باززایی شاخساره معنی دار بود. از طرف دیگر واریانس GCA به مراتب بزرگتر از واریانس SCA برآورد گردید. در تری تیکاله (۴) نیز مشخص گردید که واریانس GCA بزرگتر از واریانس SCA برای صفات نرزیایی بود. بنابراین به نظر می رسد که در محیط کشت یک مرحله ای (محیط کشت پایه MS دارای ۱ میلی گرم در لیتر 2ip و ۲ میلی گرم در لیتر IAA، یعنی محیط کشت M₁،

که هیچ والد یا هیبریدی در هر سه محیط کشت از بالاترین قابلیت ترکیب عمومی یا خصوصی برخوردار نبود. این پدیده می‌تواند ناشی از وجود اثر متقابل ژنوتیپ با محیط کشت باشد. به علت اهمیت بیشتر صفت درصد باززایی شاخساره به نظر می‌رسد که رقم Micro-Tina با دارا بودن قابلیت ترکیب عمومی بالا در محیط کشتهای M₁ و M₂ و رقم MSK8 در هر سه محیط کشت، به عنوان بهترین ترکیب شونده‌ها باشند. از طرف دیگر، هیبرید این دو لاین و نیز هیبرید Micro-Gemma MoneyMaker x از قابلیت ترکیب خصوصی بالایی برای درصد تشکیل کالوس در محیط کشت M₁ و درصد باززایی شاخساره در محیط M₁ و M₂ برخوردار بودند. این امر می‌تواند ناشی از وجود غالبیت ناقص در کنترل این دو صفت باشد. از طرف دیگر قابلیت ترکیب خصوصی این دو هیبرید برای صفت قطر کالوس در محیط M₂ و M₃ بالاتر از سایر هیبریدها محاسبه گردید. علت این امر می‌تواند از نقش بالای اثر غیرافزایشی (غالبیت) و پایین بودن واریانس افزایشی نسبت به واریانس غالبیت ناشی شود. در کل می‌توان چنین نتیجه گرفت که درصد تشکیل کالوس، قطر کالوس و باززایی شاخساره عمدتاً توسط اثر ژنهای افزایشی و احتمالاً قطر کالوس در محیطهای کشت ویژه بوسیله اثر ژنهای غیرافزایشی کنترل می‌شود.

پاسخ نرزاری عمدتاً از ژنهای افزایشی متأثر بوده است. همچنین وراثت‌پذیری عمومی و خصوصی صفات مورد اندازه‌گیری نسبتاً بالا (بالاتر از ۸۰ درصد) برآورد گردید و می‌توان با عمل‌گزینش نسبت به افزایش پاسخ نرزاری در محیط کشت M₁ اقدام کرد. در محیطهای کشت M₂ و M₃ نیز همانند محیط کشت M₁، درصد باززایی شاخساره به طور معنی‌داری متأثر از اثر GCA و SCA بود. برآورد درجه غالبیت و وراثت‌پذیری خصوصی این صفت به ترتیب ۰/۹۷۸ و ۶۵/۷۱ درصد در محیط کشت M₂ و ۰/۷۵ و ۷۴/۴۲ درصد در محیط M₃ بود. این یافته‌ها با نتایج تحقیقات روی گندم (۵، ۱۳)، تری‌یتکاله (۴) و جو (۲۰) مطابقت دارد. با این حال، برآورد وراثت‌پذیری خصوصی تولید گیاه سبز در جو خیلی پایین (۱۵/۵ درصد) برآورد گردیده است (۷). در محیط کشت M₂ و M₃، میانگین مربعات قابلیت ترکیب خصوصی در مورد قطر کالوس معنی‌دار بود. با این حال فقط در محیط کشت M₂ واریانس SCA به مراتب بزرگتر از GCA محاسبه گردید. به نظر می‌رسد که برآورد درجه غالبیت بزرگتر از یک و وراثت‌پذیری خصوصی خیلی پایین این صفت ناشی از برآورد حد بالای واریانس غالبیت باشد (۱۱). در مورد صفات مورد بررسی، قابلیت ترکیب عمومی و خصوصی در سه محیط کشت تفاوتی را نشان داد. به طوری

REFERENCES

منابع مورد استفاده

۱. مسیحا، س.، م. مقدم و ع.ر. مطلبی آذر. ۱۳۸۰. اصلاح سبزی. جلد اول. انتشارات دانشگاه تبریز.
2. Agache, S., J. De Buyser, Y. Henry & J.W. Snape. 1988. Studies of the genetic relationship between anther culture and somatic tissue culture abilities in wheat. *Plant Breed.* 100: 26-33.
3. Bullock, W.P., P.S. Baenziger, G.W. Schaeffer & P.J. Bottino. 1982. Anther culture of wheat (*Triticum aestivum* L.) F1 and their reciprocal crosses. *Theor. Appl. Genet.* 62: 155-159.
4. Charmet, G. & S. Bernard. 1984. Diallel analysis of androgenic plant production in hexaploid Triticale. *Theor. Appl. Genet.* 69: 55-61.
5. Chaudhary, H.K., I. Dhaliwal, S. Singh & G.S. Sethi. 2003. Genetic of androgenesis in winter and spring wheat genotypes. *Euphytica.* 132: 311-319.
6. Chlyah, A, H. Taarji, & H. Chlyah. 1990. Tomato (*Lycopersicon esculentum* L.): Anther culture and induction of androgenesis. Y. P. S. Bajaj (ed): *Biotechnology in agriculture and forestry*, Vol. 12: Haploids in crop improvement I. pp. 442-457.
7. Dunwell, J.M. & W. Powell. 1987. Anther culture of *Hordeum vulgare* L.: A genetic study of microspore callus production and differentiation. *Theor. Appl. Genet.* 74: 60-64.
8. Ekiz, H. & C.F. Konzah. 1994. Preliminary diallel analysis of anther culture response in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Breed.* 113: 47-52.
9. Evans, D.A. & R.A. Morrison. 1986. Tomato anther culture. *United States patent*, 4, 835: 339-345.

10. Gresshoff, P. M. & C. H. Doy. 1972. Development and differentiation of haploid *Lycopersicon esculentum* (tomato). *Planta*. 107: 161 – 170.
11. Griffing, 9. Evans, D.A. & R.A. Morrison. 1986. Tomato anther culture. United States patent, 4, 835: 339-345. 9. Evans, D.A. & R.A. Morrison. 1986. Tomato anther culture. United States patent, 4, 835: 339-345.
12. B. 1956. Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing system. *Aust. J. Biol. Sci.* 9: 463-493.
13. Fojtik, A., L. Ohnoutkova, J. Janecek, R. Capka, K. Stixova, M. Loukotova & J. Vagera. 2000. Implementation of induced androgenesis in plant breeding of *Lolium*, *Festuca* and *Festulolium*. <http://www.pbhz.cz/news/anderogeneze/Anderogeneze.htm>.
14. Lazar, M. D., P. S. Baenziger & G. W. Schaeffer. 1984. Combining abilities and heritability of callus formation and plantlet regeneration in wheat (*Triticum aestivum* L.) anther cultures. *Theor. Appl. Genet.* 68: 131-134.
15. Lee, H. Y., J. O. Jeon, J. G. No & H. G. Park. 1999. Effect of several factors on callus induction in anther culture of cherry tomato. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* 40: 537 -540.
16. Marciniak, K., Z. Kaczmarek, T. Adamski & M. Surma. 2003. The anther culture response of Triticale line x tester progenies. *Cellular and Molecular Biology Letters.* 8: 343-351.
17. Miah, M. A. A., E. D. Earle & G. S. Hhufh. 1985. Inheritance of callus formation ability in anther cultures of rice, *Oryza sativa* L. *Theor. Appl. Genet.* 70: 113-116.
18. Ockenden, D.J. & R.A. Sutherland. 1987. Genetic and non-genetic factors affecting anther culture of Brussels sprouts. *Theor. Appl. Genet.* 74: 566-570.
19. Park, J. B., Y. B. Yi. & C. K. Lee. 2001. Effect of plant growth regulators, donor plant, bud length, low temperature treatment and glucose concentration on callus induction and plant regeneration in anther culture of cherry tomato "Mini – Carol". *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* 42: 32-37.
20. Petolino, J.F. & A. Thompson. 1987. Genetic analysis of anther culture response in maize. *Theor. Appl. Genet.* 74: 284-286.
21. Powell, W. 1990. Environmental and genetical aspects of pollen embryogenesis. In: Y. P. S. Bajaj (Ed), *Biotechnology in agriculture and Forestry*, Vol. 12, Haploids in crop improvement I. pp: 45-65.
22. Shtereva, L. & B. Atanssova. 2001. Callus induction and plant regeneration via anther culture in mutant tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) lines with anther abnormalities. *Israel Journal of Plant Sciences*, Vol 49: 205–208
23. Summers, W. L. 1997. Haploid Plantlet production in tomato. In: S. M. Jain, S. K. Sopory & R.E. Veilleux (eds.). *In Vitro* haploid production in higher Plants, Vol. 5. Kluwer Academic Pub. pp. 219-231.
24. Ye, X.G., Q.F. Xu, L.P. Du & Z.W. Li. 1997. Genetic analysis and combining ability evaluation of the anther culture response in common wheat. *Scientia Agricultura, Sinica.* 30: 49-54.
25. Zagorska, N. A., M. D. Abadjieva, H. A. Georgiev, M. D. Abadzhieva, & Kh. A. Georgiev. 1982. Inducing regeneration in anther culture of tomatoes (*Lycopersicon esculentum* Mill). *Comptes Rendus de Academic Bulgare des Sciences.* 35: 97-100.
26. Zagorska, N. A., A. Shterva, B. D. Dimitrov & M. M. Kruleva. 1998. Induced androgenesis in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.), I. Influence of genotype on androgenic ability. *Plant Cell Repots.* 17: 968-973.
27. Zamir, D., R. A. Jones & N. Kednar. 1980. Anther culture of male sterile tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) mutants. *Plant Sci. Lett.* 17: 353-361.