"نهال و بذر"
جلد ٢٤ ، شماره ٣، سال ١٣٨٧

مقاله کوتاه علمی

پاسخ سه ژنوتیپ گندم (*Triticum aestivum* L.) متحمل به سرما به تولید لاین هاپلوئید از روش حذف کروموزمی

Response of Three Cold Tolerant Wheat (*Triticum aestivum* L.) Genotypes to Haploid Production Through Chromosome Elimination

مرتضی باقریان[1]، رضا بزرگی پور[2]، سیروس محفوظی[2]، قاسم کریم زاده[3] و فرشاد بختیار[4]

۱- دانشجوی دکتری اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات، تهران

۲- به ترتیب دانشیار و استادیار ، مؤسسه تحقیقات اصلاح وتهیه نهال وبذر، کرج

۳- دانشیار، دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس ، تهران

۴- مربی ، مؤسسه تحقیقات اصلاح وتهیه نهال وبذر، کرج

تاریخ دریافت: ۱۳۸٦/٤/۱۰ تاریخ پذیرش: ۱۳۸٦/۸/۱۷

باقریان، م.، بزرگی‌پور، ر.، محفوظی، س.، کریم‌زاده، ق.، و بختیار، ف. ۱۳۸۷. پاسخ سه ژنوتیپ گندم (*Triticum aestivum* L.) متحمل به سرما به تولید لاین هاپلوئید از روش حذف کروموزمی. **نهال و بذر ۲٤**: ۶۰۵-۶۰۱.

برای تولید هاپلوئید در گندم سیستم تلاقی گندم × ذرت توسعه یافت (Snape, 1997). بعد از گزارش (Zenkteler and Nitzsche, 1984) مبنی بر تولید جنین از تلاقی گندم با ذرت، اولین هاپلوئید گندم از این روش در سال ۱۹۸۸ تولید شد (Laurie and Bennett , 1988). تحقیقات زیادی برای توجیه مبانی زیست شناختی این روش توسط لاری و بنت (Laurie and Bennett, 1986,1988) و سوئناگا و ناکاجیما (Suenaga and Nakajima, 1989) انجام شد. در ابتدا تحقیقات در جهت بهبود روش‌های تلاقی اجزای این روش (Laurie and Bennett , 1988)، تیمارهای هورمونی (Matzk and Mahn, 1994؛

نویسنده مسئول: bozorgi2007@yahoo.com

Archive of SID
www.SID.ir

(Suenaga and Nakajima, 1989) و دست‌ورزی محیط های کشت (Kammholz *et al.*, 1996؛ Suenaga, 1994؛ Comeau *et al.*, 1992) انجام می‌شد ولی در سال‌های بعد بررسی‌ها و تلاش بیشتر روی کاربرد این مطالعات متوجه شد (Lefebvre and Devaux, 1996؛ Snape, 1997؛ Zhang *et al.*, 1996). به تدریج شواهدی حاکی بر تاثیر و نقش ژنوتیپ گندم و ذرت در موفقیت تولید هاپلوئید اعلام شد. واژه هاپلوئید یک اصطلاح عمومی مورد استفاده به منظور مشخص کردن یک ارگانیسم با تعداد کروموزم گامتی است (نصف تعداد طبیعی کروموزوم برای هر گونه). گیاه دابلد هاپلوئید با دو بر ابر کردن تعداد کروموزوم‌های یک گیاه هاپلوئید به وجود می‌آید. در گونه‌های دیپلوئید وآلوپلوئید، دابل‌هاپلوئیدهای تولید شده برای تمام مکان‌های ژنی کاملاً هموزایگوت هستند. بزرگ‌پور و اسنیپ (Bozorgipour and Snape, 1990) ارزیابی تولید هاپلوئید در ارقام گندم ایرانی را با استفاده از روش تلاقی گندم و *H. bulbosum* انجام دادند. دراین آزمایش میزان تلاقی‌پذیری برای ارقام گندم ایرانی بسیار کم اعلام شد و در نتیجه روش‌های دیگر نظیر تلاقی گندم و ذرت برای تولید هاپلویید در ارقام گندم ایرانی پیشنهاد شد. زمان برای تولید لاین‌های دابلد هاپلویید از کاشت گیاهان گندم تا مرحله برداشت دانه از لاین‌های دابلد هاپلوئید کمتر از ۱۲ ماه طول می‌کشد. به هر حال ذکر این نکته ضروری است که تولید با راندمان بالا نیازمند کنترل شرایط مناسب محیطی است (Masanori, 1997). باتوجه به تعداد گیاهان زراعی و روش‌های مختلف تولید گیاهان دابلد هاپلوئید، در هر روش هاپلوئیدی، دابلد هاپلوئیدهای تولید شده می‌بایست نمونه تصادفی از گامت‌های والدین باشند.

مواد گیاهی مورد استفاده در این بررسی شامل بذرهای F_1 گندم حاصل از تلاقی‌های Pishtaz × Raptor ، Pishtaz × Mironovskaya و Pishtaz × Norstar که در سال ۱۳۸۳ و ۱۳۸۴ در بخش تحقیقات غلات مؤسسه تحقیقات اصلاح وتهیه نهال و بذر به عنوان منابع متحمل به سرما تولید شده بودند، به همراه سه ژنوتیپ ذرت شامل H7: SC704؛ H3: KSC301 و H1: KSC108 بودند. بذر ژنوتیپ‌های ذرت برای تولیدگیاهچه هاپلوئید در تعدادی گلدان کاشته شد. برای همزمان کردن مرحله گرده‌دهی گیاهان ذرت با مرحله گل‌دهی گیاهان گندم، بذرهای ذرت ۴۵ روز زودتر از بذرهای گندم کاشته شدند. پس از تولید جوانه، گیاهچه‌ها به گلدان‌های پلاستیکی با قطر ۲۲ سانتی حاوی مخلوطی ازخاک برگ، ماسه و خاک مزرعه به نسبت ۱،۱،۲ انتقال داده شدند و در گلخانه با شرایط دمایی ۲۰°C، شدت نور ۳۵۰ - ۳۰۰

Archive of SID

www.SID.ir

میکرومول بر مترمربع در ثانیه و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی تا مرحله تولید سنبله و انجام سایر مراحل آزمایش نگهداری شدند. پس از خروج دو سوم سنبله از غلاف برگ پرچم گندم، عقیم کردن سنبله‌ها انجام شد و ۲۴ ساعت بعد دانه‌های گرده تازه ذرت که با استفاده از یک تکه فویل آلومینیومی جمع‌آوری شده بودند توسط قلم مو به کلاله گندم انتقال داده شد. به علت عدم وقوع لقاح مضاعف در کیسه جنینی، برای تامین نیازهای غذایی جنین هاپلوئید،۱۳ الی ۱۵ روز بعد از گرده‌افشانی با استفاده از روش نجات جنین، جنین‌های هاپلوئید به محیط کشت MS منتقل و در فیتوترون و در دمای $20^{o}C$ نگهداری شدند. برای ارزیابی پاسخ ژنوتیپ‌های مختلف به تولید لاین دابلد هاپلوئید، ۱۶۰ سنبله و در هر سنبله ۱۶ گلچه برای هر یک از ژنوتیپ‌ها در نظر گرفته شد و صفاتی نظیر تعداد بذر تشکیل شده، تعداد جنین به دست آمده و تعداد گیاهچه‌های سبز هاپلوئید تولید شده درون محیط شیشه‌ای ثبت شد.

در تلاقی F_1 Pishtaz× Raptor، Pishtaz ×Mironovskaya و Pishtaz × Norstar با گرده مخلوط سه ژنوتیپ ذرت، از ۲۵۶۰ گلچه گرده‌افشانی شده برای هر یک از ژنوتیپ‌ها به ترتیب تعداد ۱۳۶۰، ۱۴۴۶ و ۸۶۳ عدد بذر تشکیل شد. بین ژنوتیپ‌های مختلف برای تشکیل بذر از نظر آماری، در تلاقی‌های فوق تفاوت معنی‌دار وجود نداشت (جدول ۱).

تلاقی ژنوتیپ Raptor بیشترین درصد (۵۶/۴۸) و تلاقی Norstar کمترین درصد (۳۳/۷۱) تعداد بذر تشکیل شده را داشتند. با استفاده از آزمون χ^2 از نظر تعداد جنین تفاوت تلاقی ژنوتیپ‌ها معنی‌دار بود ولی برای تعداد گیاهچه‌های هاپلوئید سبز تفاوت معنی‌دار نبود. تلاقی Pishtaz×Mironovskaya بیشترین (۷/۳۵) و Pishtaz×Norstar کمترین (۱/۵۱) درصد جنین را داشتند. از نظر گیاهچه‌های سبز نیز این دو تلاقی به ترتیب بیشترین (۳۳) و کمترین (۱۵/۳۸) درصد را داشتند (جدول ۱). نتایج حاصل نشان‌دهنده آن است که برای تشکیل بذر و تعداد جنین، تلاقی‌پذیری ژنوتیپ‌های گندم با ژنوتیپ ذرت متفاوت بوده و به ژنوتیپ والد مادری وابسته است. بزرگی‌پور و اسنیپ (۱۹۹۰)، درصد تشکیل بذر را در دو رقم جو بهاره در تلاقی با گونه *H. bulbosum* بررسی و اظهار کردند که در روش حذف کروموزمی نوع والد مادری بر روی درصد تشکیل بذر مؤثر است. چون تعداد گلچه گرده‌افشانی شده برای هر یک از ژنوتیپ‌ها برابر است، می‌توان گفت که صفت تعداد بذر و جنین تشکیل شده می‌تواند در گزینش ژنوتیپ‌های موردنظر جهت تولید لاین دابلد هاپلوئید مورد توجه باشد.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول۱- مجموع و درصد تعداد بذر ، جنین و گیاهچه هاپلوئید سبز از ۱۶۰ سنبله و ۲۵۶۰ گلچه گرده‌افشانی شده سه تلاقی‌های ژنوتیپ گندم

Table 1. Total number of seed set, embryo number and produced haploid plants from 160 spikes and 2560 pollinated florets of crosses of three wheat genotypes

تلاقی‌ها Crosses	تعداد گلچه گرده افشانی شده Pollinated floret	تعداد بذر تشکیل شده Seed set		تعداد جنین Embryo number		تعداد گیاهچه سبز Produced haploid plants	
		تعداد No.	درصد ٪	تعداد No.	درصد ٪	تعداد No.	درصد ٪
Mironovskaya×Pishtaz	2560	1360	53.13	100.00	7.35	33.00	33.00
Raptor×Pishtaz	2560	1446	56.48	58.00	4.01	12.00	20.69
Norstar×Pishtaz	2560	863	33.71	13.00	1.51	2.00	15.38
χ^2	-	161.98^{**}	-	40.88^{**}	-	$2.77^{n.s}$	-

ns و **: به ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد.

ns and **: Not significant and significant at 1% level, respectively.

References

Bozorgipour, R., and Snape, J. W. 1990. The crossability of Persian wheat cultivars with *Hordeum bulbosum* and their potential for haploid production. Cereal Research Communication 18: 203 – 208.

Comeau, A., Nadeau, P., Plourde, A., Simard, R., Maes, O., Kelly, S., Harper, L., Lettre, J., Landry, B., and St-Pierre, C.-A. 1992. Media for the *in ovulo* culture of proembryos of wheat and wheat-derived interspecific hybrids or haploids. Plant Science 81: 117–125.

Kammholz, S.J., Sutherland, M.W., and Banks, P.M. 1996. Improving the efficiency of haploid wheat production mediated by wide crossing. SABRAO Journal 28:37–46.

Laurie, D. A., and Bennett, M. D. 1986. Wheat×maize hybridization. Canadian Journal of Genetics and Cytology 28: 113-116.

Laurie, A. D., and Bennett, M. D. 1988. The production of haploid wheat plants from wheat x maize crosses .Theoretical and Applied Genetics 79:393-397 .

Lefebvre, D., and Devaux, P. 1996. Doubled haploids of wheat from wheat × maize

Archive of SID

www.SID.ir

crosses: Genotypic influence, fertility and inheritance of the 1BL-1RS chromosome. Theoretical and Applied Genetics 93:1267–1273.

Masanori, I. 1997. Technical advances in wheat haploid production using ultra-wide crosses. JIRCAS Journal 4:51-62.

Matzk, F., and Mahn, A. 1994. Improved techniques for haploid production in wheat using chromosome elimination. Plant Breeding 113:125–129.

Snape, J.W. 1997. Golden calves or white elephants? Biotechnologies for wheat improvement. pp. 273–283. In: Braun, H. J., Altay, F., Kronstad, W.E., Beniwal, S.P.S., and McNab, A. (eds.). Wheat: Prospects for Global Improvement. Kluwer Academic Publications, Dordrecht, The Netherlands.

Suenaga, K. 1994. Doubled haploid system using the intergeneric crosses between wheat (*Triticum aestivum*) and maize (*Zea mays*). Bull. Natl. Inst. Agrobiol. Resources 9: 83–139.

Suenaga, K., and Nakajima, K. 1989. Efficient production of haploid wheat (*Triticum aestivum*) through crosses between Japanese wheat and maize (*Zea mays*). Plant Cell Report 8: 263–266.

Zenkteler, M., and Nitzsche, W. 1984. Wide hybridization experiments in cereals. Theoretical and Applied Genetics 68: 311–315.

Zhang, J., Friebe, B., Raupp, W.J., Harrison, S.A., and Gill, B.S. 1996. Wheat embryogenesis and haploid production in wheat × maize hybrids. Euphytica 90: 315–324.

Archive of SID

www.SID.ir