Archive of SID

"مجله علوم زراعی ایران"
جلد هفتم ، شماره 1، بهار 1384

بررسی تأثیر ژنوتیپ، پیش تیمار سرمایی، دزهای پایین اشعه گاما و هورمون 2,4-D در واکنش به کشت پرچم گندم

Study of genotype, cold pre-treatment, low-dosage Gamma irradiation and 2,4-D concentration effects on wheat anther culture response

بهنام ناصریان خیابانی[1]، فرامرز مجد[2]، سیروس ودادی[3]، اسفندیار رحمانی[4]، میراحمد موسوی شلمانی[5]

چکیده

ناصریان خیابانی، ب.، ف. مجد، س. ودادی، ا. رحمانی، م. ا. موسوی شلمانی. 1384. بررسی تأثیر ژنوتیپ، پیش‌تیمار سرمایی، دزهای پایین اشعه گاما و هورمون 2,4-D در واکنش به کشت پرچم گندم، مجله علوم زراعی ایران. شماره 1، جلد 7، صفحه 96-86.

در این آزمایش تأثیر ژنوتیپ، پیش تیمار سرمایی، دزهای پایین اشعه گاما و هورمون 2,4-D در دو سطح mgl^{-1} 4 و 2 درپاسخ به کشت بساک رقم (اترک) و دو لاین (F3 2005, F3 2104) بررسی شد. بساک‌ها از گیاهان مادری که در شرایط مزرعه کشت شده بودند، برداشت شده و در محیط CHB تغییر یافته حاوی 2,4-D mgl^{-1} 4 و 2، Kinetin mgl^{-1} 0/5 و gl^{-1} 90 ساکارز کشت شدند. درصد کال‌های تولید شده در 100 بساک و نیز درصد گیاهان (سبز یا آلبینو) در 100 کال اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که ژنوتیپ، پیش تیمار سرمایی و غلظت هورمون 2,4-D در پاسخ به کشت بساک مؤثر می‌باشند. اما پیش تیمار با دزهای کم اشعه گاما تأثیری در میزان کال‌زایی و گیاه‌زایی ندارد. افزایش غلظت هورمون 2,4-D باعث کاهش کال‌زائی و گیاه‌زایی می‌شود. لاین F_3 2005 بالاترین میزان کال‌زایی و گیاه‌زایی را نشان داد و لاین F_3 2104 ضعیفترین پاسخ به کشت بساک را داشت. این آزمایش نشان داد که صفات آندروژنز در کنترل ژنوتیپ و محیط است و مکان‌های ژنی کنترل‌کننده صفات آندروژنز مستقل از هم هستند.

واژه‌های کلیدی: گندم بهاره، هاپلوئیدی، پیش تیمار سرمایی، دزهای پایین اشعه گاما ، 2,4-D

تاریخ دریافت: 1382/3/21

1، 2، 3 و 4ـ اعضای هیأت علمی سازمان انرژی اتمی ـ (مرکز تحقیقات کشاورزی و پزشکی هسته‌ای)

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

گیاهان دابل هاپلوئید به منظور استفاده در اصلاح نباتات و مطالعات مربوط به آن در بسیاری از گیاهان زراعی و باغی به کار گرفته شده است. مزیت و کاربرد عمده دابل هاپلوئیدها در برنامه‌های اصلاحی، کوتاه کردن دوره اصلاح و افزایش کارایی گزینش در آنهاست (بزرگی پور، 1373). یکی از روش‌های مهم تولید گیاهان دابل هاپلوئید در گندم، کشت بساک می‌باشد و تا کنون ارقام و واریته‌های بسیاری از طریق تولید گیاهان دابل هاپلوئید (کشت بساک و تلاقی گندم با ذرت) ایجاد شده است (Forest 2002). جدول 1 تعدادی از این واریته‌ها و لاین‌ها را که از طریق روش تولید گیاهان دابل هاپلوئید در گندم ایجاد شده‌اند، نشان می‌دهد.

جدول 1- ارقام و لاین‌های گندم تولید شده از طریق دابل هاپلوئیدی (Forest 2002)

Table 1. Cultivars/ lines of wheat produced by doubled haploidy (Forest 2002)

رقم/لاین cultivars/lines	روش Method	کشور Country	منبع /تولید کننده Authority/Reference
BR-43	کشت بساک/ Anther Culture	Brazil	Andre Rosa
Jinghua1	کشت بساک/ Anther Culture	China	Wenchun Zhou
Florin	کشت بساک/ Anther Culture	France	De Buyser et al.,
Raspail	تلاقی گندم با ذرت Maize pollination	France	Pierre Devaux
Xi19	تلاقی گندم با ذرت Maize pollination	UK	Tony Rhodes
MV Szigma	کشت بساک/ Anther Culture	Hungary	Zoltan Bedo
SW Agaton	کشت بساک/ Anther Culture	Sweden	Stine Tuvesson

عوامل متعددی در پاسخ به کشت بساک مؤثرند که از آن جمله می‌توان ژنوتیپ گیاه بخشنده بساک، محیط کشت و انواع پیش تیمارها را نام برد (Ghaemi and Sarrafi, 1994; De-Buyser et al., 1992، ناصریان و همکاران 1379). بر اساس تحقیقات انجام شده، ثابت گردیده که میزان کال‌زایی و گیاه‌زایی در ژنوتیپ‌های مختلف متفاوت است و تنوع ژنتیکی وسیعی در این زمینه دیده می‌شود (Anderson et al., 1988; Chu, 1982; Foroughi and Wenzal, 1993; Moieni and Sarrafi, 1995; Ouyang, 1989). عملکرد تولید گیاهان هاپلوئید به سه عامل تولید جنین، باززایی گیاه و نسبت گیاهان سبز بستگی دارد، این صفات وراثت‌پذیری بالایی دارند و همچنین مکان‌های ژنی کنترل‌کننده این صفات مستقل از هم می‌باشند (ناصریان و همکاران، 1379؛ Henry and De-Buyser, 1985; Ghaemi and Sarrafi, 1994; De-Buyser et al., 1992).

تجزیه دیالل پارامترهای ژنتیکی دو صفت اصلی (کال‌زایی و گیاه‌زایی) نشان داد که کل تغییرات در نتیجه عوامل ژنتیکی با اثرات افزایشی می‌باشند. برآورد وراثت‌پذیری خصوصی در واریته‌های زراعی علی‌رغم

www.SID.ir

Archive of SID

وجود اثرات متقابل محیطی ارزش بالای 0/7 – 0/6 را نشان داده است. بنابراین انتقال این صفات از ژنوتیپ‌های سازگار به ژنوتیپ‌های ناسازگار به سرعت انجام می‌گیرد (Pickering and Devauy, 1992; Ghaemi and Sarrafi, 1994; Ekiz and Konzak, 1994).

در اکثر آزمایشات انجام گرفته به منظور تولید گیاه دابل هاپلوئید، پیش تیمار سرمایی برای تحریک پاسخ به کشت بساک مورد استفاده قرار گرفته است. پیش تیمار بساک‌ها در دمای 3-5° C به مدت حداقل 48 ساعت، منجر به افزایش کال‌زایی و گیاه‌زایی می‌گردد. همچنین تیمار سرمایی بساک‌ها قبل از کشت منجر به توقف تقسیم نامنظم میتوزی در دانه گرده شده و لذا فراوانی گرده با دو سلول هم اندازه افزایش می‌یابد. چنین سلول‌هایی منبع مناسبی برای جنین‌زایی خواهند بود (Henry and De-Buyser, 1990; Chu, 1982; Navarro et al., 1994). استفاده از پرتوهای یونساز نظیر اشعه گاما با دزهای پائین، اثرات محرک بر پاسخ به کشت بساک در گندم داشته است. تغییر در میزان پاسخ به کشت بساک به دز اشعه بستگی دارد و برای هر ژنوتیپی متفاوت می‌باشد. دزهای پرتو گاما تا 7 گری نقش محرکی در میزان کال زایی داشته و در دزهای بالاتر از 7 گری میزان باززایی به طور محسوسی کاهش می‌یابد و در دز 10 گری هیچ پاسخی دیده نشده است(Ling et al., 1991). انجام پیش تیمار سرمایی قبل از پرتودهی به طور معنی‌داری میزان پاسخ را کاهش می‌دهد (Ling et al., 1991).

در محیط‌های کشت بساک به منظور القاء جنین، معمولاً از 2,4-D (دی کلرو فنوکسی استیک اسید) استفاده می‌شود. محدوده غلظت مورد استفاده عموماً بین 1-3 mgl^{-1} است. غلظت‌های کمتر از 1 mgl^{-1} باعث کاهش کال‌زایی می‌شوند و در غلظت‌های بالاتر از 3 mgl^{-1} میزان باززایی کاهش می‌یابد. به طور کلی هورمون 2,4-D باعث کاهش توان باززایی می‌گردد. لذا در محیط باززایی از هورمون NAA (نفتالین استیک اسید) یا سایر اکسین‌های ضعیف استفاده می‌گردد (Henry and De Buyser, 1990; Chu et al., 1990). با توجه به اهمیت ویژه‌ای که کاربرد دابل هاپلوئیدی در اصلاح نباتات به ویژه گندم دارد، لازم است تا عملکرد تولید دابل هاپلوئیدها افزایش یابد. بدین منظور، اعمال پیش تیمارها و تیمارهای هورمونی یکی از راه‌های دستیابی به عملکرد بالا در پاسخ به کشت بساک است. این تحقیق به منظور بررسی اثرات ژنوتیپ، پیش تیمارها و هورمون 2,4 –D و نیز روابط این عوامل با یکدیگر انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق تأثیر پیش تیمارهای سرمایی و دزهای کم اشعه گاما و نیز تأثیر 2 غلظت هورمون 2,4 –D در پاسخ به کشت بساک سه ژنوتیپ گندم (اترک، $F_3$2104، $F_3$2005) مورد بررسی قرار گرفت. لاین‌های $F_3$2104 و $F_3$2005 نتاج نسل سوم تلاقی اترک با MV17 بود که از بخش غلات مؤسسه اصلاح نهال و بذر تهیه شده بود. گیاهان مادری در شرایط مزرعه در کرت‌های 1 m^2 در سه ردیف در اوایل فروردین ماه کشت شدند. در طول دوره رویش کود به صورت سرک و محلول‌پاشی با استفاده از کود کامل فوسامکو انجام گرفت. همچنین کنترل علف‌های هرز به طور دستی و کنترل آفات (شته) با استفاده از سم سیستمیک متاسیستوکس-آر انجام شد. با بررسی سیتولوژیکی دانه‌های گرده، سنبله‌ها در زمان مناسب یعنی زمانی که اکثریت میکروسپورها در مرحله تک هسته‌ای میانی تا انتهایی(Mid to Late uninuclated Stage) بودند (Gang-H and Ouyang, 1984) برداشت شده و به آزمایشگاه کشت بافت بخش کشاورزی هسته‌ای (سازمان انرژی اتمی) منتقل گردیدند. قبل از کشت پیش تیمارهایی بر روی سنبله‌ها انجام گرفت که روش کار به شرح زیر است:

www.SID.ir

Archive of SID

1ـ پیش تیمار سرمایی: سنبله‌ها بلافاصله پس از برداشت درون پتری دیش‌های 12 سانتی‌متری قرار داده شدند و به منظور حفظ رطوبت درون هر پتری دیش یک پنبه خیس قرار داده شده و سپس در پتری‌ها با پارافیلم بسته شده و به مدت یک هفته در دمای 4^oC و تاریکی قرار گرفتند.

2ـ پیش تیمار با دزهای کم اشعه گاما: سنبله‌های برداشت شده درون پتری دیش 12 سانتی‌متری در یک سطح قرار داده شدند و سپس با استفاده از چشمه کبالت 60 بخش دزیمتری استاندارد ثانویه سازمان انرژی اتمی ایران (SSDL[1]) با دزهای 2و 4 گری پرتودهی شدند. پس از پیش تیمار، سنبله‌ها از غلاف خارج شده و با محلول هیپوکلریت سدیم 5٪ که از رقیق نمودن مایع سفید کننده تهیه گردیده بود، به مدت 15 دقیقه ضدعفونی شده و سپس در شرایط استریل با آب مقطر استریل شستشو داده شدند.

برای القاء کالوس و جنین از محیط CHB (Chu et al., 1990) به صورت تغییر یافته استفاده شد

جدول 2- ترکیب محیط‌های CHB (محیط کال‌زائی) و 2-190 (محیط باززائی)

Table 2. Composition of CHB(induction media) and 190-2 (regeneration media)

ترکیب محیط کشت Medium composition	CHB(mgl^{-1})	190-2 (mgl^{-1})
KNO_3	1415	1000
$Ca(NO_3)_2,4H_2O$		100
$(NH_4)_2SO_4$	232	200
KH_2PO_4	200	300
$CaCl_2,2H_2O$	83	-
$MgSO_4,7H_2O$	93	200
$ZnSO_4,7H_2O$	5	3
$MnSO_4,4H_2O$	5	8
H_3BO_3	5	3
KI	0.4	0.5
$CuSO_4,H_2O$	0.0125	0.025
$CoCl_2$	0.0125	-
$NaMoO_4,2H_2O$	0.0125	-
Thiamin HCl	2.5	1
Pyridoxine HCl	0.5	0.5
Nicotinic Acid	0.5	0.5
Calcium Pantothenate	0.25	-
Ascorbic Acid	0.5	-
Glysine	1	2
Mayo inositol	300	100
Glutamine	1000	-
Sucrose	-	30000
Maltose	90000	-
$FeSO_4,7H_2O$	32	27.8
Na_2EDTA	32	37.3
Agar	-	7000
PH	5.4	5.6-5.8

www.SID.ir

Archive of SID

جدول 2). در این محیط به جای مالتوز از ساکارز و همچنین از هورمون 2,4-D با غلظت‌های mgl^{-1} 4 و 2 به همراه mgl^{-1} 0/5 کنیتین استفاده گردید. محیط مزبور پس از تهیه در پتری‌های 8cm به مقدار 10ml پخش شد و در درون هر پتری 200 بساک کشت گردید. پس از 25 روز اولین کالوس‌ها مشاهده شدند کالوس‌های حاصل به محیط باززایی 2 -190 (Zhuang and Xu, 1983) حاوی mgl^{-1} NAA/5 و mgl^{-1} 0/5 کنیتین و 7 گرم در لیتر آگار منتقل شدند. کالوس های جنین زا پس از14 روز جوانه زده و تولید گیاهچه نمودند.

گیاهچه‌های حاصل به محیط 2-190 فاقد هورمون منتقل شدند و پس از توسعه کافی سیستم ریشه به منظور سازگار نمودن به گلدان‌های حاوی ماسه منتقل و با کود کامل فوسامکو تغذیه شدند. پس از سازگاری گیاهچه‌ها با استفاده از بررسی سیتوژنتیکی گیاهچه‌های هاپلوئید و دیپلوئید خود به خودی مشخص شدند. گیاهچه‌های هاپلوئید پس از هرس ریشه تا محل طوقه در محلول حاوی 0/05٪ کلشیسین، 2٪ دی متیل سولفوکسید به مدت 5 ساعت در دمای اتاق قرار داده شدند. سپس با آب شستشو داده شده و به گلدان منتقل شدند، گیاهچه‌های تیمار شده پس از سازگار شدن به گلخانه پلاستیکی منتقل شده و بذرگیری شدند.

این آزمایش به صورت فاکتوریل 4 فاکتوره در قالب طرح کاملاً تصادفی با 4 تکرار اجرا شد و برای تجزیه و تحلیل و رسم گراف از نرم‌افزارهای MSTATC و Excel استفاده گردید.

نتایج و بحث

داده‌های مربوط به لاین $F_3$2104 به دلیل پاسخ بسیار ضعیف به‌کشت بساک (کال‌زایی و گیاه‌زایی) در تجزیه واریانس وارد نگردید. لذا نتایج نشان داده شده در جدول (1) تنها مربوط به ژنوتیپ اترک و لاین $F_3$2005 می‌باشد. برای تمام داده‌ها تبدیل log x +10 انجام گرفت و تجزیه واریانس و مقایسه میانگین با این داده‌ها صورت گرفت (نتایج ارائه شده در جدول اعداد اصلی هستند). جدول 1 نشان می‌دهد که بین دو ژنوتیپ اختلاف معنی‌داری در میزان کال زایی وجود ندارد، هر چند که هر دو ژنوتیپ نسبت به لاین $F_3$2104 پاسخ بسیار بهتر و معنی‌داری داشتند. میزان گیاه‌زایی بین دو ژنوتیپ در سطح احتمال 1٪ اختلاف معنی‌دار داشت. لاین $F_3$2005 نیز نسبت به دو ژنوتیپ دیگر بالاترین درصد کال‌زایی و گیاه‌زایی را به خود اختصاص داده بود (شکل 1). محققان بسیاری (Henry and De-Bayser, 1990; Ghaemi and Sarrafi, 1994; Lazar et al., 1984; Moieni et al.,1997;Moieni and Sarrafi,1996 a,1996; ناصریان و همکاران، 1379؛ ناصری و همکاران، 1380) تنوع ژنتیکی در پاسخ به کشت بساک را گزارش کرده‌اند.

بین دو غلظت 2,4 -D به کار برده شده در محیط کشت در پاسخ به کشت بساک (کال‌زایی و گیاه‌زایی) اختلاف معنی‌دار به ترتیب در سطح احتمال 5٪ و 1٪ وجود داشت. استفاده از mgl^{-1} 2,4-D 4 در محیط کشت CHB منجر به کاهش کال‌زایی و گیاه‌زایی نسبت به محیط حاوی mgl^{-1} 2,4-D 2 گردید. ژنوتیپ با غلظت هورمون 2,4-D اثر متقابل معنی‌دار در هیچ یک از صفات مورد بررسی نشان نداد، به عبارت دیگر مقدار mgl^{-1} 2,4-D 2 برای هر دو ژنوتیپ مناسب بوده است. پیش تیمار سرمایی سنبله‌ها به مدت یک هفته در دمای 4^oC و شرایط تاریکی، علی‌رغم مؤثر بودن در میزان کال‌زایی، در گیاه‌زایی ژنوتیپ‌ها بی‌تأثیر بود. محققان متعددی (Henry and De-Buyser, 1990; Chu, 1982) تأثیر مثبت پیش تیمار سرمایی را گزارش کرده‌اند. با بررسی اثر متقابل پیش تیمار سرمایی با ژنوتیپ اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال 5٪ مشاهده گردید. مقایسه میانگین نشان داد که پائین‌ترین میزان کال‌زایی در ژنوتیپ اترک در حالت عدم اعمال پیش تیمار سرمایی به دست آمده است (شکل 2). از آنجا که دو ژنوتیپ از

www.SID.ir

Archive of SID

نظر کال‌زایی اختلاف معنی‌داری نداشتند، لذا وجود تفاوت در سطوح مختلف اثر متقابل ژنوتیپ با پیش تیمار سرمایی، مربوط به تأثیر پیش تیمار بوده است. به عبارت دیگر هر ژنوتیپ به ترکیب خاصی از پیش تیمار سرمایی نیازدارد. این نتیجه با گزارشات Marsolais et al., 1984; Karimzadeh et al., 1995 مطابقت دارد.

اثر متقابل پیش تیمار سرمایی با غلظت هورمون 2,4- D بر روی درصد کال‌زائی معنی‌دار نبود، و تأثیر پیش تیمار سرمایی مستقل از هورمون 2,4-D بود. اثر متقابل پیش تیمار سرمایی با غلظت هورمون 2,4- D در میزان گیاه‌زایی مؤثر بوده است.

کال‌های حاصل از بساک‌های پیش تیمار نشده که در محیط حاوی 2,4-D $4\ mgl^{-1}$ قرار گرفته بودند، باززایی کمتری نشان دادند. از آنجایی که پیش تیمار سرمایی تأثیری در میزان گیاه‌زایی نداشت لذا می‌توان غلظت هورمون 2,4-D را مسوول این فرایند دانست. به عبارت دیگر افزایش غلظت 2,4-D توان باززائی را کاهش می‌دهد. پیش تیمار سنبله ها با دزهای پایین، اشعه گاما و کشت بساک پس از پرتودهی در هیچکدام از صفات مورد بررسی اثر معنی‌داری نشان نداد. همچنین اثر متقابل تیمار پرتودهی با ژنوتیپ و اثر متقابل تیمار پرتودهی با 2,4-D اختلاف معنی‌داری در سطوح مختلف خود نداشتند. اما اثر متقابل تیمار پرتودهی با

جدول 3- میانگین مربعات ژنوتیپ (G)، پیش‌تیمار سرمائی (C)، پرتو گاما (I) و 2,4-D (H) برای صفات نرزائی مورد بررسی

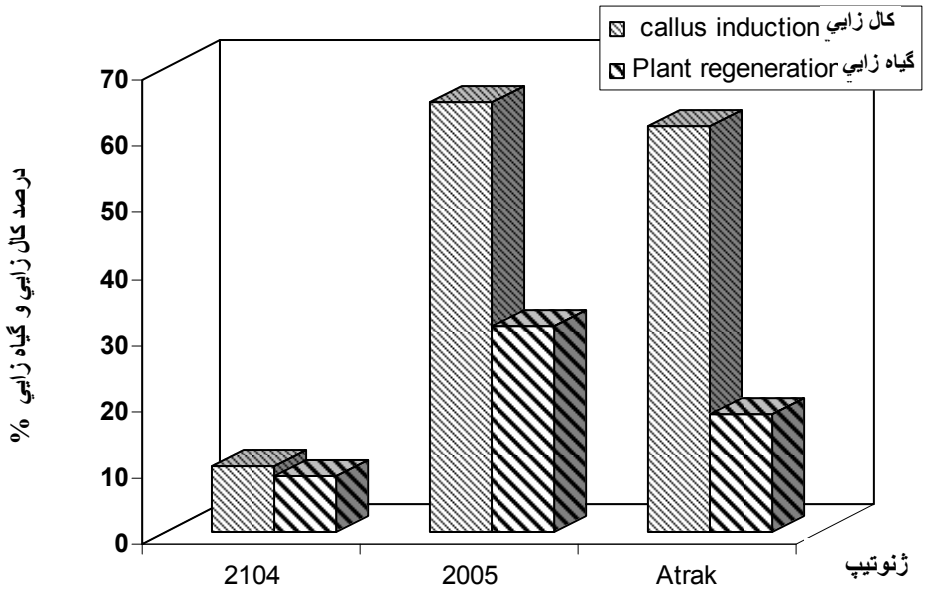
Table 3. Mean squares for effect of Genotype (G), Cold pre treatment (C), Gamma irradiation (I) and 2,4-D (H) for androgenic traits

S. O. V.	منابع تغییرات	درجه آزادی df	درصد کال‌زائی Ca/ 100 A	درصد گیاه‌زائی Tr/ 100 Ca
Genotype (G)	ژنوتیپ	1	4.726^{ns}	7491.197**
2,4-D (H)	هورمون 2,4-D	1	172.538*	4237.728**
G × H	ژنوتیپ 2,4-D	1	72.976^{ns}	469.416^{ns}
Cold preTreatment (C)	تیمار سرمایی	1	502.793**	272.599^{ns}
G × C	ژنوتیپ × تیمار سرمائی	1	218.105*	145.214^{ns}
C × H	2,4-D × تیمار سرمائی	1	255.780^{ns}	2411.113*
G × H × C	ژنوتیپ × 2,4-D × تیمار سرمائی	1	140.893^{ns}	1810.909^{ns}
Gamma Irradiation (I)	پرتو گاما	2	151.207^{ns}	622.916^{ns}
G × I	ژنوتیپ × پرتو گاما	2	46.646^{ns}	35.858^{ns}
I × H	پرتو گاما × 2,4-D	2	40.621^{ns}	331.897^{ns}
G × H × I	ژنوتیپ × 2,4-D × پرتو گاما	2	354.559**	1709.859^{ns}
C × I	تیمار سرمائی × پرتو گاما	2	172.238*	8601.837**
G × C × I	ژنوتیپ × تیمار سرمائی × پرتو گاما	2	276.332**	2704.519**
H × C × I	2,4-D × تیمار سرمائی × پرتو گاما	2	86.275^{ns}	29.491^{ns}
G × C × H × I	ژنوتیپ × 2,4-D × تیمار سرمائی × پرتو گاما	2	86.275^{ns}	5448.214**
Error	خطا	72	83.075	503.165
C. V.	ضریب تغییرات	—	13.28%	19.18%

**: Significant at 1% level *: Significant at 5 level ns: Non significant
Ca: Callus A: Anther Tr: Total regeneration

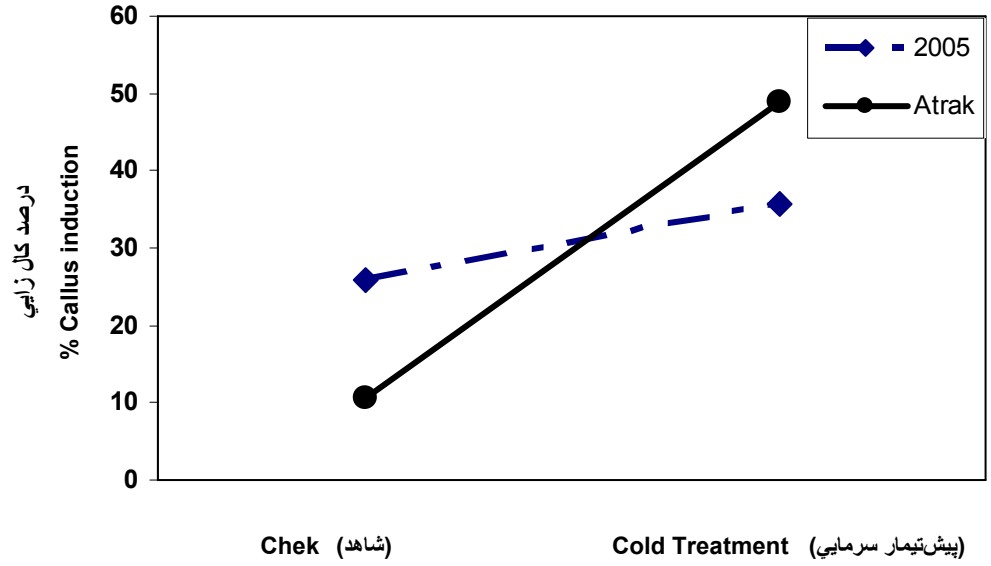
www.SID.ir

Archive of SID



شکل 1- میانگین درصد کال‌زایی و گیاه‌زایی در سه ژنوتیپ گندم

Fig. 1. Mean of callus induction and plant regeneration (%)

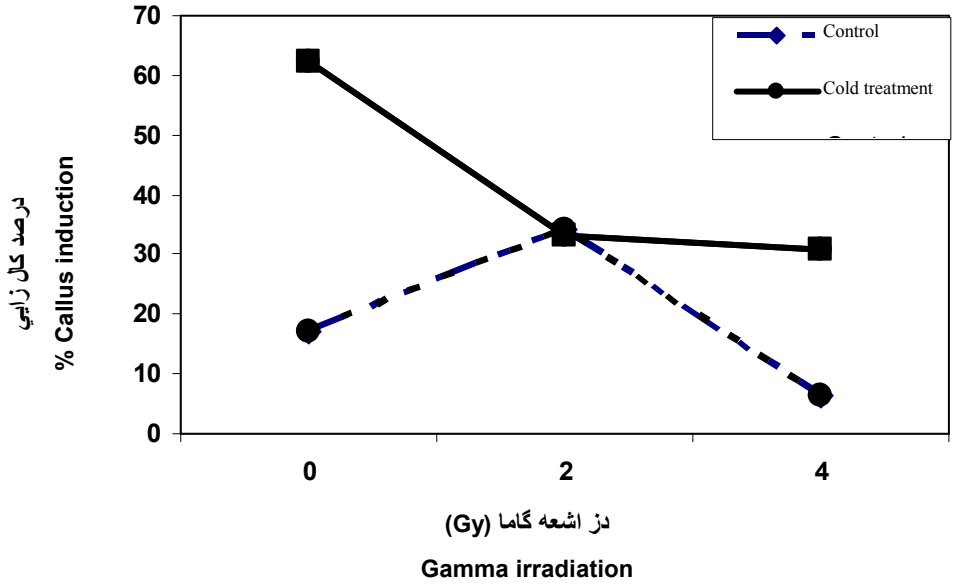


شکل 2- اثر متقابل ژنوتیپ با پیش تیمار سرمائی در درصد کال زایی

Fig. 2. Interaction between genotype and cold treatment on callus induction

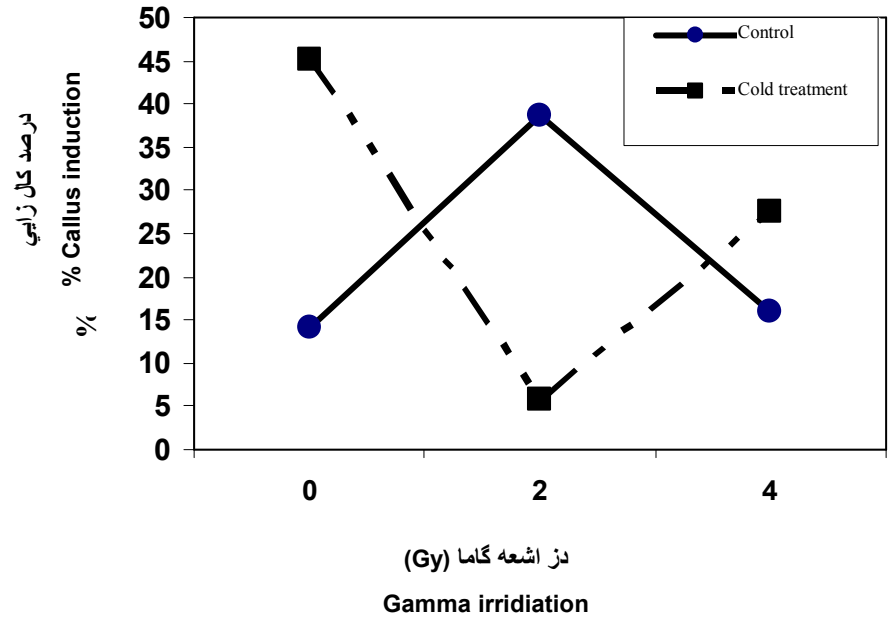
www.SID.ir

Archive of SID



شکل3- اثر متقابل بین پرتو گاما با پیش تیمار سرمایی در درصد کال زایی

Fig. 3. Interaction between Gamma irradiation and cold treatment on callus induction



شکل 4- اثر متقابل بین پرتو گاما با پیش تیمار سرمایی در درصد گیاه زایی

Fig. 4. Interaction between gamma irradiation and cold treatment on plant regeneration

پیش تیمار سرمایی اختلاف معنی‌داری در صفات مورد بررسی داشت. مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن مشخص کرد که پیش تیمار سرمایی به تنهایی و بدون تلفیق با تیمار پرتودهی در افزایش میزان کال‌زایی مؤثرتر است. تلفیق این دو تیمار با هم منجر به کاهش میزان کال‌زایی گردید (شکل 3).

www.SID.ir

Archive of SID

بازززایی کال‌ها نیز از وضعیت مشابهی پیروی می‌کند (شکل 4). نتیجه اخیر برخلاف گزارش (Ling et al., 1991) است. اما ناصریان وهمکاران(1379) و ناصری و همکاران (1380) نتایج مشابهی را گزارش کرده‌اند. به طور کلی می‌توان نتایج به دست آمده از این پژوهش را به شرح زیر جمع‌بندی کرد:

1ـ صفت آندروژنز تحت کنترل ژنوتیپ و محیط می‌باشد. این نتیجه از سوی بسیاری از محققان: (Ouyang, 1989; Foroughi and Zeller, 1990; Chu, 1982; Anderson et al., 1988; Henry and De-Buyser, 1990 و ناصریان و همکاران 1379، ناصری و همکاران 1380) تأیید شده است.

2ـ به منظور دستیابی به کال‌زایی بالا می‌توان از پیش تیمار سرمائی سنبله‌ها قبل از کشت بساک استفاده کرد. اما در استفاده از این پیش تیمار نیز باید به ژنوتیپ گیاه توجه شود زیرا که هر ژنوتیپ به ترکیب خاصی از زمان و درجه حرارت پیش تیمار نیاز دارد (Marsolais et al., 1984; Karimzadeh et al., 1995، ناصریان و همکاران، 1379).

3ـ استفاده از تیمار پرتودهی در تحریک پاسخ به کشت بساک مؤثر نبود و لذا پیشهاد نمی‌گردد.

4ـ مکان‌های ژنی کنترل صفات آندروژنز (کال‌زایی و گیاه‌زایی) مستقل از هم هستند. این نتیجه با توجه به عکس‌العمل‌های متفاوتی که در صفات مزبور در اثر تیمارهای مختلف مشاهده شد قابل توجیه است.

منابع مورد استفاده References

بزرگی‌پور، ر. 1373. استفاده از روش اصلاحی هاپلوئیدی در غلات. مقالات کلیدی سومین کنگره زراعت و اصلاح نباتات. دانشگاه تبریز.

ناصریان خیابانی، ب.، مجد، ف.، رحیمی، م.، ولیزاده، م.، کاظمی، ح. 1379. بررسی تأثیر زادمون، محیط کشت و تیمار سرد بر کشت بساک لاین‌های موتاسیون زای گندم. مجله علوم و فنون هسته‌ای، شماره 22 صفحات 64-56.

ناصری تفتی، م.، ناصریان خیابانی، ب.، ودادی،س.، رحیمی، م.، رحمانی، ا. 1380. بررسی پاسخ چند زادمون گندم به تولید تک لاد با روش کشت بساک. مجله علوم و فنون هسته‌ای، شماره 24 صفحات 67-57.

Anderson, S. S., Due, I. K. and Olesen, A. 1988. Results with anther culture in some important Scandinavian varieties of winter wheat. Acta. Agric. Scand. 38: 280-292.

Chu, C. C. 1982. Haploid in plant improvement. In: I.K. Vasil, W.R.Scourft and K.J.Frey (eds). Plant improvement and Somatic cell genetics. Academic Press. PP 129-158.

Chu, C. C., Hill, R. D. and Babel, A. L. B. 1990. High frequency of pollen formation and plant regeneration in *Triticum aestivum* on monosaccharide containing media. Plant Science. 66: 255-260.

De Buyser, J., Hachemi- Rachedi, S., Lemmee, M. L., Sejourne Marwtte, S. J. I., and Henry, Y. 1992. Aneuploid analysis of anther culture response in wheat. Plant Breeding. 109: 339-342.

Ekiz, H. and C. F. Konzak, 1994. Preliminary diallel analysis of anther culture response in wheat (*Triticum aestivum L.*) Plant breeding .113: 47-52.

Foroughi-Wehr, B. and Wenzal, G. 1993. Andro and Parthenogenesis In: Hayward, M.D., Bosemark, N.O., Romugosa I. (eds). Plant Breeding. Chapman & Hall. Pp 261-277.

Frost. B. 2002. Table of cultivars / lines produced by doubled haploidy. WWW. Scri. Sari. ac. uk.

www.SID.ir

Archive of SID

Gang-He, D. and Ouyang, J. W. 1984. Callus and plant let formation from cultured wheat anthers at different development stages. Plant Sci. Letters. 33: 71-79.

Ghaemi, M. and Sarrafi, A. 1994. The effect of "D" genome from synthetic wheat lines in anther culture response. Plant Breeding. 112: 76-79.

Henry, Y. and De-Buyser, J. 1985. Effect of the IB/ IR translocation on anther culture ability in wheat (*Triticum aestivum L.*). Plant cell Reports, 4: 307-310.

Henry, H. and De-Buyser, J. 1990. Wheat anther culture. In: Y. P. S. Bajaj (ed). Biotechnology in Agriculture and Forestry. Springer- Verleg. Vol B. PP 285-350.

Karimzadeh, G., Kovaes,G. and Barnabas, B. 1995. Effect of cold treatment and different culture medium on the androgenic capacity two winter wheat genotypes. Cereal Research communication. 23(3): 223-227.

Lazar, M. D, Schaeffer, C. W., Baenziger, P. S. 1984. Combining abilities and heritability of callus formation and plant regeneration in wheat (*Triticum aestivum L.*). Theo. and Appl. Gene. 67: 273-277.

Ling, D. X., Luckett, D. J. and Darvey, N. L. 1991. Low-dose gamma irradiation promotes wheat anther culture response.Aust.J.Bot. 39: 467-474.

Marsolais, A. A., Segain-Swart, G. and Kasha, K. J. 1984. The influence of anther cold pretreatment and donor plant genotypes on invitro androgenesis in wheat (Triticum aestivum L.).Plant Cell Tissue and Organ Culture. 3: 69-79.

Moini, A. and Sarrafi, A. 1995. Genetic analysis for haploid-regeneration response of hexaploid wheat anther cultures. Plant Breeding. 114: 247-249.

Moini, A. and Sarrafi, A. 1996a. The effects of gibberlic acid phenylethylamin,2,4,D and Genotype on androgenesis in hexaploid wheat (Triticum aestivum). Cereal Research communications. 24 (2): 139-145.

Moini, A. and Sarrafi, A. 1996b. Effect of donor plant genotype and media composition on androgenesis of Iranian spring wheat genotype and F1 hybrids. J. Genet & Breed. 50: 383-386.

Moieni, A., Vallavieille-Pope, C. DE and Sarrafi, A. 1997. Potential use of doubled haploid lines for screening of resistance to yellow rust (*Puceinia strriformis*) in hexaploid wheat. Plant Breeding.116: 595-597.

Navarro-Alvarez, W., Baenziger, S. S. and Eskridge, K. M. 1994. Addition of colchicines to wheat anther culture media to increase doubled plant production. Plant Breeding 112: 192-198.

Ouyang. J. W. 1989. Induction of pollen plant in *Triticum aestivum*. In: H. Han and Hong Yuan, Y. (eds) Haploid of higher plant invitro. China Academic publishers. Beijing. pp 26-41.

Pickering,R. A. and Devaux, P. 1992. Haploid production: Approaches and use in plant breeding. In: Sjewry, P. R. (ed). Barley Genetics, Biochemistry, Molecular Biology and Biotechnology. PP 519-549.

Zhuang. J. J. and Xu, J. 1983. Increasing differentiation frequencies in wheat pollen callus. In :Hu, H. and Vega, M. R. (Eds)Cell and tissue culture techniques for cereal crop improvement. Science press, Beijing. pp 431.

www.SID.ir

Archive of SID

Study of genotype, cold pre-treatment, low-dosage Gamma irradiation and 2,4-D concentration effects on wheat anther culture response

Naserian[1], B., F. Majd[2], S. vedadi[3], E. Rahmani[4] and A. Mosavi Shalmani[5]

ABSTRACT

In this study, effects of genotype, cold pre-treatment, low dosage Gamma irridiation and 2, 4-D concentration on response of three wheat genotypes (Atrak, F_3 2005 and F_3 2104) to anther culture were investigated. Seeds of donor genotypes were grown under field condition in early spring. Anthers from donor plants were collected and plated on modified CHB medium containing 2,4-D (2 and 4 mgl^{-1}), 0.5 mgl^{-1} Kinetin and gl^{-1} Sucrose. Number of calli formed in 100 anthers and number of plantlet produced from 100 calli were counted. Results indicated that genotypes, cold pre-treatments and 2,4-D concentrations had significant effects on response of wheat genotypes to anther production, while F_3 2104 the lowest. It would be concluded that androgenic traits are controlled by genotype and environmental factors. Furthermore this traits are controlled independently.

Key words: Spring wheat, Doubled haploid, Cold pretreatment, Low-dose gamma Irradiation, 2, 4-D concentration, Callus plantlet

Recieved: May, 2003
- 1, 2, 3 & 4: Scientific members of Atomic Energy Organization (Nuclear Research Center for Agriculture and Medicine

www.SID.ir