

بررسی اثر پرتو گاما بر جوانه‌زنی گرده‌ها و جنین‌زایی هاپلوئید بکرزا در گل محمدی (*Rosa damascena* Mill.)

خدیدجه پالوانه^۱، عباس قمری‌زارع^{۲*}، محمود لطفی^۳، طیبه سهیلا نراقی^۴، فرشته اسدی کرم^۵ و سیدرضا طبائی عقدایی^۶

۱- کارشناس ارشد تولیدات گیاهی- اصلاح گیاهان باغبانی، پردیس ابوریحان دانشگاه تهران، پاکدشت

۲- نویسنده مسئول مکاتبات، استادیار، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، تهران، پست الکترونیک: ghamari-zare@rifr-ac.ir

۳- استادیار، گروه باغبانی، پردیس ابوریحان دانشگاه تهران، پاکدشت

۴- کارشناس خبره، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، تهران

۵- کارشناس ارشد، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور

۶- دانشیار، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، تهران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۰۷/۲۴ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۰۴/۱۱

چکیده

هاپلوئیدها و دابل‌هاپلوئیدها می‌توانند به‌طور مؤثری سرعت برنامه‌های اصلاحی محصولات باغبانی را افزایش دهند. این پژوهش با هدف بکارگیری دانه‌های گرده پرتوتابی شده به‌وسیله اشعه گاما در تلاقی گل‌های محمدی و القاء جنین‌های هاپلوئید بکرزا انجام شد. دو ژنوتیپ G_{32} و G_{40} گل محمدی به‌عنوان والدین مادری و ژنوتیپ G_{22} و ترکیبی از ۴۰ ژنوتیپ گل محمدی به‌عنوان والدین پدری مورد استفاده قرار گرفتند. غنچه‌های والدین پدری در مرحله مناسب جمع‌آوری و با اشعه گاما از منبع کبالت ۶۰ در پنج سطح دز صفر، ۲۵۰، ۵۰۰، ۸۰۰ و ۱۴۰۰ گری پرتوتابی شدند. گل‌های ماده که یک روز قبل از گرده‌افشانی اخته شده بودند با استفاده از گرده غنچه‌های پرتوتابی شده گرده‌افشانی شدند. هیپ‌های (میوه‌ها) تلاقی‌یافته از درختچه‌های والدین مادری در دو زمان ۱۶ و ۱۹ روز پس از گرده‌افشانی برداشت شدند. به‌منظور تعیین محیط کشت مناسب برای رشد جنین‌های نابالغ حاصل از نجات جنین گل محمدی از سه ترکیب محیط کشت MS استفاده شد. برای غلبه بر دوره خواب، نیمی از جنین‌ها به‌مدت ۲ ماه در دمای ۴-۱ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. درصد تشکیل میوه و تعداد بذر در هر میوه به شدت دز اشعه و نوع والد مادری و والد گرده‌دهنده بستگی داشت. البته ترکیب محیط کشت $MS + vit + \frac{1}{2}$ در مقایسه با دو ترکیب مورد استفاده دیگر برای رشد جنین‌ها مؤثرتر تشخیص داده شد. بنابراین وجود تیمار سرمادهی برای غلبه بر خواب جنین‌ها ضروری بود. با توجه به نتایج حاصل از بررسی‌های مورفولوژیک، به‌ویژه تعداد کلروپلاست سلول‌های روزنه، تیمار ۲۵۰؟ بیشترین میزان تولید گیاهان هاپلوئید را داشت.

واژه‌های کلیدی: گل محمدی، تولید هاپلوئید، پرتوتابی، دانه گرده، رز.

مقدمه

هاپلوئیدها و دابل هاپلوئیدها می‌توانند به‌طور مؤثری سرعت برنامه‌های اصلاحی محصولات باغبانی را افزایش دهند (Khush & Virmani, 1996). مشکلات دستیابی به لاین خالص سبب بروز مشکل و کند شدن روند مطالعات ژنتیکی و برنامه‌های اصلاحی در این گیاهان شده است (Hofer & Grafe, 2003). با توجه به اینکه در برخی گیاهان چوبی از جمله گل محمدی (*Rosa damascena* Mill.) دوره تولید مثل طولانی و درجه هتروزیگوتی بالایی دارند و گاهی اوقات از خودناسازگاری برخوردارند، بدست آوردن گیاهان هاپلوئید با روش‌های معمول ممکن نیست (Maria, 2006).

کشت بساک، کشت میکروسپور و تولید گیاهان هاپلوئید با استفاده از پرتوتابی گرده‌ها و کشت درون شیشه‌ای جنین‌های نابالغ از جمله روش‌های تولید گیاهان هاپلوئید می‌باشد (Musial & Przywara, 1998). در سیب با استفاده از روش بکرزایی و نجات جنین‌های نابالغ ۱۱ گیاه هاپلوئید (Zhang & Lespinasse, 1991) و در نارنگی تعداد ۵ گیاه هاپلوئید در دزهای ۱۵۰ و ۳۰۰ گری اشعه گاما به‌دست آمد (Frolicher et al., 2007). در سایر محصولات از جمله گلابی (Bouvier et al., 1993)، گیلاس (Hofer & Grafe, 2003)، کیوی فروت (Chalak & Legave, 1997)، آلو (Peixe et al., 2000) و گردو (Sadat Hosseini et al., 2009) استفاده از این روش برای تولید گیاهان هاپلوئید با موفقیت همراه بوده است.

البته تاکنون تولید گیاه هاپلوئید از طریق کشت بساک در رزها به‌دلیل مشکلاتی در القاء کالوس و باززایی شاخه موفق نبوده است (Tabaeizadeh & Khosh-, 1981). اما هاپلوئیدهایی با

استفاده از پرتوتابی گرده و نجات جنین از ارقام شاخه بریده تتراپلوئید شامل سونیا (Sonia) (مترادف Sweet Promise) و لئونیداز (Leonidas) بدست آمده‌اند (El Mokadem et al., 2002; Crespel et al., 2002; Meynet et al., 1994).

گل محمدی از مهمترین گونه‌های دارویی و معطر است که در برخی از نقاط جهان و در شرایط مختلف آب و هوایی ایران پرورش می‌یابد و کشور ایران به‌عنوان منشأ این گیاه شناخته شده است (Chevallier, 1996). این گیاه در میان ۱۵۰ تا ۲۰۰ گونه و بیش از ۱۸۰۰۰ کولتیوار جنس *Rosa* (Gudin, 2000) مهمترین منبع اسانس رز به‌شمار می‌آید که توسط تولیدکنندگان عمده اسانس گل محمدی جهان نظیر ترکیه، بلغارستان و نیز ایران مورد استفاده قرار می‌گیرد. گل ارزشمندترین بخش قابل مصرف این گیاه می‌باشد که بهبود کمیت و کیفیت آن نقش مؤثری در توسعه کشت و کار و بهره‌برداری از این گیاه خواهد داشت (Tabaei-aghdaei et al., 2005). متأسفانه دوره گلدهی گل محمدی کوتاه می‌باشد. اما برخی رزهای زینتی طول دوره گلدهی بسیار طولانی و تعداد گل بالا در شاخه و بوته دارند. اگر بتوان این صفات مناسب را به گل محمدی منتقل کرد قدم بسیار بزرگی در راه اصلاح آن برداشته خواهد شد. تلاش در این زمینه، با توجه به احتمال ایجاد گیاهان هاپلوئید از طریق پارتنوژنسیس در دو گونه و بعد تهیه لاین‌های دابل هاپلوئید و دورگ‌گیری به روش معمول و یا امتزاج سلولی و ایجاد سیبریید بین گونه‌ای و نهایتاً گزینش هیبریدهای حاوی اسانس از گل محمدی و طول دوره گلدهی از رز زینتی، در پژوهش‌های آینده امکان‌پذیر خواهد بود. در همین راستا در این پژوهش تلاش شده است که از طریق پارتنوژنسیس در دو ژنوتیپ گل محمدی

پرتوتابی شده در همان روز پرتوتابی و روز بعد از آن انجام شد. سپس غنچه‌های پرتوتابی شده، داری بساک‌های حاوی دانه‌های گرده، در کنار غنچه مادری بسته شده و در ادامه گل‌ها مجدداً با پاکت پوشانده و اتیکت زده شدند. چند روز بعد از هر مرحله گرده‌افشانی، پس از قهوه‌ای شدن کلاله‌های غنچه‌های مادری آنها از حالت ایزوله خارج گردیدند.

برای تعیین قوه نامیه و بررسی تأثیر شدت دز اشعه بر دانه‌های گرده و مقایسه با گرده‌های شاهد، آزمون جوانه‌زنی دانه‌های گرده انجام شد. گرده‌ها در محیط کشتی با ترکیب ۱۵٪ سوکروز، ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر اسید بوریک (Gudin *et al.*, 1991) به اضافه ۲۵ میلی‌گرم بر لیتر نترات کلسیم در pH=۵/۸ کشت شده و در دمای ۲۴ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور قرار گرفتند. ۲۴ ساعت بعد از کشت، جوانه‌زنی دانه‌های گرده توسط میکروسکوپ نوری بررسی و دانه‌های گرده جوانه‌زده شمارش شدند و درصد جوانه‌زنی دانه‌های گرده در دزهای مختلف در ۶۰۰ دانه گرده محاسبه شد و با استفاده از نرم‌افزار SAS نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها با آزمون استیودنت نیومن کلز (Newman and Keuls) در سطح ۵ درصد بررسی شد. مقایسه برداشت میوه‌ها (هیپ‌ها) در دو زمان ۱۶ و ۱۹ روز پس از گرده‌افشانی (برای جلوگیری از سقط زود هنگام جنین‌ها به دلیل ریکالسیترانت بودن جنین گل محمدی) انجام شد. برای تعیین محیط کشت مناسب برای رشد جنین‌های نابالغ حاصل از نجات جنین گل محمدی از سه ترکیب محیطی مختلف MS استفاده گردید (جدول ۱). جنین‌ها پس از کشت جهت بررسی لزوم نیاز سرمایی برای غلبه بر خواب، به دو دسته تقسیم شده و

با استفاده از پرتوتابی دانه گرده، گیاهان هاپلوئید ایجاد گردد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در بهار سال ۱۳۸۸ در مزرعه تحقیقاتی گل محمدی گروه تحقیقات زیست‌فناوری منابع طبیعی مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، واقع در ۱۵ کیلومتری شمال غرب تهران، به طول جغرافیایی ۵۱ درجه و ۱۰ دقیقه شرقی، عرض جغرافیایی ۳۵ درجه و ۴۴ دقیقه شمالی و ارتفاع ۱۳۲۰ متر از سطح دریا انجام شد. از دو ژنوتیپ G₃₂ (با منشأ یزد) و G₄₀ (با منشأ کاشان) گل محمدی به عنوان پایه‌های مادری و ژنوتیپ G₂₂ (گل رز معطر با منشأ یاسوج) و ترکیبی از گرده ۴۰ ژنوتیپ گل محمدی از سراسر ایران موجود در مزرعه (G_M) به عنوان والدین گرده‌دهنده استفاده شد. پس از تعیین زمان مناسب جمع‌آوری گرده، غنچه‌های پدری جمع‌آوری و در دمای اطاق (۲±۲۵ درجه سانتی‌گراد) به مدت ۲ روز قرار داده شدند و پس از خشک شدن به پژوهشکده کشاورزی و پزشکی هسته‌ای منتقل و در آنجا تحت پرتودهی با اشعه گاما از منبع کبالت ۶۰ در چهار سطح ۲۵۰، ۵۰۰، ۸۰۰ و ۱۴۰۰ گری قرار گرفتند، البته تیمار اشعه صفر به عنوان شاهد به تیمارها اضافه گردید.

به منظور جلوگیری از تلقیح ناخواسته گل‌های ماده ارقام مادری، یک روز قبل از گرده‌افشانی، به وسیله پنس گلبرگ‌ها و بعد پرچم‌ها با دقت و بدون آسیب رساندن به کلاله حذف شده و بعد به وسیله پاکت‌های کاغذی مناسب به ابعاد ۲۰×۱۰ سانتی‌متر پوشانده شدند. عمل گرده‌افشانی با گرده‌های حاصل از غنچه‌های شاهد و

مورفولوژیکی استفاده گردید. برای بررسی تراکم کلروپلاست در سلول‌های روزنه از روش سری (Sari *et al.*, 1999) استفاده شد.

نیمی به‌طور مستقیم به داخل اتاق رشد و نیمه دیگر به سردخانه تاریک با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ ماه، انتقال داده شدند.

به‌منظور تعیین سطح پلوئیدی گیاهان باززایی شده از روش‌های شمارش کروموزومی و بررسی‌های

جدول ۱- محیط کشت‌های مورد استفاده در کشت‌های اولیه

کد محیط	ترکیبات
A	1/2 (Macro element) MS
B	1/2 (Macro element) MS + 400 mg/l ⁻¹ NH ₄ NO ₃ + 0.27 μM.l ⁻¹ NAA + 2,22 μM/l ⁻¹ BA (Meynet <i>et al.</i> , 1994)
C	1/2 (Macro element) MS + vit (Riboflavin 0/5 mg/l ⁻¹ + Biotin 1 mg/l ⁻¹ + Ca-Panthotinate 0/5 mg/l ⁻¹ + Fulic acid 0/5 mg/l ⁻¹)

نتایج

پرتو گاما از ۲۵۰ تا ۱۴۰۰ گری در هر دو والد مادری به‌ویژه در ژنوتیپ G₃₂، در مقایسه با دز شاهد کاهش یافت. با افزایش شدت دز اشعه گاما، میزان ریزش میوه‌ها و تشکیل بذرهای پوک و خالی از جنین نیز افزایش یافت (شکل ۳). سطوح مختلف اشعه گاما از صفر تا ۱۴۰۰ گری بر اندازه میوه‌ها مؤثر بودند و باعث کاهش اندازه آنها شدند (شکل ۳). از نظر زمان برداشت وضعیت تکاملی جنین‌ها در برداشت ۱۹ روزه بهتر از ۱۶ روزه بود.

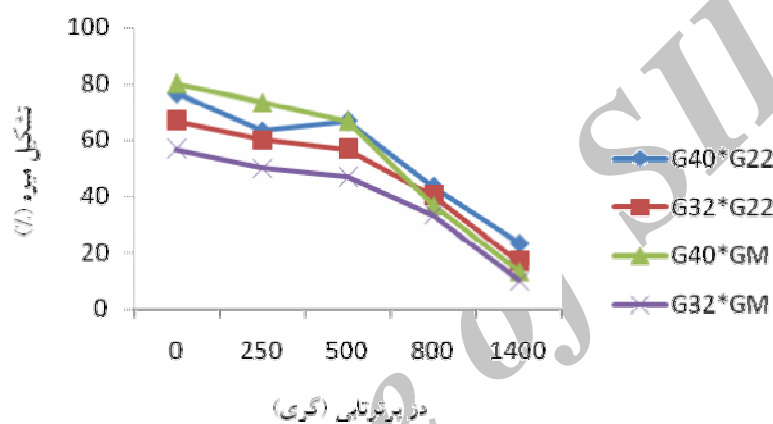
آزمون جوانه‌زنی دانه‌های گرده در محیط درون شیشه‌ای نشان داد که در هر دو ژنوتیپ G₂₂ و G_M با افزایش دز اشعه گاما از صفر تا ۱۴۰۰ گری میزان جوانه‌زنی گرده‌های پرتو دیده به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (جدول ۲). در ژنوتیپ G_M میزان جوانه‌زنی از ۳۶/۶۷ درصد در شاهد به ۲۳/۸۳۳ درصد در ۱۴۰۰ گری و در ژنوتیپ G₂₂ از ۴۹/۵ درصد در شاهد به ۲۵/۳۳ درصد در ۱۴۰۰ گری کاهش نشان داد.

همچنین درصد تشکیل میوه (شکل ۱) و متوسط تعداد بذر در هر میوه (شکل ۲)، با افزایش شدت دز

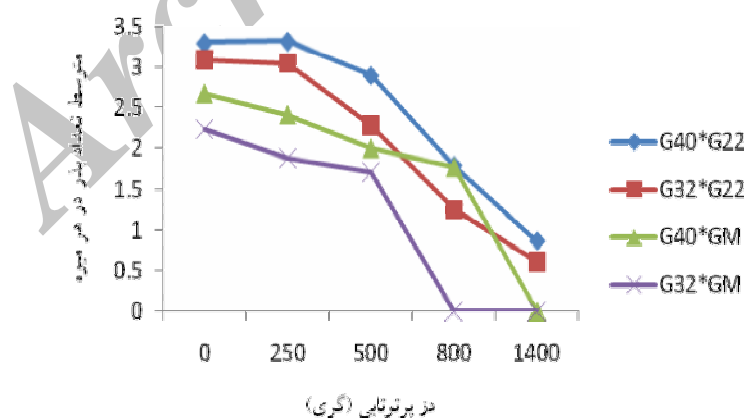
جدول ۲- درصد جوانه‌زنی در تعداد ۶۰۰ دانه گرده در هر تیمار پرتوتایی شده و شاهد در محیط درون شیشه‌ای

دز (گری)	*درصد جوانه‌زنی G _M	*درصد جوانه‌زنی G ₂₂
۰	۳۶/۶۶۷ a	۴۹/۵۰۰ a
۲۵۰	۳۴/۸۳۳ ab	۴۶/۸۳۳ a
۵۰۰	۳۴/۱۶۷ ab	۴۵/۳۳۳ a
۸۰۰	۳۰/۸۳۳ b	۳۹/۵۰۰ b
۱۴۰۰	۲۳/۸۳۳ c	۲۵/۳۳۳ c

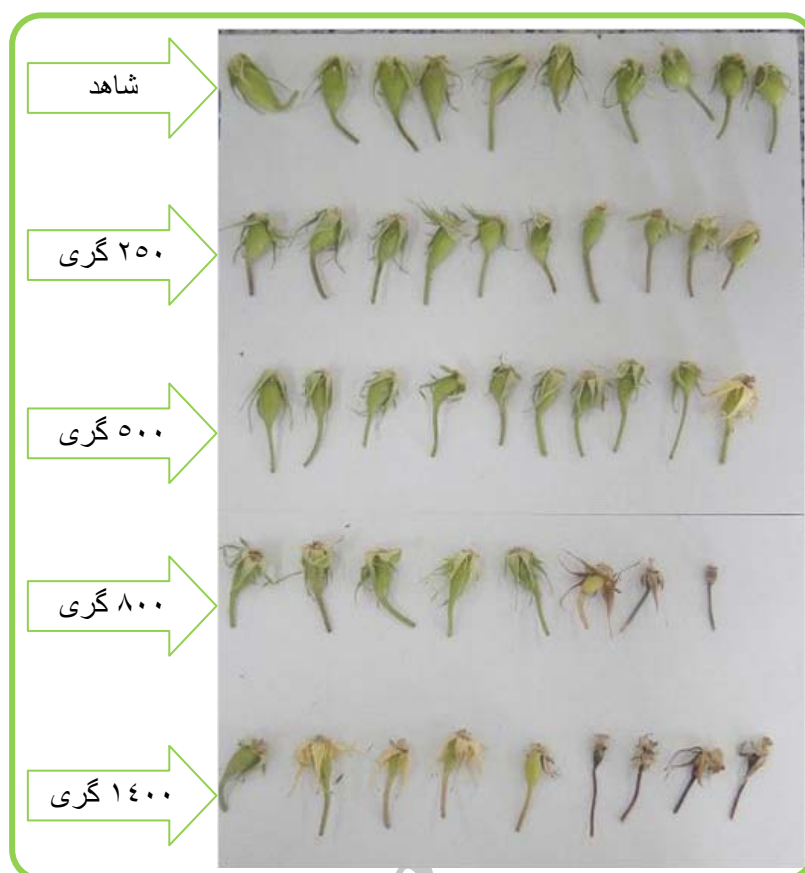
* حروف مشابه در هر ستون در سطح آلفای ۵ درصد بر اساس آزمون نیومن کلاز تفاوت معنی‌داری ندارند.



شکل ۱- نمودار اثر دزهای مختلف پرتو گاما بر میزان تشکیل میوه در تلاقی‌های مختلف گل محمدی



شکل ۲- نمودار اثر دزهای مختلف پرتو گاما بر میزان تشکیل بذر در تلاقی‌های مختلف گل محمدی



شکل ۳- اثر پرتو بر اندازه هیپ‌های حاصل از پایه G_{40} در تلاقی با گرده‌های پرتوتابی شده ژنوتیپ G_{22}

گیاه از دز ۲۵۰ گری (شکل ۵) و ۲ گیاه از دز ۵۰۰ گری حاصل شدند. در اثر گرده G_M نیز از مجموع ۱۷۷ فندقه، تنها ۶۳ جنین حاصل شد که از این تعداد جنین، فقط ۱۳ گیاهچه که ۹ تا از شاهد و ۴ تا از دز ۲۵۰ گری بودند باززایی شدند. در ژنوتیپ G_{32} از مجموع ۱۷۴ فندقه حاصل از گرده G_{22} تنها ۱۶ جنین و از مجموع ۹۲ فندقه حاصل از گرده‌های G_M تنها ۹ جنین بدست آمدند که هیچ یک قادر به باززایی گیاهچه نشدند.

از بین سه محیط کشت اولیه مورد استفاده برای کشت جنین‌ها، بیشترین جوانه‌زنی جنین‌ها در محیط $C + vit$ (MS (Macro element) $1/2$) مشاهده شد. بنابراین در بازکشت‌های بعدی از این محیط با ترکیبات هورمونی مختلف با توجه به هدف مورد نظر استفاده گردید. البته وجود تیمار سرمادهی برای رشد جنین گل‌محمدی ضروری بود. در ژنوتیپ G_{40} در اثر گرده G_{22} از مجموع ۲۲۶ فندقه، ۷۳ جنین جدا شد (شکل ۴) که از این تعداد، تنها ۲۱ گیاهچه بدست آمده که ۱۲ گیاهچه از شاهد، ۷



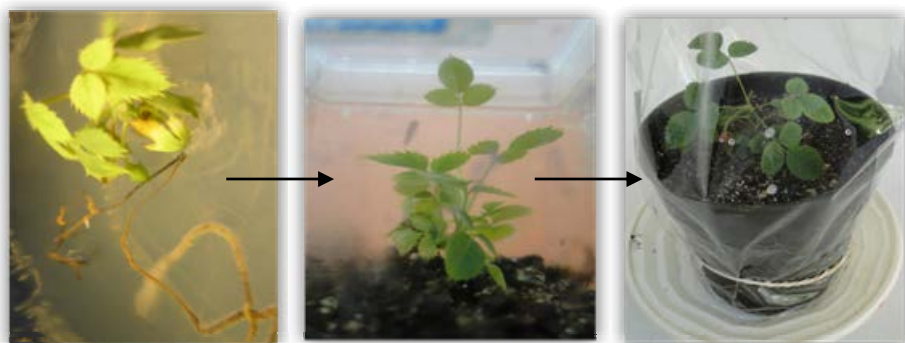
شکل ۴- برخی جنین‌های حاصل از گل محمدی در سال ۱۳۸۸: الف) جنین کامل و نرمال در داخل پوشش تستا. ب) جنین غیر نرمال. ج) جنین سقط شده. د) بذر پوک (فاقد جنین). ر) جنین کامل و بالغ



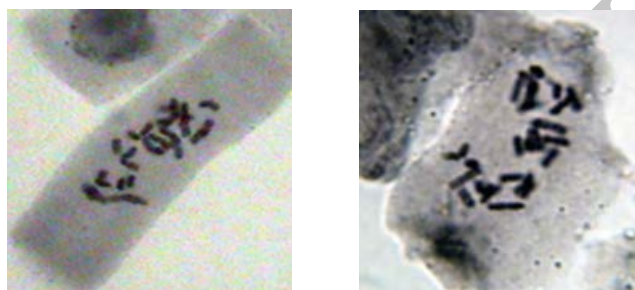
شکل ۵- نمونه‌هایی از گیاهچه‌های حاصل از تیمار اشعه ۲۵۰ گری در تلاقی $G_{40} \times G_{22}$

ساقه ظریف‌تر بودند. از روش شمارش کلروپلاست‌های سلول‌های نگهبان روزنه برای بررسی این دو گروه استفاده شد. این روش نسبت به روش‌های شمارش کروموزوم‌ها آسان‌تر و سریع‌تر می‌باشد. تعداد کلروپلاست‌ها در نمونه دیپلوئید (حاصل از تیمار شاهد)، ۳۶-۳۴ عدد و در نمونه مشکوک به هاپلوئیدی (حاصل از تیمار ۲۵۰ گری)، ۲۰-۱۸ عدد بودند که تفاوت معنی‌داری بود (شکل ۸). تیمار ۲۵۰ گری بیشترین میزان تولید گیاهان مشکوک به هاپلوئیدی را داشت.

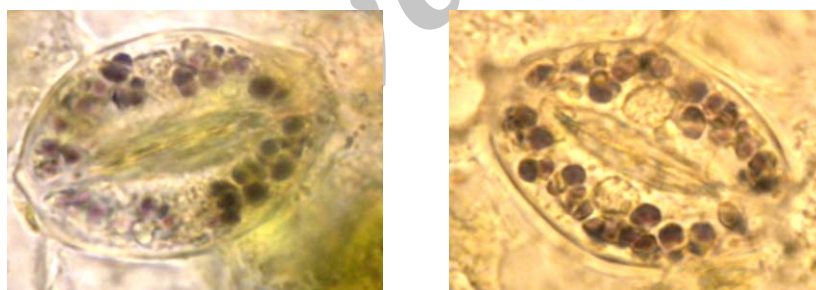
تعیین سطح پلوئیدی به روش شمارش کروموزومی، در تنها گیاه حاصل از تیمار شاهد که به گل‌دان منتقل شده بود (شکل ۶) و دارای مقدار کافی ریشه بود انجام شد و حدود ۲۸ کروموزوم در سلول‌های نوک ریشه این گیاه شمارش شد (شکل ۷). در سایر گیاهچه‌های بدست‌آمده متأسفانه به دلیل عدم تولید ریشه کافی این آزمایش موفق نبود. در بررسی‌های مورفولوژیکی مشاهده شد که تعدادی از گیاهان در تیمار ۲۵۰ گری از نظر خصوصیات ظاهری با گیاهان حاصل از تیمار شاهد متفاوت بودند. برای مثال دارای اندازه برگ کوچکتر، رنگ برگ روشن‌تر و محور



شکل ۶- تنها گیاه انتقال داده شده به خاک حاصل از تیمار شاهد در تلاقی $G_{40} \times G_{22}$



شکل ۷- کروموزوم‌های گیاهان دیپلوئید حاصل از تیمار شاهد، $2n=4x=28$



شکل ۸- تعداد کلروپلاست در سلول‌های نگهبان روزنه.
الف) گیاه دیپلوئید. ب) گیاه مشکوک به هاپلوئیدی

بحث

که شدت دز اشعه بر میزان جوانه‌زنی دانه‌های گرده را مؤثر گزارش کردند مطابقت داشت. اما با نتایج Zhang و Lespinasse (۱۹۹۱) که گزارش کردند در گرده سیب با افزایش دز پرتو از صفر تا ۱۰۰۰ گری بین میزان

نتایج آزمون جوانه‌زنی دانه‌های گرده رز معطر و گل‌محمدی با نتایج Peixe و همکاران (۲۰۰۰) در آلو اروپایی و Sadat Hosseini و همکاران (۲۰۰۹) در گردو

بودند که با گزارش Zhang و Lespinasse (۱۹۹۱) در سبب مطابقت نداشت، اما با نتایج Sadat Hosseini و همکاران (۲۰۰۹) در گردو مطابقت داشت.

بنابراین وجود اختلاف معنی‌دار بین تعداد کلروپلاست سلول‌های روزنه در گیاهان دیپلوئید و گیاهان مشکوک به هاپلوئیدی، که با نتایج Yang و همکاران (۲۰۰۵) و Sadat Hosseini و همکاران (۲۰۰۹) مطابقت داشت، نشان داد که احتمالاً بین سطوح پلوئیدی مختلف در گل محمدی در غلظت کلروپلاست‌ها تفاوت وجود دارد. Kurtar و همکاران (۲۰۰۲) دزهای ۲۵ و ۵۰ گری در کدو و Frolicher و همکاران (۲۰۰۷) دزهای ۱۵۰ و ۳۰۰ گری در نارنگی را بهترین دزها برای به دست آوردن گیاهان هاپلوئید گزارش کردند. اما به نظر می‌رسد پرتوتابی دانه‌های گرده به وسیله اشعه گاما برای تولید گیاهان هاپلوئید به روش بکرزایی القائی موفق است و لازم است پژوهش‌های بیشتری با کاربرد طیف وسیعی از دزهای اشعه گاما و با صرف وقت و دقت بیشتر در این زمینه صورت پذیرد.

سپاسگزاری

در پایان از تمام عزیزان گروه مستقل تحقیقات زیست‌فناوری منابع طبیعی مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور و همچنین آقای مهندس فتح‌اللهی (کارشناس ارشد بخش دزیمتری پژوهشکده کشاورزی و پزشکی هسته‌ای) و سایر دوستانی که به هر نحو در انجام این پژوهش ما را یاری نمودند بی‌نهایت سپاسگزاریم.

جوانه‌زنی تفاوت معنی‌داری وجود ندارد و همچنین Frolicher و همکاران (۲۰۰۷) که میزان جوانه‌زنی در گرده نارنگی را از ۸۵ درصد در شاهد به ۷۸ درصد در دز ۹۰۰ گری گزارش کردند مطابقت نداشت. تفاوت معنی‌دار در میزان جوانه‌زنی گرده‌ها با افزایش سطوح مختلف اشعه گاما در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه ما بیانگر حساس بودن گرده آنها به اشعه گاما بر خلاف درختانی از جمله سیب و نارنگی و مشابه درختانی مانند آلو اروپایی و گردو است. هر چند در مورد گل محمدی تا دوز ۵۰۰ گری اختلاف معنی‌داری با شاهد مشاهده نشد.

از نظر درصد تشکیل میوه و متوسط تعداد بذر در هر میوه نیز، نتایج ما با نتایج Przywara و Musial (۱۹۹۸) در کیوی فروت، Peixe و همکاران (۲۰۰۰) در آلو اروپایی، Frolicher و همکاران (۲۰۰۷) و Sadat Hosseini و همکاران (۲۰۰۹) مطابقت دارد. همانطورکه ملاحظه شد، درصد تشکیل میوه و متوسط تعداد بذر در هر میوه به شدت دز اشعه و نوع والد مادری و نوع والد گرده‌دهنده بستگی داشت. به طوری که G_{32} نسبت به G_{40} در تلاقی‌های مشابه همواره میزان بذر و میوه کمتری داشت. از بین والدین پدری نیز G_{22} نسبت به G_M در تلاقی‌های مشابه همواره گرده‌دهنده بهتری بود و منجر به تولید میوه و بذر بیشتری شد. دلیل تشکیل میوه کمتر در دزهای بالاتر احتمالاً ناشی از کاهش درصد جوانه‌زنی دانه‌های گرده در دزهای بالاتر، عدم رشد مطلوب لوله گرده در دانه‌های گرده جوانه‌زده و در نتیجه نرسیدن به تخمدان باشد. این نتایج با نتایج آزمون جوانه‌زنی دانه‌های گرده پرتودیده در شرایط کشت درون شیشه‌ای مطابقت دارد. میوه‌های تشکیل حاصل از دانه‌های گرده تیمار شده با دزهای ۲۵۰ تا ۱۴۰۰ گری نسبت به نوع شاهد ریزتر

منابع مورد استفاده

- Maria, A.G., 2006. Doubled haploid production in fruit crops. *Plant cell, Tissue and Organ Culture*, 86: 131-146.
- Meynet, J., Barrade, R., Duclos, A. and Siadous, R., 1994. Dihaploid plants of roses (*Rosa hybrida*, cv 'Sonia') obtained by parthenogenesis induced using irradiated pollen and *in vitro* culture of immature seeds, *Agronomie*, 2: 169-175.
- Musial, K. and Przywara, L., 1998. Influence of Irradiated pollen on Embryo and Endosperm Development in Kiwifruit. *Annals of Botany*, 82: 747-756.
- Peixe, A., Campos, M.D. Cavaleiro, C. Barroso, J. and Paisa, M.S., 2000. Gamma-irradiated pollen induces the formation of 2n endosperm and abnormal embryo development in European Plum (*Prunus domestica* L., CV.Rainha Claudia verda). *Scientia Horticulturæ*, 86: 267-278.
- Sadat hosseini, M., Vahdati, K. Lotfi, M. and Hassani, D., 2009. Induction of haploid in walnut by parthenogenesis. The 6th National Biotechnology Congress of Iran. 13-15 Agu., 2009, Tehran, Iran. 1208: 1-6.
- Tabaeizadeh, Z. and Khosh-Khui, M., 1981. Anther culture of *Rosa*, *Scientia Horticulturæ*, 15: 61-66
- Tabaei-Aghdaei, S.R., Farhangian, S. and Jafary, A.A., 2005. Comparison of flower yield among *Rosa damascene* Mill. genotypes from central regions of Iran. *Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant and Genetic Research*, 12: 377-391
- Wissemann, V., Mollers, C. and Hellwig, F.H., 1998. Microspore culture in the genus *Rosa*, further investigations, *Journal of Applied Botany*, 72: 7-9
- Yang A.F., Meng H. and Zhang J.R., 2005. *In vitro* induction of tetraploid plants from diploid *Zizyphus jujube* Mill. Cv. Zhanhua. *Plant Cell Reports.*, 24:671-676
- Zhang, Y.X. and Lespinasse, Y., 1991. Pollination with gamma-irradiation pollen and development of fruits, seeds and parthenogenetic plants in apple. *Euphytica*, 54: 101-109
- Bouvier, L., Zhang, Y.X. and Lespinasse, Y., 1993. Two methods of haploidization in Pear, *Pyrus communis* L.: Greenhouse seedling selection and *in situ* parthenogenesis induced by irradiated pollen. *Theoretical and Applied Genetics*, 87: 229-232.
- Chalak, L. and Legave., J.M., 1997. Effects of pollination by irradiated pollen in *Hayward kiwifruit* and spontaneous doubling of induced parthenogenetic trihaploids. *Scientia Horticulturæ*, 68: 83-93.
- Chevallier, A., 1996. The encyclopedia of medicinal plant. Dorling Kindersely, London, pp 336.
- Crespel, L., Gudin, S., Meynet, J. and Zhang, D., 2002. AFLP-based estimation of 2n gametophytic heterozygosity in two parthenogenetically derived dihaploids of *Rosa hybrida* L., *Theoretical and Applied Genetics*, 104: 451-456.
- El Mokadem, H., Crespel, L., Meynet, J. and Gudin, S., 2002. The occurrence of 2n-pollen and the origin of sexual polyploids in dihaploid Roses (*Rosa hybrida* L.), *Euphytica*, 125: 169-177.
- Frolicher, Y., Bassene, J. Jedidi-Neji, E. Dambier, D. Morillon, R. Bernadini, G. Costantino, G. and Ollitrault, p., 2007. Induced parthenogenesis in Mandarin for haploid production: Induced procedure and genetic analysis of plantlets. *Plant Cell Reports*, 26: 937-944.
- Gudin, S., 2000. Rose: genetics and breeding. *Plant Breed. Rev.*, 17: 159-189.
- Gudin, S., Arene, L. and Bulard, C. 1991. Influence of season on rose pollen quality, *Sexual Plant Reproduction.*, 4: 113-117.
- Hofer, M. and Grafe, C.h., 2003. Induction of doubled haploids in Sweet cherry (*Prunus avium* L.). *Euphytica* 130: 191-197.
- Khush, G.S. and Virmani, S.S., 1996. Haploids in plant breeding. In: Jain SM, Sopory SK, Veilleux RE(eds) *In vitro* Haploid Production in Higher Plants, Dordrecht: Kluwer, 1: 11-33.
- Kurtar, E.S., Sari N. and Abak K., 2002. Obtention of haploid embryos and plant through irradiated pollen technique in squash (*Cucurbita pepo* L.). *Euphytica*, 127: 335-344.

Investigation of gamma ray effects on pollen germination and parthenogenic haploid embryogenesis in *Rosa damascena* Mill.

K. Palvaneh¹, A. Ghamari Zare^{*2}, M. Lotfi³, T.S. Naraghi⁴, F. Asadi-corom⁵ and S.R. Tabaei-Aghdaei⁶

1- M.Sc., Plant production, gardening plant breeding Tehran University, Abouraihan campuse, Pakdasht, I.R. Iran

2*- Corresponding author, Assis. Prof., Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, I.R. Iran.

E-mail: ghamari-zare@rifr-ac.ir

3- Assis. Prof., Tehran University, Abouraihan campuse, Pakdasht, I.R. Iran

4- B.Sc., Research Institute of forests and rangelands, Tehran, I.R. Iran.

5- M.Sc., Research Institute of forests and rangelands, Tehran, I.R. Iran

6- Assoc. Prof., Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, I.R. Iran

Received: 10.16.2011

Accepted: 06.01.2012

Abstract

Haploid and doubled haploid (DH) plants are able to accelerate plant breeding programs. This study was conducted on gamma ray irradiated pollen grains of damask rose crosses and induced parthenogenic haploid embryos. Two genotypes of G₃₂ and G₄₀ of damask rose as maternal plant and G₂₂ and mixed of forty collected genotypes from all over the country were used as paternal plants. After determining of suitable collecting time, paternal blooms were irradiated by gamma ray from 60 cobalt in five levels 0, 250, 500, 800 and 1400 Gy. Emasculated maternal flowers were pollinated by the irradiated pollens. Fruits were collected 16 and 19 days after pollination. In order to determination a suitable culture medium the immature embryos were extracted and cultured in three combination of MS medium. To overcome the existing dormancy, half part of embryos was kept at 1-4 degree centigrade for 2 month. Fruit formation percentage and seed averages per fruit depended on ray intensity, maternal and paternal parents. Half MS + vit in was better than the other medium. Chilling was necessary for overcoming the embryo dormancy. On the basis of morphological studies, especially number of chloroplasts in guard cells, the most haploid embryos were obtained by 250 Gy.

Key words: Damask rose, Haploidization, Irradiation, Pollen grain, Rose.