

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^۱، رضا بزرگی پور^۲، سیروس محفوظی^۲، قاسم کریم زاده^۳ و
فرشاد بختیار^۴

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

۲- به ترتیب دانشیار و استادیار، مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج

۳- دانشیار، دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس، تهران

۴- مربی، مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج

تاریخ دریافت: ۱۳۸۶/۴/۱۰ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۶/۸/۱۷

باقریان، م.، بزرگی پور، ر.، محفوظی، س.، کریم زاده، ق.، و بختیار، ف. ۱۳۸۷. پاسخ سه ژنوتیپ گندم (*Triticum aestivum* L.) متحمل به سرما به تولید لاین هاپلوئید از روش حذف کروموزمی. نهاد و بذر ۲۴: ۶۰۵-۶۰۱.

روش توسط لاری و بننت
(Laurie and Bennett, 1986, 1988) و
سوتناگا و ناکاجیما
(Suenaga and Nakajima, 1989) انجام شد.
در ابتدا تحقیقات در جهت بهبود
روش های تلاقی اجزای این روش
(Laurie and Bennett, 1988)، تیمارهای
هورمونی (Matzk and Mahn, 1994)؛

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

نویسنده مسئول: bozorgi2007@yahoo.com

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). با توجه 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 بذره‌های F_1 گندم حاصل از تلاقی‌های $\text{Pishtaz} \times \text{Raptor}$ ، $\text{Pishtaz} \times \text{Mironovskaya}$ و $\text{Pishtaz} \times \text{Norstar}$ که در سال ۱۳۸۳ و ۱۳۸۴ در بخش تحقیقات غلات مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر به عنوان منابع متحمل به سرما تولید شده بودند، به همراه سه ژنوتیپ ذرت شامل SC704: H7؛ H3: KSC301 و H1: KSC108 بودند. بذر ژنوتیپ‌های ذرت برای تولید گیاهچه هاپلوئید در تعدادی گلدان کاشته شد. برای همزمان کردن مرحله گرده‌دهی گیاهان ذرت با مرحله گل‌دهی گیاهان گندم، بذره‌های ذرت ۴۵ روز زودتر از بذره‌های گندم کاشته شدند. پس از تولید جوانه، گیاهچه‌ها به گلدان‌های پلاستیکی با قطر ۲۲ سانتی حاوی مخلوطی از خاک برگ، ماسه و خاک مزرعه به نسبت ۱،۱،۲ انتقال داده شدند و در گلخانه با شرایط دمایی 20°C ، شدت نور ۳۵۰ - ۳۰۰

(Suenaga and Nakajima, 1989) دست‌ورزی محیط‌های کشت (Kammholz et al., 1996) (Comeau et al., 1992؛ Suenaga, 1994) انجام می‌شد ولی در سال‌های بعد بررسی‌ها و تلاش بیشتر روی کاربرد این مطالعات متوجه شد (Lefebvre and Devaux, 1996)؛ (Zhang et al., 1996؛ Snape, 1997). 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 ارگانسیم با تعداد کروموزم گامتی است (نصف تعداد طبیعی کروموزوم برای هر گونه). گیاه دابلد هاپلوئید با دو برابر کردن تعداد کروموزوم‌های یک گیاه هاپلوئید به وجود می‌آید. در گونه‌های دیپلوئید و آلپلوئید، دابل هاپلوئیدهای تولید شده به‌راستی تمام مکان‌های ژنی کاملاً هموزایگوت هستند. بزرگی پور 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. در این آزمایش میزان تلاقی‌پذیری برای ارقام گندم ایرانی بسیار کم اعلام شد و در نتیجه روش‌های دیگر نظیر تلاقی گندم و ذرت برای تولید هاپلوئید در ارقام گندم ایرانی پیشنهاد شد. زمان برای تولید لاین‌های دابلد هاپلوئید از کاشت گیاهان گندم تا مرحله برداشت دانه از

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 ۲۰°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 $Pishtaz \times Raptor F_1$ ، $Pishtaz \times Mironovskaya$ و $Pishtaz \times Norstar$ 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 $Pishtaz \times Mironovskaya$ بیشترین (۷/۳۵) و $Pishtaz \times Norstar$ 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. بزرگی پور و اسنپ (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.

جدول ۱- مجموع و درصد تعداد بذر، جنین و گیاهچه هاپلوئید سبز از ۱۶۰ سنبله و ۲۵۶۰ گلچه
گرده افشانی شده سه تلاقی های 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

تلاقی ها Crosses	تعداد گلچه گرده افشانی شده Pollinated floret	تعداد بذر تشکیل شده		تعداد جنین		تعداد گیاهچه سبز	
		Seed set		Embryo number		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 ^{ns}	-

ns و **: به ترتیب غیرمعنی دار و معنی دار 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

- 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.
- Zenkeler, 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.

