نشریه علمی سازمان انرژی اتمی ایران
شماره ۲۴، صفحات ۶۷ - ۵۷، ۱۳۸۰

بررسی پاسخ چند زادمون[۱] گندم به تولید تک‌لاد[۲] با روش کشت بساک

مهدی ناصری تفتی، بهنام ناصریان خیابانی، سیروس ودادی، مسعود رحیمی، اسفندیار رحمانی
مرکز تحقیقات کشاورزی و پزشکی هسته‌ای کرج، سازمان انرژی اتمی ایران

چکیده

به منظور بررسی پاسخ به سیستم کشت بساک در گندم تعداد پنج رقم (به نامهای تجن، اتیلا، ماهوتی، بافقی سفید و بافقی قرمز) و چهار لاین (F_5) در حال تفکیک[۳] و یک رقم گندم خارجی (به نام Pavon) به عنوان شاهد مورد آزمایش قرار گرفتند. بساکها در محیط القای کال‌زایی P_4 تیمار شدند. ترکیب پیش‌تیمارهای سرد و پرتودهی گاما به منظور بررسی تأثیر آن بر فرآیند کال‌زایی و گیاه‌زایی نیز مورد استفاده قرار گرفت. پرورش گیاهان‌دهنده به دلیل ثابت نبودن دماهای حداقل و حداکثر در مدّت شبانه‌روز، در شرایط متداول و مرسوم این نوع تحقیق‌ها انجام نگرفت. همهٔ ارقام مورد استفاده در محیط القا با کال‌زایی P_4 پاسخ ندادند، امّا در بین لاین‌های در حال تفکیک سه لاین ۲۰۴۴، ۲۲۰۸، ۲۰۰۵ به ترتیب بیشترین درصد کال‌زایی را نسبت به تعداد بساکهای کشت شده داشتند. پیش‌تیمار سرد فقط در لاینهای ۲۰۰۵ و ۲۰۹۷ منجر به تحریک کال‌زایی شد. ترکیب پیش‌تیمارهای سرد و پرتودهی قبل از کشت در محیط القا اثر محسوسی بر افزایش کال‌زایی لاین ۲۰۰۵ داشت. در حالیکه در لاین ۲۰۴۴ فقط ترکیب پرتودهی با دُز 2Gy و پیش‌تیمار سرد مؤثر بوده، ولی در مورد لاین ۲۰۹۷ ترکیب این پیش‌تیمارها قبل از کشت بر محیط القا اثر محسوس نداشت. تولید گیاه سبز نسبت به درصد بساکهای کشت شده در لاین ۲۰۰۵ بالاترین بازدهی را داشت و بعد از آن لاینهای ۲۲۰۸ و ۲۰۴۴ قرار داشتند. با توجّه به عدم امکان تأمین شرایط مناسب برای پرورش گیاهان دهنده، نمی‌توان پاسخ زادمون‌های بکار رفته در این مورد را مستدل تلقی کرد. تأمین شرایط مناسب برای پرورش گیاهان دهنده، اساسی‌ترین عامل برای دستیابی به نتایج قانع‌کننده از سیستم کشت بساک در بهنژادی است.

واژه‌های کلیدی: زادمون، تک‌لاد، دولاد، کشت بساک، کالوس، القا، کالوس، باززایی، جنین‌زایی، موتاسیون‌زا، جورتخم، ناجورتخم

A Survey on the response of some wheat genotypes to haploid production through anther culture system

M. Naseri Tafti, B. Naserian Khiabani, S. Vedadi, M. Rahimi, E. Rahmani
Nuclear Research Center for Agriculture and Medicine, AEOI, P.O. Box: 31585-4395, Tehran-Iran
E-mail: mehdi_nasseri@hotmail.com

Abstract

An experiment was carried out to investigate the response of five Iranian wheat cultivars (Tajan, Atila, Mahooti, red Bafghi and white Bafghi) and four segregating F_5 wheat lines compared to a tester genotype in anther culture system for the purpose of haploid production. Anthers were planted in P_4 induction medium. Cold and gamma radiation pretreatments were also applied to study the stimulating effect on calli/plantlets production. Conventional growth conditions in the green house were not met due to lack of means of controlling day temperature.

۱- genotype

۲- haploid

۳- segregation

None of the cultivars were produced calli in P_1 induction medium. The segregating F_3 lines increasing percentages of calli production belonged to lines 2044, 2208, and 2005, respectively. Cold pretreatment showed positive stimulating effect on calli production only in lines 2005, and 2097. The combined pretreatments of segregating lines before being plated in the induction medium had a significant effect in calli production regarding line 2005. In case of line 2044, however, only the gamma radiation dose of 2 Gy combined with the cold pretreatment was true. Line 2097 showed no positive effect of stimulation in calli production because of the combined pretreatments. The highest plantlet production percentage belonged to line 2005 and followed by lines 2208, and 2044. Considering that the conventional growth conditions for donor plants were not met in the greenhouse, the response to haploid production of wheat genotypes used in this experiment can not necessarily be true. The optimum donor plant growth conditions is one of the principal conditions for obtaining satisfactory results from anther culture system to be used in the breeding scheme.

۱ - مقدمه

رشد جمعیت کشور و نیاز روزافزون به محصولات کشاورزی به ویژه گندم، ایجاب می‌کند که تولید آن در کشور افزایش یابد. افزایش تولید محصولات کشاورزی را می‌توان به دو طریق عملی ساخت: افزودن سطح زیر کشت و افزودن میزان تولید در واحد سطح. افزایش تولید گندم در واحد سطح بستگی به عملکرد در آن دارد و به دو طریق قابل حصول است:

۱ - بکاربردن روشهای زراعی پیشرفته،

۲ - تولید ارقام برتر به منظور عملکرد بهتر، مقاوم شدن در مقابل آفات و تحمّل‌کردن تنش‌های محیطی و غیرمحیطی [۲].

در روشهای اصلاحی متداول تولید رقم‌های[۴] جدید در سه مرحله صورت می‌گیرد: ایجاد تنوّع، ایجاد زادهٔ جورتخم[۵] به وسیلهٔ تکرار نسلهای خود بارور، تلاقی‌های برگشت‌پذیر و انجام آزمایشهای مزرعه‌ای. چون اجرای این مراحل ممکن است حدود ده سال طول بکشد. روشهایی که بتوانند این مدّت را کاهش دهند اهمیت زیاد دارند [۲].

تولید تک‌لاد و به دنبال آن دولادشده[۶] دستیابی به جورتخمی مطلق از گیاهان لاین‌های F_1 و F_2 را در کوتاهترین مدّت ممکن می‌سازد. تک‌لادی سبب تسریع در گزینش و افزایش کارآیی در برنامه‌های اصلاحی می‌شود [۲]. تک‌لاد را می‌توان سازواره‌ای تلقی نمود که به هاگ‌گیاه[۷] شباهت دارد. با این تفاوت که زادان (ژنوم) آن در حدّ یاختهٔ زایشی (گامت) تقلیل یافته است. تک‌لاد به چند طریق در ساختار گیاه ایجاد می‌گردد: ۱ - بخودی خود، اغلب به وسیلهٔ فرآیندهای بعد از تلاقی مانند شبه‌لقاح[۸]، نیمه‌لقاح[۹]، حذف کروموزوم‌های یکی از والدین شرکت‌کننده در تلاقی و بالاخره نَرزایی[۱۰]، به عبارت دیگر گیاه‌زایی از دانهٔ گرده. ۲ - به طریق مصنوعی نیز می‌توان تک‌لادی را با روشهایی مانند حذف کرموزوم در تلاقی‌های دور (میان - گونه‌ای) و کشت گامت نر یا ماده ایجاد کرد. ۳ - کشت بساک ساده‌ترین و متداول‌ترین روش تولید تک‌لاد در بیشتر گیاهان به ویژه گندم است. با وجود ساده بودن روش، پاسخ به کشت بساک در گندم، در اثر عوامل ژنتیکی و محیط کشت محدود می‌شود. ۸۵ / کل تغییرات مشاهده شده در پاسخ به کشت بساک گندم و جو به علّت وجود عوامل ژنتیکی است [۱۰ و ۱۱]. عوامل عمدهٔ مؤثر در پاسخ‌دهی به کشت بساک گندم عبارتند از:

۴- varieties
۵- homozigote
۶- doubled haploid
۷- sporophyte
۸- pseudogamy
۹- semigamy
۱۰- androgenesis

- ***مرحلهٔ تکامل دانهٔ گرده:*** بخش اعظم تحقیقات انجام شده دربارهٔ مرحلهٔ تکامل گرده حاکی از مناسب بودن این مرحله پس‌از تقسیم میتوز[۱۱] است، یعنی زمانیکه یاخته در اواسط و اواخر فازتک‌هسته‌ای است [۱۶]. مطالعات یاخته - نورسنجی (سیتوفوتومتری) نشان می‌دهند که فاز G_1 تقسیم میتوز مناسبترین مرحله برای کشت بساک گندم است [۶، ۷ و ۱۶].

- ***محیط کشت کال‌زایی:*** تحقیقات ۳۰ سالهٔ اخیر دربارهٔ محیط رشد مناسب برای یاختهٔ گردهٔ گندم، نشانگر تنوّع قابل‌توجّه محیط‌های کشت بساک است. در میان انواع محیط‌های کشت بساک گندم، مناسبترین آنها برای کال‌زایی محیط کشت سیب‌زمینی معرّفی شده است [۱۶].

- ***اثر دما و نور در نگهداری بساک‌ها پس از کشت:*** واکنش بساک‌های کشت‌شده در گندم متأثّر از دمای محیط نگهداری کشت است. گیاهان مزرعه‌ای در دماهای ۳۰ تا ۳۲ درجه سلسیوس و گیاهان گلخانه‌ای در دماهای ۲۸ تا ۳۰ درجه بهترین پاسخ را نشان داده‌اند. پاسخ زادمون‌های متفاوت به دمای کشت از صفات وراثت‌پذیر است که تحت مراقبت چندین ژن می‌باشد [۸ و ۱۶ و ۱۸]. نور در کشت بساک چندان مؤثّر نیست و تنها بعد از انتقال کال‌های جنین‌زا به محیط باززایی ضرورت پیدا می‌کند [۱۷].

- ***محیط کشت باززایی از کال‌های تک‌لاد:*** انتخاب محیط کشت برای باززایی کال‌ها در مقایسه با محیط کشت جهت تولید کال اهمیت کمتری دارد؛ مهمترین تفاوت بین محیط کشت بساک و محیط باززایی کالها در غلظت پایین‌تر ساکاروز و «اُکسین» در محیط باززایی می‌باشد [۱۵ و ۱۶].

- ***شرایط رشد گیاهان‌دهنده:*** گیاهان‌دهنده باید به لحاظ درجهٔ حرارت (روز و شب)، نور (شدّت و کیفیت) در شرایط کاملاً مناسب پرورش داده شوند. اهمیت شرایط رشد به طور کلّی بستگی به انتخاب گرده‌های خوب و سالم دارد تا زمینهٔ پاسخ موفقیت‌آمیز بساک در محیط کشت فراهم شود. هر چند تحت شرایط مطلوب رشد تفاوت فاحشی بین گیاهان حاصل از مزرعه و گلخانه وجود ندارد، معذالک تحقیقات به عمل آمده نمایانگر کیفیت برتر بساک‌ها و ریزاگ‌های[۱۲] حاصل از شرایط مزرعه می‌باشد [۵]. به منظور داشتن گیاهان خوب و سالم، گیاه‌دهندهٔ بساک باید تحت تنش‌های محیطی و غیرمحیطی قرار گیرد [۱۰].

- ***پیش‌تیمارها:*** در بیشتر آزمایش‌های انجام گرفته به منظور تولید دولاد، پیش‌تیمار سرد در برخی دیگر برای تحریک پاسخ‌دهی به کشت بساک، پیش‌تیمار پرتو یونساز مورد بررسی قرار گرفته است [۳]. Chu، Henry و De-buyser [۸] اعلام کردند که سردکردن بساک قبل از کشت، تقسیم نامنظّم میتوزی را متوقّف کرده و در نتیجه سبب فراوانی گرده با دو یاختهٔ هم‌اندازه می‌شود؛ این یاخته‌ها منبع مناسبی برای جنین‌زایی خواهند بود. پان و همکاران [به نقل از ۱۶] اظهار داشته‌اند که تیمار سنبله‌های گندم از ۳ تا ۵ درجه سلسیوس بمدّت ۴۸ ساعت قبل از کشت سبب افزایش میزان فراوانی تولید کال و گیاه سبز شده است. آسا و همکاران [به نقل از ۱۶] گزارش داده‌اند که می‌توان بدین طریق میزان فراوانی مضاعف شدن خود به خود کروموزوم‌ها را افزایش داد. همچنین کریم‌زاده و همکاران [۹] و Ouyang [۱۷] گزارش داده‌اند که در اثر تعامل بین زادمون و مدّت پیش‌تیمار سرد نمی‌توان یک ترکیب خاص پیش‌تیمار را برای همهٔ زادمون‌ها به کار برد. ظاهراً نتایج تحقیقات پژوهشگران دربارهٔ مؤثّر بودن پیش‌تیمار سرد برای پاسخ دادن به کال‌زایی یا گیاه‌زایی، یکسان نیستند.

بنابر گزارش Liang و همکاران [۱۳]، پیش‌تیمار با دُزهای ضعیف پرتو یونساز می‌تواند پاسخ به کشت بساک را در ارقام سازگار و ناسازگار بهبود بخشد، در حالیکه در دُزهای بیش از ۷ گری باززایی به طور محسوسی کاهش می‌یابد. در دُزهای بالاتر از ۱۰ گری هیچ پاسخی گزارش نشده است.

- ***زادمون:*** تحقیقات بعمل آمده نشان می‌دهند که تفاوت چشمگیری میان زادمون‌های مختلف به لحاظ پاسخ دادن به کال‌زایی و گیاه‌زایی در سیستم کشت بساک وجود دارد. به عبارت دیگر تنوّع ژنتیکی در پاسخ‌دهی به کشت بساک بین زادمون‌های مختلف گندم دیده می‌شود [۱۷]. Chu با اِعمال تلاقی‌های متقابل نقش عامل مادر یا سیتوپلاسم را در پاسخ به کشت بساک

۱۱- mitosis

۱۲- microspores

ثابت کرده و در گزارش خود انتقال توان نرزایی به «زاده‌های F_1» را مستقل از سیتوپلاسم مادر تحت کنترل ژنهای هسته اعلام کرده است. یافته‌های Ouyang [۱۷] در رابطه با نقش ناجوری[۱۳] در پاسخ به سیستم کشت بساک گویای افزایش میزان کال‌زایی و گیاه‌زایی دورگه F_1 در مقایسه با میانگین پاسخ‌های والدین می‌باشد. به عبارت دیگر ناجوری زیاد در «زاده‌های F_1» به ویژه برای صفات کال‌زایی و عموماً برای گیاه‌زایی دیده می‌شود. میزان ناجوری با روی آوری به سوی جورتخمی کاهش می‌یابد. این پژوهشها مبتنی بر این استنباط است که ژن‌های تعیین‌کنندهٔ میزان پاسخ در جدار بساک قرار دارند نه در دانهٔ گرده، این ژن‌ها تولیدکننده موادی در جدار بساک هستند که محرّک کال‌زایی و تا اندازه‌ای عامل گیاه‌زایی در سیستم کشت بساک می‌باشد [۷ و ۱۷].

با توجّه به جایگاه ویژه‌ای که کاربرد تک‌لادی در بهنژادی گیاهان طی دو یا سه دهه اخیر یافته است، استفاده از نتایج تحقیقات پژوهشگران در این قلمرو می‌تواند زمینه‌ساز مثبتی برای ارتقای فعّالیتهای بهنژادی در کشورمان باشد. آزمایشی که جهت بررسی امکان پاسخ‌دهی به سیستم کشت بساک چند زادمون گندم در مناطق گرم و معتدل کشور انجام گرفت بدین منظور بوده است.

۲- مواد و روشها

این آزمایش در آزمایشگاه کشت بافت «گروه ژنتیک و اصلاح نباتات بخش کشاورزی هسته‌ای» در طی سالهای ۷۹-۱۳۷۸ انجام گرفت وامکان تولید گیاهان دولاد گندم. همچنین تأثیر پیش‌تیمار سرد و پرتودهی گاما در تحریک پاسخ به کشت بساک بررسی شد. برای این منظور تعداد ۱۰ زادمون گندم شامل رقم‌های آتیلا، تجن، بافقی سفید، بافقی قرمز و ماهوتی و ۴ لاین F_3 تهیّه شده از بخش غلّات مؤسّسهٔ اصلاح و نهال بذر که در شجرهٔ آنها یکی از این رقم‌ها وجود داشت و رقم بهارهٔ پاون (Pavon) به عنوان شاهد، انتخاب شدند و مورد آزمایش قرار گرفتند. جدول ۱ مواد گیاهی مورد استفاده و شجرهٔ لاین‌های F_3 را نشان می‌دهد. زادمون‌های مورد استفاده اغلب بهاره بودند و تنها

جدول ۱- گیاهان مورداستفاده در آزمایش

رقم/لاین	منشأ (شجره)
تجن	رقم بهاره
آتیلا	رقم بهاره
ماهوتی	رقم پاییزه
بافقی سفید	رقم پاییزه
بافقی قرمز	رقم پاییزه
پاون	رقم بهاره
F_{3}۲۲۰۸	1-66-22/Tjn/3/HD2172/Bloudom/A2d
F_{3}۲۰۴۴	MV17/Mahooti
F_{3}۲۰۰۵	Rsh/Atilla
F_{3}۲۰۹۷	Tbs/Flt/Atilla

سه رقم بافقی سفید، بافقی قرمز و ماهوتی از رقم‌های پائیزه‌بودند که قبل از انتقال به گلخانه به مدّت ۵ تا ۶ هفته در دمای ۴ تا ۵ درجه سلسیوس و ۱۲ ساعت نور (روز/شب) تبدیل به بهاره شدند. مواد گیاهی بهاره در گلخانهٔ شیشه‌ای بخش کشاورزی درون گلدان‌های $1\times2m$ در ۴ ردیف کاشته شدند. عملیات آبیاری و کوددهی (سرک) به مقدار لازم انجام گرفت. سنبله‌ها هنگامی که بیشتر ریزهاگ‌ها از اواسط تا اواخر فاز تک‌هسته‌ای بودند برداشت و پیش‌تیمار شدند. زمان مناسب برداشت با مطالعهٔ یاخته‌شناختی یاخته‌های گرده و مشاهدهٔ وضعیت هسته به وسیلهٔ میکروسکوپ انجام گرفت.

به منظور پیش‌تیمار سرد، سنبله‌ها پس از برداشت درون تشتک‌هایی به قطر ۱۲ سانتی‌متر قرار گرفتند و به مدّت یک هفته در دمای $4^{\circ}C$ و در نور کم تیمار شدند، سپس به محیط کشت بساک انتقال یافتند. برای انجام دادن پیش‌تیمار پرتودهی، سنبله‌ها پس از برداشت و قبل از کشت، با دزُهای ۲ و ۴ گری (Gray) پرتودهی شدند. بدین ترتیب، ترکیب پیش‌تیمار سرد و به دنبال آن پرتودهی با دُزهای پیش‌گفته به عمل آمد. برای مقایسهٔ این تیمارها شاهد(بدون پیش‌تیمار سرد و پرتودهی) در نظر گرفته

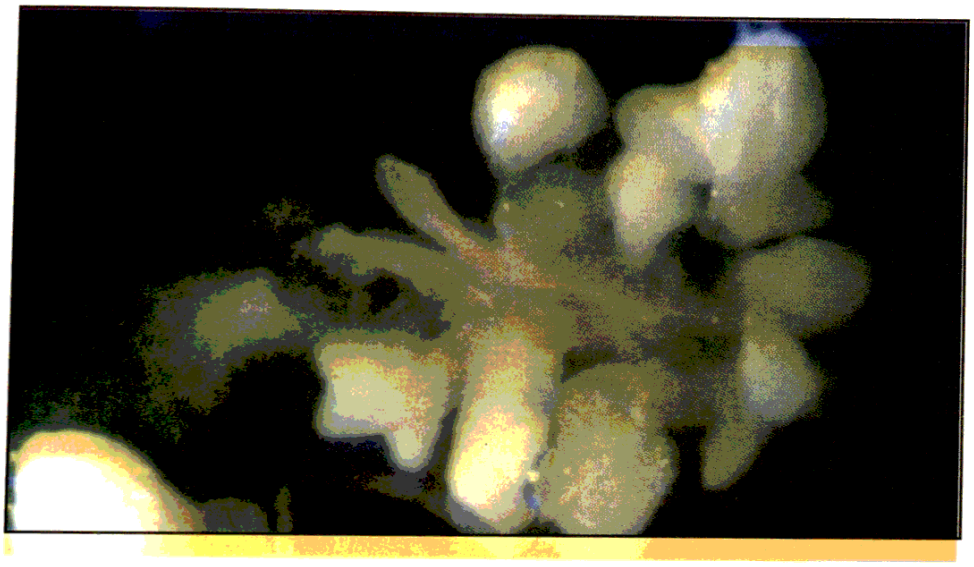
۱۳- heterosis

جدول ۲- ترکیب محیط‌های مورد استفاده برای کال‌زایی، باززایی و رشد سیستم ریشه

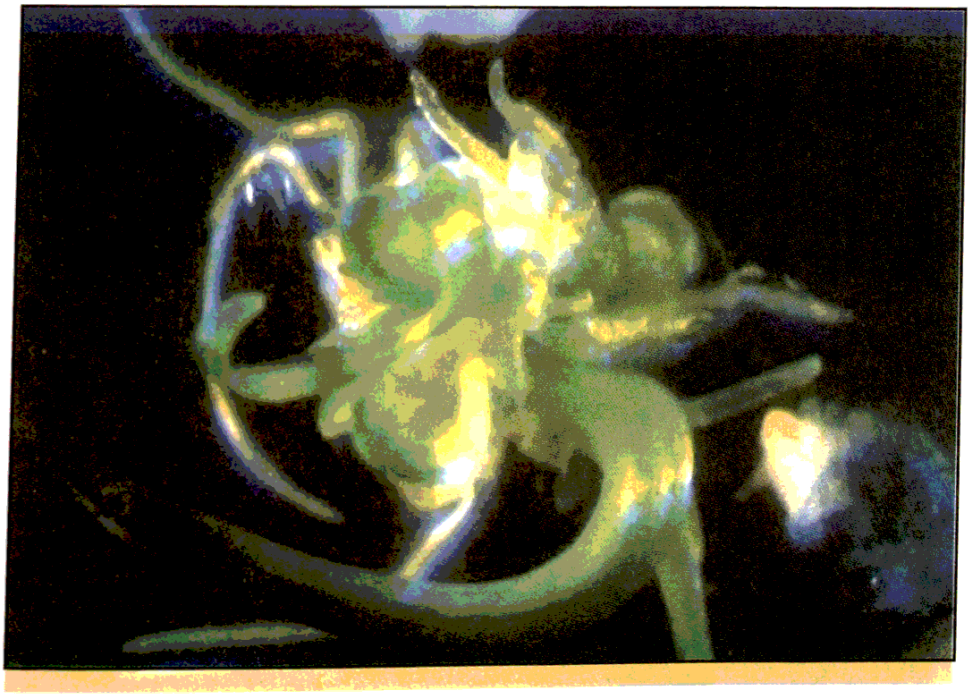
ترکیب	190-2 (mg/l)	P_4 (mg/l)	MS (mg/l)
KNO_3	۱۰۰۰	۱۱۵۰	۱۹۰۰
$(NH_4)_2SO_4$	۲۰۰	۱۰۰	-
KH_2PO_4	۳۰۰	۲۰۰	۱۷۰
$Ca(NO_3)_2.4H_2O$	۱۰۰	۱۰۰	-
$CaCl_2.2H_2O$	-	-	۴۰۰
$MgSO_4.4H_2O$	۲۰۰	۱۲۵	۳۷۰
NH_4NO_3	-	-	۱۶۵۰
KCl	-	۳۵	-
$MnSO_4.4H_2O$	۸	-	۲۲/۳
$ZnSO_4.7H_2O$	۳	-	۸/۶
H_3BO_3	۳	-	۶/۲
KI	۰/۵	-	۰/۸۳
$CuSO_4.5H_2O$	-	-	۰/۰۲۵
$CaCl_2.1H_2O$	-	-	۰/۰۲۵
$FeSO_4.7H_2O$	۲۷/۸	۲۷/۷	۲۷/۸
Na_2EDTA	۳۷/۳	۳۷/۳	۳۷/۳
Sucrose	۳۰۰۰۰	۹۰۰۰۰	۳۰۰۰۰
Ficoll	-	۱۵۰۰۰۰	-
Potato extract	-	۱۰/	-

شد. برای کشت بساک، محیط کشت P_4، طبق دستورکار Zhou و Konzak [۲۰] با تغییراتی مورد استفاده قرار گرفت. به محیط‌کشت این بساک mgl^{-1} ۲۰۰ گلوتامین (Glutamine)، mgl^{-1} ۰/۵ کاینتین (Kinetein)، mgl^{-1} ۲ (2,4-D) و ۵۰ گرم در لیتر Ficoll اضافه شد. برای باززایی کال‌های حاصل از این محیط، محیط باززایی تغییر یافته ۲-۱۹۰، به اضافهٔ mgl^{-1} ۰/۵ کاینتین و mgl^{-1} ۰/۵ نفتالین‌استیک‌اسید (NAA) تهیّه شد (جدول ۲).

سنبله‌های برداشت شده پس از تعیین نوع تیمار برای کشت بساک، ابتدا با محلول هیپوکلریت سدیم ۱٪ به مدت ۱۵ دقیقه ضدعفونی سطحی شدند، سپس با آب مقطر استریل تحت شرایط استریل به مدت ۱۵ دقیقه دیگر شستشو گردیدند. پس از انجام مراحل ضدعفونی، بساک‌ها از گُلچه‌های درون سنبلچه‌ها به داخل محیط کشت P_4 منتقل شدند. بساک‌های کشت شده در دمای $30^{\circ}C$ و نور کم قرار گرفتند. کال‌ها ۳۰ تا ۳۴ روز پس از کشت بساک‌ها ظاهر شدند (شکل ۱) و هنگامی که به اندازهٔ ۱ تا ۲ میلی‌متر رشد کردند به محیط باززایی منتقل شدند و پس از ۱۰ تا ۱۲ روز گیاهچه‌های فاقد رنگ (آلبینو) یا سبز را تولیدکردند (شکل ۲). برای مطالعه رشد سیستم ریشه‌ای گیاهچه‌ها، آنها را به محیط باززایی (MS)، درون لوله‌های آزمایش انتقال داده‌ایم. به



شکل ۱ - کال‌زایی از بساک‌های کشت شده در محیط P_1



شکل ۲ - باززایی به گیاهچه سبز - آلبینو از کال‌های جنین‌زا

وسیلهٔ رنگ‌آمیزی بخشینهٔ (مریستم)[۱۴] انتهای ریشه گیاهچه‌های حاصل به روش فولگن (رنگ‌آمیزی با فوشین) [۱]. با مطالعه هسته‌مون[۱۵] و شمارش کروموزومی، گیاهان تک‌لاد و دولاد خود به خود ایجاد شده مشخّص شدند. گیاهان تک‌لاد پس

۱۴- meristem

۱۵- karyotype

از رشد کافی و در مرحله ۳ تا ۴ برگی با محلول حاوی ۰/۰۵ % کولچی‌سین[۱۶] ۲ % دی‌متیل‌سولفوکسید ۱۰ mg/l اسید جیبرلیک تیمار شدند تا گیاهان دولاد ایجاد گردند؛ گیاهچه‌های تک‌لاد پس از هرس ریشه تا محل طوقه، به مدت ۵ ساعت در دمای اتاق درون این محلول قرار گرفتند و پس از پایان تیمار و شستن ریشه و طوقه با آب روان به گلدانهایی به قطر ۱۰ سانتی‌متر منتقل شدند.

۳- نتیجه‌گیری و بحث

چون برخی از زادمون‌ها در این بررسی به کشت بساک واکنش نشان ندادند یا پاسخ آنها بسیار ضعیف بود، نتایج حاصل به صورت یک طرح آزمایشی آماری قابل تجزیه و تحلیل نبود به همین جهت این نتایج برای اطلاع در جدول ۳ ارائه شده‌اند. با مراجعه به این جدول مشخّص می‌شود که از میان زادمون‌های مورد استفاده تنها لاینهای F_3، تولید کال و گیاه کرده‌اند. با توجّه به این که شرایط محیط برای کلیّه مواد گیاهی مورد استفاده یکسان بوده‌اند می‌توان چنین استنباط کرد که پاسخ به کشت بساک به طور کلّی به زادمون گیاه دهنده بستگی دارد، به عبارت دیگر تنوّع ژنتیکی در این پاسخ دهی مشاهده می‌شود.

پاسخ ندادن یا پاسخ ضعیف دادن به سیستم کشت بساک در زادمون‌های مورد استفاده علاوه بر وابستگی زادمونی سیستم ممکن است منبعث از شرایط نامساعد رشد و پرورش گیاه‌دهنده باشد. دامنهٔ تغییرات دما در گلخانهٔ مورد استفاده نسبتاً گسترده بود و گیاهان در دمای متعادل و ثابت رشد نکردند. در مرحله زایشی دمای نسبتاً بالا بر میزان کال‌زایی تأثیر منفی دارد. این موضوع توسّط Henry و De-Buyser نیز گزارش شده است [۸]. شدّت تابش نور نیز از عوامل مؤثّر در واکنش به کشت بساک گندم بوده است، در گلخانه به دلیل فصل کار (پائیز و زمستان) و ابری بودن هوا در بیشتر روزها، شدّت تابش نور مناسب نبود. همچنین برای کنترل دما و تابش نور در روزهای آفتابی از حصیر جهت ایجاد سایه استفاده می‌شد، این عمل از بالارفتن دما نیز جلوگیری می‌کرد. بنابر گزارشهای Henry، De-Buyser و Ouyang نور زیاد در مرحلهٔ زایشی و تقسیم میتوز و یا بلافاصله قبل از آن باعث فراوانی کال‌زایی می‌شود [۸ و ۱۷]. بنابر عقیده Chu روزهای کوتاه و نور شدید کال‌زایی را تحریک می‌کند [۳]. این گزارشها می‌توانند تأییدی بر علّت پاسخ ضعیف به کشت بساک در آزمایش انجام شده باشند.

گرچه پاسخ به کشت بساک به خوبی توسّط زادمون گیاه‌دهنده کنترل می‌شود، امّا شرایط رشد گیاه‌دهنده هم در آن بسیار مؤثّرند. سه عامل دما، کیفیت نور و شدّت تابش آن با کشت بساک گندم در تعامل‌اند. به همین جهت رقم پاون که به عنوان شاهد در این بررسی به کار رفته است، با آنکه در اکثر منابع موجود به عنوان رقم، با پاسخ‌دهی بسیار بالا معرفی شده در این آزمایش پاسخی نشان نداده است.

مقایسهٔ لاینهای F_3 با یکدیگر نشان می‌دهد که لاین ۲۰۰۵ کال‌زایی و گیاه‌زایی بیشتری نسبت به سایر زادمون‌ها و حتی نسبت به سایر لاینهای در حال تفکیک F_3 داشته است. با توجّه به اینکه این لاینها در حال تفکیک صفت‌ها بوده‌اند، پاسخ بالای آنها نسبت به رقم‌های مورد استفاده و همچنین پاسخ برتر لاین ۲۰۰۵ نسبت به سایر لاینها احتمالاً به دلیل انتقال زادان (ژنوم) یک زادمون سازگار با کشت بساک به این لاینها بوده است. صفت کال‌زایی و گیاه‌زایی وراثت‌پذیری بالایی داشته و ارزش وراثتی حدود ۶۰ تا ۷۰ درصد را نشان داده است [۴، ۵، ۷، ۱۲ و ۱۹]. با توجّه به شجرهٔ لاین ۲۰۰۵ که یکی از والدین آن رقم روشن است و این رقم جزو رقم‌های نسبتاً سازگار با کشت بساک می‌باشد [۲]، می‌توان دلیل پاسخ بالای این لاین را حضور رقم روشن در شجرهٔ آن دانست. با توجّه به شجرهٔ سایر لاینهای در حال تفکیک می‌توان نشان داد که رقم روشن در هیچیک از آنها به عنوان والد بکار نرفته است و این خود توجیه پاسخ ضعیف آنها به این روش در مقایسه با لاین ۲۰۰۵ می‌باشد.

تعدادی از پژوهشگران، بخش اعظم پاسخ به کشت بساک را به علّت غلبه داشتن اثرهای روایستایی[۱۷] در زاده‌های ناجور

۱۶- colchicine، (آلکالوئیدی به فرمول $C_{22}H_{25}NO_6$ که کاربرد دارویی دارد و از گیاه سولنجان بدست می‌آید.)

۱۷- epistasi

جدول ۳- نتایج حاصل از کشت بساک در زادمون‌های مورد آزمایش

زادمون	نوع تیمار	تعداد بساک‌های کشت شده	تعداد کال در ۱۰۰ بساک	تعداد گیاه سبز در ۱۰۰ کال	تعداد گیاه فاقد رنگ در ۱۰۰ کال
نجن	کنترل	۹۳۰	-	-	-
	پیش‌تیمار سرد	۹۲۰	-	-	-
	۲Gy	۹۷۰	-	-	-
	۴Gy	۷۵۰	-	-	-
	Cold+۲Gy	۷۷۰	-	-	-
	Cold+۴Gy	۴۷۰	-	-	-
	Total	۴۸۱۰	-	-	-
آنیلا	کنترل	۷۶۰	-	-	-
	پیش‌تیمار سرد	۹۲۰	-	-	-
	۲Gy	۷۸۰	-	-	-
	۴Gy	۹۷۰	۰/۱	-	-
	Cold+۲Gy	۹۴۰	-	-	-
	Cold+۴Gy	۸۸۰	-	-	-
	Total	۵۲۵۰	-	-	-
$F_{۲۲۰۸}$	کنترل	۷۰۵	۲/۹۸	۴/۷۶	۱۹/۰۵
	پیش‌تیمار سرد	۸۹۰	-	-	-
	۲Gy	۷۰۰	۰/۱۴	-	-
	۴Gy	۱۰۴۵	-	-	-
	Cold+۲Gy	۷۸۰	-	-	-
	Cold+۴Gy	۸۳۰	-	-	-
	Total	۴۹۵۰	۰/۴۴	۴/۵۵	۱۸/۱۸
$F_{۲۲۰۴۴}$	کنترل	۸۰۵	۵/۷۱	۲/۱۷	۶/۵۲
	پیش‌تیمار سرد	۹۹۰	-	-	-
	۲Gy	۶۴۰	-	-	-
	۴Gy	۷۲۰	-	-	-
	Cold+۲Gy	۸۹۰	۱۳/۲۶	۴/۲۴	۱۴/۴۱
	Cold+۴Gy	۸۹۵	-	-	-
	Total	۴۹۴۰	۳/۳۲	۳/۷	۱۲/۳۵
$F_{۲۲۰۰۵}$	کنترل	۷۸۰	۱/۷۹	۷/۱۴	-
	پیش‌تیمار سرد	۷۵۰	۳/۶	۱۱/۱۱	-
	۲Gy	۷۰۰	۹/۲۹	۱۶/۹۲	-
	۴Gy	۷۷۰	۱۸/۵۷	۱۸/۸۸	-
	Cold+۲Gy	۶۰۰	۲۱/۳۳	۳۹/۰۶	۰/۷۸
	Cold+۴Gy	۸۴۰	۷/۹۸	۱۷/۹	۲/۹۹
	Total	۴۴۴۰	۸/۹۴	۳۳/۶۷	۰/۷۶
$F_{۲۲۰۹۷}$	کنترل	۷۶۰	-	-	-
	پیش‌تیمار سرد	۸۷۰	۱/۶۱	۵۰	۱۴/۲۸
	۲Gy	۸۲۰	-	-	-
	۴Gy	۹۶۰	۱/۶۷	۴۳/۷۵	-
	Cold+۲Gy	۷۷۵	۱/۸۱	-	-
	Cold+۴Gy	۹۰۰	-	-	-
	Total	۵۰۸۵	۰/۸۱	۳۴/۱۵	۴/۸۷
ماهوتی	کنترل	۵۷۰	-	-	-
	پیش‌تیمار سرد	۳۰۰	-	-	-
	۲Gy	۷۰۰	-	-	-
	۴Gy	-	-	-	-
	Cold+۲Gy	۶۰۰	-	-	-
	Cold+۴Gy	۴۵۰	-	-	-
	Total	۲۶۲۰	-	-	-
بدفلی سفید	کنترل	۵۰۰	-	-	-
	پیش‌تیمار سرد	-	-	-	-
	۲Gy	-	-	-	-
	۴Gy	۴۵۰	-	-	-
	Cold+۲Gy	۴۲۰	-	-	-
	Cold+۴Gy	۴۵۰	-	-	-
	Total	۱۸۲۰	-	-	-

ادامهٔ جدول ۳:

ردمون	نوع تیمار	تعداد گیاه کشت شده	تعداد کال در ۱۰۰ بساک	تعداد گیاه سبز در ۱۰۰ کال	تعداد گیاه فاقد رنگ در ۱۰۰ کال
بافتی قرمز	کنترل	۶۰۰	-	-	-
	پیش‌تیمار سرد	۶۰۰	-	-	-
	۲Gy	-	-	-	-
	۴Gy	-	-	-	-
	Cold + ۲Gy	۱۵۰	-	-	-
	Cold + ۴Gy	-	-	-	-
	Total	۱۴۵۰	-	-	-
پوک	کنترل	۹۰۰	-	-	-
	پیش‌تیمار سرد	۸۹۰	-	-	-
	۲Gy	۹۵۰	-	-	-
	۴Gy	۹۰۰	-	-	-
	Cold + ۲Gy	۷۸۰	-	-	-
	Cold + ۴Gy	۸۰۰	-	-	-
	Total	۵۲۲۰	-	-	-

تخم گزارش کرده‌اند [۵، ۸، ۱۲ و ۱۹]. این مطلب دلیل برتری لاینهای ناجور تخم را نسبت به جور تخم توجیه می‌کند.

بررسی تأثیر پیش‌تیمار سرد بر مجموعهٔ زادمون‌های بکار رفته نشان می‌دهد که این پیش‌تیمار تأثیری بر تحریک پاسخ به‌کشت‌بساک نداشته است [۱۰ و ۱۵]. هنری و دی‌بایز اظهار داشته‌اند که پیش‌تیمار سرد برای گیاهان در شرایط مزرعه مناسب نیست [۸]، و چون شرایط متغیّر رشد گیاه در گلخانهٔ مرکز تحقیقات کشاورزی هسته‌ای مشابه شرایط مزرعه بوده است، احتمالاً به همین دلیل زادمون‌های مورد استفاده به پیش‌تیمار سرد پاسخ نداده‌اند.

پرتودهی سنبله‌ها قبل از کشت با دُزهای ۲ و ۴ گری تأثیر مثبتی در افزایش پاسخ به کشت بساک در زادمون‌ها، به غیر از لاین ۲۰۰۵، نداشته است. تیمار پرتودهی تنها در زادمونی که به کشت بساک پاسخ داده بود باعث تحریک کال‌زایی و گیاه‌زایی شده است به طوری که نسبت به شاهد هم این زادمون افزایش قابل‌توجّهی نشان می‌دهد. مقایسهٔ تیمارهای ۲ و ۴ گری در این زادمون نیز تفاوت قابل توجّهی را نشان می‌دهد. به عبارت دیگر، چنین استنباط می‌شود که خاصیت تحریک‌کنندگی پرتو گاما به زادمون گیاه‌دهنده بستگی دارد، زیرا سایر زادمون‌های مورد آزمایش یا واکنش نشان ندادند و یا نسبت به این تیمار کم پاسخ بودند. این نتیجه‌گیری برخلاف یافته‌های Ling و همکاران می‌باشد [۱۴]. تعامل پیش‌تیمارهای سرد و پرتودهی در سطح ۲ گری در لاینهای ۲۰۴۴، ۲۰۰۵ و در سطح ۴ گری تنها در لاین ۲۰۰۵ کال‌زایی و گیاه‌زایی را افزایش داده است. لیکن در مورد سایر زادمون‌های مورد آزمایش، اجرای این تیمارها واکنش مثبتی در پاسخ آنها به روش کشت بساک نشان نداده است؛ علاوه بر عدم پاسخ‌دهی چنین زادمون‌ها به کشت بساک، این مشاهدات به طور کلّی بیان‌کنندهٔ بستگی تأثیر دُزهای پایین اشعه گاما بر زادمون گیاه‌دهنده می‌باشد و این نتیجه‌گیری با یافته‌های Ling و همکاران مطابقت دارد.

نتایج حاصل از این آزمایش و بررسی منابع متنوّعی که در این زمینه وجود دارد بیانگر نیاز این سیستم به موارد زیر برای دستیابی به اهداف بهنژادی گیاهان زراعی است:

۱ - به منظور استفاده بهینه از سیستم تولید دولاد روشی باید اتخاذ گردد که کمترین وابستگی زادمونی در آن وجود داشته باشد، بدین لحاظ تلاقیهای دور از هم ذرّت × گندم توصیه می‌شود.

۲ - صفات لاینهای دولاد باید به گونه‌ای باشند که در شرایط مزرعه پایداری قابل توجّهی نشان دهند.

۳ - تولید لاینهای دولاد باید به لحاظ آماری به اندازه‌ای باشد که بهنژادگر بتواند از آن در برنامه‌های اصلاحی استفاده کند.

References

۱ - مسعود رحیمی، رضا مقانی، "بررسی اثر ۸ هیدروکسی کینولین بر پنبه بومی خوزستان" ، پایان‌نامه کارشناسی، دانشگاه شهید چمران اهواز، (۱۳۶۶).

۲ - بهنام ناصریان خیابانی، مصطفی ولیزاده، فرامرز مجد، حمداله کاظمی، مسعود رحیمی، "بررسی تاثیر زادمون محیط کشت و تیمار سرد بر کشت بساک لاین‌های موتاسیون‌زای گندم" ، نشریه علمی سازمان انرژی اتمی ایران، شماره ۲۲، (۱۳۷۹).

3. C.C. Chu, Haploid in plant improvement. In: I.K. Vasil, W.R. Scowroft and K.J. Frey (eds). "Plant improvement and somatic cell genetics." Academic press. pp:122-158 (1982).

4. H. Ekiz and C.F. Konzak, "Preliminary diallele analysis of anther culture response in wheat (Triticum aesticum L.) plant breeding," 113,49-52 (1994).

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

6. H. Han, "Wheat improvement through anther culture. In: Y.P.S. Bajaj (ed). Biotechnology in Agriculture and forestry 2," Springer Verlag. pp: 55-72 (1986).

7. D.S. Hassawi and G.H. Liang, "Effect of cultivar incubation temperature and stage of micropore development on anther culture in wheat and triticale. Plant breeding," 105,332-336 (1990).

8. H. Henry and J. De-buyser, "Wheat anther culture. In: Y.P.S. Bajaj (ed). Biotechnology in Agriculture and forestry," Spring-Verlag. Vol 13. pp :285-352 (1990).

9. B. Henry, "Wheat anther culture: effect of temperature. In: Y.P.S. Bajaj (ed). Biotechnology in Agriculture and forestry," Springer Verlag. Vol 13. pp: 403-415 (1990).

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

11. K.J. Kasha, Q. Yao, E.Simoin, T. Hu and R.Oro, "Production and application of doubled haploids in crops," Proceeding of a symposium. Vienna. pp:23-39 (1990).

12. M.D. Lazar, G.W. Schaeffer, and P.S. Baenziger, "The effect of culture environment with genotype on wheat," (Triticum aestivum) anther culture response plant Cell Reports, 8,525-529 (1990).

13. G.H. Liang, A. Xu and H. Tang, "Direct generation of wheat haploid via anther culture. Crop Science," 27,336-339 (1987).

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

15. A.A. Marsolais, G. Seguin-Swart and K.J. Kasha, "The influence of anther cold pretreatments and donor plant genotypes on invitro androgenesis in wheat," (Triticum aestivum L.) Plant Cell Tissue

Organ Culture, 3,69-79 (1984).

16.W. Nauarro-Aluarez, S.S. Baenziger, K.M. Eskridge, D.R. Shelton, V.D. Gustafson and M. Hugo, "Effect of sugars in wheat anther culture media," Plant Breeding 122(1),52-53 (1994).

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

18.J.W. Ouyang, S.M. Zhou and S.E. Jia, "The response of anther culture temperature in Triticum aestivum," theor. Appl. Genet. 66,101-109 (1983).

19.R.A. Pickering and P. Pevauk, "Haploid pruduction: Approaches and use in plant breeding," In: R.R. Sjewry (ed). Barley Geneties Biochemistry, Molecular Biology and Biotechnology, pp:519-549 (1992).

20.H. Zhou and C.F. Konzak, "Improvement of anther culture methods for haploid production in wheat," Crop Sci. 29,817-8211 (1989).

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۷۹/۹/۱۶
تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۸۰/۴/۲۴