مجله علمی-پژوهشی زراعت و اصلاح نباتات ایران
جلد ١٤، شماره ٣، پاییز ١٣٩٧، صفحات ٢٢-١٣

ISSN NO: 2008-8485

ارزیابی کاربرد هورمون اسیدجیبرلیک در بهبود تلاقی گندم × ذرت در روش حذف کروموزومی

Evaluation the application of gibberellic acid hormone in improvement of wheat × maize crosses in chromosome elimination method

حامد مدیرروستا*[1]، راحله خادمیان[1]، رضا بزرگی‌پور[2] و علی صارمی‌راد[3]

تاریخ دریافت: ١٣٩٦/٠٨/١٥ تاریخ پذیرش: ١٣٩٧/٠١/٢٠

چکیده

گیاهان هاپلوئید از این نظر بسیار مورد توجه می‌باشند که مدت‌زمان رسیدن به لاین‌های خالص را کوتاه‌تر می‌نمایند. مطالعه حاضر به منظور ارزیابی تأثیر هورمون اسیدجیبرلیک و نیز تعیین زمان‌های بهینه کاربرد آن بر تولید جنین در روش حذف کروموزومی صورت پذیرفت. از ٦ ژنوتیپ F_2 حاصل از تلاقی‌های گندم نان به‌عنوان والد مادری جهت تولید جنین‌های هاپلوئید گندم استفاده گردید. هورمون اسیدجیبرلیک به‌صورت محلول‌پاشی بر روی سنبله‌های گرده‌افشانی شده با گرده ذرت و نیز ساقه‌ها و برگ‌ها استفاده شد. زمان های کاربرد هورمون اسیدجیبرلیک عبارت از ٢ ساعت، ٢ روز، ٤ روز، ٦ روز، ٨ روز و ١٠ روز پس از گرده‌دهی بودند. بالاترین میزان بذر از ژنوتیپ شماره ٣ با ٧٦/٠٩ درصد و همچنین اسپری هورمون اسیدجیبرلیک در ٢ ساعت پس از گرده‌دهی با ٨٥/٠٩ درصد به دست آمد. بیشترین جنین هاپلوئید از ژنوتیپ شماره ٢ با ٨/٣٢ درصد و اسپری هورمون اسیدجیبرلیک در ٦ روز پس از گرده‌دهی با ٦/٩٩ درصد به دست آمد. در بین تیمارهای مورد ارزیابی هیچ‌کدام از آن‌ها بر میزان تولید جنین هاپلوئید افزایش قابل ملاحظه‌ای را نسبت به شاهد نشان ندادند. نتایج نشان داد که استفاده از هورمون اسیدجیبرلیک و نیز زمان‌های کاربرد آن در افزایش بذر و اندازه جنین نقش داشت.

کلمات کلیدی: گندم، ذرت، هاپلوئید، تلاقی بین‌گونه‌ای، تیمار هورمونی

www.iapb.kiau.ac.ir

١- به ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد و استادیار دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره)، قزوین، ایران
٢- دانشیار مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران
٣- دانشجوی دکتری تخصصی، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرج، باشگاه پژوهشگران و نخبگان جوان، کرج، ایران
*- مسئول مکاتبه E-mail: hamedmodirrosta@gmail.com

مجله علمی - پژوهشی زراعت و اصلاح نباتات دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرج

مقدمه

گندم (*Triticum aestivum* L.) متعلق به خانواده گندمیان (Poaceae) از مهم‌ترین گیاهان زراعی جهان می‌باشد و تحت عنوان سلطان غلات شناخته شده است. حدود ۲۰ درصد از زمین‌های قابل کشت در دنیا به گندم اختصاص دارد. این گیاه با سطح زیر کشت بیش از ۲۲۱ میلیون هکتار و تولید بیش از ۷۵۱ میلیون تن دانه در سال (FAO, 2017) یکی از محصولات مهم زراعی است و در طبقه‌بندی غلات به‌عنوان سومین غله مهم شناخته می‌شود (FAO, 2016) که در حدود ۱۷ درصد محصول جهانی، ۲۰ درصد پروتئین و کالری تغذیه‌ای انسان (Gupta *et al.*, 2008) و در کل نزدیک به ۳۵ درصد از غذای اصلی جمعیت جهان (Rajaram, 2010) را تأمین می‌کند. گندم در سراسر جهان رشد چشم‌گیری داشته و تولید و استفاده جهانی از آن به ۷۳۲ تا ۷۵۹ میلیون تن رسیده است (FAO, 2016). بر اساس پیش‌بینی‌ها، جهت تأمین نیاز تغذیه‌ای جمعیت بشری تا سال ۲۰۵۰ میلادی افزایش ۵۰ درصدی در عملکرد دانه غلات نیاز است (Godfray *et al.*, 2010). کشورهای چین، هند، روسیه، آمریکا، فرانسه، کانادا، آلمان، پاکستان، استرالیا و اکراین بزرگ‌ترین تولیدکننده‌های گندم در جهان هستند (FAO, 2017).

زمان در برنامه‌های به‌نژادی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. اصلاح گیاهان از طریق روش‌های تولید هاپلوئید به دلیل کاهش زمان مورد نیاز برای رشد نسل‌های در حال تفرق مورد توجه روزافزون قرار گرفته است. در اصلاح سنتی جهت دستیابی به لاین‌های خالص نیاز به حداقل ۶ نسل خودگشنی می‌باشد درحالی‌که با استفاده از روش‌های تولید گیاهان هاپلوئید اصلاح کننده نبات می‌تواند زمان رسیدن به لاین خالص را به یک سال و یا کمتر کاهش دهد.

به‌منظور تولید هاپلوئید در گندم از بساک، میکروسپور و جنین می‌توان استفاده نمود. کشت جنین هاپلوئید در روش حذف کروموزومی نسبت به روش کشت میکروسپور یا بساک به دلیل تولید بیشتر گیاهان هاپلوئید کارایی بالاتری دارد (Huang *et al.*, 1984; Kisana and Nkongolo, 1993). نخستین بار تولید هاپلوئید گندم از طریق روش حذف کروموزومی در تلاقی گندم با جو وحشی *Hordeum bulbosum* گزارش گردید (Barclay, 1975). در سال ۱۹۸۴ با استفاده از تلاقی گندم هگزاپلوئید و ذرت تولید جنین هاپلوئید گندم برای نخستین بار گزارش گردید (Nitzsche and Zenkteler, 1984). پس‌ازآن مطالعات دیگری انجام شد و نتایج آن حاکی از این بود که در تلاقی گندم و ذرت زیگوت هیبرید تولید می‌شود و طی تقسیمات میتوزی کروموزوم‌های ذرت حذف شده و در نهایت یک جنین هاپلوئید از کروموزوم‌های گندم با ۲۱ کروموزوم حاصل می‌گردد (Laurie and Bennett, 1986).

گیاهان هاپلوئید تولیدشده در این روش نمونه تصادفی از گامت‌های گندم می‌باشند. مزیت اصلی تلاقی بین گندم و ذرت در مقایسه با تلاقی گندم و جو وحشی این است که ژنوتیپ‌های گندم در روش تلاقی با ذرت مستقل از ساختار ژنوتیپی در رابطه با جایگاه‌های ژنی Kr1 و Kr2 عمل می‌کنند و نیز ژنوتیپ‌هایی از گندم که در تلاقی با جو وحشی ناموفق و تلاقی ناپذیر بوده‌اند، در تلاقی با ذرت تعداد قابل توجهی هاپلوئید تولید می‌نمایند (Laurie and Bennett, 1987).

تلاقی گندم و ذرت یک روش مناسب برای تولید هاپلوئید گندم می‌باشد زیرا ژنوتیپ در تولید هاپلوئید تأثیری ندارد (Hussain *et al.*, 2012). این در حالی است که تولید هاپلوئید از طریق کشت بساک و میکروسپور به ژنوتیپ وابسته بوده و نیز تولید گیاهان بدون کلروفیل (آلبینو) فراوانی می‌کند. از طرفی کشت میکروسپور به محیط‌های کشت پیچیده‌ای نیاز دارد که تحقیقات در مورد این محیط‌های کشت زمان و هزینه زیادی را در بر خواهد داشت؛ لذا می‌توان اذعان نمود، تولید هاپلوئید به روش تلاقی با ذرت در قیاس با سایر روش‌ها مناسب‌تر خواهد بود (Khan *et al.*, 2012; Hussain *et al.*, 2012; Niroula and Bimb, 2009).

تولید بذر در تلاقی گندم و ذرت تحت تأثیر هورمون‌های مترشحه گیاهی قرار می‌گیرد. نه‌تنها هورمون بلکه زمان و روش به‌کارگیری آن نیز بر تولید بذر اثرگذار است. اهمیت کاربرد تنظیم‌کننده‌های رشدی گیاهی به‌اندازه‌ای است که سنبله‌های باریک با گلوم‌های بسته‌تر هنگام اسپری، هورمون کمتری دریافت می‌کنند و نهایتاً بذر کمتری را تولید می‌نمایند (Najafian and Singh, 2004).

www.japb.kiau.ac.ir

اسیدجیبرلیک یکی از تنظیم‌کننده‌های رشدی گیاهی مهم است که در فرآیندهای رشد و توسعه گیاه مانند توسعه گل، دانه و میوه نقش مهمی ایفا می‌نماید (Ross *et al.*, 1997). در بسیاری از تحقیقات به مطالعه تأثیر اسیدجیبرلیک بر رشد لوله گرده و سایر اندام‌های تولیدمثلی پرداخته شده است (Bhandal and Mailk, 1979; Viti *et al.*, 1990; Setia *et al.*, 1994; Kimura *et al.*, 1996). لارتر و چائوبی (Larter and Chaubey, 1965) بر اساس نتایج تحقیقات خود گزارش نمودند، اسیدجیبرلیک سبب بهبود تلاقی جو با چاودار گردیده است.

مطالعه حاضر با هدف ارزیابی اثر اسیدجیبرلیک در بهبود تلاقی گندم با ذرت طی زمان‌های مختلف پس از گرده‌دهی انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر در آزمایشگاه هاپلوئیدی و گلخانه‌های بخش تحقیقات غلات مؤسسه اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج در سال ۱۳۹۶ پایه‌ریزی و در مرحله اجرا قرار گرفت.

مواد گیاهی مورد بررسی شامل شش ژنوتیپ حاصل از نسل F_2 گندم نان و سه ژنوتیپ ذرت SC 400، SC 301 و SC 260 بود. ژنوتیپ‌های گندم و ژنوتیپ‌های ذرت به ترتیب از بخش غلات و بخش تحقیقات گیاهان علوفه‌ای مؤسسه اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج تهیه گردیدند. ژنوتیپ‌های گندم به‌عنوان والد مادری و ژنوتیپ‌های ذرت به‌عنوان والدی پدری در تلاقی‌ها وارد شدند.

به‌منظور هم‌زمانی تولید گرده در ذرت و پذیرش دانه گرده در گندم، بذور ذرت ۴۵ روز زودتر از بذور گندم در داخل گلخانه با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد با ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی کشت شدند. به دلیل تولید متمادی دانه گرده هر هفت روز یک‌بار تعداد ۱۰ بذر از هر ژنوتیپ ذرت با قارچ‌کش کاربوکسین‌تیرام ضدعفونی گردید؛ سپس در گلدان‌های کوچک با قطر دهانه ۸ و ارتفاع ۱۰ سانتی‌متر با بستر شن دانه‌ریز کشت شدند. پس از سبزشدن و رشد کافی به گلدان‌هایی با قطر دهانه ۲۳ و ارتفاع ۱۸ سانتی‌متر با بستر کشتی که از خاک مزرعه، شن دانه‌ریز، پیت ماس که به ترتیب با نسبت‌های ۱:۱:۵ تهیه شده بود انتقال داده شدند.

هر هفت روز تعداد ۲۰ بذر از هر ژنوتیپ گندم در داخل آزمایشگاه پس از استریل با هیپوکلرید سدیم ۲٪ به مدت ۵ دقیقه و اتانول ۷۰٪ به مدت ۱ دقیقه و سپس سه بار شستشو با آب مقطر در داخل پتری دیش‌هایی به قطر ۱۰ سانتی‌متر روی کاغذ صافی کشت شدند. برای شکست خواب احتمالی بذور و جوانه‌زنی یکنواخت ابتدا در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شدند سپس به دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد انتقال یافتند و پس از جوانه‌زنی و رشد کافی در داخل گلدان‌هایی به قطر و ارتفاع ۱۳ سانتی‌متر با بستر کشتی که از خاک مزرعه، شن دانه‌ریز، پیت ماس به ترتیب با نسبت‌های ۱:۱:۵ تهیه شده بود، انتقال داده شدند.

گیاهان گندم در گلخانه با دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد و ۱۶ روشنایی که تلفیقی از نور خورشید و لامپ‌های سدیمی بود و ۸ ساعت تاریکی نگهداری شدند. زمانی که تقریباً $\frac{2}{3}$ سنبله‌ها از غلاف خارج گردیدند با بررسی مادگی گلچه‌های میانی سنبله از لحاظ فرم مادگی (دوشاخه و پروش) به صورتی که آمادگی جذب گرده را داشته باشند، سنبله‌های مناسب جهت گرده‌دهی از قسمت انتهایی ساقه برداشت شد و به آزمایشگاه منتقل گردید. گلچه‌های ضعیف بالا و پایین هر سنبله حذف شدند و $\frac{2}{3}$ انتهای گلچه‌ها با قیچی قطع شده و بدون اخته‌کردن و حذف گلچه‌های میانی بلافاصله گرده ذرت از گلخانه جمع‌آوری شد و به آزمایشگاه انتقال یافت و توسط یک قلم‌موی نرم گرده‌دهی صورت گرفت. سپس سنبله‌ها در داخل محیط کشتی که هر لیتر آن حاوی ۰/۱ گرم تنظیم‌کننده رشد 2,4-D، ۸ میلی‌لیتر اسید سولفوروز و ۴۰ گرم ساکاروز بود در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی با رطوبت ۶۵٪ نگهداری شدند. پس از گذشت دو روز محیط کشت مذکور با محیطی که حاوی تمام مواد ذکرشده به‌جز تنظیم‌کننده رشد 2,4-D بود تعویض می‌گردید. تیمار اسیدجیبرلیک (۰/۷ گرم در لیتر) در زمان‌های ۲ ساعت، ۲ روز، ۴ روز، ۶ روز، ۸ روز و ۱۰ روز بعد از گرده‌دهی روی ساقه‌ها، برگ‌ها و نیز سنبله‌های گرده‌دهی شده با گرده ذرت اسپری شد. بعد از گذشت ۲۰ الی ۲۲ روز، بذور تشکیل‌شده از سنبله‌ها برداشت شد. بذور خودگشن از بذور تلاقی گندم و ذرت جدا گشتند.

بذور حاصل از تلاقی گندم و ذرت (زیگوتی که ازاین‌پس بذر خوانده می‌شود) برای مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه

www.jabb.kiau.ac.ir

سانتی‌گراد برای شکستن خواب احتمالی جنین‌های تشکیل‌شده، نگهداری شدند. سپس بذرهای حاصل از تلاقی با هیپوکلریدسدیم ۲٪ به مدت ۵ دقیقه و اتانول ۷۰٪ به مدت ۱ دقیقه ضدعفونی شدند و پس از سه بار آبکشی با آب مقطر در زیر بینی‌کولار (Laboratory Binocular) عمل نجات جنین انجام گرفت. جنین‌های به‌دست‌آمده روی محیط کشت MS کشت داده شدند.

تعداد بذور تلاقی گندم و ذرت، بذور خودگشن و جنین تشکیل شده یادداشت‌برداری شدند با قرار دادن این داده‌ها در جدول توافق (contingency table) با استفاده از مربع کای اسکور (x^2) و با به‌کارگیری نرم‌افزار Excel و SPSS 16 مورد بررسی قرار گرفتند. به‌منظور محاسبه درصد بذور تشکیل‌شده، تعداد بذور تشکیل‌شده بر تعداد گلچه گرده‌دهی‌شده تقسیم گردید و با ضرب در ۱۰۰، درصد آن‌ها به دست آمد. درصد جنین تشکیل‌شده نیز با تقسیم تعداد جنین تشکیل‌شده بر تعداد بذر تشکیل‌شده و ضرب در ۱۰۰ حاصل شد.

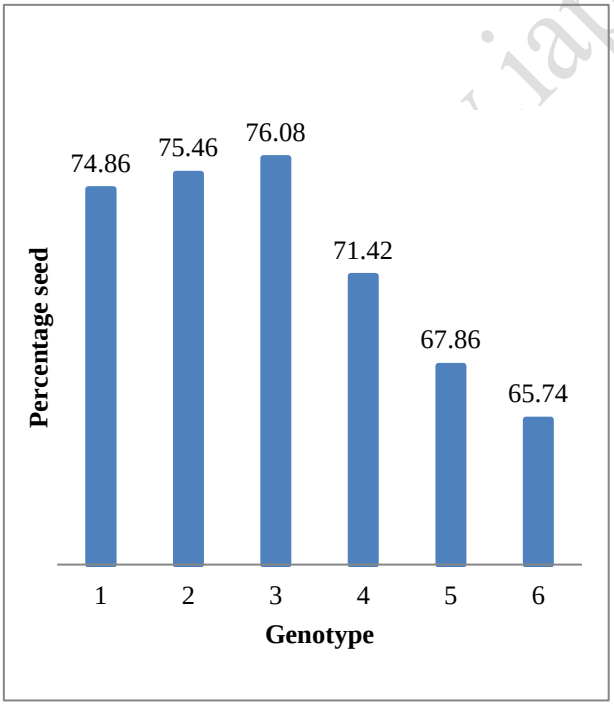
نتایج و بحث

نتایج مقایسات آماری کای‌اسکوئر نشان داد ژنوتیپ گندم و نیز تیمار اسیدجیبرلیک طی زمان‌های مختلف در تشکیل بذور تلاقی گندم با ذرت، تشکیل بذور خودگشن و جنین بسیار تأثیرگذار ($P<0.01$) است. به‌منظور بررسی بیشتر ژنوتیپ‌ها و تیمارهای هورمونی از نظر تولید و عدم تولید بذر و همچنین تولید و عدم تولید جنین، جدول‌های توافق جداگانه مورد استفاده قرار گرفتند.

تشکیل بذور تلاقی گندم با ذرت

نتایج بررسی ژنوتیپ‌ها از نظر تشکیل بذر نشان داد که بین ژنوتیپ‌های گندم در تشکیل بذر اختلاف معنی‌داری در سطح ۱٪ وجود دارد. با توجه به شکل ۱ ژنوتیپ شماره ۳ از نظر تولید بذر دارای بیشترین درصد و ژنوتیپ شماره ۶ کمترین درصد را دارا بود. این نتیجه با نتایج نجفیان و سینگ (Najafian and Singh, 2004) مطابقت داشت. خان و همکاران (Khan *et al.*, 2014) طی آزمایشی که انجام دادند در آخر اذعان نمودند که ژنوتیپ گندم و ذرت در تولید بذر در تلاقی گندم با ذرت نقش بسزایی دارد.

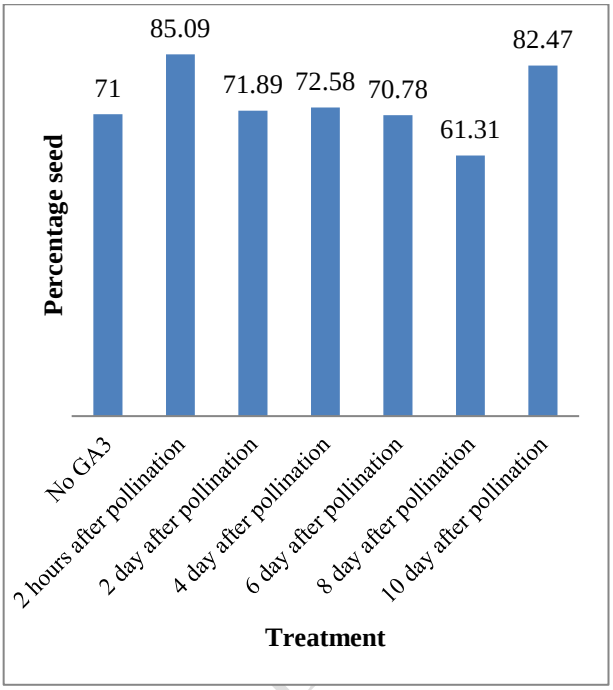
نتایج بررسی تیمارهای کاربرد هورمون اسیدجیبرلیک نشان داد که در بین زمان‌های مختلف تیمار اسیدجیبرلیک در تشکیل بذر تفاوت معنی‌داری در سطح ۱٪ وجود دارد. با توجه به نتایج (شکل ۲) بهترین زمان تیمار از نظر درصد تولید بذر تلاقی گندم و ذرت، دو ساعت پس از گرده‌دهی بوده است. پس‌ازآن تیمار هورمون اسیدجیبرلیک بعد از گذشت ده روز از گرده‌دهی قرار گرفت. از مشخص‌ترین تأثیرات هورمون اسیدجیبرلیک تأثیر بر تقسیم سلولی و رشد سلول می‌باشد؛ به‌احتمال زیاد افزایش تولید بذر در تیمار هورمون بعد از ۱۰ روز به این دلیل بوده است که گلچه‌های میانی سنبلچه‌ها که حذف نگردیده بودند، پس از رشد در طول دوره بعد از گرده‌دهی هورمون دریافت کرده و بدون دریافت گرده مادگی تحریک شده و بذر تولید نموده است. نجفیان و سینگ (Najafian and Singh, 2004) گزارش نمودند که تولید بذر در تلاقی گندم با ذرت کاملاً تحت تأثیر هورمون بوده و گلچه‌هایی که هورمون دریافت کرده‌اند بدون توجه به گرده‌افشانی، بذر تولید نموده‌اند؛ در مقابل گلچه‌هایی که هورمون دریافت نکرده‌اند، مادگی چروکیده شده و بذر تولید نکرده‌اند. البته در آزمایش آن‌ها گلچه‌ها اخته شده بودند.



شکل ۱- درصد تشکیل بذر در ژنوتیپ‌ها

Figure 1- Percentage of seed formation in genotypes

japb.kiau.ac.ir



شکل ۲- درصد تشکیل بذر در بین تیمارها

Figure 2- Percentage of seed formation among treatments

البته بایستی در زمینه تأثیر اسیدجیبرلیک بر تولید بذر لقاح نیافته، بررسی و مطالعات بیشتری انجام گیرد؛ زیرا در این تحقیق اخته‌کردن گلچه‌ها صورت نگرفته بود و بذور خودگشن نیز می‌توانست تولید گردد. اسیدجیبرلیک باعث رشد بیشتر مادگی می‌شود و این موضوع سبب افزایش طول کلاله و بیشترشدن فاصله تخمک شده که در گیاهان خودگشن سبب تولید میوه بدون لقاح می‌شود (Vivian-Smith *et al.*, 2001). رادلی (Radley, 1980) با توجه به مطالعات خود گزارش نمود که کاربرد اسیدجیبرلیک باعث افزایش نرعقیمی به دلیل جلوگیری از پاره شدن بساک‌ها در گندم می‌شود.

تشکیل بذور خودگشن

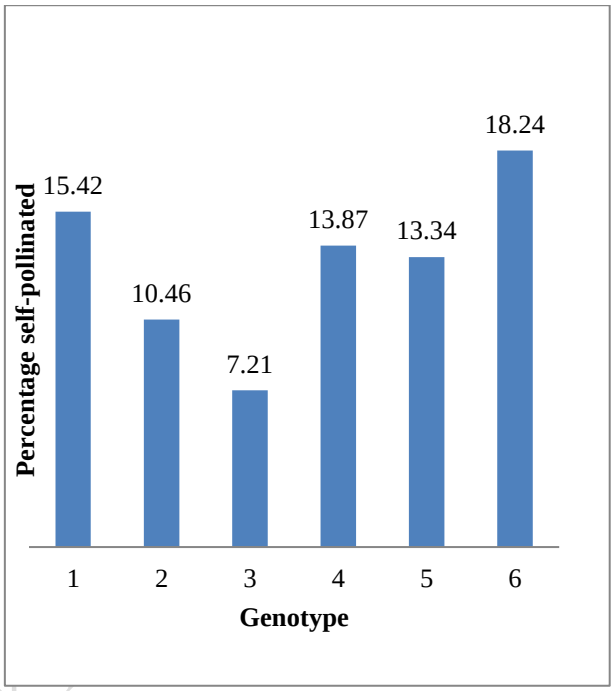
مقایسه تعداد بذور خودگشن تولید شده در تلاقی‌های انجام گرفته با استفاده از مربع کای‌اسکوئر و جدول توافق انجام گرفت. این نتایج نشان داد که بین زمان تیمار هورمونی اسیدجیبرلیک و همچنین ژنوتیپ‌های گندم در تشکیل بذور خودگشن تفاوت معنی‌داری در سطح ۰/۰۱ وجود داشت. با توجه به شکل ۳ ژنوتیپ شماره ۳ با ۷/۲۱ درصد کمترین مقدار بذر خودگشن را داشته است و در رتبه بعدی ژنوتیپ شماره ۲ با ۱۰/۴۶ درصد قرار گرفته است. لذا می‌توان به این صورت بیان نمود که در این روش مهارت فردی در انتخاب و برداشت سنبله‌های آماده دریافت گرده قبل از خودگشن شدن با گرده خویش بسیار حائز اهمیت است؛ زیرا تمام گلچه‌ها قرار گرفته در یک سنبله در شرایط مورفولوژیکی یکسانی از لحاظ آمادگی مادگی برای پذیرش گرده را ندارند (بیشترین توجه در زمان انتخاب سنبله‌ها به آمادگی مادگی‌های سنبلچه‌های میانی سنبله بود). ژنوتیپ گندم در تولید بذور تلاقی گندم و ذرت نقش داشت که این موضوع با تولید بذور خودگشن نیز در ارتباط بود؛ زیرا مادگی لقاح یافته و دیگر نمی‌تواند با گرده گندم که چند روز بعد از گرده‌دهی با گرده ذرت بالغ می‌شود، لقاح یابد و بذر تولید کند. با توجه به شکل‌های ۳ و ۴ اختلافاتی که در ژنوتیپ‌ها و زمان تیمارهای هورمون در بیشترین و کمترین بذر خودگشن تولیدشده دیده شد با میزان تولید بذر تلاقی گندم با ذرت در ارتباط بود. البته ترتیب روند کاهش یا افزایش بذور تلاقی گندم با ذرت تشکیل‌شده با بذور خودگشن تشکیل‌شده تفاوت‌هایی را نیز داشت که ممکن است مربوط به خطا در انتخاب سنبله‌ها باشد، هر چند تا حد امکان دقت در انتخاب سنبله‌ها صورت گرفت ولی با توجه به اینکه نمی‌توان تک‌تک گلچه‌ها را بازدید نمود این تفاوت‌ها ایجاد گردیده است. از این نتایج نیز مانند نتایج مربوط به تولید بذور تلاقی گندم با ذرت می‌توان نتیجه‌گیری نمود که ژنوتیپ‌های گندم و همچنین تیمارهای هورمونی در تشکیل بذور تلاقی گندم با ذرت نقش داشتند. همان‌گونه که این تفاوت‌ها در بین ژنوتیپ‌ها و تیمارهای هورمون در شکل‌های ۱ و ۲ در میزان تشکیل بذور تلاقی گندم با ذرت مشاهده گردید. بدون در نظر گرفتن گلچه‌هایی که هیچ‌گونه بذری تولید نکرده‌اند میزان بذور تلاقی گندم با ذرت و خودگشن در ژنوتیپ‌ها و زمان تیمار هورمون یک روند مشخصی را داشتند و باهم در ارتباط بودند. در ژنوتیپ‌هایی که کمترین بذر خودگشن در آن‌ها تشکیل شده بود، بیشترین میزان بذر تلاقی گندم با ذرت را نیز داشتند.

تولید جنین

بررسی نتایج مربوط به تولید جنین هاپلوئید با استفاده از آزمون کای‌اسکوئر حاکی از وجود اختلاف معنی‌دار در بین ژنوتیپ‌های گندم از نظر میزان تولید جنین بود. با توجه به شکل ۵ ژنوتیپ شماره ۲ با ۸/۳۸ درصد در صدر و در رتبه دوم ژنوتیپ شماره ۶ با ۶/۰۴ درصد از نظر تولید جنین قرار گرفتند. بقیه ژنوتیپ‌ها با اختلاف کم در یک مجموعه قرار گرفتند. خان و همکاران (Khan *et al.*, 2014) گزارش نمودند، افزایش تولید

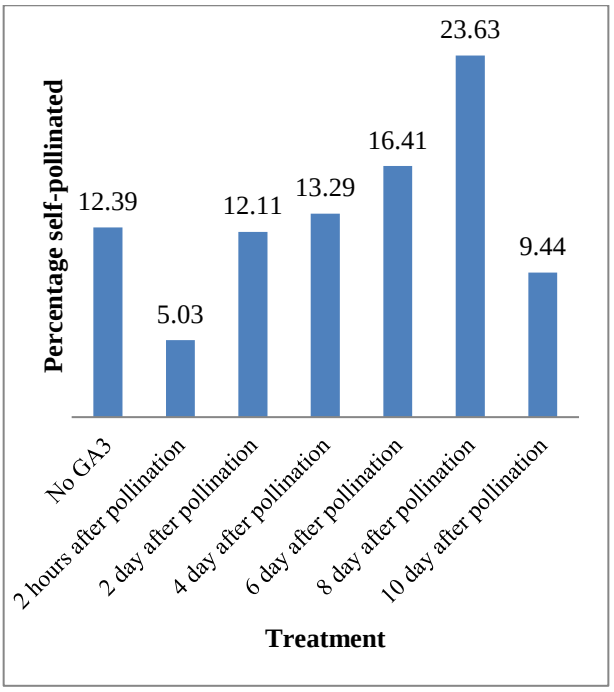
www.rpd.kiau.ac.ir

بذر الزاماً به افزایش تولید جنین هاپلوئید منجر نخواهد شد. در این مطالعه نیز اگرچه ژنوتیپ شماره ۳ بیشترین میزان بذر تلاقی گندم با ذرت را تولید نمود ولیکن بیشترین درصد جنین با توجه به شکل ۵ از ژنوتیپ شماره ۲ به دست آمد.



شکل ۳- درصد بذر خودگشن در ژنوتیپ‌ها

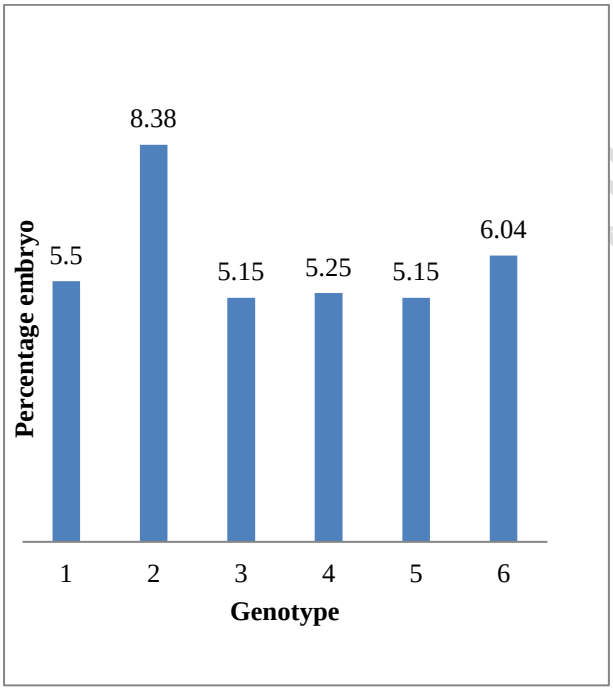
Figure 3- Percentage of self-pollinated seed in genotypes



شکل ۴- درصد بذر خودگشن در بین تیمارها

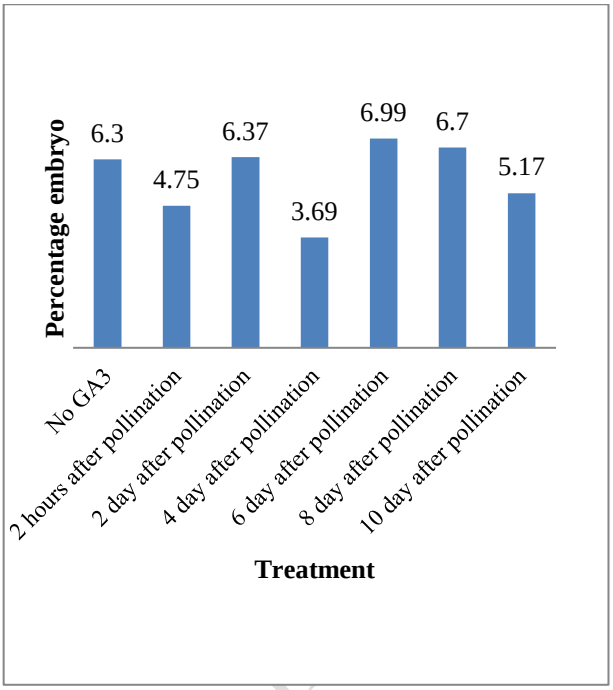
Figure 4- Percentage of self-pollinated seed among treatment

بررسی زمان‌های استفاده از هورمون اسیدجیبرلیک در تشکیل جنین (شکل ۵) نشان داد با توجه به درصدهای به‌دست‌آمده از تعداد جنین تشکیل‌شده در زمان‌های استفاده از هورمون اسیدجیبرلیک بیشترین درصد به‌دست‌آمده مربوط به استفاده از هورمون در ۶ روز پس از گرده‌دهی با ۶/۹۹ درصد بود که با تیمار عدم مصرف هورمون با ۶/۳۰ درصد تولید جنین اختلاف کمی را داشت. البته در مقایسه آماری انجام‌شده با استفاده از آزمون کای‌اسکوئر بین تیمارهای انجام‌شده تفاوت معنی‌داری وجود داشت ولی با توجه به نتایج به دست آمد از این مطالعه هورمون اسیدجیبرلیک بر تشکیل جنین نقش قابل توجهی نداشت؛ زیرا تیمار عدم استفاده از هورمون اسیدجیبرلیک با تیمارهایی که بیشترین میزان جنین از آن تیمارها به دست آمد تفاوت معنی‌داری را نداشت. هورمون اسیدجیبرلیک روی تشکیل بذر و اندازه بذر می‌تواند تأثیر مثبت داشته باشد ولی روی تعداد جنین به‌دست‌آمده تأثیر قابل توجهی را نداشت.



شکل ۵- درصد تشکیل جنین در ژنوتیپ‌ها

Figure 5- Percentage of embryo formation in genotypes



شکل ۶- درصد تشکیل جنین در بین تیمارها

Figure 6- Percentage of embryo formation among treatments

مقایسه تیمار عدم استفاده از هورمون اسیدجیبرلیک با تیمار هورمون طی زمان‌های متفاوت در میزان جنین تشکیل‌شده با استفاده از آزمون کای‌اسکوئر (x^2) و استفاده از جدول توافق دوطرفه ۲ × ۲ نشان داد که عدم استفاده از هورمون تنها با تیمارهای اسپری هورمون در ۲ ساعت و ۴ روز پس از گرده‌دهی تفاوت معنی‌داری در سطح ۱٪ داشته و با بقیه تیمارها اختلاف معنی‌داری نداشته است. اسپری هورمون در ۲ ساعت و ۴ روز پس از گرده‌دهی میزان جنین تشکیل‌شده را کاهش داده است درحالی‌که که اسپری هورمون در ۲ ساعت پس از گرده‌دهی تعداد بذر تشکیل‌شده را افزایش داده است، باعث کاهش تعداد جنین تشکیل شده گردیده است. با اطلاعات کمکی دیگر نیز این تیمارها بررسی شدند که مشخص گردید تفاوت مشاهده مربوط به این دو تیمار می‌باشد. اطلاعات کمکی برای تعیین جهت یا ماهیت رابطه، شامل نسبت‌ها یا درصدهای محاسبه‌شده در هر یک از خانه‌های جدول و یا در حالت بهتر مانده‌های (residuals) محاسبه‌شده در آن‌ها می‌باشند. مانده‌ها، اختلاف مقادیر مشاهده‌شده از مقادیر مورد انتظار متناظر در هر یک از خانه‌های جدول می‌باشند که پس از استاندارد کردن، این مانده ها توزیع نرمال استاندارد خواهند داشت. برای استاندارد کردن مانده‌های خام (فراوانی مشاهده‌شده منهای فراوانی مورد انتظار شده) به جذر فراوانی مورد انتظار در آن خانه جدول تقسیم می شود. مقادیر مثبت و منفی این مانده‌ها به ترتیب وجود فراوانی بیامد به ترتیب بیشتر و کمتر از مورد انتظار را در خانه‌های جدول نشان می‌دهد که معمولاً مقادیر مطلق بزرگ‌تر از ۲ مانده‌ها قابل ملاحظه در نظر گرفته می‌شود که نشان می‌دهد، باعث بزرگ شدن مقدار کای‌اسکوئر و در نتیجه معنی‌داری آن شده است. اطلاعات به‌دست‌آمده از این مقادیر با اطلاعات به‌دست‌آمده از جدول توافق دوطرفه ۲ × ۲ مطابقت دارد و جهت رابطه را مشخص می‌نماید و باعث مشخص شدن روند کاهش یا افزایش در رابطه می‌شود.

نتیجه‌گیری کلی

مطالعه حاضر نشان داد که استفاده از هورمون اسیدجیبرلیک در زمان‌های بررسی‌شده می‌تواند باعث افزایش تشکیل بذر شود ولی با توجه به اینکه در این تلاقی هدف تولید جنین هاپلوئید و نهایتاً گیاه هاپلوئید می‌باشد این هورمون بر روی تشکیل جنین در این تحقیق تأثیر نداشته است و عدم استفاده و همچنین استفاده از هورمون اسیدجیبرلیک در زمان‌های بررسی‌شده، تأثیری در افزایش تولید جنین‌های هاپلوئید نداشت. لیکن با توجه به مشاهدات، استفاده از اسیدجیبرلیک سبب تولید جنین‌های هاپلوئید گندم با کیفیت و درشت‌تر می‌گردد که نجات جنین از این بذور راحت‌تر انجام می‌گیرد و همچنین می‌توان گیاهان هاپلوئید بیشتری از این جنین‌ها به دست آورد.

سپاسگزاری

از موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج و دانشگاه بین‌المللی امام خمینی قزوین تشکر و قدردانی می‌گردد.

www.iapb.kiau.ac.ir

References

فهرست منابع

Barclay, I. R. 1975. High frequencies of haploid production in wheat (*Triticum aestivum*) by chromosome elimination. Nature. 256: 410-411.

Bhandal, I.S. and C.P. Malik. 1979. Effect of gibberellic acid, (2-chloroethyl), phosphoric acid, actinomycin-D and cycloheximide on the activity and leaching of some hydrolases in pollen suspension cultures of Crotalaria juncea. Physiol Plant 45: 297-300.

FAO. 2017. Wheat production and area harvested. FAO. http://faostat.fao.org/. (Accessed on October 15, 2013).

FAO. 2015. World food and agriculture 2015. Rome: FAO http://www.fao.org/3/a-i4691e.pdf

FAO. 2016. Cereal Supply and Demand Brief (http://www.fao.org/worldfoodsituation/csdb/en/).

Huang, B., J. M. Dunwell, W. Powell, A. M. Hayter and W. Wood. 1984. The relative efficiency of microspore culture and chromosome elimination as methods of haploid production in *Hordeum vulgare* L. Z. pflanzenzucht. 92: 22-29.

Hussain, M., M. Niaz, M. Iqbal, T. Iftkhar and J. Ahmad. 2012. Emasculation techniques and detached tiller culture in wheat × maize crosses. Journal of Agricultural Research. 50: 1-19.

Hussain, B., M. A. Khan, Q. Ali and S. Shaukat. 2012. Double Haploid Production in Wheat through Microspore Culture and Wheat X Maize Crossing System: An Overview. IJAVMS. 6: 332-344.

Godfray, H. C. J., J. R. Beddington., I. R. Crute., L. Haddad., D. Lawrence., J. F. Muir., J. Pretty., S. Robinson., S. M. Thomas and C. Toulmin. 2010. Food security: the challenge of feeding 9 billion people. Science, 327: 812–818.

Gupta, P. K., R. R. Mir., A. Mohan and J. Kumar. 2008. Wheat genomics: present status and future prospects. International Journal of Plant Genomics. Article ID 896451, 36 P.

Khan, M. A., S. Shaukat, J. Ahmad, M. Kashif, A. S. Khan and M. Z. Iqbal. 2012. Use of intergeneric cross for production of doubled haploid wheat (*Triticum aestivum* L.). Journal of Science, Technology and Development. 31: 295-300.

Khan, M. A., M. Kashif, J. Ahmad, A. S. Khan, I. Khaliq, B. Fatima and S. Shaukat. 2014. Sadaf-A potential donorfor enhancing frequency of doubled haploids in wheat × maize crossing system. Pak. J. Agri. Sci. 51: 353-357.

Kisana, N. S. and K. K. Nkongolo. 1993. Production of doubled haploids by anther culture & wheat × maize method in a wheat breeding program. Plant breeding. 110: 96-102.

Larter, E. and C. Chaubey. 1965. Use of exogenous growth substances in promoting pollen tube growth and fertilization in barley-rye crosses. Canadian Journal of Genetics and Cytology. 7: 511-518.

Laurie, D. A. and M. D. Bennett. 1986. Wheat × maize hybridization. Canadian Journal of Genetics and Cytology. 28: 313-316.

Laurie, D. A. and M. D. Bennett. 1987. The effect of the cross ability loci Kr1 and Kr2 on fertilization frequency in hexaploid Wheat × Maize crosses. Theor. Appli. Genet. 73: 403-409.

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

Mahmoodi-Ghehsareh, T., B. E. Sayed-Tabatabaei, C. Ghobadi and A. Mirlohi. 2004. A Comparison between Wheat and Maize Cross and Anther Culture Method for Production of Wheat Haploid Plants. Journal of Water and Soil Science. 29: 45-54.

Najafian, G. and T. B. Singh. 2004. A Study of Hexaploid Wheat Genotypic Effects on Its Haploid Production through crossing with Maize. Iranian, J. Agric. Sci. 35: 167-176.

Niroula, R. K. and H. P. Bimb. 2009. Overview of wheat x maize system of crosses for dihaploid induction in wheat. World Applied Sciences Journal. 7: 1037-1045.

Radley, M. 1980. Effect of abscisic acid and gibberellic acid on grain set in wheat. Ann Appl Biol. 95: 409-414.

www.rpb.kpu.ac.ir

Rajaram, S. 2010. Challenges in wheat research and development. In: B. Payne and J. Ryan (Eds.). The International Dimension of the American Society of Agronomy: Past and Future. American Society of Agronomy. pp. 39-47.

Ross, J. J., I. C. Murfet and J. B. Reid. 1997. Gibberellin mutants. Physiol. Plant. 100: 550-560.

Setia, N., R.C. Setia and N. Chhabra. 1994. Interactive effects of growth hormones and calcium antagonists on germination and tube elongation of groundnut pollen. Plant Cell Incompatibility Newslett 26: 70-80.

Viti, R., S. Bartolini and C. Vitagliano. 1990. Growth regulators on pollen germination in olive. Acta Hort 286: 227-230.

Vivian-Smith, A., M. Luo, A. Chaudhury and A. Koltunow. 2001. Fruit development is actively restricted in the absence of fertilization in Arabidopsis. Development. 128: 2321-2331.

Zenkteler, M. and W. Nitzsche. 1984. Wide hybridization experiment in cereal. Theor Appl Genet. 68: 311-315.

www.iapb.kiau.ac.ir

ISSN NO: 2008-8485

Iranian Journal of Agronomy and Plant Breeding
Vol 14. No. 3, 2018

Evaluation the application of gibberellic acid hormone in improvement of wheat × maize crosses in chromosome elimination method

H. Modirrousta*[1], R. Khademian[1], R. Bozorgipour[2], A. Saremi-Rad[3]

Received date: 10 November 2017 Accepted date: 09 April 2018

Abstract

Haploid plants because of this, they are noteworthy, which shorten the time to reach pure lines**.** This study aimed to evaluate the effect of hormone use gibberellic acid hormone as well as determine the optimal time took for produce embryo in the chromosome elimination method. In this study, of six F_2 genotypes product from bread wheat crosses which as a female parent were used to obtain wheat haploid embryos. Gibberellic acid hormone was sprayed on spike pollinated as well as stems and leaves. The application gibberellic acid was sprayed after lapse 2 hours, 2 days, 4 days, 6 days, 8 days and 10 days from the pollination. The maximum seed yield was obtained from genotype 3 with 76.09% and gibberellic acid spray treatment in 2 hours after pollination with 85.09%. The maximum haploid embryo was obtained of genotype 2 with 8.32% and Gibberellic acid hormone spray was obtained in 6 days after pollination with%6.99. Among the treatments, none of them showed a significant increase in compared to the control. The results showed that the use of gibberellic acid hormone played a role in increased number seed and embryo size.

Keywords: Wheat, Maize, Haploid, Interspecific hybridization, Hormonal treatment

www.iapb.kiau.ac.ir

1- Respectively Graduated Master and Asistant Professor Department of Genetic and plant breeding faculty of Agriculture and Natural Resources, Imam Khomeini, International University, Qazvin, Iran

2- Associate Professor Seed and Plant Improvement Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization Karaj, Iran

3- Ph. D. student, Department of Agronomy and Plant Breeding, Young Researchers and Elite Club, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran

* Corresponding Author: hamedmodirrosta@gmail.com

Iranian Journal of Agronomy & Plant Breeding Islamic Azad University, Karaj Branch