انتقال ژرم پلاسم سولانوم آکول به سیب زمینی زراعی با استفاده از هیبرید بین گونه‌ای تریپلوئید

جابر پناهنده و سیروس مسیحا[۱]

چکیده

سیب زمینی زراعی گونه‌ای اتوتتراپلوئید است. برخی از گونه‌های آلوتتراپلوئید(دیسومیک) مانند سولانوم آکول علی رغم یکسان بودن سطح پلوئیدیشان به‌دلیل عدد توازنی آندوسپرم متفاوت یا متعادل نبودن نسبت پلوئیدی مؤثر مادر به پدر در بافت آندوسپرم با سیب زمینی زراعی تلاقی پذیر نیستند. هدف از این آزمایش ارزیابی امکان بهره‌گیری از گونه‌های دیپلوئید و گامت‌های کاهش نیافته برای انتقال ژرم پلاسم گونه آلوتتراپلوئید به انواع تتراپلوئید زراعی بود. بدین منظور یک کلون از سولانوم فورا (دیپلوئید) با سولانوم آکول تلاقی داده شد. بذور به‌دست آمده سال بعد کشت شدند. برای ارزیابی نر باروری و نیز گرده‌های کاهش نیافته، گرده هیبریدها با محلول استوکارمن گلیسرول رنگ آمیزی و آزمون گردیدند. برای شمارش کروموزوم‌های میتوزی نوک استولون هیبریدها تثبیت، سپس هیدرولیز و با استو آهن هماتوکسیلین رنگ آمیزی و اسلایدهای میکروسکوپی به روش اسکواش تهیه شدند. برای انجام تلاقی‌های بعدی تعدادی از هیبریدها روی پایه گوجه فرنگی پیوند شدند.

بررسی‌های سیتولوژیکی نشان داد که هیبریدهای حاصل تریپلوئید هستند و نر باروری هیبریدها به‌طوری که از پلوئیدی‌های فرد انتظار می‌رود پایین بود، ولی تقریباً همه آنها با فراوانی پایین دارای گرده‌های درشت و رنگ پذیر بودند. تلاقی هیبریدهای تریپلوئید به‌صورت والد نر با گونه توبروزوم موفق نبود، ولی تلاقی معکوس تا حدی موفق بود و از ۳۸۰ تلاقی ۷۲ بذر به‌دست آمد. با توجه به نظریه عدد توازنی آندوسپرم (پلوئیدی مؤثر) انتظار می‌رود که بذور به‌دست آمده حاصل گامت‌های کاهش نیافته والد تریپلوئید بوده و دارای سطح پلوئیدی پنتاپلوئید یا نزدیک به پنتاپلوئید باشند. استفاده از این هیبریدها در اصلاح سیب زمینی از طریق دستورزی پلوئیدی تشریح شده است.

واژه‌های کلیدی: *سیب زمینی، دورگ‌گیری بین گونه‌ای، عدد توازنی آندوسپرم*، سولانوم آکول، سولانوم توبروزوم و سولانوم فورا

مقدمه

سیب‌زمینی زراعی *Solanum tuberosom* L.(2n =4x=48) از نظر داشتن گونه‌های خویشاوند وحشی در بین گیاهان زراعی مهم از جایگاه کم نظیری برخوردار است در جنس سولانوم بیش از ۲۳۰ گونه غده وجود دارد (۱۳، ۱۴ و ۲۲). گونه‌های خویشاوند سیب زمینی در پنج گروه سیتولوژیکی۶x، ۵x، ۴x، ۳x و ۲x قرار دارند. در بین گونه‌های خویشاوند، چند گونه آلوتتراپلوئید (دیسومیک) با صفات با ارزش برای اصلاح

۱. به ترتیب دانشجوی دوره دکتری و استاد باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2025-08-24]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1383.8.2.4.7]

سیب‌زمینی وجود دارند. یکی از این گونه‌ها سولانوم آکول می‌باشد که دارای صفاتی مانند مقاومت به نماتد، ویروئید غده دوکی، ویروس پیچیدگی برگ سیب‌زمینی و مقاومت به سرماست (۳ و۱۴).

علی‌رغم یکسان بودن سطح پلوئیدی سولانوم آکول با سیب زمینی زراعی (توبروزم)، تلاقی این دو گونه موفق نمی‌باشد. عدم موفقیت این تلاقی با تئوری عدد توازنی آندوسپرم (Endosperm Balance Number) (EBN) تفسیر می‌شود(۶، ۷ ، ۱۲، ۱۵، ۱۷ و۱۸). طبق این تئوری هر گونه‌ای علاوه بر سطح پلوئیدی کرموزومی، از یک پلوئیدی نسبت به EBN برخوردار است، که لزوماً معادل با پلوئیدی کروموزومی نمی‌باشد. بر این اساس یک تلاقی در صورتی موفق است که در بافت آندوسپرم نسبت ۲:۱ از نظر EBN مادر به پدر برقرار باشد. انحراف از نسبت ۲:۱ سبب تحلیل آندوسپرم و سقط جنین می‌شود (۷، ۱۲، ۱۵، ۱۷ و۱۸). به عبارت دیگر برای تکامل جنین نسبت سطح پلوئیدی جنین و آندوسپرم مهم نیست بلکه باید EBN یا پلوئیدی مؤثر مادر به پدر در آندوسپرم ۲:۱ باشد (۲۰). بنابراین موفقیت تلاقی دو گونه نه به یکسان بودن سطح پلوئیدی کرموزومی ، بلکه به هم‌سطح بودن EBN آنها نیز بستگی دارد. بدین جهت گونه‌های با EBN یکسان اما با سطح پلوئیدی متفاوت با هم تلاقی پذیرند. EBN تنها یک ارزش قراردادی است که برای هر گونه‌ای با توجه به نتیجه تلاقی آن با یک گونه استاندارد تعیین می‌شود (۱۲ و۱۸).

شناخت EBN از نظر عملی برای پیشگویی موفقیت تلاقی و سطح پلوئیدی نتاج بسیار مهم می‌باشد. برای مثال می‌توان به رفتار گونه‌های تتراپلوئید توبروزوم و آکول در تلاقی با گونه‌های دیپلوئیدی مانند فورا (2EBN، 2x) اشاره نمود که کاملاً متفاوت است. تلاقی توبرزوم تتراپلوئید با دیپلوئیدهایی نظیر فورا به رغم قرابت نزدیک ومشابهت ژنوم‌ها به بذر بسیار کمی می‌انجامد که بیشتر آنها نیز تتراپلوئید هستند که از عملکرد گامت‌های کاهش نیافته والد دیپلوئید نتیجه می‌شوند (۷، ۱۲، ۱۶،۱۸و ۲۱).در مقابل در تلاقی آکول با گونه‌هایی مانند فورا تمامی نتاج تریپلوئید می‌باشند و نتاج تتراپلوئید بسیار نادر می‌باشد(۱۱). دلیل نایاب بودن تتراپلوئید در تلاقی آکول با دیپلوئیدها و تریپلوئیدی در نتاج توبرزوم با دیپلوئیدها به تفاوت عدد توازنی آندوسپرم (EBN) این دو گونه مربوط می‌شود (۷، ۱۵ و۱۸). سولانوم آکول (۲EBN، ۴x) و توبرزوم (۴EBN، ۴x) است در تلاقی این دو گونه با سولانوم فورا نسبت EBN مادر به پدر در بافت آندوسپرم جنین‌های تریپلوئید به ترتیب ۲:۱ و ۴:۱ خواهد بود. چنان که گامت‌های کاهش نیافته فورا در تلقیح شرکت نمایند در آن صورت جنین تتراپلوئید، آندوسپرم هگزاپلوئید و نسبت EBN مادر به پدر در آندوسپرم به ترتیب ۲:۲ و (۲:۱=)۴:۲ خواهد بود. ملاحظه می‌شود که گامت‌های کاهش نیافته والد دیپلوئید تنها در تلاقی با *توبروزوم* به‌دلیل برقراری نسبت صحیح EBN کارآمد هستند.

با توجه به این‌که گونه‌های زراعی دیپلوئید مثل فورا (*S. phureja*) و استنوتوموم (*S. stenotomum*) و دای هاپلوئیدهای استخراجی از زراعی‌های تتراپلوئید و بسیاری دیگر از گونه‌های دیپلوئید وحشی نیز دارای۲EBN، ۲ هستند (۱۲ ،۱۴ و ۱۵). بنابراین با وجود تفاوت از نظر پلوئیدی کرموزومی مانعی برای تلاقی گونه‌های دیپلوئید۲EBN با تتراپلوئیدهای دیسومیک وجود ندارد و این گونه‌ها می‌توانند در انتقال ژرم‌پلاسم گونه‌های آلوتتراپلوئید به سیب‌زمینی زراعی واسطه‌گری نمایند.

براون(۳) سه نقشه تلاقی برای انتقال ژرم‌پلاسم تتراپلوئیدهای دیسوم به فرم‌های زراعی پیشنهاد می‌نماید. روش اول مستلزم مضاعف نمودن کرموزوم‌های گونه دیسومیک و سپس تلاقی مستقیم اکتاپلوئیدهای سنتتیک حاصل ازتتراپلوئیدهای دیسومیک با توبروزوم است، چون مضاعف شدن کرموزوم سبب مضاعف شدن EBN نیز می‌شود، بنابراین تلاقی موفق خواهد بود. ولی در این حالت در F1 های حاصله چون هر دو ژنوم آکول همولوگ‌های خود را دارا خواهند بود، بنابراین جفت شدن و نوترکیبی همولوگی برای مبادله قطعات بین ژنوم‌های گونه وحشی و

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2025-08-24]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1383.8.2.4.7]

زراعی ممکن نخواهد بود. حال آن‌که اصلاحگران برای شکستن پیوستگی بین ژن‌های کنترل‌کننده صفات مطلوب با خصوصیات نامطلوب زراعی گونه وحشی به دنبال این هستند که ژنوم‌های گونه وحشی بتوانند با ژنوم گونه زراعی جفت شده و کراسینگ‌اور انجام دهند تا بتوان در نسل‌های تفکیک به ژنوتیپ‌هایی دست یافت که واجد صفات مطلوب گونه وحشی و فاقد صفات نامطلوب زراعی آنها باشند.

روش دوم براون تولید هیبریدهای تریپلوئید با توان تولید گامت‌های کاهش نیافته از تلاقی تتراپلوئیدهای دیسوم با دیپلوئیدهای زراعی و سپس تلاقی هیبرید تریپلوئید با کولتیوارهای تتراپلوئید برای به‌دست آوردن نتاج پنتاپلوئید است این روش به‌دلیل این‌که امکان جفت شدن بین ژنومی را فراهم می‌نماید، مؤثرترین طریق در بین سه روش پیشنهادی است. روش سوم ترکیبی از روش اول و دوم می‌باشد. بدین ترتیب که نخست همانند روش دوم هیبریدهای تریپلوئید تولید می‌شود ولی به جای بهره‌گیری از گامت کاهش نیافته کرموزوم‌های هیبرید تریپلوئید مضاعف شده و هگزاپلوئید به‌دست آمده با توبروزوم‌ها تلاقی داده می‌شود.

در مقاله حاضر نتایج تولید هیبریدهای گونه آکول با گونه فورا و نیز باروری و تلاقی پذیری آنها با گونه توبرزوم، به منظور به کارگیری روش دوم براون برای انتقال ژرم پلاسم گونه‌های آلو تتراپلوئید به سیب زمینی زراعی گزارش می‌شود.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

سولانوم آکول به کار رفته در این آزمایش اکسی شن با کد CPC 1167 از بانک ژن کامنولث اسکاتلند دریافت شده بود و سولانوم فورای مورد استفاده در آزمایش کلونی بود که از میان نشاهای حاصل از کاشت بذور اکسی‌شن شماره GLK1497 گزینش شده بود.

دو رگ‌گیری بین گونه‌ای

الف) تلاقی سولانوم فورا × سولانوم آکول

غده‌های مربوط به سولانوم فورا در بهار سال ۱۳۸۰ در قطعه سبزی‌کاری ایستگاه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز کاشته شدند. بذور مربوط به سولانوم آکول نخست در گلخانه کشت و پس از چند برگی شدن به گلدان‌های منفرد و در نهایت به مزرعه برده شدند. پنج ژنوتیپ از سولانوم آکول، و چند پیوندک از سولانوم فورا برای تشویق گل‌دهی و جلوگیری از رقابت اعضای زیر زمینی(استولون و غده) با گل‌دهی و میوه‌بندی روی پایه‌های گوجه‌فرنگی پیوند شدند. در زمان گل‌دهی غنچه‌های گل آکول یک روز قبل از باز شدن با کنار زدن کاسبرگ‌ها و گلبرگ‌ها اخته شده و صبح روز بعد با گرده‌های تازه برداشت شده سولانوم فورا که با تکان دادن گل‌ها جمع‌آوری شده بودند، گرده‌افشانی می‌گردیدند و پس از آن گل‌های گرده افشانی شده اتیکت‌گذاری می‌شد.

میوه‌ها شش هفته بعد از گرده‌افشانی برداشت و تا زمان نرم شدن در آزمایشگاه نگه‌داری و سپس با برش از وسط، بذور استخراج می‌شدند.

ب) کاشت بذور هیبرید F1 حاصل از تلاقی سولانوم فورا × سولانوم آکول

در بهار سال ۸۱ بذور حاصل از تلاقی‌ها با محلول یبرلین ۱۵۰۰ ppm به مدت ۲۴ ساعت (۵، ۹ و ۱۰) تیمار و پس از شستشو اندکی خشک و بعد در خزانه هوای آزاد کشت شدند. همراه با بذور هیبرید بذور سولانوم آکول نیز به همان طریق کشت شد.

یک و نیم ماه پس از سبز شدن ، نشاها به زمین اصلی منتقل شدند.

ج) بررسی‌های سیتولوژیکی هیبریدهای F1

برای تعیین سطح پلوئیدی هیبریدها، با کنار زدن خاک پای بوته‌ها، از نوک استولون‌ها به طول ۲cm-۱ قطع و پس از شستشو با آب، به مدت چهار ساعت در محلول ۸ - هیدروکسی کینولین پیش تیمار و در محلول تثبیت

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2025-08-24]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1383.8.2.4.7]

لویتسکی(نسبت ۱:۱ اسید کرومیک ۱ در صد به فرمالین ۱۰ درصد) به مدت ۳۶ ساعت تثبیت شدند. رنگ آمیزی وتهیه اسلایدهای میکروسکوپی مطابق روش شماره یک آقایف انجام‌گرفت(۲)، که به اختصار شامل هیدرولیز با NaOH یک نرمال به‌مدت هشت دقیقه، رنگ آمیزی با استو- آهن هماتوکسیلین به‌مدت ۱۲ ساعت تأثیر دادن سیتاز و در نهایت له کردن روی لام با یک قطره اسید استیک۴۵٪ بود.

د) سنجش باروری دانه‌های گرده هیبریدهای F1

برای سنجش نر باروری هیبریدها، دانه‌های گرده از گیاهان رشد یافته در مزرعه با تکان دادن گل‌ها در کپسول‌های پلاستیکی جمع‌آوری می‌شد. سپس چند قطره محلول ۱٪ استوکارمن ـ گلیسرول (۳، ۵ و۲۰) به آن افزوده و پس از حداقل یک ساعت با انتقال یک قطره از محلول حاصل به روی لام و قرار دادن یک لامل روی آن، دانه‌های گرده با درشت‌نمایی ۴۰۰ بررسی و با شمارش حداقل ۲۰۰ دانه گرده از هر ژنوتیپ، درصد نر باروری آنها تعیین شد.

تلاقی هیبرید(سولانوم فورا × سولانوم آکول) × سولانوم توبروزوم

از بین هیبریدها ۲۰ ژنوتیپ به تصادف انتخاب و به منظورتلاقی با سولانوم توبروزوم روی گوجه‌فرنگی پیوند شدند. ارقام توبرزوم به کار رفته در تلاقی شامل کایزر، پیکاسو، آئولا و کاسموس و چند کلون از زیر گونه آندیژنا بودند. تعداد و جهت تلاقی در جدول یک آمده است.

نتایج و بحث

تلاقی بین گونه‌ای سولانوم فورا × سولانوم آکول

در انجام دورگ گیری بین گونه‌ای مشکل خاصی وجود نداشت و درصد بالایی از گل‌های اخته شده گونه آکول که با گرده فورا گرده افشانی می‌شدند، به میوه کامل تبدیل می‌گشتند و از نظر وضعیت ظاهری تفاوتی با میوه‌های حاصل از گرده افشانی آزاد نداشتند. همان‌گونه که انتظار می‌رفت تلاقی گونه فورا با گونه آکول به‌دلیل برقراری نسبت صحیح EBN در آندوسپرم موفق بود و در بررسی حاضر از تلاقی‌های موفق مقدار کافی، تقریباً معادل آزاد گرده افشان‌های آکول بذر به‌دست آمد (نتایج ارائه نشده‌اند) که کاملاً با نتایج حاصل از تلاقی فورا با توبروزوم متفاوت است(پناهنده و همکاران، نتایج منتشر نشده).

مورفولوژی و سیتولوژی هیبریدهای F1

بذور هیبرید بسیار یکنواخت سبز شدند و گیاهچه‌های حاصله رشد سریعی داشتند و آشکارا قوی‌تر از والد آکول بودند. از لحاظ مورفولوژی (عادت رشد و شکل برگ و گل) هیبریدها حد واسط دو والد بودند. سولانوم آکول عادت رشد رزت دارد ولی سولانوم فورا ساقه‌های افراشته‌ای دارد و هیبریدهای بین گونه‌ای عادت رشد نیمه رزت داشتند. برگچه‌های هیبرید بین گونه‌ای مشابه برگچه‌های سولانوم آکول و تخم‌مرغی شکل بود حال آن‌که در سولانوم فورا برگچه‌ها نوک تیزند ولی برگچه‌های هیبرید بزرگ‌تر از برگچه‌های آکول و مشابه گونه فورا (والد نر) دارای رنگ ارغوانی بودند (شکل ۱). با توجه به این‌که این صفت توسط ژن غالب کنترل می‌شود (۱۶) بدین ترتیب از هیبرید بودن بوته‌ها اطمینان حاصل شد.

والد آکول دارای گل‌های کوچک پنج ضلعی به رنگ آبی روشن و فورا دارای گل‌های درشت‌تر و ارغوانی رنگ بود رنگ و اندازه گل‌های هیبرید حد واسط والدین بود (شکل ۲).

هیبریدها استولون‌های فراوان و طویل داشتند که برخی از استولون‌ها در نقاط دیگر سر از خاک برآورده و شاخ و برگ تولید می‌کردند و غده‌بندی ضعیفی داشتند ولی همه آنها در پایان حداقل سه غده تولید کرده بودند. در حالی‌که والد آکول به‌دلیل عدم سازگاری به شرایط روز بلندی و احتمالاً به‌دلیل دوره رشد کوتاه‌تر هیچ غده‌ای نداشتند.

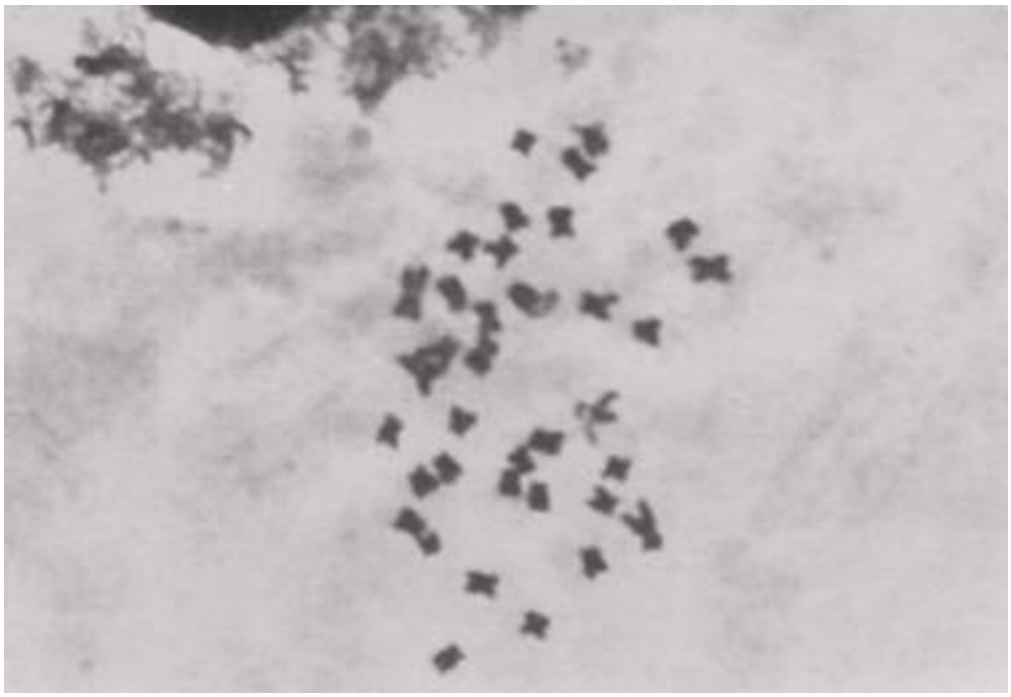
بیست بوته‌ای که به تصادف برای آنالیز سیتولوژیکی انتخاب و کرموزوم شماری شد، همه تریپلوئید ۲x=۳x=۳۶ بودند (شکل ۳). تریپلوئیدی در سیب‌زمینی زراعی بسیار نادر است ولی در بین زراعی‌های اولیه و گونه‌های وحشی تریپلوئیدی دیده می‌شود (۱۶ و ۲۱). تلاقی توبرزوم تتراپلوئید

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2025-08-24]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1383.8.2.4.7]

شکل۱. شکل برگ‌ها در والدین و هیبرید به ترتیب از راست به چپ: ***فورا*****، هیبرید** ***فورا*** **×** ***آکول*** **و** ***آکول***

شکل۲. شکل گل‌ها در والدین و هیبرید به ترتیب از راست به چپ: ***فورا*****، هیبرید** ***فورا*** **×** ***آکول*** **و** ***آکول***



شکل۳. متافاز میتوزی هیبرید بین گونه‌ای ۲n=۳ x=۳۶

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2025-08-24]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1383.8.2.4.7]

بـا دیپلوئـیدهای زراعـی بـه‌دلـیل عـدم برقراری نسبت ۲:۱ در آندوسـپرم جنـین‌هـای تـریپلوئید بـه نـدرت بـه نتاج تریپلوئید می‌انجامد (۷، ۱۲، ۱۶،۱۸و ۲۱).

باروری هیبریدهای بین گونه‌ای

همـان‌گـونه کـه بـرای افـراد بـا پلوئـیدی فرد انتظار می‌رود، نر باروری هیبریدهای بررسی شده پایین بود. در پنجاه فردی که نر بـاروری آنهـا بـا روش رنـگ پذیـری دانـه گـرده سنجیده شد، حداکثـر بـاروری دیده شده ۱۱٪ بود و تنها سه ژنوتیپ بیش از ۱۰٪ گـرده بـارور داشـتند و نـر باروری بقیه در دامنه ۷/۷-۰/۲ درصـد بـود. بیشـتر ژنوتـیپ‌های مورد بررسی دارای گرده‌های درشـت رنـگ‌پذیـر، هـر چـند با فراوانی پایین بودند (شکل۴). سیتولوژیسـت‌هـای سـیب‌زمینـی وجـود گرده‌های درشت را به منـزلـه گـرده‌های کاهش نیافته تلقی می‌نمایند (۵، ۹، ۱۰ و ۲۲) بنابـراین می‌توان گفت که هیبریدهای تریپلوئید مورد آزمایش از تـوان تولـید گامـت‌هـای کاهش نیافته برخوردارند. برای تعیین منشـأ گـرده‌هـای درشـت رنـگ‌پذیر غنچه‌های گل نارس برای آنالیز میوز برداشت شدند که تحت بررسی می‌باشند.

وجود گامت‌های کاهش نیافته در سیب‌زمینی از ابزار اساسی بـرای اصـلاح ایـن محصـول بخصـوص از طـریق دست‌ورزی پلوئـیدی اسـت (۸، ۱۸ و ۲۰). در تلاقـی دو گـونه بـا EBN مـتفاوت وجود گامت۲n در گونه با EBN پایین، سبب موفقیت تلاقـی مـی‌شـود. هـم‌چنـین گامـت ۲n بـرای انـتقال حداکثـر هتروزیگوسی (۸، ۱۹ و۲۱ و۲۲) در اصلاح این محصول کاربرد دارد. وجـود مکانیسـم‌هـای سیتولوژیکی منجر به گامت کاهش نیافـته در پلوئـیدی‌هـای فـرد و نیـز جهـش‌یافته‌های سیناپتیک بـه‌دلـیل اعطـای بـاروری جنسـی بـه آنهـا از اهمـیت بیشـتری بـرخوردار اسـت. اصـلاح‌گـران سیب‌زمینی با شناخت EBN و بهـره‌گیـری اسـتادانه و دقـیق از گامـت‌هـای کـاهش نیافـته و گـونه‌هـای پـل توانسته‌اند از گونه‌هایی که قبلاً از نظر جنسی با سیب‌زمینی زراعی ناسازگار بودند ژن‌هایی را به سیب‌زمینی‌های زراعی وارد نمایند (۱ ، ۴، ۵، ۹ و۱۰).

تلاقی پذیری هیبریدهای بین گونه‌ای با توبرزوم‌ها

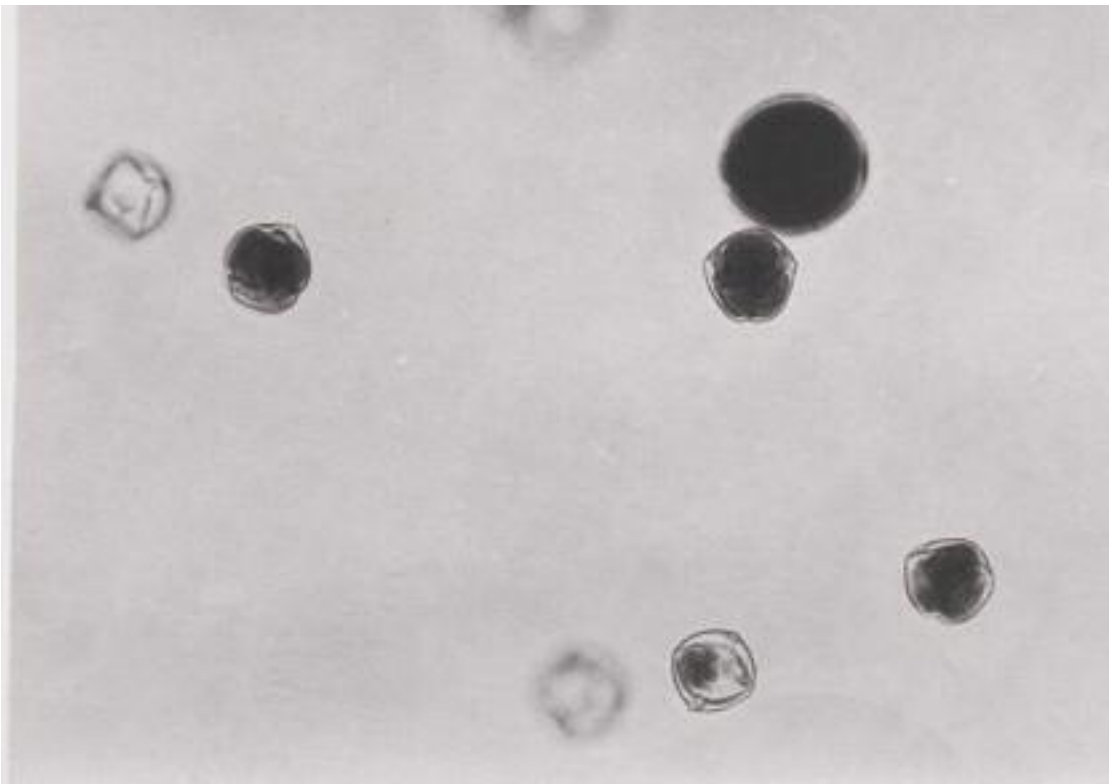
با وجود این‌که هیبریدهای بین گونه‌ای دارای درصد پایینی از گامت‌های رنگ‌پذیر درشت بودند تلاقی این هیبریدها به‌عنوان والد نر با توبرزوم‌ها موفق نبود(جدول ۱). با در نظر گرفتن EBN هیبرید تریپلوئید (EBN2، 3x) یک ارزش EBN از والد فورا و یک ارزش از والد آکول) پیش‌بینی می‌شود که این تلاقی تنها در صورت ۲n بودن گرده‌ها بتواند بذر تولید نماید. ولی از ۸۶ تلاقی انجام گرفته هیچ‌کدام موفق نبود.

کارپوتـو(۵) نیـز در تلاقـی هیبـریدهای تریپلوئید حاصل از تتـراپلوئیدهای سنتتیک سولانوم کومرسونی، با توبرزوم‌ها موفق نـبود بـا وجـودی‌کـه هیبـرید تـریپلوئید مورد استفاده ایشان نیز EBN 2 و دارای گرده ۲n بودند. این محقق با بررسی رشد لوله گـرده در خامه با میکروسکوپ فلورسنت نشان داد که نفوذ لوله گـرده در ۱/۲ طول خامه توبرزوم متوقف می‌شود. بنابراین، عدم موفقیت یک ناسـازگاری پیش تخمـی بود و ارتباطـی به EBN نداشـت(۷). ولـی بـراون و آدیـویلاگا(۳) در تلاقی هیبریدهای تـریپلوئید حاصـل از آکـول بـا دیپلـوئـیدهای زراعـی بـا توبـرزوم‌هـای تتراپلوئید موفق بودند. فراوانی گامت‌های ۲n در مـواد مـورد اسـتفاده ایـن محققان به دلیل گزینش والدین برای گامـت‌هـای ۲n بـالا بـود(۲۲/۱ – ۱۸٪). هـم‌چنین آدیویلاگا و بـراون (۱) در آزمایشی دیگر با تریپلوئیدهای حاصل از چندین گـونـه از تتـراپلوئیـدهای وحـشی مکـزیـک (2EBN) ,4x با دیپلوئـیدهای زراعـی، در تلاقی با توبرزوم‌های زراعی، گزارش نمـودند که وقتی فراوانی گرده ۲n بالا باشد تلاقی موفق و منجر بـه نـتاج پنتاپلوئـید یـا نـزدیک بـه پنتاپلوئید می‌شود ولی وقتی تـریپلوئیدهای بـا درصـد پایین گرده۲n در تلاقی مشارکت داده مـی‌شـوند، تلاقی موقعی موفق است که با گرده‌افشانی مضاعف یا نجات‌دهنده(Rescue or Double pollination) دنبال شود.این عـوامل (پایین بودن فراوانی گرده ۲n و ناسازگاری خامه کلاله) می‌توانند در عدم موفقیت تلاقی‌ها در بررسی حاضر مؤثر باشند.

تلاقـی متقابل (تغییر جای والدین) تا حدی موفق بود و از ۳۸۰ گـرده‌افـشانی، ۱۱۷ میوه به‌دست آمد. اکثر مـیوه‌ها پارتـنوکارپ

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2025-08-24]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1383.8.2.4.7]



شکل ۴. گرده درشت با رنگ‌پذیری کامل (بارور)، گرده‌های کوچک یا کاملاً بی‌رنگ یا به‌صورت غیر یکنواخت رنگ گرفته‌اند(عقیم)

جدول ۱. نتایج تلاقی هیبرید تریپلوئید بین گونه‌ای *با توبرزوم*

تعداد بذر	تعداد میوه	تعداد گل گرده‌افشانی شده	والدین
۷۲	۱۱۷	۳۸۰	(acl×phu)*x tub
–	–	۸٦	tub× (acl×phu)
۷۲	۱۱۷	٤٦٦	

tub :توبروزوم phu: فورا ac : آکول

بـودند و در مجمـوع از ۱۱۷ مـیوه، ۷۲ بـذر استحصـال شـد. موفقـیت ایـن تلاقی بیانگر توان تولید تخمک‌های کاهش نیافته در هیبـریدهای تـریپلوئید اسـت. زیـرا تـنها وجود تخمک‌های کاهش نیافته یا تخمک‌های با تعداد کروموزوم نزدیک به ۳۶ که دارای ارزشEBN یـا پلوئـیدی مؤثـر ۲ باشـند مـی‌توانـند بـا گامـت‌هـای نـر توبرزوم (EBN ۲) تولید جنین‌هایی بنمایند که نسـبت ۲:۱ در بافـت آندوسپرم برقرار گردد و انتظار می‌رود که بذور به‌دست آمده پنتاپلوئید یا نزدیک به آن باشند(۵).

ایـن آزمـایش مطابـق روش دوم پیشـنهادی بـراون بود ولی بـرای اجتـناب از مشـکلات تـوارث پلی‌زومی در پلی‌پلوئیدها، پیشنهاد می‌شود که به‌جای اصلاح در سطح تتراپلوئیدی و انجام کـراس بـا پنتاپلوئـیدها، نخسـت دای‌هاپلوئیدهایـی از طـریق سـودوگامی از آنهـا اسـتخراج شود تا بتوان برنامه‌های اصلاحی اولـیه مـن‌جملـه بـک کـراس را در سـطح دیپلوئـید که کارآیی بیشـتری دارد انجـام داد. بـا تـوجه بـه ایـن‌کـه ثابت شده است مکانیسـم القـای هاپلوئـیدی توسـط کلون‌های القاگر گونه فورا

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2025-08-24]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1383.8.2.4.7]

بـرای اسـتخراج گـیاهان (2EBN، 2x) بـه‌صورت انتخابی عمل مـی‌نماید(۱۰)، می‌توان هاپلوئیدهای استخراجی از این طریق را بـه راحتـی بـا گـونه‌هـای دیپلوئـید زراعـی یا دای‌هاپلوئیدهای توبـرزوم و هیبـریدهای آنهـا تلاقی داد(۱۹ و۲۲) و از بین نتاج آنهـا دیپلوئـیدهای برتـر حائـز صـفات مطلـوب تراپلوئیدهای دیسـومیک که توان تولید گامت کاهش نیافته را نیز داشته باشند گزینش و برای تولید نتاج تتراپلوئید با کولتیوارهای تتراپلوئید یا بـا دیپلوئیدهای غیر خویشاوندی که آنها نیز دارای گامت‌های n ۲ هستند تلاقی داد.

سپاسگزاری

از همکاری صمیمانه بانک ژن لوئزویتز آلمان (GLK) و کامنولث اسکاتلند (CPC) در ارسال ژرم پلاسم به‌کار رفته در آزمایش تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع مورد استفاده

1. Adiwilaga, K.D. and C.R. Brown. 1991. Use of 2n Pollen-Producing triploid hybrids to introduce tetraploid Mexican wild species germ plasm to cultivated tetraploid potato gene pool. Theor. Appl. Genet. 81: 645-652.
2. Agayev, Y.M. 1996. Advanced squash methods for investigation of plant chromosomes. Proc. 4th Iranian Congress in crop Production and Breeding. Isfahan University of Technology.
3. Brown, C.R. 1988. Characteristics of 2n pollen producing triploid hybrids between *Solanum stoloniferum* and cultivated diploid potatoes. Am. Potato J. 65: 75-84.
4. Brown, C.R. and K.D. Adiwilaga. 1990. Introgression of *Solanum acaule* germ plasm from the Endosperm Balance Number 2 gene pool into the cultivated endosperm balance number 4 gene pool via triplandroids. Genome 33: 273-278.
5. Carputo, D. 1997. Ploidy and endosperm balance number (EBN) manipulation for Germplasm introgression from 1EBN *Solanum commersonii* into 4EBN *S. tuberosum*. Ital. J. Agron. 1, 2: 123-128.
6. Carputo, D., A. Barone, T. Card, A. Sebastiano, L. Frusciante and S.J. Peloquin. 1997. Endosperm balance number manipulation for direct in vivo germplasm introgression to potato from a sexually isolated relative (*Solanum commersonii* Dun.) Proc. Nat. Acad. Sci.94: 12013-12017.
7. Carputo, D., L. Monti, J.E. Werner and L. Frusciante. 1999. Uses and usefulness of endosperm balance number. Theor. Appl. Genet. 98: 478-484.
8. Carputo, D., A. Barone and L. Frusciante. 2000. 2n gametes in the Potato: Essential ingredients for breeding and germ plasm transfer. Theor. Appl. Genet. 101: 805-813.
9. Ehlenfeldt, M.K. and R.E. Hanneman. 1984. The use of endosperm balance number and 2n gametes to transfer exotic germplasm in potato. Theor. Appl. Genet. 68: 155-161.
10. Ehlenfeldt, M.K. and R.E. Hanneman. 1988. The transfer of the synaptic gene(sy-2) from 1EBN *Solanum commersonii* Dun. to 2EBN germplasm. Euphytica. 37: 181-187.
11. Estrada, R.N. 1984. Acaphu: A tetraploid fertile breeding line selected from an *S. acaule* × *S. phureja* cross. Am. Potato J. 61: 1-7.
12. Hanneman, R.E. 1994. Assignment of endosperm balance number to the tuber-bearing solanums and their close non-tuber-bearing relatives. Euphytica 74: 19-25.
13. Hawkes, J.G. 1992. The Biosystematic of the Potato. pp.13-64. *In*: P. Harris(Ed.), The Potato Crop. Chapman & Hall.
14. Hawkes, J.G. 1994. Origins of cultivated potatoes and species relationships. pp. 3-43. *In*: J.E. Bradshow and G.R. Mackay (Eds.), Potato Genetics. CAB International, Cambridge Uk.
15. Hermsen, J.G. Th. 1994. Introgression of genes from wild species including molecular and cellular approaches. pp. 515-538. *In*: J.E. Bradshow and G.R. Mackay (Eds.), Potato Genetics. CAB International, Cambridge Uk.
16. Jackson, M.T., P.R. Rowe and J.G. Hawkes. 1978. Crossability relationships of Andean potato varieties of three ploidy levels. Euphytica 27: 541-551.
17. Johnston, S.A., T.P.M. den Nijs., S.J. Peloquinand and R.E. Jr. Hanneman. 1980. The significance of genic balance to endosperm development in interspecific crosses. Theor. Appl. Genet. 57: 5-9.
18. Ortiz, R. and M.K. Ehlenfeldt. 1992. The importance of endosperm balance number and the evolution of tuber-bearing solanums species. Euphytica 68: 155-161.
19. Ortiz, R. 1998. Potato breeding via ploidy manipulation. pp 15-86. *In:* J. Janick (Ed.), Plant Breeding Reviews. vol. 16, John Wiley and Sons. New York, USA.

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2025-08-24]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1383.8.2.4.7]

20. Ramon, M. and R.E. Hanneman. 2002. Introgression of resistance to late blight (*Phytophtora infestance*) from *Solanum pinnatisectum* into *S. tuberosum* using embryo rescue and double pollination. Euphytica. 127: 421-435.
21. Von Suchtelen, N. 1976. Triploids of the common potato, *Solanum tuberosum* L. Potato Res. 19: 377-380.
22. Yerk, G. L. and S. J. Peloquin. 1988. 2n pollen in eleven 2x, 2EBN wild species and their haploid × wild species hybrids. Potato Res. 31: 581-589.

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2025-08-24]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1383.8.2.4.7]