

انتقال ژرم پلاسما 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 علی‌رغم یکسان بودن سطح پلوئیدیشان به دلیل عدد توازی 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 پلاسما 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 کرموزوم‌های 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 به طوری 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 به صورت والد نر با گونه توپروزوم موفق نبود، ولی تلاقی معکوس تا حدی موفق بود و از ۳۸۰ تلاقی ۷۲ بذور به‌دست آمد. با توجه به نظریه عدد توازی 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 دستوری پلوئیدی تشریح شده است.

واژه‌های کلیدی: سیب زمینی، دورگ‌گیری بین گونه‌ای، عدد توازی آندوسپرم، سولانوم آکول، سولانوم توپروزوم و سولانوم فورا

مقدمه

بیش از ۲۳۰ گونه غده وجود دارد (۱۳، ۱۴ و ۲۲). گونه‌های خویشاوند سیب زمینی در پنج گروه سیتولوژیکی ۴x، ۵x، ۶x و ۳x قرار دارند. در بین گونه‌های خویشاوند، چند گونه آلوتتراپلوئید (دیسومیک) با صفات با ارزش برای اصلاح

سیب‌زمینی زراعی (*Solanum tuberosum* L. (2n=4x=48)) از نظر داشتن گونه‌های خویشاوند وحشی در بین گیاهان زراعی مهم از جایگاه کم نظیری برخوردار است در جنس سولانوم

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

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 و ۱۴).

علی‌رغم یکسان بودن سطح پلوئیدی سولانوم آکول با سیب‌زمینی زراعی (توبروزوم)، تلاقی این دو گونه موفق نمی‌باشد. عدم موفقیت این تلاقی با تئوری عدد توازنی آندوسپرم (EBN) (Endosperm Balance Number) تفسیر می‌شود (۶، ۷، ۱۲، ۱۵، ۱۷ و ۱۸). طبق این تئوری هر گونه‌ای علاوه بر سطح پلوئیدی کروموزومی، 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 و ۱۸). 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 کروموزومی، 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 و ۱۸).

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 فوراً (2x, 2EBN) اشاره نمود که کاملاً متفاوت است. تلاقی توبروزوم تتراپلوئید با دیپلوئیدهایی نظیر فوراً به رغم قرابت نزدیک و مشابهت 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، ۱۸ و ۲۱). در مقابل در تلاقی آکول با گونه‌هایی

مانند فوراً تمامی نتاج تریپلوئید می‌باشند و نتاج تتراپلوئید بسیار نادر می‌باشد (۱۱). دلیل نایاب بودن تتراپلوئید در تلاقی آکول با دیپلوئیدها و تریپلوئیدی در نتاج توبروزوم با دیپلوئیدها به تفاوت عدد توازنی آندوسپرم (EBN) این دو گونه مربوط می‌شود (۷، ۱۵ و ۱۸). سولانوم آکول (2EBN, 4x) و توبروزوم (4EBN, 4x) است در تلاقی این دو گونه با سولانوم فوراً نسبت EBN مادر به پدر در بافت آندوسپرم جنین‌های تریپلوئید به ترتیب ۲:۱ و ۴:۱ خواهد بود. چنان که گامت‌های کاهش نیافته فوراً 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 به دلیل برقراری نسبت صحیح EBN کارآمد هستند.

با توجه به این‌که گونه‌های زراعی دیپلوئید مثل فوراً (*S. phureja*) و استنوتوموم (*S. stenotomum*) و دای هاپلوئیدهای استخراجی از زراعی‌های تتراپلوئید و بسیاری دیگر از گونه‌های دیپلوئید وحشی نیز دارای EBN، ۲ هستند (۱۲، ۱۴ و ۱۵). بنابراین با وجود تفاوت از نظر پلوئیدی کروموزومی مانعی برای تلاقی گونه‌های دیپلوئید 2EBN با تتراپلوئیدهای دیسومیک وجود ندارد و این گونه‌ها می‌توانند در انتقال ژرم پلاسما گونه‌های آلتتراپلوئید به سیب‌زمینی زراعی واسطه‌گری نمایند.

براون (۳) سه نقشه تلاقی برای انتقال ژرم پلاسما تتراپلوئیدهای دیسوم به فرم‌های زراعی پیشنهاد می‌نماید. روش اول مستلزم مضاعف نمودن کروموزوم‌های گونه دیسومیک و سپس تلاقی مستقیم اکتاپلوئیدهای سنتتیک حاصل از تتراپلوئیدهای دیسومیک با توبروزوم است، چون مضاعف شدن کروموزوم 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

دو رگ‌گیری بین گونه‌ای

الف) تلاقی سولانوم فوراً × سولانوم آکول

غده‌های مربوط به سولانوم فوراً 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 فوراً 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 فوراً که با تکان دادن گل‌ها جمع‌آوری شده بودند، گرده‌افشانی می‌گردیدند و پس از آن گل‌های گرده‌افشانی شده ایتیکت‌گذاری 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 فوراً × سولانوم آکول

در بهار سال ۸۱ بذور حاصل از تلاقی‌ها با محلول یبرلین ppm ۱۵۰۰ 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 ۱-۲cm قطع و پس از شستشو با آب، به مدت چهار ساعت در محلول ۸- هیدروکسی کینولین پیش تیمار و در محلول تثبیت

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 به دست آوردن نتاج پنتاپلوئید است این روش به دلیل 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 به دست آمده با توبروزوم‌ها تلاقی داده می‌شود.

در مقاله حاضر نتایج تولید هیبریدهای گونه آکول با گونه فوراً و نیز باروری و تلاقی پذیری آنها با گونه توبروزوم، به منظور به کارگیری روش دوم براون برای انتقال ژرم پلاسما گونه‌های آلو تتراپلوئید به سبب 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 کامنولت اسکاتلند دریافت شده بود و سولانوم فوراً مورد استفاده در آزمایش کلونی بود که از میان نشاهای حاصل از کاشت بذور اکسی شن شماره GLK1497 گزینش شده بود.

آکول به دلیل برقراری نسبت صحیح EBN در آندوسپرم موفق بود و در بررسی حاضر از تلاقی‌های موفق مقدار کافی، تقریباً معادل آزاد کرده افشان‌های آکول بذر به دست آمد (نتایج ارائه نشده‌اند) که کاملاً با نتایج حاصل از تلاقی فوراً 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 فوراً 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 فوراً برگچه‌ها نوک تیزند ولی برگچه‌های هیبرید بزرگ‌تر از برگچه‌های آکول و مشابه گونه فوراً (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 فوراً 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 به دلیل عدم سازگاری به شرایط روز بلندی و احتمالاً به دلیل دوره رشد کوتاه‌تر هیچ غده‌ای نداشتند.

بیست بوته‌ای که به تصادف برای آنالیز سیتولوژیکی انتخاب و کرموزوم شماری شد، همه تریپلوئید $2x=3x=36$ 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 توبروزوم تریپلوئید

لویتسکی (نسبت ۱:۱ اسید کرومیک ۱ در صد به فرمالین ۱۰ درصد) به مدت ۳۶ ساعت تثبیت شدند. رنگ آمیزی و تهیه اسلایدهای میکروسکوپی مطابق روش شماره یک آقایف انجام گرفت (۲)، که به اختصار شامل هیدرولیز با NaOH یک نرمال به مدت هشت دقیقه، رنگ آمیزی با استو-آهن هماتوکسیلین به مدت ۱۲ ساعت تأثیر دادن سیتاز و در نهایت له کردن روی لام با یک قطره اسید استیک ۴۵٪ 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 - گلیسرول (۳، ۵ و ۲۰) 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 فوراً × سولانوم آکول) × سولانوم توبروزوم

از بین هیبریدها ۲۰ ژنوتیپ به تصادف انتخاب و به منظور تلاقی با سولانوم توبروزوم روی گوجه‌فرنگی پیوند شدند. ارقام توبروزوم به کار رفته در تلاقی شامل کایزر، پیکاسو، آتولا 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 فوراً × سولانوم آکول

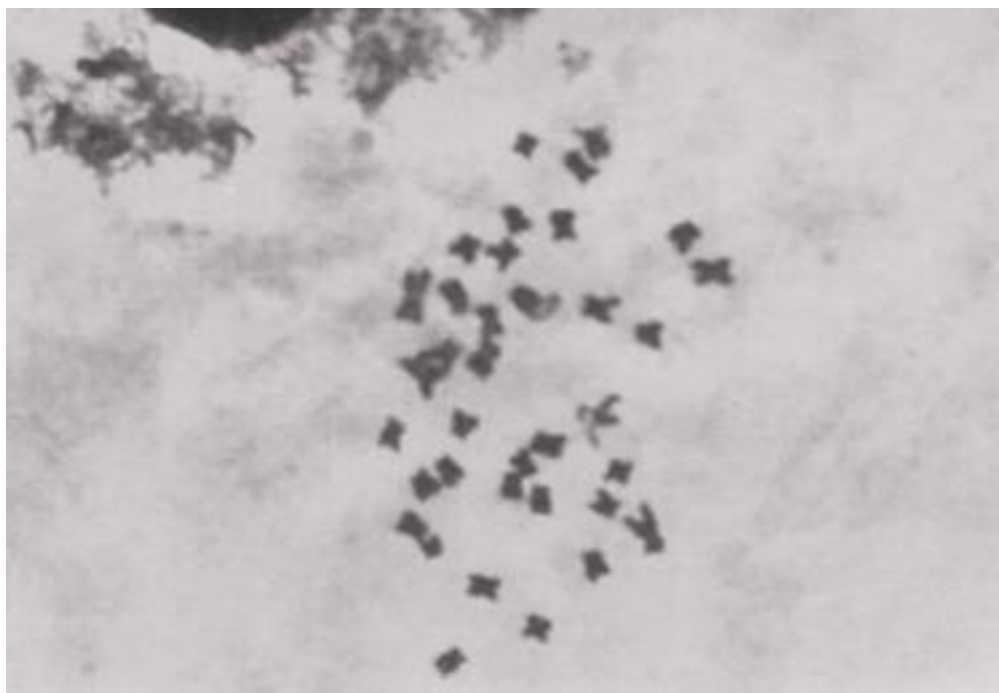
در انجام دورگ گیری بین گونه‌ای مشکل خاصی وجود نداشت و درصد بالایی از گل‌های اخته شده گونه آکول که با گرده فوراً گرده افشانی می‌شدند، به میوه کامل تبدیل می‌گشتند و از نظر وضعیت ظاهری تفاوتی با میوه‌های حاصل از گرده افشانی آزاد نداشتند. همان‌گونه که انتظار می‌رفت تلاقی گونه فوراً با گونه



شکل ۱. شکل برگ‌ها در والدین و هیبرید به ترتیب از راست به چپ: فوراً، هیبرید فوراً \times آکول و آکول



شکل ۲. شکل گل‌ها در والدین و هیبرید به ترتیب از راست به چپ: فوراً، هیبرید فوراً \times آکول و آکول



شکل ۳. متافاز میتوزی هیبرید بین گونه‌ای $2n=3 \times x=36$

تلاقی پذیری هیبریدهای بین گونه‌ای با توبروزوم‌ها

با وجود این‌که هیبریدهای بین گونه‌ای دارای درصد پائینی از گامت‌های رنگ‌پذیر درشت بودند تلاقی این هیبریدها به‌عنوان والد نر با توبروزوم‌ها 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 2n بودن گرده‌ها بتواند بذر تولید نماید. ولی از ۸۶ تلاقی انجام گرفته هیچ‌کدام موفق نبود.

کارپوتو (۵) نیز در تلاقی هیبریدهای تریپلوئید حاصل از تتراپلوئیدهای سنتتیک سولانوم کومرسونی، با توبروزوم‌ها موفق نبود با وجودی‌که هیبرید تریپلوئید مورد استفاده ایشان نیز EBN 2 و دارای گرده 2n بودند. این محقق با بررسی رشد لوله گرده در خامه با میکروسکوپ فلورسنت نشان داد که نفوذ لوله گرده در ۱/۲ طول خامه توبروزوم متوقف می‌شود. بنابراین، عدم موفقیت یک ناسازگاری پیش تخمی بود و ارتباطی به EBN نداشت (۷). ولی براون و آدیویلاگا (۳) در تلاقی هیبریدهای تریپلوئید حاصل از آکول با دیپلوئیدهای زراعی با توبروزوم‌های تتراپلوئید موفق بودند. فراوانی گامت‌های 2n در مواد مورد استفاده این محققان به دلیل گزینش والدین برای گامت‌های 2n بالا بود (۲۲/۱ - ۱۸٪). هم‌چنین آدیویلاگا و براون (۱) در آزمایشی دیگر با تریپلوئیدهای حاصل از چندین گونه از تتراپلوئیدهای وحشی مکزیکی (EBN 2، 4x) با دیپلوئیدهای زراعی، در تلاقی با توبروزوم‌های زراعی، گزارش نمودند که وقتی فراوانی گرده 2n بالا باشد تلاقی موفق و منجر به نتاج پتاپلوئید یا نزدیک به پتاپلوئید می‌شود ولی وقتی تریپلوئیدهای با درصد پائین گرده 2n در تلاقی مشارکت داده می‌شوند، تلاقی موقعی موفق است که با گرده‌افشانی مضاعف یا نجات‌دهنده (Rescue or Double pollination) دنبال شود. این عوامل (پائین بودن فراوانی گرده 2n و ناسازگاری خامه کلالة) می‌توانند در عدم موفقیت تلاقی‌ها در بررسی حاضر مؤثر باشند.

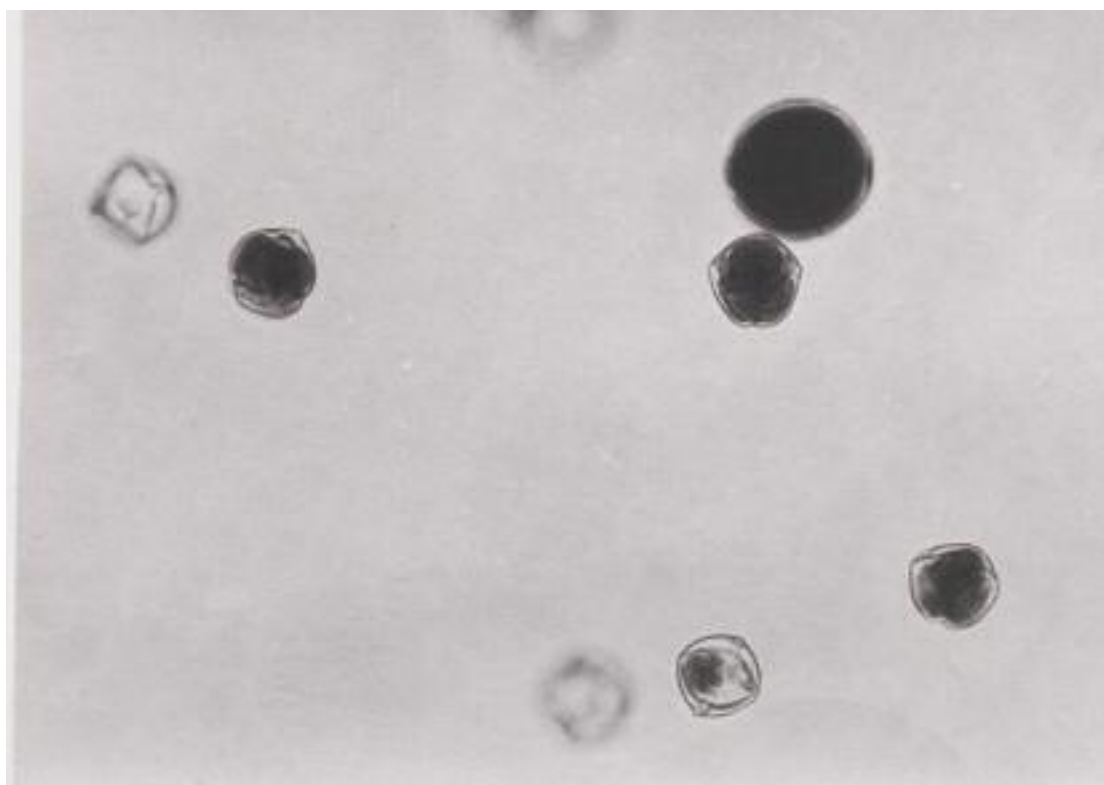
تلاقی متقابل (تغییر جای والدین) تا حدی موفق بود و از ۳۸۰ گرده‌افشانی، ۱۱۷ میوه به‌دست آمد. اکثر میوه‌ها پارتنوکارپ

با دیپلوئیدهای زراعی به‌دلیل عدم برقراری نسبت ۲:۱ در آندوسپرم جنین‌های تریپلوئید به ندرت به نتاج تریپلوئید می‌انجامد (۷، ۱۲، ۱۶، ۱۸ و ۲۱).

باروری هیبریدهای بین گونه‌ای

همان‌گونه که برای افراد با پلوئیدی فرد انتظار می‌رود، نر باروری هیبریدهای بررسی شده پائین بود. در پنجاه فردی که نر باروری آنها با روش رنگ‌پذیری دانه گرده سنجیده شد، حداکثر باروری دیده شده ۱۱٪ بود و تنها سه ژنوتیپ بیش از ۱۰٪ گرده بارور داشتند و نر باروری بقیه در دامنه ۷/۷-۰/۲ درصد بود. بیشتر ژنوتیپ‌های مورد بررسی دارای گرده‌های درشت رنگ‌پذیر، هر چند با فراوانی پائین بودند (شکل ۴). سیتولوژیست‌های سیب‌زمینی وجود گرده‌های درشت را به منزله گرده‌های کاهش نیافته تلقی می‌نمایند (۵، ۹، ۱۰ و ۲۲) بنابراین می‌توان گفت که هیبریدهای تریپلوئید مورد آزمایش از توان تولید گامت‌های کاهش نیافته برخوردارند. برای تعیین منشأ گرده‌های درشت رنگ‌پذیر غنچه‌های گل نارس برای آنالیز میوز برداشت شدند که تحت بررسی می‌باشند.

وجود گامت‌های کاهش نیافته در سیب‌زمینی از ابزار اساسی برای اصلاح این محصول بخصوص از طریق دست‌ورزی پلوئیدی است (۸، ۱۸ و ۲۰). در تلاقی دو گونه با EBN متفاوت وجود گامت 2n در گونه با EBN پائین، سبب موفقیت تلاقی می‌شود. هم‌چنین گامت 2n برای انتقال حداکثر هتروزیگوسی (۸، ۱۹ و ۲۱) در اصلاح این محصول کاربرد دارد. وجود مکانیسم‌های سیتولوژیکی منجر به گامت کاهش نیافته در پلوئیدی‌های فرد و نیز جهش‌یافته‌های سیناپتیک به‌دلیل اعطای باروری جنسی به آنها از اهمیت بیشتری برخوردار است. اصلاح‌گران سیب‌زمینی با شناخت EBN و بهره‌گیری استنادانه و دقیق از گامت‌های کاهش نیافته و گونه‌های پل توانسته‌اند از گونه‌هایی که قبلاً از نظر جنسی با سیب‌زمینی زراعی ناسازگار بودند ژن‌هایی را به سیب‌زمینی‌های زراعی وارد نمایند (۱، ۴، ۵، ۹ و ۱۰).



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

جدول ۱. نتایج تلاقی هیبرید تریپلوئید بین گونه‌ای با توبرزوم

والدین	تعداد گل گرده‌افشانی شده	تعداد میوه	تعداد بذر
(acl×phu)*x tub	۳۸۰	۱۱۷	۷۲
tub× (acl×phu)	۸۶	-	-
	۴۶۶	۱۱۷	۷۲

tub: توبروزوم phu: فورا ac: آکول

این آزمایش مطابق روش دوم پیشنهادی براون بود ولی برای اجتناب از مشکلات توارث پلی‌زومی در پلی‌پلوئیدها، پیشنهاد می‌شود که به جای اصلاح در سطح تتراپلوئیدی و انجام کراس با پنتاپلوئیدها، نخست دای‌هاپلوئیدهایی از طریق سودوگامی از آنها استخراج شود تا بتوان برنامه‌های اصلاحی اولیه من‌جمله بک کراس را در سطح دیپلوئید که کارآیی بیشتری دارد انجام داد. با توجه به این‌که ثابت شده است مکانیسم القای هاپلوئیدی توسط کلون‌های القاگر گونه فورا

بودند و در مجموع از ۱۱۷ میوه، ۷۲ بذر استحصال شد. موفقیت این تلاقی بیانگر توان تولید تخمک‌های کاهش نیافته در هیبریدهای تریپلوئید است. زیرا تنها وجود تخمک‌های کاهش نیافته یا تخمک‌های با تعداد کروموزوم نزدیک به ۳۶ که دارای ارزش EBN یا پلوئیدی مؤثر ۲ باشند می‌توانند با گامت‌های نر توبروزوم (۲ EBN) تولید جنین‌هایی بنمایند که نسبت ۲:۱ در بافت آندوسپرم برقرار گردد و انتظار می‌رود که بذور به دست آمده پنتاپلوئید یا نزدیک به آن باشند (۵).

با دیپلوئیدهای غیر خویشاوندی که آنها نیز دارای گامت‌های n هستند تلاقی داد.

سپاسگزاری

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

برای استخراج گیاهان (2x, 2EBN) به‌صورت انتخابی عمل می‌نماید (۱۰)، می‌توان هاپلوئیدهای استخراجی از این طریق را به راحتی با گونه‌های دیپلوئید زراعی یا دای‌هاپلوئیدهای توبرزوم و هیبریدهای آنها تلاقی داد (۱۹ و ۲۲) و از بین نتایج آنها دیپلوئیدهای برتر حائز صفات مطلوب تتراپلوئیدهای دیسومیک که توان تولید گامت کاهش نیافته را نیز داشته باشند گزینش و برای تولید نتایج تتراپلوئید با کولتیوارهای تتراپلوئید یا

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. Bradshaw and G.R. Mackay* (Eds.), *Potato Genetics.* CAB International, Cambridge Uk.
15. Hermesen, J.G. Th. 1994. Introgression of genes from wild species including molecular and cellular approaches. pp. 515-538. *In: J.E. Bradshaw 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. Peloquin 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.

20. Ramon, M. and R.E. Hanneman. 2002. Introgression of resistance to late blight (*Phytophthora infestans*) 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.