مجله علوم کشاورزی ایران
جلد ۳۶، شماره ۵، سال ۱۳۸۴ (۱۱۲۲-۱۱۱۳)

قابلیت ترکیب و وراثت‌پذیری تشکیل کالوس و باززایی شاخساره از کشت بساک در گوجه‌فرنگی (*Lycopersicon esculeutum* Mill.)

علیرضا مطلبی آذر[۱]، محمود خسروشاهلی[۲]، مصطفی ولی‌زاده[۳]، سیروس مسیحا[۴]، احمد معینی[۵] و زهرا شربیانلو[۶]
۱، ۲، ۳، ٤، ٦، استادیار، دانشیار، استادان و کارشناس دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز
۵، استادیار، دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس
تاریخ پذیرش مقاله ۸۳/۹/٤

خلاصه

پاسخ به کشت بساک چهار لاین گوجه فرنگی و نتاج حاصل از تلاقی نیمه دیالل بین آنها در سه محیط کشت مورد توصیه برای گوجه فرنگی (M۱ ، M۲ و M۳) مورد تجزیه و تحلیل ژنتیکی قرار گرفت. درصد تشکیل کالوس، میزان باززایی شاخساره و نیز قطر کالوس (بعنوان معیار رشد آن) مورد ارزیابی قرار گرفت. تجزیه واریانس نشان داد که اختلافات معنی‌داری بین ژنوتیپ‌ها، محیط‌های کشت و اثر متقابل بین آنها وجود دارد. از اینرو قابلیت ترکیب عمومی (GCA) و خصوصی(SCA) برای صفات اندازه‌گیری شده، محاسبه و آزمون گردید. میانگین مربعات GCA برای تمام صفات در محیط M۱ معنی‌دار بود ولی در محیط M۲ ، میانگین مربعاتGCA در صفت باززایی شاخساره و در محیط M۳ فقط در مورد قطر کالوس و درصد باززایی شاخساره معنی‌دار شد. در این موارد، واریانس GCA از واریانس SCA بزرگتر بود و وراثت‌پذیری خصوصی از متوسط (٦٥٪) تا زیاد (۹۳٪) تغییر کرد. بنابراین شاید بتوان گفت که درصد تشکیل کالوس و باززایی شاخساره بوسیله اثر ژنتیکی- افزایشی کنترل می‌شود. واریانس SCA فقط در مورد قطر کالوس در محیط‌های کشت M۲ و M۳ معنی‌دار بود و فقط در محیط کشت M۲ واریانس SCA ، از واریانس GCA بزرگتر بوده و وراثت‌پذیری خصوصی بسیار پایین برآورد گردید. بنابراین بنظر می رسد که رشد کالوس ممکن است در محیط کشت M۲ توسط اثر ژنتیکی- غیر افزایشی کنترل گردد. در بین لاین‌های مورد مطالعه، Micro-Tina و MSK8 دارای قابلیت ترکیب عمومی مثبت و معنی‌دار برای تشکیل کالوس و باززایی شاخساره بودند لذا این لاین‌ها را می‌توان برای بهبود پاسخ به کشت بساک در گوجه‌فرنگی پیشنهاد کرد.

واژه‌های کلیدی: تلاقی دیالل، قابلیت ترکیب خصوصی، قابلیت ترکیب عمومی، کشت بساک، گوجه‌فرنگی، وراثت‌پذیری

مقدمه

برنامه‌های اصلاح گوجه‌فرنگی (*Lycopersicon esculentum* Mill.) اکثراً بر تولید و گزینش گیاهان هموزیگوت استوار است. برای بدست آوردن گیاهان کاملاً هموزیگوت لازم است که عمل خودباروری مواد گیاهی هتروزیگوت طی چند نسل انجام شده و نسلهای در حال تفکیک از طریق روشهای اصلاحی مانند بالک تک‌بذری اداره شوند(۱). به همین دلیل به‌نژادگران به روش‌هایی علاقمند هستند که بتواند گیاهان کاملاً هموزیگوت را در حداقل زمان تولید کرد (۳). در گوجه‌فرنگی می‌توان از طریق نرزایی[۱] از

1. Androgenesis

مکاتبه کننده: علیرضا مطلبی‌آذر
e-mail: motallebi2002@yahoo.com

کشت بساک، طی مدت زمان کوتاهی لاین‌های هموزیگوت بدست آورد (۶، ۲۲). موفقیت در این روش به چندین عامل بستگی دارد که عمدتاً عبارتند از: ژنوتیپ گیاه مادری (۱۱، ۱۹، ۲۵، ۲۶)، شرایط رشدی گیاه مادری(۲۲، ۲۶)، پیش تیمار (۶، ۲۲، ۲۵) و ترکیب محیط کشت (۱۴، ۱۸، ۲۵).

اثر ژنوتیپ گیاه مادری و ترکیب محیط کشت در پاسخ نرزایی با استفاده از کشت بساک توسط تعداد زیادی از محققین در گوجه فرنگی گزارش شده است. این گزارشات نشان می‌دهد که تعداد زیادی از ژنوتیپ‌های گوجه‌فرنگی به کشت بساک پاسخ نمی‌دهند. در عوض ژنوتیپ‌های خاصی مانند رقم Roma (رقم نر عقیم) قادر به تولید تعداد زیادی گیاه هاپلویید/دابل هاپلویید می‌باشند (۱۰، ۲۴، ۲۵، ۲۶). به همین دلیل اطلاع از وراثت‌پذیری پاسخ نرزایی و بررسی قابلیت ترکیب[1] مواد اصلاحی می‌تواند در بهبود کارآیی کشت بساک بسیار مفید باشد (۱۵).

تلاقی دیالل[2] یکی از عمده‌ترین طرحهای آمیزشی برای برآورد قابلیت ترکیب، واریانس افزایشی و غالبیت، درجه غالبیت، اثر معکوس و نیز وراثت‌پذیری صفات می‌باشد (۱۱). این روش برای بررسی ژنتیک پاسخ‌های نرزایی در ذرت (۱۹)، تری‌تیکاله (۴)، گندم (۱۳)، جو (۲۰)، برنج (۱۶) و کلم تکمه‌ای (۱۷) مورد استفاده قرار گرفته است. برآورد وراثت‌پذیری عمومی پاسخ نرزایی از طریق روش دیالل در گندم ۷۰-۶۰ درصد (۱۳)، تری تیکاله ۶۶ درصد (۴) و جو ۴۸ درصد (۲۰) گزارش گردید. همچنین برآورد وراثت‌پذیری خصوصی پاسخ نرزایی در کلم تکمه‌ای ۴۸ درصد (۱۷) و جو ۲۴ درصد (۲۰) بود. در برنج وراثت‌پذیری خصوصی پاسخ نرزایی بسیار بالا (۹۲درصد) برآورد شد (۱۶). در ذرت نیز مقدار وراثت‌پذیری بالا برآورد شد و دو دوره گزینش توانست پاسخ نرزایی را بهبود بخشد (۱۵). از طرف دیگر در تری تیکاله مشخص گردیده است که برای صفات نرزایی، واریانس قابلیت ترکیب عمومی (GCA) بزرگتر از واریانس قابلیت ترکیب خصوصی (SCA) است (۴). در مطالعات دیگر نیز مشخص شده است که کالوس زایی، باززایی و تولید گیاهچه سبز تحت کنترل ژنتیکی بوده و این صفات بصورت چندژنی[3] کنترل می‌شوند. با این حال توارث هر صفت مستقل از دیگری بود (۲، ۳، ۸، ۲۳).

القای نرزایی در Lolium ، Festuca و هیبرید حاصل از آنها (Festulolium) مطالعه گردید و مشخص شد که قابلیت پاسخ بساک، القای جنین از گرده، توسعه جنین به گیاه کامل توسط ۲ تا ۳ ژن بزرگ اثر یا خوشه ای از آنها کنترل می‌شود و می‌توان ژنوتیپ‌های با ارزشی را با گیاهان مادری دارای پاسخ بالا، تلاقی داد تا ژنهای مفید انتقال یابند (۱۲). همچنین دو دوره پاسخ نرزایی در ذرت مورد بررسی قرار گرفت و مشخص شد که پاسخ نرزایی کنترل ژنتیکی داشته و پیشرفت ژنتیکی موثری برای تمام مراحل فرآیند نرزایی وجود دارد (۱۵).

در گوجه‌فرنگی اهمیت ژنوتیپ در پاسخ نرزایی از بساک مورد مطالعه قرار گرفته است. ولی تحقیقی در مورد نحوه وراثت‌پذیری پاسخ نرزایی و قابلیت ترکیب مواد اصلاحی انجام نشده است. لذا هدف از انجام این پژوهش شناخت اساس ژنتیکی پاسخ نرزایی از بساک در گوجه‌فرنگی از طریق روش دیالل بود و با توجه به اینکه معمولاً بین ژنوتیپ و محیط اثر متقابل وجود دارد، لذا طرح آمیزش دیالل در سه محیط کشت مختلف اجرا شد تا برآوردی از اجزای واریانس ژنتیکی در سه محیط مختلف بدست آید.

مواد و روش‌ها

تهیه مواد گیاهی

لاین‌های گوجه‌فرنگی(Micro-Tina و Micro-Gemma)، تهیه شده از اسکوت و هابوگ، دانشگاه فلوریدا[4] و Moneymaker و MSK8، تهیه شده از مرکز منابع ژنتیکی گوجه فرنگی، دانشگاه کالیفورنیا[5]) در اسفند سال ۸۰ در گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز کشت شد. نشاها در اوایل اردیبهشت سال ۸۱ در فواصل یک متر بین ردیف و ۷۰ سانتی‌متر روی ردیف (از هر لاین ۱۵ بوته) در مزرعه کشت

1. Combining ability
2. Diallel
3. Polygenic
4 . Scott and Habaugh, University of Florida
5 . Tomato Genetic Resource Center, University of California, Davis

شدند. تلاقی بین این لاین‌ها بصورت نیمه دیالل انجام شد و بذور ۴ لاین و ۶ هیبرید حاصل از آنها جمع‌آوری شد.

تهیه بساك و محیط هاي کشت

بذور والدین و هیبریدها در سه نوبت (۲۰ بهمن، ۳۰ بهمن و ۱۰ اسفند ماه سال ۸۱) در گلخانه کشت گردید. گیاهان مادری در شرایط دمایی ۴°C ± ۲۵ در طی روز و ۴°C ± ۱۸ در طی شب تحت شرایط روز بلند (طبیعی) رشد داده شدند. تقریباً ساعت ۸ صبح، گلهای ۵-۴ میلی متری طی ۲۵ روز از زمان آغاز گلدهی جمع‌آوری شدند (۱۸). این گلها حاوی بساکهای ۲/۵-۱/۷ میلی‌متری بوده و میکروسپورها در مرحله پروفاز اول تا متافاز دوم (تقریباً نزدیک به مرحله تک هسته‌ای) واقع بودند(۲۱، ۲۲). گلها به مدت ۵ دقیقه در اتانل ۷۰ درصد و ۱۵ دقیقه در محلول ۲/۵ درصد سفیدکننده تجاری (با ۵٪ کلر فعال) ضدعفونی سطحی شدند. بساکهای مناسب، تحت شرایط استریل از گلها جداسازی شده و به ظروف پتری ۱۵×۶۰ میلی‌متری حاوی ۱۰ میلی‌لیتر از محیط کشت، منتقل گردیدند. کشتها بمدت ۴۸ ساعت در دمای ۴°C و شرایط تاریکی، پیش تیمار شدند. کشتهای پیش تیمار شده به مدت ۴ هفته در تاریکی قرار داده شدند. سپس به شرایط روشنایی (با فتو پریود ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی) با شدت نور ۸۰ $\mu mol\ s^{-1}\ m^{-2}$ منتقل گردیدند. هشت هفته پس از کشت، درصد تشکیل کالوس، قطر کالوس و پس از دوازده هفته بعد از کشت درصد باززایی شاخساره اندازه‌گیری شد. شاخساره‌های با بیش از ۲ سانتی‌متر به محیط ریشه‌زایی (MS +۲mg/lIBA +۰/۵mg/lGA_3) (۲۵) به مدت دو هفته انتقال داده شدند. شاخساره‌های توسعه یافته به پرلیت و سپس به خاک منتقل شدند و برای سازگاری با محیط در شرایط مه فشان (با رطوبت تقریبی ۸۰ درصد) قرار گرفتند و عمل سازگاری با محیط در مورد آنها اجرا شد. برای بررسی اثر محیط روی توارث‌پذیری پاسخ نرزایی از سه محیط کشت به شرح زیر استفاده گردید:

محیط کشت اول (M۱) شامل : MS +2 mg/l IAA+1 mg/l 2ip (۱۸).

محیط کشت دوم (M۲) شامل : Doy's Basal Medium 1(DBM1)+5 mg/l kin+2 mg/l NAA و سپس انتقال به محیط MS+1 mg/l Zeatin + 0.025 mg/l IAA (۲۲).

محیط کشت سوم (M۳) شامل : MS+0.02 mg 2,4-D +2 mg kin و سپس انتقال به MS +0.3 mg Zeatin (۹).

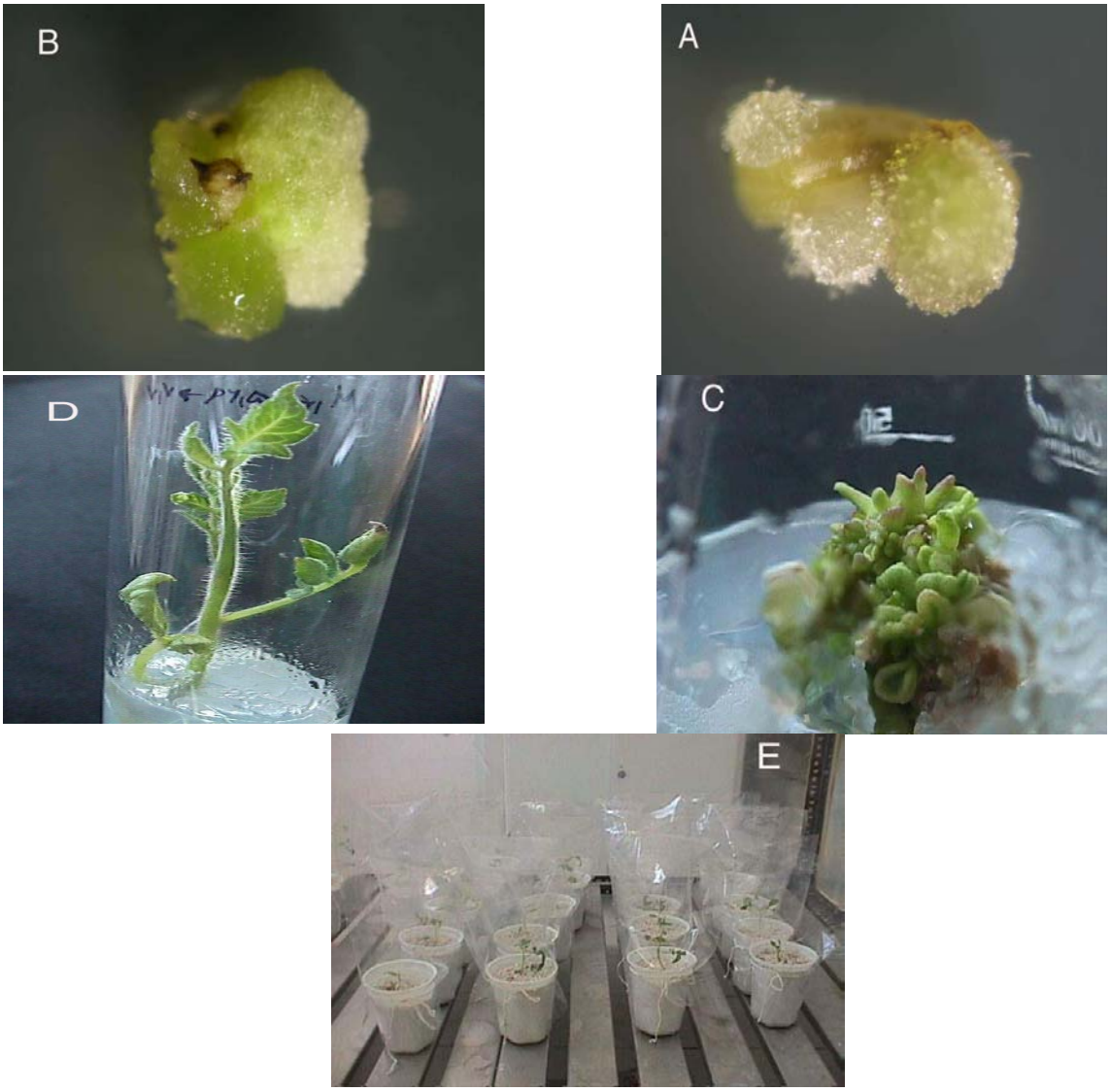
روشهاي آماري

در این تحقیق ۱۰ ژنوتیپ گوجه فرنگی (شامل ۴ والد و ۶ هیبرید) و ۳ محیط کشت به عنوان دو فاکتور به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار مورد بررسی قرار گرفتند. هر واحد آزمایشی شامل ۳ ظرف پتری و هر پتری شامل ۵ بساک بود. بعد از هشت هفته، درصد تشکیل کالوس (توده سلولی بزرگتر از ۲ میلی‌متر) و قطر کالوس و بعد از دوازده هفته، فراوانی باززایی شاخساره اندازه‌گیری شد. تجزیه واریانس با استفاده از متوسط هر واحد آزمایشی و با نرم‌افزار SAS انجام شد و میانگینها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد مقایسه شدند و برای تجزیه‌های قابلیت ترکـــیب از روش چهارم ، مدل مخلوط B گریفینگ (۱۱) از نرم‌افزار Diallel-1 استفاده شد.

نتایج

القای نرزایی پس از اعمال پیش تیمار در بساکهای کشت شده اتفاق افتاد و کالوسهای بزرگتر از ۲ میلی‌متر پس از ۴-۳ هفته مشاهده شد (شکل ۱-A). این کالوس ها طی هشت هفته به رشد خود ادامه دادند (شکل ۱-B). در برخی از کالوسها، شاخه‌زایی در طی هشت الی دوازده هفته اتفاق افتاد (شکل ۱-C). شاخساره‌های بزرگتر از ۲ سانتی‌متر به محیط ریشه‌زایی (شکل ۱-D) و پس از توسعه ریشه در شرایط مه‌فشان (شکل ۱-E) به خاک انتقال یافتند. در نهایت گیاهان حاصل به گلخانه انتقال داده شدند.

تجزیه واریانس صفات اندازه‌گیری شده نشان داد که ژنوتیپ و محیط کشت تاثیر معنی‌داری روی درصد تشکیل کالوس، قطر کالوس و درصد باززایی شاخساره داشته و در ضمن اثر متقابل ژنوتیپ × محیط کشت برای این صفات معنی‌دار بود (جدول ۱). مقایسه میـانگین والدین و هیبریدها برای صفات اندازه‌گیری شده در سه محیط کشت در اشکال۲ الی ۴ نشان داده شده است. والدین در هر سه محیط کشت از درصد تشکیل کالوس و قطر کالوس تقریباً برابری برخوردار بودند. با این حال



شکل ۱- مراحل مختلف نرزایی از کشت بساک گوجه فرنگی.A و B - تشکیل و رشد کالوس. C- شاخه زایی از کالوس.
D- رشد شاخساره در محیط ریشه زایی. E - انتقال به سیستم میست.

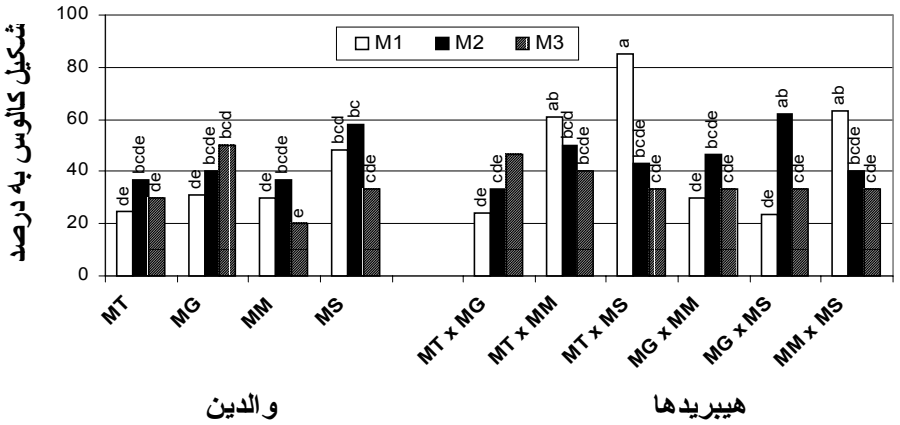
جدول ۱- تجزیه واریانس صفات اندازه‌گیری شده در کشت بساک گوجه فرنگی.

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات		
		درصد تشکیل کالوس	قطر کالوس	درصد باززایی شاخساره
محیط کشت	۲	۷۱۰*	۱۹/۲۳**	۵۷۰*
ژنوتیپ	۹	۶۳۰**	۱۰/۲۵**	۱۱۶۰**
ژنوتیپ × محیط کشت	۱۸	۶۲۰**	۶/۱۱۶**	۲۱۰*
اشتباه آزمایشی	۶۰	۱۹۰	۰/۶۹۵	۱۰۰
ضریب تغییرات (٪)	__	۳۴/۰۷	۱۲/۸۰	۳۸/۵۱

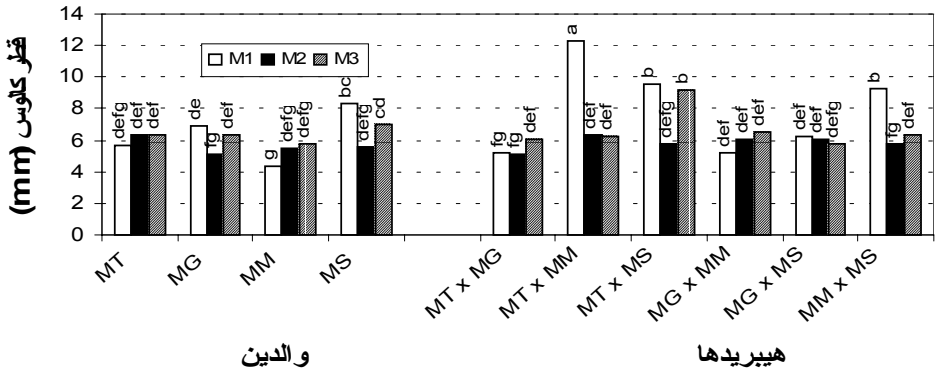
* معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد **معنی‌داردر سطح احتمال ۱ درصد.

Moneymaker به طور معنی داری نسبت به سه والد دیگر از قابلیت نرزایی پایینی برخوردار بود. هیبریدها واکنشهای متفاوتی به محیط کشت نشان دادند به طوریکه هیبریدهای Micro-Tina x Moneymaker ، Micro-Tina x MSK8 و MSK8 x Moneymaker در محیط کشت M۱ از درصد تشکیل کالوس و قطر کالوس بیشتری نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها در این محیط کشت و دو محیط کشت دیگر برخوردار بودند ($P<۰/۰۵$) (شکلهای ۲ و ۳). درصد باززایی شاخساره در والدین متفاوت بوده و لاین‌های Micro-Gemma و MSK8 (به

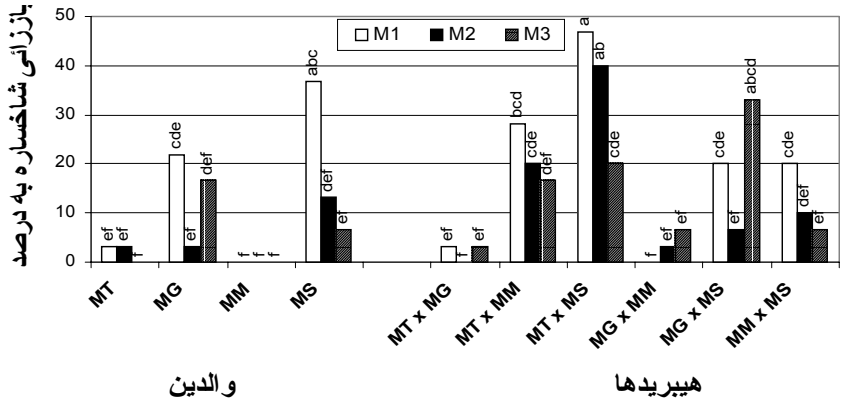
ترتیب با ۲۱/۷ و ۳۶/۷ درصد) دارای بالاترین درصد باززایی شاخساره بودند. در حالی که دو والد دیگر پتانسیل باززایی بسیار ضعیفی داشتند. هیبریدهای حاصل از این دو گروه والدین واکنشهای متفاوتی به سه محیط کشت نشان دادند و هیبریدهای Micro-Tina x Moneymaker و Micro-Tina x MSK8 از درصد باززایی بیشتر برخوردار بودند (شکل ۴). در حالت کلی برای صفات مورد مطالعه، میانگین هیبریدها بیشتر از میانگین والدین بود (شکلهای ۲ الی ۴).



شکل۲- میانگین درصد تشکیل کالوس در والدین و هیبریدهای گوجه فرنگی در سه محیط کشت.
MT= Micro-Tina, MG= Micro-Gemma, MM= Moneymaker, MS=MSK8.



شکل ۳- میانگین قطر کالوس در والدین و هیبریدهای آنها در سه محیط کشت.
MT= Micro-Tina, MG= Micro-Gemma, MM= Moneymaker, MS=MSK8.



شکل ۴- میانگین درصد باززایی شاخساره در والدین و هیبریدهای گوجه فرنگی در سه محیط کشت.
MT= Micro-Tina, MG= Micro-Gemma, MM= Moneymaker, MS=MSK8.

جدول ۲. تجزیه واریانس قابلیت ترکیب عمومی و خصوصی برای تشکیل کالوس، قطر کالوس و باززایی شاخساره در سه محیط کشت مورد بررسی.

منابع تغییرات	درجه آزادی	محیط کشت M۱			محیط کشت M۲			محیط کشت M۳		
		تشکیل کالوس (٪)	قطر کالوس (mm)	باززایی شاخساره (٪)	تشکیل کالوس (٪)	قطر کالوس (mm)	باززایی شاخساره (٪)	تشکیل کالوس (٪)	قطر کالوس (mm)	باززایی شاخساره (٪)
ژنوتیپ	۵	۱۹۷۰**	۲۹/۹**	۸۷۰**	۲۹۰ ns	۰/۷**	۶۵۰**	۹۰ ns	۵/۳۹**	۴۹۵/۱۲*
GCA	۳	۳۰۱۰**	۴۸/۴**	۱۲۶۰**	۱۰۰ ns	۰/۱۶ ns	۸۱۰**	۱۱۰ ns	۷/۷۳۱**	۶۷۸/۲**
SCA	۲	۴۱۰**	۲/۱۹ ns	۲۹۰**	۵۷۰ ns	۱/۶۱**	۴۲۰ **	۷۰ ns	۷/۸۸**	۲۲۰/۵ *
اشتباه آزمایش	۱۲	۹۳/۳	۳/۲۴	۱۱۲	۱۵۲/۵	۰/۱۹۰	۱۶۰/۸۳	۳۷۷/۵	۰/۸۷۱	۱۲۷/۵

* معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد ، ** معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد و ns غیر معنی‌دار.

تجزیه واریانس قابلیت ترکیب عمومی و خصوصی برای صفات اندازه‌گیری شده به طور جداگانه برای هر محیط کشت با استفاده از روش چهار، مدل مخلوط B گریفینگ محاسبه گردید (جدول ۲) و نشان داد که در محیط کشت M۱، میانگین مربعات قابلیت ترکیب عمومی برای هر سه صفت معنی‌دار است. لکن میانگین مربعات قابلیت ترکیب خصوصی در این محیط فقط برای درصد تشکیل کالوس و درصد باززایی شاخساره معنی دار بود. در محیط کشت M۲، میانگین مربعات قابلیت ترکیب عمومی برای درصد تشکیل کالوس و قطر کالوس غیرمعنی‌دار و برای درصد باززایی شاخساره معنی‌دار بود. همچنین در این محیط، میانگین مربعات قابلیت ترکیب خصوصی برای قطر کالوس و درصد باززایی شاخساره معنی‌دار بدست آمد. در محیط کشت M۳ میانگین مربعات قابلیت ترکیب عمومی و خصوصی در مورد قطر کالوس و درصد باززایی شاخساره معنی‌دار و در مورد درصد تشکیل کالوس غیرمعنی‌دار بود (جدول ۲).

برآوردهای اجزای واریانس ژنتیکی، درجه غالبیت و وراثت‌پذیری صفات اندازه‌گیری شده در جدول ۳ خلاصه شده است. در این جدول به علت غیرمعنی‌دار بودن اثر ژنوتیپ در مورد درصد تشکیل کالوس در محیط M۲، M۳، اجزای واریانس ژنتیکی برآورد نشد. همان طور که در این جدول ملاحظه می‌شود به غیر از صفت قطر کالوس در محیط کشت M۲ در سایر محیط‌ها، واریانس GCA بزرگتر از واریانس SCA بود. بنابراین اثر افزایشی ژنها در توارث صفات پاسخ نرزایی در هر سه محیط کشت بیشتر از اثر غیر افزایشی ژنها (غالبیت) است. محاسبه درجه غالبیت نیز همین نتیجه را ارایه داد، به طوری که در این صفات درجه غالبیت از صفر تا ۰/۹۷ (عدم غالبیت تا غالبیت ناقص) متغیر بود. در حالی که در مورد صفت قطر کالوس در محیط کشت M۲ واریانس GCA بسیارکوچکتر از واریانس SCA بوده و درجه غالبیت انحراف زیادی از یک نشان می دهد. بنابراین به نظر می رسد که برآورد بالایی از درجه غالبیت حاصل شده است (جدول ۳).

برآوردهای وراثت‌پذیری عمومی پاسخ نرزایی از ۹۶/۲۴ تا ۹۹/۰۸ درصد و برآوردهای وراثت‌پذیری خصوصی از صفر تا ۹۳/۸ درصد متغیر بود (جدول ۳). وراثت‌پذیری عمومی و خصوصی صفات نرزایی در محیط کشت M۱ بالاتر از دو محیط دیگر برآورد گردید. در مورد درصد تشکیل کالوس، وراثت‌پذیری خصوصی در محیط M۱ ۸۷/۹۰ درصد بود. در محیط کشت M۱ و M۳، وراثت پذیری خصوصی قطر کالوس به ترتیب ۹۶/۶۸ و ۷۹/۸۲ درصد برآورد گردید. با این حال، برآورد وراثت‌پذیری خصوصی درصد باززایی شاخساره در محیط کشت M۲ متوسط (۶۵/۰۷) و در محیط‌های کشت دیگر تقریباً بالا بود (۸۰/۸۲ و ۷۴/۴۲ درصد برای محیط کشت M۲ و M۳) (جدول ۳).

برآورد قابلیت ترکیب عمومی والدین در سه محیط کشت نشان داد که ارقام Micro-Tina و MSK8 با مقادیر مثبت، معنی‌دار (P<۰/۰۵) و مطلوب GCA برای درصد تشکیل کالوس و درصد باززایی شاخساره بهترین ترکیب شونده‌های عمومی بودند. در حالی که رقم Micro-Gemma به طور

معنی‌داری (P<۰/۰۵) ضعیف‌ترین ترکیب شونده، محسوب گردید (جدول ۴).

در محیط کشت M۱ ارقام Micro-Tina و Moneymaker با مقادیر مثبت و معنی‌دار (P<۰/۰۵) قابلیت ترکیب عمومی برای قطر کالوس و نیز Micro-Tina در محیط M۳ به طور معنی‌داری (P<۰/۰۵) مطلوب‌ترین ترکیب شونده عمومی محسوب شدند. با این حال قابلیت ترکیب عمومی این صفت در محیط M۳ تغییرات ناچیزی را بین والدین نشان داد(P>۰/۰۵) (جدول۴).

برآوردهای قابلیت ترکیب خصوصی تلاقی‌های مورد بررسی در جدول ۵ آورده شده است. بالاترین قابلیت ترکیب خصوصی معنی‌دار (P<۰/۰۱) برای صفت تشکیل کالوس در تلاقی Micro-Tina x MSK8 و Micro- x Moneymaker Gemma در محیط کشت M۱ ، در تلاقی Micro-Gemma x Micro-Tina و Moneymaker x MSK8 در محیط کشت M۲ (P<۰/۰۵) و در تلاقی Micro-Tina x Micro-Gemma و MSK8 x Moneymaker در محیط M۳ (P<۰/۰۵) مشاهده شد. در مورد صفت قطر کالوس بالاترین قابلیت ترکیب خصوصی معنی‌دار (P<۰/۰۵) در محیط‌های کشت M۱ و M۲ متعلق به تلاقی‌های Micro-Tina x Moneymaker و Micro-Gemma x MSK8 و در محیط کشت M۳ متعلق به تلاقی‌های Micro-Tina x MSK8 و Moneymaker× Micro-Gemma (P<۰/۰۵) بود (جدول۵).

در مورد صفت درصد باززایی شاخساره، به غیر از تلاقی‌های Micro-Tina x Micro-Gemma و Moneymaker x MSK8، سایر تلاقی‌ها از قابلیت ترکیب خصوصی مثبتی و معنی داری (P<۰/۰۵) در محیط کشت M۱ و M۲ برخوردار بودند در حالی که در محیط کشت M۳ بالاترین ترکیب خصوصی معنی‌دار (P<۰/۰۵) متعلق به تلاقی‌های Micro-Tina x Moneymaker و Micro-Gemma x MSK8 بودند (جدول ۵).

جدول ۳- اجزای واریانس ژنتیکی، درجه غالبیت و وراثت‌پذیری صفات مورد اندازه‌گیری در سه محیط کشت

پارامترها	محیط کشت M۱			محیط کشت M۲			محیط کشت M۳		
	تشکیل کالوس(٪)	قطر کالوس (mm)	باززایی شاخساره(٪)	تشکیل کالوس(٪)	قطر کالوس (mm)	باززایی شاخساره(٪)	تشکیل کالوس(٪)	قطر کالوس (mm)	باززایی شاخساره(٪)
V_{GCA}	۱۴۸۹/۴۴	۲۳/۶۵۸	۶۱۱/۳۱	–[x]	–[y]	۳۷۸/۱۸	–[x]	۳/۷۲	۳۱۷/۸۵
V_{SCA}	۳۷۸/۹	۲/۱۱	۲۵۲/۶۷	–	۱/۵۴۷	۳۶۲/۴	–	۱/۵۹	۱۷۸/۰
V_A[۱]	۲۹۷۸/۸	۴۷/۳۱	۱۲۲۲/۵۲	–	–	۷۵۶/۳۶	–	۷/۴۴	۶۳۵/۷۱
V_D[۲]	۳۷۸/۹	۲/۱۱	۲۵۲/۶۷	–	–	۳۶۲/۴	–	۱/۵۹	۱۷۸/۰
$\overline{D}$[۳]	۰/۵۰۴	۰/۲۹۸	۰/۶۴۲	–	-	۰/۹۷	–	۰/۶۵۳	۰/۷۴
h_B^2 (%)[۴]	۹۹/۰۸	۹۷/۸۶	۹۷/۵۳	–	–	۹۶/۲۴	–	۹۶/۸۸	۹۵/۵۳
h_N^2 (%)[۵]	۸۷/۹۰	۹۳/۶۸	۸۰/۸۲	–		۶۵/۰۷	–	۷۹/۸۲	۷۴/۴۲

x: غیر معنی‌دار ، y: مقدار V_{GCA} ناچیز می باشد.

۱: واریانس افزایشی، ۲: واریانس غالبیت، ۳: درجه غالبیت، ۴: وراثت پذیری عمومی و ۵: وراثت پذیری خصوصی.

جدول ۴- اثر قابلیت ترکیب عمومی والدین برای صفات اندازه‌گیری شده در سه محیط کشت

والدین	تشکیل کالوس (٪)			قطر کالوس (mm)			باززایی شاخساره (٪)		
	M۱	M۲	M۳	M۱	M۲	M۳	M۱	M۲	M۳
Micro-Tina	۱۳/۵۸**	-۵/۵۸ns	۵/۰ns	۲/۰۹**	۰/۱۰۱ns	۰/۹۵*	۹/۵۸*	۱۰/۰**	-۱/۶ns
Micro-Gemma	-۳۳**	۲/۲۵ns	۱/۶۶ns	-۴/۰۵**	-۰/۲ns	-۰/۵ns	-۱۷/۹**	۱۵/۰**	۰/۰ns
Moneymaker	۵/۵۸ns	-۰/۵۸ns	-۱/۶۶ns	۱/۸۴*	-۰/۰ ns	-۰/۷*	۵/۴۱ns	-۳/۳ns	-۶/۶ns
MSK8	۱۳/۹۱**	۳/۹۱ns	۳/۹۱ns	۰/۱۰۹*	۰/۱۴ ns	۰/۳۲ns	۱۳/۷۵**	۸/۳۳*	۸/۳*

ns: عدم اختلاف معنی دار با صفر ، *: اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد ، اختلاف معنی دار با صفر در سطح احتمال ۱ درصد.

جدول ۵- اثر قابلیت ترکیب خصوصی والدین برای صفات اندازه‌گیری شده در سه محیط کشت

هیبریدها	تشکیل کالوس (٪)			قطر کالوس (mm)			بازایی شاخساره (٪)		
	M۱	M۲	M۳	M۱	M۲	M۳	M۱	M۲	M۳
$P_1 \times P_2$	-۴/۱ns	-۹/۲۷*	۳/۳۳ns	-۰/۳۹۱ns	-۰/۵۹*	-۰/۸۵*	-۸/۰۵*	-۸/۱۱*	-۹/۴۴**
$P_1 \times P_3$	-۵/۴۴	۱۰/۲۲**	۰/۰ns	۰/۶۹۷ns	۰/۳۲۳*	-۰/۴۴ns	۴/۴۴ns	۰/۰ns	۱۰/۵۵**
$P_1 \times P_4$	۹/۵**	-۰/۹۴ns	-۳/۳۳ns	-۰/۴۰۵ns	۰/۲۸۵ns	۱/۴۰۲*	۳/۷۱ns	۸/۳*	۱/۱۱ns
$P_2 \times P_3$	۹/۵۶**	-۰/۹۴ns	-۳/۳۳ns	-۰/۴۰۵ns	۰/۲۸۵ns	۱/۴۰۲*	۳/۷۱ns	۸/۳*	۱/۱۱ns
$P_2 \times P_4$	-۵/۴۷ns	۱۰/۲۲**	۰/۰ns	۰/۶۹۷ns	۰/۳۲۳*	-۰/۴۴ns	۴/۴۴ns	۰/۰ns	۱۰/۵۵**
$P_3 \times P_4$	-۴/۱ns	-۹/۲۷*	۳/۳۳ns	-۰/۳۹۱ns	-۰/۵۹*	-۰/۸۵*	-۸/۰۵*	-۸/۱۱*	-۹/۴۴**

ns: عدم اختلاف معنی دار با صفر ، *: اختلاف معنی دار با صفر در سطح احتمال ۵ درصد ، اختلاف معنی دار با صفر در سطح احتمال ۱ درصد.

بحث

در این بررسی، ۴ لاین گوجه فرنگی به صورت نیمه دیالل با همدیگر تلاقی داده شدند و پاسخ نرزایی آنها در سه محیط کشت توصیه شده برای کشت بساک گوجه فرنگی، مورد بررسی قرار گرفت. والدین و هیبریدهای F_1 حاصل از آنها درجات متفاوتی از درصد تشکیل کالوس ،قطر کالوس و درصد باززایی را در سه محیط‌کشت‌موردبررسی‌نشان‌دادند.همچنین صفات مرتبط با پاسخ نرزایی از اثر متقابل‌ژنوتیپ و محیط کشت نیز متأثر شدند. به طوری که هیبریدهایMicro-Tina x Moneymaker ، Micro-Tina x MSK8 و MSK8 x Moneymaker در محیط کشت M۱ از درصد تشکیل کالوس و قطر بیشتری نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها در این محیط کشت و دو محیط کشت دیگر برخوردار بودند. درصد باززایی شاخساره در والدین متفاوت بوده و لاین های Micro-Gemma و MSK8 (به ترتیب با ۲۱/۷ و ۳۶/۷ درصد) دارای بالاترین و دو والد دیگر دارای حداقل درصد باززایی شاخساره بودند. هیبریدهای حاصل از این دو گروه والدین واکنشهای متفاوتی به سه محیط کشت نشان دادند و هیبریدهای Micro-Tina x Moneymaker و Micro-Tina x MSK8 از درصد باززایی بیشتر برخوردار بودند. در حالت کلی، برای صفات مورد مطالعه، میانگین هیبریدها بیشتر از میانگین والدین بود. واکنش متفاوت ژنوتیپ‌های گوجه فرنگی به شرایط کشت (ترکیبات محیط کشت، غلظت قند، پیش تیمار و...)، توسط تعدادی از محققین مورد بررسی قرارگرفته است (۱۱، ۱۹، ۲۵، ۲۶، ۲۷). بر اساس نظر این محققین پاسخ نرزایی، عمدتاً از ژنوتیپ گیاه مادری متاثر شده و موفقیت در تولید گیاهان هاپلویید/ دابل هاپلویید وابسته به بررسی تعداد زیادی ژنوتیپ است تا ژنوتیپ‌هایی با واکنش خوب مورد گزینش قرار گیرند.

تنها گزارشی که در مورد نحوه توارث نرزایی در گوجه‌فرنگی وجود دارد، مربوط به تلاقی رقم نر عقیم (دارای ژن جهش‌یافته $ms10^{35}$) با ارقام نر بارور (فاقد پاسخ نرزایی) بود. در این تحقیق مشخص شد که هیبریدهای حاصل، از پاسخ نرزایی بالایی برخوردار بودند و این ژن جهش‌یافته در حالت هموزیگوت مغلوب (*msms*)، دارای حداکثر و در حالت هتروزیگوت(*Msms*) دارای متوسط پاسخ نرزایی بود و بنابراین ثابت شد که وجود ژن جهش یافته مغلوب می‌تواند در پاسخ نرزایی نقش داشته باشد(۲۶).

نتایج تجزیه و تحلیل‌های ژنتیکی با استفاده از روش چهار، مدل مخلوط B گریفینگ نشان داد که در محیط کشت M۱ برای تمام صفات میانگین مربعات قابلیت ترکیب عمومی معنی‌دار بود. میانگین مربعات قابلیت ترکیب خصوصی در محیط کشت M۱ برای درصد تشکیل کالوس و درصد باززایی شاخساره معنی‌دار بود. از طرف دیگر واریانسGCA به مراتب بزرگتر از واریانس SCA برآورد گردید. در تری تیکاله (۴) نیز مشخص گردید که واریانس GCA بزرگتر از واریانس SCA برای صفات نرزایی بود. بنابراین به نظر می‌رسد که در محیط کشت یک مرحله‌ای (محیط کشت پایه MS دارای ۱ میلی‌گرم در لیتر 2ip و ۲ میلی‌گرم در لیتر IAA، یعنی محیط کشت M۱)،

پاسخ نرزایی عمدتاً از ژن‌های افزایشی متاثر بوده است. همچنین وراثت‌پذیری عمومی و خصوصی صفات مورد اندازه‌گیری نسبتاً بالا (بالاتر از ۸۰ درصد) برآورد گردید و می‌توان با عمل گزینش نسبت به افزایش پاسخ نرزایی در محیط کشت M۱ اقدام کرد. در محیطهای کشت M۲ و M۳ نیز همانند محیط‌کشت M۱ ، درصد باززایی شاخساره به طور معنی‌داری متاثر از اثر GCA و SCA بود. برآورد درجه غالبیت و وراثت‌پذیری خصوصی این صفت به ترتیب ۰/۹۷۸ و ۶۵/۷۱ درصد در محیط کشت M۲ و ۰/۷۵ و ۷۴/۴۲ درصد در محیط M۳ بود. این یافته‌ها با نتایج تحقیقات‌روی‌گندم(۵، ۱۳)، تری یتکاله (۴) و جو (۲۰) مطابقت دارد. با این حال، برآورد وراثت پذیری خصوصی تولید گیاه سبز در جو خیلی پایین (۱۵/۵ درصد) برآورد گردیده است (۷).

در محیط کشت M۲ و M۳، میانگین مربعات قابلیت ترکیب خصوصی در مورد قطر کالوس معنی‌دار بود. با این حال فقط در محیط کشت M۲ واریانس SCA به مراتب بزرگتر از GCA محاسبه گردید. به نظر می‌رسد که برآورد درجه غالبیت بزرگتر از یک و وراثت‌پذیری خصوصی خیلی پایین این صفت ناشی از برآورد حد بالای واریانس غالبیت باشد (۱۱).

در مورد صفات مورد بررسی، قابلیت ترکیب عمومی و خصوصی در سه محیط کشت تفاوتهایی را نشان داد. به طوری که هیچ والد یا هیبریدی در هر سه محیط کشت از بالاترین قابلیت ترکیب عمومی یا خصوصی برخوردار نبود. این پدیده می‌تواند ناشی از وجود اثر متقابل ژنوتیپ با محیط کشت باشد. به علت اهمیت بیشتر صفت درصد باززایی شاخساره به نظر می‌رسد که رقم Micro-Tina با دارا بودن قابلیت ترکیب عمومی بالا در محیط کشتهای M۱ و M۲ و رقم MSK8 در هر سه محیط کشت، به عنوان بهترین ترکیب شونده‌ها باشند. از طرف دیگر، هیبرید این دو لاین و نیز هیبرید Micro-Gemma x Moneymaker از قابلیت ترکیب خصوصی بالایی برای درصد تشکیل کالوس در محیط کشت M۱ و درصد باززایی شاخساره در محیط M۱ و M۲ برخوردار بودند. این امر می‌تواند ناشی از وجود غالبیت ناقص در کنترل این دو صفت باشد. از طرف دیگر قابلیت ترکیب خصوصی این دو هیبرید برای صفت قطر کالوس در محیط M۲ و M۳ بالاتر از سایر هیبریدها محاسبه گردید. علت این امر می‌تواند از نقش بالای اثر غیرافزایشی (غالبیت) و پایین بودن واریانس افزایشی نسبت به واریانس غالبیت ناشی شود. در کل می‌توان چنین نتیجه گرفت که درصد تشکیل کالوس، قطر کالوس و باززایی شاخساره عمدتاً توسط اثر ژنهای افزایشی و احتمالاً قطر کالوس در محیط‌های کشت ویژه بوسیله اثر ژنهای غیرافزایشی کنترل می‌شود.

منابع مورد استفاده

REFERENCES

۱. مسیحا، س.، م. مقدم و ع.ر. مطلبی آذر. ۱۳۸۰ . اصلاح سبزی.جلد اول. انتشارات دانشگاه تبریز.

2. Agache, S., J. De Buyser, Y. Henry & J.W. Snape. 1988. Studies of the genetic relationship between anther culture and somatic tissue culture abilities in wheat. Plant Breed. 100: 26-33.
3. Bullock, W.P., P.S. Baenziger, G.W. Schaeffer & P.J. Bottino. 1982. Anther culture of wheat (*Triticum aestivum* L.) F1 and their reciprocal crosses. Theor. Appl. Genet. 62: 155-159.
4. Charmet, G. & S. Bernard. 1984. Diallel analysis of androgenic plant production in hexaploid Triticale. Theor. Appl. Genet. 69: 55-61.
5. Chaudhary, H.K., I. Dhaliwal, S. Singh & G.S. Sethi. 2003. Genetic of androgenesis in winter and spring wheat genotypes. Euphytica. 132: 311-319.
6. Chlyah, A, H. Taarji, & H. Chlyah. 1990. Tomato (*Lycopesicon esculentum* L.): Anther culture and induction of androgenesis. Y. P. S. Bajaj (ed): Biotechnology in agriculture and forestry, Vol. 12: Haploids in crop improvement I. pp. 442–457.
7. Dunwell, J.M. & W. Powell. 1987. Anther culture of *Hordeum vulgare* L.: A genetic study of microspore callus production and differentiation. Theor. Appl. Genet. 74: 60-64.
8. Ekiz, H. & C.F. Konzah. 1994. Preliminary diallel analysis of anther culture response in wheat (*Triticum aestivum* L.). Plant Breed. 113: 47-52.
9. Evans, D.A. & R.A. Morrison. 1986. Tomato anther culture. United States patent, 4, 835: 339-345.

10. Gresshoff. P. M. & C. H. Doy. 1972. Development and differentiation of haploid *Lycopersicon esculentum* (tomato). *Planta*. 107: 161 – 170.
11. Griffing, 9. Evans, D.A. & R.A. Morrison. 1986. Tomato anther culture. United States patent, 4, 835: 339-345. 9. Evans, D.A. & R.A. Morrison. 1986. Tomato anther culture. United States patent, 4, 835: 339-345. B. 1956. Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing system. Aust. J. Biol. Sci. 9: 463-493.
12. Fojtik, A., L. Ohnoutkova, J. Janecek, R. Capka, K. Stixova, M. Loukotova & J. Vagera. 2000. Implementation of induced androgenesis in plant breeding of Lolium, Festuca and Festulolium.http: // www.pbhz.cz/news/anderogeneze/Anderogeneze.htm.
13. Lazar, M. D., P. S. Baenziger & G. W. Schaeffer. 1984. Combining abilities and heritability of callus formation and plantlet regeneration in wheat (*Tritcum aestivum* L.) anther cultures. Theor. Appl. Genet. 68: 131-134.
14. Lee, H. Y., J. O. Jeon, J. G. No & H. G. Park. 1999. Effect of several factors on callus induction in anther culture of cherry tomato. *J. Kor. Soc. Hort. Sci*. 40: 537 -540.
15. Marciniak, K., Z. Kaczmarek, T. Adamski & M. Surma. 2003. The anther culture response of Triticale line x tester progenies. Cellular and Molecular Biology Letters. 8: 343-351.
16. Miah, M. A. A., E. D. Earle & G. S. Hhufh. 1985. Inheritance of callus formation ability in anther cultures of rice, *Oryza sativa* L. Theor. Appl. Genet. 70: 113-116.
17. Ockenden, D.J. & R.A. Sutherland. 1987. Genetic and non-genetic factors affecting anther culture of Brussels sprouts. Theor. Appl. Genet. 74: 566-570.
18. Park, J. B., Y. B. Yi. & C. K. Lee. 2001. Effect of plant growth regulators, donor plant, bud length, low temperature treatment and glucose concentration on callus induction and plant regeneration in anther culture of cherry tomato "Mini – Carol". *J. Kor. Soc. Hort. Sci*. 42: 32-37.
19. Petolino, J.F. & A. Thompson. 1987. Genetic analysis of anther culture response in maize. Theor. Appl. Genet. 74: 284-286.
20. Powell, W. 1990. Environmental and genetical aspects of pollen embryogenesis. In: Y. P. S. Bajaj (Ed), Biotechnology in agriculture and Forestry, Vol. 12, Haploids in crop improvement I. pp: 45-65.
21. Shtereva, L. & B. Atanssova. 2001. Callus induction and plant regeneration via anther culture in mutant tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) lines with anther abnormalities. Israel Journal of Plant Sciences, Vol 49: 205–208
22. Summers, W. L. 1997. Haploid Plantlet production in tomato. In. S. M. Jain, S. K. Sopory & R.E. Veilleux (eds.). *In Vitro* haploid production in higher Plants, Vol. 5. Kluwer Academic Pub. pp. 219-231.
23. Ye, X.G., Q.F. Xu, L.P. Du & Z.W. Li. 1997. Genetic analysis and combining ability evaluation of the anther culture response in common wheat. Sciencia Agricultura, Sinica. 30: 49-54.
24. Zagorska, N. A, M. D. Abadjieva, H. A. Georgiev, M. D. Abadzhieva, & Kh. A. Georgiev. 1982. Inducing regeneration in anther culture of tomatoes (*Lycopersicon esculentum* Mill). Comptes Rendus de Academic Bulgare des Sciences. 35: 97-100.
25. Zagorska, N. A., A. Shterva, B. D. Dimitrov & M. M. Kruleva. 1998. Induced androgenesis in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.), I. Influence of genotype on androgenic ability. Plant Cell Repots. 17: 968-973.
26. Zamir, D., R. A. Jones & N. Kednar. 1980. Anther culture of male sterile tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) mutants. Plant Sci. Lett. 17: 353-361.