بررسی تیمارهای درون شیشه‌ای و گلخانه‌ای کلشی‌سین بر تولید لاین‌های دابل هاپلوئید از گیاهان هاپلوئید خربزه حاصل از بکرزائی القایی (*Cucumis melo* L.)

لیلا باقری[1*]، محمود لطفی[2]، رحیم امیری خواه[3]

۱- پژوهشگر پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، پژوهشکده کشاورزی هسته‌ای، کرج، ایران. ۲- دانشیار گروه علوم باغبانی پردیس ابوریحان دانشگاه تهران، تهران، ایران. ۳- کارشناس ارشد پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، پژوهشکده کشاورزی هسته‌ای، کرج، ایران.

* نویسنده مسئول: lbagheri@nrcam.org

چکیده

تولید لاین‌های دابل هاپلوئید از گیاهان هاپلوئید خربزه برای استفاده در برنامه‌های به‌نژادی نیازمند به کارگیری روش‌های مؤثر دو برابر نمودن کروموزمی است. در این بررسی کارایی تیمارهای درون شیشه‌ای و گلخانه‌ای کلشی‌سین بر باززایی، پلوئیدی و تولید دانه گرده گیاهچه هاپلوئید حاصل از بکرزایی با گرده پرتوتابی شده مورد ارزیابی قرار گرفت. بالاترین میزان باززایی و دیپلوئید شدن در تیمار درون شیشه‌ای ۵۰۰ میلی گرم در لیتر کلشی‌سین به مدت ۲۴ ساعت حاصل گردید. قطع جوانه انتهایی و تحریک به رشد جوانه جانبی سبب افزایش میزان باززایی ریزنمونه‌های جوانه جانبی از ۳۱٪ در ریزنمونه‌های تک‌گره به ۶۳٪ در ریزنمونه‌های جوانه جانبی رشد یافته گردید. در تیمارهای درون شیشه‌ای کشت ریزنمونه‌ها در محیط واجد تنظیم‌کننده‌های رشد سبب کالوسی شدن ریزنمونه و کاهش چشمگیری در میزان باززایی گردید. در تیمار گلخانه‌ای موثرترین تیمار غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر کلشی‌سین به مدت ۲۴ ساعت بود که ۴۰٪ دیپلوئید شدن را ایجاد نمود. به طور کلی، با توجه به نتایج بدست آمده مؤثرترین روش جهت دیپلوئید نمودن استفاده از ریزنمونه‌های سرشاخه و جوانه جانبی رشد یافته و ترکیب تیمار درون شیشه‌ای کلشی‌سین با غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در محیط مایع و تیمار گلخانه‌ای با غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر به مدت ۲۴ ساعت پیشنهاد می‌شود.

کلمات کلیدی: دو برابر نمودن کروموزمی، کلشی‌سین، ریزنمونه، بکرزایی

مقدمه

خربزه یکی از مهم‌ترین محصولات صیفی در کشور است و ایران با تولید سالانه ۱/۴۵ میلیون تن سومین تولید کننده در جهان می باشد. در سال‌های اخیر، تقاضا برای این محصول به خاطر ارزش غذایی و افزایش میزان تولید آن به طور گسترده‌ای افزایش یافت. برنامه‌های به‌نژادی این گونه عمدتاً بر اساس تولید لاین‌های خالص اینبرد به عنوان مرحله اساسی در تولید ارقام هیبرید به منظور توسعه ارقام پر محصول و همچنین مقاوم به آفات و بیماری‌ها و تنش‌های محیطی می‌باشد. در برنامه‌های به‌نژادی کلاسیک، لاین خالص هموزیگوت بعد از چندین نسل خودگشنی بدست می‌آید و با این وجود لاین‌های حاصل هنوز ۱۰۰ ٪ خلوص ژنتیکی را ندارند (Germana, 2006). روش تولید گیاهان هاپلوئید مضاعف با کاهش دادن زمان رسیدن به لاین‌های کاملاً خالص از گیاهان هتروزیگوس نقش مهمی را در اصلاح این گیاهان ایفاء می‌کند. گیاهان هاپلوئید می‌توانند از طریق روش‌های نرزایی درون شیشه‌ای، ماده زایی درون شیشه‌ای، و بکرزائی (تحریک به رشد سلول تخمزا در کیسه جنینی عمدتاً با گرده افشانی با گرده پرتو دیده) بدست آیند (Faris et al., 1999). روش بکرزائی شکلی از تکثیر غیرجنسی است که در آن سلول تخمزای لقاح نیافته به جنین تبدیل می‌شود و چنین جنینی فقط منشاء مادری دارد. روش‌های مرسوم هاپلوئیدی نظیر کشت بساک، تخمک و تخمدان تلقیح نشده برای تولید هاپلوئید در انواع گیاهان جالیزی موفقیت چندانی ندارد و موفق‌ترین روش در این خانواده القاء جنین‌های بکرزا با استفاده از گرده‌های پرتودیده و سپس نجات جنین‌ها در محیط کشت اختصاصی می‌باشد (لطفی و همکاران، ۱۳۸۲). اولین گزارش در مورد تولید هاپلوئید و دابل هاپلوئید در خربزه با تکنیک گرده پرتوتابی شده توسط Sauton و Dumas (۱۹۸۷) صورت

گرفت. این روش در طی دهه‌های اخیر توسط محققین دیگر مورد بررسی و گزارش گردید (Sari et al., 1994؛ Lotfi & Kashi, 1999؛ Kurtar & Balkaya, 2010). مضاعف کردن سری کروموزمی گیاهان هاپلوئید بدست آمده برای تولید لاین هموزیگوس کاملاً بارور یکی از مهم‌ترین موانع در کاربرد این روش می‌باشد (Lotfi et al., 2003). روش دو برابر کردن کروموزم‌های گیاهان هاپلوئید در خربزه عمدتاً بر پایه تیمار با ماده شیمیایی کلشی‌سین است. فاکتورهای زیادی از جمله ژنوتیپ، غلظت کلشی‌سین و مدت زمان تحت تیمار موفقیت دو برابر کردن کامل کروموزم‌ها توسط کلشی سین را تحت تاثیر قرار می‌دهد. این بررسی به منظور به کارگیری چندین روش مضاعف کردن کروموزمی گیاهان هاپلوئید خربزه حاصل از بکرزایی با تکنیک گرده پرتوتابی شده با اشعه گاما و بدست آوردن مؤثرترین روش در تولید گیاهان هاپلوئید مضاعف در توده‌های بومی خربزه صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در سال‌های زراعی ۱۳۸۸ تا ۱۳۹۱ به منظور تولید لاین‌های دابل هاپلوئید در توده‌های بومی خربزه در پژوهشکده کشاورزی هسته‌ای کرج انجام شد. از شش رقم خربزه و طالبی بومی و دو رقم وارداتی (آناناسی و زرد قناری) به عنوان مواد گیاهی در این پژوهش استفاده گردید. شیوه تولید گیاه هاپلوئید براساس روش Lotfi et al. (۲۰۰۳) انجام گرفت. جهت تعیین سطح پلوئیدی گیاهچه‌های حاصله علاوه بر بررسی‌های مورفولوژیکی و آناتومی، از روش شمارش کروموزومی استفاده گردید. در نهایت ۵۲ گیاه هاپلوئید بدست آمد که برای مضاعف کردن کروموزم‌ها، تحت تیمارهای مختلف ماده آنتی میکروتوبول (کلشی‌سین) قرار گرفتند.

مضاعف کردن کروموزم‌های گیاهان هاپلوئید:

روش اول: دو برابر نمودن کروموزوم‌ها با تیمار دورن شیشه‌ای (in vitro) کلشی‌سین: گیاهان هاپلوئید حاصله دو هفته بعد از واکشت به عنوان ماده گیاهی استفاده شدند. سه نوع ریزنمونه سر شاخه، تک‌گره (۳-۱/۵ سانتیمتری حاوی جوانه‌های جانبی) و جوانه‌های جانبی رشد یافته تحت تأثیر چهار تیمار مختلف کلشی‌سین با زمان‌های متفاوت قرار گرفتند. تیمار A، ریزنمونه‌ها با محلول ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر کلشی‌سین رقیق شده با آب مقطر تیمار شده و سپس به محیط کشت جامد E20A فاقد تنظیم کننده‌های رشد منتقل شدند. تیمار B، ریزنمونه‌ها با محلول ۵۰۰ میلی گرم در لیتر رقیق شده با آب مقطر تیمار شده و به محیط کشت جامد E20A حاوی تنظیم کننده‌های رشد (0.88 mg/L IAA; 1.12 mg/L BA; 0.26 mg/L ABA; 5 mg/L AgNO3) منتقل شدند. تیمار C، ریزنمونه‌ها با محلول ۵۰۰ میلی گرم در لیتر رقیق شده با محیط کشت مایع E20A تیمار شده و سپس به محیط کشت جامد E20A فاقد تنظیم کننده‌های رشد منتقل شدند. تیمار D، ریزنمونه‌ها با محلول ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر رقیق شده با محیط کشت مایع E20A تیمار شده و سپس به محیط کشت جامد E20A حاوی تنظیم کننده‌های رشد منتقل شدند. برای هر چهار نوع تیمار، ریزنمونه‌ها به مدت زمان‌های ۱۲، ۱۸ و ۲۴ ساعت در معرض محلول کلشی‌سین بر روی دستگاه شیکر با ۱۰۰ دور در دقیقه قرار گرفتند. بعد از اتمام زمان تیمار، ریزنمونه‌های گیاهی سه بار با آب مقطر استریل شسته شدند و ۲-۴ عدد از آنها بطور جداگانه با توجه به نوع ریزنمونه به ظروف کشت حاوی محیط کشت E20A منتقل شده و در اتاق رشد با دمای ۲۵ درجه سانتیگراد و فتوپریود ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی قرار گرفتند. گیاهچه‌های باززایی شده بعد از سازگاری به گلخانه منتقل شدند.

روش ۲: دو برابر نمودن کروموزوم با تیمار کلشی‌سین در شرایط گلخانه‌ای (*in vivo*): گیاهانی که در شرایط درون شیشه‌ای عمل دو برابر نمودن کروموزوم در آن‌ها موفقیت‌آمیز نبوده، بعد از جداسازی مجدداً در معرض تیمار کلشی‌سین با غلظت ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر قرار گرفتند. بعد از حذف برگ‌های اطراف جوانه انتهایی (۱۰ سانتیمتر انتهایی شاخساره)، مریستم انتهایی

شاخه اصلی در مدت زمان‌های ۱۲ و ۲۴ ساعت در محلول کلشی‌سین قرار گرفتند. بعد از اتمام مدت زمان تیمار سرشاخه‌ها با آب شیر شسته شدند تا کاملاً از محلول کلشی‌سین پاک شوند.

تعیین سطح پلوئیدی: تعیین سطح پلوئیدی با استفاده از روش‌های غیر مستقیم شامل بررسی‌های مورفولوژی و شمارش دانه گرده گل‌های نر گیاهان مختلف صورت گرفت (Lim & Earle, 2008).

نتایج و بحث

در تیمار درون شیشه‌ای، میزان باززایی ریزنمونه‌ها بسته به نوع ریزنمونه، مدت زمان و نوع محیط کشت با غلظت یکسان کلشی‌سین (۵۰۰ میلی گرم بر لیتر) از۲۰ تا ۸۸٪ متغیر بود. ریزنمونه های سرشاخه‌ای تیمار شده با تیمار C به مدت ۱۲ ساعت بیشترین میزان باززایی (۸۸٪) را نشان دادند در حالی که ریزنمونه‌های تک‌گره‌ای تیمار شده با تیمار A و C به مدت ۲۴ ساعت کمترین میزان باززایی(۲۰٪) را داشتند. میزان باززایی در ریزنمونه‌های سرشاخه‌ای (۶۳٪) و جوانه‌های جانبی رشده یافته (۶۳٪) نسبت به ریزنمونه تک‌گره بالاتر بود که با نتایج Lim و Earle (۲۰۰۸) که نشان دادند میزان باززایی در ریزنمونه تک‌گره نسبت به سرشاخه‌ای پایین است، تطابق دارد. کمترین میزان باززایی و بیشترین میزان دیپلوئید شدن در ریزنمونه‌های تیمار شده به مدت ۲۴ ساعت مشاهده گردید و همچنین بیشترین میزان بذرگیری از گیاهان این تیمار حاصل شد. در همه تیمارها کشت ریزنمونه‌ها در محیط واجد تنظیم‌کننده‌های رشد سبب کاهش چشمگیری در میزان باززایی شد و اکثر نمونه‌ها از محل کشت شده در محیط، شروع به کالوسی شدن نمودند و هرچه مدت زمان ماندگاری در این محیط بیشتر شد بر حجم کالوس افزوده شد. قطع جوانه انتهایی و تحریک به رشد جوانه جانبی سبب افزایش میزان باززایی جوانه جانبی از ۳۱٪ در ریزنمونه‌های تک‌گره به ۶۳٪ در ریزنمونه‌های جوانه جانبی رشد یافته گردید. میزان زنده‌مانی سرشاخه‌های گیاهان تیمار شده در گلخانه بسته به غلظت کلشی‌سین بین ۶۸/۵ و ۸۵ درصد بود. با وجود اینکه با افزایش غلظت کلشی‌سین باززایی کاهش یافت ولی بیشترین میزان دیپلوئید شدن در تیمار ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر به مدت ۲۴ ساعت در گیاهچه‌هایی که دارای تعداد گرده بیشتر از ۲۰ عدد بودند حاصل شد (۴۰٪). دوبل شدگی در گیاهان هاپلوئید تیمار شده با ۵۰۰ میلی گرم بر لیتر کلشی‌سین به مدت ۱۲ ساعت رخ نداد در حالی که افزایش غلظت کلشی‌سین و مدت زمان تحت تیمار میزان دو برابر شدن کروموزم‌ها افزایش داد.

نتیجه‌گیری کلی

با توجه به نتایج بدست آمده موثرترین روش جهت دیپلوئید نمودن استفاده از ریزنمونه‌های سرشاخه و جوانه جانبی رشد یافته در تیمار درون شیشه‌ای کلشی‌سین با غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در محیط مایع و در تیمار گلخانه‌ای با غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر به مدت ۲۴ ساعت می‌باشد.

جدول ۱- مقایسه تاثیر تیمارهای مختلف کلشی‌سین با زمان های مختلف بر باززایی و تعداد دانه گرده گیاهان هاپلوئید بکرزا حاصل از ریزنمونه های مختلف

نوع ریزنمونه	تیمارکلشی‌سین	مدت زمان تیمار کلشی‌سین	تعداد ریزنمونه های تیمار شده	گیاهچه های باززایی شده (٪)	گیاهان انتقال یافته به گلخانه	تعداد دانه گرده (%)		
						<۵	۲۰-۵	>۲۰
تک‌گره	A	۱۲	۱۷	۷ (۴۱) [a]	۴	۳ (۷۵)	۱ (۲۵)	۰
		۱۸	۱۷	۶ (۳۵) [ab]	۳	۱ (۳۳)	۲ (۶۷)	۰

		۲۴	۱۰	۳ (۳۰) ^{bcd}	۳	۱ (۳۳)	۱ (۳۳) ۱ (۳۳)
	B	۱۲	۱۴	۴ (۲۹) ^{bcd}	۳	۲ (۶۷)	۱ (۳۳) ۰
		۱۸	۱۷	۴ (۲۴) ^{de}	۳	۱ (۳۳)	۱ (۳۳) ۱ (۳۳)
		۲۴	۱۹	۴ (۲۱) ^{de}	۳	۱ (۳۳)	۱ (۳۳) ۱ (۳۳)
	C	۱۲	۱۷	۷ (۴۱) ^{a}	۶	۳ (۵۰)	۲ (۳۳) ۱ (۱۷)
		۱۸	۲۰	۸ (۴۰) ^{a}	۵	۲ (۴۰)	۲ (۴۰) ۱ (۲۰)
		۲۴	۲۶	۹ (۳۵) ^{ab}	۳	۱ (۳۳)	۱ (۳۳) ۱ (۳۳)
	D	۱۲	۱۹	۶ (۳۲) ^{bc}	۳	۲ (۶۷)	۱ (۳۳) ۰
		۱۸	۲۳	۶ (۲۶) ^{cde}	۲	۱ (۵۰)	۱ (۵۰) ۰
		۲۴	۱۵	۳(۲۰) ^{e}	۳	۲ (۶۷)	۰ ۱ (۳۳)
	کل		۲۱۴	۶۷ (۳۱)	۴۱	۲۰ (۴۸)	۱۴ (۳۴) ۷ (۱۵)
سرشاخه	A	۱۲	۱۴	۷ (۵۰) ^{c}	۵	۲ (۴۰)	۲ (۴۰) ۱ (۲۰)
		۱۸	۶	۵ (۸۳) ^{a}	۴	۱ (۲۵)	۲ (۵۰) 1 (۲۵)
		۲۴	۸	۶ (۷۵) ^{b}	۳	۱ (۳۳)	۱ (۳۳) ۱ (۳۳)
	B	۱۲	۹	۵ (۵۶) ^{cd}	۳	۲ (۶۷)	۱ (۳۳) ۰
		۱۸	۴	۲ (۵۰)	۲	۱ (۵۰)	۱ (۵۰) ۰
		۲۴	۵	۳ (۶۰) ^{c}	۴	۱ (۲۵)	۲ (۵۰) ۱ (۲۵)
	C	۱۲	۸	۷ (۸۸) ^{a}	۴	۲ (۵۰)	۱ (۲۵) ۱ (۲۵)
		۱۸	۹	۷ (۷۸) ^{b}	۵	۱ (۲۰)	۳ (۶۰) ۱ (۲۰)
		۲۴	۷	۵ (۷۱) ^{b}	۴	۲ (۵۰)	۱ (۲۵) ۱ (۲۵)
	D	۱۲	۷	۴ (۵۷) ^{cd}	۳	۱ (۳۳)	۰ ۲ (۶۷)
		۱۸	۶	۳ (۵۰) ^{d}	۳	۲ (۶۷)	۱ (۳۳) ۰
		۲۴	۷	۳ (۴۳) ^{d}	۳	۱ (۳۳)	۰ ۲ (۶۷)
	کل		۹۱	۵۷ (۶۳)	۴۳	۱۷	۱۷ ۹ (۲۰)
جوانه جانبی	A	۱۲	۱۱	۷ (۶۴) ^{c}	۴	۳ (۷۵)	۱ (۷۵) ۰
رشد یافته		۱۸	۱۲	۸ (۶۷) ^{c}	۵	۳ (۶۰)	۱ (۲۰) ۱ (۲۰)
		۲۴	۹	۷ (۷۸) ^{b}	۴	۱ (۲۵)	۱(۲۵) ۲ (۵۰)
	B	۱۲	۲۰	۱۱ (۵۵) ^{d}	۶	۳ (۵۰)	۲ (۳۳) ۱ (۱۷)
		۱۸	۱۵	۷ (۴۷) ^{d}	۴	۳ (۷۵)	۰ ۱ (۲۵)
		۲۴	۲۱	۱۱ (۵۲) ^{d}	۸	۵ (۶۳)	۲ (۲۵) ۱ (۱۲)
	C	۱۲	۱۷	۱۵ (۸۸) ^{a}	۹	۶ (۶۷)	۳ (۳۳) ۰
		۱۸	۱۸	۱۵ (۸۳) ^{ab}	۱۱	۴ (۳۶)	۵ (۴۵) ۲ (۱۸)
		۲۴	۱۵	۱۲ (۸۰) ^{ab}	۱۰	۳ (۳۰)	۴ (۴۰) ۳ (۳۰)
	D	۱۲	۱۵	۷ (۴۷) ^{d}	۵	۳ (۶۰)	۲ (۴۰) ۰
		۱۸	۱۳	۶ (۴۶) ^{d}	۴	۲ (۵۰)	۱(۲۵) ۱ (۲۵)
		۲۴	۱۱	۶ (۵۵) ^{d}	۳	۱ (۳۳)	۱ (۳۳) ۱ (۳۳)
	کل		۱۷۷	۱۱۲ (۶۳)	۷۳	۳۷ (۵۲)	۲۳ (۲۹) ۱۳ (۱۹)

در هر ستون میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک می‌باشند بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۱ درصد اختلاف معنی دار ندارند.

جدول ۲- اثر تیمار گلخانه‌ای کلشی‌سین بر زنده‌مانی و تعداد دانه گرده گیاهان هاپلوئید بکرزا رشد یافته در گلخانه

تیمار کلشی‌سین (mg/l)	مدت زمان تیمار کلشی‌سین	تعداد گیاه تیمار شده	تعداد زنده‌مانی	تعداد دانه گرده		
				<۵	۲۰-۵	>۲۰
۵۰۰	۱۲	۸	۷ (۸۷) a	۵ (۷۱)	۲ (۲۹)	۰ (۰)
	۲۴	۱۰	۸ (۸۰) a	4 (۵۰)	۲ (۲۵)	۲ (۲۵)
	کل	۱۸	۱۵ (۸۵) a	۹ (۶۰)	۴ (۲۷)	۲ (۱۳)
۱۰۰۰	۱۲	۱۱	۷ (۶۴) b	۳ (۴۲)	۲ (۲۹)	۲ (۲۹)
	۲۴	۸	۵ (۶۳) b	۳ (۶۰)	۰ (۰)	۲ (۴۰)
	کل	۱۹	۱۲ (۶۸/۵) b	۶ (۵۰)	۲ (۱۷)	۴ (۳۳)
کل		۳۷	۲۷ (۷۴)	۱۵ (۵۲)	۶ (۲۴)	۶ (۲۴)

در هر ستون میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک می‌باشند بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۱ درصد اختلاف معنی دار ندارند.

منابع

۱. لطفی .م.، کاشی. ع، زمانی. ذ ، سید طباطبایی. ب.ا، ارل. ا. ۱۳۸۲. تولید کارآمد گیاهان هاپلوئید به منظور ایجاد لاین‌های خالص در خربزه (*cucumis melo* L.). مجله علوم کشاورزی ایران. ۴۳، ۵۵-۶۵.

2. Germana, M.A. 2006. Doubled haploid production in fruit crops. Plant Cell Tiss Organ Cult 86:131–146
3. Faris, N.M., Nikolova, V. & Niemirowicz-Szczytt, K. 1999. The effect of gamma irradiation dose on cucumber (Cucumis sativus L.) haploid embryo production. Acta Physiological Plantarum. 21:301–396.
4. Sauton A. & Duma s de Vaulx, R. 1987. Production of haploid plants in melon (Cucumis melo L.) as a result of gynogenesis induced by irradiated pollen. Agronomie 7: 141-147.
5. Sari, N., Abak, K. Pitrat, M. Rode, J.C. & Dumas de Vaulx, R. 1994. Induction of parthenogenetic haploid embryos after pollination by irradiated pollen in watermelon. Horticulture Science. 29: 1189–1190.
6. ئKurtar, E.S. & Balkaya, A. 2010. Production of in vitro haploid plants from in situ induced haploid embryos in winter squash (*Cucurbita maxima* Duchesne ex Lam.) via irradiated pollen. Plant Cell Tissue Organ Culture. 102: 267–277.
7. Lotfi, M. & Kashi, A. 1999. Induction of parthenogenetic embryos by irradiated pollen in cucumber. Acta Horticulture. 492: 323–326.
8. Lotfi, M., Alan, A.R., Henning, M.J., Jahn M.M., & Earle E.D., 2003. Production of haploid and double haploid plants of melon (*Cucumis melo* L.) for use in breeding for multiple virus resistance. Plant Cell Report. 21: 1121-1128.
9. Lim, W., Earle, E.D., 2008. Effect of *in vitro* and *in vivo* colchicine treatments on pollen production and fruit set of melon plants obtained by pollination with irradiated pollen. Plant Cell Tissue Organ Culture. 95: 115-124.

Investigation of *in vitro* and *in vivo* colchicine treatments on recovery of doubled haploid lines from parthenogenetic plants of Iranian melon (*Cucumis melo* L.)

L. Bagheri[1*], M. Lotfi, R. Amiri-Khah[1]

1- Nuclear Agriculture Research School, Nuclear Science and Technology Research Institute, Karaj, Iran.

2- Department of Horticulture, College of Aboureihan, University of Tehran, Tehran, Iran.

*Corresponding Author, Email: lbagheri@nrcam.org

Abstract

Production of double haploid lines from haploid melon plants for use in breeding programs requires efficient chromosome doubling procedures. In this study, the effects of in vitro (A, B, C, and D treatments) and in vivo colchicine treatments tested on regeneration, ploidy, and pollen production of parthenogenetic melon plantlets produced through in situ parthenogenesis by pollination with irradiated pollen. The most effective procedure was in vitro exposure of shoot tip explants to 500 mg.l^{-1} of colchicine for 24 h. This treatment gave 43% regeneration of explants and 67% conversion to diploidy. Plant regeneration was increased from 31% in nodal explants to 88% in growing axillary bud explants. In vitro exposure of explants to colchicine treatments and transferred the treated explants to medium supplemented with a combination of growth regulators resulted in less plant regeneration and more calli growth. In case of the *In vivo* treatments, the most effective treatment was 1000 mg. l^{-1} of colchicine for 24 h, with a 40 % doubling rate. Finally, Strategie in vitro exposure of shoot tip and growing axillary bud explants to colchicine treatments and combination with in vivo 1000 mg.l^{-1}colchicine for 24 h recommended for recovery of doubled haploid lines from parthenogenetic melon plants.

Key words: Chromosome doubling, Colchicine, explants, Parthenogenesis