مضاعف سازی کروموزمهای لایه L_3 رقم دیپلوئید *Solanum commersonii* و هیبرید تریپلوئید (*S.acaule* × *S.phureja*) سیب زمینی با استفاده از دزهای مختلف کلشیسین

شهناز فتحی (۱)، سیروس مسیحا (۲)، جابر پناهنده (۳)

۱- مدرس مرکز آموزش عالی شهید باکری میاندوآب ۲ و ۳- استاد دانشگاه تبریز

این تحقیق به منظور مضاعف‌سازی کروموزوم‌های لایه L_3 رقم دیپلوئید *Solanum commersonii* 2x(2EBN) و هیبرید تریپلوئید (*S.acaule* × *S.phureja*) 3X (2EBN) به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرارو چهار فاکتور(ژنوتیپ،جوانه ،غلظت کلشیسین ومدت زمان) انجام گرفت. ابتدا گیاهان با اندازه مناسب را به‌دست آورده، بعد از سر برداری جوانه اول و دوم و سوم، با غلظت‌های ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد کلشیسین، به مدت ٢٤ و ٤٨ ساعت تیمار شدند. نتایج نشان داد که ژنوتیپ هیبرید تریپلوئید با۳۹/۳۱ درصد، جوانه اول با٤١/٠١ درصد ،کلشیسین در غلظت ۱/۵ درصد با ۳۵ درصد و مدت زمان ٤٨ ساعت با۳۲/۵۰ درصد بهترین سطوح بوده اند.

لغات کلیدی: مضاعف سازی، کلشیسین، جوانه، *solanum commersonii* ، *S.acaule* × *S.phureja* ، EBN

مقدمه:

سیب زمینی زراعی از نظر داشتن خویشاوندان وحشی و تنوع ژرم پلاسم جایگاه ویژه ای داشته ودر میان گونه های وحشی آن، ژنوتیپ های مقاوم به انواع بیماری ها وآفات وجود دارد. که اصلاحگران سعی دارند این صفات را به گونه های زراعی انتقال دهند. برای این کار پس از دورگ گیری با استفاده از بذر حقیقی(TPS) به ژنوتیپ های مورد نظر رسیده سپس نتاج حاصل از تلاقی های مورد نظر با تکثیر رویشی تثبیت می گردد. زیرا به استثنای جهش های نادر، هر کلون کاملاً شبیه گیاه مادر است. اما مشکل اساسی در مرحله دورگ گیری بین گونه های وحشی و زراعی، نامتعا دل بودن عدد توازنی آندوسپرم (EBN) می باشد. در گونه های زراعی سیب زمینی EBN=٤ می باشد در حالیکه بیشتر گونه های وحشی EBN پایین تری دارند. بنابراین جهت دورگ گیری لازم است یکسان سازی EBN صورت گیرد برای این کار از دو طریق عمل می شود یا از طریق کاهش سطح پلوئیدی گونه های زراعی و سپس تلاقی با گونه های وحشی، یا افزایش سطح پلوئیدی گونه های وحشی و تلاقی با دی هاپلوئیدهای گونه های زراعی است. از جمله روشهای کاهش سطح پلوئیدی، تولید هاپلوئید ها و از روشهای افزایش سطح پلوئیدی، تولید گامت های ۲n، مضاعف سازی از طریق کشت بافت و مضاعف سازی سوماتیکی از طریقIn vivo یعنی تیمار مریستم های گیاهی با مواد مضا عف کننده می باشد. در این تحقیق، مطالعه روی دو ژنوتیپ مهم سیب زمینی صورت گرفت، که در برنامه های اصلاحی جایگاه ویژه ای دارند. *سولانوم کامرسونی* به عنوان یک گیاه مدل برای مقاومت به سرما و یخبندان در بین گونه های سیب زمینی معرفی شده است(۵). بعلاوه مقاومت به استرسهای زیستی، مقاومت به نماتدها، بیماری آلترناریا و مقاومت به پژمردگی باکتریایی از جمله ویژگیهای آن می باشد(۲). *سولانوم آکول* یک تتراپلوئید دی سومیک و دارای مقاومت به ویروس X,Y، ویروس پیچیدگی برگ سیب زمینی و ویروئید دوکی شدن غده می باشد(6). بنابراین با توجه به اهمیت این دو گونه ، این تحقیق، به منظور تعیین تأثیر ژنوتیپ، غلظت ومدت زمان مناسب تیمار باکلشیسین وموقعیت جوانه روی مضاعف سازی کروموزمهای لایه L_3 بررسی شد.

مواد و روشها:

این آزمایش در فیتوترون دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز انجام گرفت. برای تهیه بستر از مخلوط ۲:۱ ماسه به پرلیت استفاده شد و برای تغذیه گیاهان از محلول غذایی هوگلند استفاده شد. جهت تیمار جوانه ها با استفاده از محلول کلشیسین یک روز قبل ازتیمار، گیاهان سربرداری شده و سپس پنبه آغشته به محلول کلشیسین روی جوانه‌های جانبی قرار داده شد و به منظور تامین رطوبت، گلدان با پلاستیک کاملاً پوشیده شد. بعد از پایان مدت تیمار محل جوانه ها به منظور برطرف کردن اثر کلشیسین، شستشو داده شد و در مدت رشد جوانه های تیمار شده، جهت از بین بردن رقابت، همه جوانه ها ی جانبی جز

جوانه های تیمار شده حذف شدند. سپس شاخه های حاصل از جوانه تیمار شده را ریشه دار نموده جهت تعیین سطح پلوئیدی لایه L_3 قطعه کوچکی ازانتهای ریشه را برداشته و پس از مراحل هیدرولیز و رنگ امیزی با استفاده از میکروسکوپ الکترونی شمارش کروموزمومی انجام گرفت.

نتایج:

نتایج حاصل از شمارش تعداد کروموزمهای انتهای ریشه نشان داد که، میزان مضاعف شدن کروموزمی لایه L_3 در گونه تریپلوئید۳۹/۳۱ درصد و در گونه سولانوم کامرسونی٤٠/ ٢٥درصد و بیشترین تأثیر آن مربوط به جوانه اول، (٤١/١درصد) و کمترین میزان آن مربوط به جوانه سوم (١٤/١درصد) می‌باشد که به نظر می رسد این موضوع مربوط به غالبیت انتهایی و فعالیت رشد بیشتر در جوانه اول باشد. بیشترین مقدار مضاعف شدگی (٤٢ درصد) مربوط به غلظت ١/٥ درصد و کمترین مقدار آن یعنی (١٧/١ درصد) مربوط به غلظت ٠/٥ درصد می‌باشد. نتایج حاصل از مطالعات آجیلین و همکاران روی گیاه زینتی بنفشه نیز نشان داند که بین غلظت کلشیسین و مضاعف شدگی کروموزمی رابطه مثبت و معنی داری وجود دارد(1). و مدت زمان ٤٨ ساعت (با میانگین مضاعف سازی ٣٣/٩٨درصد) نسبت به مدت زمان ٢٤ ساعت (با میانگین مضاعف سازی ٢٧/٨٧درصد) تأثیر بیشتری داشت. دی ماین و فانتس در تیمار فلفل دولمه ای با کلشیسین نتیجه مشابهی گرفتند(٣). در گیاه سیب زمینی و در تیمار با کلشیسین، میزان مضاعف شدن در لایه L3 وL2 مشابه است(٢). بنابر این در اینجا فرض شده، مضاعف سازی لایه L3 مشابه لایه L2 (سازنده بافت های زایشی) است. بطور کلی روش مضاعف سازی سوماتیکی کروموزمها با استفاده از کلشیسین نسبت به سایر روشها هزینه کمتری در بر دارد و همانند کشت بافت و امتزاج پروتوپلاست مشکلات آداپته شدن به محیط گلخانه را ندارد. اما این روش مشکل و وقت گیر است

منابع:

1- Ajalin I., Kobza F., 2001. Chromosome number doubling of *Viola* × *wittrockiana* Gams.Through colchicine treatment and its effect on early plant development. Hort. Sci. Vol. 28:150-156.

2- Carputa, D., L . Frusciant and S.J. Peloquin. 2003. The role of 2n gametes and endsperm balance number in the origin and evolution of polyploidy in the tuber – bearing sloanum. Genetics. Vol.163:287-294

3- - De main M. J. and Fantes J. A. 1983. The result of colchicine treatment of dihaploide and their implication regarding efficiency of chromosome doubling and potato histogeny Potato. Res. 26: 289-294.

4- Watanabe, K. ,c. Arbizu and P.E.schmiediche, 1991, Potato germ plasm enhancement with disomic tetraploid *solanum acaule*. Genome. vol. 35: 53-**57.**

Doubling the somatic chromosome number in L3 histogenetic layer of *solanum commersonii* and triploid hybrid *S.acaule* × *S.phureja* by treatment their buds with different doze of Colchicine

Abstract :

The aim of this research was to double the somatic chromosome number in L3 histogenetic layer of *solanum commersonii* 2x(2EBN) and triploid hybrid *(S.acaule* × *S.phureja*) 3X (2EBN) by colchicines treatment. This research was tested by using factorial experiment, based on completely randomized design. at first, suitable plant material was obtained and pinched ,then first , second and terth buds were treated with colchicine solution (%0.5, %1, %1.5) for 24 and 48 hours. the number of chromosome was counted to determine (L3), the results showed that triploid hybrid with (%39.31), first bud (%41.1), colchicine %1.5 (%42) and 48 hours (%33.98) were the best level, of factors.