مقایسه خصوصیات دانه گرده رزهای هگزاپلوئید با والدین تریپلوئید آنها

تکتم احمدی (۱) و (۲)، مریم جعفرخانی کرمانی (۱) و کامبیز مشایخی (۲)
۱- پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی، بخش کشت بافت و انتقال ژن، ۲- دانشگاه منابع طبیعی گرگان

افزایش سطح پلوئیدی در محیط درون شیشه در رزها به منظور تغییر در صفات مرفولوژیکی و افزایش سطح باروری انجام می شود. در این تحقیق، قابلیت زنده مانی و جوانه زنی دانه گرده در رزهای با کروموزوم های دو برابر شده (هگزاپلوئید) با والدین آنها (*R.hybrida* cv. Iceberg) ارزیابی و مقایسه شد. قابلیت زنده مانی دانه گرده با روش رنگ آمیزی توسط (FDA) تعیین شد. میزان جوانه زنی دانه گرده با غلظت های مختلف اسید بوریک (۰، ۵ ، ۱۰ و ۱۵ میلی گرم بر لیتر) و ساکارز (۰ ، ۱۰ ، ۱۵ ،۲۰ و ۲۵ گرم بر لیتر) در ۱٪ آگار اندازه گیری شد. بالاترین درصد جوانه زنی در ۲۵ گرم در لیتر ساکارز و ۱۰ میلی گرم در لیتر اسید بوریک در هر دو رقم مشاهده شد. قابلیت زنده مانی دانه گرده و درصد جوانه زنی به طور قابل توجهی در گیاهان هگزاپلوئید بیشتر از گیاهان تریپلوئید بود.

واژه های کلیدی: پلی پلوئیدی، رز، دانه گرده، قابلیت زنده مانی، درصد جوانه زنی

مقدمه

در جنس *Rosa* تعداد کروموزوم های پایه ۷ و دامنه یوپلوئیدها از۱۴=۲x =۲n تا ۵۶=۸x= ۲n می باشد. اکثر گونه های رز دیپلوئید هستند اما بیشتر ارقام باغی و شاخه بریده تتراپلوئید (۲۸= ۴x =۲n) می باشند.تلاقی بین ارقام تتراپلوئید و ارقام وحشی دیپلوئید اغلب به علت مقاومت ارقام وحشی به بیماریهای قارچی به کار می رود اما این امر باعث ایجاد ارقام تریپلوئید با میزان باروری پائین می شود. با دو برابر کردن کروموزوم های رزهای تریپلوئید می توان انتظار تولید هگزاپلوئیدهای بارور را داشت. امکان باروری والدین می تواند برای شایستگی آنها برای استفاده در برنامه های اصلاحی و نیاز برای تشخیص دو برابر شدن کروموزومهای آنها ارزیابی شود(۱). در این تحقیق قابلیت زنده مانی و جوانه زنی دانه گرده در رزهای هگزاپلوئید با والدین تریپلوئید آنها مقایسه شد.

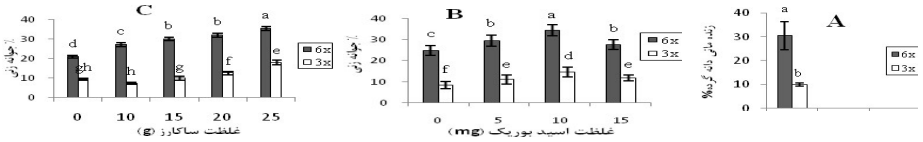
مواد و روش ها

مواد گیاهی این تحقیق شامل ۲۴ گلدان رز تریپلوئید "آیس برگ" و ۲۴ گلدان رقم جدید هگزاپلوئید با نام" ابری" بود. برای تعیین زنده مانی دانه گرده۷ نمونه گیاهی با ۵ تکرار برای هر ژنوتیپ اندازه گیری شد پرچم های گل را در مرحله ۳/۴ باز جمع آوری کرده و در پتری دیش در دمای آزمایشگاه حدود دو ساعت قرار داده تا خشک شدند. سپس آنها را روی اسلاید میکروسکوپ تکان داده وبا یک قطره از رنگ fluorescein diacetate رنگ آمیزی شدند.پس ۱۰ دقیقه نگهداری در دمای آزمایشگاه درصد زنده مانی با میکروسکوپ فلورسانس اندازه گیری شد. بررسی تأثیر ژنوتیپ ، ساکارز و اسید بوریک برمیزان جوانه زنی دانه گرده روی دو ژنوتیپ شامل رقم تریپلوئید "آیس برگ" و رقم هگزاپلوئید "ابری" انجام شد. محیط جوانه زنی شامل ۴ غلظت اسید بوریک(۱۵،۱۰،۵،۰ میلی گرم بر لیتر) و ۵ غلظت ساکارز(۰،۱۰،۱۵،۲۰،۲۵ گرم بر لیتر) و آگار ۱٪ بود، پرچم ها را روی محیط تکان داده و بعد از ۲ ساعت قرار دادن در

دمای آزمایشگاه نمونه ها با میکروسکوپ معکوس بررسی شد. این بررسی به صورت یک آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد . که فاکتور اول ژنوتیپ در ۲ سطح شامل ژنوتیپ های "آیس برگ" و "ابری" و فاکتور دوم اسید بوریک در ۴ سطح (۰، ۵ ، ۱۰ ، ۱۵ میلی گرم بر لیتر) و فاکتور سوم ساکارز در ۵ سطح (۰،۱۰،۱۵،۲۰،۲۵ گرم بر لیتر) در نظر گرفته شد. برای هر آزمایش، هر پتری دیش یک تکرار و برای هر تیمار ۵ تکرار در نظر گرفته شد.

نتایج و بحث

با توجه به نمودار ۱-A میزان زنده مانی دانه گرده در رقم هگزاپلوئید "ابری" (۳۰/۵۴٪) نسبت به رقم تریپلوئید "آیس برگ"(۹/۹۶٪) بیشتر بود. یکی از فواید افزایش سطح پلوئیدی افزایش میزان باروری است. رز "آیس برگ" تریپلوئید می باشد و در ارقام تریپلوئید به علت جفت نشدن کروموزوم ها و ایجاد گامتهای نامتعادل (۳ ، ۲ و۱ والنت) باروری کم است. کرمانی در ۲۰۰۳ با دو برابر کردن کروموزومهای رز تریپلوئید رقم جدید هگزاپلوئید به دست آورد که میزان باروری آن بیشتر از رقم والد آن بود. اسید بوریک و ساکارز دو فاکتور مؤثر در جوانه زنی دانه گرده می باشند.در بررسی اثر ژنوتیپ، ساکارز و اسید بوریک روی درصد جوانه زنی دانه گرده بیشترین میزان جوانه زنی در غلظت ۱۰میلی گرم برلیتر اسید بوریک(نمودار۱-B) و غلظت ۲۵ گرم بر لیتر ساکارز (نمودار۱-C) برای هر دو ژنوتیپ وبیشترین درصد جوانه زنی دانه گرده مربوط به رقم هگزاپلوئید "ابری"(۳۴/۴۷٪) بود. ساکارز هم به عنوان یک ماده غذایی در جوانه زنی دانه گرده و هم به حفظ تعادل اسمزی بین محیط جوانه زنی و سیتوپلاسم دانه گرده کمک می کند(۲). وجود اسید بوریک در محیط حاوی غلظتهای مختلف ساکارز باعث افزایش جوانه زنی دانه گرده می شود. بنابراین استفاده از اسید بوریک در محیط کشت جوانه زنی رشد لوله گرده را افزایش می دهد(۳).



نمودار۱- A- درصد زنده مانی دانه گرده B- اثر اسید بوریک و ژنوتیپ روی درصد جوانه زنی C- اثر ساکارز و ژنوتیپ

منابع

1. Kermani MJ, Sarasan V, Roberts AV, Yokoya A, Wentworth J, Sieber VK (2003) Oryzalin-induced chromosome doubling in *Rosa* and its effects on plant morphology and pollen viability Theor Appl Genet 107:1195-1200

2. Mukerjee, S.K and P.K. Das (1964). Playnology in horticulture and plant breeding, pp. 305-326. In: Nair P.K.K. (Ed). *Recent advances in playnology*

3. OKelly, J.C (1955). External carbohydrates in growth and respiration of pollen tubes *in vitro*. *American Journal of Botany* 42: 322-326.

EVALUATIION OF POLLEN CHARACTERISTICS IN CHROMOSOME DOUBLED ROSES AND THEIR PROGENITORS

Toktam Ahmadi[1,2], Maryam Jafarkhani Kermani[1], Kambiz Mashayekhi[2]
1- Agricultural Biotechnology Research Institute of 2. Gorgan University of Agriculture and Natural Resources

Abstract
The technique of *in vitro* polyploidisation has been employed in roses with the objective of altering the morphological features and increasing fertility. In the present investigation pollen viability and pollen germination of chromosome-doubled ,hexaploid, roses (ABRII) were compared with their triploid progenitor (*R.hybrida* cv. Iceberg). Pollen viability was assayed by fluorescein diacetat (FDA). Pollen germination was determined using different concentrations of boric acid (0, 5, 10, 15 mg/l) and sucrose (0, 10, 15, 20, 25 g/l) in 1% water agar. The highest percentage of pollen germination was observed at 25g/l sucrose and 10mg/l boric acid in both cultivars. The pollen viability was considerably higher in the hexaploids than the triploids. Similarly percentage of pollen germination was significantly greater in hexaploids than triploids.

Key Words: polyploidy**,** rose**,** pollen**,** viability**,** germination**.**