

2,4-D و

Study of genotype, cold pre-treatment, low-dosage Gamma irradiation and 2,4-D concentration effects on wheat anther culture response

بهنام ناصریان خیابانی^۱، فرامرز مجد^۲، سیروس ودادی^۳، اسفندیار رحمانی^۴،
میراحمد موسوی شلمانی^۵

۰. بررسی تأثیر ژنوتیپ، پیش تیمار سرمایی، دزهای پایین اشعه گاما و هورمون 2,4-D در واکنش به کشت پرچم گندم، مجله علوم زراعی ایران. شماره ۱، جلد ۷، صفحه ۹۶-۸۶.

mg l⁻¹ 2,4-D (F3 2005, F3 2104) ()
gl⁻¹ / mg l⁻¹ Kinetin mg l⁻¹ 2,4-D CHB
()
2,4-D
2,4-D
F₃ 2104 F₃ 2005
2,4-D :

تاریخ دریافت: ۱۳۸۲/۳/۲۱

۱، ۲، ۳ و ۴- اعضای هیأت علمی سازمان انرژی اتمی- (مرکز تحقیقات کشاورزی و پزشکی هسته‌ای)

تولید گیاهان دابل هاپلوئید در گندم، کشت بساک می‌باشد و تا کنون ارقام و واریته‌های بسیاری از طریق تولید گیاهان دابل هاپلوئید (کشت بساک و تلاقی گندم با ذرت) ایجاد شده است (Forest 2002). جدول ۱ تعدادی از این واریته‌ها و لاین‌ها را که از طریق روش تولید گیاهان دابل هاپلوئید در گندم ایجاد شده‌اند، نشان می‌دهد.

گیاهان دابل هاپلوئید به منظور استفاده در اصلاح نباتات و مطالعات مربوط به آن در بسیاری از گیاهان زراعی و باغی به کار گرفته شده است. مزیت و کاربرد عمده دابل هاپلوئیدها در برنامه‌های اصلاحی، کوتاه کردن دوره اصلاح و افزایش کارایی گزینش در آنهاست (بزرگی پور، ۱۳۷۳). یکی از روش‌های مهم

جدول ۱- ارقام و لاین‌های گندم تولید شده از طریق دابل هاپلوئیدی (Forest 2002)

Table 1. Cultivars/ lines of wheat produced by doubled haploidy (Forest 2002)

منبع/تولید کننده Authority/Reference	کشور Country	روش Method	رقم/لاین cultivars/lines
Andre Rosa	Brazil	کشت بساک / Anther Culture	BR-43
Wenchun Zhou	China	کشت بساک / Anther Culture	Jinghua1
De Buyser et al.,	France	کشت بساک / Anther Culture	Florin
Pierre Devaux	France	تلاقی گندم با ذرت Maize pollination	Raspail
Tony Rhodes	UK	تلاقی گندم با ذرت Maize pollination	Xi19
Zoltan Bedo	Hungary	کشت بساک / Anther Culture	MV Szigma
Stine Tuveson	Sweden	کشت بساک / Anther Culture	SW Agaton

تولید گیاهان هاپلوئید به سه عامل تولید جنین، باززایی گیاه و نسبت گیاهان سبز بستگی دارد، این صفات وراثت‌پذیری بالایی دارند و همچنین مکان‌های ژنی کنترل‌کننده این صفات مستقل از هم می‌باشند (ناصریان و همکاران، ۱۳۷۹؛ Henry and De-Buyser, 1985; Ghaemi and Sarrafi, 1994; De-Buyser et al., 1992). تجزیه دیالل پارامترهای ژنتیکی دو صفت اصلی (کال‌زایی و گیاه‌زایی) نشان داد که کل تغییرات در نتیجه عوامل ژنتیکی با اثرات افزایشی می‌باشند. برآورد وراثت‌پذیری خصوصی در واریته‌های زراعی علی‌رغم

عوامل متعددی در پاسخ به کشت بساک مؤثرند که از آن جمله می‌توان ژنوتیپ گیاه بخشنده بساک، محیط کشت و انواع پیش تیمارها را نام برد (Ghaemi and Sarrafi, 1994; De-Buyser et al., 1992). ناصریان و همکاران (۱۳۷۹). بر اساس تحقیقات انجام شده، ثابت گردیده که میزان کال‌زایی و گیاه‌زایی در ژنوتیپ‌های مختلف متفاوت است و تنوع ژنتیکی وسیعی در این زمینه دیده می‌شود (Anderson et al., 1988; Chu, 1982; Foroughi and Wenzal, 1993; Moieni and Sarrafi, 1995; Ouyang, 1989). عملکرد

اسید) یا سایر اکسین‌های ضعیف استفاده می‌گردد (Henry and De Buyser, 1990; Chu et al., 1990). با توجه به اهمیت ویژه‌ای که کاربرد دابل هاپلوئیدی در اصلاح نباتات به ویژه گندم دارد، لازم است تا عملکرد تولید دابل هاپلوئیدها افزایش یابد. بدین منظور، اعمال پیش تیمارها و تیمارهای هورمونی یکی از راه‌های دستیابی به عملکرد بالا در پاسخ به کشت بساک است. این تحقیق به منظور بررسی اثرات ژنوتیپ، پیش تیمارها و هورمون D-2,4 و نیز روابط این عوامل با یکدیگر انجام گرفت.

در این تحقیق تأثیر پیش تیمارهای سرمایی و دزهای کم اشعه گاما و نیز تأثیر ۲ غلظت هورمون D-2,4 در پاسخ به کشت بساک سه ژنوتیپ گندم (اترک، F₃2104، F₃2005) مورد بررسی قرار گرفت. لاین‌های F₃2104 و F₃2005 نتاج نسل سوم تلاقی اترک با MV17 بود که از بخش غلات مؤسسه اصلاح نهال و بذر تهیه شده بود. گیاهان مادری در شرایط مزرعه در کرت‌های ۱ m² در سه ردیف در اوایل فروردین ماه کشت شدند. در طول دوره رویش کود به صورت سرک و محلول‌پاشی با استفاده از کود کامل فوسامکو انجام گرفت. همچنین کنترل علف‌های هرز به طور دستی و کنترل آفات (شته) با استفاده از سم سیستمیک متاسیستوکس-آر انجام شد. با بررسی سیتولوژیکی دانه‌های گرده، سنبله‌ها در زمان مناسب یعنی زمانی که اکثریت میکروسپورها در مرحله تک هسته‌ای میانی تا انتهایی (Mid to Late uninucleated Stage) بودند (Gang-H and Ouyang, 1984) برداشت شده و به آزمایشگاه کشت بافت بخش کشاورزی هسته‌ای (سازمان انرژی اتمی) منتقل گردیدند. قبل از کشت پیش تیمارهایی بر روی سنبله‌ها انجام گرفت که روش کار به شرح زیر است:

وجود اثرات متقابل محیطی ارزش بالای ۰/۷-۰/۶ را نشان داده است. بنابراین انتقال این صفات از ژنوتیپ‌های سازگار به ژنوتیپ‌های ناسازگار به سرعت انجام می‌گیرد (Pickering and Devauy, 1992; Ghaemi and Sarrafi, 1994; Ekiz and Konzak, 1994). در اکثر آزمایشات انجام گرفته به منظور تولید گیاه دابل هاپلوئید، پیش تیمار سرمایی برای تحریک پاسخ به کشت بساک مورد استفاده قرار گرفته است. پیش تیمار بساک‌ها در دمای C ۵-۳ به مدت حداقل ۴۸ ساعت، منجر به افزایش کال‌زایی و گیاه‌زایی می‌گردد. همچنین تیمار سرمایی بساک‌ها قبل از کشت منجر به توقف تقسیم نامنظم میتوزی در دانه گرده شده و لذا فراوانی گرده با دو سلول هم اندازه افزایش می‌یابد. چنین سلول‌هایی منبع مناسبی برای جنین‌زایی خواهند بود (Henry and De-Buyser, 1990; Chu, 1982; Navarro et al., 1994). استفاده از پرتوهای یونساز نظیر اشعه گاما با دزهای پائین، اثرات محرک بر پاسخ به کشت بساک در گندم داشته است. تغییر در میزان پاسخ به کشت بساک به دز اشعه بستگی دارد و برای هر ژنوتیپی متفاوت می‌باشد. دزهای پرتو گاما تا ۷ گری نقش محرکی در میزان کال‌زایی داشته و در دزهای بالاتر از ۷ گری میزان باززایی به طور محسوسی کاهش می‌یابد و در دز ۱۰ گری هیچ پاسخی دیده نشده است (Ling et al., 1991). انجام پیش تیمار سرمایی قبل از پرتودهی به طور معنی‌داری میزان پاسخ را کاهش می‌دهد (Ling et al., 1991).

در محیط‌های کشت بساک به منظور القاء جنین، معمولاً از D-2,4 (دی کلرو فنوکسی استیک اسید) استفاده می‌شود. محدوده غلظت مورد استفاده عموماً بین ۱-۳ mg l⁻¹ است. غلظت‌های کمتر از ۱ mg l⁻¹ باعث کاهش کال‌زایی می‌شوند و در غلظت‌های بالاتر از ۳ mg l⁻¹ میزان باززایی کاهش می‌یابد. به طور کلی هورمون D-2,4 باعث کاهش توان باززایی می‌گردد. لذا در محیط باززایی از هورمون NAA (نفتالین استیک

- ۱- پیش تیمار سرمایی: سنبله‌ها بلافاصله پس از برداشت درون پتری دیش‌های ۱۲ سانتی‌متری قرار داده شدند و به منظور حفظ رطوبت درون هر پتری دیش یک پنبه خیس قرار داده شده و سپس در پتری‌ها با پارافilm بسته شده و به مدت یک هفته در دمای ۴°C و تاریکی قرار گرفتند.
- ۲- پیش تیمار با دزهای کم اشعه گاما: سنبله‌های برداشت شده درون پتری دیش ۱۲ سانتی‌متری در یک سطح قرار داده شدند و سپس با استفاده از چشمه کبالت
- ۶۰ بخش دزیمتری استاندارد ثانویه سازمان انرژی اتمی ایران (SSDL^۱) با دزهای ۲ و ۴ گری پرتودهی شدند. پس از پیش تیمار، سنبله‌ها از غلاف خارج شده و با محلول هیپوکلریت سدیم ۵٪ که از رقیق نمودن مایع سفید کننده تهیه گردیده بود، به مدت ۱۵ دقیقه ضدعفونی شده و سپس در شرایط استریل با آب مقطر استریل شستشو داده شدند.
- برای القاء کالوس و جنین از محیط CHB (Chu et al., 1990) به صورت تغییر یافته استفاده شد

جدول ۲- ترکیب محیط‌های CHB (محیط کال‌زائی) و 190-2 (محیط باززائی)
Table 2. Composition of CHB (induction media) and 190-2 (regeneration media)

ترکیب محیط کشت Medium composition	CHB(mgl ⁻¹)	190-2 (mgl ⁻¹)
KNO ₃	1415	1000
Ca(NO ₃) ₂ .4H ₂ O		100
(NH ₄) ₂ SO ₄	232	200
KH ₂ PO ₄	200	300
CaCl ₂ .2H ₂ O	83	-
MgSO ₄ .7H ₂ O	93	200
ZnSO ₄ .7H ₂ O	5	3
MnSO ₄ .4H ₂ O	5	8
H ₃ BO ₃	5	3
KI	0.4	0.5
CuSO ₄ .H ₂ O	0.0125	0.025
CoCl ₂	0.0125	-
NaMoO ₄ .2H ₂ O	0.0125	-
Thiamin HCl	2.5	1
Pyridoxine HCl	0.5	0.5
Nicotinic Acid	0.5	0.5
Calcium Pantothenate	0.25	-
Ascorbic Acid	0.5	-
Glycine	1	2
Mayo inositol	300	100
Glutamine	1000	-
Sucrose	-	30000
Maltose	90000	-
FeSO ₄ .7H ₂ O	32	27.8
Na ₂ EDTA	32	37.3
Agar	-	7000
PH	5.4	5.6-5.8

جدول ۲). در این محیط به جای مالتوز از ساکارز و همچنین از هورمون 2,4-D با غلظت‌های 4 و 2 mg l^{-1} به همراه $5/0 \text{ mg l}^{-1}$ کنتین استفاده گردید. محیط مزبور پس از تهیه در پتری‌های 8 cm به مقدار 10 ml پخش شد و در درون هر پتری ۲۰۰ بساک کشت گردید. پس از ۲۵ روز اولین کالوس‌ها مشاهده شدند کالوس‌های حاصل به محیط باززایی ۲-۱۹۰ (Zhuang and Xu, 1983) حاوی 5 mg l^{-1} NAA و $5/0 \text{ mg l}^{-1}$ کنتین و ۷ گرم در لیتر آگار منتقل شدند. کالوس‌های جنین‌زا پس از ۱۴ روز جوانه زده و تولید گیاهچه نمودند.

گیاهچه‌های حاصل به محیط ۲-۱۹۰ فاقد هورمون منتقل شدند و پس از توسعه کافی سیستم ریشه به منظور سازگار نمودن به گلدان‌های حاوی ماسه منتقل و با کود کامل فوسامکو تغذیه شدند. پس از سازگاری گیاهچه‌ها با استفاده از بررسی سیتوژنتیکی گیاهچه‌های هاپلوئید و دیپلوئید خود به خودی مشخص شدند. گیاهچه‌های هاپلوئید پس از هرس ریشه تا محل طوقه در محلول حاوی 0.05% کلشیسین، 2% دی متیل سولفوکسید به مدت ۵ ساعت در دمای اتاق قرار داده شدند. سپس با آب شستشو داده شده و به گلدان منتقل شدند، گیاهچه‌های تیمار شده پس از سازگار شدن به گلخانه پلاستیکی منتقل شده و بذریه شدند.

این آزمایش به صورت فاکتوریل ۴ فاکتوره در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تکرار اجرا شد و برای تجزیه و تحلیل و رسم گراف از نرم‌افزارهای MSTATC و Excel استفاده گردید.

داده‌های مربوط به لاین F_32104 به دلیل پاسخ بسیار ضعیف به کشت بساک (کال‌زایی و گیاه‌زایی) در تجزیه واریانس وارد نگردید. لذا نتایج نشان داده شده در جدول (۱) تنها مربوط به ژنوتیپ اترک و لاین F_32005 می‌باشد. برای تمام داده‌ها تبدیل $\log x + 10$ انجام گرفت

و تجزیه واریانس و مقایسه میانگین با این داده‌ها صورت گرفت (نتایج ارائه شده در جدول اعداد اصلی هستند). جدول ۱ نشان می‌دهد که بین دو ژنوتیپ اختلاف معنی‌داری در میزان کال‌زایی وجود ندارد، هر چند که هر دو ژنوتیپ نسبت به لاین F_32104 پاسخ بسیار بهتر و معنی‌داری داشتند. میزان گیاه‌زایی بین دو ژنوتیپ در سطح احتمال ۱٪ اختلاف معنی‌دار داشت. لاین F_32005 نیز نسبت به دو ژنوتیپ دیگر بالاترین درصد کال‌زایی و گیاه‌زایی را به خود اختصاص داده بود (شکل ۱). محققان بسیاری (Henry and De-Bayser, 1990; Ghaemi and Sarrafi, 1994; Lazar et al., 1984; Moieni et al., 1997; Moieni and Sarrafi, 1996 a, 1996; ناصریان و همکاران، ۱۳۷۹؛ ناصری و همکاران، ۱۳۸۰) تنوع ژنتیکی در پاسخ به کشت بساک را گزارش کرده‌اند.

بین دو غلظت 2,4-D به کار برده شده در محیط کشت در پاسخ به کشت بساک (کال‌زایی و گیاه‌زایی) اختلاف معنی‌دار به ترتیب در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪ وجود داشت. استفاده از 2,4-D 4 mg l^{-1} در محیط کشت CHB منجر به کاهش کال‌زایی و گیاه‌زایی نسبت به محیط حاوی 2,4-D 2 mg l^{-1} گردید. ژنوتیپ با غلظت هورمون 2,4-D اثر متقابل معنی‌دار در هیچ یک از صفات مورد بررسی نشان نداد، به عبارت دیگر مقدار 2,4-D 2 mg l^{-1} برای هر دو ژنوتیپ مناسب بوده است. پیش تیمار سرمایی سنبه‌ها به مدت یک هفته در دمای 4°C و شرایط تاریکی، علی‌رغم مؤثر بودن در میزان کال‌زایی، در گیاه‌زایی ژنوتیپ‌ها بی‌تأثیر بود. محققان متعددی (Henry and De-Buyser, 1990; Chu, 1982) تأثیر مثبت پیش تیمار سرمایی را گزارش کرده‌اند. با بررسی اثر متقابل پیش تیمار سرمایی با ژنوتیپ اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ مشاهده گردید. مقایسه میانگین نشان داد که پائین‌ترین میزان کال‌زایی در ژنوتیپ اترک در حالت عدم اعمال پیش تیمار سرمایی به دست آمده است (شکل ۲). از آنجا که دو ژنوتیپ از

کال‌های حاصل از بساک‌های پیش تیمار نشده که در محیط حاوی $2,4-D$ 4 mg l^{-1} قرار گرفته بودند، باززایی کمتری نشان دادند. از آنجایی که پیش تیمار سرمایی تأثیری در میزان گیاه‌زایی نداشت لذا می‌توان غلظت هورمون $2,4-D$ را مسوول این فرایند دانست. به عبارت دیگر افزایش غلظت $2,4-D$ توان باززایی را کاهش می‌دهد. پیش تیمار سنبله‌ها با دزهای پایین، اشعه گاما و کشت بساک پس از پرتودهی در هیچکدام از صفات مورد بررسی اثر معنی‌داری نشان نداد. همچنین اثر متقابل تیمار پرتودهی با ژنوتیپ و اثر متقابل تیمار پرتودهی با $2,4-D$ اختلاف معنی‌داری در سطوح مختلف خود نداشتند. اما اثر متقابل تیمار پرتودهی با

نظر کال‌زایی اختلاف معنی‌داری نداشتند، لذا وجود تفاوت در سطوح مختلف اثر متقابل ژنوتیپ با پیش تیمار سرمایی، مربوط به تأثیر پیش تیمار بوده است. به عبارت دیگر هر ژنوتیپ به ترکیب خاصی از پیش تیمار سرمایی نیاز دارد. این نتیجه با گزارشات Marsolais et al., 1984; Karimzadeh et al., 1995 مطابقت دارد.

اثر متقابل پیش تیمار سرمایی با غلظت هورمون $2,4-D$ بر روی درصد کال‌زایی معنی‌دار نبود، و تأثیر پیش تیمار سرمایی مستقل از هورمون $2,4-D$ بود. اثر متقابل پیش تیمار سرمایی با غلظت هورمون $2,4-D$ در میزان گیاه‌زایی مؤثر بوده است.

جدول ۳- میانگین مربعات ژنوتیپ (G)، پیش تیمار سرمایی (C)، پرتو گاما (I) و $2,4-D$ (H)

برای صفات نرژانی مورد بررسی

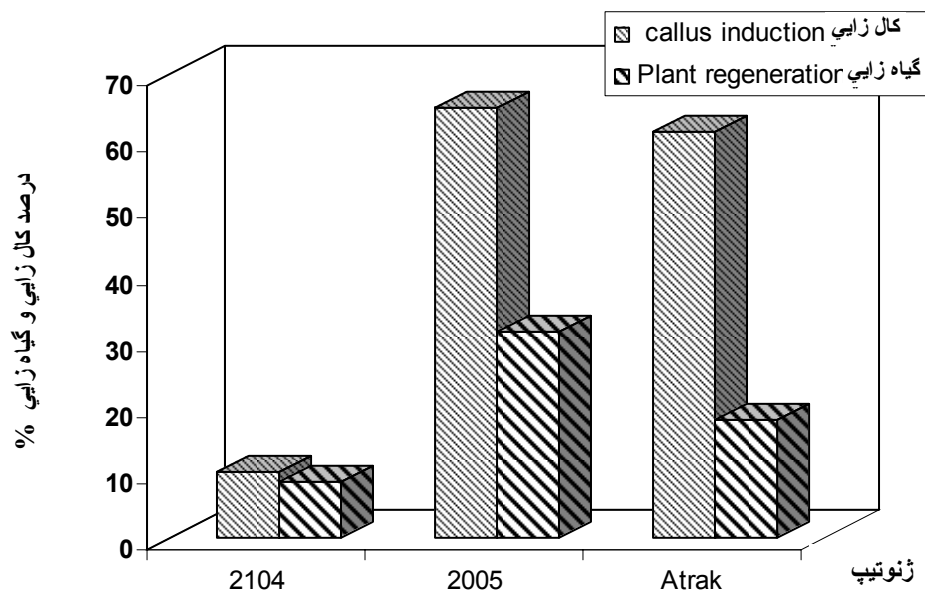
Table 3. Mean squares for effect of Genotype (G), Cold pre treatment (C), Gamma irradiation (I) and $2,4-D$ (H)

for androgenic traits				
S. O. V.	منابع تغییرات	درجه آزادی df	درصد کال‌زایی Ca/ 100 A	درصد گیاه‌زایی Tr/ 100 Ca
Genotype (G)	ژنوتیپ	1	4.726 ^{ns}	7491.197**
$2,4-D$ (H)	هورمون $2,4-D$	1	172.538*	4237.728**
G × H	ژنوتیپ × $2,4-D$	1	72.976 ^{ns}	469.416 ^{ns}
Cold preTreatment (C)	تیمار سرمایی	1	502.793**	272.599 ^{ns}
G × C	ژنوتیپ × تیمار سرمایی	1	218.105*	145.214 ^{ns}
C × H	$2,4-D$ × تیمار سرمایی	1	255.780 ^{ns}	2411.113*
G × H × C	ژنوتیپ × $2,4-D$ × تیمار سرمایی	1	140.893 ^{ns}	1810.909 ^{ns}
Gamma Irradiation (I)	پرتو گاما	2	151.207 ^{ns}	622.916 ^{ns}
G × I	ژنوتیپ × پرتو گاما	2	46.646 ^{ns}	35.858 ^{ns}
I × H	پرتو گاما × $2,4-D$	2	40.621 ^{ns}	331.897 ^{ns}
G × H × I	ژنوتیپ × $2,4-D$ × پرتو گاما	2	354.559**	1709.859 ^{ns}
C × I	تیمار سرمایی × پرتو گاما	2	172.238*	8601.837**
G × C × I	ژنوتیپ × تیمار سرمایی × پرتو گاما	2	276.332**	2704.519**
H × C × I	$2,4-D$ × تیمار سرمایی × پرتو گاما	2	86.275 ^{ns}	29.491 ^{ns}
G × C × H × I	ژنوتیپ × $2,4-D$ × تیمار سرمایی × پرتو گاما	2	86.275 ^{ns}	5448.214**
Error	خطا	72	83.075	503.165
C. V.	ضریب تغییرات	—	13.28%	19.18%

** : Significant at 1% level
Ca: Callus

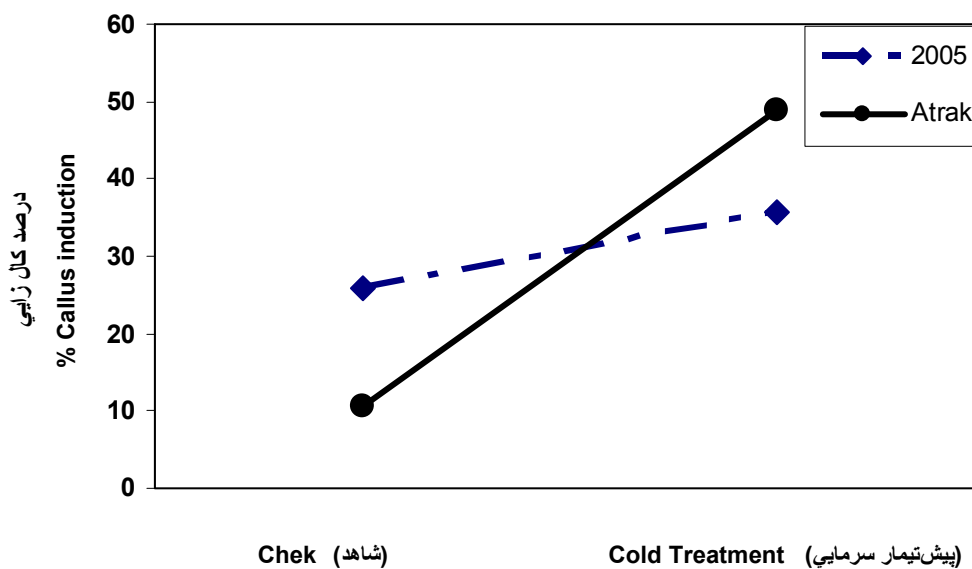
* : Significant at 5 level
A: Anther

ns: Non significant
Tr: Total regeneration



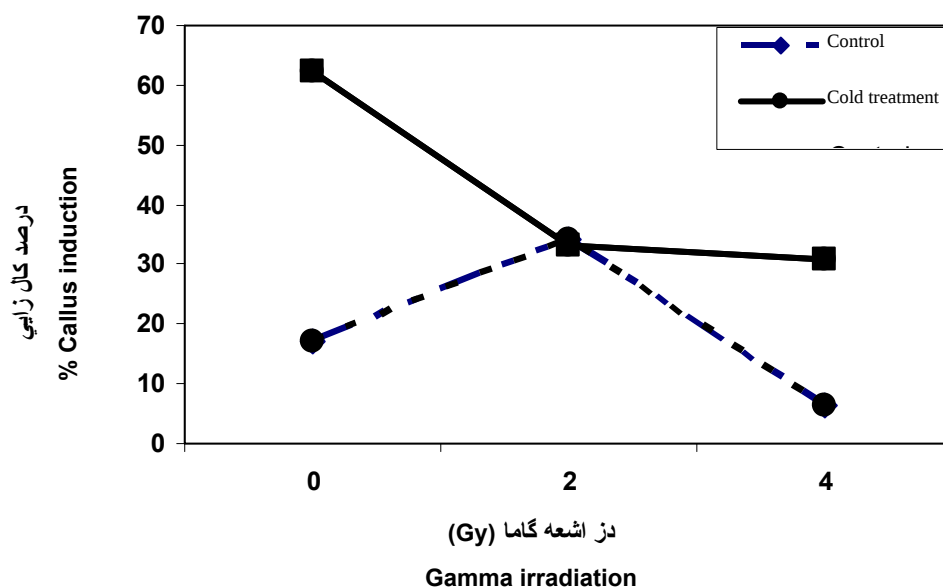
شکل ۱- میانگین درصد کال زایی و گیاه زایی در سه ژنوتیپ گندم

Fig. 1. Mean of callus induction and plant regeneration (%)



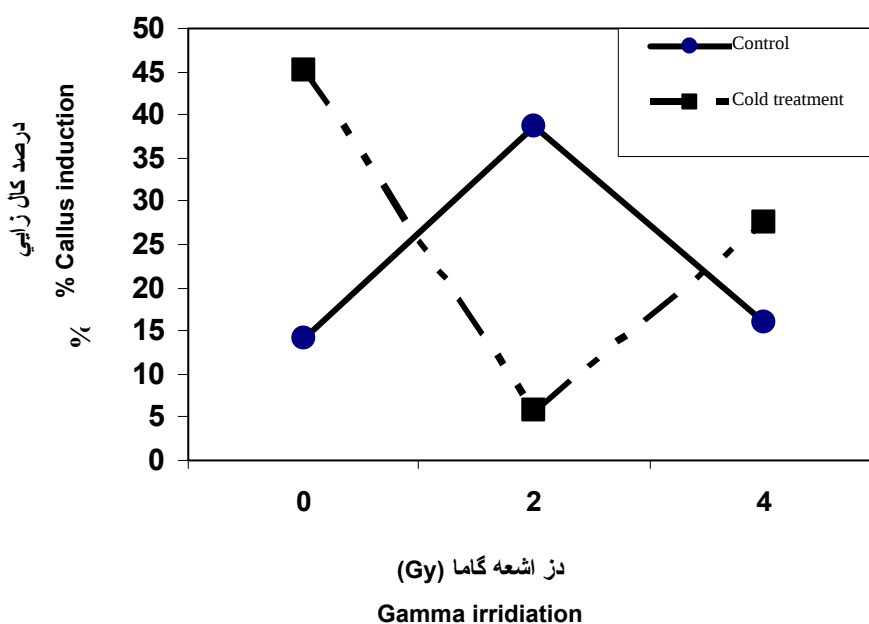
شکل ۲- اثر متقابل ژنوتیپ با پیش تیمار سرمائی در درصد کال زایی

Fig. 2. Interaction between genotype and cold treatment on callus induction



شکل ۳- اثر متقابل بین پرتو گاما با پیش تیمار سرمایی در درصد کال زایی

Fig. 3. Interaction between Gamma irradiation and cold treatment on callus induction



شکل ۴- اثر متقابل بین پرتو گاما با پیش تیمار سرمایی در درصد گیاه زایی

Fig. 4. Interaction between gamma irradiation and cold treatment on plant regeneration

تلفیق با تیمار پرتو دهی در افزایش میزان کال زایی مؤثرتر است. تلفیق این دو تیمار با هم منجر به کاهش میزان کال زایی گردید (شکل ۳).

پیش تیمار سرمایی اختلاف معنی داری در صفات مورد بررسی داشت. مقایسه میانگین ها با آزمون دانکن مشخص کرد که پیش تیمار سرمایی به تنهایی و بدون

۲- به منظور دستیابی به کالزایی بالا می‌توان از پیش تیمار سرمائی سنبله‌ها قبل از کشت بساک استفاده کرد. اما در استفاده از این پیش تیمار نیز باید به ژنوتیپ گیاه توجه شود زیرا که هر ژنوتیپ به ترکیب خاصی از زمان و درجه حرارت پیش تیمار نیاز دارد (Marsolais et al., 1984; Karimzadeh et al., 1995) ناصریان و همکاران، (۱۳۷۹).

۳- استفاده از تیمار پرتودهی در تحریک پاسخ به کشت بساک مؤثر نبود و لذا پیشنهاد نمی‌گردد.
۴- مکان‌های ژنی کنترل صفات آندروژنز (کالزایی و گیاه‌زایی) مستقل از هم هستند. این نتیجه با توجه به عکس‌العمل‌های متفاوتی که در صفات مزبور در اثر تیمارهای مختلف مشاهده شد قابل توجیه است.

باززایی کال‌ها نیز از وضعیت مشابهی پیروی می‌کند (شکل ۴). نتیجه اخیر برخلاف گزارش (Ling et al., 1991) است. اما ناصریان و همکاران (۱۳۷۹) و ناصری و همکاران (۱۳۸۰) نتایج مشابهی را گزارش کرده‌اند. به طور کلی می‌توان نتایج به دست آمده از این پژوهش را به شرح زیر جمع‌بندی کرد:

۱- صفت آندروژنز تحت کنترل ژنوتیپ و محیط می‌باشد. این نتیجه از سوی بسیاری از محققان: (Ouyang, 1989; Foroughi and Zeller, 1990; Chu, 1982; Anderson et al., 1988; Henry and De-Buyser, 1990 و ناصریان و همکاران ۱۳۷۹، ناصری و همکاران ۱۳۸۰) تأیید شده است.

References

- استفاده از روش اصلاحی هاپلوئیدی در غلات. مقالات کلیدی سومین کنگره زراعت و اصلاح نباتات. دانشگاه تبریز.
- بررسی تأثیر زادمون، محیط کشت و تیمار سرد بر کشت بساک لاین‌های موتاسیون زای گندم. مجله علوم و فنون هسته‌ای، شماره ۲۲ صفحات ۵۶-۶۴.
- تولید تک لاد با روش کشت بساک. مجله علوم و فنون هسته‌ای، شماره ۲۴ صفحات ۵۷-۶۷.
- Anderson, S. S., Due, I. K. and Olesen, A. 1988. Results with anther culture in some important Scandinavian varieties of winter wheat. Acta. Agric. Scand. 38: 280-292.
- Chu, C. C. 1982. Haploid in plant improvement. In: I.K. Vasil, W.R.Scourft and K.J.Frey (eds). Plant improvement and Somatic cell genetics. Academic Press. PP 129-158.
- Chu, C. C., Hill, R. D. and Babel, A. L. B. 1990. High frequency of pollen formation and plant regeneration in *Triticum aestivum* on monosaccharide containing media. Plant Science. 66: 255-260.
- De Buyser, J., Hachemi- Rachedi, S., Lemmee, M. L., Sejourne Marwtte, S. J. I., and Henry, Y. 1992. Aneuploid analysis of anther culture response in wheat. Plant Breeding. 109: 339-342.
- Ekiz, H. and C. F. Konzak, 1994. Preliminary diallel analysis of anther culture response in wheat (*Triticum aestivum* L.) Plant breeding. 113: 47-52.
- Foroughi-Wehr, B. and Wenzal, G. 1993. Andro and Parthenogenesis In: Hayward, M.D., Bosemark, N.O., Romugosa I. (eds). Plant Breeding. Chapman & Hall. Pp 261-277.
- Frost, B. 2002. Table of cultivars / lines produced by doubled haploidy. WWW. Scri. Sari. ac. uk.

- Gang-He, D. and Ouyang, J. W. 1984.** Callus and plant let formation from cultured wheat anthers at different development stages. *Plant Sci. Letters*. 33: 71-79.
- Ghaemi, M. and Sarrafi, A. 1994.** The effect of "D" genome from synthetic wheat lines in anther culture response. *Plant Breeding*. 112: 76-79.
- Henry, Y. and De-Buyser, J. 1985.** Effect of the IB/ IR translocation on anther culture ability in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant cell Reports*, 4: 307-310.
- Henry, H. and De-Buyser, J. 1990.** Wheat anther culture. In: Y. P. S. Bajaj (ed). *Biotechnology in Agriculture and Forestry*. Springer- Verlag. Vol B. PP 285-350.
- Karimzadeh, G., Kovaes, G. and Barnabas, B. 1995.** Effect of cold treatment and different culture medium on the androgenic capacity two winter wheat genotypes. *Cereal Research communication*. 23(3): 223-227.
- Lazar, M. D, Schaeffer, C. W., Baenziger, P. S. 1984.** Combining abilities and heritability of callus formation and plant regeneration in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theo. and Appl. Gene*. 67: 273-277.
- Ling, D. X., Luckett, D. J. and Darvey, N. L. 1991.** Low-dose gamma irradiation promotes wheat anther culture response. *Aust.J.Bot*. 39: 467-474.
- Marsolais, A. A., Segain-Swart, G. and Kasha, K. J. 1984.** The influence of anther cold pretreatment and donor plant genotypes on invitro androgenesis in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Cell Tissue and Organ Culture*. 3: 69-79.
- Moini, A. and Sarrafi, A. 1995.** Genetic analysis for haploid-regeneration response of hexaploid wheat anther cultures. *Plant Breeding*. 114: 247-249.
- Moini, A. and Sarrafi, A. 1996a.** The effects of gibberlic acid phenylethylamin, 2,4,D and Genotype on androgenesis in hexaploid wheat (*Triticum aestivum*). *Cereal Research communications*. 24 (2): 139-145.
- Moini, A. and Sarrafi, A. 1996b.** Effect of donor plant genotype and media composition on androgenesis of Iranian spring wheat genotype and F1 hybrids. *J. Genet & Breed*. 50: 383-386.
- Moieni, A., Vallavieille-Pope, C. DE and Sarrafi, A. 1997.** Potential use of doubled haploid lines for screening of resistance to yellow rust (*Puceinia striformis*) in hexaploid wheat. *Plant Breeding*. 116: 595-597.
- Navarro-Alvarez, W., Baenziger, S. S. and Eskridge, K. M. 1994.** Addition of colchicines to wheat anther culture media to increase doubled plant production. *Plant Breeding* 112: 192-198.
- Ouyang, J. W. 1989.** Induction of pollen plant in *Triticum aestivum*. In: H. Han and Hong Yuan, Y. (eds) *Haploid of higher plant invitro*. China Academic publishers. Beijing. pp 26-41.
- Pickering, R. A. and Devaux, P. 1992.** Haploid production: Approaches and use in plant breeding. In: Sjewry, P. R. (ed). *Barley Genetics, Biochemistry, Molecular Biology and Biotechnology*. PP 519-549.
- Zhuang, J. J. and Xu, J. 1983.** Increasing differentiation frequencies in wheat pollen callus. In :Hu, H. and Vega, M. R. (Eds) *Cell and tissue culture techniques for cereal crop improvement*. Science press, Beijing. pp 431.

Study of genotype, cold pre-treatment, low-dosage Gamma irradiation and 2,4-D concentration effects on wheat anther culture response

Naserian¹, B., F. Majd², S. vedadi³, E. Rahmani⁴ and A. Mosavi Shalmani⁵

ABSTRACT

In this study, effects of genotype, cold pre-treatment, low dosage Gamma irradiation and 2, 4-D concentration on response of three wheat genotypes (Atrak, F₃ 2005 and F₃ 2104) to anther culture were investigated. Seeds of donor genotypes were grown under field condition in early spring. Anthers from donor plants were collected and plated on modified CHB medium containing 2,4-D (2 and 4 mg l⁻¹), 0.5 mg l⁻¹ Kinetin and gl⁻¹ Sucrose. Number of calli formed in 100 anthers and number of plantlet produced from 100 calli were counted. Results indicated that genotypes, cold pre-treatments and 2,4-D concentrations had significant effects on response of wheat genotypes to anther production, while F₃ 2104 the lowest. It would be concluded that androgenic traits are controlled by genotype and environmental factors. Furthermore this traits are controlled independently.

Key words: Spring wheat, Doubled haploid, Cold pretreatment, Low-dose gamma Irradiation, 2, 4-D concentration, Callus plantlet

- 1, 2, 3 & 4: Scientific members of Atomic Energy Organization (Nuclear Research Center for Agriculture and Medicine