

بررسی رابطه‌ی دانه‌گرده - مادگی در تلاقی دو زیر گونه از سیب‌زمینی زراعی با گونه‌های وحشی آلو تتراپلوئید

The Investigation of Pollen-Pistil Relationship in Crosses Between Two Subspecies of Cultivated Potato with Wild Allotetraploid Relatives

جابر پناهنده^{1*}، مصطفی ولی‌زاده²، محمود خسروشاهی³ و فرخ رحیم‌زاده خوئی²

چکیده

موفقیت تلاقی‌های بین گونه‌ای در سیب زمینی‌ها عمدتاً بر پایه ناسازگاری پس تخمی بنام تئوری عدد توازنی آندوسپرم (EBN) یا پلوئیدی موثر توجیه می‌شود که بر اساس آن دو گونه زمانی با هم تلاقی پذیر خواهند بود که از EBN یکسانی برخوردار باشند اما علاوه بر این در برخی تلاقی‌ها موانع پیش تخمی نیز مشاهده شده است. در این آزمایش تلاقی پذیری چهار گونه آلو تتراپلوئید EBN2 (سولانوم آکول، استولونیفروم، فندلری و هیرتینگی) با 11 کلون متعلق به دو زیر گونه از سیب زمینی‌های زراعی اتوتتراپلوئید EBN4 (سولانوم توبروزوم زیرگونه توبروزوم و زیرگونه آندیژنا) از نظر موانع پیش تخمی (رابطه‌گرده-مادگی) و میوه بندی و بذر دهی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد علاوه بر تفاوت در EBN، ناسازگاری پیش تخمی نیز در این تلاقی‌ها شایع است. شیوع ناسازگاری پیش تخمی زمانی که گونه‌های وحشی به صورت والد ماده در تلاقی شرکت داده شدند کمتر از تلاقی‌های متقابل بود. در میان گونه‌های آلو تتراپلوئید سولانوم آکول از کم‌ترین قابلیت نفوذ و سد کنندگی برخوردار بود و در بین دو زیر گونه زراعی نیز زیر گونه توبروزوم قابلیت سد کنندگی کمتری داشت. از مجموع 1169 گرده افشانی دو هیبرید از تلاقی توبروزوم × استولونیفروم، یک هیبرید از تلاقی توبروزوم × هیرتینگی و یک هیبرید از تلاقی توبروزوم × فندلری تولید شد. سه هیبرید اول تتراپلوئید و هیبرید آخر هیپوتتراپلوئید تشخیص داده شد.

واژه‌های کلیدی: تلاقی پذیری، تلاقی بین EBN، تلاقی بین گونه‌ای، ناسازگاری، گرده افشانی

1. استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

2. استادان گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

3. استاد گروه علوم جانوری، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز

*: نویسنده مسوول Email: panahandeh@Tabrizu.ac.ir

موثری برخوردار می‌باشد که لزوماً معادل پلوئیدی کروموزومی نیست. برای موفقیت تلاقی‌ها می‌بایست در آندوسپرم از نظر EBN یا پلوئیدی موثر مادر به پدر رابطه 2:1 برقرار باشد در غیر این صورت به دلیل واماندگی آندوسپرم مدتی بعد از تلقیح جنین سقط خواهد کرد EBN. گونه‌های سولانوم بر پایه نتایج تلاقی گونه‌ها با گونه‌های با EBN استاندارد تعیین می‌شود. بر پایه چنین تلاقی‌هایی گونه‌های آلوتتراپلوئید EBN2 و سیب-زمینی‌های زراعی EBN4 هستند. با استفاده از روش‌هایی نظیر نجات جنین و یا انتخاب ژنوتیپ‌هایی از گونه با EBN پایین که توان تولید گامت کاهش نیافته را داشته باشد می‌توان به نتایج هیبرید در تلاقی‌های بین EBN دست یافت به شرطی که EBN تنها عامل ناسازگاری باشد و موانع پیش تخمی یعنی ناسازگاری گرده با خامه و کلاله وجود نداشته باشد (کامادرو⁶ و همکاران، 2004؛ اورتیز، 2003؛ هانمن⁷، 1994؛ کارپوتو⁸ و همکاران، 1999 و واتانابه و همکاران، 1992). وجود روابط ناسازگاری بین گونه‌ای یک جانبه و دو جانبه در بین گونه‌های دیپلوئید سیبزمینی شناخته شده است اما چنین بررسی در بین گونه‌های تتراپلوئید بسیار ناچیز است (کوهل⁹ و همکاران، 2002).

این آزمایش به منظور بررسی تلاقی‌پذیری دو زیر گونه سیبزمینی زراعی با چهار گونه آلوتتراپلوئید با تاکید بر رابطه‌ی گرده- مادگی انجام گرفته است.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و کاشت

مواد گیاهی به کار رفته در این آزمایش شامل دو گروه از سیبزمینی‌ها بود. سیبزمینی زراعی تتراپلوئید EBN4 و گونه‌های وحشی آلوتتراپلوئید EBN2. از گونه زراعی شش ژنوتیپ متعلق به زیر گونه توبروزوم به اسامی آگریا، آنولا، کایزر، ساتینا، شاهرود و یک کلون برگزیده از میان رقم بذر حقیقی مشهور به کاتالینا به همراه پنج کلون از زیر گونه آندیژنا با شماره‌های اختیاری adg6، adg7، adg8، adg9 و adg10 مشخص شده‌اند، استفاده شد. این کلون‌ها از میان یک جمعیتی از زیر گونه آندیژنا که تحت برنامه گزینش برای سازگار نمودن به شرایط بلندی هستند انتخاب شده بودند. گونه‌های وحشی مورد استفاده و منشا آن‌ها در جدول 1 ذکر شده است.

سیبزمینی زراعی *Solanum tuberosum* L. گونه‌ای اتو تتراپلوئید یا حداقل با رفتار اتوتتراپلوئیدی است. این گونه دارای دو زیر گونه تتراپلوئید با اسامی سولانوم توبروزوم زیر گونه آندیژنا که در شرایط روزهای کوتاه آمریکای جنوبی کشت می‌شود و سولانوم توبروزوم زیر گونه توبروزوم که سیبزمینی تجاری است و تقریباً در تمامی کشورها کشت می‌شود. این دو زیر گونه از لحاظ مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی به خوبی از هم متمایز هستند (هاوکس¹، 1994).

یکی از مشکلات جدی فرا روی اصلاح‌گران سیب-زمینی زمینه ژنتیکی محدود نوع زراعی است (اورتیز²، 2001؛ پلاستد و هوپس³، 1989). این امر از آنجا ناشی می‌شود که بعد از اپیدمی بلایت دیررس محدود کلون‌هایی از آمریکای جنوبی برای جایگزینی ارقام قبلی به آمریکای شمالی و اروپا وارد شدند و همین ژنوتیپ‌های محدود برای تولید ارقام جدید استفاده شدند. به طوری که شجره‌نامه اکثر ارقام سیبزمینی موجود در آمریکای شمالی به تعداد بسیار محدودی از این کلون‌ها ختم می‌شود (پلاستد و هوپس، 1989).

از موارد امید بخش برای اصلاح‌گران سیبزمینی تعداد بسیار زیاد گونه‌های وحشی خویشاوند در جنس سولانوم است و از این نظر سیبزمینی در میان گونه‌های زراعی مهم رتبه اول را دارا می‌باشد (هاوکس، 1994).

نزدیک به 15% از گونه‌های خویشاوند سیبزمینی را گونه‌های آلوتتراپلوئید با صفات ارزشمندی نظیر مقاومت به سرما و بیماری‌های ویروسی، برخی خصوصیات کیفی غده و نیز مقاومت به نماتد تشکیل می‌دهند. با این‌که این گونه‌ها خود بارور هستند اما با توجه به طبیعت آلوتتراپلوئید، هتروزیگوسی تثبیت شده در آن‌ها نیز می‌تواند منبعی برای افزایش تنوع ژنتیکی برای اصلاح سیبزمینی به کار گرفته شود (هاوکس، 1994؛ واتانابه⁴ و همکاران، 1992 و اوسبورن⁵ و همکاران، 2003).

متأسفانه تلاقی مستقیم بین سیبزمینی زراعی با گونه‌های آلوتتراپلوئید موفق نیست و این عدم موفقیت عمدتاً به یک مکانیسم پس تخمی با کنترل ژنتیکی به نام عدد نوازنی آندوسپرم یا پلوئیدی موثر نسبت داده می‌شود. بر اساس تئوری هر گونه‌ای علاوه بر پلوئیدی کروموزومی از یک پلوئیدی

1. Hawkes
2. Ortiz
3. Plaisted and Hoopes
4. Watanabe et al.
5. Osburn et al.

6. Camadro
7. Hanneman
8. Carputo et al.
9. Kuhl et al.

جدول 1: گونه‌های وحشی مورد استفاده در آزمایش و منشا آنها

Table 1: wild species used in experiment with its origin

منشا (Origin)	سری (Series)	علامت اختصاری (Abbreviation)	نام گونه (Species)
CPC1167, CGN17845	Acaulia	acl	<i>Solanum acaule</i>
CPC 9 × NIJ 80470206	Longipedicellata	sto	<i>S. stoloniferum</i>
GLK 441	Longipedicellata	fen	<i>S. fendlerii</i>
GLK 2395	Longipedicellata	hjt	<i>S. hjertingii</i>

CPC بانک ژن کامنولث اسکاتلند، CGN بانک ژن مشترک آلمان و هلند، GLK بانک ژن لوئزیتز آلمان، NIJ بانک ژن باغ گیاه‌شناسی نیجمنگن هلند

CPC: Commonwealth Potato Collection, CGN: The Centre for Genetic Resources, the Netherlands (CGN)
GLK: Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (IPK), Genbank Groß Lüsewitz, Germany,
NIJ: Nijmegen Botanical Garden, the Netherland

بیش از 5 بذر با این فرض که حاصل خود باروری ناخواسته هستند حذف و ثبت نشدند.

بررسی‌های میکروسکوپی

مادگی‌های تثبیت شده برای مشاهده میزان نفوذ لوله گرده بعد از خارج کردن از محلول تثبیت کننده چندین بار با آب مقطر شستشو و سپس به مدت 24 ساعت در NaOH، 5 نرمال هیدرولیز و مجدداً چندین بار با آب مقطر شستشو و حدود 30 دقیقه در محلول رنگی آنیلین‌بلو حاصل از حل نمودن یک گرم آنیلین‌بلو در 100 میلی‌لیتر از محلول 0/1 نرمال فسفات پتاسیم با تعدیل pH=9 رنگ‌آمیزی شدند (ناوی¹ و هانمن، 1991 و سامس² و همکاران، 1978). پس از از رنگ‌آمیزی، کلاله و خامه‌ها درون یک قطره گلیسرول در روی لام قرار داده و با گذاشتن لامل و اندکی فشار اسکواش شده و با میکروسکوپ نیکون مجهز به نور UV با درشت نمایی 100 بررسی و در مواقع لازم با دوربین دیجیتال نیکون مدل DXM 1200 عکس‌برداری شدند.

نتایج

تشکیل میوه و بذر

جدول 2 تعداد تلاقی‌های انجام گرفته و نتایج حاصل را نشان می‌دهد. از مجموع 1169 تلاقی انجام گرفته 126 میوه و 30 بذر تولید شد. همان‌گونه که دیده می‌شود تلاقی-هایی که در آنها گونه‌های اوتوتراپلوئید به عنوان والد مادری شرکت دارند به ویژه در تلاقی با اوتوتراپلوئیدهای زیر گونه توپرووم از نظر تشکیل میوه وضعیت بهتری نسبت به دیگر

بذر این گونه‌ها به تعداد محدود از بانک‌های ژنی مربوطه تهیه و در ایستگاه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی تبریز تکثیر شده بودند.

بذرهای حقیقی مربوط به گونه‌های وحشی ابتدا در ظروف پتری در بین کاغذ صافی کشت و پس از جوانه‌دار شدن به خزانه با خاک سبک منتقل گشتند و پس از رشد کافی پیوندک‌هایی از آنها تهیه و روی پایه گوجه‌فرنگی پیوند شد. از هر گونه حداقل سه ژنوتیپ برای این کار انتخاب گردید. غده‌های مربوط به سیب‌زمینی زراعی نیز ابتدا در گلدان کشت و پس از رشد کافی از آنها نیز پیوندک تهیه و روی پایه‌های گوجه‌فرنگی پیوند شد.

تلاقی گونه‌ها

جوانه‌های گل یک روز قبل از باز شدن با کنار زدن گلبرگ‌ها و حذف بساک‌ها اخته شده و روز بعد با گرده مربوطه که با تکان دادن گل‌های والد نر درون میکروتیوب جمع‌آوری شده بود گرده افشانی و اتیکت‌گذاری شد. در هر ترکیب 5 تا از گل‌های گرده افشانی شده 48 ساعت بعد برای بررسی رابطه‌ی گرده- مادگی در محلول 3:1 الکل اتیلیک: اسید استیک تثبیت شدند و بقیه گل‌ها برای میوه بندی و بذردهی احتمالی حفظ شد. تلاش بر این بود تا همه ژنوتیپ-های زراعی با هر چهار گونه وحشی هم به‌صورت والد نر و هم والد ماده تلاقی داده شوند اما گستردگی نر عقیمی در سیب-زمینی زراعی این کار را مشکل ساخت و برخی از ترکیبات به ناچار یک طرفه انجام شد. در معدود تلاقی‌هایی که منجر به میوه شده بودند میوه‌ها حداقل یک ماه بعد از گرده افشانی برداشت و بذرها استخراج و شمارش شدند. میوه‌های محتوی

1. Novy and Hanneman
2. Sams et al.

بررسی روابط دانه گرده - مادگی در تلاقی دو زیر گونه از سیبزمینی زراعی ...

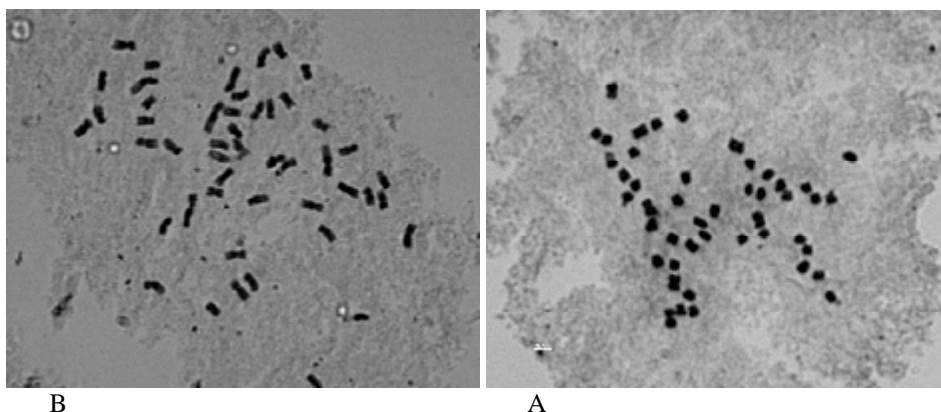
کروموزومی هیبریدهای تولید شده نشان داد هیبریدها تتراپلوئید هستند که هیبریدهای حاصل از گونه استولونیفروم و هیرتینگی با 48 کروموزوم ($2n=4x=48$) یوپلوئید (شکل 1- الف) اما هیبرید حاصل از تلاقی کایزر × فندلری با 46 کروموزوم ($2n=4x-2=46$) یک هیپوتتراپلوئید بود (شکل 1- ب).

تلاقی‌ها دارند و همین تلاقی‌ها در نهایت منجر به محدود هیبریدهای بین گونه‌ای شده‌اند. کاشت بذرها حاصل منجر به تشخیص چهار گیاه هیبرید شد که دو هیبرید از تلاقی گونه استولونیفروم با ارقام شاهرود و کایزر یک هیبرید از تلاقی گونه فندلری با رقم کایزر و یک هیبرید نیز از تلاقی گونه هیرتینگی با رقم شاهرود به دست آمد. شمارش

جدول 2: نتایج حاصل از تلاقی‌های متقابل بین گونه‌های وحشی آلوتتراپلوئید با سیبزمینی‌های زراعی اتوتتراپلوئید

Table 2: results of reciprocal crossing between wild allotetraploid and cultivated autotetraploid potatoes

گیاه هیبرید No. of Hybrid	تعداد گیاه No. of Plants	تعداد بذر No. of seeds	تعداد میوه No. of Fruits	تعداد گرده افشانی No. of Pollination	ترکیب تلاقی cross
-	-	0	6	123	Tbr × acl
-	-	-	0	89	Adg × acl
0	2	4	27	78	Acl × tbr
-	-	-	0	33	Acl × adg
-	0	0	23	229	Tbr × sto
0	2	3	2	88	Adg × sto
2	4	8	31	59	Sto × tbr
0	3	5	13	41	Sto × adg
-	-	-	0	77	Tbr × hjt
-	-	-	0	62	Adg × hjt
1	2	4	4	38	Hjt × tbr
0	1	2	8	23	Hjt × adg
-	-	-	0	105	Tbr × fen
-	-	-	0	66	Adg × fen
1	3	4	7	37	Fen × tbr
-	-	0	5	21	Fen × adg
4	17	30	126	1169	Total



شکل 1: متافاز میتوزی هیبریدهای بین گونه‌ای A- هیبرید شاهرود × هیرتینگی ($2n=4x=48$) B- هیبرید کایزر × فندلری ($2n=4x-2=46$)

Fig 1: Mitotic metaphase plate in interspecific hybrids A: hybrids of *S. hjertingii* × *S. tuberosum* cv. Shahrood $2n=4x=48$, B: hybrids of *S. fendlerii* × *S. tuberosum* cv. Kaizer.

رابطه‌ی گرده - مادگی

جدول 3 نتایج بررسی رابطه‌ی گرده و مادگی در تلاقی‌های $4EBN \times 4x$, $2EBN \times 4x$ را نشان می‌دهد. به طوری که از جدول پیداست وقتی سیب‌زمینی‌های زراعی به عنوان والد مادری در تلاقی شرکت می‌نمایند در اکثر موارد به دلیل ناسازگاری مانع از نفوذ کامل لوله‌های گرده گونه‌های آلوتراپلوئید و رسیدن آن‌ها به تخمدان می‌شوند. از مجموع 42 تلاقی که ارزیابی گردید 11 ترکیب سازگار و 31 ترکیب ناسازگار بودند. از بیست ترکیب زیر گونه آندیژنا با چهار گونه آلوتراپلوئید 4 ترکیب (20%) سازگار بقیه ناسازگار بودند و در تلاقی زیرگونه توبروزوم با گونه‌های وحشی از 24 ترکیب 7 ترکیب سازگار و 17 ترکیب ناسازگار بودند.

وقتی که گونه‌های آلوتراپلوئید به‌عنوان والد مادری در تلاقی شرکت داده شدند (جدول 4) شدت ناسازگاری به مراتب کم‌تر از تلاقی‌های متقابل بود و از میان 28 ترکیب 22 ترکیب سازگار و 6 ترکیب ناسازگار بود. از مجموع 38 ترکیب ناسازگار 5 ترکیب کایزر \times هیرتینگی، آتولا \times هیرتینگی، شاهرود \times هیرتینگی، $adg_7 \times acl$ و $adg_9 \times fen$ دارای ناسازگاری دو جانبه بودند یعنی تلاقی آن‌ها در هر دو جهت ناسازگار بود. موقعیت ناسازگاری در طول خامه در برخی ترکیب‌ها مشخص و تقریباً در همه نمونه‌ها ثابت بود اما در مواردی نیز موقعیت به خصوصی برای توقف رشد لوله گرده دیده نشد و لوله‌های گرده به تدریج در طول خامه متوقف شده بودند.

جدول 3: نتایج بررسی رابطه‌ی گرده و مادگی در تلاقی‌های $4x$, $4EBN \times 4x$, $2EBN$ Table 3: the results of pollen- pistil relationship investigation in crosses of $4x, 4EBN \times 4x$, $2EBN$

♀ \ ♂	Aula	Agria	Kaizer	Satina	Shahrood	Catalina	adg ₆	adg ₇	adg ₈	adg ₉	adg ₁₀
sto	++	+++	I	++	++	I	+	+++	I	++	I
fen	I	I	I	++	+	I	I	I	I	I	I
hjt	I	I	I	++	I	I	n	I	I	I	I
acl	I	I	I	I	I	I	I	I	I	+	I

I ترکیب ناسازگار n به دلیل از بین رفتن نمونه‌ها امکان بررسی رابطه سازگاری مقدور نشد + تقریباً یک سوم از لوله‌های گرده‌ای که در ابتدای خامه مشاهده گردید به انتهای خامه رسیدند ++ تقریباً دو سوم از لوله‌های گرده‌ای که در ابتدای خامه مشاهده گردید به انتهای خامه رسیدند +++ تقریباً تمامی لوله‌های گرده‌ای که در ابتدای خامه مشاهده گردید به انتهای خامه رسیدند

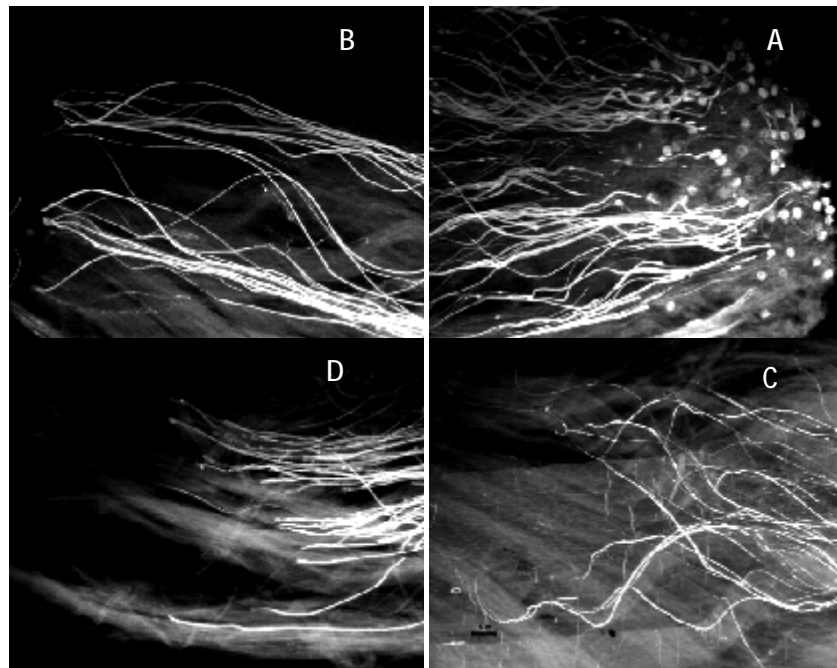
I: Incompatible N: due to the destruction of samples the investigation were not possible
 +: approximately one third of germinated pollens on stigma surface were reached to end of style.
 ++: approximately two thirds of germinated pollens on stigma surface were reached to end of style.
 +++: approximately all of the germinated pollens on stigma surface were reached to end of style.

جدول 4: نتایج بررسی رابطه‌ی گرده و مادگی در تلاقی‌های $4x$, $2EBN \times 4x$, $4EBN$ Table 4: The results of pollen- pistil relationship investigation in crosses of $4x, 4EBN \times 4x$, $2EBN$

♀ \ ♂	Aula	Agria	Kaizer	Satina	Shahrood	Catalina	adg ₆	adg ₇	adg ₈	adg ₉	adg ₁₀
sto	++	ms	+++	++	++	ms	+++	++	ms	+++	ms
fen	+	ms	+++	I	++	ms	+++	I	ms	I	ms
hjt	I	ms	I	+	++	ms	+++	++	ms	++	ms
acl	++	ms	+++	+++	+++	ms	+++	I	ms	+++	ms

I ترکیب ناسازگار ms به دلیل نرسیده‌ی والد نر تلاقی میسر نبود + تقریباً یک سوم از لوله‌های گرده‌ای که در ابتدای خامه مشاهده گردید به انتهای خامه رسیدند ++ تقریباً دو سوم از لوله‌های گرده‌ای که در ابتدای خامه مشاهده گردید به انتهای خامه رسیدند +++ تقریباً تمامی لوله‌های گرده‌ای که در ابتدای خامه مشاهده گردید به انتهای خامه رسیدند

I: Incompatible +: approximately one third of germinated pollens on stigma surface were reached to end of style.
 ++: approximately two thirds of germinated pollens on stigma surface were reached to end of style.
 +++: approximately all of the germinated pollens on stigma surface were reached to end of style.



شکل 2: جوانه زنی و رشد لوله گرده در کلاله و خامه تلاقی‌های متقابل. A: سطح کلاله در تلاقی $Fen \times Aul$. B: انتهای خامه در تلاقی $Fen \times Aul$. C: توقف رشد لوله‌های گرده گونه Acl در $1/3$ ابتدایی خامه رقم آگریا. D: توقف رشد لوله‌های گرده در اواسط خامه در تلاقی $Adg_7 \times Hjt$

Fig 2: Pollen germination and pollen tube growth in reciprocal crosses, a. the surface of stigma in crosses of *S. fen* × *S. tbr* cv. Aula, b. the end of style in *S. fen* × *S. tbr* cv. Aula, c. the arrested pollen tubes of *S. acl* in first 1/3 of cv. Agria style, d. arrested pollen tube in middle part of style in cross of *S. tuberosum*, $Adg_7 \times Hjt$

بحث

هانمن (1999) با بررسی نتایج آزمایش‌های مختلف رابطه‌ای بین EBN و ناسازگاری پیش تخمی را مطرح ساخته به این ترتیب که در تلاقی‌های بین EBN، وقتی گونه‌های با EBN پایین به عنوان والدین ماده شرکت می‌نمایند شیوع ناسازگاری پیش تخمی کمتر بوده و عدم موفقیت تلاقی عمدتاً به تفاوت در EBN مربوط می‌شود که نتایج آزمایش حاضر نیز به خوبی با این نظریه مطابقت دارد.

هونگنوم (به نقل از ماسوئلی و کامادرو، 1997) دو مفهوم ژنتیکی را برای توصیف مانع پیش تخمی معرفی کرده است: «قابلیت نفوذ» دانه گرده که شامل همه ژن‌های دانه گرده است که کنترل کننده قابلیت دانه گرده برای بر طرف کردن موانع بر سر راه باروری با مادگی بیگانه است و «قابلیت سد کنندگی» والد ماده نیز شامل ژن‌هایی است که بر علیه دانه‌های گرده بیگانه عمل می‌کند.

نتایج این آزمایش حاکی از این است که گونه *acl* دارای کمترین قابلیت نفوذ و مانع شوندگی است چرا که به عنوان والد نر در تلاقی‌ها بیشترین ناسازگاری را داشت و در مقابل به عنوان والد ماده به استثنای Adg_7 با همه ارقام توپروزوم و آندیژنا سازگار بود. زیر گونه توپروزوم نیز در مقایسه با آندیژنا ظرفیت سد کنندگی کمتری داشت و بیش تر کلون‌های آندیژنا به عنوان والد ماده در تلاقی با گونه‌های *acl*

وجود رابطه ناسازگاری یک جانبه در گرده افشانی گونه‌های خودبارور با گرده گونه‌های دگر بارور در سیب-زمینی‌ها به خصوص در گونه‌های دیپلوئید امر شناخته شده-ای است (کروز-گارسیا¹ و همکاران، 2003؛ هرمنسن، 1994؛ ماسوئلی² و کامادرو، 1997 و جانسکی³، 2006) این آزمایش نشان می‌دهد که سیستم ناسازگاری یک جانبه و دو جانبه بین گونه‌ای در گونه‌های پلی پلوئید نیز دیده می‌شود. هم سیبزمینی زراعی (هر دو زیر گونه) و هم گونه‌های آلوتراپلوئید خود بارور هستند اما خود باروری آن‌ها به دلیل عدم حضور ال S نیست بلکه تحت تاثیر پدیده‌ای است که اندرکنش رقابتی خوانده می‌شود (کامادرو و همکاران، 2004). به دلیل اهمیت عدد توازی آندوسپرم برای تشکیل و نمو کامل جنین هیبرید به بذر بالغ، متاسفانه در تلاقی‌های بین EBN توجه چندانی به مانع پیش تخمی نشده است ولی این امر می‌تواند نتایج گمراه کننده‌ای داشته باشد و بهتر است در چنین تلاقی‌هایی قبلاً سازگاری یا عدم سازگاری بین گونه‌ای پیش تخمی بررسی گردد.

1. Cruz-Garcia *et al.*
2. Masuelli and Camadro
3. Jansky

و sto ناسازگاری نشان دادند پیش‌تر ماسوئلی و کامادرو (1997) قابلیت نفوذ و مانع شونده‌گی پایین برای گونه آکول در تلاقی با گونه‌های وحشی را گزارش کرده بودند.

بر اساس شواهد حاصل از تلاقی‌های $adg \times phu$ (دوده¹ و هانمن، 1978) انتظار بر این بود که کلون‌های آندیژنا شانس بیش‌تری برای تلاقی پذیری با گونه‌های EBN2 داشته باشند، اما نتیجه به‌دست آمده کاملاً مغایر با این پیش‌بینی بود. شاید این تضاد به سازگاری پیش‌تخمی مربوط باشد و نتایج این آزمایش به خوبی نشان می‌دهد که شیوع ناسازگاری پیش‌تخمی وقتی کلون‌های آندیژنا به عنوان والدین در تلاقی‌ها شرکت می‌کنند بیش‌تر از توبروزوم‌هاست. شیوع گسترده ناسازگاری پیش‌تخمی در تلاقی آندیژنا با گونه‌های موجود در سری لانگی پدیسلاتا را پیش‌تر دوده و هانمن (1987) نیز گزارش کرده بودند.

جانستون² و هانمن (1995) هیبریدهای حاصل از تلاقی‌های بین EBN را، که بر خلاف تئوری EBN تشکیل می‌شوند ناشی از باروری غیر معمول و تقسیم ناجور میتوزی منتهی به تشکیل لاین‌های سلولی با نسبت متعادل EBN در آندوسپرم دانسته‌اند. طبیعی است که هر قدر باروری بین EBN در تلاقی بیش‌تر باشد امکان وقوع این رخدادها نیز افزایش خواهد یافت. بنابراین با توجه به گستردگی ناسازگاری پیش‌تخمی در تلاقی‌های زیر گونه آندیژنا احتمال وقوع این پدیده در مورد آندیژنا کاهش یافته است.

گامت‌های $n2$ در اصلاح سیب‌زمینی و نیز دست‌ورزی پلوئیدی ابزار قدرتمندی برای اصلاح‌گران این محصول است. گامت‌های $n2$ در تلاقی‌های بین EBN به دلیل سازگار نمودن تلاقی از نظر رابطه 2:1 ارزش فوق‌العاده‌ای دارند (کارپوتو³ و بارونه، 2005) معمولاً به دلیل سهولت تشخیص گرده‌های $n2$ ، که با یک رنگ‌آمیزی ساده تمیز داده می‌شوند اصلاح‌گران بیش‌تر درصدد گزینش ژنوتیپ‌های با گرده $n2$ هستند ولی نتایج این آزمایش نشان می‌دهد که وقوع ناسازگاری موقعی که گونه‌های وحشی به عنوان والد نر در تلاقی شرکت می‌نمایند بیش‌تر از وقتی است که والد ماده هستند این رابطه به‌ویژه در مورد گونه آکول کاملاً محرز است. بنابراین در صورتی که هدف از کاربرد گامت $n2$ تنها برای برقراری رابطه 2:1 در آندوسپرم باشد بهتر است که گزینش برای تخمک $n2$ انجام گیرد که می‌تواند این مزیت را نیز به همراه داشته باشد که هیبریدهای تولیدی از نر باروری

خوبی نیز برخوردار باشند چون وقوع نر- عقیمی در هیبریدهای توبروزوم با بیش‌تر گونه‌های وحشی به دلیل حساسیت سیتوپلاسم توبروزوم به ژن‌های هسته‌ای گونه‌های خویشاوند پدیده کاملاً شناخته شده‌ای است (کامادرو و همکاران، 2004). برخی از گونه‌های آلوتتراپلوئید قابلیت خوبی نیز برای این صفت دارند. لازم به ذکر است که گرچه از نظر اهداف زراعی ترجیح داده می‌شود تا در تلاقی با گونه‌های خویشاوند سیتوپلاسم از گونه توبروزوم باشد اما با توجه به دشواری تولید هیبرید بین گونه‌های آلوتتراپلوئید با توبروزوم و با توجه به این‌که هیبریدهای حاصل از این تلاقی‌ها برای رسیدن به مرحله‌ای که به‌عنوان رقم معرفی شوند نیاز به چندین بک‌کراس خواهند داشت، لذا هدف در گام اول تلاش برای موفقیت تلاقی است و جهت تلاقی را نیز این هدف تعیین می‌کند.

هر دو هیبرید حاصل از گونه استولونیفروم و هیبرید مربوط به گونه هیرتینگی تتراپلوئید با $2n=4x=48$ کروموزوم بودند. گونه هیرتینگی یکی از سرکش‌ترین گونه‌های آلوتتراپلوئید است (سامس و همکاران، 1978 و جکسون و هانمن، 1997) و بر اساس شناخت ما، این اولین گزارش از تنها هیبرید تتراپلوئید بین توبروزوم \times هیرتینگی از دورگ‌گیری مستقیم بین این دو گونه می‌باشد. تتراپلوئیدی هیبریدها از این جهت اهمیت دارد که هیبریدهای تتراپلوئید حاصل از تلاقی مستقیم با توجه به این‌که ژنوم‌های گونه وحشی به صورت منفرد حضور داشته و همولوگی ندارند منجر به افزایش احتمال جفت شدن‌های همولوگی بین ژنوم‌های گونه وحشی و زراعی می‌شود (پناهنده و همکاران، 2008) و کارآیی اصلاحی، به ویژه از نظر زمانی در مقایسه با روش‌هایی نظیر مضاعف‌سازی سوماتیکی کروموزوم‌ها و نیز دست‌ورزی پلوئیدی به مراتب بالاتر می‌رود.

1. Dodd and Hanneman
2. Jackson and Hanneman
3. Carputo and Barone

- Camadro, E. L., Carputo, D. and Peloquin, S. J. 2004. Substitutes for genome differentiation in tuber-bearing *Solanum*: interspecific pollen-pistil incompatibility, nuclear-cytoplasmic male sterility, and endosperm. *Theoretical and Applied Genetic*. 109: 1369-1376.
- Carputo, D. and Barone, A. 2005. Ploidy level manipulations in potato through sexual hybridization. *Anuales of Applied Biology*. 146: 71-79.
- Carputo, D., Frusciante, L. and Peloquin, S. J. 2003. The role of 2n gametes and endosperm balance number in the origin and evolution of polyploids in the tuber-bearing *Solanums*. *Genetics* 163: 287- 294.
- Carputo, D., Monti, L., Werner, J. E. and Frusciante, L. 1999. Uses and usefulness of endosperm balance number. *Theoretical and Applied Genetic*. 98: 478-484.
- Cruz-Garcia, F., Hancock, C. N. and McClure, B. 2003. S- RNase complexes and pollen rejection. *Journal of Experimental Botany*. 54:123-130.
- Dodd, J. B and Hanneman, R. E. 1987. An examination of reproductive failure following inter- EBN crosses among tetraploid , tuber-bearing *Solanum* species. *American Potato Journal*. 64: 435(Abst.).
- Hanneman Jr, R. E. 1999. The reproductive biology of the potato and its implication for breeding. *Potato Research*. 42:283-312.
- Hanneman Jr, R. E. 1994. Assignment of endosperm balance number to the tuber-bearing *Solanums* and their close non-tuber-bearing relatives. *Euphytica* 74: 19- 25.
- Hanneman Jr, R. E., and Ruhde, R. W. 1978. Haploid extraction in *Solanum tuberosum* Group Andigena. *American Potato Journal*. 55:256-263.
- Hawkes, J. G. 1994. Origins of cultivated potatoes and species relationships. In: *Potato Genetics*, Edited by J.E. Bradshaw and G.R. Mackay CAB Int., Wallingford, UK, pp. 3-43.
- Jackson, S. A. and Hanneman Jr, R. E. 1999. Crossability between cultivated and wild tuber- and non-tuber-bearing *Solanums*. *Euphytica* 109:51-67.
- Jansky, S. 2006. Overcoming hybridization barriers in potato. *Plant breeding* 125:1-12.
- Kuhl, J. C., Havey, M. J. and Hanneman Jr, R. E. 2002. A genetic study of unilateral incompatibility between diploid (1EBN) Mexican species *Solanum pinnatisectum* and *S. cardiophyllum* subsp. *Cardiophyllum*. *Sexual Plant Reproduction*. 14; 305-313.
- Masuelli, R. W. and Camadro, E. L. 1997. Crossability relationships among wild potato species with different ploidies and endosperm balance number (EBN). *Euphytica* 94: 227-235.
- Novy R. G. and Hanneman Jr, R. E. 1991. Hybridization between GP. Tuberosum haploids and 1EBN wild potato species. *American Potato Journal*. 68: 151-169.
- Ortiz, R. 2001. The state of the use of potato genetic diversity. In: *Broadening The Genetic Base of Crop Production*. Edited by H. D., Cooper, C. Spillane and T. Hodgkin, CAB Int., Oxford, pp. 181-200.
- Osburn, T. C., Pires, J. C., Birchler, J. A., Auger, D. L., Chen, Z. J., Lee, H. S., Comai, L., Madlung, A., Doerge, R. W., Colot, V. and Martienssen, R. A. 2003. Understanding mechanisms of novel gene expression in polyploids. *Trends in Genetics* 19:141-147.
- Panahandeh, J., Valizadeh, M., Khosroshahly, M., Yermishin, A., Khoei, F. R. and Mahna, N. 2008. Microsporogenesis and crossing behavior of a tetraploid, interspecific inter-EBN hybrid potato. *Scientia Horticulturae* 116:348-353.
- Plaisted, R. L. and Hoopes, R. W. 1989. The past record and future prospects for the use of exotic potato germplasm. *American Potato Journal*. 66:603-627.
- Sams, D., Ascher, W. and Lauer, F. I. 1977. Crossability of some green-peach-aphid-resistant tuber-bearing *Solanums*, potential bridging species, and *Solanum tuberosum* ssp. *Tuberosum*. *American Potato Journal*, 54:355-364.
- Watanabe, K., Arbizu, C. and Schmiediche, P. E. 1992. Potato germplasm enhancement with disomic tetraploid *Solanum acaule*. I. Efficiency of introgression. *Genome*. 35: 53-57.

The Investigation of Pollen-pistil Relationship in Crosses Between Two Subspecies of Cultivated Potato with Wild Allotetraploid Relatives

Panahandeh^{1*}, J., Valizadeh², M., Khosroshahly³, M. and Rahimzadeh Khoei², F.

Abstract

The result of interspecific crosses in potato mainly is explained by endosperm balance number (EBN) or effective ploidy hypothesis. However in some of interspecific crosses the pre-zygotic barriers are also functional. In this experiment the crossability of four wild allotetraploid 2EBN, species (*Solanum acaule*, *S. fendlerii*, *S. hjertingii* and *S. stoloniferum*) with 11 tetraploid clones belonging to two subspecies of *S. tuberosum* (ssp. *andigena* and *tuberosum*) were investigated. The results indicated that the incidence of pre-zygotic incompatibility were lower when the wild species used as pistillate parents than reciprocal crosses. Among wild allotetraploid species, *S. acaule* had the lowest penetration and barrier capacity and between the two cultivated subspecies ssp. *tuberosum* had low barrier capacity as compared with ssp. *andigena*. Overly from 1169 performed inter-specific inter-EBN crosses four hybrids were obtained, two from *stoloniferum* × *tuberosum*, one from *hjertingii* × *tuberosum* and one from *fendlerii* × *tuberosum*. The first three hybrids were tetraploid ($2n = 4x = 48$) and the last one was hypotetraploid ($2n = 4x-2 = 46$).

Keywords: crossability, inter-EBN crosses, interspecific crosses, incompatibility, pollination

1. Assistant Professor, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, University of Tabriz

2. Propessors, Department of Crop Production and Breeding, Faculty of Agriculture, University of Tabriz

3. Professor, Department of Biology, Faculty of Natural Sciences, University of Tabriz

*: Corresponding author - Email: panahandeh@Tabrizu.ac.ir

