

## مطالعه سیتولوژیک و مورفولوژیک هیبریدهای حاصل از تلاقی دو گونه دیپلوئید پنبه بومی بندرعباس و آریا با گونه آرپورئوم (*Gossypium arboreum*)

زهرا هراتی، موسی‌الرضا وفایی تبار<sup>۱\*</sup> و محمود خسروشاهلی<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup> بخش تحقیقات پنبه، مرکز تحقیقات کشاورزی استان تهران، ورامین، تهران، ایران

<sup>۲</sup> گروه اصلاح نباتات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات، تهران، ایران

### چکیده

تحقیق حاضر به منظور بررسی رفتار کروموزوم‌ها در میوز و خصوصیات کمی و کیفی الیاف پنبه (*Gossypium*) در گونه‌های *G. herbaceum* (هرباسئوم) (بومی ایران)، *G. arboretum* (آرپورئوم)، هیبرید حاصل از تلاقی هرباسئوم با آرپورئوم و نتاج بک‌کراس چهارم آنها صورت گرفت. در این تحقیق از ارقام بومی آریا و بومی بندرعباس (گونه هرباسئوم) و رقم VTDL (گونه آرپورئوم) استفاده شد. صفات ظاهری در هیبرید  $F_1$  آرپورئوم با هرباسئوم حد واسط این دو گونه بود و در جمعیت‌های حاصل از نتاج بک‌کراس چهارم آنها نیز حدواسط و تا حدودی متمایل به گونه هرباسئوم بود. نتایج مربوط به مطالعات رفتار کروموزومی نشان داد که در هیبریدهای  $F_1$  کوادری‌والان‌های مجاور و متناوب با فراوانی نسبتاً بالایی تشکیل می‌گردد. در جمعیت‌های حاصل از نتاج بک‌کراس چهارم نیز کوادری‌والان با فراوانی پایینی تشکیل شده بود. علاوه بر آن، ناهنجاری‌های دیگر مانند وجود یونی‌والان، تری‌والان و چند دسته شدن کروموزوم‌ها در متافاز ۲ و آنافاز ۲ نیز مشاهده شد که به دنبال آن انحراف از حالت تتراد دیده شد.

**واژه‌های کلیدی:** پنبه (*Gossypium*)، *G. herbaceum* (هرباسئوم)، *G. arboretum* (آرپورئوم)، میوز

### مقدمه

پنبه گیاهی گلدار (دولپه‌ای) از خانواده Malvaceae، زیر خانواده Hibiceae و از جنس *Gossypium* است. این جنس شامل ۴۴ گونه دیپلوئید و پنج گونه تتراپلوئید است (Stewart, 1995). الیاف قابل ریسندگی در جهان از چهار گونه اصلی و زراعی، شامل گونه‌های دیپلوئید، *G. arboreum* و *G. herbaceum* و گونه‌های تتراپلوئید

*G. hirsutum* و *G. barbadense* (هیرسوتوم) به دست می‌آید. ارقام زراعی دیپلوئید اغلب در آسیا، به خصوص در هندوستان کاشته می‌شوند. این ارقام در مقایسه با ارقام تتراپلوئید در برابر آفات از مقاومت بیشتری برخوردارند، اما میزان تولید محصول در آنها کمتر از تتراپلوئیدهاست (Kohel and Lewise, 1984).

یونی‌والان مشاهده شد و همچنین در هیبرید حاصل از تلاقی  $G. thurberi \times G. aridum$  پنبه‌های دیپلوئید که به صورت  $D_1D_4$  هستند، سلول‌هایی با ۱۲ بی‌والان و ۲ یونی‌والان گزارش شده است (Skovsted, 1935).

انجام مطالعات سیتوژنتیکی در گونه‌های گیاهی و همچنین جمعیت‌های آنها، به ویژه گیاهان وحشی و بومی اهمیت زیادی دارد. وجود اختلاف در شکل و اندازه کروموزوم‌ها در تقسیم میوز و همچنین رفتار آنها در طی مراحل تقسیم میوز، به ویژه تقسیم کیاسما می‌تواند بیانگر تنوع ژنتیکی باشد. تنوع ژنتیکی در ۱۱ رقم از گونه  $G. hirsutum$  مانند رقم  $G. oltan$  بررسی گردید (Sheidai et al., 2006). جفت شدن کروموزوم‌ها در متافاز میوز و فراوانی کیاسما میان این ژنوتیپ‌ها مطالعه شد. ناهنجاری‌هایی از قبیل وجود کروموزوم‌های سرگردان و چسبندگی بین کروموزوم‌ها مشاهده شد که می‌تواند در برنامه‌های اصلاحی استفاده شود. در مقایسه با ارقام تتراپلوئید تلاش زیادی در جهت اصلاح خصوصیات مختلف پنبه‌های دیپلوئید زراعی صورت نگرفته است. یکی از راه‌های اصلاحی این ارقام، انتقال صفات ممتاز از ذخایر ژنتیکی گونه‌های دیگر این خانواده از طریق دو رنگ‌گیری است. گونه آربورئوم به عنوان ذخیره ژنتیکی اولیه می‌تواند به راحتی با گونه هرپاسئوم تلاقی یابد و پتانسیل نو ترکیبی بالایی را در نسل  $F_1$  از خود نشان دهد (وفایی تبار، ۱۳۸۷)، لذا تلاقی بین این دو گونه زمینه مناسب و جدیدی را برای اصلاح و ارقام مربوط به آنها ایجاد می‌نماید. ارقام دیپلوئید (هرپاسئوم) ارقام بومی ایران بوده که نسبت به تنش‌های محیطی و برخی بیماری‌های مهم پنبه مقام هستند (وفایی تبار، ۱۳۸۷). این

اولین کار شمارش کروموزومی در پنبه توسط Denham (۱۹۲۴) و Nikolajeva (۱۹۲۳) انجام شد. آنها گزارش کردند که پنبه‌های دنیای قدیم ( $G. herbaceum$  و  $G. arboretum$ ) دارای  $2n=2x=26$  کروموزوم و پنبه‌های دنیای جدید  $2n=4x=52$  کروموزوم هستند. اختلاف کلی در دو ژنوم هرپاسئوم و آربورئوم در وجود جابجایی بین دو کروموزوم شماره ۱ و ۲ است که در گونه آربورئوم اتفاق افتاده است و به سبب آن در میوز نسل اول تلاقی بین دو گونه کوادری‌والان تشکیل می‌گردد (Menzel and Brown, 1953). در مطالعه کارپولوژیک ارقام  $G. herbaceum$  بومی ایران مشاهده شد که به طور کلی کاربوتیپ‌های ارقام این گونه متقارن بوده، دارای کروموزوم‌های کوچک هستند و بزرگترین طول کلی کروموزوم‌ها مربوط به رقم سبزوار ۴۶/۴۶ میکرومتر و کوچک‌ترین این مقدار مربوط به رقم محلات ۲۳/۸۳ میکرومتر بود (Sheidai et al., 1996).

برای تعیین قرابت ژنومی و سطح واگرایی ژنومی در پنبه از فراوانی کروموزوم‌های یونی‌والان استفاده شده است. این شاخص در مقایسه با کاربرد مولتی‌والان‌ها برای تمایز بین گونه‌ای مناسب‌تر بوده و مشخص است که ژنوم‌های A تا E از یک نژاد اصلی و پایه منشعب شده‌اند (Phillips, 1974). مطالعه رفتار کروموزوم‌ها در میوز هیبرید تریپلوئید (AAD) بین گونه‌ای پنبه توسط Vafaie-Tabar و Chandrashekar (۲۰۰۷) انجام شد. این هیبرید از تلاقی میان  $G. hirsutum$  تتراپلوئید و  $G. arboreum$  دیپلوئید به دست آمده بود و پیش‌بینی می‌شد که در متافاز ۱ میوز ۱۳ بی‌والان (AA) و ۱۳ یونی‌والان (D) وجود داشته باشد، در حالی که در سلول‌های مادر گرده ۸ تا ۱۲ بی‌والان و ۱۲ تا ۱۷

آبیاری ۱۱ نوبت و سم‌پاشی علیه آفات تریپس، عسلک، آگروتیس، کرم قوزه و کنه با سموم توصیه شده طی سه مرحله انجام شد. عقیم‌سازی گل‌ها به صورت دستی روزانه بین ساعات ۴ تا ۷ بعد از ظهر به مدت ۴۰ روز از زمان شروع گلدهی انجام گردید و گرده‌افشانی نیز در روز بعد از عقیم‌سازی بین ساعت ۸ تا ۱۰ صبح انجام شد. کلیه بذرهاى دو رگ حاصل در آخر فصل (آبان ماه) به تفکیک برداشت و در سال دوم آزمایش (۱۳۸۴) هر یک از دو رگ‌های حاصله در یک خط ۱۰ متری در کنار کلیه والدین کشت گردیدند. از زمان شروع گلدهی تلاقی‌های برگشتی هر یک از دو رگ‌ها با والد مربوطه خود (بومی ایران) انجام شد. کلیه بذرهاى حاصل از بک کراس به تفکیک برداشت شدند. در سال سوم تا پنجم آزمایش مانند سال دوم کلیه بک کراس‌ها بین نتاج و والد بازگردانده انجام شد. در این تلاقی‌ها والد بازگردانده به عنوان والد پدری مورد استفاده قرار گرفت. طی سال آخر تک تک بوته‌ها در نتاج مورد بررسی و تیپ‌های ممتاز انتخاب شدند.

برای بررسی مراحل میوزی از سلول‌های مادری دانه گرده که در حال تولید گرده هستند، استفاده شد. غنچه‌های مناسب روزانه جمع‌آوری شدند و بلافاصله داخل محلول تثبیت‌کننده کارنوی (Carnoy) (محلول حجمی به نسبت ۳:۱، استیک اسید: اتانول خالص) حداقل به مدت یک هفته قرار گرفتند. بساک‌های تثبیت شده جداسازی شده و روی لام که حاوی چند قطره رنگ استوارسین بود قرار گرفت. سپس با نوک سوزن بساک‌ها پاره شد تا سلول‌های موجود در آن داخل رنگ پخش شوند، در مرحله بعد سلول‌های

ارقام در حاشیه کویر؛ یعنی در مناطقی که به سبب کم آبی مناسب برای ارقام تتراپلوئید نیستند، کشت و کار می‌گردند. یکی از علل عمده کاهش سطح زیر کشت این ارقام، عملکرد پایین و کیفیت الیاف نامطلوب تر این ارقام نسبت به ارقام تتراپلوئید است و پیش‌بینی می‌شود در صورت بهبود کیفیت الیاف، سطح کشت آنها در کشور توسعه یابد (وفایی تبار، ۱۳۸۷).

هدف از انجام این مطالعه، بررسی تنوع مورفولوژیک و سیتولوژیک رفتار میوزی در نتایج حاصل از تلاقی و بک کراس‌های ارقام بومی ایران و رقم گونه آربورئوم وارداتی جدید از نظر هنجار بودن مراحل تقسیم میوز است.

## مواد و روش‌ها

در این بررسی از ۲ رقم بومی ایران (بومی آریا و بومی بندرعباس) به عنوان والد مادری و یک رقم از گونه آربورئوم به نام VTDL که از هندوستان وارد ایران شده است، به عنوان والد پدری استفاده گردید. رقم VTDL دارای کیفیت الیاف مطلوب (طول الیاف ۲۶ میلی‌متر و ظرافت ۵/۲) است. این رقم از طریق تلاقی بین گونه‌ای آربورئوم با گونه *G. hirsutum* در کشور هندوستان به دست آمده است (وفایی تبار، ۱۳۷۵). بک کراس‌های مورد بررسی از تلاقی‌هایی به دست آمده‌اند که والدین آنها در سال ۱۳۸۳ به ازای ۶ خط مادری و ۴ خط پدری در کنار یکدیگر در ایستگاه مرکزی مرکز تحقیقات کشاورزی ورامین کشت گردیدند. کشت به صورت هیرم کاری و عمق کاشت حدود ۵ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. عملیات زراعی که عبارت بود از سه‌شکنی یک بار، وجین ۳ بار،

کاسبرگ، براکته و قوزه در جمعیت‌های حاصل از بک کراس چهارم آنها بررسی گردید.

### نتایج

#### الف) بررسی‌های سیتوژنتیک

#### نتایج حاصل از تلاقی‌های آربورنوم × ارقام بومی

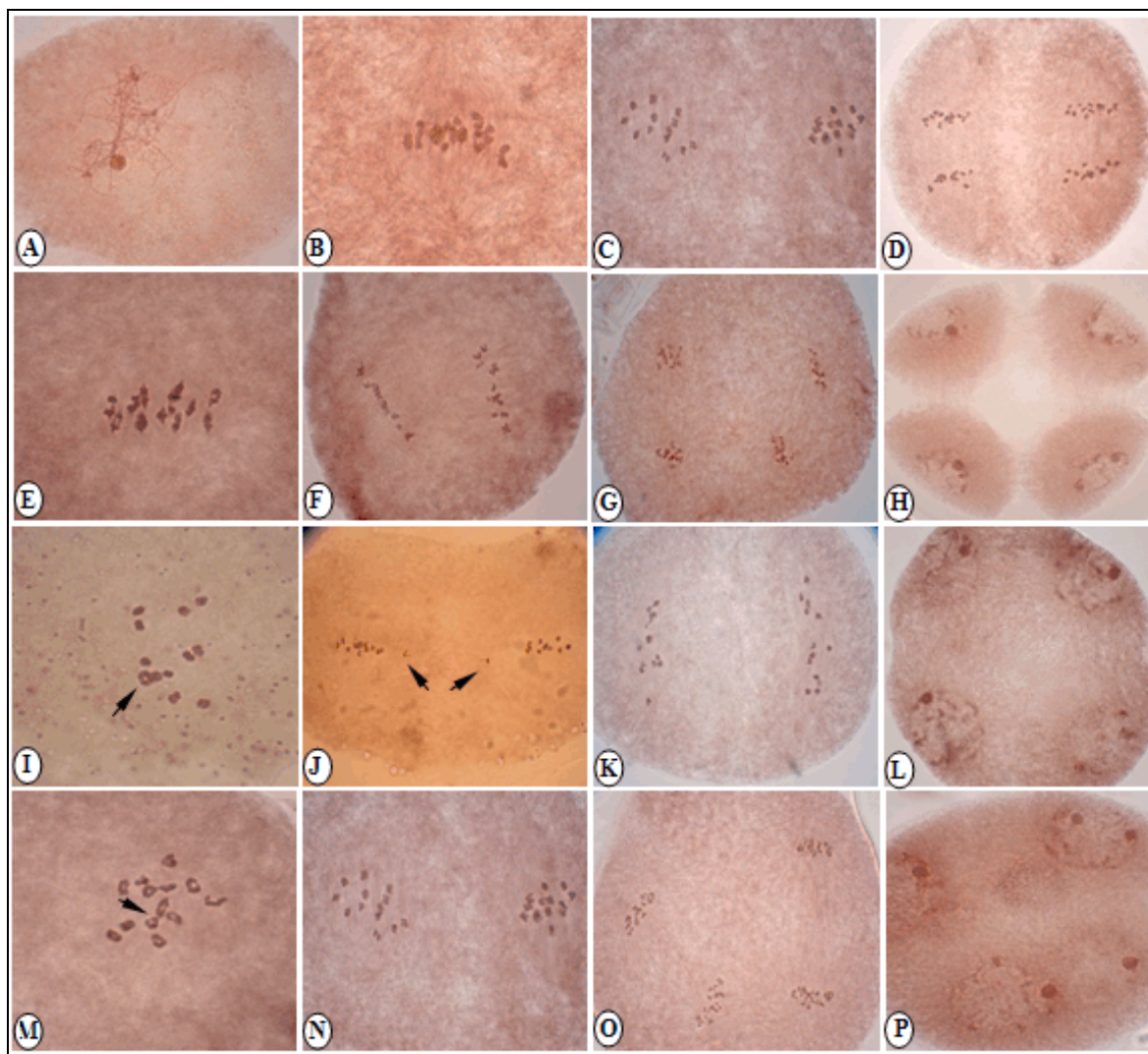
نتایج مربوط به مطالعات رفتار کروموزومی در هیبریدهای  $F_1$  نشان داد که کوادری‌والان‌های مجاور و متناوب در متافاز ۱ با فراوانی نسبتاً بالایی در هیبرید حاصل از تلاقی‌های مذکور تشکیل می‌شوند. همان‌طور که قبلاً نیز ذکر شد، اختلاف کلی در دو ژنوم هرباسئوم و آربورنوم در وجود جابجایی بین دو کروموزوم شماره ۱ و ۲ است که در گونه آربورنوم اتفاق افتاده است و این سبب می‌شود تا در نسل اول حاصل از تلاقی بین دو گونه مذکور نیز کوادری‌والان مشاهده گردد (Menzel and Brown, 1953). نتایج حاصل از بررسی رفتار کروموزوم‌ها در  $F_1$  حاصل از تلاقی آربورنوم با بومی آریا در شکل ۱ نشان داده شده است. در ۶۰ درصد سلول‌های مشاهده شده در مرحله متافاز ۱ کوادری‌والان مجاور و متناوب دیده شد. در موارد نادر در مرحله آنافاز ۱ کروموزوم سرگردان دیده شد و کشیدگی کروموزوم در وسط سلول در مرحله متافاز ۲ دیده می‌شد (شکل ۱-ج). سایر مراحل تقسیم در بوته‌های مطالعه شده در این  $F_1$  کاملاً طبیعی و بدون ناهنجاری مشاهده شد.

توده‌ای مربوط به دیواره بساک توسط سوزن از داخل رنگ خارج شد، سپس لامل روی نمونه قرار داده شد. عمل بعدی فشار مختصری است که به لام و لامل توسط انگشت وارد شده، در نهایت، اضافه رنگ را توسط دستمال کاغذی از اطراف لامل جمع‌آوری می‌کنیم و البته، چنانچه قبل از عمل خراش مقداری حرارت ملایم به لام بدهیم، هسته‌های سلول بهتر رنگ‌آمیزی خواهند شد. در نهایت، لام به دست آمده برای مشاهدات میکروسکوپی آماده شد. لام‌های تهیه شده توسط میکروسکوپ نوری (Olympus BX50) با بزرگ‌نمایی‌های ۱۰ و ۱۰۰ بررسی شدند و از سلول‌هایی که در مراحل مختلف میوزی از قبیل پروفاز، متافاز ۱ و ۲، آنافاز ۱ و ۲، تلوفاز ۱ و ۲ و تتراد و به شکل مناسبی بودند، توسط میکروسکوپ نوری عکس‌برداری شد. در هر ژنوتیپ (اعم از والد و هیبریدهای  $F_1$  و بک کراس‌ها) مرحله متافاز ۱ میوزی بررسی و خصوصیات از قبیل حضور بی‌والان‌ها، تعداد کوادری‌والان‌ها، نوع جهت‌گیری کوادری‌والان (مجاور و یا متناوب) و همچنین تعداد یونی‌والان‌ها (در صورت وجود) ثبت گردید. خصوصیات دیگری که مربوط به مراحل آنافازی و تلوفازی ۱ و ۲ بود، از قبیل عقب ماندن کروموزوم‌ها طی آنافازهای ۱ و ۲ و یا انتقال یک جفت همولوگ به یک قطب و آنیوپلوئید شدن قطب دیگر طی آنافاز و تلوفاز و همچنین چسبندگی کروموزوم‌ها بین دو قطب، ثبت و عکس‌برداری گردید.

خصوصیات ظاهری بوته‌ها در ۵ بوته تصادفی از هر کرت بررسی گردید. صفاتی از قبیل شکل گل، برگ،

برخلاف  $F_1$  حاصل از تلاقی آربورئوم با بومی آریا، کوادری والان از نوع مجاور دیده نشد. سایر مراحل تقسیم نیز کاملاً طبیعی بود و ناهنجاری از خود نشان ندادند.

نتایج حاصل از بررسی رفتار کروموزوم‌ها در  $F_1$  حاصل از تلاقی آربورئوم با بومی بندرعباس در شکل ۱ نشان داده شده است. در ۴۶ درصد سلول‌های متافاز ۱ مطالعه شده کوادری والان متناوب مشاهده شد که



شکل ۱- مراحل مختلف میوز در بومی آریا (A: پروفاز، B: متافاز ۱، C: متافاز ۲ و D: آنافاز ۲)؛ بومی بندرعباس (E: متافاز ۱، F: متافاز ۲، G: آنافاز ۲ و H: تتراد (۴ سلول هاپلوئید گامتی)؛  $F_1$  تلاقی آربورئوم × بومی آریا (I: متافاز ۱، J-K: متافاز ۲ و L: تتراد (۴ سلول هاپلوئید گامتی)؛  $F_1$  تلاقی آربورئوم × بومی بندرعباس (M: متافاز ۱، N: متافاز ۲، O: آنافاز ۲ و P: تتراد (۴ سلول هاپلوئید گامتی)؛ پیکان‌ها در I و M نشان‌دهنده کوادری والان و در J نشان‌دهنده کشیدگی کروموزوم بین دو قطب در متافاز ۲ است. (بزرگ‌نمایی عکس‌ها ۱۰۰ است).

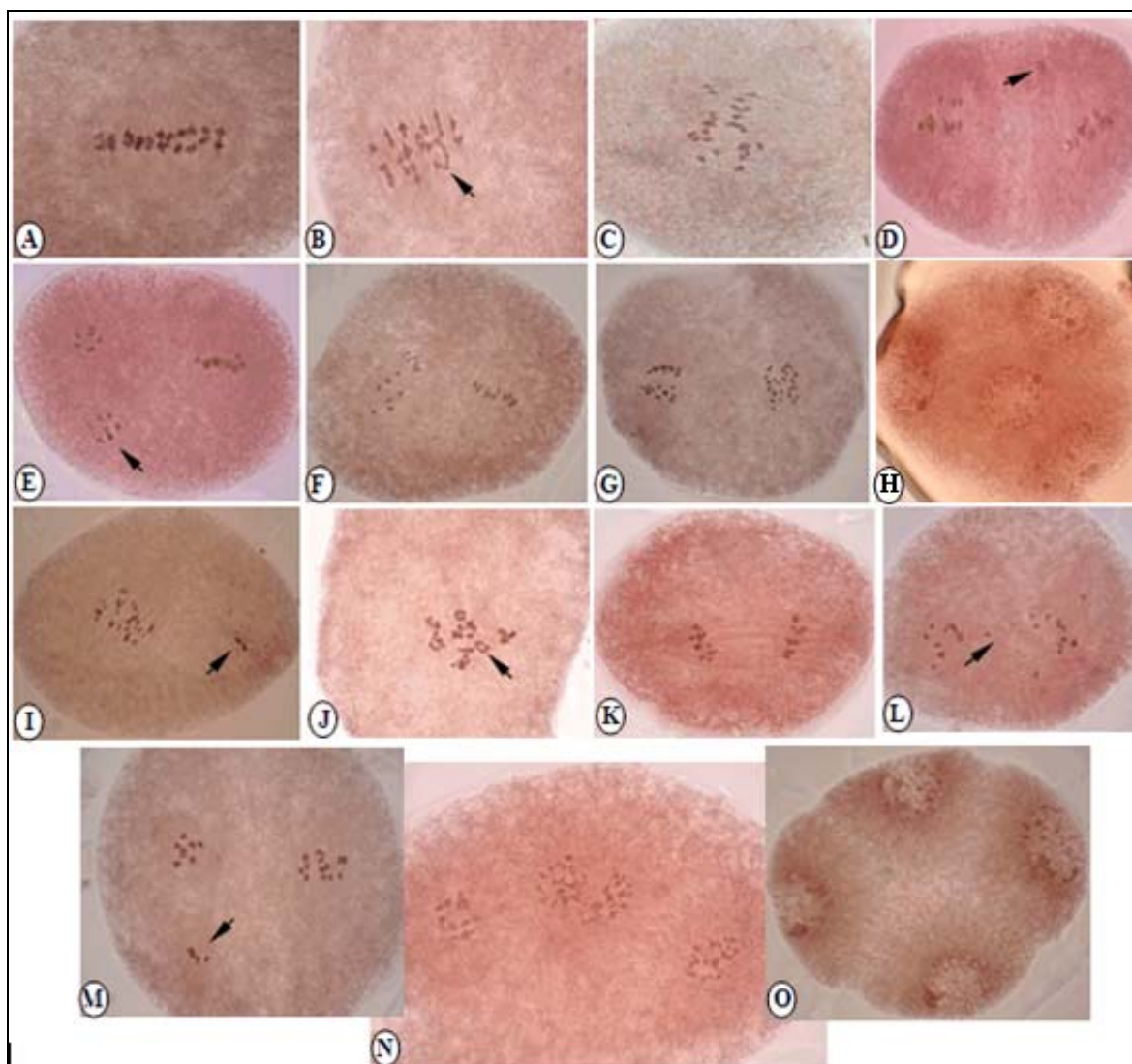
تترادهایی می‌شود که قطب‌های آن در جهات متفاوت در سلول قرار گرفته‌اند (شکل ۲-H).

### جمعیت‌های حاصل از نتاج بک کراس چهارم آرپورئوم × بومی بندرعباس

تعداد ۵ بوته از جمعیت‌های حاصل از نتاج بک کراس چهارم آرپورئوم × بومی بندرعباس که در یک ردیف ۱۰ متری کشت شده بودند، بررسی شدند. ۶۰ درصد بوته‌های مورد مطالعه رفتار میوزی کاملاً طبیعی نشان دادند و در ۴۰ درصد بوته‌ها ناهنجاری‌هایی در یک یا چند مرحله از تقسیم میوز مشاهده شد (شکل ۲). در یکی از بوته‌ها در شرایطی نادر در ۵ درصد سلول‌های متافاز ۱ یک جفت کروموزوم (بی‌والان) به طور کاملاً جدا از سایر کروموزوم‌ها در صفحه متافازی قرار گرفته، در حال تقسیم بود (شکل ۲-I) و در ۱۰ درصد سلول‌های بررسی شده در مرحله متافاز ۱ تجمعات کوادری‌والانی مشاهده گردید (شکل ۲-J). وجود کوادری‌والان در مرحله متافاز ۱ باعث تشکیل پل کروموزومی بین دو قطب در مرحله متافاز ۲ شد که حاکی از کشیدگی کروموزومی در آنافاز ۱ بوده که تا این مرحله باقی مانده بود (شکل ۲-L). در تعدادی از سلول‌های بررسی شده در مرحله متافاز ۲ تعداد سه دسته کروموزوم در امتداد سه دسته رشته دوک تشکیل شده بود که بیشتر در دسته سوم تعداد کروموزوم‌ها اندک بودند (شکل ۲-M). رشته‌های دوک در ۱۲ درصد سلول‌های آنافاز ۲ مورد بررسی در دو جهت متفاوت از هم با زاویه منفرجه قرار گرفته بودند (شکل ۲-N).

### جمعیت‌های حاصل از بک کراس چهارم آرپورئوم × بومی آریا

تعداد ۵ بوته از جمعیت‌های حاصل از نتاج بک کراس چهارم آرپورئوم × بومی آریا که در یک ردیف ۱۰ متری کشت شده بودند، بررسی شدند، نتایج نشان داد که ۶۰ درصد بوته‌ها دارای میوز طبیعی بودند و ۴۰ درصد ناهنجاری‌هایی در رفتار کروموزوم‌ها طی مراحل میوز نشان دادند. در هر ۴۰ درصد بوته‌ها، در مرحله تقسیم متافاز ۱ تجمعات کروموزومی به صورت کوادری‌والان با فراوانی ۱۵ تا ۲۵ درصد مشاهده شد (شکل ۲-B). کوادری‌والان‌های مشاهده شده به هر دو صورت مجاور و متناوب ظاهر شدند. وجود کوادری‌والان در مرحله متافاز ۱ باعث کشیدگی کروموزوم‌ها هنگام جدا شدن کروموزوم‌های همولوگ از یکدیگر در مرحله آنافاز ۱ شده بود (شکل ۲-C). تعدادی اندک از کروموزوم‌های سرگردان در برخی از سلول‌های مطالعه شده در مرحله متافاز ۲ دیده شد (شکل ۲-D). در ۵۰ درصد بوته‌های ناهنجار با فراوانی پایین (۴ درصد) در مرحله متافاز ۲ به جای دو دسته کروموزوم، تعداد سه دسته کروموزوم در سه صفحه متافازی آماده ورود به مرحله آنافاز ۲ بودند که این سبب ایجاد ناهنجاری در مراحل بعدی خواهد شد (شکل ۲-E) و در ۵ درصد سلول‌های متافاز ۲ مورد بررسی نیز رشته‌های دوک در دو جهت متفاوت در سلول جهت‌گیری کرده بودند (شکل ۲-F) که این حالت باعث شده بود که در مرحله آنافاز ۲ نیز کروماتیدها در دو جهت متفاوت از هم در حال جدا شدن باشند (شکل ۲-G). البته، این حالت ناهنجاری در میوز به حساب نمی‌آید، زیرا در نهایت باعث تشکیل



شکل ۲- مراحل مختلف میوز در جمعیت‌های حاصل از نتاج بک‌کراس چهارم آربورئوم × بومی آریا (A-B: متافاز ۱، C: آنافاز ۱، D-F: متافاز ۲، G: آنافاز ۲ و H: تلوفاز ۱)؛ جمعیت‌های حاصل از نتاج بک‌کراس چهارم آربورئوم × بومی بندرعباس (I-J: متافاز ۱، K: آنافاز ۱، L-M: متافاز ۲، N: آنافاز ۲ و O: تتراد (۴ سلول هاپلوئید گامتی)؛ پیکان‌ها در B و J نشان‌دهنده کوادری‌والان، در E و M نشانگر دسته سوم کروموزوم‌ها، در D و I نشان‌دهنده کروموزوم سرگردان و در L نشان‌دهنده کشیدگی کروموزوم‌هاست (بزرگ‌نمایی عکس‌ها ۱۰۰ است).

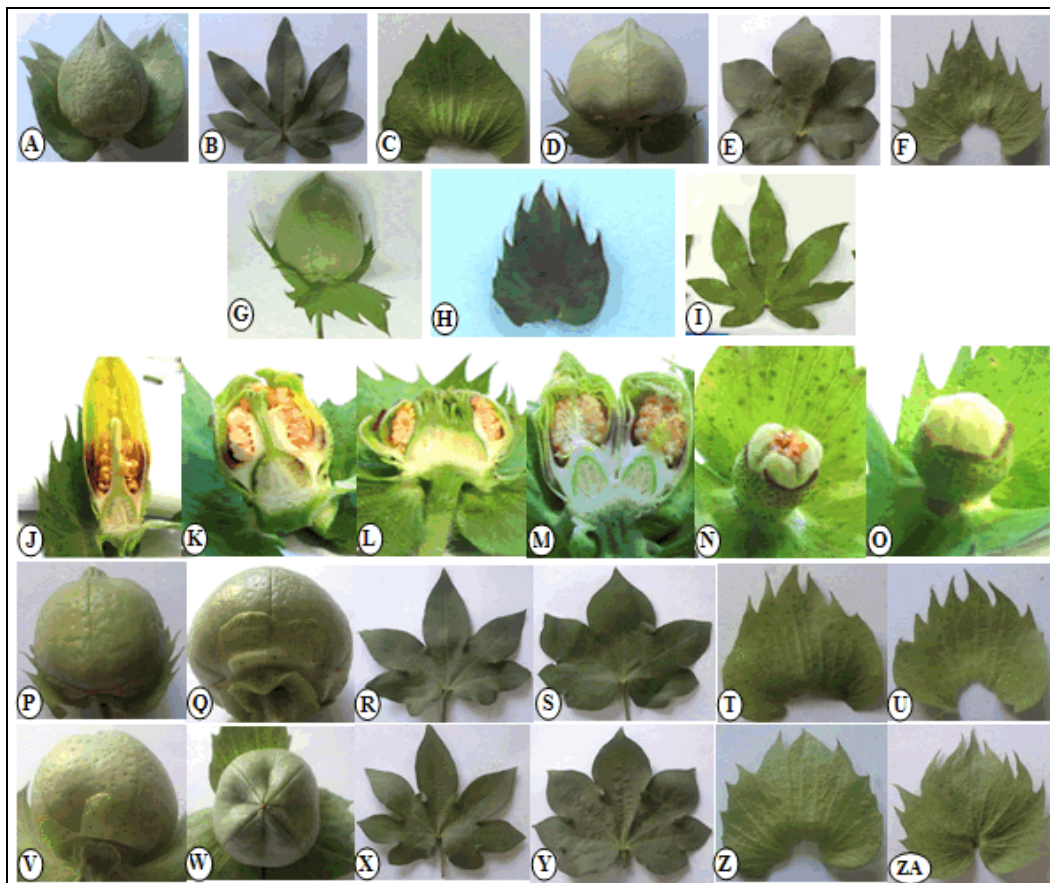
### ب) بررسی‌های مورفولوژیک

شکل برگ و براکته هیبریدهای  $F_1$  حدواسط و کمی متمایل به والد آربورئوم مشاهده شد (شکل ۳). همان طور که در شکل نشان داده شده است، شکل ظاهری و سطح خارجی قوزه هیبریدها نیز حدواسط بین دو والد دیده شد. به علت وجود ناهنجاری‌های حاصل

از اضافه و یا کم شدن قطعات کروموزومی در مراحل تولید گرده در نسل  $F_1$ ، در سال سوم آزمایش (نتاج بک‌کراس اول) در بین نتاج حالت‌های غیر طبیعی از نظر شکل و فرم ظاهری بوته، به خصوص در اندام‌های زایشی مشاهده گردید (شکل ۳). در این نسل ( $BC_1$ ) رشد بیش از حد کلاله سبب خوشه‌ای شدن آن در

براکته‌ها به صورت والد هرباسئوم و در مواردی بین دو گونه قرار گرفته بودند. برگ‌ها با تنوع ظریفی از نظر فرورفتگی بین لب‌ها از یکدیگر تفاوت داشته، حدواسط دو والد دیده شدند. با توجه به بک کراس‌های متوالی به وضوح دیده شد که صفات ظاهری بوته‌ها کاملاً به سمت گونه هرباسئوم تمایل داشتند و فقط صفاتی محدود از گونه آربورئوم در نتاج باقی مانده بود. به طور کلی، ناهنجاری خاصی در صفات ظاهری بوته‌ها دیده نشد و بوته‌ها از رشد رویشی و زایشی طبیعی برخوردار بودند.

برخی از گل‌ها گردید (شکل ۳-L) و برخی از گل‌ها فاقد کلاله بودند (شکل ۳-N و K) و همچنین در مواردی گل‌ها به صورت دو قلو ظاهر شدند (شکل ۳-M). تنوع موجود در صفات مورفولوژیک نتاج برخی از والدین و نسل بک کراس چهارم تلاقی آربورئوم  $\times$  رقم آریا در شکل ۳ نشان داده شده است. سطح روی قوزه‌ها به صورت صاف (مانند گونه هرباسئوم) و با نقاط اندکی فرو رفته (متماثل به سمت گونه آربورئوم) و با ۴ و ۵ برچه دیده شد. لبه کاسبرگ به صورت صاف و نزدیک به گونه آربورئوم مشاهده شد. وضعیت دندانهای لبه براکته‌ها حالت بینایی دو گونه را داشت و



شکل ۳- A-C: شکل قوزه، برگ و براکته در والد آربورئوم؛ D-F: شکل قوزه، برگ و براکته در والد هرباسئوم؛ G-I: شکل قوزه، برگ و براکته در  $F_1$  تلاقی هرباسئوم  $\times$  آربورئوم؛ J: مقطع طولی گل طبیعی در  $BC_1$ ؛ K-M: مقطع طولی گل و غنچه غیر طبیعی در  $BC_1$ ؛ N: غنچه غیر طبیعی در  $BC_1$ ؛ O: غنچه طبیعی در  $BC_1$ ؛ P-U: شکل قوزه، برگ و براکته در  $BC_4$  بومی آریا؛ V-ZA: شکل قوزه، برگ و براکته در  $BC_4$  بومی بندرعباس.



تنوع موجود در مورفولوژی نتاج برخی از صفات مورفولوژی بوته در والدین و نسل بک کراس چهارم تلاقی‌های رقم بندرعباس در شکل ۳ نشان داده شده است. همان‌طور که در شکل دیده می‌شود، شکل دندان‌های براکته‌ها در برخی از بوته‌ها مانند والد دهنده و در برخی از آنها مانند والد بازگردانده بود. قوزه‌ها حالت حدواسط دو والد و اکثر بوته‌ها دارای ۴ برچه بودند. سطح قوزه مانند والد آربورئوم به صورت نقاط فرو رفته زیادی دیده شد. شکل برگ‌ها نیز در مواردی مانند والد هرباسئوم و در مواردی به حالت بینابینی دارای لب‌های کشیده، اما پهن‌تر از آربورئوم مشاهده شد.

## بحث

هم اکنون در ایران حدوداً ۹۵ درصد از پنبه کاری را رقم تتراپلوئید آپلند (*G. hirsutum*) گونه هیرسوتوم تشکیل می‌دهد و ۵ درصد از پنبه کاری را رقم‌های بومی (گونه هرباسئوم) پوشش می‌دهند. علت کاهش سطح زیر کشت ارقام بومی ظرافت نامطلوب و طول الیاف کوتاه آنهاست. این مشکل می‌تواند از طریق تلاقی با گونه‌های دور (و انجام بک کراس‌های متوالی) رفع گردد (وفایی تبار، ۱۳۸۷). یکی از گونه‌های نزدیک به گونه بومی ایران، گونه آربورئوم است که برخی از ارقام آن از طریق تلاقی‌های دور اصلاح شده‌اند و می‌تواند با مشکلات کمتری با پنبه‌های بومی ایران تلاقی یابد. وجود کوادری‌والان سبب ایجاد شکست و بست‌هایی در آنافاز اول میوز شده، در نهایت به ایجاد عدم تعادل در تفرق کروموزومی و گرده‌هایی منجر می‌گردد که ۱۳

کروموزوم را با کمبود و یا اضافه در خصوص کروموزوم اول و دوم به نسل بعد منتقل می‌کند (Vafaie-Tabar and Chandrashekar, 2007). این ناهنجاری هرچند با فراوانی اندک، می‌تواند تا چند نسل با وجود بک کراس‌های متوالی نیز منتقل گردد. لاین‌های به دست آمده از بک کراس‌های چهارم که در این مطالعه بررسی شده‌اند، دارای صفات والد برگردانده (بومی ایران) بودند (به استثنای صفاتی از قبیل کیفیت مناسب الیاف که از گونه آربورئوم به ارث رسیده‌اند). بدیهی است که وجود ناهنجاری‌هایی مانند تشکیل کوادری‌والان‌ها، یونی‌والان‌ها و یا عدم تفرق طبیعی کروماتیدها در آنافاز ۲ سبب از بین رفتن و فقدان برخی از صفات در لاین‌های مورد نظر در نسل‌های آینده خواهد شد (وفایی تبار، ۱۳۸۷) و پروژه تولید لاین‌های مناسب را با شکست مواجه خواهد کرد. بنابراین، لاین‌های انتخابی از بک کراس‌های به دست آمده باید ضمن داشتن کیفیت الیاف بهتر نسبت به والدین خود رفتار میوزی طبیعی نیز از خود نشان دهند. در مطالعه‌ای نسل M<sub>4</sub> از تابش گاما در رقم shirpan از گونه *G. hirsutum* با هدف القای تنوع ژنتیکی جدید مطالعه شد که در نهایت، لاین‌هایی با خصوصیات خوب زراعی دارای میوز با اختلال کم، ولی درصد بالای از کوادری‌والان متناوب مشاهده شدند (Sheidai et al., 2002).

مطالعه رفتار میوزی در بین لاین‌های به دست آمده نشان داد که برخی از بوته‌های به دست آمده توانسته‌اند رفتار طبیعی در مراحل مختلف میوز از خود نشان دهند و برخی از بوته‌ها ناهنجاری‌هایی، از قبیل تجمعات کروموزومی غیر از بی‌والان‌ها در متافاز ۱ و یا

کیاسما پایین بوده، گاهی اوقات کروموزوم‌ها به صورت ۱۴-۱۲ تفکیک می‌شوند (Skovsted, 1933).

وجود کوادری‌والان در مرحله متافاز ۱ سبب تشکیل پل کروموزومی بین دو قطب در مرحله متافاز ۲ شد که حاکی از کشیدگی کروموزومی در آنافاز ۱ بوده که تا این مرحله باقی مانده است. در تعدادی از سلول‌های مورد بررسی در مرحله متافاز ۲ تعداد سه دسته کروموزوم در امتداد سه دسته رشته دوک تشکیل شده بود که بیشتر در دسته سوم تعداد کروموزوم‌ها اندک بود (شکل ۲-۲). بدیهی است که در این شرایط گرده تولید شده از نظر تعداد کروموزوم ناقص خواهد بود. شرایط ایجاد شده در بوته‌های فوق فرصت‌های خوبی برای تولید لاین‌های ژنتیکی با یک یا دو کروموزوم اضافه و یا کمبود در اختیار ما قرار خواهد گرفت که می‌توان از آنها برای تولید آنیوپلوئیدها استفاده نمود.

همان‌طور که در بخش نتایج ذکر شد، ناهنجاری‌هایی از قبیل حجیم شدن کلاله، کوتاه شدن خامه و یا از بین رفتن کلاله، کوتاه شدن گلبرگ‌ها، دو قلو شدن تخمدان‌ها در نسل  $F_2$  (وفایی‌تبار، ۱۳۸۷) و یا بک کراس‌های بعدی مشاهده شد. همانند سایر صفات، این ناهنجاری‌ها نیز به نسل‌های بعدی با فراوانی کمتر انتقال یافت. با انجام بک کراس‌های متوالی با والد هر باسئوم، ناهنجاری‌های مورفولوژی به کمترین میزان خود رسیده است؛ به طوری که در بک کراس چهارم ناهنجاری زیادی در اندام‌های ظاهری دیده نشد، ولی لاین‌های به دست آمده در برخی صفات با والد برگرداننده خود مشابه نبودند. این صفات شامل شکل

جهت‌گیری چند دسته‌ای کروموزوم‌ها در آنافاز ۲ را با فراوانی نسبتاً بالا نشان دهند. وجود این ناهنجاری‌ها سبب بروز صفات غیر معمول نیز در ظاهر بوته می‌گردد که می‌تواند شناخت ما را از تأثیرات ناهنجاری‌ها بر توارث صفات بیشتر کند.

در جمعیت‌های حاصل از نتاج بک کراس چهارم آریا در آربورئوم، رخداد کوادری‌والان در مرحله متافاز ۱ سبب کشیدگی کروموزوم‌ها هنگام جدا شدن کروموزوم‌های همولوگ از یکدیگر در مرحله آنافاز ۱ شده بود. در مرحله متافاز ۲ به جای دو دسته کروموزوم، تعداد سه دسته کروموزوم در سه صفحه متافازی آماده ورود به مرحله آنافاز ۲ بودند که این سبب ایجاد ناهنجاری در مراحل بعدی خواهد شد. چنین حالتی قبلاً در  $F_1$  های تریپلوئید پنبه که از تلاقی گونه تتراپلوئید هیرستوم با گونه دیپلوئید آربورئوم به دست آمده‌اند نیز گزارش شده است (Vafaie-Tabar and Chandrashekar, 2007). در جمعیت‌های حاصل از نتاج بک کراس چهارم بندرعباس در آربورئوم نیز یک جفت کروموزوم (بی‌والان) به طور کاملاً جدا از سایر کروموزوم‌ها در صفحه متافازی قرار گرفته و در حال تقسیم بود. بدیهی است که با ادامه این حالت کروموزوم‌های جدا شده در این بی‌والان طی فرآیندهای بعدی میوزیک یا هر دوی آنها ممکن است حذف گردند و یا به مجموعه کروموزوم‌های یک قطب اضافه و سبب ایجاد آنیوپلوئیدی در نسل بعد گردند. مطالعات رفتار کروموزومی بر روی هیبرید حاصل از تلاقی  $G. arboreum \times G. herbaceum$  توسط نیز نشان داده است که در این هیبرید فراوانی

طوری که درصد بیشتر بوته‌های مورد مطالعه دارای رفتار میوزی طبیعی بودند. شایان ذکر است که ممکن است لاین‌های به دست آمده از نظر یک یا دو صفت از والد بومی خود برتر نباشند، ولی در سایر صفات برتر باشند. از آن جایی که اصلاح همه صفات به طور همزمان و به خصوص از طریق تلاقی‌های دور در یک مرحله امکان‌پذیر نبوده، بنابراین، دسترسی به نتاج به دست آمده می‌تواند بزرگ‌ترین گام در مراحل اولیه اصلاح ارقام بومی ایران باشد؛ چرا که حداقل طول الیاف و برخی از صفات کیفیت الیاف آنها ارتقا یافته است. در مقابل، بوته‌هایی که رفتارهای ناهنجاری طی مراحل میوز از خود نشان می‌دهند، می‌توانند بهترین منبع برای تولید پایه‌های سیتوژنتیکی باشند و در مطالعه و شناخت بیشتر صفات و پیوستگی و همچنین مکان‌یابی ژن‌ها استفاده شوند.

قوزه، شکل براکته، شکل برگ و کیفیت الیاف بودند که مشابه والد دهنده شدند. انتقال صفات مذکور به همراه رفتارهای خاص کروموزومی در مراحل میوز، سبب ایجاد تنوع زیاد و جدیدی در جمعیت‌های حاصل از نتاج بک کراس چهارم شده است.

### جمع‌بندی

انتقال پایدار ژن‌های مربوط به کیفیت الیاف به رقم‌های بومی ایران، یکی از اهداف ارزشمند اصلاحی در برنامه‌های به‌نژادی تحقیقات پنبه در ایران است. هرچند که ناهنجاری‌های کروموزومی که از نسل اول تلاقی به سبب وجود کوادری‌والان بین کروموزوم‌های ۱ و ۲ به وجود آمده‌اند (Menzel and Brown, 1953) سبب بی‌ثباتی و ایجاد نواقصی در خصوصیات ظاهری بوته‌ها شده‌اند، ولی انجام بک کراس‌های متوالی سبب تثبیت بیشتر و کاهش این ناهنجاری‌ها شده است؛ به

### منابع

وفایی تبار، م. (۱۳۸۷) بهبود کیفیت الیاف پنبه‌های بومی ایران از طریق تلاقی با منابع ژنتیکی وارداتی. انتشارات مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی، ورامین.

وفایی تبار، م. (۱۳۷۵) جنبه‌های سیتوژنتیکی و قابلیت ترکیب‌پذیری ارقام تتراپلوئید پنبه آپلند، پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه تربیت مدرس، تهران.

Denham, H. J. (1924) The cytology of the cotton plant. II. Chromosome number of old and new world cotton. *Annual Botany* 38: 433-438.

Kohel, R. J. and Lewise, C. F. (1984) Cotton American society of Agronomy, Wisconsin.

Menzel, M. Y. and Brown, M. S. (1953) The tolerance of *Gossypium hirsutum* for deficiencies and duplications. *The American Naturalist* 843: 407-418.

Nikolajeva, A. (1923) A hybrid between Asiatic and American cotton plant *Gossypium herbaceum* and *G. hirsutum*. *Bulletin Applied Botany and Plant Breeding* 13:117-134.

Phillips, L. L. (1974) Cotton (*Gossypium*). In: *Handbook of Genetic*. (ed. King., R. C) 2: 111-133. Plenum, New York.

Sheidai, M., Vojdani, P. and Alishah, O. (1996) Karyological studies in *G. herbaceum* cultivars of Iran. *Cytologia* 61: 365-374.

- Sheidai, M., Azarani, H. and Hosseininejad, Z. (2002) Cytogenetic study of gamma irradiated lines of cotton (*Gossypium hirsutum*). Journal of Sciences, Islamic Republic of Iran 13: 311-322.
- Sheidai, M., Golestanipoor, A. and Jorjani, E, (2006) Chromosome pairing and heterozygote translocation in Oltan cotton cultivar and its crossing progenies. Iranian Journal of Science and Technology 30: 103-109.
- Skovsted, A. (1933) Cytological studies in cotton. Vol. I. The mitosis and meiosis in diploid and triploid Asiatic cotton. Annual Botany 47: 227-231.
- Skovsted, A. (1935) Cytological studies in cotton. Vol. III. A hybrid between *Gossypium davidsonii* and *G. sturtii*. Journal of Genetics 30:397-405.
- Stewart, J. M. (1995) Potential for crop improvement with exotic germplasm and genetic engineering. In: Challenging the future (eds. Constable, G. A. and Forrester, N. W.) 313-327. Proceeding World Cotton Research Conference 1: 14-17 February 1995 CSIRO, Narrabri.
- Vafaie-Tabar, M. and Chandrashekar, S. (2007) Meiosis in a triploid hybrid of *Gossypium*: high frequency of secondary bipolar spindles at metaphase II. Journal of Genetics 86: 45-49.

## **Cytological and Morphological Studies of back-crossed genotypes derived from Iranian endemic diploid cotton cultivars Aria and Bandarabas with *Arboreum* species hybrids**

**Zahra Harati, Mosareza Vafaie-Tabar <sup>\*1</sup> and Mahmood Khosrowshahli <sup>2</sup>**

<sup>1</sup> Department of Cotton Research, Agricultural Research Center of Tehran, Varamin, Iran

<sup>2</sup> Department of Breeding, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

### **Abstract**

This study was carried out in order to investigate chromosomal behavior during meiosis, morphological assessments and fibers quantitative and qualitative traits in *herbaceum* (Iranian endemic), *arboreum* species, F<sub>1</sub> hybrids of two species and BC<sub>4</sub> genotypes. In this study, the endemic varieties Aria and Bandarabas and VTDL as *arboreum* were used. Regarding to the morphological characters, the F<sub>1</sub>s traits were intermediate and BC<sub>4</sub> showed intermediated and resemble somewhat to the endemic parents traits. F<sub>1</sub>s Cytological investigations showed the adjacent and alternative quadrivalents frequently but In the BC<sub>4</sub> offspring population the quadrivalents were appeared in low frequency. Besides, other abnormalities like univalent, trivalents and triple sets of chromosomes in MII and AII were observed which were resulted in the deviation from Tetrads.

**Key words:** Cotton, *Gossypium*, *G. herbaceum*, *G. arboretum*, meiosis

