

Chromosomal abnormality behaviors and morphological evaluation of genotypes derived from hybrids of Kerman endemic cotton and VTDL variety of *Arboreum*

Zahra Harati ¹, Mosareza Vafaie-Tabar ^{2*} and Mahmud Khosrowshahli ¹

¹ Department of Agronomy and Breeding, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Iran

² Department of Cotton and Fiber Plants, Agricultural and Natural Resources Research and Education Center of Tehran, AREEO, Varamin, Iran

Abstract

This study was carried out in order to investigate on chromosomal behavior during meiosis in Kerman endemic cotton (*Gossypium herbaceum*) and VTDL (*G. arboretum*) species, F1 hybrids of two species and BC₄ genotypes. The F1s investigations showed that in 40 percent of tested cells, there was one adjacent quadrivalent. Only in one case there was one lag chromosome at MII and the rest of next meiosis stages were normal. Repeated back crosses (up to BC₄) caused to reduce the irregularities. Morphological traits in back crosses, were mostly similar to *G. herbaceum* and only in few cases were left from *G. arboretum* species. Since simultaneously breeding for all traits, especially through far hybridization, is not possible at one stage, so the resulted offspring would be great achievement at the early steps of endemic cotton improvement.

Keywords: *Arboretum*, Cotton, *Herbaceum*, Meiosis

* Corresponding Author: m.vafaiet@areeo.ac.ir

بررسی ناهنجاری‌های رفتار کروموزومی و ویژگی‌های مورفولوژی در ژنوتیپ‌های حاصل از تلاقی بین گونه‌ای پنبه بومی کرمان با رقم VTDL گونه آرپورنوم

زهرا هراتی^۱، موسی‌الرضا وفایی تبار^{۲*} و محمود خسروشاهلی^۱

^۱ گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات، تهران، ایران

^۲ بخش تحقیقات پنبه و گیاهان لیفی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان تهران، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ورامین، ایران

چکیده

پژوهش حاضر برای بررسی رفتار کروموزوم‌ها در میوز دو گونه پنبه بومی کرمان (*Gossypium herbaceum*)، رقم VTDL از گونه *G. arboreum* و هیبرید حاصل از تلاقی دو گونه و همچنین ژنوتیپ‌های حاصل از نتاج تلاقی برگشتی چهارم آن‌ها انجام شد. نتاج مربوط به بررسی رفتار کروموزومی هیبرید F₁ نشان داد که در ۴۰ درصد سلول‌های مشاهده شده در مرحله متافاز ۱، یک عدد کوادری والان از نوع مجاور تشکیل می‌شود. در سلول‌هایی که در مرحله متافاز ۲ بررسی شدند در یکی از آن‌ها کروموزوم سرگردان دیده شد و رفتار کروموزوم‌ها در سایر مراحل تقسیم به شکل نرمال بود. انجام تلاقی‌های برگشتی متوالی، این ناهنجاری‌ها را کاهش داده است. صفات ظاهری در پنبه‌های حاصل از تلاقی برگشتی کاملاً به سمت گونه هرباسئوم تمایل داشتند و تنها تعداد محدودی از صفات از گونه آرپورنوم در نتاج، باقی مانده بودند. از آنجا که اصلاح همه صفات به‌طور هم‌زمان و به‌ویژه به روش تلاقی‌های دور در یک مرحله ممکن نیست. بنابراین دسترسی به این نتاج به‌دست آمده ممکن است بزرگ‌ترین گام در مراحل اولیه اصلاح ارقام بومی ایران باشد.

واژه‌های کلیدی: آرپورنوم، پنبه، میوز، هرباسئوم

مقدمه

جنس *Gossypium* شامل بیش از ۵۰ گونه است که از

این تعداد، ۷ گونه تتراپلوئید و بقیه دیپلوئید هستند

(Wendel and Grover, 2015). الیافی که قابلیت

پنبه، گیاهی گل‌دار (دولپه‌ای) از خانواده Malvacea

زیرخانواده Hibiceae و از جنس *Gossypium* است.

* نگارنده مسؤول: نشانی پست الکترونیک: m.vafaiet@areeo.ac.ir، شماره تماس: ۰۲۱۳۶۲۶۰۵۰۵

هتروزیگوت و جهت گیری‌های آن‌ها هنگام تقسیم میوز بررسی کردند. در بررسی آن‌ها، اطلاعات روی ژن‌های مارکر، ساختمان‌های کروموزومی هتروزیگوس و فراوانی محتمل گامت‌های dup-def (مضعف-کمبود) برای ۵۷ لاین با جابه‌جایی قطعات کروموزومی پنبه تشکیل‌دهنده کوادری والان در هتروزیگوت‌ها ارائه شد. کوادری والان‌های بزرگ متقارن (جابه‌جایی‌های A و A) به ظهور تعداد زیادی از جهت‌گیری‌های متناوب در متافاز ۱ تمایل داشتند؛ در حالی که حلقه‌های کوچک (D، D) غالباً شکل مجاور را ارائه می‌دادند و لاین‌های دیگر به‌طور تصادفی، شکل حلقه و زنجیره را داشتند. همچنین گزارش شد، زمانی که لاین‌های بررسی‌شده از جنبه جابه‌جایی‌ها، قطعات کروموزومی هتروزیگوت بودند و حلقه مجاور را با فراوانی زیاد تشکیل می‌دادند، فراوان‌ترین گامت‌ها از جنبه کمبود و اضافه بودن قطعات، به وجود آمدند. مطالعه‌ای بر ویژگی‌های سیتوژنتیکی لاین‌های پنبه تتراپلوئید (*G. hirsutum*) دارای جابه‌جایی‌های قطعات کروموزومی مختلف نشان داده است که کروموزوم‌های حامل جابه‌جایی، به آسانی با گرده و تخمک انتقال می‌یابند و می‌توان آن را به حالت هموزیگوس نگه داشت (Menzel et al., 1986). چندین نوع جهت‌گیری سانترومری، در کوادری والان‌های پنبه‌های تتراپلوئید (*G. hirsutum*) دارای جابه‌جایی‌های قطعات کروموزومی هتروزیگوس مشاهده شده است؛ به طوری که علاوه بر شکل‌های متناوب و مجاور، نوعی جهت‌گیری سوم به نام متناوب ۳ رخ می‌دهد که سه بعدی و دارای ساختمان V شکل است. همچنین دو نوع تفرق دیگر که در آن

ریسندگی دارند در جهان از چهار گونه اصلی و زراعی شامل گونه‌های دیپلوئید *G. arboreum* و *G. herbaceum* و گونه‌های تتراپلوئید *G. barbadense* و *G. hirsutum* به دست می‌آیند. ارقام زراعی دیپلوئید، اغلب در آسیا به‌ویژه در هندوستان کاشته می‌شوند. این ارقام مقاومت بیشتری نسبت به آفات در مقایسه با ارقام تتراپلوئید دارند؛ اما میزان تولید محصول در آن‌ها کمتر از تتراپلوئیدها است (Kohel and Lewise, 1984).

Brown و Ware (۱۹۵۸) بیان کردند که Denham و Nikolajeva نخستین شمارش کروموزومی را در گونه‌های زراعی پنبه در سال ۱۹۲۴ گزارش کرده‌اند. پنبه‌های دنیای قدیم (*G. herbaceum* و *G. arboreum*)، $2n=2x=26$ کروموزوم و پنبه‌های دنیای جدید، $2n=4x=52$ کروموزوم دارند (Kohel and Lewise, 1984). اختلاف کلی در دو ژنوم هرپاسئوم و آربورئوم در وجود جابه‌جایی قطعات کروموزومی 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 می‌شود (Menzel and Brown, 1953). در بررسی کاریولوژیکی ارقام *G. herbaceum* بومی ایران مشاهده شد که به‌طور کلی کاریوتیپ‌های ارقام این گونه، متقارن بوده و دارای کروموزوم‌های کوچک هستند و بزرگ‌ترین طول کلی کروموزوم‌ها، مربوط به رقم سبزوار با طول ۴۶/۴۶ میکرومتر و کوچک‌ترین این مقدار مربوط به رقم محلات با طول ۲۳/۸۳ میکرومتر بود (Sheidaie et al., 1996).

Brown و همکاران (۱۹۸۱) ساختمان‌های کروموزومی را در جابه‌جایی قطعات کروموزومی

یونی والان و بایوالان، تجمعات کروموزومی دیگری مانند تری، تترا و هگزاوالان نیز گزارش شده است (Skovsted, 1934).

در مطالعه Harati و Vafaie-Tabar (۲۰۱۳) بر رفتارهای میوزی در نتاج حاصل از تلاقی‌های بین گونه‌ای ارقام پنبه بومی سمنان و شهرضا با گونه آربورئوم گزارش شده است که در جمعیت‌های حاصل از نتاج تلاقی برگشتی چهارم، کوادری والان با فراوانی اندک تشکیل شده است. علاوه بر آن، ناهنجاری‌های دیگری نیز مانند وجود یونی والان، تری والان و چند دسته شدن کروموزوم‌ها در متافاز ۲ و آنافاز ۲ مشاهده و به دنبال آن انحراف از حالت تتراد دیده شد. آن‌ها اشاره کردند که انجام تلاقی‌های برگشتی متوالی، کاهش این ناهنجاری‌ها را سبب شده است؛ به طوری که درصد بیشتر بوته‌های بررسی شده، رفتار میوزی نرمال داشتند.

در پژوهشی دیگر، Harati و همکاران (۲۰۱۱) رفتار کروموزوم‌ها در میوز، صفات کمی و کیفی الیاف پنبه در هیبرید حاصل از تلاقی ارقام بومی آریا و بومی بندرعباس (گونه هرباسئوم با گونه آربورئوم) و نتاج تلاقی برگشتی چهارم را بررسی کردند. آن‌ها گزارش کردند که در هیبریدهای F_1 ، کوادری والان‌های مجاور و متناوب با فراوانی نسبتاً زیادی تشکیل می‌شود. در جمعیت‌های حاصل از نتاج تلاقی برگشتی چهارم نیز کوادری والان با فراوانی اندک و ناهنجاری‌های دیگر مانند وجود یونی والان، تری والان و چنددسته شدن کروموزوم‌ها در متافاز ۲ و آنافاز ۲ نیز مشاهده شده است. آن‌ها همچنین گزارش کردند که طول الیاف در هیبرید رقم آریا \times آربورئوم، $23/7$ میلی‌متر است که از

جهت گیری سانترومر، حالت تغییر یافته وضعیت‌های مجاور و متناوب و چرخشی از آنهاست، در جابه‌جایی‌های قطعات کروموزومی هتروزیگوس مشاهده شده است (Endrizzi et al., 1983).
 Vafaie-Tabar و Chandrashekar (۲۰۰۷) رفتار کروموزوم‌ها را در میوز هیبرید تریپلوئید (AAD) بین گونه‌ای پنبه بررسی کردند. 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 بایوالان (AA) و ۱۳ یونی‌والان (D) وجود داشته باشد؛ در حالی که در سلول‌های مادر گرده؛ ۸ تا ۱۲ بایوالان و ۱۲ تا ۱۷ یونی‌والان مشاهده شد. یونی‌والان‌ها به شکل انفرادی یا گروهی، پراکنده شده بودند و در مرحله میوز دوم، کروموزوم‌ها به شکل دسته‌هایی بیش از دو گروه با سطوح پلوئیدی متفاوت مشاهده شدند. به عبارتی، در آنافاز دوم، تنها $3/2\%$ از سلول‌های مادر گرده، تفرق دو دسته‌ای و نرمال کروموزومی داشتند و سایر سلول‌ها، چندین دسته رشته‌های دوکی دو قطبی داشتند که گاهی تعداد آن‌ها به شش دسته می‌رسید. تعداد کروموزوم‌ها در رشته‌های دوکی فرعی (سوم به بعد) کمتر از تعداد آن‌ها در رشته‌های دوکی اصلی گزارش شد؛ به طوری که گاهی تعداد آن‌ها به یک کروموزوم نیز می‌رسید. Skovsted (۱۹۳۳) در مطالعات خود بر رفتار کروموزومی هیبرید حاصل از تلاقی *G. herbaceum* \times *G. arboreum* نشان داد که فراوانی کیاسما اندک بوده و گاهی کروموزوم‌ها به شکل ۱۴-۱۲ تفکیک می‌شوند. همچنین در هیبریدهای حاصل از تلاقی پنبه‌های دیپلوئید آسیایی (*G. arboreum*) با تتراپلوئید (*G. hirsutum*)، علاوه بر

نتایج به‌دست آمده از تلاقی و تلاقی‌های برگشتی است که بین رقم پنبه بومی کرمان و گونه آرپورئوم انجام شده است.

مواد و روش‌ها

در این بررسی از پنبه بومی کرمان (والد مادری) و یک رقم از گونه آرپورئوم به نام VTDL (والد پدری) با کیفیت الیاف مطلوب استفاده شد. تلاقی‌های برگشتی بررسی شده، از تلاقی‌هایی به دست آمده‌اند که والدین آن‌ها در سال ۱۳۸۵ به شکل شش خط مادری و چهار خط پدری، کنار یکدیگر در ایستگاه مرکزی مرکز تحقیقات کشاورزی ورامین کشت شدند. عقیم‌سازی گل‌ها به شکل دستی، روزانه بین ساعات ۴ تا ۷ بعد از ظهر به مدت ۴۰ روز از زمان آغاز گل‌دهی انجام شد و گرده‌افشانی نیز در روز پس از عقیم‌سازی بین ساعت ۸ تا ۱۰ صبح انجام شد. همه بذرهای دورگ حاصل در پایان فصل (آبان ماه) به تفکیک برداشت شد و در سال دوم آزمایش (۱۳۸۶) هر یک از دورگ‌های حاصله در یک خط ۱۰ متری در کنار والدین کشت شدند. از زمان آغاز گل‌دهی تلاقی‌های برگشتی دورگ‌ها با والد مادری خود (بومی کرمان) انجام شد. کلیه بذرهای حاصل از تلاقی برگشتی برداشت شدند. در سال سوم آزمایش (۱۳۸۵) مانند سال دوم کلیه تلاقی‌های برگشتی بین نتاج و والد بازگرداننده انجام شد. در این تلاقی‌ها والد بازگرداننده برای والد پدری استفاده شد. در سال ۱۳۸۸ و ۱۳۸۹ بوته‌های به‌دست آمده بررسی شدند.

برای بررسی مراحل میوزی از سلول‌های مادری دانه گرده که در حال تولید گرده هستند، استفاده شد. در

انتقال ژن‌های مربوط به طول الیاف، از والد آرپورئوم به رقم بومی آریا ناشی می‌شود.

انجام مطالعات سیتوژنتیک در گونه‌های گیاهی و همچنین جمعیت‌های آن‌ها به‌ویژه گیاهان خودرو و بومی اهمیت زیادی دارد. وجود اختلاف در شکل و اندازه کروموزوم‌ها در تقسیم میتوز و همچنین رفتار آن‌ها در مراحل تقسیم میوز به‌ویژه فراوانی کیاسما ممکن است بیانگر تنوع ژنتیکی باشد. در مقایسه با ارقام تتراپلوئید برای اصلاح ویژگی‌های مختلف پنبه‌های دیپلوئید زراعی تلاش نشده است. یکی از راه‌های اصلاحی این ارقام، انتقال صفات ممتاز از ذخایر ژنتیکی گونه‌های دیگر این خانواده با دورگ‌گیری است. گونه آرپورئوم (ذخیره ژنتیکی اولیه) می‌تواند به راحتی با گونه هرپاسئوم تلاقی یابد و پتانسیل نوترکیبی در خورتوجهی در نسل F_1 از خود نشان دهد. بنابراین تلاقی بین این دو گونه، زمینه مناسب و جدیدی برای اصلاح و ارقام مربوط به آن‌ها ایجاد می‌کند. ارقام دیپلوئید (هرپاسئوم) ارقام بومی ایران بوده که نسبت به استرس‌های محیطی و برخی بیماری‌های مهم پنبه متحمل هستند. این ارقام در حاشیه کویر یعنی در مناطقی که به سبب کم‌آبی، مناسب برای ارقام تتراپلوئید نیستند، کشت و کار می‌شوند. یکی از علت‌های اصلی کاهش سطح زیر کشت این ارقام (از جمله رقم بومی کرمان) عملکرد ضعیف و کیفیت نامطلوب تر الیاف آن‌ها نسبت به ارقام تتراپلوئید است. بنابراین پیش‌بینی می‌شود با بهبود کیفیت الیاف، سطح کشت آن‌ها در کشور توسعه یابد (Harati and Vafaie-Tabar., 2013).

هدف از انجام پژوهش حاضر، بررسی تنوع سیتوژنتیکی از نظر هنجار بودن مراحل تقسیم میوز در

پنبه بهترین مرحله، استفاده از غنچه‌هایی است که حدوداً به ابعاد 1×1 سانتی متر رسیده باشند. غنچه‌هایی که روزانه جمع آوری می‌شدند بلافاصله داخل محلول فیکساتیو کارنوی (یک قسمت، استیک اسید گلاسیال (شرکت Merck، آلمان): سه قسمت، اتانول خالص) حداقل به مدت یک هفته قرار داده شدند، تا سلول‌ها در همان مرحله از تقسیم تثبیت شوند. بساک‌های موجود در غنچه‌های تثبیت‌شده، خارج شدند و پس از رنگ آمیزی سلول‌ها با استو اورسئین (شرکت TCI، ژاپن) (با غلظت ۱٪)، اسلایدهای میکروسکوپی تهیه و با میکروسکوپ نوری (مدل BX50، شرکت Olympus، ژاپن) با بزرگ‌نمایی‌های ۱۰ و ۱۰۰ بررسی شدند و از سلول‌های مناسب در مراحل مختلف میوزی از قبیل پروفاز، متافاز ۱ و ۲، آنافاز ۱ و ۲، تلوفاز ۱ و ۲ و تتراد عکس‌برداری شد. در هر ژنوتیپ (شامل والد و هیبریدهای F_1 و تلاقی‌های برگشتی) که در مرحله متافاز ۱ میوز بررسی شد، حضور بایوالان‌ها، تعداد کوادری‌والان‌ها، نوع جهت‌گیری کوادری‌والان (مجاور یا متناوب) و همچنین تعداد یونی‌والان‌ها (اگر وجود داشته باشد) ثبت شد. ویژگی‌های دیگری که مربوط به مراحل آنافازی و تلوفازی ۱ و ۲ بود از قبیل عقب‌ماندن کروموزوم‌ها در آنافازهای ۱ و ۲، انتقال یک جفت هومولوگ به یک قطب و آنیوپلوئید شدن قطب دیگر در آنافاز و تلوفاز و همچنین چسبندگی کروموزوم‌ها بین دو قطب ثبت شد.

نتایج و بحث

در مطالعه رفتار کروموزوم‌ها در تقسیم میوز، صفات مختلفی از قبیل جفت‌شدن کروموزوم‌ها

(تشکیل کوادری‌والان، بایوالان، تری‌والان و یونی‌والان)، چنددستگی کروموزوم‌ها در متافاز ۲، جهت‌گیری‌های مختلف رشته‌های دوک، جدا شدن کروموزوم‌ها از یکدیگر در آنافاز ۲ در جهات مختلف و چند صفت مرتبط دیگر در ارقام بومی، گونه آرپورئوم، F_1 حاصل از تلاقی آرپورئوم (والد پدری) با رقم بومی کرمان و جمعیت‌های حاصل از تلاقی برگشتی چهارم آن‌ها بررسی شد.

بررسی رفتار کروموزوم‌ها در F_1 حاصل از

تلاقی آرپورئوم با رقم بومی کرمان (هرباسنوم):

برای مطالعه رفتار کروموزوم‌ها در دورگ حاصل از تلاقی آرپورئوم، والد پدری، با رقم بومی کرمان، والد مادری، ۳ بوته F_1 بررسی شدند. نتایج حاصل از بررسی رفتار کروموزوم‌ها در F_1 حاصل از تلاقی آرپورئوم با بومی کرمان در شکل (J-۱ تا P) نشان داده شده است. در ۴۰٪ سلول‌های مشاهده‌شده در مرحله متافاز ۱، یک عدد کوادری‌والان دیده شد (شکل J-۱ و K). شکل (K-۱) کوادری‌والان از نوع مجاور را نشان می‌دهد. در یکی از سلول‌هایی که در مرحله متافاز ۲ بررسی شدند کروموزوم سرگردان دیده شد (شکل M-۱). رفتار کروموزوم‌ها در سایر مراحل تقسیم در این F_1 به شکل نرمال بود (شکل O-۱ تا P). رفتار کروموزوم‌ها در ارقام والدینی بومی کرمان (شکل A-۱ تا D) و گونه آرپورئوم (شکل E-۱ تا H) نیز بررسی شد. همان‌طور که انتظار می‌رفت همه مراحل تقسیم، نرمال بوده و کروموزوم‌ها ناهنجاری از خود نشان ندادند.

نتایج مربوط به مطالعات رفتار کروموزومی در هیبریدهای F_1 نشان دادند که کوادری‌والان‌ها در

فراوانی اندک در بین نتایج مشاهده می‌شود (Harati and Vafaie-Tabar, 2013). وجود کوادری‌والان در مرحلهٔ متافاز ۱، پل کروموزومی را بین دو قطب در مرحلهٔ متافاز ۲ تشکیل داد (شکل ۲-F) که کشیدگی کروموزومی را در آنافاز ۱ موجب شد. این کشیدگی گاهی تا مرحلهٔ متافاز ۲ باقی می‌ماند.

در همهٔ سلول‌های بررسی شده، ۸٪ از سلول‌های متافاز ۲، رشته‌های دوک در دو جهت متفاوت در سلول در حال تقسیم، جهت‌گیری کرده بودند (شکل ۲-P) که این حالت باعث می‌شود در مرحلهٔ آنافاز ۲، کروماتیدها در دو جهت متفاوت از هم جدا شوند (شکل ۲-R). البته این حالت، ناهنجاری به شمار نمی‌رود زیرا در نهایت تشکیل تترادهایی را باعث می‌شود که قطب‌های آن در جهات مختلف در سلول قرار گرفته‌اند. این حالت قبلاً در دورگ‌های بین‌گونه‌ای، حدوداً ۱۰ تا ۱۲٪ گزارش شده است (Harati and Vafaie-Tabar, 2013). در تعدادی از سلول‌های بررسی شده در مراحل متافاز و آنافاز به جای دو دسته تعداد سه یا چهار دسته کروموزوم (با فراوانی ۹٪) در امتداد سه یا چهار دسته رشتهٔ دوک تشکیل شد که معمولاً در دسته‌های سوم و چهارم تعداد کروموزوم‌ها اندک بودند (شکل ۲-L تا O). این حالت در مراحل بعدی میوز، ناهنجاری ایجاد خواهد کرد. چنین حالتی قبلاً در F_1 های تریپلوئید پنبه، به دست آمده از تلاقی گونهٔ تتراپلوئید هیرستوم با گونهٔ دیپلوئید آربورنوم گزارش شده است (Vafaie-Tabar and Chandrashekar, 2007). چند دستگی کروموزوم‌های در حال تقسیم و جهت‌گیری متفاوت رشته‌های دوکی آن‌ها سبب می‌شود که به جای تتراد

متافاز ۱ با فراوانی نسبتاً زیاد درهیرید حاصل از تلاقی‌های یادشده تشکیل می‌شوند (شکل ۱-K). در این باره گزارش شده است که اختلاف کلی در دو ژنوم هرپاستوم و آربورنوم در وجود جابه‌جایی قطعات کروموزومی بین دو کروموزوم شماره ۱ و ۲ است که در گونهٔ آربورنوم اتفاق افتاده است. این مسئله حضور کوادری‌والان را در نسل اول حاصل از تلاقی بین دو گونهٔ یادشده سبب می‌شود (Menzel and Brown, 1953). همچنین در مرحلهٔ متافاز ۲، کروموزوم‌های سرگردان دیده شدند (شکل ۱-M). این حالت سبب خواهد شد که برخی از گرده‌های تولیدشده، از نظر تعداد کامل کروموزومی ناقص باشند. این نقص‌های کروموزومی به شکل ناهنجاری‌هایی در نسل‌های آینده ظهور پیدا خواهد کرد (Vafaie-Tabar and Chandrashekar, 2007).

بررسی رفتار کروموزوم‌ها در جمعیت‌های

حاصل از نتایج تلاقی برگشتی چهارم آربورنوم × بومی کرمان: در جمعیت‌های حاصل از نتایج تلاقی برگشتی چهارم آربورنوم × بومی کرمان تعداد ۱۰ بوته که در دو ردیف ۱۰ متری کشت شده بودند از نظر رفتار میوزی بررسی شدند (شکل ۲-A تا V). نتایج نشان داد که ۲ بوته از این ۱۰ بوته، میوز نرمال داشتند و ۸ بوته، ناهنجاری‌هایی در رفتار کروموزوم‌ها در مراحل میوز از خود نشان دادند. در دو بوته از این ۸ بوته در مرحلهٔ متافاز ۱ حدوداً در ۵٪ از سلول‌های بررسی شده، یک کوادری‌والان دیده شد (شکل ۲-C و D). کوادری‌والان‌های مشاهده‌شده به شکل مجاور بودند. قبلاً نیز گزارش شده است که این کوادری‌والان‌ها حتی پس از چهار نسل تلاقی برگشتی با گونهٔ هرپاستوم، با

صفات ظاهری بوته‌ها: صفاتی از قبیل شکل گل، برگ، کاسبرگ، براکته و قوزه در رقم بومی کرمان (شکل ۳-D تا F)، گونه آربورئوم (شکل ۳-A تا C)، هیبرید حاصل از این دو گونه و جمعیت‌های حاصل از تلاقی برگشتی چهارم آن‌ها بررسی شد (شکل ۳-P تا U). بر اساس نتایج به دست آمده، شکل برگ و براکته هیبرید F1 (شکل ۳-H و I) حد واسط و اندکی متمایل به والد آربورئوم (شکل ۳-A تا C) بود. همان‌طور که در شکل (۳-G) نشان داده شده است شکل ظاهری و سطح خارجی قوزه هیبرید نیز حدواسط بین دو والد بود. به علت وجود ناهنجاری‌های حاصل از اضافه یا کم شدن قطعات کروموزومی در مراحل تولید گرده در نسل F1، در تلاقی برگشتی اول، بین نتایج، حالت‌های غیرنرمال از نظر شکل ظاهری بوته به ویژه در اندام‌های زایشی پدید می‌آید. در این نسل، رشد بیش از حد کلاله، خوشه‌ای شدن آن را در برخی از گل‌ها سبب می‌شود. همچنین گاهی گل‌ها به شکل دوقلو ظاهر می‌شوند (Harati and Vafaie-Tabar, 2013).

در نتایج حاصل از تلاقی برگشتی چهارم بومی کرمان با آربورئوم، سطح روی قوزه‌ها به شکل صاف (مانند گونه هرباسئوم)، با نقاط اندکی فرورفته (متمایل به سمت گونه آربورئوم) و با ۴ یا ۵ لژ دیده شد. برگ‌ها به شکل والدینی و بیشتر به شکل والد آربورئوم بودند. وضعیت دندان‌های لبه براکته‌ها حالت بینابینی دو گونه را داشت. براکته‌ها به شکل والد هرباسئوم و گاهی بین دو گونه قرار داشتند (شکل ۲-P تا U). با توجه به تلاقی‌های برگشتی متوالی، به وضوح دیده شد که صفات ظاهری بوته‌ها کاملاً به سمت گونه هرباسئوم متمایل داشتند و تنها، صفاتی محدود از گونه

(شکل ۲-S، T و V) حالاتی مانند هگزاد یا بیشتر تولید شود (شکل ۲-U). این حالت در تریپلوئید حاصل از تلاقی گونه هیرستوم (تتراپلوئید) با گونه آربورئوم (دیپلوئید) گزارش شده است (Vafaie-Tabar and Chandrashekar, 2007; Harati and Vafaie-Tabar, 2013)؛ بدیهی است که در این وضعیت‌ها گرده تولید شده از نظر تعداد کروموزوم ناقص خواهد بود.

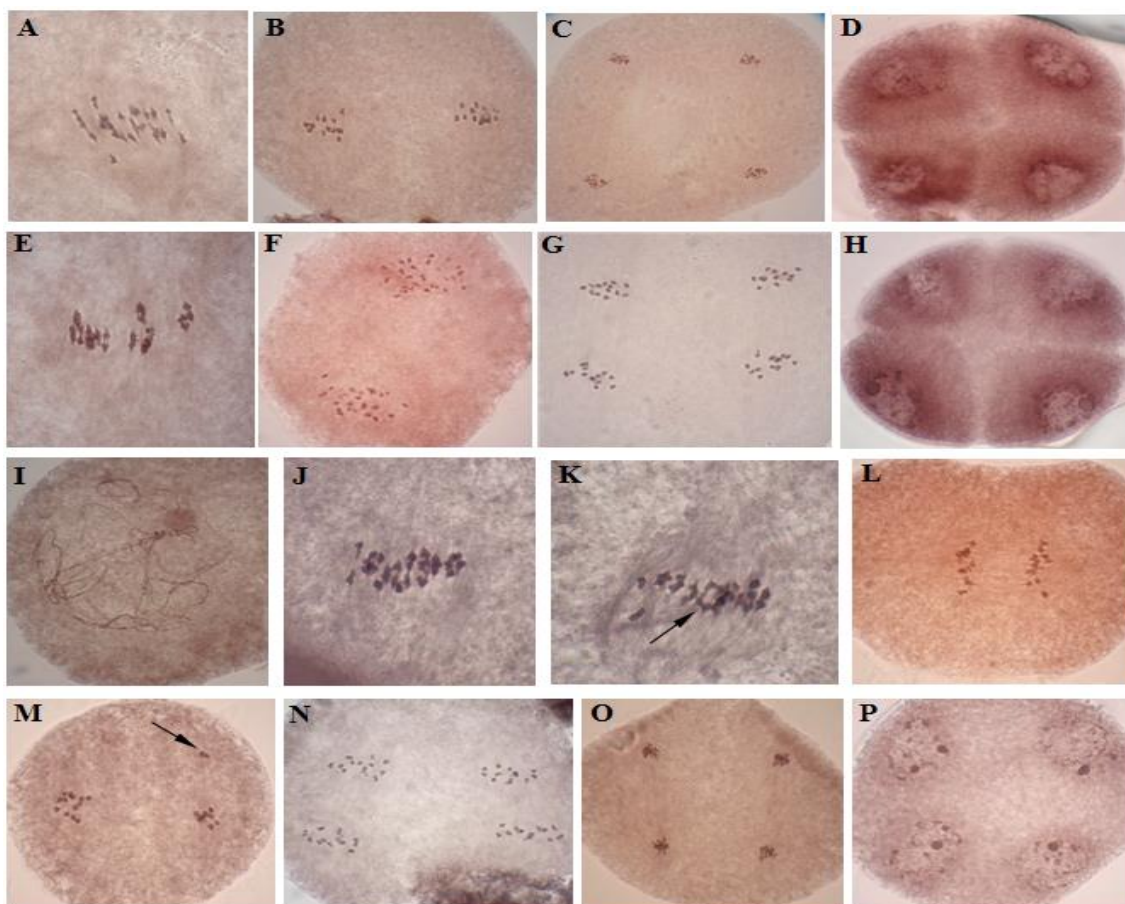
در ۱۰٪ از سلول‌های بررسی شده در مرحله آنافاز ۱، تعداد اندکی کروموزوم به شکل سرگردان مشاهده شدند که با دسته‌های اصلی کروموزوم‌ها همراه نبودند و در حرکت خود تاخیر داشتند (شکل ۲-G تا K). وجود کروموزوم‌های سرگردان و پل‌های کروموزومی به تعداد اندک شاید سبب خواهد شد که در نسل آینده، برخی از نتایج، فاقد یک کروموزوم یا قطعه‌ای از کروموزوم شود و با جستجوی دقیق‌تر در نتایج، به پایه‌های ژنتیکی متنوعی خواهیم رسید. بدیهی است که وجود ناهنجاری‌هایی مانند تشکیل کوادری‌والان‌ها، یونی‌والان‌ها یا عدم تفرق طبیعی کروماتیدها در آنافاز ۲، از بین رفتن و فقدان برخی صفات را در لاین‌های مد نظر در نسل‌های آینده سبب خواهد شد و پروژه تولید لاین‌های مناسب را با شکست مواجه خواهد کرد. برعکس، نبود ناهنجاری سبب می‌شود که صفات منتقل شده از گونه دیگر در نتایج به دست آمده تثبیت شود و در نسل‌های آینده از دست نرود. شرایط ایجاد شده در بوته‌های یاد شده، فرصت خوبی برای تولید لاین‌های ژنتیکی با یک یا دو کروموزوم اضافه یا کمبود و تولید آنیوپلوئید از آن‌ها فراهم خواهد کرد.

ویژگی‌های ظاهری بوته‌ها ایجاد کرده‌اند، انجام تلاقی‌های برگشتی متوالی، تثبیت بیشتر و کاهش این ناهنجاری‌ها را موجب شده است. از آنجا که اصلاح همه صفات به‌طور هم‌زمان و به‌ویژه با تلاقی‌های دور، در یک مرحله ممکن نیست، دسترسی به نتایج به‌دست‌آمده ممکن است بزرگ‌ترین گام در مراحل اولیه اصلاح ارقام بومی ایران باشد. همچنین بوته‌هایی که رفتارهای ناهنجار در مراحل میوز از خود نشان می‌دهند شاید بهترین منبع برای تولید پایه‌های سیتوژنتیکی باشند و در مطالعه و شناخت بیشتر صفات، پیوستگی و همچنین مکان‌یابی ژن‌ها استفاده شوند.

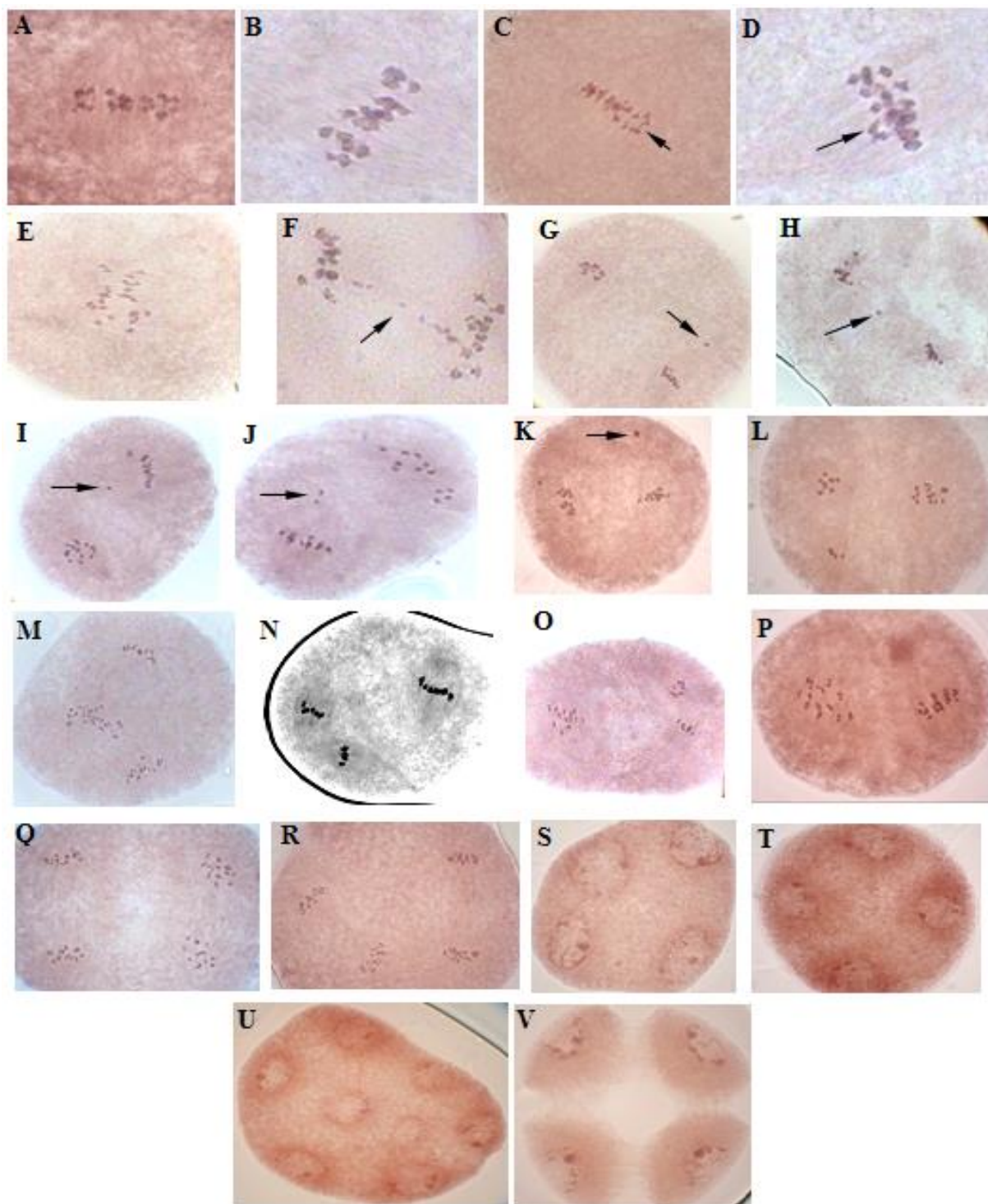
آربورنوم، در نتایج باقی مانده بودند. به‌طور کلی، ناهنجاری ویژه‌ای در صفات ظاهری بوته‌ها دیده نشد و بوته‌ها رشد رویشی و زایشی نرمالی داشتند.

جمع‌بندی

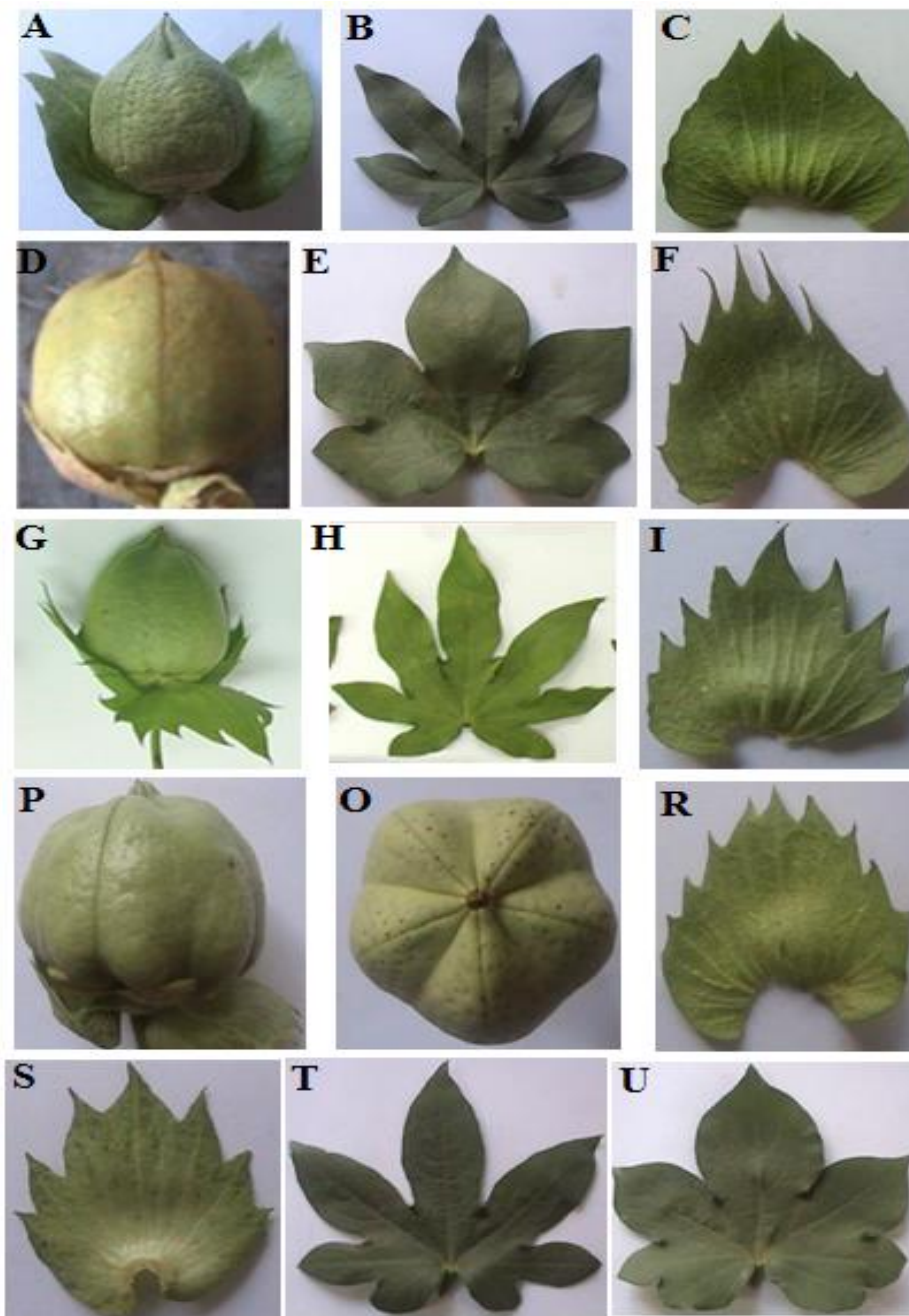
انتقال پایدار ژن‌های مربوط به کیفیت الیاف، به رقم‌های بومی ایران یکی از اهداف ارزشمند اصلاحی در برنامه‌های به‌نژادی تحقیقات پنبه در ایران است. اگرچه ناهنجاری‌های کروموزومی که از نسل اول تلاقی به‌سبب وجود کوادری والان بین کروموزوم‌های ۲ا و ۲ب وجود آمده‌اند، بی‌ثباتی و نواقصی را در



شکل ۱- مراحل مختلف میوز در بومی کرمان (A-D)، گونه آربورنوم (E-H) و F_1 تلاقی آربورنوم \times بومی کرمان (I-P). پیکان‌ها در K نشان‌دهنده کوادری‌والان و در M نشان‌دهنده جدا افتادن کروموزوم در متافاز ۲ است.



شکل ۲- مراحل مختلف میوز در جمعیت‌های حاصل از نتاج تلاقی برگشتی چهارم آبرورثوم × بومی کرمان (A-V). پیکان‌ها در C و D نشان‌دهنده کوادری‌والان، در F نشان‌دهنده کشیدگی کروموزوم‌ها و در G، H، I، J و K نشان‌دهنده کروموزوم سرگردان هستند. آرایش چنددستگی کروموزوم‌ها در L، M، N و O در مرحله متافاز ۲ مشاهده می‌شود. وجود اکتاد به جای تتراد در مرحله نهایی میوز در U نشان داده شده است.



شکل ۳- شکل قوزه، برگ و براکته در والد آرבורتوم (A-C)، شکل قوزه، برگ و براکته در والد هرباستوم (D-F)، شکل قوزه، برگ و براکته در F₁ تلاقی هرباستوم × آرבורتوم (G-I)، شکل قوزه، برگ و براکته در نتاج تلاقی برگشتی چهارم بومی کرمان (P-U).

سپاسگزاری

تهران برای همکاری در انجام تحقیق حاضر و در اختیار قراردادن لوازم آزمایشگاهی، صمیمانه تشکر می‌نمایند.

نگارندگان از بخش تحقیقات پنبه و گیاهان لیفی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان

منابع

- Brown, H. B. and Ware, J. O. (1958) Cotton. 3rd edition, McGraw-Hill Book Company, Inc, New York.
- Brown, M. S., Menzel, M. Y., Hasankampf, C. A. and Naqi, S. (1981) Chromosome configurations and orientation in 58 heterozygous translocations in *G. hirsutum*. Journal of Heredity 72: 161-168.
- Endrizzi, J. E., Ray, D. T. and Gathman, A. C. (1983) Centromer orientation of quadrivalents of heterozygous translocations and an autopoloid of *G. hirsutum*. Genetics 105: 723-731.
- Harati, Z., Vafaie-Tabar, M. and KhosrowShahli, M. (2011) Study chromosomal behaviors and Morphology traits of back-crossed genotypes derived from Iranian endemic cotton cultivars Aria and Bandarabas with *Arboreum* species hybrids. Iranian Journal of Plant Biology 8(3): 77-90 (in Persian).
- Harati, Z. and Vafaie-Tabar, M. (2013) Cyto-Genetic evaluation of back crossed genotypes derived from Iranian endemic cottons with *Arboreum* species. Journal of Applied Crop Breeding 1(1): 51-58 (in Persian).
- Kohel, R. J. and Lewise, C. F. (1984) Cotton. American society of Agronomy Press, Wisconsin.
- Menzel, M. Y. and Brown, M. S. (1953) The tolerance of *Gossypium hirsutum* for deficiencies and duplications. The American Naturalist 843: 407-418.
- Menzel, M. Y., Hasenkampf, C. A., Dougherty, B. J., Richmond, K. L. and Campbell, L. B. (1986) Characteristics of duplicate and deficiencies from chromosome translocation in *G. hirsutum*. Journal of Heredity 77: 189-201.
- Sheidaie, M., Vojdani, P. and Alishah, O. (1996) Karyological studies in *G. herbaceum* cultivars of Iran. Cytologia 61: 365-374.
- Skovsted, A. (1933) Cytological studies in cotton. I. The mitosis and meiosis in diploid and triploid Asiatic cotton. Annals of Botany 47: 227-231.
- Skovsted, A. (1934) Cytological studies in cotton. II. Two interspecific hybrids between Asiatic and New world cottons. Journal of Genetics 28: 407-424.
- 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.
- Wendel, J. F. and Grover, C. E. (2015) Taxonomy and evolution of the cotton genus, *Gossypium*, In: Cotton (Eds. Fang, D. D. and Percy, R. G.) 1-19. American Society of Agronomy Press, Wisconsin.

