بررسی فاکتورهای مختلف در تولید گندم هاپلوئید ازطریق تلاقی با ذرت

سیدمحسن حسام زاده حجازی ،حسن زینالی و ابوالقاسم حسن پور

بترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد دانشگاه تربیت مدرس، استادیار گروه زراعت دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران و عضو هیات علمی مؤسسه تحقیقات کشاورزی فارس .

تاریخ پذیرش مقاله ۷۶/۱۱/۸

خلاصه

۱۸ واریته گندم نان (Triticum aestivum L. 2n=6x=42) به عنوان والد مادری با ۱۱ ژنوتیپ ذرت (Zea mays L. 2n=2x=20) به عنوان والد پدری (دهنده گرده)تلاقی یافتند تا چگونگی تولید گیاه گندم هاپلوئید با استفاده از ۵ محیط کشت جامد مورد بررسی قرار گیرد . ژنوتیپ های گندم در گلخانه و مزرعه و ژنوتیپ‌های ذرت در گلخانه در شرایط ۱۸ تا ۲۵ درجه سانتی گراد و نیز در مزرعه کشت گردیدند . در این تحقیق اثر عوامل محیطی (دماو نور) بر رویش ورشد لوله گرده ذرت و نیز اثر مواد مکمل مانند عصاره مالت [1] و عصاره مخمر [2] با غلظتهای ۱۰۰و ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر برای کشت جنین ها وافزایش راندمان تولید گیاه هاپلوئید بررسی گردید. نتایج حاصل از اثر کولتیوارهای گندم و ژنوتیپ های ذرت در تشکیل جنین و بذر هاپلوئید در کولتیوارهای گندم نشان می دهد که قابلیت تلاقی کولتیوارهای گندم با توجه به نوع ژنوتیپ ذرت بکار رفته متفاوت است . از میان ۱۱ ژنوتیپ ذرت استفاده شده، ژنوتیپهای KSC 647 و KSC 64A ، هیچگونه سازگاری باگندم‌های مورد استفاده نشان ندادند و ۹ ژنوتیپ دیگراز ۱۱/۱۱ تا ۱۰۰ % دانه بندی [3] درگندم از خود نشان دادند . میزان فراوانی جنین بدست آمده از ۵% تا ۸۶/۶۷ متغیربود. نتایج بررسی اثر عوامل محیطی بر رویش و رشد لوله گرده نشان می دهد که استفاده ازگرده تازه ذرت در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد و وضعیت کلاله در زمان گرده افشانی (پرمانند) ، از فاکتورهای مهم در تولید گندم هاپلوئید می باشد. همچنین اثرموادمکمل مانند عصاره مالت و عصاره مخمربرای کشت جنین نشان می دهد که محیط کشت 1/2 MS به علاوه ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر عصاره مالت ، در مقایسه با سایر محیطهای کشت مورد استفاده ، باعث افزایش تشکیل گیاه هاپلوئید نرمال شده است و اثر تیمارهای پرتویی بر رشد لوله های گرده نشان می دهد که در مجموع اثر پرتوهای سبز ، قرمز ، آبی ، زرد و تاریکی در مقایسه با روشنایی نور سفید (شاهد) اختلاف معنی داری رانشان نمی دهد.

واژه های کلیدی :گندم، هاپلوئید ،ذرت ، تلاقی و کالوس

---

1 - Malt extract

2- Yeast extract

3- Seed set

مقدمه

اصلاح نباتات از طریق هاپلوئیدی ارزش بسیار زیادی برای محققین دارد ، زیرا این امکان را به ما می دهدکه بتوانیم لاین های کاملا هموزیگوس را در زمانی بسیار کوتاه بدست آوریم و بدین ترتیب دوره ۱۰ تا ۱۵ ساله ایجاد رقم زراعی را به چند سال (۸-۶ سال) تقلیل دهیم.تولید لاینهای خالص با استفاده از کشت بافت یا روش حذف کروموزومی، زمان بسیار کمی (۷ - ۸ ماه) ازاین دوره ۸ سال را به خود اختصاص می دهدو بخش عمده این‌دوره صرف‌ارزیابی لاینهای خالص برای صفات مورد نظربه همراه‌آزمایشات عملکردوتکثیرآن می‌شود.برای تولید هاپلوئید گندم دو روش مشخص و مختلف وجود دارد ، یکی روش کشت بساک و دیگری کشت جنین هاپلوئید نارس از طریق روش حذف کروموزومی (تلاقی گندم با هوردئوم بولبوزوم[1] یا سورگوم و ...) می باشد . فراوانی‌تولیدگندم هاپلوئیدازطریق‌کشت جنین هاپلوئید به مراتب بیشتراز تولید گندم نرمال هاپلوئیداز طریق کشت بساک است (۹،۱۲،۲۳ و ۲۴).استفاده‌ازروش حذف کروموزومی هوردئوم بولبوزوم (2n=4x=28) در تولید گیاه هاپلوئید به دلیل وجود ژنهای Kr1 و Kr2 روی کروموزومهای گندم، که قابلیت تلاقی را کنترل می‌کنند ، محدودیت وجود دارد ؛در حالی که این محدودیت در تلاقی ژنوتیپهای گندم با ذرت وجود ندارد (۱۵،۱۶،۱۷ و۱۸). تولید گیاهان هاپلوئید از طریق حذف کروموزومی توسط کاشا و کائو بطور اتفاقی در خلال کوششهائی‌که به منظور دورگ گیری گونه‌ای صورت گرفته کشف شده‌است(۱۱). آنهاگیاه جو هاپلوئید رااز هوردئوم‌ولگار[2] (2n=4x=28)که با هوردئوم بولبوزوم گرده‌افشانی شده بود،بدست آوردند.اساس تکنیک حذف کروموزومی بدین صورت است که پس از تلاقی بین گونه ها ، باروری حاصل شده و القاء زیگوت صورت می گیرد ، معذالک کروموزومهای پایه پدری در مراحل اولیه از سلولهای جنینی در حال رشد حذف می‌گردند . لازم به ذکر است که در مورد دورگ گیری بین هوردئوم ولگار و هوردئوم بولبوزوم ، زمانی که هوردئوم بولبوزوم به عنوان والد پدری ویا والد مادری باشد نتاج حاصل از تلاقی آنها رفتار اصلاحی و مورفولوژی هوردئوم ولگار را خواهند داشت (۵، ۱۱، ۱۳، ۱۴ و ۳۱) . علت حذف کروموزومی انتخابی هوردئوم‌بولبوزوم دلایل متعددی دارد یکی از دلایل ممکن است این باشد که دوره چرخه سوماتیک در هوردئوم بولبوزوم طویلتر از دوره چرخه سلول سوماتیک در هوردئوم ولگار است ، در نتیجه مشتقات چرخه کروموزوم هوردئوم بولبوزوم هماهنگ و همزمان با مشتقات چرخه کروموزومی در هوردئوم ولگارنمی باشد(۲ و ۳)یااینکه حذف کروموزومی هوردئوم بولبوزوم به وسیله ژنهای روی کروموزوم ۲و۳ ازهوردئوم ولگار کنترل می شود(۸).آندوسپرم ۲ تا ۵ روز رشد کرده و سپس از بین می رود لذا با توجه به اینکه تقسیم و رشد سلولهای جنین هاپلوئید کندتر از سلولهای دیپلوئید است ، این رشد کند که با از بین رفتن آندوسپرم همراه است منجر به تشکیل جنین کوچکی می شود که بایستی برای ادامه حیات از محل خود جدا شده و در محیط کشت مصنوعی پرورش یابد تا بتواند رشد خود را کامل نماید و جوانه بزند(۴). بیشترین هاپلوئیدتولیدی از این روش با استفاده از گندم بهاره چینی و هوردئوم بولبوزوم‌توسط بارکلی (۱ و ۲) زنکتلر واستراب (۳۳)بدست آمده‌است. اسنپ و چاپمن قابلیت تلاقی واریته های مختلف گندم نان را با هوردئوم بولبوزوم و چاودار از جنبه های مختلف مورد بررسی قرار دادند ، نتایج حاصله نشان می‌دهد که یک همبستگی مثبت قابل توجهی بین قابلیت تلاقی واریته‌های مختلف گندم نان با دو گونه هوردئوم بولبوزوم و چاودار وجود دارد . از میان ارقام مورد استفاده ، رقم گندم بهاره چینی قابلیت تلاقی بالائی با هر دو گونه از خود نشان داد ، آنها همچنین متوجه شدند که ارقام گندمی که قابلیت تلاقی با هوردئوم بولبوزوم نشان نداده‌اند حاوی دو کروموزوم به نامهای۵A و۵B به‌ترتیب حامل‌ژنهای Kr2 و Kr1 بودند که مانع از تلاقی آنها شده بودند(۲۷) ، این کروموزومها قبلا توسط ریلی و چاپمن شناسایی شده بودند (۲۵) . به هر حال اختلاف در قابلیت تلاقی بین واریته‌های گندم نان کاملا به واسطه این دو کروموزوم توجیه نمی شود و دیگر کروموزومها نیز در این قابلیت تلاقی مؤثر می باشند ؛ ولی آنچه مسلم است این است که لقاح گندم باهوردئوم بولبوزوم فقط به تعداد کمی‌کولتیواریا لاین محدود می‌شود(۲۷). شایان ذکر است که حداقل ۴ ژن تلاقی پذیر شناخته شده است.گندم بهاره چینی دارای ژنهای مغلوب kr1،kr2 و kr3 می‌باشد که در روی هومیولوگ کروموزوم ۵ قرارگرفته‌اند واین گندم توسط بسیاری از

1 - Hordeum bulbosum 2- Hordeum vulgare

دانشمندان به عنوان بهترین ژنوتیپ تلاقی پذیر در نظر گرفته شده‌است. در سال ۱۹۸۶ ین و همکاران و در سال ۱۹۹۲ لوئو و همکاران ژنوتیپهای جدیدی از گندم با تلاقی پذیری بالا را در سی چوان چین که منبع گندم معروف بهاره چینی است پیدا کردند ،این ژنوتیپهای جدید ، نژادهای بومی محلی بوده و یک مکان ژنی اضافی kr4 بر روی کروموزوم 1A دارند.حضور این ژن باعث تلاقی پذیری بیشتر این ژنوتیپها با چاودار در مقایسه با گندم بهاره چینی می شوند(۱۰).در سالهای ۱۹۸۶ تا ۱۹۸۸ تحقیقاتی در زمینه تولید گندم هاپلوئید از طریق تلاقی با ذرت به وسیله لوری و بنت صورت گرفت (۱۵،۱۶،۱۷ و ۱۸). آنها نتیجه گرفتند که جنین های هیبرید حاصل از تلاقی های گندم نان(پایه مادری) و ذرت (پایه پدری) به سرعت کروموزومهای ذرت خود را از دست داده و بدین ترتیب جنین های گندم هاپلوئید تولید می شوند ،دراین روش کروموزومهای 5A و 5B که به ترتیب حاوی ژنهای Kr2 و Kr1 هستند و قابلیت تلاقی را کنترل می کنند مانع از تلاقی گندم با ذرت نشدند و آ نها اظهار نمودند که در تلاقی ذرت با گندم ، پتانسیل تولید گندم هاپلوئید در بیش از ۳۳% گلچه ها وجود دارد. نقش ژنوتیپهای ذرت در جهت تولید گندم هاپلوئید توسط سواناگا و ناکاجیما بررسی شد ، نتایج حاصله نشان می دهد که ژنوتیپ ذرت در بدست آوردن جنین هاپلوئید بسیار مؤثر است (۲۹ و ۳۰)؛ بنابراین برای بدست آوردن بیشترین فراوانی در تولید گیاهان هاپلوئید ،لازم است که طیف وسیعی از ژنوتیپهای ذرت در تلاقی با گندم بررسی شوند و به دنبال ژنوتیپی از ذرت باشیم که باکولتیوارهای گندم سازگاری داشته باشد.

مواد و روشها

چگونگی تولید گیاه هاپلوئید از طریق تلاقی با ذرت با استفاده از ۱۸ واریته گندم نان به عنوان والد مادری و ۱۱ ژنوتیپ هیبرید ذرت به عنوان والد پدری (دهنده گرده) بررسی شد (جدول ۱). در این آزمایش از ۵ محیط کشت جامد که همه محیطهای کشت شامل ½ MS (Murashig & Skoog)(۲۲) و ۲ % جلرایت[1] ، بودند ولی در مواد مکمل مانند عصاره مخمر و عصاره مالت به میزان ۱۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر با هم اختلاف داشتند ، استفاده شد. در این فرایند ژنوتیپ های گندم در گلخانه و مزرعه و هیبریدهای ذرت در گلخانه در شرایط ۱۸ تا ۲۵ درجه سانتی گراد و نیز در مزرعه کشت گردیدند . اثرات دما ونور بر رویش و رشد لوله گرده در واریته های مختلف ذرت موردبررسی قرار گرفت ، برای این کار دانه های گرده از واریته های مختلف ذرت (ذرت دندانه ای ، ذرت شیرین وذرت آجیلی) برداشت شد ودر پتری دیش بر روی محیط کشت شامل ۲۰ % ساکارز ، ۰/۳ گرم نیترات کلسیم ، ۰/۱ گرم اسید بوریک و ۶ گرم آگار در یک لیتر آب مقطرکشت شدند، بلافاصله پس از کشت گرده ها ، پتری دیش ها تحت تیمارهای دمایی و پرتوی قرار گرفتند و رویش و رشد گرده ها مورد مطالعه قرار گرفت .به منظور ارزیابی میزان رویش ، در چهار میدان میکروسکوپ ، درصد رویش حدود ۲۰ دانه گرده تعیین و برای اندازه گیری میزان رشد ، طول ۲۰ لوله گرده اندازه گیری شد.تیمارهای دمایی شامل تیمار دمای ثابت و تیمار دمای ترکیبی بود که در تیمار دمای ثابت در مجموع ۹ درجه حرارت مختلف در محدوده ۰ تا ۴۰درجه سانتی گراد مورد بررسی قرار گرفت .از ژرمیناتور برای دماهای (۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ درجه سانتی گراد) و از انکوباتور برای دماهای ۳۰ و ۳۵ درجه سانتی گراد و از آون برای دمای ۴۰ درجه سانتی گراد و سرد خانه برای دمای ۰ درجه سانتی گراد جهت تیمارنمودن گرده ها استفاده شد. هر آزمایش در ۴ تکرار انجام شد . پس از گذشت ۳۰ ، ۶۰ و ۱۲۰ دقیقه از زمان تیمار نمودن به ترتیب دانه گرده از تیمار خارج شده وبه وسیله ۰/۲ میلی لیتر اسید استیک ۴۵% تثبیت شدند . در تیمار دمای ترکیبی، دمای ۲۵ درجه سانتی گراد را به عنوان شاهد و تاثیر دماهای دیگر (۰، ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۳۰، ۳۵ و ۴۰) درجه سانتی گراد بر روی پدیده رویش و رشدلوله گرده‌در این دما مورد بررسی قرار گرفت .در این حالت دو عدد پتری دیش حاوی دانه گرده انتخاب و اولین گروه پتری دیش را پس از ۳۰ دقیقه از دمای اولیه خارج وبه دمای ۲۵ درجه سانتی گراد انتقال داده شد،گروه دوم پتری دیش پس از تحمل ۶۰ دقیقه دمای اولیه به دمای ۲۵ درجه سانتی گرادانتقال داده شد . از آنجائیکه کل مدت آزمایش ۱۲۰ دقیقه در نظر گرفته شده بود در نتیجه گرده های گروه اول ۳۰ دقیقه در دمای اولیه و ۹۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد قرار گرفت و گرده های گروه دوم ۶۰ دقیقه در دمای اولیه و ۶۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد قرار

1 - Gelrite

گرفت ودر پایان آزمایش ، کلیه ظروف پتری دیش از دمای ۲۵ درجه سانتی گراد خارج و توسط ۰/۲ میلی لیتر اسید استیک ۴۵% تثبیت شدند.تیمارهای پرتوی شامل تیمار نور سفید (دو لامپ فلورسنت ۲۰وات در یک اتاقک چوبی به حجم یک متر مکعب) ، تیمار نور آبی (فیلتر آبی از جنس آکریلیک به ضخامت ۰/۲ میلی متر)،تیمار نور سبز (فیلتر آکریلیک به ضخامت ۰/۲ میلی متر)، تیمار نور زرد (Fe^{+3} + KSCN) و تیمار نور قرمز (فیلتر آکریلیک قرمز با ضخامت ۰/۲ میلی متر) به مدت ۱۲۰ دقیقه برای همه تیمارها دردمای ۲۵ درجه سانتی گراد بوده است .

روش اخته کردن ، تلقیح و نگهداری خوشه های گندم :

خوشه های گندم، یک تا دو روز قبل از پاره شدن بساکها به دو روش زیر اخته شدند :

۱) قرار دادن آنها در آب ۴۳ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه.

۲) خارج نمودن پرچمها از گلچه ها به وسیله دست.

زمانی که از روش دوم برای اخته کردن استفاده می‌شد، گلچه‌های وسطی نیز از بین برده می‌شدند. خوشه‌های اخته شده تحت دو روش برای ادامه انجام پروسه نگهداری شدند :

۱) خوشه‌ها همراه با دو برگ، از ساقه اصلی قطع شدند.

۲) خوشه‌ها از ساقه اصلی قطع نشدند و با کیسه‌های پلاستیکی پوشانیده شدند.

یک روز بعد از اخته شدن، گلچه‌های گندم با گرده‌های تازه جمع‌آوری شده از انواع مختلف ذرت، تحت دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، گرده افشانی شده وبا پاکت مخصوص پوشانیده شدند. برای نگهداری خوشه‌های گندم تلقیح یافته با گرده‌های ذرت جهت تولید بذر دو روش به کار گرفته شد :

۱) خوشه‌هایی که از ساقه قطع شده بودند،در محیط کشت مایع که شامل ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر(acid acetic 2,4-Dichlorophenoxy)، ۴۰ گرم در لیتر ساکارز، ۱۰ میلی‌لیتر بر لیتر اتانول و ۸ میلی‌لیتر بر لیتر اسیدسولفوروس بود، قرار گرفته و تحت شرایط ۲۴ درجه سانتی‌گراد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی، به مدت ۲ هفته نگهداری شدند.

۲) خوشه‌هایی که از ساقه گیاه قطع نشده بودند، بلافاصله بعد از گرده‌افشانی با گرده ذرت، در بالاترین گره آنها،از محلول ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر 2,4-D به میزان (۰/۵-۱) میلی‌لیتر جهت تزریق از طریق سرنگ استفاده شد و این عمل مجدداً روز بعد از گرده افشانی نیز تکرار گردید.

کشت جنین :

۱۴ روز بعد از گرده‌افشانی، بذور بدست آمده از تلاقی گندم با ذرت،از گلچه‌ها بیرون آورده شد و به ترتیب در هیپوکلریت سدیم ۲% به مدت ۵ دقیقه و اتانول ۷۵% به مدت ۱ دقیقه جهت ضدعفونی شدن، غوطه‌ور و سپس دو مرتبه با آب استریل شستشو داده شدند و جنین‌ها تحت شرایط استریل از بذور خارج شده و درظرف پتری حاوی محیط کشت، قرار گرفتند. پنج نوع محیط کشت جامد دراین آزمایش مورد استفاده قرار گرفت، که همه محیطهای کشت، شامل نصف مقدار نمک و ویتامین‌های محیط کشت MS-62 و ۲% جلرایت بودند؛ ولی در مواد مکمل با هم اختلاف داشتند، عصاره مخمر به میزان ۱۰۰یا ۱۰۰۰میلی گرم در لیتر و عصاره مالت به میزان ۱۰۰یا ۱۰۰۰ میلی گرم در لیتر به عنوان مواد مکمل مورد استفاده قرار گرفتند (۷). پس از کشت، جنین‌ها به طور تصادفی در هر یک از محیطهای کشت به مدت ۱۲ روز تحت شرایط ۲۵ درجه سانتی‌گراد درتاریکی قرار گرفتند که دراین مدت، جنین‌ها رشد نموده وشامل ریشه وساقه شدند و سپس تحت شرایط ۲۱ درجه سانتی‌گراد و ۱۲ ساعت دوره نوری قرار گرفتند. بعد از گذشت ۴۰ الی ۴۵ روز از کشت جنین‌ها، تعداد جنین‌ها با ساقه طبیعی ، ساقه شیشه ای ، تشکیل کالوس با ریشه و بدون ریشه و جنین‌های بدون رشد شمارش شدند.

مراحل دو برابرکردن و مراحل بعد از دو برابر کردن تعداد کروموزومها:

برای اطمینان از هاپلوئید بودن گیاهان بدست آمده از روش تلاقی گندم با ذرت اقدام به شمارش کروموزومی شد. شمارش کروموزوم‌ها برطبق مراحل زیر صورت گرفت (۲۶):

مرحله ۱) قطع ریشه ها به طول حدود ۲ سانتیمتر.

مرحله ۲) قرار دادن ریشه‌ها در کلشی‌سین (۲/۰میلی گرم) به مدت ۳ ساعت با آب یخ به مدت ۲۴ ساعت .

مرحله ۳) شستشو ریشه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه با آب معمولی شهری و سپس شستشو با آب مقطر (در صورت استفاده از کلشی‌سین).

مرحله ۴) خشک کردن ریشه‌ها به وسیله کاغذ صافی.

مرحله ۵) قرار دادن ریشه‌ها در اسیدالکل «1:1» (HCl و اتانول) به

مدت ۱ ساعت در دمای اتاق.

مرحله ٦) شستشو باآب معمولی به مدت ۵ دقیقه و سپس شستشو با آب مقطر.

مرحله ۷) خشک کردن ریشه‌ها به وسیله کاغذ صافی.

مرحله ۸) قرار دادن ریشه‌ها در ارسئین ۱٪.

مرحله ۹) انتقال هر نوک ریشه روی یک قطره از اسیداستیک ۴۵٪ روی اسلاید اسکواشینگ[1].

مرحله ۱۰) مشاهده میکروسکوپی.

سه تکنیک در مورد استفاده از کلشی‌سین در هاپلوئیدها جهت دو برابر کردن کروموزومها بکار گرفته می‌شود :

۱) خیساندن کالوس در محلول کلشی‌سین (۰/۰۱ % تا ۰/۰۴ %) به مدت ۷۲ ساعت قبل از انتقال به محیط کشت.

۲) خیساندن پنجه ها در شرایط استریل در محلول ۰/۲۵ % کلشی‌سین به مدت سه ساعت.

۳) گیاهانی که دارای تعداد زیادی (حداقل سه پنجه) می‌باشند قبل از طویل شدن آنها، ابتدا تمیز شده و ریشه‌ها بریده شدند و فقط حدود دو سانتیمتر از ریشه‌ها باقی ماندند و به وسیله خیساندن طوقه ها به مدت ۴ تا ۵ ساعت در محلولی که شامل کلشی‌سین (۰/۱ %)، DMSO(Dimethyl sulfoxide) (۲ %)، Tween-20 (۰/۳ میلی لیتر)، GA_3 (۱۰ میلی گرم در لیتر) و BAP (بنزیل آمینو پورین) (۱۰میلی گرم بر لیتر) بود در دمای ۲۳ درجه سانتی‌گراد، در روشنایی می‌توان ۷۵ تا ۹۰ % گیاهان تیمار شده را به نحوی که کروموزومهایشان دوبرابر شوند ایجاد کرد(۳۲).

زمانی که از کلشی‌سین ($C_{22}H_{25}O_6N$) استفاده می‌شود پدیده آندومیتوزی (پرش مرحله G_2 به G_1 بدون انجام تقسیم میتوز) که منجر به عدم جداشدن کروموزومهای دوبل شده می‌شود صورت می‌گیرد.

بعد از دوبرابر کردن کروموزومها مسأله نگهداری گیاه که ازاهمیت ویژه‌ای برخوردار است مطرح می شود. برای این منظور ، گیاهانی که کروموزوم‌های آن توسط کلشی‌سین دوبرابر شده است به گلخانه برای مدت ۱۵ روز انتقال داده می شوند و سپس جهت تأمین نیاز های سرمایی خود ، به محیطی با ۴ درجه سانتی‌گراد وبا ۸ ساعت روشنایی برای مدت ٦ هفته انتقال داده می شوند و سپس جهت زیاد شدن پنجه و تولید بذر به مدت ۸ تا ۱۲ هفته در محیطی با دمای (۴±۲۰)درجه سانتی گراد برای روز و(۳ ±۱٦) درجه سانتی گراد برای شب و ۱٦ ساعت روشنایی قرار گرفتند.

طرح آزمایشی و تجزیه داده‌ها:

برای بررسی‌اثرات دماوپرتوهای نوری‌ازآزمایش فاکتوریل با۴تکراراستفاده شده‌است که فاکتورهاعبارتنداز: ژنوتیپ ذرت با ۳ سطح ، دما با ۹ سطح وزمان با ۲ سطح .برای بررسی اثرات محیط کشت و کولتیوارهای گندم و اثرات متقابل آنها در تشکیل جنین ، ساقه ،کالوس و جنین بدون رشد از طرح آزمایشی کرتهای یکبار خرد شده با ۲تکرار که کرتهای اصلی آن محیطهای کشت و کرتهای فرعی آن را کولتیوارهای گندم تشکیل دادند ، استفاده گردید. ضمناًبرای بررسی اثرات کولتیوار گندم و ژنوتیپ های ذرت واثرات متقابل آنها در تشکیل جنین و بذر نیزاز طرح آزمایشی کرتهای یکبار خرد شده‌با ۲تکرار که کرتهای اصلی آن کولتیوارهای گندم و کرتهای فرعی آن را ژنوتیپ ذرت تشکیل دادند استفاده شد . جنین‌های کشت شده حداقل از ۴ خوشه گندم و معمولا" بیش از ۱۰ خوشه برای هر تکرار بدست آمدند . تجزیه واریانس پس از تبدیل کل داده‌ها به $\arcsin x^{1/2}$ انجام گرفت.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس درصد رویش دانه های گرده در تیمار دمای ثابت و دمای ترکیبی (جدول ۲ و ۳)نشان می‌دهد که اثرات تیمارهای دما اعم از دمای ثابت و دمای ترکیبی ؛ زمان ، ژنوتیپهای ذرت به همراه اثر متقابل آنها در رشد و رویش دانه های گرده در سطح ۱٪ معنی دار است .دردمای صفر درجه سانتی‌گراد، رویش دانه های گرده بسیار پائین و کمتر از ۱۰ درصد است. در دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد رویش فعال دانه‌های گرده آغاز می‌شود و با افزایش دما تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد بر درصد رویش دانه‌های گرده افزوده می‌شود،به طوری که در ۲۵ درجه سانتی‌گراد به بالاترین میزان می‌رسد (۴۵/۲ %). با افزایش دما به تدریج میزان رویش کاهش می‌یابد و در واریته ذرت دندان اسبی در ۴۰ درجه سانتی‌گرادمتوقف می‌شودودر دو واریته دیگر(ذرت شیرین و آجیلی) نیز کاهش چشمگیری مشاهده می‌شود. رشدلوله‌های گرده‌نیز وضعیت

1 - Squashing

مشابهی دارد و در دماهای پائین بسیار کم است و با افزایش دما تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد افزایش می‌یابد و سپس با افزایش دما تا ۴۰ درجه سانتی‌گراد به میزان قابل توجهی از رشد لوله‌های گرده کاسته می‌شود. تنشهای سرمایی و سپس انتقال گرده‌های در حال رشد به دمای مناسب موجب کاهش رویش و رشد گرده‌ها در مقایسه با شاهد(۲۵ درجه سانتی گراد) می‌شود(شکل ۱). واکنش رویش و رشد لوله‌های گرده در تنشهای گرمایی نیز به همین صورت است ولی تأثیر منفی تنشهای گرمایی بیشتر از سرماست. احتمال می‌رود که دمای بالا بر روی ساختمان درونی سلول تأثیر گذارد و باعث غیرفعال شدن عمل

جدول ۱ - والد پدری و مادری مورد استفاده در انجام تلاقی ها

والد پدری (Zea mays)			والدمادری(T.aestivum)	
ژنوتیپ ذرت	نام	مشخصات گندم	نام	
دابل کراس	DC 370	بدون ریشک ،بهاره	۴۸۲۰	
ذرت شیرین	$KSC401_{sw}$	ریشکدار	عطایی	
گروه‌دیررس	KSC711	ریشکدار ،پایزه،آبی	آزادی	
ذرت آجیلی	KSC 600pc	نیمه پایزه،بدون ریشک	آذر	
هیبریدگروه‌متوسط‌رس	KSC 604	ریشکدار،بهاره،آبی	بیات	
هیبریدازگروه‌دیررس	KSC 704	بهاره	بهاره،چینی	
طلوع -گروه‌زودرس	KSC 301	بدون ریشک	قدس	
هیبریدازکشورژاپن	B43xC164	ریشکدار	ابنیا	
امیدبخش-گروه‌خیلی‌زودرس	KSC 108	ریشکدار،پایزه،آبی	کرج ۱	
امیدبخش-گروه‌متوسط‌رس	KSC 647	ریشکدار،پایزه،آبی	کرج ۳	
هیبرید	SC 46A	از ژاپن	نورن ۶۱	
		ریشکدار،بهاره	ناز	
پایزه،ریشکدار			امید	
ریشکدار،پایزه،آبی ودیمی			رشید	
ریشکدار،بهاره			ریحانی	
بدون ریشک،بهاره			روشن	
ریشکدار،نیمه‌بهاره،نیمه‌پایزه			سفیدک	
ریشکدار،بهاره			شعله	

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس درصد رویش دانه های گرده در تیمار دمای ثابت

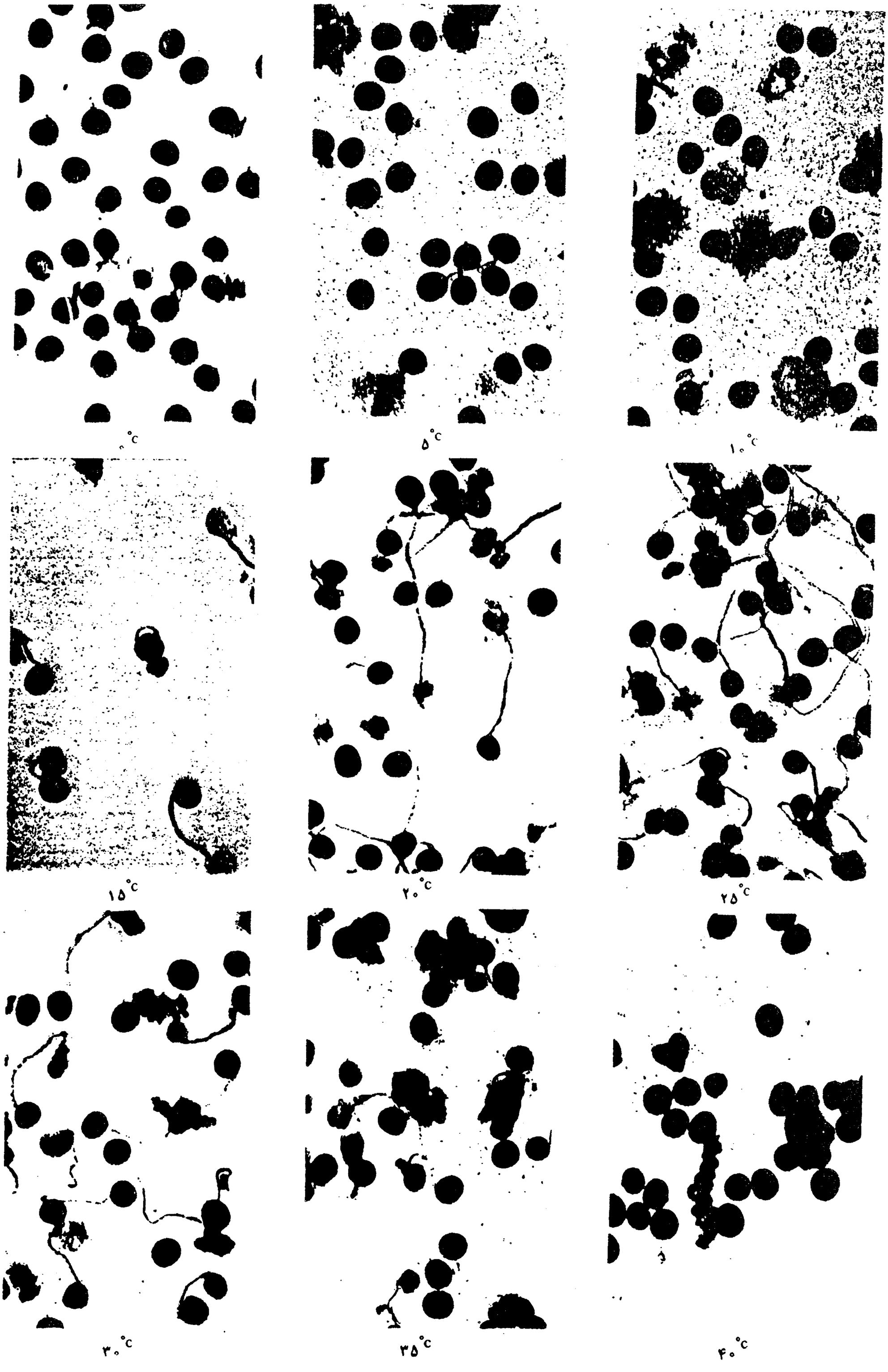
منابع تغییر	درجه آزادی	MS(میانگین‌مربعات) رویش دانه هاولوله گرده در دمای ثابت
تکرار	۳	-
ژنوتیپ ذرت	۲	۱۸۱۵/۷۱۳**
دما	۸	۵۰۴۹/۳۳۲**
زمان	۲	۱۹۴۶/۷۳۵**
ژنوتیپ × دما	۱۶	۶۵۱/۷۸۰**
ژنوتیپ × زمان	۴	۱۵۹/۳۷۸**
دما × زمان	۱۶	۱۲۶/۴۸۵**
ژنوتیپ×دما×زمان	۳۲	۳۹/۵۲۳**
خطا	۲۴۰	۰/۱۷۵
CV = %۱۴/۵		

**. در سطح ۱% معنی دار است .

جدول ۳ - نتایج تجزیه واریانس درصد رویش دانه های گرده در تیمار دمای ترکیبی

منابع تغییر	درجه آزادی	MS(میانگین مربعات) رویش دانه هاو لوله گرده دردمای ترکیبی
تکرار	۳	-
ژنوتیپ ذرت	۲	۲۷۴/۳۵۷**
دما	۸	۲۶۴۹/۳۶۵**
زمان	۱	۳۳۵۹/۴۹۶**
ژنوتیپ × دما	۱۶	۲۳۷/۴۳۲**
ژنوتیپ ×زمان	۲	۴۹/۱۹۸**
دما ×زمان	۸	۲۴۸/۶۷۹**
ژنوتیپ×دما×زمان	۱۶	۷۸/۶۸۴**
خطا	۱۵۹	۰/۴۳۲
CV = %۱۳/۴۷		

**. در سطح ۱% معنی دار است .



شکل ۱ - نمایش رویش و رشد لوله گرده در گرده های ذرت دندان اسبی در ۶۰ دقیقه تیمار دمای ثابت

آنزیم‌هاشود(٦)ودرتیمار ۱۲۰دقیقه‌رویش ورشدبطور معنی‌داری بیش از تیمار ٦۰ دقیقه‌ای، و افزایش رویش و رشد لوله‌های گرده در تیمار ٦۰ دقیقه‌ای نسبت به‌تیمار ۳۰دقیقه‌ای معنی‌داراست (جدول ۲).

نتایج حاصل از تیمار پرتوهای نوری بر روی رشد لوله های گرده نشان می‌دهد که در مجموع اثر پرتوهای سبز، قرمز، آبی، زرد و نیز تاریکی در مقایسه با روشنایی نور سفید (شاهد) اختلاف معنی‌داری در میزان رشد لوله‌های گرده ایجاد نمی‌کند (جدول ۴). در ذرت دندان اسبی رویش گرده‌ها در واکنش به نور آبی در مقایسه با شاهد کاهش می‌یابد، در ذرت آجیلی تأثیرکلیه پرتوها و نیز تاریکی مشابه روشنایی نور سفید(شاهد) بود(شکل ۲). در ذرت شیرین، رویش دانه‌های گرده تحت تأثیر پرتو قرمز به طور معنی‌داری بیشتر از شاهد بوده است. در هر سه واریته میزان رویش و رشد لوله‌های گرده در تاریکی و روشنایی تقریباً یکسان بوده است. عوامل مختلف محیطی بر سلامت گرده‌ها و حفظ یا از دست دادن توان رویش و بارورسازی آنها تأثیر به سزایی دارند. از جمله عوامل مؤثر برتشکیل، تکوین و سلامت گرده‌ها، دمای محیط است، پرتوهای نوری از دیگر عوامل محیطی است که بر فعالیتهای زیستی گیاهان تأثیر بسیار دارند. لازم به ذکر است که ژنوتیپهااز نظر واکنش به شرایط محیطی از جمله دما با یکدیگر متفاوت هستند و بعضی از آنها مقاومت بیشتری را نسبت به تنش های دمایی از خود نشان می‌دهند که نتایج ما نیز چنین تفاوتی را نشان می دهد (٦ و ۲۱).فراوانی تعداد گلچه های تلقیح یافته،تعدادبذور حاصل از گلچه های لقاح یافته با گرده‌های ذرت و فراوانی جنین بدست آمده از بذور درتمام تلاقی هادر(جدول ۵) نشان داده شده است . مطابق این جدول بدون درنظرگرفتن نوع گرده ذرت،درصد فراوانی بذور از ۱۰/۵۸ تا ۵٦/۰۲ % متغیر است و درصد فراوانی جنین حاصل از بذور از ۷/۵۵ تا ۳۰/۳۸% متغیر است. نتایج تجزیه واریانس نیز نشان می دهد که کولتیوارهای گندم و یا ذرت از نظر تشکیل بذور و جنین اختلاف معنی داری در سطح ۱ % دارند ،و اثر متقابل آنها نیز در سطح ۱% معنی دار است (جدول ۹) . فراوانی دانه‌بندی، برحسب نوع ژنوتیپ ذرت مورد استفاده در تلاقی باکولتیوار گندم از ۱۱/۱۱ تا ۱۰۰% متغیر است. همچنین فراوانی جنین بدست آمده از بذور بر حسب نوع ژنوتیپ ذرت به کار رفته در تلاقی با گندم از

جدول ۴ - نتایج تجزیه واریانس درصد رویش دانه های گرده در تیمار پرتوهای نوری

منبع تغییرات	درجه آزادی	رشدلوله‌های‌گرده
تکرار	۳	-
ژنوتیپ ذرت	۲	۲۳۲۹/۱۳۴**
پرتو	۵	۴۷/۲۷۹ns
ژنوتیپ‌ذرت×پرتو	۱۰	۱۷۷/۰۱۵*
خطا	۵۱	۷۸/٦۷۳
CV = ٪۱۷/۴۳		

*در سطح ۵% معنی دار است .

**در سطح ۱% معنی دار است . ns معنی دار نیست

جدول ۵ - فراوانی تعداد گلچه های تلقیح یافته ،تعداد بذور حاصل از گلچه های لقاح یافته وتعدادجنین بدست.آمده از بذور ،در تمام تلاقی ها

کولتیوار گندم	تعداد گلچه تلقیح یافته	٪فراوانی‌ایجاد بذر	٪ فراوانی جنین‌بذست آمده از بذور
ناز	۱۲۱۹	۱۹/۳٦	۱۷/۸۰
بیات	۲۲۲۵	۲۷/۳۷	۷/۵۵
آذر	۱۳٦۲	۱۵/٦۴	۲۱/۱۳
روشن	۲۵۹۲	۲۸/۹۴	۱۵/۲۰
امید	۱۰۰۲	۱۵/۷۷	۳۰/۳۸
کرج ۳	۱۲۳۰	۱۷/۴۰	۲۷/۱۰
کرج ۱	۱۵۸۸	۱۰/۵۸	۲٦/۷۸
سفیدک	۱۱۵۹	۱۵/۹٦	۲۴/۳۲
نورین ٦۱	۲۳٦۹	۵۳/٦۹	۲۰/۲۰
بهاره چینی	۱۸۱٦	۲۳/۲۹	۲٦/۴۸
ریحانی	۱۳٦۹	۵٦/۰۳	۸/۴۷
۴۸۲۰	۱۲۳۸	۲۳/۲٦	۱۳/۸۹
شعله	۱۱۱۲	۱۴/۳۰	۲٦/۴۲
رشید	۱۳۰۵	۲۹/۹٦	۱۲/۵۳
آزادی	۱۸۳۴	۳۸/٦۰	۱۰/۳۱
اینیا	٦۸۴۱	۴۲/۳۸	۹/٦۲
قدس	۲۹۰۸	۲۲/۱۱	۱٦/۹۵
عطایی	۲۴۹۴	۱۵/۷۲	۱۱/۴۸

جدول ٦ - فراوانی تعداد گلچه های تلقیح یافته ،تعداد بذور حاصل ازگلچه های لقاح یافته و تعداد جنین بدست آمده‌ازبذور،درتمام تلاقی های سازگار

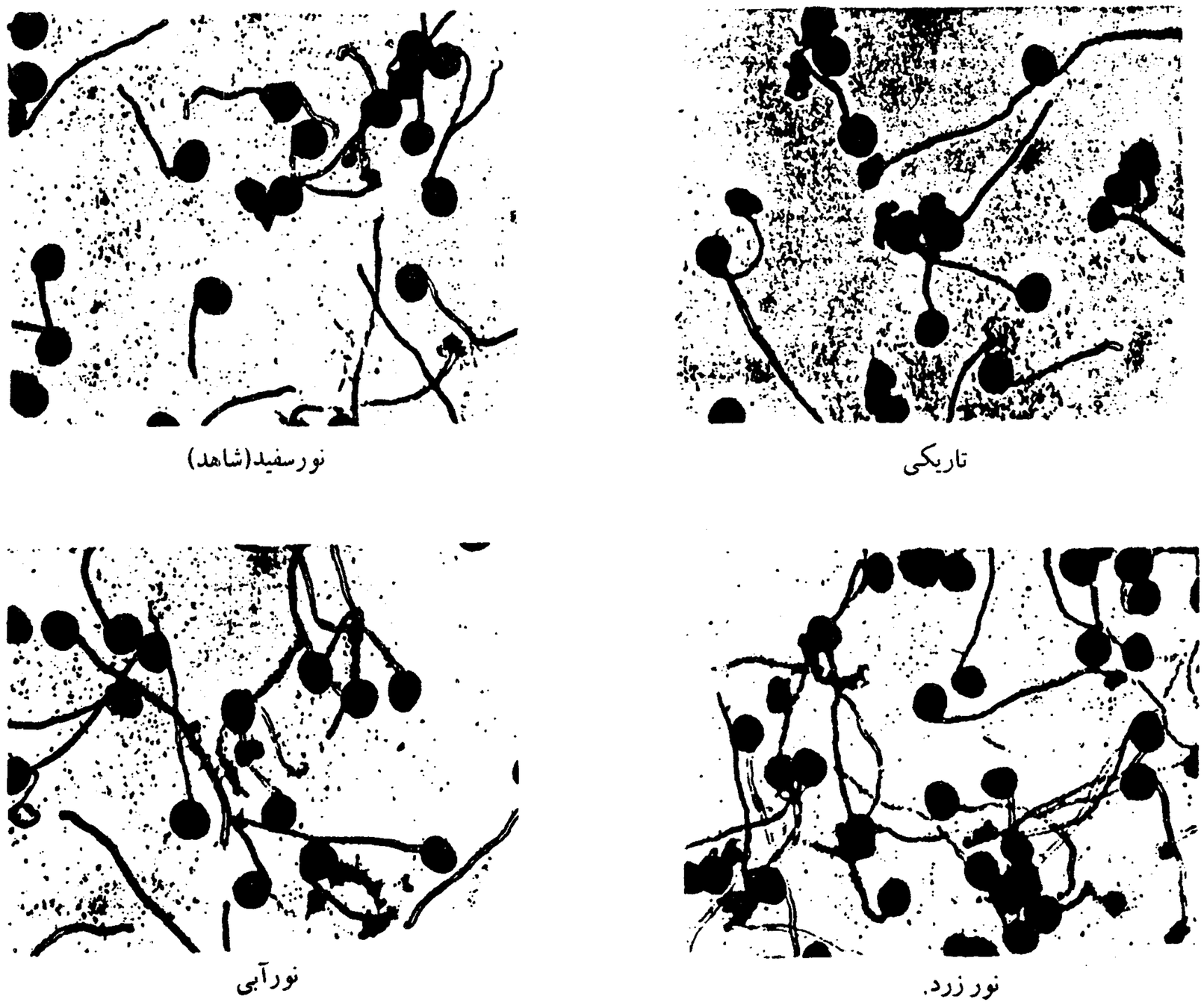
ژنوتیپ ذرت	کولتیوار گندم	تعداد گلچه تلقیح یافته	% فراوانی ایجاد بذر	% فراوانی جنین بدست آمده ازبذور
	ناز	۱۹۲	۸۸/۵۴	۲۴/۷۱
	آذر	۲۰۰	۳۵/۰۰	۲۵/۷۱
KSC 301	روشن	۱۷٦	۷٦/۱۴	۰۸/۹۵
	سفیدک	۹۰	۳۳/۳۳	۴٦/٦۷
	ریحانی	۱۴۰	۱۰۰/۰۰	۱٦/۴۳
	رشید	۱۸۴	۵۲/۱۷	۲٦/۰۴
	بیات	۲۷٦	۷۱/۰۱	۱۵/۳۱
DC 370	امید	۱۱۴	۸۵/۹٦	۳۵/۷۱
	اینیا	۸۳۷	۴۸/۹۸	۱۳/۹۰
	قدس	۷۵۲	۵۷/۹۸	۱۹/۹۵
	بیات	۲۰۰	۴۰/۰۰	۲۰/۰۰
	روشن	۸۵	۸۵/۸۸	۱۹/۱۸
	کرج ۳	٦۳	۳۱/۷۵	۸۰/۰۰
	کرج ۱	۱۱۰	۴۴/۵۴	۳۲/٦۵
B43xC164	نورن ٦۱	۱۳۴۲	۸۰/۰۳	۲۲/۹۹
	بهاره چینی	۵۱۹	٦۰/۱۲	۳۲/۰۵
	۴۸۲۰	۱۲۰	۳۲/۵۰	۲۵/٦۴
	شعله	۹۰	۱۱/۱۱	۵۰/۰۰
	آزادی	۸۲	۳۱/۷۰	۲۳/۰۸
	قدس	۱۴۰	۲۵/۷۱	۲۷/۷۸
	عطایی	۱۱۴	۴۳/۸٦	۲٦/۰۰
	آذر	۲۸۸	۳۴/۷۲	۲۷/۰۰
	روشن	۴۳۵	۹۱/۹۵	۲۲/۰۰
	کرج ۳	۱۸۳	۵٦/۲۸	۲٦/۲۱
KSC 108	ریحانی	۳۰۰	۷۲/۰۰	۱۵/۲۸
	۴۸۲۰	۱۱۸	۷۰/۳۴	۱۹/۲۸
	اینیا	۱۰٦۴	۷۷/۸۲	۲۲/۹۵
	قدس	۱۴۰	۵۷/۱۴	۱۵/۰۰
KSC 604	شعله	۱۱۰	٦۲/۷۳	۵۳/٦۲

ادامه جدول ٦ در ستون دوم ←

	امید	۹۸	۱۵/۳۱	۸٦/٦۷
	کرج ۳	۱۰٦	۲۹/۲۴	۴۸/۳۹
	کرج ۱	۹۳	۳۳/۳۳	۴۵/۱٦
KSC704	بهاره چینی	۹۳	۲٦/۸۸	۲۰/۰۰
	۴۸۲۰	۱۴۹	۳٦/۲۴	۲۵/۹۳
	رشید	۱٦۸	۸۸/٦۹	۱٦/۱۱
	آزادی	۳۵۰	۷۷/۱۴	۲۴/۸۱
	اینیا	۸۳۳	۸۹/٦۷	۰۳/۰۸
	عطایی	۴۱۳	۲۴/۷۰	۲۳/۵۳
	کرج ۱	۲۱۰	۱۴/۲۸	۵۰/۰۰
KSC 711	سفیدک	۱۱۰	٦۳/٦۴	۱۸/۵۷
	عطایی	۲۷۵	۳٦/۰۰	۸/۰۸
KSC401sw	نورن ٦۱	۸۹	۷۱/۹۱	۱۵/٦۳
401swKSC	بهاره چینی	۱٦۰	۱۹/۳۷	۲۲/۵۸
KSC 600pc	ریحانی	۱۳۸	٦۵/۲۲	۱۰/۰۰
600pcKSC	اینیا	۲۲۳	۸۰/۷۲	۵/۰۰

۵ تا ۸٦/٦۷% متغیر است(جدول ٦). درصد فراوانی تشکیل ساقه و کالوس با توجه به نوع کولتیوارهای گندم و محیط کشت در (جدول ۷)نشان داده شده است.طبق این جدول بیشترین فراوانی تشکیل ساقه نرمال مربوط به رقم سفیدک در محیط کشت D با ٦۲/۵ % می‌باشد.این‌رقم‌درمحیط کشت Bهیچگونه‌ساقه‌نرمالی‌تولید نکرد. تجزیه واریانس (جدول ۸) نشان داد که بین ارقام و محیط های کشت و اثر متقابل آنها اختلاف معنی داری از نظر فراوانی تشکیل ساقه نرمال وجود ندارد ولی از نظر فراوانی تشکیل ساقه شیشه‌ای و شفاف و همچنین ساقه کل (مجموع ساقه نرمال و شیشه ای) اختلاف معنی داری در سطح ۱ % وجود دارد. درتمام کولتیوارهای گندم مورد استفاده، فراوانی تشکیل ساقه کل در محیط کشت شامل عصاره مخمر به میزان ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر از بقیه محیطهای کشت بیشتر است.

فراوانی تشکیل ساقه کل در تمام کولتیوارها روی محیط کشت، مرکب از عصاره مالت با افزایش غلظت، کاهش می‌یابد.در محیط کشت همراه با ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر عصاره مالت فراوانی تشکیل ساقه های شیشه‌ای در بعضی از کولتیوارها خیلی کمتر از محیط کشت کنترل (شاهد) است ؛ ولی فراوانی تشکیل کالوس بسته به کولتیوار گندم‌نسبت به محیط کشت کنترل (شاهد) درحال نوسان است. بر طبق محاسبات آماری (جدول ۹) تشکیل جنین وتشکیل بذر در بین کولتیوارهای گندم در سطح ۱% معنی‌دار



شکل ۲ ـ تأثیر تیمارهای نوری بر رویش و رشد گرده های ذرت آجیلی

می‌باشد، لذا فراوانی تولید هاپلوئید گندم از واریته‌ای به واریته دیگر به طور معنی‌داری فرق می‌کند، همچنین تشکیل جنین وتولید بذر در بین ژنوتیپ های ذرت نیز در سطح ۱% معنی‌دار است؛ بنابراین فراوانی تولید هاپلوئید گندم نیز متأثر از نوع ژنوتیپ ذرت به کار رفته می‌باشد. میزان تولید گندم هاپلوئید و دابل هاپلوئید از طریق تلاقی با ژنوتیپ های مختلف ذرت به طور خلاصه در (جدول ۱۰) ذکر شده است.

اخته کردن گلچه ها با دست موثر تر از روش استفاده از آب گرم برای اخته کردن در جهت تولید بذور تلاقی یافته می باشد و همچنین استفاده از خوشه های قطع شده و استفاده از مایع کشت مخصوص خوشه های جدا شده ، عمل تولید هاپلوئید را سریعتر به پیش می برد .کاهش فراوانی ساقه هاپلوئید نرمال روی محیط کشت مرکب از عصاره مخمر به دنبال افزایش کالوس و ساقه شیشه ای صورت می پذیرد، همچنین با افزایش غلظت عصاره مالت از فراوانی ساقه نرمال کاسته شده و به فراوانی کالوس و ساقه شیشه ای افزوده می‌شود. محیط کشت مرکب از عصاره مالت به میزان ۱۰۰ میلی گرم

جدول ۷ - اثرمحیط کشت وکولتیوارگندم روی رشدونمو جنین هاپلوئیدگندم بعداز۴۵روز

محیط کشت	کولتیوار گندم	(%) تشکیل ساقه : کل	نرمال	شیشه ای	(%) تشکیل کالوس : کل	باریشه	بدون‌ریشه	جنین بدون رشد
A		۱۳/۹	۷/۷	۶/۲	۷۲/۳	۳۲/۳	۴۰/۰	۱۳/۸
B		۱۰/۸	۲/۷	۸/۱	۷۰/۲	۳۲/۴	۳۷/۸	۱۹/۰
C	نورن ۶۱	۰۹/۱	۲/۳	۶/۸	۷۹/۵	۲۹/۵	۵۰/۰	۱۱/۴
D		۱۷/۱	۷/۳	۹/۸	۶۸/۳	۴۳/۹	۲۴/۴	۱۴/۶
E		۰۹/۹	۲/۸	۷/۱	۷۴/۳	۳۴/۳	۴۰/۰	۱۵/۸
A		۵۳/۴	۱۶/۷	۳۶/۷	۳۳/۳	۲۰/۰	۱۳/۳	۱۳/۳
B		۱۶/۰	۰۸/۰	۰۸/۰	۷۲/۰	۲۴/۰	۴۸/۰	۱۲/۰
C	بهاره چینی	۲۷/۸	۱۱/۱	۱۶/۷	۵۰/۰	۰۰/۰	۵۰/۰	۲۲/۲
D		۴۶/۶	۳۳/۳	۱۳/۳	۴۶/۷	۲۶/۷	۲۰/۰	۰۶/۷
E		۳۲/۴	۰۸/۴	۲۵/۰	۴۵/۸	۲۰/۸	۲۵/۰	۲۰/۸
A		۵۵/۵	۲۲/۲	۳۳/۳	۴۴/۵	۳۳/۳	۱۱/۲	۵/۰
B		۲۵/۰	۱۲/۵	۱۲/۵	۶۲/۵	۲۵/۰	۳۷/۵	۱۲/۵
C	ناز	۳۷/۵	۱۲/۵	۲۵/۰	۶۲/۵	۱۲/۵	۵۰/۰	۰۰/۰
D		۶۶/۶	۴۴/۴	۲۲/۲	۲۲/۲	۱۱/۱	۱۱/۱	۱۱/۲
E		۵۰/۰	۱۲/۵	۳۷/۵	۳۷/۵	۲۵/۰	۱۲/۵	۱۲/۵
A		۶۲/۵	۲۵/۰	۳۷/۵	۳۷/۵	۲۵/۰	۱۲/۵	۰۰/۰
B		۳۳/۳	۱۱/۱	۲۲/۲	۵۵/۵	۳۳/۳	۲۲/۲	۱۱/۲
C	بیات	۳۷/۵	۱۲/۵	۲۵/۰	۶۲/۵	۲۵/۰	۳۷/۵	۰۰/۰
D		۷۰/۰	۴۰/۰	۳۰/۰	۲۰/۰	۲۰/۰	۰۰/۰	۱۰/۰
E		۵۴/۵	۰۹/۱	۴۵/۴	۴۵/۵	۲۷/۳	۱۸/۲	۰۰/۰
A		۴۲/۹	۲۸/۶	۱۴/۳	۴۲/۹	۲۸/۶	۱۴/۳	۱۴/۲
B		۲۵/۰	۱۲/۵	۱۲/۵	۶۲/۵	۳۷/۵	۲۵/۰	۱۲/۵
C	آذر	۳۰/۰	۱۰/۰	۲۰/۰	۵۰/۰	۱۰/۰	۴۰/۰	۲۰/۰
D		۵۰/۰	۳۳/۳	۱۶/۷	۵۰/۰	۳۳/۳	۱۶/۷	۰۰/۰
E		۵۰/۰	۱۲/۵	۳۷/۵	۳۷/۵	۲۵/۰	۱۲/۵	۱۲/۵

ادامه جدول ۷ -

محیط کشت	کولتیوار	تشکیل ساقه (%):			تشکیل کالوس (%):			جنین بدون رشد
	گندم	کل	نرمال	شیشه ای	کل	باریشه	بدون‌ریشه	
A		۳۵/۵	۱۷/۸	۳۵/۷	۳۹/۳	۲۱/۵	۱۷/۸	۰۷/۲
B		۱۸/۵	۰۷/۴	۱۱/۱	۷۷/۷	۴۰/۷	۳۷/۰	۰۳/۸
C	روشن	۲۶/۷	۰۶/۷	۲۰/۰	۵۳/۳	۱۳/۳	۴۰/۰	۲۰/۰
D		۵۰/۰	۳۳/۳	۱۶/۷	۵۰/۰	۲۷/۸	۲۲/۲	۰۰/۰
E		۵۷/۷	۱۱/۵	۴۶/۲	۴۲/۳	۲۳/۱	۱۹/۲	۰۰/۰
A		۵۵/۵	۲۲/۲	۳۳/۳	۳۳/۳	۳۳/۳	۰۰/۰	۱۱/۱
B		۳۳/۳	۱۱/۱	۲۲/۲	۵۵/۵	۲۲/۲	۳۳/۳	۱۱/۱
C	امید	۴۰/۰	۱۰/۰	۳۰/۰	۶۰/۰	۴۰/۰	۲۰/۰	۰۰/۰
D		۵۰/۰	۳۰/۰	۲۰/۰	۳۰/۰	۲۰/۰	۱۰/۰	۲۰/۰
E		۶۰/۰	۱۰/۰	۵۰/۰	۴۰/۰	۱۰/۰	۲۰/۰	۰۰/۰
A		۵۸/۳	۲۵/۰	۳۳/۳	۴۱/۷	۱۶/۷	۲۵/۰	۰۰/۰
B		۴۰/۰	۲۰/۰	۲۰/۰	۵۰/۰	۳۰/۰	۲۰/۰	۱۰/۰
C	کرج ۳	۲۳/۱	۰۷/۷	۱۵/۴	۶۹/۲	۱۵/۴	۵۳/۳	۰۷/۷
D		۵۸/۳	۳۳/۳	۲۵/۰	۴۱/۷	۱۶/۷	۲۵/۰	۰۰/۰
E		۶۳/۶	۱۸/۲	۴۵/۴	۳۶/۴	۱۸/۲	۱۸/۲	۰۰/۰
A		۴۲/۹	۲۸/۶	۱۴/۳	۴۲/۹	۲۸/۶	۱۴/۳	۱۴/۲
B		۳۷/۵	۱۲/۵	۲۵/۰	۶۲/۵	۲۵/۰	۳۷/۵	۰۰/۰
C	کرج ۱	۵۰/۰	۱۲/۵	۳۷/۵	۵۰/۰	۰۰/۰	۵۰/۰	۰۰/۰
D		۶۰/۰	۴۰/۰	۲۰/۰	۴۰/۰	۳۰/۰	۱۰/۰	۰۰/۰
E		۵۸/۴	۱۶/۷	۴۱/۷	۳۳/۴	۱۶/۷	۱۶/۷	۰۸/۲
A		۶۲/۵	۳۷/۵	۲۵/۰	۲۵/۰	۱۲/۵	۱۲/۵	۱۲/۵
B		۴۲/۸	۰۰/۰	۴۲/۸	۵۷/۲	۲۸/۶	۲۸/۶	۰۰/۰
C	سفیدک	۴۰/۰	۱۰/۰	۳۰/۰	۵۰/۰	۳۰/۰	۲۰/۰	۱۰/۰
D		۸۷/۵	۶۲/۵	۲۵/۰	۱۲/۵	۰۰/۰	۱۲/۵	۰۰/۰
E		۵۸/۴	۱۶/۷	۴۱/۷	۳۳/۳	۲۵/۰	۰۸/۳	۰۸/۳
A		۶۱/۵	۲۳/۰	۳۸/۵	۳۸/۵	۲۳/۰	۱۵/۵	۰۰/۰
B		۲۰/۰	۱۰/۰	۱۰/۰	۶۰/۰	۲۰/۰	۴۰/۰	۲۰/۰
C	ریحانی	۲۰/۰	۰۶/۷	۱۳/۳	۶۰/۰	۲۶/۷	۳۳/۳	۲۰/۰
D		۴۳/۷	۲۵/۰	۱۸/۷	۳۷/۵	۱۲/۵	۲۵/۰	۱۸/۰
E		۷۲/۷	۱۸/۲	۵۴/۵	۲۷/۳	۰۹/۱	۱۸/۲	۰۰/۰

ادامه جدول ۷ -

محیط کشت	کولتیوار	تشکیل ساقه (%): کل	نرمال	شیشه ای	تشکیل کالوس (%): کل	باریشه	بدون‌ریشه	جنین بدون رشد
A		۶۲/۵	۲۵/۰	۳۷/۵	۳۷/۵	۲۵/۰	۱۲/۵	۰۰/۰
B		۲۰/۰	۰۰/۰	۲۰/۰	۷۰/۰	۴۰/۰	۳۰/۰	۱۰/۰
C	۴۸۲۰	۵۷/۱	۱۴/۳	۴۲/۸	۲۸/۶	۲۸/۶	۰۰/۰	۱۴/۳
D		۶۲/۵	۳۷/۵	۲۵/۰	۲۵/۰	۱۲/۵	۱۲/۵	۱۲/۵
E		۷۱/۴	۱۴/۳	۵۷/۱	۲۸/۶	۰۰/۰	۲۸/۶	۰۰/۰
A		۳۷/۵	۱۲/۵	۲۵/۰	۵۰/۰	۲۵/۰	۲۵/۰	۱۲/۵
B		۲۲/۲	۰۰/۰	۲۲/۲	۷۷/۸	۴۴/۵	۳۳/۳	۰۰/۰
C	شعله	۲۵/۰	۰۰/۰	۲۵/۰	۷۵/۰	۶۲/۵	۱۲/۵	۰۰/۰
D		۵۰/۰	۳۰/۰	۲۰/۰	۵۰/۰	۲۰/۰	۳۰/۰	۰۰/۰
E		۸۵/۷	۲۸/۶	۵۷/۱	۱۴/۳	۱۴/۳	۰۰/۰	۰۰/۰
A		۵۰/۰	۲۰/۰	۳۰/۰	۴۰/۰	۲۰/۰	۲۰/۰	۱۰/۰
B		۳۳/۴	۱۱/۲	۲۲/۲	۶۶/۶	۲۲/۲	۴۴/۴	۰۰/۰
C	رشید	۴۰/۰	۱۰/۰	۳۰/۰	۵۰/۰	۲۰/۰	۳۰/۰	۱۰/۰
D		۵۰/۰	۳۳/۳	۱۶/۷	۵۰/۰	۳۳/۳	۱۶/۷	۰۰/۰
E		۷۵/۰	۲۵/۰	۵۰/۰	۲۵/۰	۲۵/۰	۰۰/۰	۰۰/۰
A		۳۵/۷	۲۱/۴	۱۴/۳	۴۲/۹	۱۴/۳	۲۸/۶	۲۱/۴
B		۲۵/۰	۰۶/۳	۱۸/۷	۵۶/۳	۳۱/۳	۲۵/۰	۱۸/۷
C	آزادی	۱۱/۱	۰۰/۰	۱۱/۱	۷۲/۲	۳۸/۹	۳۳/۳	۱۶/۷
D		۵۷/۲	۴۲/۹	۱۴/۳	۴۲/۸	۲۱/۴	۲۱/۴	۰۰/۰
E		۶۳/۶	۱۸/۲	۴۵/۴	۲۷/۳	۱۸/۲	۰۹/۱	۰۹/۱
A		۱۵/۰	۰۸/۳	۰۶/۷	۷۱/۶	۳۳/۳	۸۳/۳	۱۳/۴
B		۰۸/۵	۰۲/۱	۰۶/۴	۷۴/۵	۲۹/۸	۴۴/۷	۱۷/۰
C	اینیا	۰۷/۲	۰۱/۸	۰۵/۴	۸۵/۷	۳۵/۷	۵۰/۰	۱۷/۱
D		۱۶/۰	۰۸/۰	۰۸/۰	۸۰/۰	۴۴/۰	۳۶/۰	۰۴/۰
E		۱۲/۰	۰۳/۰	۰۹/۰	۸۵/۰	۴۴/۰	۴۱/۰	۰۳/۰

ادامه جدول ۷ -

محیط کشت	کولتیوار گندم	تشکیل ساقه (%): کل	نرمال	شیشه‌ای	تشکیل کالوس (%): کل	باریشه	بدون‌ریشه	جنین بدون رشد
A		۲۶/۷	۱۰/۰	۱۶/۷	۷۳/۳	۴۰/۰	۳۳/۳	۰۰/۰
B		۲۴/۰	۰۸/۰	۱۶/۰	۷۶/۰	۵۶/۰	۲۰/۰	۰۰/۰
C	قدس	۲۰/۰	۰۵/۰	۱۵/۰	۸۰/۰	۱۵/۰	۶۵/۰	۰۰/۰
D		۳۵/۰	۲۵/۰	۱۰/۰	۶۵/۰	۴۰/۰	۲۵/۰	۰۰/۰
E		۶۴/۳	۱۴/۳	۵۰/۰	۲۸/۶	۱۴/۳	۱۴/۳	۰۷/۱
A		۷۵/۰	۲۵/۰	۵۰/۰	۲۵/۰	۱۲/۵	۱۲/۵	۰۰/۰
B		۳۳/۳	۱۱/۱	۲۲/۲	۵۵/۵	۳۳/۳	۲۲/۲	۱۱/۲
C	عطایی	۳۳/۳	۱۱/۱	۲۲/۲	۵۵/۵	۲۲/۲	۳۳/۳	۱۱/۲
D		۵۰/۰	۳۰/۰	۲۰/۰	۴۰/۰	۲۰/۰	۲۰/۰	۱۰/۰
E		۶۶/۷	۱۱/۱	۵۵/۶	۳۳/۳	۲۲/۲	۱۱/۱	۰۰/۰

A = ½MS (شاهد) B = ½MS + Yeast Extract (YE) 100 mg/l

C = ½MS + Yeast Extract (YE) 1000 mg/l

D = ½MS + Malt Extract (ME) 100 mg/l

E = ½MS + Malt Extract (ME) 1000 mg/l

بر لیتر باعث افزایش تشکیل ساقه نرمال به دنبال کاهش تشکیل ساقه شیشه ای و عدم کاهش تشکیل کالوس می شود.اثر بیشتر عصاره مالت نسبت به عصاره مخمر در تولید گندم هاپلوئید طبیعی می باشد زیرا عصاره مالت شامل ترکیبات ضروری برای رشد جو نیز می باشد لذا برای رشد جنین های گندم هاپلوئید می تواند مؤثر باشد.فراوانی تولید گندم هاپلوئید با توجه به محاسبات آماری از واریته ای به واریته دیگر به طور معنی داری فرق می کند و همچنین فراوانی تولید گندم هاپلوئید نیز متأثر از نوع ژنوتیپ ذرت بکار رفته می باشد .

مطابق(جدول ۹)به‌علت معنی‌داربودن اثر متقابل ژنوتیپ‌های ذرت و کولتیوارهای گندم در سطح ۱% ، می توان نتیجه گرفت که در تولید هاپلوئید گندم به روش تلاقی با ذرت ، باید به دنبال ژنوتیپی از ذرت باشیم که با کولتیوارگندم سازگاری داشته باشد و بتواند ایجاد جنین هاپلوئید نماید ؛بنابراین در برنامه تولید گندم هاپلوئید ژنوتیپ ذرت نقش اساسی و مهمی را ایفا می کند .ژنوتیپ KSC 301 مناسبترین ژنوتیپ برای تولید بذر هاپلوئید برای گندم ریحانی و ژنوتیپ KSC 704 مناسبترین ژنوتیپ برای تولید جنین هاپلوئید برای گندم امید معرفی می شوند(جدول ۶).

با توجه به مطالب ذکر شده برای بکار بردن سیستم دابل هاپلوئید در اصلاح گندم همانگونه که سیچ واسنپ نیز به آن اشاره داشته اند(۲۸)سه معیار لازم و ضروری است که عبارتند از :

۱ -لاینهای دابل هاپلوئید بایستی به اندازه کافی از همه ژنوتیپها تولید شوند.

۲ -لاینهای دابل هاپلوئید بایستی یک نمونه تصادفی از گامتهای والدین را نشان دهند.

۳ -لاینهای دابل هاپلوئید بایستی به طور ژنتیکی نرمال و پایدار باشند.

بین سه سیستم تولید دابل هاپلوئید گندم که قبلاً به آن اشاره

جدول ۸ - خلاصه تجزیه واریانس محیط کشت و کولتیوار گندم از نظر تشکیل جنین، ساقه ، کالوس

منابع تغییر	درجه آزادی	MS: تشکیل جنین		MS: تشکیل ساقه			MS: تشکیل کالوس	
		تشکیل جنین	بدون‌رشد	کل[1]	نرمال	شیشه‌ای	کل[2]	باریشه	بدون ریشه
محیط کشت	۴		۳۶/۴۳ ns	۵۷۹/۲۵ **	۱۴۲/۹۹ ns	۶۷۰/۲۵ **	۴۷۲/۰۲ ns	۱۲۳/۶۹ ns	۴۱۸/۶۹ *
خطا	۵		۰۷/۶۳	۵۰/۹۹	۲۸/۶۱	۱۹/۱۵	۹۲/۵۵	۲۴/۶۴	۳۵/۵۸
کولتیوار گندم	۱۷	۱۸۵/۲۱ **	۰۶/۹۴ ns	۵۴۵/۶۳ **	۲۵/۴۳ ns	۳۳۲/۸۸ **	۵۹۸/۰۶ **	۴۱۰/۹۹ **	۲۳۷/۲۳ **
کولتیوارگندم× محیط کشت	۶۸		۰۵/۸۷ ns	۲۵۱/۸۴ **	۲۰/۶۹ ns	۱۲۷/۰۳ **	۸۸/۳۷ ns	۲۰/۷۵ ns	۳۰/۴۶ *
خطا	۸۵	۱۵/۴۳	۰۴/۰۳	۳۳/۱۷	۱۴/۶۱	۱۳/۳۲	۶۲/۲۳	۱۴/۹۳	۱۷/۸۳
CV_b		۱۵/۴۷	۱۹/۲۳	۱۴/۲۰	۱۸/۸۳	۱۲/۴۸	۱۷/۷۷	۱۳/۶۸	۱۵/۴۶

۱ - مجموع ساقه نرمال و ساقه شیشه ای ۲ - مجموع کالوس با ریشه و بدون ریشه * در سطح ۵٪ معنی دار است ** در سطح ۱٪ معنی دار است

جدول ۹ - نتایج تجزیه واریانس کولتیوار گندم و ژنوتیپ ذرت بر حسب تشکیل جنین وبذر

منابع تغییر	درجه آزادی	MS: تشکیل جنین	MS: تشکیل بذر
کولتیوار گندم	۱۷	۱۵۳/۹۱۵ **	۱۴۲۷/۰۶۲ **
خطا	۱۸	۲۹/۶۱۱	۲۶/۶۱۵
ژنوتیپ ذرت	۱۰	۲۱۵۲/۵۶۸ **	۳۳۹۲/۵۶۶ **
ژنوتیپ‌ذرت×کولتیوارگندم	۱۷۰	۳۵۶/۱۶۶ **	۶۶۶/۵۶۶ **
خطا	۱۸۰	۲۱/۹۱۳	۲۲/۴۷۸
$\%CV_b$		۱۷/۲۵	۱۵/۱۷

** در سطح % ۱ معنی‌داراست .

گردید ،سیستم تلاقی با ذرت ممکن است خیلی کمتر از سیستم کشت بساک و سیستم هوردئوم بولبوزوم وابستگی ژنوتیپی داشته باشد(۲۰).با توجه به اینکه سیستم تلاقی گندم با ذرت در مورد تمام واریته های گندم تولید جنین هاپلوئید می نماید ، لذا سیستم تلاقی با ذرت در ارتباط با اولین معیار اسنپ‌ممکن است بسیار امیدوار کننده باشد . ولی اطلاعات در مورد دومین و سومین معیار ذکر شده در بالا در مورد تولید لاین دابل هاپلوئید حاصل از سیستم تلاقی با ذرت بسیار محدود است .اخیراً لوری و اسنپ (۱۹)گزارش داده‌اند که اختلافات گامتو کلونال در لاین های دابل هاپلوئید حاصل از سیستم تلاقی با ذرت وجود دارد . برای بررسی اختلافات گامتو کلونال[1]

1 - Cameto Clonal

جدول ۱۰ - میزان تولید گندم هاپلوئید از طریق تلاقی با ژنوتیپ های مختلف ذرت

میانگین فراوانی در هر هفته		عملیات	هفته
گلچه	۱۰۰۰	تلاقی با ذرت	۰
جنین	۱۸۲	جداکردن جنین	۲
گیاهچه	۷۸(۴۲/۹٪)	انتقال گیاهچه ها به خاک	۶
هاپلوئید	۷۵(۹۶/۲٪)	استفاده از کلشی سین	۱۰
دابل هاپلوئید	۶۶(۸۸٪)	جداکردن بذر ها از دابل هاپلوئید ها	۲۶-۳۰

واریانس‌بین و درون لاینهای دابل هاپلوئید مورد بررسی قرار گرفته است . برای بکار بردن یک سیستم دابل هاپلوئید در اصلاح گندم اختلافات گامتو کلونال ممکن است وقفه اصلی را در سومین معیار ذکر شده در بالا را بگذارد .

در سیستم تلاقی با ذرت در جایی که اختلاف گامتو کلونال ممکن است رخ دهد ، سه مسأله ممکن است مورد بحث قرار گیرد :

۱ -تیمار نمودن با ماده 2,4-D

۲ -کشت in vitro

۳ -تیمار نمودن با کلشی سین جهت ایجاد دابل هاپلوئید.

با توجه به آزمایشهای متعدد ، وجود اختلاف گامتو کلونال بیشتر به واسطه تیمارنمودن با کلشی سین بوده است (۱۹).

REFERENCES

1. BARCLAY,I. R.,K.W. SHEPHERD & D. H. B. SPARROW 1972 . Control of chromosome elimination in Hordeum Vulgare- H.bulbosum hybrids. Barly Genet. Newsl. 2:22-24.
2. BARCLAY, I. R. , 1975. High frequencies of haploid production in wheat chromosome elimination. Nature (London) 256:410-411.
3. BENNET, M. D. 1976. The time rate and mechanism of chromosome elimination in H.hybrid. Chromosoma (Berl.) 54:175-200.
4. BHOJWANI , S. S. , M. K. RAZDAN 1983. Plant tissue culture . Theory & practice , Elsiver Scince Publishers B. V. pp. 1-200.
5. DAVIES , D. R. 1985. Male parthenogenesis in barley . Heredity 12:493- 498.
6. DUPVIS , I . 1992 . invitro polination , a new tool for analysing environmental stress international , Review of Cytology , 140:391-405.
7. HESSAMZADEH HEJAZI, S. M.,T. NAGAMINE ,T. YAMADA , 1993. Improvement of maize method for wheat haploid production . TBIC . (JAP.). 93-11 , part 3 .
8. HO, K. M. , K. J. KASHA 1975. Genetic control .of chromosome elimination during haploid formation in barely Genetics 81:263-275.
9. HUANG, B. , J. M. DUNWELL, W. POWELL 1984 . The relative efficiency of microspore culture and chromosome elimination as methods of haploid production in H.vulgare.Z.pflanzenzucht 92:22-29
10. JIANG , J., B. FRIEBE & B. S. GILL 1994 . Recent advances in alien gene transfer in wheat. Euphytica 73:199-212.
11. KASHA,K.J.,K. N. KAO 1970. High frequency haploid production in barley. Nature (Lond.) 225:874-876.

12.KISANA , N. S. , K. K. NKONGOLO 1993. Production of doubled haploids by anther culture & wheat x maize method in a wheat breeding program plant breeding 110:96-102.

13.LANGE , W. 1971. Crosses between H. vulgare & H. bulbosum , production, morphology & meiosis of hybrids, haploid & dihaploids , Euphytica 20:14-29.

14.LANGE , W.1971. Crosses between H.vulgare & H. bulbosum , elimination of chromosome in hybrid tissue.Euphytica 20:181-194.

15.LAURIE, D. A. & M. D. BENNETT 1986 . Wheat x maize hybridization. Can. J. Genet. Cytol 28:313-316.

16.LAURIE , D. A. & M. D. BENNETT 1987. The effect of crossability loci Kr1 & Kr2 on fertilization frequency in hexaploid wheat x maize crosses . Theor. Appl. Genet . 73:403-409.

17.LAURIE, D.A. & M. D. BENNETT, 1988. The production of haploid wheat plants from wheat X maize Crosses.Theor. Appl. Genet. 7:363-397.

18.LAURIE ,D. A.& M. D.BENNETT, 1988. Cytological evidence for fertilization in hexaploid wheat x sorghum crosses .Plant Breed. 100:73-82.

19.LAURIE , D . A. & J. W . SNAPE 1990. The agronomic performance of wheat doubled haploid lines derived from wheat x maize crosses. Theor. Appl. Genet. 79:813-816.

20.LAURIE,D. A. & S. REYMONDIE 1991 .High frequencies of fertilization between commerical hexaploid wheat varieties & maize . Plant Breed. 106:182-189.

21.LYAKH,V.A.,A. N.KRAVCHENKO,A.I.SOROKA & E. N. DRYCHINA 1991 .Effect of high temperature on mature pollen grains in wild & cultivated maize accessions.Euphytica 55:203- 207.

22.MURASHIGE,T.& T. SKOOG 1962 . A revised medium for rapid growth & bioassays with tobacco tissue culture. Physiol. Plant. 15:473-497.

23.OUYANG , TW , S . M .ZHOU , S .E JIA 1983 . The response of anther culture to cultivar temperature in Triticum- aestivum. Theor. appl. Genet. 66:101-109.

24.RILEY, R. 1974 . The status of haploid research . Guelph university.

25.RILEY,R . & V. CHAPMAN 1967.The inheritance in wheat of crossability with rye. Genet . Res . Camb .9:259-267 .

26.SHARMA , A. K. & A. SHARMA , 1983 . Chromosome techniques theory & practice . pp. 162-166.

27.SNAPE, J. W.,& V.CHAPMAN 1979 . The crossabilities of wheat varieties with H.bulbosum. Heredity 42 (3) , 291-298.

28.SITCH ,L . A . & J . W .SNAPE 1986.The influence of the H. bulbosum & the wheat genotype on haploid production in wheat. Z. pflanzenzucht 96:304-319.

29.SUENAGA , K . & K . NAKAJIMA 1989 . Efficient production of haploid wheat through crosses between japanese wheat & maize . Plant Cell Report 8:263 -266.

30.SUENAGA , K. & K. NAKAJIMA 1993 . Variation in doubled haploid plants of wheat obtained through wheat x maize . Plant Breeding 111:120- 124.

31.SYMKO , S., 1969.Haploid barely from crosses of H. bulbosum (2x)& H.vulgare (2X).Canad.J.Genet . Cytol. 11:602-608

32.THIEBAUT , J. K. J. KASHA & A. TSAI 1979 . Influence of plant development stage temperature & plant hormones on chromosome doubling of barely haploid using colchicine. Can. J. Bot .57:480-483.

33.ZENKTELER , M. & J. STRAUB 1979.Cytoembryological studies on the processes of fertilization & the development of haploid embryos of triticum aestivum L. (2n=42). Z . pflanzenzucht 82:36-44.

Iranian J. Agric. Sci. Vol. 29 No. 1 1998

Study of Different Factors in Wheat Haploid Production Through Crossing with Maize

S. M. HESAM ZADEH HEJAZI, H.ZEINALI AND A. HASAN POOR

former Graduate Student of Tarbiat Modarres University , Assistant Professor of College of Agriculture, Tehran University, and Faculty member of Agricultural Research Institute of Fars.

Accepted 28, Jan. 1998

SUMMARY

Eighteen wheat genotypes (Triticum aestivum L. 2n=6x=42) as female parents with eleven maize genotypes (Zea mayes L. 2n=2x=20) as male parents (pollen donor) were crossed in order to examine the production of haploid wheat by using , five solid culture media. Wheat and maize genotypes were grown in greenhouse and field and maize genotypes were grown in green house under 18-25^{oc} temperature and in the field.The effect of environmental factors on the growth and development of pollen tube of maize, the effect of supplemental materials such as yeast and malt extract concentrations on embryo culture and the efficiency of haploid plant production were examined in this study. The effects of wheat cultivars and maize genotypes on embryo formation and haploid seeds in wheat cultivars indicate that the crossability of wheat cultivars with regard to maize genotypes used are different. Among eleven genotypes of maize used, KSC 647 and KSC 64A genotypes did not show any compatibility with wheat but the compatibility of the other genotypes in terms of seed set ranged from 11.11 to 100% in wheat cultivars. The obtained embryo frequency varied from 5 to 86/67% . The results of the effect of environmental factors on the growth and development of pollen tube of maize showed that the use of pollen of maize in 25^{oc} temperature and the stigma feathery in wheat at the time of pollination are very important in production of haploid wheat. Also, the effect of supplemental materials such as malt and yeast extracts on embryo culture showed that culture medium of ½ MS + malt extract 100 mg/l compared to other used media has increased normal haploid plant formation. The effect of radiation treatments on the growth of pollen tubes indicates that overall effects of green, red, blue, yellow and dark radiation compared to white radiation (standard) were not significant.

Key Words: Wheat, Haploid , Maize, Cross & Callus