التحري عن السيطرة الوراثية في استحداث الكالس واخلاف ثلاثة اصناف من الحنطة الناعمة

شذى عايد يوسف ضياء بطرس يوسف

الملخص

استخدمت طريقة التحليل التبادلي الكامل **full diallel** لاستحداث الكالس واخلاف النباتات لثلاثة اصناف من الحنطة الناعمة (بابل**113**، العراق واور) معتمدة في الزراعة العراقية. ان الهدف من الدراسة هو تقدير قابلية الاتحاد العامة **GCA** والخاصة **SCA** والمتبادلة **RCA** لكل من النسبة المئوية لاستحداث الكالس من الاجنة البالغة واخلاف النباتات منه.

اوضحت النتائج ارجحية تاثير الجينات غير الاضافية للنسبة المئوية لاستحداث الكالس في حين كانت هناك ارجحية لتاثير الجينات الاضافية للنسبة المئوية لاخلاف النباتات. اما بالنسبة لقيم التوريث بالمعنى الواسع فكانت **0.98** و**0.87** لكل من النسبة المئوية لاستحداث الكالس واخلاف النباتات على التوالي، بينما انخفضت نسبة التوريث الضيق الى **0.03** لأن اغلب التباين الوراثي كان غير اضافي، وعلى العكس منه لصفة اخلاف النباتات، والتي مثل فيها التباين الاضافي اغلب التباين الوراثي.

المقدمة

استخدمت تقنية زراعة الانسجة في مجالات عديدة، وكان اكثرها شيوعا في الوقت الحاضر هو الاكثار المتجانس والسريع للنباتات، فضلا عن انتاج نباتات خالية من المسببات المرضية (**4**). يعد انتاج نباتات مقاومة للملوحة (**2**) من التطبيقات المهمة لهذه التقنية في تربية وتحسين النبات. وعليه، اصبح في متناول يد مربي النبات العديد من التقنيات التي تمت الاستفادة منها فعلياً في مجال تحسين النبات مثل تقنية زراعة الخلية والمتوك والاجنة سواء الناضجة منها وغير الناضجة. هناك زيادة في الادلة على ان للعوامل الوراثية مساهمة رئيسة في الاستجابة للزراعة النسيجية في محاصيل الحبوب، اذ اجريت دراسات عديدة لتحديد فعل الجينات التي تسيطر على الاستجابة للزراعة النسيجية عن طريق استخدام طريقة التحليل التبادلي **diallel** لتقدير قابلتي الاتحاد العامة والخاصة ومن ثم تحديد فعل الجينات الاضافية وغير الاضافية ودرجة السيادة وتقدير نسبة التوريث. لاحظ **Lazer** وجماعته (**18**) وجود تاثيرات اضافية تسيطر على استحداث الكالس من اجنة الحنطة واخلاف النباتات منه. اما في الذرة الصفراء فان استحداث الاجنة الجسمية واخلاف النباتات يكون تحت سيطرة جينات النواة وبشكل تاثيرات سيادية (**15**). لوحظ ان للتوريث تاثير ايجابي في اخلاف نباتات الحنطة، اذ وجد **De Buyser** وجماعته (**10**) ان اخلاف النباتات تسيطر عليها جينات قليلة ووجد ان تقديرات التوريث كانت بحدود **0.6** و **0.7** في استحداث الكالس واخلاف النباتات.

اجريت دراسات عديدة في العراق حول قابلية اصناف الحنطة في استحداث الكالس واخلاف النباتات منها الا ان هذه الدراسات لم تتطرق الى معرفة العوامل الوراثية التي تسيطر على تلك الصفتين. لذا، انصب هدف الدراسة في معرفة السلوك الوراثي وتقدير المعالم الوراثية بطريقة التهجين التبادلي بين التراكيب الوراثية لصفتي استحداث الكالس واخلاف النباتات وبالتالي امكانية الاستفادة من تلك المعلومات لمعرفة كفاءة استخدام الانتخاب والذي يخدم برامج التربية والتحسين.

وزارة العلوم والتكنولوجيا– بغداد، العراق.

المواد وطرائق العمل

تمت زراعة اصناف الحنطة الناعمة ***Triticum eastivum*** اور والعراق وبابل **113** في الحقل، والتي تم الحصول عليها من مركز تربية وتحسين النبات– وزارة العلوم والتكنولوجيا، في محطة تجارب دائرة البحوث الزراعية في الموسم الشتوي لعام **2001**. جرى التهجين التبادلي الكامل **full diallel cross** فيما بينها للحصول على بذور الجيل الاول F_1. زرعت بذور الهجن المتعاكسة وبذور آبائها في الموسم الشتوي **2002**، وبعد **20** يوماً من التلقيح زرعت الاجنة غير الناضجة في وسط **MS** (**20**) مجهز **2** ملغم **2,4-D** /لتر لاستحداث الكالس، اذ زرعت في اطباق بتري وبواقع **15** جنين/طبق. نقلت الزروعات الى حاضنة بدرجة حرارة **24**م وفي الظلام، وبعد شهر من الزراعة اخذت البيانات حول النسبة المئوية لاستحداث الكالس. تم نقل الكالس الى وسط **MS** مجهز **2**ملغم كاينتين/لتر في انابيب اختبار (وبواقع **2–4** كالس/انبوب اختبار) لغرض استحداث نباتات من الكالس. وضعت الزروعات (الانابيب) في الحاضنة بدرجة حرارة **24** م و**16**ساعة ضوء (شدة اضاءة **1000** لوكس)، وبعد شهر من الزراعة اخذت القراءات حول النسبة المئوية لاخلاف النباتات. استخدم تصميم القطاعات العشوائية الكاملة وبواقع **7** مكررات بالنسبة لصفة النسبة المئوية لاستحداث الكالس حيث عد كل طبق مكرر، في حين كان عدد المكررات لصفة النسبة المئوية لاخلاف النباتات **3** مكررات واحتوى كل مكرر **2–20** انبوب اختبار (اعتماداً على الكالس المستحصل من الاجنة غير الناضجة). تم حساب النسبة المئوية للاخلاف وكالاتي (**16**):

$$\text{النسبة المئوية للاخلاف} = \frac{\text{عدد قطع الكالس الذي حدث فيه استحداث نباتات}}{\text{العدد الكلي لقطع للكالس}} \times 100$$

حللت البيانات للاباء وهجنها التبادلية وفق النموذج الثاني والطريقة الاولى لتحليل التباين وفقا لطريقة **Griffing** (**14**) وقدرت قابلية الاتحاد العامة **GCA** والخاصة **SCA** والتبادلية **RCA** والتباين البيئي ثم حساب مكونات التباين الوراثي الاضافي وغير الاضافي وفق المعادلتين الاتيتين:

$$\sigma^2 gca = \tfrac{1}{2}\sigma^2 A$$
$$\sigma^2 sca = \sigma^2 D$$

حيث ان $\sigma^2 gca$ و $\sigma^2 sca$ يمثلان تباين قابليتي الائتلاف العامة والخاصة على التوالي وان $\sigma^2 A$ و $\sigma^2 D$ يمثلان التباين الوراثي الاضافي وغير الاضافي وعلى التوالي.

تم تقدير نسبة التوريث بالمفهوم الواسع والضيق بحسب ما ذكرها محمد وجماعته (**3**) وفق المعادلتين :

$$h^2 b.s = (\sigma^2 A + \sigma^2 D) / (\sigma^2 A + \sigma^2 D + \sigma^2 e)$$
$$h^2 n.s = \sigma^2 A / (\sigma^2 A + \sigma^2 D + \sigma^2 e)$$

حيث ان $h^2 b.s$ و$h^2 n.s$ تمثل نسبة التوريث الواسع والضيق على التوالي و$\sigma^2 A$، $\sigma^2 D$ و$\sigma^2 e$ تمثل التباين الوراثي الاضافي وغير الاضافي والخطأ التجريبي الذي يمثل التباين البيئي. كما قدر معدل درجة السيادة لكل صفة حسب المعادلة الاتية (**9**):

$\bar{a} = \sqrt{\frac{2\sigma^2 D}{\sigma^2 A}}$ ، آخذين بنظر الاعتبار قيم $\bar{a}$ وكما يلي :

اذا كانت قيمة $\bar{a}$ تساوي صفراً دل ذلك على عدم وجود سيادة واذا كانت قيمة صفر $< \bar{a} <$ **1** دل ذلك على وجود سيادة جزئية واذا كانت قيمة $\bar{a}$ تساوي **1** دل ذلك على السيادة التامة واذا كانت قيمة $\bar{a} >$ **1** دل ذلك على السيادة الفائقة.

النتائج والمناقشة

النسبة المئوية لاستحداث الكالس

يلاحظ من النتائج تفوق صنفي العراق وبابل 113 على الصنف اور في استحداث الكالس من الاجنة غير البالغة (جدول 1). اتفقت هذه النتائج مع العديد من الدراسات وجود اختلافات معنوية بين التراكيب الوراثية لنبات الحنطة في استحداث الكالس من الاجنة (1، 5، 6، 13). كما يلاحظ من الجدول وجود تفوق معنوي او ظاهري في النسبة المئوية لاستحداث الكالس لجميع الهجن مقارنة بابائها. ومن دراسة السلوك الوراثي لتلك الصفة (جدول 2) لوحظ وجود فروق معنوية لقابلية الاتحاد العامة أي ان هناك تاثيراً للجين الاضافي كذلك لوحظ وجود فروق معنوية لقابلية الاتحاد الخاصة، مما يدل على وجود تاثير للجينات غير الاضافية أي جينات السيادة والتفوق في تلك الصفة. اتفقت هذه النتائج مع ما توصلت اليه دراسات أخرى (8، 17، 19، 23، 24)، والتي اشارت الى مساهمة فعل الجين الاضافي وغير الاضافي في استحداث الكالس. في حين لم يلاحظ وجود فروق معنوية في النسبة المئوية لاستحداث الكالس بين الاصناف وهجنها في قابلية الاتحاد المتبادلة (RCA)، مما يدل على عدم وجود تاثير للاب الانثوي أي عدم وجود وراثة سايتوبلازمية في صفة استحداث الكالس وبمعنى اخر ان هذه الصفة واقعة تحت تاثير جينات النواة فقط أي انه لايوجد تاثير للمادة الوراثية الموجودة في المايتوكوندريا والكلوروبلاست (21). اما بالنسبة لمكونات التباين الوراثي، فاوضح جدول (4) ارجحية فعل الجين غير الاضافي في السيطرة على النسبة المئوية لاستحداث الكالس لكون التباين الاضافي $\sigma^2 A$ كان اقل من التباين السيادي $\sigma^2 D$ وربما يكون ذلك انعكاساً لمعدل درجة السيادة $\bar{a}$، والتي اظهرت سيادة فائقة لهذه الصفة لأن معدل درجة السيادة كان اعلى من واحد، مما يؤشر تحكم جينات السيادة الفائقة في تلك الصفة وهذا يتفق مع نتائج دراسة Lange وجماعته (17).

جدول 1: النسبة المئوية لاستحداث الكالس من الاجنة غير البالغة لثلاثة اصناف حنطة وهجنها

التراكيب الوراثية	%كالس
بابل113	86.71
العراق	84.78
اور	10.54
اور × العراق	100.00
العراق × اور	100.00
اور × بابل113	97.01
بابل113 × نخوة	93.85
العراق × بابل113	98.41
بابل 113× العراق	95.28
LSD 0.05	11.02

* LSD 0.05 تعني اقل فرق معنوي عند مستوى احتمال 0.05.

جدول 2: متوسط مربعات القدرة الاتحادية العامة GCA والخاصة SCA والمتبادلة RCA

الصفات	% لاستحداث الكالس	% لاخلاف النباتات
GCA	**1229.067	**653.557
SCA	**1345.409	70.391
RCA	6.585	**357.308

** معنوي على مستوى 0.01

النسبة المئوية لاخلاف النباتات

يلاحظ من الجدول (3) وجود اختلاف معنوي لصنف اور مقارنة بصنفين العراق وبابل 113، اذ لم يتم الحصول على أي نبات من كالس صنف اور بسبب تمايز الكالس في اعطاء الجذور فقط. اما النسبة المئوية لاخلاف

النباتات لصنفين العراق وبابل 113 فكانت 30.29 و35%، على التوالي، وهذا يؤكد اهمية تاثير التركيب الوراثي في اخلاف النباتات وبذلك اتفقت هذه النتائج مع ما افرزته العديد من الدراسات السابقة (12، 13، 17، 23، 25). يلاحظ من الجدول (3) ايضا تفوق الهجن الناتجة من الاب اور عند تضريبه مع صنفي العراق او بابل 113 مقارنة مع الام اور، اذ بلغت النسبة المئوية للاخلاف 21.69، 12.97 و22.58 للهجن اور× العراق، اور× بابل 113 وبابل 113× اور، على التوالي. اما بالنسبة للهجن الناتجة من الاب بابل 113 اوالاب العراق، فقد تفوق الهجين بابل 113× العراق فقط معنويا وبلغت نسبة الاخلاف 58.46%. وعند دراسة السلوك الوراثي لتلك الصفة (جدول 3) لوحظ وجود فروق معنوية لقابلية الاتحاد العامة أي ان هناك تاثيراً للجين الاضافي، كذلك لوحظ وجود فروق معنوية لقابلية الاتحاد المتبادلة مما يؤشر وجود تاثير للاب الانثوي أي وجود وراثة سايتوبلازمية في صفة اخلاف النباتات. اتفقت هذه النتائج مع ما توصل اليه Lazer وجماعته (18) والذين اشروا وجوب الانتباه للوراثة السايتوبلازمية في اخلاف النباتات من الكالس، في حين لم يلاحظ فروق معنوية لقابلية الاتحاد الخاصة أي عدم وجود تاثير معنوي لجينات السيادة والتفوق في النسبة المئوية لاخلاف النباتات من الكالس. اما بالنسبة لمكونات التباين الوراثي فاوضح الجدول (4) ارجحية فعل الجين الاضافي في السيطرة على النسبة المئوية لاخلاف النباتات لأن التباين الاضافي $\sigma^2 A$ كان اعلى من التباين السيادي $\sigma^2 D$ وهذا يتفق مع Dornelles وجماعته (12) وربما يكون ذلك انعكاساً لمعدل درجة السيادة $\bar{a}$ التي اظهرت سيادة غير تامة لهذه الصفة لكون معدل درجة السيادة كان اقل من واحد.

جدول 3: النسبة المئوية لاخلاف النباتات من كالس ثلاثة اصناف حنطة وهجنها

التراكيب الوراثية	% اخلاف النباتات
بابل113	35.00
العراق	30.29
اور	0
اور × العراق	21.69
العراق × اور	30.77
اور × بابل113	12.97
بابل113 × نخوة	22.58
العراق × بابل113	28.51
بابل 113× العراق	58.46
LSD 0.05	17.43

LSD: 4 -/ / تعني اقل فرق معنوي عند مستوى احتمال 4 -/ /.

التوريث

يلاحظ من الجدول (4) انه التوريث بالمعنى الواسع h^2b.s للنسبة المئوية لاستحداث الكالس كان مرتفعا وبلغ 0.98 وقد يفسر ارتفاع قيم التوريث بالمعنى الواسع أنه حدث نتيجة انخفاض قيم التباين البيئي والتباين الوراثي الاضافي، مما ادى الى خفض قيم التباين المظهري وبالتالي تاكيد ارتفاع قيم تباينها الوراثي غير الاضافي. ويلاحظ عند حساب درجة التوريث بالمعنى الضيق h^2n.s والتي تمثل ذلك الجزء من التباين الكلي الذي يعزى الى التاثير الاضافي كانت عالية لصفة اخلاف النباتات وبلغت 0.78، وبما ان هذه الصفة تتحكم بها جينات اضافية مع سيادة غير تامة لذا يبدو ان الانتخاب يكون كفوءاً في الاجيال الانعزالية المبكرة (18) وذلك لتجنب انتخاب الذرية التي تحمل الصفات المتفوقة superior progenies والناتجة من التداخل والتي ربما تفقد في الاجيال اللاحقة من التلقيح الذاتي. في حين كانت درجة التوريث بالمعنى الضيق منخفضة في النسبة المئوية لاستحداث الكالس وبلغت 0.03. وبسبب تحكم جينات

السيادة الفائقة فضلاً عن انخفاض درجة التوريث بالمعنى الضيق في تلك الصفة فان الانتخاب لايكون مجدياً في الاجيال الانعزالية المبكرة، أي بمعنى صعوبة تحسين تلك الصفة باستخدام الانتخاب في الاجيال الانعزالية المبكرة (22). وربما يكون استخدام الانتخاب التكراري recurrent selection بين مجتمعات التربية او ضمن المجتمع الواحد هو الاكثر كفاءة (11) او تطبيق برنامج تربية الهجن لاستغلال فعل الجين غير الاضافي (7).

جدول 4: تقدير مكونات التباين ودرجة السيادة ونسبة التوريث للصفات المدروسة في ستة تراكيب وراثية من الحنطة الناعمة

الصفات	$\sigma^2 g$	$\sigma^2 s$	$\sigma^2 r$	$\sigma^2 e$	$\sigma^2 A$	$\sigma^2 D$	$\bar{a}$	$h^2 b.s$	$h^2 n.s$
كالس	14.3	855.5	-3.99	14.57	28.7	855.8	7.00	0.98	0.03
اخلاف	102.8	23.5	161.75	33.80	205.7	23.5	0.47	0.87	0.78

يستنتج من الدراسة اهمية تاثير التركيب الوراثي في استحداث الكالس واخلاف النباتات منه. ولما كان التوريث بالمعنى الضيق منخفضاً في صفة استحداث الكالس وعالياً في صفة اخلاف النباتات فهذا دليل الى ضرورة اتباع برنامج الانتخاب في الاجيال الانعزالية المبكرة لتحسين صفة اخلاف النباتات، في حين ان الانتخاب المبكر ربما يكون غير كفوء، وربما من الاجدر استخدام امنتخاب التكراري او تطبيق برنامج تربية الهجن لغرض تحسين صفة استحداث الكالس.

المصادر

1- الرومي، رنا عزيز (2001). استجابة اربعة اصناف من الحنطة Triticum aestivum L. لتحمل الملوحة خارج الجسم الحي وظروف الحقل المبكرة. رسالة ماجستير- كلية القائد للتربية للبنات-جامعة الكوفة- العراق.

2- يوسف، شذى عايد (2002). تقويم واخلاف نباتات الرز المتحملة للملوحة باستخدام تقانات مختلفة، اطروحة دكتوراه- كلية الزراعة- جامعة بغداد، العراق.

3- محمد، عبد الستار احمد؛ فخر الدين عبد القادر وخالد محمد داود (1988). تحليل القدرة على التآلف وقوة الهجين باستعمال التهجين التبادلي بين سبعة اصناف محلية من الذرة الصفراء. مجلة زراعة الرافدين. 20(2): 201-218.

4- سلمان، محمد عباس (1988). اساسيات زراعة الخلايا والانسجة النباتية. جامعة بغداد -وزارة التعليم العالي والبحث العلمي، بغداد، العراق.

5- Ahmed, K.; T. Bartok and F. Sagi (1992). A modified method for rapid callus induction by utilization of endosperm metabolities in mature and immature seeds of bread wheat (Triticum aestivum L.) and durum wheat (Triticum durum Desf.) Cereal Research Communications, 20(1-2):81-86.

6- Barakat, M. (1994). Combining abilities of in vitro traits in wheat (Triticum aestivum L.) immature embryo cultures. Euphytica, 76(3):169-175.

7- Bisne, R. and N. Motiramoni (2005). Study on gene action and combining ability in rice. Oryza, 42:153-155.

8- Bruins, M and C. Snijders (1995). Inheritance of anther culture derived green plantlet regeneration in wheat (Triticum aestivum L.) Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 43(1): 13-19.

9- Comstock, R. and H. Robinson (1952). Estimation of average dominance of genes, pp. 494–516 in Heterosis, edited by J. W. Gowen. Iowa State

College Press, Ames, IA.

10- De Bbuyser, J., J. Marcotte and Y. Henry (1992). Genetic analysis of in vitro wheat somatic embryogenesis. Euphytica, 63: 265-270.

11- Desai, S.; H. Lohithaswa; R. Hanchinal; B. Patil; I. Kalappanavar and K. Math (2005). Combining ability for quantitative traits in bread wheat (Triticum aestivum L.). Indian J. Genet., 65(4):311-312.

12- Dornelles, A.; F. Cavalho; L. Federizzi; C. Lange; C. Handel and F. Bered (1997). Genetics of regeneration of wheat (Triticum aestivum L.) plants. Braziloan J. Genetics, 20(2): 293-297.

13- Gonzalez, J.; E. Friero and N. Jouve (2001). Influence of genotype and culture medium on callus formation and plant regeneration from immature embryo of Triticum turgidum Desf. Cultivars. Plant Breeding, 120(6): 513-517.

14- Griffing, B. (1956). Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing system. Aust. J. Biol. Sci., 9:463-493.

15- Hodges, T., K. Kamo; C. Imbrie and M. Becwar (1986). Genotype specificity of somatic embryogenesis and regeneration in maize. Bio/Technology, 4:219-223.

16- Huang, W. and L. Liu (2002). Carbohydrate metabolism in rice during callus induction and shoot regeneration induced by osmotic stress. Bot. Bull. Acad. Sin., 43:107-113.

17- Lange, C.; L. Federizzi; F. Cavalho; A. Dornelles and C. Handel, (1998). Genetics of in vitro organogenesis and precocious germination of wheat embryos. Genetic and Molecular Biology, 21(1): 87-92.

18- Lazar, M., P. Bbaenziger and G. Schaeffer (1984). Combining abilities and hertability of callus formation and plantlet regeneration in wheat (Triticum aestivum L.) anther culture. Theor. Appl. Genet, 68:131-134.

19- Moieni, A.; K. Lokos-Toth and A. Sarrafi (1997). Evidence for genetic control and media effect on haploid regeneration in the anther culture of hexaploid wheat (Triticum aestivum L.). Plant Breeding, 116(5): 502-504.

20- Murashige, T. and F. Skoog (1962). A revised for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Pysiol. Plant, 15: 473 – 497.

21- Quimio, C. and F. Zapata (1990). Diallel analysis of callus induction and green-plant regeneration in rice anther culture. Crop Sci., 30:188-192.

22- Sharma, P.; P. Khoyumthem; N. Singh and K. Noren Singh (2005). Combining ability studies for grain yield and its component characters in rice (Oryza sativa L.). Indian J. Genet., 65(4):290-292.

23- Tuvesson, I.; S. Pedersen and S. Andersen (1989). Nuclear genes affecting albinism in wheat (Triticum aestivum L.) anther culture. Theoretical and Applied Genetics, 78(6): 879-883

24- Tyankova, N. and N. Zagorska (2001). Genetic control of in vitro response in wheat (Triticum aestivum L.). In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant, 37(5): 524-530.

25- Zamani, I.; E. Gouli-Vavdinoudi; G. Kovacs; I. Xynias; D. Roupakias and B. Barnabas (2003). Effect of parental genotypes and colchicine treatment on the androgenic response of wheat F1 hybrids. Plant Breeding, 122(4): 314–317.

INVESTIGATION THE GENETIC CONTROL OF CALLUS INDUCTION AND PLANT REGENERATION IN SPRING WHEAT (*Triticum aestivum* L.) CULTIVARS

S. A. Yousif D. P. Yousif

ABSTRACT

Full diallel crosses for callus induction and plant regeneration of three wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars (Babil113, Al-Iraq and Aur) were carried out. The objective of this study was to estimate the general combining ability (GCA), specific combining ability (SCA) and heritability for callus induction and plant regeneration.

Results revealed that preponderance of non additive gene action in governing the expression of callus induction, while there was preponderance of additive gene action in governing the expression of plant regeneration. Broad sense heritability estimation was 0.98 and 0.87 for callus induction and plant regeneration respectively. Whereas, narrow sense heritability drastically decreased to 0.03 for callus induction because of almost all genetic variance caused by the non-additive effects, and vice versa for plant regeneration that additive genetic variance presented almost all the total genetic variance.

Ministry of Sci. and Tech.- Baghdad, Iraq.