دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
مجله پژوهش‌های تولید گیاهی
جلد هفدهم، شماره دوم، ۱۳۸۹
www.gau.ac.ir/journals

تعیین مناسب‌ترین مرحله رسیدگی تخمک جهت تلاقی‌های بین‌گونه‌ای پنبه

***عمران عالیشاه[۱]، محمدباقر باقریه‌نجار[۲] و محمدرضا بی‌همتا[۳]**
[۱]استادیار گروه به‌نژادی، مؤسسه تحقیقات پنبه کشور، گرگان، [۲]استادیار گروه زیست‌شناسی، دانشگاه گلستان،
[۳]استاد گروه کشاورزی، دانشگاه تهران
تاریخ دریافت: ۸۷/۵/۱۳ ؛ تاریخ پذیرش: ۸۹/۷/۱۲

چکیده

به‌منظور تعیین مناسب‌ترین زمان رسیدگی و انتخاب تخمک لقاح‌یافته در تلاقی‌های بین‌گونه‌ای پنبه، دو گونه دیپلویید (*Gossypium herbaceum* و *G. arboreum*؛ ۲n=۲۶) و دو گونه تتراپلوئید پنبه (*G. hirsutum* و *G. barbadense*؛ ۲n=۵۲) به‌صورت دو به دو تلاقی داده شدند. ویژگی‌های گل‌شناختی، روند رشد تخمک، الگوی رشد الیاف در زمان‌های مختلف پس از گرده‌افشانی در والدین و هیبریدهای پنبه مورد بررسی قرار گرفت و داده‌ها به‌صورت آزمایش فاکتوریل مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. براساس نتایج به‌دست آمده، اثر ژنوتیپ، روز پس از گلدهی و اثرات متقابل آن‌ها بر رشد تخمدان و تخمک معنی‌دار بود ($P\leq ۰/۰۱$) و گرده‌افشانی به‌عنوان یکی از فاکتورهای مؤثر در بقای گل، تحریک رشد تخمدان و به‌دنبال آن تکامل جنین شناخته شد. گونه‌های مورد مطالعه از لحاظ قابلیت نگهداری گل‌های تلقیح نشده اختلاف نشان دادند. به‌طوری‌که، گونه‌های *G. arboreum* و *G. barbadense* به‌ترتیب کم‌ترین و بیش‌ترین مدت، گل‌های اخته شده را حفظ کردند. بهترین زمان انتخاب و انتقال جنین به شرایط درون شیشه در تلاقی‌های دیپلوئید × دیپلوئید و دیپلوئید × تتراپلوئید به‌ترتیب دو و سه روز پس از گرده‌افشانی تعیین گردید. گونه *G. barbadense* به‌دلیل قابلیت‌های ویژه تلقیح، نگهداری گل، اندازه تخمک و رشد در شرایط درون شیشه بر سایر گونه‌های والدی برتری نشان داد و می‌توان از آن به‌عنوان گونه بخشنده در تلاقی‌های بین‌گونه‌ای پنبه استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: پنبه، تخمک، تلاقی بین‌گونه‌ای، نجات جنین

---

* مسئول مکاتبه: omran_alishah@yahoo.com

مقدمه

پنبه یکی از مهم‌ترین گیاهان زراعی است که در ۵ قاره جهان مورد کشت و کار قرار می‌گیرد. این گیاه که به‌عنوان سلطان گیاهان لیفی شناخته شده است، در بین گیاهان پروتئینی مقام دوم، و در بین گیاهان روغنی مقام پنجم را در جهان داراست. جنس پنبه از ۵۰ گونه تشکیل شده است که شامل گونه‌های دیپلوئید (۲n=۲x=۲٦؛ ژنوم‌های A تا G و K) و تتراپلوئید (۲n=٤x=٥٢؛ $(AD)_{۲}$) است. تلاقی بین گونه‌های مختلف پنبه از نظر افزایش دامنه تنوعات ژنتیکی در برنامه‌های به‌نژادی بسیار دارای اهمیت است. بخش قابل‌توجهی از تنوعات ژنتیکی مربوط به مقاومت به تنش‌های زنده و غیرزنده را می‌توان از طریق تلاقی‌های بین‌گونه‌ای از گونه‌های وحشی به گونه‌های زراعی منتقل کرد. بسیاری از گونه‌های موجود در این جنس ممکن است از طریق دورگ‌گیری کلاسیک قابل تلاقی باشند، ولی میزان تولید بذر هیبرید زنده و بارور بسیار کم است (مهتری و همکاران، ۲۰۰٤). تلاقی بین گونه‌های زراعی دیپلوئید (*Gossypium herbaceum* و *G. arboreum*) و تتراپلوئید پنبه (*G. hirsutum* و *G. barbadense*) نیز برای انتقال برخی صفات زراعی و کیفیت الیاف به ارقام تجارتی اهمیت دارد. اما در شرایط طبیعی تولید هیبرید بین گونه‌های یاد شده به‌دلیل ریزش گل، میوه و تشکیل نشدن بذر از راندمان پایینی برخوردار بوده و گاهی نیز غیرممکن است (پاندیر، ۱۹۷٤؛ لیو و همکاران، ۱۹۹۲؛ بورولی و همکاران، ۲۰۰۰؛ ویجایالاکشمی و راویندران، ۲۰۰۰). برای فائق آمدن بر موانع یاد شده، روش‌های مختلفی مانند تیمار هورمونی (نفتالین استیک اسید و جیبرلیک اسید)، مخلوط گرده‌های سازگار و ناسازگار، کشت جنین نارس (تخمک‌های لقاح‌یافته)[1] در شرایط درون‌شیشه[2] و غیره پیشنهاد شده است (استوارت و هسو، ۱۹۷۷؛ ژانگ، ۲۰۰۰؛ یانگ و همکاران، ۲۰۰۷).

میرزا و شیخ (۱۹۸٤) از تلاقی گونه‌های واجد ژنوم $A_{۱}$، $A_{۲}$، $D_{۱}$، $D_{۳}$–d، $C_{۳}$، $E_{۱}$ و $E_{٤}$ با گونه *G. hirsutum* و همچنین تلاقی گونه‌های واجد ژنوم $A_{۱}$، $C_{۳}$، $E_{۲}$ و $E_{٤}$ با گونه *G. barbadense* دریافتند که در شرایط رشد طبیعی، قوزه‌ها فاقد بذر یا بعضاً نیز شامل بذور ناقص بدون قابلیت جوانه‌زنی هستند. آن‌ها علاوه‌بر تأیید پیشنهاد استوارت و هسو (۱۹۷۷) در خصوص کشت تخمک‌های لقاح‌یافته به‌منظور نجات جنین در تلاقی‌های بین‌گونه‌ای پنبه، تأثیر زمان انتخاب تخمک تلقیح شده و اندازه جنین را در موفقیت نجات جنین پنبه مورد تأکید قرار دادند.

1- In Ovulo Embryo Culture
2- *In Virto*

پژوهش‌های گذشته نشان داد، رشد جنین نارس به‌دست آمـده از تلاقـی‌هـای بـین گونـه‌ای پنبـه، تحت‌تأثیر ترکیب محیط کشت و شرایط نگهـداری درون شیـشه قـرار مـی‌گیـرد (واشوسـترجیوس و همکاران، ۱۹۹۸؛ ویجایالاکشمی و راویندران، ۲۰۰۰؛ بومن و همکاران، ۲۰۰۱؛ ایکرام و ظفر، ۲۰۰٤). همچنین نوع ژنوتیپ والدینی (جوشی و پاندیر، ۱۹۹٦؛ واشوسترجیوس و همکاران، ۲۰۰۷)، سن جنین پس از گرده‌افشانی (میرزا و همکاران، ۱۹۹۳؛ فنگ و براون، ۲۰۰۰؛ مهتری و آهر، ۲۰۰٤) و شرایط رشد گیاهان مادری (یانگ و همکاران، ۲۰۰۷) نیز نقش بسیار مؤثری در موفقیت کشت و نجات جنین پنبـه ایفا می‌کنند که توجه به آن‌ها بسیار مهم است.

برای زمان انتخاب و کشت تخمک و جنین نارس در گونه‌های مختلف پنبه نتایج متفاوتی گزارش شده است. میرزا و همکاران (۱۹۸٤ و ۱۹۹۳) براساس میزان رشد تخمک و الیاف، کشت تخمک‌های ۵–۳ روزه را مناسب تشخیص دادند. جوشی و جوهری (۱۹۷۲) ٦ روز پس از گرده‌افشانی، تینجان و همکاران (۱۹۸٦)، ۱۲–۸ روز پس از گرده‌افشانی را برای کشت تخمک‌های تلقیح شده و جنین (هیبرید) نارس پنبه، مناسب دانستند. فنگ و براون (۲۰۰۰) و بویار و همکاران (۲۰۰۰) در تلاقی گونه‌های زراعی و وحشی پنبه، دو روز بعد از گرده‌افشانی را برای کشت تخمک‌های تلقیح شده در شرایط درون شیشه مناسب دانستند. در حالی‌که عید و همکاران (۱۹۷۳) و ویجایالاکشمی و راویندران (۲۰۰۰) انتخاب و کشت تخمک‌های تلقیح شده در روزهای ۷–۵ پس از تلاقی را در گونه‌های وحشی *G. gossypioides*، *G. triphyllum* و *G. thurberi* مناسب تشخیص دادند. گیهوترا و همکاران (۱۹۹۹) و مهتری و آهر (۲۰۰٤) نیز ۱۵–۱۲ روز پس از گرده‌افشانی را برای کشت جنین پنبه مناسب دانستند و اعلام داشتند که قابلیت گلدهی[1] و مدت زمان ماندگاری گل در سطح پایه‌های مادری، عامل مؤثر و تعیین‌کننده برای کشت و نجات جنین‌های نارس است و این خصیصه تحت‌تأثیر ژنوتیپ و شرایط آگروکلیمایی قرار می‌گیرد.

الیاف و بذر (وش) اجزای اصـلی عملکـرد اقتـصادی پنبـه را تـشکیل مـی‌دهنـد. الیـاف از رشـد سلول‌های اپیدرمی تخمک و بذر از رشد تخمک لقاح‌یافته به‌دست می‌آید. لقاح در پنبه به‌طور طبیعـی ۱۵–۱۲ ساعت پس از گرده‌افشانی صورت می‌پذیرد. تقسیم سلولی تخمک لقاح‌یافته، ۵–٤ روز پس از گرده‌افشانی آغاز می‌شود و به‌دنبال آن جنین رشد می‌کند (استوارت، ۱۹۸٤). رشد میوه جـوان نیـز بـا لقاح آغاز و ۲۵–۱۸ روز پس از گرده‌افشانی تکمیل مـی‌شـود. بـزرگ شـدن تخمـک و طویـل شـدن

1- Day After Pollination (DAP)

سلول‌های اپیدرمی تخمک که منجر به تشکیل الیاف می‌شود نیز تقریباً با رشد میوه (تخمدان) مقارن است. الگوی رشد الیاف در گونه‌ها و ارقام پنبه و همچنین در روزهای مختلف پس از گرده‌افشانی متفاوت گزارش شده است (بومن و همکاران، ۲۰۰۱؛ جیالوالیس و سیگول، ۲۰۰۱).

از بین گونه‌های مختلف پنبه، تنها چهار گونه زراعی (*G. arboreum*، *G. herbaceum*، *G. barbadense* و *G. hirsutum*) در ایران موجود است. تلاقی بین گونه‌های یاد شده و ایجاد ترکیبات ژنتیکی جدید به‌منظور استفاده در برنامه‌های به‌نژادی پنبه دارای اهمیت است. برای پیش‌برد برنامه تولید هیبریدهای بین‌گونه‌ای پنبه، تعیین ویژگی‌های گل و قابلیت گلدهی در گونه‌های پنبه، تلاقی‌پذیری گونه‌ها، بررسی جنبه‌های بعد از گرده‌افشانی و روند رشد تخمک پس از لقاح و تشکیل جنین در تلاقی‌های بین‌گونه‌ای پنبه اهمیت دارد. این پژوهش جنبه‌های یاد شده را در ترکیبات گونه‌های پنبه دیپلوئید، تتراپلوئید و تلاقی‌های آن‌ها مورد بررسی قرار داده است.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش چهار گونه زراعی پنبه با اسامی *Gossypium hirsutum* var. sahel، *G. barbadense* var. barbadense1518 (۲n=٤x=٥٢) و *G. herbaceum* var. Hashemabad landrace و *G. arboreum* (۲n=۲x=۲٦) از مجموعه ژرم پلاسم پنبه مؤسسه تحقیقات پنبه کشور (گرگان) مورد استفاده قرار گرفتند. گونه‌های یاد شده در ۵ بلوک تلاقی مجزا که شامل ۸ خط ۱۰ متری با فواصل ردیف ۱۲۰ سانتی‌متر بودند، کشت شدند و در مرحله ٦ برگی، فاصله بوته‌ها روی خطوط کشت ٤۰ سانتی‌متر تنظیم شد.

با شروع مرحله گلدهی، تعداد گل‌های تولیدی به‌صورت روزانه در ۱۰ بوته شمارش و اتیکت‌گذاری شدند. در هفته دوم پس از شروع گلدهی، تلاقی دو به دو بین گونه‌های والدینی انجام پذیرفت. برای این منظور، اخته کردن گل‌های والدینی و ایزولاسیون آن‌ها به‌مدت ۳ هفته (اواخر تیرماه تا ۲۰ مردادماه) در ساعت‌های ٦-٤ بعدازظهر و عمل گرده‌افشانی مصنوعی (تلاقی) بین ساعت‌های ۱۲-۹ صبح (روز بعد) بین والدین انجام شد. برای تعیین نقش گرده‌افشانی در بقای گل، تعدادی از گل‌های عقیم شده بدون گرده‌افشانی پاکت‌گیری شدند و مدت زمان بقای گل در سطح بوته برای هر گونه به‌طور مجزا یادداشت گردید. همچنین به‌منظور تعیین و مقایسه تأثیر گرده‌های سازگار و

ناسازگار، تعدادی از گل‌های والدینی پس از اخته کردن، با گرده‌های خودی (سلفینگ) و غیرخودی (گونه‌های دیگر) تلقیح شدند و گل‌های سلف شده و هیبرید با اتیکت‌های متفاوت اتیکت‌گذاری شدند. وضعیت رشد تخمدان، تخمک، مدت زمان بقای گل‌های اخته شده، درصد ریزش گل و میوه و تعداد تخمک‌های بارور شده و نابارور در هر تخمدان و در سطح ۱۰ بوته مورد ارزیابی قرار گرفت. به‌منظور تعیین مناسب‌ترین زمان انتخاب جنین نارس، تخمدان گل‌های تلقیح شده در روزهای صفر تا پنجم پس از گرده‌افشانی برداشت و پس از ضدعفونی سطحی با اتانول (به‌مدت ۲ دقیقه) تخمک‌ها در شرایط هود لامینار استخراج و مطالعه شدند. بررسی وضعیت رشد تخمک و الیاف با استفاده از فتومیکروسکوپ[1] و بینوکولار[2] و مطابق روش مهتری و همکاران (۱۹۸۰) انجام گرفت و براساس ویژگی‌های ظاهری تخمک، میزان رشد الیاف در سطح تخمک، سهولت استخراج تخمک از تخمدان و سهولت استقرار در سطح محیط کشت مایع BT[3] (بیزلی و تینگ، ۱۹۷٤)، زمان مناسب برای انتخاب و کشت تخمک‌های پنبه تعیین شد.

داده‌های آزمایشی به‌دست آمده از اندازه‌گیری رشد تخمک و تخمدان به‌صورت آزمایش فاکتوریل و در قالب طرح آماری بلوک‌های کامل تصادفی تجزیه واریانس شدند و مقایسه میانگین صفات یاد شده نیز به روش آزمون چنددامنه‌ای دانکن[4] صورت پذیرفت. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزارهای SAS و SPSS و برای ترسیم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده گردید.

نتایج و بحث

بررسی ویژگی‌های گل‌شناختی و تلاقی‌پذیری گونه‌های مختلف پنبه، دلالت بر اختلاف بین گونه‌های مورد مطالعه داشت. گونه *G. barbadense* دارای دم‌گل‌های بلند (۶/۵-۵/۲ سانتی‌متر)، جام‌های زرد و کشیده، گرده‌های زرد و کلاله و خامه‌های طویل‌تر هستند. گونه *G. hirsutum* دارای دم‌گل متوسط (۳/۹-۳/۲ سانتی‌متر)، گل‌برگ‌های کرم رنگ و به‌نسبت بلند، گرده‌های کرم و کلاله‌هایی با طول متوسط هستند. گونه‌های دیپلویید دارای دم‌گل‌های کوتاه (۲/۸-۱/۷ سانتی‌متر)، جام‌های کوتاه،

1- Olympus-BX40
2- Olympus-SZH
3- Basley and Ting = BT (یک محیط کشت نمکی اختصاصی برای کشت تخمک و جنین پنبه)
4- Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

گل‌برگ‌های زرد (*G. herbaceum*) و سفید (*G. arboreum*)، گرده‌های زرد و کلاله‌های کوتاه‌تر هستند. طول خامه و ستون پرچم‌ها در گونه‌های *G. barbadense*، *G. hirsutum* و گونه‌های دیپلوئید به‌ترتیب بلند، متوسط و کوتاه بود (داده‌ها نشان داده نشدند). با توجه به ویژگی‌های گل‌شناختی، عملیات دورگ‌گیری (عقیم‌سازی، ایزوله کردن و اتیکت‌گذاری) در گونه‌های تتراپلوئید نسبت به گونه‌های با سهولت بیش‌تری انجام‌پذیر است. اخته کردن گل‌ها در سطح پنبه‌های دیپلوئید، به‌دلیل کوچک‌تر بودن اندازه گل، فرم باز شدن براکته‌ها و کوتاه بودن طول ستون پرچم‌ها، مشکل‌تر و نیاز به تجربه فراوان‌تری دارند. سینگ و نارایانان (۱۹۹۲) نیز به برخی از موارد بالا اشاره کرده‌اند.

براساس نتایج به‌دست آمده، گونه‌های پنبه از لحاظ قابلیت نگهداری گل‌های تلقیح نشده اختلاف نشان دادند (جدول ۱). در گونه *G. arboreum* گل‌های تلقیح نشده حداکثر به‌مدت ۲ روز در سطح پایه مادری باقی‌مانده و سپس ریزش کردند. گونه *G. herbaceum* در مقایسه با *G. arboreum* از قدرت گلدهی و حفظ گل بیش‌تری برخوردار بود، و در شرایط نبود تلقیح حداکثر تا ۳ روز گل‌های خود را حفظ کرد. در گونه *G. hirsutum* ریزش گل‌های تلقیح نشده از روز سوم آغاز گردید و حداکثر تا روز پنجم تمامی گل‌های بارور نشده ریزش کردند. این در حالی بود که در گونه *G. barbadense* ریزش گل‌های تلقیح نشده از روز چهارم آغاز، و تا روز هفتم ادامه یافت. در طول این مدت اندازه تخمدان تغییر محسوسی نشان نداد و با نزدیک شدن به زمان ریزش، رنگ تخمک‌ها نیز به‌تدریج از سفید متمایل به شیری به قهوه‌ای تغییر یافتند. براساس نتایج به‌دست آمده، گرده‌افشانی یکی از فاکتورهای اصلی در بقای گل در سطح بوته، تحریک رشد تخمدان و به‌دنبال آن تکامل جنین است و گونه *G. arboreum* حساس‌ترین و گونه *G. barbadense* متحمل‌ترین گونه از لحاظ طول دوره حفظ گل اخته شده بودند. و حداکثر مدت بقای گل‌های تلقیح نشده در سطح گونه‌های پنبه از ۷-۲ روز (بسته به نوع گونه) متغیر بود و پس از آن تمامی گل‌های تلقیح نشده (۱۰۰ درصد) ریزش کردند.

در تلاقی گونه‌های تتراپلوئید و دیپلوئید، بیش از ۹۸/۸ درصد از گل‌های دورگ ریزش کردند، و این نتیجه نشان داد که امکان تولید چنین هیبریدهایی در شرایط طبیعی و بدون بهره‌گیری از روش‌های کشت و نجات جنین در شرایط درون شیشه، بسیار پایین است (کم‌تر از ۱/۲ درصد). در تلاقی گونه *G. hirsutum* با هر یک از گونه‌های دیپلوئید پنبه، ریزش گل از روز سوم آغاز شد

و گـل‌هـای دورگ‌گیـری‌شـده حـداکثر تـا روز هفـتم (*G. hirsutum × G. arboreum*) و نهـم (*G. hirsutum × G. herbaceum*) در سطح بوته باقی ماندند و در پایان ایـن دوره تمـامی گـل‌هـا ریزش کردند. در تلاقی گونه *G. barbadense* با گونه‌های دیپلویید نیز پدیده ریـزش از روز چهـارم یا پنجم آغاز و حداکثر تا روز دوازدهم بعد از گرده‌افشانی ادامه یافت (جدول ۱). بررسـی طـول دوره ماندگاری گل‌های گرده‌افشانی شده و گرده‌افشانی نشده نشان داد که گرده‌افـشانی عـلاوه‌بـر تحریـک رشد تخمدان، سبب به تعویق افتادن پدیده ریزش گل (به‌مدت ۵-۲ روز) می‌شود (جدول ۱). همچنین مطالعه رشد تخمدان در گیاهان خودگشن شده و هیبرید نشان داد اگر چنان‌چه عمل لقاح بـا موفقیـت انجام شود، رشد تخمدان ادامه یافته و بذر کامل (دارای جنین و آندوسپرم) در میوه تشکیل مـی‌گـردد. اگر چنان‌چه به هر دلیلی عمل لقاح با موفقیت انجام نشود، رشد تخمدان متوقـف و بـه زودی پدیـده ریزش رخ می‌دهد. با توجه به نتایج به‌دست آمده، چنین به‌نظر می‌رسد در تلاقی‌های بین‌گونـه‌ای یـاد شده خشک شدن سریع گل و تخمدان و وقوع ریزش‌های زودهنگام تا روز پنجم پس از گرده‌افـشانی احتمالاً منشأ فیزیولوژیک و هورمونی دارد. در تلاقی *G. barbadense* با گونه‌هـای دیپلوییـد پدیـده خشکیدگی کم‌تر دیده شد و ریزش میوه‌های جوان احتمالاً ناشی از تاخیر رشد لولـه گـرده در بافـت خامه (به‌دلیل زیاد بودن طول کلالـه و خامـه) و نبـود لقـاح مـی‌باشـد. در مـورد فیزیولـوژی ریـزش دیدگاه‌های مختلفی توسط دانشمندان ارایـه شـده اسـت. لیـو و همکـاران (۱۹۹۲) هورمـون اتـیلن را عامل ریزش کپسول‌های جوان در روزهای دوم تا چهارم پس از گـرده‌افـشانی معرفـی کردنـد. اتـیلن سبب کاهش یا زایل کردن اکسین جوانی می‌شود. با کاهش مقدار اکسین، سـلول‌هـای منطقـه ریـزش نسبت به اتیلن که سنتز آنزیم‌های هیدرولیز شده را افزایش می‌دهد، حـساس مـی‌شـوند و پـس از آن پدیده ریزش میوه به وقوع می‌پیوندد. ویجایالاکشمی و راویندران (۲۰۰۰) در تلاقی *G. hirsutum* × *G. triphyllum* کمبود مواد غذایی یا از بین رفتن آندوسپرم را عامـل سـقط جنـین و وقـوع ریـزش معرفی کردند. این در حالی است که واشوسترجیوس و همکاران (۲۰۰۷) ویژگی‌های سـاختاری گـل نظیر طول زیاد خامه در گونه‌های مادری، تاخیر رشد لوله گرده در بافت ناسـازگار و در نهایـت نبـود لقاح موفق را عامل ریزش گل معرفی کردند.

جدول ۱- نتایج میزان ریزش گل‌های تلقیح شده و تلقیح نشده در گونه‌های والدینی و هیبریدهای بین‌گونه‌ای پنبه.

	نام والد یا دورگ	بیش‌ترین زمان ابقای گل در روی گیاه (روز)	شروع ریزش پس از اخته کردن (روز)	تعداد گل اخته شده	تعداد گل ریزش‌یافته ٤ روز بعد از گرده‌افشانی	درصد ریزش ٤ روز بعد از گرده‌افشانی
گل‌های تلقیح نشده	*G. herbaceum*	۳	۲	۱۰	۹	۹۰
	G. arboreum	۲	۲	۵	۵	۱۰۰
	G. hirsutum	۵	۳	۱۰	۷	۷۰
	G. barbadense	۷	٤	۱۰	۵	۵۰
گل‌های تلقیح شده	*G. hirsutum*× *G. herbaceum*	۹-۷	۳	۱۵	٤	۲٦
	G. barbadense× *G. herbaceum*	۱۲-۱۱	٥-٤	۱۰	۱	۱۰
	G. hirsutum× *G. arboreum*	۷-٦	۳	۱۲	۵	٤۱
	G. barbadense× *G. arboreum*	۱۰-۸	٦-٥	۱۲	۱	۸
	G. herbaceum×*G. arboreum*	۳	۲	۱۰	۱۰	۱۰۰

در بین تلاقی‌های بین‌گونه‌ای، تلاقی *G. herbaceum* × *G. arboreum* حساس‌ترین تلاقی از لحاظ زمان شروع ریزش بود، و به‌علاوه گرده‌افشانی تأثیری چندانی در بقای گل ایفا نکرد. بیش از ۹۰ درصد گل‌های دورگ شده قبل از روز سوم ریزش کردند. بنابراین اگر هدف تولید هیبرید از طریق کشت درون شیشه و نجات جنین باشد باید تخمک‌ها در این فاصله به سطح محیط کشت مناسب منتقل گردند، که در این فاصله فرصت به‌نژادگر برای انجام تلاقی و کشت جنین بسیار کم خواهد بود. از طرفی با توجه به ویژگی‌های گل‌شناختی، حساسیت تلاقی‌پذیری و پایین بودن راندمان ماندگاری گل، تولید بذر هیبرید حاصل از تلاقی *G. herbaceum* × *G. arboreum* در شرایط مزرعه، مستلزم کراس‌های فراوان در شرایط آگروکلیمایی مناسب و صرف هزینه زیاد است. به همین خاطر، شناسایی آگروکلیمای مناسب برای بالا بردن راندمان ماندگاری گل و یا بهینه‌سازی روش کشت جنین برای تولید بذر هیبرید در تلاقی دیپلوئیدها اهمیت پیدا می‌کند.

براساس نتایج تجزیه واریانس، اثرات ژنوتیپ، تعداد روز پس از گرده‌افشانی و اثرات متقابل آن‌ها بر اندازه تخمک و تخمدان (قوزه جوان) در سطح آماری ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). به‌نظر می‌رسد معنی‌دار شدن اثر ژنوتیپ ناشی از اختلافات بوتانیکی و سیتولوژیکی گونه‌های پنبه و معنی‌دار شدن اثر متقابل ژنوتیپ × روز پس از گرده‌افشانی نیز نشان‌دهنده عکس‌العمل متفاوت گونه‌های

والدینی یا هیبریدهای بین‌گونه‌ای پنبه از نظر رشد تخمک، جنین و تخمدان (میوه جوان) در زمان‌های پس از گرده‌افشانی است. جیالوالیس و سیگول (۲۰۰۱) در گزارش خود به اختلاف الگوی رشد تخمک و الیاف در ژنوتیپ‌های مختلف یک گونه و همچنین در روزهای مختلف پس از گرده‌افشانی اشاره کردند.

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس مشخصات تخمدان و تخمک در روزهای اول تا سوم بعد از گرده‌افشانی.

منبع تغییرات s.o.v	درجه آزادی d.f	میانگین مربعات (MS)		
		قطر تخمدان (میلی‌متر)	طول تخمدان (میلی‌متر)	قطر تخمک (میلی‌متر)
تکرار	۹	۰/۷۱^{ns}	۰/۸٤^{ns}	۰/۰۲^{ns}
روز پس از گلدهی (DAP)	۳	۱۳٤/۲۱**	۱۰۸/۸۰**	۱/۰۵**
ژنوتیپ (G)	۸	۳۲/۳۰**	۳۸/۱۷۱**	۰/٦٤**
اثر متقابل (G × DAP)	۲٤	۳/۲۹**	٤/۹۳**	۰/۰۸**
خطا (E)	۲۰۸	۰/۰۹	۱/۲٤	۰/۰۲
ضریب تغییرات (C.V)	---	۱۲/۲۸	۱۱/۹۳	۱۱/۲۷
میانگین	---	۷/٦۸	۹/۳۱	۱/۲۵

$^{n.s}$غیرمعنی‌دار در سطح ۵ درصد، *معنی‌دار در سطح ۵ درصد، **معنی‌دار در سطح ۱ درصد.

میانگین مشخصات تخمدان (قوزه جوان) و تخمک‌های ۳-۱ روزه در روزهای مختلف پس از گلدهی در جدول ۳ ارایه شده است. براساس نتایج به‌دست آمده، در روز گلدهی متوسط قطر قوزه، طول قوزه و قطر تخمک گونه‌های زراعی پنبه به‌ترتیب ۵/۹۳، ۷/۷۱ و ۱/۰۸ میلی‌متر، و سه روز پس از گلدهی اندازه صفات یاد شده به‌ترتیب ۹/۲۹، ۱۰/۷۵ و ۱/٤۰ میلی‌متر بود. متوسط اندازه تخمک دارای جنین در گونه‌های *G. herbaceum*، *G. arboreum*، *G. hirsutum* و *G. barbadense* به‌ترتیب ۱/۲۹، ۱/۱۲، ۱/٤۱ و ۱/۷۰ میلی‌متر بود. همچنین اندازه تخمک دارای جنین در تلاقی گونه‌های تتراپلوئید × دیپلویید از ۱/٦۱-۱/٤۰ میلی‌متر متغیر بود. در تلاقی دو گونه دیپلویید نیز متوسط اندازه تخمک ۱/۱۹ میلی‌متر برآورد شد (شکل ۱). بنابراین، با توجه به وقوع ریزش گل در تلاقی‌های بین‌گونه‌ای، گزینش و جداسازی تخمک‌های ۲-۱/٤۰ میلی‌متری برای کشت در سطح محیط کشت مناسب‌تر تشخیص داده شدند. اما در شرایطی که ریزش گل در مزرعه دیرتر اتفاق افتد و رشد الیاف در سطح تخمک‌ها نیز برای استخراج آن‌ها مشکل‌ساز نباشد، در آن صورت انتخاب تخمک‌های درشت‌تر با

اندازه‌های ٤-۲ میلی‌متر از نقطه نظر رشد و تکامل بعدی مناسب‌تر خواهد بود. این نتایج با یافته‌های استوارت و هسو (۱۹۷۷)، فنگ و براون (۲۰۰۰) و همچنین بویار و همکاران (۲۰۰۱) در مورد اندازه و زمان کشت تخمک‌های دارای جنین پنبه، مطابقت داشته و آن‌ها را تأیید می‌کند.

جدول ۳- میانگین اندازه تخمدان و تخمک در زمان‌های مختلف پس از گرده‌افشانی در گونه‌های والدینی و هیبریدهای بین‌گونه‌ای پنبه.

تیمار	تعداد نمونه	قطر تخمک (میلی‌متر)	طول تخمدان (میلی‌متر)	قطر تخمدان (میلی‌متر)
روز گرده‌افشانی (DAP ۰)	۵۱	۱/۰۸[d]	۷/۷۱[d]	۵/۹۳[d]
یک روز پس از گرده افشانی (DAP ۱)	٦۵	۱/۱۷[c]	۸/۵٤[c]	٦/۹۲[c]
دو روز پس از گرده افشانی (DAP ۲)	۵٦	۱/۲۸[b]	۹/۵۸[b]	۷/۸۲[b]
سه روز پس از گرده افشانی (DAP ۳)	۸۱	۱/٤۰[a]	۱۰/۷۵[a]	۹/۲۹[a]

اعداد دارای حروف مشابه در هر ستون از نظر آماری در سطح P≤۰/۰۵ معنی‌دار نیستند.

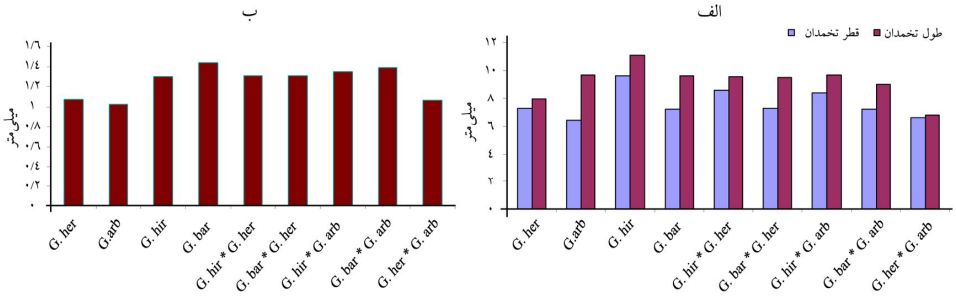
میانگین و انحراف معیار قطر و طول قوزه همراه با قطر تخمک ژنوتیپ‌های مختلف پنبه در روزهای مختلف پس از گرده‌افشانی در شکل ۲ نشان داده شده است. در بین گونه‌های مورد مطالعه، گونه *G. hirsutum* از لحاظ طول و قطر قوزه و گونه *G. barbadense* از لحاظ قطر تخمک در کلاس اول قرار گرفتند و گونه‌های دیپلوئید در پایین‌ترین کلاس و هیبریدهای بین‌گونه‌ای از نظر اندازه قوزه و تخمک، مابین گونه‌های والدینی دیپلوئید و تتراپلوئید قرار می‌گیرند. در بین گونه‌های والدینی گونه *G. barbadense* و در بین هیبریدها نیز *G. barbadense* × *G. arboreum* و *G. hirsutum* × *G. arboreum* درشت‌ترین تخمک را دارا بودند. تخمک‌های استخراج شده از گونه *G. arboreum* در روز شکوفایی گل، نسبت به سایر گونه‌ها و هیبریدها درشت‌تر بود، ولی با گذشت زمان، رشد آن نسبت به سایر گونه‌های والدینی و هیبریدها کندتر شده است. علت این پدیده کاملاً مشخص نمی‌باشد.

داده‌های آزمایشی نشان دادند که روند رشد تخمک و تخمدان در گونه‌های مختلف پنبه و هیبریدهای آن‌ها در چهار روز نخست پس از گرده‌افشانی افزایشی است (شکل ۳). همچنین براساس نتایج تجزیه همبستگی صفات، ضریب همبستگی بین قطر و طول تخمدان در سطح ۱ درصد (r=۸۰

درصد) و ضریب همبستگی بین اندازه‌های تخمک و تخمدان در سطح ۵ درصد (به‌ترتیب r=٤٦-٤٧ درصد) معنی‌دار شد. بنابراین، رشد تخمدان پس از گرده‌افشانی تحریک شده و ادامه می‌یابد. همچنین ارتباط معنی‌داری بین رشد تخمدان و تخمک در پنبه دیده می‌شود (جدول ٤).

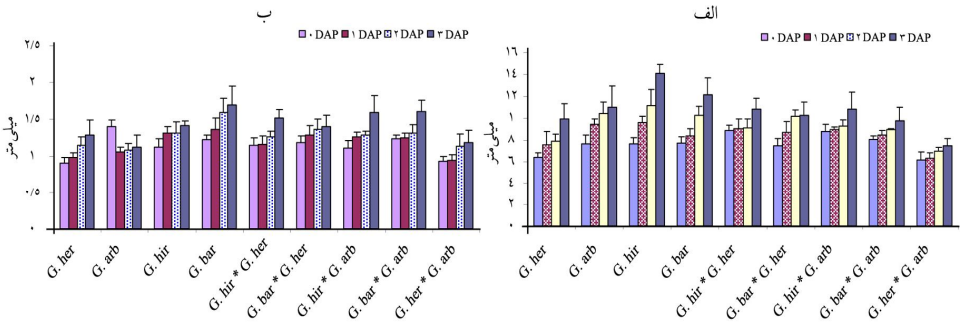
جدول ٤- ضریب همبستگی ساده بین صفات مربوط به قوزه جوان و قطر تخمک در گونه‌های پنبه.

صفت	قطر قوزه جوان (میلی‌متر)	طول قوزه جوان (میلی‌متر)	قطر تخمک (میلی‌متر)
قطر قوزه جوان (میلی‌متر)	۱		
طول قوزه جوان (میلی‌متر)	۰/۸۰**	۱	
قطر تخمک (میلی‌متر)	۰/٤٦*	۰/٤٧*	۱



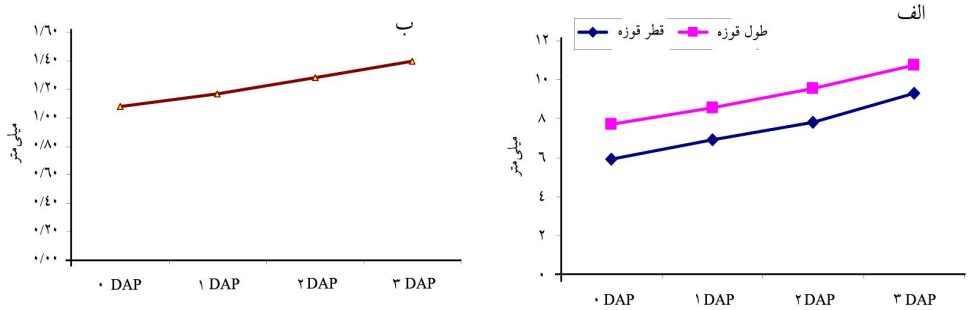
G. her=G. herbaceum, G. arb=G. arboreum, G. hir= G. hirsutum, G.bar= G. barbadense

شکل ۱- میانگین اندازه تخمدان (الف) و تخمک (ب) در گونه‌های والدینی و هیبریدهای بین‌گونه‌ای پنبه.



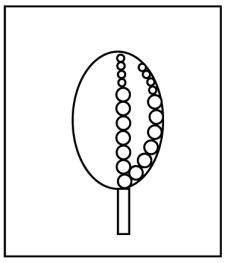
G. her=G. herbaceum, G. arb=G. arboreum, G. hir= G. hirsutum, G.bar= G. barbadense

شکل ۲- میانگین تخمدان (الف) و تخمک (ب) در گونه‌های والدینی و هیبریدهای پنبه در روزهای مختلف پس از گرده‌افشانی.



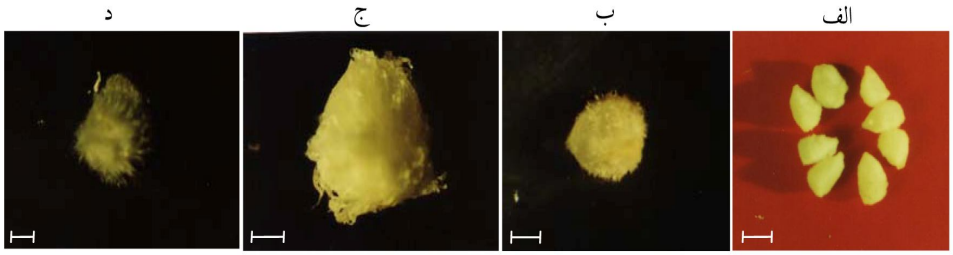
شکل ۳- روند رشد تخمدان (الف) و تخمک (ب) در روزهای مختلف پس از گرده‌افشانی در پنبه.

بررسی الگوی رشد تخمک‌ها نشان داد که در قوزه‌های به‌دست آمده از سلفینگ، به لحاظ گرده‌افشانی یکنواخت و طبیعی، تمام تخمک‌ها به‌طور هم‌زمان تلقیح، و تقریباً به‌طور مشابه و هم‌اندازه رشد کردند و در روزهای چهارم و پنجم بعد از گرده‌افشانی نیز رشد سلول‌های الیاف در سطح تخمک به‌طور متمایز قابل مشاهده بود. در قوزه‌های دورگ، میزان تلقیح و رشد تخمک‌ها متفاوت بود. بررسی تخمک‌های بارور شده و بارور نشده در تخمدان‌های جوان نشان داد که درصد تخمک‌های تلقیح شده و رشد آن بستگی به نحوه و مهارت گرده‌دهی و همچنین زمان گرده‌دهی دارد. انجام عمل تلاقی در اوایل آزاد شدن دانه گرده، امکان استفاده از بیش‌ترین گرده‌های تولیدی و افزایش راندمان دورگ‌گیری را فراهم می‌کند. در حالی‌که تاخیر در این امر، سبب از دست رفتن یا ریزش طبیعی برخی از دانه‌های گرده می‌شود، در نتیجه امکان گرده‌دهی یکنواخت کلاله گل‌های اخته شده میسر نمی‌گردد. همچنین بررسی نحوه و الگوی باروری ردیف تخمک‌ها در درون تخمدان نشان داد که درصد تخمک‌های تلقیح شده در هر قوزه، از والدی به والدی دیگر متفاوت است. همچنین تخمک‌های نزدیک به دم‌گل از فراوانی و شانس باروری و رشد بیش‌تری برخوردار می‌باشند. این در حالی بود که تخمک‌های بارور نشده یا رشد نیافته غالباً در قسمت‌های انتهایی قوزه قرار داشتند (شکل ٤).



شکل ٤- شمایی از الگوی باروری تخمک‌ها در تلاقی‌های بین‌گونه‌ای پنبه.

بررسی‌های میکروسکوپی نشان داد که با گذشت زمان و رشد تخمک‌های دارای جنین نارس، اندازه و تعداد الیاف تشکیل شده در سطح تخمک‌ها نیز افزایش می‌یابد (شکل ۵). به همین خاطر، جداسازی تخمک‌های پنبه در روز پنجم پس از گرده‌افشانی (یا پس از آن) به‌دلیل تداخل رشته‌های الیاف در همدیگر، مشکل‌تر از روز سوم پس از تلاقی است و در هنگام کشت نیز اغلب مجموعه‌های به‌هم‌چسبیده و چندتایی تخمک در سطح محیط کشت قرار خواهند گرفت که جداسازی آن‌ها مشکل است. مطالعات گذشته نشان داد که تعداد الیاف تشکیل شده در روزهای چهارم تا ششم پس از گرده‌افشانی (در سطح تخمک پنبه آپلند) از ۱٤۰۰۰ تا ۱۷۰۰۰ متفاوت است (جیالوالیس و سیگول، ۲۰۰۱؛ بومن و همکاران، ۲۰۰۱). بنابراین، با در نظر گرفتن زمان شروع ریزش و وضعیت رشد تخمک، تخمدان و الیاف، مناسب‌ترین زمان انتخاب تخمک‌های دارای جنین نارس در تلاقی‌های دیپلوئید × تتراپلوئید، روز سوم بعد از گرده‌افشانی و در تلاقی‌های دیپلوئید × دیپلوئید روز دوم بعد از گرده‌افشانی تعیین شد (جدول ۱). زیرا در این مدت اولاً جنین‌های هیبرید در سطح گیاه مادری رشد می‌کنند، ثانیاً آن‌که رشد الیاف در سطح تخمک‌ها نیز به اندازه‌ای است که اجازه خارج کردن تخمک و کشت آن در سطح محیط کشت را به‌خوبی فراهم می‌سازد. بنابراین، قبل از پایان این دوره و شروع ریزش میوه (سقط جنین) باید تخمدان‌ها برای جداسازی و کشت تخمک‌های دارای جنین، گزینش شوند. میرزا و شیخ (۱۹۸٤) و اپلی‌کوئیست و همکاران (۲۰۰۱) نیز نتایج تقریباً مشابهی را در برخی گونه‌های پنبه اشاره کردند. به‌علاوه، واشوسترجیوس و همکاران (۱۹۹۸) در مطالعات خود اعلام داشتند زمان انتخاب تخمک دارای جنین نارس در تلاقی‌های بین‌گونه‌ای یا درون‌گونه‌ای روی عکس‌العمل رشد جنین در محیط کشت تأثیرگذار است. جوشی و پاندیر (۱۹۹٦) نیز به همبستگی مثبت بین مرحله تکاملی تخمک، اندازه جنین و میزان کالزایی در کشت‌های درون‌شیشه پنبه اشاره داشتند.



شکل ۵- تخمک‌های دارای جنین نارس پنبه. الف) روز سوم پس از گرده‌افشانی؛ ب) روز چهارم پس از گرده‌افشانی در گونه *G. hirsutum*؛ ج) روز پنجم پس از گرده‌افشانی در گونه‌های *G. barbadense*؛ د) *G. hirsutum*. (مقیاس: ۱ میلی‌متر).

نتیجه‌گیری و پیشنهادات

تعداد تخمک‌هایی که بـه تکامـل مـی‌رسـند و تعـداد الیـاف تـشکیل شـده در سـطح تخمـک، از فاکتورهای تعیین‌کننده در عملکرد پنبه (وش) محسوب می‌شوند و راندمان گرده‌افشانی، میزان باروری تخمک‌ها، ماندگاری گل و زنده ماندن جنین در تکامل بذر و الیاف پنبه مؤثر هستند. گرده‌افشانی سبب تحریک رشد تخمک، جنین و تخمدان می شود و لقاح موفق نیز سبب افزایش ماندگاری گل در سطح بوته می‌گردد. بنابراین، افزایش راندمان گرده‌افشانی و لقاح در مزارع پنبه، سبب افـزایش بـازده تولیـد خواهد شد و برای این منظور استفاده از گرده‌افشان‌ها در مزارع پنبه و مدیریت صحیح زراعی مناسـب خواهد بود.

در تلاقی‌های بین‌گونه‌ای پنبه، به‌دلیل شروع ریزش گل و میـوه و همچنـین موانـع ناشـی از رشـد الیاف در سطح تخمک، برداشت و کـشت تخمـک‌هـای دارای جنـین نـارس حـداکثر ۳ روز پـس از گرده‌افشانی مناسب است. ولی در صورتی‌که موانع اجازه دهد برداشت دیرتر تخمک و جنین نارس از داخل تخمدان توصیه می‌شـود. در بـین گونـه‌هـای زراعـی پنبـه، گونـه ***G. barbadense*** از قابلیـت تلاقی‌پذیری مطلوب‌تری برخوردار بوده است، و احتمال داده می‌شود چنین تنوعی در داخل یک گونه نیز دیده شود، بنابراین بررسی تکمیلی در خصوص تنوع ژنتیکی و الگوی رشـد تخمـک و الیـاف در ماتریال‌های مختلف ژنتیکی پیشنهاد می‌شود.

منابع

1. Applequist, W., Cronn, R. and Wendel, J. 2001. Comparative development of fibers in wild and cultivated cotton, Evol. Develop. 3: 3-17.
2. Beasley, C.A. and Ting, I.P. 1974. Effects of plant growth substances on *in vitro* fiber development for unfertilized cotton ovules. Am. J. Bot. 61: 130-139.
3. Bhuyar, S.A., Sakhare, S.B., Dhumale, D.B. and Peshattiwar, P.D. 2000. Interspecific hybridization in the genus *Gossypium* through embryo culture J. Soils and Crops. 10: 1. 90-93.
4. Borole, V.K., Dhumale, D.B. and Rajput, J.P. 2000. Embryo culture studies in interspecific crosses between *arboreum* and *hirsutum* cottons. Indian J. Genetics and Plant Breeding, 60: 1. 105-110.
5. Bowman, D.T., Van Esbroeck, G.A., Vant Hof, J. and Jividen, G.M. 2001. Ovule fiber cell numbers in modern upland cottons. The J. Cotton Sci. 5: 81-83.
6. Eid, A.A.H., Delange, E. and Waterkeyn, L. 1973. In vitro culture of fertilized cotton ovules. I. The growth of cotton embryos. Cellule. 69: 361-371.

7.Feng, R. and Brown, R.M.J.R. 2000. A novel cotton ovule culture; Induction, growth and characterization of submerged cotton fibers (*G. hirsutum* L.). In Vitro Cult and Develop. Biol. Plant. 36: 293-299.
8.Gialvalis, S. and Seagull, R.W. 2001. Plant hormones alter fiber initiation in unfertilized, cultured ovules of *G. hirsutum* L. the J. Cotton Sci. 5: 252-258.
9.Girhotra, R.P., Sandhu, B.S. and Brar, K.S. 1999. Distant hubridization in cotton through embryo culture. Ann. Biol. Ludhiana, 15: 185-188.
10.Ikram, U.H. and Zafar, Y. 2004. Effect of nitrates on embryo induction efficiency in cotton (*Gossypium hirsutum* L.). African J. Biotechnol. 3: 319-323.
11.Joshi, P.C. and Johri, B.M. 1972. In vitro growth of ovules of *Gossypium hirsutum*. Phtomorphology, 22: 195-209.
12.Joshi, P.C. and Pundir, N.S. 1996. Growth of hybrid ovules of *Gossypium arboreum* × *G. hisutum* in vivo and in vitro. Indian Cotton J. 20: 23-29.
13.Liu, C., Shun, J. and Liu, J. 1992. *In vitro* interspecific fertilization, embryo development and formation of hybrid seedling between *G. hirsutum* and *G. arboreum*. Euphytica, 60: 79-88.
14.Mehetre, S.S., Thombre, M.V. and Tayyab, M.A. 1980. Cytomorphological studies in the hybrid between *G. hirsutum* × *Hibiscus panduraformis*. Euphytica, 29: 323-330.
15.Mehetre, S.S., Patel, S.C., Pawar, S.V., Pardedhi, S.U., Shinde, G.C. and Aher, A.R. 2004. Ovulo embryo cultured hybrid between amphidiploid (*Gossypium arboretum* × *Gossypium anomalum*) and *Gossypium hirsutum*. Current Sci. 87: 286-289.
16.Mehetre, S.S. and Aher, A.R. 2004. Embryo rescue: A tool to overcome incompatible interspecific hybridization in *Gossypium* Linn. Indian J. Biotech. 3: 37-40.
17.Mirza, M.A. and Shaikh, A.L. 1984. In-ovulo embryo culture of some incompatible species hubrids of *Gossypium*. Pakistan-Cottons. 28: 2. 117-126.
18.Mirza, M.A., Sheikh, A.L. and Anjum, Z.I. 1993. In-ovulo embryo culture of interspecific hybrids between some diploid Asian and Austeralian wild species of *Gossypium*. Pakphyton, 5: 109-117.
19.Pundir, N.S. 1974. In vitro growth response of hybrid embryos and ovules of cotton, 3rd International Conf. Plant Tissue and Cell Culture. Pp: 86-88.
20.Singh, P. and Narayanan, S. 1992. Role of morphological traits in the manifestation of heterosis in cotton. ISCI J. 17: 1-5.
21.Stewart, J.M. and Hsu, C.L. 1977. In-ovulo embryo culture and seedling development of cotton (*Gossypium hirsutum* L.). Planta. 137: 113-117.
22.Stewart J.M.C.D. 1984. *In vitro* fertilization and embryo rescue, Environmental and Exprimental Botany 21: 3/4. 301.

23. Thengane, S.S.V., Khuspe, S.S.M. and Thengane, A.F.S. 1986. Hybrization of *Gossypium* species through in-ovulo embryo culture. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 6: 209-219.
24. Vijayalakshmi, B. and Raveendran, T.S. 2000. Postfertilization barrier in crosses between *Gossypium triphyllum* and *G. hirsutum*. Phytomorphlogy, 50: 287-289.
25. Vlachostergios, D.N., Roupakias, D.G. and Mavromatis, A.G. 1998. Response to in vitro regeneration of immature zygotic embryos in cotton (*Gossypium* spp.). Proc. World Cotton Res. Conf. 2 Athens, Greece, Pp: 326-329.
26. Vlachostergios, D., Mavromatis, A., Kantartzi, S. and Roupakias, D. 2007. In vitro development of ovules obtained after pollination of cotton (*Gossypium* spp) flowers with pollen from okra (*Abelmoschus esculentus* L. Moench). Plant Cell and organ culture, 88: 109-115.
27. Yang, X., Zhang X.L., Lin, S.X. and Fu, L. 2007. Production and irradiation of asymmetric hybrids between upland cotton coker 201 (*Gossypium hirsutum* L.) and wild cotton (*G. kolzschianum* Anders*)*. Plant Cell, Tissue and organ culture. 89: 225-235.
28. Zhang, B.H. 2000. Regulation of plant growth regulators on cotton somatic embryogenesis and plant regeneration. Biochemistery, 39: 1567-1576.

Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

J. of Plant Production, Vol. 17(2), 2010
www.gau.ac.ir/journals

Identification of the best ovule maturity stage for interspecific hybridization in cotton

***O. Alishah[1], M.B. Bagherieh-Najjar[2] and M.R. Bihamta[3]**
[1]Assistant Prof., Dept. of Breeding, Cotton Research Institute, Gorgan,
[2]Assistant Prof., Dept. of Biology, Golestan University,
[3]Professor, Dept. of Agriculture Tehran University
Received: 3,8,2008 ; Accepted: 4,10,2010

Abstract

In order to identify the best maturity time for excision of fertilized ovules in interspecific hybridization, intercrosses were made between two diploid (*Gossypium herbaceum* and *G. arboreum*, 2n=26) and two tetraploid species (*G. barbadense* and *G. hirsutum*, 2n=52). Flower morphology, growth rate of ovules and ovaries, as well as fiber growth pattern in various time scales post anthesis were recorded in parents and hybrid plants and the data were analyzed based on factorial design. The results showed that the effect of genotype (G), day after pollination (DAP) and their interaction term (G×DAP) on ovule and ovary specifications were significant ($P \leq 0.01$). Various pre or post-fertilization factors affects on ovule growth and viability duration of *in-ovulo* embryos. Our data showed pollination is crucial for flower retention on plants, induction of ovary growth leading to embryo development. The studied cotton species showed differences in duration of non-fertilized flowers retention. Furthermore, we found that after emasculation the flowers retention period in *G. arboreum* was the shortest while in *G. barbadense* it was the longest. Our data reveal that the best time for excision of fertilized ovules to be transplanted *in vitro* in diploid × diploid and diploid × tetraploid hybridization was two or three days after pollination, respectively. Based on its cross ability, flower maintenance, ovule size and embryo growth *in vitro* cultures, *G. barbadense* was found to be superior to other parental lines; thus, might be suggested as a suitable donor parent in interspecific cotton hybridizations.

Keywords: Cotton, Ovule, Interspecific hybridization, Embryo rescue

---

* Corresponding Author; Email: omran_alishah@yahoo.com