استفاده از ژن یکساله (B) برای غربال کردن لاینهای مقاوم به ساقه رفتن (بولتینگ) درچغندرقند

سید یعقوب صادقیان
عضوهیات علمی موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر چغندرقند،کرج - ایران

چکیده :
دریک برنامه تست کراس ،زمان شروع گلدهی بین ۲۱ هیبرید یکساله مقایسه شد. هیبریدهای یکساله پس از تلاقی ۲۱ لاین چغندرقند گرده افشان با یک لاین نرعقیم *(AMS) یکساله بهدست آمدند.لاین یکساله نرعقیم بهعنوان شاهد درآزمایش مورد استفاده قرارگرفت.برای هرفامیل هیبرید فراوانی نسبی گیاهان درحال گل در هفتههای مختلف دوره گلدهی نشان داد،که بعضی ازهیبریدها زودتراز شاهد گل کردند. احتمال میرود که ژنهای کنترل کننده حساسیت به بولتینگ باعث تشکیل سریعتر گلها در هیبریدهای یکساله میگردند.چون ژنهایی بااثرات غالب هم درحساسیت وهم درمقاومت به بولتینگ دخالت دارند،باظهورچنین ژنهایی در هیبریدها،لاینهای خالص دو ساله چغندرقند که از نظر حساسیت به بولتینگ اختلاف کمی دارند،پس از تلاقی با یک لاین یکساله تفاوتهای فاحشی را نشان میدهند.تحقیقات بیشتر برای بهدست آوردن همبستگی بین زودرسی هیبریدهای یکساله و تمایل به بولتینگ گرده افشانهای مربوطه پس از تیمار با سرما الزامی است.

مقدمه :
چغندرقند گیاهی است دوساله که درسال‌اول تولید ریشه نموده ودرسال دوم به گل رفته وبذرمیدهد.بااین ویژگی که درسال دوم رویش پس از ورنالیزاسیون(نگهداری گیاه به مدت ۱۴-۱۰ هفته دردرجه حرارت ۴ تا ۸ درجه سانتیگراد)تحت شرایط طول روز بلند، گیاه تحریک شده و تولید گل مینماید.سرماو نور گیاه را از مرحله رویشی به مرحله زایشی میرساند. مدت و حدود درجه حرارت و طول روز،ژنوتیپ و سن گیاه مرحله زایشی چغندرقند راتحت تاثیر قرارمیدهد(۴).تحقیقات Owen و Ryser(۱۹۴۲)نشان داد،

* AMS = Annual Cytoplasmic Male Sterile

که عادت یکساله در چغندرقند نیازی به ورنالیزاسیون ندارد واین خاصیت توسط یک ژن غالب (B) کنترل می‌شود.علاوه براین، دو یا سه ژن یکساله دیگر در ژرم پلاسم چغندرقند پیدا شدکه عادت یکساله در گونه *Beta macrocarpa* را کنترل می‌کند(۱).
ژن یکساله B پس از تلاقی چغندریکساله با نوع دوساله‌در آن وارد شده است .وجود این ژن ایجاب می نماید،که زمان لازم برای دوره اصلاحی چغندرقند دو ساله باکوتاه نمودن دوره زایشی کاهش یابد.بااین حال حتی پس از چندین نسل بک کراس متوالی F1 با چغندرقند هنوزحساسیت به ساقه‌روی هیبریدهای حاصل کمی بیشتراز والد تکرار شونده می‌باشد(۵).Lysgaard (۱۹۷۸) نشان داد،که دراثر سلکسیون حساسیت به بولتینگ در توده چغندرقند حدود ۹۸-۸۸ درصد کاهش پیدا می‌کند.

در مطالعات ژنتیکی بولتینگ یک مدل ۳ پارامتری،میانگین،افزایشی و غالبیت در یک هیبرید بین دو لاین چغندرقند برآورد شد و هتروزیس منفی برای حساسیت به بولتینگ به‌دست آمد (۳).Gollife(۱۹۹۰) در یک تجزیه دی آلل کراس نشان داد، ژنهایی با اثرات افزایشی برای بولتینگ ازاهمیت خاصی برخوردارند.اگرچه ژنهایی بااثرات اپیستازی و غالبیت نیز مشاهده شد.دریک تجزیه فاکتوریل (۸) مشاهده شد که بیشتر ژنهای کنترل کننده مقاومت به بولتینگ برژنهای کنترل کننده حساسیت به بولتینگ غالب بودند.مطالعات بعدی نشان داد، که وراثت بولتینگ خیلی پیچیده است.دربعضی ازتلاقیها حساسیت به بولتینگ به‌صورت اثرات غالبیت بود(۹).
دراین تحقیق امکان شناسایی و گروهبندی لاینهای چغندرقند پس از تست کراس با یک لاین نرعقیم یکساله هدف اصلی محسوب می‌شود.

مواد وروشها:

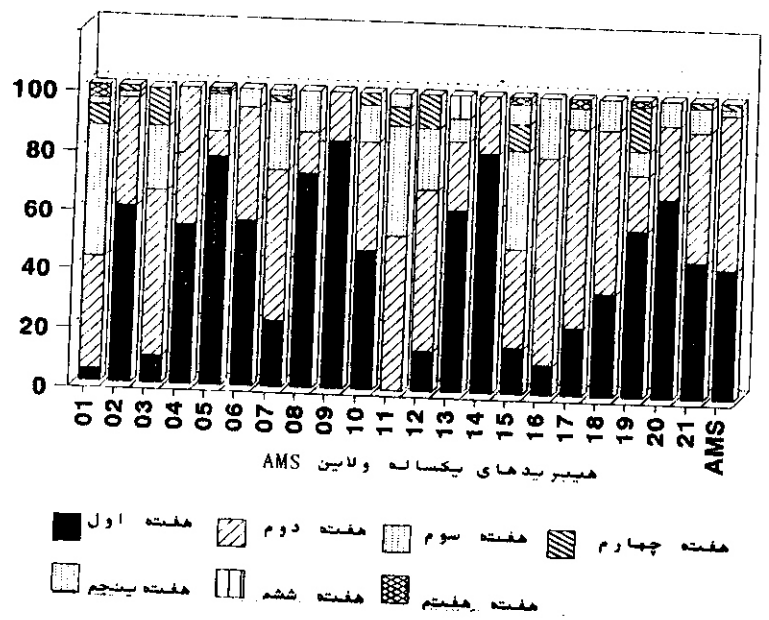
دربهارسال ۱۳۷۰ بذر ۲۱ لاین چغندرقند- که‌ازنظرتمایل به بولتینگ تفاوت داشتند- در گلخانه (سوئد،لندسکرونا،شرکت هیلزوک) کشت شد.گیاهان درمرحله ۸-۶ برگی به اتاقکهای ورنالیزاسیون منتقل شدند. پس از۱۲ هفته ورنالیزاسیون (دردرجه حرارت ۸°C-۴ و طول روز ۱۶ ساعت) درجه حرارت اتاقکها تدریجا"به ۱۳°C افزایش یافت (به‌طورمتوسط روزی ۱°C). بااین عمل وقتی درجه حرارت به ۱۳°C می‌رسد،اثرات ورنالیزاسیون در گیاه تثبیت می‌شود. ۶ هفته پس ازانتقال بوته‌های چغندرقند به اتاقکهای ورنالیزاسیون به‌طورهمزمان،بذر یک لاین نرعقیم یکساله نیز در گلخانه کشت شد تاامکان گلدهی لاینهای گرده افشان ولاین نرعقیم دریک زمان مشخص فراهم گردد.موقعی‌که بوته‌های نرعقیم به مرحله ۸-۶ برگی رسیدند،مصادف با پایان دوره

ورنالیزاسیون ۲۱ لاین مذکوربود. اشتکلینگهای لاینهای چغندرقند همراه با لاین نرعقیم به کابینهای ایزولاسیون،جهت تهیه هیبریدهای یکساله انتقال داده شد.مراقبتهای لازم طی دوره داشت ازقبیل حذف بوته‌های گرده‌افشان در لاین نرعقیم و سایر عملیات زراعی انجام شد.

بذرهیبرید تولیدشده ازلاین نرعقیم برداشت شد ودرپائیزهمان سال همراه بابذر لاین مادری (شاهد)،در گلخانه کشت گردید.دراین بررسی در حدود ۶۰ بوته برای هر ژنوتیپ درنظر گرفته شد. تقریبا" چهل روز بعد هیبریدهای یکساله شروع به گل نمودند.دوره گلدهی حدود ۷ هفته به‌طول انجامید.فراوانی نسبی گیاهان گلدار برای هر هیبرید در هفته‌های مختلف محاسبه و با لاین نرعقیم (شاهد) مقایسه شد.

نتایج :

تغییرات فراوانی نسبی زمان تشکیل گل درهیبریدهای یکساله ولاین مادری درشکل شماره ۱ نشان داده شده است.به‌طوری که ملاحظه می‌شود،فراوانی نسبی گیاهان درحال گل در هیبریدهای حاصل از ۷ لاین بیشتر و در ۹ لاین کمتراز لاین نرعقیم است.



شکل شماره ۱ : مقایسه‌زمان تشکیل گل درهیبریدهای یکساله که ازتلاقی ۲۱ لاین چغندرقند گرده افشان با یک لاین نر عقیم یکساله (AMS) بدست آمده است .

هیبریدهای حاصل از لاین شماره ۱۱ یک هفته دیرتر ازسایرهیبریدها شروع به تشکیل گل نمودند.هیبریدهای حاصل از سه لاین دیگر (لاینهای شماره ۴،۱۰و۲۱) از نظر تعداد گیاهان گلدار درهفته اول تقریبا" مشابه لاین نرعقیم است ولی فراوانی نسبی گیاهان در حال گل درسایر هفته‌ها مشابه نمی باشد.

بعضی از هیبریدها (مثل هیبریدهای حاصل از لاینهای شماره ۱،۳،۷و۱۵) دارای یک دوره گلدهی طولانی بودند.این پدیده می‌تواند،به‌دلیل وجود ژنهای متفاوت کنترل کننده تشکیل گل (ژنهای زود رسی -متوسط رسی و دیر رسی) باشد.بعضی دیگرازهیبریدها (حاصل ازلاینهای شماره ۴،۹،۱۴و۲۰) دوره گلدهی کمتری (حتی نسبت به شاهد) نشان دادند. وجود ژنهای کنترل کننده زود رسی دراین هیبریدها باعث ظهور چنین فنوتیپهایی گردید.در تعدادی دیگر از هیبریدها (حاصل از لاینهای شماره ۲،۶،۱۰،۱۷ و۱۸) از نظر مدت گلدهی یک حالت حدواسط ملاحظه شد.این حالت رامی‌توان در نتیجه تاثیر ژنهای زود رس و متوسط رس در گیاه تعبیرنمود.
تغییرات فنوتیپی حالات‌مختلف ممکن‌است ،بیشتردراثرژنهای غالبیت واپیستازی باشد.

بحث ونتیجه گیری :

مکانیزم بولتینگ ،تحت تاثیردوعامل مهم فیزیولوژیکی نوروحرارت است.ژنهای کنترل کننده دوره تابش نوربا افزایش طول روز اثرات خود رابروز می‌دهد.از طرفی طول روز و درجه حرارت ممکن است تحت شرایط خاصی،اثرات مکمل داشته باشد و تحت شرایط ویژه اثریکدیگر راخنثی کنند. اثرات متقابل ژنهای کنترل کننده دو عامل فیزیولوژیکی فوق الذکر ممکن است ،به‌صورت اثرات اپیستازی بولتینگ ظاهرشود (۹).

بنابراین تغییرات شروع ومدت گلدهی هیبریدهای یکساله (چغندرقند x لاین یکساله) را می‌توان در نتیجه بروزاثرات ژنتیکی غالب و اپیستازی متفاوت بین هیبریدها دانست.

هیبریدهای حاصل از لاینهایی که زودتراز گیاهان یکساله به گل رفته‌اند،ممکن است دارای ژنهای کنترل کننده حساسیت به بولتینگ باشند و بنابراین پس از تلاقی با گیاهان یکساله سریعترازلاین یکساله تشکیل گل دادند.لاینهایی راکه هیبرید آنهااز نظر مدت گلدهی وفراوانی نسبی گیاهان در حال گل حالت متوسطی را نشان دادند،ممک است بجزژن یکساله (B) ازنظرسایرژنها تقریبا" مشابه لاین مادری یکساله باشد.

لاینهایی که دیرترازلاین شاهد به گل رفته‌اند،بیشترحامل ژنهای مقاوم به بولتینگ هستند.اثراین ژنها درحالت غیرافزایشی تاخیردرگلدهی هیبریدهای یکساله راموجب گردید.به‌علاوه اگرفرض شود که تمام ژنهای کنترل کننده بولتینگ (بجز ژن B) درلاین نرعقیم به صورت مغلوب وجوددارد، جهت اثرات ژنی در حالت غلبه دوطرفه (Bidirectional dominance effects) نیز ممکن است چنین تغییراتی رادرهیبریدهای یکساله پدید آورد.

شکی نیست ،که‌تعداد زیادی ژن،تمایل به بولتینگ رادرچغندرقندکنترل می‌کند.هم ژنهای اصلی وهم ژنهای فرعی(پلی ژن)درتنظیم‌اثردرجه حرارت پایین و دوره نوردخالت دارد.

پس از چند نسل سلکسیون، فراوانی ژنهای اصلی کنترل کننده صفت بولتینگ در یک توده چغندرقند را ،می‌توان به‌طور قابل توجه‌ای افزایش داد.این نتیجه گیری با نتایج حاصل ازبررسیهای قبلی (۶و۸) مطابقت دارد.درمطالعات قبلی اثرات افزایشی ژنها، مهمترین جزء تغییرات ژنتیکی بولتینگ راتشکیل میداد.افزایش مقاومت به بولتینگ پس ازسلکسیون در یک توده دلیل این ادعاست.

علاوه بر ژنهای اصلی، اثرات ژنهای فرعی را نباید از نظر دورداشت. در یک برنامه تلاقی برگشتی بین F1 حاصل از چغندر قند دوساله x چغندریکساله باوالد چغندرقند، پس از چند نسل متوالی هنوز تلاقیهای به‌دست آمده بیشتراز والد تکرارشونده (Recurrent) بولت می‌کند. (۵) .به‌علاوه دراین قبیل هیبریدها، گیاهان حاوی ژن یکساله B نیزحتی در شرایط نور دائم بموقع بولت نکردند.جداسازی گیاهان یکساله از توده ،فقط ازطریق تیماریک دوره سرمای کوتاه مدت امکان پذیراست. این نوع ترکیب ژنتیکی رامی‌توان به تجمع تدریجی ژنهای مقاوم به بولتینگ پس از چند نسل بک کراس ،نسبت داد.

اثرات ژن یکساله ،نیاز ورنالیزاسیون درچغندرقند راازبین می‌برد.این‌طوربه‌نظر می‌رسد که این ژن مستقل از ژنهای دوساله در ظهوربولتینگ تاثیرمی‌گذارد.همچنین اثرات مشترک ژنهای یکساله و دوساله تغییرات بولتینگ و گلدهی را درهیبریدهای یکساله پدیدمی‌آورد ،یعنی ژن B بدون ورنالیزاسیون گیاه راواداربه بولت می‌نماید.ولی تاثیر ژنهای دوساله (با توجه به جهت غلبه) روی ظهور فنوتیپی می‌تواند،در به جلو انداختن گلدهی (ژنهای حساس) و یا به تاخیرانداختن گلدهی (ژنهای مقاوم)، کمک نماید.

Sadeghian و همکارانش (۱۹۹۳) نشان دادند،که مدلهای ژنتیکی متفاوتی برای وراثت به بولتینگ وجود دارد و ژنتیک بولتینگ یک عکس العمل پیچیده در مقابل عوامل محیطی است.از طرفی دو عامل فیزیولوژیکی نور و درجه حرارت و ازطرف دیگر دو فاززایشی بولتینگ و گلدهی قابل تفکیک بوده و ممکن است هریک از عوامل فیزیولوژیکی درهریک ازفازهای مذکور سیستم ژنتیکی مستقلی داشته باشند. پیشنهاد میشود که تحقیقات ژنتیکی جداگانه این دو سیستم در هریک از فازهاانجام شود. برای این منظور باید لاینهای مقاوم و حساس برای فاکتور محیطی سلکسیون شوند،سپس در یک برنامه هیبریداسیون بااستفاده از ژنتیک کلاسیک و تجزیه ملکولی شاید بتوان به اطلاعات جامعی دررابطه باساختار ژنتیکی و ملکولی نیاز به ورنالیزاسیون در چغندرقند دست یافت.

بههرحال ممکن است،از لاین یکساله چغندرقند برای شناسائی و گروه جفت‌بندی لاینهای مقاوم به بولتینگ دراصلاح نباتات کاربردی استفاده کرد.اخیرا" در بهنژادی برای پیدا کردن اتایپ (O-type) در یک توده چغندرقند،از لاینهای CMS دو ساله و یکساله استفاده میکنند.بذر هیبرید حاصل از نرعقیم یکساله پس از برداشت بلافاصله درهمان فصل زراعی برای شناسائی تیپهای اتایپ لاینهای کرده افشان کشت میشود. مقاومت به بولتینگ آنها با توجه به زمان شروع گلدهی قابل بررسی است و لاینهای مقاوم را میتوان گروه بندی نمود.لازم به ذکراست که قبل از استفادهعملی از این روش دراصلاح چغندرقند،ضرورت دارد،همبستگی بین تمایل به بولتینگ هیبریدهای یکساله و لاینهای کرده افشان دو ساله مورد بررسی قرارگیرد.

منابع مورد استفاده:

1-Abe, J., H., Yoshikawa, and C., Tsyda, 1987. Genetic analysis for annual and early- flowering habit of *Beta macrocarpa* Guss., related species of *B. vulgaris L.*: An analysis with enzymecoding loci as chromosome markers. J. Fac. Agr. Hokkaivo univ. 63 (3): 245- 2522-

2-Golliffe, T.H., 1990. Genetical studies in relation to breeding objectives in sugar beet. Thesis, Univ. East Anglia, Norwich, England.

لاین دخ کننده نر عقیمی در چغندرقند = O-type

لاین نرعقیم سیتوپلاسمی = Cytoplasmic Male Sterile

3-Le Cochec, F., P., and Soreau, 1989. Mode d'action des genes et heterosis pour le caractere montee au graines dans le croisement de deux lignees fixees de betterave a sucre *(Beta vulgaris L.)*. Agronomie 9: 585- 590

4-Lexander, K., 1980. Present Knowledge of sugar beet bolting mechanisms.43th winter corgress of the I.I.R.B. : 245- 258

5-Lichter, R., and G.H., Vieweg, 1969. Die Verwendung annueller zuckerruben in ruckkreuzungsprogrammen, dargestellt am Beispiel Zuchtung auf Einzelfruchtigkeit (Monokapie) I.I.R.B. 3(4): 182- 194

6-Lysgaard, C.P., 1978. Selection for reduced bolting susceptibility in beets and sweeds, and the influence of environmental factors on bolting. Kgl. Vet oy landbohoysk. Arsskr. : 138- 158

7-Owen, F.V., and G.K., Ryser, 1942. Some Mendelian characters in Beta vulgaris and linkages observed in the Y.R.B. group. Jour. Agri. Res. 65(3): 155- 171

8-Sadeghian, S.Y., and E., Johansson, 1993. Genetic study of bolting and stem length in sugar beet *(Beta vulgaris L.)* using a factorial cross design. Euphytica 65: 177- 185

9-Sadeghian, S.Y., H.C., Becker, and E., Gohanllon, 1993. Inheritance of bolting in three sugar beet crosses after different periods of veranalization. Plant Breeding 110: 328- 333