

## ارزیابی ژنتیکی و سیتوژنتیکی دو توده کلم وحشی

### اشکبوس دهداری (۱)، حکیمه کرمی (۲)

۱- استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج ۲- کارشناس گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج

کشور ایران از نظر منابع ژنتیکی گیاهی بسیار غنی است که عمده آنها به صورت وحشی و خودرو می‌باشند. شناسایی و ارزیابی این ژنوتیپ‌ها به اصلاحگر در راستای اصلاح ارقام زراعی کمک می‌کند. به منظور بررسی ژنتیکی و سیتوژنتیکی دو توده کلم وحشی (شامل کلم وحشی یاسوج و کلم وحشی کاکان) این پژوهش در شرایط گلخانه و آزمایشگاه ژنتیک دانشگاه یاسوج به اجرا در آمد. نتایج حاصل از تجزیه واریانس یک‌طرفه و مقایسه میانگین‌ها نشان داد که دو ژنوتیپ از نظر تمامی صفات مورفولوژیک بجز تعداد شاخه‌های فرعی، تعداد برگ در مرحله رویشی، وزن تر و خشک در مرحله رویشی تفاوت معنی‌دار در سطح یک درصد داشتند. کلم وحشی کاکان از نظر اکثر صفات نسبت به کلم وحشی یاسوج برتر بود. اما نتایج حاصل از مطالعه کروموزومی بیانگر شباهت زیاد درون گونه‌ای بود. در بین صفات متعدد اندازه‌گیری شده تنها نسبت طول کل کروموزوم شماره ۷ و نسبت طول بازوی کوتاه کروموزوم شماره ۶ بودند که دو توده کلم وحشی از نظر آنها تفاوت معنی‌داری داشتند. بعلاوه هر دو ژنوتیپ دارای تقارن کروموزومی بالا بودند. شرایط آب و هوایی مناطق جمع‌آوری شده این دو ژنوتیپ تقریباً مشابه و بنابراین این نتیجه دور از انتظار نبود. در مجموع نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که لزوماً تنوع ژنتیکی با تنوع سیتوژنتیکی هم‌خوانی ندارد. با توجه به اینکه در بروز صفات زراعی فاکتورهای محیطی و خطای آزمایشی نقش زیادی ایفا می‌کنند، استناد به تنوع سیتوژنتیکی نتایج قابل اطمینان‌تری به دست می‌دهند.

کلمات کلیدی: کلم وحشی، تنوع سیتوژنتیکی، تنوع ژنتیکی

### مقدمه

شناسایی ژنوتیپ‌های داخل جنس براسیکا علاوه بر این‌که کمک به شناسایی رابطه تکاملی آنها می‌کند می‌تواند به اصلاحگر در راستای شناسایی آلل‌های مورد نظر و کنترل‌کننده صفات مطلوب و در نهایت انتقال آنها به ارقام زراعی کمک کند (ردن و همکاران، ۲۰۰۹). کلم وحشی با نام علمی *B. oleracea L.* یکی از گونه‌های جنس براسیکا و بومی اروپای غربی است. نظر به اینکه مواد غذایی زیادی در خود ذخیره می‌کند می‌تواند به صورت خام یا پخته مصرف شود. این گیاه سرشار از ویتامین C است. *B. oleracea* به صورت علوفه‌ای مورد مصرف دام قرار می‌گیرد. این گیاه دارای ژن‌های مهمی است که ویژگی‌های خوبی از جمله مقاومت به تنش‌های زنده و غیر زنده را کنترل می‌کنند (کروچ و همکاران، ۱۹۹۴ و رامسی و ایلس، ۱۹۹۴). به همین دلیل می‌تواند منبع ژنتیکی بسیار خوبی برای اصلاح این جنس بخصوص کلزا باشد. تاکنون مطالعه‌ای در خصوص ارزیابی ژنتیکی و کروموزومی این گونه در ایران گزارش نشده است. به همین دلیل مطالعه حاضر با جمع‌آوری بذور دو توده کلم وحشی طراحی و اجرا گردید.

### مواد و روش کار

بذور دو توده کلم وحشی یاسوج و کلم وحشی کاکان در گلدان‌هایی به قطر ۴۰ سانتی‌متر و ارتفاع ۳۵ سانتی‌متر در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار کشت شدند. خصوصیات فنولوژیکی، مورفولوژیکی و زراعی اندازه‌گیری شده عبارت بودند از وزن تر و خشک در مرحله رویشی، ارتفاع بوته، سطح برگ، تعداد برگ، تعداد شاخه‌های فرعی، وزن کل بیولوژیک و عملکرد بذر تک‌بوته. بررسی کروموزوم‌های میتوزی دو توده فوق‌الذکر به روش استوآیرون همتوکسیلین در آزمایشگاه ژنتیک دانشگاه یاسوج انجام شد. از هر ژنوتیپ سه نمونه مطلوب انتخاب و بوسیله نرم افزار امیج تول به طرز دقیقی مشخصات کروموزومی اندازه‌گیری و در نهایت صفات نسبت طول کل کروموزوم، نسبت طول بازوی کوتاه، نسبت طول بازوی بلند، شاخص سانترومری، درصد شکل کلی (TF)، اختلاف طول نسبی (DRL)، شاخص عدم تقارن درون کروموزومی (A<sub>1</sub>) و شاخص عدم تقارن بین کروموزومی (A<sub>2</sub>) تعیین و بعد از آزمون نرمال بودن تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها صورت پذیرفت.

## نتایج و بحث

دو ژنوتیپ از نظر تمامی صفات مورفولوژیک بجز تعداد شاخه های فرعی، تعداد برگ در مرحله رویشی، وزن تر و خشک در مرحله رویشی تفاوت معنی دار در سطح یک در صد نشان دادند (مشاهدات نشان داده نشده‌اند). مقایسه دو ژنوتیپ کلم وحشی در جدول یک آورده شده‌است. در بین دو ژنوتیپ توده کلم وحشی کاکان از نظر اکثر صفات نسبت به کلم وحشی یاسوج برتر بود. از آنجا که اصلاح نباتات وابسته به این تنوع است باید برترین ژنوتیپ‌ها را که دارای صفات مطلوب هستند شناسایی تا بتوان از آنها در برنامه های آتی استفاده کرد.

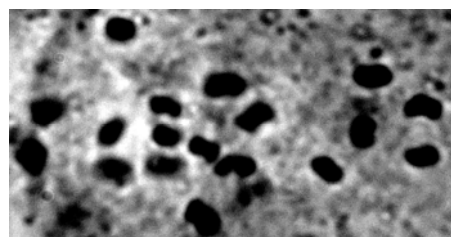
جدول ۱. مقایسه میانگین دو ژنوتیپ کلم وحشی از نظر صفات زراعی مورد مطالعه به روش LSD در سطح ۵٪

ژنوتیپ	وزن تر رویشی سطح (گرم)	برگ‌وزن رویشی (سانتی متر مربع) (گرم)	خشک‌وزن بیولوژیک (گرم)	کل وزن دانه (گرم)	وزن هزار دانه (گرم)
کلم وحشی کاکان	۱۲/۷۵ <sup>a</sup>	۲۷۳۲۶ <sup>a</sup>	۱/۶۰۷ <sup>a</sup>	۲۴/۰۸ <sup>a</sup>	۱/۶۹۶۷ <sup>a</sup>
کلم وحشی	۱۱/۹۵ <sup>a</sup>	۱۵۱۶۷ <sup>b</sup>	۱/۸۲۳ <sup>a</sup>	۱۱/۵۰ <sup>b</sup>	۰/۲۳۳۳ <sup>b</sup>
یاسوج					

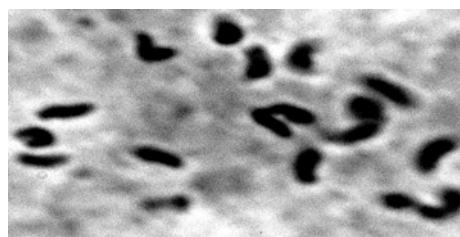
در هر ستون میانگین هایی که حرف مشترک دارند از نظر آماری تفاوت معنی دار ندارند.

در ایران در خصوص مقایسه و بررسی تنوع ژنتیکی کلم وحشی مطالعه‌ای انجام نشده است. اما در خارج از کشور مطالعاتی در خصوص بررسی تنوع ژنتیکی آنها انجام شده به عنوان مثال در مطالعه‌ای توسط ردن و همکاران (۲۰۰۹) تعداد ۵۰ لاین از ۲۸ گونه جنس براسیکا شامل کلزا، کلم وحشی و خردل به منظور بررسی تنوع ژنتیکی در استرالیا بکار گرفته شدند. آنها به کمک نشانگرهای SSR و خصوصیات مورفولوژیک بخوبی توانستند رابطه تکاملی و میزان قرابت گونه‌های مورد مطالعه را گزارش نمایند. کاهلن و همکاران (۱۹۹۹) از طریق تلاقی های بین گونه ای توانستند از تلاقی *B. campestris* و *B. oleracea* رقم کلزایی تولید نمایند که به منگنز متحمل باشد. آنها همچنین گزارش کردند که ژن مسئول مقاومت به ریزش بذر (*scx-7*) در *B. rapa* و *B. napus* وجود دارد اما در *B. oleracea* موجود نیست.

شکل ۱ کروموزوم‌های متافازی میتوز دو جمعیت کلم وحشی را نشان می‌دهد. دو ژنوتیپ کلم وحشی مورد مطالعه تنوع چندانی از نظر ویژگی‌های کروموزومی اندازه‌گیری شده نشان ندادند (مشاهدات نشان داده نشده‌اند). تعداد کروموزوم‌ها در هر دو توده  $2n=18$  بود. در بین صفات متعدد اندازه‌گیری شده تنها نسبت طول کل کروموزوم شماره ۷ و نسبت طول بازوی کوتاه کروموزوم شماره ۶ بودند که ژنوتیپ‌ها از نظر آنها تفاوت معنی داری داشتند. شرایط آب و هوایی مناطق جمع‌آوری شده این دو ژنوتیپ تقریباً مشابه و بنابراین این نتیجه دور از انتظار نیست. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که نسبت طول کل کروموزوم شماره ۷ و نسبت طول بازوی کوتاه کروموزوم شماره ۶ در توده کلم وحشی یاسوج به ترتیب با میانگین‌های ۵/۳۶ و ۲/۵۶ تفاوت معنی داری نسبت به توده کلم وحشی کاکان با مقادیر ۴/۸۶ و ۱/۸۳ داشت. در رابطه با مطالعه کاریوتیپی این گونه بخصوص توده‌های وحشی گزارشی از ایران در دسترس نیست. جدول ۲ تجزیه واریانس چهار ویژگی  $A_1$ ،  $A_2$ ، TF و DRL را نشان می‌دهد. دو ژنوتیپ کلم وحشی از نظر هیچکدام از ویژگی‌های فوق تفاوت معنی دار نشان ندادند. که حاکی از تقارن کروموزومی بالا و شباهت دو توده مورد بررسی بود.



کلم وحشی یاسوج



کلم وحشی کاکان

شکل ۱ - کروموزوم‌های میتوزی دو توده کلم وحشی مورد مطالعه

جدول شماره ۲ - میانگین مربعات ویژگیهای A<sub>۱</sub>, A<sub>۲</sub>, TF و DRL در کلم وحشی

نوع گونه	A <sub>۱</sub>	A <sub>۲</sub>	TF	DRL
کلم وحشی	۰/۰۰۶۰ <sup>ns</sup>	۰/۰۱۲۲ <sup>ns</sup>	۵۸/۰۹۵۰ <sup>ns</sup>	۲/۷۲۱۳ <sup>ns</sup>

<sup>ns</sup> غیر معنی دار در سطح احتمال پنج درصد را نشان می دهد.

از مطالعات سیتولوژی برای شناسایی هیبریدهای بین گونه‌ای به وفور استفاده شده است. شیدایی و همکاران (۲۰۰۸) تنوع سیتوژنتیکی بین پنج گونه جنس *Silene* را مطالعه و تنوع وسیعی از نظر سطح پلوئیدی، TF و سایر ویژگی‌ها گزارش کردند. اصغری ذکریا (۲۰۰۷) در یک بررسی دو جمعیت *squarossa* از نظر ویژگی‌های کروموزومی شامل طول کل کروموزوم، طول بازوی کوتاه و بلند کروموزوم، DRL، TF و نسبت طول کوتاه‌ترین کروموزوم مورد مطالعه قرار داد. در مجموع نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که لزوماً تنوع ژنتیکی با تنوع سیتوژنتیکی هم‌خوانی ندارد. با توجه به اینکه در بروز صفات زراعی فاکتورهای محیطی و خطای آزمایشی نقش زیادی ایفا می‌کنند، استناد به تنوع سیتوژنتیکی نتایج قابل اطمینان‌تری به دست می‌دهند.

#### منابع مورد استفاده

- Asghari-Zakaria R. 2007. Karyological studies in two natural population of *Boissiera squarossa*. *Int. J. Agric.Biol.* **9**: 779-781.
- Crouch J.H., Lewis B.G. and Mithen R.F. 1994. The effect of a genome substitution on the resistance of *Brassica napus* to infection by *Leptosphaeria maculans*. *Plant Breed.* **112**: 265-278.
- Kahlon R., Pang E., Salisbury P., Kadkol G. and Tylor P. 1999. Resynthesis of *B. napus* from *B. oleracea* and *B. campestris* to provide useful traits for canola breeding. 10<sup>th</sup> International Rapeseed Congress, Canberra, Australia.
- Ramsey A.D. and Ellis P.R. 1994. Resistance in wild *Brassica* to the cabbage whitefly, *Aleyrodes proletella*. *Proceedings of the Ninth CruciferGenetics Workshop. Acta Horticulturae* 407.
- Redden R., Vardy M., Edwards D., Raman H. and Batley J. 2009. Genetic and morphological diversity in the *Brassicac*s and wild relatives. 16<sup>th</sup> Australian research assembly on *brassicac*s, Ballarat Victoria. Pp 1-5.
- Sheidai M., Nikoo M. and Gholipour A. 2008. Cytogenetic variability and new chromosome number reports in *Silene L.* species (Sect. *Lasiostemones*, Caryophyllaceae). *Acta Biol Szeged* **52**: 313-319.