علی محمد عزیزی
کارشناس به نژادی مرکز تحقیقات

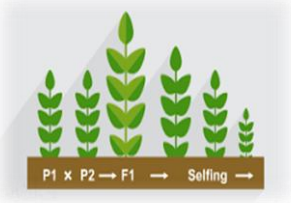
هتروزیس و تظاهر آن در سبزی‌ها

Heterosis and its expression in vegetables

پدیده ی هتروزیس در سال ۱۹۱٤ برای اولین بار توسط شال کشف شد (shall et al, 1914). بعد از آن پیشرفت های قابل ملاحظه ای در افزایش کیفیت و کمیت گیاهان زراعی به وجود آمد. پدیده‌ی هتروزیس به بنیه ی هیبرید اشاره دارد و محور بیشترین توسعه و تولید محصولات زراعی منجمله سبزیجات را سبب شده است. سرمایه گذاری در تکنولوژی تولید بذور هیبرید از راه‌های پر درآمد بخصوص برای کشورهای در حال توسعه بشمار می‌رود. استفاده‌ی موثراز پدیده‌ی هتروزیس موجب توسعه-ی صنعت بذر در سطح وسیعی ازجهان شده است (کالو، ۱۳۹۰). هزینه‌ی تولید بذور هیبرید بسیار بالاست و همچنین پیشرفت‌های عملی تنها در تعداد اندکی از گیاهان میسر شده است و در حال حاضرتولید آن به چند کشور توسعه یافته اختصاص دارد که شرکت‌های تولید کننده حاضر به ارائه‌ی دانش فنی خود به دیگر کشورها نیستند(آمارجیت بسرا، ۱۳۸٦). هدف از این مقاله معرفی پدیده‌ی هتروزیس و بررسی آن در سبزیجات و ارائه پژوهش‌های صورت گرفته برای تولید ارقام هیبرید در گیاه فلفل (سبز و دلمه‌ای) می‌باشد.

هیبرید

دورگه ها (هیبرید ها) معمولاً بنیه و تناسب بیشتری را نسبت به والدینشان به نمایش می گذارند. این خاصیت را «بنیه هیبریدی» یا هتروزیس (برتری دورگه) می نامند. هیبرید ها با برخورداری از این پدیده قادر به برتری در سازگاری، عملکرد، مقاومت و کیفیت نسبت به والدین می شوند. این افراد معمولاً نسبت به تنش‌های زیستی و غیر زیستی تحمل بیشتری دارند. مزیت تولید هیبرید نسب به سایر روش های اصلاح کلاسیک از جمله اصلاح از طریق موتلاسیون و شجره ای و ... این است که هتروزیس فقط در نسل اول بعد از تلاقی دو والد (f1) اتفاق می افتد(شکل ۱) و در نسل های بعد به علت تفرق صفات پدیده‌ی هتروزیس مشاهده نمی شود و لذا کپی رایت و تکثیر این بذرها به سادگی امکان پذیر نمی‌باشد و از این رو از لحاظ تجاری بسیار دارای اهمیت است چرا که حق تکثیر فقط در دست کسانی است که لاین‌های مادری آن گیاه را داشته باشند.



شکل ۱: نسل f1 و بنیه‌ی آن نسبت به والدین و نسل های بعد از خودش

مبنای ژنتیکی هتروزیس

الف) فرضیه غالبیت:

براساس این فرضیه، هتروزیس نتیجه انباشت و تراکم آلل های غالب در فرد هیبرید است. همواره در زمان لقاح، شانس اینکه تعداد بیشتری از مکانهای ژنی در یك هیبرید، هتروزیگوس و غالب شوند، وجود دارد.

ب) فرضیه فوق غالبیت:

براساس این نظریه، هتروزیس نتیجه فوق غالبیت آلل‌های غالب در شرایط هتروزیگوسیتی است. مجموعه‌هایی از آلل‌هایی که به تدریج کارکرد فراتر از والدین را افزایش می دهند مسئول هتروزیس هستند. هتروزیس ناشی از تکمیل سازی بین آلل های واگرا است.

(ج) فرضیه اپیستازی (اثر متقابل ژنها):

اپیستازی، اثرمتقابل بین آلل های دویا چند مکان ژنی مختلف است. اثرمتقابل غیرآللی ممکن است از نوع (افزایشی×افزایشی)، (غالبیت × غالبیت) یا (غالبیت× افزایشی) باشد (فارسی، ۱۳۸۹).

انواع هتروزیس

هتروبلوتیوزیس: هرگاه عملکرد نتاج هیبرید از والد برتر بیشتر باشد در این صورت هیبرید حاصل جزء این دسته قرار خواهد گرفت.

هتروزیس نسبی : که عملکرد نتاج نسبت به متوسط والدین بیشتر باشد حاصل می‌شود.

هتروزیس منفی: زمانی اتفاق می افتد که عملکرد نتاج از عمکرد والدین کمتر باشد. معمولا اصلاحگران در اصلاح صفاتی همچون زودرسی و ارتفاع به دنبال هتروزیس منفی هستند.

هتروزیس استاندارد: برتری نسبت به والد شاهد

شرکت های تولید کننده ی بذر همواره در رقابت بر سر انتخاب بهترین بذر هیبرید با توجه به سازگاری مناطق مختلف هستند و مبنای کار آنها هتروزیس استاندارد است. در هتروزیس استاندارد عملکرد نتاج از عملکرد والد شاهد بیشتر می باشد (فارسی، ۱۳۸۹).

مراحل تولید ارقام هیبرید

۱- خویش آمیزی و تولید لاین‌های خویش آمیخته

خویش آمیزی عبارت است از آمیزش افراد دارای خویشاوندی نزدیک که به ایجاد تعداد زیادی از لاین‌های هموزیگوس منجر می شود. ژنوتیپ‌های مغلوب اکثرا کشنده و مضر هستند و خویش آمیزی منجر به افزایش خلوص آنها می‌شود که به این ترتیب از قدرت رشد گیاهان کاسته شده و گیاهان نسل به نسل دچار پسروی ژنتیکی می‌شوند(شکل ۲). در گیاهان خودگشن مانند گوجه فرنگی و بادنجان و فلفل و لوبیا از لاین‌های خالصی که در کلکسیون نگه‌داری می شوند می‌توان به عنوان لاین‌های خویش

آمیخته مورد استفاده قرار داد. در گیاهان دگرگشتن مانند کلم‌ها و سبزی‌های ریشه‌ای و گیاهان پیازدار و کدوییان لاین‌های خویش آمیخته به طور مصنوعی و از طریق خودباروری تولید می‌شوند. تعداد نسل‌های خویش‌آمیزی یا خودباروری مصنوعی به درجه‌ی پس روی خویش‌آمیزی در گیاهان بستگی دارد. درجه‌ی بالایی از پس روی خویش آمیزی در کلم بروکسل، کلم ساقه، کلم بروکلی و درجه‌ی متوسط تا پایین‌تر در تربچه و هویج و پیاز و چغندر مشاهده شده است. نتایج حاکی از آن است که در سبزیجات، کدوییان دچار پس روی خویش‌آمیزی نمی‌شوند. نگه‌داری لاین‌های خالص با درصد خلوص بالا بسیار مشکل و از بخش های لاینفک تولید بذر به شمار می‌آید(کالو، ۱۳۹۰).

شکل ۲- خویش آمیزی برای تولید لاین خالص

۲- آزمون ترکیب پذیری و تلاق والدهای برتر

گزینش لاین‌های خویش آمیخته یا واریته‌ها بر مبنای ترکیب‌پذیری عمومی و ترکیب‌پذیری خصوصی آنها ضروری است. مقادیر ترکیب‌پذیری خصوصی معیار دقیق‌تری از قابلیت ترکیب را فراهم می‌نماید.

طرح‌های آمیزشی برای آزمون ترکیب پذیری عبارت‌اند ازسینگل‌کراس، دابل‌کراس، تری وی کراس، تاپ‌کراس و پلی‌کراس و دای آلل کراس.در تولید ارقام هیبرید گزینش والدین بر مبنای ترکیب پذیری خصوصی قابل اعتمادتر است. با این وجود والدین را می شود از طریق فاصله‌ی ژنتیکی انتخاب کرد و معمولا در تعدادی از سبزی‌ها از تلاق والدینی که در فاصله ی ژنتیکی دورتری از هم قرار دارند، هیبریدهای مطلوبی به دست می‌آید(کالو، ۱۳۹۰).

۳- تلاق لاین‌های منتخب

بعد از انتخاب برترین دو رگ‌ها اقدام به تلاق و تولید بذر هیبرید می‌نمایند. البته برای تولید در سطح تجاری نیاز به روش‌هایی هست تا بتوانیم تولید بذور هیبرید را از نظر اقتصادی قابل توجیه کنیم.

انواع تلاق ها در تولید ارقام هیبرید:

هیبرید سینگل کراس: از تلاق و آمیزش دو لاین به دست می آیند.

هیبرید تری وی کراس: این نوع از تلاقی سه لاین به وجود می آید. ابتدا دو لاین با هم تلاقی داده می شود و سپس هیبرید سینگل کراس حاصل با لاین سوم تلاقی می یابد.

هیبرید دابل کراس: هیبریدی است که درآن ابتدا دو هیبرید سینگل کراس تولید می شود و سپس هیبرید ها با هم تلاقی می یابند. ٤ لاین مشارکت دارند(کالو، ۱۳۹۰).

اصلاح واریته‌ها و لاین‌های خویش آمیخته

کارایی هیبریدها و عملکرد کمی و کیفی واریته‌ها به لاین‌های خویش آمیخته‌ی مربوط بستگی دارد. در برخی از موارد برای تولید ارقام هیبرید مقاوم به بیماری‌ها ابتدا باید لاین‌های والدینی و خالص شده اصلاح شوند که از طریق تلاقی برگشتی و تلاقی متقارب این امکان وجود دارد(کالو، ۱۳۹۰).

تولید بذور هیبرید در سطح تجاری

۱ - استفاده از سیستم نر عقیمی ژنتیکی:

استفاده از این تکنیک نیاز به اخته کردن تک تک بوته ها به صورت ژنتیکی را برطرف می کند و بوته‌ها دیگر توانایی تولید دانه‌ی گرده را نخواهند داشت. برای تولید بذر هیبرید با این روش باید از لاین‌های نر عقیمی استفاده کرد که حساسیت کمتری به عوامل محیطی دارند. زیرا بارها مشاهده شده که در دمای بالا یا بروز تغییرات نوری صفت نر عقیمی بروز نمی‌دهند. برای نگه داری لاین نرعقیم، آن را با یک لاین نرعقیم که هتروزیگوت است کشت شده و یک دوم نتاج حاصل نرعقیم و بقیه نر بارور هستند(کالو، ۱۳۹۰).

۲- نرعقیمی ژنتیکی_سیتوپلاسمی:

عامل نرعقیمی سیتوپلاسمی ژن مغلوب ms است که در سیتوپلاسم(میتوکندری) قرار دارد. برای تولید لاین نر عقیم در گیاهانی عامل نرعقیمی در آنها زنتیکی-سیتوپلاسمی است ژن های هسته ای و ژن‌های سیتوپلاسمی هر دو باید عقیم باشند.

برای استفاده از این سیستم در تولید بذر هیبرید سه لاین مورد نیاز می‌باشد:

- ۱-لاین A نرعقیم که هم سیتوپلاسم و هم هسته حامل ژن مغلوب نر عقیمی (ms ms) باشند.
- ۲- لاین B نر باروری (نگه دارنده) که از نظر سیتوپلاسمی نرعقیم و از نظر ژنتیکی نر بارور باشند (MS MS).
- ۳-لاین C والد گرده دهنده (بسرا، ۱۳۸٦).

۳- استفاده ازسیستم خودناسازگاری

برای این منظور از لاین‌های خودناسازگار هموزیگوت و در عین حال سازگار به تلاقی استفاده می‌شود. برای تولید این لاین‌ها آنها را در طی دو الی سه نسل وادار به خودگشنی می‌کنند.

آزمون هموزیگوتی: مقداری از لاین‌های خویش‌آمیخته را دوباره با هم می‌کارند ، در صـــورت عدم تولید بذر یا تولید بذر کم، مشـخص می‌شـود که این لاین به خلوص مطلوبی رسـیده‌اند. نکات قابل توجهی که در تولید بذور هیبرید در این روش باید مد نظر قرار گیرد عبارت اند از: ضرورت گرده افشـانی مداوم، همزمانی دوره گلدهی والدین، ارتفاع گیاه، اسـتفاه از زنبور عسـل و مگس گوشت برای گرده افشانی.

از معایب این روش این اسـت که امکان گرده افشـانی و خودباروری بوته‌ها وجود دارد و بذرهای برادر_خواهری که عمدتا هم خیلی ضعیف هستند تولید می‌شود. عموما در دماهای بالا و عدم وجود آلل S غالب خودناسازگاری بیشتر می شود. این روش در گیاهانی مثل کلم پیچ و کلم بروکسل و کلم ساقه و تربچه استفاده می‌شود(کالو، ۱۳۹۰).

٤- استفاده از لاین های ژینومنوئیک و گل ماده

گیاهان ژینومنوئیک گل‌های یک پایه و نتاج گل ماده و بینابینی تولید می‌کنند. اصـول کار به این صـورت اسـت که ابتدا گیاهان یک پایه نر و بینابین را بعد از ظهور اولین گل نر حذف کرده و سـپس از گلهای ماده برای تولید بذر هیبرید اسـتفاده می شـود. برای نگه داری لاین گل ماده آن را با لاین گل نری که با لاین گل ماده ایزوژن اسـت تلاقی می‌دهند. اسـتفاده از اسـید جیبرلیک و نیترات نقره روی گیاهچه‌های کوچک لاین‌های گل ماده باعث تولید گل نر روی لاین گل ماده می‌شـــود.از معایب این روش می توان به تاثیرمحیط بر تظاهر گل نر اشاره نمود.از این روش در خیار، خربزه استفاده می‌شود(کالو، ۱۳۹۰).

٥- استفاده از مواد موثر در رشد:

در بعضی از گیاهان مثل خیار و کدو تلخ ونوعی خربزه ی کشیده ابتدا گل‌های نر وسپس گل‌های نر و ماده به تناوب ظهور پیدا می‌کنند.

اسـتفاده از محلول پاشی اترل و اتافون در مرحله رشـدی دو یا سـه برگی باعث می‌شـود که ۲۸ روز ظهور گل‌های نر به تاخیر بیفتد و در نتیجه در صـورت تلاقی با لاین گرده دهنده ی مناسـب می‌توان بذر هیبرید تولید کرد. از این روش در خربزه و خیارو کدو تابستانی و هندوانه استفاده می‌شود(کالو، ۱۳۹۰).

٦-استفاده از ویژگی یک پایه و دو پایه

بعضی از سـبزی‌ها درصـد گیاهان گل ماده از صـفر تا صـد متغیر اسـت و می‌توانیم از این لاین‌ها که گل ماده ی زیادی دارند به عنوان والد ماده و از لاین‌های دارای گل نر زیاد به عنوان والد نر برای تولید بذر هیبرید اســتفاده کرد. در این روش ٦-٥ ردیف والد ماده را با دو ردیف والد نر می‌کارند. باید توجه داشـت در صـورت رویت لاین‌های گل نر در میان لاین‌های گل ماده، باید آنها را سریعا حذف کرد. از این روش در تولید بذر گیاهانی مثل اسفناج و مارچوبه استفاده می‌توان استفاده کرد(کالو، ۱۳۹۰).

۷- استفاده از روش مهندسی معکوس

اصلاح به روش مهندسی معکوس انقلابی در صنعت تولید بذر هیبرید به وجود آورده است. با استفاده از این روش می‌توان لاین‌های شـــبه مادری بذور هیبرید را در کوتاه ترین زمان ممکن به دســـت آورد. تولید این لاین‌ها در روش مهندسی معکوس دارای دو مرحله است:

_متوقف نمودن نوترکیبی (ناشی از پدیده کراسینگ اور) در گیاهان انتخاب شده

_انجام دابل هاپلوئیدی در گامت های ایجاد شده از این گیاهان که فاقد نوترکیبی هستند.

متوقف نمودن نوترکیبی از طریق خاموش نمودن ژن های کلیدی درگیر در واقعه نوترکیبی مانند ژن DMC1صـورت می پذیرد. ژن DMC1 کد کننده یک ریکامبیناز است که به عنوان یک ترکیب کلیدی در انجام نوترکیبی در گیاهان و جانوران به شمار می رود. عدم وجود این ریکامبیناز سـبب اختلال در جفت شـدن کروموزم‌های همولوگ و کاهش معنادار در میزان کراسـینگ اور کروماتیدهای غیر خواهری در مرحله پروفاز میوز I خواهد شد(گرد، ۱۳۸۹).

۸-استفاده از سیستم ویرایش ژنوم برای تولید لاین‌های ایزوژن نرعقیم

وجود لاین نر عقیم و ایزوژن با لاین ماده باعث می شود که در بسیاری از ارقام امکان تولید تجاری رقم هیبرید توجیه اقتصادی داشته باشد. سیستم دستکاری عوامل ژنتیکی برای روشن و خاموش شدن وانتقال عقیمی و باروری با استفاده از روش کریسپیر به این صـورت اسـت که باویرایش ORFهای مرتبط با نرعقیمی در لاین CMS می توانیم لاین نر عقیم ایزوژن با لاین ماده‌ی درگیر در تولید ارقام هیبرید را در کوتاه‌ترین زمان ایجاد نمود که در روش سنتی از تلاقی‌های متفاوت و استفاده از مواد موتاژن، نیازبه یک دوره‌ی چند ساله داشت (Fengyuan *et al*, 2022).

هتروزیس در فلفل دلمه‌ای و صیفی‌جات

هتروزیس در گیاه فلفل برای صفاتی مثل، عملکرد، زمان رسیدگی، ارتفاع گیاه، ضخامت میوه وتعداد میوه مورد استفاده قرار می‌گیرد. دیکو و همکاران در سال ۱۹۷۵ مقدار هتروزیس در فلفل قرمز را ۲۰درصد گزارش کردند. آنها سیستم نرعقیمی ژنتیکی هتروزیس را در فلفل شیرین ۵۰ درصد برآورد کردند(کالو، ۱۳۹۰). شیفریس و ساکس یک لاین نرعقیم سیتوپلاسمی در فلفل شیرین را با ١٤ لاین فلفل تند تلاقی دادند. نتاج حاصل همگی تند بوده و بین ۱۰ تا ۲۰ درصد هتروزیس نشان دادند. پژوهش‌ها نشان می‌دهد که قدرت هتروزیس در فلفل دلمه به ویژگی‌های والدین بستگی دارد. والدین را باید بر اساس قدرت گیاه، اندازه ی میوه، عملکرد گیاه گزینش کرد(کالو، ۱۳۹۰).. در فلفل نتایج نشان می دهد که هرچه قدر اختلاف والدین بیشتر باشد هتروزیس بیشتری به دست خواهد آمد (کالو، ۱۳۹۰). دوره ی پذیرش دانه گرده فلفل در گل‌های اخته شده ٤ تا ۷ روز و گل‌های اخته نشده ۵ تا ۹ روزطول می کشد. دانه گرده را در صورت خشک کردن در دمای صفر درجه سانتی گراد به مدت طولانی می شود نگه داشت(آمارجیت بسرا، ١٣٨٦). در پژوهشی که در پژوهشگاه بیوتکنولوژی ایران در کرج صورت گرفت شریعت پناهی و همکاران (١٤٠٠) گزارش کردند امکان ایجاد گیاهان دابل هاپلوئید فلفل دلمه ای از طریق کشت میکروسپور و رسیدن سریع به لاین های خالص امکانپذیر است. معرفی لاین های والدینی امید بخش هیبرید در این پژوهش از دستاوردهای خوبی بود که در

مقایسه با رقم شاهد تجاری هیبرید، بدست آمد(بیاتی، ۱٤۰۰). همچنین در گیاه خیار شریعت پناهی و همکاران با استفاده از سیستم نجات جنین توانستند به گیاه دابل هاپلوئید برسند. از این لاین می توان به عنوان لاین خالص والدی ارقام هیبرید استفاده کرد (ابراهیم زاده، ۱۳۹۸). روش اصلاح معکوس نیز با توقف کراسینگ‌اور (در گیاه هتروزیگوس و جلوگیری از نوترکیبی کروموزوم‌ها با روشهای دستکاری ژنتیکی) و خاموش سازی ژن (DMC1) انجام می‌شود. در مرحله بعد با کشت دانه گرده در محیط کشت مصنوعی، گیاهان هاپلوئید تولید شده و سپس توسط تیمار با کلشی‌سین گیاهان دابل هاپلوئید (DH) ایجاد می شوند. در نهایت با انتخاب گیاهان DH مکمل، باز تولید گیاه هتروزیگوت اولیه از طریق بذر برای نسل‌های متوالی فراهم می شود. این فناوری در گیاه خیار منجر به دستیابی به گیاهان خالص والدینی شده است. کیانی و همکاران درسال ۱۳۹۸ در یک برنامه اصلاحی با ارزیابی مجموعه‌ای از ارقام و توده‌های بومی و خارجی بادنجان و انتخاب دو لاین برتر بر اساس ویژگی های زراعی و خالص سازی این دو لاین، تلاقی این دو لاین را بصورت دستی و متقابل انجام دادند و سپس دورگه‌ها به همراه ارقام مختلف و رایج در کشور ارزیابی شدند. در این تحقیق هیبرید بدست آمده (هیبرید مازند) برتر از ارقام تجاری ارزیابی شد. تکثیر و تجاری سازی بادمجان هیبرید مازند در پارک علم و فناوری مازندران در حال انجام است (کیانی، ۱۳۹۸).مراحل تولید ارقام هیبرید در یک برنامه‌ی اصلاحی به صورت خلاصه به ترتیب شامل مراحل زیر می‌باشد:

- بررسی ژنتیکی و ریخت‌شناختی ارقام محلی و موجود در کشور
- کشت ارقام موجود به منظور انتخاب برترین والدها
- انتخاب ارقام برتر
- بررسی میزان خلوص در ارقام و در صورت نیاز به خودگشنی در دو تا سه نسل
- بررسی میزان ترکیب پذیری ژنتیکی ارقام و تلاقی ارقام با توجه به فاصله ی ژنتیکی
- انتخاب دورگه های برتر
- مقایسه با ارقام تجاری هیبرید
- معرفی دورگه های برتر به عنوان ارقام جدید هیبرید و تجاری سازی آنها

منابع

۱ ابراهیم زاده، ح. سلطانلو، ح. عنایتی شریعت پناهی، م. اسکندری، ع،۱۳۹۸،القای جنین های پارتنوژنز و تولید گیاهان هاپلوئید خیار (Cucumis sativus L،https://civilica.com/doc/953877)

۲ آمارجیت ، بسرا. مترجم: علی جعفری، ر.، جعفری مفید ابادی، ع. ۱۳۸٦. کتاب تولید بذور هیبرید در سبزیجات اصول و روش‌ها. سازمان تحقیقاتی آموزش و ترویج کشاورزی

۳ بیاتی، ز.، مصطفوی، ا.، عنایتی شریعت پناهی، م.، میری، م.،۱٤۰۰. تولید و ارزیابی قدرت ترکیب پذیری عمومی لاین های دابل هاپلویید فلفل دلمه ای(*Capsicum annuum* L.)، https://civilica.com/doc/1435999

۴ فارسی، م. باقری، ع. ۱۳۸۹ ناشر: جهاد دانشگاهی مشهدکتاب اصول اصلاح نباتات (ویرایش چهارم) اثر محمد فارسی

۵ کالو پی، اوبرگ. مترجمین ، سیروس مقدم، م. مطلبی آذر، ع. ۱۳۹۰. اصلاح سبزی. انتشارات دانشگاه تبریز

۶ کیانی، غ،۱۳۹۸،اصلاح و تولید بذر بادمجان هیبرید مازند،همایش ملی صنعت و تجاری سازی کشاورزی،اهواز،https://civilic.com/doc/981334
کشاورز، س. باقری، م قنبری، ع. موسوی،ح. ۱۳۹٤. مقایسه لاین‌های خالص گزینش شده از توده‌های محلی فلفل(*Capsicum annuum* L.)، مجله به نژادی نهال و بذر

۷

گرد، م. ۱۳۹۸،اســـتفاده از اصـــلاح معکوس (Reverse Breeding) برای ایجاد لاین های مادری بذور هیبرید،همایش تجربه کاوی اقتصـــاد مقاومتی،تهران،https://civilica.com/doc/997126

8 Shull, G H. 1914. The Genotypes of maize. The american naturalist. 45 (532):234-252.

9 Fengyuan, Xu., Xiaodong, Yang. Zhao, Na., Zhongyuan, Hu1., Sally, A., Mingfang, Zhang., Jinghua, Yang. 2022. Exploiting sterility and fertility variation in cytoplasmic male sterile vegetable crops. Horticulture Research, , 9: uhab039.