

غربال کلون های کشت بافت چغندر قند برای تحمل به ساقه روی و بررسی اثر جیبرلیک اسید بر این پدیده

Screening of tissue cultured-clones of sugar beet for bolting tolerance and a study on gibberelic acid aimed to bolting of sugar beet

عطا نهبانندی^۱، پیمان نوروزی^۲، و دانیال کهریزی^۳

چکیده

در این تحقیق پس از ریز ازدیادی و تهیه کلون های کشت بافت حاصل از توده بذری Jot 18 (تترا پلوئید گرده افشان مقاوم به بولتینگ)، به مدت ۱۲ و ۱۵ هفته در سرمای ۷-۴ درجه سانتی گراد قرار گرفته و سپس به گلخانه با دمای ۲۵-۲۰ درجه سانتی گراد منتقل و درصد بوته های به ساقه رفته (بولتینگ) تعیین گردید. برای انجام این آزمایش از طرح بلوک های کامل تصادفی با سه تکرار استفاده شد. درصد بولتینگ در هفته اول و دوم پس از پایان دوره سرمادهی محاسبه و نتایج هفته اول و دوم یادداشت برداری گردید. کلون های ۱۲ هفته سرما داده شده حاکی از معنی داری ژنوتیپ ها به ترتیب در سطح آماری پنج و یک درصد و برای کلون های ۱۵ هفته سرما داده شده حاکی از معنی داری ژنوتیپ ها در سطح آماری یک درصد بود. نتایج این دو دوره سرمایی نشان دادند که ژنوتیپ های B29 و B16 به ترتیب متحمل ترین و حساس ترین ژنوتیپ ها به بولتینگ بودند. استفاده از کلون های مشابه ژنتیکی از هر ژنوتیپ باعث افزایش دقت انتخاب ژنوتیپ های مقاوم می گردد. در آزمایشی دیگر به منظور کاهش دوره سرمایی لازم جهت غربال ژنوتیپ های متحمل به بولتینگ در چغندر قند از تیمار جیبرلیک اسید با غلظت های ۰، ۱۰ و ۵۰ میلی مولار در ۶ نوبت تلقیح بر روی جوانه انتهایی گیاهان یک ماه سرما دیده استفاده گردید. برای این منظور از یک آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی در سه تکرار استفاده گردید. یادداشت برداری درصد بولتینگ برای ۵ بار به فواصل یک هفته پس از پایان آخرین نوبت تلقیح انجام گرفت. در مجموع نتایج هفته دوم جهت تفکیک ژنوتیپ های متحمل و حساس به بولت انتخاب گردید. نتایج هفته دوم حاکی از معنی دار شدن اثر غلظت هورمون و ژنوتیپ ها در سطح آماری یک درصد و معنی دار نشدن اثر متقابل آن ها بوده و ژنوتیپ ها در سه گروه حساس، نیمه متحمل و متحمل قرار گرفتند. به طور کلی نتایج نشان داد که غلظت ۵۰ میلی مولار بیشترین تاثیر را بر ساقه روی چغندر قند دارد و اصلاحگر می تواند با جایگزینی این هورمون به جای بخشی از دوره سرمایی، طول دوره سرمادهی برای غربال ژنوتیپ های متحمل به بولتینگ را کاهش و کارایی انتخاب را افزایش دهد.

واژه های کلیدی: چغندر قند، بولتینگ، کشت بافت، جیبرلیک اسید

۱- کارشناس ارشد اصلاح نباتات دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرمانشاه

۲- استادیار موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر چغندر قند، کرج

۳- استادیار دانشکده کشاورزی، دانشگاه رازی کرمانشاه

مقدمه

نموده‌اند. با این روش اصلاح‌گر می‌تواند از کلون های مربوط به ژنوتیپ‌هایی که نتایج تست کراس برتری داشته‌اند، استفاده نمایند و همان ترکیب پذیری مورد انتظار را به دست آورد (Middelberg 2000-2004).

در سال های اخیر مطالعات زیادی بر روی کشت بافت (شرایط درون شیشه‌ای) قسمت های مختلفی از چغندر قند مانند جوانه‌های گل (Tetu et al, 1987) و اندام‌ها (Fretag et al, 1986) صورت گرفته است. از تکنیک ریز ازدیادی جوانه چندین گیاه برای ایجاد کلون استفاده شده است. و برای چغندر قند نیز توسط (Hussy and Hephher, 19781, Margara, 1971) استفاده شده است (Miedema, 1982).

میدما (Miedema, 1982) برای تشکیل جوانه‌ها و باززایی جوانه چغندر قند از محیط MS نصف غلظت و ۳۰ گرم در لیتر ساکارز و ۸ گرم در لیتر آگار و ۱۰ میکرومولار BA استفاده کرد. همچنین برای تکثیر جوانه‌های چغندر قند از محیط نصف غلظت MS و ترکیبات آلی و BA با غلظت یک میکرومولار استفاده شده است. (Miedema, 1982; Hussy and Hephher 1978).

میدلبرگ (Middelburg, ۱۹۹۰) استفاده از کلون‌های کشت بافت را در اصلاح چغندر قند یک روش جدید ذکر کرده بود. میدلبرگ (Middelburg, 2000-2004) استفاده از تولید انبوه کلون‌های حاصل از کشت بافت در ایجاد ارقام مقاوم به بیماری در گیاه چغندر قند را مهم و اجتناب ناپذیر شمرده است.

تاثیر هورمون جیبرلیک اسید به طور اجمال شامل تحریک رشد عمومی (به خصوص در دوره روزت، یا سال اول گیاه دوساله، کمک به گذر از مرحله خواب در بذر یا جوانه‌ها و تحریک جوانه زنی گلدهی، میوه دهی بدون تلقیح و تولید هسته و تاخیر در پیری برگ و میوه مرکبات می‌شود (Roos and Salisbury, 1992). حساسیت به هورمون جیبرلیک اسید قبل از تیمارهای پایین به فعالیت ژنها در گیاهان جوان مربوط می‌شود. تعداد سلول‌ها (میزان تکثیر سلول‌ها) و حساسیت به جیبرلین در گیاهان جوان چغندر قند حتی قبل از تیمار بهاره نمودن با درصد گلدهی همبستگی دارد (Sadeghain et al, 1993).

علاوه بر تحریک گلدهی چغندر قند جیبرلیک اسید بر گلدهی و بارآوری درختان نیز تاثیر دارد. باردهی نامنظم در درختان میوه مشکلی است که به تغذیه و تعادل هورمونی گونه درختان بستگی

چغندر قند با نام علمی Beta vulgaris L. یک گیاه دوساله و دگرگشن می‌باشد. لذا هر رقم آن از ژنوتیپ‌های ناهمگن تشکیل شده است. گلدهی در چغندر قند در سال دوم اتفاق می‌افتد و از این نظر جزء گیاهان دوساله محسوب می‌شود. اگر بوته‌های چغندر قند حداقل به مدت ۴۵ روز تحت تاثیر درجه حرارت ۸-۴ درجه سانتیگراد قرار گیرد، هورمون‌های خاصی در جوانه آن تولید می‌گردد که مهمترین آنها ورنالین می‌باشد (فارسی و باقری، ۱۳۷۵). تحقیقات نشان می‌دهد که بذر در حال رسیدن در روی بوته مادری قابل ورنالیزاسیون می‌باشد؛ بطوری که درجه حرارت‌های ۵ تا ۷ درجه سانتیگراد به مدت ۱۳ روز در زمان گلدهی تا تشکیل جنین موجب ورنالیزاسیون بذر در روی بوته مادری می‌شود (Longden and Peter, 1988).

پدیده بولتینگ تحت تاثیر عوامل ژنتیکی، محیطی و فیزیولوژیکی می‌باشد و ژنهایی با اثرات افزایشی در درجه اول و سپس ژنهایی با اثرات غیرافزایشی پدیده بولتینگ را موجب می‌شوند (Sadeghian, 1993).

آبه و همکاران (Abe et al, 1997) گزارش کرده‌اند که شروع ساقه روی توسط دو ژن که یکی مسئول واکنش گیاه به سرما (مرحله بهاره شدن) و دیگر مسئول واکنش گیاه به طول روز (مرحله بعد از بهاره شدن) می‌باشند کنترل می‌گردد. چغندر قند یکساله دارای این توانایی می‌باشد که بدون نیاز به بهاره شدن و یا در شرایط روز کوتاه، ساقه گل‌دهنده تولید نمایند. گیاهان چغندر قند دوساله برای تولید ساقه گل‌دهنده و گل، هم به بهاره شدن و هم به روز بلند نیاز دارند (Lexander 1987).

گوان و همکاران (Guan et al, 1994) در بررسی مدل ژنی برای بولتینگ چغندر قند بیان داشتند در چغندر قند یکساله یک ژن با دو آلل این صفت را کنترل می‌کند ولی در چغندرهای دوساله یک ژن با چند آلل مغلوب در لوکوس‌های متفاوت تحت تاثیر درجه حرارت کم پدیده بولتینگ را ایجاد می‌نمایند.

در ارتباط با استفاده از اهمیت استفاده از کلون کشت بافت در تهیه ارقام تتراپلوئید نیز میدلبرگ در سال های ۲۰۰۰ تا ۲۰۰۴ ضمن ارائه روش های اصلاحی چغندر قند بارها لزوم به کارگیری از کلون‌های حاصل از کشت بافت را در اصلاح گرده افشان‌های تتراپلوئید در موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر چغندر قند مطرح

به مدت ۵ دقیقه شستشو شدند، در ادامه بذرها جهت جوانه زنی بین دو لایه کاغذ صافی استریل درون ظرف پتری قرار گرفت، مقداری آب مقطر استریل برای تأمین آب مورد نیاز جوانه زنی روی کاغذ صافی ریخته و ظروف کشت در تاریکی قرار داده شد. پس از دو روز قرار دادن بذرهاى ضدعفونی شده در تاریکی، بذرهاى ریشه‌دار که آلودگی نشان نداده بودند به ظرف شیشه‌ای حاوی محیط آب و آگار (۰/۸) درصد سترون شدن انتقال داده تا جوانه زنی در آنها صورت بگیرد.

کشت جوانه انتهایی: پس از دو هفته از جوانه زنی گیاهچه‌های بذری، جوانه انتهایی آنها، جداسازی شده و در ظروف پتری حاوی محیط کشت BG (جدول ۱) جهت رشد طولی ریز نمونه کشت گردیدند و در اتاقک رشد با دمای ۲۸-۲۵ درجه سانتیگراد، شدت نور ۴۰۰۰ تا ۵۰۰۰ لوکس با تناوب نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی قرار داده شدند.

تکثیر جوانه یا کلون‌های به دست آمده: به منظور تکثیر جوانه‌های حاصل از مرحله قبل پس از ۲ تا ۳ هفته جوانه‌های رشد یافته به محیط BIN (جدول ۱) منتقل و در شرایط اتاقک رشد نگهداری گردیدند.

رشد کلون‌ها: پس از حدود یک ماه از انتقال به محیط بازرایی از کلون‌ها جوانه‌های متعددی تولید شد که برای رشد، جوانه‌ها را از هم جدا کرده و به محیط MB (جدول ۱) بدون هورمون انتقال داده شد. این جوانه‌ها به اتاقک رشد منتقل شد و پس از ۳ تا ۴ هفته به رشد مناسب رسیدند. در این مرحله بعضی از جوانه‌ها ریشه‌دار شدند.

ریشه‌زایی کلون‌ها: به منظور ریشه‌دار کردن جوانه‌های رشد یافته، آنها را از محیط MB خارج و پس از پیرایش و حذف قسمت‌های نکرزه به محیط ریشه‌زایی NI (جدول ۱) منتقل گردیدند.

انتقال به خاک: پس از ریشه‌دار شدن، گیاهچه‌ها از محیط کشت جدا و آگار ریشه‌ها شسته شده و نیز پایه جوانه‌های فاقد ریشه ابتدا با پودر هورمونی دست‌ساز (نوروزی، ۱۳۸۵) آغشته شده و کلیه کلون‌ها به گلدان‌های ۷ سانتی‌متری به همراه خاک استریل و پیت‌ماس به نسبت ۱ به ۱ انتقال داده و در داخل جعبه‌های پلاستیکی با ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و دمای ۲۲ درجه سانتیگراد منتقل و با محلول هوگلند (Hoagland and Arnon 1950) آبیاری شدند. البته در یک لیتر محلول مورد نظر ۲ میلی‌لیتر محلول هیپوکلریت

دارد. محلول پاشی با هورمون جیبرلین، جیبرلیک اسید برای حذف سال آوری در زیتون کاری منطقه رودبار گیلان مورد بررسی قرار گرفته است (رمضانی و همکاران، ۱۳۸۳). در آزمایش مزرعه‌ای محلول پاشی با مخلوطی از جیبرلیک اسید، شبه اکسین و اسید آلی کلروه شده عملکرد ریشه را به ترتیب از ۱۰ به ۱۷ و از ۳ به ۱۶ تن افزایش داد (Otto and Schilling, 1985).

غلظت‌های مختلف جیبرلیک اسید (۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر) باعث افزایش جوانه زنی و افزایش اندام هوایی و وزن ریشه در شرایط استرس شوری شده و تاثیر استرس شوری را برای کاهش جوانه زنی و افزایش طول اندام هوایی کاهش داده است و در ضمن اختلاف معنی داری بین غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر بر موارد فوق در سطح احتمال ۵ درصد گزارش شده است (Jamil and Shik, 2007).

به طور کلی هدف از این تحقیق پس از ریز ازدیادی کلون‌های کشت بافت چغندرقد از توده بذری Jot18 (والد پدری تترا پلوئید مقاوم به بولتینگ)، لقاء دو دوره سرمایی برای غربال کلون‌های متحمل به بولتینگ و بررسی تاثیر غلظت‌های مختلف جیبرلیک اسید برای کاهش دوره سرمایی مورد نیاز در ورنالیزاسیون و لقاء ساقه روی چغندرقد می باشد و همچنین بررسی کاربرد GA3 در افزایش طول ساقه گل دهنده و امکان جانشینی GA3 به جای دوره‌های سرمایی بیشتر است و با توجه به نتایج این تحقیق این هدف محقق گردیده است.

مواد و روش‌ها

تهیه و تکثیر کلون‌های کشت بافت

مواد گیاهی: به منظور تهیه کلون، از ریز نمونه جوانه انتهایی گیاهچه بذری یک توده تتراپلوئید چغندرقد مقاوم به بولتینگ استفاده و کلون‌های حاصل از هر تک بذر، یک ژنوتیپ مستقل در نظر گرفته شد.

استریل بذور: برای تولید ریز نمونه سترون، بذرها جهت حذف زوائد سطحی در محلول اسید سولفوریک غلیظ بر روی شیکر به مدت ۳۰ دقیقه تکان داده شده، سپس بذرها با آب شستشو داده شده و در زیر لامینار استریل به مدت یک دقیقه با الکل ۷۰ درصد و سپس به مدت ۱۵ دقیقه با محلول هیپوکلریت سدیم ۲/۵ درصد ضدعفونی گردید. سپس بذرها سه بار با آب مقطر استریل و هر بار

... غربال کلون های کشت بافت چغندر قند برای تحمل به ساقه روی و بررسی اثر جیبرلیک اسید بر این پدیده ...

انتقال کلون های کشت بافت به گلخانه: پس از اینکه گیاهان به شرایط رطوبتی اتاقک رشد کاملاً سازگار شدند آنها به گلخانه با دمای ۲۵ تا ۳۰ درجه سانتیگراد منتقل و تا زمان انتقال به دوره های سرمایی در گلخانه نگهداری شدند.

سدیم ۵ درصد جهت ضد عفونی خاک استفاده شد، تا مانع از بروز آلودگی های قارچی ساپروفیتی سطحی شود. همچنین کلون ها روزی ۲ بار با محلول هوگلدن و هیپوکلریت سدیم با غلظتی که اشاره شد محلول پاشی گردیدند. بعد از یک هفته به مرور درب جعبه ها را به میزان کم باز کرده تا به رطوبت داخل اتاقک رشد سازگار گردند.

جدول ۱- ترکیبات محیط های کشت به کار رفته در تهیه کلون ها

Table 1. Compositions of Media used in clone's production

محیط کشت Medium culture	مشخصات محیط Description of Medium	آگار Agarose (g/lit)	ساکارز Sucrose (g/lit)	GA3 (mg/lit)	IBA (mg/lit)	NAA (mg/lit)	BA (mg/lit)
BG	رشد طولی جوانه رأسی	8	30	0.01	-	-	0.5
BIN	تکثیر جوانه (کلون)	8	30	-	0.1	0.1	0.5
MB	رشد طولی جوانه (کلون)	8	30	-	-	-	-
NI	ریشه زایی (کلون)	8	30	-	1.5	1.5	-
before autoclave pH=6				pH=6 قبل از اتوکلاو			

گیاهچه های بذری با غلظت های ۱۰ و ۵۰ میلی مولار جیبرلیک اسید به عنوان فاکتور دوم آغشته شدند.

انتقال جعبه های حاوی چهار توده بذری به سردخانه: پس از کاشت این چهار توده درون ۹ باکس به سردخانه منتقل شدند، پس از پایان چهار هفته سرما با درجه حرارت ۴ تا ۷ درجه سانتیگراد به بیرون سردخانه منتقل و برای جلوگیری از وارد آمدن شوک به نمونه ها، یک هفته در فضای بیرون از گلخانه نمونه ها به تدریج به هوای بیرون سازگار شده و سپس به گلخانه با درجه حرارت ۲۵-۲۰ درجه سانتیگراد منتقل شدند.

تلقیح جیبرلیک اسید به نمونه های بذری: پس از سازگاری نمونه ها به دمای گلخانه اقدام به تزریق جیبرلیک اسید به نمونه ها گردید. هر ۹ جعبه پلاستیکی به صورت تصادفی با غلظت های مختلف ۱۰ و ۵۰ میلی مولار مورد تلقیح قرار گرفتند. قسمتی از گیاه که مورد تلقیح قرار گرفت جوانه انتهایی گیاه بود و در هر بار تزریق دمای گلخانه روی ۲۰ درجه سانتیگراد کنترل گردید.

روش های محاسبات آماری

کلون های کشت بافت در دو دوره سرمایی ۱۲ و ۱۵ هفته: به منظور تجزیه و تحلیل داده های حاصل از آزمایش غربال،

غربال کلون های کشت بافت برای تحمل به بولتینگ: با انتقال کلون های کشت بافت به گلخانه و انتقال به گلدان های بزرگتر و سازگار شدن کلون ها به دمای گلخانه، کلون ها به سردخانه با دمای ۷-۴ °C منتقل و در دوره سرمایی ۱۲ و ۱۵ هفته نگهداری شدند. پس از پایان دوره های سرمایی گلدان های کلون های کشت بافت از سردخانه به بیرون منتقل شدند تا به تدریج پس از یک هفته با دمای محیط سازگار شوند. سپس کلون ها به گلخانه با طول روز بلند و دمای ۲۲-۲۰ °C منتقل شدند. پس از ظهور ساقه گل دهنده در بعضی از نمونه ها اقدام به یادداشت برداری در دو نوبت به فاصله یک هفته از یادداشت برداری قبلی گردید.

بررسی تاثیر جیبرلیک اسید بر ساقه روی چغندر قند

کشت چهار توده بذری: برای این منظور ۴ توده بذری، Monotona, Jot18, Rasoul و 37R در گلخانه به عنوان فاکتور اول درون (جعبه پلاستیکی) کشت گردید. لذا جعبه ها را با استفاده از نسبت شن الک شده و سیلیس و نسبت پیت ماس، ۱ به ۱ پر کرده و هر جعبه به چهار قسمت تقسیم گردید و پس از پر شدن هر ۹ جعبه اقدام به کشت نمونه های بذری در سه تکرار گردید. پس از پایان دوره سرمایی یک ماهه جوانه های

گردید). در جدول ۲ درصد ساقه‌روی بین کلون‌های کشت بافتی که ۱۲ هفته سرما دیده بودند. برای یادداشت برداری دوم هم محاسبه گردید، مشاهده شد که بین بلوک‌ها اختلاف معنی‌داری نبوده، اما بین ژنوتیپ‌ها اختلاف معنی‌داری در سطح ۱٪ مشاهده شد. همچنین در آزمایشات شریفی و همکاران شرایط تقریباً همانند شرایط آزمایش این تحقیق بوده و در آن میانگین درجه حرارت در سال زراعی ۸۳-۸۴ در سه ماه آذر، دی، بهمن ۵ تا ۷ درجه سانتی‌گراد در محل آزمایش بوده و تقریباً با شرایط تحقیق حاضر یعنی ۱۲ هفته سرما در دمای ۵ تا ۷ درجه سانتی‌گراد در سردخانه مطابقت دارد.

در جدول تجزیه واریانس ۲ طول ساقه گل‌دهنده بین کلون‌های کشت بافتی که ۱۲ هفته سرما دیده بودند برای یادداشت برداری دوم نشان می‌دهد که بین ژنوتیپ‌ها اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردیده است.

با مقایسه درصد های ساقه روی کلون های کشت بافت چغندرقد که ۱۲ هفته سرما دیده اند برای یادداشت برداری هفته اول با نتایج تجزیه کلاستر شکل ۲ در ناحیه ۵ در مقیاس تغییر یافته سه گروه به دست آمد که ژنوتیپ های B15 و B16 در گروه حساس و ژنوتیپ های B45, B8 و B34 در گروه نیمه متحمل و ژنوتیپ‌های B5, B24, B29 در گروه متحمل به بولت قرار گرفتند. همچنین نتایج تجزیه تابع تشخیص، گروه بندی مربوطه را ۱۰۰ درصد مورد تایید قرار داد.

در ادامه جدول ۳ که نشان دهنده میانگین درصد ساقه‌روی کلون‌های کشت بافت چغندرقد در هفته دوم یادداشت برداری بود، با مقایسه نتایج مقایسه میانگین درصد های ساقه روی کلون های کشت بافت چغندرقد برای یادداشت برداری دوم با نتایج تجزیه کلاستر شکل ۳ برای یادداشت برداری هفته دوم که در ناحیه ۵ در مقیاس تغییر یافته سه گروه را تشکیل داد مشاهده گردید که ژنوتیپ های B45, B15, B5 و B16 در گروه حساس و ژنوتیپ B24 در گروه متحمل و ژنوتیپ های B8, B29, B34 در گروه نیمه متحمل به بولت قرار گرفتند. نتایج تابع تشخیص نیز این گروه بندی را به میزان ۱۰۰ درصد تایید نمود.

نتایج مقایسه میانگین جدول شماره ۳ درصد ساقه روی کلون‌های کشت بافت چغندرقد، پس از دوره سرمایی ۱۵ هفته، برای یادداشت برداری هفته اول و مقایسه آن با نتایج تجزیه کلاستر شکل ۳ که

کلون‌های کشت بافتی که ۱۲ و ۱۵ هفته سرما دیده بودند از طرح بلوک های کامل تصادفی و در ۳ تکرار و با استفاده از نرم افزار SAS انجام و برای مقایسه میانگین های به دست آمده از تجزیه خوشه ای به کمک نرم افزار SPSS استفاده گردید.

تاثیر جیبرلیک اسید بر ساقه روی چغندرقد: پس از پایان تزریق نمونه‌ها و مشاهده شروع ساقه روی نمونه‌ها اقدام به یادداشت برداری از نمونه‌ها کرده و به فاصله یک هفته و کلاً پنج بار یادداشت برداری انجام گرفت. داده‌های به دست آمده از یادداشت برداری انجام گرفت. جهت نرمال سازی توزیع فراوانی داده‌های به دست آمده از یادداشت برداری تبدیل زاویه‌ای شده و به کمک نرم افزار SAS و با استفاده از آزمایش فاکتوریل در قالب بلوک های کامل تصادفی و در سه تکرار تجزیه و تحلیل گردیدند.

نتایج و بحث

تهیه و تکثیر کلون های کشت بافت: در این مرحله بر اساس جوانه‌هایی که وارد مرحله ریشه‌زایی شدند ژنوتیپ‌های موردنظر برای انجام طرح غربال کلون‌های کشت بافت چغندرقد برای مقاومت به بولتینگ انتخاب گردیدند. گیاهانی که درون شیشه بودند و حاوی جوانه‌های رویشی بودند پس از ۳ تا ۴ هفته وارد مرحله ریشه‌زایی شدند، بر این اساس ۸ کلون، برای انجام این آزمایش انتخاب شدند. پس از طی مراحل مختلف سازگاری درون اتاقک رشد، تعدادی از ژنوتیپ ها که نتایج حاصل از تهیه و تکثیر کلون های کشت بافت بودند به گلخانه منتقل و مواد گیاهی غربال کلون های کشت بافت برای تحمل به ساقه روی را در دو دوره سرمایی ۱۲ و ۱۵ هفته فراهم آوردند.

غربال کلون ها در دوره های سرمایی: پس از تجزیه آماری (جدول ۲) برای میانگین درصد ساقه روی نمونه‌هایی که ۱۲ هفته سرما دیده بودند بین ژنوتیپ‌ها در سطح احتمال ۰.۵٪ اختلاف معنی‌داری مشاهده شد. علاوه بر صفت ساقه‌روی، طول ساقه گل‌دهنده ژنوتیپ‌ها نیز اندازه‌گیری و مشاهده شد که اثرات بین بلوک ها معنی‌دار نشده و بین ژنوتیپ‌ها از نظر این صفت اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید. (البته این نتایج برای یادداشت برداری هفته اول بوده که پس از گذشت یک ماه از انتقال نمونه‌ها از سردخانه به گلخانه و تایید ورنالیزاسیون نمونه‌ها یادداشت برداری شده و میانگین درصد ساقه‌روی و طول ساقه گل‌دهنده محاسبه

غربال کلون های کشت بافت چغندر قند برای تحمل به ساقه روی و بررسی اثر جبرلیک اسید بر این پدیده :::

بر بذر باشد زیرا از یک نوع بذر تعداد زیادی کلون می توان تهیه و برای مقاومت به بولتینگ آن ها را غربال نمود.

نتایج مقایسه میانگین درصد ساقه روی (جدول ۳) نشان می دهد که با افزایش سه هفته سرمایی افزون بر ۱۲ هفته سرما درصد بولتینگ در هر دو هفته یادداشت برداری نسبت به درصد بولتینگ در ۱۲ هفته افزایش یافته است. یعنی افزایش دوره سرما باعث افزایش درصد بولتینگ شده است. این نتایج با نتایج فارینا و همکاران، (۱۹۹۹) که با قرار دادن گیاه (Limonium gmelinum) در دوره های سرمایی ۴ و ۶ هفته با افزایش دوره سرمایی از ۴ به ۶ هفته باعث افزایش درصد بولتینگ شده مطابقت دارد. نتایج این جدول مقایسه بیانگر این است که با افزایش درصد ساقه روی طول ساقه گل دهنده هم افزایش یافته و نشان می دهد که طول ساقه گل دهنده تحت تاثیر درصد ساقه روی است.

هدف از این دو دوره سرمایی نشان دادن رفتار کلون ها در این دو دوره است، ژنوتیپ B29 در دوره سرمایی ۱۲ هفته و نیز در دوره سرمایی ۱۵ هفته پس از پایان دو هفته یادداشت برداری کمترین درصد بولتینگ را به خود اختصاص داده است و طبق نظر صادقیان و همکاران، (۱۹۹۹) مقاوت به بولتینگ نیاز به چندین نسل سازگاری رقم ها در دوره های مختلف سرمایی برای غربال ژنوتیپ های مقاوم نیاز دارد و ژنوتیپ B29 در طول دو دوره سرمایی دارای کمترین درصد بولتینگ بوده و می توان این ژنوتیپ را به عنوان ژنوتیپ متحمل به بولتینگ معرفی نمود و نیز ژنوتیپ B16 در میان کلون های مورد آزمایش دارای بیشترین درصد بولتینگ پس از پایان دوره سرمایی دوم بوده است و این ژنوتیپ به عنوان حساس به بولتینگ معرفی می گردد.

جدول تجزیه واریانس ۲ مربوط به تجزیه داده های کشت بافت چغندر قند مربوط به ساقه روی در یادداشت برداری هفته اول نشان می دهد که اثر ژنوتیپ ها در سطح احتمال ۰.۱٪ معنی دار شده است. با توجه به اینکه صادقیان و همکاران، (۱۹۹۹) شش هفته سرما را برای غربال ژنوتیپ های متحمل به بولتینگ کافی می دانند اما به دلیل این که رقم Jot 18 متحمل به بولتینگ بوده، سعی گردید که با القاء دوره های سرمایی بیشتر از شش هفته، غربال بهتری از ژنوتیپ های متحمل به بولتینگ داشته و طبق نظر جانسون و همکاران، (۱۹۹۹) که ۱۲ و ۱۵ هفته سرما را برای القاء گلدهی مناسب می دانند این دو دوره سرمایی برای

در ناحیه ۱۰ در مقیاس تغییر یافته سه گروه تشکیل داده، نشان می دهد که ژنوتیپ های B45 و B16 حساس به بولت و ژنوتیپ های B5، B8، B15، B24 و B29 نیمه متحمل و ژنوتیپ B34 متحمل به بولت می باشد. نتایج جدول تابع تشخیص گروه بندی مربوطه را ۱۰۰ درصد تایید نمود.

نتایج مقایسه میانگین جدول شماره ۳ درصد ساقه روی کلون های کشت بافت چغندر قند، پس از دوره سرمایی ۱۵ هفته، برای یادداشت برداری هفته دوم و مقایسه آن با نتایج تجزیه کلاستر شکل ۴ که در ناحیه ۵ در مقیاس تغییر یافته سه گروه را تشکیل داده، نشان می دهد که ژنوتیپ های B24، B16 و B45 حساس به بولت و ژنوتیپ های B5، B8، B15 و B34 نیمه متحمل و ژنوتیپ B29 متحمل به بولت می باشند. تابع تشخیص گروه بندی مربوطه را ۱۰۰ درصد تایید نمود.

گووان و همکاران (۱۹۹۵) در بررسی های ژنتیکی از مواد گیاهی استفاده نمودند که حامل ژن یک ساله B (ژنی که در ارقام یکساله چغندر قند بدون نیاز به دوره سرمایی منجر به ساقه روی می شوند) بود و بیان داشتند که چغندرهای یک ساله به سرمای زیادی نیاز ندارند و اگر طول دوره روشنایی ۲۴-۱۸ ساعت باشد، اثر پارامتر سرما را برطرف می کند و با توجه به این که نمونه های تحقیق حاضر حداکثر سرما را دیدند و ژنوتیپ های B29، B24 درصد صفر را برای ساقه روی نشان دادند می توان این دو ژنوتیپ را با اطمینان بالا به عنوان ژنوتیپ هایی که فاقد ژن یکساله بوده و مقاوم به بولتینگ هستند معرفی نمود.

همچنین با توجه به اینکه توده مورد آزمایش، یعنی Jot 18 پروژنی ۹، از سلکسیون چند توده مقاوم به بولتینگ به دست آمده و طبق نظر لانگدن و همکاران (۱۹۹۴) که بیان نمودند پدیده بولتینگ چند ژنی بوده، و واریته های مقاوم به بولتینگ این ژنها را از توده ای که در آن سلکسیون شده باشد به خود به همراه می آورند و با خالص سازی آنها می توان ارقام مقاوم را به دست آورد و مشاهده مقاومت به بولتینگ در تعدادی از ژنوتیپ های حاصل از این توده بذری منطقی به نظر می رسد. همچنین طبق نظر کرومبیتی (۱۹۵۹) بولتینگ تحت شرایط محیطی و وراثتی است و به نظر می رسد انتخاب تأثیر بیشتری در توسعه واریته هایی که مقاومت بالایی به بولتینگ دارند می شود. تاثیر انتخاب برای مقاومت به بولتینگ می تواند از مزیت های کلون های کشت بافت

به تنهایی نمی تواند باعث ساقه روی در چغندر قند شود. این نتایج با نتایج گاسکیل، (Gaskill, 1986) که نشان دادند که هورمون جیبرلیک اسید دوره رویشی را کاهش داده و زمان گل دادن و تولید بذر را جلو می اندازد، مطابقت دارد.

نتایج مقایسه میانگین (جدول ۵) نشان می دهد که بیشترین درصد ساقه روی مربوط به نمونه هایی است که هورمون با غلظت ۵۰ میلی مولار را دریافت کرده اند و رتبه دوم درصد ساقه روی مربوط به غلظت ۱۰ میلی مولار می باشد. البته این نتایج مربوط به هفته اول تا سوم یادداشت برداری می باشد، اما در هفته چهارم و پنجم یادداشت برداری درصد ساقه روی نمونه های شاهد در گروه نمونه های که غلظت ۱۰ میلی مولار در لیتر را دریافت کرده اند قرار گرفته و این نشان دهنده القاء دوره سرمایی و اثر طول روز در مقابل هورمون جیبرلیک اسید است. همچنین این نتایج با نتایج اکسنسون (Akenson, et al, 1981) ۱۹۸۱ که در تحقیقات ایشان غلظت هورمون جیبرلیک اسید را در واریته های که حساس به بولتینگ می باشند مطابقت دارد، زیرا نمونه 37R که حساس به بولتینگ می باشد فقط با دیدن سرما و قرار گرفتن در اثر طول روز بیشترین درصد بولتینگ را به خود اختصاص داده است. اما نمونه Monotona که متحمل به بولتینگ می باشد که کمترین درصد بولتینگ را به خود اختصاص داده است. همچنین این نتایج با نتایج شور و همکاران (۱۳۸۳)، که با استفاده از جیبرلیک اسید باعث کاهش تعداد روز لازم برای ظهور اولین علائم گل آذین شده است و در واقع جیبرلیک اسید باعث کاهش تعداد روز لازم تا رسیدگی شده است مطابقت دارد. همچنین این نتایج با نتایج پاسام و همکاران (۲۰۰۲)، که نشان دادند که اسپری غلظت های مختلف جیبرلیک اسید باعث افزایش درصد بولتینگ می شود مطابقت دارد.

تشکر و قدر دانی

بدینوسیله از موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر چغندر قند که امکان اجرای این تحقیق را فراهم نموده اند قدر دانی میشود.

غربال ژنوتیپ های متحمل به بولتینگ و همچنین برای اطمینان برای به ساقه رفتن تعدادی از ژنوتیپ ها و تهیه بذر این دو دوره سرمایی انتخاب شده است. نتایج هفته دوم یادداشت برداری درصد ساقه روی حاکی از معنی دار شدن ژنوتیپ ها در سطح احتمال ۱٪ است که نتیجه تنوع زیاد درصد ساقه روی بین این ۸ کلون است که با نتایج جانسون و همکاران، (۱۹۹۹) که وجود تنوع بالا بین ژنوتیپ ها را ناشی از انتخاب برای مقاومت به ساقه روی دانسته اند مطابقت دارد.

تاثیر جیبرلیک اسید: در جدول تجزیه واریانس ۴ که مربوط به اثر جیبرلیک اسید بر ساقه روی چهار توده بذری می باشد، طبق این جدول برای یادداشت برداری هفته اول، اثر غلظت هورمون در سطح آماری ۱٪ معنی دار شده اما اثر ژنوتیپ های مورد بررسی و همچنین اثر متقابل آنها معنی دار نشده است. معنی دار شدن اثر هورمون ها به دلیل اختلاف زیاد بین سه غلظت ۵۰، ۱۰ و صفر میلی مولار است. با گذشت زمان شاید هورمون جیبرلیک اسید بتواند قسمتی از نیاز حرارتی و طول روز گیاه را مرتفع نماید و باعث ظهور اختلاف معنی دار بین ژنوتیپ های مورد بررسی گردد. جدول ۴ تجزیه واریانس اثر جیبرلیک اسید روی ساقه روی چهار توده بذری برای یادداشت برداری هفته دوم و سوم نشان می دهد که اثر غلظت هورمون و ژنوتیپ ها در سطح ۱٪ معنی دار شده ولی اثر متقابل آنها معنی دار نشده است. یعنی پس از گذشت یک هفته از یادداشت برداری هفته اول هورمون شروع به تاثیر گذاری روی ساقه روی نمونه ها کرده و باعث بروز اختلاف معنی داری بین ژنوتیپ ها گردیده است. نتایج هفته چهارم و پنجم یادداشت برداری در همین جدول نشان دهنده معنی دار نشدن اثر هورمون ها و معنی دار شدن اثر ژنوتیپ ها و معنی دار نشدن اثر متقابل آنها است. علت معنی دار نشدن اثر هورمون ها به علت این است که نمونه های شاهد به دلیل سرمادهی که در شروع کار متحمل گردیدند شروع به ساقه روی کرده و درصد ساقه روی خود را به نمونه هایی که به آنها هورمون تزریق شده رسانده و باعث شده که بین غلظت تزریق و نمونه هایی که هورمونی به آنها تزریق نشده اختلاف معنی داری مشاهده نگردد. نتیجه کلی این است که هورمون جیبرلیک اسید در ابتدا باعث افزایش ساقه دهی می شود، اما اثر طول روز و دوره القاء نوری است که در نهایت باعث تکمیل ساقه روی در چغندر قند می گردد. یعنی بدون اثر طول روز و دوره القاء نور جیبرلیک اسید

جدول ۲- تجزیه واریانس برای دو دوره سرمایی ۱۲ و ۱۵ هفته (یادداشت برداری هفته اول و دوم)

Table 2. Analysis of Variance period 12 and 15 weeks cooling (to take notes of first and second week)

		میانگین مریجات (MS)			
		week cooling 12 سرما ۱۲ هفته		week cooling 15 سرما ۱۵ هفته	
S.O.V	منبع تغییرات آزادی (df)	درصد ساقه روی	درصد ساقه روی	طول ساقه کل دهنده	طول ساقه کل دهنده
		هفته اول	هفته دوم	هفته اول	هفته دوم
		percentage of Boiling for first week	Percentage of Boiling for second week	Length of flowering Stem for first week	Length of flowering Stem for second week
Block	بلوک	*507.69	59.81ns	1.57ns	1.28 n.s
Genotype	ژنوتیپ	*348.82	**820.06	2.06 n.s	0.49ns
Error	اشتباه	138.11	168.82	3.2	3.55
Total	کل	23			

ns, * and **: Non significant, significant at the 5 and 1 % levels of probability respectively.
 ns, *, **: به ترتیب غیر معنی دار و معنی دار در سطح پنج و یک درصد احتمال

جدول ۳- مقایسه میانگین درصد ساقه‌روی دو دوره سرمایی ۱۲ و ۱۵ هفته با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۱٪ و «یادداشت برداری هفته اول و دوم»

Table 3. Means comparison of 12 and 15 cold week for Percentage of Bolting in level 1% with Duncan test (to take notes of first and second week)

ژنوتیپ Genotype	week cooling 12 سرما ۱۲ هفته		week cooling 15 سرما ۱۵ هفته	
	هفته اول First week	هفته دوم Second week	هفته اول First week	هفته دوم Second week
B-5	0c	88.66 a	16.5b	88.66a
B-8	11 bc	22 ab	33ab	77.33ab
B-15	50 a	83.33 a	58.33ab	91.66a
B-16	50 ab	66.66 ab	100a	100a
B-24	0 c	0 b	66.66ab	100a
B-29	0 c	16.66 ab	33.33ab	50b
B-34	6.66 bc	33.33 ab	13.33b	80ab
B-45	11 bc	77.66 a	83a	100a

معنی دار در سطح احتمال ۱٪ معنی دار در سطح احتمال ۱٪ معنی دار در سطح احتمال ۱٪ معنی دار در سطح احتمال ۱٪ معنی داری Significant

جدول ۴- تجزیه واریانس مربوط به اثر جیبرلیک اسید بر درصد ساقه روی چهار توده بذری برای مقایسه یادداشت برداری هفته اول تا پنجم

Table 4. Analysis of variance for effect of gibberlic acid in four seed mass for comparison of first week until fifth week

S.O.V	منابع تغییرات	درجه آزادی (df)	هفته اول First week	هفته دوم Second week	هفته سوم Third week	هفته چهارم Forth week	هفته پنجم Fifth week
Block	بلوک	2	118.13ns	280.48ns	95.92ns	115.86ns	224.08ns
a	غلظت تیمار هورمونی جیبرلین	2	**651.76	**5815.01	**1917.30	660.61ns	161.88ns
b	ژنوتیپ	3	48.87ns	**1015.43	**1965.30	**1740.89	**911.13
a×b	اثر متقابل هورمون در ژنوتیپ‌ها	6	1.70ns	82.24ns	429.60ns	223.68ns	143.81ns
Error	اشتباه	22	36.4	194.15	5395.62	318.55	104.19
Total	کل	35					

ns, *, ** : به ترتیب غیر معنی دار و معنی دار در سطوح پنج و یک درصد احتمال

ns, * and **: Non significant, significant at the 5 and 1 % levels of probability respectively.

... غربال کلون های کشت بافت چغندر قند برای تحمل به ساقه روی و بررسی اثر جیبرلیک اسید بر این پدیده ...

جدول ۵- مقایسه میانگین درصد ساقه روی برای سطوح مختلف جیبرلیک اسید با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۱٪ برای مقایسه یادداشت برداری اول تا پنجم

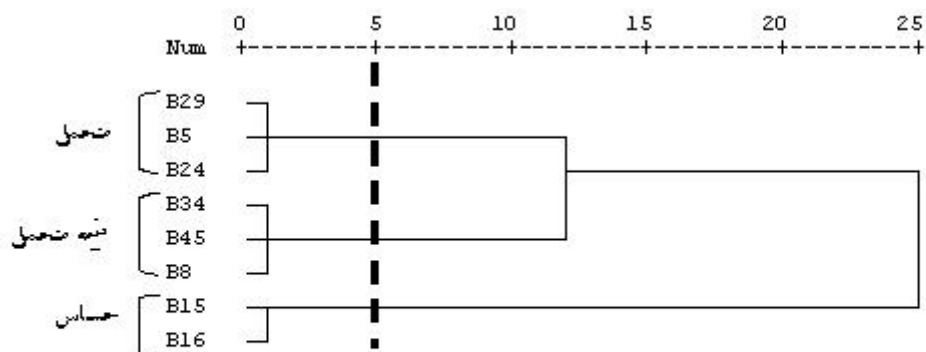
Table 5. Means comparison of Percentage Bolting for several surface of gibberlic acid in level 1% with Duncan test for comparison first week until five week

Inoculate concentration	فاکتور اول (غلظت تلقیح)	هفته اول First week	هفته دوم Second week	هفته سوم Third week
50 mili Molar	میلی مولار ۵۰	a15.6	a69.1	a76.8
10 mili Molar	میلی مولار ۱۰	b4.41	b35.4	b40.6
0	.	c0	c13.6	b34.25

جدول ۶- گروه بندی میانگین ها از لحاظ جذب جیبرلیک اسید و تأثیر آن بر سطوح فاکتور دوم (ژنوتیپ ها) برای مقایسه یادداشت برداری هفته اول تا پنجم با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۱٪

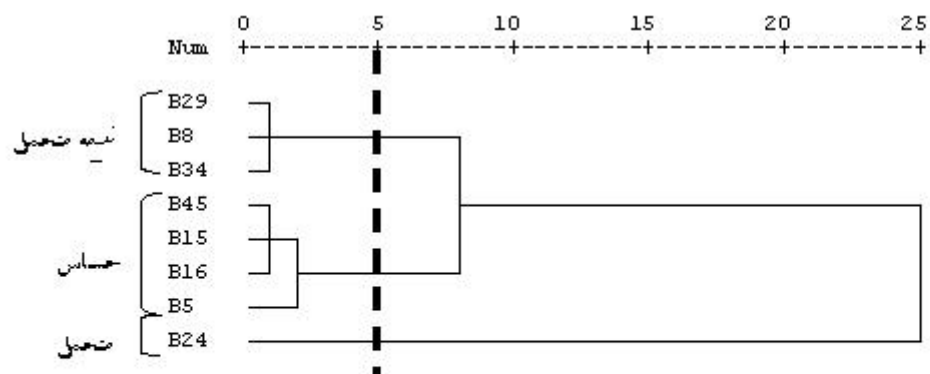
Table 6. Means grouping based on absorption of gibberlic acid and effect `s in levels of second factor (Genotype) for comparison of first week until five week in level 1% with Duncan test

ژنوتیپ Genotype	هفته دوم Second week	هفته سوم Third week	هفته چهارم Forth week	هفته پنجم Fifth week
37R	a53.83	a57.10	a59.41	a66.88
رسول	a42.30	a45.67	a53.64	a64.37
Jot 18	b30.67	b36.77	a47.63	a62.66
monotona	c24.35	c28.53	b29.22	a44.82



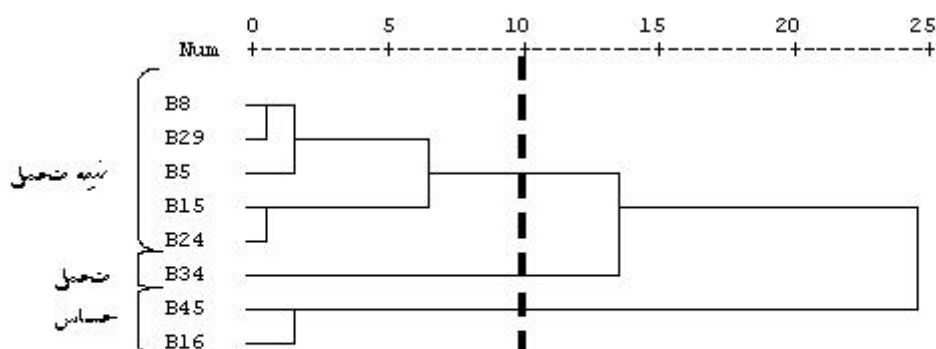
شکل ۱- دندروگرام تجزیه خوشه ای برای دوره سرمایی ۱۲ هفته (هفته اول)

Figur 1. Dendrogram Cluster analysis for 12 week cooling period (first week)



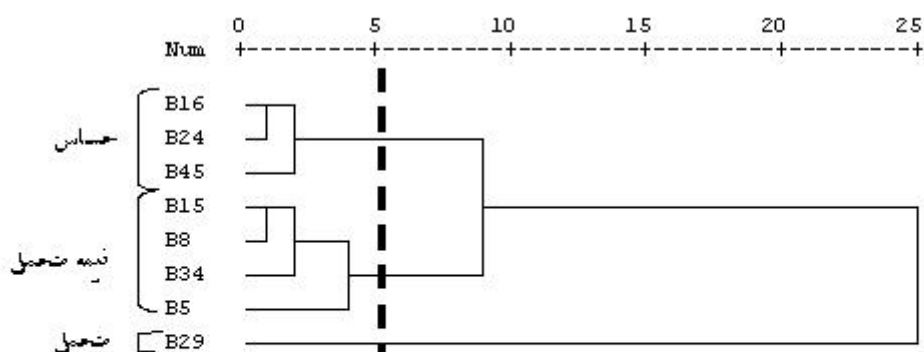
شکل ۲- دندروگرام تجزیه خوشه ای برای دوره سرمایی ۱۲ هفته (هفته دوم)

Figur 2. Dendrogram Cluster analysis for 12 week cooling period (second week)



شکل ۳- دندروگرام تجزیه خوشه ای برای دوره سرمایی ۱۵ هفته (هفته اول)

Figur 3. Dendrogram of cluster analysis for 15 week cooling period (first week)



شکل ۴- دندروگرام تجزیه خوشه ای برای دوره سرمایی ۱۵ هفته (هفته دوم)

Figur 4. Dendrogram of cluster analysis for 15 week cooling period (second week)

new Floricultural crops.

12. Fretag AH, An or Sc, Rao- Arelli Ap or Owens LD. 1988. An improved medium for adventitious shoot formation or callus induction in beta vulgaris L. In Vitro Plant Cell Reports. 7: 30-34.

13. Gaskill, J.O. 1986. Induction of reproductive development in sugar beets by photo thermal treatment of young seedlings. Pro Seeding of the American Society of Sugar Beet Technologists, 7. 112-20.

14. Guan G. and A. Shimamoto.1995. Genetic analysis of bolting in sugar beet using agene for annularity (B). Faculty of Agriculture Hokkaido University Sappor Japan.

15. Hussey, G., and A. Hopher. 1978. Clonal propagation of sugar beet plants and the formation of poly ploid by tissue culture. Ann. Bot. 42, 477-479.

16. Jamil, M., Shik, E. 2007. Gibberellic acid enhance seed water uptake, germination and early seedling growth in sugar beet under salt stress. Pakistan J. of Biological Sci. 10(4): 654-658.

17. Kinoshita, T. 1981. Inheritance of a recessive mutation in male sterile and maintainer lines of sugar beet. Proceedings of the- sugar beet- research- Association. No. 23, 32-25.

18. Lexander, K, 1987. Characters related to vernalization on requirement of sugar beet. In: J.G. Atherton (Ed), Manipulation of flowering, Butterworths, London pp, 147-158.

Lexander, K. 1985. Beta vulgaris in hand book of flowering vol2 (Ed. A. H. Holvey): 24-32. Bocw Raton; CRC.

19. Margara. J. 1960. Researchers Sur Le deteminisme l' elongation et de la floration dans le genra beta. Thsis. A. No. 3614. Faclte des Sciences de l' Universite de Paris, pp. 13-117.

References

منابع مورد استفاده

۱. چگینی، م. ۱۳۷۱. بررسی اثر عمق کشت ریشه، زمان و غلظت هورمون پاشی در القاء بولتینگ و کمیت و کیفیت بذر تولیدی در چغندر قند. پایان نامه کارشناسی ارشد زراعت. دانشگاه تهران. ص. ۶۴.

۲. رضانی ملک رودی م. ع.، آ. طلایی. و ع. خلیتی. ۱۳۸۳. بررسی اثر ژبریلیک اسید (GA^۳) بر پدیده گلدهی و برخی خصوصیات کمی و کیفی میوه زیتون رقم محلی رودبار (Olea europaea L.). ۱۷: ۱۵-۲۴.

۳. شریفی، ح.، م. عزیزپور. ح. امیر آبادی ماندنی. ۱۳۸۳. تعیین تحمل پذیری ارقام چغندر قند داخلی و خارجی نسبت به بولتینگ استان خوزستان. گزارش پژوهش طرح تحقیقاتی چغندر قند. مرکز تحقیقات کشاورزی صفی آباد دزفول.

۴. شور، م.، ا. خلیقی، ر. امید بیگی و ر. نادری. ۱۳۸۳. اثر جبریلیک و ۶-بنزین آدین بر روی صفات کمی گل مریم. مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی. سال ۱۲. شماره ۳

۵. فارسی م. و ع. باقری. ۱۳۷۷. اصول اصلاح نباتات جهاد دانشگاهی مشهد. ص. ۲۲۶۹.

۶. نوروزی، پ. ۱۳۸۵. نشاء مستقیم جوانه های بدون ریشه حاصل از کشت بافت چغندر قند به درون گلدان و سازگاری به شرایط محیطی. ثبت اختراع ۳۷۳۱۳ اداره کل ثبت شرکت ها و مالکیت صنعتی.

7. Salisbury F.B. and C.W. Ross, 1992. Plant physiology. Chapter wadsworth publishing company. Belmont, California.

8. Abe, J., Guan, G.P. and Shimamoto, Y. (1997). A gene complex for annual habit in sugar Beet (Beta vulgaris L.). Euphytica. 94: 129-135.

9. Akeson, W.R.A.H. Freytag and M.A. Henson. 1981. Improvement of sugar beet seed

10. emergence with dilute acid and growth regulator treatment. Crop science. 21: 312-307.

11. Farina, E. and C. Dalla Guda.1999. Effects low temperature photoperiod on flowering of Limoniom gemilin 4 international symposiums on

28. Tetu, T., Sangwan, R.S. and Sangwan- Norreel, B.S. 1987. Hormonal control of organogenesis and somatic embryogenesis in Beta Vulgaris callus. J.Exp. Bot. 38, 506-517.
20. Middleburg, M.C.G. 2000-2004. Tissue cultures as a tool in a sugar beet breeding program, D.J. Vander have. B. V. Rilland, The Nether land, pp, 24-29.
21. Miedema P. 1982. A Tissue culture technique for vegetative propagation and low temperature preservation of Beta vulgaris. Euphytica. 31:635-643.
22. Papakosta D. and A. G. Sficas. 1978. Bolting. Fresh root yield and soluble solid of sugar beet as affected by sowing date and gibberellins treatment. J. of American Society of Sugar Beet Technologists. 20: 115-126.
23. Sadeghian, S. Y. and H. Sharir. 1999. Improvement of sugar beet for combining resistance to bolting and Cercospora Leaf spot, Proceeding of the 62nd international congress selvia.
24. Sadeghian. S.Y. 1993. Bolting in sugar beet, genetics and physiological aspects. Bolting- in- sugar beet- genetics- and- physiological- aspects. 49-82, Sweden, Swedish university of agricultural sciences
25. Sadeghian. S.Y.E. Johansson and K.A. Alexander. 1993. Genetic analysis of the number of cells, length of cell, and gibberellic acid sensitivity in sugar beet and their relation to bolting mechanism, Euphytica. 68: 59-67.
26. Schilling G. and S. Otto. 1985. Studies on the change in root leaf ratio of the number of sugar beet. So: Tagungsbericht, Academic Land sirts chaftswissencsh aften der Deutschen Demokratischen republic. 231: 65-73.
27. Schwab B. and K.H. Nemann, 1975. Studies on the influence of gibberellic acid sprays on the yield, root anatomy and the distribution in carrots. Zeitschrift fur pflanzeneranhrung und bodenkunde. 1: 19-23.