مجله علمی تنش‌های محیطی در علوم گیاهی
جلد (۱)، شماره (۱)، پاییز ۱۳۸۸)

مجله علمی تنش‌های محیطی در علوم گیاهی

بررسی تعداد و اثر ژن‌های کنترل کننده تیپ آلودگی در واکنش به تنش ناشی از نژاد $6E130A^{+}$ زنگ زرد گندم

مهدی زهراوی [۱]*، محمدرضا بی‌همتا [۲]

۱- استادیار بانک ژن گیاهی ملی ایران

۲- استاد گروه بیوتکنولوژی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

تاریخ دریافت: ۸۸/۶/۲۸ تاریخ پذیرش: ۸۸/۸/۱۴

چکیده

برای مطالعه‌ی نحوه توارث مقاومت به تنش زنگ زرد در گندم نسل‌های F_1، F_2، BC_1 و BC_2 از تلاقی Bolani × Elitelep تهیه شد. گیاهچه‌ها توسط نژاد زنگ زرد $6E130A^{+}$ تلقیح شده و صفت تیپ آلودگی یادداشت برداری شد. نتایج تجزیه میانگین نسل‌ها و تجزیه نسبت تفرق فنوتیپی نشان داد که ۱ تا ۲ ژن، مسئول تیپ آلودگی می‌باشند. اثر غالبیت و اثر متقابل افزایشی × غالبیت در کنترل ژنتیکی تیپ آلودگی دارای اهمیت بود، وراثت‌پذیری عمومی به طور متوسط ۸۹٪، و وراثت‌پذیری خصوصی ۶۸٪ برآورد شد. جهت غالبیت به سمت مقاومت بیشتر و تفکیک متجاوز در دو جهت تیپ آلودگی پائین‌تر و تیپ آلودگی بالاتر مشاهده شد.

واژه‌های کلیدی: گندم، زنگ زرد، نحوه توارث، تجزیه میانگین نسل‌ها.

---

* نگارنده مسئول (Mzahravi@Yahoo.Com)

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

زنگ زرد با نام علمی *Puccinia striiformis* West. fsp. tritici یکی از مهم‌ترین تنش‌های غیر زنده گندم است و در شرایط اپیدمی خسارت زیادی به محصول وارد می‌سازد. زنگ زرد بیش از سایر زنگ‌ها به شرایط محیطی حساس می‌باشد (Röbbelen and Sharp, 1978) و این خصوصیت سبب ایجاد مشکل در ارزیابی گیاهان مقاوم می‌شود. علاوه بر آن به نظر می‌رسد ژن‌های مقاوم نیز به شرایط محیطی حساس باشند. این موارد شاید بتواند تناقض‌های موجود در مطالعات مربوط به نحوه توارث مقاومت را توجیه کند (Wagoire *et al*., 1998). به همین دلیل مقاومت تک ژنی غالب و مغلوب علاوه بر مقاومت چند ژنی با آثار کوچک در توارث آن گزارش شده است (Stubbs, 1985). در حالتی که مقاومت به صورت کمی تظاهر می‌یابد اثرات منفرد ژنی بسیار کوچک می‌باشند و نمی‌توان آن‌ها را از راه تجزیه مندلی شناسایی کرد. به همین علت خصوصیات این نوع ژن‌ها باید از راه تجزیه میانگین و واریانس نسل‌ها یا جمعیت‌های مناسب مورد شناسایی قرار گیرد (Mather and Jinks, 1982 ; Falconer and Mackay, 1996 ; Kearsey and Pooni , 1996 ; Hill *et al.,* 1998). اطلاعات به دست آمده از این تجزیه‌ها در انتخاب استراتژی اصلاحی و نحوه‌ی گزینش بسیار مهم می‌باشد. با استفاده از این اطلاعات می‌توان تعیین کرد که گزینش در چه نسلی باید انجام گیرد، درون زادآوری[1] چه نتایجی به بار خواهد آورد، مبنای ژنتیکی هتروزیس چه می‌باشد و آیا می‌توان به تولید ارقام اینبرد یا هیبرید روی آورد. به طور مثال اگر یک صفت توسط ژن‌های مغلوب کنترل شود، گزینش باید تا نسل‌های انتهایی که لاین‌ها بیشتر هموزیگوس هستند به تأخیر بیافتد، یا اگر میزان وراثت‌پذیری پائین باشد تکرار بیشتری مورد نیاز است و یا گزینش باید توسط یک صفت همبسته با وراثت‌پذیری بالا انجام گیرد (Hill *et al.,* 1999). به این ترتیب آگاهی از نحوه کنترل ژنتیکی صفات در انتخاب روش اصلاحی بسیار مهم می‌باشد.

این تحقیق با هدف بررسی و آشنایی بیشتر با نحوه‌ی توارث مقاومت به زنگ در گندم انجام پذیرفت و صفت تیپ آلودگی به عنوان یکی از اجزاء مقاومت، مورد تجزیه قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

یک رقم گندم مقاوم به تنش زنگ زرد به نام Elitelep با رقم حساس بولانی تلاقی داده شد. نسل F_1 خودگشن شده و نسل F_2 به دست آمد. نسل F_1 با والدین هر کراس تلاقی داده شد تا بذرهای BC_1 و BC_2 حاصل شود. بذرهای والدین و نسل‌ها در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در گلدان‌هایی با خاک استریل در گلخانه کاشته شدند. برای والدین و نسل F_1 ، ۲ واحد آزمایشی (گلدان) در هر تکرار و ۵ بذر در هر گلدان، برای نسل‌های BC_1 و BC_2 ، ۴ واحد آزمایشی در هر تکرار و ۵ بذر در هر گلدان و برای نسل F_2 ، ۱۷ واحد آزمایشی در هر تکرار و ۴ تا ۵ بذر در هر گلدان کاشته شد. پس از این‌که برگ اول گیاهچه‌ها به رشد کامل خود رسیدند، با آب مقطر حاوی توئین-۲۰[2] (یک قطره در لیتر) اسپری شدند تا سطح برگ به طور کامل مرطوب شود. سپس اسپور قارچ و پودر تالک به نسبت ۴:۱ مخلوط شده و توسط گردپاش دستی روی آن‌ها پاشیده شد. در این آزمایش از نژاد زنگ زرد گندم $6E130A^+$ ، که

1- Inbreeding

2-Tween-20

Archive of SID

www.SID.ir

قبلاً در واحد پاتولوژی غلات مؤسسه اصلاح نهال و بذر کرج به روش (Johnson *et al.,* 1972) تعیین نژاد شده بود، استفاده شد. پس از تلقیح، گلدان‌ها توسط سرپوش پلاستیکی پوشانده شده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی صد در صد در شرایط تاریکی کامل نگهداری شدند. سپس گلدان‌ها به گلخانه‌ای با دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد و نور ۱۶ هزار لوکس منتقل شدند. تیپ آلودگی ۲۰ روز پس از مایه‌زنی، با روش (Mc Neal *et al.,* 1971) یادداشت‌برداری شد. تیپ آلودگی بین ۰ تا ۶ به عنوان واکنش مقاومت و تیپ آلودگی ۷ به بالا به عنوان واکنش حساسیت در نظر گرفته شد.

تجزیه آماری

برای بررسی وجود اختلاف بین میانگین نسل‌ها، تجزیه واریانس انجام پذیرفت. به علت وجود اختلاف در واریانس در نسل‌های متفاوت به عنوان تیمارهای آزمایش، از تجزیه واریانس وزن شده استفاده شد تا یکنواختی واریانس تیمارها تأمین شد. تجزیه میانگین نسل‌ها با روش آزمون مقیاس مشترک متر و جینکز[1] (۱۹۸۲) انجام گرفت. اجزاء ژنتیکی میانگین با استفاده از روش حداقل توان‌های دوم برآورد شد. برای این کار همه‌ی مدل‌های دو، سه، چهار و پنج پارامتری به همراه مدل شش پارامتری بر داده‌ها برازش داده شدند تا بهترین مدل شناسایی شود. این مدل‌ها برای میانگین‌های مشاهده شده به وسیله‌ی آزمون χ^2 با چهار، سه، دو و یک درجه آزادی برای آزمون نیکوئی برازش[2] امتحان شدند که به نام روش آزمون مقیاس مشترک[3] معروف می‌باشد. در نهایت مدلی انتخاب شد که دارای χ^2 غیر معنی‌دار و اجزاء میانگین معنی‌دار با کمترین خطای استاندارد بود. کمترین تعداد فاکتور مؤثر (ژن) کنترل‌کننده‌ی صفات مورد مطالعه با استفاده از روابط زیر مورد محاسبه قرار گرفت:

1) $(\mu_{P2}-\mu_{P1})^2/[8(\sigma^2_{F2}-\sigma^2_{F1})]$
2) $(\mu_{P2}-\mu_{P1})^2/\{8[\sigma^2_{F2}-(0.5\ \sigma^2_{F1}+0.25\ \sigma^2_{P1}+0.25\ \sigma^2_{P2})]\}$
3) $(\mu_{P2}-\mu_{P1})^2/\{8[2\sigma^2_{F2}-(\sigma^2_{BC1}+\sigma^2_{BC2})]\}$
4) $(\mu_{P2}-\mu_{P1})^2/\{8[(\sigma^2_{BC1}+\sigma^2_{BC2})-(0.5\ \sigma^2_{F1}+0.25\ \sigma^2_{P1}+0.25\ \sigma^2_{P2})]\}$
5) $(\mu_{F1}-\mu_{P1})^2/\{4[\sigma^2_{BC1}-0.5\ (\sigma^2_{F1}+\sigma^2_{P1})]\}$
6) $(\mu_{P2}-\mu_{F1})^2/\{4[\sigma^2_{BC2}-0.5\ (\sigma^2_{F1}+\sigma^2_{P2})]\}$

نتایج و بحث

تجزیه واریانس اختلاف معنی‌داری را بین نسل‌ها نشان داد و تجزیه‌ی ژنتیکی را میسر کرد. میانگین و انحراف معیار برای تیپ آلودگی در نسل‌های مختلف در جدول ۱ ارائه شده است.

1- Mather and Jinks
2- Goodness of fit
3- Joint Scaling Test

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱ – میانگین و انحراف معیار برای تیپ آلودگی نسل‌های مختلف تلاقی Elitelep × Bolani در واکنش به نژاد $6E130A^{+}$ زنگ زرد

نسل	تیپ آلودگی
P_1	۳/۸۶±۰/۷۴
P_2	۸/۱۱±۰/۷۵
F_1	۴/۶۹±۰/۸۲
F_2	۵/۳۳±۲/۳۹
BC_1	۴/۷۶±۱/۵۰
BC_2	۶/۳۸±۲/۲۹

مقادیر h/d و $\sqrt{H/D}$ کمتر از یک بود که بیانگر وجود حالت غالبیت نسبی در کنترل ژنتیکی تیپ آلودگی می‌باشد (جدول ۲).

جدول ۲– درجه غالبیت و اجزاء تنوع تیپ آلودگی تلاقی Elitelep × Bolani در واکنش به نژاد $6E130A^{+}$ زنگ زرد

h/d	D	H	F	$\sqrt{H/D}$	$F/\sqrt{D.H}$	E_W
-۰/۶۱	۷/۸۶	۴/۶۷	-۲/۹۹	۰/۷۷	-۰/۴۹	۰/۶۱

علامت منفی h/d و جزء F نشان‌دهنده‌ی غالبیت ژن‌های والد Elitelep در جهت تیپ آلودگی پائین‌تر (مقاومت بیشتر) می‌باشد. قدر مطلق جزء $F/\sqrt{D.H}$ کوچک‌تر از یک بود که بیانگر تفاوت علامت غالبیت برای ژن‌های کنترل کننده‌ی تیپ آلودگی در لوکوس‌های گوناگون است. به عبارت دیگر برخی از آلل‌های مسئول تیپ آلودگی در والد Elitelep نسبت به همتای خود در والد Bolani مغلوب می‌باشند. معنی‌دار شدن جزء j نشان‌دهنده اهمیت اثر افزایشی × غالبیت می‌باشد (جدول ۳).

جدول ۳– اجزاء میانگین تیپ آلودگی در تلاقی Elitelep × Bolani در واکنش به نژاد $6E130A^{+}$ زنگ زرد

m	d	h	i	j	l	χ^2
۶±۰/۹۰	۲/۱۳± ۰/۱	۱/۲۶-± ۰/۱۷	-	۱/۳۶-± ۰/۷	-	۱/۳۷^{ns}

n.s: غیرمعنی‌دار.

علامت جزء j منفی بود، باید توجه داشت که علامت این جزء ثابت نیست و با عوض شدن جای والدین علامت آن تغییر می‌یابد. این نوع اپیستازی به وسیله گزینش تحت شرایط خودگشنی قابل تثبیت نمی‌باشد.

مقدار وراثت‌پذیری عمومی بالا بود (جدول ۴).

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۴– وراثت پذیری عمومی و خصوصی تیپ آلودگی در تلاقی Elitelep × Bolani در واکنش به نژاد $6E130A^+$ زنگ زرد

وراثت پذیری خصوصی	وراثت‌پذیری عمومی				
	۵	۴	۳	۲	۱
۰/۶۸	۰/۸۹	۰/۹۰	۰/۸۸	۰/۹۰	۰/۹۰

رابطه وراثت پذیری عمومی عبارتست از $(VF_2-E_w)/ VF_2$ و E_w در حالت‌های ۱ تا ۵ به شرح زیر می‌باشد:

1) $E_w = (VP_1+VP_2)/2$
2) $E_w = \sqrt{VP_1 \times VP_2}$
3) $E_w = VF_1$
4) $E_w = (VP_1+VP_2+VF_1)/3$
5) $E_w = (VP_1+VP_2+2VF_1)/4$

رابطه وراثت‌پذیری خصوصی عبارتست از $[2VF_2-(VBC_1+VBC_2)]/VF_2$ (قنادها،۱۳۷۷).

تفاوت واضحی بین مقادیر وراثت‌پذیری عمومی و خصوصی مشاهده می‌شود که نشان دهنده‌ی نقش اثر غالبیت در کنترل ژنتیکی این صفت است. بر اساس نتایج برآورد تعداد ژن‌ها با استفاده از روش لحظه‌ای (جدول ۵) می‌توان استدلال کرد که حدود ۱ تا ۲ ژن تیپ آلودگی را در رقم Elitelep دربرابر نژاد $6E130A^+$ کنترل می‌کنند. باید توجه داشت که استفاده از این روش برای برآورد تعداد ژن مستلزم رعایت فرض‌هایی مانند نبود لینکاژ، اپیستازی و غالبیت و وجود اثرات مساوی در لوکوس‌های گوناگون می‌باشد و در صورت عدم رعایت این فرض‌ها تعداد ژن‌ها کمتر از اندازه واقع برآورد می‌شوند. به همین علت برآوردهای مختلفی در هر یک از حالت‌ها به دست آمده است.

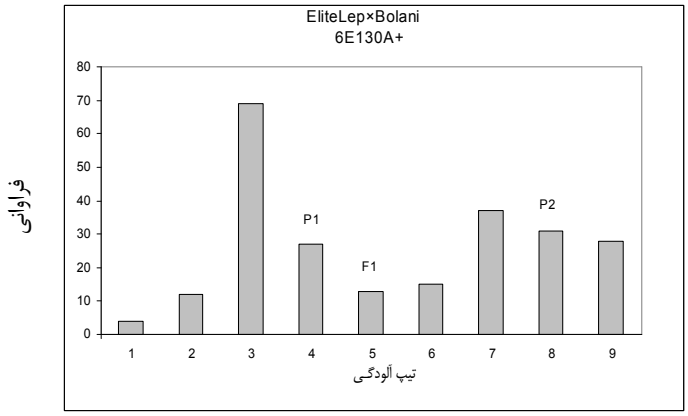
جدول ۵– برآورد تعداد ژن‌های در حال تفرق برای تیپ آلودگی در تلاقی Elitelep × Bolani در واکنش به نژاد $6E130A^+$ زنگ زرد

رابطه					
۶	۵	۴	۳	۲	۱
۰/۰	۱/۸	۰/۳	۰/۶	۰/۴	۰/۴

توزیع فراوانی تیپ آلودگی در گیاهان F_2 (شکل ۱) پیوسته و به طرف تیپ آلودگی پائین‌تر (مقاومت بیشتر) متمایل بود. تمایل منحنی توزیع فراوانی به یکسو و عدم تظاهر منحنی نرمال می‌تواند به علت وجود غالبیت، لینکاژ یا اپیستازی باشد. بنابراین بر اساس نتایج به دست آمده از منحنی فراوانی، در تلاقی Elitelep × Bolani تیپ آلودگی پایین‌تر (مقاومت بیشتر)، به صورت غالب می‌باشد که با نتایج جزء تنوع F تطابق دارد.

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۱– توزیع فراوانی تیپ آلودگی در گیاهان F_2 در تلاقی Elitelep × Bolani در برابر نژاد زنگ زرد $6E130A^+$. P_1 و P_2 به ترتیب عبارتند از والدهای Elitelep و Bolani

تفکیک متجاوز در دو جهت تیپ آلودگی پائین‌تر و تیپ آلودگی بالاتر مشاهده شد. طبق نظر Johnson(1988) تفکیک متجاوز در جهت مقاومت می‌تواند ناشی از اثرات متقابل یا اثرات افزایشی ژن‌های اختصاصی یا انتقال ژن‌های اختصاصی از یک زمینه ژنتیکی بازدارنده[1] به یک زمینه ژنیکی رسا[2] باشد. نسبت تفرق فنوتیپی افراد F_2 (جدول ۶) با نسبت ۹:۷ مطابقت داشت و ژن غالب، کنترل کننده تیپ آلودگی پایین (مقاومت بیشتر) بود که با نتایج جزء تنوع F برابری دارد.

جدول ۶– نسبت پراکندگی مورد انتظار افراد نسل F_2 در تلاقی Elitelep × Bolani برای تیپ آلودگی در واکنش به نژاد $6E130A^+$ زنگ زرد

χ^2	نسبت	
	حساس : مقاوم (مورد انتظار)	حساس : مقاوم (مشاهده شده)
۰/۷۴ ns	۹:۷	۱۴۰:۹۶

نتیجه کلی این‌که اثر غالبیت در کنترل ژنتیکی تیپ آلودگی که یکی از اجزاء مقاومت می‌باشد دارای اهمیت است. علاوه بر آن اثر متقابل غیرآللی افزایشی × غالبیت نیز در کنترل ژنتیکی

1- Suppressive background
2- Expressive background

www.SID.ir

این صفت نقش دارد. بهترین استراتژی اصلاحی در این حالت برای بهبود مقاومت از راه تیپ آلودگی عبارت از استفاده از هتروزیس می‌باشد.

پراکندگی ژن‌های غالب با جهت مشابه[1] در بین والدین باعث بروز هتروزیس در F_1 در می‌شود. می‌توان از این هتروزیس در ایجاد ارقام هیبرید بهره‌برداری کرد. همچنین از این استراتژی می‌توان در فاز ابتدائی برنامه‌های اصلاحی استفاده کرد تا بتوان تلاقی‌هایی را که نسبت بالاتری از این بردهای نو ترکیب برتر تولید می‌کنند شناسایی کرد (Lawrence & Senadhira, 1998).

منابع

قنادها، م.ر. ۱۳۷۷، مطالعه نحوه توارث طول دوره کمون در چهار رقم گندم نسبت به زنگ زرد، مجله علوم زراعی ایران، جلد ۱، شماره ۱، صفحه‌های ۷۱-۵۳.

Falconer D.S. and T.F.C Mackay .1996. Introduction to quantitative genetics, 4th edn. Longman, Harlow, UK.

Hill J ., H.C Becker, and P.M.A Tigerstedt .1998. Quantitative and ecological aspects of plant breeding. Chapman and Hall, London.

Hill, J ., R.Ortiz ., W.W. Wagoire, and O.Stølen .1999. Effectiveness of indirect selection for wheat yield in a stress environment. Theor Appl Genet 98:305–309.

Johnson, R. 1988. Durable resistance to yellow (stripe) rust in wheat and its implication in plant breeding. In: N.W. Simmonds and S. Rajaram (eds.). Breeding strategies for resistance to the rusts of wheat, pp. 63-75.

Johnson, R., R.W. Stubbs, E. Fuchs, and N.H. ghamberlain. 1972. Nomenclature for phytopathology races of *Puccinia striiformis* infecting wheat. Transactions of the British mycological society 45:21-45.

Kearsey, M.J. and H.S. Pooni .1996. The genetical analysis of quantitative traits. Chapman and Hall, London.

Lawrence, M.J. and D. Senadhira .1998. Quantitative genetics of rice. IV. A breeding strategy. Field Crops Res 55:275–281

Mather, K. and J.L. Jinks .1982. Biometrical genetics, 3rd edn. Chapman and Hall, London.

McNeal, F.H ., C.F. Konzak ., E.P. Smith ., W.S. Tate, and T.S. Russelli .1971. A uniform system for recording and processing cereal research data. U.S. department of Agriculture, Agriculture Research Service, APRS. 34-121pp.

1- Unidirectional

www.SID.ir

Röbbelen, G. and E.L. Sharp .1978. Mode of inheritance, interaction and application of genes conditioning resistance to yellow rust. Advances in plant breeding vol 9. Verlag Paul Parey, Berlin and Hamburg.

Stubbs, R.W .1985. Stripe rust. In: Roelfs AP, Bushnell WR (eds) The cereal rusts. Academic Press, London, pp 61-101.

Wagoire, W. W ., O. Stølen, J. Hill and R. Ortiz . 1998. Inheritance of adult field resistance to yellow rust disease among broad-based hexaploid spring wheat germplasm. Theor. Appl. Genet. 97: 502-506.

Archive of SID

www.SID.ir