مجله علوم گیاهان زراعی ایران
دوره ۴۱، شماره ۲، ۱۳۸۹ (۳۷۴-۳۶۵)

ژنتیک مقاومت به بیماری برق‌زدگی (*Ascochyta rabiei*) در نخود زراعی

همایون کانونی[۱]*، علیرضا طالعی[۲]، راجیندر سینگ مالهوترا[۳]، سید علی پیغمبری[۴]، سید محمود اخوت[۵] و حسین غفاری خلیق[۶]
۱، دانشجوی سابق دکتری، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران و استادیار مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی کردستان، ۲، ۴، ۵، استاد، دانشیار و استاد پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران
۳، محقق ارشد، مرکز بین المللی تحقیقات کشاورزی مناطق دیم (ایکاردا)، سوریه
۶، محقق حبوبات، مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج
(تاریخ دریافت: ۸۷/۱۱/۱- تاریخ تصویب: ۸۸/۱۱/۷)

چکیده

وجود تنوع ژنتیکی کافی برای مقاومت به بیماری برق‌زدگی در جنس نخود (*Cicer* spp.)، زمینه لازم جهت اصلاح ارقام مقاوم به برق‌زدگی و توسعه کشت پاییزه این محصول را به منظور افزایش عملکرد دانه‌ایجاد نموده است. در این راستا، درک نحوه توارث مقاومت به برق‌زدگی در نخود به تلاش‌های اصلاحی کمک شایان توجهی می‌کند. این بررسی به منظور تعیین تعداد ژن‌های کنترل کننده مقاومت به برق‌زدگی و اندازه برگ در نخود، و نوع عمل این ژن‌ها، اجرا شد. نتاج F_1، F_2 و F_3 حاصل از تلاقی نخود محلی بیونیج و لاین ICC 12004، به همراه والدین در طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مرکز بین المللی تحقیقات کشاورزی در مناطق دیم(ایکاردا) تحت آلودگی مصنوعی در شرایط گلخانه کشت شدند. نتایج نشان داد که در نسل‌های F_2 و F_3 نسبت بوته های حساس به مقاوم اختلاف معنی‌داری با نسبت‌های مورد انتظار ۹:۷ و ۵:۳ نداشتند. بنابراین احتمال وجود دو ژن با اثرات افزایشی را می‌توان تصور کرد. نتایج دیگر حاکی از آن بود که با افزایش اندازه برگ مقاومت به برق‌زدگی در نخود کاهش یافت. تجزیه و تحلیل میانگین نسل‌ها برای مقاومت به برق‌زدگی نشان داد که، در تلاقی حاضر آثار افزایشی نقش اصلی را در تنوع مقاومت به برق‌زدگی ایفا کردند، ولی برای اندازه برگ علاوه بر اثر افزایشی، اجزای غالبیت نیز به طور معنی‌داری در این امر دخیل بودند. اثرات غالبیت (*h*) و اثرات متقابل غالبیت × غالبیت (*l*)، در مورد هر دو صفت غیر هم علامت بودند و لذا ممکن است اپیستازی از نوع دوگانه وجود داشته باشد. با توجه به نتایج حاصل می‌توان مقاومت در ژنوتیپ مقاوم (ICC 12004) را به صورت $R_1R_1R_2R_2$ پیشنهاد نمود. لذا بر اساس یافته‌های این تحقیق، روش انتخاب دوره‌ای که به نحو مطلوب از واریانس افزایشی استفاده می‌کند، به عنوان بهترین روش اصلاحی جهت انتخاب ژنوتیپ‌های و الدینی و ایجاد مقاومت به بیماری برق‌زدگی در نخود پیشنهاد می‌شود.

واژه های کلیدی: تجزیه میانگین نسل‌ها، اثر ژن، بیماری برق‌زدگی، نخود زراعی.

مقدمه

نخود (*Cicer arietinum* L.)، گیاهی خودگشن و دیپلوئید بوده و پس از نخود فرنگی و لوبیا، سومین لگوم دانه‌ای مهم جهان محسوب می‌گردد (Aghaee &

*نویسنده مسئول: همایون کانونی تلفن: ۰۹۱۸-۳۷۱۴۳۱۵ E-mail: hkanouni@yahoo.com

Archive of SID
www.SID.ir

(Kanouni, 2004). اصلی‌ترین کشورهای تولیدکنندهٔ نخود در جهان به ترتیب هند، پاکستان، ترکیه و ایران هستند. سطح زیر کشت نخود در کشور ما ۶۵۰ هزار هکتار و تولید سالیانهٔ آن در حدود ۴۰۰ هزار تن می‌باشد (Sabaghpoue et al., 2003).

بیماری‌ها، یکی از مهم‌ترین عوامل کاهش عملکرد در نخود هستند. بیماری برق‌زدگی که به وسیله قارچ نکروتروف *Didymella rabiei*(Kovachevski) v.Arx., (آنامورف[1] آن*Ascochyta rabiei*(Pass.) Labrousse نام دارد) ایجاد می‌شود، مخرب ترین بیماری نخود در اغلب مناطق زیر کشت این محصول به شمار می‌رود. عامل بیماری از طریق کونیدیوم‌های تشکیل شده در اندام‌های زایشی (پیکنیدیا)، و همچنین از طریق آسکوسپورهای شکل گرفته در نوع دیگری از اندام‌های زایشی به نام سودو تشیا بروز می‌کند. از آن جا که آسکوسپورها نتیجهٔ نوترکیبی جنسی هستند، از این طریق ممکن است نژادهای جدیدی توسعه یافته و در نتیجه مقاومت به برق‌زدگی بشکند (Kaiser & Okhovat, 1996). انواع مختلفی از قارچ‌کش‌ها برای کنترل زاد مایه[2] بذرزا گزارش شده‌اند، ولی از آنجا که کنترل شیمیایی بیماری معمولاً غیراقتصادی و آلوده‌کنندهٔ محیط زیست است، به نظر می‌رسد تنها جایگزین پایدار، مقاومت گیاه میزبان باشد. بروز پاتوتیپ‌ها، واریانت‌ها و نژادهای فیزیولوژیک جدید از بیمارگر حاکی از پیشرفت روزافزون عامل بیماری برق‌زدگی در جهت ایجاد هر چه بیشتر بیماری است، و نشان می‌دهد که کنترل این بیماری به تلاش متمرکز و مشترک بیماری‌شناسان و اصلاح‌کنندگان گیاه نیاز دارد. برای اتخاذ هر گونه راهکار اصلاحی مقاومت به بیماری، درک کامل و شفاف از ژنتیک مقاومت به بیماری، داشتن روشی قابل اعتماد برای غربال کردن مواد گیاهی و توسعه یک الگوی گزینش مناسب جهت شناسایی ژنوتیپ‌های مقاوم، ضروری می‌باشند (Checa et al., 2006). نتایج مطالعات قبلی حاکی از آن است که هم تجزیه مندلی و هم تجزیه مکان‌های ژنی صفات کمّی (QTLs)، وجود تنوع ژنتیکی برای مقاومت به برق‌زدگی در نخود را تأیید می‌کنند (Malhotra et al., 2003). گزارش‌های مختلفی در خصوص الگوی توارث مقاومت به برق‌زدگی در نخود منتشر شده‌اند و نشان می‌دهند که این مقاومت تک ژنی یا دو ژنی است (Lichtenzveig et al., 2002; Tekeoglu et al., 2000; Pieters & Tahiri, 1986) ولی گزارشات دیگر از ماهیت پیچیده بیماری حکایت دارند (Santra et al., 2000; Udupa et al., 1998). اوّلین گزارش در خصوص ژنتیک مقاومت به برق‌زدگی توسط Hafiz & Ashraf (1953) ارائه شده است. نتیجه این بررسی نشان داد که در دو ژنوتیپ نخود فرانسوی مقاومت به بیماری توسط یک جفت ژن کنترل می‌گردد. Vir & Greval (1975) نیز در تحقیق بر روی یک لاین نخود تیپ دسی نتیجه مشابهی را اعلام نمودند. Singh & Reddy (1983) ژنتیک مقاومت به *D. rabiei* را در یک مجموعه از لاین‌های مقاوم بررسی کرده و نتیجه‌گیری کردند که مقاومت از یک مدل ژنتیکی ساده تبعیت نموده و دو عبارت rar_1 و rar_2 را برای مشخص کردن مقاومت به ترتیب در دو لاین ICC 191 و ILC 200 پیشنهاد کردند. محققان مرکز بین‌المللی تحقیقات کشاورزی در مناطق خشک (ایکاردا)[3]، در بررسی ژنوتیپ‌های ژرم‌پلاسم این مرکز پی بردند که مقاومت به صورت تک ژنی کنترل می‌شود (ICARDA, 2000). Kusmenoglu (1990) دو ژن مغلوب تکمیلی را گزارش کرد، در حالیکه Pieters & Tahiri (1986) دو ژن تکمیلی غالب با اثرات متقابل درون آللی را گزارش کردند. در مطالعه دیگری، Tekeoglu et al. (2000) گزارش کردند که ۳ ژن اصلی تکمیلی و مغلوب با تعداد زیادی تغییردهنده[4] مقاومت به برق‌زدگی را کنترل می‌کنند. آنها در ادامه افزودند که عدم حضور یک یا دو ژن اصلی باعث بروز حساسیت شده، در حالی که وجود تغییردهنده‌ها درجهٔ مقاومت را تعیین می‌کند. Lichtenzveig et al. (2002) از طریق آزمون فین[5] پی بردند که تفرق یک یا تعدادی مکان ژنی صفت کمّی

1. Anamorph
2. Inoculum

3. International Center for Agricultural Research in the Dry Areas (ICARDA)
4. Modifier
5. Fain's test

Archive of SID

www.SID.ir

بزرگ اثر و احتمالاً برخی مکان‌های ژنی کوچک اثر بر توارث مقاومت به بیماری برق‌زدگی حاکم هستند.

با توجه به اهمیت بیماری برق‌زدگی در ایران، از حدود ۴۰ سال پیش تحقیق در خصوص بررسی مقاومت ارقام و لاین‌های نخود به این بیماری آغاز شده است. ولی، به دلیل تنوع در نژادهای این قارچ، تا سال‌های اخیر مطالعات بر پایه بررسی مقاومت ارقام در برابر جدایه‌های محلّی بوده است. Sharif et al. (1965)، طی بررسی بر روی تعدادی از ارقام نخود معمولی، رقم‌های F8، C235 و 13639 را به عنوان مقاوم معرفی کردند. Kaiser & Okhovat (1996) وجود دو تیپ آمیزشی مرحله جنسی *D. rabiei* را در ایران گزارش کردند. در مطالعه دیگری، نتیجه‌گیری شد که ارقام نخود سیاه (تیپ دسی) مقاومت بیشتری نسبت به ارقام نخود سفید (تیپ کابلی) در مقابل حمله قارچ دارند (Okhovat, 1996). Shokohifar et al. (2005) در بررسی واکنش ۴۲۰ توده بومی و ۹۷ لاین و رقم خارجی، در برابر عامل بیماری برق‌زدگی در شرایط مزرعه و گلخانه طی دو سال نتیجه‌گیری کردند که در مرحله غلاف‌دهی نمونه‌های مقاوم و حساس با دقت و اطمینان بیشتری از یکدیگر قابل تمایز هستند. Danehloueipour et al. (2007) با استفاده از پنج تلاقی نیمه دای آلل ۵×۵ شامل ۷ لاین نخود زراعی (ICC 3996، آلماز[1]، لاستر[2]، کانیوا[3]، ایزولاین IG 9337 ،24 B و کیمبرلی دانه درشت[4])، سه نمونه از *C. reticulatum* (ILWC 118، ILWC 139 و ILWC 184) و یک نمونه از *C. echinospermum* (ILWC 181) (همه لاین‌ها در همه تلاقی‌ها به کار نرفته‌اند)، ژنتیک مقاومت به برق‌زدگی را در شرایط مزرعه مورد مطالعه قرار دادند. در این بررسی آثار افزایشی و غالبیت معنی‌دار و تعدادی ژن‌های بزرگ‌اثر[5] و کوچک‌اثر[6] در مقاومت دخیل بودند. بودند. حساسیت بر مقاومت غالب بود و آلل‌های مغلوب در دو والد مقاوم آلماز و ICC 3996، و یک ژنوتیپ از *C. reticulatum* (ILWC 118) متمرکز بودند. وجود وراثت‌پذیری خصوصی بالا نشان داد که اثرات ژنی افزایشی اهمیت بسیار بیشتری نسبت به اثرات ژنی غیرافزایشی در توارث صفت مقاومت به برق‌زدگی دارند. Ghasemi (2000) در تحقیقی که به منظور تعیین ژن‌های مسئول مقاومت به برق‌زدگی در چندین والد نخود و واکنش نتاج آنها به روش دای آلل انجام داد، پی برد که برای صفت آلودگی، در تجزیه گریفینگ بین قابلیت ترکیب‌پذیری خصوصی و عمومی اختلاف معنی‌دار بود. در این بررسی، والدین جم و پیروز در رتبه‌های اول و دوم (حساس‌تر) و سه والد دیگر، هاشم، ۳۱-۶۰-۱۲ و ILC 482 در رتبه‌های بعدی (مقاوم‌تر) قرار داشتند.

روش تجزیه میانگین نسل‌ها یکی از مهمترین روش‌های تخمین پارامترهای ژنتیکی است. در این روش علاوه بر آثار افزایشی و غالبیت ژن‌ها، آثار اپیستازی نیز برآورد می‌شوند. مطالعه حاضر در همین راستا و به منظور بررسی ژنتیک اثر متقابل سیستم نخود-*A. rabiei* انجام شد. در این بررسی انتظار بر این بود که (الف) تعداد ژن‌های مسئول اندازه برگ وکنترل مقاومت به برق‌زدگی در نخود، (ب) تفاوت موجود بین این ژن‌ها و (ج) نوع عمل ژن کنترل‌کننده مقاومت به بیماری، تعیین گردد.

مواد و روش‌ها

ژنوتیپ ICC 12004 و رقم بیونیج، بر اساس گزارش‌های قبلی در مورد سطح مقاومت ژنوتیپ‌های نخود به بیماری برق‌زدگی (Farshadfar, 1988; ICARDA, 2000; Lichtenzveig et al., 2002)، برای تلاقی با یکدیگر، انتخاب شدند. والد پدری، لاین ICC12004 از سری ژرم‌پلاسم مقاوم به برق‌زدگی، گزینش شده در ایکاردا؛ و والد مادری، رقم محلّی بیونیج حساس به برق‌زدگی، که رقم غالب در مناطق دیم غرب کشور است (Mahmoudi & Sabaghpour, 2005)، بودند. رقم بیونیج با وزن ۱۰۰ دانه بالا، جزو ارقام دانه درشت نخود دسته بندی شده و از بازارپسندی بسیار مطلوبی در کشور برخوردار است. بذر مورد نیاز از رقم بیونیج با تکثیر بذور حاصل از تک بوته به دست آمد و

1. Almaz
2. Lasseter
3. Kaniva
4. Kimberley Large
5. Major
6. Minor

Archive of SID

www.SID.ir

بذر لاین ICC 12004 از مرکز ایکاردا دریافت شد. کلیه فعالیت‌های مربوط به تکثیر بذور، تلاقی بین دو رقم یاد شده و تهیه نسل‌های F_1، RF_1 (دورگ متقابل)، F_2 و F_3 طی سال‌های ۱۳۸۴ و ۱۳۸۵ در گلخانه‌های مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج انجام شد.

در داخل گلدان‌هایی به ابعاد ۲۵×۱۵ سانتی‌متر، پر شده با مخلوط خاک استریل، ماسه و پیت به نسبت ۱:۱:۲، از هر کدام از نسل‌های مورد مطالعه و لاین شاهد بسیار حساس (ILC 1929) پنج بذر کشت شد. تعداد بوته مورد ارزیابی برای هر نسل متفاوت بود. برای والدین تلاقی و نسل‌های F_1 وRF_1 هر کدام هشت گلدان یا به عبارت دیگر هر کدام ۴۰ بوته، و برای نسل‌های F_2 و F_3، هر کدام ۴۰ گلدان یا ۲۰۰ بوته ارزیابی شدند. گلدان‌های حاوی گیاهچه‌های نخود با استفاده از طرح بلوک‌های کامل تصادفی به دو قسمت تقسیم شدند. ارزیابی برای عکس‌العمل نسل‌های ژنتیکی در برابر پاتوژن برق‌زدگی، با استفاده از جدایه شماره ۱۳ از پاتوتیپ III در مرکز ایکاردا صورت پذیرفت (Udupa et al., 1998). این جدایه با توجه به نتایج حاصل آزمایشات قبلی انتخاب شد. جداسازی قارچ از گیاهان بیمار، خالص سازی جدایه، و تهیه سوسپانسیون اسپور به روش شرح داده شده توسط Santra et al. (2000) انجام گرفت. گیاهچه های چهارده روزه با اسپری کردن سوسپانسیون اسپور (۲×۱۰^{۵} اسپور/ میلی‌لیتر) مایه‌زنی و برای حفظ رطوبت نسبی بالای ۹۰ درصد به مدت ۴۸ ساعت با پوشش پلاستیکی نیمه‌شفاف[1] پوشانده شدند. علائم بیماری برق‌زدگی ۷ روز پس از مایه زنی آشکار گردید و شاهد ILC 1929، پانزده روز پس از مایه زنی کاملاً از بین رفت. پس از مشاهده وضعیت لاین مزبور، واکنش بوته‌ها در برابر بیماری به روش مقیاس‌بندی ۱ تا ۹ امتیازدهی شد (Singh & Reddy, 1983). برای اندازه‌گیری سطح برگ، در آغاز مرحله گلدهی برگ‌های چهارم و پنجم از قسمت انتهای دمبرگ یکی از شاخه‌های جانبی هر بوته قطع و پس از انتقال به آزمایشگاه سطح آنها با دستگاه لیزر سی.آی.۲۰۳[2] ساخت کشور ژاپن بر حسب سانتی‌متر مربع اندازه‌گیری شد.

تجزیه‌های آماری برای میانگین پنج نسل P_1، P_2، F_1، F_2 و F_3 مطابق با روش Mather & Jinks (1982) انجام شد. سپس، بر اساس مدل پنج پارامتری علاوه بر میانگین یا نقطه مبداء برآورد حداقل مربعات، اجزای ژنتیکی شامل: افزایشی (*d*)، غالبیت (*h*)، غالبیت × غالبیت (*i*) و افزایشی× افزایشی (*l*)، برآورد گردیدند. از آزمون کای اسکور (χ^2) برای تعیین نیکویی برازش هر کدام از مدل‌های ژنتیکی استفاده شد. تفاوت موجود بین میانگین‌ها از طریق مقایسات با یک درجه آزادی و اجزای ژنتیکی با استفاده از آماره t آزمون شدند. اجزایی که به طور معنی‌داری متفاوت از صفر بودند ($P\leq0.05$)، به عنوان اجزای سهیم در مدل در نظر گرفته شد. در ادامه واریانس نسل‌ها، وراثت‌پذیری عمومی، تعداد ژن یا عامل مؤثر بر صفات و پیشرفت ژنتیکی برآورد شدند (Mather & Jinks, 1982). همچنین، مقادیر وراثت‌پذیری خصوصی از طریق برآورد همبستگی بین خویشاوندان به دست آمدند (Falconer & Mackay, 1996).

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس وزنی نشان داد که بین نسل‌ها از لحاظ اندازه برگ و مقاومت به برق‌زدگی تفاوت معنی‌دار بود (جدول۱). میانگین‌ها و مقادیر خطای معیار آنها برای نسل‌های والدین، F_1، RF_1، F_2 و F_3 در جدول ۲ درج شده‌اند. در نسل‌های F_2 و F_3 نسبت بوته‌های حساس:مقاوم به ترتیب برابر با ۱۰۹:۹۰ و ۱۱۵:۸۱ بود که بر اساس آزمون کای‌اسکور اختلاف معنی‌داری با نسبت‌های مورد انتظار ۹:۷ و ۵:۳ نداشتند. صرف‌نظر از اینکه در بررسی حاضر ارقام و لاین‌های نخود با درجه برق‌زدگی ۱/۰ تا ۴/۰ در گروه مقاوم، و با درجه ۴/۱ تا ۹/۰ در گروه حساس دسته‌بندی شدند، تعداد اندکی از گیاهان نسل F_2 واکنش متوسطی به برق‌زدگی نشان دادند و با توجه به این که ممکن است از بیماری اجتناب کرده باشند، در دسته حساس گروه‌بندی شدند. Van Rheenen & Haware (1994) اظهار داشتند که ژنوتیپ‌های نخود از لحاظ بروز اولین علائم برق‌زدگی تا

1. Transparent
2. CI203 Laser

Archive of SID

www.SID.ir

حد زیادی متفاوتند که این نکته حکایت از تنوع آنها در درجه مقاومت به بیماری دارد. به نظر محققان یاد شده، مدت زمان لازم برای توسعه علائم اولیه برق‌زدگی با تفرق یک تک ژن کنترل می‌شود.

جدول ۱- تجزیه واریانس وزنی صفات

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات	
		درجه بیماری	اندازه برگ
بلوک	۲	۰/۶۵	۱۵/۲۷
نسل	۴	۱۰۹/۴۲**	۴۴/۳۱**
خطا	۸	۱۴/۸۸	۶/۲۵
ضریب تغییرات٪		۲۳/۰۸	۱۶/۲۲

** معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد.

توزیع واکنش در برابر بیماری برای نسل‌های F_2 و F_3 در شکل ۱ نشان داده شده‌اند. به طوری که ملاحظه می‌شود، در هر دو توزیع واکنش به بیماری تا حدودی چولگی به سمت والد مقاوم دارد. این را می‌توان نشانه ای از غالبیت در مکان(های) ژنی کنترل کننده مقاومت به برق‌زدگی دانست. Santra et al. (2000) و Tekeoghlu et al. (2000) نیز در تحقیقات خود به نتیجه مشابهی رسیدند. Tekeoghlu et al. (2000)، با استناد به این موضوع گزارش کردند که چنانچه مقاومت به عنوان یک صفت مندلی در نظر گرفته شود، می‌توان نسبت تفرق در جمعیت‌های F_2 و $F_{2:3}$ را به صورت یک صفت که با یک ژن غالب اصلی کنترل می‌شود در نظر گرفت. ولی در مطالعه حاضر، نسبت تفرق در F_2، وجود دو ژن غالب تکمیلی در ژنوتیپ مقاوم را نشان داد. با توجه به اینکه تفاوت معنی‌داری بین F_1 و RF_1 وجود نداشت، شواهدی دال بر وجود اثرات سیتوپلاسمی در تلاقی بیونیج × ICC 12004، به دست نیامد. در خصوص وجود اثرات سیتوپلاسمی در نخود هیچ گزارشی موجود نیست.

همبستگی بین اندازه برگ و درجه بیماری در نسل‌های مختلف، متفاوت بود. این رابطه در مورد P_2 (رقم بیونیج)، و نسل $F_{2:3}$ معنی‌دار، و در سه نسل دیگر غیرمعنی‌دار بود (جدول ۴). به نظر می‌رسد در شرایط این آزمایش با افزایش اندازه برگ، شدت آلودگی به بیماری کمتر شده است. بنا به گزارش Dey & Singh (1993) لاین‌هایی از نخود که تراکم کرک بیشتری بر روی برگ دارند به برق‌زدگی حساس‌تر هستند. نتیجه تحقیق دیگری حاکی از آن است که با افزایش اندازه برگ در نخود، از میزان کرک روی برگ‌ها و سایر اندام‌های گیاه کاسته می‌شود(Hafiz & Ashraf, 1953). بر اساس یافته‌های Kusmenoghlu (1990)، شکل و اندازه برگ، و عادت رشدی گیاه بر میکروکلیمای کانوپی موثر بوده و لذا ایجاد آلودگی و استقرار پاتوژن در بافت گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهند. در تحقیق دیگری ثابت شده است که، ارقام نخود با برگ‌های پر مانند[1]، نسبت به ارقام تک برگ[2] به طور معنی‌داری شدت پایین‌تری از بیماری برق‌زدگی را نشان می‌دهند (Gan et al., 2007).

1. Pinnate
2. Unifoliate

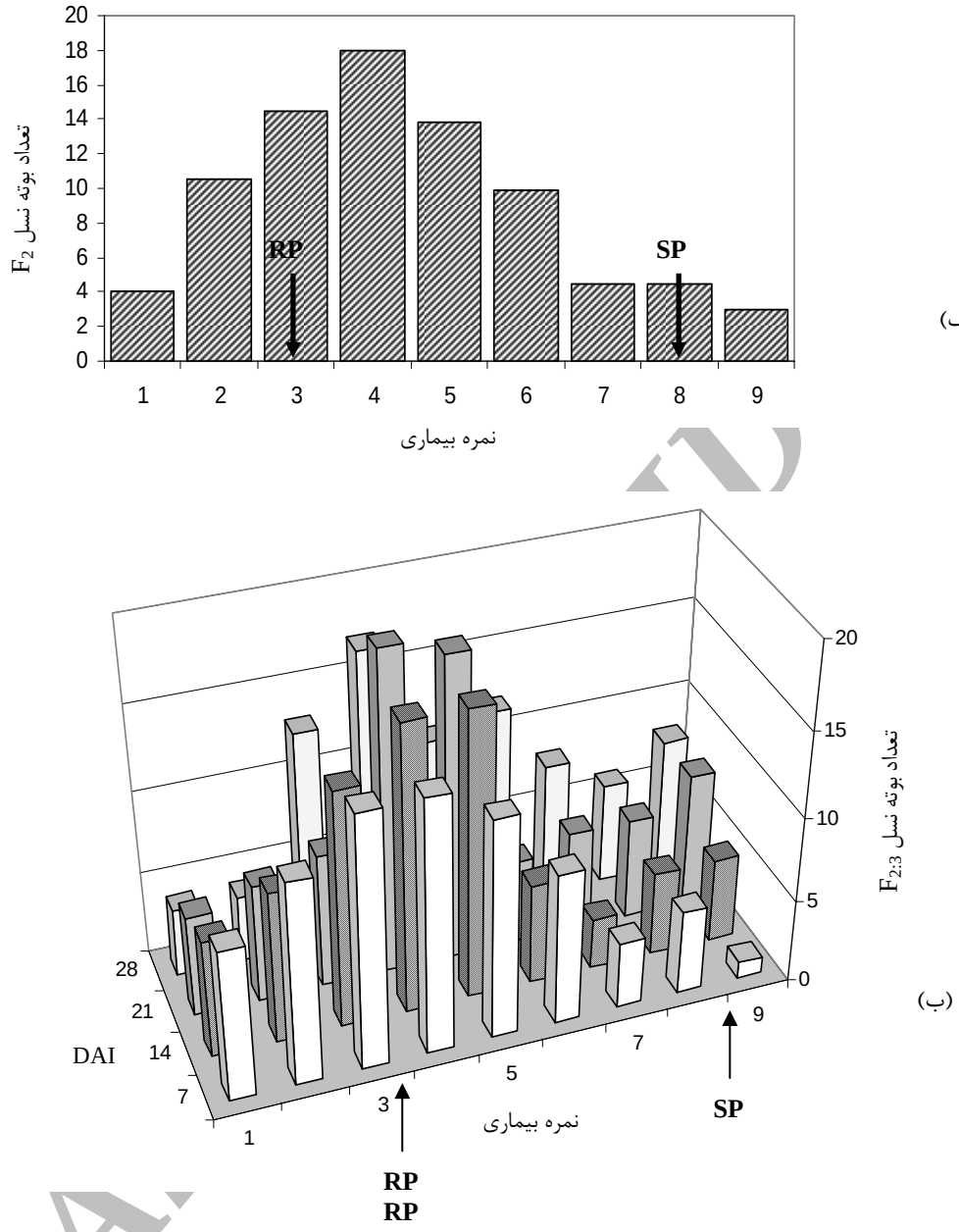
جدول ۲- تعداد بوته مورد مطالعه، میانگین درجه بیماری و اندازه برگ در والدین و نسل‌های مختلف حاصل از تلاقی نخود ICC 12004 (مقاوم) و بیونیج (حساس)

نسل		تعداد بوته	میانگین ± خطای معیار		همبستگی فنوتیپی
			درجه بیماری	اندازه برگ (cm^2)	
والد پدری مقاوم	P_1	۴۰	۲/۲۵ ± ۰/۰۱۸	۵/۳۹± ۰/۲۱	۰/۱۲
والد مادری حساس	P_2	۴۰	۷/۹۸ ± ۰/۰۱۳	۱۲/۶۶±۰/۲۶	۰/۳۱*
	F_1	۳۲	۴/۲۸ ± ۰/۰۰۸	۱۰/۲۱±۰/۴۱	۰/۲۸
	F_2	۱۹۹	۴/۳۴ ± ۰/۰۱۶	۱۰/۵۹±۰/۱۷	۰/۱۱
	F_3	۱۹۵	۴/۶۹ ± ۰/۰۱۵	۱۰/۱۳±۰/۱۲	۰/۱۵*
	F_1	۳۲	۴/۲۸ ± ۰/۰۰۸	۱۰/۲۱±۰/۴۱	-
	RF_1	۳۴	۴/۵۱ ± ۰/۰۰۹	۱۰/۰۳±۰/۲۸	-

RF_1: دورگ متقابل

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۱- نمودار واکنش والد مقاوم (RP) و والد حساس (SP) نخود زراعی
(الف) تفرق جمعیت F_2 دو هفته پس از مایه‌زنی
(ب) نسل F_3 در فواصل زمانی ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ روز پس از مایه زنی (DAI)

تجزیه میانگین نسل‌ها نشان داد که مقدار اثر متقابل افزایشی × افزایشی برای هیچکدام از دو صفت معنی‌دار نبود، لذا مدل ۵ پارامتری با چهار پارامتر تجزیه و نتایج در جدول ۲ نشان داده شده است. نتایج آزمون کای‌اسکور حاکی از آن بود که برای توجیه تنوع در این تلاقی، مدل ساده افزایشی- غالبیت (*m, d, h*) کفایت نکرده، و اثرات متقابل بین آللی در تنظیم اندازه برگ و مقاومت به *A. rabiei* حاکم هستند. Tewari & Pandey (1986) نیز وجود آثار اپیستازی را برای مقاومت به برق‌زدگی گزارش کردند. برای مقاومت به بیماری، مقادیر اثرات افزایشی (*d*) و غالبیت (*h*) منفی و مقارن به والد مقاوم بودند. از طرف دیگر، اثر متقابل غالبیت × غالبیت (*l*) دارای مقدار مثبت و نزدیک به والد حساس بود.

www.SID.ir

جدول ۳- برآورد آثار ژنی و اشتباه معیار آنها برای درجه بیماری و اندازه برگ در تلاقی نخود ICC 12004 و بیونیج

پارامتر		درجه بیماری	اندازه برگ
میانگین	M	۵/۱۲ ± ۰/۰۹ (۵۹/۵۲)	۹/۰۵ ± ۰/۱۶ (۵۷/۶۶)
اثر افزایشی	(d)	-۲/۸۶ ± ۰/۰۹ (-۳۲/۵۷)	- ۳/۶۴ ± ۰/۱۷ (-۲۲/۰۱)
اثر غالبیت	(h)	-۲/۱۸ ± ۰/۵۲ (-۴/۲۲)	۵/۲۶ ± ۰/۸۵ (۶/۲۲)
اثر افزایشی × افزایشی	(i)	--	--
اثر غالبیت × غالبیت	(l)	۱/۳۴ ± ۰/۴۹ (۲/۷۳)	-۴/۱۴ ± ۰/۹۵ (-۴/۳۴)
مقدار کای اسکور	χ^2	۰/۱۱	۰/۱۵
درجه غالبیت	$[h/d]$	۰/۷۶	-۱/۴۵

اعداد داخل پرانتز مقدار t محاسبه شده هستند.

در مورد هر دو صفت، اثرات غالبیت (h) و اثرات متقابل غالبیت × غالبیت (l) دارای علامت مختلف بودند و لذا می‌توان اظهار کرد که ممکن است اپیستازی از نوع دوگانه[1] وجود داشته باشد. اثرات دوگانه معمولاً موجب کاهش واریانس جمعیت‌های در حال تفرق شده و اثرات مکمل[2] این واریانس را افزایش می‌دهند (Farshadfar, 1998 وMalhotra et al., 2003). نتایج همچنین حاکی از آن بود که، برآورد جزء افزایشی (d) نسبت به جزء غالبیت (h) برای مقاومت به برق‌زدگی بالاتر و عکس آن برای اندازه برگ صادق بود. برای هر دو صفت، برآوردهای (l) بالاتر از موارد مربوط به (i) بود. از طرف دیگر، جزء غالبیت (h) در هر دو مورد معنی‌دار بود. پس مقاومت در ICC 12004 به وسیله نوع اعمال ژن افزایشی و غالبیت × غالبیت کنترل می‌گردد، ولی نقش غالبیت ساده و اثر متقابل افزایشی × افزایشی را نمی‌توان رد کرد، چرا که اندازه واریانس ژنتیکی افزایشی بالاتر از واریانس غالبیت در هر دو صفت بود (جدول ۲). درجه غالبیت برای شدّت بیماری مثبت و برای اندازه برگ منفی بود. بنابراین غالبیت نسبی برای درجه بیماری به طرف والد دارای میانگین بالاتر (بیونیج) و در خصوص اندازه برگ به سمت والد دارای میانگین کوچکتراز لحاظ این صفت (ICC 12004) متمایل است.

با توجه به نتایج به دست آمده، ژنوتیپ والد مقاوم (ICC 12004) می‌تواند به صورت R_1R_1 R_2R_2 در نظر گرفته شود. در گزارش‌های قبلی، غالباً تک ژن‌های غالب یا مغلوب در مقاومت به برق‌زدگی دخیل دانسته شدند (Lichtenzveig et al., 2002; Okhovat, 1996). Pieters & Tahiri (1986) مقاومت اولیگوژنیک با عمل ژن از نوع افزایشی را برای مقاومت بر علیه *A. rabiei* در بعضی از کلکسیون‌های نخود در مراکش گزارش کردند، در حالی که توارث ساده از نوع غالبیت توسط سایر محققین مورد تایید قرار گرفته است (Singh & Reddy, 1983; Vir et al., 1975. Singh & Reddy (1983) یک ژن مغلوب را برای مقاومت به برق‌زدگی در ژنوتیپ ICC 191 گزارش کردند. در حالی که Dey & Singh (1993) از طریق تجزیه میانگین نسل‌های حاصل از ۶ تلاقی مقاوم× حساس، چهار ژن غالب را شناسایی و تحت اسامی Arc_1، Arc_2، Arc_3 و Arc_4 نامگذاری کردند.

در جدول ۴ مقادیر برآورد شده برای حداقل تعداد ژن (عامل مؤثر) کنترل‌کننده اندازه برگ و مقاومت به بیماری با استفاده از دو روش درج شده‌اند. اطّلاع از تعداد ژن کنترل‌کننده یک صفت به اصلاحگر در انتخاب استراتژی اصلاحی کمک می‌کند (Lichtenzveig et al., 2002). مفروضات هر دو روش عبارت بودند از این که، ژن یا ژن‌های در حال تفرق برای مقاومت در یکی از والدین واقع شده‌اند، تمامی ژن‌های مقاومت اثرات برابری بر مقاومت دارند و اثرات غالبیت، اپیستازی و اثر متقابل ژنوتیپ × محیط وجود ندارند (Van Rheenen & Haware, 1994). مقادیر پیشرفت ژنتیکی در گزینش برای مقاومت به بیماری و اندازه برگ در جدول ۴ درج شده‌اند. وراثت‌پذیری عمومی و خصوصی مقاومت به بیماری و اندازه برگ به روش معمول و بر اساس شباهت بین خویشاوندان (ICARDA, 2000) برآورد شدند (جدول۴ و شکل۲). وراثت‌پذیری خصوصی برای مقاومت به بیماری و اندازه برگ به ترتیب برابر با ۰/۶۶ و ۰/۴۸

1. Duplicate
2. Complementary

Archive of SID

www.SID.ir

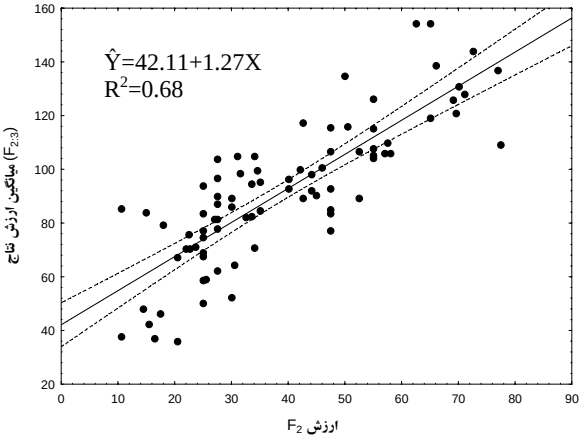
به دست آمد. وجود وراثت‌پذیری خصوصی بالا، مجدداً اهمیت آثار ژنی افزایشی را در توارث مقاومت به برق‌زدگی مورد تأیید قرار داد. از آنجا که به نظر می‌رسد بخش اعظم واریانس برای مقاومت از نوع افزایشی باشد، روش‌های اصلاحی مانند گزینش دوره‌ای که به نحو مطلوبی از واریانس افزایشی استفاده می‌کنند بایستی مورد استفاده قرار گیرند.

جدول ۴- برآورد اجزای واریانس و تعداد عامل موثر در مقاومت به بیماری برق‌زدگی و اندازه برگ در تلاقی دو لاین نخود ICC 12004 و بیونیج

پارامتر		برآورد	
		درجه بیماری	اندازه برگ
واریانس افزایشی	σ^2_A	۴/۱۲	۶/۶۲
واریانس غالبیت	σ^2_D	۲/۰۶	۵/۰۹
واریانس محیطی	σ^2_E	۰/۴۰۵	۳/۶۷
وراثت پذیری عمومی	H	۰/۹۴	۰/۷۶
پیشرفت ژنتیکی	Gs‡	۱/۷۸	۱/۰۱
تعداد عامل موثر	EF_1	۱/۶۴	۳/۳۳
تعداد عامل موثر	EF_2	۱/۵۶	۳/۱۶

‡ در شدت گزینش ۳۰ ٪.

بر اساس نتایج حاصل می‌توان اظهار داشت که: (الف) مکانیزم مقاومت میزبان، در سیستم نخود- برق‌زدگی (*A. rabiei*) اختصاصی ژنوتیپ بوده و این مقاومت به وسیله ۲ یا بیش از دو ژن و با درجه متغیری از بیان کنترل می‌شود، همچنین برای اندازه برگ حداقل ۳ ژن را می‌توان مؤثر دانست، (ب) آثار افزایشی نقش اصلی را در تنوع مقاومت به برق‌زدگی ایفا می‌کنند، ولی در تعیین اندازه برگ علاوه بر اثر افزایشی، اجزای غالبیت نیز دخالت معنی‌دار دارند، و (ج) اطلاع از تعداد و نوع ژن(های) ساختاری، تا زمانی که ماهیت عمل ژن مقاومت به برق‌زدگی روشن نشود، اطّلاعات کافی برای توصیه یک برنامه اصلاحی در اختیار قرار نمی‌دهد. لذا، به صرف وجود یا عدم وجود ژن‌های ساختاری، نمی‌توان در مورد یک ژنوتیپ قضاوت کرد، چرا که مصونیت و مقاومت یک ژنوتیپ از لحاظ بیان ژن از هم مستقل هستند (Van Rheenen & Haware, 1994). به نظر Nelson (1984) بیان ژن‌های مقاومت تا حد زیادی بستگی به اثرات متقابل بین آللی داشته و زمینه ژنتیکی[1] در آن بسیار مؤثر است.



شکل ۲- برآورد وراثت‌پذیری خصوصی مقاومت به برق‌زدگی بر اساس شباهت بین خویشاوندان

سپاسگزاری

لازم است از همکاری و مساعدت مؤسسه تحقیقات کشاورزی دیم در اجرای این تحقیق تقدیر و تشکر شود. همچنین از کمک‌های بی‌شائبه مسئولین و کارکنان گلخانه‌های مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر سپاسگزاری می‌نماید.

1. Genetic background

REFERENCES

1. Aghaee Sarbarzeh & Kanouni, H. (2004). *Chickpeas*. Jihad-e-Agriculture organization of Kermanshah. P. 146.
2. Amand, Paul C. St. & Wehner, C. (2001). Generation Means Analysis of leaf and stem resistance to gummy stem blight in cucumber. *J Amer Soc Hort Sci*, 126(1), 95-99.
3. Checa, O., Ceballos, H. & Blair, M. W. (2006). Generation means analysis of climbing ability in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Heredity*, 97(5), 456-465.
4. Danehloueipour, N., Yan, G., Clarke, H. J. & Siddique, K. H. M. (2007). Diallel analyses reveal the genetic control of resistance to ascochyta blight in diverse chickpea and wild *Cicer* species. *Euphytica*, 154, 195- 205.
5. Dey, S. K. & Singh, G. (1993). Resistance to Ascochyta blight in chickpea- Genetic basis. *Euphytica*, 68,

Archive of SID

www.SID.ir

147-153.
6. Falconer, D. S. & Mackay, T. F. (1996). *Heritability*. Pp. 160-183. In: *Introduction to quantitative genetics*. (4th ed.). Longman, Essex, England.
7. Farshadfar, E. (1988). *Application of Biometrical genetics in plant breeding*. Vol. 1, Publications of the Razi university, Kermanshah. (In Farsi).
8. Flandez-Galvez, H., Ford, R., Pang, E. C. K. & Taylor, P. W. J. (2003). An intraspecific linkage map of the chickpea (*Cicer arietinum* L.) genome based on sequence-tagged microsatellite site and resistance gene analog markers. *Theor Appl Genet*, 106, 1447–1456.
9. Gan,Y., Gossen, B. D., Li, L., Ford, G. & Banniza, S. (2007). Cultivar type, plant population, and Ascochyta blight in chickpea. *Agron J*, 99, 1463- 1470.
10. Ghasemi, Sh. (2000). *Diallel cross analysis of resistance to ascochyta blight (Ascochyta rabiei) in five chickpea varieties*. M. Sc. thesis. Faculty of Agriculture, University of Tehran, Iran. (In Farsi).
11. Hafiz, A. & Ashraf, M. (1953). Studies on resistance to Mycosphaerella blight in gram. *Phytopathology*, 43, 580-81.
12. ICARDA. (2000). Gene-pyramiding to control Ascochyta blight of chickpea. in: *ICARDA Annual Report 1999*. Aleppo, Syria. Pp. 45-47.
13. Kaiser, W. J. & Okhovat, M. (1996). Distribution of *Didymella rabiei*, the teleomorph of *Ascochyta rabiei* in Iran. *Iran J Plant Path*, 32(1996), 158-162.
14. Kusmenoglu, I. (1990). *Ascochyta blight of chickpea: Inheritance and relationship to seed size, morphological traits and isozyme variation*. M. Sc. Thesis. Washington state university, Pullman.
15. Lichtenzveig, J., Shtienberg, D., Zhang, H. B., Bonfil, D. J. & Abbo, S. (2002). Biometric Analyses of the Inheritance of Resistance to *Didymella rabiei* in Chickpea. *Phytopathology*, 92 (4), 417-423.
16. Mahmoudi, F. & Sabaghpour, S. H. (2005). Evaluation of advanced chickpea lines to *Asochyta rabiei* agent of ascochyta bight of chickpea. In: Proceedings of *first Iranian pulse crops symposium*, 20 – 21 Nov. Mashhad, Research Center for Plant Sciences of Mashhad University.
17. Malhotra, R. S., Baum, M., Udupa, S. M., Bayaa, B., Kabbabe, S. & Khalaf, G. (2003). Ascochyta blight resistance in chickpea: Present status and future prospects. In: Proceedings of *International chickpea congress: Chickpea Research for Millenium*, 20-22 January, Raipur, India.
18. Mather, K. & Jinks, J. L. (1982). *Sources of variation: Scales-the principles of scaling. Pp. 61-64 in: Biometrical Genetics-The Study of Continuous Variation*. (3rd ed.). University Press, Cambridge, UK.
19. Nelson, R. R. (1984) Strategy of breeding for disease reistance. In: P.B. Vose and S.G. Blix (eds), *Crop breeding: a contemporary basis*. Oxford, Pergamon. Pp. 32-50.
20. Okhovat, M. (1996). Study on some of confliction procedures against *Ascochyta rabiei* fungus, agent of ascochyta blight of chickpea. *Iranian Journal of Agricultural Sciences*, 4, 1-12.
21. Pieters, R. & Tahiri, A. (1986). Breeding chickpea for horizenatl resistance to Ascochyta blight in Morocco. *FAO Plant Prot Bull*, 34, 99-105.
22. Sabbaghpour, S. H., Sadeghi, E. & Malhotra, R. S. (2003). Present status and future prospects of chickpea cultivation in Iran. *International Chickpea conference*. Jan., 20-22. IGAU, Raipur chattisgarh, India.
23. Santra, D. K., Tekeoglu, M., Ratnaparkhe, M., Kaiser, W. J. & Muehlbauer, F. J. (2000). Identification and mapping of QTLs conferring resistance to Ascochyta blight in chickpea. *Crop Sci*, 40,1606-1612.
24. Sharif, Gh., Niman, A. & Ghane, M. (1966). Ascochyta blight of chickpea. *Journal of Plant Diseases and Pests*, 25, 31-57.
25. Shokouhifar, F., Bagheri, A. & Falahati Rastgar, M. (2005). Investigation of response of local races and exotic varieties of chickpea against various pathotypes of *Ascochyta rabiei*. In: Proceedings of *first Iranian pulse crops symposium*, 20 and 21 Nov. Mashhad, Research Center for Plant Sciences of Mashhad University.
26. Singh, K. B. & Reddy, M. V. (1983). Inheritance of resistance to Ascochyta blight in chickpea. *Crop Sci*, 23, 9-10.
27. Tekeoglu, M., Santra, D. K., Kaiser, W. J. & Muehlbauer, F. J. (2000). Ascochyta blight resistance inheritance in three chickpea recombinant inbred line populations. *Crop Sci*, 40, 1251-1256.
28. Tewari, S. K. & Pandey, M. P. (1986). Genetics of resistance to Ascochyta blight in chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Euphytica*, 35, 211- 215.
29. Udupa, S. M., Weigand, F., Saxena, M. C. & Kahl, G. (1998). Genotyping with RAPD and microsatellite markers resolves pathotype diversity in the ascochyta blight pathogen of chickpea. *Theor Appl Genet*, 97, 299-307.
30. Van Rheenen, H. A. & Haware, M. P. (1994). Mode of inheritance of resistance to ascochyta blight (*Ascochyta rabiei* [Pass.] Labr.) in chickpea (*Cicer arietinum* L.) and its consequences for resistance breeding. *Int J Pest Manag*, 40, 166-169.

Archive of SID

www.SID.ir

31. Vir, S., Grewal, J. S. & Gupta, V. P. (1975). Inheritance of resistance to Ascochyta blight in chickpea. *Euphytica*, 24, 209-211.

Archive of SID

www.SID.ir