Archive of SID

تجزيه ژنتيكي مقاومت به بيماري سفيدك سطحي در چغندرقند

Analysis of genetic resistance to powdery mildew disease in sugar beet

جهانشاه بساطي[1]، محمود مصباح[2] ، قاسم كريم‌زاده[3] و سيديعقوب صادقيان [2]

ج. بساطی، م. مصباح، ق. كريم‌زاده و س.ی. صادقيان . ۱۳۸٤. تجزيه ژنتيكي مقاومت به بيماري سفيدك سطحي در چغندر قند._چغندرقند ۲۱(۲): ۱۲۲-۱۰۵

چكيده

با توجه به وسعت مناطق كشت چغندرقند در ايران و خسارت ناشي از بيماري سفيدك سطحي، تهيه ارقام مقاوم به اين بيماري ضروري به نظر مي‌رسد. بدين منظور، طي سال‌هاي گذشته در منطقه كرمانشاه تعداد زيادي از ژنوتيپ‌هاي موجود براي اين بيماري غربال گرديدند، كه منجر به شناسائي و گزينش يك ژنوتيپ ديپلوئيد مولتي‌ژرم و مقاوم به بيماري سفيدك سطحي با صفات نسبتاً مطلوب زراعي (ژنوتيپ 14442) گرديد. در اين ارزيابي‌ها مشخص گرديد كه رگه منوژرم نرعقيم MS261 حساس و رگه منوژرم نرعقيم MS231 نيمه مقاوم به بيماري سفيدك سطحي است. به منظور تعيين تعداد ژن‌هاي كنترل‌كننده بيماري سفيدك سطحي و نحوه توارث اين ژن‌ها بين ژنوتيپ مقاوم 14442 و دو رگه نرعقيم MS231 نيمه‌مقاوم و نر عقيم MS261 حساس تلاقي‌هاي لازم انجام گرفت. نسل‌هاي F1, F2 , BC1 و BC2 از هر تلاقي تهيه گرديد. والدين و نسل‌هاي حاصل از هر تلاقي در مزرعه براي بيماري سفيدك سطحي بررسي شدند. نتايج نشان داد كه نسل F2 حاصل از تلاقي والد مقاوم و حساس (14442*261) و تلاقي والد مقاوم و نيمه‌حساس (14442*231) به دو كلاس فنوتيپي با نسبت ۱ : ۳ تفكيك

۱ - عضو هيئت علمي مركز تحقيقات كشاورزي كرمانشاه jahanshahbasati@yahoo.com
۲- اعضاء هيئت علمي مؤسسه تحقيقات چغندرقند
۳- عضو هيئت علمي دانشگاه تربيت مدرس

www.SID.ir

Archive of SID

شد. الگوي تفكيك در بك‌كراس‌ها نيز نتايج به دست آمده در نسل F2 را تائيد نموده و نشان داد كه بيماري سفيدك سطحي با يك ژن اصلي كنترل مي‌گردد. اثر ژن كنترل‌كننده بيماري به صورت غالب مي‌باشد.

واژه‌هاي كليدي: بیماری، تلاقی، چغندرقند، سفیدك سطحي ، تجزیه ژنتیكي، مقاومت

مقدمه

بیماري سفیدك‌سطحي یا پودري چغندرقند (Powdery Mildew) تقریباً در تمام مناطق چغندركاري ایران وجود دارد (احمدي‌نژاد ۱۳۵۲). عامل بیماري سفیدك سطحي قارچ *Erysiphe betae* نام دارد (Weltezien 1963). این بیماري در زماني ظاهر می‌شود كه چغندرقند به شدت در حال قندسازي و ذخیره قند است. میزان خسارت این بیماري در مناطق مختلف، متفاوت است و باعث كاهش عملكرد ریشه و درصدقند می‌گردد. علي‌رغم این كه این بیماري توسط گوگرد و سایر قارچ‌كش‌ها قابل كنترل است، ولي استفاده از سموم باعث آلودگي محیط زیست شده و هزینه‌هاي قابل‌توجهي نیز به خود اختصاص می‌دهد. شدت و توسعه بیماري تا حد زیادي بستگي به وضعیت آب و هوا در زمستان سال قبل از كشت و تابستان سال بعداز كشت دارد، به طوري كه هر چه زمستان سال قبل ملایم و تابستان سال كشت گرم و خشك باشد، آلودگي در سال بعد زودتر شروع شده و به سرعت منتشر می‌گردد (Whiteny 1987; Asher and Dewar 2001; Asher 1987; Asher and Williams 1991,1992). مطالعات نشان داده است وقتي كه علائم بیماري در اواخر July

www.SID.ir

Archive of SID

(مردادماه) مشاهده شود، حدود ۲۵درصد از مزارع در پایان August (شهریور ماه) آلوده میشوند. کشتهاي دیرهنگام کمتر دچار آلودگي به سفیدك سطحي میگردند، زیرا گیاهان جوان حساسیت کمتري به بیماري سفیدك سطحي دارند (Asher 2002).

کاهش عملکرد در اثر بیماري سفیدكسطحي به زمان و شدت آلودگي بستگي دارد، هر چه زمان آلودگي زودتر و شدت آلودگي بیشتر باشد. کاهش عملکرد ریشه و شکر بیشتر خواهد بود (Ahrens 1979). آلودگي در اوایل فصل، باعث کاهش اساسي محصول شده و این کاهش گاهي تا ۲۰درصد نیز میرسد (Asher 1990). در آمریکا کاهش عملکرد ریشه تا حدود شش تن در هکتار گزارش گردیده است (Rupple et al. 1974). در اثر بیماري سفیدك سطحي کاهش عملکرد ریشه تا حدود سه تن براي زماني که متوسط عملکرد حدود ٤٥ تن در هکتار بود، گزارش شده است (Asher and Williams 1992). سه بار سمپاشي به فاصله هر ده روز یك بار و با ظهور اولین علائم بیماري، باعث افزایش عملکرد ریشه به میزان ۷ درصد گردید (بساطي و همکاران ۱۳۷۹).

در انگلستان کنترل بیماري قبل از پایان August (مرداد ماه) باعث افزایش عملکرد ریشه تا حدود ٥ درصد شده است (Asher 1995). این بیماري توسط قارچکشها و مشتقات گوگرد کنترل میگردد (Dewar et al. 2001; Dewar and Asher 2000).

یك بار سمپاشي در انگلستان بر علیه بیماري باعث ۸ در صد افزایش عملکرد ریشه گردید (Dewar and Asher 1998). یك بار سمپاشي به محض ظهور اولین

www.SID.ir

Archive of SID

علائم بیماري و سمپاشي بعدي در صورتي كه مجدداً ميزان آلودگي به حدود ۳۰ درصد سطح برگ برسد، قابل توصيه است (Cicco and Curtis 1993). در ايالت كاليفرنيا نيز نتايج آزمايشها نشان داد كه يكبار سمپاشي پس از ظهور اولين علائم آلودگي بسيار مؤثر بوده و باعث افزايش قابلتوجه قند در هكتار شده است (Hill et al. 1975). اين بيماري ممكن است عملكرد قند را ۲۰ تا ۳۵ درصد در واحد سطح كاهش دهد (Hills 1980). وقتي كه آلودگي سطح برگها به حدود ۵۰ درصد برسد، سمپاشي هيچگونه تأثيری در كنترل بيماري ندارد (Paulus et al. 1975). براي كنترل مؤثر بيماري، تطابق زمان سمپاشي با ظهور اولين علائم آلودگي بسيار حائز اهميت است (Asher 1987; Asher and Williams 1992).

مقايسه منابع ژنتيكي چغندرقند (*B. maritima*) نشان ميدهد كه تنوع ژنتيكي قابلتوجهي در ارتباط با اين بيماري در گونههاي وحشي وجود دارد. وقتي كه بين گونههاي وحشي با مقاومت بالا با گونه زراعي وحساس C37 تلاقي جفتي انجام شد، هيبريدهاي F1 مقاومت بالائي را نشان دادند (Whitney 1989). براي بررسي وضعيت ژنتيكي مقاومت به بيماري سفيدك سطحي دو جمعيت S1 و FS مورد مطالعه قرار گرفت، نتايج نشان داد كه واريانس ژنتيكي در هر دو جمعيت بسيار معنيدار بوده، و وراثتپذيري عمومي بالا است (Whitney et al. 1983).

ژرم پلاسم CPO1 و CPO2 براي مقاومت به بيماري سفيدك سطحي به ثبت رسيده

www.SID.ir

Archive of SID

است و این لاین‌ها مولتی‌ژرم و نرعقیم هستند و منشا آن‌ها از گونه‌های *B. maritima* است. لاین‌های CPO1 و CPO2 به ترتیب از WB97 و WB242 به دست آمده است (Lewellen 2000). مقاومت متوسط برای بیماری، شناخته شده است و در ارقام تجارتی وارد گردیده است. مقاومت بالا نیز اخیراً در گونه‌های *B. maritima* به دست آمده و با روش اصلاحی تلاقی برگشتی وارد لاین‌های اصلاحی گردیده است. از این لاین‌های مقاوم برای تعیین توارث ژنتیک مقاومت به بیماری استفاده می‌شود. مقاومت به بیماری در دو ژرم‌پلاسم WB97 و WB242 نه تنها در سطح بالائی دیده شده، بلکه عامل مقاومت نیز به صورت یک ژن اصلی مقاومت ملاحظه گردیده است. ژن عامل مقاومت به بیماری با Pm نشان داده شده است. اگر تحقیقات نشان دهد که عامل مقاومت در دو منبع مقاومت مورد بررسی با یکدیگر اختلاف دارد می‌توان علائم جدید را برای نشان دادن مقاومت به آن اضافه نمود (Lewellen and Schrandt 2001). تجزیه ژنتیکی عکس‌العمل ایزوله‌های مختلف بیماری سفیدک سطحی و دو ژن مقاوم گندم نان با فرضیه ژن برای ژن فلور هماهنگی داشته و بعضی از ژن‌ها اثرات مشابهی از نظر مقاومت نشان دادند (Boulch et al. 1997). هدف از اجرای این تحقیق، تعیین تعداد ژن‌های کنترل‌کننده مقاومت به بیماری سفیدک سطحی در گیاه چغندرقند است، تا با استفاده از آن به‌توان روش اصلاحی مناسب برای تولید ارقام تجارتی متحمل به بیماری سفیدک‌سطحی ارائه نمود.

www.SID.ir

Archive of SID

مواد وروشها

این طرح طي سال‌هاي ۱۳۷۷ تا ۱۳۸۰ در ایستگاه تحقیقاتي ماهیدشت کرمانشاه انجام شد. طي بررسي‌هاي انجام شده در این ایستگاه، تعداد زیادي از ژرم پلاسم‌هاي موجود موردبررسي قرار گرفت و براساس شاخص وانگ و همکاران (Wang et al. 1995) میزان آلودگي آن‌ها مشخص و وضعیت مقاومت وحساسیت آن‌ها تعیین گردید. در این بررسي از سه ژنوتیپ چغندرقند شامل ژنوتیپ 14442، MS231 و MS261 به‌ترتیب به‌عنوان ژنوتیپ‌های مقاوم، نیمه‌مقاوم و حساس به بیماري سفیدك سطحي استفاده شد (شیخ‌الاسلامي و بساطي، ۱۳۷۷). با توجه به درجه‌بندي شاخص وانگ و همکاران، ژنوتیپ‌هایي با درجه آن‌ها بیشتر از ۳ باشد، جزء ژنوتیپ‌هاي حساس و ژنوتیپ‌هایي با درجه کمتر از ۳ ژنوتیپ‌هاي مقاوم محسوب مي‌شوند.

نتاج حاصل از تلاقي ژنوتیپ MS261*14442 و MS231*14442 تهیه گردید. به منظور تولید تلاقي برگشتي‌هاي BC1 و BC2 از بین بوته‌هاي نسل F1 بوته‌هاي مقاوم که آثار آلودگي روي آن‌ها مشاهده نشد گزینش و به ترتیب با والدین مقاوم و حساس تلاقي داده شدند.

از بوته‌هاي نسل F1 که عاري از آلودگي بودند براي تولید گیاهان نسل F2 استفاده شد. بذور نسل‌هاي در حال تفکیك، والدین وF1 در سال ۱۳۸۰ در مزرعه براي بررسي میزان آلودگي به بیماري سفیدك‌سطحي کشت شدند (جدول ۱).

جدول۱ والدین و تلاقي‌هاي مورد بررسي کشت شده در بهار سال ۱۳۸۰

Table 1 Parents and their crosses investigated in 2001

www.SID.ir

Archive of SID

تلاقي با نرعقيم MS231 MS231 Crosses	تلاقي با نرعقيم MS261 MS261 Crosses
14442=P1	14442=P1
MS 231=P2	MS 261=P2
14442* MS231=F1	14442* MS261=F1
F1*P1=BC1	F1*P1=BC1
F1* P2=BC2	F1* P2=BC2
F1*F1= F2	F1*F1= F2

از رقم ۷۲۳۳ به عنوان شاهد حساس استفاده گرديد و زماني كه آلودگي در اين رقم به حدود ۸۰ درصد رسيد از ژنوتيپهاي موردنظر يادداشتبرداري گرديد. در اواخر مردادماه شدت آلودگي به حداكثر مقدار خود رسيد و با استفاده از روش وانگ و همكاران از كليه گياهان كشتشده شامل والدين، F1ها و نسلهاي در حال تفكيك يادداشتبرداري شد. در اين روش، نمره صفر بيانگر عدم آلودگي و نمره ۷ نشانگر آلودگي بيش از ۸۵ درصد سطح برگ ميباشد. از هر تلاقي، تعداد ٤۰۰ تا ٦۰۰ برگ (۵۰بوته) بررسي و پس از اين كه نمره آلودگي براي هر تلاقي تعيين شد، شاخص آلودگي نيز محاسبه گرديد. سطح مقاومت و حساسيت هر ژنوتيپ براساس شاخص شدت آلودگي (Severity Index) يا SI مشخص ميگردد، به طوري كه اگر ژنوتيپي نمره آلودگي كمتر از ۳ دريافت كند مقاوم و اگر نمره آلودگي بيشتر از ۳ دريافت كند حساس محسوب ميگردد. برآورد تعداد فاكتورهاي مؤثر(ژنها) از روش كلي خصوصيات آماري توزيع و با استفاده از روش پيشنهادي لاند (Lande 1981) انجام شد. در اين روش، فرمول اساسي به صورت زير است:

www.SID.ir

Archive of SID

$n_E = (\mu p2 - \mu p1)/(8\delta^2 s)$

n_E = حد اقل تعداد فاکتورهاي ژنتيكي (ژن‌ها)

P1 و P2 = والد اول و والد دوم

μ = ميانگين فنوتيپي

$\delta^2 s$ = واريانس تفكيك

واريانس تفكيك مي‌تواند به وسيله فرمول‌هاي زير برآورد شود:

(I) $\delta^2 s = \delta^2 F2 - \delta^2 F1$

(II) $\delta^2 s = \delta^2 F2 - [\frac{1}{2}\delta^2 F1 + \frac{1}{4}\delta^2 P1 + \frac{1}{4}\delta^2 P2]$

(III) $\delta^2 s = 2\delta^2 F2 - \delta^2 BC1 + \delta^2 BC2$

(IV) $\delta^2 s = \delta^2 BC1 + \delta^2 BC2 - [\delta^2 F1 + \frac{1}{2}\delta^2 P1 + \frac{1}{2}\delta^2 P2]$

براي محاسبه خطاي استاندارد نيز از فرمول‌هاي زير استفاده شد:

(I) $Var[\delta^2 s] = 2\delta^4 F2/N_{F2} + 2\delta^4 F1/N_{F1}$

(II) $Var[\delta^2 s] = 2\delta^4 F2/N_{F2} + \frac{1}{2}\delta^4 F1/N_{F1} + 1/8\,\delta^4 P1/N_{P1} + 1/8\,\delta^4 P2/N_{P2}$

(III) $Var[\delta^2 s] = 8\delta^4 F2/N_{F2} + 2\delta^4 BC1/N_{BC1} + 2\delta^4 BC2/N_{BC2}$

(IV) $Var[\delta^2 s] = 2\delta^4 BC1/N_{BC1} + 2\delta^4 BC2/N_{BC2} + 2\delta^4 F1/N_{F1} + 1/2\,\delta^4 P1/N_{P1} + 1/2\,\delta^4 P2/N_{P2}$

نتايج

تلاقي MS261 ×14442

واريانس و ميانگين هريك از والدين ونتاج F1 و نسل‌هاي در حال تفكيك BC2, BC1, F2 براي صفت مقاومت به بيماري سفيدك سطحي محاسبه گرديد (جدول ۲). تبديل‌هاي لگاريتمي و جذري روي داده‌ها انجام شد ولي واريانس خطا بعد از تبديل داده‌ها كاهش پيدا نكرد و نشان داد كه برآورد مربوطه از طريق داده‌هاي اصلي بهتر است. ميانگين ميزان آلودگي بر اساس الگوي وانگ و همكاران براي والد MS261 بيش از ٤ و براي والد 14442 كمتر از ٣ به دست آمد. نتايج نشان داد كه در تلاقي 44442*MS261 نسل در حال تفكيك BC1 داراي

www.SID.ir

Archive of SID

بیشترین واریانس ازنظر بیماري سفیدك سطحي بود. هم چنین واریانس نسل‌هاي در حال تفکیك BC1, F2 و BC2 بیش از والدین وF1ها بود (جدول ۲).

جدول ۲ میانگین و واریانس والدین، F1 و نسل‌هاي در حال تفکیك در تلاقي 14442*MS261 براي صفت مقاومت به بیماري سفیدك سطحي

Table 3 Mean of Parents, F1 and segregation generation in cross 14442*MS261 for resistance to powdery mildew disease

والدین و تلاقی‌ها Parents and crosses	تعداد نمونه No. of sample	میانگین Mean	واریانس Variance
14442=P1	400	2.89	1.621
MS 261=P2	500	4.232	1.649
14442* MS261=F1	500	4.020	1.618
F1*P1=BC1	500	2.222	2.389
F1* P2=BC2	500	2.182	2.293
F1*F1=F2	600	2.945	2.452

با استفاده از داده‌هاي به دست آمده از نسل‌هاي مختلف در تلاقي 14442*MS261، تعداد ژن‌هاي کنترل‌کننده بیماري سفیدك سطحي محاسبه گردید. از بین چهار روش به کار گرفته شده، روش اول کمترین میزان خطاي استاندارد را داشته است. این روش تعداد ژن‌هاي کنترل‌کننده بیماري سفیدك سطحي را برابر ۰/۵۷، یعني حدود یك ژن برآورد کرد (جدول ۳).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۳ برآورد واریانس تفکیک، تعداد فاکتورهاي مؤثر (ژن‌ها) و واریانس خطاي استاندارد

Table 3 Estimation of segregation variance, number of effective factors(genes) and standard error variance

تلاقي 14442* MS261 14442* MS261 Cross				
منابع Sources	روش I Method I	روشII Method II	روش III Method III	روش IV Method IV
δ^2s	0.771	0.762	0.0328	1.492
NE	0.570	0.290	6.860	0.150
Var(δ^2s)	0.00003	0.0269	0.1317	0.054

برآورد آماري تعداد فاکتورهاي مؤثر در این تلاقي با توجه به تعداد گیاهان بررسي شده در مزرعه و میانگین و واریانس صفت مقاومت به بیماري سفیدك سطحي، نشان داد که تعداد ژن‌هاي کنترل‌کننده مقاومت براي تلاقی 14442*MS261 یك ژن بوده است (جدول ۴). تجزیه ژنتیکي نسل‌هاي در حال تفکیك در ایالات متحده آمریکا نیز نشان داد که مقاومت به بیماري توسط یك ژن اصلي کنترل گردید و علائم این ژن به صورت pm براي آلل مقاوم استفاده شده است (Lewellen and Schrandt 2001).

جدول ۴ اندازه نمونه (N)، میانگین (μ) و واریانس داده‌ها (δ^2) براي بیماري سفیدك‌سطحي در نسل‌هاي F2 و تلاقي‌هاي برگشتي

Table 4 Sample size N, μ and δ^2 for powdery mildew disease in F2 and back crosses

	14442* MS261		
(generations) نسل‌ها	N	μ	δ^2
F1*P1=BC1	500	2.222	2.389

www.SID.ir

Archive of SID

F1* P2=BC2	500	2.182	2.293
F1*F1=F2	600	2.945	2.452
			$\delta^2s = 0.771$
			NE = 0.570
			Var (s) = 0.00003

با توجه به این که این صفت با یك ژن اصلی کنترل مي‌شود، انتظار مي‌رود که در نسل درحال تفکيك F2 نسبت‌هاي فنوتيپي به صورت ۱ :۳ باشد. داده‌ها نشان داد که تعداد گیاهان مشاهده شده در محدوده مقاومت به بیماري بین تقریباً ۳ (۲/۸۹) و ٤/۲۳ متغیر است.

با توجه به محدوده مشخص شده فوق، داده‌ها نشان داد که ٤٦٦ بوته از بوته‌هاي مشاهده شده داراي آلودگي کمتر از ۳ و تعداد ۱۳٤ بوته داراي آلودگي بیش از ۳ بودند. آزمون χ^2 نشان داد که تعدا افراد به دست آمده در نسل F2 با نسبت ۱ : ۳ تطابق دارد (جدول ۵).

جدول ۵ مقادیر مشاهده شده و مورد انتظار کاي اسکور در نسل F2، تلاقي 14442*MS261

Table 5 Number of observations and expected $\chi 2$ in F2 14442* MS261 cross

نسبت‌ها Ratio	O_i	e_i	Oi - e_i	(Oi - e_i)^2	(Oi - e_i)^2 / e_i
3	466	450	16	256	0.568
1	134	150	-16	256	1.7
مجموع Total	600				$\chi^2 = 2.3$ ns جدول χ^2 5% , 1 = 3.84

χ^2 محاسبه شده (۲/۳) نشان مي‌دهد اختلاف معني‌داري بین داده‌هاي مورد انتظار و مشاهده شده وجود ندارد. توزیع فراواني فنوتيپي نسل F2 (شکل ۱) نیز نسبت ۱

www.SID.ir

Archive of SID

: ۳ را تأیید نموده و نشان داد که تعداد ژن‌های کنترل‌کننده این صفت همان یک ژن می‌باشد. توزیع فراوانی فنوتیپی BC2 (F1*P2) نتایج حاصل از F2 را تأیید کرد. χ^2 محاسبه شده برابر ۲/۰۴۸ بود که نشان داد، بین داده‌های موردانتظار و مشاهده شده اختلاف معنی‌دار وجود نداشت. توزیع فراوانی فنوتیپی نسل BC2 (شکل ۲) نیز نسبت۱ : ۱را تأیید کرد و بدین ترتیب نتایج حاصل از BC2 فرضیه تک ژنی را از نظرآماری تأیید نمود و نشان داد که نسبت به دست آمده در BC2 همان نسبت ۱ : ۱ بوده و نیمی از ژنوتیپ‌ها غالب و مقاوم و نیمی دارای ژنوتیپ مغلوب خالص و حساس هستند (جدول۶).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۶ مقادیر مشاهده شده و مورد انتظار کاي اسکور در نسل BC2 در تلاقي 14442*MS261

Table 6 Number of observations and expected χ^2 in BC1, 14442* MS261 crosses

نسبت‌ها Ratio	مشاهده شده O_i	مورد انتظار e_i	$O_i - e_i$	$(O_i - e_i)^2$	$(O_i - e_i)^2 / e_i$
1	266	250	16	256	1.024
1	234	250	-16	256	1.024
مجموع Total	500				$\chi^2 = 2.048^{ns}$ جدول χ^2 5% , 1 = 3.84

تلاقی 14442× MS231

تبدیل‌هاي لگاریتمي و جذري بر روي این داده‌ها انجام شد ولي واریانس خطا بعداز تبدیل داده‌ها کاهش نیافت و نشان داد که برآورد مربوطه از طریق داده‌هاي اصلي بهتر است. میانگین میزان آلودگي بر اساس الگوي وانگ و همکاران براي والد MS231 اندکي کمتر از ٤ و براي والد 14442 تقریباً برابر ۲ به دست آمد. نتایج نشان داد که در تلاقي MS231 *14442 نسل در حال تفکیک BC1 داراي بیشترین واریانس از نظر بیماري سفیدك سطحي بود. هم‌چنین واریانس نسل‌هاي در حال تفکیكBC2, BC1, F2 بیش از والدین وF1ها بود (جدول ۷).

جدول ۷ میانگین و واریانس والدین، F1 و نسل‌هاي در حال تفکیك در تلاقي 14442*MS231 براي صفت مقاومت به بیماري سفیدك سطحي

Table 7 Mean of Parents, F1 and segregation generations in 14442*MS231 cross for resistance to powdery mildew disease

والدین و تلاقی‌ها Parents and crosses	تعداد نمونه No of sample	میانگین Mean	واریانس Variance
14442=P1	400	2.065	2.131

www.SID.ir

Archive of SID

MS 231=P2	400	3.977	1.816
14442* MS231=F1	400	3.847	2.234
F1*P1=BC1	500	3.472	3.039
F1* P2=BC2	600	3.091	3.008
F1*F1=F2	600	3.326	2.828

نتایج حاصل از داده‌های بدست آمده از نسل‌های مختلف نشان داد در تلاقی 14442*MS231 تعداد ژن‌های کنترل کننده بیماری سفیدک سطحی با استفاده از روش دوم برابر ۰/۴۹- یعنی حدود یک ژن - برآورد گردید. باتوجه به روش انتخاب شده (براساس کمترین واریانس خطای استاندارد) برآورد براساس روش دوم بهتر از سایر روش‌ها بود (جدول ۸).

جدول ۸ برآورد واریانس تفکیک، تعداد فاکتورهای مؤثر(ژن‌ها) و واریانس خطای استاندارد

Table 8 Estimation of segregation variance, number of effective factors and standard error variance

	تلاقی 14442× MS231 (Cross)			
منابع Sources	روش I Method I	روشII Method II	روش III Method III	روش IV Method IV
δ^2s	0.804	0.935	0.243	1.627
NE	0.290	0.490	1.180	0.280
Var(δ^2s)	0.061	0.0456	0.204	0.0915

برآورد آماری تعداد فاکتورهای مؤثر در این تلاقی نشان داد که تعداد ژن‌های کنترل‌کننده مقاومت برای تلاقی 14442*MS231 یک ژن بوده است (جدول ۹).

جدول ۹ اندازه نمونه (N) ، میانگین (μ) و واریانس داده‌ها (δ^2) برای بیماری سفیدک سطحی

www.SID.ir

Archive of SID

در نسل‌هاي F2 و تلاقي‌هاي برگشتي
Table 9 Sample size, μ and δ^2 for powdery mildew disease in F2 and back crosses

	14442*MS231		
نسل‌ها (generation)	N	μ	δ^2
F1*P1=BC1	500	3.472	3.039
F1* P2=BC2	600	3.091	3.000
F1*F1=F2	600	3.326	2.828
			$\delta^2 s = 0.935$
			NE = 0.49
			Var (s) = 0.045

با توجه به اين كه اين صفت با يك ژن كنترل مي‌شود، انتظار مي‌رود كه نسل در حال تفكيك F2 نسبت‌هاي فنوتيپي به صورت ۱ :۳ باشد. داده‌ها نشان داد كه تعداد افراد مشاهده شده محدوده مقاومت به بيماري بين ۲ و ۳/۹۷ متغير است. افرادي كه در محدوده كمتر از حدود ۳ قرار گيرند مقاوم و افرادي كه در محدوده بيش از ۳ قرار گيرند حساس هستند.

با توجه به محدوده مشخص شده فوق، داده‌ها نشان داد كه ٤٩٤ بوته از بوته‌هاي مشاهده شده داراي آلودگي كمتر از ۳ و تعداد ۱۰٦ بوته داراي آلودگي بيش از ۳ بودند. آزمون χ^2 نشان داد كه تعدا افراد به دست آمده در نسل F2 با نسبت ۱ : ۳ تطابق نداشت (جدول ۱۰).

جدول ۱۰ مقادير مشاهده شده و مورد انتظار كاي اسكور در نسل F2 در تلاقي 14442* MS231

Table 10 Number of observation and expected χ2 in F2 14442* MS261 crosses

نسبت‌ها Ratio	مشاهده شده O_i	مورد انتظار e_i	$O_i - e_i$	$(O_i - e_i)^2$	$(O_i - e_i)^2 / e_i$

www.SID.ir

Archive of SID

3	494	450	44	1936	4.3
1	106	150	-44	1936	12.9
مجموع (Total)	600				$\chi^2 = 17.2$*

χ^2 محاسبه شده برابر ۱۷/۲ بود که نشان داد، بین داده‌هاي مورد انتظار و مشاهده شده اختلاف معني‌دار وجود داشت. بنابراين، توزيع فراواني فنوتيپي نسل F2 (شكل ۳) نسبت ۱ : ۳ را تأييد نكرد، زيرا والد MS231 نيمه‌مقاوم بود و نسبت به بيماري سفيدك سطحي مقداري مقاومت از خود نشان داد و تلاقي بين اين ژنوتيپ با ژنوتيپ مقاوم 14442 باعث گرديد تا افراد مقاوم به بيماري نسبت بيشتري از كل افراد را به خود اختصاص دهند و در نتيجه نسبت ۱ : ۳ كه مورد انتظار بود به دست نيامد. در آزمايشي كه در ايالات متحده انجام شد نيز وقتي كه والد مقاوم با والدي كه مقداري مقاومت نسبت به بيماري نشان داد، تلاقي داده شد برخلاف انتظار، نسبتي كه تائيد كننده مدل تك ژني باشد بدست نيامد و نسبت گياهان مقاوم بيشتر از گياهان حساس بود و اين مسئله به اين دليل بود كه والد دوم، مقداري مقاومت به بيماري داشته است (Lewellen and Schrandt 2001).

اطلاعات حاصل از BC2 فرضيه تك ژني را از نظر آماري تأييد نمود و نشان داد كه نسبت به دست آمده در BC2 همان نسبت ۱ : ۱ بوده و نيمي از ژنوتيپ‌ها غالب و مقاوم و نيمي داراي ژنوتيپ مغلوب و حساس هستند (شكل ۵). مقدار χ^2 محاسبه شده براي BC2 برابر ۳/۸٤ بود و از نظر آماري نيز اين نتايج تأييد گرديد (جدول ۱۱).

www.SID.ir

Archive of SID

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱۱ مقادیر مشاهده شده و مورد انتظار کای اسکور در نسل BC2 در تلاقی 14442* MS231

Table 11 Number of observations and expected χ^2 in BC2, 14442* MS231 cross

نسبت ها Ratio	مشاهده شد O_i	مورد انتظار e_i	$O_i - e_i$	$(O_i - e_i)^2$	$(O_i - e_i)^2 / e_i$
1	324	300	24	576	1.92
1	276	300	-24	576	1.92
(Total) مجموع	500				$\chi^2 = 3.84^{ns}$

ns عدم معنی‌دار بودن

ns not sgnificant

بحث

ژنوتیپ 14442 و دو لاین نرعقیم منوژرم با یکدیگر تلاقی داده شدند تا الگوی تفکیک در نسل‌های F2 و BCها در آن‌ها بررسی شود. در هر دو تلاقی، الگوهای تفکیک به دست آمده تأییدکننده مدل تک ژنی برای مقاومت به بیماری سفیدک سطحی بود. بنابراین، وراثت‌پذیری صفت مقاومت به سفیدک سطحی به صورت یک ژن غالب در هر دو تلاقی بود. در آزمایشی در ایالات متحده آمریکا تجزیه ژنتیکی نسل‌های در حال تفکیک در دو منبع مقاومت بررسی شد و نتایج نشان داد که الگوی تفکیک با مدل تک ژنی مطابقت داشته و اثر آن به صورت غالب می‌باشد (Lewellen and Schrandt 2001).

توزیع فراوانی در جمعیت F2 در تلاقی 14442*MS261 با نسبت ۱ : ۳ تطابق داشت ولی در تلاقی14442*MS231 منحنی توزیع فراوانی اندکی به سمت محدوده مقاومت چولگی پیدا کرد، زیرا ژنوتیپMS231 نیمه‌مقاوم بوده و نسبت به بیماری سفیدک سطحی مقاومت نشان می‌دهد. بنابراین، توزیع

www.SID.ir

Archive of SID

فراواني گياهان مقاوم و حساس در تلاقي MS231*14442کمتر با مدل ۱ : ۳ تطابق داشت. بررسي‌هاي انجام شده در آمريکا نيز نشان داد وقتي که تلاقي منبع مقاومت با يك منبع حساس (C37) انجام شد، توزيع فراواني با مدل تك‌ژني مطابقت داشت ولي وقتي که تلاقي منبع مقاومت با يك منبعي(C78) که مقداري مقاومت نسبت به بيماري داشت، انجام شده منحني به سمت فراواني گياهان مقاوم چولگي پيدا کرد و تعداد گياهان مقاوم ايجاد شده بيشتر شد و با مدل تك‌ژني تطابق نداشت (Lewellen and Schrandt 2001).

بنابراين، علت ايجاد وضعيت فوق ناشي از مسائل مختلفي است که عبارتند از:

اول اين که، والد مادري که به عنوان نرعقيم شناخته شده است ممکن است درصد اندکي دانه‌گرده توليد کرده و خودگشني داشته که در مزرعه کنترل نشده باشد. دوم اين که، چون والد مادري مقداري مقاومت نسبت به بيماري داشته است، بنابراين سهم والد مادري در ايجاد گياهان مقاوم اندکي بيشتر از والدهاي مادري حساس بوده است و سوم اين که، شرايط ايجاد آلودگي براي دو تلاقي مورد بررسي، ممکن است در مزرعه اندکي متفاوت بوده باشد زيرا نتايج به دست آمده نشان مي‌دهد که در تلاقي MS261، ميزان آلودگي براي والد مقاوم ۲/۸۹ و براي والد حساس ٤/۲۳ بوده است در حالي که در تلاقي MS231، ميزان آلودگي براي والد مقاوم حدود ۲/۰٦٥ و براي والد حساس ۳/۹۷ بوده است و اين مطلب بيانگر آن است که به طور کلي سطح آلودگي در تلاقي دوم اندکي پائين‌تر

www.SID.ir

Archive of SID

از تلاقي اول بود كه شايد به دليل شرايط آب و هوائي حاكم در مزرعه آزمايشي بوده است. نتايج به دست آمده در آمريكا نيز با نتايج فوق مطابقت دارد (Lewellen and Schrandt 2001) .

ميزان آلودگي در F1 در هر دو تلاقي به سمت حساسيت ميل كرده است، زيرا نمره‌دهي در فاميل F1 براساس كل كرت بوده است، يعني ميزان شاخص آلودگي بين متوسط والدين و والد حساس قرار گرفته است .

گونه وحشي خيلي مقاوم (Accession 242) با رقم زراعي وحساس C37 تلاقي داده شد و سه نسل بك‌كراس انجام شد تا صفات زراعي به هيبريد منتقل و صفت مقاومت در آن حفظ شود. هيبريدي كه به اين ترتيب حاصل شد تقريباً صفات زراعي مطلوب را با صفت مقاومت دارا است. اين هيبريد با گونه وحشي و مقاوم فوق‌الذكر تلاقي داده شد و نسل F1 به دست آمد. وقتي كه يادداشت‌برداري انجام شد و نمره آلودگي به كل كرتF1 داده شد، منحني توزيع ميزان آلودگي در آن به سمت حساسيت ميل كرد (Lewellen and Schrandt 2001) . در اين آزمايش نيز، ميزان آلودگي در F1 در هر دو تلاقي به سمت حساسيت ميل كرده است زيرا نمره‌دهي در فاميل F1 براساس كل كرت بوده است، يعني ميزان شاخص آلودگي نسل اول يا F1 بين متوسط والدين و والد حساس قرار گرفته است. علت اين مسئله آن است كه ژنوتيپ مقاوم استفاده شده در اين آزمايش فقط يك منبع مقاوم به بيماري نيست بلكه منبعي است كه حاوي ژن مقاومت به بيماري بوده كه صفات نسبتاً خوب زراعي را نيز داراست. در حالي كه اگر يك گونه وحشي صرفاً

www.SID.ir

Archive of SID

مقاوم با يك رقم زراعي حساس تلاقي داده شود، انتظار بر اين است كه در نسل اول يا F1 همه گياهان مقاوم باشند. تلاقي جفتي گونه وحشي 242 با رقم زراعي و حساس C37 باعث ايجاد گياهان خيلي مقاوم در نسل اول يا F1 گرديد (Whitney 1989). در پروژني‌هاي (S1 وFS) مورد بررسي براي وضعيت ژنتيكي مقاومت به بيماري سفيدك سطحي نيز مشاهده گرديد كه توزيع فراواني ميزان آلودكي به سمت حساسيت چولگي پيدا كرد (Whitney et al. 1983).

بنابراين، نتايج اين آزمايش نشان داد كه نحوه توارث بيماري سفيدك سطحي چغندرقند به صورت تك‌ژني بوده و مقاومت به اين بيماري با يك ژن اصلي غالب كنترل مي‌شود. با توجه به تك‌ژني بودن اين صفت، گزينش براي ايجاد ارقام مقاوم مؤثر بوده و استفاده از روش اصلاحي تلاقي برگشتي، روشي مناسب جهت انتقال صفت مقاومت به بيماري سفيدك سطحي به ارقام پرمحصول چغندرقند محسوب مي‌شود. وجود تفكيك متجاوز در نسل F2 نشان داد كه مي‌توان ژنوتيپ‌هاي مصون كه داراي مقاومت بيشتري نسبت به والد مقاوم هستند در اين نسل گزينش نمود.

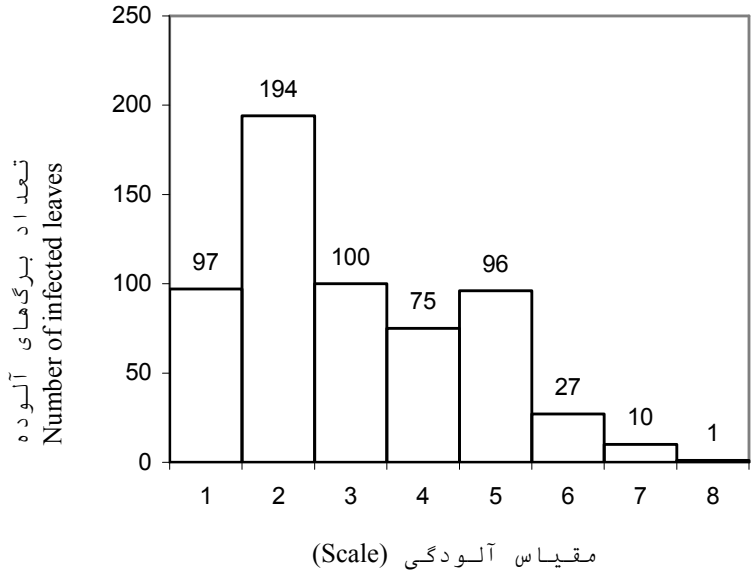
تشكر وقدر داني

از آقاي دكتر سعيد پورداد به خاطر كمك در استفاده از روش آماري مناسب براي تجزيه نسل‌هاي در حال تفكيك، به منظور تعيين تعداد فاكتورهاي مؤثر در كنترل ژنتيك مقاومت به بيماري سفيدك‌سطحي بسيار سپاسگزاري مي‌گردد. از آقاي دكتر مهيار شيخ‌الاسلامي به خاطر كمك در

www.SID.ir

Archive of SID

یادداشتبرداري‌هاي مزرعه‌اي که کاري مشکل و طاقت‌فرسا است، قدرداني مي‌گردد. از آقايان علي‌اصغر عزيزي و خليل روشني تکنسين‌هاي تلاشگر بخش تحقيقات چغندرقند که همواره در اجراي اين آزمايش و يادداشتبرداري‌هاي آن که کاري پرزحمت و خسته‌کننده بود، همکاری نمودند، تشکر و قدرداني مي‌نمائيم.

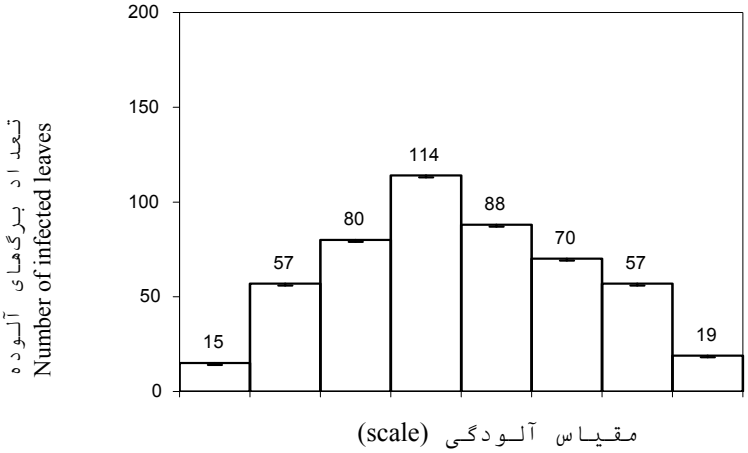


شکل ۱ توزیع فراوانی میزان آلودگی نسل دوم در میل استریل 261

Fig. 2 Rate of infection frequency at F2 generation of 261(M.S)

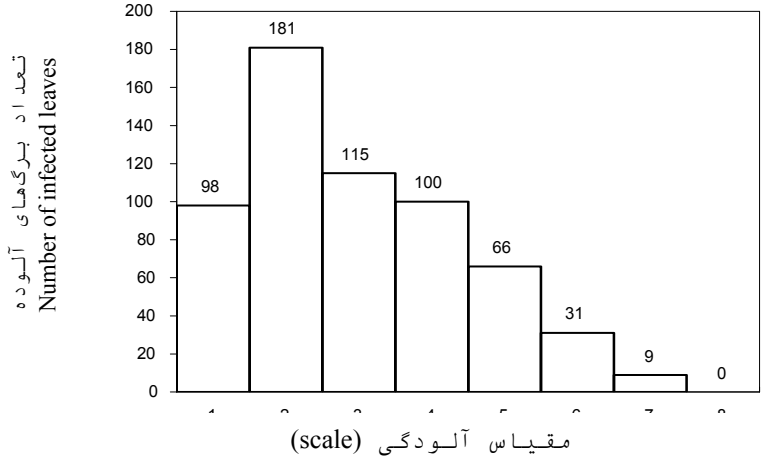
www.SID.ir

Archive of SID



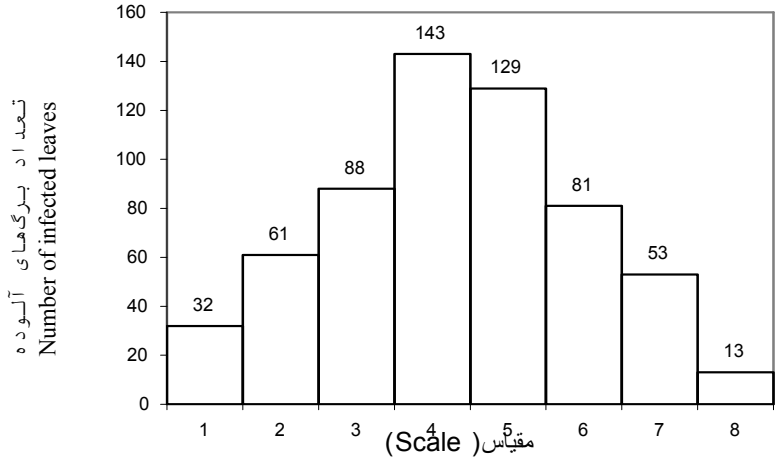
شکل ۲ توزیع فراوانی میزان آلودگی در تلاقی برگشتی میل استریل 261

Fig. 2 Distribution Rate of infection in BC2



شکل ۳ توزیع فراوانی میزان آلودگی در نسل دوم میل استریل 231

Fig. 3 Distribution of rate infection in BC2



شکل ۴ توزیع میزان آلودگی در تلاقی برگشتی میل استریل 231

Fig. 4 Rate of infection frequency in BC2

www.SID.ir

Archive of SID

منابع مورد استفاده:

References:

احمدي‌نژاد، ا. ۱۳۵۲. مطالعاتي در مورد سفيدك‌سطحي چغندرقند. مجله بيماري‌هاي گياهي. جلد ۹ شماره۲، ص ۲۵-۲۰.

بساطي، ج. مصباح، م و شيخ‌الاسلامي، م. ۱۳۷۹. تأثير بيماري سفيدك‌سطحي بر كميت و كيفيت محصول ژنوتيپ‌هاي مختلف چغندرقند در كرمانشاه. مجله چغندرقند، جلد ۱۶، شماره ۲.

شيخ‌الاسلامي، م و بساطي، ج. ۱۳۷۷. بررسي مقدماتي منابع مقاومت در جنس بتا به منظور انتخاب توده‌هاي مقاوم به بيماري سفيدك‌سطحي چغندرقند (گزارش پژوهشي). مركز تحقيقات كشاورزي كرمانشاه.

Ahrens W (1979) Investigation on the infection yield loss relations for sugar beet powdery mildew, *Erysiphe betae* (Vanha) weltzien, under differing susceptibility . Unniversitat Bon . Germany, 109 p

Asher M (1987) Powdery mildew a problem of the south-east of England . British Sugar Beet Review, 55: 37-39

Asher M (1990) Forecastig powdery mildew . British Sugar Beet Review. 58: 35-37

Asher M, Williams G (1991) Forecasting the national incidence of sugar beet powdery mildew from weather data in Britain . British Sugar Beet Review, 40: 100-107

Asher M, Williams G (1992) Controlling leaf disease: powdery mildew. British Sugar Beet Review, 60: 35-37

Asher M (1995) Powdery mildew: this year’s forecast . British Sugar Beet Review, 63: 29-30

www.SID.ir

Archive of SID

Asher M, Dewar A (2001) Pest and disease in sugar beet in 2000. British Sugar Beet Review, 69: 21-26

Asher M (2002) Disease in 2001 and their control. British Sugar Beet Review. 70: 30-33

Boulch VL, Goyeal HP, DevallaveiL LC (1997) Identification of specific powdery mildew resistance gene in individual wheat plants using the first two seedling leaves. Plant Breeding 114: 281 –286

Cicco V, Curtis F (1993) Powdery mildew of sugar beet Informatore Fitopatoligico, 43: 18-20

Dewar A, Asher M (1998) Pest and disease in sugar beet. British Sugar Beet Review, 66: 32-35 Dewar A, Asher M (2000) Pest and disease in the U.S.A. British Sugar Beet Review 69: 10-14

Dewar A, Francis S, Asher M, Stevens M (2001) Pest and disease in the U.S.A. British Sugar Beet Review, 69: 10-14

Hill FJ, Hall DH, Kontaxis DG (1975) Effect of powdery mildew on sugar beet production . Plant Disease Reporter, 59: 513-515

Hills, FJ, Chiarappa L, Geng S (1980) Powdery mildew of sugar beet: disease and crop loss assessment. Phytopathology, 70: 680-682

Lande R. (1981) The minimum number of genes contributing to quantitative variation between and within populations. Genetics, 99: 541-553

Lewellen RT (2000) Registeration of Powdery Mildew Resistant Sugar Beet Germplasm CP01 and CP02. Crop Registerations. Crop Sci. 40: 1515(2000)

Lewellen RT, Schrandt JK (2001) Inheritance of powdery mildew resistance in sugar beet derived from *Beta vulgaris* subsp. *maritima*. Plant Disease. D- 2001 – 0413-01R (on-line)

Paulus AO, Harvey OA, Nelson J, Meek V (1975) Fungicides and timing for control of sugar beet powdery mildew . Plant Disease Reporter, 59: 516-517

www.SID.ir

Archive of SID

Ruppel EG, Hill FJ, Mumford E (1974) Epidemological observation on the sugar beet powdery mildew Epiphytotic in western U .S. A. Plant Disease Reporter, 59: 283-285

Wang Y, Liu Y, He P, Chen L, Lamicarna O, Lu J (1995) Evaluation of foliar resistance to *Uncinula necator* in Chinese wild *vitis* species . Vitis, 34: 159-164

Weltzien HC (1963) *Erysiphe betae* (Vanha), the powdery mildew of beets . Phytopathology, 47: 123-123

Whitney ED, Lewellen RT, Skoyn IO (1983) Reaction of sugar beet to powdery mildew: genetic variation, association among testing procedure, and resistance breeding. Phytopathology,73: 2: 182-185

Whitney ED (1987) High level of resistance to powdery mildew in *Beta maritima* . Phytopathology, 77: 1723

Whitney ED (1989) *Beta maritima* as source of powdery mildew resistance in sugar beet. Plant Disease, 73: 487-489

www.SID.ir