

عمل ژن برای مقاومت به ویروس موزائیک معمولی لوبیا (BCMV) در لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.)

محمد مجتبی کامل منش^۱، حمید رضا دری^۲، ساسان قاسمی^۲، محمد رضا بی همتا^۴ و فرخ درویش^۵

چکیده

به منظور بررسی توارث پذیری و نحوه عمل ژن یا ژن‌های دخیل در مقاومت به ویروس موزائیک معمولی لوبیا، چهار تلاقی بین ژنوتیپ‌های مختلف لوبیا قرمز با درجات مختلف مقاومت نسبت به BCMV انجام شد و نتاج نسل اول جهت تولید نسل دوم خودبارور شدند. همچنین برای تولید نتاج، تلاقی برگشتی، بوته‌های نسل اول با هر یک از والدین تلاقی داده شد سپس تمام نسل‌ها (والدین، نسل اول، نسل دوم و تلاقی‌های برگشتی با هر دو والد) برای هر یک از تلاقی‌ها در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۳ تکرار در شرایط گلخانه کشت گردیدند. عمل آلوده سازی در مرحله ۲ برگی و نمونه برداری جهت آزمون الایزا ۳ هفته پس از آلودگی انجام گردید. نتایج تجزیه میانگین نسل‌ها و تجزیه واریانس نسل‌ها نشان داد که اجزاء افزایشی و اپیستازی نقش مهمی در صفت مقاومت به BCMV دارند. معنی‌دار شدن اثرات اپیستازی و تخمین ژن‌های در حال تفرق در والدین نشان داد که بیش از یک ژن در کنترل این صفت در این تلاقی‌ها دخالت دارد. همچنین متوسط توارث پذیری عمومی و خصوصی تلاقی‌ها به ترتیب ۷۷ و ۶۴ درصد تخمین زده شد که این مطلب نیز اهمیت اثر افزایشی و مؤثر بودن عمل گزینش در پروژه‌های اصلاحی در رابطه با این صفت را تأیید می‌کند.

واژه‌های کلیدی: (*Phaseolus vulgaris* L.)، ویروس موزائیک معمولی لوبیا، تجزیه میانگین نسل‌ها.

مقدمه

ویروس موزائیک معمولی لوبیا (BCMV) بطور گسترده‌ای در جهان لوبیا را آلوده می‌سازد. این ویروس در اوایل قرن بیستم از اغلب نواحی تولید کننده لوبیا گزارش گردید (2003 Strausbaugh *et al.*). BCMV باعث افت عملکرد (در بعضی مواقع بیشتر از ۸۰ درصد) و کیفیت محصول می‌گردد (Drijfhout, 1991). بطور کلی این ویروس به عنوان یکی از عوامل عمده کاهنده عملکرد در لوبیا شناخته شده است. این مسئله برای اصلاح گران بسیار با اهمیت می‌باشد که با بکارگیری هر روش ممکن و ابزارهای موجود مقاومت به BCMV را توسعه داده تا در نهایت عملکرد و کیفیت لوبیا افزایش یابد (Mavaric & Susta, 2004). در این راستا شناسایی ژن‌های مقاوم و نحوه عمل آنها

با استفاده از تکنیک‌هایی مانند تجزیه میانگین نسل‌ها می‌تواند بسیار مؤثر واقع شود. تجزیه میانگین نسل‌ها توسط هیمن (Hyman, 1958) پیشنهاد شد وی روشی برای تخمین پارامترهای افزایشی، غالبیت، افزایشی × افزایشی × غالبیت، غالبیت × غالبیت با استفاده از میانگین صفات شش نسل پایه، P1، P2، F1، F2، BC1 و BC2 بیان کرد. پس از آن ملشینگر (Melshinger, 1987) یک مدل میانگین نسل‌ها برای تجزیه تست کراس نسل‌های مشتق شده از دو لینه اینبرد پیشنهاد کرد که بیشتر بر روی هیبریدهای ذرت الیت مورد استفاده قرار گرفت. او مدل‌هایی را برای میانگین‌ها و واریانس‌هایی که شامل لینکاژ و اپیستازی بود توسعه داد. استفاده از میانگین نسل‌ها نسبت به واریانس‌ها، به واسطه کمتر بودن خطا برای تجزیه میانگین نسل‌ها، از نظر توارثی

۱. دانشجوی سابق دوره دکتری اصلاح نباتات دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات تهران ۲. عضو هیأت علمی مرکز تحقیقات بین المللی لوبیای خمین ۳. عضو هیأت علمی گروه گیاهپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز ۴. عضو هیأت علمی گروه بیوتکنولوژی کشاورزی دانشگاه تهران ۵. عضو هیأت علمی گروه اصلاح نباتات دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات تهران.

اثرات افزایشی و غالبیت دارای ارزش یکسانی هستند. هدف از این تحقیق تعیین نحوه عمل ژن یا ژن‌های دخیل در مقاومت به BCMV با استفاده از تجزیه میانگین نسل‌ها، مشخص کردن تعداد ژن‌های در حال تفرق در والدین و تعیین وراثت‌پذیری عمومی و خصوصی بوده تا در خصوص پژوهش‌های آتی و پروژه‌های اصلاحی مقاومت در رابطه با این ویروس اطلاعات پایه‌ای در دسترس قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

با توجه به نتایج بدست آمده از آزمایش‌های مزرعه‌ای و آزمون الایزا دو رقم گلی و درخشان از گروه لوبیا قرمز به عنوان ارقام مقاوم به BCMV و دو رقم ناز و اختر به عنوان ارقام حساس انتخاب شدند و تلاقی‌های زیر بین آنها انجام گردید و نسل اول (F1) هر تلاقی بدست آمد: (گلی × ناز)، (درخشان × ناز)، (گلی × درخشان) و (ناز × اختر) نسل‌های دوم (F2) (حاصل از خودگشتی F1)، BC1 (حاصل از تلاقی برگشتی با والد اول یا P1 × F1) و BC2 (حاصل از تلاقی برگشتی با والد دوم یا P2 × F1) هر تلاقی تولید و نهایتاً ۶ جمعیت (P1، P2، F1، F2، BC1، BC2) حاصل از هر تلاقی برای استفاده در تجزیه میانگین نسل‌ها ایجاد شد. شش نسل حاصل از هر تلاقی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۳ تکرار در شرایط گلخانه کشت گردید. هر واحد آزمایشی برای والدین (P1 و P2) پس از سبز شدن کامل شامل ۱۰ گلدان، برای نسل اول (F1)، BC1 و BC2 شامل ۶ گلدان و برای نسل دوم (F2) شامل ۶۰ گلدان بود. خاک مورد استفاده ترکیبی از خاک برگ و خاک معمولی به نسبت ۱:۳ بود. بذور قبل از کاشت با قارچ کش ویتاواکس (Vitavax) تیمار شده و عمق کاشت ۲ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. دما 20 ± 5 درجه سانتی‌گراد و رژیم نوری بر مبنای ۸ ساعت شب و ۱۶ ساعت روز تنظیم شد. ویروس مورد نظر از مزرعه‌ای تحقیقاتی در یاسوج جداسازی و پس از خالص سازی بیولوژیکی جهت تکثیر به صورت مکانیکی به گیاهچه‌های حساس لوبیا در مرحله دو برگگی مایه زنی شد. خلوص ویروس با استفاده از آنتی سرم مربوطه (اهدایی از طرف دکتر ایزد پناه، بخش ویروس دانشگاه شیراز) تأیید شد. عمل آلوده سازی با ویروس BCMV پس از ظهور برگ‌های کوتلیدونی در ۲ مرحله به

مزیت دارد. در این تجزیه ۶ نسل (P1، P2، F1، F2، BC1 و BC2) مورد استفاده قرار می‌گیرد و F2 به عنوان نسل مرجع در نظر گرفته می‌شود (قنادها، ۱۳۸۱). ایندژنیت و همکاران (Inderjit & et al., 2006) با استفاده از تجزیه میانگین نسل‌ها نحوه توارث صفاتی مانند: تعداد روز تا گلدهی، تعداد روز تارسیدگی، طول بوته، تعداد ساقه فرعی، تعداد غلاف در بوته، تعداد دانه در غلاف و وزن ۱۰۰ دانه را در ۶ نسل حاصل از ۴ تلاقی تعیین کردند. نتایج نشان داد که اثرات ژنی افزایشی، غالبیت و اپیستازی بطور معنی‌داری در صفات مختلف مطالعه شده نقش دارند. چکا و همکاران (Checa et al., 2006) نحوه توارث ظرفیت بالاروندگی (رشد طولی) بوته لوبیا معمولی را با در نظر گرفتن دو صفت طول گیاه و طول میانگره مورد بررسی قرار دادند. آنها ۶ نسل مختلف (P1، P2، F1، F2، BC1 و BC2) را در ۳ تلاقی جهت تجزیه میانگین نسل‌ها انتخاب کردند که عمل ارزیابی بر روی آنها در ۲ مرحله رشد (۴۰ و ۷۰ روز بعد از کاشت) صورت گرفت. نتایج کارهای آنها نشان داد که اثرات افزایشی و افزایشی × غالبیت در توارث این صفات از اهمیت بالایی برخوردار است و توارث‌پذیری عمومی صفت طول بوته بین ۶۲/۳ تا ۸۵/۶ درصد و طول میانگره بین ۶۶/۵ تا ۸۳/۷ درصد برآورد گردید. بنابراین آنها با توجه به توارث‌پذیری بالای این صفات آنها را به عنوان صفات مؤثر در انتخاب ارقامی با ظرفیت بالاروندگی زیاد معرفی کردند. پسونی و همکاران (Pessoni et al., 1997) نحوه توارث ۳ صفت زردی برگ، کوتولگی بوته و بدشکلی غلاف را در اثر ویروس موزائیک طلایی لوبیا (*Bean golden mosaic virus*) با استفاده از تجزیه میانگین نسل‌ها در ۶ جمعیت (P1، P2، F1، F2، BC1 و BC2) مورد مطالعه قرار دادند که تنها یک مدل افزایشی عمل ژن برای هر ۳ خصوصیت معنی‌دار گردید. به عبارت دیگر عمل غیرافزایشی ژن در اکثر موارد دارای ارزش بیشتری بود. آنها بیان داشتند که توارث اینگونه صفات احتمالاً اولیگوژنیک (Oligogenic) بوده و توارث‌پذیری متوسطی را برای آنها برآورد کردند. چایتینگ و همکاران (Chaiteng et al., 2003) صفت مقاومت به سفیدک پودری (*Erysiphe polygoni*) در لوبیا چیتی را در ۶ جمعیت به دست آمده از ۴ تلاقی با استفاده از تجزیه میانگین نسل‌ها مورد مطالعه قرار دادند. نتایج آنها مشخص کرد که

فرمول‌های زیر محاسبه گردیدند:

$$E_w = \frac{1}{4}(V_{P1} + V_{P2} + 2V_{F1}) \quad D = 4V_{F2} - 2(V_{BC1} + V_{BC2})$$

$$H = 4(V_{BC1} + V_{BC2} - V_{F2} - E_w) \quad F = (V_{BC1} - V_{BC2})$$

اجزای فرمول‌های فوق عبارتند از:

E_w : جزء غیر قابل توارث (محیطی) تنوع، D : جزء افزایشی تنوع، H : جزء غالبیت تنوع و F : تشریک مساعی (همبستگی یا سهم غیر مستقل) d و h روی تمام مکان‌های ژنی است. همچنین وراثت‌پذیری عمومی و خصوصی صفات مورد بررسی به وسیله فرمول‌های زیر محاسبه گردید:

$$1. h^2_{bs} = \{[V_{F2} - (V_{P1} + V_{P2})/2]/V_{F2}\}$$

$$2. h^2_{bs} = \{[V_{F2} - (V_{P1} \times V_{P2})^{1/2}]/V_{F2}\}$$

$$3. h^2_{bs} = \{[V_{F2} - (V_{P1} + V_{P2} + V_{F1})/3]/V_{F2}\}$$

$$4. h^2_{bs} = \{[V_{F2} - (V_{P1} + V_{P2} + 2V_{F1})/4]/V_{F2}\}$$

$$5. h^2_{bs} = \{[V_{F2} - (V_{P1} \times V_{P2} \times V_{F1})^{1/3}]/V_{F2}\}$$

$$6. h^2_{bs} = \{(V_{F2} - V_{F1})/V_{F2}\}$$

برآورد وراثت‌پذیری خصوصی از طریق فرمول

وارنر (Warnner, 1952) انجام شد:

$$h^2_{ns} = \{[2V_{F2} - (V_{BC1} + V_{BC2})]/2V_{F2}\}$$

به منظور تجزیه واریانس داده‌ها بر اساس طرح بلوک‌های کامل تصادفی (RCBD) از نرم افزار SAS استفاده شد و برآوردهای اثرات ژنی توسط برنامه نوشته شده در محیط EXCEL2000 صورت گرفت.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس صفت میزان آلودگی برای نسل‌های $P1, P2, F1, F2, BC1$ و $BC2$ حاصل از تلاقی‌های $\{(P2) \times (P1) \text{ گلی}\}$ ، $\{(P2) \times (P1) \text{ ناز}\}$ ، $\{(P2) \times (P1) \text{ ناز}\}$ و $\{(P2) \times (P1) \text{ اختر}\}$ به ترتیب در جداول ۱ تا ۴ آمده است. همانطور که مشاهده می‌شود برای صفت میزان آلودگی در تمامی تلاقی‌ها به جز تلاقی (ناز \times اختر) تفاوت معنی‌داری بین نسل‌ها وجود دارد. بنابراین تجزیه میانگین نسل‌ها در ارتباط با این صفت برای تمامی تلاقی‌ها به جز (ناز \times اختر) بلامانع است. جهت مقایسه میانگین نسل‌ها از روش دانکن در سطح احتمال ۰/۰۵ استفاده گردید. نتایج حاصل از مقایسه میانگین نسل‌ها و خطای معیار صفت مورد مطالعه در نسل‌های مختلف در جدول ۵ آمده است.

فاصله یک هفته (جهت اطمینان بیشتر) بطور مکانیکی و با استفاده از پودر کاربایراندوم (Carborandom) صورت گرفت. نمونه‌برداری جهت آزمون الایزا ۲۱ روز پس از اولین آلودگی انجام گردید. جهت ارزیابی واکنش گیاهچه‌ها به ویروس BCMV، میزان و درصد آلودگی با استفاده از آزمون الایزا و روش PTA-ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent) (Clark & Adams, 1977). نسل‌های موجود برای تمام تلاقی‌ها مورد تجزیه واریانس وزنی قرار گرفتند (با استفاده از نرم افزار SAS) و با مشاهده تفاوت معنی‌دار در بین نسل‌ها، تجزیه میانگین نسل‌ها برای صفت فوق انجام گردید. مدلی که برای تجزیه میانگین نسل‌ها پیشنهاد شده می‌تواند رابطه بین اجزای میانگین را نشان دهد و برای برآورد اثرات ژن، جزء ژنتیکی به شش جزء تفکیک می‌گردد:

$$Y = m + \alpha [d] + \beta [h] + \alpha^2 [i] + 2\alpha \beta [j] + \beta^2 [l]$$

اجزاء فرمول عبارتند از:

Y : میانگین یک نسل، m : میانگین تمام نسل‌ها در یک تلاقی، $[d]$: مجموع اثر افزایشی، $[h]$: مجموع اثر غالبیت، $[i]$: مجموع اثر متقابل بین اثرات افزایشی \times افزایشی، $[j]$: مجموع اثر متقابل افزایشی \times غالبیت، $[l]$: مجموع اثر متقابل غالبیت \times غالبیت، α ، β ، $2\alpha\beta$ ، α^2 و β^2 : ضرایب هر یک از پارامترهای مدل می‌باشند.

برآوردهای پارامترها با استفاده از حداقل مربعات وزنی بدست آمدند. در این مطالعه، هر شش نسل با مدل‌های دو، سه، چهار، پنج و شش پارامتری آزمون شدند تا مناسب‌ترین مدل همانند مدل کامل بتواند میانگین‌های مشاهده شده را توضیح دهد. این مدل‌ها برای میانگین‌های مشاهده شده به وسیله آزمون χ^2 (کای اسکوئر) با چهار، سه، دو و یک درجه آزادی برای برازش نکویی آزمون گردیدند که این روش، آزمون وزنی نام دارد (Mather & Jinks, 1982). عکس و ضرب کردن ماتریس‌ها به وسیله برنامه آماری مینی‌تیب (Minitab) انجام گرفت. جهت تکمیل اطلاعات حاصل از تجزیه میانگین نسل‌ها، تجزیه واریانس نسل‌ها نیز بر روی صفاتی که مورد تجزیه میانگین نسل‌ها قرار گرفته بودند، صورت گرفت. بدین منظور بر اساس روش ماتر و جینکز (Mather & Jinks, 1982) اجزای تنوع از همه نسل‌ها محاسبه شدند. براساس امید ریاضی آنها، این اجزاء از طریق

جدول ۱: تجزیه واریانس نسل‌های حاصل از تلاقی، گلی × ناز

S.O.V	منابع تغییرات	درجه آزادی (df)	مجموع مربعات (SS)	میانگین مربعات (MS)	F	Pr>F
Block	بلوک	2	4.55	2.28	7.11	0.0120
Generation	نسل‌ها	5	14.63	2.92	9.14	0.0017
Error	خطا	10	3.20	---	---	---

جدول ۲: تجزیه واریانس نسل‌های حاصل از تلاقی، درخشان × ناز

S.O.V	منابع تغییرات	درجه آزادی (df)	مجموع مربعات (SS)	میانگین مربعات (MS)	F	Pr>F
Block	بلوک	2	7.67	3.83	9.89	0.0043
Generation	نسل‌ها	5	12.83	2.57	6.62	0.0057
Error	خطا	10	3.88	---	---	---

جدول ۳: تجزیه واریانس نسل‌های حاصل از تلاقی، گلی × درخشان

S.O.V	منابع تغییرات	درجه آزادی (df)	مجموع مربعات (SS)	میانگین مربعات (MS)	F	Pr>F
Block	بلوک	2	2.50	1.25	7.87	0.0088
Generation	نسل‌ها	5	5.70	1.14	7.19	0.0043
Error	خطا	10	2.15	---	---	---

جدول ۴: تجزیه واریانس نسل‌های حاصل از تلاقی، ناز × اختر

S.O.V	منابع تغییرات	درجه آزادی (df)	مجموع مربعات (SS)	میانگین مربعات (MS)	F	Pr>F
Block	بلوک	2	0.56	0.28	1.32	0.3186
Generation	نسل‌ها	4*	1.37	0.34	1.62	0.2598
Error	خطا	8	1.69	---	---	---

جدول ۵: میانگین‌ها و خطای معیار در نسل‌های مختلف تلاقی‌ها.

نسل	گلی × ناز	درخشان × ناز	گلی × درخشان	ناز × اختر
P1	۰/۷۵ ± ۰/۱۰۳ c	۰/۶۲ ± ۰/۱۱۶ c	۰/۸۸ ± ۰/۰۷۴ bc	۱/۰۹ ± ۰/۰۸۵ a
P2	۱/۵۶ ± ۰/۱۰۳ a	۱/۳۳ ± ۰/۱۱۶ a	۱/۳۰ ± ۰/۰۷۳ a	۱/۱۲ ± ۰/۰۸۴ a
F1	۱/۳۸ ± ۰/۱۳۷ ab	۰/۹۸ ± ۰/۱۸ abc	۱/۱۵ ± ۰/۰۹۴ ab	---
F2	۱/۳۵ ± ۰/۰۵۲ a	۱/۲۲ ± ۰/۰۵۷ ab	۱/۰۳ ± ۰/۰۳۶ ab	۱/۲۵ ± ۰/۰۴۲ a
BC1	۰/۸۸ ± ۰/۱۳۷ c	۰/۷۱ ± ۰/۱۸ c	۰/۶۶ ± ۰/۰۹۶ c	۰/۹۸ ± ۰/۱۲۷ a
BC2	۱/۱۳ ± ۰/۱۴۶ bc	۰/۸۱ ± ۰/۱۸ bc	۰/۹۰ ± ۰/۱۰۶ bc	۱/۱۹ ± ۰/۱۱۱ a

- حروف مشابه نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها است (دانکن، سطح احتمال ۰/۰۵).
 - در تلاقی‌های (گلی × ناز)، (درخشان × ناز)، (درخشان، گلی × درخشان) و (ناز × اختر) ناز به عنوان والد اول (P1) در نظر گرفته شدند.

تجزیه ژنتیکی و برآورد اثرات ژنی

تمام مدل‌های ممکن برای هر صفت برآزش گردید. اگر در مدل سه پارامتری کای مربع معنی‌دار نگردد بدین مفهوم است که مدل افزایشی - غالبیتی am [d] و [h] برای صفت مورد نظر مناسب بوده و هیچ اثر متقابل وجود ندارد و هرگاه کفایت مدل سه پارامتری با معنی دار شدن آزمون کای مربع

برآورد‌های اثر ژن همراه با آزمون کای مربع در جدول ۷ آمده است. اجزاء ژنتیکی شامل اثرات میانگین (m)، افزایشی [d]، غالبیتی [h]، اثرات متقابل افزایشی × افزایشی [i]، افزایشی × غالبیتی [j] و غالبیتی × غالبیتی [l] می‌شود. ابتدا

آلل غالبیت داشته باشد، ممکن است مثبت و یا منفی باشد. وقتی که تعدادی ژن در بروز یک صفت دخالت داشته باشد، اثرات غالبیت مشاهده شده نیز عبارت خواهد بود از توازن بین اثرات h ها در جهت افزایش و اثرات h ها در جهت کاهش صفت، که این توازن را با $[h]$ نشان می‌دهند. در اینجا (جدول ۷) علامت منفی $[h]$ نشان می‌دهد که غالبیت نسبی در جهت کاهش صفت (آلودگی) وجود دارد. اثر متقابل افزایشی \times افزایشی $[i]$ و اثر متقابل غالبیت \times غالبیت $[I]$ در این تلاقی‌ها از اهمیت خاصی برخوردار هستند، با مشاهده اپیستازی منطقی است که فرض کنیم در این تلاقی‌ها بیش از یک ژن این صفت را کنترل می‌کنند نتایج جدول (۶) نیز این موضوع را تأیید می‌کند. وجود علامت‌های مخالف برای اجزای $[h]$ و $[I]$ (هر دو جزء معنی دار هستند) مبین وجود اپیستازی دوگانه (Duplicate Epistasis) است. این نوع اثر متقابل یا اپیستازی، مشکلی را در جهت گزینش گیاهان مطلوب ایجاد نمی‌کند (قنادها، ۱۳۷۷).

اجزاء تنوع برای صفت مقاومت به BCMV

در روش تجزیه میانگین نسل‌ها می‌توان جزئیات مربوط به کنترل ژنتیکی یک صفت در هر آزمایش را بدست آورد که این اطلاعات دارای ارزش پیش بینی مهمی در داخل هر آمیزش هستند، بعلاوه اطلاعات حاصل از مواد آزمایشی را می‌توان به کل گونه تعمیم داد. اما علی رغم این مزیت‌ها، در تفسیر ژنتیکی بایستی نهایت دقت را بکار برد، زیرا اطلاعات ژنتیکی حاصل از این روش فقط مربوط به مکان‌های ژنی که بین دو والد تفکیک می‌شوند است. در نتیجه آلل‌هایی که در جمعیت یک گیاه تفرق می‌یابند و نه در یک آمیزش بخصوص نقشی در کنترل تنوع ژنتیکی ندارند. بنابراین ممکن است در بعضی آمیزش‌ها تغییراتی ایجاد شود که در آمیزش‌های دیگر ایجاد نشود، و این مطلب بستگی به آلل‌هایی دارد که در آمیزش‌های مورد تجزیه

جدول ۶: برآوردهای تعداد ژن‌های در حال تفرق (فاکتورهای مؤثر) برای مقاومت به BCMV.

تلاقی	فرمول*					
	۱	۲	۳	۴	۵	۶
گلی \times ناز	-۰/۷۱	-۰/۶۶	۷/۹۲	۱/۹۱	۴/۷۴	-۰/۳۸
درخشان \times ناز	-۰/۲۵	-۰/۲۳	-۰/۴۹	۱/۵۸	---	-۰/۶۲
گلی \times درخشان	۲/۰۸	۲/۶۹	۱/۶۴	---	---	---

- *
 1. $n = (\mu_{p2} - \mu_{p1})^2 / [8(\delta_{F2}^2 - \delta_{F1}^2)]$
 2. $n = (\mu_{p2} - \mu_{p1})^2 / \{8[(\delta_{F2}^2 - (0.5\delta_{F1}^2 + 0.25\delta_{p1}^2 + 0.25\delta_{p2}^2))]\}$
 3. $n = (\mu_{p2} - \mu_{p1})^2 / \{8[\delta_{F2}^2 - (\delta_{BC1}^2 + \delta_{BC2}^2)]\}$
 4. $n = (\mu_{p2} - \mu_{p1})^2 / \{8[(\delta_{BC1}^2 + \delta_{BC2}^2) - (\delta_{F1}^2 + 0.5\delta_{p1}^2 + 0.5\delta_{p2}^2)]\}$
 5. $n = (\mu_{F1} - \mu_{p1})^2 / \{4[\delta_{BC1}^2 - 0.5(\delta_{F1}^2 + \delta_{p1}^2)]\}$
 6. $n = (\mu_{p2} - \mu_{F1})^2 / \{4[\delta_{BC2}^2 - 0.5(\delta_{F1}^2 + \delta_{p2}^2)]\}$

مورد تردید قرار گرفت، به مدل شش پارامتری مراجعه شد. ماطر و جینکز (Mather & Jinks; 1982) پیشنهاد می‌کنند که برداشتن اجزاء غیر معنی دار از مدل شش پارامتری و سپس برازش بقیه اجزاء به عنوان مدل، منجر به برازش مناسب تری می‌گردد. باید توجه کرد که در مدل‌های کاهش یافته نسبت به مدل شش پارامتری، خطای معیار تمام اجزاء کمتر از خطای معیار مدل شش پارامتری بوده و در ضمن کای مربع آن معنی دار نگردیده است که این امر نشان می‌دهد که دقت مدل افزایش یافته است. نتایج جدول ۷ نشان می‌دهد که برای صفت میزان آلودگی در تمامی تلاقی‌ها مدل ۵ پارامتری شامل m ، $[d]$ ، $[h]$ ، $[i]$ و $[I]$ بهترین برازش را داشت. هرگاه بیش از یک ژن در بروز یک صفت دخالت داشته باشد، هر ژن بطور مستقل و غیر وابسته، دارای یک اثر افزایشی در بروز صفت مربوطه است، که با d نمایش داده می‌شود (البته ژن بطور غیر مستقل نیز از طریق اثرات اپیستازی می‌تواند صفت را تحت تأثیر قرار دهد). بنابراین بروز فنوتیپ یک صفت در یک لاین عبارت است از تعادل بین تأثیرات آلل‌هایی با اثر ازدیادی و آلل‌هایی با اثر کاهش‌دهنده که این حالت تعادل را با $[d]$ نشان می‌دهند (سادات نوری و فاضل نجف آبادی، ۱۳۸۵). همچنین مقدار dh بسته به این که کدام

جدول ۷: برآورد های اجزاء ژنتیکی میانگین برای صفت میزان آلودگی برگ در اثر آلودگی BCMV.

χ^2	$[I]$	$[i]$	$[h]$	$[d]$	m	تلاقی
۲/۱۸ ^{ns}	۲/۳۴ ± ۰/۴۷	---	-۱/۳۴ ± ۰/۲۶	-۲/۴۵ ± ۰/۷۱	-۰/۳۹ ± ۰/۰۳	۲/۴۹ ± ۰/۲۷ **
۳/۱۸ ^{ns}	۲/۳۹ ± ۰/۶۵	---	-۱/۶۷ ± ۰/۴۱	-۴/۰۶ ± ۱/۰۲	-۰/۳۴ ± ۰/۰۴	۲/۶۵ ± ۰/۴۱ **
۰/۰۸۳ ^{ns}	۲/۳۶ ± ۰/۳۷	---	-۱ ± ۰/۱۹	-۳/۳۱ ± ۰/۵۳	-۰/۲۲ ± ۰/۰۴	۲/۰۹ ± ۰/۲۰ **

** معنی دار در سطح احتمال ۰/۰۱، ns: غیر معنی دار

پارامترهای افزایشی و یا اثرات متقابل مرتبط با اثرات افزایشی، تابعی از درجه پراکندگی ژن‌های افزایش دهنده صفت در بین والدین است، ولی واریانس‌های ژنتیکی به وسیله اثرات متعادل تحت تأثیر قرار نگرفته و در واقع میانگین مربعات اثرات هر مکان ژنی می‌باشد و به صورت مجموع تنوع اثرات افزایشی بیان می‌شوند (Kearsey & Pooni, 1998). نتایج جدول ۸ نشان می‌دهد که برآورد آثار غالبیت (H) در تمامی تلاقی‌ها دارای واریانس منفی است، اما خصوصیت اجزای واریانس آن است که نمی‌تواند منفی باشد و هر گاه برآوردی از این اجزاء منفی گردد علت آن را خطای نمونه برداری می‌دانند (Kearsey & Pooni, 1998). در جدول ۸ مقادیر F برای تمام تلاقی‌ها منفی بدست آمده است، که بیانگر این امر است که ژن‌های کاهش دهنده آلودگی غالب بوده که این مطلب با مقادیر منفی [h] در جدول ۷ هماهنگی دارد. همچنین مقادیر کوچک [d] (جدول ۷) و مقادیر بزرگ لیاقت نسبی (PR) (جدول ۸) بیانگر پراکندگی حداکثر ژن‌ها در بین والدین است. برآورد توارث پذیری عمومی با فرمول‌های مختلف در جدول ۸ آورده شده است. دامنه میانگین‌های توارث پذیری عمومی برای تمام تلاقی‌ها بین ۰/۶۴ تا ۰/۸۵ و برای توارث پذیری خصوصی بین ۰/۵۳ تا ۰/۸۲ بود. در این بین در تلاقی (درخشان × ناز) میزان توارث پذیری خصوصی به میزان بالایی (۰/۸۲) برآورد شده است، که این موضوع نشان دهنده سهم بالای آثار افزایشی در کنترل این صفت در این تلاقی است. از طرفی در دو تلاقی دیگر (گلی × ناز) و (گلی × درخشان) این مقدار (آثار افزایشی) سهم کمتری را دارا می‌باشد. اما بطور کلی این نتایج نشان می‌دهد که جزء افزایشی در کنترل این صفت دارای اهمیت زیادی است، بنابراین در پروژه‌های اصلاحی مربوط به این صفت گزینش برای مقاومت‌های بالاتر می‌تواند مؤثر باشد.

وجود دارند (فرشادفر، ۱۳۷۷). یکی از مشکلات تجزیه میانگین نسل‌ها آن است که پارامترهای مشخص کننده اثرات، اثرات متعادل همه مکان‌های ژنی در حال تفرق هستند. این مطلب بدان معناست که پارامترهای افزایشی و اثرات متقابل مربوط به افزایشی تابع درجه پراکندگی ژن‌ها می‌باشند و والدین هستند، و اثرات غالبیت محصول خالص مسیر غالبیت در هر مکان ژنی می‌باشد. در نتیجه، برآورد اثرات افزایشی می‌تواند کوچک باشد زیرا بجای تنوع کم، درجه پراکندگی بسیار زیاد است. همینطور غالبیت نیز می‌تواند به علت تشریک مساعی دو جهت (Ambidirectional contributions) باشد. از طرف دیگر، واریانس‌های ژنتیکی تحت تأثیر تعادل قرار ندارند، زیرا واریانس‌ها مجموع مربعات هر مکان ژنی هستند و بنابراین واریانس کل اثرات افزایشی و غالبیت را نشان می‌دهند. لذا تجزیه واریانس نسل‌ها همانند تجزیه میانگین نسل‌ها می‌تواند انجام گیرد و این اطلاعات تکمیلی را برای تفسیر ساختار ژنتیکی ایجاد نماید. از اینرو برآورد اجزای واریانس ژنتیکی شامل جزء افزایشی تنوع (D) (واریانس قابل تثبیت و وراثت پذیر)، جزء غالبیت تنوع (H) (واریانس غیر قابل تثبیت و وراثت پذیر)، جزء محیطی (E_w) (واریانس غیر قابل تثبیت و وراثت ناپذیر)، تشریک مساعی (همبستگی) d و h روی تمام مکان‌های ژنی (F)، لیاقت نسبی (Potency Ratio) ($\frac{[h]}{[d]}$)، برآوردهای وراثت پذیری عمومی (h^2_{bs}) به وسیله روش‌های مختلف و وراثت پذیری خصوصی (h^2_{ns}) در نسل‌های حاصل از تلاقی‌های مختلف در جدول ۸ ارائه شده است. مطالعه این جدول (۸) مشخص می‌کند که برآورد واریانس افزایشی (D) برای صفت میزان آلودگی در تمام تلاقی‌ها مثبت است. در حالیکه با مراجعه به جدول ۷ مشاهده می‌شود که برآورد آثار افزایشی [d] برای این صفت در تمام تلاقی‌ها منفی است. این امر ناشی از این مطلب می‌باشد که در تجزیه میانگین نسل‌ها،

جدول ۸: برآورد اجزاء تنوع، وراثت پذیری های عمومی (h^2_{bs}) و خصوصی (h^2_{ns}) برای صفت میزان آلودگی برگ.

h^2_{ns}	برآورد وراثت پذیری عمومی به روش های مختلف h^2_{bs}						PR	E _w	F	H	D	تلاقی
	۱	۲	۳	۴	۵	۶						
۰/۵۳	---	۰/۶۶	۰/۶۴	---	۰/۵۹	۰/۶۴	۸/۸۵	۰/۰۶۷	-۰/۰۱۵	-۰/۰۷۷	۰/۳۹۴	گلی × ناز
۰/۸۲	---	---	۰/۸۶	۰/۸۵	---	۰/۸۳	۱۱/۹۴	۰/۱۰	-۰/۰۷۶	-۲/۱۸	۲/۲۶	درخشان × ناز
۰/۵۶	---	۰/۷۰	---	---	۰/۹۵	---	۱۵/۰۴	۰/۱۰	-۰/۰۲۹	-۰/۴۵۶	۰/۲۴۶	گلی × درخشان

منابع

- ۱- سادات نوری، ا.، و م. فاضل نجف آبادی. ۱۳۸۵. ژنتیک کمی (به زبان ساده). انتشارات دانشگاه تهران.
- ۲- فرشادفر، ع. ۱۳۷۷. کاربرد ژنتیک کمی در اصلاح نباتات (جلد اول). انتشارات دانشگاه رازی کرمانشاه.
- ۳- 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: ص. ۷۱-۵۳.
- 4-Chaitieng, B., Laosuwan, P., and Wongkaew, S. 2003. Inheritance of powdery mildew resistance in mungbean (*Vigna radiata*). Thai Journal of Agricultural Science. 36(1): 73- 79.
- 5-Checa, O., Ceballos, H., and Blair, M. W. 2006. Generation means analysis of climbing ability in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). The Journal of Heredity. 97: 456- 461.
- 6-Clark, M. F., and Adams, A. N. 1977. Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for detection of plant viruses. J. Gen. Virol. 34: 475- 483.
- 7-Drijfhout, E. 1991. Bean common mosaic. In: compendium of bean diseases. Hall R. (Ed.). APS Press, The American Phytopathological Society, Minnesota: 37-39.
- 8-Hyman, B. I. 1958. The separation of epistatic from additive and dominance variation in generation means. Heredity. 12: 371- 390.
- 9-Inderjit, S., Gill, M. S., and Bains, T. S. 2006. Generation mean analysis for yield attributing traits in mungbean (*Vigna radiata* L.). Indian Journal of Genetics and plant breeding. 66(1): 47- 48.
- 10-Kearsey, M. J., and Pooni, H. S. 1998. Genetical analysis of quantitative traits. Chapman and Hall Press.
- 11-Mather, K., and Jinks, J. L. 1982. Biometrical Genetics- The study of continuous variation. Chapman and Hall, 162pp.
- 12-Mavaric, I., Susta-vozlic, J. 2004. Virus diseases and resistance to Bean common mosaic and Bean common mosaic necrosis potyvirus in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Acta agriculturae Slovenica 83: 181-190.
- 13-Melshinger, A. E. 1987. Expectation of means and variance of testcrosses produced from F₂ and backcross individuals and their selfed progenies. Heredity. 59: 105- 115.
- 14-Pessoni, L. A., Zimmerman, M. J., and Correa de Faria, J. 1997. Genetic control of characters associated with bean golden mosaic geminivirus resistance in *Phaseolus vulgaris* L. Brazilian Journal of Genetics. 20(1): 51- 58.
- 15-Strausbaugh, C.A., Miklas, P.N., Singh, S.P., Myers, J.R., and Forster, R.L. 2003. Genetic characterization of differential reaction among host group 3 common Bean cultivars to NL-3 K strain of 16-Bean common mosaic necrosis virus. Phytopathology. 93: 683-690.
- 16-Warnner, J. N. 1952. A method for estimating heritability. Agron. J. 44: 427-430.

Gene action for resistance to *Bean common mosaic virus* (BCMV) in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.)

M. M. Kamelmanesh¹, H. R. Dorri², S. Ghasemi³,
M. R. Bihamta⁴, F. Darvish⁵

Abstract

In order to evaluate heritability and gene action for resistance to *Bean common mosaic virus* (BCMV) four crosses were established among bean genotypes with various resistance to BCMV. All four crosses were extended by other generations-F1, F2, backcrosses- to establish four families. Four separate experiments were conducted in RCB design with 3 replications in greenhouse conditions. Inoculation was accomplished 2 weeks after sowing and sampling for ELISA test were performed 3 weeks after inoculation. Studies on the inheritance of resistance to BCMV using generation mean analysis and generation variance analysis indicated that additive components and epistasis([i], [I]) play a major role in these crosses. Also, average broadsense and narrow sense heritabilities were 0.77 and 0.64 respectively. These data were showed importance of additive components for this trait. Therefore, selection for high resistance in breeding projects about this trait could be effective.

Key words: Bean, Bean common mosaic virus, Generation mean analysis.

1. Dept. of Plant Breeding Tehran Science and Research Unit I.A. Univ. 2. Khomaein Bean International Research Center. 3. Dept. of Plant Pathology of Shiraz Unit I.A. Univ. 4. Dept. of Agriculture Biotechnology Tehran Univ. 5. Dept. of Plant Breeding Tehran Science and Research Unit I.A. Univ.