تجزیه ژنتیکی مقاومت به بیماری سفیدک سطحی در چغندرقند

Analysis of genetic resistance to powdery mildew disease in sugar beet

جهانشاه بساطی[۱]، محمود مصباح[۲] ، قاسم کریم‌زاده[۳] و سیدیعقوب صادقیان [۲]

ج. بساطی، م. مصباح، ق. کریم‌زاده و س.ی. صادقیان . ۱۳۸٤. تجزیه ژنتیکی مقاومت به بیماری سفیدک سطحی در چغندر قند. **چغندرقند ۲۱(۲): ۱۲۲-۱۰۵**

چکیده

با توجه به وسعت مناطق کشت چغندرقند در ایران و خسارت ناشی از بیماری سفیدک سطحی، تهیه ارقام مقاوم به این بیماری ضروری به نظر می‌رسد. بدین منظور، طی سال‌های گذشته در منطقه کرمانشاه تعداد زیادی از ژنوتیپ‌های موجود برای این بیماری غربال گردیدند، که منجر به شناسائی و گزینش یک ژنوتیپ دیپلوئید مولتی‌ژرم و مقاوم به بیماری سفیدک سطحی با صفات نسبتاً مطلوب زراعی (ژنوتیپ 14442) گردید. در این ارزیابی‌ها مشخص گردید که رگه منوژرم نرعقیم MS261 حساس و رگه منوژرم نرعقیم MS231 نیمه مقاوم به بیماری سفیدک سطحی است. به منظور تعیین تعداد ژن‌های کنترل‌کننده بیماری سفیدک سطحی و نحوه توارث این ژن‌ها بین ژنوتیپ مقاوم 14442 و دو رگه نرعقیم MS231 نیمه‌مقاوم و نر عقیم MS261 حساس تلاقی‌های لازم انجام گرفت. نسل‌های BC1 F1, F2 , و BC2 از هر تلاقی تهیه گردید. والدین و نسل‌های حاصل از هر تلاقی در مزرعه برای بیماری سفیدک سطحی بررسی شدند. نتایج نشان داد که نسل F2 حاصل از تلاقی والد مقاوم و حساس (14442*261) و تلاقی والد مقاوم و نیمه‌حساس (14442*231) به دو کلاس فنوتیپی با نسبت ۱ : ۳ تفکیک شد. الگوی تفکیک در بک‌کراس‌ها نیز نتایج به دست آمده در نسل F2 را تائید نموده و نشان داد که بیماری سفیدک سطحی با یک ژن اصلی کنترل می‌گردد. اثر ژن کنترل‌کننده بیماری به صورت غالب می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: بیماری، تلاقی، چغندرقند، سفیدک سطحی ، تجزیه ژنتیکی، مقاومت

---

۱ - عضو هیئت علمی مرکز تحقیقات کشاورزی کرمانشاه jahanshahbasati@yahoo.com

۲ - اعضاء هیئت علمی مؤسسه تحقیقات چغندرقند

۳- عضو هیئت علمی دانشگاه تربیت مدرس

مقدمه

بیماری سفیدک‌سطحی یا پودری چغندرقند (Powdery Mildew) تقریباً در تمام مناطق چغندرکاری ایران وجود دارد (احمدی‌نژاد ۱۳۵۲). عامل بیماری سفیدک سطحی قارچ *Erysiphe betae* نام دارد (Weltezien 1963). این بیماری در زمانی ظاهر می‌شود که چغندرقند به شدت در حال قندسازی و ذخیره قند است. میزان خسارت این بیماری در مناطق مختلف، متفاوت است و باعث کاهش عملکرد ریشه و درصدقند می‌گردد. علی‌رغم این که این بیماری توسط گوگرد و سایر قارچ‌کش‌ها قابل کنترل است، ولی استفاده از سموم باعث آلودگی محیط زیست شده و هزینه‌های قابل‌توجهی نیز به خود اختصاص می‌دهد. شدت و توسعه بیماری تا حد زیادی بستگی به وضعیت آب و هوا در زمستان سال قبل از کشت و تابستان سال بعداز کشت دارد، به طوری که هر چه زمستان سال قبل ملایم و تابستان سال کشت گرم و خشک باشد، آلودگی 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 وقتی که علائم بیماری در اواخر July (مردادماه) مشاهده شود، حدود ۲۵درصد از مزارع در پایان August (شهریور ماه) آلوده می‌شوند. کشت‌های دیرهنگام کمتر دچار آلودگی به سفیدک سطحی می‌گردند، زیرا گیاهان جوان حساسیت کمتری به بیماری سفیدک سطحی دارند (Asher 2002).

کاهش عملکرد در اثر بیماری سفیدک‌سطحی به زمان و شدت آلودگی بستگی دارد، هر چه زمان آلودگی زودتر و شدت آلودگی بیشتر باشد. کاهش عملکرد ریشه و شکر بیشتر خواهد بود (Ahrens 1979). آلودگی در اوایل فصل، باعث کاهش اساسی محصول شده و این کاهش گاهی 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 بیماری سفیدک سطحی کاهش عملکرد ریشه تا حدود سه تن برای زمانی که متوسط عملکرد حدود ۴۵ تن در هکتار بود، گزارش شده است (Asher and Williams 1992). سه بار سمپاشی به فاصله هر ده روز یک بار و با ظهور اولین علائم بیماری، باعث افزایش عملکرد ریشه به میزان ۷ درصد گردید (بساطی و همکاران ۱۳۷۹).

در انگلستان کنترل بیماری قبل از پایان August (مرداد ماه) باعث افزایش عملکرد ریشه تا حدود ۵ درصد شده است (Asher 1995). این بیماری توسط قارچ‌کش‌ها و مشتقات گوگرد کنترل می‌گردد (Dewar et al. 2001; Dewar and Asher 2000).

یک بار سمپاشی در انگلستان بر علیه بیماری باعث ۸ در صد افزایش عملکرد ریشه گردید (Dewar and Asher 1998). یک بار سمپاشی به

محض ظهور اولین علائم بیماری و سم‌پاشی بعدی در صورتی که مجدداً میزان آلودگی به حدود ۳۰ درصد سطح برگ برسد، قابل توصیه است (Cicco and Curtis 1993). در ایالت کالیفرنیا نیز نتایج آزمایش‌ها نشان داد که یک‌بار سم‌پاشی پس از ظهور اولین علائم آلودگی بسیار مؤثر بوده و باعث افزایش قابل‌توجه قند در هکتار شده است (Hill et al. 1975) . این بیماری ممکن است عملکرد قند را ۲۰ تا ۳۵ درصد در واحد سطح کاهش دهد (Hills 1980). وقتی که آلودگی سطح برگ‌ها به حدود ۵۰ درصد برسد، سمپاشی هیچ‌گونه تأثیری در کنترل بیماری ندارد (Paulus et al. 1975). برای کنترل مؤثر بیماری، تطابق زمان سمپاشی با ظهور اولین علائم آلودگی بسیار حائز اهمیت است (Asher 1987; Asher and Williams 1992).

مقایسه منابع ژنتیکی چغندرقند (*B . maritima*) نشان می‌دهد که تنوع ژنتیکی قابل‌توجهی در ارتباط با این بیماری در گونه‌های وحشی وجود دارد. وقتی که بین گونه‌های وحشی با مقاومت بالا با گونه زراعی وحساس C37 تلاقی جفتی انجام شد، هیبریدهای F1 مقاومت بالائی را نشان دادند (Whitney 1989). برای بررسی وضعیت ژنتیکی مقاومت به بیماری سفیدک سطحی دو جمعیت S1 و FS مورد مطالعه قرار گرفت، نتایج نشان داد که واریانس ژنتیکی در هر دو جمعیت بسیار معنی‌دار بوده، و وراثت‌پذیری عمومی بالا است (Whitney et al. 1983).

ژرم پلاسم CPO1 و CPO2 برای مقاومت به بیماری سفیدک سطحی به ثبت رسیده 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.

مواد وروش‌ها

این طرح طی سال‌های ۱۳۷۷ تا ۱۳۸۰ در ایستگاه تحقیقاتی ماهیدشت کرمانشاه انجام شد. طی بررسی‌های انجام شده در این ایستگاه، تعداد زیادی از ژرم پلاسم‌های موجود موردبررسی قرار گرفت و براساس شاخص وانگ و همکاران (Wang et al. 1995) میزان آلودگی آن‌ها مشخص و وضعیت مقاومت وحساسیت آن‌ها تعیین گردید. در این بررسی از سه ژنوتیپ چغندرقند شامل ژنوتیپ 14442، MS231 و MS261 به‌ترتیب به‌عنوان ژنوتیپ‌های مقاوم، نیمه‌مقاوم و حساس به بیماری سفیدک سطحی استفاده شد (شیخ‌الاسلامی و بساطی، ۱۳۷۷). با توجه به درجه‌بندی شاخص وانگ و همکاران، ژنوتیپ‌هایی با درجه آن‌ها بیشتر از ۳ باشد، جزء ژنوتیپ‌های حساس و ژنوتیپ‌هایی با درجه کمتر از ۳ ژنوتیپ‌های مقاوم محسوب می‌شوند.

نتاج حاصل از تلاقی ژنوتیپ MS261*14442 و MS231*14442 تهیه گردید. به منظور تولید تلاقی برگشتی‌های BC1 و BC2 از بین بوته‌های نسل F1 بوته‌های مقاوم که آثار آلودگی روی آن‌ها مشاهده نشد گزینش و به ترتیب با والدین مقاوم و حساس تلاقی داده شدند.

از بوته‌های نسل F1 که عاری از آلودگی بودند برای تولید گیاهان نسل F2 استفاده شد. بذور نسل‌های در حال تفکیک، والدین وF1 در سال ۱۳۸۰ در مزرعه برای بررسی میزان آلودگی به بیماری سفیدک‌سطحی کشت شدند (جدول ۱).

جدول۱ والدین و تلاقی‌های مورد بررسی کشت شده در بهار سال ۱۳۸۰
Table 1 Parents and their crosses investigated in 2001

تلاقی با نرعقیم MS261 MS261 Crosses	تلاقی با نرعقیم MS231 MS231 Crosses
14442=P1	14442=P1
MS 261=P2	MS 231=P2
14442* MS261=F1	14442* MS231=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 گردید و زمانی که آلودگی در این رقم به حدود ۸۰ درصد رسید از ژنوتیپ‌های موردنظر یادداشت‌برداری گردید. در اواخر مردادماه شدت آلودگی به حداکثر مقدار خود رسید و با استفاده از روش وانگ و همکاران از کلیه گیاهان کشت‌شده شامل والدین، F1ها و نسل‌های در حال تفکیک یادداشت‌برداری شد. در این روش، نمره صفر بیان‌گر عدم آلودگی و نمره ۷ نشانگر آلودگی بیش از ۸۵ درصد سطح برگ می‌باشد. از هر تلاقی، تعداد ۴۰۰ تا ۶۰۰ برگ (۵۰بوته) بررسی و پس از این که نمره آلودگی برای هر تلاقی تعیین شد، شاخص آلودگی نیز محاسبه گردید. سطح مقاومت و حساسیت هر ژنوتیپ براساس شاخص شدت آلودگی (Severity Index) یا SI مشخص می‌گردد، به طوری که اگر ژنوتیپی نمره آلودگی کمتر از ۳ دریافت کند مقاوم و اگر نمره آلودگی بیشتر از ۳ دریافت کند حساس محسوب می‌گردد. برآورد تعداد فاکتورهای مؤثر(ژن‌ها) از روش کلی خصوصیات آماری توزیع و با استفاده از روش پیشنهادی لاند (Lande 1981) انجام شد. در این روش، فرمول اساسی به صورت زیر است:

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

n_E = حد اقل تعداد فاکتورهای ژنتیکی (ژن‌ها)

P1 و P2 = والد اول و والد دوم

μ = میانگین فنوتیپی

$\delta^2 s$ = واریانس تفکیک

واریانس تفکیک می‌تواند به وسیله فرمول‌های زیر برآورد شود:

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

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

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

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

برای محاسبه خطای استاندارد نیز از فرمول‌های زیر استفاده شد:

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

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

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

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

نتایج

تلاقی MS261 ×14442

واریانس و میانگین هریک از والدین ونتاج F1 و نسل‌های در حال تفکیک BC2, BC1, F2 برای صفت مقاومت به بیماری سفیدک سطحی محاسبه گردید (جدول ۲). تبدیل‌های لگاریتمی و جذری روی

داده‌ها انجام شد ولی واریانس خطا بعد از تبدیل داده‌ها کاهش پیدا نکرد و نشان داد که برآورد مربوطه از طریق داده‌های اصلی بهتر است. میانگین میزان آلودگی بر اساس الگوی وانگ و همکاران برای والد MS261 بیش از ۴ و برای والد 14442 کمتر از ۳ به دست آمد. نتایج نشان داد که در تلاقی 44442*MS261 نسل در حال تفکیک BC1 دارای بیشترین واریانس ازنظر بیماری سفیدک سطحی بود. هم چنین واریانس نسل‌های در حال تفکیک BC1, F2 و BC2 بیش از والدین وF1ها بود (جدول ۲).

جدول ۲ میانگین و واریانس والدین، F1 و نسل‌های در حال تفکیک در تلاقی 14442*MS261 برای صفت مقاومت به بیماری سفیدک سطحی

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 داده‌های به دست آمده از نسل‌های مختلف در تلاقی 14442*MS261، تعداد ژن‌های کنترل‌کننده بیماری سفیدک سطحی محاسبه گردید. از بین چهار روش به کار گرفته شده، روش اول کمترین میزان خطای استاندارد را داشته است. این روش تعداد ژن‌های کنترل‌کننده بیماری سفیدک سطحی را برابر ۰/۵۷، یعنی حدود یک ژن برآورد کرد(جدول ۳).

جدول ۳ برآورد واریانس تفکیک، تعداد فاکتورهای مؤثر (ژن‌ها) و واریانس خطای استاندارد

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

تلاقی 14442* MS261				
14442* MS261 Cross				
منابع	روش I	روشII	روش III	روش IV
Sources	Method I	Method II	Method III	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 آماری تعداد فاکتورهای مؤثر در این تلاقی با توجه به تعداد گیاهان بررسی شده در مزرعه و میانگین و واریانس صفت مقاومت به بیماری سفیدک سطحی، نشان داد که تعداد ژن‌های کنترل‌کننده مقاومت برای تلاقی 14442*MS261 یک ژن بوده است (جدول ۴). تجزیه ژنتیکی نسل‌های در حال تفکیک در ایالات متحده آمریکا نیز نشان داد که مقاومت به بیماری توسط یک ژن اصلی کنترل گردید و علائم این ژن به صورت pm برای آلل مقاوم استفاده شده است (Lewellen and Schrandt 2001).

جدول ٤ اندازه نمونه (N)، میانگین (μ) و واریانس داده‌ها (δ^2) برای بیماری سفیدک‌سطحی در نسل‌های F2 و تلاقی‌های برگشتی

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

	14442* MS261		
نسل‌ها (generations)	N	μ	δ^2
F1*P1=BC1	500	2.222	2.389
F1* P2=BC2	500	2.182	2.293
F1*F1=F2	600	2.945	2.452
			δ^2s = 0.771
			NE = 0.570
			Var (s) = 0.00003

با توجه به این که این صفت با یک ژن اصلی کنترل می‌شود، انتظار می‌رود که در نسل درحال تفکیک F2 نسبت‌های فنوتیپی به صورت ۱ :۳ باشد. داده‌ها نشان داد که تعداد گیاهان مشاهده شده در محدوده مقاومت به بیماری بین تقریباً ۳ (۲/۸۹) و ۴/۲۳ متغیر است.

با توجه به محدوده مشخص شده فوق، داده‌ها نشان داد که ۴۶۶ بوته از بوته‌های مشاهده شده دارای آلودگی کمتر از ۳ و تعداد ۱۳۴ بوته دارای آلودگی 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 کای اسکور در نسل F2، تلاقی 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 می‌دهد اختلاف معنی‌داری بین داده‌های مورد انتظار و مشاهده شده وجود ندارد. توزیع فراوانی فنوتیپی نسل F2 (شکل ۱) نیز نسبت ۱ : 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).

جدول ٦ مقادیر مشاهده شده و مورد انتظار کای اسکور در نسل BC2 در تلاقی 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	$Oi - e_i$	$(Oi - e_i)^2$	$(Oi - e_i)^2 / e_i$
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

تبدیل‌های لگاریتمی و جذری بر روی این داده‌ها انجام شد ولی واریانس خطا بعداز تبدیل داده‌ها کاهش نیافت و نشان داد که برآورد مربوطه از طریق داده‌های اصلی بهتر است. میانگین میزان آلودگی بر اساس الگوی وانگ و همکاران برای والد MS231 اندکی کمتر از ۴ و برای والد 14442 تقریباً برابر ۲ به دست آمد. نتایج نشان داد که در تلاقی *14442 MS231نسل در حال تفکیک BC1 دارای بیشترین واریانس از نظر بیماری سفیدک سطحی بود. هم‌چنین واریانس نسل‌های در حال تفکیکBC2, BC1, F2 بیش از والدین وF1ها بود(جدول ۷).

جدول ۷ میانگین و واریانس والدین، F1 و نسل‌های در حال تفکیک در تلاقی 14442*MS231 برای صفت مقاومت به بیماری سفیدک سطحی
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
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

نتـایج حاصـل از داده‌هـای بدسـت آمـده از نسـل‌هـای مختلـف نشـان داد در تلاقـی 14442*MS231 تعداد ژن‌های کنترل کننده بیماری سفیدک سطحی با اسـتفاده از روش دوم برابـر ۰/۴۹- یعنی حدود یک ژن - برآورد گردید. باتوجـه بـه روش انتخـاب شـده (براسـاس کمتـرین واریـانس خطـای اسـتاندارد) بـرآورد براسـاس روش دوم بهتـر از سـایر 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

14442× MS231 تلاقی (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

بـرآورد آماری تعداد فاکتورهـای مـؤثر در ایـن تلاقـی نشان داد که تعداد ژن‌های کنترل‌کننده مقاومت بـرای تلاقی 14442*MS231 یک ژن بوده اسـت (جـدول ۹).

جدول ۹ اندازه نمونه (N) ، میانگین (μ) و واریانس داده‌ها (δ^2) برای بیماری سفیدک سطحی در نسل‌های F2 و تلاقی‌های برگشتی

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
			δ^2s = 0.935
			NE = 0.49
			Var (s) = 0.045

با توجه به این که این صفت با یک ژن کنترل می‌شود، انتظار می‌رود که نسـل در حـال تفکیـک F2 نسبت‌های فنوتیپی به صورت ۱ :۳ باشد. داده‌ها نشـان داد که تعداد افراد مشاهده شـده محـدوده مقاومـت بـه

بیماری بین ۲ و ۳/۹۷ متغیر است. افرادی که در محدوده کمتر از حدود ۳ قرار گیرند مقاوم و افرادی که در محدوده بیش از ۳ قرار گیرند حساس هستند.

با توجه به محدوده مشخص شده فوق، داده‌ها نشان داد که ۴۹۴ بوته از بوته‌های مشاهده شده دارای آلودگی کمتر از ۳ و تعداد ۱۰۶ بوته دارای آلودگی بیش از ۳ بودند. آزمون χ^2 نشان داد که تعدا افراد به دست آمده در نسل F2 با نسبت ۱ : ۳ تطابق نداشت (جدول ۱۰).

جدول ۱۰ مقادیر مشاهده شده و مورد انتظار کای اسکور در نسل F2 در تلاقی MS231 *14442

Table 10 Number of observation and expected $\chi 2$ in F2 14442* MS261 crosses

نسبت‌ها Ratio	مشاهده شده O_i	مورد انتظار e_i	$Oi - e_i$	$(Oi - e_i)^2$	$(Oi - e_i)^2 / e_i$
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 داده‌های مورد انتظار و مشاهده شده اختلاف معنی‌دار وجود داشت. بنابراین، توزیع فراوانی فنوتیپی نسل F2 (شکل ۳) نسبت ۱ : ۳ را تأیید نکرد، زیرا والد MS231 نیمه‌مقاوم بود و نسبت به بیماری سفیدک سطحی مقداری مقاومت از خود نشان داد و تلاقی بین این ژنوتیپ با ژنوتیپ مقاوم 14442 باعث گردید تا افراد مقاوم به بیماری نسبت بیشتری از کل افراد را به خود اختصاص دهند و در نتیجه نسبت ۱ : ۳ که مورد انتظار بود به دست نیامد. در آزمایشی که در ایالات متحده انجام شد نیز وقتی که والد مقاوم با والدی که مقداری مقاومت نسبت به بیماری نشان داد، تلاقی داده شد برخلاف انتظار، نسبتی که تائید کننده مدل تک ژنی باشد بدست نیامد و نسبت گیاهان مقاوم بیشتر از گیاهان حساس بود و این مسئله به این دلیل بود که والد دوم، مقداری مقاومت به بیماری داشته است (Lewellen and Schrandt 2001).

اطلاعات حاصل از BC2 فرضیه تک ژنی را از نظر آماری 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 و حساس هستند(شکل ۵). مقدار χ^2 محاسبه شده برای BC2 برابر۳/۸۴ بود و از نظر آماری نیز این نتایج تأیید گردید(جدول ۱۱).

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	$Oi - e_i$	$(Oi - e_i)^2$	$(Oi - e_i)^2 / e_i$
1	324	300	24	576	1.92
1	276	300	-24	576	1.92
مجموع (Total)	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 فراوانی گیاهان مقاوم و حساس در تلاقی 14442*MS231کمتر با مدل ۱ : ۳ تطابق داشت. بررسی‌های انجام شده در آمریکا نیز نشان داد وقتی که تلاقی منبع مقاومت با یک منبع حساس (C37) انجام شد، توزیع فراوانی با مدل تک‌ژنی مطابقت داشت ولی وقتی که تلاقی منبع مقاومت با یک منبعی(C78) که مقداری مقاومت نسبت به بیماری داشت، انجام شده منحنی به سمت فراوانی گیاهان مقاوم چولگی پیدا کرد و تعداد گیاهان مقاوم ایجاد شده بیشتر شد و با مدل تک‌ژنی تطابق نداشت (Lewellen and Schrandt 2001).

بنابراین، علت ایجاد وضعیت فوق ناشی از مسائل مختلفی است که عبارتند از:

اول این که، والد مادری که به عنوان نرعقیم شناخته شده است ممکن است درصد اندکی دانه‌گرده تولید کرده و خودگشنی داشته که در مزرعه کنترل نشده باشد. دوم این که، چون والد مادری مقداری

مقاومت نسبت به بیماری داشته است، بنابراین سهم والد مادری در ایجاد گیاهان مقاوم اندکی بیشتر از والدهای مادری حساس بوده است و سوم این که، شرایط ایجاد آلودگی برای دو تلاقی مورد بررسی، ممکن است در مزرعه اندکی متفاوت بوده باشد زیرا نتایج به دست آمده نشان می‌دهد که در تلاقی MS261، میزان آلودگی برای والد مقاوم ۲/۸۹ و برای والد حساس ۴/۲۳ بوده است در حالی که در تلاقی MS231، میزان آلودگی برای والد مقاوم حدود ۲/۰۶۵ و برای والد حساس ۳/۹۷ بوده است و این مطلب بیانگر آن است که به طور کلی سطح آلودگی در تلاقی دوم اندکی پائین‌تر از تلاقی اول بود که شاید به دلیل شرایط آب و هوائی حاکم در مزرعه آزمایشی بوده است. نتایج به دست آمده در آمریکا نیز با نتایج فوق مطابقت دارد (Lewellen and Schrandt 2001).

میزان آلودگی در F1 در هر دو تلاقی به سمت حساسیت میل کرده است، زیرا نمره‌دهی در فامیل F1 براساس کل کرت بوده است، یعنی میزان شاخص آلودگی بین متوسط والدین و والد حساس قرار گرفته است .

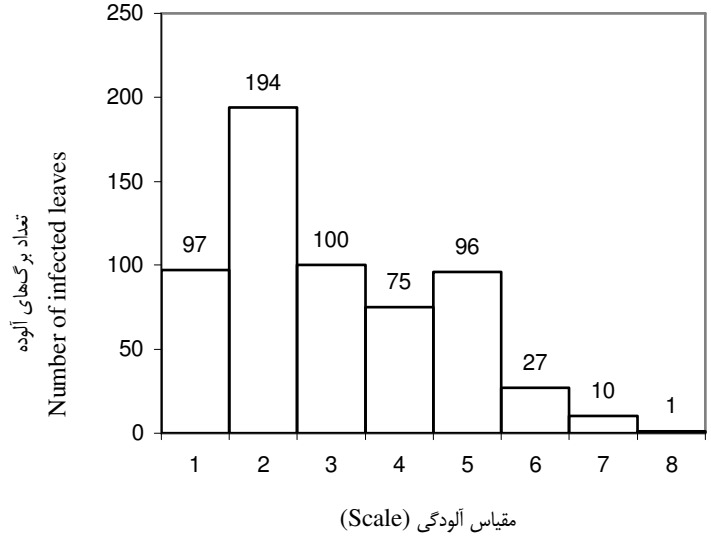
گونه وحشی خیلی مقاوم (Accession 242) با رقم زراعی وحساس C37 تلاقی داده شد و سه نسل بک‌کراس انجام شد تا صفات زراعی به هیبرید منتقل و صفت مقاومت در آن حفظ شود. هیبریدی که به این ترتیب حاصل شد تقریباً صفات زراعی مطلوب را با صفت مقاومت دارا است. این هیبرید با گونه وحشی و مقاوم فوق‌الذکر تلاقی داده شد و نسل F1 به دست آمد. وقتی که یادداشت‌برداری انجام شد و نمره آلودگی به کل کرت F1 داده شد، منحنی توزیع میزان آلودگی در آن به سمت حساسیت میل کرد (Lewellen and Schrandt 2001). در این آزمایش نیز، میزان آلودگی در F1 در هر دو تلاقی به سمت حساسیت میل کرده است زیرا نمره‌دهی در فامیل F1 براساس کل کرت بوده است، یعنی میزان شاخص آلودگی نسل اول یا F1 بین متوسط والدین و والد حساس قرار گرفته است. علت این مسئله آن است که ژنوتیپ مقاوم استفاده شده در این آزمایش فقط یک منبع مقاوم به بیماری نیست بلکه منبعی است که حاوی ژن مقاومت به بیماری بوده که صفات نسبتاً خوب زراعی را نیز داراست. در حالی که اگر یک گونه وحشی صرفاً مقاوم با یک رقم زراعی حساس تلاقی داده شود، انتظار بر این است که در نسل اول یا F1 همه گیاهان مقاوم باشند. تلاقی جفتی گونه وحشی 242 با رقم زراعی و حساس C37 باعث ایجاد گیاهان خیلی مقاوم در نسل اول یا F1 گردید (Whitney 1989). در پروژنی‌های (S1 وFS) مورد بررسی برای وضعیت ژنتیکی مقاومت به بیماری سفیدک سطحی نیز مشاهده گردید که توزیع فراوانی میزان آلودگی به سمت حساسیت چولگی پیدا کرد (Whitney et al. 1983).

بنابراین، نتایج این آزمایش نشان داد که نحوه توارث بیماری سفیدک سطحی چغندرقند به صورت

تک‌ژنی بوده و مقاومت به این بیماری با یک ژن اصلی غالب کنترل می‌شود. با توجه به تک‌ژنی بودن این صفت، گزینش برای ایجاد ارقام مقاوم مؤثر بوده و استفاده از روش اصلاحی تلاقی برگشتی، روشی مناسب جهت انتقال صفت مقاومت به بیماری سفیدک سطحی به ارقام پرمحصول چغندرقند محسوب می‌شود. وجود تفکیک متجاوز در نسل F2 نشان داد که می‌توان ژنوتیپ‌های مصون که دارای مقاومت بیشتری نسبت به والد مقاوم هستند در این نسل گزینش نمود.

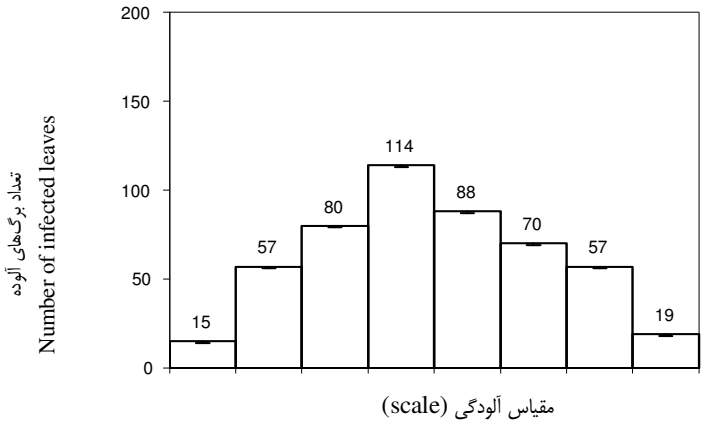
تشکر وقدر دانی

از آقای دکتر سعید پورداد به خاطر کمک در استفاده از روش آماری مناسب برای تجزیه نسل‌های در حال تفکیک، به منظور تعیین تعداد فاکتورهای مؤثر در کنترل ژنتیک مقاومت به بیماری سفیدک‌سطحی بسیار سپاسگزاری می‌گردد. از آقای دکتر مهیار شیخ‌الاسلامی به خاطر کمک در یادداشت‌برداری‌های مزرعه‌ای که کاری مشکل و طاقت‌فرسا است، قدردانی می‌گردد. از آقایان علی‌اصغر عزیزی و خلیل روشنی تکنسین‌های تلاشگر بخش تحقیقات چغندرقند که همواره در اجرای این آزمایش و یادداشت‌برداری‌های آن که کاری پرزحمت و خسته‌کننده بود، همکاری نمودند، تشکر و قدردانی می‌نمائیم.



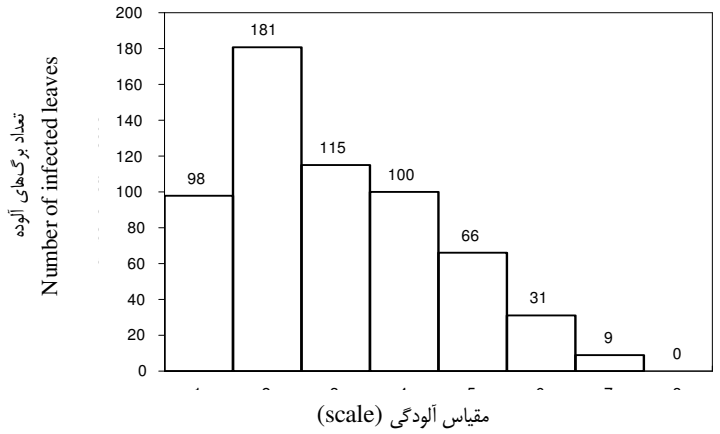
شکل ۱ توزیع فراوانی میزان آلودگی نسل دوم در میل استریل 261

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



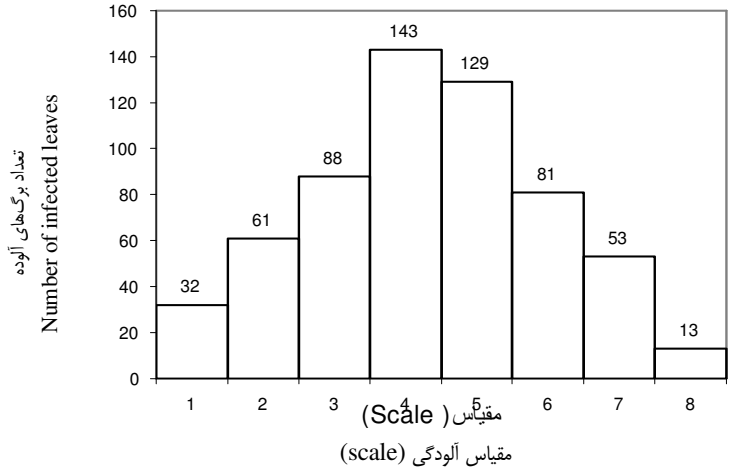
شکل ۲ توزیع فراوانی میزان آلودگی در تلاقی برگشتی میل استریل 261

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 ٤ توزیع میزان آلودگی در تلاقی برگشتی میل استریل 231

Fig. 4 Rate of infection frequency in BC2

منابع مورد استفاده: References:

احمدی‌نژاد، ا .۱۳۵۲ . مطالعاتی در مورد سفیدک‌سطحی چغندرقند. مجله بیماری‌های گیاهی. جلد ۹ شماره۲، ص ۲۵-۲۰ .

بساطی، ج. مصباح، م و شیخ‌الاسلامی، م .۱۳۷۹. تأثیر بیماری سفیدک‌سطحی بر کمیت و کیفیت محصول ژنوتیپ‌های مختلف چغندرقند در کرمانشاه. مجله چغندرقند، جلد ۱۶، شماره ۲.

شیخ‌الاسلامی، م و بساطی، ج.۱۳۷۷. بررسی مقدماتی منابع مقاومت در جنس بتا به منظور انتخاب توده‌های مقاوم به بیماری سفیدک‌سطحی چغندرقند (گزارش پژوهشی). مرکز تحقیقات کشاورزی کرمانشاه.

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

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

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