"مجله علوم زراعي ايران"
جلد ششم، شماره ۱، بهار ۱۳۸۳

مطالعه انحراف تفرق ژن‌هاي كنترل‌كننده رنگ محور زير لپه، رنگ ساقه گل‌دهنده، مقاومت به ريزومانيا و نشانگرهاي RAPD در تلاقي *B.v.* subsp.*vulgaris* × *B.v.* subsp. *maritima*

Study of segregation distortion in the genes controlling hypocotyl and flowering stem pigmentation, resistance to rhizomania and RAPD markers in *B.v.* subsp. *vulgaris* × *B.v.* subsp. *maritima* crosses

رضا اميری[۱]، محمود مصباح[۲]، محمد مقدم[۳]، سيد يعقوب صادقيان[٤] و محمد رضا قنادها[٥]

چكيده

در اين مطالعه چغندر وحشي WB42 (*Beta vulgaris* ssp. *maritima*) مقاوم به ريزومانيا با رنگ محور زير لپه و رنگ ساقه گل‌دهنده قرمز به صورت جفتي با رگه‌هاي نرعقيم چغندرقند حساس به‌ريزومانيا (*B. vulgaris*. subsp. *vulgaris*) كه داراي رنگ محور زير لپه و رنگ ساقه گل‌دهنده سبز بودند، تلاقي داده شده و جمعيت‌هاي F_1، F_2 و BC_1 تهيه گرديد. سپس، نسبت تفرق ژن‌هاي مربوط به رنگ محور زير لپه، رنگ ساقه گل‌دهنده و مقاومت به ريزومانيا همراه با نشانگرهاي RAPD در جمعيت‌هاي در حال تفكيك حاصله اندازه‌گيري شد. در كليه جمعيت‌هاي مطالعه شده هيچ گونه انحراف تفرق براي ژن‌هاي رنگ محور زير لپه، رنگ ساقه گل‌دهنده و مقاومت به ريزومانيا مشاهده نگرديد. در ضمن، مقدار انحراف تفرق نشانگرهاي RAPD در اين تلاقي اندكي كمتر از تلاقي B. v*ulgaris* × B. v*ulgaris* بود. در مجموع به نظر مي‌رسد كه زمينه ژنتيكي *maritima* تأثيري در افزايش ميزان انحراف تفرق در تلاقي‌هاي B. v*ulgaris* × B. m*aritima* نداشت.

واژه‌هاي كليدي: انحراف تفرق، *B.vulgaris*. ssp. *vulgaris* × *B. vulgaris*. subsp. *maritima*، مقاومت به‌ريزومانيا، نشانگرهاي RAPD.

مقدمه

زير گونه ماريتيما(*maritima*) از اهميت ويژه‌ای در اصلاح چغندرقند برخوردار می‌باشد. اين زير گونه حاوی نمونه‌های وحشی مختلفی با نام چغندر دريائی يا ساحلی(sea beet) می‌باشد كه به طور طبيعی از نواحی ساحلی اروپا تا روسيه و هند پراكنده می‌باشد(Van Dijken, 2001). اين زير گونه دارای تنوع ژنتيكی قابل ملاحظه‌ای بوده(Biancardi et al., 2002; Desplanque et al., 1999; Lewellen et al., 1987 وحامل ژن‌های سودمند زيادی برای مقاومت به ريزومانيا، مانند منبع WB42 (اميری و مصباح، ۱۳۸۱؛ Biancardi et al., 2002; Doney and Whitney, 1995; Lewellen et al., 1987)، پوسيدگی ريشه اروينيائی (Erwinia root rot)، مگس ريشه چغندرقند

تاريخ دريافت: ۱۳۸۲/۲/۱٤
تاريخ پذيرش: ۱۳۸۳/۲/۱۰

۱ـ عضو هيأت علمی،مؤسسه تحقيقات چغندرقند ـ كرج
۲ و ٤ـ دانشياران پژوهش، مؤسسه تحقيقات اصلاح و تهيه بذر چغندرقند
۳ـ استاد دانشگاه تبريز
٥ـ دانشيار دانشگاه تهران

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-02-06]
[DOR: 20.1001.1.15625540.1383.6.1.3.8]

(root maggot) ، بیماری لکه برگی (Doney and Whitney, 1990) ، سفیدک سطحی (Whitney, 1989) و تحمل به قارچ *P. betae* (امیری و مصباح، ۱۳۸۱) می‌باشد. با توجه به سهولت تلاقی این زیر گونه با زیر گونه ولگاریس(*vulgaris*) ، به راحتی می‌توان از آن در اصلاح چغندرقند استفاده نمود (امیری و مصباح، ۱۳۸۱).

استفاده از تلاقی گیاهان مقاوم و حساس به یک بیماری، روش معمول مطالعه نحوه توارث ژنتیک مقاومت و تعیین تعداد ژن‌های مقاوم به بیماری می‌باشد. شولتن و همکاران (Scholten et al., 1996) نمونه مقاوم WB42 را با چغندر باغی (red table beet) تلاقی داده و جمعیت‌های F_2 و BC_1 را تهیه نمودند. ارزیابی بوته‌های جمعیت‌های در حال تفکیک با استفاده از آزمون گلخانه‌ای و اندازه‌گیری غلظت ویروس در ریشه‌چه گیاهچه‌ها با روش الایزا(ELISA)، امکان تعیین تعداد ژن‌های مقاوم به ریزومانیا را در منبع WB42 فراهم ننمود. به طوری که فرض وجود یک یا دو ژن غالب و فرض پیوستگی بین دو ژن غالب برای مقاومت به ریزومانیا در منبع WB42 رد شد. دو فرض دیگر، یعنی کنترل مقاومت به ریزومانیا با دو ژن مکمل یا انحراف تفرق (Segregation distortion) یک یا تعداد بیشتری ژن بزرگ- اثر با نتایج مشاهده شده سازگار بود. شولتن و همکاران (Scholten et al., 1996) اظهار داشتند که توارث مقاومت به ویروس‌ها بر اساس فرض اوّل (دو ژن مکمل) به ندرت گزارش شده است. بنابر این به نظر می‌رسد که فرضیه پیشنهادی دوّم (انحراف تفرق یک یا تعداد بیشتری ژن بزرگ- اثر) برای مقاومت به ریزومانیا در منبع WB42 موجه‌تر باشد(Scholten et al., 1996) . از طرف دیگر، شولتن و همکاران (Scholten et al., 1999) در تلاقی WB42 با Holly (منبع دیگر مقاوم به ریزومانیا و از زیر گونه ولگاریس) انحراف تفرق مشاهده ننمودند، در این مطالعه نیز امکان تعیین تعداد ژن‌های مقاوم به ریزومانیا در منبع WB42 میسر نشد. به طوری که، نسبت‌های مشاهده شده در برخی از جمعیت‌های F_2 و BC_1 حاصل از تلاقی این دو والد مقاوم، با یک ژن غالب در WB42 مطابقت نداشت، در حالی که در برخی از گیاهان F_1 وجود ژن غالب دوّم برای WB42 نیز قابل رد کردن نبود. از طرف دیگر، در سایر گیاهان F_1 وجود ژن غالب دوّم برای WB42 نه قابل رد کردن بود و نه قابل تأئید. شولتن و همکاران (Scholten et al., 1999) علت عدم مشاهده انحراف تفرق را در تلاقی‌های بین WB42 و Holly، احتمال شباهت اجدادی این دو والد دانستند. با این وجود، در مطالعه نشانگرهای ایزوزایم یا مورفولوژیک نیز که با استفاده از تلاقی بین واریته‌های مختلف چغندرقند انجام گرفت، انحراف تفرق گزارش‌شده است (Wagner et al., 1992; Wagner and Wricke, 1991) .

موضوع انحراف تفرق در تهیه نقشه‌های پیوستگی و شناسائی نشانگرهای پیوسته با ژن‌ها از اهمیت خاصی برخوردار است(Hackatt and Broadfoot, 2003) و دارای کاربردهای عملی زیادی می‌باشد (Subudhi and Huang, 2002). با توجه به این که تهیه نقشه‌های پیوستگی بر اساس آزمون نسبت‌های مورد انتظار مندلی صورت می‌گیرد و پیوستگی فیزیکی بین دو مکان ژنی و نیز انحراف تفرق در هر یک از مکان‌های ژنی از عوامل انحراف از نسبت‌های مندلی می‌باشد، این مسئله باید از پیوستگی فیزیکی ژن‌ها متمایز گردد(Hackatt and Broadfoot, 2003). در صورتی که انحراف تفرق از علت ژنتیکی بر خوردار باشد، فراوانی سایر ژن‌های نزدیک به محل ژنی که در آن انحراف تفرق مشاهده شده است، نیز تحت تأثیر قرار گرفته و این موضوع فراوانی نوترکیبی را در تلاقی خاص مورد نظر تغییر خواهد داد(Subudhi and Huang, 2002). با وجود این، تاکنون در تهیه نقشه‌های پیوستگی به این موضوع توجه کمی شده است(Hackatt and Broadfoot, 2003). در برخی

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-02-06]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1383.6.1.3.8]

جمعیت‌های دابل هاپلوئید جو انحراف تفرق مشاهده شده است که ژن‌های مؤثر بر زنده ماندن ریز نمونه‌ها در کشت بساک یا میکروسپور به عنوان عامل انحراف پیشنهاد شده است (Manninen, 2000; Zivy et al., 1992). در مطالعه یوفوف و رایک(Uphoff and Wricke, 1995) برای تهیه نقشه پیوستگی چغندرقند، در حدود ۲۳ درصد از نشانگرهای RAPD مورد شناسائی، انحراف تفرق نشان دادند. اکثر این نشانگرها در انتهای گروه‌های پیوستگی قرار داشتند. در مطالعه پیلن و همکاران(Pillen et al., 1992) با استفاده از نشانگرهای RFLP، میزان انحراف تفرق در حدود ۱۵/٤ درصد بود. آن‌ها استدلال نمودند که این موضوع احتمالا در اثر وجود مکان‌های ژنی کشنده پیوسته با این نشانگرها و لذا انتخاب گامتی می‌باشد. در مطالعه پیلن و همکاران (Pillen et al., 1993) نشانگرهای RFLP برخوردار از انحراف تفرق بر روی گروه‌های پیوستگی ۱، ۵، ٦ و ۸ قرار داشتند که بر روی هر یک از این گروه‌ها حداقل یک ژن کشنده شناسائی گردید.

هدف این پژوهش، بررسی انحراف تفرق در تلاقی چغندر وحشیWB42 (از زیرگونه ماریتیما و مقاوم به ریزومانیا) با رگه‌های چغندرقند حساس به ریزومانیا (از زیر گونه ولگاریس) با استفاده از مکان‌های ژنی کنترل‌کننده رنگ محور زیر لپه، رنگ ساقه گلدهنده، مقاومت به ریزومانیا و نشانگرهای RAPD بود. با توجه به روشن نبودن تعداد ژن‌های مقاوم به ریزومانیا در منبع WB42، این مطالعه با هدف بررسی دقیق نحوه تفکیک گیاهان مقاوم و حساس در جمعیت‌های در حال تفکیک حاصل از تلاقی ماریتیما× ولگاریس و میزان انحراف تفرق در این جمعیت‌ها انجام گرفت. ضمن این که از دو مکان ژنی رنگ محور زیر لپه و رنگ ساقه گلدهنده همراه با نشانگرهای RAPD برای تفسیر بهتر نتایج حاصل استفاده گردید. به عبارت دیگر، مطالعه حاضر نشان می‌دهد که آیا زمینه ژنتیکی ماریتیما تأثیری فوق‌العاده در میزان انحراف تفرق در تلاقی‌های ماریتیما× ولگاریس دارد یا خیر؟

مواد و روش‌ها

مواد گیاهي و تلاقي‌ها

در این مطالعه از چغندر وحشی WB42 (*B.v.* subsp. *maritima*) و با محور زیر لپه و ساقه گلدهنده قرمز استفاده گردید. ابتدا در سال اول والدWB42 به صورت جفتی و در زیر پوشش(cage) با رگه‌های نر عقیم چغندرقند (رگه ۲٦۱) و چغندر یک ساله تلاقی داده شد. رنگ محور زیر لپه و ساقه گلدهنده رگه‌های ۲٦۱ و چغندر یک ساله سبز بود. در سال دوم، گیاهان F_1 مقاوم برای تولید جمعیت‌های F_2 در بلوک‌های ایزوله خود گشن شدند. هم‌چنین، برای تهیه جمعیت‌های BC_1، گیاهان F_1 مقاوم با گیاهان نر عقیم رگه ۲٦۱ و چغندر یک ساله (با محور زیر لپه و ساقه گلدهنده سبز) تلاقی داده شدند.

ارزيابي رنگ محور زير لپه و رنگ ساقه گلدهنده

بذور F_1 و جمعیت‌های در حال تفکیک در گلخانه و در ماسه استریل کشت گردیده و در مرحله چهار تا شش برگی رنگ محور زیر لپه گیاهان بررسی شد. برای ارزیابی رنگ ساقه گلدهنده، فقط گیاهان جمعیت‌های حاصل از تلاقی WB42 با والد یک ساله (به علت یک ساله بودن و عدم نیاز به سرمادهی) به مزرعه منتقل و پس از ساقه‌دهی گیاهان رنگ ساقه گلدهنده تک بوته‌ها ارزیابی شد.

ارزيابي جمعيت‌ها در گلخانه براي مقاومت به ريزومانيا

آزمون گلخانه‌ای مشابه روش پائل و همکاران (Paul et al., 1992) بود، ولی نسبت خاک آلوده به ماسه استریل ۷:۳ در نظر گرفته شد. کلیه گلدان‌ها هفته‌ای دو بار با محلول غذائی ۰/۲ رقت هاگلند و آرنون (Haogland and Arnon, 1950) آبیاری شدند و دمای گلخانه در بین ۱۷ (شب) و ۲۵ درجه سانتیگراد (روز) تنظیم گردید. پس از طی شدن دوره آزمون، از ریشه‌چه گیاهان برای آزمون الایزا(ELISA) استفاده گردید. با

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-02-06]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1383.6.1.3.8]

روش معمول DAS-ELISA مطابق کلارک و آدامز (Clark and Adams, 1977)، غلظت ویروس در ریشه‌چه گیاهان اندازه‌گیری شد. آنتی سرم و کنترل مثبت مربوط به شرکت بیوربا (Bioreba, AG, Switzerland) بود. کلیه نمونه‌ها با دو تکرار (یا بیشتر) تجزیه شدند. واکنش آنزیمی با Labsystems, Multiskan EX 355 در ۴۰۵ nm خوانده شد. آستانه معادل دو برابر میانگین جذب نمونه‌های سالم در هر پلیت ($\bar{x}_H$ ۲) در نظر گرفته شد.

نشانگر RAPD

استخراج DNA به روش واندر بیک و همکاران (Van der Beek et al., 1992) انجام شد. سپس نمونه‌های DNA ی والد WB42 و رگه ۲۶۱ با استفاده از ۲۸۲ آغازگر تصادفی ۱۰ نوکلئوتیدی (۱۸۲ آغازگر از کیت شرکت Advanced Biotechnology انگلستان و ۱۰۰ آغازگر از کیت UBC آمریکا) ارزیابی شدند. از آغازگرهایی که بین والدین چند شکلی نشان دادند، برای تعیین فنوتیپ نشانگر در تک بوته‌های جمعیت F_2 حاصل از تلاقی WB42 با ۲۶۱ استفاده گردید. واکنش PCR به شرح زیر بود:

اجزاء واکنش	غلظت نهائی
$MgCl_2$	۱/۵ mM
DNTPs	۰/۲ mM
Reaction Buffer ۱۰X	۱ X
Taq. Polymerase	۱ Unit
Primer	۷/۵ pmol
DNA	۵۰ ng
$d.d.H_2O$	–
جمع واکنش	۲۵ µl

که آنزیم *Taq*. Polymerase و dNTPs از شرکت سیناژن خریداری شده و $MgCl_2$ و بافر واکنش با استفاده از مواد MERCK در آزمایشگاه تهیه گردید. هم‌چنین، ترکیب بافر واکنش PCR شامل:

750 mM Tris-HCl (pH 8.8 at 25°C), 200 mM $(NH_4)_2SO_4$, 0.1% Tween-20 بود. واکنش PCR در دستگاه Biometra T3 و با برنامه زیر انجام شد: یک سیکل ۵ دقیقه در ۹۴°C، ۴۰ سیکل شامل ۴۵ ثانیه در ۹۴°C، ۴۵ ثانیه در ۳۴/۵°C و ۸۰ ثانیه در ۷۲ °C و یک مرحله گسترش نهایی (۱۰ دقیقه در ۷۲°C). محصول واکنش PCR به مقدار شش میکرولیتر از هر نمونه در هر چاهک بر روی ژل آگار یک درصد و تحت شرایط ۲/۵ v/cm جداسازی گردید. بافر ×۶ بارگیری(loading) شامل ۰/۲۵ درصد برموفنل بلو و ۴۰ درصد (W/V) ساکارز بود. ژل الکتروفورز به مدت ۱۰ دقیقه در محلول ۱ µg/ml اتیدیوم بروماید رنگ‌آمیزی و به مدت ۵ دقیقه در آب مقطر رنگ‌زدائی گردید.

تجزیه آماري

مقایسه نسبت‌های مشاهده شده و مورد انتظار در جمعیت‌های در حال تفکیک با استفاده از آزمون کای اسکور تصحیح شده یتز (Yates) با یک درجه آزادی انجام شد(Steel and Torrie, 1980).

نتایج و بحث

ژن‌هاي رنگ محور زیر لپه و رنگ ساقه گلدهنده

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-02-06]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1383.6.1.3.8]

در تمامی گیاهان F_1 حاصل از تلاقی WB42 با رگه ۲۶۱ و چغندر یک ساله رنگ محور زیر لپه قرمز بود. بنابراین، غالب بودن رنگ قرمز محور زیر لپه تأئید شد (Barzen et al., 1992; Wolyn and Gabelman, 1989). همین نتیجه در مورد رنگ ساقه گلدهنده گیاهان F_1 نیز مشاهده گردید. لذا، نتیجه‌گیری شد که رنگ ساقه گلدهنده نیز به صورت غالب کنترل می‌شود. نحوه تفکیک رنگ محور زیر لپه و رنگ ساقه گلدهنده در جمعیت‌های F_2 و BC_1 در جدول ۱ ارائه شده است. همان طوری که ملاحظه می‌گردد در کلیه جمعیت‌های F_2 و BC_1 برای هر دو مکان ژنی مورد نظر، نسبت‌های مشاهده شده به ترتیب با نسبت‌های ۳:۱ و ۱:۱ مطابقت دارد، زیرا آماره کای اسکور تصحیح شده برای هیچ یک از جمعیت‌ها معنی‌دار نبود($P\leq0.05$). بنابراین، در تفکیک این دو مکان ژنی در تلاقی ماریتیما× ولگاریس انحرافی مشاهده نگردید. اگرچه محل کروموزومی ژن رنگ ساقه گلدهنده مشخص نمی‌باشد، اما ژن رنگ محور زیر لپه بر روی کروموزوم شماره ۲ چغندرقند گزارش شده است(Francis and Asher, 2000; Schondelmaier and Jung,1997; Barzen et al., 1995). با توجه به این که، تاکنون یک ژن کشنده نیز بر روی کروموزوم ۲ چغندرقند گزارش شده (Francis and Asher, 2000; Schondelmaier and Jung, 1997)، نتیجه حاضر حداقل بیانگر فاصله قابل توجه این ژن با مکان ژنی رنگ محور زیر لپه می‌باشد. زیرا، انتخاب گامتی و لذا تغییر شایستگی زیگوت‌ها برای مکان ژنی رنگ محور زیر لپه مشاهده نشده و این موضوع منجر به تفکیک مندلی این صفت در جمعیت‌های در حال تفکیک حاصل شده است. علاوه بر این، زمینه ژنتیکی زیر گونه ماریتیما تأثیر خاصی بر روی نحوه تفکیک این دو مکان ژنی در تلاقی ماریتیما× ولگاریس ندارد.

ژن یا ژن های مقاوم به ریزومانیا

نتایج ارزیابی مقاومت به ریزومانیا در جمعیت‌های F_1، F_2 و BC_1 در جدول ۲ ارایه شده است. همان طوری که مشاهده می‌شود در دو جمعیت F_1 (F_1-۷۱-۸۵ و ۷۲-F_1-A۲)، گیاهان حساس به ریزومانیا نیز وجود دارند. از آن جائی که تلاقی‌ها به صورت جفتی انجام شده بود، امکان تعیین ژنوتیپ والدین گرده‌دهنده (WB42) وجود داشت. با توجه به معنی‌دار نبودن آماره کای اسکور تصحیح شده برای نسبت ۱:۱ در این دو جمعیت (جدول ۲) نتیجه‌گیری گردید که ژنوتیپ بوته‌های ۷۱ و ۷۲ (به ترتیب والدین پدری برای تهیه جمعیت‌های F_1-۷۱-۸۵ و F_1-A۲-۷۲) به صورت هتروزیگوت بوده است. به همین ترتیب ژنوتیپ بوته‌های ۷۶، ۸۰، ۱۱۱ و ۱۱۲ (به ترتیب والدین پدری برای تهیه جمعیت‌های F_1-۷۶-۹۳، F_1-۸۰-۹۹، F_1-A۱-۱۱۱ و F_1-A۲-۱۱۲) به صورت هموزیگوت غالب تعیین گردید. زیرا، کلیه گیاهان F_1 حاصل از تلاقی این بوته‌ها با بوته‌های والدین حساس، مقاوم به ریزومانیا بودند (جدول ۲). از طرف دیگر، نسبت‌های مشاهده شده در جمعیت‌های F_2 و BC_1 با فرض وجود یک ژن غالب مطابقت داشته و آماره کای اسکور تصحیح شده معنی‌دار نبود (جدول ۲). بنابر این، هیچ گونه انحراف تفرق برای مقاومت به ریزومانیا مشاهده نگردید. لولن و بیانکاردی (Lewellen and Biancardi, 1990) اظهار داشتند که در شرایط گلخانه‌ای از توسعه نرمال ریشه ممانعت به عمل آمده و لذا احتمال بروز تغییرات در دینامیک آلودگی وجود دارد.علاوه بر این، مقاومت به ریزومانیا ممکن است تحت تأثیر ژن‌های کوچک اثر یا تغییرات محیطی قرار گیرد (Scholten et al., 1997; Lewellen and Biancardi, 1990). بنابراین، تعداد نمونه آزمون شده در هر جمعیت برای حصول نتایج دقیق از اهمیت خاصی برخوردار می‌باشد. در مطالعه حاضر به طور متوسط ۱۳۲ گیاه برای بررسی نسبت‌های مشاهده شده در جمعیت‌های در حال تفکیک ارزیابی گردید. در

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-02-06]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1383.6.1.3.8]

حالی که، در مطالعه شولتن و همکاران (Scholten et al., 1996) به طور متوسط فقط ٦٠ گیاه برای این موضوع انتخاب شده بود. جالب توجه است که در مطالعه حاضر نیز در جمعیتی که تعداد بوته کمتری مورد مطالعه قرار گرفت (جمعیت ۷۱-۸۵-BC_1)، مقدار آماره کای اسکور تصحیح شده بالاتر از سایر جمعیت‌ها بود. در مطالعه وگنر و رایک(Wagner and Wricke, 1991) و وگنر و همکاران (Wagner et al., 1992) نیز تعداد گیاهان مطالعه شده کم بود (به ترتیب ۵۰ و بین ۵۰ و ۱۰۰ گیاه). از طرف دیگر، احتمال دارد که در مطالعهٔ شولتن و همکاران (Scholten et al., 1996) مقاومت به ریزومانیا تحت تأثیر زمینه ژنتیکی چغندر باغی قرار گرفته باشد. افزون بر این، دخالت ژن‌های کشنده در این موضوع نیز منتفی به نظر می‌رسد. زیرا ژن مقاوم به ریزومانیا در منبع WB42 بر روی کروموزوم شماره ۳ چغندرقند قرار دارد (Francis and Asher, 2000; Francis, 1999) و تا کنون هیچ ژن کشنده‌ای بر روی این کروموزوم گزارش نشده است (Francis and Asher, 2000; Schondelmaier and Jung, 1997).

نشانگرهای RAPD

نحوه تفکیک ٢٤ نشانگر RAPD در جمعیت F_2 حاصل از تلاقی WB42 با رگه ٢٦١در جدول ۳ ارایه شده است. همان طوری که مشاهده می‌شود ۵ نشانگر (حدود ۲۱ درصد) از تفکیک مندلی انحراف نشان می‌دهند ($P\leq0.01$). این نتیجه اندکی کمتر از گزارش یوفوف و ریک(Uphoff and Wricke, 1995) می‌باشد که میزان انحراف تفرق نشانگرهای RAPD را درتلاقی‌های ولگاریس× ولگاریس در حدود ۲۳ درصد گزارش کردند. بنابراین می‌توان نتیجه‌گیری نمود که انحراف تفرق مشاهده شده برای نشانگرهای RAPD به طور طبیعی در ژنوم چغندر وجود داشته و زمینه ژنتیکی ماریتیما نقشی در افزایش غیرمعمول آن ندارد. این موضوع احتمالاً ناشی از حذف انتخابی گامت‌های نر در نتیجه عقیمی دانه‌های گرده یا خود ناسازگاری (Subudhi and Huang, 2002; Wagner et al., 1992)، حذف انتخابی گامت‌های ماده(Subudhi and Huang, 2002) و یا در نتیجه تفاوت‌های شایستگی بین زیگوت‌ها می‌باشد(Wagner et al., 1992). باید توجه کرد که در ژنوم چغندرقند چند ژن کشنده به ویژه بر روی کروموزوم‌های۱، ۲ و ۵ (Francis and Asher, 2000; Schondelmaier and Jung, 1997) یا گروه‌های پیوستگی ۱، ۵، ٦ و ۸ (Pillen et al., 1993) گزارش شده است و در ضمن مکان کروموزومی نشانگرهای RAPD نامشخص می‌باشد(Virk et al., 2000). از طرف دیگر، از آن جائی که مطالعه حاضر مقدمه مطالعه بعدی جهت تعیین نقشه نشانگرهای RAPD و شناسائی نشانگر(های) پیوسته با ژن مقاومت به ریزومانیا در منبع WB42 می‌باشد؛ بنابراین، برای افزایش دقت و واقعی بودن برآورد پیوستگی بین نشانگرها (Hackatt and Broadfoot, 2003; Subudhi and Huang, 2002)، بهتر است ۵ نشانگر دارای انحراف از تفکیک مندلی از تجزیه‌های بعدی حذف شوند. از بین این ۵ نشانگر، یک‌نشانگر (AB۲-۱٦-۵۷۰) در والد ٢٦١ (حساس) وجود داشت ولی در والد WB42 (مقاوم) مشاهده نگردید. بر این اساس، روشن است که در جمعیت F_2، گیاهان حساس فاقد نشانگر به عنوان گیاهان نوترکیب به حساب می‌آیند. با بررسی گیاهان واجد یا فاقد این نشانگر در جمعیت F_2 مشخص گردید که ١٤ گیاه فاقد آن حساس به ریزومانیا می‌باشند. بنابراین، حداقل حدود۲۳ درصد از افراد (۰/۲۲٦ =١٤:٦٢)، برای این نشانگر نوترکیب بودند. با در نظر گرفتن فراوانی نوترکیبی روی کروموزوم همولوگ (حامل ژن مقاومت به ریزومانیا) فراوانی افراد نوترکیب معادل ٤٦ درصد (۲×۲۳) به دست آمد. ضمن این که باید توجه داشت که تعداد گیاهان ارزیابی شده برای این

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-02-06]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1383.6.1.3.8]

نشانگر کم بودند و با افزایش تعداد گیاهان امکان افزایش فراوانی افراد نوترکیب وجود داشت. لذا، نتیجه‌گیری شد که این نشانگر یا روی کروموزوم دیگری غیر از کروموزوم شماره ۳ (محل ژن مقاومت به ریزومانیا) قرار دارد و یا حداقل ۵۰ سانتی مورگان از محل ژن فاصله دارد. ٤ نشانگر دیگر همگی در والد مقاوم به ریزو مانیا وجود داشتند ولی در والد حساس

جدول ۱- نسبت‌های مورد انتظار و مشاهده شده در جمعیت‌های در حال تفکیک WB42 برای صفات رنگ محور زیر لپه و رنگ ساقه گلدهنده

Table 1. Expected and observed ratios in segregating populations of WB42 for hypocotyl and flowering stem pigmentation

جمعیت‌ها Populations	شماره تلاقی Cross number	تعداد No.	نسبت‌های مورد انتظار Expected ratios	نسبت‌های مشاهده شده Observed ratios	کای اسکور تصحیح شده $\chi^2_{Adjusted}$
			رنگ محور زیر لپه Hypocotyl pigmentation		
F_2 (261×WB42)	F_2-93-76	382	3:1	0.738:0.262	0.223^{ns}
BC_1 (261×WB42)	BC_1-93-76	239	1:1	0.519:0.481	0.268^{ns}
F_2 (Annual×WB42)	F_2-A2-111	117	3:1	0.684:0.316	2.396^{ns}
BC_1 (Annual×WB42)	BC_1-A2-111	168	1:1	0.464:0.536	0.720^{ns}
			رنگ ساقه گلدهنده Flowering stem pigmentation		
F_2 (Annual×WB42)	F_2-A2-111	71	3:1	0.648:0.352	3.423^{ns}
BC_1 (Annual×WB42)	BC_1-A2-111	189	1:1	0.487:0.513	0.085^{ns}

ns: Non significant

ns : غیرمعنی‌دار

جدول ۲- نسبت های مورد انتظار و مشاهده شده در جمعیت‌های WB42 برای مقاومت به ریزومانیا

Table 1. Expected and observed ratios in families of WB42 for resistance to rhizomania

جمعیت‌ها Populations	شماره تلاقی Cross number	تعداد No.	نسبت‌های مورد انتظار Expected ratios	نسبت‌های مشاهده شده Observed ratios	کای اسکور تصحیح شده $\chi^2_{Adjusted}$
F_1(261×WB42)	F_1-85-71	43	1:1	0.512:0.488	0.000^{ns}
F_1(261×WB42)	F_1-93-76	31	1:0	1:0	0.000^{ns}
F_1(261×WB42)	F_1-99-80	26	1:0	1:0	0.000^{ns}
F_1(Annual×WB42)	F_1-A2-72	12	1:1	0.583:0.417	0.083^{ns}
F_1(Annual×WB42)	F_1-A1-111	22	1:0	1:0	0.000^{ns}
F_1(Annual×WB42)	F_1-A2-112	17	1:0	1:0	0.000^{ns}
F_2(261×WB42)	F_2-93-76	170	3:1	0.694:0.306	2.541^{ns}
BC_1(261×WB42)	BC_1-93-76	140	1:1	0.464:0.536	0.579^{ns}
BC_1(261×WB42)	BC_1-85-71	59	1:1	0.627:0.373	3.322^{ns}
F_2(Annual×WB42)	F_2-A2-111	167	3:1	0.725:0.275	0.449^{ns}

ns: Non significant

ns : غیرمعنی‌دار

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-02-06]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1383.6.1.3.8]

مشاهده نشدند. بنابراین، برای این ٤ نشانگر، گیاهان حساس دارای نشانگر و گیاهان مقاوم فاقد آن، گیاهان نوترکیب بودند. با بررسی جمعیت F_2 برای نشانگرهای AB٣-٣-٥٨٠، AB٩-٣-١١٤٠، AB٦-٧-١٠٠٠ و AB٩-١٨-٤٠٠ به ترتیب درصد نوترکیبی در حدود ٣٩، ٤١، ٤٨ و ٤٤ درصد برآورد گردید. بنابراین، همان

جدول ٣- نسبت‌های مورد انتظار و مشاهده شده برای نشانگرهای RAPD در جمعیت F_2 (WB42 × ٢٦١)

Table 1. Expected and observed ratios of RAPD markers in F_2 population (261×WB42)

نشانگر Marker	تعداد بوته No.	نسبت های مورد انتظار Expected ratios	نسبت های مشاهده شده Observed ratios	کای اسکور تصحیح شده $\chi^2_{Adjusted}$
AM2-1800	140	3:1	0.764:0.236	0.086^{ns}
AM2-1650	140	3:1	0.686:0.314	2.752^{ns}
AM2-950	140	3:1	0.821:0.179	3.438^{ns}
AM2-380	140	3:1	0.693:0.307	2.143^{ns}
AB3-3-710	112	3:1	0.732:0.268	0.107^{ns}
AB3-3-580	112	3:1	0.545:0.455	24.107^{**}
AB9-3-800	101	3:1	0.733:0.267	0.083^{ns}
AB9-3-560	101	3:1	0.762:0.238	0.030^{ns}
AB9-3-1140	101	3:1	0.604:0.396	10.723^{**}
AB6-7-570	86	3:1	0.733:0.267	0.062^{ns}
AB6-7-1000	86	3:1	0.500:0.500	27.349^{**}
AB1-4-680	87	3:1	0.747:0.253	0.000^{ns}
AB1-4-710	87	3:1	0.632:0.368	5.828^{*}
AB1-4-1250	87	3:1	0.713:0.287	0.000^{ns}
UBC238-450	86	3:1	0.791:0.209	0.558^{ns}
UBC238-850	86	3:1	0.686:0.314	1.550^{ns}
AB9-18-2300	50	3:1	0.700:0.300	0.427^{ns}
AB9-18-400	50	3:1	0.460:0.540	22.752^{**}
AB9-18-550	33	3:1	0.848:0.152	1.222^{ns}
AB2-16-350	44	3:1	0.750:0.250	0.000^{ns}
AB2-16-570	62	3:1	0.581:0.419	8.602^{**}
AB2-16-1300	62	3:1	0.677:0.323	1.376^{ns}
AB5-9-840	33	3:1	0.727:0.273	0.010^{ns}
AB5-9-1540	33	3:1	0.636:0.364	1.707^{ns}

ns، * و **: به ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ٥ و ١ درصد.

ns, * and ** : Non significant and significnat at the 0.05 and 0.01 probability levels, respectively.

نتیجه‌گیری قبلی تقریباً در مورد این ٤ نشانگر نیز صادق بود.

به طوری که مشاهده شد در مورد ژن‌های رنگ محور زیر لپه، رنگ ساقه گلدهنده و مقاومت به ریزومانیا هیچ گونه انحرافی در تفکیک مندلی در تلاقی‌های ماریتیما× ولگاریس مشاهده نشده و میزان انحراف تفرق مشاهده شده برای نشانگرهای RAPD حتی اندکی کمتر از تلاقی‌های ولگاریس× ولگاریس بود. بنابراین، بر اساس نتایج به دست آمده به نظر می‌رسد که زمینه ژنتیکی ماریتیما در افزایش انحراف تفرق در تلاقی‌های ماریتیما× ولگاریس در مقایسه با تلاقی‌های ولگاریس× ولگاریس تأثیری ندارد.

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-02-06]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1383.6.1.3.8]

تشکر و قدرداني

بدین وسیله از آقایان دکتر ذبیح اله رنجی و مهندس مرتضی توده فلاح به خاطر در اختیار قرار دادن امکانات لازم برای انجام تلاقی‌ها، ارزیابی گلخانه‌ای و آزمون الایزا، آقایان مهندس سعید واحدی، رستم علیزاده و منوچهر کوهستانی به خاطر همکاری در انجام تلاقی‌ها و بوجاری بذور، خانم‌ها مهندس نسرین یاوری و مهرانگیز بیگدلی و آقایان بنی صدر و میر سلیمی به خاطر همکاری در آزمون گلخانه‌ای و آقایان مهندس دارابی و مهندس اشرف منصوری به خاطر کمک در یادداشت برداری صفت رنگ ساقه گلدهنده قدردانی می‌گردد.

منابع مورد استفاده References

امیری، ر. و م. مصباح. ۱۳۸۱. پیشرفت‌های ژنتیکی در زمینه اصلاح چغندرقند برای مقاومت به ریزومانیا در ایران. مجموعه مقالات بیست و چهارمین دوره سمینارهای کارخانه‌های قند و شکر ایران. مشهد، مرکز بررسی و تحقیق و آموزش صنایع قند ایران، صفحات ۲۸۳-۲۷۲.

Barzen, E., W. Meckelke, E. Ritter, J. F. Seitzer & F. Salamini. 1992. RFLP markers for sugar beet breeding: chromosomal linkage maps and location of major genes for rhizomania resistance, monogermy and hypocotyl colour. Plant J. **2:** 601-611.

Barzen, E., W. Meckelke, E. Ritter, E. Schultekappert & F. Salamini. 1995. An extended map of the sugar beet genome containing RFLP and RAPD loci. Theor. Appl. Genet. **90:** 189-193.

Biancardi, E., R. T. Lewellen, M. De Biaggi, A. W. Erichsen & P. Stevanato. 2002. The origin of rhizomania resistance in sugar beet. Euphytica **127:** 383-397.

Clark, M. F. & A. N. Adams. 1977. Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. J. Gen .Virol. **34:** 475-483.

Desplanque, B., P. Boudry, K. Broomberg, P. Saumitou-Laprade, J. Cuguen & H. Van Dijk. 1999. Genetic diversity and gene flow between wild, cultivated and weedy forms of *Beta vulgaris* L. (chenopodiaceae), assessed by RFLP and microsatellite markers. Theor. Appl. Genet. **98:** 1194-1201.

Doney, D. L. & E. D. Whitney. 1990. Genetic enhancement in *Beta* for disease resistance using wild relatives: a strong case for the value of genetic conservation. Economic Botany **44:** 445-451.

Francis, S. A. 1999. Using molecular markers to understand rhizomania and powdery mildew resistance. British Sugar Beet Review **67:** 16-19.

Francis, S. A. & M. J. C. Asher. 2000. Exploiting novel sources of disease resistance in *Beta* germplasm using molecular markers. J. Sugar Beet Research **37:** 89-95.

Hackett, C. A. & L. B. Broadfoot. 2003. Effects of genotyping errors, missing values and segregation distortion in molecular marker data on the construction of linkage maps. Heredity **90:** 33-38.

Hoagland, D. R. & D. I. Arnon. 1950. The water culture method for growing plants without soil. Calif. Agric. Exp. Stn. Circ., 347. 32p.

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-02-06]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1383.6.1.3.8]

Lewellen, R. T. & E. Biancardi. 1990. Breeding and performance of rhizomania resistant sugar beet. Proceedings of the 53rd IIRB Congress, Brussels: 69-87.

Lewellen, R. T., I.O. Skoyen & A. W. Erichsen. 1987. Breeding sugar beet for resistance to rhizomania: evaluation of host-plant reaction and selection for and inheritance of resistance. Proceedings of the 50th IIRB Congress, Brussels: 139-156.

Manninen, O. M. 2000. Associations between anther-culture response and molecular markers on chromosome 2H, 3H and 4H of barley (*Hordeum vulgare* L.). Theor. Appl. Genet. **100:** 57-62.

Paul, H., B. Henken & M. F. J. Alderlieste. 1992. A greenhouse test for screening sugar-beet (*Beta vulgaris*) for resistance to beet necrotic yellow vein virus (BNYVV). Neth. J. Pl. Path. **98:** 65-75.

Pillen, K., G. Steinruchen, R. G. Herrmann & C. Jung. 1993. An extended likage map of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) including nine putative lethal genes and the restorer gene x. Plant Breed. **111:** 265-272.

Pillen, K., G. Steinruchen, G. Wricke, R. G. Herrmann & C. Jung. 1992. A linkage map of sugar beet (*Beta vularis* L.). Theor. Appl. Genet. **84:** 129-135.

Scholten, O. E., Th. S. M. De Bock , R. M. Klein– Lankhorst & W. Lange.1999. Inheritance of resistance to beet necrotic yellow vein virus in *Beta vulgaris* conferred by a second gene for resistance. Theor. Appl. Genet. **99:** 740-746.

Scholten, O. E. , R. C. Jansen, L. C. Paul Keizer, Th.S. M. De Bock & W. Lange. 1996. Major genes for resistance to beet necrotic yellow vein virus (BNYVV) in *Beta vulgaris*. Euphytica **91:** 331-339.

Scholten, O. E. , R. M. Klein– Lankhorst, D. G. Esselink, Th. S. M. De Bock & W. Lange. 1997. Identification and mapping of random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers linked to resistance against beet necrotic yellow vein virus (BNYVV) in Beta accessions. Theor. Appl. Genet. **94:** 123-130.

Schondelmaier, J. & C. Jung. 1997. Chromosomal assignment of the nine linkage groups of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) using primary trisomics. Theor. Appl. Genet. **95:** 590-596.

Steel, R. G. D. & J. H. Torrie. 1980. Principles and procedures of statistics, a biometrical approach. Mc Graw- Hill, Inc., New York.

Subudhi, P. K. & N. Huang. 2002. Identification of genes responsible for segregation distortion in a doubled haploid population of rice by using molecular markers. Rice Genetics Newsletters **12:** 239-240.

Uphoff, H. & G. Wricke. 1995. A genetic map of sugar beet (*Beta vulgaris*) based on RAPD markers. Plant Breed. **114:** 355-357.

Van der Beek, J. G., R. Verkerk, P. Zabel & P. Lindhout. 1992. Mapping strategy for resistance genes in tomato based on RFLPs between cultivars: *cf9* (resistance to *Cladosporium Fulvum*) on chromosome 1. Theor. Appl. Genet. **84:** 106-112.

Van Dijken, R. 2001. Sugar beet and genetic modification, a literature research on sugar beet and the implications of genetic modification. Utrecht University, P-UB-2001-02. 28 P.

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-02-06]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1383.6.1.3.8]

Virk, P. S., H. J. Newbury, M. T. Jackson & B. V. Ford-Lloyd. 2000. Are mapped markers more useful for assessing genetic diversity. Theor. Appl. Genet. **100:** 607-613.

Wagner, H. & G. Wricke. 1991. Genetic control of five isozyme systems in sugar beet (*Beta vulgaris* L.). Plant Breed. **107:** 124-130.

Wagner, H., W. E. Weber & G. Wricke. 1992. Estimating linkage relationship of isozyme markers and morphological markers in sugar beet (*Beta vulgaris* L.) including families with distorted segregations. Plant Breed. **108:** 89-96.

Whitney, E. D. 1989. *Beta maritima* as a source of powdery mildew resistance in sugar beet. Plant Disease **73:** 487-489.

Wolyn, D. J. & W. H. Gabelman. 1989. Inheritance of root and petiole pigmentation in red table beet. J. Heredity **80:** 33-38.

Zivy, M., P. Devaux, J. Blaisonneaux, R. Jean & H. Thiellement. 1992. Segregation distortion and linkage studies in microspore-derived double haploid lines of *Hordeum vulgare* L. Theor. Appl. Genet. **83:** 919-924.

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-02-06]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1383.6.1.3.8]

Study of segregation distortion in the genes controlling hypocotyl and flowering stem pigmentation, resistance to rhizomania and RAPD markers in *B.v.* subsp. *vulgaris* × *B.v.* subsp. *maritima* crosses

Beta vulgaris subsp. *vudgaris* × *Beta vulgaris* subsp. *maritima*

R. Amiri[1], M. Mesbah[2], M. Moghaddam[3], S. Y. Sadeghian[4], M. R. Ghanadha[5]

In this study, a rhizomania resistant wild beet accession, *Beta. vulgaris* subsp. *maritime,* WB42 was crossed in pairs with susceptible male-strile lines, *Beta. vulgaris* subsp. *vulgaris* and F_1, F_2 and BC_1 populations were obtained. Hypocotyl and flowering stem pigmentation of WB42 were red and those of the susceptible lines were green. Segregation ratio of hypocotyl and flowering stem pigmentation and resistance to rhizomania genes as well as RAPD markers were assessed in segregating populations. No segregation distortion were observed for the genes controlling hypocotyl and flowering stem pigmentation and resistance to rhizomania, in segregating populations. The segregation distortion for RAPD markers in this crosses were lower than the B. *vulgaris* × B. *vulgaris* cross. It is concluded that the genetic background of *B. v.* subsp. *maritima* doesn't influence the amount of the segregation distortion in *B. v.* subsp *vulgaris* × *B. v.* subsp. *maritima* crosses.

Key words: *B.v.* subsp. *Beta vulgaris* subsp. *vulgaris* × *Beta vulgaris* subsp. *maritima*, RAPD markers, Resistance to rhizomania, Segregation distortion

1- Scientific members of Sugar Beet Improvement Institute Karaj, Iran.

2, 4- Research Sugar Beet Seed Improvement Institute.

3- Prof. of Tabriz University.

5- Assoc. Prof., of Tehran University.

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-02-06]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1383.6.1.3.8]