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[۳]، 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 تلاقی های 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.

واژهای کلیدی: (*Phaseolus vulgaris* L.) ، ویروس موزائیک معمولی لوبیا، تجزیه میانگین نسل ها.

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 (Strausbaugh *et al.*, 2003). BCMV باعث افت عملکرد (در بعضی مواقع بیشتر از ۸۰ درصد) و کیفیت محصول می گردد (Drijfhout, 1991). بطورکلی این ویروس به عنوان یکی ازعوامل عمده کاهنده عملکرد در لوبیا شناخته شده است. این مسئله برای اصلاح گران بسیاربا اهمیت می‌باشد که با بکارگیری هر روش ممکن وابزارهای موجود مقاومت به BCMV را توسعه داده تا درنهایت عملکرد وکیفیت لوبیا افزایش یابد (Mavaric & Susta, 2004). دراین 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، 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. عضوهیأت 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.

مزیت دارد. در این تجزیه ۶ نسل(P1، P2، F1، F2، BC_1 و BC_2) مورد استفاده قرار می‌گیرد و F2 به عنوان نسل مرجع در نظر گرفته می‌شود (قنادها،۱۳۸۱). اینـدرژیت وهمکاران(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 دربوته، تعداد دانه درغلاف و وزن ۱۰۰ دانه را در۶ 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 درنظر گرفتن دو صفت طول گیاه و طول میانگره مورد بررسی قرار دادند. آنها ۶ نسل مختلف(P1، P2، F1، F2، BC_1 و BC_2) را در ۳ تلاقی جهت تجزیه میانگین نسل‌ها انتخاب کردند که عمل ارزیابی بر روی آنها در ۲ مرحله رشد(۴۰ و ۷۰ روزبعد 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 توارث پذیری 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 توارث پذیری 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 دراثر ویروس موزائیک طلایی لوبیا (*Bean golden mosaic virus*) با استفاده از تجزیه میانگین نسل‌ها در۶ جمعیت(P1، P2، F1، F2، BC_1 و BC_2) مورد مطالعه قرار دادند که تنها یک مدل افزایشی عمل ژن برای هر ۳ خصوصیت معنی‌دار گردید. به عبارت دیگرعمل غیرافزایشی ژن در اکثر موارد دارای ارزش بیشتری بود. آنها بیان داشتند که توارث اینگونه صفات احتمالاً اولیگوژنیک(Oligogenic) بوده و توارث پذیری متوسطی را برای آنها برآورد کردند. چاتینگ وهمکاران(Chaitieng *et al.*, 2003) صفت مقاومت به سفیدک پودری(*Erysiphe polygoni*) در لوبیا چیتی را در۶ جمعیت به دست آمده از۴ تلاقی با استفاده از تجزیه میانگین نسل‌ها مورد مطالعه قرار دادند. نتایج آنها مشخص کرد که اثرات افزایشی وغالبیت 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 وخصوصی بوده تا درخصوص 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 خودگشنی F1)، BC1(حاصل از تلاقی برگشتی با والد اول یا F1× P1) و BC2(حاصل از تلاقی برگشتی با والد دوم یا F1×P2) هر تلاقی تولید و نهایتاً ۶ جمعیت(P1، P2، F1، F2، BC_1 و BC_2)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 وP2) 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 ۵ ± ۲۰ درجه سانتی گراد 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 برگی 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

فاصله یک هفته (جهت اطمینان بیشتر) بطور مکانیکی و با استفاده از پودر کاربارانداوم(Carborandom) صورت گرفت. نمونه‌برداری جهت آزمون الایزا ۲۱ روز پس‌ازاولین‌آلودگی 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 PlateTrapped Antigen–Assay) اندازه‌گیری شد (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 نسل ها، 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 × افزایشی، [j] : مجموع اثر متقابل افزایشی × غالبیت، [l] : مجموع اثر متقابل غالبیت × غالبیت، α، β، $2\alpha\beta$، α^2و 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 مناسب ترین 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 مینی تب(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 وجینکز(Mather& Jinks, 1982) اجزای تنوع از همه نسل‌ها محاسبه شدند. براساس امید ریاضی آنها، این اجزاء از طریق فرمول‌های زیر محاسبه گردیدند:

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

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

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 EXEL2000 صورت گرفت.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس صفت میزان آلودگی برای نسل‌های P1، P2، F1، F2، BC_1 و BC_2 حاصل از تلاقی‌های {(P2) ناز × (P1) گلی}، {(P2) ناز × (P1) درخشان}، {(P2) درخشان × (P1) گلی} و {(P2) اختر × (P1) ناز} به ترتیب در جداول۱ تا ۴ آمده است. همانطور که مشاهده می‌شود برای صفت میزان آلودگی در تمامی تلاقی‌ها به جز تلاقی (ناز × اختر) تفاوت معنی‌داری بین نسل‌ها وجود دارد. بنابراین تجزیه میانگین نسل‌ها در ارتباط با این صفت برای تمامی تلاقی‌ها به جز(ناز × 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 جدول۵ آمده است.

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	نسل ها	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	نسل ها	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	نسل ها	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	نسل ها	4*	1.37	0.34	1.62	0.2598
Error	خطا	8	1.69	---	---	---

جدول ۵: میانگین‌ها و خطای معیار در نسل‌های مختلف تلاقی ها.

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) گلی، (درخشان × ناز) درخشان، (گلی × درخشان) گلی و (ناز × اختر) ناز به عنوان والد اول(P1) در نظر گرفته شدند.

تجزیه ژنتیکی و برآورد اثرات ژنی

برآوردهای اثر ژن همراه با آزمون کای مربع در جدول۷ آمده است. اجزاء ژنتیکی شامل اثرات میانگین(m)، افزایشی[d]، غالبیت[h]، اثرات متقابل افزایشی × افزایشی[i]، افزایشی × غالبیت[j] و غالبیت × غالبیت[l] می‌شود. ابتدا تمام مدل‌های ممکن برای هر صفت برازش گردید. اگر در مدل سه پارامتری کای مربع معنی‌دار نگردد بدین مفهوم است که مدل افزایشی – غالبیت m، [d] و [h] برای صفت مورد نظر مناسب بوده وهیچ اثر متقابلی وجود ندارد و هرگاه کفایت مدل سه پارامتری با معنی‌دارشدن آزمون کای مربع

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

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

*

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

مورد تردید قرار گرفت، به مدل شش پارامتری مراجعه شد. ماتر و جینکز(Mather & Jinks; 1982) پیشنهاد می‌کنند که برداشتن اجزاء غیرمعنی‌دار 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 معنی‌دار نگردیده است که این امر نشان می‌دهد که دقت مدل افزایش یافته است. نتایج جدول۷ نشان می‌دهد که برای صفت میزان آلودگی در تمامی تلاقی‌ها مدل ۵ پارامتری شامل m، [d]، [h]، [i] و [l] 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 کاهشی که این حالت تعادل را با [d] نشان می‌دهند(سادات نوری و فاضل نجف آبادی، ۱۳۸۵). همچنین مقدار h، بسته به این که کدام 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 hها در جهت افزایش و اثرات hها در جهت کاهش صفت، که این توازن را با [h] نشان می‌دهند. در اینجا (جدول۷) علامت منفی [h] نشان می‌دهد که غالبیت نسبی در جهت کاهش صفت(آلودگی) وجود دارد. اثر متقابل افزایشی × افزایشی[i] و اثر متقابل غالبیت × غالبیت[l] در این تلاقی‌ها از اهمیت خاصی برخوردار هستند، با مشاهده اپیستازی منطقی است که فرض کنیم دراین 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 [l] (هر دو جزء معنی‌دار هستند) مبین وجود اپیستازی دوگانه (Duplicate Epistasis) است. این نوع اثر متقابل یا اپیستازی، مشکلی را در جهت گزینش گیاهان مطلوب ایجاد نمی کند(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 مزیت ها، 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، واین مطلب بستگی به آلل‌هایی دارد که در آمیزش‌های مورد تجزیه

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

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

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

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 ی افزاینده بین 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 جهته (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 وراثت‌پذیر)، جزء غالبیت تنوع(H)(واریانس غیر قابل تثبیت و وراثت‌پذیر)، 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) ($\sqrt{[h]/[d]}$)، برآوردهای وراثت‌پذیری عمومی(h^2_{bs}) به وسیله روش‌های مختلف و وراثت‌پذیری خصوصی(h^2_{ns}) در نسل‌های حاصل از تلاقی‌های مختلف در جدول۸ 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 جدول۷ 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، 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 تأثیرقرار نگرفته و در واقع میانگین مربعات اثرات هر مکان ژنی می‌باشد و به صورت مجموع تنوع اثرات افزایشی بیان می‌شوند(Kearsey & Pooni, 1998). نتایج جدول۸ 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 جدول۸ 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 جدول۷ هماهنگی دارد. همچنین مقادیر کوچک [d] (جدول۷) و مقادیر بزرگ لیاقت نسبی(PR)(جدول۸) بیانگر پراکندگی حداکثر ژن‌ها در بین والدین است. برآورد توارث پذیری عمومی با فرمول‌های مختلف در جدول۸ 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.

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

تلاقی	D	H	F	Ew	PR	برآورد وراثت پذیری عمومی به روش های مختلف h^2_{bs}							h^2_{ns}
						۱	۲	۳	۴	۵	۶	میانگین	
گلی × ناز	۰/۳۹۴	-۰/۰۷۷	-۰/۰۱۵	۰/۰۶۷	۸/۸۵	۰/۶۸	---	۰/۶۶	۰/۶۴	---	۰/۵۹	۰/۶۴	۰/۵۳
درخشان × ناز	۲/۲۶	-۲/۱۸	-۰/۰۷۶	۰/۱۰	۱۱/۹۴	۰/۸۷	---	۰/۸۶	۰/۸۵	---	۰/۸۳	۰/۸۵	۰/۸۲
گلی × درخشان	۰/۲۴۶	-۰/۴۵۶	-۰/۰۲۹	۰/۱۰	۱۵/۰۴	---	۰/۷۰	---	---	۰/۹۵	---	۰/۸۲	۰/۵۶

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، شماره۱: 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 radiate* 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 F_2 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. Kamelmanesh[1], H. R. Dorri[2], S. Ghasemi[3], M. R. Bihamta[4] , F. Darvish[5]

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], [l]) play a major role in these crosses. Also, average broadsense and narrowsense 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.