"مجله علوم زراعي ايران"

جلد نهم، شماره ۱، بهار ۱۳۸٦

بررسي كنترل ژنتيكي مقاومت به سياهك معمولي(Common smut) در ذرت

Study of genetic control of resistance to common smut in maize

مهناز قائدرحمت[۱]، رجب چوكان[۲]، براتعلي سياسر[۳] و مجيد زماني[۴]

چكيده

قائدرحمت، م.، ر. چوكان، ب. سياسر و م. زماني. ۱۳۸۶. بررسي كنترل ژنتيكي مقاومت به سياهك معمولي (Common smut) در ذرت. مجله علوم زراعي ايران. ۹ (۱): ۸۹-۷۷.

بـه منظـور مطالعـه ژنتيكـی مقاومـت بـه سـياهک معمـولی (Common smut) در ذرت، دو لايـن مقـاوم K1264/1 و K47/2-2-21 و دو لاين حساس K3304/1-2 و K47/2-2-1-3-3-1 به صورت K1264/1* K3304/1 , K3304/1-2 * K47/2-2-21 و K1264/1 * K47/2-2-1-3-3-1 تلاقی داده شدند. نتاج F_1 ، F_2 ، BC_1 و BC_2 به همراه والدين در قالب طرح بلوک های كامل تصادفی با سه تكرار در مزرعه مؤسسه تحقيقات اصلاح و تهيه نهال و بذر در كرج كشت شـدند. كليـه نـسل‌هـا توسـط سوسپانـسيون اسپوريدی سياهک به طور مصنوعی آلوده شده و مورد ارزيابی قرار گرفتند. برای ايجاد آلودگی ۱۰-۷ روز بعد از ظهـور تارهـای ابريشمی (Silking) با ايجاد زخم در نوک بلال (Tip injection) سه ميلـی‌ليتـر از سوسپانـسيون اسـپوريدی قـارچ بـه غلظـت $۱۰^۶$ اسپوريدی در هر ميلی‌ليتر توسط سرنگ تزريق شد. در زمان رسيدگی فيزيولوژيكی دانه‌ها، شدت بيماری براساس پيشرفت بيمـاری (شدت آلودگی در هر بلال) تعيين و با استفاده از روش تجزيه ميانگين نسل‌هاي سه تلاقی فوق اثرات ژن در كنترل مقاومت به اين بيماري مورد تجزيه ژنتيكي قرار گرفتند. مدل ساده افزايشي- غالبيت داده‌ها را تبيين نكرد. آزمون مقياس مـشترك نـشان داد كـه مقاومت به سياهک ذرت به وسيله اجزای افزايشی، غالبيت و اپيستازی به ويژه افزايشی× افزايشی، غالبيت× غالبيت و به ميزان كمتری توسط اثر افزايشی × غالبيت كنترل می‌گردد. ميانگين برآورد وراثت‌پذيری عمومی و خصوصی روی سه تلاقـی بـه ترتيـب ۸۰/۳ و ۵۷/۳ به دست آمد.

واژه‌های كليدی: ذرت، سياهک معمولی، تجزيه ميانگين نسل‌ها، اپيستازي، غالبيت، افزايشي.

تاريخ دريافت: ۱۳۸۶/۵/۱۶

۱ـ دانشجوي سابق كارشناسي ارشد دانشكده كشاورزي دانشگاه زابل

۲ـ استاديار مؤسسه تحقيقات اصلاح و تهيه نهال و بذر (مكاتبه كننده)

۳ـ استاديار دانشكده كشاورزی، دانشگاه زابل

۴ـ عضو هيأت علمی مؤسسه تحقيقات اصلاح و تهيه نهال و بذر

مقدمه

سیاهک معمولی ذرت (Corn Common Smut) که عامل آن قارچ *Ustilago maydis* است یکی از شایع‌ترین بیماری‌های ذرت می‌باشد و در هر منطقه‌ای که ذرت کشت می‌شود ظاهر شده و باعث کاهش کمی و کیفی محصول می‌گردد (Ullstrap, 1978; Shutleff, 1980.) اکثر گزارشات موجود آب و هوای مرطوب و بارانی را ضروری‌ترین فاکتور لازم جهت آلودگی ذرت به سیاهک ذکر کرده‌اند (Smith and White, 1988). این بیماری در اکثر مناطقی که ذرت کشت می‌گردد از جمله مکزیک، آرژانتین، فرانسه، روسیه، چین و ناحیه وسیعی از استرالیا و نیوزلند وجود دارد (Agrios, 1988). در ایران نیز در استان‌های اصفهان، تهران، سمنان، کرمانشاه، فارس، خراسان، مشاهده و جمع‌آوری شده است (بی‌نام، ۱۳۶۹). میزان خسارت در ارقام حساس تا ۵۰ درصد نیز گزارش شده است (اخوت، ۱۳۸۲ ;Shutleff, 1980). هر چند عملیات پیشگیري و استفاده از تناوب زراعی و کنترل شیمیایی انتظار می‌رود وسیله‌ای جهت کنترل بیماری باشد، اما عملاً این راه‌ها نقش مهمی را در کنترل بیماری ندارند (اخوت، ۱۳۸۲). استفاده از ارقام مقاوم مؤثرترین راه کنترل این بیماری است یعنی سیاهک را می‌توان تا حدی با استفاده از هیبریدهایی که مقاومت نسبی به قارچ عامل بیماری دارند کنترل نمود (حبیبي و زماني، ۱۳۸۲). در رابطه با ماهیت مقاومت ذرت به سیاهک معمولی علیرغم تفاوت‌های موجود در بررسي‌های انجام شده در این زمینه، آنچه مسلم است اینکه، مقاومت از نوع چندژنی یا غیراختصاصی است که توسط تعداد نسبتاً زیادی ژن با آثار افزایشی و غیرافزایشی که بر روی کروموزوم‌های شماره ۱ و ۲ ذرت قرار دارند، کنترل می‌گردد (Renfro, 1983). بررسی‌های انجام شده نشان می‌دهد که از نظر توارثی مقاومت چندژنی (Polygenic) است و توصیه شده است در برنامه اصلاحی از روش‌های تلاقی لاین‌های مقاوم با یک آزماینده حساس استفاده شود و ارزیابی هیبریدهای حاصل از این تلاقی‌ها در نسل‌هاي F_1 و F_2 دنبال گردد(Pope and Carter, 1992). پاتکی و همکاران (Pataky *et al.*, 1995) نیز مقاومت علیه سیاهک را به صورت پلی ژنیک گزارش دادند. فینکر و هالتون (Finker and Holton, 1957) مقاومت در ذرت را بر علیه سیاهک معمولی به صورت یک ژن غالب گزارش کرده بودند که ممکن است در ارقام به صورت مستقل به ارث برسد یا اینکه همراه با دیگر فاکتورها منتقل شوند. همچنین اظهار کردند که مقاومت به سیاهک در نتیجه موادی در ریشه گیاه است که از رشد میسلیوم عامل بیماری جلوگیری می‌کند. کریستنس (Christensen, 1963) گزارش کرده بود که الیگوژنی و آثار افزایشی تا غالبیت در توارث مقاومت به *Ustilago maydis* بسته به تیپ‌های مختلف جمعیت‌های مورد استفاده وجود دارد ولی درهر حال فقدان شواهد وجود تک ژن اصلی یا ژن‌های مقاومت اختصاصی همانند مکان ژني RP در پاتوسیستم ذرت مورد تأکید است. وزدوا (Vozdova, 1973) با استفاده از تجزیه میانگین نسل‌ها آثار افزایشی و غالبیت و اپی ستازی را برای مقاومت به این بیماری اعلام کرد و همچنین نحوه عمل ژن را غالبیت ناقص و فوق غالبیت گزارش داد. اودیما و کواکس (Odiemah and Kovacs, 1990) با استفاده از تلاقی دای آلل شش لاین برای مقاومت به سیاهک معمولی گزارش کردندکه اثر ژن افزایشی در مقاومت به این بیماری اهمیت دارد. بوجانسکي (Bojanowski, 1969) با استفاده از تجزیه میانگین نسل‌ها هر دو اثار افزایشی و غیرافزایشی را در کنترل مقاومت به سیاهک معمولی اعلام کرد. در این مطالعه مقاومت به صورت پلی ژنیک بوده و نامبرده اصلاح برای مقاومت را بر پایه تلاقی با یک تستر حساس خاص پیشنهاد کرد. به طور کلی راجع به ماهیت مقاومت در ذرت نسبت به سیاهک اطلاعات کمی وجود دارد و لازم است که در هر شرایط آب و هوایی تهیه ارقام مقاوم و متحمل به بیماری انجام گرفته و انتخاب

ارقـام بـراي کـشت در همـان منـاطق توصـيه شـوند (Christensen, 1963). زمـانی و اسـتخر(۱۳۸۳) بـا آزمایـشاتی ارقـام K3304/1-2 , K47/2-2-21-2 K47/2-2-1-3-3 و K1264/1 را بـه ترتیـب مقـاوم (R) ، بـسیار حـساس (MS) ، حـساس(S) و مقـاوم(R) معرفـی کردند. جلالی و سبزی (۱۳۸۳)رقم K1264/1 را به عنوان رقمی نسبتاً متحمل معرفی نمودند. در مورد نحوه تـوارث مقاومت به سیاهک معمولی در ایران در گذشته کار قابل تـوجهي انجـام نـشده و در رابطـه بـا ایـن بیمـاری بیـشتر ارزیابی مقاومت ارقام در شرایط مزرعه و گلخانه مطالعـه شده است (زماني و استخر، ۱۳۸۱). بنابراین هدف از این تحقیق تعیین وضـعیت ژنتیکـی مقاومـت بـه سیاهک در نسل‌هاي در حال تفرق حاصل از تلاقي دو لاین حـساس و دو لاین مقاوم بوده است.

مواد و روش‌ها

دو لاین مقـاوم K1264/1 و K47/2-2-21 و دو لایـن حساس K3304/1-2 و K47/2-2-1-3-31 (زماني و استخر، ۱۳۸۳) بـــــه صـــــورت K3304/1-2 * K1264/1 , K47/2-2-21*K3304/1-2 وK47/2-2-1-3-3-1*K1464/1 تلاقی داده شدند. نسل‌های مختلف هر یـك از تلاقی‌هـا شامل F_2 ، BC_1 و BC_2 به طور جداگانه تولید شدند. برای تولیـد نـسل F_2، در هـر تلاقـی بوتـه‌هـای F_1 از طریـق پوشاندن گل‌های نر وماده قبل از آزاد شدن دانه گـرده و ظهور کاکل با پاکت مخصوص پوشانیده شدند و گـرده حاصل از هر بوته بر روی کاکل همان بوتـه ریختـه شـد. در هر تلاقی برای تولید BC_1، بوته‌های F_1 با والـد پـدری و بـرای تولیـد BC_2 بـا والـد مـادری مربوطـه از طریـق پوشاندن گل‌های نر وماده و انتقال مـصنوعی دانـه گـرده تلاقی برگشتی داده شدند. در هر تلاقي، والـدین همـراه بـا نـسل‌هـاي F_1 ، F_2 ، BC_1 و BC_2 در قالـب طـرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه مؤسسه تحقیقـات اصـلاح و تهیـه نهـال و بـذر کـرج کـشت گردیدنـد. تعـداد ردیـف در هرنـسل متفـاوت بـود به طوریکه هر یک از والدین، نسل‌هـای F_1, F_2, BC_1, BC_2 به ترتیب در ۴ ، ۶ ، ۴ و ۴ ردیف کاشته شدند. بـرای تمام تیمارهـا طـول ردیـف ۶ متـر، فاصـله ردیـف‌هـا ۷۵ سانتی‌متر و فاصله بوته روی ردیف ۲۰ سانتی‌متر بـود. در هر کرت تعداد ۱۰، ۲۰، ۵۰، ۴۰ و ۴۰ بوته بـه ترتیـب در والدین، نسل F_1 ، نسل F_2 ، نسل‌های BC_2 وBC_1 مایه‌زنی شدند. برای آلـودگی مـصنوعي از نمونـه‌هـای آلـوده بـه سیاهک معمولی جمع‌آوري شـده از مـزارع ذرت سـال قبـل از چنـدین منطقـه اسـتفاده شـد. بـدین ترتیـب کـه نمونه‌های آلوده با یکدیگر مخلوط و به مدت ۱۲ ساعت در سولفات مس ۱/۵ درصد در آب مقطر استریل حاوی چنـد قطـره روغـن تـوین ۸۰ (Tween 80) روی شـیکر ضدعفونی و پـس از شستـشو بـا آب مقطـر روی محـیط کـشت PDA و CMA کـشت داده شـدند. محـیط‌هـای کشت بـه مـدت ۵ روز در دمـای ۲۳ درجـه سـانتی‌گـراد انکوباتور نگهداری شدند (Thakur *et al.*, 1989). پس از تنـدش تلیوسـپورها و تولیـد اسـپوریدی، سـطح محـیط کشت را با اسکالپل خراش داده و با استفاده از آب مقطر استریل شسته و سوسپانسیون بـا غلظـت ۱×۱۰^{۶} تهیـه شـد. سوسپانسیون اسـپوریدی آمـاده شـده بـا غلظـت فـوق در مرحلـه ظهـور کاکـل کـه طـول آن‌هـا حـدود ۱۰-۵ سانتی‌متر بود با استفاده از سرنگ به میزان ۳ میلی‌لیتـر در قسمت نوک بلال (متد Tip injection) تزریق شد. پـس از گذشت دو ماه از زمان مایـه‌زنـی، در زمـان رسـیدگی فیزیولوژیکی ارزیابی بـلال‌هـا صـورت گرفـت. ارزیـابی شدت بیمـاری هـر بـلال بـر اسـاس پیـشرفت بیمـاری در دانه‌های روی بلال صورت پذیرفت. بـرای تعیـین شـدت بیماری، هر بـلال بـه صـورت جداگانـه از نظـر پیـشرفت بیماری مورد بررسی قرار گرفت (Jeffers, 1994).

تجزیـــه میـــانگین نـــسل‌هـــا و محاســـبه ضـــرایب اجـــزاء ژنتیکـــی بـــا اســـتفاده از روش مـــاتر و جینکـــز (Mather and Jinks, 1977) انجـام گرفـت. مـدل مـورد استفاده برای تجزیه میانگین نسل‌ها به قرار زیر بود.

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

کـه در فرمـول فـوق"Y" میـانگین یـک نـسل، "m" میـانگین همـه نـسل‌هـا در یـک تلاقـی، [d] مجمـوع اثـر افزایشی، [h] مجموع اثر غالبیت، [i] مجمـوع اثـر متقابـل بین اثر افزایشی ، [j] مجموع اثر متقابل بین اثر افزایـشی و غالبیت ، [l] مجموع اثـر متقابـل بـین اثـر غالبیـت، 2αß ، B^2 ، α^2 ، ß ، α حاصلـضرب‌هـاي پارامترهـای ژنتیکـی مـی‌باشـد. روش اسـتاندارد شـامل تخمـین آثـار ژنـی از میانگین نسل‌هاي مختلف قابل برآورد است که به وسیله مقایسه میانگین نسل‌هـای مـشاهده شـده بـا میـانگین‌هـای مورد انتظار (که از شش پـارامتر فـوق بـرآورد شـده‌انـد) انجام مـی‌گیـرد. آزمـون مقیـاس مـشترك بـا اسـتفاده از نـسل‌هـاي مختلـف انجـام گرفـت (واعظـي و همکـاران، ۱۳۷۸؛ قنادها، ۱۳۸۴؛ Mather and Jinks, 1982). عکـس و ضرب کردن ماتریس‌هاي مربوطه بـه وسـیله نـرم‌افـزار مینی تب انجام گرفت. اجزاء تنوع از شش نسل می‌توانـد به قرار زیر محاسبه گردید (واعظـي و همکـاران، ۱۳۷۸؛ Jinks, 1982; Mather and Jinks, 1977).

$Ew = 1/4\ (Vp_1 + Vp_2 + 2\ V_{F1})$

$D = 4\ V_{F2} - 2\ (V_{BC1} + V_{BC2})$

$H = (V_{BC1} + V_{BC2} - V_{F2} - Ew)$

$F = V_{BC1} - V_{BC2}$

که در فرمول‌هاي فوق "E_W" جزء غیرژنتیکـی تنـوع، "D" جـزء افزایـشی تنـوع، "H" جـزء غالبیـت تنـوع، "F" سـهم غیرمـستقل "d" و "h" روی تمـام مکـان‌هـای ژنـی می‌باشند. مقادیر $(H/D)^{1/2}$ و $F/(D\times H)^{1/2}$ به ترتیب نـسبت غالبیت و انحرافـات غالبیـت در هـر مکـان ژنـی را نـشان می‌دهند.

بـرآورد وراثـت‌پـذیری عمـومی بـا اسـتفاده از روش واریانس جمیعت از طریق فرمول زیر قابل محاسبه است:

$$h^2_{bs} = \frac{(V_{F_2} - E_W)}{V_{F_2}}$$

واریـانس محیطـی (E_W) براسـاس میـانگین سـه نـسل فاقـد تفـرق P_1 ، P_2 ، F_1 بـه روش‌هـای مختلـف قابـل محاسـبه اسـت. در نتیجـه فرمـول‌هـای مختلـف بـرای بـرآورد وراثـت‌پـذیری عمـومی بـه دسـت مـی‌آیـد (قنادها، ۱۳۸۴).

$$EW_1 = \frac{(VP_1 + VP_2)}{2}$$

$$EW_2 = \sqrt{VP_1 + VP_2}$$

$$EW_3 = \frac{(VP_1 + VP_2 + VF_2)}{3}$$

$$EW_4 = \frac{(VP_1 + VP_2 + 2VF_1)}{4}$$

$$EW_5 = \sqrt[3]{VP_1 \times VP_2 + VF_1}$$

وراثـت‌پـذیري خـصوصي نیـز بـا اسـتفاده از فرمـول $h^2_{ns} : \left[V_{F2} - \left(V_{BC1} + V_{BC2}\right)\right] / V_{F2}$ محاسـبه گردید.

نتایج و بحث

تجزیـه واریـانس (جـدول۱) نـشان داد کـه تفـاوت آماري معنی‌داری در سطح احتمال ۱% بین نسل‌ها در هر تلاقی وجود دارد. مقادیر میانگین مربـوط بـه هـر تلاقـی برای هر شش نسل در جدول (۲) آمـده اسـت. بـا توجـه بـه مقـادیر میـانگین، بـه طـور کلـي دو والـدK1264/1 و K47/2-2-21 به ترتیب با میانگین شدت آلودگی برابر بـا ۳/۸۱ و۶/۴۳ درصد به عنوان لاین‌های مقاوم و لاین‌هـاي K3304/1-2 و K47/2-2-1-3-31 بـه ترتیـب بـا میـانگین ۸۶/۱۲ و ۵۹/۹۱ درصد آلودگی در سه تلاقـی بـه عنـوان لاین‌هاي حساس موردتأیید قـرار گرفتنـد. ایـن نتـایج بـا گـزارش زمـانی و اسـتخر (۱۳۸۳) و بخـشی از مطالعـات سـبزی (۱۳۷۷) مطابقـت دارد. برآوردهـای اثـرات ژن همراه با آزمون مقیاس مـشترك و مقـادیر کـاي اسـکور (χ^2) تلاقی‌هـا در جـدول (۳) آمـده اسـت. درهـر سـه تلاقـی مقـدار کـاي اسـکور (χ^2) مـدل سـه پـارامتری معنـی‌دار بـود، کـه بیـانگر ایـن امـر اسـت کـه مـدل سـه پـارامتری داده‌هـاي حاصـل را تبیـین نمـي‌کنـد. تمـام مدل‌های ممکنه برای میانگین‌های مـشاهده شـده بـرازش

جدول ۱- تجزیه واریانس شدت بیماری در نسل‌های حاصل از سه تلاقی

Table 1. Analysis of variance of disease severity in different generations of three crosses

S.O.V.	منابع تغییرات	درجه آزادی d.f.	تلاقی ۱ Cross1 K7264/1 × K3304/1-2	تلاقی ۲ Cross2 K47/2-2-21× K3304/1-2	تلاقی ۳ Cross 3 K7264/1×K477/2-2-1-3-31
Block	بلوک	2	17.9	4.45	2.25
Generation	نسل	5	1663.1**	1364.26**	609.64**
Error	خطا	10	16.8	17.26	3.61
C.V.%	ضریب تغییرات (درصد)		11.7	10.4	6.7

**: Significant at 1% of probability level. **: معنی داری در سطح احتمال یک درصد

جدول ۲ - میانگین شدت بیماری در نسل‌های حاصل از تلاقی‌ها

Table 2. Mean disease severity in different generations of three crosses

نسل ها Generation	تلاقی ۱ Cross 1	تلاقی ۲ Cross 2	تلاقی ۳ Cross 3
P_1	3.5 ± 2.24	6.43 ±2.38	4.12 ±1.82
P_2	86.46 ±13.14	85.79 ± 12.83	59.91 ±6.09
F_1	13.7 ± 6.6	25.34 ±10.03	11.57 ± 4.32
F_2	27.97 ±17.56	28.01 ±16.31	26.92 ±15.25
BC_1	14.29 ±7.96	29.22 ±10.92	12.95 ±8.69
BC_2	63.35 ± 19.9	76.18 ±16.57	37.48 ±15.12

داده شدند تا بهترین مدل تعیین شود. ماتر و جینکز (Mather and Jinks, 1977) پیشنهاد کردند که برداشتن اجزاء غیر معنی‌دار از مدل شش پارامتری و سپس برازش بقیه اجزاء به عنوان مدل، منجر به برازش مناسب‌تری می‌گردد. در مدل های کاهش یافته نسبت به مدل شش پارامتری، خطای استاندارد و تمام اجزاء کمتر از خطای استاندارد مدل شش پارامتری بود و در ضمن کایاسکور (χ^2) آن معنی‌دار نگردید، که این امر نشان می‌دهد که دقت مدل افزایش یافته است.

برای تلاقی‌هاي ۱ و ۲ میانگین ، اثر افزایشی و غالبیت و اثار اپیستازی افزایشی× افزایشی، غالبیت× غالبیت معنی‌دار بود، و برای تلاقی ۳ علاوه بر میانگین و اثر افزایشی و غالبیت اثار اپیستازی افزایشی× افزایشی، افزایشی× غالبیت نیز معنی‌دار بود.که این امر اهمیت هر دو اثر افزایشی و غیرافزایشی (غالبیت و اپیستازی) را در نحوه توارث این صفت نشان می‌دهد. و در واقع نشان می‌دهد که علاوه بر اثر افزایشی و غالبیت، اثر اپیستازی نیز در کنترل مقاومت حائز اهمیت می‌باشند. درجه غالبیت (جدول ۴) بر طبق انحراف F_1 از میانگین والدین برای هر تلاقی برآورد شد. این نسبت برای هر سه تلاقی بیش از یک به دست آمدکه تأییدی بر عمل غالبیت تا فوق غالبیت ژن‌ها است. مثبت بودن درجه غالبیت برای تلاقی ۳ بدین مفهوم است که فوق غلبه (h/d>1) به طرف والد حساس یعنیK47/2-2-1-3-31 بوده است و علامت منفی بدین مفهوم است که فوق غلبه درجهت کاهش ارزش یا افزایش مقاومت رخ داده است.مقادیر توارث‌پذیری برای هر سه تلاقی در جدول (۴) ارائه شده است. برآورد توارث‌پذیری با فرمول‌های مختلف متفاوت بود. میانگین توارث‌پذیری عمومی برای هر سه تلاقی به ترتیب ۷۹/۶، ۶۹/۸ و ۹۱/۶ درصد بود و توارث‌پذیری خصوصی به ترتیب ۵۱، ۵۲ و ۶۹ درصد به دست آمد. در تمام تلاقی‌ها توزیع فراوانی درصد آلودگی در گیاهان F_2 پیوسته بود (شکل ۱). به طور کلی توزیع فراوانی گیاهان F_2 به طرف والد حساس

جدول ۳- برآورد اجزاء ژنتیکی میانگین برای شدت بیماری

Table 3. Estimate of genetic components of means for disease severity

Cross	تلاقی	X^2	Genetic component / اجزاء ژنتیکی					
			m	[d]	[h]	[i]	[I]	[j]
1		0.47 ns	16.74 ± 4.49**	-31.54 ± 1.18**	52.73± 10.81**	25.14± 4.79**	25.14 ±4.79**	-
2		0.69 ns	19.29 ± 4.56**	-28.97 ± 1.15**	153.24±11.42**	62.78 ± 4.72**	-104.07 ±7.23**	-
3		1.35 ns	42.21± 1.5**	-19.73 ± 0.34**	-22.49 ± 1.18**	-11.2 ± 1.55**	-	2.55 ± 5.77*

* and **: Significant at 5% and 1% probability levels, respectively.

* و ** : به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۵% و ۱% .

ns: Non- significant

ns : غیر معنی دار.

جدول ۴- درجه غالبیت، برآوردهای توارث‌پذیری به وسیله روش‌های متفاوت برای شدت بیماری سیاهک معمولی در تلاقي‌هاي ذرت

Table 4. Degree of dominance, and heritability in maize crosses

تلاقي Cross	h^{2*}_{bs} 1	2	3	4	5	h/d	h^2_{ns}
1	0.71	0.89	0.85	0.75	0.78	-1.68	0.51
2	0.68	0.88	0.62	0.66	0.65	-5.29	0.52
3	0.9	0.94	0.92	0.91	0.91	1.14	0.69

h^{2*}_{bs} : مربوط به ۱, ۲, ۳, ۴ و ۵ به مواد و روش ها مراجعه شود.

* For h^{2*}_{bs} : 1, 2, 3, 4 and 5 see materials and methods.

جدول ۵- اجزای تغییرات در شش نسل مختلف حاصله از تلاقي‌هاي ذرت ذرت برای شدت بیماری

Table 5.The components of variation of diseases severity in six different generations developed from maize crosses

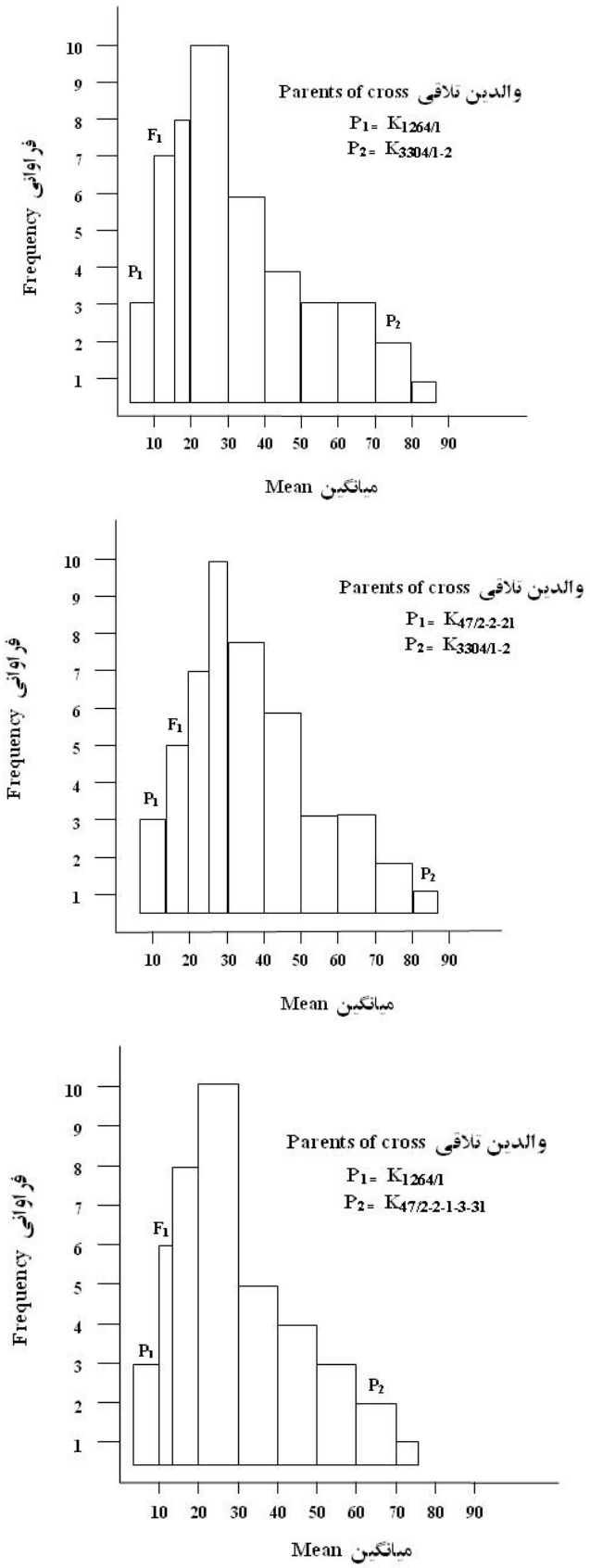
تلاقی Cross	اجزای تغییرات Components of variation D	H	F	E_W	$F/(D\times H)^{1/2}$	$(H/D)^{1/2}$
1	311.7	344	-344.4	66.7	1.02	1.05
2	274.4	144.4	-154.3	92.8	0.77	0.72
3	321.8	204	-153.1	20.7	0.59	0.79

E_w : جزء غیر قابل توارث (محیطی) تنوع،D : جزء افزایشی تنوع ، H : جزء غالبیت تنوع ، F : جزء ناشی از همبستگی hوd روی تمام مکان های ژنی

Ew: Not heritable (environmental) variarion, D: Additive variation, H: Dominance variation, F: Correlation of h and d over loci

متمایل شد و تفکیک متجاوز به طرف والد حساس به مقدار جزئی در تلاقی۱ و ۳ دیده شد. اجزاء واریانس بر اساس شش نسل یعنی، V_{BC2}، V_{BC1}، V_{F2}، V_{F1} ، V_{P1} و V_{P2} در جدول (۵) ارائه شده‌اند. مقادیر F برای هر سه تلاقی منفی بود که بیانگر این امر است که ژن‌های مسئول در جهت کاهش مقدار صفت و افزایش مقاومت برتری دارند. مقادیر متوسط غالبیت $(H/D)^{1/2}$ و انحراف غالبیت $F/(D\times H)^{1/2}$ برآورد گردیدکه مقدار بزرگتر از یک برای متوسط غالبیت (۱/۰۵) نشان‌دهنده اهمیت جزء غالبیت می‌باشد. متوسط غالبیت تلاقی‌های ۲ و ۳ کمتر از یک بود که بیانگر اهمیت جزء افزایشی می‌باشد که در تطابق با مقادیر مربوط به واریانس افزایشی و غالبیت می‌باشد زیرا که در این تلاقی‌ها مقدار واریانس افزایشی بیشتر از واریانس غالبیت به دست آمد. مقدار انحراف غالبیت نزدیک به یک (۱/۰۲) نشان می‌دهد که بزرگی و علامت غالبیت برای تمام ژن‌های مربوطه در تلاقي شماره ۱ یکسان است.

در یک برنامه اصلاحی برای به دست آوردن ارقام مقاوم به سیاهک ذرت لازم است تا درباره نحوه عمل ژن‌های مقاوم اطلاعات کافي وجود داشته باشد. این مطالعه می‌تواند درباره نحوه توارث ژن‌های مقاوم با استفاده از مدل‌های ژنتیکی اطلاعات لازم را فراهم کند. در این آزمایش از آزمون مقیاس مشترك (Joint scaling test) استفاده گردید که قدرتمندترین



شكل ۱- توزيع فراواني افراد نسل F2 از نظر درصد آلودگي به سياهك معمولي در تلاقي‌هاي مختلف ذرت

Fig. 2. Distribution of F2 generation for percent of infection to common smut in different crosses of maize

آزمون نسبت به دیگر آزمون‌ها برای آشکارسازی اپیستازی و همچنین برآورد اثر افزایشی و غالبیت می‌باشد. (Mather and Jinks, 1982). همه مدل‌های دو، سه، چهار، پنج، شش پارامتری برای فهم بهتر نظام‌های ژنتیکی کنترل‌کننده بیماری سیاهک بررسی شدند. همانطور که در اجزاء مدل‌هاي مورد استفاده مشاهده شد علاوه بر اثر افزایشی و غالبیت، اثر اپیستازی نیز وجود دارند که بیانگر این است که هردو اثر افزایشی و غیرافزایشی (غالبیت و اپیستازی) در وراثت مقاومت به این بیماری مؤثر بوده است. که این مطلب با نتایج رنفرو (Renfro, 1983) و بوجانسكي(Bojanowski, 1969) که اثر افزایشی و غیرافزایشی را در کنترل این بیماری اعلام کرده‌اند مطابقت دارد. نشانه‌هائي دال بر پلي‌ژنيك بودن مقاومت به بيماري در نتايج اين آزمايش مشاهده مي‌شود، چون مدل افزایشی- غالبیت مدل مناسبی برای هیچکدام از تلاقی‌ها نبود و برای هر تلاقی، پارامترهاي ژنتيكي مناسبترين مدل، معنی‌دار، و اثر اپیستاتیک نیز دارای اهمیت بودند. مقاومت پلی ژنیک برای مقاومت به این بیماری توسط پاتکی و همکاران (Pataky *et al.*, 1995) و پاپ و مك كارتر (Pope and McCarter, 1992) گزارش شده است. مقادیر زیاد برآوردهای [l],[j],[i] در هر سه تلاقی نشان می‌دهد که اپي‌استازي در توارث مقاومت به بیماری دارای اهمیت مي‌باشد. در این مطالعه اثار ژنی [i] سهم به سزایی داشته و همچنین اثر [l] نیز حائز اهمیت بود و اثر [j] اهمیت کمتری داشته است. وزدوا (Vozdova, 1973) اهمیت اثر اپیستازی را در کنار اثر افزایشی و غالبیت اعلام کرده است. پس با مشاهده اپی‌ستازی منطقی است که فرض کنیم ژن‌های بیشتری این صفت را کنترل می‌کنند و در حقیقت عمل ژن اپی‌ستاتیک در نحوه توارث صفات کیفی معمول نبوده ولی برای صفات کمی معمول است. با افزایش تعداد ژن‌های کنترل‌کننده یک صفت منطقی است که فرض کنیم تعداد عواملی که با هم اثر متقابل دارند افزایش می‌یابد. شاید استدلال گردد که برآوردهای اپی‌ستازی همانند اثر غالبیت و افزایشی ممکن است تحت تأثیر محیط باشند که اهمیت این امر فقط با انجام آزمایش در چند محیط قابل بیان است. اما باید گفت همه مدل‌هایی که در این تحقیق ذکر شده‌اند دارای برازش نکوئی بودند که بیانگر عدم حضور اثر متقابل ژنوتیپ × محیط، اثر متقابل سه گانه و لینکاژ می‌باشد. بنابراین اگر اپی‌ستازی وجود دارد، به علت وجود لینکاژ ممکن است در برآورد اثر ژن اريبي وجود داشته باشد و انتظار می‌رود که جدی‌ترین اریبی در برآورد اثر افزایشی× افزایشی و افزایشی× غالبیت رخ داده باشد. اما اریبی حاصل از لینکاژ ممکن است به علت اپی‌ستازی سه گانه یا بالاتر از آن باشد و جایی که اپی‌ستازی حضور ندارد برآوردهای اثرات ژن به وسیله لینکاژ اریبی نخواهد داشت (Mather and Jinks, 1982). در تلاقی ۳ اثر متقابل افزایشی× غالبیت (j) معنی‌دار بود که این نوع اپی ستازی به وسیله گزینش تحت شرایط خودگشنی قابل تثبیت نمی‌باشد (قنادها، ۱۳۸۴). در تلاقی ۲ علامت اثر غالبیت مخالف اثر غالبیت ×غالبیت می‌باشد که نشان‌دهنده حضور اپی‌ستازی از نوع دوگانه است. این نوع اثر متقابل یا اپی‌ستازی مشکلی در جهت گزینش ارقام مقاوم ایجاد نمی‌کند (Singh *et al.*, 1988). همچنین بایستی ذکرگردد که علامت اثار افزایشی و افزایشی ×غالبیت بستگی به این دارد که کدام والد P_1 و P_2 باشد اما علامت دیگر پارامترها و نیز مقدار کلیه پارامترها و میزان χ^2 ثابت باقی می‌ماند. علامت منفی برای اثر غالبیت در تلاقی ۳ بیانگر این است که فوق غلبه در جهت والد مقاوم یعنی لاین K1264/1 وجود دارد. علامت مخالف اثر افزايشي و افزايشي × افزايشي در تلاقي‌هاي ۱ و ۲ نشان‌دهنده ماهيت متضاد اثر متقابل براي شدت آلودگي به سياهك است. معنی‌دار شدن اثر افزایشی در هر سه تلاقی نشان می‌دهد که گزینش براي مقاومت در نسل‌های اولیه بین تلاقی‌ها مؤثر می‌باشد. در تلاقی ۱ و ۲ اثر متقابل افزایشی× غالبیت(j) معنی‌دار نگردید که این امر ممکن است به علت خنثی کردن اثر

مثبت و منفی در مکان‌های ژنی متفاوت باشد. این نوع اپی ستازی نمی‌تواند به وسیله انتخاب (خصوصاً در نسل‌های اولیه در حال تفرق) تثبیت گردد.

درجه غالبیت برای هر سه تلاقی مقدار بزرگتر از واحد دارد (جدول ۴) و نشانگر وجود آثار فوق غالبیت در صفت مورد بررسی است .در این مطالعه وراثت‌پذیری نسبتاً بالایی برای شدت آلودگی سیاهک مشاهده شد که از میانگین توارث‌پذیری عمومی و خصوصی روی سه تلاقی به دست آمدکه به ترتیب ۸۰/۳ و ۵۷/۳ بودند(جدول ۴). این نشان‌دهنده اهمیت هر دو جزء افزایشی و غالبیت در کنترل صفت است. بنابراین برای ایجاد مقاومت به سیاهک در این مرحله هم روش‌های اصلاحی مبتنی بر انتخاب و هم هیبریداسیون باید بکار رود. سرعت پیشرفت تحت گزینش متعاقب تلاقی دو لاین بستگی به توارث‌پذیری دارد. از طرفی برآوردهای توارث‌پذیری اطلاعات لازم برای انتقال صفات از والدین را به نتاج فراهم مي‌كند و بنابراین ارزیابی اثرات ژنتیکی و محیطی و تنوع فنوتیپی را تسهیل کرده و کمک به گزینش می‌کند. بایستی توجه شود که شامل نکردن اپی‌ستازی در برآوردهای وراثت‌پذیری ممکن است هم برآوردهای تنوع ژنتیکی افزایشی و هم پیشگویی پیشرفت حاصل از گزینش را تحت تأثیر قرار دهد. این نوع اطلاعات ژنتیکی نیز، مورد توجه به‌نژادگران در برنامه‌های اصلاحی است. برآوردهای وارثت‌پذیری به همراه پیشرفت ژنتیکی، به‌نژادگران را قادر می‌سازد تا پیشرفت ژنتیکی واقعی تحت شرایط گزینش را پیشگوئی کنند به طوری که می‌توانند اصلاح انواع روش‌های متفاوت گزینش در شدت‌های گزینش مورد نظر را پیش‌بینی نمایند (فنادها، ۱۳۸۴). دانستن اینکه مقاومت به سیاهک با تعداد کمی ژن اصلی و یا تعداد زیادی ژن فرعی کنترل می‌شود، بسیار با اهمیت می‌باشد چون این موضوع استراتژی انتخاب را مشخص می‌کند. تعداد عوامل ژنتیکی که در حال تفرق باشد و به وسیله روش‌های ژنتیک کمی شناسایی می‌گردد بسیار مهم است (فرشادفر، ۱۳۷۶). در اینجا تعداد واحدها که در حال تفرق هستند برآورد می‌شوند که الزاماً مشابه با تعداد متفاوت مکان‌های ژنی نمی‌باشد که به همین دلیل تعداد عوامل مؤثر به جای تعداد ژن بایستی به کار برد (Multize and Baker, 1985). برای شدت آلودگی حداقل تعداد ژن‌های برآورد شده سه تلاقی بین ۶/۴-۱/۳ می‌باشند. اما نتایج روش‌های مختلف محاسبه تعداد ژن بایستی با احتیاط نگاه شود چون ممکن است چندین پیش‌فرض رعایت نشده باشند . پس باید توجه شود که حضور لینکاژ، غالبیت یا اثر نامساوی در جایگاه‌هاي ژنی متفاوت باعث یک برآورد کمتر از حد واقع ژن‌های در حال تفرق خواهد گردید، بنابراین در برآورد تعداد ژن تعدادی از فرضیات همچون عدم وجود رابطه سیستماتیک بین میانگین و واریانس، عدم وجود اپی‌ستازی، عدم پیوستگی ژن‌ها، آثار مساوی ژن‌های مورد نظر، توزیع آلل‌هاي مثبت در يك والد و منفي در والد ديگر و بالاخره، درجه غالبیت مساوی برای همه آلل‌های مثبت، وجود داشته باشد. چون در عمل محتمل نیست که همه فرضیات فوق صادق باشند (خصوصاً تمام عوامل دارای اثر مساوی باشند) بنابراین برآورد تعداد فاکتور مؤثر در حال تفرق برآورد صحیحی را ارائه نمی‌دهد هر چند الگوی نه چندان دقیق را به به به‌نژادگر ارائه می‌دهد (Lande, 1981). واریانس محیطی (جدول ۵) که طبق تعریف شامل تغییرات غیرژنتیکی می‌شود می‌تواند علت‌های گوناگون داشته باشد و ماهیت آن بستگی زیادی به صفت و گیاه مورد مطالعه دارد. عوامل تغذیه‌ای و آب و هوایی، تأثیرات مادری و اشتباه اندازه‌گیری رایج‌ترین عوامل خارجی هستند که روی واریانس محیطی تأثیر می‌گذارند. علاوه بر این عوامل معمولاً مقدار چشمگیری از تغییرات غیرژنتیکی نیز وجود دارند که علت آن‌ها معلوم نیست. این تغییرات را به طور کلی تغییرات نامرئی می‌نامند (Falconer, 1981). در تمام

تلاقی‌های این آزمایش تغییرات پیوسته در توزیع فراوانی نسل F_2 برای شدت سیاهک معمولی مشاهده شد و لذا می‌توان گفت این تغییرات پیوسته شامل اثرات ژن و اثرات متقابل ژنوتیپ با محیط می‌باشد. از طرفی دیگر تنوع پیوسته الزاماً دلالت بر توارث پلی ژنیک نمی‌کند در حقیقت توزیع پیوسته در جمعیت‌های در حال تفرق تلاقی‌ها ممکن است به علت تفرق چندین عامل ژنتیکی، توارث‌پذیری پایین یا هر دو باشد. تنوع پیوسته ممکن است حتی به طور منوژنیک کنترل شود مشروط به اینکه اثرات محیطی بزرگ باشند. هر چند که دانستن توارث کمی فقط بر اساس حضور تنوع پیوسته در جمعیت‌های در حال تفرق معتبر نمی‌باشد اما در این مطالعه توارث‌پذیری بالا بود و می‌توان نتیجه‌گیری کرد که تنوع پیوسته شاهدی بر توارث کمی صفت می‌باشد. فقدان توزیع نرمال برای این اشکال ممکن است به علت حضور غالبیت، اپی‌ستازی یا لینکاژ بین ژن‌های مقاوم باشد. تمایل منحنی در توزیع‌های فروانی به یک جهت خاص پیشنهاد می‌کند که غالبیت به طرف آن جهت وجود دارد (قنادها، ۱۳۸۴).

References

منابع مورد استفاده

اخوت, م. ۱۳۸۳. بیماري‌های غلات. انتشارات دانشگاه تهران. ۵۶۹ صفحه.

بي‌نام. ۱۳۶۹. آمار سطح زیر کشت ذرت و مناطق آلوده به سیاهک. انتشارات جهاد سازندگي.

جلالی، ص. و م. ح. سبزی. ۱۳۸۳. ارزیابی لاین‌های برگزیده ذرت نسبت به قاچ *Ustilago maydis* عامل سیاهک معمولی. نهال و بذر. ۲۰: ۵۸-۴۹.

حبیبی، ج. و م. زمانی.۱۳۸۲. آفات و بیماري‌های مهم ذرت در ایران و مدیریت تلفیقی آن‌ها. انتشارت مرکز آموزش کشاورزي. ۱۵۶ صفحه.

زمانی، م. و ا. استخر. ۱۳۸۳. بررسی واکنش ژنوتیپ‌های مختلف ذرت نسبت به قارچ *Ustilago maydis* عامل سیاهک معمولی ذرت. چکیده مقالات هشتمین کنگره زراعت و اصلاح نباتات ایران. دانشگاه گیلان . صفحه ۲۷۳.

سبزی، م. ح. ۱۳۷۷. بررسی سیاهک معمولی ذرت و عکس‌العمل ارقام تجاری نسبت به عامل بیماری در مناطق استان اصفهان. پروژه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی- دانشگاه تهران.

فرشادفر، ع. ۱۳۷۶. روش شناسی اصلاح نباتات. انتشارات دانشکاه رازی کرمانشاه. ۶۱۷ صفحه.

قنادها، م. ر. ۱۳۸۴. مطالعه نحوه توارث طول دوره کمون در چهار رقم گندم نسبت به زنگ زرد. مجله علوم زراعی ایران. ۱: ۷۱-۵۳.

واعظی، ش.، س.عبدمیشانی، ب. یزدی‌صمدی، و م. ر. قنادها. ۱۳۷۸. تجزیه ژنتیکی بعضی خصوصیات کمی ذرت. ۱- تجزیه میانگین عملکرد و صفات وابسته به آن. مجله علوم کشاورزی ایران، ۳۰:۸۵۰-۸۳۹ .

Agrios, G. N. 1988. Plant Pathology,3rd ed. Academic Press. New York.

Bojanowski, H. 1969. Studies of inheritance of resistance to common smut in corn.Theo. Appl. Genet. 39: 32-42.

Christansen, J. J. 1963. Corn smut caused by *Ustilago maydis*. American Phytopathological Society, Monograph . 241pp.

Falconer, D. S. 1981. Introduction to quantitative genetics. Oliver and Boyed, Edinburgh and London.

Finker, G. N. and C. S. Holton. 1957. Biology and control of the smut fungi. Ronald Press Co., New York. 622pp

Jeffers, D. 1994. Maize pathology research for the subtropics and highlands. Maize Program Special Report. CIMMYT, Mexico, DF, Mexico.

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

Mather, K. and J. L. Jinks. 1977. Introduction to biometrical genetic. Cornell. Univ. Press. 231pp.

Mather, K. and J. L. Jinks. 1982. Biometrical genetics. The study of continuous variation.Champan and Hall. London. 396pp.

Multize, D. K. and R. J. Baker. 1985. Evaluation of biometrical methods for estimation of the number genes 1.Effect of sample size.Theor. Appl. Genet. 69: 553-558

Odiemah, M. and I. Kovacs. 1990. Combining ability for resistance to stalk rot,ear rot, common smut and head smut disease. Maize Genetics Cooperation Newsletter. 64: 83-84.

Pataky, J. K., C. Nankam and M. R. Kerns. 1995. Evalution of a silk inoculation technique to differentiate reaction of sweet corn hybrids to common smut. Phytopathology. 85: 1323-1328

Pope, D. D. and S. M. McCarter. 1992. Evalutionof inoculation method for inducing common smut on corn ears. Phytopathology. 82: 950-955

Renfro, B. L. 1983. Genetic Resistance to Disease in Maize.CIMMYT, Mexico DF., Mexico. 74pp.

Shutleff, M. C. 1980. Compendium of Corn Disease. American Phytopathological Society, St. Paul, MN. 105pp.

Smith, D. R. and D. G. White. 1988. Disease of corn, pp 687-766, In: Sprague, G. F., and J. E. Dudley (eds) Corn and Corn Improvement. Academic Press, New Yourk. 699pp.

Thakur, R. P., K. J. Leonard and J. K. Pataky. 1989. Smut gall development in adult corn plants inoculated with *Ustilago maydis*. Plant Dis. 73: 921-925

Ullstrup, A. J. 1978. Corn Disease in the United State and their Control, Agric. Hand book, No. 199. 21pp.

Vozdova, G. 1973. The use of biometrical-genetic methods to study the inheritance of resistance to *Ustilago maydis* (D. C) Cda, in Maize. Acta-Uni-Agric,-Berno,-A.21(2): 343-349.

Study of genetic control of resistance to common smut in maize

Ghaed Rahmat[1], M., R. Choukan[2], B. Seyahsar[3] and M. Zamani[4]

ABSTRACT

Ghaed Rahmat, M., R. Choukan, B. Seyahsar and M. Zamani. 2007. Study of genetic control of resistance to common smut in maize. Iranian Journal of Crop Sciences. 9 (1): 77-89.

In order to study the genetic control of resistance to common smut in maize, two resistant inbred lines, K1264/1 and K47/2-2-21 and two susceptible inbred lines, K3304/1-2 and K47/2-2-1-3-3-1, were crossed as K1264/1 × K3304/1-2, K47//2-2-21 × K3304/1-2 and K1264/1 × K47/2-2-1-3-3-1. The F1, F2, BC1 and BC2 progenies were produced and evaluated along with parents using randomized compelet block design with three replications. All generations were artificially inoculated with spordia of *Ustilago maydis* suspension. Inoculation was carried out 7-10 days after silking through injection of 3 ml of 10^6 spores/ml fungal suspension, using tip injection method. At maturity, disease severity was determined based on ears infection and analysed according to generation means analysis method for three crosses. Joint scaling test showed that the presence of additive, dominance and epistasis effects, especially additive × additive and dominance × dominance type, and in lesser extent, additive × dominance, in genetic control of resistance to maize common smut. Average broad and narrow-sense heritability based on three crosses data were estimated 80.3 and 57.3, respectively.

Key words: Maize, Common smut, Generation means analysis, Epistasis, Dominance, Additive.

Received: August, 2007.

1- Former MSc. Student, Faculty of Agriculture, the University of Zabol.
2- Assitant Prof., Seed and Plant Improvement Institute, Karaj, Iran (Corresponding author)
3- Assitant Prof., Faculty of Agriculture, The University of Zabol.
4- Faculty member, Seed and Plant Improvement Institute, Karaj, Iran.