دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی

تجزیه ژنتیکی مقاومت به بیماری پاخوره *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* جدایه T-41 در گندم نان با استفاده از روش تجزیه میانگین نسل‌ها

حسین دشتی[1]، زهرا شهاب الدینی پاریزی[2]، روح‌الله صابری ریسه[3]، مجمدرضا بی‌همتا[4] و مژگان قلی‌زاده وزوانی[5]

1- استاد گروه ژنتیک و تولید گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ولی عصر (عج) رفسنجان، (نویسنده مسوول: dashti@vru.ac.ir)
2- دانشجوی کارشناسی ارشد اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ولی عصر (عج) رفسنجان
3- دانشیار گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ولی عصر (عج) رفسنجان
4- استاد گروه زراعت و اصلاح نباتات، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی کرج، دانشگاه تهران
5- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ولی عصر (عج) رفسنجان

تاریخ دریافت: 97/4/5 تاریخ پذیرش: 97/8/19
صفحه: 9 تا 19

چکیده

بیماری پاخوره گندم با عامل *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* یکی از بیماری‌های مهم گندم است که موجب پوسیدگی طوقه و ریشه شده و در مناطق مختلف ایران خسارت زیادی به مزارع گندم وارد می‌کند. تولید واریته‌های مقاوم، نیازمند به مطالعه ژنتیکی و نحوه وراثت و نوع عمل ژن در مقاومت به بیماری است، که تاکنون هیچگونه گزارشی در رابطه با این بیماری وجود ندارد. لذا به‌منظور تجزیه ژنتیکی مقاومت و یا حساسیت به این بیماری، نسل‌های P_1، P_2، F_1، F_2، BC_1 و BC_2 حاصل از سه تلاقی در گلخانه کشت گردید و پس از آلوده‌سازی مصنوعی گیاهان با نژاد T-41 قارچ عامل بیماری، یاداشت‌برداری فنوتیپی براساس میزان خسارت بیماری و علائم روی طوقه و ریشه انجام گرفت. نتایج تجزیه میانگین نسل‌ها نشان داد مدل پنج پارامتری در دو تلاقی (164×1528 و 1526×1622) و مدل چهار پارامتری در تلاقی سوم (1546×1528) می‌تواند تغییرات بین میانگین نسل‌ها را توجیه کند. اثرات افزایشی، غالبیت و اثرات متقابل افزایشی در غالبیت و غالبیت در غالبیت ژن‌ها در کنترل این صفت دخالت داشتند و اثرات غالبیت و اپیستازی سهم بیشتری از بقیه اثرات داشتند. توزیع فروانی F_2 تلاقی‌های مختلف نشان داد که حساسیت بر مقاومت غالب است. تجزیه اطلاعات به‌دست آمده براساس نسبت‌های کلاسیک نشان داد که با گروه‌بندی فنوتیپی گیاهان نسل F_2 در سه گروه حساس، نیمه‌حساس و مقاوم، این سه گروه به‌ترتیب با نسبت اپیستاتیک (9:6:1) مطابقت می‌نماید که با نتایج به‌دست آمده از تجزیه میانگین نسل‌ها تقریبا مطابقت دارد. در تجزیه میانگین نسل وجود اثر متقابل دوگانه و دوگانه جزئی تشخیص داده شد و حداقل تعداد ژن‌های دخیل در کنترل مقاومت و حساسیت به بیماری دو ژن برآورد گردید که اثر اپیستازی ژن‌های غالب مضاعف با اثر افزایشی یعنی 9:6:1 تطابق نسبی داشت.

واژه‌های کلیدی: اپیستازی، تجزیه میانگین نسل، عمل ژن، *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*

مقدمه

پوسیدگی‌های ریشه و طوقه از جمله بیماری‌های مهمی هستند که هر ساله به گندم خسارت وارد می‌کنند (56). یکی از زیانبارترین بیماری‌های ریشهٔ گندم در سراسر جهان بیماری پاخورهٔ گندم با عامل قارچی *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* است، این قارچ، قارچی خاکزی می‌باشد که موجب پوسیدگی طوقه و ریشه گندم می‌شود (52،14). کنترل بیماری پاخوره گندم در مناطق آلوده با استفاده از روش‌های زراعی و مدیریتی انجام می‌شود. روش‌های زراعی و مدیریتی متعددی از قبیل آیش، تناوب با گیاهان غیرمیزبان، کاشت دیرهنگام، استفاده از کودهای نیتروژن به فرم آمونیوم، کاشت در خاک‌های اسیدی و کاشت در بستر نسبتاً فشرده تا حدودی بیماری پاخوره گندم را کاهش می‌دهد (6). تناوب با گیاهان غیرمیزبان و آیش پرطرفدارترین روش مبارزه این بیماری است (53). انتخاب گیاهان غیرمیزبان جهت استفاده در تناوب در بعضی مناطق، غیراقتصادی و با مشکلاتی روبروست (12) و چندان از آن استقبال نمی‌شود. در بعضی از مناطق ایران تولید گندم عمدتاً به یک سیستم دوکشتی گندم و ذرت محدود است، اگر چه در سال‌های اخیر کلزا در بعضی مناطق ایران در چرخه تناوب زراعی قرار گرفته است؛ ولی اساساً کنترل بیماری پاخوره گندم به‌دلیل محدود بودن نوع گیاهان در چرخه تناوب زراعی مشکل است؛ چون قارچ عامل بیماری پاخوره بیش از 350 گونه گیاهی در خانواده گرامینه را مورد حمله قرار می‌دهد (48). ریشه‌ی ژنوتیپ‌های حساس هنگام حملهٔ قارچ عامل بیماری منهدم‌شده و هنگام آلودگی شدید، سبزخشکیدگی گیاه رخ می‌دهد. تفاوت بین ژنوتیپ‌ها از نظر مقاومت به این بیماری بستگی به سیستم ریشه‌ای گیاه دارد. در گندم تفاوت در میزان حساسیت رقم‌ها نسبت به بیماری پاخوره مربوط به اختلاف در ضخامت دیوارهٔ یاخته‌های رویی (کورتکس) ریشه‌های اولیه در گیاهچه‌های گندم است (50). استفاده از مقاومت ژنتیکی میزبان به‌عنوان کاراترین، اقتصادی‌ترین و از لحاظ زیست محیطی سالم‌ترین روش مبارزه با بیماری‌های گیاهی می‌باشد (41). مطالعات زیادی در مورد غربال‌سازی ژنوتیپ‌ها و ارقام گندم نسبت به این بیماری انجام شده است. برای مثال در غربال‌گری گلخانه‌ای برای بیش از 1200 رقم گندم نسبت به قارچ *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* انجام گرفت، 30 رقم حساسیت کم‌تری نسبت به بیماری نشان دادند (40). در پژوهشی 108 رقم از ارقام مختلف گندم نسبت به بیماری پاخوره ارزیابی شدند، که فقط یک رقم در گروه نسبتاً مقاوم قرار گرفت (18). در پژوهشی 10 رقم از ارقام گندم ایرانی را نسبت به این بیماری غربال نمودند که ارقام الوند، دهدشت و پیشتاز نسبت به این بیماری کمتر آسیب دیدند (32). قلی‌زاده وزوانی و همکاران (24، 25،

[DOI: 10.29252/jcb.12.33.9]

26) در غربال‌سازی گلخانه‌ای 960 ژنوتیپ گندم نان برای مقاومت به بیماری پاخوره گندم (جدایه T-41) 20 ژنوتیپ را شناسایی نمودند که بر اساس نمره بیماری در گروه مقاوم قرار گرفتند. در آزمایشی دیگر، 15 لاین هیبرید از گندم و چاودار را نسبت به بیماری پاخوره گندم ارزیابی نموده و مشخص شد که یک لاین هیبرید از گندم و چاودار به نام ونوس با هفت جفت کروموزوم از چاودار، سطح بالایی از مقاومت به این بیماری را نشان داد (54). اخیرا یک ژن مقاومت به پاخوره از *Thinopyrum intermedium* کلون و به گندم انتقال داده شده و گندم تراریخته *TiMYB2R-1* تولید شده که سطح بالایی از مقاومت به پاخوره را داشت (35). تا به حال رقم مقاومی نسبت به این بیماری معرفی نشده است (42). در انتخاب روش اصلاحی نوع عمل ژن، برآورد اجزای افزایشی، غالبیت و نیز اپیستازی و تشخیص لزوم تولید دورگ یا لاین خالص و نیز پیش‌بینی احتمال به‌دست آمدن لاین‌هایی که بهتر از لاین‌های اولیه هستند، مهم می‌باشد (۳،28،33). تجزیه میانگین نسل‌ها از روش‌های ژنتیک بیومتری است که بر پایه اندازه‌گیری‌های فنوتیپی صفات کمّی بر روی افراد نسل‌های اصلاحی (والدین، نسل اول، بک‌کراس و نسل‌های تفرق) استوار است و این تجزیه تکنیکی مفید در اصلاح نباتات برای برآورد عوامل کنترل ژنتیکی صفات کمی شامل متوسط اثرات اصلی ژن‌ها (افزایشی [a] و غالبیت [d]) و اثرات متقابل دوژنی (افزایشیxافزایشی [aa]، افزایشیxغالبیت [ad] و غالبیتxغالبیت [dd]) می‌باشد (20،29،37). این تکنیک ما را در فهم درست عملکرد والدین استفاده‌شده در تلاقی‌ها و پتانسیل تلاقی‌ها جهت استفاده از هتروزیس و یا سلکسیون برای صفت مورد مطالعه کمک می‌کند. در مطالعه اثرات ژن‌ها در کنترل صفات و برآورد عوامل ژنتیکی تنوع، متخصصین اصلاح نباتات معمولاً اثرات اپیستازی را در صفات کمّی ناچیز انگاشته و قابل صرف‌نظر کردن می‌دانند؛ اما بسیاری از شواهد حاکی از آن است که همیشه نمی‌توان اثر اپیستازی را ناچیز در نظر گرفت (۷،13،27،33،51). وجود اپیستازی در کنترل صفات توسط آزمون‌هایی تشخیص داده می‌شود که آزمون مقیاس مشترک بهترین و معتبرترین آزمونی است که در تشخیص اپیستازی ژن استفاده می‌شود که برپایه رگرسیون به‌روش حداقل مربعات وزنی استوار است که در آن از اطلاعات تمام نسل‌ها استفاده می‌شود (10،11). در پژوهشی که روی عمل ژن‌ها در برنج با استفاده از تجزیه میانگین نسل انجام شد، با انجام آزمون مقیاس وزنی مشخص شد که اجزای افزایشی-غالبیت همراه با اثرات متقابل افزایشیxافزایشی، افزایشیxغالبیت و اپیستازی از نوع مضاعف در کنترل ژنتیکی صفات مرتبط با عملکرد دخالت دارند و تعداد فاکتورهای مؤثر بیشتر از یک ژن برآورد شد (32). همچنین نتایج نحوه توارث برخی صفات مورفولوژیک در گندم در شرایط تنش و عدم تنش تفاوت معنی‌داری را بین نسل‌ها از نظر اکثر صفات در هر دو شرایط محیطی نشان داد. صفت ارتفاع بوته در شرایط بدون تنش و صفات طول سنبله اصلی و وزن هزار دانه در هر دو شرایط محیطی تحت تاثیر اثرات فوق‌غلبه‌ی ژن‌ها بودند (2). همچنین در کنترل ژنتیکی اغلب بیماری‌های گیاهی معمولاً اثرات اپیستازی وجود دارد، مطالعه مقاومت به زنگ کتان منجر به ارائه فرضیه ژن برای ژن شد که در آن دو ژن با اثر اپیستازی از نوع ژن‌های مکمل (9:7) درگیرند. در مطالعه عمل ژن برای مقاومت در مرحله بلوغ نسبت به زنگ زرد در گندم، آزمون مقیاس وزنی نشان داد که مقاومت به زنگ زرد بوسیله اجزای افزایشی، غالبیت و اپیستازی خصوصاً افزایشی در افزایشی توصیف می‌گردد (23،47). توارث‌پذیری از متوسط تا زیاد متغیر بود و تعداد ژن کنترل‌کننده مقاومت بین 3-6 برآورد گردید (23). تعیین نحوه توارث مقاومت به سفیدک سطحی در جو، اثرات اپیستازی معنی‌دار بود، ولی اثر غالبیت مهم‌ترین عامل کنترل‌کننده مقاومت بود. درجه غالبیت برای کلیه صفات بیش از یک به‌دست آمد که تاییدکننده عمل غالبیت و فوق‌غالبیت ژن‌ها در کنترل صفات بود (46). در پژوهشی مقاومت به زنگ سیاه گندم با دو ژن با نسبت‌های فنوتیپی حساس 1: 8 نیمه مقاوم: 7 مقاوم، گزارش شد (1). از آنجا که هیچ اطلاعاتی از اثرات ژن‌های کنترل‌کننده مقاومت به بیماری پاخوره در دست نیست، این پژوهش به‌منظور مطالعه ژنتیکی بیماری پاخوره در گندم در شرایط گلخانه انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

منابع ژنتیکی مورد استفاده

نسل‌های مورد استفاده شامل P_1, P_2, F_1, F_2, BC_1 و BC_2 حاصل از سه تلاقی مختلف و جداگانه (1528×164، 1622×1526 و 1546×1528) بین ژنوتیپ‌های حساس و مقاوم به بیماری پاخوره بودند. والدین مقاوم و حساس به بیماری پاخوره از غربال‌گری ژرم‌پلاسم گندم نان در مقابل بیماری پاخوره در گلخانه دانشگاه ولی عصر (عج) انتخاب شدند (24،25،26) (جدول 1). تلاقی‌های لازم برای تولید نسل‌های F_1، F_2، BC_1 و BC_2 در سال‌های 1393 و 1394 انجام گرفت. در این آزمایش، قارچ *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* جدایه T-41 از کلکسیون قارچ‌شناسی آزمایشگاه بیماری‌شناسی دانشگاه ولی عصر (عج) تهیه شد. محیط کشت انتخابی برای کشت قارچ Potato Dextrose Agar (PDA)، همراه با آنتی‌بیوتیک استرپتومایسین بود. جهت تهیه مایه تلقیح از ارزن استفاده گردید.

[DOI: 10.29252/jcb.12.33.9]

جدول 1- مشخصات ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در این مطالعه

Table 1. Characteristics of genotypes are used in this study

ژنوتیپ	ویژگی
1528	پاییزه، میانگین ارتفاع 96 سانتی‌متر، عملکرد دانه در یک متر 61/63 گرم، مقاوم به بیماری پاخوره
1622	پاییزه، میانگین ارتفاع 82 سانتی‌متر، عملکرد دانه در یک متر 54/404 گرم، مقاوم به بیماری پاخوره
164	بهاره، میانگین ارتفاع 55 سانتی‌متر، عملکرد دانه در یک متر 167 گرم، حساس به بیماری پاخوره
1526	پاییزه، میانگین ارتفاع 111 سانتی‌متر، عملکرد دانه در یک متر 83/609، حساس به بیماری پاخوره
1546	پاییزه، میانگین ارتفاع 93 سانتی‌متر، عملکرد دانه در یک متر 49/957، حساس به بیماری پاخوره

کشت گیاهان در گلخانه

از هر یک از نسل‌های P_1, P_2, F_1, F_2, BC_1 و BC_2 در هر تلاقی به تعداد کافی بوته در گلدان‌های 800 گرمی در قالب طرح کاملاً تصادفی نامتعادل در گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه ولی عصر (عج) در سال زراعی 96-95 کشت گردیدند و دمای گلخانه پس از سبز شدن گیاهان بین 25-20 درجه سانتی‌گراد کنترل شد. زمانی که ارتفاع بوته‌ها به حدود 10 سانتی‌متر رسید، آلودگی مصنوعی بر روی تک تک گیاهان انجام شد. نمره‌دهی (اسکور) برای صفت شاخص علائم بیماری بر روی طوقه و ریشه بر اساس مقیاس صفر تا پنج به‌شرح زیر برای هر گیاه داخل گلدان انجام گرفت (49).

صفر: ریشه‌ها و طوقه‌ها بدون لکه نکروزه؛ 1: ریشه دارای یک یا چند لکه نکروزه و طوقه فاقد علائم؛ 2: ریشه دارای لکه‌های ممتد نکروزه (نکروزه شدن بیشتر از 25% و کمتر از 50% ریشه‌ها) و طوقه بدون علائم؛ 3: نکروزه شدن بیشتر از 50% ریشه‌ها و سیاه‌شدگی طوقه؛ 4: ریشه‌ها تقریبا سیاه رنگ با توسعه 75% سیاه‌شدگی طوقه؛ 5: ریشه و طوقه سیاه و سبزخشکیدگی گیاه.

مدل مورد استفاده برای تجزیه میانگین نسل‌ها، مدل ماتر و جینکز (37) بود که براساس آن مجموع اثر افزایشی [d] مجموع اثر غالبیت [h] مجموع اثر متقابل بین اثرات

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

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

$$E_W= 1/4 (V_{P1}+ V_{P2}+2V_{F1})$$

در فرمول‌های بالا E_W واریانس اثرات محیطی، D واریانس اثرات افزایشی، H واریانس اثرات غلبه و F کوواریانس اجزای افزایشی و غالبیت روی تمام مقدارهای ژنی را نشان می‌دهد (37). جهت تشخیص دو گروه از اپیستازی‌های مهم: اپیستازی غالب مضاعف (دوگانه) و اپیستازی ژن‌های تکمیل‌کننده از اصول زیر استفاده شد (39). اثرات ژنتیکی نه نوع ژنوتیپ و نسبت‌های مندلی حاصل از دو مکان ژنی در نسل F_2 در جدول 1 نشان داده شده، d_a و d_b به‌ترتیب نماینده اثرات افزایشی در دو مکان ژنی A و B، h_a و h_b نماینده اثرات غالبیت دو مکان ژنی که، i_{ab}: نماینده اثر متقابل بین دو اثر افزایشی، $j_{a/b}$ و $j_{b/a}$: به‌ترتیب نماینده اثر متقابل بین اثر افزایشی مکان A در اثر غالبیت مکان B و اثر متقابل اثر افزایشی مکان B در اثر غالبیت مکان A و l_{ab} اثر متقابل غالبیت A در مکان B. لذا در مجموع چهار نوع اثر متقابل همراه با دو h's شش اثرند که هرکدام از آنها می‌توانند صفر افزایشی [i]، مجموع اثر متقابل بین اثرات افزایشی و غالبیت [j]، مجموع اثر متقابل بین اثرات غالبیت [l] در هر تلاقی برآورد گردید.

برآوردهای شش‌پارامتری یا کمتر با استفاده از حداقل مربعات وزنی[1] به‌دست آمد. در این مطالعه هر شش نسل با دو، سه، چهار، پنج و شش پارامتر امتحان شدند تا مشاهده شود که کدام مدل به‌عنوان بهترین مدل می‌تواند تغییرات بین میانگین‌ها را توجیه نماید. برازش تمام مدل‌ها به‌وسیله آزمون نیکویی برازش بر مبنای توزیع کای‌اسکوئر (Chi-square) با چهار، سه، دو و یک درجه آزادی ارزیابی شد که به آنها آزمون مقیاس وزنی گویند (38).

میزان توارث‌پذیری عمومی (h^2_b) و خصوصی (h^2_n) نیز به‌صورت زیر در هر تلاقی محاسبه گردید.

1) $h^2_b= \{[V_{F2} -(V_{P1} \times V_{P2})^{1/2}]/V_{F2}\}$ (36)

2) $h^2_b= \{[V_{F2} - (V_{P1}+ V_{P2}+ V_{F1})/3] /V_{F2}\}$ (4)

3) $h^2_b= \{[V_{F2} – (V_{P1} \times V_{P2} \times V_{F1})^{1/3}] / V_{F2}\}$ (55)

4) $h^2_b= \{[V_{F2}- (V_{P1}+ V_{P2}+2V_{F1})/4] / V_{F2}\}$ (37)

5) $h^2_n= (VD)/VD+VH+VE$ (15)

براساس روش ماتر و جینکز (37)، اجزا تنوع از طریق فرمول‌های زیر محاسبه شدند:

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

+ و یا - باشند. بدین ترتیب می‌توان (3^6=729) نوع رابطه در تظاهر دو مکان ژنی تشخیص داد. خیلی از این‌ها در حقیقت تصاویر آیینه‌ای یکدیگرند که با تغییر ساده علامت این شش مقدار ایجاد می‌شوند. آنچه که اینجا مد نظر ماست دو گروه مهم از آن‌ها یعنی اثر متقابل دو ژنی تکمیلی (9:7) و دوپلیکیت است (15:1).

اگر $d_a=d_b=h_a=h_b=i_{ab}=j_{a/b}=j_{b/a}=l_{ab}$ باشد آنگاه AABB, AABb, AaBB, و AaBb فنوتیپ مشترک دارند و همچنین Aabb, AAbb, aaBb, aaBB و aabb فنوتیپ مشترک دارند (نسبت 9:7) (جدول 2). به‌همین ترتیب اگر $d_a=d_b=h_a=h_b=-i_{ab}=-j_{a/b}=-j_{b/a}=-l_{ab}$ باشد همه یک نوع فنوتیپ دارند به‌جز aabb، (نسبت 15:1). اگر j مثبت و (i و h) با l هم علامت باشند رابطه تکمیل‌کنندگی است و زمانی که j منفی و (i و h) با l مختلف‌العلامه باشند رابطه مضاعف (Duplicate) است (جدول 3). اگر j، i، h و l در دو گروه فوق مقادیری کمتر از d داشته باشند به‌ترتیب تکمیلی جزئی و یا دوگانه جزئی گویند و زمانی که مقادیر j، i، h و l بزرگ‌تر از d باشند به آن سوپرتکمیلی و یا سوپردوگانه گویند.

1- Weighted least square

[DOI: 10.29252/jcb.12.33.9]

جدول ۲- نسبت‌ها و اثرات ژنتیکی در نسل دوم دی‌هیبرید

Table 2. Ratios and genetic effects in second generation of dihybrid

	BB	Bb	bb
AA	$\frac{d_a+d_b}{1}+i_{ab}$	$\frac{d_a+h_b}{2}+j_{a/b}$	$\frac{d_a-d_b}{1}-i_{ab}$
Aa	$\frac{h_a+d_b}{2}+j_{b/a}$	$\frac{h_a+h_b}{4}+l_{ab}$	$\frac{h_a-d_b}{2}-j_{b/a}$
aa	$\frac{-d_a+d_b}{1}-i_{ab}$	$\frac{-d_a+h_b}{2}-j_{a/b}$	$\frac{-d_a-d_b}{1}+i_{ab}$

جدول ۳- علایم اثرات ژنتیکی در دو حالت اپیستازی غالب مضاعف و تکمیل کنندگی

Table 3. Signs of the genetic effects in tow epistatic relationships (complementary an Duplicate)

نوع اپیستازی	l	j's	i	h's	d's
تکمیل کنندگی	+	+	+	+	+
	-	+	-	-	+
مضاعف	-	-	-	+	+
	+	-	+	-	+

نتایج و بحث

جهت آزمون اختلاف بین نسل‌ها از دو روش تجزیه واریانس وزنی و روش بوت‌استرپ[1] انجام گرفت. نتایج تجزیه واریانس وزنی (عکس واریانس داخل هر نسل به‌عنوان ضریب وزن) برای آزمون اختلاف میانگین نسل‌ها و مقایسه میانگین‌ها به‌روش بوت‌استرپ به‌ترتیب در جدول‌های ۴ و ۵ نشان می‌دهد که تفاوت معنی‌داری بین نسل‌های مورد بررسی برای این صفت در هر سه تلاقی در سطح احتمال ۰/۰۱ وجود دارد. بنابراین تجزیه میانگین نسل را توجیه می‌نماید. در جدول ۵ مشاهده می‌شود که میانگین والدین در هر سه تلاقی تفاوت قابل ملاحظه‌ای را دارند و میانگین F_1 و F_2 بین متوسط والدین و والد حساس وجود دارد که نشان‌دهندهٔ وجود غالبیت نسبی به‌طرف والد حساس می‌باشد. برآوردهای اثرات ژن‌ها همراه با آزمون مقیاس وزنی و کای‌اسکوئر در مدل برازش‌شده منتخب در جدول ۶ نشان داده شد. کای‌اسکوئر برای مدل سه پارامتری معنی‌دار بود که بیانگر این است که مدل افزایشی-غالبیت m، [d] و [h] برای صفت مورد نظر مناسب نیست؛ لذا حداقل یکی از اثرات متقابل غیرآللی در مدل ممکن است وجود داشته باشد که در مدل لحاظ نشده است (۲۲،۳۷). پس علاوه بر اثرهای ژنتیکی اصلی، اثر متقابل دوژنی نیز در کنترل مقاومت به پاخوره دخالت دارند. لذا درگیر بودن حداقل دو ژن در کنترل یک صفت وجود اپیستازی را اثبات می‌کند. لذا تمام مدل‌های ممکنه برای میانگین‌های مشاهده‌شده برازش داده شدند تا بهترین مدل مشخص شود.

جدول ۴- تجزیه واریانس وزنی نسل‌ها در تلاقی‌های مختلف برای صفت مقاومت به بیماری پاخوره

Table 4. Weighted analysis of variance for take-all resistance in different crosses

منابع تغییر	۱۵۲۸ × ۱۵۴۶(تلاقی ۳)		۱۶۲۲ × ۱۵۲۶ (تلاقی ۲)		۱۵۲۸ × ۱۶۴(تلاقی ۱)	
	درجه آزادی	میانگین مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات
نسل	۵	۷۳/۳۵۶ **	۵	۵۷/۹۸۳**	۵	۷۷/۱۹۹**
خطای آزمایشی	۱۴۲	۱/۲۲۴	۱۷۳	۱/۲۸۳	۱۷۵	۱/۶۵

**: معنی دار د ر سطح ۰/۱۰

جدول ۵- مقایسه میانگین و خطای استاندارد اسکور بیماری در نسل‌های مختلف در سه تلاقی، در طرح کاملاً تصادفی نامتعادل به روش Bootstrap بر مبنای ۱۰۰۰ نمونه

Table 5. Means separation and standard deviation of disease scores for three crosses in unbalanced completely randomized design by Bootstrap method based on 1000 samples

نسل	(تلاقی ۳) ۱۵۲۸×۱۵۴۶	۱۶۲۲×۱۵۲۶ (تلاقی ۲)	۱۵۲۸×۱۶۴ (تلاقی ۱)
P_2	۰/۱±۰/۴۱^{c}	۰/۲±۰/۴۲^{c}	۰/۱۸±۰/۴۱^{c}
BC_2	۲/۹±۰/۴۱^{b}	۲/۵±۰/۳۹^{b}	۳±۰/۳۵^{b}
F_2	۳/۳۹±۰/۱۳^{ab}	۲/۴۷±۰/۱۲^{b}	۳/۳۷±۰/۱۱^{b}
F_1	۳/۵±۰/۵۲^{ab}	۳/۵۳±۰/۴۸^{ab}	۳/۵±۰/۵۵^{ab}
BC_1	۴/۴±۰/۴۱^{a}	۳/۵۴±۰/۴۱^{ab}	۳/۵۵±۰/۴۵^{ab}
P_1	۴/۵۴±۰/۳۹^{a}	۴/۵±۰/۴۳^{a}	۴/۶۷±۰/۳۹^{a}

در هر تلاقی میانگین‌هایی که حداقل در یک حرف مشترکند تفاوت معنی‌داری در سطح ۰/۰۵ به روش دانکن ندارند.

1- Bootstrap

[DOI: 10.29252/jcb.12.33.9]

به‌منظور ارائه مناسب‌ترین مدل برای توجیه تغییرات مشاهده‌شده بین میانگین‌های تمام نسل‌ها، به‌وسیله آزمون کای‌مربع با 1، 2، 3، و4 درجه‌آزادی برای نکویی برازش آزمون گردیدند. در نهایت مدلی انتخاب گردید که آزمون کای‌مربع آن معنی‌دار نشد و آزمون t مربوط به پارامترهای کنترل‌کننده آن صفت معنی‌دار بود. افزودن عوامل ژنتیکی به مدل باعث می‌شود که درصد بیشتری از تغییرات بین میانگین نسل‌ها توجیه‌شده و مقدار کای‌مربع کاهش‌یافته و برازش مناسب‌تری حاصل شود، اما در این صورت ممکن است که بعضی از اثرات داخل مدل معنی‌دار نباشند، برداشتن اجزائ غیرمعنی‌دار از مدل شش پارامتری و سپس برازش بقیه اجزاء، منجر به برازش مناسب‌تری می‌گردد البته باید توجه کرد که در مدل‌های کاهش‌یافته نسبت به مدل شش‌پارامتری، خطای معیار تمام اجزاء کمتر از خطای معیار مدل شش‌پارامتری بوده و در ضمن کای‌مربع آن معنی‌دار نگردیده است که این امر نشان می‌دهد که دقت مدل افزایش یافته است (22،37).

با توجه به نتایج به‌دست آمده توسط روش تجزیه میانگین نسل‌ها، اثرات افزایشی، غالبیت و اپیستازی درکنترل صفت مقاومت به بیماری پاخوره در هر سه تلاقی نقش داشتند. البته اثرات غالبیت درکنترل صفت از اهمیت بیشتری برخوردار بود. در تلاقی اول و دوم برای صفت مقاومت به پاخوره مدل پنج‌پارامتری شامل m، [d]، [h]، [j] و [l] بهترین برازش را داشت که این اجزا در سطوح 0/05 و 0/001 معنی‌دار شدند و در تلاقی سوم مدل چهارپارامتری بیشترین برازش را داشت و پارامتر j در آن وارد نشد.

محاسبه اثرات پنج‌گانه ژنتیکی (جدول 6) نشان می‌دهد که هم اثرات غالبیت و هم اثرات افزایشی برای صفت مقاومت به بیماری پاخوره معنی‌دار شده است ولی اثرات غالبیت دارای مقدار بزرگتری از اثرات افزایشی است. برآورد اثرات غالبیت دارای مقادیر مثبت است که نشانگر آن است که اثرات غالبیت باعث افزایش اسکور بیماری (حساسیت) می‌شوند هر چند اثرات افزایشی نیز در تجزیه میانگین نسل‌های این صفت معنی‌دار شده است و موجب افزایش اسکور بیماری می‌گردد. علامت [d] بستگی به این دارد که کدام والد P_1 و کدام والد P_2 می‌باشد. در اینجا چون والد P_1 حساس انتخاب شد و والد حساس دارای اسکور بالاتری از والد P_2 که مقاوم است دارد، لذا مقدار d مثبت است. در صفت مورد بررسی در هر سه تلاقی مدل برازش‌یافته دارای جزء [l] بوده که علامت جبری آن مخالف اثر غالبیت بود که گفته می‌شود اپیستازی دوگانه یا غالب مضاعف وجود دارد . لذا می‌توان نتیجه گرفت برای صفت مورد بررسی گزینش تحت شرایط خودگشنی قابل تثبیت نمی‌باشد (16) و روند پیشرفت اصلاحی را کند می‌نماید زیرا سبب کاهش واریانس نسل‌ها و توده‌های در حال تفرق می‌شود (22). به‌طور کلی اپیستازی مضاعف ارزش اصلاحی نداشته و می‌تواند باعث بروز نتایج غیرقابل پیش‌بینی شود (57). اثرات متقابل دوگانه عموماً واریانس فامیل‌ها و جمعیت‌های در حال تفرق را کاهش داده در حالیکه اثرات متقابل مکمّل (Complementary) این واریانس را افزایش می‌دهد (39). بنابراین اثرهای متقابل غیرآللی (اپیستازی ژنی) افزایشی در غالبیت [j] و غالبیت در غالبیت [l] به‌همراه اثرهای اصلی افزایشی و غالبیت در کنترل صفت مقاومت به پاخوره نقش داشتند و اثرات افزایشی در افزایشی [i] اهمیت کمتری داشته است. جهت دستیابی به نتیجه مطلوب در سلکسیون، انتخاب گیاهان مطلوب باید در نسل‌های پیشرفته اصلاحی صورت گیرد (22).

جدول 6- برآورد میانگین و اجزا ژنتیکی مقاومت به بیماری پاخوره بروش تجزیه میانگین نسل در سه تلاقی

Table 6. Estimation of mean and genetic components for take-all disease by generation means analysis in three crosses

تلاقی‌ها	اجزای ژنتیکی نسل‌ها							
	m	[d]	[h]	[i]	[j]	[l]	χ^2	[h/d]
164×1528 (تلاقی 1)	2/42±0/1***	2/25±0/1***	2/65±0/6***	-	-3/5±1***	-1/6±0/7*	0/11 ns	1/18
1622×1526 (تلاقی 2)	2/35±0/15***	2/15±0/15***	4/35±0/7***	-	-3/5±1***	-4/2±0/8***	1/78ns	2/02
1528×1546 (تلاقی 3)	2/32±0/1***	2/18±0/1***	3/13±0/7***	-	-	-1/93±0/8*	2/76ns	1/42

برآوردهای نسبت غالبیت[h/d] برای سه تلاقی در جدول 6 ارائه شده است. مثبت‌بودن نسبت غالبیت (0<h/d<+1) بدین مفهوم است که غالبیت نسبی برای صفت مورد بررسی به طرف والدی که دارای میانگین بالاتری است و در صورت منفی بودن این نسبت (-1<h/d<0) مفهوم آن این است که غالبیت نسبی به طرف والدی اتفاق افتاده که دارای میانگین کوچک‌تری برای صفت مورد بررسی می‌باشد (17). در این مطالعه مقدار [h/d] در هر سه تلاقی برای صفت مقاومت به پاخوره از یک بیشتر است که نشان می‌دهد برآیند متوسط اثرات غالبیت بیش از متوسط اثرات افزایشی مکان‌های ژنی دخیل در کنترل صفت می‌باشد که نشان‌دهنده فوق‌غالبیت است اگرچه متر و جینکز (37) این نسبت را برای زمانی که بیش از یک ژن در کنترل صفت دخالت دارند معتبر نمی‌دانند. چون ممکن است که مقدار زیاد [h/d] در اثر کوچک‌بودن بیش‌ازحد d باشد و کوچک شدن بیش‌ازحد d بخاطر مقادیر افزایشی مثبت و منفی ژن‌های کنترل‌کننده صفت بوده که با خنثی کردن اثر یکدیگر منجر به کاهش بسیار زیاد d شده و بدین ترتیب [h/d] به سمت بی‌نهایت میل خواهد کرد (22). به این دلیل از پارامتر $(H/D)^{1/2}$ بجای نسبت [h/d] به‌عنوان برآورد متوسط غالبیت استفاده می‌نمایند (30). برآورد

[DOI: 10.29252/jcb.12.33.9]

$(H/D)^{1/2}$ متوسط غالبیت را نشان می‌دهد. مقادیر بزرگ‌تر از یک معرف فوق‌غالبیت، می‌باشد. لذا نتایج به‌دست آمده بیانگر نقش بارزتر اثر فوق‌غالبیت در کنترل صفت می‌باشد (جدول 7).

جدول 7- اجزای واریانس برای صفت مقاومت به بیماری در سه تلاقی

Table 7. The components of variation for disease resistance in three crosses

تلاقی		اجزای واریانس					
		H	D	E_W	F	$F/(D*H)^{1/2}$	$(H/D)^{1/2}$
(تلاقی 1)	164×1528	5/5	0/83	0/3	1/48	0/59	2/58
(تلاقی 2)	1526×1622	5/8	0/18	0/6	2/84	2/74	5/598
(تلاقی 3)	1546×1528	0/77	3/13	0/493	0/52	0/33	0/49

E_w: تشریک مساعی (همبستگی) روی تمام مقدارهای ژنی؛ F: واریانس اثرات غلبه و H: واریانس اثرات افزایشی، D: واریانس اثرات محیطی

در تلاقی اول و دوم جز مربوط به واریانس غالبیت (H) از جز افزایشی بسیار بیشتر است اما در تلاقی سوم برعکس است و جزء افزایشی (D) تنوع موجود در بین میانگین نسل‌ها بسیار بیشتر است و درجه غالبیت کمتر از یک است. مقدار مثبت F (جدول 7) نشان داد که ژن‌های غالب عمدتاً در والد حساس که مقدار بیشتری از صفت مذکور را در مقایسه با والد مقاوم دارا می‌باشد، قرار گرفته‌اند. در واقع ژن‌های غالب در هر سه تلاقی در والد با مقدار بالای اسکور بیماری (حساسیت) جمع شده‌اند و انتظار هم همین است چون والدین براساس بیشترین اسکور (5: حساس‌ترین) و کمترین اسکور (صفر: مقاوم‌ترین) انتخاب شده‌اند. مقدار پارامتر F را براساس فرمول محاسباتی آن می‌توان متوسط حاصل‌ضرب d و h روی تمام مکان‌های کنترل‌کننده صفت نامید، زیرا $BC_1-BC_2=1/4D+1/4H+1/2dh$ +e-(1/4D+1/4h-1/2dh+e) است که برابر با dh خواهد شد. از طرفی مقدار $F/(D*H)^{1/2}$ را می‌توان F استانداردشده نامید زیرا مقدار مخرج تقریبا جذر واریانس های افزایشی و غالبیت است و مقدارآن $\sigma H\sigma D$ می‌باشد لذا مقدار F استانداردشده برای تلاقی دوم بیشترین مقدار و نشان‌دهنده بزرگی اثرات hd در این تلاقی است. واریانس محیطی که طبق تعریف شامل تمام تغییرات غیرژنتیکی می‌شود می‌تواند علت‌های گوناگونی داشته باشد و ماهیّت آن بستگی زیادی به صفت و گیاه مورد مطالعه دارد. به‌طور کلی واریانس محیطی منبع خطایی است که از دقت مطالعات ژنتیکی می‌کاهد و بنابراین هدف محقق یا اصلاحگر این است که این واریانس را تا حد امکان کاهش دهد و نمی‌توان آن را با طرح‌های آزمایشی حذف کرد. این تغییرات را به‌طور کلی تغییرات نامرئی[1] می‌نامند (15). نکته قابل توجه در بررسی اجزاء تنوع این بود که جزء ارثی تنوع (D,H) در تلاقی‌ها بزرگ‌تر از بخش تنوع محیطی (E_W) بود و از آنجایی که واریانس محیطی منبع خطایی است که از دقت مطالعات ژنتیکی می‌کاهد، می‌توان به صحت نتایج به‌دست آمده از نظر تأثیر کم محیط بر آن اطمینان بیشتری داشت. وراثت‌پذیری یکی از مهم‌ترین خصوصیات یک صفت کمّی است، مهم‌ترین نقش وراثت‌پذیری در مطالعه ژنتیکی صفات کمّی نقش پیش‌بینی‌کننده آن است. برآوردهای وراثت‌پذیری از این جهت مهم است که اطلاعات لازم برای انتقال صفات از والدین به نتاج را فراهم کرده و بنابراین ارزیابی اثرات ژنتیکی و محیطی در تنوع فنوتیپی را تسهیل و به گزینش کمک می‌کند (5،15).

جدول 8- برآورد وارث‌پذیری عمومی و خصوصی در سه تلاقی برای مقاومت به پاخوره

Table 8. Estimation of broad and narrow sense heritability in three crosses for take-all resistance

تلاقی	وراثت‌پذیری عمومی(h^2_b)*					وراثت‌پذیری خصوصی (h^2_n)
	روش محمود و کرامر	روش وارنر	روش آلارد	روش ماتر	میانگین	روش فالکونر
(تلاقی1) 164×1528	0/87	0/87	0/86	0/86	0/86	0/198
(تلاقی2) 1526×1622	0/86	0/80	0/76	/72	0/80	0/043
(تلاقی3) 1546×1528	0/9	0/85	0/80	0/77	0/84	0/50

*: به 1، 2، 3 و 4 مواد و روش‌ها مراجعه شود.

برآوردهای توارث‌پذیری عمومی و خصوصی بر مبنای فرمول‌های متفاوت (جدول 8) نشان داد که تقریباً صفت مقاومت به پاخوره در هر سه تلاقی دارای وراثت‌پذیری عمومی بالایی می‌باشد و وراثت‌پذیری خصوصی پایین است و نشان‌دهنده این است که واریانس اثرات اپیستازی و غالبیت در کنترل این بیماری بالاست. برآورد وراثت‌پذیری خصوصی، تعداد فاکتورهای مؤثر و تخمین واریانس افزایشی همگی بر مبنای فرض‌های نبودن اپیستازی و لینکاژ محاسبه می‌گردند (37،55). اما در این صفت اثرات اپیستازی و غالبیت بسیار شدید و قوی است، و اثرات افزایشی بسیار کم است. لذا پایین بودن وراثت‌پذیری خصوصی در تلاقی اول و دوم نیز به همین دلیل است. ولی وراثت‌پذیری خصوصی در تلاقی سوم بسیار بیشتر از تلاقی اول و دوم است که حاکی از این است که واریانس افزایشی در این تلاقی بیشتر است و این مسئله در مقدار D (جدول 7) مشهود است. دانستن اینکه یک صفت با چه تعداد ژن اصلی و ژن فرعی کنترل می‌شود بسیار

1- Intangible variation

[DOI: 10.29252/jcb.12.33.9]

بااهمیت می‌باشد، زیرا این امر می‌تواند در انتخاب استراتژی اصلاحی و برآورد اندازه جمعیت مورد نیاز در نسل‌های تفرق بسیار مفید باشد. در برآورد تعداد ژن تعدادی از فرضیات مانند: 1) عدم رابطه سیستماتیک بین میانگین و واریانس، 2) عدم وجود اپیستازی، 3) عدم پیوستگی ژن‌ها، 4) جمع‌بودن آلل‌های مثبت ژن‌هایی که دو والد از لحاظ آن‌ها متفاوت هستند در یک والد و جمع‌بودن آلل منفی در والد دیگر و 5) مساوی‌بودن اثر آلل‌های مثبت بایستی صادق باشند 6) درجه غالبیت مساوی برای همه آلل‌های مثبت وجود داشته باشد. چون در عمل محتمل نیست که همه فرضیات فوق‌صادق باشند (خصوصاً تمام عوامل دارای اثرات مساوی باشند) لذا برآورد تعداد فاکتور مؤثر در حال تفرق برآورد صحیحی را ارائه نمی‌دهد (37،45).

جدول 9- برآورد حداقل تعداد فاکتور موثر در کنترل مقاومت به بیماری پاخوره به روش‌های مختلف در سه تلاقی

Table 9. Estimates of the number of genes contributing in take-all resistance in three crosses by different method

تلاقی	فرمول‌ها			
	1	2	3	میانگین کل
164×1528	1/4	1/4	0/79	
1526×1622	1/80	1/5	0/77	
1546×1528	1/69	1/48	1/79	
میانگین	1/63	1/46	1/12	1/4

1. $n_E= (\mu_{P2} - \mu_{P1})^2/ [8(\sigma^2_{F2} - \sigma^2_{F1})]$
2. $n_E= (\mu_{P2} - \mu_{P1})^2/ \{8 [\sigma^2_{F2}-(0.5\ \sigma^2_{F1}+ 0.25\ \sigma^2_{P1}+ 0.25\ \sigma^2_{P2})]\}$
3. $n_E= (\mu_{P2} - \mu_{P1})^2/ \{8 [\sigma^2_{BC1}+ \sigma^2_{BC2} - (\sigma^2_{F1} + 0.5\ \sigma^2_{P1} + 0.5\ \sigma^2_{P2})]\}$

به این دلیل است که مقادیر عددی مربوط به تعداد ژن توسط فرمول‌های مختلف، متفاوت است. در اینجا تعداد واحدها که در حال تفرق هستند برآورد می‌شوند که الزاماً مشابه با تعداد متفاوت مکان‌های ژنی نمی‌باشد و به‌همین دلیل تعداد عوامل مؤثر بجای تعداد ژن بایستی بکار برده می‌شود (34). اولین ویژگی که در فرمول‌های فوق‌ملاحظه می‌شود، فرض افزایشی‌بودن عمل ژن‌هاست. لذا تخمین‌ها زمانیکه غالبیت و اپیستازی در کنترل صفت نقش داشته باشند کمتر از مقدار واقعی تخمین زده می‌شوند (29). لذا به‌دلیل وجود اثرات غالبیت و اپیستازی شدید مقدار n کمتر از مقدار واقعی تخمین زده شده است. باتوجه به تعداد ژن‌های برآوردشده در این پژوهش برای کنترل مقاومت به بیماری پاخوره از روش‌های مختلف، می‌توان گفت که حداقل دو ژن با رابطه اپیستاتیک در کنترل این صفت دخالت دارند (جدول 9). با توجه توزیع افراد F_2 در تلاقی‌ها (شکل 1). افزایش فراوانی افراد همراه با افزایش شدت بیماری مشهود است که نشان‌دهنده غالبیت حساسیت است. از طرفی برآورد حداقل دو ژن در کنترل این صفت و معنی‌دار شدن اثرات اپیستازی [j] و [l] در تجزیه میانگین نسل‌ها، لذا باتوجه به فراوانی افراد F_2 در کلاس‌های مختلف فرضیه اپیستازی مضاعف با اثر افزایشی ارائه شد. در اپیستازی مضاعف با اثر افزایشی آلل غالب در یکی از دو لوکوس چه در حالت هموزیگوسیتی و چه در صورت هتروزیگوسیتی، فنوتیپ مشابهی به‌وجود می‌آورد، در این صورت نسبت نتاج در نسل دوم از 9:3:3:1 به نسبت 9:6:1 تغییر می‌یابد. در این نوع اپیستازی، فنوتیپ ژنوتیپ‌هایی که در آن‌ها ژن غالب در یک لوکوس وجود دارد یعنی ژنوتیپ‌های A-bb و -aaB از یکدیگر متمایز نمی‌باشد و یک نوع فنوتیپ را ایجاد می‌کنند (21). این فرضیه اینگونه توجیه و آزمون گردید که با ترکیب کردن افراد در کلاس‌های (صفر و 1)، (2 و 3) و (4 و 5) سه کلاس فنوتیپی تشکیل شد که از نظر فنوتیپی به‌ترتیب مقاوم، نیمه‌حساس و حساس نامیده شدند و آزمون کای‌مربع این فرضیه را تایید کرد (جدول 10). بدین ترتیب در داخل مکان‌های ژنی عمل غالبیت و بین دو مکان ژنی عمل افزایشی وجود دارد و حساسیت در داخل مکان بر مقاومت غالب است و مقاومت بوسیله آلل‌های مغلوب کنترل می‌شود. لذا ژنوتیپ مقاوم (aabb)، ژنوتیپ‌های نیمه‌حساس (A-bb و -aaB) و ژنوتیپ‌های حساس(-A-B) می‌باشند (جدول 10). از آنجایی که اسکورهای داده شده براساس علائم بیماری روی طوقه و ریشه گندم بصورت مشاهده‌ای انجام شده است در بعضی مواقع تفکیک 2 و 3 و یا 4 و 5 و همینطور (صفر و 1) از یکدیگر مشکل و یا مشکوک بود؛ لذا ترکیب کردن گروه‌های (صفر و 1)، (2 و 3) و (4 و 5) غیرمنطقی به‌نظر نمی‌رسید. نتایج به‌دست آمده از این پژوهش در خصوص کنترل ژنتیکی بیماری پاخوره با سیستم‌های کنترل ژنتیکی ثابت‌شده در سایر بیماری‌ها مشابهت‌هایی دارد. برای بعضی از بیماری‌های دیگر نظیر مقاومت به زنگ زرد در گندم که با یک ژن مغلوب کنترل می‌شود (8) و مقاومت زنگ کتان که با دو ژن و با اثر اپیستازی 9:7 (19) و یا کنترل ژنتیکی زنگ ساقه در گندم با نسبت فنوتیپی 1: 8: 7 (1) و همچنین سپتوریای برگ گندم هماهنگی دارد. اپیستازی 9:6:1 که نیمه‌اپیستازی[1] و همچنین اثر متقابل دوپلیکیت[2] هم نامیده شده (5، 43) توانست تنوع فنوتیپی به‌وجود آمده در نسل F_2 در مقابل بیماری پاخوره جدایه T-41 را توجیه نماید. شاید بتوان این پدیده را با اثر متقابل دوپلیکیت جزئی[3] که (38) مطرح می‌کند، که در آن وقتی j و l از اثر افزایشی d کمترند (جدول 6) به‌وجود می‌آید، معادل دانست. به‌طور کلی با توجه به نتایج به‌دست آمده از این پژوهش می‌توان نتیجه گرفت با توجه به نسبت اپیستازی به‌دست آمده (9:6:1) از تلاقی‌های به‌دست آمده، حساسیت در این بیماری یک صفت غالب است. با توجه به اینکه هیچ اطلاعی در مورد نحوه

1- Semi- epistatic 2- Duplicate interaction 3- Partial Duplicate

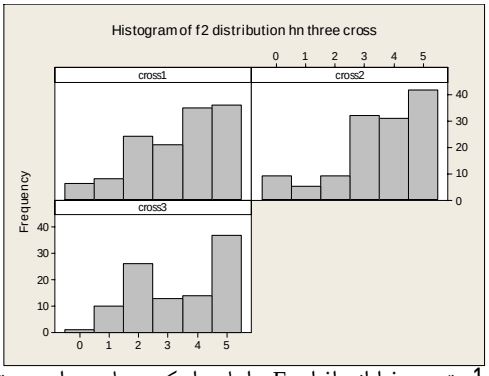
[DOI: 10.29252/jcb.12.33.9]

عمل ژن‌ها در این بیماری مشخص نیست. این نتایج می‌تواند، اطلاعات مفیدی را در مورد این بیماری در اختیار بگذارد. مطالعات مربوط به شناسایی مارکرهای مولکولی که با حساسیت یا مقاومت به این بیماری پیوستگی دارند و همچنین عکس‌العمل دفاعی گیاه نسبت به این بیماری در گندم در حال انجام است.

جدول 10- ژنوتیپ‌ها و فنوتیپ‌های مورد انتظار براساس اپیستازی مضاعف با اثر افزایشی (9:6:1)

Table 10. Genotypes and expected phenotypes based on duplicate epistatic with additive effect (9:6:1)

	AA	Aa	aa
BB	AABB حساس 1	AaBB حساس 2	aaBB نیمه‌حساس 1
Bb	AABb حساس 2	AaBb حساس 4	aaBb نیمه‌حساس2 2
bb	AAbb نیمه‌حساس 1	Aabb نیمه‌حساس 2	aabb مقاوم 1



شکل 1- توزیع فراوانی افراد F_2 براساس اسکور بیماری برای سه تلاقی

Figure 1. Distribution of F_2 individuals based on disease scores for three crosses

جدول 11- نتایج آزمون کای مربع براساس فرضیه اپیستازی مضاعف با اثر افزایشی (9:6:1) در سه تلاقی

Table 11. Result of χ^2 analysis based on duplicate epistasis with additive effect(9:6:1) in three Crosses

کلاس فنوتیپی	نسبت مورد انتظار	1528 ×164 (تلاقی 1)		1526×1622(تلاقی 2)		1546×1528 (تلاقی 3)	
		تعداد مشاهده شده	تعداد مورد انتظار	تعداد مشاهده شده	تعداد مورد انتظار	تعداد مشاهده شده	تعداد مورد انتظار
مقاوم	1	14	8/125	14	8	11	6/315
نیمه حساس	6	45	48/75	41	48	39	37/85
حساس	9	71	73/125	73	72	51	56/85
کل	16	130	130	128	128	101	101
درجه آزادی = 2		χ^2=4/59 P= 0/102		χ^2=5/53 P=0/063		χ^2=4/11 P=0/128	

منابع

1. Afshari, F. 2013. Determination of number of resistance genes to stem rust disease (*Puccinia graminis* f.sp. *tritici*), race Ug99 in two wheat cultivars. Iranian Journal of Agricultural Biotechnology, 12(1): 27-33 (In Persian).
2. Ahmadian, S., S.M.M. Mortazavian, M. Ebrahimi, F. Amini, M. Ghorbani Javid and B. Foghi. 2016. Genetic analysis of some morphological traits in wheat using generation mean analysis under normal and drought stress conditions. Journal of Crop Breeding, 8(20): 175-182 (In Persian).
3. Akhtar, N. and M.A. Chowdhry. 2006. Genetic analysis of yield and some other quantitative traits in bread wheat. International Journal of Agriculture and Biology, 4: 523-527.
4. Allard, R.W. 1960. Principles of plant breeding. John Wiley and Sons. New York.
5. Anderson, V.L. and D. Kempthorns. 1965. A model for the study of quantitative inheritance. Genetics, 39: 883-898.
6. Asher, M.J.C. and P.J. Shipton. 1981. Biology and Control of Take-all. Academic Press, London. 538 pp.

[DOI: 10.29252/jcb.12.33.9]

7. Bartual, R., A. Lacasa, J.I. Marsal and J.C. Tello. 1994. Epistasis in the resistance of pepper to *phytophtora* stem blight (*phytophtora capsici* L.) and its significance in the prediction of double cross performances. Euphytica, 72: 149-152.
8. Biffen, R.H. 1906. Mendel's laws of inheritance and wheat breeding. Journal of Agriculture and Science, 1: 4-48.
9. Borojevic, S. 1991. Principles and Methods of Plant Breeding. Elsevier Science Publishers. New York. 368pp.
10. Cavalli, L.L. 1952. An analysis of linkage in quantitative inheritance. (Ed. E.C.R. Rieve and Waddington, C.H.), HMSO, London. pp. 135-144.
11. Chaudhary, B.D., R.K. Pannu, D.P. Singh and P. Singh. 1996. Genetic of metric traits related with biomass partitioning in wheat under drought stress. Annals of Applied biology, 131: 361-367.
12. Dawinkle, A.B., A. TenHang and J. Juizenga. 1977. Effect of sowing date and seed rate on crop development and grain production of winter wheat. Netherlands Journal of Agriculture, 25: 83-94.
13. Dashti, H., M.R. Naghavi and A. Tajabadipour. 2010. Genetic analysis of salinity tolerance in a bread wheat cross. Journal of Agriculture Science Technology, 12: 347-356 (In Persian).
14. Daval, S., L. Lebreton, K. Gazengel, M. Boutin, A. Guillerm-Erckelboudt and A. Sarniguet. 2011. The biocontrol bacterium *Pseudomonas fluorescence* PF29 Arp strain affects the pathogenesis-related gene expression of the take-all fungus *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* on wheat roots. Molecular plant pathology, 12: 839-854.
15. Falconer, D.S. 1989. Introduction to Quantitative Genetics. (Third Edition). Longman Scientific and Technical. New York, U.S.A, 438pp.
16. Farshadfar, E. 1998. Application of biometrical genetics in plant breeding. Publications Razi University of Kermanshah Press. Iran, 528pp.
17. Farzanfar, M., M.R. Bihamta, M. Kohi Habibi, H.R. Dori and M. Salehifar. 2014. Study of resistance inheritance to BCMNV virus in common bean by generation mean analysis. Iranian Journal of Modern Genetics, 9(2): 161-170.
18. Fei, X., Y. Gongqiang, H. Wenlan, S. Yuli, W. Junmei and L. Yahong. 2013. Evaluation of resistance to take-all disease in different wheat cultivars or lines. Plant Protection, 2: 31.
19. Flor, H.H. 1956. The complementary genic systems in flax and flax rust. Advances in Genetics, 8: 29-54.
20. Gamil, K.H. and Y.A. Saheal. 1986. Estimation of genetic effects for agronomic traits in wheat. Wheat Inform. Service, 62: 36-41.
21. Gardner, E.J., M.J. Simmons and D.P. Snustad. 1991. Principles of genetics. (Eighth Edition). John Wiley and Sons, INC. New York, 649 pp.
22. Ghannadha, M.R. 1998. Gene action for latent period of stripe rust in five cultivars of wheat. Iranian Journal of Crop Sciences, 1: 53-70 (In Persian).
23. Ghannadha, M.R. 1999. Gene action for resistance of wheat (adult stage) to yellow (stripe) rust. Iranian Journal of Agriculture and Science, 30(2): 408-397 (In Persian).
24. Gholizadeh Vazvani, M., H. Dashti, R. Saberi Riseh and M.R. Bihamta. 2015. Comparison between spring and autumn growth types of different wheat (*Triticum aestivum*) genotypes in response to Take-all disease. Iranian Journal of Plant Protection, 46(2): 307-316 (In Persian).
25. Gholizadeh Vazvani, M., H. Dashti, R. Saberi Riseh and M.R. Bihamta. 2016. Study of relationship between of vegetative traits and resistance to take-all disease in greenhouse condition. Iranian Journal of Plant Protection, 47(1): 11-21 (In Persian).
26. Gholizadeh Vazvani, M., H. Dashti, R. Saberi Riseh and M.R. Bihamta. 2017. Screening Bread Wheat germplasm for resistance to take-all disease (*Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*) in greenhouse conditions. Journal of agriculture science and Technology, 19: 1173-1184.
27. Hinze, L.L. and K.R. lamkey. 2003. Absence of epistasis for grain yield in elite maize hybrids. Crop Science, 43: 46-56.
28. Jinks, J.L. and H.S. Pooni. 1979. Predicting the properties of recombinant inbred lines derived by single seed descent. Heredity, 36: 253-266.
29. Kearsey, M.J. and H.S. Pooni. 1996. The genetical analysis of quantitative Traits. 1st ed., Chapman and Hall, London.
30. Kearsey, M. and H.S Pooni. 2004. In: The Genetical Analysis of Quantitative Traits, second ed. Chapman and Hall, UK, ISBN 0-7487-4082-1.
31. khanahmadi, M., F. Bayat and F. Jamali. 2016. Evaluation reaction of some wheat cultivars to take-all disease (*Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*). Biological Forum-An International Journal, 8(1):526-531.
32. Kiani, S., N. Babaeian Jelodar, Gh. Ranjbar, S. K. Kazemitabar and M. Nowrozi. 2015. The genetic evaluation of quantitative traits in rice (*Oryza sativa* L.) by generation mean analysis. Journal of crop Breeding, 7(15):105-114 (In Persian).
33. lamkey, K.R. and M. Lee. 2005. Quantitative genetics, molecular markers and plant improvement. http://corn2.agron.iastate.edu/31/Publications/PDF/Australia.htm.

[DOI: 10.29252/jcb.12.33.9]

34. lande, R. 1981. The minimum number of genes contributing to quantitative variation between and within populations. Genetics, 99: 541-553.
35. Liu, X., L. Yang, X. Zhou, M. Zhou, Y. Lu, L. Ma, H. Ma and Z. Zhang. 2013. Transgenic wheat expressing *Thinopyrum intermedium* MYB transcription factor TiMYB2R-1 shows enhanced resistance to the take-all disease. Journal of Experimental Botany, 8: 2243-2253.
36. Mahmud. I. and H.H. Keramer. 1951. Segregation for yield, height and maturity following a soybean cross.
37. Mather, K. and J.L. Jinks. 1982. Biometrical genetics, 3rd ed. Chapman and Hall, London.
38. Mather, K. 1949. Biometrical Genetics. Methuen, London, 162 pp.
39. Mather, K. 1967. Complementary and Duplicate gene interactions in biometrical genetics, 22: 97-103.
40. Mattsson, B. 1973. Screening of varieties for resistance to the take-all fungus and the transference of resistance to Swedish material. Sveriges Utsades Forenings Tidskrift, 83: 281-297.
41. Mclntosh, R.A., C.R. Wellings and R.F. Park. 1995. Wheat rusts, an atlas of resistance genes. CSIRO Publ. Australia.
42. McMillan, V.E. 2012. Identification and characterization of resistance to the take-all fungus in wheat. Ph.D. Thesis. Biological Sciences England. University of Exter.
43. Miko, I. 2008. Epistasis: Gene interaction and phenotype effects. Nature Education, 1(1): 197.
44. Mohammadi, M., S.S. Ramzanpour, S, Navabpour and H. Soltanloo. 2012. Study on inheritance of resistance to *Septoria tritici* Blotch of wheat by generation mean analysis. Journal of Plant Production, 19(4): 1-18 (In Persian).
45. Multize, D.K. and R.J. Baker. 1985. Evaluation of biometrical methods for estimating the number of genes. 1- effect of sample size. Theoretical and Applied Genetics, 69:553-558.
46. Naghavi, M.R., M.R. Ghannadha and B. Yazdi-Samadi. 2002. Genetic analysis of resistance to Powdery Mildew in barleyIranian journal of Agriculture and Science, 33(2): 197-204 (In Persian).
47. Nikfetrat, A., M. Taherian, M.R. Bihamta and A.R. Razavi. 2012. Genetic analysis of resistance to yellow rust ($4EOA^{+}$) IN bread wheat. Modern Genetic, 6(2): 13-21 (In Persian).
48. Nilsson, H.E. 1969. Studies of root and foot disease of cereals and grasses. I. On resistance to *Ophiobolus graminis* Sacc. Annals of the Agricultural College of Sweden, 35: 275-807.
49. Ownley, B.H., B.K. Duffy and D.M. Weller. 2003. Identification and manipulation of soil properties to improve the biological control performance of phenazine-producing *pseudomonas fluorescens*. Applied and Environmental Microbiology, 69: 3333-3343.
50. Penrose, L.D.J. 1987. Thickening and browning of cortical cell walls in seminal roots of wheat seedlings infected with *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*. Annals of Applied Biology, 110: 463-470.
51. Saha ray, P.K., D. Hilerislambers and N.M. Tepora, 1994. Genetics of stem elongation ability in rice (*Oryza sativa* L.). Euphytica, 74: 137-141.
52. Scott, P.R. 1969. Control of survival of Ophiobolus graminis between consecutive crops of winter wheat. Annals of Applied Biology, 63: 37-43.
53. Scott, P.R. 1981. Variation in host susceptibility. Biology and Control of Take-all. London: Academic press, 219-236.
54. Wallwork, H. 1987. Screening for resistance to take-all in wheat, triticale and wheat-triticale hybrid lines. Printed in the Netherlands, 40: 103-109.
55. Warner, J.N. 1952. A method for estimating heritability. Journal of Agronomy, 44: 427-430.
56. Wiese, M.V. 1987. Compendium of wheat disease. Second ed., APS Press, MN., 112pp.
57. Yadav, R.K. and V.G. Narsinghani. 1999. Gene effects on yield and its component in wheat. Rachis Newsletter, 18: 79-81.

[DOI: 10.29252/jcb.12.33.9]

Genetical Analysis of Resistance to 'Take-all (*Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*) T-41 Isolation in Bread Wheat Using Generation Means Analysis

Hossein Dashti[1], Zahra Shahab alDini Parizi[2], Roohollah Saberi Riseh[3], Mohammad Reza Bihamta[4] and Mozhgan Gholizadeh Vazvani[5]

1- Professor of Genetic and Plant Production Department, Agriculture College, Vali-e-Asr University of Rafsanjan, (Corresponding author: dashti@vru.ac.ir)
2- Master of Plant Breeding, Department of Genetic and Plant Production, Agriculture College, Vali-e-Asr University of Rafsanjan.
3- Associate Professor of Plant Protection, Agriculture College, University of Vali-e-Asr Rafsanjan
4- Professor of Department of Agronomy and Plant Breeding, College of Agriculture and Natural Resources Karaj, Tehran
5- Graduated Master of Plant Breeding, Department of Genetic and Plant Production, Agriculture College, Vali-e-Asr University of Rafsanjan
Received: July 27, 2018 Accepted: November 10, 2018

Abstract

Take-all disease, caused by *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* (*Ggt*) is one of the most important of wheat diseases that causes severe damage to crown and root rot in different regions of Iran. Development of resistant varieties requires genetic study on inheritance and type of gene action in disease resistance, which so far has not been any report in relation to (*Ggt*). Therefore, in order to genetically analyze of resistance to this disease, the generations of P_1, P_2, F_1, F_2, BC_1 and BC_2 were produced and planted at greenhouse. After artificial infection of plants with T-41 strain of (*Ggt*), the phenotypic measurement was based on the degree of disease damage and its symptoms on the crown and root were recorded. The results of the generation mean analysis indicated that the five-parameter model can explain the variations between the means of generations in two crosses (1528×164 and 1622×1526) and four parametric models in third cross(1528×1546). Additive, dominance and epistatic effects including additive × dominance and dominance × dominance were exist in controlling of this trait. The dominance and epistatic effects were greater than the others. Distribution of F_2 generations, showed a tendency toward susceptibility so the susceptibility was dominant to resistance. Analysis of the F_2 data based on the classical ratios showed that with phenotypic grouping of F_2 generation in three susceptible, semi-susceptible and resistant groups. These three groups corresponded to the epistatic ratio (9:6:1), respectively. This result was almost consistent with the results obtained from the Generation means analysis, since in GMA, duplicate dominant epitasis and partial duplicate interaction were detected and the minimum number of genes involved in controlling this trait has been estimated by 2 gene that it has a relative accordance by duplicate dominant interaction with additive effect (9:6:1).

Keywords: Epistatic, *Gaeumannomyces graminis* Var. *tritici*, Generation Mean Analysis, Gene Effect

[DOI: 10.29252/jcb.12.33.9]