چغندرقند/ جلد ۳۶/ شماره ۲/ ۱۳۹۹

تهیه و ارزیابی مولکولی و فنوتیپی هیبریدهای چغندرقند از نظر مقاومت به ریزومانیا و نماتد گره ریشه

Development and phenotypic and molecular evaluation of sugar beet hybrids for resistance to rhizomania and root-knot nematode (*Meloidogyne* spp.)

پیمان نوروزی[۱*]، سید باقر محمودی[۱]، داریوش طالقانی[۱]، ابادر رجبی[۱]، سعید صادق‌زاده حمایتی[۱]، محسن آقایی‌زاده[۲] جمشید سلطانی ایدلیکی[۳] سعید دارابی[۴] بابک بابایی[۲]، پرویز فصاحت[۲] و سعید واحدی[۲]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۴/۲۶ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۲/۰۱

نوع مقاله: پژوهشی

DOI: 10.22092/jsb.2021.351098.1243

پ. نوروزی، س.ب. محمودی، د. طالقانی، ا. رجبی، س. صادق‌زاده حمایتی، م. آقایی‌زاده، ج. سلطانی ایدلیکی، س. دارابی، ب. بابایی، پ. فصاحت و س. واحدی. ۱۳۹۹. تولید و ارزیابی مولکولی و فنوتیپی هیبریدهای چغندرقند از نظر مقاومت به ریزومانیا و نماتد گره‌ریشه. **چغندرقند، ۳۶(۲): ۱۱۷- ۱۲۸.**

چکیده

ریزومانیا مخرب‌ترین بیماری زراعت چغندرقند بهاره به همراه نماتد گره‌ریشه چغندرقند در برخی از مناطق ایران در حال گسترش می‌باشد. بهترین روش مبارزه با این دو بیماری استفاده از ارقام مقاوم می‌باشد؛ بنابراین، هدف این تحقیق تهیه و انتخاب هیبرید دیپلوئید مقاوم به ریزومانیا و نماتد گره‌ریشه با عملکرد بالا بود. در این تحقیق، از ۲۷ خانواده S1 از منشأ SB-34 که بر اساس ارزیابی‌های قبلی با نشانگرهای مولکولی برای مقاومت به ریزومانیا و نماتد گره‌ریشه غربال شده بودند برای تهیه هیبریدهایی با مقاومت دوگانه استفاده شد. بدین منظور، در بهار سال ۱۳۹۴، گیاهان بهاره‌سازی‌شده این توده‌ها در ایزوله‌های جداگانه با سینگل‌کراس 7112*SB36 تلاقی داده شدند. در تابستان، بذور S1/S2 از روی پایه‌های پدری و بذور هیبرید تری وی کراس از روی پایه مادری هر یک از ایزوله‌ها به‌صورت جداگانه برداشت و بوجاری شدند. از ۲۷ ایزوله تنها در ۱۹ ایزوله بذر کافی از پایه‌های پدری و مادری جهت ادامه تحقیق به‌دست آمد. در پاییز، بذر ۱۹ هیبرید منتخب در کرج در گلخانه کشت شده و در آزمایشگاه با نشانگرهای SNP و SCAR پیوسته با ژن‌های مقاومت به ریزومانیا و نماتد گره‌ریشه ارزیابی مولکولی شدند تا فراوانی این ژن‌ها در هیبریدها مشخص شود. بر اساس نتایج ارزیابی مولکولی، از ۱۹ هیبرید تعداد ۱۴ هیبرید برتر انتخاب شدند. در بهار سال ۱۳۹۵، هیبریدهای منتخب در دو منطقه آلوده به ریزومانیا در خراسان و فارس به همراه چند شاهد در یک آزمایش ۲۰ رقمی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با شش تکرار کشت و مورد آزمون عملکرد قرار گرفتند. در پاییز ریشه‌ها برداشت و صفات کمی و کیفی مانند عملکرد ریشه، درصد قند و عملکرد قندسفید اندازه‌گیری و داده‌ها مورد تجزیه آماری قرار گرفتند. بر مبنای نتایج آزمون عملکرد هیبریدها در دو منطقه آلوده به ریزومانیا و فراوانی ژن مقاومت به ریزومانیا و نماتد گره‌ریشه در آزمایشگاه، هیبرید 930620*(7112*SB36) با میانگین ۱۰/۹۲ تن در هکتار عملکرد قندسفید انتخاب شد.

واژه‌های کلیدی: چغندرقند، ریزومانیا، نشانگر مولکولی، نماتد گره ریشه، هیبرید

۱- دانشیار مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر چغندرقند، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران. *- نویسنده مسئول: norouzi1389@gmail.com

۲- استادیار مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر چغندرقند، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران.

۳- مربی پژوهشی بخش تحقیقات چغندرقند مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان خراسان رضوی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مشهد، ایران.

۴- مربی پژوهشی بخش تحقیقات چغندرقند مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان فارس، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شیراز، ایران.

CC BY

مقدمه

بیماری ریزومانیا (ریشه‌ریشی یا ریشه گنایی) مخرب‌ترین بیماری چغندرقند در دنیا می‌باشد. در ایران نیز این بیماری در اکثر مناطق چغندرکاری از جمله استان‌های خراسان بزرگ، فارس، اصفهان، کرمانشاه، همدان، کهکیلویه و بویراحمد، اردبیل (مغان)، چهارمحال و بختیاری، سمنان (شاهرود) و لرستان مشاهده شده است (Izadpanah *et al*. 1996; Toodehfallah *et al*. 2000). ویروس ریزومانیا (BNYVV) در طبیعت توسط قارچ *Polymyxa betae* Keskin انتقال می‌یابد و در حال حاضر در جنس Benyvirus قرار دارد (Rush 2003). قارچ ناقل، پارازیت اجباری ریشه چغندرقند است و ویروس در درون اسپورهای مقاوم آن قادر است قدرت آلوده‌کنندگی خود را بیش از ۱۵ سال حفظ کند (Asher 1993). تاکنون جهت کنترل و مدیریت بیماری، روش‌های متعددی از جمله بیولوژیکی، زراعی، شیمیایی و ژنتیکی مورد استفاده قرار گرفته است. برخلاف روش‌های زراعی (از جمله تاریخ کاشت، روش آبیاری و تناوب زراعی)، روش‌های شیمیایی و بیولوژیکی در مبارزه با بیماری چندان سودمند نیستند و استفاده از ارقام مقاوم بهترین و تنها راه مبارزه مؤثر با بیماری محسوب می‌شود. به دلیل اهمیت بالای بیماری ریزومانیا تاکنون تحقیقات وسیعی برای دستیابی به ارقام مقاوم در برابر آن انجام شده است. یکی از مؤثرترین منابع مقاومت به ریزومانیا در ژرم‌پلاسم مربوط به شرکت چغندر Holly پیدا شد. مقاومت موجود در منبع Holly توسط یک ژن غالب (Rz_1) کنترل می‌شود (Scholten *et al*. 1996; Biancardi *et al*. 2002).

با توجه به آنکه روش‌های کلاسیک گزینش برای مقاومت به بیماری از نوع فنوتیپی بوده و وابسته به شرایط محیطی و یکنواختی عامل آلوده‌کننده هستند و در فصل خاصی از سال انجام می‌گیرند و نیز بعضی گیاهان از عامل آلوده‌کننده به نحوی می‌گریزند و به‌ظاهر مقاوم تلقی می‌شوند، از این‌رو با استفاده از روش‌های مولکولی، به‌عنوان روش تکمیلی می‌توان گیاهان دارنده ژن مقاومت را در سطح ژنوتیپی شناسایی نمود. بنابراین، نشانگرهای مولکولی DNA می‌توانند ابزاری مفید برای انتخاب ژنوتیپ‌های مقاوم باشند و باعث صرفه‌جویی در زمان ارزیابی و افزایش دقت انتخاب گردند (Norouzi 2007; Norouzi *et al*. 2011)، نوروزی (Norouzi 2016) و نوروزی و همکاران (Norouzi *et al*. 2015) در تحقیقات خود نشان دادند که نتایج نشانگرهای SCAR-SNP که با ژن Rz_1 پیوستگی داشته، با نتایج ارزیابی مقاومت به ریزومانیا در مزرعه در جمعیت‌های اصلاحی حدود ۸۵ تا ۹۵ درصد توافق نشان دادند. این نشانگرها توانستند بوته‌های هموزیگوت و هتروزیگوت حامل ژن مقاومت Rz_1 را از بوته‌های حساس به ریزومانیا با اطمینان بالایی شناسایی نمایند. از این نشانگرها می‌توان جهت غربال اولیه لاین‌ها و توده‌های اصلاحی مقاوم به ریزومانیا و انتخاب بوته‌های هموزیگوت مقاوم بهره‌برداری نمود و به این ترتیب زمان اصلاحی را کاهش و سودمندی انتخاب را افزایش داد.

بیماری مهم دیگر چغندرقند، نماتد مولد گره‌ریشه (*Meloidogyne spp*.) است که در بسیاری از مناطق جهان، به‌خصوص نواحی گرمسیری و نیمه گرمسیری گسترش دارد (Janati *et al*. 1982). گونه‌های مهم اقتصادی نماتد گره ریشه بر روی چغندرقند شامل *M. arenaria*، *M. incognita*، *M. hapla*، *M. javanica*، *M. fallax* و *M. chitwoodi* هستند (Whitney and Duffus 1991). این نماتدها گره‌های ریشه را القاء می‌کنند که به‌شدت کیفیت و عملکرد چغندرقند را تحت تأثیر قرار می‌دهد. میانگین خسارت سالانه *M. incognita* بر چغندرقند در آمریکا ۱۵ تا ۵۵ درصد و در ایتالیا حدود ۵ تا ۱۵ درصد است (Altman and Thomason 1971). در افغانستان نیز این نماتد سطح زیرکشت چغندرقند را به‌شدت کاهش داده است، به‌طوری‌که کشت این محصول در منطقه بغلان غیراقتصادی است (Mahmoudi *et al*. 2009). در ایران گونه‌های *M. incognita* (Akhiyani *et al*. 1993; Omidvar 1968)، *M. javanica* (Akhiyani *et al*. 1993)، *M. hapla* (Kargarbideh 2006; Omatti and Giti 2010)

و *M. arenaria* (Omidvar 1968) از مزارع چغندرقند مناطق مختلف اصفهان، دشت مغان، مشهد، سمنان و همدان جداسازی و شناسایی شده‌اند، ولی هیچ‌گونه بررسی و گزارش موثقی در مورد خسارت و بررسی حساسیت ارقام چغندرقند نسبت به نماتد گره ریشه صورت نگرفته است. کنترل گونه‌های نماتد گره ریشه در مزارع چغندرقند به خاطر دامنه میزبانی وسیع نماتد و افزایش محدودیت‌های استفاده از نماتدکش‌ها چالش‌زا است. کاشت ارقام مقاوم به نماتد مهم‌ترین راهکار اقتصادی و محیطی است که نه‌تنها برای کشاورز بلکه برای صنعت قند هم مهم است. با توجه به گزارش‌های مذکور در مورد آلودگی تعدادی از مزارع چغندرقند به نماتد گره ریشه در ایران، افزایش رو به رشد سطح این محصول صنعتی در کشور، تناوب آن با میزبان‌های حساس به نماتد گره ریشه و عدم وجود ارقام مقاوم تجاری در دنیا و ایران، مطالعه‌ای در زمینه ارزیابی مقاومت ژرم‌پلاسم چغندرقند ایران نسبت به نماتد گره ریشه؛ شناسایی منبع و نوع مقاومت؛ بهینه‌سازی روش غربال ژنوتیپ‌ها جهت ارزیابی مقاومت در گلخانه؛ طراحی نشانگر مولکولی چندشکلی تک نوکلئوتیدی (SNP) پیوسته با ژن/های کنترل‌کننده مقاومت به بیماری و بررسی ارتباط بین نتایج غربال ژنوتیپ‌ها با استفاده از نشانگر مولکولی و فنوتیپی در کشور صورت گرفته است. در این مطالعه مقاومت ژنتیکی به نماتد گره ریشه در ژنوتیپ‌های والد پدری (SB-33)، والد مادری (7112×SB36)، نسل F1 حاصل از تلاقی آنها [(7112×SB36)×SB33)] و ۱۵ فامیل نیمه‌خواهری والد پدری که ابتدا در گلخانه مورد ارزیابی فنوتیپی قرار گرفته بودند، با استفاده از نشانگرهای SNP مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج محصول واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با استفاده از دو جفت آغازگر جدید طراحی‌شده، نشان‌دهنده وجود مقاومت از نوع غالب در جمعیت (SB33) بود. ارتباط بین نشانگرهای SNP و فنوتیپی در غربال مقاومت و حساسیت در این تحقیق، نشان‌دهنده ارتباط صددرصدی بین مقاومت ژنتیکی و فنوتیپی بود (Bakooie 2014, Bakooie *et al*. 2012, 2015).

با توجه به آن که مناسب‌ترین روش مبارزه با عوامل بیماری‌زا استفاده از ارقام مقاوم است، بنابراین به نظر می‌رسد با بهره‌گیری از روش‌های به‌نژادی و توده‌های مقاوم به‌دست‌آمده از تحقیقات قبلی انجام‌شده در چغندرقند، به‌توان به ارقامی تجارتی دست یافت که برای مناطق آلوده به نماتد در کشور قابل استفاده باشند (Bakooie 2014). همچنین، با توجه به روند رو به گسترش بیماری ریزومانیا در کشور و تأثیر مخربی که این بیماری بر عملکرد محصول چغندرقند دارد، تهیه و تولید ارقام مقاوم به این بیماری بسیار حائز اهمیت است.

هدف نهایی از تحقیق حاضر، دستیابی به یک یا چند هیبرید منوژرم دیپلوئید چغندرقند مقاوم به ریزومانیا و نماتد گره ریشه می‌باشد.

مواد و روش‌ها

ارقام تجاری ترکیبی از چند ژنوتیپ مختلف می‌باشند، وجود مقاومت در هر دو پایه مادری و پدری خود می‌تواند تضمین‌کننده مقاومت ارقام هیبرید و هم‌چنین عملکرد بالاتر آنها تحت شرایط آلوده باشد. در اصلاح ارقام جدید چغندرقند معمولاً در سال اول، با غربال ژنوتیپ‌های مختلف و انتخاب تعدادی تک بوته در مزرعه، ابتدا توده‌های S1 تهیه می‌شود که به بذر حاصل از کشت ریشه تقسیم‌شده به دو یا چهار قسمت از یک بوته چغندرقند در زیر قفس (کیسه‌های پارچه‌ای کشیده شده روی یک چارچوب فلزی) اطلاق می‌شود. معمولاً به علت تعداد زیاد S1های حاصل از قفس‌گذاری در سال اول، ابتدا آنها را جهت تعیین قابلیت ترکیب‌پذیری خصوصی با یک سینگل‌کراس در سال دوم تلاقی داده می‌شوند (تاپ‌کراس). برای این کار، بذور S1 به‌دست‌آمده در زیر قفس سال قبل در چند ردیف به‌عنوان والد پدری هیبرید در دو طرف چند خط سینگل‌کراس نرعقیم چغندرقند به‌عنوان والد مادری در ایزوله کشت شده که پس از گرده‌افشانی، از روی بوته‌های S1 بذر S1/S2 و از روی والد سینگل‌کراس مادری بذر هیبرید تری وی کراس برداشت و بوجاری می‌شوند.

در سال سوم، تاپ‌کراس‌ها آزمون عملکرد و بهترین گرده‌افشان‌ها انتخاب می‌شوند و در سال‌های بعد گرده‌افشان‌های منتخب می‌توانند با چند نوع سینگل‌کراس تلاقی داده شوند تا قابلیت ترکیب‌پذیری عمومی و خصوصی گرده‌افشان‌ها مشخص و بهترین والد گرده‌افشان انتخاب شود.

مواد گیاهی

در این تحقیق تعداد ۱۹ توده S1 از منشأ SB-34 مؤسسه تحقیقات چغندرقند که بر اساس ارزیابی‌های قبلی با یک نشانگر مولکولی SNP، حامل ژن‌های مقاومت به ریزومانیا و نماتد گره‌ریشه بوده‌اند، پس از تلاقی با سینگل‌کراس 7112*SB36 برای تهیه هیبریدهایی با مقاومت دوگانه استفاده شد (جدول ۱). تعدادی از هیبریدهای دیپلوئید منوژرم حاصل به همراه چند شاهد مقاوم و حساس، مواد گیاهی برای ارزیابی عملکرد در مناطق آلوده به ریزومانیا را تشکیل دادند.

تهیه هیبریدها در ایزوله

در بهار سال اول، گیاهان بهاره سازی‌شده ۱۹ توده S1 حاصل از قفس‌گذاری سال قبل به‌عنوان گرده‌افشان در ایزوله‌های جداگانه با سینگل‌کراس 7112*SB-36 تلاقی داده شدند تا قابلیت ترکیب‌پذیری خصوصی گرده‌افشان‌ها مشخص شود. در فصل داشت، کلیه مراقبت‌های لازم از جمله وجین علف‌های هرز، آبیاری، کوددهی و سم‌پاشی انجام شد و در تابستان، بذور S1/S2 از روی پایه‌های پدری و بذور هیبرید از روی پایه مادری هریک از ایزوله‌ها به‌صورت جداگانه برداشت و بوجاری شد.

آزمون مولکولی هیبریدها

در پاییز سال اول بذور هیبریدها به همراه شاهدهای مقاوم و حساس در گلخانه‌های مؤسسه تحقیقات چغندرقند واقع در کرج، کشت شد، سپس از گیاهان رشدیافته نمونه‌برداری برگ صورت گرفت. از نمونه برگ‌ها در آزمایشگاه، استخراج DNA با روش تغییریافته دلاپورتا و همکاران (Dellaporta *et al*. 1983) انجام و با استفاده از نشانگرهای مولکولی پیوسته به ژن *Rz1* مقاومت به ریزومانیا (نشانگر جفت ZN1 و نا جفت ZN7)، درصد بوته‌های حامل ژن مقاومت به ریزومانیا (Norouzi 2016; Norouzi *et al*. 2015) و با استفاده از نشانگر مولکولی پیوسته به ژن مقاومت به نماتد گره‌ریشه (جفت MEL1)، درصد بوته‌های حامل ژن مقاومت به نماتد گره‌ریشه (Bakooie *et al*. 2012, 2015) در هریک از هیبریدها تعیین شدند.

در آزمون مولکولی PCR در حجم نهایی شامل: ۲۰ میکرولیتر برای هر واکنش شامل یک میکرولیتر DNA الگو با غلظت ۵۰ng/µl، دو میکرولیتر بافر 10x، دو میکرولیتر dNTP ۲/۵ میلی‌مولار، ۱/۵ میکرولیتر $MgCl_2$ با غلظت ۲۵ میلی‌مولار، یک میکرولیتر با غلظت ۵ میکرومولار از هریک از آغازگرهای اختصاصی نشانگر مربوط و ۰/۲ میکرولیتر (یک واحد) آنزیم Taq پلیمراز بود.

مراحل واکنش زنجیره‌ای پلیمراز برای آزمون PCR در دستگاه ترموسایکلر شامل پنج دقیقه واسرشت‌سازی اولیه ۴۰ ثانیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد، چرخه به‌مدت ۴۰ ثانیه در ۹۴ درجه سانتی‌گراد ، اتصال به مدت ۴۰ ثانیه در دمای ۵۸ تا ۶۲ درجه سانتی‌گراد بسته به نوع آغازگر، توسعه آغازگر به مدت ۴۰ تا ۶۰ ثانیه بسته به‌اندازه باند نشانگر در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد و یک مرحله ۱۰ دقیقه‌ای توسعه نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد برای تکمیل طول قطعات تکثیرشده در واکنش انجام شد. سپس الکتروفورز محصولات PCR در ژل آگارز ۱/۲ درصد حاوی رنگ Safe View (شرکت Abm کانادا) انجام گرفت و نوارهای DNA توسط دستگاه مستندسازی ژل تحت نور ماورای بنفش رؤیت و عکس‌برداری شد. در انتها بر اساس الگوی نواربندی ژنوتیپ‌ها روی ژل، بوته‌های حامل ژن‌های مقاومت به ریزومانیا و نماتد گره ریشه مشخص شدند.

آزمون عملکرد هیبریدها

در بهار سال دوم، ۱۴ هیبرید گزینش‌شده در آزمایشگاه به‌منظور انتخاب برترین آنها در دو منطقه آلوده به ریزومانیا (مشهد و زرقان) در یک آزمایش ۲۰ رقمی در مزرعه در قالب طرح

بلوک‌های کامل تصادفی به همراه چهار شاهد مقاوم خارجی به اسامی بومرنگ، لودوینا، نوودورو و BTS213 و یک رقم مقاوم داخلی به نام آریا و یک شاهد حساس داخلی (شریف) مقایسه عملکرد شدند. علت استفاده از شش رقم شاهد این بود که به همراه ۱۴ هیبرید گزینش‌شده به مجموع ۲۰ تیمار برسند تا در نقشه چیدمان تصادفی تیمارها در طرح بلوک کامل تصادفی که از قبل در مؤسسه تهیه شده است، در مزرعه مورد مقایسه قرار گیرند. هر آزمایش دارای شش تکرار و هر کرت آزمایشی شامل سه خط به طول هشت متر بود. در طول فصل داشت، کلیه مراقبت‌های لازم از جمله وجین علف‌های هرز، تنک بوته‌ها، آبیاری، کوددهی و سم‌پاشی انجام و در پاییز ریشه‌ها برداشت و پس از توزین ریشه‌ها، نمونه خمیر تهیه و جهت تعیین خصوصیات کیفی چغندرقند به آزمایشگاه تکنولوژی قند ستاد مؤسسه تحقیقات چغندرقند منتقل شدند. داده‌های حاصل با نرم‌افزار SAS تجزیه واریانس و میانگین تیمارها در هر منطقه با روش کمترین اختلاف معنی‌دار (LSD) مقایسه آماری شدند.

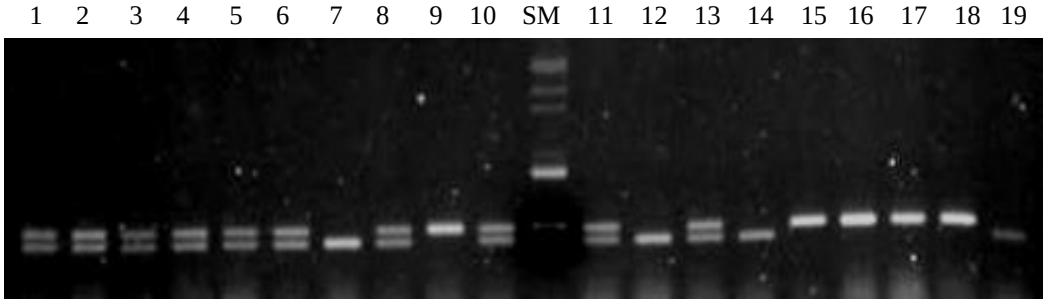
در مرحله بعد، آزمون یکنواختی واریانس خطای دو آزمایش مشهد و زرقان برای چهار صفت مهم عملکرد ریشه، درصد قند، عملکرد قند سفید و ضریب استحصال به روش بارتلت انجام شد تا امکان تجزیه مرکب داده‌های آزمایشی دو منطقه نیز مشخص شود. از بین چهار صفت مذکور، صفاتی که کای اسکوئر (X^2) آنها در آزمون بارتلت معنی‌دار نشده بود تجزیه واریانس مرکب و در نهایت ارقام از نظر صفات کمی و کیفی ریشه گروه‌بندی شدند و انتخاب نهایی هیبریدها بر اساس صفات کمی و کیفی ریشه و نتایج نشانگرهای مولکولی پیوسته به ژن‌های مقاومت به ریزومانیا و نماتد گره ریشه آن‌ها صورت گرفت.

نتایج و بحث

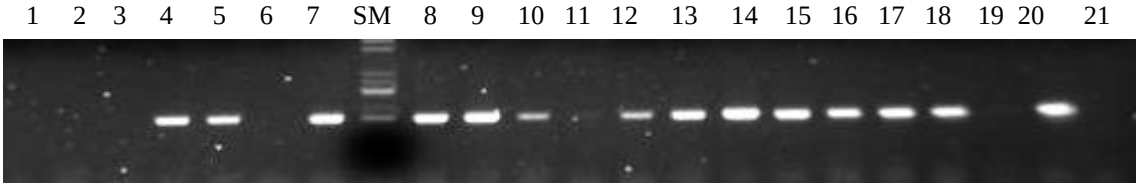
نتایج ارزیابی مولکولی

نتایج آزمون مولکولی PCR با نشانگرهای پیوسته به ژن *Rz_1* مقاومت به ریزومانیا (نشانگر جفت ZN1 و نا جفت ZN7) و نشانگر پیوسته به ژن مقاومت به نماتد گره‌ریشه (جفت MEL1) در هیبریدهای آزمایشی کشت‌شده در گلخانه در جدول یک خلاصه شده است. هم‌چنین، تصویر ژل‌های رنگ‌آمیزی شده محصولات PCR نشانگر *Rz_1* ریزومانیا (شکل ۱) و نشانگر MEL1 نماتد گره‌ریشه (شکل ۲) به‌عنوان نمونه نشان داده شده است. در الگوی باندی نشانگرهای هم بارز ریزومانیا، گیاهان هموزیگوت غالب مقاوم فقط باند نشانگر جفت ZN1 (باند بالایی) و گیاهان هتروزیگوت مقاوم هر دو باند نشانگر جفت ZN1 و ناجفت ZN7 و گیاهان حساس به ریزومانیا فقط باند نشانگر ناجفت ZN7 (باند پایینی) را نشان می‌دهند (شکل ۱). نوروزی و همکاران (Norouzi *et al.* 2016) ارتباط بین نتایج یک نشانگر ناجفت را با نتایج الایزا و نمره آلودگی ریشه در مزرعه به‌صورت دوبه‌دو بررسی کردند. نتایج نشان داد که در میان ژنوتیپ‌ها میزان توافق نشانگر با الایزا بین ۶۲ تا ۱۰۰ درصد، نشانگر با مقاومت مزرعه‌ای بین ۵۰ تا ۱۰۰ درصد و الایزا با مقاومت مزرعه‌ای نیز بین ۵۰ تا ۱۰۰ درصد متغیر بوده است. در مجموع برای ژنوتیپ‌های مورد بررسی، میانگین توافق نشانگر با الایزا ۸۵ درصد، نشانگر با مقاومت مزرعه‌ای ۸۶ درصد و الایزا با مقاومت مزرعه‌ای ۸۰ درصد به دست آمد و داده‌های مولکولی، الایزا و مزرعه یکدیگر را تأیید کردند. نشانگر ZN1 در اکثر هیبریدها با فراوانی بالا وجود دارد. نوروزی و همکاران (Norouzi *et al.* 2011) گزارش کردند که نتایج یک نشانگر جفت با اندازه تقریبی ۷۵۰ جفت باز که با ژن *Rz1* پیوستگی دارد با نتایج ارزیابی مقاومت در مزرعه در برخی از جمعیت‌های اصلاحی تا بیش از ۸۰ درصد توافق نشان می‌دهد. همچنین، نوروزی (Norouzi 2016) گزارش داد که نشانگر جفت ZN1 با نسبت توافق ۹۰ درصد با نتایج مقاومت مزرعه‌ای و نسبت حضور ۹۲ درصد در ارقام تجارتی مقاوم مناسب‌ترین نشانگر جفت به‌دست‌آمده می‌باشد.

در الگوی باندی نشانگر غالب نماتد گره‌ریشه، گیاهان هموزیگوت و هتروزیگوت مقاوم دارای باند نشانگر جفت MEL-1 و گیاهان حساس به نماتد گره‌ریشه فاقد باند نشانگر مذکور هستند (شکل ۲).



شکل ۱ الگوی الکتروفورزی مربوط به نشانگرهای *Rz1* مقاومت به ریزومانیا در تعدادی از بوته‌های هیبرید آزمایشی -S1*(SB36*7112) 930589. (ستون‌های ۶-۱، ۸، ۱۰، ۱۱ و ۱۳ مربوط به ۱۰ تک بوتهٔ هتروزیگوت، ستون‌های ۹ و ۱۸-۱۵ مربوط به پنج تک بوتهٔ هموزیگوت غالب و ستون‌های ۷، ۱۲، ۱۴ و ۱۹ مربوط به چهار تک بوته هموزیگوت مغلوب است. SM: نشانگر تعیین اندازه DNA.)



شکل ۲ الگوی الکتروفورزی مربوط به نشانگر مولکولی MEL-1 مقاومت به نماتد گره ریشه در تعدادی از بوته‌های هیبریدهای آزمایشی S1-930548*(SB36*7112). (ستون‌های ۱، ۲، ۳، ۶، ۱۱، ۱۹ و ۲۱ مربوط به هفت تک بوتهٔ حساس فاقد باند نشانگر، ستون‌های ۴، ۵، ۷، ۸، ۹، ۱۰، ۱۲ تا ۱۸ و ۲۰ مربوط به ۱۴ تک بوته مقاوم حامل باند نشانگر است. SM: نشانگر تعیین اندازه DNA.)

میزان حضور ژن مقاومت به ریزومانیا در هیبریدها بین ۵۸ تا ۱۰۰ درصد و میزان حضور ژن مقاومت به نماتد گره‌ریشه در هیبریدها بین صفر تا ۸۳ درصد متغیر بود. هیبریدهای دو و سه بیشترین درصد حضور نشانگر ژن *Rz1* و هیبریدهای یک و سه بیش‌ترین درصد هموزیگوت غالب نشانگر ژن *Rz1* و هیبریدهای پنج و شش بیش‌ترین حضور نشانگر ژن MEL1 را در بین هیبریدهای آزمایش نشان دادند (جدول ۱).

در خصوص نتایج آزمون هیبریدها با نشانگر پیوسته به ژن مقاومت به نماتد گره‌ریشه، تعداد پنج شماره هیبرید که درصد حضور نشانگر در آنها کمتر از ۲۰ درصد بود، حذف و بذر ۱۴ هیبرید دیگر برای آزمون عملکرد در مزرعه انتخاب شدند. روش PCR اختصاصی ارائه شده در این تحقیق به دلیل عدم نیاز به زمان طولانی بررسی مقاومت و تکثیر زیاد زادمایه نماتد در مقایسه با غربال فنوتیپی مقاومت و همین‌طور به دلیل عدم نیاز به DNA با مقادیر و خلوص بالا و بدون نیاز به واکنش هضم آنزیمی، روشی ساده‌تر، ارزان‌تر و سریع‌تر در برنامه‌های وسیع به‌نژادی چغندرقند برای شناسایی ژنوتیپ‌های مقاوم به نماتد مولد گره ریشه می‌باشد (Bakooie *et al*. 2012, 2015).

نتایج آزمون عملکرد

در جداول ۲ تا ۵ می‌توان مشاهده کرد که در مناطق مشهد و زرقان بین عملکرد هیبریدها با شاهدهای مقاوم در برخی صفات اختلاف معنی‌دار وجود دارد و در برخی صفات بدون اختلاف معنی‌دار هستند. لازم به ذکر است که در چند سال اخیر در مؤسسه تحقیقات چغندرقند، شاهد حساس در تجزیه واریانس صفات و مقایسه میانگین هیبریدها به کار نمی‌رود و فقط جهت کنترل آلودگی مزرعه کشت می‌شود؛ زیرا در صورت دخالت شاهد حساس در مقایسه آماری به‌احتمال بسیار زیاد بین هیبریدها با شاهد حساس اختلاف معنی‌دار به دست می‌آید که عملاً کاربردی ندارد و مهم اختلاف عملکرد هیبریدها با یکدیگر است که می‌تواند منجر به انتخاب یک یا چند هیبرید برتر در آزمایش گردد؛ بنابراین، در این تحقیق نیز داده‌های شاهد حساس (شریف) در جداول

تجزیه واریانس نقشی نداشته‌اند و از جداول مقایسه میانگین هیبریدها نیز خارج شده و جداول بدون شاهد حساس و به‌صورت ۱۹ رقمی ذکر شده‌اند.

در آزمایش مشهد، بین ژنوتیپ‌ها در خصوص صفات عملکرد قند سفید، پتاسیم و نیتروژن مضره اختلاف آماری معنی‌دار مشاهده شد (جدول ۲). همچنین، بر اساس مقایسه میانگین ژنوتیپ ها در آزمایش مشهد (جدول ۳) مشخص شد که از نظر صفت عملکرد ریشه، بیشترین مقدار مربوط به رقم خارجی نوودورو با ۸۴/۶۷ تن در هکتار و کمترین مقدار مربوط به هیبرید (7112*SB36)*S1-930490 با ۵۱/۵۲ تن در هکتار می‌باشد. از نظر صفت درصد قند، بیشترین مقدار مربوط به هیبرید (7112*SB36)*S1-930620 با ۲۱/۱۶ درصد و رقم خارجی لودوینا با ۲۱/۱۴ درصد و کمترین مقدار مربوط به هیبرید (7112*SB36)*S1-930595 با ۱۹/۴۰ درصد بود. از نظر صفت عملکرد قند سفید، بیشترین مقدار مربوط به رقم خارجی نوودورو با ۱۵/۷۳ تن در هکتار و کمترین مقدار مربوط به هیبرید (7112*SB36)*S1-930597 با ۹/۲۲ تن در هکتار بود. هیبریدهای (7112*SB36)*S1–930468، (7112*SB36)*S1-930501، (7112*SB36)*S1–930534، (7112*SB36)*S1–30548، (7112*SB36)*S1–930556، (7112*SB36)*S1–930557، (7112*SB36)*S1–930580، (7112*SB36)*S1–30595 و (7112*SB36)*S1-930620 در آزمایش مشهد از نظر صفت عملکرد قند سفید با میانگین شاهدهای مقاوم در سطح پنج درصد در یک گروه آماری قرار گرفتند.

جدول ۱ نتایج آزمون مولکولی هیبریدهای آزمایشی با نشانگر پیوسته به ژن‌های مقاومت به ریزومانیا (ZN1) و نماتد گره ریشه (MEL1)

ردیف	اریژین	$ZN1^+$ %	$MEL1^+$ %	هیبریدهای منتخب برای آزمون عملکرد
۱	(7112*SB36)*S1-930468	۹۲	۵۸	*
۲	(7112*SB36)*S1-930490	۱۰۰	۲۷	*
۳	(7112*SB36)*S1-930501	۱۰۰	۴۰	*
۴	(7112*SB36)*S1-930528	۸۷	۲۷	*
۵	(7112*SB36)*S1-930534	۶۷	۸۳	*
۶	(7112*SB36)*S1-930548	۸۸	۷۶	*
۷	(7112*SB36)*S1-930556	۵۸	۳۳	*
۸	(7112*SB36)*S1-930557	۸۸	۲۰	*
۹	(7112*SB36)*S1-930558	۹۲	۸	–
۱۰	(7112*SB36)*S1-930559	۹۲	۱۷	–
۱۱	(7112*SB36)*S1-930578	۵۸	۰	–
۱۲	(7112*SB36)*S1-930580	۹۲	۳۳	*
۱۳	(7112*SB36)*S1-930582	۷۵	۵۰	*
۱۴	(7112*SB36)*S1-930589	۷۷	۱۵	–
۱۵	(7112*SB36)*S1-930595	۸۳	۴۲	*
۱۶	(7112*SB36)*S1-930597	۹۵	۲۳	*
۱۷	(7112*SB36)*S1-930605	۸۸	۶۳	*
۱۸	(7112*SB36)*S1-930606	۹۲	۱۷	–
۱۹	(7112*SB36)*S1-930620	۷۱	۳۸	*

ستون‌های ZN1+ و MEL-1+ در جدول به ترتیب درصد حضور ژن‌های مقاومت به ریزومانیا و نماتد گره ریشه را در هر یک از هیبریدهای آزمایشی نشان می‌دهند. بر اساس نتایج مولکولی، ۱۴ هیبرید از ۱۹ هیبرید آزمایشی برای آزمون عملکرد در مزرعه انتخاب که با علامت * مشخص شده‌اند و ۵ هیبرید آزمایشی نیز حذف شدند که با علامت منفی نشان داده شده‌اند. همچنین اریژین در جدول، نشان‌دهنده ترکیب ژنوتیپی والد پدری و مادری تشکیل‌دهنده هیبرید مورد نظر است که در به‌نژادی چغندرقند این واژه مرسوم است.

جدول ۲ خلاصه تجزیه واریانس (میانگین مربعات) صفات کمی و کیفی هیبریدهای مورد بررسی در منطقه مشهد

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات						
		عملکرد ریشه	عملکرد قند سفید	درصد قند	سدیم	پتاسیم	نیتروژن مضره	درصد قند خالص	ضریب استحصال
تکرار	۵	۸۳۱/۹۳**	۲۵/۹۱**	۱/۲۹^{ns}	۱/۰۸**	۳/۶۵**	۱/۱۹**	۱/۷۹^{ns}	۱۷/۸۰**
ژنوتیپ	۱۸	۳۱۴/۱۸^{ns}	۱۴/۱۸*	۲/۱۷^{ns}	۰/۳۵^{ns}	۰/۶۹**	۰/۲۷*	۲/۸۰^{ns}	۶/۷۴^{ns}
خطا	۹۰	۲۱۶/۶۶	۷/۴۵	۱/۵۹	۰/۲۵	۰/۲۷	۰/۱۶	۲/۲۲	۵/۲۰
ضریب تغییرات (درصد)		۲۲/۷۲	۲۳/۷۲	۶/۲۷	۴۴/۶۹	۱۱/۰۵	۲۵/۲۵	۸/۴۰	۲/۵۹

** و *: به ترتیب اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک و پنج درصد، ns: عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد. هم‌چنین با توجه به عدم دخالت شاهد حساس در مقایسه آماری تعداد ژنوتیپ ها از ۲۰ به ۱۹ و در نتیجه درجه آزادی از ۱۹ به ۱۸ کاهش یافته است.

جدول ۳ مقایسه میانگین هیبریدهای مورد بررسی برای صفات کمی و کیفی در منطقه مشهد

ردیف	ژنوتیپ	عملکرد ریشه (تن در هکتار)	عملکرد قند سفید (تن در هکتار)	درصد قند	سدیم	پتاسیم	نیتروژن مضره	ضریب استحصال (درصد)
					میلی اکی والان گرم در ۱۰۰ گرم خمیر ریشه			
۱	(7112*SB36) * S1 - 930468	۶۲/۸۶^{BCD}	۱۱/۱۴^{BCD}	۲۰/۲۸^{ABC}	۰/۹۷^{BC}	۵/۴۲^{A}	۱/۱۸^{BCD}	۸۷/۲۴^{ABC}
۲	(7112*SB36) * S1 - 930490	۵۱/۵۲^{D}	۹/۳۸^{D}	۲۰/۶۲^{ABC}	۰/۸۷^{C}	۴/۸۴^{ABCD}	۱/۳۱^{BCD}	۸۸/۵۲^{AB}
۳	(7112*SB36) * S1 - 930501	۵۹/۸۱^{BCD}	۱۰/۶۲^{BCD}	۲۰/۱۸^{ABC}	۱/۰۵^{BC}	۵/۰۲^{AB}	۱/۳۳^{BCD}	۸۷/۵۸^{ABC}
۴	(7112*SB36) * S1 - 930528	۶۰/۹۵^{BCD}	۱۰/۴۸^{CD}	۱۹/۴۹^{C}	۱/۱۶^{BC}	۴/۶۳^{BCDE}	۱/۲۱^{BCD}	۸۷/۶۵^{ABC}
۵	(7112*SB36) * S1 - 930534	۶۸/۱۰^{ABCD}	۱۲/۱۹^{BCD}	۲۰/۲۳^{ABC}	۱/۰۶^{BC}	۴/۷۵^{BCDE}	۱/۱۷^{BCD}	۸۸/۱۳^{ABC}
۶	(7112*SB36) * S1 - 930548	۶۲/۸۶^{BCD}	۱۰/۶۸^{BCD}	۱۹/۴۹^{C}	۱/۳۰^{ABC}	۴/۹۶^{ABCD}	۱/۲۶^{BCD}	۸۶/۸۰^{BC}
۷	(7112*SB36) * S1 - 930556	۵۹/۷۱^{BCD}	۱۰/۵۷^{BCD}	۲۰/۱۴^{ABC}	۱/۲۴^{ABC}	۴/۸۳^{ABCD}	۱/۴۰^{ABC}	۸۷/۵۷^{ABC}
۸	(7112*SB36) * S1 - 930557	۶۹/۷۶^{ABC}	۱۲/۱۵^{BCD}	۱۹/۴۴^{C}	۰/۸۳^{C}	۴/۲۳^{EF}	۰/۹۸^{CD}	۸۹/۰۹^{AB}
۹	(7112*SB36) * S1 - 930580	۶۸/۹۵^{ABC}	۱۲/۱۲^{BCD}	۲۰/۰۸^{ABC}	۱/۱۵^{BC}	۴/۹۱^{ABCD}	۱/۲۴^{BCD}	۸۷/۵۴^{ABC}
۱۰	(7112*SB36) * S1 - 930582	۶۰/۶۲^{BCD}	۱۰/۴۷^{CD}	۱۹/۴۸^{C}	۱/۰۱^{BC}	۴/۶۲^{BCDE}	۱/۱۰^{BCD}	۸۸/۰۵^{ABC}
۱۱	(7112*SB36) * S1 - 930595	۶۸/۰۰^{ABCD}	۱۱/۶۱^{BCD}	۱۹/۴۰^{C}	۰/۹۹^{BC}	۴/۵۲^{BCDE}	۰/۸۸^{D}	۸۸/۲۳^{ABC}
۱۲	(7112*SB36) * S1 - 930597	۵۴/۴۳^{DC}	۹/۲۲^{D}	۱۹/۵۳^{BC}	۱/۲۶^{ABC}	۴/۵۹^{BCDE}	۱/۱۹^{BCD}	۸۷/۳۸^{ABC}
۱۳	(7112*SB36) * S1 - 930605	۵۹/۵۲^{BCD}	۱۰/۱۸^{CD}	۱۹/۹۶^{ABC}	۱/۴۹^{AB}	۴/۹۰^{ABCD}	۱/۸۱^{A}	۸۶/۶۲^{BC}
۱۴	(7112*SB36) * S1 - 930620	۷۲/۶۲^{AB}	۱۳/۶۷^{AB}	۲۱/۱۶^{A}	۰/۸۱^{C}	۴/۴۳^{CDEF}	۱/۱۳^{BCD}	۸۹/۵۶^{A}
۱۵	Arya	۶۶/۹۰^{BCD}	۱۱/۴۶^{BCD}	۱۹/۷۴^{ABC}	۱/۷۴^{A}	۴/۹۷^{ABC}	۱/۵۰^{AB}	۸۵/۸۲^{C}
۱۶	Bumerang	۶۴/۴۳^{BCD}	۱۱/۶۰^{BCD}	۲۰/۲۸^{ABC}	۱/۱۱^{BC}	۴/۵۸^{BCDE}	۱/۰۳^{CD}	۸۸/۳۹^{ABC}
۱۷	Ludwina	۶۷/۱۴^{BCD}	۱۲/۵۹^{BC}	۲۱/۱۴^{A}	۰/۷۷^{C}	۴/۴۶^{BCDEF}	۰/۹۷^{CD}	۸۹/۶۲^{A}
۱۸	Novodoro	۸۴/۶۷^{A}	۱۵/۷۳^{A}	۲۰/۹۷^{AB}	۱/۰۰^{BC}	۴/۳۷^{DEF}	۱/۳۳^{BCD}	۸۹/۰۶^{AB}
۱۹	BTS213	۶۸/۱۹^{ABCD}	۱۲/۷۲^{ABC}	۲۰/۹۴^{AB}	۱/۲۵^{ABC}	۳/۸۹^{F}	۱/۱۲^{BCD}	۸۹/۶۲^{A}

در هر ستون میانگین‌های با حداقل یک حرف مشترک، با هم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

در آزمایش زرقان، بین ژنوتیپ‌ها در خصوص صفات عملکرد ریشه، عملکرد قند سفید، درصد قند، پتاسیم و درصد قند خالص اختلاف آماری معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد مشاهده شد (جدول ۴). همچنین، بر اساس مقایسه میانگین ژنوتیپ‌ها در آزمایش زرقان (جدول ۵) مشخص شد که از نظر صفت عملکرد ریشه، بین هیبریدهای آزمایشی بیشترین مقدار مربوط به هیبرید (7112*SB36)*S1-930620 با ۴۸/۵۷ تن در هکتار و کمترین مقدار مربوط به هیبرید (7112*SB36)*S1-930605 با ۳۴/۰۵ تن در هکتار می‌باشد. از نظر صفت درصد قند، بین هیبریدهای آزمایشی بیشترین مقدار مربوط به هیبرید (7112*SB36)*S1-930620 با ۲۰/۷۸ درصد و کمترین مقدار مربوط به هیبرید (7112*SB36)*S1-930580 با ۱۵/۵۶ درصد بود. از نظر صفت عملکرد قند سفید، بین هیبریدهای آزمایشی بیشترین مقدار مربوط به هیبرید (7112*SB36)*S1-930620 با ۸/۱۷ تن در هکتار و کمترین مقدار مربوط به هیبرید (7112*SB36)*S1-930528 با ۳/۵۵ تن در هکتار بود. هیبریدهای (7112*SB36)*S1–930468، (7112*SB36)*S1-930490، (7112*SB36)*S1–930501، (7112*SB36)*S1–930548، (7112*SB36)*S1–930597 و (7112*SB36)*S1-930620 در آزمایش زرقان از نظر صفت عملکرد قند سفید با میانگین شاهدهای مقاوم در سطح پنج درصد در یک گروه آماری قرار گرفتند.

جدول ۴ خلاصه تجزیه واریانس (میانگین مربعات) صفات کمی و کیفی هیبریدهای مورد بررسی در منطقه زرقان فارس

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات							
		عملکرد ریشه	عملکرد قند سفید	درصد قند	سدیم	پتاسیم	نیتروژن مضره	درصد قند خالص	ضریب استحصال
تکرار	۵	۲۲۰۷/۷۷**	۲۲/۹۶**	۱۲/۳۵**	۲/۹۶^{ns}	۳/۱۵**	۲/۹۸**	۱۱/۱۶**	۵۵/۳۷^{ns}
ژنوتیپ	۱۸	۱۴۹/۰۶**	۹/۵۷**	۱۳/۹۹**	۸/۴۹**	۲/۶۹**	۰/۷۵^{ns}	۲۳/۸۰**	۱۵۹/۳۱**
خطا	۹۰	۳۵/۴۶	۱/۱۳	۱/۴۵	۲/۵۲	۰/۵۶	۰/۶۴	۲/۷۷	۳۲/۳۵
ضریب تغییرات (درصد)		۱۴/۶۶	۲۱/۱۲	۷/۰۵	۲۷/۶۴	۱۱/۲۴	۶۸/۴۰	۱۳/۴۴	۷/۸۹

** و *: به ترتیب اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک و پنج درصد، ns: عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد. هم‌چنین با توجه به عدم دخالت شاهد حساس در مقایسه آماری تعداد ژنوتیپ ها از ۲۰ به ۱۹ و در نتیجه درجه آزادی از ۱۹ به ۱۸ کاهش یافته است.

جدول ۵ مقایسه میانگین هیبریدهای مورد بررسی برای صفات کمی و کیفی در منطقه زرقان فارس

ردیف	ژنوتیپ	عملکرد ریشه (تن در هکتار)	عملکرد قند سفید (تن در هکتار)	درصد قند	سدیم	پتاسیم	نیتروژن مضره	ضریب استحصال (درصد)
					میلی اکی والان گرم در ۱۰۰ گرم خمیر ریشه			
۱	(7112*SB36) * S1 - 930468	۴۴/۰۵^{ABCD}	۵/۴۴^{CD}	۱۶/۵۹^{DE}	۴/۱۵^{EF}	۷/۲۶^{ABCD}	۱/۲۱^{BC}	۷۳/۷۸^{BCDE}
۲	(7112*SB36) * S1 - 930490	۴۴/۷۶^{ABC}	۵/۴۸^{CD}	۱۶/۷۱^{DE}	۵/۳۰^{CDE}	۶/۲۸^{FG}	۱/۰۴^{BC}	۷۳/۷۲^{BCDE}
۳	(7112*SB36) * S1 - 930501	۴۴/۵۲^{ABCD}	۵/۱۹^{DE}	۱۶/۷۲^{DE}	۶/۵۰^{ABCD}	۶/۸۸^{BCDEF}	۱/۲۶^{BC}	۶۹/۹۸^{EF}
۴	(7112*SB36) * S1 - 930528	۳۵/۴۸^{FG}	۳/۵۵^{G}	۱۵/۶۹^{E}	۷/۵۳^{A}	۷/۱۵^{ABCDE}	۱/۰۴^{BC}	۶۴/۸۵^{F}
۵	(7112*SB36) * S1 - 930534	۳۵/۴۸^{FG}	۳/۸۳^{FG}	۱۵/۷۲^{E}	۶/۶۱^{ABCD}	۶/۵۵^{DEFG}	۰/۹۴^{BC}	۶۸/۴۳^{EF}
۶	(7112*SB36) * S1 - 930548	۴۷/۱۴^{AB}	۵/۲۷^{DE}	۱۶/۷۲^{DE}	۵/۸۶^{ABCDE}	۷/۸۰^{A}	۱/۴۱^{ABC}	۶۹/۰۴^{EF}
۷	(7112*SB36) * S1 - 930556	۳۸/۸۱^{CDEFG}	۴/۱۵^{EFG}	۱۵/۸۳^{E}	۶/۴۳^{ABCD}	۶/۳۸^{EFG}	۰/۸۱^{BC}	۶۹/۵۷^{EF}
۸	(7112*SB36) * S1 - 930557	۳۵/۲۴^{FG}	۴/۱۳^{EFG}	۱۶/۴۱^{E}	۵/۸۹^{ABCDE}	۶/۸۲^{BCDEF}	۲/۱۹^{A}	۷۰/۳۶^{DEF}
۹	(7112*SB36) * S1 - 930580	۴۱/۱۹^{BCDEF}	۴/۱۰^{EFG}	۱۵/۵۶^{E}	۷/۱۹^{AB}	۷/۵۰^{ABC}	۱/۳۱^{ABC}	۶۴/۶۳^{F}
۱۰	(7112*SB36) * S1 - 930582	۳۹/۵۲^{CDEFG}	۴/۸۶^{DEF}	۱۶/۷۱^{DE}	۵/۱۰^{DE}	۶/۴۹^{DEFG}	۱/۱۴^{BC}	۷۳/۵۰^{BCDE}
۱۱	(7112*SB36) * S1 - 930595	۳۵/۹۵^{FG}	۴/۱۰^{EFG}	۱۵/۹۸^{E}	۷/۰۵^{ABC}	۶/۵۶^{DEFG}	۰/۹۸^{BC}	۶۸/۰۹^{EF}
۱۲	(7112*SB36) * S1 - 930597	۴۳/۲۳^{ABCDE}	۵/۱۵^{DE}	۱۶/۶۰^{DE}	۴/۸۳^{DE}	۷/۲۲^{ABCDE}	۱/۱۴^{BC}	۷۲/۳۵^{CDE}
۱۳	(7112*SB36) * S1 - 930605	۳۴/۰۵^{G}	۳/۷۵^{FG}	۱۶/۳۱^{E}	۶/۴۰^{ABCD}	۶/۶۸^{CDEFG}	۱/۲۰^{BC}	۶۹/۵۴^{EF}
۱۴	(7112*SB36) * S1 - 930620	۴۸/۵۷^{A}	۸/۱۷^{A}	۲۰/۷۸^{A}	۲/۷۱^{F}	۶/۶۵^{CDEFG}	۱/۰۷^{BC}	۸۲/۵۳^{A}
۱۵	Arya	۳۶/۶۷^{EFG}	۳/۹۲^{FG}	۱۵/۸۱^{E}	۶/۹۵^{ABC}	۷/۵۴^{AB}	۱/۷۱^{AB}	۶۵/۳۲^{F}
۱۶	Bumerang	۳۵/۴۸^{FG}	۴/۷۳^{DEFG}	۱۷/۸۰^{CD}	۵/۱۲^{DE}	۵/۹۴^{G}	۰/۶۰^{C}	۷۶/۵۲^{ABCD}
۱۷	Ludwina	۴۴/۲۹^{ABCD}	۶/۶۴^{BC}	۱۹/۲۳^{B}	۴/۹۰^{DE}	۶/۱۱^{FG}	۰/۷۱^{C}	۷۸/۴۴^{ABC}
۱۸	Novodoro	۳۷/۸۶^{DEFG}	۵/۸۴^{CD}	۱۹/۶۱^{AB}	۵/۴۶^{BCDE}	۴/۹۷^{H}	۱/۳۴^{ABC}	۷۹/۵۷^{AB}
۱۹	BTS213	۴۹/۲۹^{A}	۷/۳۲^{AB}	۱۹/۱۳^{BC}	۵/۱۲^{DE}	۶/۰۷^{FG}	۱/۲۴^{BC}	۷۷/۸۱^{ABC}

در هر ستون میانگین‌های با حداقل یک حرف مشترک، با هم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

هالاهان و همکاران (Halahan *et al*. 2018) در ارتباط با اثر پدیده هتروزیس در چغندرقند نشان دادند که دز ژنوم در والدین هیبریدهای تریپلوئید F1 چغندرقند اثرات هتروزیس را بیشتر از آنچه که در هیبریدهای دیپلوئید F1 ایجاد می‌شود، افزایش نمی‌دهند؛ بنابراین سودمندی اثر هتروزیس برای اصلاح صفات مهم اقتصادی همچون عملکرد ریشه و عملکرد شکر در چغندرقند می‌تواند در سطح دیپلوئیدی نیز به دست آید.

نوروزی و همکاران (Norouzi *et al*. 2019) در طرحی مشابه، مقاومت به نماتد مولد سیست را در ۱۶ ژنوتیپ آزمایشی ارزیابی کردند و نشان دادند که هیبریدهای آزمایشی اختلاف معنی‌داری با یکدیگر داشته و برترین آن‌ها می‌تواند در آزمایش‌های تعیین ارزش زراعی وارد و مورد مقایسه قرار گیرند.

رجبی و همکاران (Rajabi *et al*. 2020) در تهیه و بررسی واکنش هیبریدهای دیپلوئید چغندرقند به تنش خشکی- ریزومانیا نشان دادند که در مجموع سه منطقه کرج، مشهد و همدان، هیبریدهای SC(7112*SB36)*S1 – 940751 و SC(7112*SB36)*S1–940655 به ترتیب با ۵/۲۲ و ۵/۱۳ تن در هکتار بالاترین عملکرد قند سفید را در بین هیبریدها به خود اختصاص دادند و لاین‌های پدری مربوط به این دو هیبرید نیز از مقاومت خوبی به ریزومانیا برخوردار بودند.

تجزیه مرکب دو منطقه

با توجه به آزمون یکنواختی واریانس خطای دو آزمایش مشهد و زرقان به روش بارتلت، مشخص شد کای اسکوئر صفات عیار قند و ضریب استحصال شکر معنی‌دار نیست (جدول ۶) و می‌توان از نظر این دو صفت برای دو منطقه تجزیه واریانس مرکب کرد (جدول ۷). در تجزیه واریانس مرکب، اثر متقابل ژنوتیپ در مکان برای عیار قند و ضریب استحصال شکر معنی‌دار شده است؛ بنابراین، نمی‌توان برای هر یک از اثرات اصلی مقایسه میانگین انجام داد و فقط در داخل هر منطقه می‌توان ژنوتیپ‌ها را با یکدیگر مقایسه کرد که این کار قبلاً در تجزیه واریانس ساده هر یک از مناطق انجام و ارائه شده است. همچنین نوروزی و همکاران (Norouzi *et al*. 2019) در تحقیقی مشابه به‌منظور ارزیابی مقاومت به نماتد مولد سیست در هیبریدهای جدید چغندرقند پس از تجزیه مرکب نشان دادند که در بین مناطق، منطقه مشهد نسبت به شیراز و خوی از نظر عملکرد قند سفید برتری معنی‌داری نشان می‌دهد.

جدول ۶ آزمون یکنواختی واریانس خطای چهار صفت مهم ریشه چغندرقند در دو منطقه مورد آزمایش (آزمون بارتلت)

کای اسکوئر ($\chi 2$)	عملکرد ریشه	درصدقند	عملکرد قندسفید	ضریب استحصال شکر
	۳۶/۰۸**	۵/۱۲^{ns}	۱۴/۷۷*	۵/۴۷^{ns}

* و **: به ترتیب اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد. ns: عدم اختلاف معنی‌دار

جدول ۷ خلاصه تجزیه واریانس مرکب دو منطقه برای درصد قند و ضریب استحصال شکر

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	
		درصد قند	ضریب استحصال شکر
مکان	۱	۵۴۳/۱۳**	۱۴۶۳۵/۲۳**
بلوک (مکان)	۱۰	۶/۸۲**	۳۶/۵۹*
ژنوتیپ	۱۸	۱۲/۴۳**	۱۰۶/۸۷**
مکان*ژنوتیپ	۱۸	۳/۷۲**	۵۹/۱۸**
خطای کل	۱۸۰	۵۶۶/۱۱	۱۴۸۳۷/۸۷
ضریب تغییرات (درصد)			

* و **: به ترتیب اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال خطای پنج و یک درصد

در تحقیق حاضر، بر مبنای نتایج آزمون عملکرد هیبریدها در مزرعه آلوده به ریزومانیا و فراوانی ژن مقاومت به نماتد گره ریشه در آزمایشگاه، هیبرید تری وی کراس 7112*SB36)*S1-930620) با مقاومت دوگانه به ریزومانیا (۷۱ درصد) و ژن مقاومت به نماتد گره ریشه (۳۸ درصد) و بیشترین عملکرد قند سفید در هر دو منطقه (با میانگین ۱۰/۹۲ تن در هکتار) انتخاب شد. البته برای تأیید برتری ژنوتیپ منتخب از این تحقیق، لازم است در آزمایش‌های تعیین ارزش زراعی آتی کشت شـده و پایداری عملکرد قند سفید آن به اثبات برسد. در این تحقیق دامنه فراوانی ژن مقاومت به نماتد گره ریشه از منشأ SB-34 مؤسسه در بین ۱۹ هیبرید کشت شده در گلخانه بین صفر تا ۸۳ درصد متغیر بود در حالی که در تحقیق دارابی و همکاران (Darabi *et al*. 2017) دامنه فراوانی ژن مذکور در هیبریدهای مورد بررسی بین ۳۳ تا ۸۹ درصد بود. با مقایسه نتایج حضور ژن‌های مقاومت به ریزومانیا و نماتد گره ریشه (جدول ۱) و عملکرد هیبریدها در مزرعه آلوده به ریزومانیا (جداول ۳ و ۵)، به نظر می‌رسد که علاوه بر فراوانی نسبی حضور ژن‌های مقاومت، قابلیت ترکیب‌پذیری هیبریدها نیز در تولید عملکرد قند سفید بسیار مؤثر است؛ زیرا در هیبرید انتخاب شده در این تحقیق، فراوانی ژن مقاومت به ریزومانیا ۷۱ درصد و فراوانی ژن مقاومت به نماتد گره ریشه ۳۸ درصد می‌باشد. این در حالی است که برخی هیبریدهای غیر منتخب فراوانی بالاتری از نظر ژن‌های مقاومت داشته‌اند، ولیکن عملکرد قند سفید کمتری در مزرعه آلوده تولید کرده‌اند. به‌هرحال، غربال مولکولی اولیه هیبریدها در آزمایشگاه و حذف تعدادی از آن‌ها باعث می‌شود تعداد کمتری هیبرید در مزارع آلوده مقایسه عملکرد شوند و در هزینه‌های عملیات مزرعه‌ای صرفه‌جویی شود. همچنین، شناخت بهتری از وضعیت ژنتیکی هیبریدها با غربال مولکولی به دست خواهد آمد و در صورت معرفی هیبریدهای منتخب در آینده به‌عنوان رقم تجارتی، می‌تواند به‌نژادگر را در تأیید هیبرید تجارتی کمک نماید.

References: منابع مورد استفاده:

Akhiyani A, Damadzadeh M, Ahmadi AR. Identification of plant parasitic nematodes in sugar beet fields in Esfahan. Proceedings of the 11th Iranian Plant Protection Congress; 1993 Aug 26 -Sep 1; Rasht, Iran. (in Persian, abstract in English)

Altman J, Thomason I. Nematodes and their control. In: Russel TJ, John TA, George ER, George RH, editors. Advances in sugarbeet production, principles and practices. The Iowa State University Press Ames, Iowa, USA. 1971; P. 335-370.

Asher MJC. Rhizomani. In: Cooke DA, Scott RK, editors. The Sugar Beet Crop. Chapman and Hall, London, UK., 1993. P. 311-346.

Izadpanah K, Hashemi P, Kamran R, Pakniyat M, Sahanpour A, Masoumi M. Widespread occurrence of rhizomania disease of sugar beet in Fars province. Journal of Plant Pathology. 1996; 32: 155-157. (in Persian, abstract in English)

Bakooie M, Pourjam E, Mahmoudi SB, Safaie N, Naderpour M. To design new molecular marker on basis of ASP for evaluation of resistance/susceptibility of sugar beet genotypes against root knot nematode. Proceeding of the 20th Iranian Plant Protection Congress; 2012 Aug 24-27. Shiraz, Iran. (in Persian, abstract in English)

Bakooie M. Phenotypic and molecular screening for sugar beet resistance against root knot nematode (*Meloidogyne javanica*) (PhD thesis). Tehran: Tarbiat Modarres University; 2014. (in Persian, abstract in English)

Bakooie M, Mahmoudi SB, Pourjam E, Safaie N. Optimal inoculum levels for the resistance screening of sugar beet to root-knot nematode under greenhouse condition. Journal of Sugar Beet. 2015; 30(2): 155-166. (in Persian, abstract in English)

Bakooie M, Pourjam E, Mahmoudi SB, Safaie N, Naderpour M. Development of an SNP Marker for Sugar Beet Resistance/Susceptible Genotyping to Root-Knot Nematode. Journal of Agricultural Science and Technology. 2015; 17(2): 443-454. (in Persian, abstract in English)

Biancardi E, Lewellen RT, DeBiaggi M, Erichsen AW, Stevanato P. The origin of rhizomania resistance in sugar beet. Euphytica. 2002; 127: 383-397.

Darabi S, Pedram A, Ahmadi M, Norouzi P, Abdollahian M, Valifar A. Evaluation of sugar beet diploid monogerm hybrids resistant to rhizomania and root knot nematode. Fars Agricultural and Natural Resources Research Center, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), The final report of research project. 2017; Registration No. 52185. (in Persian, abstract in English)

Dellaporta SL, Wood J, Hicks JB. A plant DNA minipreparation version II. Plants Mol Biol Rep. 1983; 1: 19-21.

Hallahan BR, Fernandez-Tendero E, Fort A, Ryder P, Dupouy G, Deletre M, Curley E, Brychkova G, Schulz B, Spillane C. Hybridity has a greater effect than paternal genome dosage on heterosis in sugar beet (*Beta vulgaris*). BMC Plant Biology. 2018. 18 (120): 1-16.

Janati A, Aouragh EH, Meskine M. The root- knot nematodes *Meloidogyne spp*. in Morocco. In: Proceeding of the 3rd Research and planning conference on root knot nematodes *Meloidogyne spp*; 1982. Coimbra, Portugal.

Karegarbideh A. Identification of plant-parasitic nematodes associated with sugar beet and their distribution in Hamadan province, Iran. Iranian Journal of Plant Pathology. 2006; 42(1): 159-178. (in Persian, abstract in English)

Mahmoudi B, Vaziri A, Abdollah A. sugar beet pests, diseases and weeds in Baghlan. FAO report. 2009. pp. 63.

Norouzi P. Screening of beet cyst nematode resistant plants using molecular marker. Second National Congress Cellular and Molecular Biology; 2007. Kerman, Iran. (in Persian, abstract in English)

Norouzi P, Mahmoudi B, Aghaeizadeh M, Kakuinejad M, Orazizadeh MR, Vahedi S, Fathi MR. Repeatability of some molecular markers linked to rhizomania resistance gene (Rz_1) in sugar beet (*Beta vulgaris* L.) genotypes. Journal of Crop Breeding. 2011; 3: 30-42. (in Persian, abstract in English)

Norouzi, P, Sabzehzari M, Zeinali H. Efficiency of some molecular markers linked to rhizomania resistance gene (Rz_1) for marker assisted selection in sugar beet. Journal of Crop Science and Biotechnology. 2015; 18(5): 319-323.

Norouzi P. To develop a SCAR marker linked to rhizomania resistance gene in sugar beet. Modern Geneticd Journal. 2016; 10(4): 549-556. (in Persian, abstract in English)

Norouzi P, Kakuinejad M, Mahmoudi B, Darabi S. The relationship between a repulsion molecular marker with the infection severity on field ad the concentration of virus in sugar beet root. Journal of Crop Breeding. 2016; 17: 123-130. (in Persian, abstract in English)

Norouzi P, Soltani M, Mehdikhani P, Darabi M. Evaluation of new hybrids of sugar beet against cyst nematode in infested fields. Sugar Beet Seed Institute (SBSI). Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO). The final report of research project. 2019; Registration No. 55994. (in Persian, abstract in English).

Omidvar AM. Plant parasitic nematodes, behavior, biology, systematics and their control, Ministry of Agriculture; Tehran, Iran. 1968. pp. 192. (in Persian, abstract in English)

Ommati F, Giti M. Identification and spread of sugar beet parasitic nematodes of Semnan province. Proceeding of the 19th Iranian Plant Protection Congress; 2010 Aug 19-22; Mashad, Iran. (in Persian, abstract in English)

Rajabi A, Ahmadi M, Hasani M. Development and evaluation of the response of sugar beet diploid hybrids to Drought stress and Rhizomania. Sugar Beet Seed Institute (SBSI). Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO). The final report of research project. 2020; Registration No. 56770. (in Persian, abstract in English)

Rush CM. Ecology and epidemiology of Benyviruses and plasmodiophorid vectors. Annual Review Phytopathology. 2003; 41:567-592.

Scholten OE, Jansen RC, Paul Keizer LC, De Bock ThSM. Lang W. Major genes for resistance to beet necrotic yellow vein virus (BNYVV) in *Beta vulgaris*. Euphytica. 1996. 91: 331-339.

Toodehfallah M, Arjmand MH, Mahmoudi SB. On a study infection and distribution of rhizomania disease in Iran. Proceeding of the 14th Iranian Plant Protection Congress; 2000; Esfahan, Iran. (in Persian, abstract in English)

Whitney ED, Duffus E. Compendium of Beet Diseases and Insects, APS press, 1991; pp. 76.