DOI: http://dx.doi.org/10.22092/jsb.2012.655

سطوح نسبی غلظت ویروس *Beet necrotic yellow vein virus* در ارقام حساس تا مقاوم چغندرقند طی فصل رشد

Relative levels of *Beet necrotic yellow vein virus* in susceptible to resistant genotypes of sugar beets during growing season

سیدباقر محمودی[1]*، محمد قنبری[2]، رضا امیری[3]، سعید دارابی[4]، مژده کاکوئی‌نژاد[5]، محسن آقائی‌زاده[5] و مهدی حسنی[6]

تاریخ دریافت: ۸۸/۱۱/۲۱ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۱/۴/۷

س.ب. محمودی، م. قنبری، رضا امیری، س. دارابی، م. کاکوئی نژاد و م. آقائی زاده. ۱۳۹۱. سطوح نسبی غلظت ویروس *Beet necrotic yellow vein virus* در ارقام حساس تا مقاوم چغندرقند طی فصل رشد. **مجله چغندرقند ۲۸(۱): ۱۲- ۱**

چکیده

در این مطالعه که با هدف بررسی روند تغییرات غلظت ویروس BNYVV طی فصل رشد انجام شد، از شش رقم دوروتی، لاتی‌تیا (ارقام مقاوم)، زرقان (رقم متحمل)، شیرین (رقم حساس)، F_2-93 (جمعیت F_2 حامل ۷۵٪ ژن مقاوم Rz_2) و BC1-261-99 (جمعیت BC_1 حامل ۲۵٪ ژن مقاومRz_2) استفاده شد. شش تیمار فوق در قالب طرح کرت‌های خرد شده بر پایه بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار کاشته شدند. در چهار تاریخ مختلف به عنوان کرت‌های اصلی (دو ماه پس از کاشت، سه ماه پس از کاشت، چهار ماه پس از کاشت و زمان برداشت) برای آزمون الایزا نمونه‌برداری شد. در هر تاریخ نمونه‌برداری از هر کرت ۱۲ بوته به طور تصادفی انتخاب و از ریشه‌های آن‌ها برای انجام آزمون DAS-ELISA نمونه‌گیری شد. آزمایش در دو سال و در مزرعه با سابقه آلودگی به بیماری ریزومانیا انجام شد. با مقایسه میانگین جذب الایزای ژنوتیپ‌ها در تاریخ‌های نمونه‌برداری مختلف در هر دو سال اجرای آزمایش، مقادیر جذب الایزا ابتدا افزایش و سپس تا پایان فصل به تدریج کاهش یافت. با توجه به روند تغییرات مقادیر جذب الایزا گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها در سال اول در نمونه‌برداری دوم و در سال دوم اجرای آزمایش در نمونه‌برداری سوم عکس‌العمل منطقی آن‌ها را به بیماری ریزومانیا نشان داد. به این ترتیب می‌توان عکس‌العمل ژنوتیپ‌های چغندرقند را نسبت به بیماری ۳ تا ٤ ماه پس از کاشت مشخص نمود. هم چنین شناسایی مزارع آلوده در این زمان نتیجه قابل اعتمادی خواهد داشت.

واژه‌های کلیدی: الایزا، تاریخ نمونه‌برداری، ریزومانیا، *Beta vulgaris*

۱- استادیار موسسه تحقیقات چغندرقند- کرج * - نویسنده مسئول bagher_m@yahoo.com
۲- دانش آموخته کارشناسی‌ارشد دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج- کرج
۳- دانشیار دانشگاه تهران – پردیس ابوریحان- ورامین
۴- مربی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی فارس- شیراز
۵- مربی مؤسسه تحقیقات چغندرقند- کرج
۶- کارشناس ارشد مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی همدان- همدان

مقدمه

بیماری ریزومانیا یکی از مهم‌ترین بیماری‌های چغندرقند محسوب می‌شود. این بیماری به‌دلیل کاهش شدید محصول، دوام تقریباً نامحدود در خاک آسان نبودن مبارزه با آن به‌صورت عامل محدودکننده کشت چغندرقند و به تبع آن صنعت قند در آمده است (Asher 1993). بیماری ریزومانیا از بسیاری از کشورهای دنیا گزارش شده است و در حال حاضر در دنیا از تمامی بیماری‌های چغندرقند مخرب‌تر می‌باشد (Rush and Heidel 1995; Scholten and Lange 2000). این بیماری اولین بار در ایران توسط ایزدپناه و همکاران (Izadpanah et al. 1996) از فارس گزارش شد. متعاقب آن بیماری از اکثر مناطق چغندرکاری کشور گزارش گردید (Toude Fallah et al. 2000)

عامل بیماری ریزومانیا ویروس زردی نکروتیک رگبرگ چغندر قند (*Beet necrotic yellow vein virus*) بوده و ناقل آن شبه قارچ *Polymyxa betae* Keskin می‌باشد.

تاکنون برای مبارزه با بیماری روش‌های متعددی از جمله اجتناب از کشت چغندرقند در خاک‌های آلوده، روش‌های زراعی، مبارزه شیمیایی و مقاومت ژنتیکی مورد استفاده قرار گرفته است. استفاده از ارقام مقاوم بهترین و در عین حال ساده‌ترین روش مبارزه با این بیماری است. کوشش‌های اولیه برای انتخاب ژنوتیپ‌های مقاوم براساس تفاوت‌های موجود در بروز علائمی مانند زرد شدگی یا پیچیدگی برگ‌ها، زرد شدن رگبرگ‌ها یا شدت پوسیدگی ریشه در زمان برداشت در ارقام و رگه‌های اصلاحی کشت شده در مزارع آلوده به ویروس بود. سپس عملکردریشه و عیارقند نیز بررسی گردید، به طوری که ارقام دارای مقاومت نسبی به ریزومانیا به‌وسیله عملکرد و عیارقند شناسایی شدند (Scholten and Lange 2000). در دهه ۹۰ میلادی روش‌های متنوع ارزیابی مقاومت در مزرعه و گلخانه بر پایه روش‌های سرولوژیکی توسعه پیدا کرد (Paul et al. 1992; Scholten 1997).

بنا بر عقیده وایزلر و همکاران (Wisler et al. 1999) به نظر می‌رسد که در آزمایش‌های مزرعه‌ای مقادیر غلظت‌های ویروس در انتهای تابستان منعکس کننده واکنش رقم نمی‌باشد. بنابراین، در آزمون‌های مزرعه‌ای وضعیت ریشه‌های اصلی معیار بهتری برای تفاوت واریته‌ها می‌باشد، زیرا غلظت ویروس در ریشه‌های جانبی در انتهای فصل رشد کاهش می‌یابد. آن‌ها اظهار داشتند در اواخر فصل رشد برای شناسایی ریزومانیا باید از خاک مزرعه نمونه‌برداری نمود.

در مجموع به نظر می‌رسد که در آمریکا تمایل عمومی اصلاح‌گران، استفاده از آزمایش‌های مزرعه‌ای همراه با بررسی علائم بیماری، عملکردریشه و عیارقند برای ارزیابی مقاومت به ریزومانیا باشد (Wisler et al., 1999, Wisler et al.,2003; Lewellen, 1995). در حالی که در اروپا انتخاب ارقام عمدتاً به‌وسیله اندازه‌گیری غلظت ویروس با استفاده از آزمون الایزا در گیاهچه‌های چغندرقند کشت شده در شرایط کنترل شده انجام می گیرد (Scholten and

Lange 2000; Scholten et al. 1996). به‌طور کلی انتخاب در شرایط مزرعه‌ای برای مراحل پایانی برنامه‌های اصلاحی که تعداد کمی ژنوتیپ باید در مزرعه آزمون شوند، ضروری می‌باشد (Asher 1989). علاوه‌بر این، وقتی که دستیابی به تعداد زیادی ژنوتیپ ضروری بوده و خصوصیات زراعی نیز مدنظر باشند، انتخاب تحت شرایط مزرعه ترجیح داده می‌شود (Lewellen and Biancardi, 1990). نتایج مطالعات گلخانه‌ای اخیر در آلمان نشان‌گر همبستگی مثبت بین علائم ظاهری بیماری روی ریشه و وزن‌تر ریشه با غلظت ویروس و سطح مقاومت ارقام است. هم‌چنین در ارقام مقاوم غلظت ویروس از هفته چهارم تا دوازدهم به‌تدریج کاهش یافت (Pferdmenges et al. 2009). مقاومت به بیماری ریزومانیا در چغندرقند تک ژنی بوده و توسط ژن مقاوم Rz_1 و یا Rz_2 اعطا می‌شود (Scholten and Lange 2000).

با توجه به این که ارزیابی مقاومت تعداد زیادی لاین در شرایط گلخانه و توسط آزمون‌های استاندارد (Amiri et al. 2003; Pferdmenges et al. 2009) به‌راحتی امکان‌پذیر نیست، این مطالعه با هدف تعیین زمان مناسب برای ارزیابی مقاومت ارقام و لاین‌های چغندرقند در شرایط مزرعه از طریق بررسی روند تغییرات غلظت ویروس طی فصل رشد در ارقام با سطوح مختلف انجام شد، تا از این طریق بتوان با اطمینان و اعتماد بیشتری لاینهای مقاوم را در شرایط با آلودگی طبیعی شناسایی کرد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

از شش رقم دوروتی و لاتی‌تیا (ارقام مقاوم)، زرقان (رقم متحمل)، شیرین (رقم حساس)، F_2-93 (جمعیت F_2 حامل ۷۵٪ ژن مقاوم Rz_2) و BC_1-261-99 (جمعیت تلاقی برگشتی نسل اول حامل ۲۵٪ ژن مقاوم Rz_2) استفاده شد (Amiri et al. 2003).

طرح آزمایشی و نمونه‌برداری

آزمایش در قالب طرح کرت‌های خرد شده بر پایه بلوک‌های کامل تصادفی در چهار تاریخ نمونه‌برداری و شش ژنوتیپ با چهار بلوک و ۱۲ نمونه از هر ژنوتیپ، در مزرعه با سابقه آلودگی به ویروس BNYVV در مرکز تحقیقات کشاورزی زرقان- فارس اجرا شد. تاریخ‌های نمونه‌برداری، به‌عنوان عامل اصلی و ژنوتیپ‌ها، به‌عنوان عامل فرعی در نظر گرفته شدند. تاریخ‌های نمونه‌برداری شامل: دو ماه پس از کاشت، سه ماه پس از کاشت، چهار ماه پس از کاشت و زمان برداشت (حدود شش ماه پس از کاشت) بودند. آزمایش در سال ۱۳۸۴ در ۱۴ اردیبهشت ماه و در سال ۱۳۸۵ در ۳۰ اردیبهشت ماه کشت گردید. عملیات زراعی مطابق معمول آزمایش‌های تحقیقاتی انجام گرفت. در هر تاریخ نمونه‌برداری، از ردیف وسط هر کرت ۱۲ گیاه به‌طور تصادفی برداشت و برای آزمون الایزا مورد استفاده قرار گرفت.

آزمون الایزا

اندازه‌گیری غلظت ویروس در ریشه گیاهان با استفاده از آزمون الایزا به روش ساندویچ دو طرفه آنتی بادی (Double Antibody Sandwich Enzyme- Linked Imunosorbent Assay) (Clark and Adams 1977) انجام شد. آنتی‌سرم‌ها و عصاره برگ‌های *N.clevelandii* آلوده به BNYVV به عنوان کنترل مثبت از شرکت بیوربا .(Bioreba AG. Switzerland) تهیه گردید.

تجزیه و تحلیل آماری

با توجه به نرمال نبودن داده‌های مقادیر جذب الایزا، قبل از تجزیه آماری از تبدیل لگاریتمی (پایه ۱۰) استفاده گردید. از میانگین مقادیر جذب الایزای ۱۲ بوته تصادفی در هر کرت، برای تجزیه واریانس استفاده شد. پس از انجام تجزیه واریانس و مقایسه تیمارها روی داده‌های تبدیل شده، میانگین ژنوتیپ‌ها به مقیاس اصلی خود برگردانده شد. تجزیه واریانس آزمایش طرح کرت‌های خرد شده با استفاده از نرم افزار SAS انجام شد. آزمون F با استفاده از امید ریاضی میانگین مربعات با فرض تصادفی بودن اثر سال و بلوک و ثابت بودن اثر ژنوتیپ و تاریخ نمونه‌برداری انجام شد. مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپ × سال و تاریخ نمونه‌برداری × سال با استفاده از نرم افزار MSTATC انجام شد. در این دو مقایسه میانگین با توجه به نتیجه تجزیه مرکب به ترتیب اشتباه ۳ و ادغام اشتباه‌های ۲ و ۳ به‌عنوان خطای آزمایش در نظر گرفته شد.

نتایج

بر اساس نتایج تجزیه مرکب، تاریخ نمونه‌برداری و ژنوتیپ اختلاف معنی‌دار مشاهده نگردید (جدول ۱). اثرات متقابل تاریخ نمونه‌برداری در سال و ژنوتیپ در سال و هم‌چنین ژنوتیپ در سال در تاریخ نمونه‌برداری معنی‌دار شده‌اند. مقادیر جذب الایزا در تاریخ‌های نمونه‌برداری مختلف دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشد به طوری که در سال اول و دوم بیشترین مقدار جذب الایزا به ترتیب در تاریخ‌های دوم و سوم نمونه‌برداری مشاهده شد (جدول ۲). در جدول ۳ نتایج مقایسه میانگین ژنوتیپ‌ها در سال اول اجرای آزمایش را نشان می‌دهد. در تاریخ نمونه‌برداری اول (دو ماه پس از کاشت) از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری بین ژنوتیپ‌های مختلف از لحاظ مقادیر جذب الایزا مشاهده نشد. در تاریخ نمونه‌برداری دوم (سه ماه پس از کاشت)، تفاوت‌های بین ژنوتیپ‌ها افزایش یافته به طوری که مجموع شش ژنوتیپ در دو گروه a و b قرار گرفته‌اند، در نمونه‌برداری سوم، تنها جمعیت F_2 (۷۵٪ مقاوم) دارای اختلاف معنی‌دار با ژنوتیپ حساس شیرین بود. در نهایت در نمونه‌برداری چهارم، ضمن کاهش نسبی مقادیر جذب الایزای ژنوتیپ‌ها نسبت به نمونه‌برداری‌های دوم و سوم (به استثناء ژنوتیپ دوروتی که مقدار جذب آن اندکی افزایش یافته است)، گروه‌بندی مناسبی بین ژنوتیپ‌ها

مشاهده نشد. در این تاریخ ژنوتیپ کاملاً حساس شیرین با ژنوتیپ مقاوم دوروتی اختلاف معنی‌داری نشان نداد. شکل ۱ نشان می‌دهد که در نمونه‌برداری اول تفاوت ژنوتیپ‌ها اندک است، سپس تفاوت‌ها در نمونه‌برداری دوم به حداکثر رسیده است و کم کم تا نمونه‌برداری آخر مجدداً تفاوت ژنوتیپ‌ها از لحاظ مقادیر جذب الایزا کاهش یافته است. ضمن این که در نمونه‌برداری‌های سوم و چهارم مقادیر جذب الایزای برخی ژنوتیپ‌ها با سطح مقاومت آن‌ها سازگار نیست.

جدول۱ تجزیه مرکب طرح کرت‌های خرد شده در سال‌های اول ودوم

منابع تغییر	میانگین مربعات	مجموع مربعات	درجه آزادی
سال	۸/۷۱۵۶ **	۸/۷۱۵۶	۱
تکرار در سال (E_1)	۰/۰۸۸۹۸ **	۰/۵۳۳۹	۶
تاریخ نمونه‌برداری	۰/۰۵۹۷ ns	۰/۱۷۹۲	۳
تاریخ نمونه‌برداری× سال	۰/۰۴۱۵۸ **	۰/۱۲۴۷	۳
(E_2)	۰/۰۰۸۰۲۸ ns	۰/۱۴۴۵	۱۸
ژنوتیپ	۰/۶۸۰۴۷ ns	۳/۴۰۲۴	۵
ژنوتیپ × تاریخ نمونه‌برداری	۰/۰۱۲۳۵ ns	۰/۱۸۵۲	۱۵
ژنوتیپ × سال	۰/۴۴۸۶۰ **	۲/۲۴۳۰	۵
ژنوتیپ × سال × تاریخ نمونه‌برداری	۰/۰۱۳۱۱ *	۰/۱۹۶۶	۱۵
(E_3)	۰/۰۶۷۰۵ ns	۰/۸۰۴۶	۱۲۰

ns : غیرمعنی‌دار C.V. =۹/۲۳ ٪ *، ** به ترتیب معنی‌دار در سطوح احتمال پنج درصد و یک درصد

جدول ۲ مقایسه میانگین مقادیر جذب الایزا برای اثر متقابل تاریخ نمونه برداری × سال در تجزیه مرکب طرح

سال	مرحله نمونه برداری	گروه بندی دانکن*	مقادیر جذب الایزا
اول	۱	d	۰/۲۲۷۶
	۲	c	۰/۲۸۴۴
	۳	cd	۰/۲۶۶۱
	۴	cd	۰/۲۴۸۰
دوم	۱	b	۰/۶۳۴۷
	۲	b	۰/۶۷۸۸
	۳	a	۰/۹۴۴۸
	۴	b	۰/۷۴۹۸

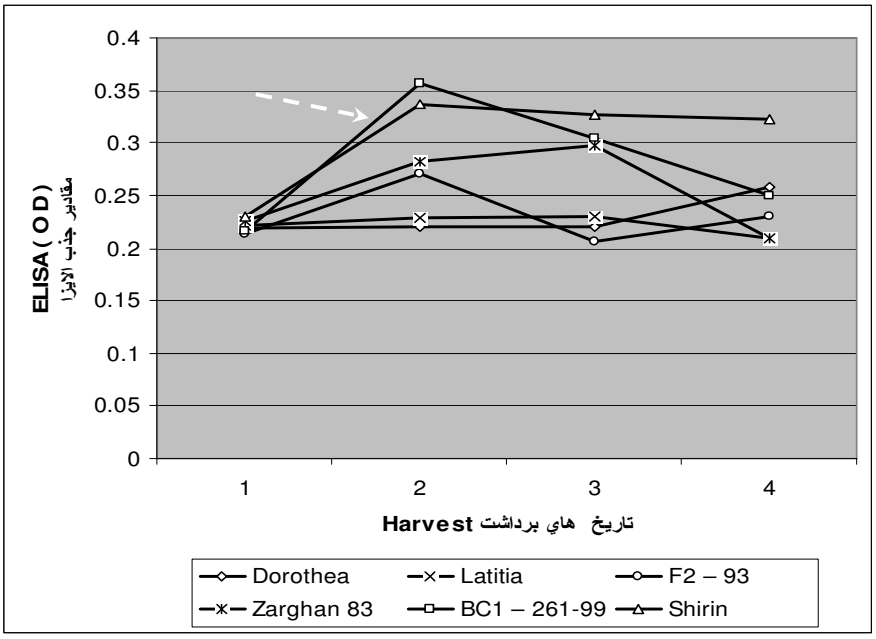
* میانگین‌های دارای حروف یکسان از نظر آماری بر اساس آزمون دانکن در سطح پنج درصد دارای تفاوت معنی‌دار نمی‌باشند

همان طوری که مشاهده می‌شود (جدول ۲) در هر سال بین تاریخ‌های مختلف نمونه‌برداری از لحاظ مقادیر جذب الایزا اختلاف معنی‌دار مشاهده می‌شود. در سال اول نمونه‌برداری دوم و در سال دوم نمونه‌برداری سوم بیشترین مقادیر جذب الایزا را به خود اختصاص دادند. در ضمن جدول ۲ نشان می‌دهد که ماهیت اثر متقابل نمونه‌برداری × سال از نوع تغییر در مقدار میانگین بودن و لذا شدید نمی‌باشد.

جدول۳ میانگین* مقادیر جذب الایزا برای ژنوتیپ‌های چغندرقند در تاریخ‌های مختلف نمونه برداری در سال اول

	میانگین مقادیر جذب الایزا				
ژنوتیپ	نمونه‌برداری اول	نمونه‌برداری دوم	نمونه‌برداری سوم	نمونه‌برداری چهارم	میانگین
دوروتی	۰/۲۱۸۶۲ a	۰/۲۲۰۶ b	۰/۲۲۰۶۸ ab	۰/۲۵۷۶۱ ab	۰/۲۳۲۸۹ c
لاتیتیا	۰/۲۲۲۰۳ a	۰/۲۲۸۴۲ b	۰/۲۳۰۳۴ ab	۰/۲۰۹۶۶ b	۰/۲۲۲۹۹ c
F_2 -۹۳	۰/۲۱۲۹۴ a	۰/۲۷۱۴۹ ab	۰/۲۰۶۸۹ b	۰/۲۲۹۷۳ b	۰/۲۳۷۵۹ bc
زرقان	۰/۲۲۵۹۱ a	۰/۲۸۲۶۵ ab	۰/۲۹۷۵۱ ab	۰/۲۰۹۶۶ b	۰/۲۵۳۴۶ bc
BC_1 -۲۶۱-۹۹	۰/۲۱۵۹۱ a	۰/۳۵۶۰۴ a	۰/۳۰۴۱۳ ab	۰/۲۴۹۸۸ b	۰/۲۸۳۴۵ ab
شیرین	۰/۲۳۰۶۱ a	۰/۳۳۶۲۵ a	۰/۳۲۷۱۵ a	۰/۳۲۲۲۲ a	۰/۳۰۸۸۶ a
برگ آلوده (*Nicotiana clevelandii*)					۱/۹۲۵۶۸
ریشه سالم					۰/۲۱۹۱۱
آستانه آلودگی					۰/۳۱۰۴۷

* در هر ستون میانگین‌های دارای حروف یکسان از نظر آماری بر اساس آزمون دانکن در سطح پنج درصد دارای تفاوت معنی‌دار نمی‌باشند



شکل۱ مقادیر جذب الایزای ژنوتیپ‌های چغندرقند در چهار تاریخ نمونه‌برداری در سال اول

در سال دوم مقادیر جذب الایزا در تاریخ‌های مختلف نمونه‌برداری(جدول ۲) حاکی از شدت آلودگی نسبتا بالای مزرعه آزمایشی موردنظر می‌باشد. به طوری که در رقم حساس شیرین مقدار جذب الایزا در تاریخ‌های نمونه‌برداری مختلف (جدول۵) با شاهد آلوده (control) تفاوت چندانی نداشته و در حدود سه برابر حد آستانه آلودگی می‌باشد. در این سال مقادیر جذب الایزا در تاریخ‌های نمونه‌برداری اول، دوم و چهارم با یکدیگر اختلاف معنی‌دار ندارند (جدول ۲).

جدول ٤ مقایسه میانگین مقادیر جذب الایزا برای اثر متقابل ژنوتیپ × سال در تجزیه مرکب طرح کرت‌های خرد شده در دو سال

سال	ژنوتیپ	مقادیر جذب الایزا	گروه بندی دانکن*
اول	دوروتی	۰/۲۲۶۵	f
	لاتی تیا	۰/۲۱۹۴۸	f
	F_2-93	۰/۲۱۷۹۹	f
	زرقان	۰/۲۳۲۱۰	f
	BC_1-261-99	۰/۲۴۹۴	ef
	شیرین	۰/۲۷۴۲۷	de
دوم	دوروتی	۰/۳۲۰۲۸۹	d
	لاتی تیا	۰/۲۹۶۱۶	d
	F_2-93	۰/۶۴۰۶۳	c
	زرقان	۰/۹۳۹۱۱	b
	BC_1-261-99	۱/۱۶۴۳۴	a
	شیرین	۱/۱۴۲۶۵	a

* میانگین‌های دارای حروف یکسان از نظر آماری بر اساس آزمون دانکن در سطح پنج درصد دارای تفاوت معنی‌دار نمی‌باشند

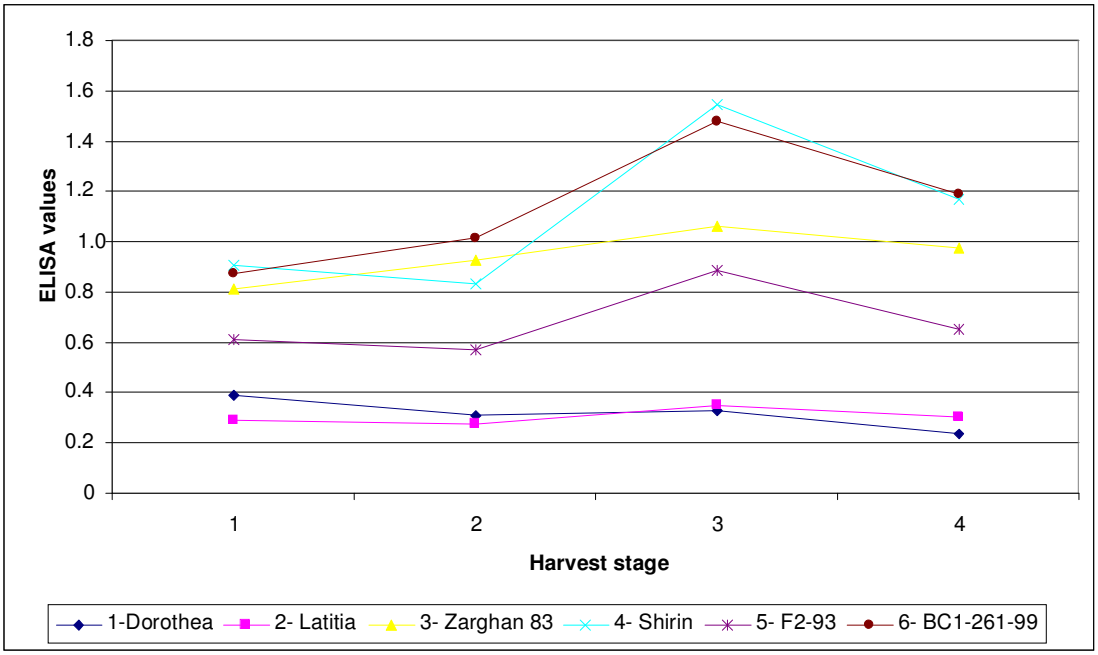
همان طوری که در جدول ۴ مشاهده می‌شود در سال دوم بین ارقام مقاوم به ریزومانیای دوروتی و لاتی‌تیا با سایر ژنوتیپ‌ها اختلاف معنی‌دار مشاهده می‌شود. در حالی که در سال اول اختلافات بین ژنوتیپ‌ها کمتر است به طوری که دو رقم مقاوم به ریزومانیا با جمعیت‌های F_2-93 و BC_1-261-99 و رقم زرقان اختلاف معنی‌دار ندارند.

عکس‌العمل ژنوتیپ‌ها در تاریخ‌های مختلف نمونه‌برداری در سال دوم اجرای ازمایش در جدول ۵ خلاصه شده است. نتایج نشان می‌دهد که در نمونه‌برداری اول ژنوتیپ‌ها در چهار گروه و در نمونه‌برداری‌های بعدی در سه گروه قرار گرفته‌اند. نمونه‌برداری سوم عکس‌العمل منطقی ژنوتیپ‌ها را نسبت به بیماری منعکس کرده است. شکل ۲ جزئیات بهتری از گروه‌بندی را نشان داده است.

جدول ۵ میانگین مقادیر جذب الایزا برای ژنوتیپ‌های چغندرقند در تاریخ‌های مختلف نمونه‌برداری در سال دوم

	میانگین مقادیر جذب الایزا				
ژنوتیپ	نمونه‌برداری اول	نمونه‌برداری دوم	نمونه‌برداری سوم	نمونه‌برداری چهارم	میانگین
دوروتی	۰/۵۹۰۳ c	۰/۴۸۹۴ c	۰/۵۰۵۳ c	۰/۳۶۳۹ c	۰/۴۸۷۲ c
لاتیتیا	۰/۴۵۵۵ d	۰/۴۳۲۸ c	۰/۵۳۸۱ c	۰/۴۶۸۰ c	۰/۴۷۳۶ c
F_2 -۹۳	۰/۷۸۳۳ b	۰/۷۵۱۷ b	۰/۹۳۶۳ b	۰/۸۰۵۰ b	۰/۸۱۹۱ b
زرقان	۰/۹۰۴۹ a	۰/۹۴۷۳ a	۱/۰۱۷ b	۰/۹۸۳۹ a	۰/۹۶۳۳ a
BC_1 -۲۶۱-۹۹	۰/۹۲۴۳ a	۰/۹۸۷۲ a	۱/۱۶۴ a	۱/۰۷۳ a	۱/۰۳۷ a
شیرین	۰/۹۴۱۴ a	۰/۹۴۷۳ a	۱/۱۸۵ a	۱/۰۱۹ a	۱/۰۲ a
برگ آلوده (*Nicotiana clevelandii*)					۱/۵۷۵۰
ریشه سالم					۰/۲۱۴۸
آستانه آلودگی					۰/۴۲۹۶

*در هر ستون میانگین‌های دارای حروف یکسان از نظر آماری بر اساس آزمون دانکن در سطح پنج درصد دارای تفاوت معنی‌دار نمی‌باشند.



شکل ۲ مقادیر جذب الایزای ژنوتیپ‌های تحت مطالعه در چهارتاریخ نمونه‌برداری در سال دوم

بحث

مقادیر جذب الایزا که انعکاسی از غلظت ویروس در گیاه می‌باشد در سال اول و دوم اجرای آزمایش ابتدا با افزایش و سپس تا زمان برداشت، با کاهش تدریجی همراه بود (شکل‌های ۱ و ۲). نوسانات در سال اول اجرای آزمایش از تاریخ اول تا تاریخ دوم نمونه‌برداری اتفاق افتاده بود و دامنه تغییرات چندان قابل ملاحظه نبود (شکل۱) اما در سال دوم اجرای آزمایش جذب الایزا تا تاریخ نمونه‌برداری سوم (چهار ماه بعد از کاشت) افزایش و از آن پس تا زمان برداشت کاهش یافت. دامنه تغییرات مقادیر جذب الایزا در سال دوم زیاد و بیشتر از سال اول بود. دامنه تغییرات مقادیر جذب الایزا در تاریخ‌های مختلف نمونه‌برداری و در بین ژنوتیپ‌های حساس و مقاوم (جدول۳) نشان می‌دهد که شدت آلودگی مزرعه در سال اول اجرای آزمایش کم و در سال دوم زیاد بوده است. هم‌چنان که در جدول ۵ ملاحظه می‌شود، در تاریخ نمونه‌برداری اول ژنوتیپ‌ها از نظر مقادیر جذب الایزا تفاوت معنی‌داری با یکدیگر داشته و در چهار گروه دسته‌بندی شدند حال آن که در سال اول این اختلاف معنی‌دار نبود (جدول ۳) و تمام ژنوتیپ‌ها در یک گروه دسته‌بندی شده بودند. با توجه به این که عامل بیماری ریزومانیا در خاک به سر می‌برد و در بیماری‌های خاکزاد گسترش بیماری در مزرعه لکه‌ای است و از یکنواختی لازم برخوردار نیست، این امر باعث تفاوت شدت آلودگی در دو سال شده است. در مطالعه وایزلر و همکاران (1999) که سه تاریخ نمونه‌برداری (به ترتیب ۷۲ روز، ۱۰۵ روز و ۱۷۰ روز پس از کاشت) وجود داشت، تاریخ نمونه‌برداری اول (حدود دو ماه و ۱۲ روز پس از کاشت) دارای بیشترین مقادیر جذب الایزا بوده و تا تاریخ نمونه‌برداری سوم مقادیر جذب الایزا کاهش یافت. در مطالعه آن‌ها تاریخ کاشت ۱۱ اردیبهشت ماه بود

در سال اول اجرای آزمایش بهترین گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها در نمونه‌برداری دوم مشاهده گردید، به طوری که دو ژنوتیپ مقاوم و ژنوتیپ حساس شیرین و جمعیت BC_1 در دو گروه متفاوت (به ترتیب b و a) قرار گرفتند و دو ژنوتیپ متحمل زرقان ۸۳ و جمعیت F_2 در بین این دو گروه قرار گرفتند. در این سال در نمونه‌برداری‌های سوم و چهارم به‌تدریج، مقادیر جذب الایزای ژنوتیپ‌های مختلف کاهش یافته و گروه‌بندی به‌دست آمده از مقادیر جذب الایزا منعکس‌کننده واقعی ژنوتیپ‌ها نبود. این نتایج با اظهارات وایزلر و همکاران (1999) و لامی(1992) مبنی بر این که به نظر می‌رسد مقادیر غلظت ویروس در انتهای فصل منعکس‌کننده واکنش واریته‌ها نباشد، مطابقت دارد. در سال دوم اجرای آزمایش به دلیل آلودگی شدید در هر چهار تاریخ نمونه‌برداری ژنوتیپ‌ها از یکدیگر تفکیک شده‌اند اما تاریخ نمونه‌برداری سوم تفکیک منطقی و منطبق بر مقاومت ارقام از خود نشان داده است. تاریخ کاشت آزمایش در سال دوم ۲۰ روز دیرتر از سال

اول بوده است و احتمالاً این یکی از دلایل اختلاف در نتایج سال اول و دوم باشد. در سال اول بهترین تفکیک بین ژنوتیپ‌ها تاریخ نمونه‌برداری دوم بود.

شولتن و لنگ (2000) اظهار داشتند در آزمون‌های مزرعه‌ای ریشه‌های اصلی معیار بهتری برای تمایز واریته‌ها می‌باشند، زیرا غلظت ویروس در ریشه‌های جانبی در انتهای فصل رشد کاهش می‌یابد. این نتیجه‌گیری نیز با نتایج حاصل از این مطالعه مطابقت دارد. با توجه به این که چغندرقند میزبان سیستمیک خوبی برای BNYVV نیست (Dubois et al. 1994) و معمولاً ویروس به مقدار زیاد از ریشه‌چه‌ها به ریشه اصلی منتقل نمی شود (Giunchedi and Poggi Pollini 1988). بنابراین، با ارزیابی ریشه اصلی نیز این احتمال وجود دارد تا مقدار ویروس در آن به حدی نباشد تا عکس‌العمل ژنوتیپ‌ها را نمایان سازد.

با اندکی دقت در شکل‌های ۱ و ۲ ملاحظه می‌شود نوسانات غلظت ویروس در ارقام مقاوم (دروتی و لاتیتیا) در تاریخ‌های مختلف نمونه‌برداری کمتر از ارقام حساس بوده است به عبارت دیگر در صورت اطمینان از سطح آلودگی بالای مزرعه آزمایشی، می‌توان در آزمایشات مزرعه‌ای، ارقام با مقاومت بالا را اوایل دوره رشد بر اساس نمونه‌گیری و مقدار غلظت ویروس (آزمون الایزا) گزینش نمود. این نتایج با یافته‌های سایر محققین همخوانی دارد(Wisler et al. 1999). اخیراً نیز نتایج مطالعات گلخانه‌ای نشان داده است که سه ماه پس از کاشت گیاهان در خاک آلوده زمان مناسبی برای واکنش واقعی ارقام در برابر ژنوتیپ‌های مختلف ویروس می باشد (Pferdmenges et al. 2009).

به استناد نتایج این پژوهش و یافته‌های سایر محققین (Wisler et al. 1999)، اگر هدف مقایسه مقاومت ارقام تجاری یا هیبریدهای چغندرقند باشد عملکردریشه و قند معیارهای مناسبی برای تمایز بین ارقام می‌باشند اما اگر به دنبال شناسایی ژنوتیپ‌ها و مواد اصلاحی مقاوم به بیماری باشیم می‌توان با استفاده از نمونه‌برداری ۳-۴ ماه پس از کاشت و آزمون الایزا ژنوتیپ‌های مقاوم را شناسایی کرد و نیازی به نگه‌داری مزرعه تا پایان فصل رشد نمی‌باشد.

سپاسگزاری

بدین وسیله از آقای مهندس محسن بذرافشان که در تجزیه و تحلیل آماری مساعدت فرمودند، تشکر و قدردانی می گردد.

References: منابع مورد استفاده:

Amiri R, Moghaddam M, Mesbah M, Sadeghian SY, Ghannadha MR, Izadpanah K. The inheritance of resistance to *beet necrotic yellow vein virus* (BNYVV) in *B. vulgaris* subsp. *maritima,* accession WB42: Statistical comparisons with Holly-1-4. Euphytica. 2003. 132:363-373.

Asher M. Rhizomania: progress with resistant varieties. British Sugar Beet Review. 1989. 57:16-19.

Asher MJC. Rhizomania. In: D.A. Cooke and R.k.Scott, eds, The Sugar Beet Crop. Chapman and Hall, London. 1993. pp.311-346.

Clark MF, Adams AN. Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. Journal of General Virology. 1977. 34:475-483.

Dubois F, Sangwan RS, Sangwan-Norreel BS. Spread of *beet necrotic yellow vein virus* in infected seedlings and plants of sugar beet (*Beta vulgaris*). Protoplasma. 1994. 179:72-82.

Giunchedi L, Poggi Pollini C. Immunogold-silver localization of *beet necrotic yellow vein virus* antigen in susceptible and moderately resistant sugar beets. Phytopath. Medit. 1988. 27:1-6.

Izadpanah K, Hashemi P, Kamran R, Pakniat M, Sahandpour A, Masumi M. Widespread occurrence of rhizomania-like disease of sugar beet in Fars. Iran J. Plant Pathol. 1996. 32:200-206. (in Persian, abstract in English)

Lamey HA. The rhizomania disease of sugar beet. Sugar Beet Research and Extension Reports USDA. 1992. 23:149-152.

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

Lewellen RT. Performance of near-isolines of sugar beet with resistance to rhizomania from different sources. Proceedings of the 58th IIRB Congress, Brussels. 1995. PP: 83-92.

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

Pferdmenges F, Korf H, Varrelmann M. Identification of rhizomania-infected soil in Europe able to overcome Rz*1* resistance in sugar beet and coparison with other resistance-breaking soils from different geographic origins. Eur. J. Plant Pathol. 2009.124: 31-43.

Rush CM, Heidel GB. Furovirus diseases of sugar beets in the United States. Plant Disease. 1995. 79: 868-875.

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.

Scholten EO. Characterization and inheritance of resistance to beet necrotic yellow vein virus in Beta. PhdD Thesis. WAU. 1997.

Scholten OE, Lange W. Breeding for resistance to rhizomania in sugar beet: A review. Euphytica. 2000. 112: 219-231.

Toudeh Fallah M, Arjmand MN, Mahmoudi B. Investigation on distribution and infection of sugar beet growing areas in Iran by rhizomania. P: 72. 14th Iranian Plant Protection Congress, September, Esfahan Technology University, Iran. 2000.

Wisler GC, Lewellen RT, Sears JL, Liu HY, Duffus JE. Specificity of TAS-ELISA for *beet necrotic yellow vein virus* and its application for determining rhizomania resistance in field grown sugar beets. Plant Dis. 1999. 83:864-870.

Wisler GC, Lewellen RT, Sears JL,Wasson JW, Liu HY, Wintermantel WM. Interaction between Beet necrotic yellow vein virus and Beet soilborne mosaic virus in sugar beet. Plant Dis. 2003. 87:1170-1175.