10.22092/rafhc.2024.361706.1328

نشریه علمی یافته‌های تحقیقاتی در گیاهان زراعی و باغی
جلد ۱۳، شماره ۱، سال ۱۴۰۳

آسیا، اولین رقم تک‌جوانه چغندرقند مقاوم به بیماری ویروسی ریزومانیا و نماتد ریشه گرهی در آسیا

Asia, the first monogerm sugar beet cultivar resistant to rhizomania virus and root-knot nematode in Asia

سیدباقر محمودی[۱]، جمشید سلطانی ایدلیکی[۲]، سعید دارابی[۳]، مسعود احمدی[۴]، عادل پدرام[۵]، پیمان نوروزی[۱]، اباذر رجبی[۱]، حسن ابراهیمی کولایی[۶]، سعید صادق‌زاده حمایتی[۱]، داریوش طالقانی[۱]، رحیم محمدیان[۱]، مژده کاکویی نژاد[۷]، سعید واحدی[۷]، محسن آقائی‌زاده[۷] و الهام معاون[۸]

۱، ۷ و ۸- به‌ترتیب، دانشیار، استادیار و محقق، بخش تحقیقات چغندرقند، موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر چغندرقند، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران.
۲ و ۴، به‌ترتیب، استادیار و دانشیار، بخش تحقیقات چغندرقند، مرکز تحقیقات و آموزش و منابع طبیعی خراسان رضوی، سازمان تحقیقات ،آموزش و ترویج کشاورزی، مشهد، ایران.
۳- مربی، بخش تحقیقات اصلاح و تهیه بذر چغندرقند، مرکز کشاورزی و منابع طبیعی استان فارس، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، فارس، ایران.
۵- استادیار، بخش تحقیقات چغندرقند، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان آذربایجان غربی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ارومیه، ایران.
۶- مربی، بخش تحقیقات اصلاح و تهیه بذر چغندرقند، مرکز کشاورزی و منابع طبیعی استان همدان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، همدان، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۱/۲۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۵/۱۷

چکیده

محمودی، س. ب.، سلطانی ایدلیکی، ج.، دارابی، س.، احمدی، م.، پدرام، ع.، نوروزی، پ.، رجبی، ا.، ابراهیمی کولایی، ح.، صادق‌زاده حمایتی، س.، طالقانی، د.، محمدیان، ر.، کاکویی‌نژاد، م.، واحدی، س.، آقائی‌زاده، م.، و معاون، ا. ۱۴۰۳. آسیا، اولین رقم تک‌جوانه چغندرقند مقاوم به بیماری ویروسی ریزومانیا و نماتد ریشه گرهی در آسیا. **نشریه علمی یافته‌های تحقیقاتی در گیاهان زراعی و باغی ۱۳ (۱): ۱۳۲- ۱۱۱.**

چغندرقند یکی از میزبان‌های نماتد ریشه گرهی و ویروس عامل بیماری ریزومانیا است. استفاده از ارقام مقاوم، ساده‌ترین و کارآمدترین روش مدیریت بیماری‌های گیاهی به شمار می‌رود. در راستای تولید رقم مقاوم به بیماری ریزومانیا و نماتد ریشه گرهی در چغندرقند، دو جمعیت حامل ژن‌های مقاومت به دو بیماری شناسایی و انتخاب شدند. از جمعیت موردنظر تعداد ۱۰ فامیل نیمه خواهری تهیه گردید که در تلاقی با سینگل‌کراس منوژرم 7112*SB36 منجر به تولید ۱۰ هیبرید منوژرم شد. ارزیابی این هیبریدها از نظر صفات کمی و کیفی، منجر به انتخاب چهار هیبرید برتر (7112*SB36)*SB33-HSF-3(SBSI041)، (7112*SB36) *SB33-HSF-5(SBSI042)، (7112*SB36)*SB33-HSF-6(SBSI043) و (7112*SB36)*SB33-HSF-8(SBSI044) شد. نتایج تجزیه مرکب داده‌ها و مقایسه این هیبریدها با یک شاهد مقاوم داخلی به ریزومانیا (رقم آریا) و دو شاهد مقاوم خارجی (کاستیل و رزیر) و یک شاهد حساس طی دو سال در شرایط آلوده به ریزومانیا در چهار منطقه (مشهد، شیراز، همدان و قزوین) نشان داد که هر چهار هیبرید نسبت به شاهد مقاوم داخلی برتری معنی‌داری داشتند. در میان هیبریدها، هیبرید (7112*SB36)*SB33-HSF-6(SBSI043) در آزمون تعیین ارزش زراعی ارقام داخلی جدید در هفت منطقه آلوده و غیر آلوده کشور، با متوسط عملکرد شکر سفید ۸/۷۹ تن در هکتار بعد از دو رقم شاهد خارجی به‌عنوان برترین هیبرید داخلی شناخته شد. این هیبرید دیپلوئید منوژرم، به‌عنوان اولین رقم با مقاومت دوگانه نسبت به ریزومانیا و نماتد ریشه گرهی، با نام تجاری "آسیا" به ثبت رسید و جهت کشت بهاره در مناطق مختلف کشور به‌خصوص مناطق آلوده به هر دو بیماری و همچنین صادرات به کشورهای آذربایجان، سوریه و مصر معرفی گردید.

واژه‌های کلیدی: چغندرقند، ریزومانیا، نماتد ریشه گرهی، رقم مقاوم، فامیل نیمه خواهری، سینگل‌کراس منوژرم

نویسنده مسئول: soltani51@gmail.com تلفن: ۰۵۱۳۸۷۱۷۰۱۸

مقدمه

چغندرقند (*Beta vulgaris* L.) یکی از مهم‌ترین گیاهان صنعتی دنیا است و پس از نیشکر به‌عنوان دومین منبع تولید شکر شناخته می‌شود، به‌طوری‌که سالانه حدود ۲۷ درصد از کل شکر مصرفی دنیا را تأمین می‌کند (Anonymous, 2018). بیماری‌های ریزومانیا، پوسیدگی ریشه و نماتدها (سیستی و ریشه گرهی) از مهم‌ترین بیماری‌های شایع مزارع چغندرقند در ایران هستند. هر سه این عوامل آسیب‌رسان، خاک‌زی بوده و به دلیل ظهور دیرهنگام علائم و دشواری تشخیص به‌موقع توسط زارعین، معمولاً پتانسیل خسارت‌زایی بالایی دارند. تخمین زده می‌شود که نماتدهای گیاهی سالانه بیش از ۱۰۰ میلیارد دلار به کشاورزی جهان خسارت وارد می‌کنند و حدود ۵۰۰ میلیون دلار برای کنترل آن‌ها هزینه می‌شود (Keren-Zur *et al*., 2000). حداقل ۲۹ گونه نماتد از ۱۶ جنس مختلف قادر به آلوده کردن چغندرقند هستند که در بین آن‌ها نماتد سیستی چغندرقند (*Heterodera schachtii*) و نماتدهای ریشه گرهی (*Meloidogyne* spp.) از مهم‌ترین گونه‌های خسارت‌زا به شمار می‌روند. نماتدهای ریشه‌ه، مانند *M. incognita*، باعث خسارات شدید در بسیاری از محصولات زراعی و همچنین چغندرقند می‌شوند (Tranier *et al*., 2014). علائم ناشی از نماتد مولد گره ریشه روی چغندرقند با القاء تشکیل گره روی ریشه‌های جانبی و اصلی مشخص‌شده (Whitney and Duffus, 1986) و به شدت عملکرد و کیفیت چغندرقند را تحت تأثیر قرار می‌دهد.

گونه‌های مهم اقتصادی نماتدهای ریشه گرهی (Root-knot nematode) (RKN) که چغندرقند را آلوده می‌کنند شامل *M. arenaria*، *M. hapla*، *M. incognita*، *M. fallax*، *M. javanica* و *M. chitwoodi* هستند (Whitney and Duffus, 1986; Franklin, 1979). در ایران نیز گونه‌های *M. incognita* (Akhiyani Omidvar, 1968)، *M. javanica* (Akhiyani *et al*., 1993; Moghadam *et al*., 1996; Ommati and Giti, 2010; Karegar, 2006)، *M. hapla* (Ommati and Giti, 2010; Karegar, 2006) و *M. arenaria* (Omidvar, 1968) از مزارع چغندرقند مناطق مختلف اصفهان، دشت مغان، مشهد و همدان شناسایی و جداسازی شده‌اند.

کنترل نماتدهای ریشه‌گرهی در چغندرقند به دلایل مختلفی همچون دامنه میزبانی وسیع، سمیت شدید نماتدکش‌ها برای انسان و محیط‌زیست و افزایش مقاومت نماتدها در برابر این سموم دشوار است. علاوه بر این، هزینه‌های بالای کنترل شیمیایی و محدودیت دسترسی به سموم باکیفیت در کشورهای کمتر توسعه یافته نیز کنترل نماتدها را دشوارتر می‌کند (Yu, 2003; Lamovšek *et al*., 2013;

(Bhattacharjee and Dey, 2014. از این رو، استفاده از ارقام مقاوم به‌عنوان یک راهکار پایدار و کم‌هزینه برای کشاورزان و صنایع تولید چغندرقند شناخته می‌شود (Panella and, Lewellen 2007). اطلاعات کمی در مورد مقاومت گونه‌های Beta به نماتدهای ریشه گرهی در دسترس است. اکثر مطالعات مربوط به تعامل چغندرقند و نماتدهای ریشه گرهی در کشورهای مختلف، بر عملکرد ارقام متمرکزشده است (Pathak and Keshari, 2000; Korayem *et al*., 2012) و گزارش موثقی در مورد خسارت و بررسی حساسیت ارقام چغندرقند نسبت به این نماتد وجود ندارد. نماتدهای ریشه گرهی، به‌خصوص نواحی گرمسیری و نیمه گرمسیری دنیا خسارت اقتصادی قابل‌توجهی به چغندرقند وارد می‌کنند. در ایران نیز طی سال‌های اخیر در اثر تغییرات اقلیمی و تشدید گرمای تابستان در مناطقی همچون شاهرود، مغان و جوین، حضور و فعالیت این عامل بیماری‌زا افزایش‌یافته است.

بیماری ویروسی ریزومانیا نخستین بار در جهان در سال ۱۹۵۹ از ایتالیا (Canova, 1952) و در سال ۱۹۹۶ از ایران (Izadpanah *et al*., 1996) گزارش شد. در حال حاضر این بیماری در بیشتر مناطق چغندرکاری ایران در حال گسترش است (Mehrvar *et al*., 2009) و مطالعات موسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور در سال ۱۳۸۹ نشان داد که حدود ۵۰ درصد از مزارع چغندرقند کشور از ریزومانیا خسارت می‌بینند (Pourrahim *et al*., 2014). این بیماری در مناطق انتشار خود خسارت شدیدی به چغندرقند وارد می‌آورد و به دلیل کاهش شدید محصول می‌تواند عامل محدودکننده کشت چغندرقند باشد و به تبع آن، خسارت زیادی به صنعت قند وارد کند (Asher and Thompson, 1987). خسارت این بیماری به ریشه چغندرقند معمولاً بیش از ۳۰ درصد و حتی در مواردی به ۱۰۰ درصد نیز می‌رسد. این بیماری علاوه بر کاهش شدید وزن ریشه، با کاهش عیار قند و راندمان استحصال شکر، مقدار آن را به نصف و یا کمتر کاهش می‌دهد (Asher and Thompson, 1987). رعایت تناوب زراعی مناسب، کاشت گیاهان تله، کشت زودهنگام، مبارزه شیمیایی و کاربرد ارقام مقاوم از جمله مهم‌ترین راهکارهای کاهش خسارت بیماری ریزومانیا و نماتدهای ریشه‌گرهی در چغندرقند هستند (Asher and Thompson, 1987; Whitney and Duffus, 1986; Hemayati, *et al*., 2017). با این حال، محدودیت‌های زیست‌محیطی و اقتصادی مربوط به استفاده از سموم شیمیایی، بهره‌گیری از ارقام مقاوم را به‌عنوان بهترین و پایدارترین راهکار مطرح می‌کند. استفاده از ارقام مقاوم به‌ویژه در مورد بیماری‌های خاک‌زاد نظیر ریزومانیا، پوسیدگی ریشه و نماتدها، به دلیل عدم کارایی سایر روش‌های متداول مبارزه، اهمیت بیشتری دارد. با این تفاصیل، وجود یک رقم با مقاومت

دوگانه می‌تواند ضمن جلوگیری از خسارت بیماری‌های مذکور، از گسترش آن‌ها نیز جلوگیری نماید.

با توجه به مطالب ذکر شده، این مطالعه با هدف تولید و معرفی هیبریدهای امیدبخش چغندرقند با مقاومت دوگانه به بیماری ریزومانیا و نماتد ریشه گرهی انجام شد.

مواد و روش‌ها

شناسایی والد پدری مقاوم به بیماری ریزومانیا و نماتد ریشه گرهی چغندرقند

مقاومت ژنوتیپ های گرده‌افشان موجود در بانک ژن موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر چغندرقند طی سال‌های ۱۳۸۹ لغایت ۱۳۹۱ از نظر مقاومت به بیماری‌های ریزومانیا و نماتد ریشه گرهی در قیاس با ارقام شاهد حساس و مقاوم در شرایط گلخانه موردبررسی قرار گرفت. برای ارزیابی مقاومت به ریزومانیا با استفاده از آزمون الایزا از روش امیری و همکاران (Amiri *et al.*, 2003) و با استفاده از نشانگرهای مولکولی از روش نوروزی و همکاران (Norouzi *et al.*, 2017) استفاده شد.

برای ارزیابی مقاومت به نماتد ریشه گرهی از روش یو (Yu, 2003) استفاده شد. ابتدا بذر ارقام در شرایط گلخانه در خاک سالم حاوی پیت موس و خاک مزرعه کشت شد. در هر گلدان ۲۵۰ سانتی‌متر مکعبی یک بوته نگهداری و بقیه آن‌ها تنک شد. دو تا سه ماه پس از کاشت، هر بوته به‌وسیله لاروهای زنده و فعال نماتد مولد گره ریشه چغندرقند (۷۰۰ لارو برای هر بوته) در دو نوبت مایه‌زنی شد. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام و از هر تیمار ۲۴ بوته ارزیابی شد. ده هفته پس از آخرین تزریق، تعداد گره روی ریشه هر بوته شمارش شد. بدین‌صورت که گیاهچه به‌آرامی از خاک گلدان بیرون کشیده شد و شمارش تعداد گره روی ریشه با بینوکولار انجام گرفت. با توجه به این‌که ریشه گرهی در چغندرقند توسط گونه‌های مختلف *Meloidogyne* spp. ایجاد می‌شود، در نمونه‌برداری‌های به‌عمل‌آمده از کشورهای افغانستان و جمهوری آذربایجان، گونه *M. arenaria* و از ایران علاوه بر گونه یادشده، گونه دیگری بنام *M. arenaria* نیز جداشده بود، لذا در قالب یک آزمایش، دو جمعیت گرده‌افشان SB33 و SB34 به همراه ارقام شاهد در برابر این دو گونه ارزیابی شدند. با توجه به این‌که در ارزیابی‌های مقدماتی در شرایط گلخانه، جمعیت SB33 دارای بوته بدون گال زیادی بود، لذا از این جمعیت جهت ادامه مسیر اصلاحی استفاده شد.

تهیه فامیل‌های نیمه خواهری

بذر جمعیت SB33 در شهریور سال ۱۳۹۱ در مزرعه اشتکلینگ کشت شد. در سال ۱۳۹۲ تعداد ۵۰ بوته از جمعیت SB33 (موجود در بانک ژن موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر چغندرقند) بر اساس ارزیابی‌های قبلی با یک نشانگر مولکولی SNP، حامل ژن‌های مقاومت به

ریزومانیا و نماتد گره ریشه بوده‌اند، در یک قطعه ایزوله تکثیر و بذر هر بوته به‌طور جداگانه برداشت گردید و به‌این‌ترتیب تعداد ۵۰ فامیل نیمه خواهری تهیه شد. پس از بوجاری و استانداردسازی بذر، بر اساس مقدار موجودی بذر فامیل‌ها، تعداد ده فامیل برای ادامه مسیر اصلاحی انتخاب گردید (جدول ۱). این ده فامیل به‌عنوان پایه‌های گرده‌افشان برای تهیه تست کراس هیبریدهای جدید در سال ۱۳۹۳ مورداستفاده قرار گرفتند.

جدول ۱- فامیل‌های نیمه خواهری منتخب

Table 1. Selected half-sib families

ردیف Row	ژنوتیپ Genotype	شماره انبار Code
1	SB33-HSF-1	HSF-900271
2	SB33-HSF-2	HSF-900272
3	SB33-HSF-3	HSF-900273
4	SB33-HSF-4	HSF-900274
5	SB33-HSF-5	HSF-900275
6	SB33-HSF-6	HSF-900276
7	SB33-HSF-7	HSF-900277
8	SB33-HSF-8	HSF-900278
9	SB33-HSF-9	HSF-900279
10	SB33-HSF-10	HSF-900280

HSF: half-sib family; SB: sugar beet.

تهیه تست کراس و ارزیابی فامیل‌ها در برابر نماتد ریشه گرهی

در سال ۱۳۹۳ هر یک از فامیل‌های نیمه خواهری منتخب به‌عنوان پایه گرده‌افشان در یک قطعه ایزوله با سینگل‌کراس منوژرم نرعقیم 7112*SB36 تلاقی یافته و در اواخر تیرماه، بذر هیبرید از روی پایه مادری برداشت و پس از فرایند بوجاری، شماره‌گذاری شده و به انبار بذر انتقال یافتند.

به‌منظور ارزیابی تیمار مناسب حاصل از آزمایش اول، مقاومت و حساسیت ده خانواده نیمه خواهری (Half-sib Family) از توده گرده‌افشان چند جوانه‌ای (جمعیت SB33) حامل ژن مقاومت به نماتد ریشه گرهی به همراه یک رقم حساس (جلگه) و یک رقم مقاوم به نماتد سیستی چغندرقند (به نام پائولتا) در سال ۱۳۹۳ بررسی شدند. گیاهچه‌ها با ۵۰۰ لارو سن دوم نماتد ریشه گرهی یک‌بار مایه زنی شدند. گیاهچه‌های مایه زنی شده در هر دو آزمایش در شرایط گلخانه با دمای ۳ ±۲۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۰ روز نگهداری شدند. در پایان آزمایش با غرقاب نمودن گلدان‌ها، گیاهچه‌ها از داخل گلدان خارج و با جریان آب به‌آرامی شسته شدند. تعداد گره ریشه تمامی گیاهچه‌ها با

استفاده از استرئومیکروسکوپ شمارش شد. ژنوتیپ‌ها بر اساس مقیاس تیلور و سازرگروه‌بندی شدند به‌طوری‌که بوته‌های ≤ ۱۰ گره روی ریشه در گروه مقاوم و گیاهان با تعداد گره <۱۰ در گروه حساس قرار گرفتند (Taylor and Sasser, 1978).

آزمون مولکولی هیبریدها

در پاییز سال ۱۳۹۴، بذر هیبریدها به همراه شاهدهای مقاوم و حساس در شرایط گلخانه کشت شدند و سپس از گیاهان رشد یافته نمونه برداری برگ صورت گرفت. از نمونه برگ‌ها در آزمایشگاه، استخراج DNA با روش تغییریافته دلاپورتا و همکاران (Dellaporta *et al*., 1983) انجام شد. سپس با استفاده از نشانگرهای مولکولی پیوسته به ژن *Rz1* مقاوم به ریزومانیا (نشانگر جفت ZN1 و نا جفت ZN7) و نشانگر مولکولی پیوسته به ژن مقاوم به نماتد گره ریشه (جفت،MEL1) به‌ترتیب، درصد بوته‌های حامل ژن مقاوم به ریزومانیا (Norouzi *et al*., 2015; Norouzi *et al*., 2020) و نماتد گره ریشه (Bakooie *et al*., 2015) در هریک از هیبریدها تعیین شدند. در آزمون مولکولی PCR در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر برای هر واکنش شامل: یک میکرولیتر DNA الگو با غلظت ۵۰ نانوگرم در میکرولیتر، دو میکرولیتر بافر 10x، دو میکرولیتر dNTP با غلظت ۲/۵ میلی‌مولار، یک و نیم میکرولیتر $MgCl_2$ با غلظت ۲۵ میلی‌مولار، یک میکرولیتر از هریک از آغازگرهای اختصاصی نشانگر مربوط با غلظت پنج میکرومولار و دو دهم میکرولیتر (یک واحد) آنزیم *Taq* پلیمراز بود. مراحل واکنش زنجیره‌ای پلیمراز برای آزمون PCR در دستگاه ترموسایکلر شامل چرخه دمایی شامل واسرشتگی اولیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت پنج دقیقه، ۴۰ چرخه متوالی با دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۰ ثانیه، 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 به اندازه 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 بود. 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 شدند. در انتها، بر اساس الگوی نواربندی ژنوتیپ‌ها روی ژل، بوته‌های حامل ژن‌های مقاومت به ریزومانیا و نماتد ریشه گرهی مشخص شدند.

آزمون عملکرد هیبریدها

در بهار سال ۱۳۹۴، ۱۰ هیبرید گزینش شده در آزمایشگاه به منظور انتخاب برترین آن‌ها در دو منطقه آلوده به ریزومانیا (مشهد و زرقان) در یک آزمایش مزرعه‌ای ۱۶ رقمی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی به همراه چهار شاهد مقاوم خارجی به اسامی بومرنگ (واجد ژن‌های

مقاوم به ریزومانیا و ریزوکتونیا)، لودوینا (واجد ژن مقاوم به ریزومانیا)، نوودورو (واجد ژن‌های مقاوم به ریزومانیا و ریزوکتونیا) و BTS213 (واجد ژن‌های مقاوم به ریزومانیا و نماتد) و یک رقم مقاوم داخلی به نام آریا (واجد ژن‌های مقاوم به ریزومانیا و نماتد) و یک شاهد حساس داخلی (شریف، بدون ژن مقاوم) موردبررسی قرار گرفتند. 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، کود دهی و سم‌پاشی انجام شد. ریشه‌ها در پاییز برداشت شدند و پس از توزین، از آن‌ها نمونه خمیر تهیه گردید و جهت تعیین خصوصیات کیفی به آزمایشگاه تکنولوژی قند ستاد موسسه تحقیقات چغندرقند ارسال شد.

ارزیابی مقدماتی تست کراس‌ها

تعداد ده هیبرید تست کراس حاصل از تلاقی فامیل‌های نیمه خواهری با پایه مادری 7112*SB36 در سه منطقه فارس (زرقان)، آذربایجان غربی (میاندوآب) و خراسان رضوی (مشهد) در شرایط آلوده به ریزومانیا و نماتد، در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی طی دو سال (سال‌های ۱۳۹۵ و ۱۳۹۶) با چهار تکرار موردبررسی قرار گرفتند. هر کرت شامل سه خط کاشت به طول هشت متر بافاصله بین ردیف نیم متر بود. ازآنجاکه عملکرد شکر سفید از حاصل‌ضرب دو صفت عملکرد ریشه و درصد قند به دست می‌آید، تجزیه مرکب داده‌ها پس از رعایت پیش‌فرض‌های آماری لازم بر اساس این صفت صورت گرفت و ژنوتیپ‌ها مقایسه میانگین و گروه‌بندی شدند.

ارزیابی عملکرد کمی و کیفی هیبرید جدید SBSI043 در شرایط بهره برداران

در سال ۱۳۹۵، کارخانه قند کشت و صنعت مغان اقدام به اجرای یک آزمایش مقایسه ارقام به‌صورت نمایشی در اراضی آلوده به ریزومانیای حوزه عمل کارخانه نمود. در این آزمایش، تعداد ۲۴ رقم تجاری خارجی مقاوم به ریزومانیا به همراه یک رقم داخلی بانام آریا و هیبرید جدید SBSI043 مقایسه شدند. در این ارزیابی پیش از برداشت، نسبت به نمونه برداری تصادفی از مزرعه اقدام گردید و بر اساس وزن و درصد قند نمونه، میزان عملکرد ریشه و شکر سفید محاسبه‌شده و ارقام بر اساس متوسط عملکرد شکر سفید مرتب شدند.

طی سال‌های ۱۳۹۵ و ۱۳۹۶ چهار هیبرید منتخب تحت کدهای SBSI043، SBSI042، SBSI041 و SBSI044 در کنار یک شاهد مقاوم به ریزومانیای داخلی (رقم آریا)، دو شاهد مقاوم به ریزومانیای خارجی (ارقام کاستیل و رزیر) و یک شاهد حساس (رقم شریف) در مناطق مشهد، زرقان، همدان و قزوین در شرایط آلوده به بیماری ریزومانیا در آزمون تعیین ارزش زراعی مورد مقایسه قرار گرفتند.

موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر چغندرقند هرساله ارقام رایج و هیبریدهای امیدبخش خود را در قالب کشت نمایشی در مناطق آلوده و غیر آلوده مورد ارزیابی قرار می‌دهد. در بررسی دیگری، در سال ۱۳۹۷ نیز هیبرید SBSI043 در کنار سایر ارقام و هیبریدهای جدید در هفت منطقه آلوده به ریزومانیا مورد ارزیابی قرار گرفت.

تجزیه‌های آماری

برای تجزیه واریانس داده‌های آزمایش از نرم افزار SAS استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها نیز با استفاده از آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD)در سطح احتمال پنج درصد انجام گرفت. قبل از انجام تجزیه واریانس مرکب و به‌منظور بررسی یکنواختی و متجانس بودن واریانس خطاها در آزمایش‌های مختلف، از آزمون بارتلت استفاده گردید. برای ترسیم نمودارها نیز از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

نتایج و بحث

به دنبال ارزیابی مقدماتی ژرم‌پلاسم زراعی موجود در بانک ژن مؤسسه طی سال‌های ۱۳۸۹ الی ۱۳۹۱ از نظر مقاومت به بیماری‌های ریزومانیا و نماتد ریشه گرهی، دو جمعیت گرده‌افشان دیپلوئید تحت کد SB33 و SB34 شناسایی گردید که وارد ارزیابی‌های تکمیلی شدند (جدول ۲).

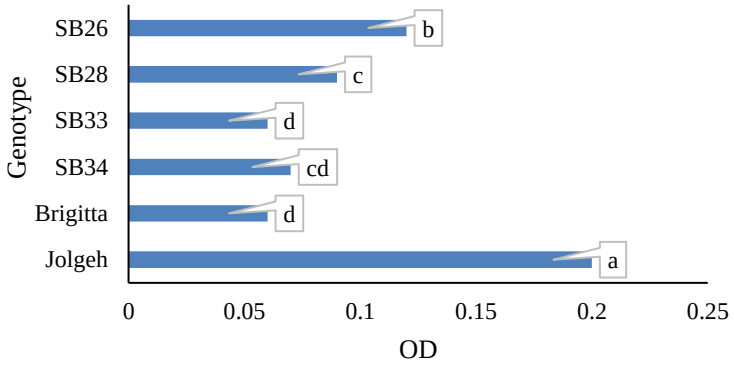
جدول ۲- مشخصات جمعیت‌های مقاوم شناسایی‌شده به نماتد ریشه گرهی و بیماری ریزومانیا

Table 2. Characteristics of identified resistant populations to root-knot nematode and rhizomania disease

ژرم‌پلاسم Germplasm	نوع جوانه Germity	مشخصات Characteristics	مقاومت به ریزومانیا Resistance to Rhizomania	مقاومت به نماتد ریشه گرهی Resistance to RKN
SB33	MM	Population	High- Rz1	High
SB34	MM	Population	Rz5	High

MM: multigerm.

در ارزیابی تکمیلی مقاومت به ریزومانیا در شرایط گلخانه با استفاده از آزمون الیزا، هر دو والد پدری SB33 و SB34 از سطح مقاومت خوبی برخوردار بودند. با توجه به تجزیه‌وتحلیل آماری ژنوتیپ‌ها بر اساس نمره آلودگی، هر دو جمعیت موردنظر با شاهد مقاوم (رقم بریجیتا) در یک گروه آماری قرارگرفته و عکس‌العمل گرده‌افشان SB33 در برابر عامل بیماری، مشابه رقم مقاوم خارجی بود (شکل ۱).



شکل ۱- میانگین شاخص جذب نوری در طول‌موج ۴۰۵ نانومتر (OD_{405nm}) ویروس عامل بیماری ریزومانیا در هر ژنوتیپ در شرایط گلخانه

Fig. 1. The average optical absorption index at 405 nm wavelength (OD 405 nm) of the virus causing Rhizomania disease in each genotype under greenhouse conditions

نتایج حاصل از ارزیابی دو گرده‌افشان SB33 و SB34 در برابر گونه‌های مختلف نماتد ریشه گرهی نیز آن‌ها را در گروه مقاوم دسته‌بندی کرد (جدول ۳). بر اساس مقیاس مقاومت در نماتد ریشه گرهی، بیش از یک‌صد گره (گال) روی ریشه هر رقم به‌منزله حساسیت رقم قلمداد می‌شود (Taylor and Sasser, 1978). در این مقیاس، تعداد گره کمتر از ده عدد روی هر ژنوتیپ آن را در گروه مقاوم قرار می‌دهد. به این ترتیب، هر دو والد گرده‌افشان SB34 و SB33 که در ارزیابی‌های مقدماتی به‌عنوان ژنوتیپ‌های مقاوم به نماتد مولد گره شناسایی‌شده بودند، در ارزیابی تکمیلی نیز به‌عنوان توده‌های مقاوم به هر دو گونه شناخته شدند (جدول ۳)، هر چند توده SB33 از خلوص بالاتری نسبت به توده SB34 برخوردار بود و در جمعیت آن، بوته حامل گال مشاهده نشد.

مقایسه میانگین ژنوتیپ‌ها بر اساس میانگین تعداد گره روی ریشه، آن‌ها را در دو گروه مشخص دسته‌بندی کرد (جدول ۴). جمعیت والدینی (SB33) و فامیل‌های نیمه خواهری حاصل از آن، در گروه مقاوم به نماتد ریشه گرهی و سایر ژنوتیپ‌های شاهد در گروه حساس قرار گرفتند. این نتایج نشان می‌دهد که احتمالاً مقاومت جمعیت والدینی SB33 نسبت به نماتد ریشه گرهی از هموزنی بالایی برخوردار بوده و از نظر ژنتیکی مقاومت آن نسبت به این نماتد هموزیگوت باشد. نکته جالب‌توجه این‌که هیبرید حاصل از جمعیت والدینی مذکور نیز از مقاومت خوبی نسبت به نماتد ریشه گرهی برخوردار بود که نشان می‌دهد مقاومت موردنظر به‌خوبی از پایه گرده‌افشان به هیبرید منتقل می‌شود (جدول ۴).

جدول ۳- نتایج ارزیابی مقاومت ژنوتیپ‌ها به *Meloidogyne* spp. در شرایط گلخانه

Table 3. Results of evaluating genotype resistance to *Meloidogyne* spp. under greenhouse conditions

ردیف Row	ژنوتیپ Genotype	Root -Knot Nematode *M. javanica* جدایه باکو Bako	*M. javanica* جدایه جغتای Joghatai	*M. arenaria* جدایه جوین Jovain	گروه‌بندی Classification
		تعداد گره ریشه Root nodules			
1	Jolgeh	114	292	135	حساس(S)
2	Pauletta	85.5	231	113.5	حساس(S)
3	7112*SB36	-	243.2	-	حساس(S)
4	SB34	0.02	0.4	0.2	مقاوم(R)
5	SB33	0	0	0	مقاوم(R)

S: susceptible; R: resistance.

جدول ۴- نتایج ارزیابی فامیل‌های نیمه خواهری در برابر نماتد ریشه گرهی

Table 4. Results of evaluating half-sib families against root-knot nematode

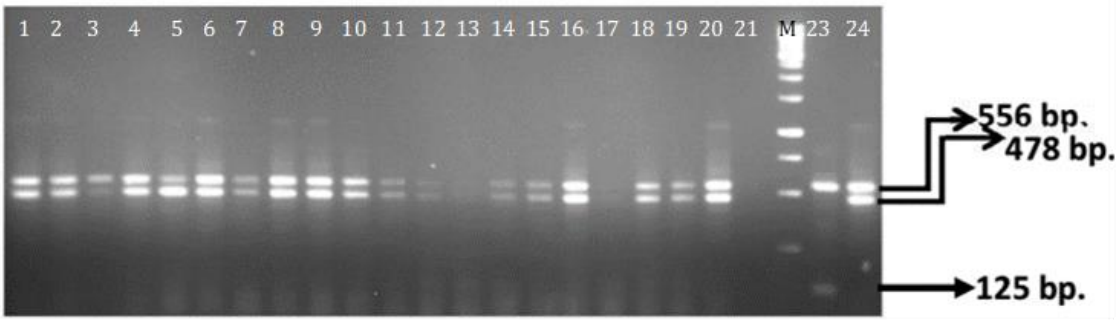
ردیف Row	ژنوتیپ Genotype	گونه نماتد Nematode species	جدایه Isolate	تعداد لارو Number of larvae	میانگین تعداد گره Average number of root knot
1	SB33	*M. javanica*	ایران	750	0.08 [a]
2	7112*SB36	*M. javanica*	ایران	750	243.2 [b]
3	7112*SB36*SB33	*M. javanica*	ایران	750	0.2 [a]
4	SB33-HSF-1	*M. javanica*	ایران	750	0 [a]
5	Pauletta	*M. javanica*	ایران	750	231 [b]
6	Julgeh	*M. javanica*	ایران	750	292 [b]
7	SB33-HSF-2	*M. javanica*	ایران	500	0 [a]
8	SB33-HSF-3	*M. javanica*	ایران	500	0 [a]
9	SB33-HSF-4	*M. javanica*	ایران	500	0 [a]
10	SB33-HSF-5	*M. javanica*	ایران	500	0 [a]
11	SB33-HSF-6	*M. javanica*	ایران	500	0 [a]
12	SB33-HSF-7	*M. javanica*	ایران	500	0 [a]
13	SB33-HSF-8	*M. javanica*	ایران	500	0 [a]
14	Pauletta	*M. javanica*	ایران	500	131[b]
15	Julgeh	*M. javanica*	ایران	500	107[b]
16	SB33-HSF-9	*M. javanica*	باکو	500	0[a]
17	Pauletta	*M. javanica*	باکو	500	85.5 [b]
18	Julgeh	*M. javanica*	باکو	500	114[b]
19	SB33-HSF-10	*M. arenaria*		500	0 [a]
20	Pauletta	*M. arenaria*		500	113.3[b]
21	Julgeh	*M. arenaria*		500	135[b]

HSF: half-sib family; SB: sugar beet.

داده‌ها میانگین اعداد واقعی است. حروف غیرمشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($P\geq0.05$).

Data are averages of real numbers. Different letters indicate statistically significant differences ($P\geq0.05$).

ارزیابی مولکولی با استفاده از نشانگر مولکولی پیوسته با ژن مقاومت به نماتد ریشه گرهی روی بوته‌های جمعیت والدینی SB33 نشان داد که اغلب بوته‌ها حامل ژن مقاومت به نماتد ریشه گرهی بودند (شکل ۲). همچنین نتایج حاصل از غربال مولکولی فامیل‌های نیمه خواهری نیز نشان داد که هر ده فامیل موردبررسی دارای بوته‌های هموزیگوت و هتروزیگوت بوده و درصد هموزیگوتی در میان فامیل‌ها متفاوت بودند.



شکل ۲- نقوش الکتروفورزی حاصل از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با دو جفت آغازگر اختصاصی؛ چاهک یک تا ۲۰ حاصل از توده SB33، چاهک ۲۱ شاهد منفی بدون DNA ژنومی، چاهک ۲۲ نشانگر مولکولی ۱۰۰۰ جفت بازی، چاهک ۲۳ نمونه شاهد حساس و چاهک ۲۴ نمونه شاهد مقاوم

Fig. 2. Electrophoretic patterns resulting from polymerase chain reaction with two pairs of specific primers; Wells 1 to 20 obtained from Bulk SB33, well 21 negative controls without genomic DNA, well 22 molecular markers 1000 base pairs, well 23 sensitive control sample, and Well 24 resistant control sample

نتایج تجزیه واریانس مرکب ده تست کراس حاصل از تلاقی فامیل‌های نیمه خواهری با پایه مادری 7112*SB36 در سه منطقه فارس (زرقان)، آذربایجان غربی (میاندوآب) و خراسان ر ضوی (طرق) نشان داد که اثر هر سه عامل مکان، رقم و رقم× مکان بر عملکرد شکر سفید معنی‌دار بود که نشان‌دهنده عکس‌العمل متفاوت ژنوتیپ‌ها در مناطق مختلف است (جدول ۵).

مقایسه میانگین ژنوتیپ‌ها بر اساس عملکرد شکر سفید، آن‌ها را در پنج گروه آماری دسته‌بندی نمود (جدول ۶). بیشترین عملکرد شکر سفید متعلق به رقم شاهد لودوینا بود که با متوسط عملکرد شکر ۱۴/۴۴ تن در هکتار به‌تنهایی در گروه برتر قرار گرفت. در میان هیبریدهای جدید، هیبرید (7112*SB36) *SB33-HSF-3(SBSI041) با تولید ۱۲/۸۶ تن شکر سفید در هکتار بهترین هیبرید بود و از این نظر با دو رقم شاهد خارجی دیگر هم‌گروه گردید. به‌استثنای سه تست کراس شماره ۷، ۴ و

۹، مابقی تست کراس‌ها از متوسط عملکرد شکر سفید بهتری در مقایسه با ارقام شاهد مقاوم داخلی برخوردار بودند و نسبت به آن‌ها برتری معنی‌داری داشتند(جدول ۶).

جدول ۵- نتایج تجزیه واریانس مرکب برای عملکرد شکر سفید تست‌کراس در سه منطقه شیراز، مشهد و میاندوآب

Table 5. Results of combined variance analysis for white sugar yield of test crosses in three regions of Shiraz, Mashhad and Miandoab

S.O.V.	منابع تغییرات	درجه آزادی D.F.	میانگین مربعات Mean squares
Location	مکان	2	513.59**
Replication (Location)	تکرار (مکان)	15	8.47
Genotype	ژنوتیپ	15	42.04**
Location × Genotype	مکان × ژنوتیپ	30	23.86
Error	خطا	225	4.92
C.V. %	ضریب تغییرات (درصد)		15.06

**و ns به‌ترتیب معنی‌دار و غیر معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد

** and ns, significant and not significant at 5% probability level, respectively

جدول ۶- مقایسه میانگین تست‌کراس‌ها بر اساس عملکرد شکر سفید در سه منطقه آلوده به ریزومانیا

Table 6. Mean comparison of test-crosses in terms of white sugar yield in three rhizomania-infected regions

ردیف Row	ژنوتیپ Genotype	عملکرد شکر سفید (تن در هکتار) White sugar yield (tha^{-1})	گروه آماری Statistical group
1	(7112*SB36)*SB33-HSF-1	12.33	bc
2	(7112*SB36)*SB33-HSF-2	12.17	bc
3	(7112*SB36)*SB33-HSF-3(SBSI041)	12.86	b
4	(7112*SB36)*SB33-HSF-4	11.58	bcde
5	(7112*SB36)*SB33-HSF-5(SBSI042)	12.43	bc
6	(7112*SB36)*SB33-HSF-6(SBSI043)	12.68	bc
7	(7112*SB36)*SB33-HSF-7	11.38	cde
8	(7112*SB36)*SB33-HSF-8(SBSI044)	12.15	bc
9	(7112*SB36)*SB33-HSF-9	11.5	bcde
10	(7112*SB36)*SB33-HSF-10	12.33	bc
11	Pars(T) شاهد متحمل	10.59	de
12	Arya(R) شاهد مقاوم	10.42	e
13	Ludwina(R) شاهد مقاوم	14.44	a
14	Novodoro(R) شاهد مقاوم	12.13	bc
15	Bomerange(R) شاهد مقاوم	11.99	bcd
16	Sharif(S) شاهد حساس	7.19	f

T: tolerant; R: resistant; S: susceptible.

علاوه بر مقایسه عملکرد مقدماتی تست‌کراس‌ها در شرایط آلوده، نسبت به ارزیابی مولکولی آن‌ها از نظر حضور ژن مقاومت به نماتد ریشه گرهی نیز اقدام گردید. در هر ژنوتیپ، DNA برگ ۳۶ گیاهچه استخراج و موردبررسی قرار گرفت. همان‌گونه که انتظار می‌رفت حضور ژن مقاومت در ارقام شاهد با توجه به پیشینه ژنتیکی آن‌ها بسیار ناچیز و در حد صفر بود. فراوانی حضور ژن در میان هیبریدها از حداقل ۳۳ تا حداکثر ۸۹ درصد متغیر بود. در میان تست کراس‌های جدید، دو هیبرید (7112*SB36)*SB33-HSF-4 و (7112*SB36)*SB33-HSF-5(SBSI042) با ۸۹ درصد دارای بالاترین میزان حضور ژن بودند (جدول ۷). به استناد نتایج مقایسه هیبریدها در سه منطقه آلوده به ریزومانیا و همچنین عکس‌العمل تست‌کراس‌ها در هر یک از مناطق آزمایشی و نتایج بررسی نشانگری حضور ژن مقاومت به نماتد ریشه گرهی در تست کراس‌ها، از میان ده هیبرید موردبررسی تعداد چهار هیبرید شامل تست‌کراس‌های (7112*SB36)*SB33-HSF-3(SBSI041)، (7112*SB36)*SB33-HSF-5(SBSI042)، (7112*SB36)*SB33-HSF-6(SBSI043) و (7112*SB36) *SB33-HSF-8(SBSI044) برای شرکت در آزمون تعیین ارزش زراعی انتخاب شدند که به ترتیب تحت کدهای SBSI043، SBSI042، SBSI041 و SBSI044 شماره‌گذاری شدند. به‌منظور اطمینان بیشتر از وجود مقاومت در تست کراس‌های انتخابی، این هیبریدها به همراه تعدادی از ارقام خارجی مقاوم به نماتد سیستی و بدون پیشینه مقاومت به نماتد ریشه گرهی در شرایط گلخانه و از نظر فنوتیپی ارزیابی مقاومت شدند (جدول ۸). کلیه ارقام خارجی مورداستفاده به‌استثناء رقم توکان در گروه ارقام حساس قرار گرفتند و فقط رقم توکان با متوسط تعداد ۲۲ گره جزو ارقام متحمل در نظر گرفته شد. با توجه به متوسط تعداد گره روی ریشه، هر چهار هیبرید جدید در گروه مقاوم دسته‌بندی شدند، اما دو هیبرید SBSI042 و SBSI043 فاقد هرگونه بوته حساس به نماتد ریشه گرهی بودند (جدول ۸).

بر اساس میانگین نمره آلودگی ریشه‌ها به بیماری ریزومانیا در زمان برداشت در دو منطقه شیراز و مشهد، دو هیبرید (7112*SB36) *SB33-HSF-5(SBSI042) و (7112*SB36) *SB33-HSF-6(SBSI043) با کسب شاخص آلودگی ۳/۱۷ در منطقه شیراز و به‌ترتیب ۱/۸۳ و ۲ در منطقه مشهد جزو هیبریدهای بسیار مقاوم شناخته شدند، به‌نحوی‌که نمره آلودگی آن‌ها در حد ارقام مقاوم خارجی بود (جدول ۹). درمجموع به استناد نتایج ارزیابی فنوتیپی مقاومت به نماتد ریشه گرهی (جدول ۷)، بر اساس تشکیل گره روی ریشه در ارزیابی گلخانه‌ای (جدول ۸) و همچنین شاخص آلودگی و فراوانی حضور ژن مقاومت به ریزومانیا (جدول ۹)، هیبریدهای SBSI042 و SBSI043 از دو هیبرید دیگر در برابر نماتد ریشه گرهی بهتر بوده و با

بیش از ۷۰ درصد فراوانی حضور ژن مقاومت و گروه‌بندی در دسته ارقام مقاوم از بقیه هیبریدها وضعیت بهتری داشتند. این دو هیبرید در غربال مولکولی با استفاده از نشانگر پیوسته با ژن مقاومت به نماتد ریشه گرهی به‌ترتیب ۸۹ و ۷۲ درصد حضور ژن را نشان دادند (جدول ۷).

جدول ۷- نتایج آزمون مولکولی با نشانگر پیوسته با ژن مقاومت به نماتد گره ریشه (MEL) در هیبریدها

Table 7. Results of molecular testing with a linked marker for root-knot nematode resistance gene (MEL) in hybrids

ردیف Row	ژنوتیپ Genotype	تعداد گیاهچه No. of plants	تعداد گیاهچه دارای ژن MEL^+ no.	درصد حضور ژن MEL^+ %
1	(7112*SB36)*SB33-HSF-1	36	28	78
2	(7112*SB36)*SB33-HSF-2	36	25	69
3	(7112*SB36)*SB33-HSF-3(SBSI041)	36	25	69
4	(7112*SB36)*SB33-HSF-4	36	32	89
5	(7112*SB36)*SB33-HSF-5(SBSI042)	36	32	89
6	(7112*SB36)*SB33-HSF-6(SBSI043)	36	26	72
7	(7112*SB36)*SB33-HSF-7	36	18	51
8	(7112*SB36)*SB33-HSF-8(SBSI044)	36	12	33
9	(7112*SB36)*SB33-HSF-9	36	18	50
10	(7112*SB36)*SB33-HSF-10	36	27	75
11	شاهد متحمل (T) Pars	36	1	3
12	شاهد مقاوم (R) Arya	36	2	6
13	شاهد مقاوم (R) Ludwina	36	0	0
14	شاهد مقاوم (R) Novodoro	36	0	0
15	شاهد مقاوم (R) Bomerange	36	0	0
16	شاهد حساس (S) Sharif	36	1	3

T: tolerant; R: resistant; S: susceptible.

جدول ۸- ارزیابی مقاومت فنوتیپی هیبریدهای منتخب نسبت به *M. javanica* در شرایط گلخانه

Table 8. Phenotypic resistance evaluation of selected hybrids against *M. javanica* under greenhouse conditions

ردیف Row	ژنوتیپ Genotype	تعداد گره Number of root knot	گروه‌بندی Classification
1	شاهد حساس (S) Sharif	292	حساس(S)
2	Pauletta	231	حساس(S)
3	Sanetta	169	حساس(S)
4	Fernando	73.6	حساس(S)
5	Succara	252.7	حساس(S)
6	BTS213	114	حساس(S)
7	Toucan	22.1	متحمل(T)
8	(7112*SB36)*SB33-HSF-3(SBSI041)	8	مقاوم(R)
9	(7112*SB36)*SB33-HSF-5(SBSI042)	0	مقاوم(R)
10	(7112*SB36)*SB33-HSF-6(SBSI043)	0	مقاوم(R)
11	(7112*SB36)*SB33-HSF-8(SBSI044)	1.4	مقاوم(R)

T: tolerant; R: resistance; S: susceptible.

جدول ۹- ارزیابی فنوتیپی و ژنوتیپی تست کراس‌ها در برابر بیماری ریزومانیا

Table 9. Phenotypic and genotypic evaluation of test-crosses against rhizomania disease

ردیف Row	ژنوتیپ Genotype	درصد حضور نشانگر غالب ریزومانیا (*Rz*) Percentage of the dominant maker of rhizomania (Rz--)	میانگین شاخص بیماری ریزومانیا در آزمایش‌های شیراز Average rhizomania disease index in Shiraz experiments	میانگین شاخص بیماری ریزومانیا در آزمایش‌های مشهد Average rhizomania disease index in Mashhad experiments
1	(7112*SB36)*SB33-HSF-1	90	3.67	2
2	(7112*SB36)*SB33-HSF-2	59	4	3
3	(7112*SB36)*SB33-HSF-3(SBSI041)	69	3.5	1.83
4	(7112*SB36)*SB33-HSF-4	60	4	2.67
5	**(7112*SB36)*SB33-HSF-5(SBSI042)**	**70**	**3.17**	**1.83**
6	**(7112*SB36)*SB33-HSF-6(SBSI043)**	**88**	**3.17**	**2**
7	(7112*SB36)*SB33-HSF-7	84	3.5	1.67
8	(7112*SB36)*SB33-HSF-8(SBSI044)	84	3.67	1.67
9	(7112*SB36)*SB33-HSF-9	80	3.83	3
10	(7112*SB36)*SB33-HSF-10	78	3.83	1.83
11	شاهد متحمل (T) Pars	75	4	3.67
12	شاهد مقاوم (R) Arya	75	3.83	3.5
13	شاهد مقاوم (R) Ludwina	100	2.83	1.67
14	شاهد مقاوم (R) Novodoro	-	3	1.33
15	شاهد مقاوم (R) Bomerange	100	3.67	2
16	شاهد حساس (S) Sharif	-	5.67	6.33

بر اساس نتایج مقایسه عملکرد مقدماتی هیبریدهای جدید و همچنین ارزیابی مقاومت آن‌ها نسبت به عوامل بیماریزای ریزومانیا و نماتد مولد گره، در نهایت چهار هیبرید تحت کدهای SBSI043، SBSI042، SBSI041 و SBSI044 انتخاب شدند. نتایج تجزیه واریانس مرکب ارزیابی چهار هیبرید منتخب در کنار ارقام آریا، کاستیل ، رزیر (شاهدهای مقاوم) و شریف (شاهد حساس) در چهار منطقه (مشهد، زرقان، همدان و قزوین) طی دو سال زراعی (۱۳۹۵ و ۱۳۹۶) نشان دهنده اثر معنی‌دار سال برای صفات عملکرد ریشه و شکر سفید و غیر معنی‌داری آن برای صفت درصد قند بود، درحالی‌که اثر مکان صرفاً برای صفت درصد قند معنی‌دار شد که نشان از تأثیر شرایط آب‌وهوایی سال‌های اجرای آزمایش بر صفات عملکرد ریشه و شکر سفید و همچنین تفاوت متوسط درصد قند ارقام در مکان‌های مختلف آزمایشی داشت (جدول ۱۰). همچنین، اثر رقم و سایر اثرات متقابل نیز برای صفات مذکور معنی‌دار شد که بیانگر تفاوت پتانسیل ژنتیکی ارقام از نظر تولید ریشه و شکر سفید و همین‌طور تفاوت عکس‌العمل ارقام طی سال‌ها و مکان‌های مختلف می‌باشد (جدول ۱۰). از آنجا که عملکرد شکر سفید مهم‌ترین صفت در انتخاب ارقام چغندرقند است، مقایسه میانگین ژنوتیپ‌ها بر اساس این صفت انجام شد (شکل ۳). رقم رزیر با متوسط عملکرد شکر سفید ۱۰/۰۵ تن در هکتار به‌تنهایی در گروه آماری برتر قرار گرفت. پس‌ازآن، رقم کاستیل به همراه دو هیبرید جدید SBSI042 و SBSI043 به‌ترتیب با میانگین عملکرد شکر سفید ۹/۳۸، ۸/۸۲ و ۸/۷۶ تن در هکتار در رتبه دوم قرار گرفتند و دو هیبرید جدید بعدی رتبه سوم را به خود اختصاص دادند (شکل ۳). هر چهار هیبرید جدید نسبت به شاهد مقاوم داخلی (رقم آریا) با متوسط عملکرد شکر سفید ۷/۱۱ تن در هکتار، برتری آماری معنی‌داری داشتند. شاهد حساس نیز به‌تنهایی در آخرین رتبه آماری قرار گرفت (شکل ۳). بدین ترتیب، بر اساس نتایج تجزیه واریانس مرکب داده‌های حاصل از آزمون تعیین ارزش زراعی طی دو سال در چهار منطقه آزمایشی برای صفت عملکرد شکر سفید، دو هیبرید SBSI042 و SBSI043 انتخاب شدند که با توجه به پتانسیل تولید بالا می‌توان آن‌ها را به‌عنوان ارقام جدید معرفی نمود.

نتایج آزمایش مقایسه ارقام (۲۴ رقم مقاوم به ریزومانیا به همراه یک رقم داخلی بانام آریا و هیبرید جدید SBSI043) به‌صورت نمایشی در اراضی آلوده به ریزومانیای حوزه عمل کارخانه قند کشت و صنعت مغان نشان داد که بیشترین عملکرد شکر سفید در آزمایش ۸/۸۴ تن در هکتار بود و هیبرید جدید با متوسط عملکرد شکر سفید ۷/۴۶ تن در هکتار در رتبه دهم قرار گرفت و نسبت به بسیاری از ارقام خارجی برتری داشت.

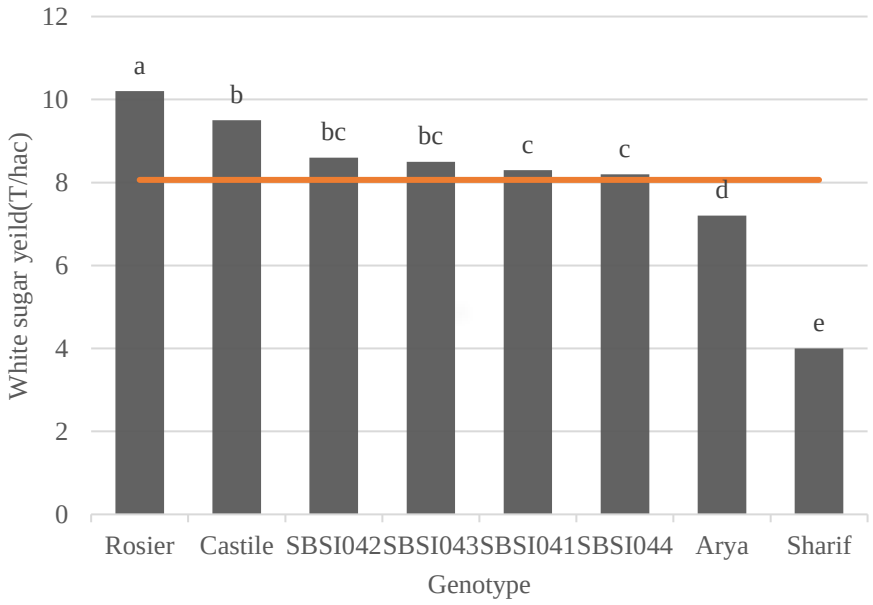
جدول ۱۰- تجزیه واریانس مرکب صفات عملکرد ریشه، درصد قند و عملکرد شکر سفید ژنوتیپ‌های چغندرقند در چهار منطقه طی دو سال زراعی

Table 10. Combined variance analysis of root yield, sugar content, and white sugar yield traits of sugar beet genotypes in four regions over two growing seasons

S.O.V.	منابع تغییرات	درجه آزادی D.F.	میانگین مربعات Mean squares		
			عملکرد ریشه Root yield	عملکرد شکر سفید White sugar yield	درصد قند Sugar content
Year	سال	1	2212.23**	44.04**	2.59ns
Location	مکان	3	14631.85ns	735.38ns	671.87**
Location×Year	سال × مکان	3	7075.27**	190.77**	10.63**
Replication (Location×Year)	تکرار (سال × مکان)	24	25.157	0.63	0.98
Genotype	ژنوتیپ	7	131.59**	4.82**	1.24**
Location×Genotype	مکان × ژنوتیپ	21	542.3**	20.45**	3.53**
Year×Genotype	سال × ژنوتیپ	7	131.59**	4.82**	1.24 ns
Location×Year×Genotype	سال × مکان × ژنوتیپ	21	109.65**	2.86*	1.68 ns
Error	خطا	168	51.04	1.62	1.04
C.V. %	ضریب تغییرات (درصد)		14.39	15.65	6.43

**و ns به‌ترتیب معنی‌دار و غیر معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد

** and ns, significant and not significant at 5% probability level, respectively



شکل ۳- مقایسه میانگین هیبریدهای جدید بر اساس متوسط عملکرد شکر سفید در آزمون تعیین ارزش زراعی

Fig. 3. Mean comparison of new hybrids based on the average white sugar yield in the value of cultivation and use (VCU) test

بر اساس نتایج حاصل از میانگین عملکرد شکر سفید در هفت منطقه آزمایشی، هیبرید SBSI043 با متوسط عملکرد شکر سفید ۸/۷۹ تن در هکتار پس از دو رقم شاهد خارجی به‌عنوان برترین هیبرید آزمایش شناخته شد و بیشترین عملکرد شکر سفید را به خود اختصاص داد (شکل ۳). متوسط عملکرد شکر سفید این هیبرید قریب به یک‌تن بیشتر از برخی از ارقام رایج داخلی بود. نخستین تجربه کشت آزمایشی هیبرید SBSI043 در مزارع کشاورزان در سال ۱۳۹۶ صورت گرفت. در این سال، هیبرید جدید توسط یکی از کشاورزان استان فارس در منطقه کوار و در سطح دو هکتار در مجاورت ارقام خارجی کشت شد. بر اساس نتایج واصله از کارخانه قند طرف قرارداد، متوسط عملکرد ریشه رقم جدید معادل ۹۰ تن در هکتار و درصد قند آن ۱۵/۱ درصد محاسبه گردید.

توصیه ترویجی

آسیا یک هیبرید دیپلوئید و منوژرم است که به‌عنوان اولین رقم مقاوم به ریزومانیا و نماتد مولد گره ریشه در ایران معرفی‌شده است. این رقم حامل ژن‌های *Rz1* و *Rz5* برای مقاومت به ریزومانیا است. والد پدری این رقم دارای ژن *Rz5* و همچنین ژن مقاومت به نماتد مولد گره ریشه است، درحالی‌که والد مادری واجد ژن *Rz1* می‌باشد. مقاومت این رقم به نماتد ریشه گرهی از نوع تک‌ژنی بوده و در پایه پدری قرارگرفته است. با توجه به مقاومت بالای رقم آسیا در برابر نماتد ریشه گرهی و ریزومانیای چغندرقند، توصیه می‌شود این رقم بیشتر در مناطق آلوده به این بیماری‌ها کشت گردد؛ هرچند در مناطق غیر آلوده نیز پایداری عملکرد آن تأییدشده و امکان کشت آن فراهم می‌باشد. مناطق مناسب برای کشت این رقم شامل نواحی معتدل و نسبتاً گرم کشور مانند مغان، شاهرود، جوین و نیشابور هستند که با توجه به آلودگی توأم به دو بیمارگر نماتد ریشه گرهی و ویروس عامل بیماری ریزومانیا، می‌توانند از این رقم استفاده نمایند. هدف اصلی از تولید رقم آسیا، صادرات به کشورهای آذربایجان، سوریه و مصر بوده است. میزان بذر مصرفی این رقم دو واحد در هکتار می‌باشد. نتایج آزمایش‌های تحقیقاتی و ترویجی انجام‌گرفته در مناطق آلوده به‌ویژه در غرب کشور حاکی از عملکرد مناسب رقم آسیا بوده است. به‌طوری‌که عملکرد شکر سفید این رقم نسبت به رقم شاهد ۲۳ درصد افزایش نشان داده است (عملکرد شکر رقم شاهد ۷/۱ تن و رقم آسیا ۸/۷۶ تن در هکتار). جایگزینی ارقام داخلی چغندرقند به‌جای ارقام خارجی نه‌تنها وابستگی کشور به بذور خارجی را کاهش خواهد داد، بلکه افزایش بی‌رویه قیمت بذور خارجی را نیز کنترل خواهد کرد. پیش‌بینی می‌شود سالانه پنج هزار واحد از بذر این رقم تولید و در اختیار کشاورزان قرار گیرد. با توجه به این‌که قیمت هر واحد بذر داخلی حداقل سه میلیون تومان پایین‌تر از بذر وارداتی است، کشت این رقم حداقل پانزده میلیارد

تومـان (حـدود دویسـت هـزار دلار در سـال) صرفه‌جویی ارزی به دنبال خواهد داشت.

References

Akhyani, A., and Damadzadeh, M., 1993. Identification of plant parasitic nematodes in sugar beet fields in Esfahan. 28 Aug.-2 Sep. 1993.In: Proceedings of the 11th Plant Protection Congress of Iran. Rasht. Iran. (Abstract).

Amiri, R., Moghaddam, M., Mesbah, M., Yaghoub Sadeghian, S., Ghannadha, M. R., and Izadpanah, K. 2003. 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 132: 363-373 DOI: 10.1007/s42107-020-00263-x

Anonymous, 2018. FAO Statistical Data. Available on: www.faostat.org.

Asher, M. J. C., and Thompson, K. 1987. Rhizomania in Europe. An article based on the July meeting of the SBREC. Br. Sug. Be. Rev. 55(3): 24-28.

Bakooie, M., Pourjam, E., Mahmoudi, S. B., Safaie, N., and Naderpour, M. 2015. Development of an SNP marker for sugar beet resistance/susceptible genotyping to root-knot nematode. J. Agric. Sci. Technol.17: 443-454.

Bhattacharjee, R., and Dey, U. 2014. An overview of fungal and bacterial biopesticides to control plant pathogens/diseases. Afr. J. Microbiol. Res. 8(17): 1749-1762. DOI: 10.5897/AJMR2013.6356

Canova, A. 1952. Si studia la rhizomania della bietola. Inf. fitopatol. 10: 235-239.

Dellaporta, S. L., Wood, J., and Hicks, J. B. 1983. A plant DNA minipreparation: Version II. Plant Mol. Biol.: 19-21.

Franklin, M. T. 1979 .Economic importance of *Meloidogyne* in temperature climates. In: F. Lamberti and C.E. Taylor, eds. Rootknot Nematodes (*Meloidogyne* species) Systematic, Biology and Control. London and New York: Academic Press. pp. 331-339.

Hemayati, S. S., Akbar, M. R. J. E., Ghaemi, A. R., and Fasahat, P. 2017. Efficiency of white mustard and oilseed radish trap plants against sugar beet cyst nematode Appl. Soil Ecol. 119: 192-196. DOI: 10.1016/j.apsoil.2017.06.017.

Izadpanah, K., Hashemi, P., Kamran, R., Pakniat, M., Sahandpour, A., and Masumi, M. 1996. Widespread occurrence of rhizomania-like disease of sugarbeet in Fars. Iranian Journal of Plant Pathology 32: 200-206. (In Persian).

Karegar, A. 2006. Identification of plant-parasitic nematodes associated with sugar beet

and their distribution in Hamadan province, Iran. Iranian Journal of Plant Pathology 42 (1): 159-178. (In Persian).

Keren-Zur, M., Antonov, J., Bercovitz, A., Feldman, K., Husid, A., Kenan, G., Marcov, N., and Rebhun, M. 2000. Bacillus firmus formulations for the safe control of root-knot nematodes. November 19-22, 1990. Pp. 47-52. In: Proceedings of the BCPC Conference: Pests and diseases, Brighton, UK.

Korayem, A. M., El-Bassiouny, H. M. S., Abd El-Monem, A. A., and Mohamed, M. M. M., 2012. Physiological and biochemical changes in different sugar beet genotypes infected with root-knot nematode. Acta Physiol Plant 34:1847-1861. DOI**:**10.1007/s11738-012-0983-1

Lamovšek, J., Urek, G., and Trdan, S. 2013. Biological control of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.): Microbes against the pests. Acta Agric. Slovenica 101 (2): 263-275. DOI: 10.14720/aas.2013.101.2.14917

Panella, L., and Lewellen, R. T., 2007. Broadening the genetic base of sugar beet: introgression from wild relatives. Euphytica 154:383-400. DOI: 10.1007/s10681-006-9209-1

Pathak, K. N., and Nishi Keshari, N. K. 2000. Effect of inoculum levels of *Meloidogyne incognita* (Kofoid and White 1949) Chitwood 1919, on seed germination, seedling emergence and plant growth of red beet (*Beta vulgaris var. crassa*). Pest Manage. Horti. Eco. 6(2): 118-123.

Mehrvar, M., Valizadeh, J., Koenig, R., and Bragard, C. G. 2009. Iranian *Beet necrotic yellow vein virus* (BNYVV): Pronounced diversity of the p25 coding region in A-type BNYVV and identification of P-type BNYVV lacking a fifth RNA species. Arch. Virol. 154 (3):501-506. DOI: 10.1007/s00705-009-0322-z.

Moghadam, E. M., Kheiri, A., and Okhovat, M., 1996. Morphological and morphometrical study of three endoparasitic nematodes of sugarbeet in Mashhad region. Iran. J. Plant Pathol. 32: 1-8.

Norouzi, P., Sabzehzari, M., and Zeinali, H. 2015. Efficiency of some molecular markers linked to rhizomania resistance gene (*Rz 1*) for marker assisted selection in sugar beet. J. Crop Sci. Biotech.18: 319-323. DOI. 10.1007/s12892-015-0033-9

Norouzi, P., Mahmoudi, S. B., Darabi, S., and Kakueinezhad, M. 2017. Confirmation of some SCAR molecular markers linked to rhizomania resistance gene (*Rz1*) in sugar beet. Indian J. G. Plant Breed. 77 (2): 312-315. DOI. 10.5958/0975-6906.2017.00042.6.

Norouzi, P., Mahmoudi, S. B., Taleghani, D., Rajabi, A., Sadeghzadeh Hemayati, S., Aghaiezadeh, M., Soltani Idliki, J., Darabi, S., Babaee, B., Fasahat, P., and Vahedi, S. 2020. Development and phenotypic and molecular evaluation of sugar beet hybrids for resistance to rhizomania and root-knot nematode (*Meloidogyne* spp.). J. Sugar Beet.36(2): 117-128. DOI.10.22092/jsb.2021.351098.1243

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

Ommati, F., and Giti, M. 2010. Identification and spread of sugar beet parasitic nematodes of Semnan province. Pp. 5495. 2010 Aug 19-22. In: Proceedings of the 19th Iranian Plant Protection Congress, Iranian Research Institute of Plant Protection, Tehran, Iran.

Pourrahim, R., Afzali, H., Kakoinejad, M., Shahreain, N., Farzadfar, S., and Mahmoudi, S. B. 2014. Tracking and determination of distribution of *Beet necrotic yellow vein virus* (BNYVV) in sugar beet fields in five important provinces of this crop cultivation. The final report of the research project, Sugar Beet Seed Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Karaj, Iran. 22 pp.

Taylor, A. L., and Sasser, J. N. 1978. Biology, identification and control of root-knot nematodes. North Carolina State University Press.111 pp.

Tranier, M. S., Gros, J. P., Quiroz, R. C., González, C. N. A., Mateille, T., and Roussos, S. 2014. Commercial biological control agents targeted against plant-parasitic root-knot nematodes. Braz. Arch. Biol. Technol. 57 (6): 831-841. DOI.10.1590/S1516-8913201402540

Whitney, G. D., and Duffus, J. E. 1986. Compendium of Beet Diseases and Insects. APS Press, St. Paul, Minnesota, 76 pp.

Yu, M. H. 2003. Development of root knot nematode resistant sugar beet. Pp. 103-109. February 2003. In: International Institute for Beet Research Proceedings.1st Joint IIRB-ASSBT Congress, San Antonio, USA.

Asia, the first monogerm sugar beet cultivar resistant to rhizomania virus and root-knot nematode in Asia

S. B. Mahmoudi[1], J. Soltani[2], S. Darabi[3], M. Ahmadi[4], A. Pedram[5], P. Norouzi[1], A. Rajabi[1], H. Ebrahimi Kolaei[6], S. Sadeghzadeh Hemayati[1], D. Taleghani[1], R. Mohammadian[1], M. Kakuei Nezhad[7], S. Vahedi[7], Mohsen Aghaeezadeh[7] and E. Moaven[8]

1, 7 and 8. Associate Professor, Assistant Professor and Researcher, respectively, Sugar Beet Seed Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Karaj, Iran.

2 and 4. Assistant Professor and Associate Professor, respectively, Sugar Beet Research Department, Khorasan Razavi Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Mashhad, Iran.

3. Researcher, Sugar Beet Research Department, Fars, Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Fars, Iran.

5. Assistant Professor, Sugar Beet Research Department, Azarbayjan Gharbi, Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Urmia, Iran.

6. Researcher, Sugar Beet Research Department, Hamadan, Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Hamadan, Iran.

ABSTRACT

Mahmoudi, S. B., Soltani, J., Darabi, S., Ahmadi, M., Pedram, A., Norouzi, P., Rajabi, A., Ebrahimi Kolaei, H., Sadeghzadeh Hemayati, S., Taleghani, D., Mohammadian, R., Kakuei Nezhad, M., Vahedi, S., Aghaeezadeh, M., and Moaven, E. 2024. Asia, the first monogerm sugar beet cultivar resistant to rhizomania virus and root-knot nematode in Asia**. Research Achievements for Field and Horticulture Crops Journal 13 (1): 111-132. (in Persian).**

Sugar beet is one of the hosts of root-knot nematode (*Meloidogyne* spp.) and the virus causing rhizomania disease (*Beet necrotic yellow vein virus*, BNYVV). The use of resistant cultivars is considered the simplest and most effective method for managing plant diseases. In the effort to develop a sugar beet cultivar resistant to both rhizomania and root-knot nematode, two populations carrying resistance genes to these diseases were identified and selected. From the target population, 10 half-sib families were developed and crossed with the single cross monogerm 7112*SB36, resulting in the development of 10 monogerm hybrids. The evaluation of these hybrids for quantitative and qualitative traits led to the selection of four superior hybrids including (7112*SB36)*SB33-HSF-3(SBSI041), (7112*SB36)*SB33-HSF-5(SBSI042), (7112*SB36)*SB33-HSF-6(SBSI043), and (7112*SB36)*SB33-HSF-8(SBSI044). The combined data analysis and comparison of these hybrids with a domestic rhizomania-resistant control (cultivar Arya) and two foreign resistant controls (Castile and Rosier), and a susceptible cultivar over two years in rhizomania-infected conditions across four regions (Mashhad, Shiraz, Hamadan, and Qazvin) showed that all four hybrids exhibited significant superiority over the domestic resistant control. Among the hybrids, (7112*SB36)*SB33-HSF-6(SBSI043) was recognized as the best domestic hybrid in the evaluation of new domestic cultivars' agronomic value across seven infected and uninfected regions, with an average white sugar yield of 8.79 tha^{-1}, ranking behind the two foreign controls. This diploid monogerm hybrid, as the first cultivar with dual resistance to rhizomania and root-knot nematode, was registered under the trade name "Asia" and introduced for spring cultivation in different regions of the country, particularly those affected by both diseases, as well as for export to Azerbaijan, Syria and Egypt.

Key words: Sugar beet, Rhizomania, Root-knot nematode, Resistant cultivar, Half-sib family, Monogerm single–cross.

Corresponding author: soltani51@gmail.com **Tel.:** +985138717018

Received13 February, 2024
Accepted: 07 Augst, 2024