تایید حضور یک نشانگر مولکولی جفت STS (PCR اختصاصی)، پیوسته با ژن مقاومت به ریزومانیا در ارقام تجاری چغندر قند

اروجعلیان سمانه[۱و۲*]،نوروزی پیمان[۲]، بی همتا محمدرضا[۳]، محمودی سید باقر[۲]

۱- دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج ۲ - موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر چغندرقند
۳- پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

*Samaneoroujalian@yahoo.com

چکیده

به منظور یافتن یک نشانگر مولکولی که بتواند با آلل غالب ژن مقاومت به ریزومانیا همبستگی داشته باشد ، این بررسی در چندین رقم تجارتی چغندرقند انجام گرفت. برای این منظور بذور ژنوتیپ های مربوط در گلخانه کشت شدند و از گیاهچه های یک ماهه نمونه برداری برگ جهت استخراجDNA صورت گرفت. با استفاده از چندین نشانگر بر اساس مرور منابع، آزمون مولکولی بر روی ژنوتیپ‌های مورد نظر انجام شد. آغازگرهای مربوط به نشانگرها بر روی DNA تک بوته‌ها با تکنیک PCR اختصاصی (STS=Sequence Tagged Site) مورد آزمون مولکولی قرار گرفته و پس از الکتروفورز محصولات واکنش در ژل آگارز و رنگ آمیزی ژل با اتیدیوم بروماید و مشاهده نوارهای نشانگر با دستگاه مستندسازی ژل، حضور و عدم حضور نشانگرها در تک بوته ها مشخص گردید. نتایج به صورت حضور و عدم حضور امتیاز دهی گردید. نتایج نشان داد که درصد حضور نشانگر جفت در اکثر ارقام تجارتی حساس و مقاوم بین ۱۰ و۱۰۰ درصد متغیر می‌باشد. مقایسه میانگین در یک طرح کاملا تصادفی در سه تکرار و با استفاده از روش دانکن صورت گرفت و ارقام در گروه های متفاوتی قرار گرفتند. . با توجه به نتایج بدست آمده از نشانگر مذکور می توان در تعیین درصد مقاومت به ریزومانیا با منشاء ژن *Rz1* در برخی ارقام تجارتی و نیز انتقال مقاومت از این ارقام به توده های حساس داخلی در پروسه های تهیه رقم بهره برداری نمود.

واژگان کلیدی: ریزومانیا، نشانگر مولکولی، چغندرقند،**PCR .**

مقدمه

چغندر قند گیاهی از خانواده آمارانتاسه(*Amaranthace*)، جنس بتا(*Beta*) و گونه ولگاریس(*Vulgaris*) می‌باشد[2]. بیماری ریزومانیا (ریشه گنایی) یکی از مخربترین بیماری های چغندرقند در جهان است. ریزومانیا باعث تکثیر بیش از حد ریشه‌های

موئین در نتیجه آلودگی ریشه‌ها با ویروس زردی نکروتیک رگبرگ چغندر قند (BNYVV)(*Beet Necrotic Yellow Vein Virus*) می گردد[3]. یکی از روشهای مقابله با این بیماری استفاده از ارقام مقاوم است. به منظور یافتن یک نشانگر مولکولی که بتواند با آلل غالب ژن مقاومت به ریزومانیا همبستگی داشته باشد، این بررسی در چندین رقم تجارتی چغندرقند انجام گرفت.

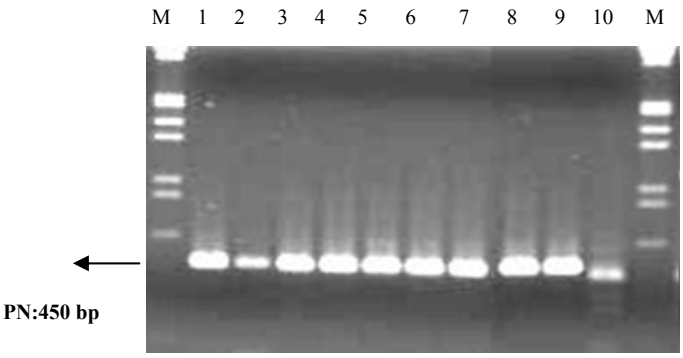
مواد و روش ها

بذور ارقام تجارتی مقاوم(لاتیتیا، بریجیتا، دوروتی، فلورس، FC-2، FC) و حساس (شیرین، رسول و رجینا) و والد گرده افشان HM1990 در گلخانه کشت شدند. استخراج DNA با روش دلاپورتای تغییر یافته صورت گرفت.[1] .نشانگر مورد استفاده در این آزمون که به صورت قراردادی PN2 نام گذاری شد بر روی DNA تک بوته‌ها با تکنیک PCR اختصاصی مورد آزمون مولکولی قرار گرفته و پس از الکتروفورز محصولات واکنش در ژل آگارز و رنگ آمیزی ژل و مشاهده نوارهای نشانگر ، حضور و عدم حضور نشانگرها در تک بوته ها مشخص گردید.

نتایج و بحث

جدول ۲- نتایج به دست آمده برای نشانگر PN_2

ردیف	انواع ژنوتیپ	تعداد کل بوته‌های مورد بررسی	درصدحضور نشانگر
۱	FC	۲۶	۸۰/۷۶
۲	FC-2	۱۶	۲۵
۳	HM1990	۱۹	۰
۴	فلورس	۱۵	۱۰۰
۵	دوروتی	۱۴	۱۰۰
۶	لاتیتیا	۱۵	۴۶/۶۶
۷	جام	۱۵	۲۰
۸	زرقان	۸	۱۲/۵
۹	بیریجیتا	۹	۸۸/۸۸
۱۰	رجینا	۱۰	۱۰
۱۱	شیرین	۸	۱۲/۵
۱۲	میانگین ارقام حساس	۱۸	۱۱/۱۱



شکل۱- الگوی الکتروفورزی مربوط به نشانگر PN_2

همانگونه که در آزمون مقایسه میانگین مشاهده شد ارقام تجاری فلورس و دوروتی دارای بهترین میانگین بوده و در گروه A قرار دارند. این ارقام دارای بیشترین درصد حضور ژن (۱۰۰ درصد) هستند. ارقام تجاری و حساس شیرین و رجینا دارای کمترین میانگین بوده و در گروه C قرار گرفته‌اند، یعنی دارای کمترین درصد حضور ژن هستند. این ارقام حساس بوده و در ارقام حساس درصد حضور ژن پایین مورد انتظار می‌باشد.

منابع

[1] Dellaporta sl, wood J Hicks JB (1983), A plant DNA minipreparation versionII . plant molecular Biology reporter . 1: 19-21

[2] Grimmer, M. K., S, Trybush, S. Hanley, S. A. Francis, A. Karp, M. J. C. Asher. 2007. An anchored linkage map for sugar beet based on AFLP, SNP and RAPD markers and QTL mapping of a new source of resistance to Beet necrotic yellow vein virus. Theor App1 Genet. 114:1151-1160.

[3] Wisler, G.C., Widner, J.N., Duffus, J.E., Liu H. Y. And Sears, J.L 1997. A new report of Rhizomania and other Furoviruses infecting sugar beet in Minnesota. Plant Dis, 81:229.z

Confirmation of presence of a STS (Specific PCR) coupling molecular marker, linked to rhizomania resistant genes in commercial sugar beet varieties

Oroujalian Samaneh[1,2*], Norouzi Peyman[2], Mahmoudi Seyyed Bagher[2], Bihamta Mohammadreza[3]

1. Karaj Islamic Azad University – Karaj/Iran (KIAU)

2.Sugar Beet Seed Institute

3. University of Tehran, Faculty of Agriculture and Nature Resources

***samaneoroujalian@yahoo.com**

Abstract

In order to find molecular markers that could correlate with dominant resistance gene to rhizomania, this study was performed on several commercial varieties of sugar beet. For this purpose, desired genotypes seeds were grown in greenhouse and leaf samples were collected from one-month seedlings for DNA extraction. Molecular tests were performed based on references on the desired genotypes by using several markers. For this purpose, primers related to DNA markers on single plants of the genotypes were analysed with PCR and the presence and absence of markers in each single plant were recognized after electrophoresis of PCR products on agarose gel and stained with Ethidium bromide and observed marker bands with gel documentation system, The results was scored as presence and absence of the marker polymorphic band. The results showed that the percentage of presence the coupling marker is variable between 10-100 percent in resistant and susceptible commercial. varieties. The mean comparison was performed in random completely design with 3 replication using Duncan method. Varieties were classified in different groups. As a results, this marker can be used to determine the resistant percentage of Rz1 rhizomania gene in some commercial varieties and transfer the resistance to the susceptible varieties and can be utilized to develop new rhizomania resistant varieties.

Keywords: Rhizomania, Molecular markers, Sugar beet, PCR