بررسی مقاومت به سفیدک پودری (*Oidium neolycopersic* L. Kiss) درگوجه فرنگی

شیوا عزیزی نیا [۱*]، عباسعلی زالی [۲]، سیروس عبدمیشانی [۲]

۱- استادیار گروه علوم باغبانی، پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران، ایران. ۲- اساتید گروه اصلاح نباتات، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، ایران.

* نویسنده مسئول

چکیده

این بررسی با هدف تعیین دقیق ژن مقاومت به سفیدک پودری در نمونهٔ *L.parviflorum* G1.1601 و با استفاده از جمعیت حاصل از تلاقی بین گونه وحشی مقاوم و والد تجاری حساس *L. esculentum* cv. Money Maker اجرا گردید. از جمعیت های بک کراس۲ و بک کراس۳ برای مکان یابی دقیق استفاده گردید. نشانگرهای احاطه کنندهٔ این QTL برای غربال جمعیت ها و شناسایی نوترکیب ها مورد استفاده قرار گرفتند. به منظور پوشاندن ناحیه هدف تعداد ۲۴ نشانگر اختصاصی جدید معرفی شدند. نتایج ارزیابی بیماری در جمعیت های به کار رفته وجود ناحیه موثر در کنترل مقاومت را بین دو نشانگر ct21 و ct184 تایید کرد. نتایج کاربرد نشانگرهای جدید در بالادست و پایین دست نشانگر tg25، نشان داد ناحیه کنترل کننده مقاومت در بالادست این نشانگر قرار دارد. بر اساس نتایج این مطالعه، فاصله تقریبی اولیهٔ تعیین شده برای این QTL از ۳۰ سانتی مورگان به حدود ۱۵سانتی مورگان محدود گردید. با توجه به پیوستگی نشانگرهای جدید معرفی شده با ناحیه کنترل مقاومت، این نشانگرها می توانند برای انتخاب گیاهان مقاوم در برنامه های اصلاحی گزینش بر مبنای نشانگر مورد استفاده قرار گیرند.

واژه های کلیدی: گوجه فرنگی، سفیدک پودری، نقشه پیوستگی، گزینش بر مبنای نشانگر

مقدمه

گوجه فرنگی (*Lycopersicon esculentum*) زراعی میزبان بیش از ۲۰۰ نوع بیمارگر مختلف است که به طرق مختلف به آن خسارت وارد می کنند. سفیدک پودری گوجه فرنگی (*Oidium lycopersici*) در سال های اخیر از گلخانه های گوجه فرنگی در کشورهای مختلف گزارش شده و آسیب زیادی به محصول گوجه فرنگی وارد کرده است و در حال گسترش در گلخانه ها و مزارع تولید گوجه فرنگی در سراسر دنیا است (جونز و همکاران، ۲۰۰۱). علایم این بیماری که عامل آن یک قارچ بیوتروف است به صورت جوش های گرد سفید رنگی هستند که ابتدا روی برگ ها ظاهر می شوند و می توانند ساقه ها و کاسبرگ ها را نیز آلوده کنند ا ما روی میوه ها دیده نمی شوند. بیشتر ارقام زراعی گوجه فرنگی به این قارچ حساس هستند اما مقاومت در گونه های وحشی وجود دارد(میسلروا و همکاران، ۲۰۰۰). تاکنون شش ژن و سه کیوتی ال مقاومت شناسایی شده اند. سه کیوتی ال در مجموع ۶۸ درصد از مقاومت را تبیین می کردند.

Ol-qtl1 در فاصله بین نشانگرهای ct21 و ct184 قرار دارد. دو کیوتی ال دیگر *(Ol-qtl2 و Ol-qtl3)* پیوسته بوده و روی کروموزوم۱۲ قرار دارند (بای و همکاران، ۲۰۰۵). بر اساس اطلاعات نقشه ژنتیکی گوجه فرنگی *Ol-qtl1* فاصله ای در حدود ۳۰ سانتی مورگان را در بر می گیرد (تنکسلی و همکاران، ۱۹۹۲). از نظر ژنتیکی چنین فاصله ای می تواند حاوی تعدادزیادی ژن فعال باشد که لازم است ژن یا ژن های موثر در کنترل صفت مورد مطالعه با مکان یابی دقیق از طریق طراحی نشانگرهای جدید شناسایی شوند . تحقیق حاضر با هدف تعیین دقیق محل *Ol-qtl1* و کاهش فاصله بین نشانگرهای احاطه کنندهٔ این ناحیه و محدود کردن ناحیه کنترل کننده مقاومت به

سفیدک پودری طراحی و اجرا شد . هدف از این تحقیق افزایش تعداد نشانگرهای هم بارز و قابل تکرار کیوتی ال در منطقه هدف جهت همسانه سازی این در مطالعات آتی و نیز استفاده از نشانگرهای پیوسته جدید در برنامه های به نژادی بر مبنای نشانگر بود .

مواد و روش ها

جمعیت اولیه مورد استفاده در این تحقیق توسط بای و همکاران (۲۰۰۳) از تلاقی بین نمونه وحشی *L.parviflorum* G1.1601 با مقاومت بالا و والد تجاری حساس *L. esculentum* cv. Money Maker (MM) در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه واگنینگن هلند به دست آمده بود. برای مکان یابی دقیق، از جمعیت نسل اول خودگشنی بک کراس دوم (BC_2S_1) استفاده شد. کل دی.ان. آ.ی ژنومی از برگهای جوان گیاهچه ها قبل از آلوده سازی استخراج شد. گیاهان یک ماهۀ گوجه فرنگی با پاشیدن زادمایه قارچ عامل بیماری آلوده شده و در گلخانه با دمای۳°C±۲۰ و رطوبت نسبی۷۰ درصد نگهداری شدند. ارزیابی بیماری در روزهای ۱۱، ۱۴ و ۱۹ بعد از آلوده سازی انجام شد. گیاهان آلوده شده بر اساس روش ارائه شده توسط بای و همکاران (۲۰۰۳) درجه بندی شدند. نشانگرهای اختصاصی براساس اطلاعات توالی کلون های مصنوعی طراحی شدند.

نرم افزار Joinmap3.0 (Van Ooijen and Maliepaard, 2006) برای تهیه نقشه ژنتیکی در این جمعیت به کار برده شد. مکان یابی کیوتی ال با استفاده از MapQTL 4.0 (Van Ooijen and Maliepaard, 2004) و آستانه معنی دار ۳ برای تشخیص و شناسایی کیوتی ال های معنی دار در نظر گرفته شد. به منظور به دست آوردن اطلاعات دقیق تر در مورد مکان کیوتی ال و تعیین دقیق محل نشانگرها با استفاده از بررسی نوترکیب ها، تعداد ۱۱۲ فرد BC_2 در گلخانه کشت شده و توسط نشانگرهای احاطه کننده *Ol-qtl1*، ct21 و ct184 غربال شدند. برای دست یابی به محل دقیق ناحیه کنترل کننده مقاومت به بیماری تعداد ۱۱۰۰ فرد از افراد جمعیت BC_2S_1 مورد بررسی قرار گرفتند.

نتایج و بحث

با هدف پوشاندن ناحیه وجود *Ol-qtl1*، در این تحقیق از ۴۷ آغازگر اختصاصی طراحی شده ۲۴ نشانگر اختبصاصی معرفی شدند. تایج مکان یابی کیوتی ال نشان دهنده وجود پیک در فاصله بین نشانگرهای احاطه کننده ct21 و ct184 بود. جهت بررسی وضعیت نوترکیب ها از جمعیت های BC_2 و BC_2S_1 در رابطه با نشانگرهای جدید و نیز تعیین محل احتمالی کیوتی ال کنترل کننده صفت استفاده گردید. بر این اساس ۸ فرد نوترکیب BC_2 و ۳۵ فرد نوترکیب BC_2S_1به دست آمد. طبق نتایج بررسی جمعیت ها برخی از نشانگرهای جدید در پایین دست نشانگر ct184 و دیگر نشانگرها در فاصله بین دو نشانگر غربال کننده قرار گرفتند. نتایج ارزیابی بیماری در جمعیت BC_2 نشان داد افرادی که از نظر تمام نشانگرهای استفاده شده وضعیت آللی هتروزیگوت داشتند پاسخ مقاوم یا نیمه مقاوم به بیماری داشتند در حالی که افرادی که از نظر تمام جایگاه های نشانگری هموزیگوت و حاوی آلل های والد حساس بود واکنش به بیماری نیمه حساسیت نشان می دادند. نتایج بررسی این دو جمعیت و تطابق نتایج ارزیابی ژنوتیپی و فنوتیپی وجود بخش کنترل کننده مقاومت به بیماری در ناحیه بین دو نشانگر ct21 و ct184 بر اساس یافته های بای و همکاران (۲۰۰۳) را تایید کرد و نشان داد این بخش از کروموزم ناحیه موثر در کنترل کمی مقاومت به بیماری سفیدک پودری است. نتایج ارزیابی بیماری در افراد نوترکیب جمعیت BC_2 و BC_2S_1 که فاقد کیوتی ال های دو و سه، دیگر کیوتی ال های اعطا کننده مقاومت بودند وجود ناحیه موثر در کنترل کمی مقاومت به سفیدک پودری را روی کروموزوم ۶ تایید کرد و به طور واضح نشان داده شد که افراد دارای آلل های هموزیگوت والد مقاوم، مقاوم بوده و میانگین شاخص بیماری ۰/۵ برای آن ها محاسبه گردید، گیاهان هتروزیگوت پاسخ بینابینی نشان دادند و گیاهان با آلل های

هموزیگوت والد حساس، اکثرا حساس بودند. البته استثنائاتی در این زمینه درگیاهان حاوی ژنوم والد حساس دیده شد. طبق نتایج مشاهده شده در بین افراد هموزیگوت حساس که فاقد ناحیه کیوتی ال مقاومت بودند افرادی با درجات مختلف مقاومت و نیمه مقاومت نیز مشاهده شد. طبق این نتایج به نظر می رسد علاوه بر کیوتی ال های مورد مطالعه بر روی کروموزوم ۱۲ و ۶، عوامل و ژن های کوچک اثر دیگری این بیماری را تحت تاثیر قرار می دهند که در حضور کیوتی ال های اصلی اثر آنها قابل مشاهده نیست به طوری که با حذف اثر این نواحی با استفاده از گزینش نشانگری، اثر دیگر فاکتورهای دخیل در بروز و تظاهر مقاومت آشکار می شود. به این ترتیب در مطالعات آتی لازم است لاین های ایزوژنیک نزدیک برای بررسی دقیق تر ناحیه مقاومت و محدود کردن این ناحیه در حد فاکتورهای مندلی ایجاد شده و مورد بررسی تکمیلی قرار گیرند(برووور و همکاران، ۲۰۰۴).

References

Bai, Y., C. C. Huang, R. Van der Hulst, F. M. Dekens, G. Bonnema, and P. Lindhout. 2003. QTLs for tomato powdery mildew resistance (*Oidium lycopersici*) in *Lycopersicon parviflorum* G1.1601 co-localize with two qualitative powdery mildew resistance genes. Molecular Plant-Microbe Interactions 16: 169–176.

Bai Y, R. Van der Hulst, G. Bonnema, T. C. Marcel, F. Meijer-Dekens, R. E. Niks, and P. Lindhout. 2005. Tomato defense to Oidium neolycopersici: dominant Ol genes confer isolate-depen- dent resistance via a different mechanism than recessive ol-2. Mol Plant Microbe Interactions 18:354–362

Brouwer, D. J, E. S. Jones, and D. A. St Clair. 2004. QTL analysis of quantitative resistance to Phytophthora infestans (late blight) in tomato and comparisons with potato. Genome 47(3):475–492

Jones ,H., J. M. Whipps, and S. J. Gurr. 2001. The tomato powdery mildew fungus *Oidium neolycopersici*. Molecular Plant Pathology 6:303–309.

Mieslerova, B., A. Lebeda, and R. Kennedy. 2004. Variation in *Oidium neolycopersici* development on host and non-host plant species and their tissue defence responses. Annuals of Applied Biology 144: 237-248.

Tanksley S. D., M. W. Ganal, J. P. Prince, M. C. de Vicente, M. W. Bonierbale, P. Broun, T. M. Fulton, J. J. Giovannoni, S. Grandillo, G. B. Martin, and et al. 1992. High density molecular linkage maps of the tomato and potato genomes. Genetics 132:1141–1160

Van Ooijen, J. 2004. MapQTL 5 Software for the mapping of quantitative trait loci in experimental populations. Kyazma BV, Wageningen

Van Ooijen, J. 2006. JoinMap 4 Software for the calculation of genetic linkage maps in experimental populations. Kyazma BV, Wageningen

Evaluation of Tomato Powdery Mildew (*Oidium neolycopersici* L. Kiss) Resistance

Shiva Azizinia*[1], Abbas Ali Zali[2] and syrous Abdmishani[2]

1 Assistant Professor of Department of Horticulture, Aboureyhan Campus, Tehran University, Iran; 2 Professors of Department of Plant Breeding, Agriculture and Natural Science Campus, Tehran University, Iran

* Corresponding author

Abstract

Current study was designed to fine map powdery mildew resistance gene in *L. parviflorum* G1.1601 accession using segregation population obtained by hybridizing the susceptible commercial variety *L. esculentum* cv Moneymaker and resistant wild parent. F_2, BC_2 and BC_2S_1 progenies were used in this study. Two flanking markers were used to screen recombinant plants. To monitor the targeted area effectively, 24 new specific markers have been identified. The results confirmed the presence of resistant controlling area flanked by ct21 and ct184. Results of recombinant screening showed that the targeted area is located in the upstream of tg25. Based on the results of this research, targeted area was narrowed down to a region of approximately 15 cM. Considering high linkage of newly developed markers, they can be used in marker assisted selection based breeding programs.

Keywords: Tomato, Powdery Mildew, Linkage Map, Marker Assisted Selection