مجله دانش گیاه‌پزشکی ایران
دوره ۴۳، شماره ۲، ۱۳۹۱ (۳۶۵-۳۵۷)

ژنتیک بیماریزایی عامل بیماری زنگ سیاه گندم (*Puccinia graminis* f.sp. *tritici*) و واکنش ژنوتیپهای گندم نسبت به بیماری

فرزاد افشاری
دانشیار پژوهش موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج
(تاریخ دریافت: ۹۱/۳/۱۷ – تاریخ تصویب: ۹۱/۹/۲۹)

چکیده

مطالعه ژنتیک بیماریزایی عامل بیماری زنگ سیاه گندم در طی دو سال زراعی ۸۹-۸۸ و ۹۰-۸۹ با استفاده از تعداد۴۷ لاین گندم افتراقی به زنگ سیاه و همچنین بررسی واکنش ۴۳ رقم/لاین گندم در شرایط مزرعه با آلودگی طبیعی و گلخانه مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج این تحقیق نشان دهنده وجود بیماریزایی برای گیاهان حامل ژن/های مقاومت در طی دو سال برای ژن های *Sr7B, Sr8A, Sr8B, Sr9B, Sr9D, S9G, Sr11, Sr13, Sr16, Sr17, Sr25, Sr34, SrDP2* بود. در بررسی ژنتیک بیماریزایی دو جدایه عامل بیماری زنگ سیاه در شرایط کنترل شده گلخانه ای، جدایه کلاردشت با نژاد KRKSC روی ۱۵ لاین افتراقی برای گیاهان حامل ژن/های *Sr5, Sr8A, Sr22, Sr24, Sr26+Sr9G, Sr27, Sr28, Sr29, Sr31, Sr32, Sr33, Sr35, Sr36, SrGT, SrWLD* غیر بیماریزا بود. در حالی که جدایه دشت آزادگان خوزستان با نژاد KTTSK و دارای توان بیماریزایی روی گیاهان حامل ژن *Sr31* به عنوان واریانتی از نژاد Ug99 مورد تایید قرار گرفت، و غیر بیماریزا بودن آن برای گیاهان حامل ژن های *Sr5, Sr22, Sr24, Sr26+Sr9G, Sr27, SrGT* تعیین گردید. ارزیابی ارقام تجاری و لاینهای امیدبخش گندم در شرایط گیاه کامل در طی دو سال تایید کننده مقاومت ارقام جدیدی مانند مروارید، سیوند و پارسی با واکنش مقاومت (10R-50M) نسبت به زنگ سیاه بود.

واژه‌های کلیدی: نژاد، واریانت، مقاومت، ژن، لاین های استاندارد

مقدمه

بیماری زنگ سیاه یا زنگ ساقه (Black or Stem rust) یکی از مهمترین بیماریهای گندم است و عامل آن قارچ *Puccinia graminis* f. sp *tritici* می باشد. عامل بیماری زنگ سیاه جزء زنگ های بلند چرخه (Macrocyclic) و دارای میزبان واسط می باشد که مرحله ایسیدیومی آن تحت نام *Aecidium berberidis* Pers. روی گونه های زرشک و مراحل اوردینومی و تلیومی آن روی اعضای تیره Poaceae تشکیل می شوند (Cummins, 1971). اولین گزارش زنگ سیاه در ایران در سال ۱۳۲۶ توسط اسفندیاری ارائه شد (اسفندیاری، ۱۳۲۶). این گونه بعدا از اکثر نقاط کشور گزارش گردید (Ershad, 1995).

قارچ عامل بیماری با داشتن میزبان واسط، بالطبع دارای مکانیزم نو ترکیبی جنسی است که با وجود این مکانیزم، تولید نژادهای جدید به مراتب بیشترخواهد بود. دوگونه گندم نان و دوروم که در سطوح وسیعی از مناطق مختلف جهان کشت می شوند، میزبانهای اصلی زنگ سیاه گندم محسوب می گردند. گونه‌های گرامینه نیز به عنوان میزبانهای ثانوی مورد حمله قرار می گیرند،

تلفن: ۳۶۷۰۱۱۰۵- ۰۲۶
E-mail: fafshari2003@yahoo.com

که از آن جمله می توان جو ، تریتیکاله و چاودار را نام برد (Roelfs *et al*.,1992). این بیماری در اواخر مراحل رشدی گیاه ظاهر می شود و به این دلیل زنگ تابستانی نیز نامیده می شود. شرایط محیطی مناسب برای توسعه این بیماری روزهای گرم (۳۰ – ۲۵ درجه سلیسیوس) و شب های ملایم (۲۰-۱۵ درجه سلیسیوس) همراه با رطوبت کافی برای تشکیل شبنم گزارش گردیده است. زنگ سیاه به تمام اندام های هوایی گیاه حمله می کند ولی عمده خسارت آن دراثر آلودگی ساقه گندم و قبل از پرشدن کامل دانه ظاهرمی شود. آلودگی ساقه گندم به زنگ سیاه باعث صدمه به سیستم انتقال دهنده مواد غذایی به دانه و نهایتاً کاهش وزن هزار دانه ،کاهش تعداد دانه و همچنین در آلودگی شدید، باعث شکستن ساقه و ازبین رفتن ماده خشک گیاه (کاه) می گردد.

عامل بیماری درمناطق معتدل با تولید یوردسپور تکثیر مینماید و درفصولی که گندم وجود ندارد روی میزبانهای دیگر خود از غلات و سایر گرامینه ها بقا می یابد (Roelfs *et al*.,1992). یوردسپورهای زنگ ساقه نسبت به شرایط جوی مقاوم هستند وسالانه مسافت طولانی (حدود ۸۰۰ کیلومتر) میان دشت های بزرگ آمریکای شمالی، فاصله ی ۲۰۰۰ کیلومتر استرالیا تا نیوزیلند و حداقل در۷۵ سال گذشته سه بار فاصله ی میان شرق آفریقا تا استرالیا (۸۰۰۰ کیلومتر) را طی نمود (Luig,1985). خسارت ایجاد شده توسط عامل بیماری می تواند بیش از سایر عوامل بیماریزای غلات باشد و اهمیت آن به نحوی است که میلیون ها هکتار مزارع سالم با پتانسیل بالای تولید محصول را می تواند درکمتراز یک ماه به طورکامل تخریب نماید. میزان خسارت این بیماری بستگی مستقیم به میزان ماده اولیه آلوده سازی، شرایط آب و هوایی و حساسیت رقم دارد. گزارشات متعددی در مورد وقوع اپیدمی های شدید و گسترده این بیماری درمناطق مختلف جهان وجود دارد(McIntosh *et al*., 1995). درسال ۱۹۵۵ اپیدمی همزمان زنگ ساقه، و زنگ قهوه ای گندم سبب بروز خساراتی بالغ بر ۵۰۰ میلیون دلار در کانادا و آمریکا گردید (Knott, 1989) . در اروپا دو اپیدمی از این بیماری یکی درسال ۱۹۶۰ در پرتغال و دیگری درسال ۱۹۶۲ در چک اسلواکی گزارش شده است (Roelfs,1985). این بیماری درایران نیز طی سالهای ۴۵ – ۱۳۴۳ درمناطق شمالی و شمال غرب شدت یافت به گونه ای که درمنطقه مازندران وگرگان شدت آن از زنگ زرد بیشتر بود(شریف و همکاران ۱۳۴۹). همچنین به علت مساعد بودن شرایط محیطی درسال ۱۳۵۵ درنقاط جنوبی به خصوص جنوب شرقی کشور بیماری مزارع گندم را آلوده و تا ۹۰ درصد به محصول خسارت وارد نمود (بامدادیان و ترابی ۱۳۵۷). در تحقیقی که توسط افشاری بر روی میزان خسارت زنگ سیاه انجام شد در رقم حساس گندم تا ۸۰ درصد و روی رقم نیمه حساس گندم با ۱۰ روز رسیدگی فیزیولوژیک زودتر تا ۴۰ درصد کاهش محصول گزارش گردید (Afshari, 2000) . در کنیا کشاورزانی که هیچ اقدامی در مقابل این نژاد انجام ندادند، خسارت ۱۰۰ ٪ محصول را داشتند (Wanyera *et al*., 2006). از روش های منطقی کنترل بیماری زنگ سیاه می توان به مبارزه شیمیایی و استفاده از ارقام مقاوم اشاره کرد. کنترل بیماری توسط سموم قارچکش و خصوصاً قارچ کش های سیستمیک گروه تریازول اگر در مراحل اولیه بیماری استفاده شوند در کنترل بیماری بسیار موثر میباشند (Afshari, 2000).

در ایران سابقه مبارزه شیمیائی با این بیماری موجود نیست. کشت ارقام مقاوم بهترین روش کنترل بیماری می باشد، جهت تهیه ارقام مقاوم شناسایی فاکتورهای بیماریزایی عامل بیماری در یک منطقه و فاکتورهائی که احتمالا از خارج از یک منطقه و یا کشور وارد می شوند در درجه اول اهمیت می باشد. درکشور ایران در زمینه استفاده از ارقام مقاوم به زنگ سیاه فعالیت مدونی برای تولید ارقام مقاوم صورت نگرفته است ولی از سال های ۵۸ – ۱۳۵۷ که شروع همکاری های ایران با مرکز بین المللی تحقیقات ذرت و گندم (CIMMYT) در مکزیک بوده است، استفاده از ژنوتیپ های مقاوم با منشأ سیمیت نقش موثری در کنترل بیماری زنگ سیاه درکشور داشته است. اگر چه بیش از ۵۰ ژن مقاومت مختلف در مقابل زنگ سیاه گندم گزارش شده است که اکثرا آنها هم ژن های مقاومت گیاهچه ای میباشند ولی تا کنون تعداد محدودی از آنها در ارقام تجاری مورد استفاده قرار گرفته اند (McIntosh *et al*., 1998). بکارگیری تعدادی از این

ژن های مقاومت موثر درمناطق عمده تولید گندم، تولید جهانی محصول گندم را برای بیش از ۴۰ سال (تا سال ۱۹۹۹) که تغییرات نژادی درجمعیت عامل بیماری زنگ سیاه دیده نشد را بخوبی حفاظت کرد، و بدین دلیل تحقیقات بین المللی بر روی این بیماری محدود شده بود (Singh *et al*., 2006). نژاد جدید زنگ سیاه Ug99 (نام عمومی) برای نخستین بار درسال ۹۹-۱۹۹۸ درکشور آفریقایی اوگاندا گزارش شد، این نژاد جدید به عنوان تهدید جهانی امنیت غذایی شناخته شده است و بر اساس گزارش سازمان خوار و بار جهانی (فائو) اگر این نژاد به مناطق عمده تولید گندم برسد تولید جهانی گندم به طور مستقیم تا ۳۷ درصد در خطر کاهش قرار می گیرد (El Khoury, 2009). نژاد Ug99 با توان بیماریزایی برای گیاهان حامل ژن *Sr31* در اوگاندا و سپس واریانت دیگری از این نژاد که برای ترکیب ژنی *Sr31+Sr24* در کنیا بیماریزایی داشت مورد تایید قرار گرفت که در حال حاضر اکثر ژرم پلاسم گندم بین المللی در مرکز سیمیت کنیا مورد ارزیابی قرار میگیرند (Jin *et al*., 2007). در حال حاضر نژاد Ug99 از کشور یمن گزارش شده و از نتایج تعیین نژاد چنین بر می آید که نمونه پیدا شده در یمن از نظر قدرت بیماری زایی از نژاد Ug99 گزارش داده شده از شرق آفریقا مهاجم تر است و به دلیل مشابهت مسیر پراکنش این نژاد با حرکت نژاد بیماری زا زنگ زرد برای *Yr9* پیش بینی شده است که هدف بعدی کشور سودان می باشد و پس از عبور از ایران به طرف شبه قاره هند حرکت خواهد کرد. در بهار سال ۱۳۸۶ در منطقه همدان و بروجرد نژادی از زنگ سیاه که بر روی ژن *Sr31* بیماریزایی داشت توسط واحد بیماریهای غلات موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر شناسایی گردید (Nazari *et al*., 2008). جین و سینگ (Jin & Singh, 2006) در تحقیقی، مقاومت ۴۵۰ رقم و لاین پیشرفته گندم را در امریکا نسبت به دو جدایه های نژاد Ug99 از کشور اوگاندا و کنیا را مورد بررسی قرار دادند. از نظر فراوانی، ۱۶ درصد از گندم بهاره دانه قرمز سخت، ۴۸ درصد از گندم زمستانه دانه قرمز سخت و ۲۷ درصد از گندم زمستانه دانه نرم نسبت به نژاد TTKS مقاومت داشتند. ژن های اعطا کننده مقاومت درگندم بهاره شناسایی نشدند. مقاومت در رقم Ivan بواسطه ژن *Sr24* گزارش گردید و مقاومت درگندم زمستانه قرمز دانه سخت بواسطه ژن *Sr24* ومقاومت درگندم زمستانه نرم بواسطه ژن *Sr36* تعیین گردید. عامل بیماری در مناطق با میزبان واسط (زرشک) مانند منطقه کلاردشت با وجود اینکه منطقه عمده کشت کار گندم نمیباشد، میتواند پس از استقرار در اثر نوترکیبی جنسی، احتمالا تولید نژاد های جدید بیشتر نموده و شانس ایجاد نژادهای برتر (supper-race)و امکان در هم شکستن تعداد بیشتری از ژن های مقاومت را خواهد داشت. در نتیجه تولید ارقام مقاوم را دشوار تر خواهد نمود. پیش بینی می شود در صورت شیوع بیماری با توجه به ترکیب ارقام و وضعیت حساس تا نیمه حساس بودن آنها به جز تعداد محدودی از ارقام جدید، درحدود یک میلیون هکتار از اراضی کشت گندم درکشور مورد حمله این نژاد واقع شوند که در صورت بروز اپیدمی در این مناطق خسارت بسیار سنگینی به محصول گندم کشور وارد خواهد شد. این تحقیق در کشور کنیا که ظهور عامل بیماری زنگ سیاه گندم نژاد Ug99 وجود دارد و همچنین در کلاردشت به شکل آلودگی طبیعی در جهت شناسایی ژنتیک بیماریزایی پاتوژن و ارزیابی مقاومت ارقام تجاری مهم و تعدادی از لاین های پیشرفته گندم در مرحله گیاه کامل به اجرا در آمد. در ارزیابی گلخانه ای پس از شناسایی ترکیب بیماریزایی دو جدایه زنگ سیاه، در شرایط کنترل شده گلخانه اقدام به ارزیابی مرحله گیاهچه ای ارقام/لاینها بطور خاص برای نژاد Ug99 نیز گردید.

مواد و روش ها

آزمایش مزرعه ای

در قسمت اول تحقیق، آزمایش مزرعه ای جهت بررسی ژنتیک بیماریزائی زنگ سیاه گندم در منطقه کلاردشت با توجه به ظهور بیماری زنگ سیاه به طور سالیانه در این منطقه و وجود گیاه زرشک به عنوان میزبان واسط و امکان ظهور نژاد های جدید با قدرت بیماریزایی بالا در طی دو سال زراعی ۸۹-۸۸ و ۹۰-۸۹ با استفاده از تعداد۴۷ لاین گندم افتراقی (تقریبا آیزوژنیک زنگ سیاه (Near Isogenic) که هر لاین دارای ژن های مقاومت مشخصی (*Sr*-Gene) به زنگ

سیاه است (جدول ۱) به همراه لاین/رقم حساس لوکال رد و موروکو دریافتی از مرکز تحقیقات بین المللی سیمیت در شرایط مزرعه با آلودگی طبیعی که از اهداف این تحقیق بود، مورد بررسی قرار گرفتند. در قسمت دوم تحقیق آزمایش مزرعه ای برای ارزیابی ارقام تجاری مهم گندم کشور شامل ۳۷ رقم تجاری گندم به همراه ۶ لاین امیدبخش گندم و رقم حساس موروکو به عنوان شاهد کنترل حساس مورد بررسی قرار گرفتند. هر یک از ارقام و لاینها بر روی دو خط یک متری روی یک پشته و فاصله پشته ها ۳۰ سانتی متر از یکدیگر کاشته شدند. رقم حساس موروکو به عنوان گسترش دهنده عامل بیماری (Spreader) در اطرف مواد آزمایشی کشت شدند. با توجه به اینکه هدف از اجرای تحقیق بررسی وضعیت بیماریزایی جمعیت پاتوژن در شرایط طبیعی بوده از هر گونه مایه زنی مصنوعی خودداری شد. پس از کشت ارقام/لاینها ی مورد بررسی در اخر زمستان در طول فصل زراعی مراقبت های لازم از قبیل وجین و آبیاری به عمل آمد. یادداشت برداری برای درصد آلودگی در مرحلهٔ سنبله و گیاه کامل و زمانی که رقم حساس آلودگی ۱۰۰-۶۰٪ را داشت بر اساس مقیاس اصلاحی کوب (The Modified Cobb Scale) (Peterson *et al.* 1948) و همچنین تیپ آلودگی R (مقاوم)، MR (نیمه مقاوم)، M (متوسط)، MS (نیم حساس) و S (حساس) بر اساس روش (Roelfs *et al.*, 1992) انجام گردید.

آزمایش گلخانه ای

ژنتیک بیماریزایی زنگ سیاه گندم در شرایط کنترل شده گلخانه با استفاده از جدایه دشت آزادگان زنگ سیاه با نام عمومی Ug99 و همچنین جدایه کلاردشت (نژاد محلی و غیر بیماریزا برای گیاهان حامل ژن *Sr31*) بر روی ۴۷ لاین افتراقی زنگ سیاه انجام شد (جدول ۱). قسمت دوم آزمایش گلخانه ای شامل ۳۷ رقم تجاری، ۶ لاین امیدبخش به همراه رقم حساس موروکو بود. ارزیابی مواد گندم نسبت به نژاد KRKSC زنگ سیاه جدایه کلاردشت و نژاد KTTSK جدایه دشت آزادگان در شرایط کنترل شده گلخانه انجام شد. جمع آوری نمونه‌های ساقه های آلوده به بیماری زنگ سیاه گندم از دو منطقه مورد هدف، تکثیر و خالص سازی نمونه‌های جمع آوری شده، برای زنده نگه داشتن اسپور در شرایط گلخانه‌ها از رقم حساس موراکو استفاده گردید. که ابتدا از این رقم به اندازه کافی در گلدان هایی به قطر ۱۵ سانتی متر خاک با ماسه و خاک برگ استریل بذر کاشته شده و در مرحله گیاهچه ای بر روی برگ اول با استفاده از اسپور و پودر تالک مایه زنی صورت گرفت بعد از مایه زنی، تمام گلدانها مایه زنی شده ابتدا در شرایط ۲۰-۱۸ درجه سلیسیوس، رطوبت اشباع برای نفوذ پاتوژن از طریق روزنه ها به بافت برگی قرار داده شدند و پس از ۲۴ ساعت به گلخانه های اختصاصی زنگ سیاه با دمای ۲۴-۲۲ درجه سلیسیوس منتقل شدند. گلدانها تا زمان اسپوردهی بصورت جداگانه زیر سرپوش شفاف کریستالی در دمای فوق در شرایط ۱۶ ساعت نور ۱۶۰۰۰ لوکس و ۸ ساعت تاریکی قرار گرفتند. بعد از روز ۱۲ تا ۲۰ روز اسپرگیری انجام شد. اسپر تولیدی برای آزمایش تعیین فاکتورهای بیماریزایی و ارزیابی ارقام و لاینها در شرایط گلخانه با کاشت تعداد ۲۰-۱۵ بذر برای هر رقم و لاین در هر گلدان و هنگامی که بوته ها برگ دوم آنها ظاهر شده بود انجام و سایر مراحل مایه زنی و نگهداری گلدانهای حامل بوته مانند روش تکثیر انجام شد. یادداشت برداری ۱۲ و۱۴ روز بعد از مایه زنی بر اساس روش مکینتاش و همکاران (McIntosh *et al.*, 1995) انجام گردید. تیپ های آلودگی 0-2 غیر بیماریزایی (Avirulent) و 3, 4 بعنوان بیماریزایی (virulence) در نظر گرفته شد. فرمول غیر بیماریزایی و بیماریزایی و تعیین نژاد بر اساس روش جین و همکاران تعیین گردید (Jin *et al.*, 2008). اسپر جمع آوری در مرحله تکثیر گلخانه ای پس از رطوبت گیری با استفاده از ماده جاذب الرطوبه سیلیکاژل در دمای ۸۰- سانتیگراد (Deep freezing) برای نگهداری طولانی مدت و مطالعات بعدی نگهداری شدند.

نتایج و بحث

بر اساس نتایج قسمت اول تحقیق در شرایط مزرعه بیماری زنگ سیاه در سال اول با شدت بالای ۵۰ درصد که رقم حساس موروکو با 60S آلودگی یادداشت برداری گردید و همچنین در سال زراعی دوم (۹۰-۱۳۸۹) با آلودگی بسیار شدید 100S تعیین گردید.

نتایج سال اول تحقیق در شرایط مزرعه و گیاه کامل نشان دهنده بیماریزایی برای گیاهان حامل ژن/های *Sr7A, Sr7B, Sr8A, Sr8B, Sr9B, Sr9D, S9G, Sr11, Sr13, Sr16, Sr17, Sr25, Sr27, Sr34, SrDP2, SrH* برای ۱۶ ژنوتیپ افتراقی بود (جدول ۱). در صورتیکه در سال دوم بیماریزایی برای ۲۷ لاین حامل ژن/های *Sr5, Sr6, Sr7B, Sr8A, Sr8B, Sr9A, Sr9B, Sr9D, Sr9E, S9G, Sr10, Sr11, Sr13, Sr14, Sr15, Sr16, Sr17, Sr21, Sr22, Sr23, Sr25, Sr28, Sr32, Sr34, Sr35, SrDP2*، و *SrTT3+10* در ارقام/لاینهای افتراقی مشاهده گردید. وجود شباهت بیماریزایی برای گیاهان حامل ژن/های مقاومت در طی دو سال مشهود بود بطوری که بیماریزایی برای ژن های *Sr7B, Sr8A, Sr8B, Sr9B, Sr9D, S9G, Sr11, Sr13, Sr16, Sr17, Sr25, Sr34, SrDP2* به تعداد ۱۳ ژنوتیپ بطور مشابه یادداشت برداری شد.

از طرفی میتوان به وجود اختلاف بیماریزایی برای تعداد بیشتری از ژن های مقاومت در سال دوم اشاره کرد که میتواند به دلیل افزایش توان بیماریزایی در سال دوم برای گیاهان حامل ژن/های *Sr5, Sr6, Sr9A, Sr9E, Sr10, Sr11, Sr14, Sr15,Sr21, Sr22, Sr23, Sr28, Sr32, Sr35* و *SrTT3+10* باشد، و از آنجاییکه این تحقیق در یک محیط طبیعی اجرا گردید، بیماریزایی برای ژن های مختلف به عنوان مثال برای ژن های *Sr5, Sr6, Sr9A* و *Sr9E* که در سال اول برای آن غیر بیماریزایی و در سال دوم بیماریزایی مشاهده شد، که این امر احتمالا به تغییر نژاد غالب عامل بیماری در سال دوم مرتبط می باشد (جدول ۱). تغییر بیماریزایی زنگ سیاه گندم در ایستگاه تحقیقات کشاورزی کلاردشت و آلودگی شدید گیاهان زرشک به عنوان میزبان واسط (Roelfs, 1985) و تولید ایسیوسپور در اردیبهشت ماه تا اوایل خرداد و نقش آنها در ایجاد آلودگیهای اواخر بهار تا اوایل تابستان بر روی گندم نیز می تواند در این امر دخیل باشد (Afshari, Unpublished).

نتایج قسمت دوم مربوط به تعیین ژنتیک بیماریزایی دو جدایه کلاردشت و دشت آزادگان در جدول ۱ ارائه شده است. فرمول غیر بیماریزایی/ بیماریزایی جدایه کلاردشت با توان غیر بیماریزایی برای ۱۵ لاین افتراقی به شرح ذیل بود: *Sr5, Sr8A, Sr22, Sr24, Sr26+Sr9G, Sr27, Sr28, Sr29, Sr31, Sr32, Sr33, Sr6, Sr7A, Sr7B, Sr8B, /Sr35, Sr36, SrGT, SrWLD Sr9A, Sr9B, Sr9D, Sr9E, Sr9F, Sr9G, Sr10, Sr11, Sr12, Sr13, Sr14, Sr15, Sr16, Sr17, Sr19, Sr20, Sr21, Sr23, Sr25, Sr30, Sr34, Sr37, SrTT3+Sr10, SrDP2, SrPL, SrH, Sr7B+Sr18+Sr19+Sr20*.

جدایه دشت آزادگان خوزستان صرفا برای ۶ لاین افتراقی بیماریزایی نداشت و دارای قدرت بیماریزایی بسیار بالاتری نسبت به جدایه قبلی بود. در جدایه دشت آزادگان با توجه به بیماریزایی برای گیاهان حامل ژن *Sr31* به عنوان واریانتی از نژاد Ug99 مورد تایید قرار گرفت و فرمول غیر ییماریزایی/بیماریزایی به شرح ذیل بود. *Sr6, /Sr5, Sr22, Sr24, Sr26+Sr9G, Sr27, SrGT Sr7A, Sr7B, Sr8A, Sr8B, Sr9A, Sr9B, Sr9D, Sr9E, Sr9F, Sr9G, Sr10, Sr11, Sr12, Sr13, Sr14, Sr15, Sr16, Sr17, Sr19, Sr20, Sr21, Sr23, Sr25, Sr28, Sr29, Sr30, Sr31, Sr32, Sr33, Sr34, Sr35, Sr36, Sr37, SrTT3+Sr10, SrDP2, SrPL , SrH, SrWLD, Sr7B+Sr18+Sr19+Sr20*. نظری و همکاران نیز وجود واریانتی از نژاد Ug99 را در سال ۱۳۸۶ با بیماریزایی برای گیاهان حامل ژن *Sr31* در منطقه بروجرد و همدان ایران گزارش نمودند (Nazari *et al*., 2009). جین و همکاران (Jin *et al*., 2008) با استفاده از نشانگرSSR دو نژاد جدید را که از نژاد TTKSK مشتق شده بودند، را معرفی کردند؛ نژاد TTKST در سال ۲۰۰۶ با بیماریزایی برای ژن *Sr24* و TTTSK با بیماریزایی برای ژن *Sr36* در سال ۲۰۰۷ گزارش گردید. در صورتیکه نژاد Ug99 در ایران برای ژن *Sr24* بیماریزایی نداشته بلکه برای گیاهان حامل ژن *Sr36* بیماریزایی داشت، ولی به هر حال هر دو واریانت Ug99 برای گیاهان حامل ژن *Sr31* بیماریزایی داشتند.

ارزیابی ارقام تجاری و لاینهای امیدبخش گندم در شرایط گیاه کامل در طی دو سال این تحقیق تایید کننده مقاومت ۳۱ لاین/رقم بود که این نتایج برای ارقام جدیدی مانند مروارید، سیوند و پارسی با واکنش مقاومت (5R-50M) قابل توجه میباشد. ارقام قدیمی مثل زرین، مرودشت، توس و شهریار با واکنش حساس (80S-100S) بطور خاص در سال دوم مشهود بود (جدول ۲). در میان ارقام/لاینهای مورد مطالعه رقم پارسی (Dove"s"/Buc"s"//2*Darab) روی ساقه و سنبله علائم نشانگر مرفولوژیکی پوشینه سیاه کاذب (Pseudo-Black Chaff = PBC) لینک با ژن مقاومت

Sr2 زنگ سیاه گندم را داشت، این ژن مقاومت به بیماری زنگ سیاه که پس از حتی ظهور نژاد Ug99 موثر بود، ژن غیر اختصاصی به نژاد - (non race specific) میباشد که باعث مقاومت تدریجی (slow rusting) در مرحله گیاه کامل (Adult-plant) می گردد. منابع ذخیره *Sr2* در بیشتر گندم های پیشرفته مناطقی که زنگ ساقه یک مشکل اساسی است، موجود است، این ارقام دراسترالیا، هندوستان، کنیا، کانادا، ایالت متحده آمریکا و مکزیک ایجاد شدند (McIntosh *et al.* 1995; Roelfs, 1992).

بقیه ژن‌های مقاومت حالت ویژگی نژادی (race specific) داشته و در هر دو مرحله گیاهچه ای و گیاه کامل بروز می کنند. این ژن به همراه تعدادی دیگر از ژن‌های ناشناخته کوچک اثر که تحت نام *Sr2*- Complex معروف هستند در ایجاد مقاومت نقش دارد (McIntosh *et al*. 1995).

بر اساس نتایج تحقیقی با استفاده از نشانگر ملکولی SSR برای تایید وجود ژن های مقاومت و بطور خاص ژن مقاومت *Sr2* ، نشان دهنده حضور ژن فوق در رقم مروارید بود (Patpour *et al*., 2011). با توجه به واکنش مقاومت (10MR) و واکنش مورد انتظار برای لاین های حامل ژن *Sr2* که معمولا نیمه مقاوم تا نیمه حساس (40M) میباشد و واکنش نسبتا پایین آن حداقل به حضور ژن/های مقاومت دیگری را می توان نسبت داد (Afshari, Unpublished) .

در آزمایش مرحله گیاهچه ای ارقام/لاینها با نژاد KRKSC جدایه کلاردشت و نژاد KTTSK دشت آزادگان (Ug99) با توان بیماریزایی روی گیاهان حامل ژن *Sr31* ، از ۴۳ لاین/رقم نسبت به نژاد Ug99 تعداد ۹ ژنوتیپ شامل رقم های مروارید، آریا، یاواروس، کرخه، و لاینهای D-79-15 ,WS-86-14 ,M-85-16 و C-84D5517 دارای مقاومت گیاهچه ای بودند. مقاومت گیاهچه ای مقاومتی است که از مرحله گیاهچه ای شروع و تا مرحله گیاه کامل نسبت به آن نژاد انتظار حفظ مقاومت در آن لاین/رقم می رود (McIntosh *et al*., 1995).

رقم مروارید از رقم های جدید معرفی شده اقلیم گرم و مرطوب شمال است که مقاومت خوبی نسبت به بیماری زنگ زرد، فوزاریوم سنبله و زنگ سیاه در کنیا از خود نشان داد (جدول ۲). از آنجاییکه این رقم در واکنش گیاهچه ای مقاوم (2;) بود، می توان چنین استنباط کرد که مقاومت آن حداقل به یک ژن گیاهچه ای بر میگردد و بر اساس نژاد استفاده شده احتمال حضور ژن/های مقاومت *Sr5, Sr22, Sr24, Sr26+Sr9g* و *Sr27* دور از انتظار نمی باشد.

از طرفی این رقم در کنیا نسبت به نژاد TTKST دارای واکنش مقاومت بود (Afshari, Unpublished) و بدلیل اینکه نژاد فوق برای گیاهان حامل ژن های *Sr36* و *SrTMP* بیماریزایی نداشته و احتمال حضور ژن های فوق نیز در این رقم می رود. از میان ژن های موثر در مقابل نژاد Ug99 در کشور کنیا که اکثر ژرم پلاسم بین المللی از جمله ایران در آن ارزیابی می شود وجود موثر بودن ژن/های *Sr33, Sr2, Sr13, Sr14, Sr22, Sr32, Sr35,* و *Sr37* را به عنوان ژن های مقاومت به نژاد Ug99 نام برده می شود که میتواند به عنوان منابع مقاومت در برنامه ی اصلاحی از آنها استفاده شود (Singh *et al*., 2011).

در ارزیابی ۷۰۰ ژنوتیپ گندم کشور چین در کنیا نسبت به بیماری زنگ سیاه گندم، عمده ژنوتیپ ها حساس بودند و فقط ۴ ژنوتیپ در برابر نژاد Ug99 مقاوم و۱۰ ژنوتیپ نیمه مقاوم و مابقی نیمه حساس تا حساس گزارش شدند که نشان دهنده قدرت بیماریزایی بالای این نژاد در دنیا میباشد (He *et al*., 2008).

واکنش گروه ارقام/لاینها در مرحله گیاهچه ای به جدایه کلاردشت به عنوان نژاد غیر Ug99 نشان دهنده مقاومت گیاهچه ای ۲۸ لاین/رقم میباشد که تعداد ۲۴ ژنوتیپ هم در مرحله گیاهچه ای و هم گیاه کامل در سال دوم با وجود شدت بیشتر بیماری مانند ارقام هامون، بهار، مغان ۳، آرتا، گاسکوژن، شیرودی، چمران، پیشگام و افلاک، و از میان لاین ها D-79-15 -M-85 16, WS-86-14, و C-84D5517 نیز مقاوم بودند (جدول ۲) که نقش ژن های گیاهچه ای را در این مورد می توان دخیل دانست. استفاده از این منابع تایید شده مقاومت در برنامه اصلاحی گندم کشور می تواند نقش مهمی را در کنترل هر چه بهتر ژنتیکی این بیماری قبل از شیوع آن ایفا بنمایند.

جدول ۱- ژنتیک بیماریزایی عامل بیماری زنگ سیاه در شرایط مزرعه، و گلخانه با نژاد KTTSK دشت آزادگان (Ug99) و نژاد KRKSC جدایه کلاردشت با استفاده از لاین های افتراقی

No.	Name/Pedigree	*Sr gene/s*	Kelardasht 88-89	Kelardasht 89-90	Dasht Azadegan (UG99)	Kelardasht Local Race
1	ISR5RA	*Sr5*	0	60S	;2	;1
2	W2691SR6	*Sr6*	10MS	70S	33+	3+
3	LINE G	*Sr7A*	40S	20MR	3+	3+
4	ISR7BRA	*Sr7B*	40S	70S	3+	3+
5	ISR8ARA	*Sr8A*	50S	90S	3+	;1
6	BARLETA BENVENUTO	*Sr8B*	40S	90S	3+	3+
7	ISR9ARA	*Sr9A*	20MR	90S	3+	3+
8	W2691SR9B	*Sr9B*	40S	90S	3+	3+
9	ISR9DRA	*Sr9D*	50S	80S	3+	3+
10	VERNSTEIN	*Sr9E*	5MR	100S	3+	3+
11	ISR5SB	*Sr9F*	20MR	20MR	3+	3+
12	CNS(TC2B)/LINE E	*Sr9G*	60S	60S	3+	3+
13	W2691SR10	*Sr10*	0	70S	3+	3+
14	ISR11RA	*Sr11*	50S	90S	3+	3+
15	CH.SP.(TC3B)	*Sr12*	5R	20MR	3+	3+
16	W2691SR13	*Sr13*	40S	90S	3+	3+
17	LINE A SELN.	*Sr14*	5R	70S	3+	3
18	W2691SR15NK	*Sr15*	20MR	90S	3+	3+
19	ISR16RA	*Sr16*	50S	100S	3+	3+
20	LC/KENYA HUNTER	*Sr17*	70S	100S	3+	3+
21	LCSR19MG	*Sr19*	5R	20R	3	3
22	LCSR20MG	*Sr20*	0	20MR	3+	3+
23	T.MONOCOCCUM DERIV	*Sr21*	10MR	70S	3+	3+
24	SWSR22T.B.	*Sr22*	20MS	70S	;2	;
25	EXCHANGE	*Sr23*	20MS-S	90S	3+	3+
26	BT SR24 A9	*Sr24*	0	5R	;1-	0;
27	LC SR25 ARS	*Sr25*	80S	90S	3+	3+
28	EAGLE	*Sr26+Sr9G*	20MR	20MR	;2	;
29	COORONG TRITICALE	*Sr27*	60S	20MR	;2	0;
30	W2691SR28KT	*Sr28*	40MS	90S	3+	0;
31	PUSA/EDCH	*Sr29*	40M	10MR	3+	2+
32	BTSR30WST	*Sr30*	40MS	10MR	4	3+
33	LINE E/KVZ	*Sr31*	0	10R	4	0;1
34	C77.19	*Sr32*	20MR	70S	4	0;1
35	TETRA CANTHATCH/AG.SQUARROSA(RL5045)	*Sr33*	20MR	20MR	3+	0;1
36	COMPARE	*Sr34*	70S	90S	3+	3+
37	W3763	*Sr35*	5MR	90S	3+	0
38	W2691 SRTT1	*Sr36*	0	10R	3+	;1
39	W2691 SRTT2	*Sr37*	50MS-S	0	3+	3+
40	FED.*2/SRTT3	*SrTT3+Sr10*	60MS-S	90S	3+	3+
41	MEDEA AP9D	*SrDP2*	40S	90S	3+	3
42	BTSRGAMUT	*SrGT*	0	40M	2+	;2
43	PELISS	*SrPL*	60MS-S	0	3+	3+
44	BT/WLD	*SrWLD*	30MS	5R	3+	2+
45	H44 DERIV	*SrH*	70S	20MR	3+	3+
46	ENTRELARGO DE MONTIJO(W3560)		20M	90S	3+	3+
47	MARQUIS(W2)	*Sr7B,Sr18,Sr19,Sr20*	0	0	3+	3+
48	LOCAL RED (Suceptible Check)		70S	100S	4	3+
49	Morocco (Susceptible Check)		60S	100S	4	3+

جدول۲: واکنش ارقام تجاری مهم و تعدادی از لاین های امید بخش گندم نسبت به بیماری زنگ سیاه در شرایط مزرعه، و گلخانه با نژاد KTTSK دشت آزادگان (Ug99) و نژاد KRKSC جدایه کلاردشت

No.	Name	Kenya (UG99)	Kelardasht 88-89	Kelardasht 89-90	Dasht Azadegan (UG99)	Kelardasht Local Race
1	Hamon		20MR	20MR	3	;2
2	Morvarid	10MR	10R	10R	;2	;2
3	GASPARD		0	0	3+	3+
4	MV17		0	20MR	3+	0;
5	BAM		40M	70MS	3	3+
6	ALVAND		10MR	0	3+	3+
7	DARYA		5MR	70MS	3+	;2
8	BAHAR	70S	20MR	20M	3+	;
9	AKBARI		60S	90S	3+	3+
10	MOGHAN 3		0	0	3+	0
11	ARTA		0	0	3+	0;
12	GASCOGEN		5R	0	3+	X
13	SHIRODI		10MR	10MR	3+	0;
14	CHAMRAN		10MR	0	3+	;1+
15	SISTAN		80S	100S	4	3+
16	TAJAN		0	10R	3+	;1
17	NICKNEJAD		20MR	0	3+	0;
18	SHIRAZ	100S	50MS	40M	3+	3+
19	MAHDAVI		20MR	40M	3+	3+
20	DARAB 2		0	0	3	0;
21	ZARIN		40M	90S	3+	0
22	MARVDASHT	60MS	90S	80S	3+	3+
23	KAVIR		40MS	0	3+	33+
24	TOOS		50S	90S	3+	X+
25	ARYA (Durum)		20MR	30MR	2+C	X
26	PARSI	5MR	10MR	5R	3+	3+
27	SIVAND	50M	10MR	5R	3+	3+
28	PISHGHAM		40S	0	3+	0
29	PISHTAZ	60MS	30M	60MS	3+	;
30	YAVAROUS (Durum)		0	0	;1+	X
31	DENA (Durum)		10MR	0	0	X+
32	STAR		20MR	20MR	3+	;
33	KARKHAH (Durum)		0	0	X+	33+
34	SISON		0	0	3+	3
35	SEPAHAN		0	5R	3+	0;
36	SHAHRIAR		40M	100S	3+	3+
37	Aflak		20MR	20MR	3+	0;1
38	D-79-15 (Durum)		50M	40M	;1	X+
39	S-87-11		20M	40M	3	2+
40	WS-82-9		70S	80S	3+	3+
41	M-85-16		20MR	30MR	;2	;
42	WS-86-14		20MR	0	X+	;
43	C-84D-5517		0	0	;1	;1
44	Morocco (Susceptible Check)	100S	70S	100S	3+	3+

- نتایج کنیا فقط برای تعداد محدودی از ژنوتیپ های مورد مطالعه فراهم بود که به آن اشاره شده است(Afshari, Unpublished data)

نتیجه گیری کلی

استفاده از ژن های مقاومت موثر به زنگ سیاه و انجام ارزیابی های مزرعه ای در کنیا و از طرفی زیر نظر داشتن تغییرات نژادی عامل بیماری در شرایط مزارع گندم کشور و مطالعه ژنتیک بیماریزایی پاتوژن در شرایط کنترل شده گلخانه ای میبایست مد نظر قرار گیرد و می تواند راهکار کنترل موثر این بیماری و تولید ارقام مقاوم گندم را سبب شود. همچنین استفاده از مارکرهای ملکولی گزارش شده برای ژن های مقاومت در میان ارقام و لاین های پیشرفته گندم، میتواند در آینده اطلاعات تکمیلی بیشتری در کنار ژنتیک بیماریزایی نژادهای عامل بیماری برای برنامه اصلاحی گندم را در کشور فراهم بنماید.

سپاسگزاری

از همکاران واحد بیمارهای غلات و موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر که شرایط این تحقیق را فراهم نمودند کمال تشکر و قدردانی را می نمایم.

REFERENCES

1. Afshari, F. (2000). *Studies on rust resistance in wheat with particular emphasis on stripe rust.* Ph. D. dissertation. University of Sydney, Australia, 252 pp.

2. Bamdadyan, A. & Torabi, M. (1999). Study on epidemic of wheat stem rust in the south parts of Iran in 1977. *Entomology and Phytopathology Journal*, 14, 19-24. (In Farsi)
3. Cummins,G. B. (1971). *The rust fungi of cereals, grasses and bamboos*. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York: 570 pp.
4. Ershad, J. (1995). *Fungi of Iran*. AREEO Published, No. 10, 874 pp. (In Farsi)
5. El Khoury, W. (2009). The UN FAO wheat rust disease global program. In: 2009 Technical Workshop-BGRI. Cd. Obregon, Sonora, Mexico, March 17-20, 2009. p. 90.
6. Esfandiari, E. (1947). Cereal Rusts in Iran. *Entomology and Phytopathology Journal*, 4, 67-76 (In Farsi).
7. He, Z. H., Xian, X. C. & Chen, W. Q. (2008). Breeding for resistance to new race Ug99 of stem rust pathogen. *Triticeae Crops*, 28, 170-173
8. Jin, Y. & Singh, R. P. (2006). Resistance in US wheat to recent Eastern Africa Isolates of *Puccinia graminis* f.sp. *tritici* with virulence to resistance gene *Sr31*. *Plant Disease*, 90, 476-480
9. Jin, Y., Singh, R. P., Ward, R.W., Wanyera, R., Kinyua, M., Njau, P., Fetch, T., Pretorius, Z. A. & Yahyaoui, A. (2007). Characterization of seedling infection types and adult plant infection responses of monogenic *Sr* gene lines to race TTKS of *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*. *Plant Disease*, 91,1096-1099.
10. Jin, Y., Szabo, U., Pretorius, Z. A., Singh, R. P., Ward, R., & Fetch, T. (2008). Detection of virulence to resistance gene *Sr24* within race TTKS of *Puceinia graminis* f. sp. *tritici*. *Plant Disease*, 92, 923-926
11. Knott, D.R. (1989). *The wheat rusts. breeding for resistance*. Monograph on theoretical and applied genetics. 12. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, 201 pp.
12. Luig, N.H. (1985). Epidemiology in Australia and New Zealand. pp. 301-328. In A.P. Roelfs and W.R. Bushnell, eds. Cereal Rusts Vol. II. Diseases, Distribution, Epidemiology, and Control. Academic Press Orlando.
13. McIntosh, R.A., G. E. Hart, K. M. Devos, M. D. Gale & Rogers, W. L. (1998). Catalogue of Gene Symbols for Wheat. In: *Proceedings of the 9th International Wheat Genetics Symposium*. University of Saskatchewan, Saskatoon, Canada, Vol 5, 235 pp.
14. McIntosh, R.A., Wellings, C.R., and Park, R.F. 1995. Wheat Rusts: An Atlas of Resistance Genes. CSIRO, Australia, pp. 200.
15. Nazari, k., Mafi, M., Nasrollahi, M., Chaichi, M., Afshari, F. & Hasan Bayat, Z. (2008). Detection of isolates of *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* virulent to *Sr31* resistance gene in Western provinces of Iran. *Seed and Plant Journal of Agricultural Research*. 24, 207-214 (In Farsi)
16. Nazari, k., Mafi, M., Yahyaoui, A., Singh, R. P. & Park, R. F. (2009). Detection of wheat stem rust (*Puccinia graminis* f. sp. *tritici*) race TTKSK (Ug99) in Iran. Published by The American Phytopathological Society, http://dx.doi.org/10.1094/PDIS-93-3-0317B. 93, 317
17. Patpour M., Nazari, K., Ogbonnaya, F. C., Al. Ahmad, A., Yahyaoui, A., Afshari, F. & Naimi. M. (2011). Characterization of resistance to wheat rusts in Iranian wheat cultivars and advanced lines. International Wheat Stripe Rust Symposium, 18-20 April 2011, ICARDA, Aleppo, Syria. P.1
18. Peterson, R. F., Campbell. A. B., & Hannah, A. E. (1948). A diagrammatic scale for estimating rust intensity of leaves and stem of cereals. *Canadian Journal Research*, 26, 496-500.
19. Roelfs, A. P. (1985). Monitoring stem rust epidemics in the Great Plains. Pp. 527-532 in D.R. Mackenzie, C. S. Barfield, G. G. Kennedy, and R. D. Berger with D. J. Taranto, eds. *The movement and dispersal of agriculturally important biotic agents*. Claitors Publ. Div. Baton Rogue.
20. Roelfs, A. P., Singh, R. P., & Saari, E. E. (1992). *Rust disease of wheat: concepts and method of management*. CIMMYT, Mexico, D.F. 81 pp.
21. Sharif, Gh., Bamdadian, A. & Daneshpajoh, B. (1970). Physiological races of wheat stem rust in Iran (1965-1970). *Plant Pest and Disease*, 6, 73-100. (In Farsi)
22. Singh, R. P.., Hodson, D. P., Jin Y. & Huerta-Espino, J. (2006). Current status, likely migration and strategies to mitigate the threat to wheat production from race UG99 (TTKS) of stem rust pathogen. CAP review: Perspective in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources. 1, 1-13
23. Singh R. P., Hodson, D., Huerta-Espino, J., Jin, Y., Bhavani, S., Njau, P., Herrera-Foessel, S., Singh, K., Singh, S. & Govindan. V. (2011). The emergence of Ug99 races of the stem rust fungus is a threat to world wheat production. *Ann. Review of Phytopathology*, 49, 465-481
24. Wanyera, R., Kinyua, M. G., Jin, Y. & Singh, R. P. (2006). The spread of stem rust caused by *Puccinia graminis* f.sp. *tritici*, with virulence on *Sr31* in wheat in Eastern Africa. *Plant Diseases*, 90, 113.