

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 ۸۸-۸۹ و ۸۹-۹۰ با استفاده از تعداد ۴۷ 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 واریانتهی 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، واریانته، مقاومت، ژن، لاین های استاندارد

مقدمه

گزارش زنگ سیاه در ایران در سال ۱۳۲۶ توسط اسفندیاری ارائه شد (اسفندیاری، ۱۳۲۶). این گونه بعداً 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 بیشتر خواهد 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،

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 (Macrocytic) 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

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 شبم گزارش گردیده است. زنگ سیاه به تمام اندام های هوایی گیاه حمله می کند ولی عمده خسارت آن در اثر آلودگی ساقه گندم و قبل از پرشدن کامل دانه ظاهری می 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 در مناطق 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 و سالانه مسافت طولانی (حدود ۸۰۰ کیلومتر) میان دشت های بزرگ آمریکای شمالی، فاصله ی ۲۰۰۰ کیلومتر استرالیا تا نیوزیلند و حداقل در ۷۵ 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 در کمتر از یک ماه به طور کامل 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 در مناطق مختلف جهان وجود دارد (McIntosh et al., 1995). در سال 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 در سال ۱۹۶۰ در پرتغال و دیگری در سال ۱۹۶۲ در چک اسلواکی گزارش شده است

(Roelfs, 1985). این بیماری در ایران نیز طی سالهای ۴۵ - ۱۳۴۳ در مناطق شمالی و شمال غرب شدت یافت به گونه ای که در منطقه مازندران و گرگان شدت آن از زنگ زرد بیشتر بود (شریف و همکاران ۱۳۴۹). همچنین به علت مساعد بودن شرایط محیطی در سال ۱۳۵۵ در نقاط 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 شیمیایی 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 فاکتورهای که احتمالاً از خارج از یک منطقه و یا کشور وارد می شوند در درجه اول اهمیت می باشد. در کشور 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 در کشور داشته است. اگر چه بیش از ۵۰ ژن مقاومت مختلف در مقابل زنگ سیاه گندم گزارش شده است که اکثراً آنها هم ژن های مقاومت گیاهی 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

نشندند. مقاومت در رقم Ivan بواسطه ژن *Sr24* گزارش گردید و مقاومت درگندم زمستانه قرمز دانه سخت بواسطه ژن *Sr24* و مقاومت 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، احتمالاً تولید نژاد های جدید بیشتر نموده و شانس ایجاد نژادهای برتر (super-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، در حدود یک میلیون هکتار از اراضی کشت گندم در کشور 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 بیماریزایی 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 تعداد ۴۷ لاین گندم افتراقی (تقریباً آیزوژنیک زنگ سیاه (Near Isogenic) که هر لاین دارای ژن های مقاومت مشخصی (*Sr-Gene*) به زنگ

ژن های مقاومت موثر در مناطق عمده تولید گندم، تولید جهانی محصول گندم را برای بیش از ۴۰ سال (تا سال ۱۹۹۹) که تغییرات نژادی در جمعیت 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 در سال ۹۹-۱۹۹۸ در کشور 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 پلاسما 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

جمع آوری شده، برای زنده نگه داشتن اسپور در شرایط گلخانه‌ها از رقم حساس موراگو 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 ۱۸-۲۰ درجه سلیسیوس، رطوبت اشباع برای نفوذ پاتوژن از طریق روزنه ها به بافت برگي قرار داده شدند و پس از ۲۴ ساعت به گلخانه های اختصاصی زنگ سیاه با دمای ۲۲-۲۴ 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 و ۱۴ 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 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.

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 اطراف 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 مرحله 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

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 صرفاً 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 بیماریزایی/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 نشانگر SSR 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 TTKSK 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

نتایج سال اول تحقیق در شرایط مزرعه و گیاه کامل نشان دهنده بیماریزایی برای گیاهان حامل ژنهای *Sr7A, Sr7B, Sr8A, Sr8B, Sr9B, Sr9D, Sr9G, 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 ژنهای *Sr5, Sr6, Sr7B, Sr8A, Sr8B, Sr9A, Sr9B, Sr9D, Sr9E, Sr9G, 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 ژنهای مقاومت در طی دو سال مشهود بود بطوری که بیماریزایی برای ژنهای *Sr7B, Sr8A, Sr8B, Sr9B, Sr9D, Sr9G, 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 ژنهای مقاومت در سال دوم اشاره کرد که میتواند به دلیل افزایش توان بیماریزایی در سال دوم برای گیاهان حامل ژنهای *Sr5, Sr6, Sr9A, Sr9E, Sr10, Sr11, Sr14, Sr15, Sr21, Sr22, Sr23, Sr28, Sr32, Sr35* و از آنجاییکه این تحقیق در یک محیط طبیعی اجرا گردید، بیماریزایی برای ژنهای مختلف به عنوان مثال برای ژنهای *Sr5, Sr6, Sr9A* و *Sr9E* که در سال اول برای آن غیر بیماریزایی و در سال دوم بیماریزایی مشاهده شد، که این امر احتمالاً 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,*

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 (۲); 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 پلاسما بین المللی از جمله ایران در آن ارزیابی می شود وجود موثر بودن ژن/های *Sr32*, *Sr22*, *Sr14*, *Sr13*, *Sr2*, *Sr33*, *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 و ۱۰ 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 M-85- D-79-15، 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.

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 ژن های 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 ژن های 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 KKRKSC 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 WS-86-14 D-79-15، 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

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	Kelardasht	Dasht Azadegan	Kelardasht
			88-89	89-90	(UG99)	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 (Susceptible Check)		70S	100S	4	3+
49	Morocco (Susceptible Check)		60S	100S	4	3+

جدول ۲: واکنش ارقام تجاری مهم و تعدادی از لاین‌های امید بخش گندم نسبت به بیماری زنگ سیاه در شرایط مزرعه، و گلخانه با نژاد KTTSC دشت آزادگان (UG99) و نژاد KRKSC جدایه کلاردشت

No.	Name	Kenya	Kelardasht	Kelardasht	Dasht Azadegan	Kelardasht
		(UG99)	88-89	89-90	(UG99)	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 ژنوتیپ‌های مورد مطالعه فراهم بود که به آن اشاره شده است (Afshari, Unpublished data)

نتیجه‌گیری کلی

میان ارقام و لاین‌های 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 می‌نمایم.

استفاده از ژن‌های مقاومت موثر به زنگ سیاه و انجام ارزیابی‌های مزرعه‌ای 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 گلخانه‌ای می‌بایست مد نظر قرار گیرد و می‌تواند راهکار کنترل موثر این بیماری و تولید ارقام مقاوم گندم را سبب شود. همچنین استفاده از مارکرهای ملکولی گزارش شده برای ژن‌های مقاومت در

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 Rouge.
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.