مجله به‌نژادی نهال و بذر
جلد ۱-۲۷ ، شماره ۲، سال ۱۳۹۰

فاکتورهای بیماریزایی *Puccinia triticina* عامل بیماری زنگ قهوه‌ای گندم در مناطق مختلف ایران

Virulence Factors of *Puccinia triticina* the Causal Agent of Wheat Leaf Rust in Different Parts of Iran

فاطمه زرندی[۱]، فرزاد افشاری[۲] و سعید رضایی[۳]

۱ – دانشجوی سابق کارشناسی ارشد بیماری‌شناسی گیاهی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران
۲- دانشیار، موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج
۳- استادیار، گروه بیماری‌شناسی گیاهی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی ایران، تهران

تاریخ دریافت: ۱۳۸۹/۵/۱ **تاریخ پذیرش: ۱۳۸۹/۱۱/۲۸**

چکیده

زرندی، ف.، افشاری، ف.، و رضائی، س. ۱۳۹۰ فاکتورهای بیماریزایی *Puccinia triticina* عامل بیماری زنگ قهوه‌ای گندم در مناطق مختلف ایران. **مجله به‌نژادی نهال و بذر ۱-۲۷:** ۲۳۱ - ۲۱۹.

این تحقیق جهت تعیین فاکتورهای بیماریزایی *Puccinia triticina* ، در سال ۱۳۸۶ و با استفاده از ۳۰ جدایه زنگ قهوه‌ای جمع‌آوری شده از ۱۳ منطقه ایران در گلخانه زنگ‌های غلات موسسه تحقیقات اصلاح وتهیه نهال و بذر (کرج)، با استفاده از ۴۰ لاین تقریباً ایزوژنیک گندم و بر اساس فرمول بیماریزایی/ غیر بیماریزایی انجام شد. خا لص‌سازی نمونه‌ها و تکثیر اسپور آن‌ها روی رقم حساس (بولانی) انجام شد. اسپورهای خالص شده به طور جداگانه روی ارقام ایزوژنیک مایه‌زنی و در مکان تاریک با دمای ۲۰-۱۸ درجه سانتی‌گراد و رطوبت اشباع به مدت ۲۴ ساعت نگهداری و سپس به گلخانه با دمای ۲۴-۲۲ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. وجود یا عدم وجود بیماریزائی برای ژن‌های مختلف مقاومت در لاین‌های ایزوژنیک بر اساس واکنش لاین‌ها به جدایه‌های مختلف و با یادداشت‌برداری از تیپ آلودگی تعیین شد. بر اساس نتایج حاصل، تمام جدایه‌ها روی لاین‌های حامل ژن‌های *Lr*3، *Lr*3bg، *Lr*14b، *Lr*20، *Lr*b، *Lr*22b، *Lr*35، *Lr*22a ، و *Lr*37 بیماریزا بودند ولی هیچ‌یک از جدایه‌ها روی لاین‌های حامل ژن‌های *Lr*9 ، *Lr*10+، *Lr*19، *Lr*25، *Lr*28 و بیماریزائی نداشتند. ژن *Lr*23t با ۱۶/۶٪ و ژن *Lr*2a با ۲۰٪ ، فراوانی بیماریزائی کمتری نسبت به جدایه‌های دیگر داشتند.

واژه‌های کلیدی: گندم، زنگ قهوه‌ای، ژن‌های مقاومت، فاکتورهای بیماریزایی.

نویسنده مسئول: zarandi_f@yahoo.com تلفن: ۰۹۱۲۶۶۲۶۵۷۷

مقدمه

زنگ‌های گندم از جمله مهم‌ترین بیماری‌هایی هستند که در جهان خسارت می‌زنند (Elahinia ,1993). بیماری زنگ قهوه‌ای از بیماری‌هایی است که انتشار جهانی داشته و سالانه سبب بروز خسارت‌های فراوانی به گندم می‌شود(Anikster *et al.*, 1997). این بیماری با عامل *Puccinia triticina* که به زنگ برگی نیز معروف است یکی از مخرب‌ترین بیماری‌های گندم در برخی نقاط دنیا است (McIntosh *et al.*, 1995؛ Roelfs *et al.*, 1992). خسارت این بیماری بسته به رشد گیاه در زمان اپیدمی شدن بیماری و میزان مقاومت ارقام گندم ۵ تا ۲۵٪ برآورد شده است (Kolmer and Liu, 2001). زنگ قهوه‌ای گندم مهم‌ترین بیماری در کشور مکزیک است و همه‌گیری‌های شدید آن در سال‌های ۷۷-۱۹۷۶ باعث کاهش بیش از ۴۰٪ محصول شد (Dubin and Torres, 1981). این بیماری در اروپای شرقی باعث کاهش ۵-۳ درصد محصول می‌شود (Dwarzana *et al.*, 1980). میزان کاهش محصول در اثر این بیماری در مصر تا ۵۰٪ تخمین زده شده است (Abdel Hak *et al.*, 1980). بهترین روش کنترل این بیماری استفاده از ارقام مقاوم است (Roelfs, 1988). برای تهیه ارقام مقاوم شناسایی فاکتورهای بیماریزایی عامل بیماری در یک منطقه ضروری است. بررسی فاکتورهای بیماریزایی در عوامل بیماریزا چندین مزیت دارد که مهم ترین آن آگاهی به موقع از بروز نژادهای جدید بیماریزا در یک کشور یا منطقه است. این امر به محققین در برنامه‌ریزی‌های به‌نژادی برای کنترل بیماری کمک می‌کند. استمرار در تعیین طیف بیماریزایی عامل بیماری موجب به کارگیری ترکیب موثری از ژن‌های مقاومت و جلوگیری از بروز نابهنگام بیماریزایی در عامل بیماری خواهد شد.

وجود نژادهای فیزیولوژیک زنگ قهوه‌ای اولین بار توسط ماینز و جکسون (Mains and Jackson, 1923) و بر اساس آلوده‌سازی دو رقم Kanrad و Malakof اعلام شد. این محققین با استفاده از ۱۱ رقم افتراقی تعداد ۱۲ نژاد فیزیولوژیک را برای قارچ عامل بیماری گزارش کردند. بررسی‌های ژنتیکی بر روی زنگ قهوه‌ای منجر به شناسایی ژن‌های مقاومت به زنگ قهوه‌ای شد. این ژن‌ها به صورت شماره‌دهی اولین‌بار توسط آسموس و همکاران (Ausemus *et al.*, 1946) گزارش شد. سپس برودر (Browder, 1980) این ژن‌ها را تا شماره ۲۹ مشخص و گزارش کرد . هم اکنون تعداد ژن‌های شناخته شده زنگ قهوه‌ای که به طور رسمی معرفی شده‌اند ۴۶ ژن هستند که به صورت *Lr*1 تا *Lr*46 مشخص شده‌اند (McIntosh *et al.*, 1995). تعدادی از ژن های شناخته شده در مرحله گیاهچه‌ای موثر هستند که به نام ژن‌های مقاومت گیاهچه‌ای (Seedling resistance genes) از آن‌ها نام

برده می‌شود و بر عکس تعدادی از ژن‌های شناخته شده در مرحله گیاهچه حساس ولی در مرحله گیاه کامل مقاوم هستند که به این گروه ژن‌های مقاومت گیاه کامل (Adult –plant resistance genes) گفته می‌شود. فلور (Flor, 1971) اولین شخصی بود که نحوه توارث بیماریزایی در بیمارگرها و همچنین نحوه توارث عکس‌العمل میزبان را مورد مطالعه قرار داد. بر این اساس لاین‌های Near Isogenic توسط جانسون و هین (Johnson and Heyne ,1964) برای زنگ قهوه‌ای تهیه و معرفی شدند.

مطالعات انجام شده در مورد ژن‌های مقاومت در هشت رقم استاندارد، وجود این ژن‌ها را به اثبات رساند و فرضیه ژن برای ژن را ثابت کرد. نهایتاً در سال ۱۹۶۸ کمیته زنگ قهوه‌ای آمریکای شمالی، استفاده از ارقام مونوژنیک با ژن‌های *Lr*1، *Lr*2a، *Lr*2c، *Lr*3، *Lr*3ka، *Lr*9، *Lr*11، *Lr*16، *Lr*17، *Lr*24، *Lr*26 و *Lr*30 را در تعیین نژاد و فاکتورهای بیماریزایی زنگ قهوه‌ای پیشنهاد کرد و تعیین نژادهای فیزیولوژیک زنگ قهوه‌ای در یک سیستم اصلاح شده نامگذاری یکسان (Unified Numenclature) بر اساس فرمول بیماریزایی/ غیر بیماریزایی (Avirulence/Virulence) تصویب شد (Long and Kolmer, 1989).

در زمنیه تعیین نژاد و فاکتورهای بیماریزائی زنگ قهوه‌ای در مناطق مختلف دنیا تحقیقات وسیعی انجام شده است: کازولی (Casulli, 1985) گزارش کرد که زنگ قهوه‌ای مهم‌ترین بیمارگر گندم در کلیه نواحی کشت گندم ایتالیا است و ژن‌های مقاومت *Lr*9، *Lr*19، *Lr*24 و *Lr*29 در بیشتر مناطق آن کشور موثر و ژن‌های *Lr*2c، *Lr*10، *Lr*16، *Lr*23 و *Lr*30 غیرموثر هستند. چن و همکاران (Chen *et al*., 1993) در چین وجود بیماریزایی را برای ژن‌های *Lr*22a، *Lr*14b، *Lr*14a و *Lr*22b گزارش کردند. پارک و فلزنستین (Park and Felesnestin, 1985) وضعیت بیماری زنگ قهوه‌ای را در اروپای غربی بررسی کردند. آن‌ها ۸۵۰ نمونه اسپور جدایه‌های مختلف را از نواحی کشت گندم در اتریش بلژیک، فرانسه، آلمان، ایتالیا، سوئیس و انگلستان جمع‌آوری و با استفاده از ۲۰ رقم و لاین ایزوژن مشخص کردند که کلیه جدایه‌ها برای ژن‌های *Lr*9، *Lr*19، *Lr*21، *Lr*24، *Lr*25 و *Lr*29 غیر بیماری‌زا بودند. در اسپانیا وجود بیماریزایی برای ژن‌های *Lr*2c، *Lr*2b، *Lr*10، *Lr*11، *Lr*12، *Lr*14a، *Lr*14b، *Lr*18، *Lr*120 و *Lr*23 با بیشترین فراوانی گزارش شده است(Del Olmo and Rubiales, 2004). در منطقه قفقاز و فدراسیون روسیه وجود بیماریزایی برای ژن‌های *Lr*3a، *Lr*10، *Lr*14b، *Lr*14a، *Lr*40، *Lr*16، *Lr*17، *Lr*30، *Lr*34، *Lr*35، *Lr*37 و *Lr*40 با فراوانی بالا گزارش شده است ولی مقاومت ژن‌های *Lr*19 و *Lr*9 در مقابل بیماری زنگ قهوه‌ای

موثر بودند (Volkova, 2004).

در ایـــــران ترابـــــی و همکـــــاران (Torabi *et al.*, 2001) در بررسی جدایه‌های منـاطق مختلـف ایـران گـزارش کردنـد کـه لاین‌های ایزوژنیک حامل ژن‌هـای *Lr*19 و *Lr*9 در برابر کلیه جدایه‌ها مقاوم و لایـن‌هـای حامـل ژن‌های *Lr*10 و *Lr*13 غیرموثر بودند. افشاری و همکـاران (Afshari *et al.*, 2005) بـا آزمـایش ۳۷ لاین ایزوژنیـک بـرای ژن‌هـای *Lr*1، *Lr*2b، *Lr*2a، *Lr*2c، *Lr*3ka، *Lr*3bg ، *Lr*10، *Lr*11، *Lr*12، *Lr*13، *Lr*14a، *Lr*14b، *Lr*15، *Lr*16، *Lr*17، *Lr*20، *Lr*21، *Lr*22a، *Lr*22b ، *Lr*23، *Lr*24 و *Lr*26 بیماریزایی گـزارش کردنـد ولـی بـرای ژن‌هـای *Lr*34، *Lr*35، *Lr*36، *Lr*37، *Lr*29، *Lr*28، *Lr*25، *Lr*19، *Lr*18 و *Lr*9 فاکتور بیماریزایی مشاهده نکردند.

رفیعی و همکاران (Rafeie *et al.*, 2007) با مطالعـه سـیزده جدایـه از ایـران روی ۳۰ لایـن ایزوژنیـــک، بـــرای ژن‌هـــای *Lr*3، *Lr*3bg، *Lr*14b، *Lr*20، *Lr*22a، *Lr*22b، *Lr*30 و *Lr*34 بیماریزا یی گزارش کردند.

افـشاری(Afshari, 2008) بـا آزمـایش ۲۰ جدایه جمع‌آوری شده از نقاط مختلف ایران روی ۴۰ لایـــن افتراقـــی، در مرحلـــه گیاهچـــه، بـــرای ژن‌هـــای *Lr*2a، *Lr*9، *Lr*14a، *Lr*19، *Lr*23، *Lr*25، *Lr*26، *Lr*28، *Lr*29، *Lr*32 و *Lr*36 غیر بیماریزایی گزارش کرد.

هـدف از ایـن پـژوهش تعیـین فاکتورهـای بیماریزایی در جمعیت زنگ قهوه‌ای در منـاطق مختلف کـشور در سـال ۱۳۸۶ و تعیـین ژن‌هـای مقاومت موثردر مناطق آلـوده بـود. بـا توجـه بـه احتمـال ظهـور نژادهـای جدیـد و یـا تغییـر در فراوانـی آن‌هـا ، تعیـین ژن بیمـاریزایی جمعیـت عامل بیماری به طور پیوسته جهت دنبـال کـردن سیر تغییرات ساختار ژنتیکی آن ضروری است.

مواد و روش‌ها

در بهـار سـال ۱۳۸۶ نمونـه‌هـای بـرگ‌هـای آلوده به زنـگ قهـوه‌ای از مـزارع گنـدم آلـوده مناطق مختلف کـشور جمع‌آوری و بـه موسـسه تحقیقـات اصـلاح وتهیـه نهـال و بـذر (واحـد پاتولوژی غلات) در کـرج ارسـال شـد. پـس از خـالص‌سـازی، از بـین ایـن نمونـه‌هـا ۳۰ جدایـه مربـوط بـه منـاطق بروجـرد (۵ جدایـه)، اردبیـل (۵ جدایـــه)، گرگـــان (۳ جدایـــه)، مریـــوان (۲ جدایه)، همدان (۲ جدایه)، اهواز(۲ جدایـه)، سـاری (۲ جدایـه)، هـشتگرد(۲ جدایـه)، خرم‌آباد(۲ جدایه)، مغان(۲ جدایه)، اسلام‌آباد و مشهد (هر کدام یک جدایه) برای آزمایش‌هـای گلخانـه‌ای انتخـاب شـدند. بـرای تکثیـر و خالص‌سازی اسپور هر یک از نمونه‌هـا بـه طـور مجزا روی برگ اول گیاهچه‌هـای رقـم حـساس بولانی مایه‌زنی شدند. در ابتدا اسپورها بـه روش تک جوش خـالص شـده و سـپس ایـن اسـپورها تکثیـر شـدند. بـه ایـن ترتیـب کـه بـرگ‌هـای جمع‌آوری شده از مزرعه در ابعاد مناسب بریـده شده و به مدت ۴۸ ساعت در تشتک‌هـای پتـری حاوی کاغذ صافی مرطـوب شـده بـا آب مقطـر

ودر دمای ۴°C در یخچال قرار داده شدند. پس از تحریک اسپورزایی، اسپورهای تولید شده با استفاده از گوش پاک‌کن، روی برگ رقم بولانی مایه‌زنی شدند. گیاهچه‌های مایه‌زنی شده به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲°C±۱۸ و رطوبت اشباع در تاریک خانه قرار گرفته وسپس به گلخانه با دمای ۲°C± ۲۴ و رطوبت نسبی بالای ۵۰ درصد منتقل شدند. بعد از حدود ۱۴-۱۲ روز ابتدا با روش تک جوش، اسپورهای یک جوش منفرد برداشته و روی برگ گندم حساس مایه‌زنی شد. اسپورهای خالص شده مجدداً روی رقم حساس مایه‌زنی و تکثیر شدند. برای ازدیاد اسپورها، مایه‌زنی با اسپورهای جمع‌آوری شده به صورت مخلوط با پودر تالک و یا روغن معدنی Saltrol با نسبت۱ (اسپور) به بیست (روغن) حجمی بر روی تعداد زیادی گلدان بولانی انجام شد. پس از جمع‌آوری، اسپورها درون تشتک پتری ریخته شده و به مدت ۴۸ ساعت درون دیسکاتور حاوی ماده رطوبت‌گیر سیلیکاژل قرار داده شده و پس از این که رطوبت اسپورها به طور تقریبی به ۳۰-۲۰ درصد رسید، به ویال‌های پلاستیکی منتقل و در فریزر با دمای ۲۰°C- نگهداری شدند. برای فعال کردن مجدد اسپورهای نگهداری شده در فریزر ، ویال‌های پلاستیکی دو دقیقه در آب ۴۲ درجه سانتی‌گراد و سپس در دسیکاتور حاوی آب مقطر به مدت۴۵ دقیقه قرار داده شدند. اسپورهای حاصل ازهر جدایه به طور جداگانه روی برگ اول گیاهچه‌های ۴۰ لاین تک ژنی زنگ قهوه‌ای در سه تکرار، مایه‌زنی شدند (در هر آزمایش برای اطمینان از ایجاد آلودگی کافی در کنار گلدان‌ها رقم حساس هم قرار داده شد). یادداشت‌برداری تیپ آلودگی ۱۲ تا ۱۴ روز بعد از مایه‌زنی و به روش مکینتاش و همکاران (McIntosh *et al.*, 1995) در مقیاس ۴-۰ انجام شد. برای تعیین فرمول بیماریزایی/ غیربیماریزایی تیپ‌های آلودگی ۰تا ۲ به عنوان غیر بیماریزا یا مقاوم (R) و تیپ‌های آلودگی ۳و۴ به عنوان حساس یا بیماریزا (S) در نظر گرفته شدند.

برای تعیین فراوانی فاکتورهای بیماریزایی در جدایه‌های زنگ قهوه‌ای، درصد فاکتورهای بیماریزائی در هر جدایه نسبت به تعداد کل ژن‌های مقاومت محاسبه شد. برای محاسبه فراوانی بیماریزائی برای هر یک از ژن‌های مقاومت، درصد جدایه‌هایی که روی آن ژن بیماریزائی داشتند، تعیین شد.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از واکنش ۴۰ لاین ایزوژنیک زنگ قهوه‌ای در مقابل ۳۰ جدایه مورد استفاده و فرمول بیماریزائی/غیربیماریزائی جدایه‌های مختلف در جدول‌های ۱ و ۲ ارائه شده است. بر این اساس ملاحظه می‌شود جدایه اردبیل با ۳۳ فاکتور بیماریزایی دارای بیشترین قدرت بیماریزایی و جدایه گرگان با ۱۹ فاکتور دارای کمترین فاکتورهای بیماریزایی یا کمترین

جدول ۱- فرمول بیماریزائی/غیربیماریزائی جدایه‌های زنگ قهوه‌ای گندم

Table 1. Avirulence/virulence formula for wheat leaf rust isolates

شماره جدایه Isolate No.	منطقه Location		فرمول بیماریزائی/غیربیماریزائی Avirulence/Virulence Formula	فراوانی فاکتورهای بیماریزایی در جدایه‌های زنگ قهوه‌ای گندم Frequency of virulence factors of wheat leaf rust isolates (%)
3	Gorgan	گرگان	***Lr*1,2a,2b,2c,10,11,12,14a,15,17 ,21,24 ,26, 29,32,36,23+** / 3ka ,13, ,16,18 ,23,30,33,34 ,13	45.0
7	Ahvaz	اهواز	***Lr* 2a,2b,2c ,10,11,12,13,15,16,17 ,21,24 ,26,29,32,23+** / 1 , 3ka,14a ,18 ,23,30,33,34,36 ,13	47.5
12	Hamedan	همدان	***Lr* 2a,2b,2c ,10,11,12,14a,15,11,24,26,29,32,36,23+** / 1,3ka,13 ,16,18, 21,23,30,33,34 ,13	47.5
9	Hashtgerd	هشتگرد	***Lr* 2a,2b,2c,10,11,12,15,16,17 ,24 ,29,32,33,36, 23+** / 1,3 ka, 13,14a ,18 ,21,23,24,26,30,34 ,13	50.0
11	Hamedan	همدان	***Lr* 2a,2b,2c ,10,11,12,14a,15,17 ,24 ,26, 29,32,36,23+** / 1 ,3ka ,13 ,16,18 ,21 ,23,30,33,34 ,13	50.0
4	Sari	ساری	***Lr* 2a,2b,2c ,10,11,12,14a,15 ,21,24, 26 ,29,23+** / 1 ,3ka ,13 ,16,17,18 ,23,30,32,33,34 ,36,13	55.0
6	Gorgan	گرگان	***Lr* 2a,2b,2c,10,11,12,14a,15,17 ,26, ,29 ,32,23+** / 1 ,3ka ,13 ,16,18 ,21 ,23,24,30,33,34 ,36,13	55.0
2	Gorgan	گرگان	***Lr* 2a,2b,2c ,10,11,12,15,21 ,24,26, 29,23+** / 1 ,3ka ,13,14a ,16,17,18 ,23,30,32,33,34 ,36,13	57.5
1	Ahvaz	اهواز	***Lr* 2a,2b,10,11,12,15,17, 21,24 ,29,32,34,23+** / 1,2c ,3ka ,13,14a ,16,18,20 ,23,26,30,33 ,36,13	57.5
10	Hashtgerd	هشتگرد	***Lr* 2a,2b,2c ,10,11,12,15 ,24 ,29,32,23+** / 1 ,3ka ,13,14a,,16,17,18 ,21 ,13,23,26,30,33,34 ,36	60.0
5	Sari	ساری	***Lr* 2a,2b,2c ,10,11,12,15 ,24 ,29,23+** / 1 ,3ka ,13,14a ,16,17,18 ,21 ,23,26,30,32,33,34 ,36,13	62.5
13	Marivan	مریوان	***Lr*2a,2b,3ka,10,11,12,32,35,36,23+** / 1,2c ,13,14a ,15,16,17,18 ,21, ,23,24,26,29,30,33,34, 13	62.5
21	Khoramabad	خرم‌آباد	***Lr* 2a,14a,15,18 ,21,23,24 ,29,23+** / 1,2b,2c ,3ka ,10,11,12,13 ,16,17 ,26,30,32,33,34 ,36,13	65.0
14	Marivan	مریوان	***Lr* 2a,2b,10,11,12,15 ,29,23+** / 1,2c ,3ka ,13,14a ,16,17,18 ,21 ,23,24,26,30,32,33,34 ,36 ,13	67.5
16	Boroujerd	بروجرد	***Lr* 2a,14a ,21 ,26 ,29,36,23+** / 1,2b,2c ,3ka ,10,11,12,13 ,15,16,17,18 ,23,24,30,32,33,34,13	70.0
20	Boroujerd	بروجرد	***Lr* 2a,2b,18 ,26 ,29,36,23+** / 1,2c ,3ka ,10,11,12,13,14a ,15,16,17 ,21 ,23,24,30,32,33,34,13	70.0
25	Ardebil	اردبیل	***Lr* 1,2a,2b,15 ,29,36, 23+** / 2c ,3ka ,10,11,12,13,14a ,16,17,18 ,21 ,23,24,26,30,32,33,34,13	70.0
30	Ardebil	اردبیل	***Lr* 2a,14a,15,21 ,26,36,23+** / 1,2b,2c ,3ka ,10,11,12,13 ,16,17,18 ,23,24,29,30,32,33,34 ,13	70.0
8	Mashhad	مشهد	***Lr* 2c ,10,11,12 ,29,13,23+** / 1,2a,2b ,3ka ,13,14a ,15,16,17,18 ,21 ,23,24,26,30,32, 33,34 ,36	72.5
22	Moghan	اردبیل	***Lr* 2a,2b,13 ,29,36,23+** / 1,2c ,3ka ,10,11,12,14a ,15,16,17,18 ,21 ,23,24,26,30,32,33,34,13	72.5
27	Ardebil	اردبیل	***Lr* 2a,2b,18 ,29,36,23+** / 1,2c ,3ka ,10,11,12,13,14a ,15,16,17 ,21 ,23,24,26,30,32,33,34,13	72.5
17	Boroujerd	بروجرد	***Lr* 2b,2c,18,21,29** / 1,2a ,3ka ,10,11,12,13,14a ,15,16,17 ,23,24,26,30,32,33,34 ,36,13,23+	75.0
15	Eslamabad	اسلام‌آباد	***Lr* 2a ,15,29,36** / 1,2b,2c ,3ka ,10,11,12,13,14a ,16,17,18 ,21 ,23,23+,24,26,30,32,33,34 ,13	77.5
19	Boroujerd	بروجرد	***Lr* 2a ,18,29,23+** / 1,2b,2c ,3ka ,10,11,12,13,14a ,15,16,17 ,21 ,23,24,26,30,32,33,34 ,36 ,13	77.5
24	Moghan	مغان	***Lr* 2a,2b,18,29** / 1,2c ,3ka ,10,11,12,13,14a ,15,16,17 ,21 ,23,24,26,30,32,33,34 ,36 ,13,23+	77.5
26	Ardebil	اردبیل	***Lr* 2a ,29,36,23+** / 1,2b,2c ,3ka ,10,11,12,13,14a ,15,16,17,18 ,21 ,23,24,26,30,32,33,34,13	77.5
28	Khoramabad	بروجرد	***Lr* 18 ,29,36,23+** / 1,2a,2b,2c ,3ka ,10,11,12,13,14a ,15,16,17 ,21 ,23,24,26,30,32,33,34 ,13	77.5
18	Boroujerd	بروجرد	***Lr* 21,29,36** / 1,2a,2b,2c ,3ka ,10,11,12,13,14a ,15,16,17,18 ,23,24,26,30,32,33,34 ,13,23+	80.0
23	Moghan	مغان	***Lr* 3ka ,18 ,36** / 1,2a,2b,2c ,10,11,12,13,14a ,15,16,17 ,21 ,23,24,26,29,30,32,33,34 ,13,23+	80.0
29	Ardebil	اردبیل	***Lr* 15 ,23+** / 1,2a,2b,2c ,3ka ,10,11,12,13,14a ,16,17,18 ,21 ,23,24,26,29,30,32,33,34 ,36,13	82.5

* کلیه جدایه‌ها روی لاین‌های حامل ژن‌های *Lr*9، +*Lr*10، *Lr*19، *Lr*25 و*Lr*28 غیر بیماریزا و روی لاین‌های حامل ژن‌های *Lr*3، *Lr*3bg، *Lr*14b، *Lr*20، *Lr*b، *Lr*22b، *Lr*35، *Lr*22a و *Lr*37 بیماریزا بودند.

قدرت بیماریزایی بودند. گیاهان حامل ژن‌های *Lr9*، *Lr10*+، *Lr19*، *Lr25* و *Lr28* نسبت به همه جدایه‌های قارچ مقاوم و گیاهان حامل ژن‌های *Lr22b*، *Lr3*، *Lr3bg*، *Lr14b*، *Lr20*، *Lr22a*، *Lr35*، *Lr37* و *Lrb* نسبت به همه جدایه‌ها حساس بودند. ترابی و همکاران (Torabi *et al.*, 2001) با مطالعه جدایه‌هائی از نقاط مختلف ایران گزارش کردند که در لاین‌های حامل ژن‌های *Lr9* و *Lr19* بیماریزایی مشاهده نشد. نتایج این آزمایش در این مورد با نتایج آزمایش آن‌ها مطابقت داشت. افشاری و همکاران (۲۰۰۵) نیز برای گیاهان حامل ژن‌های *Lr9*، *Lr19*، *Lr25* و *Lr28* عدم وجود بیماریزایی گزارش کردند که با نتایج این بررسی مطابقت می‌کند. همچنین نتایج این آزمایش با نتایج آزمایش افشاری (Afshari, 2008) در مورد عدم وجود بیماریزایی برای ژن‌های *Lr9*، *Lr19*، *Lr25* و *Lr28* و با نتایج آزمایش رفیعی وهمکاران (Rafeie *et al.*, 2007) درمورد وجود فاکتورهای بیماریزایی برای ژن‌های *Lr3*، *Lr3bg*، *Lr14b*، *Lr20*، *Lr22a* و *Lr22b* مطابقت دارد. با مقایسه نتایج این بررسی با گزارش‌های قبلی می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که در هشت سال گذشته تغییرات در ساختار ژنتیکی بیمارگر بسیار محدود بوده است. بیماریزایی برای ژن *Lr9* در مقیاس جهانی کمیاب است. بیماریزایی برای ژن *Lr9* تنها از آمریکا (Shaner *et al.*, 1972) برزیل و آرژانتین (McIntosh, 1988) ایتالیا، آفریقا و پاکستان (Huerta-Espino, 1992) و مکزیک (Huerta-Espino and Singh, 1994) گزارش شده است و این موضوع نشان دهنده وجود اختلاف در پاتوتایپ‌های عامل بیماری در مناطق مختلف جهان است. وجود فاکتور بیماریزایی برای ژن فوق در ایران حداقل در طی تحقیقات انجام شده از سال ۱۳۷۲ (که انجام تحقیقاتی در این زمینه در موسسه تحقیقات کرج آغاز شد) تاکنون به اثبات نرسیده است. با توجه به این که بیماریزایی برای این ژن در هیچ یک از جدایه‌های این تحقیق مشاهده نشد این ژن می‌تواند به عنوان یک ژن موثر و قابل استفاده در برنامه به‌نژادی کشور مورد استفاده قرار گیرد. از آن‌جا که ژن *Lr9* به عنوان یک ژن مقاومت وابسته به نژاد (Race-specific) شناخته شده، باید توجه داشت که کاشت ارقام دارای این ژن در سطح وسیع و به تنهایی می‌تواند منجر به بروز نژادهای بیماریزا برای آن و احتمالاً غیر موثر شدن مقاومت آن در کوتاه مدت شود. بیماریزایی برای ژن Lr*19* نیز در مقیاس جهانی نادر است (McIntosh *et al*., 1995).

علیرغم موثر بودن این ژن در اکثر نقاط دنیا (McVey and Hamilton, 1985؛ Martens and Dyck, 1988) کاربرد این ژن به دلیل پیوستگی با ژن عامل تولیدکننده زردی رنگ آرد در گندم، در سطح بین‌المللی محدود بوده است (Winzeler *et al*., 1995). ژن‌های

جدول ۲- درصد فراوانی بیماریزایی برای ژن‌های مقاومت زنگ قهوه‌ای گندم
Table 2. Frequency of virulence for resistance genes of wheat leaf rust

ژن‌های مقاومت به زنگ قهوه‌ای *Lr* resistance genes	تعداد جدایه‌ها Number of isolates		فراوانی بیماریزایی Frequency of Virulence (%)
	بیماریزا Virulent	غیربیماریزا Avirulent	
*Lr*22b, *Lr*3, *Lr*3bg, *Lr*14b, *Lr*20, *Lr*22a, *Lr*35, *Lr*37, *Lr*b	30	0	100.0
*Lr*13(MANITUOU), *Lr*34	29	1	96. 6
*Lr*3ka, *Lr*32, *Lr*33, *Lr*13 (WL711)	28	2	93. 3
*Lr*1, *Lr*16	27	3	90. 0
*Lr*14a, *Lr*18	23	7	76. 6
*Lr*17	22	8	73. 3
*Lr*23, *Lr*30	21	9	70. 0
*Lr*21, *Lr*36	19	11	63. 3
*Lr*2c, *Lr*29	17	13	56. 6
*Lr*10, *Lr*11, *Lr*12	15	15	50. 0
*Lr*24	14	16	46. 6
*Lr*26	13	17	43. 3
*Lr*2b, *Lr*15	11	19	36. 6
*Lr*2a	6	24	20. 0
*Lr*23+	5	25	16. 6
*Lr*9, *Lr*19, *Lr*25, *Lr*28, *Lr*10+	0	30	0. 0

موجود در این مطالعه از ژن‌های مقاومت گیاه کامل هستند (McIntosh *et al.*, 1995). بنا بر تعریف این ژن‌ها در مرحله گیاهچه‌ای قابل شناسایی نیستند. با این وجود بعضی از این ژن‌ها در مقابل بعضی از جدایه‌ها ی مورد استفاده عکس‌العمل مقاومت نشان دادند. لاین‌های حامل ژن‌های *Lr*35، *Lr*22a و *Lr*22b به همه جدایه‌ها حساس ولی بوته‌های گندم حامل ژن *Lr*34 نسبت به جدایه مریوان مقاوم بودند. ژن *Lr*34 گر چه از ژن‌های مقاومت در مرحله گیاه کامل است اما در مرحله گیاهچه نیز قابل ردیابی است(McIntosh *et al.*, 1995).

با توجه به پیوستگی ژن *Lr*34 با ژن مولد قهوه‌ای شدن نوک برگ‌ها (Leaf tip necrosis) این ژن در شرایط مزرعه قابل شناسایی است (McIntosh ,1988). ژن *Lr*34 دارای پیوستگی با ژن مقاومت *Yr*18 زنگ زرد و همچنین ژن *Lrtn* عامل سوختگی نوک برگ گندم است که در مرحله گیاه کامل این سوختگی نوک برگ به خوبی قابل مشاهده است (Roelfs *et al.*, 1992). در ارتباط با ژن *Lr*13 عنوان شده است که این ژن اگرچه از ژن‌های مقاومت در مرحله گیاه کامل است اما در مراحل اولیه رشدی می‌تواند در مقابل جدایه‌های غیر بیماریزا مقاومت نشان دهد (Dyck *et al.*, 1966). در این پژوهش نیز ژن *Lr*13 نسبت به جدایه اهواز در مرحله گیاهچه‌ای مقاومت نشان داد. در مورد سایر

مقاومت شناسایی شده برای زنگ قهوه‌ای شامل ژن‌های مقاومت در مرحله گیاهچه و گیاه کامل بودند. ژن‌های *Lr*22b، *Lr*22a، *Lr*34 و *Lr*35 ژن‌های مورد مطالعه و با توجه به فراوانی بیماریزایی آن‌ها (جدول ۲) ژن +*Lr*23 با ۱۶/۶ درصد بیماریزایی و ژن *Lr*2a با ۲۰ درصد فراوانی بیماریزایی می‌توانند در صورت تایید مقاومت گیاه کامل به عنوان منابع مقاومت موثر به کار روند. در جدایه‌های مشهد، بروجرد، خرم‌آباد، مغان و اردبیل برای ژن *Lr*2a و در جدایه‌های بروجرد، مغان و اسلام‌آباد برای ژن +*Lr*23 فاکتور بیماریزایی مشاهده شد. گیاهان حامل ژن *Lr*3ka درمقابل جدایه‌های مناطق مریوان ومغان، مقاوم ولی جدایه‌های مناطق دیگر روی آن بیماریزا بودند. برای ژن *Lr*1 در جدایه‌های مناطق گرگان، همدان واردبیل فاکتور بیماریزایی وجود نداشت و برای ژن *Lr*16 جدایه‌های اهواز، هشتگرد و همدان بیماریزا نبودند. همچنین برای ژن *Lr*17 علاوه بر جدایه‌های اهواز هشتگرد و همدان جدایه‌های گرگان و ساری نیز بیماریزا نبودند. فراوانی بیماریزایی برای سایر ژن‌ها نسبتاً زیاد بوده و استفاده از آن‌ها باید با توجه به وجود یا عدم وجود بیماریزایی و بر اساس مناطق مختلف کشور انجام شود. به طور مثال در مورد ژن *Lr*34 فقط نسبت به جدایه مریوان و یا در مورد ژن *Lr*13 فقط نسبت به جدایه اهواز مقاومت مشاهده شد و در سایر مناطق بیماریزایی وجود داشت. در مطالعه ترابی و همکاران (Torabi *et al*., 2001) نیز در رابطه با ژن *Lr*13 در منطقه گچساران و در مورد ژن *Lr*34 در منطقه اهواز مقاومت گزارش شد که با نتایج این آزمایش مطابقت دارد. در رابطه با ژن‌های *Lr*34، *Lr*16، *Lr*13 و *Lr*1 نتایج این آزمایش با نتایج آزمایش افشاری (Afshari, 2008) مطابقت دارد که بر روی لاین‌های حاوی این ژن‌ها بیماریزایی دیده شد. در مطالعه ترابی و همکاران (Torabi *et al*., 2001) نیز بر روی لاین‌های حاوی ژن*Lr*16 بیماریزایی ملاحظه شد. در جدول ۱ فرمول بیماریزایی/غیربیماریزایی جدایه‌های زنگ قهوه‌ای نشان داده شده است که در آن جدایه‌ها بر اساس افزایش تعداد فاکتورهای بیماریزایی موجود در آن‌ها مرتب شده‌اند و بر این اساس جدایه‌های گرگان (شماره ۳)، اهواز (شماره ۷) و همدان (شماره ۱۲) دارای کمترین تعداد فاکتورهای بیماریزایی و جدایه‌های اردبیل (شماره ۲۹)، مغان (شماره ۲۳) و بروجرد (شماره ۱۸) دارای بیشترین تعداد فاکتورهای بیماریزایی و یا بیشترین ژن‌های بیماریزا بودند. تفاوت جدایه‌ها اغلب در وجود یا عدم وجود بیماریزایی برای یک یا چند ژن بود. جدول ۱ همچنین فراوانی ژن‌های بیماریزا در ۳۰ جدایه مورد مطالعه را نشان می‌دهد. بر این اساس جدایه اردبیل (شماره ۲۹) با۸۲/۵ درصد فراوانی ژن‌های بیماریزا روی ۴۰ لاین ایزوژنیک مورد مطالعه بالا ترین توان بیماریزایی را داشت و جدایه گرگان (شماره ۳) با ۴۵ درصد کمترین

تـوان بیمـاریزایی را نـشان داد. در سـایر مـوارد، جدایه‌های مختلف در مقابل تعدادی از ژن‌هـای مورد مطالعـه بیمـاریزا بودنـد. میـزان بیمـاریزایی دراین جدایه‌ها نیز بسیار نزدیک به هـم بـود کـه حاکی از تفـاوت جدایـه‌هـای مـورد بررسـی در یک یا چند ژن بود.

از آن‌جا که کنترل مقاومت یک رقم توسـط یک ژن نمی‌تواند پایداری زیادی داشته باشـد و معمولاً با یک موتاسـیون در عامـل بیمـاری و یـا ظهور یک نژاد جدید در منطقه احتمـال شکـسته شـدن ایـن نـوع مقاومـت زیـاد اسـت، بـا هرمـی کردن ژن‌ها و قرار دادن دو یا چنـد ژن در یـک رقـم مـی‌تـوان پایـداری مقاومـت یـک رقـم را افـزایش داد (Johnson, 1988؛ Diana, 1995؛ Knot, 1989). در مورد ژن‌هایی که برای آن‌هـا بیمـاریزایی مـشاهده شـده لازم اسـت مـدیریت بهتـــری در خـــصوص اســـتفاده از آن‌هـــا در برنامه‌های به‌نژادی اعمال شود.

سپاسگزاری

از خانم زهره بیات، کارشـناس گلخانـه‌هـای زنـگ‌هـای غـلات، واحـد پـاتولوژی غـلات، موسسه تحقیقات اصلاح و تهیـه نهـال و بـذر،بـه خاطر همکاری در طول مدت اجرای آزمـایش، تشکر و قدردانی می‌شود.

References

Abdel Hak, R. A., Sherif, E. L., Bassiouny, N. A., Sherif, A. A., and Dauodi, Y. E. I. 1980. Control for wheat leaf rust by systemic fungicides. Proceedings of the 5th European and Mediterranean Cereal Rusts Conference. Bari, Italy. pp. 255-266.

Afshari, F. 2008. Identification of virulence factors of *Puccinia triticina*, the causal agent of wheat leaf rust in Iran. International Wheat Genetics Symposium, Brisbane, Australia. page 106.

Afshari, F., Torabi, M., Kia, S., Dadrezai, S. T., Safavi, S. A., Chaichi, M., Nasrolahi, M., Karbalai Khiavi, H., Zakeri, A., Bahrami Kamangar, S., Patpour, M., and Ebrahimnejad, S. 2005. Monitoring of virulence factors of *Puccinia triticina* Eriksson, the causal agent of wheat leaf rust in Iran during 2002-2004. Seed and Plant 21: 485-500 (in Persian).

Anikster, Y., Bushnell, W. R., Eilam, T., Manisterski, J., and Roelfs, A. P. 1997. *Puccinia recondita* causing leaf rust on cultivated wheat, wild wheat, and rye. Canadian Journal of Botany 75: 2082-2096.

Ausemus, E. R., Harrintoni, J. B., Reits, L. P., and Worzella, W. W. 1946. A summary of genetic studies in hexaploid and tetraploid wheats. Agronomie 38: 1082-1099.

Browder, L. E. 1980. A compendium of information about named genes for low reaction to *Puccinia recondita* in wheat. Crop Science 20: 775-779.

Casulli, F. 1998. *Puccinia recondita* f. sp *tritici* in Italy. Informatore Phytopathology 48: 77-80.

Chen, W., Hu, C., and Zhang, S. 1993. Analysis of virulence gene of *Puccinia recondita* f.sp. *tritici* population in China. Scientia-Agricultura-Sincia 26(2): 17-23.

Del Olmo, A. I., and Rubiales, D. 2004. Physiologic specialization of *Puccinia triticina* in Andalusia (Spain) in 2003. Proceedings of the 11th International Cereal Rusts and Powdery Mildews Conference. John Innes Center, Norwich, England.

Diana, D. I. 1995. Breeding for disease resistance with emphasis on durability Proceedings of Regional Workshop for Eastern, Central and Southern Africa, Njovo, Kenya, October 2-6, 1994.

Dubin, H. J., and Torres, E. 1981. Causes and consequences of the wheat leaf rust epidemics in Northwest Mexico. Annual Review of Phytopathology 19: 41-44.

Dwurazina, M., Bialota, M., and Gajdo, Z. 1980. Resistance of wheat cultivars to rust in Poland. Proceedings of the 5th European and Mediterrenian Cereal Rusts Conference, Bari, Italy. pp. 147-150.

Dyck, P. L., Samborski, D. J., and Anderson, R. G. 1966. Inheritance of adult plant leaf rust resistance drived from the common wheat varieties Exchange and Frontna. Canadian Journal of Genetics and Cytology 8: 665-671.

Elahinia, A. 1993. Mycology and Introductory Plant Diseases. Guilan University Publication, Rasht, Iran. 555 pp. (in Persian).

Flor, H. H. 1971. Current status of the gene for gene concept. Annual Review of Phytopathology 9: 275-296.

Huerta-Espino, J. 1992. Analysis of wheat leaf and stem rust on a worldwide basis. Ph.D. Thesis, University of Minnesota, USA.

Huerta-Espino, J., and Singh, R. P. 1994. First report of virulence for wheat leaf rust gene *Lr*19 in Mexico. Plant Disease 78: 640.

Johnson, C. O., and Heyne, E. G. 1964. Wichita whaet back–cross lines for differential hosts in identifying physiologic races of *Puccinia recondita.* Phytopathology 54: 385-388.

Johnson, R. 1988. Durable resistance to yellow (stripe) rust in wheat and its implication in plant breeding. pp. 283-300. In: Simmonds, N.W., and Rajaram, S. (eds.) Breeding Strategies for Resistance in Crops: Some Closing Remarks about the Topic and the Symposium. Kluwer Academic Pub. The Netherlands.

Knott, D. R. 1989. The Wheat Rusts- Breeding for Resistance. Springer Verlag. Berlin Heidelberg. 201 pp.

Kolmer, J. A., and Liu, J. Q. 2001. Simple inheritance to leaf rust in two wheat cultivars. Plant Pathology 50: 546-551.

Long, D. L., and Kolmer, J. A. 1989. A North American system of nomenclature for *Puccinia recondita* f.sp. *tritici*. Phytopathology 79: 525-529.

Mains, E. B., and Jakson, M. S. 1923. Strains of the leaf rust of wheat in the United States. Phytopathology 13: 36 (Abstract).

Martenes, J. W., and Dyck , P. L. 1988. Occurrence and virulence of *Puccinia recondita* in Canada in 1986. Canadian Journal of Plant Pathology 10: 268-272.

McIntosh, R. A. 1988. Genetical strategies for disease control. Proceedings of the Seventh International Wheat Genetics Symposium. Institute of Plant Science Research, Cambridge , UK, 1: 39-44.

McIntosh, R. A., Welling, C. R., and Park, R. F. 1995. Wheat Rusts: An Atlas of Resistance Genes. CSIRO, Australia. 200pp.

McVey, D. V., and Hamilton, K. 1985. Occurrence and virulence of *Puccinia recondita* in Minnesota in 1982 and 1983. Plant Disease 69: 404-405.

Park, R. F., and Felsenstien, F. G. 1985. Physiological specialization and pathotype distribution of *Puccinia recondita* in western Europe. Plant Pathology 47: 157-164.

Rafeie, F., Arzani, A., Afshari, F., and Torabi, M. 2007. Characterization of leaf rust resistance genes in seedlings of wheat cultivars. Genetics and Breeding 36(304): 19-27.

Roelfs, A. P. 1988. Genetics control of phenotypes in wheat stem rust. Annual Review of Phytopathology 26: 351-367.

Roelfs, A. P., Singh, R. P., and Saari, E. E. 1992. Rust Disease of Wheat: Concepts and Methods of Disease Management. Mexico D. F., CIMMIT. 81pp.

Shaner,G., Roberts, R. E., and Finny, R. E. 1972. A culture of *Puccinia recondita* virulent to the wheat cultivar Transfer. Plant Disease Reporter 56: 827-830.

Torabi, M., Nazari, K., and Afshari, F. 2001. Genetics of pathogenicity of *Puccinia recondita* f.sp *tritici* , the causal agent of leaf rust of wheat. Iranian Journal of Agricultural Sciences 32: 625-635 (in Persian).

Volkova, G. V. 2004. Virulence of *Puccinia triticina* population in the North-Caucasian region, Russia. Proceedings of the 11th International Cereal Rusts and Powdery Mildews Conference. John Innes Center, Norwich, England.

Winzeler, M., Winzeler, H., and Keller, B. 1995. Endopeptidase polymorphism and linkage of the Ep-D1c null allele with *Lr*19 leaf rust resistance gene in hexaploid wheat. Plant Breeding 114: 24-28.