

مطالعه شدت بیماریزایی و تنوع مولکولی *Puccinia striiformis* f.sp. *tritici*

(عامل بیماری زنگ زرد گندم) در ایران

حجت اله ربانی نسب* - محمود اخوت - محمد ترابی - مهرداد عباسی - جواد مظفری^۱

تاریخ دریافت: ۸۶/۱/۱۹

تاریخ پذیرش: ۸۷/۴/۲۳

چکیده

به منظور مطالعه فنوتیپ‌های بیماریزا و تنوع مولکولی عامل بیماری زنگ زرد گندم (*Puccinia striiformis* f.sp. Westend.) در ایران ۸۵ جدایه از مناطق مختلف کشور جمع‌آوری و تکثیر شد. تعیین نژاد جدایه‌ها به روش جانسون و همکاران انجام گرفت. به علاوه جدایه‌ها به کمک آزمون AFLP و با استفاده از چهار ترکیب آغازگر بررسی شدند. مجموعاً ۳۵ نژاد فیزیولوژیک شناسائی شد. نژاد 178E0A با هفت عضو فراوانترین نژاد و نژاد 64E241A⁺ با ۵ عضو در رتبه بعدی قرار گرفت. برای اغلب ژنهای مقاومت موجود در ارقام استاندارد بیماریزایی دیده شد. روی ارقام تجاری حاوی ژنهای مقاومت Yr5، Yr1 و Yr3 (به استثنای چهار جدایه) بیماریزایی مشاهده نشد. بیماریزایی برای ژنهای Yr2، Yr24، Yr7، YrA و تقریباً در همه جای کشور مشاهده شد که در صورت تایید نهایی این ژنها باید از برنامه به نژادی کنار گذاشته شوند. در آزمون AFLP به طور متوسط، به ازای هر ترکیب آغازگر ۷۸ باند شناسائی شد که به طور میانگین ۳۱ درصد آنها پلی مورفیک بودند. بر اساس نتایج بدست آمده از تجزیه و تحلیل داده‌ها توسط نرم افزار NTSYS در سطح ضریب شباهت ۷۷ درصد کل جدایه‌ها در ۹ گروه اصلی A، B، C، D، E، F، G، H و I و ۱۰ گروه تک جدایه ای جای گرفتند. بین مناطق جغرافیائی و گروههای انگشت نگاری AFLP ارتباط قابل توجهی وجود داشت. هر چند بین نژادها و این گروهها ارتباط مشخصی مشاهده نشد. نتایج نشان داد شباهت ژنتیکی اکثر جمعیت‌ها با جمعیت غرب و شمال غرب (شامل استانهای ایلام، همدان، کرمانشاه و اردبیل) بیشتر از ۶۵ درصد است. بر این اساس که احتمالاً جریانات مدیترانه ای و سودانی در نقل و انتقال اسپورها در ایران نقش داشته است و شرایط مناسب و وقوع جریان ژنی باعث نزدیکی ژنتیکی جمعیت‌ها به یکدیگر شده است.

واژه‌های کلیدی: گندم، زنگ زرد، بیماریزایی، تنوع ژنتیکی، AFLP، نژاد

مقدمه

طرف دیگر کشت ارقام حساس، تغییر پذیری در عامل بیماریزا و وجود شرایط اقلیمی مناسب باعث بروز همه گیری^۱ ویران کننده این بیماری می شود. عامل بیماری به وسیله یوردینوسپورهای دیکاریوتیک هوازاد منتشر می شود. مناسبترین روش کنترل موثر زنگ زرد گندم

زنگ زرد گندم یکی از مهمترین و خسارت‌زاترین بیماریهای گندم در بسیاری از مناطق جهان است (۲۴). از

۱- به ترتیب دانشجوی دکتری و استاد دانشگاه تهران، محقق بازنشسته مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، محقق مؤسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور و محقق مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر

Email:hrabbani_wsr@yahoo.com

*- نویسنده مسئول

استفاده از ارقام مقاوم است. در بسیاری از موارد، استفاده از ژنهای مقاومت اختصاصی به عنوان یک روش کنترل، موفقیت آمیز نبوده است چرا که جمعیت بیمارگر به سرعت دچار دگرگونی شده و در عرض چند سال قادر خواهد بود بر ژنهای مقاومت معرفی شده غلبه نمایند (۱۰، ۲۲ و ۲۳). بنابراین اطلاعات بیشتری در خصوص ساختار ژنتیکی جمعیت‌های موجود مورد نیاز است تا بتوان تاثیرات این مقاومت‌ها را ارزیابی و یا پیش بینی کرد.

در تحقیق حاضر ارتباط بین نژادهای فیزیولوژیک و گروههای انگشت نگاری DNA و همچنین مناطق جغرافیایی و ارقام گندم میزبان مورد توجه قرار گرفت. نژادها بر اساس نوع آلودگی که بر روی گروهی از ژنوتیپ‌ها یا لاین‌های تک‌ژنی انتخابی ایجاد می‌نمایند و به نام ارقام افتراقی معروف هستند، شناسائی می‌شوند. هانگر فورد و اونز (۱۴) اولین گزارش را از وجود واریته‌های اختصاصی *P. striiformis* بر اساس اختصاص یافتگی روی جنس گندم و سایر گندمیان ارائه نمودند. هر چند آلیسون و آیسنبک (۷) اولین کسانی بودند که وجود نژادهای *P. striiformis* f.sp. *tritici* را بر اساس اختصاص یافتگی روی ارقام گندم بیان نمودند.

در ایران از سال ۱۳۴۲ مطالعه روی نژادهای فیزیولوژیک زنگها آغاز گردید (۲۱) و در سال ۱۳۴۶ دو بیوتیپ 20A و 25A گزارش شد که گستردگی وسیعی در ایران داشته و اکثر همه گیری‌ها در اثر این بیوتیپ‌ها به وجود می‌آمد. بامدادیان (۸) هشت نژاد و بیوتیپ به اسامی 14/8، 14/8A، 19، 20A، 2D و 25A را از نقاط مختلف کشور گزارش نمود. وی همچنین بیوتیپ جدیدی از زنگ زرد به نام 96E16 را از روی ارقام پرمحصول آزادی و قدس گزارش نمود (۹). نژادهای تعیین شده زنگ زرد گندم طی سالهای ۱۳۷۲ و ۱۳۷۳ با استفاده از سیستم پیشنهادی جانسون و همکاران (۱۵) نشان دهنده تنوع بیماری‌زایی عامل بیماری در

نقاط مختلف کشور بوده و برای اکثر ژنهای مقاومت بیماری‌زایی مشاهده شده است. هر چند که برای برخی از ژنهای مقاومت بالا فراوانی بیماری‌زایی بسیار پایین بوده است (۱). در سال زراعی ۷۶-۷۵ برای ژنهای *YrA*, *Yr25*, *Yr24*, *Yr2*, *Yr4*, *Yr6*, *Yr7*, *Yr9*, *Yr10* و *YrSD* بیماری‌زایی گزارش شده بیماری‌زایی برای *Yr4* برای اولین بار در کشور دیده شد (۲). در سال زراعی ۷۸-۷۷ برای ژنهای *YrSD*, *Yr1*, *Yr2*, *Yr7*, *Yr8*, *Yr9*, *Yr19*, *Yr22*, *Yr23*, *Yr24* و *YrA* بیماری‌زایی گزارش شد و برای ژنهای *YrSP*, *YrCV*, *Yr3*, *Yr4*, *Yr5*, *Yr10* و *YrND* بیماری‌زایی مشاهده نشد. بیماری‌زایی برای ژن *Yr1* برای اولین بار در گلخانه به ثبت رسید. این وضعیت توسط لاین ایزوژنیک 'Arozet/S' *Yr1/6* نیز تایید شد (۳). طی تعیین نژاد ۱۰ جدایه زنگ زرد از نقاط مختلف کشور برای ژنهای *YrSU*, *YrND*, *YrCV*, *Yr2*, *Yr6*, *Yr7*, *Yr8*, *Yr9*, *Yr19*, *Yr22*, *Yr23*, *Yr24* و *YrA* بیماری‌زایی گزارش گردید. بیماری‌زایی برای ژنهای *Yr2*, *Yr6*, *Yr7*, *Yr9* و *YrA* در همه جدایه‌ها مشترک بود (۲۰). در سال زراعی ۷۹-۷۸ برای ژنهای *YrND*, *YrSu*, *YrCV*, *YrA*, *Yr25*, *Yr10*, *Yr9*, *Yr8*, *Yr2*, *Yr3*, *Yr4*, *Yr6* و *YrSD* بیماری‌زایی گزارش شد. مانند سالهای قبل بیشترین فراوانی بیماری‌زایی برای ژنهای *Yr2*, *Yr6*, *Yr7*, *Yr9* و *YrA* گزارش گردید (۴). برای ژنهای *Yr2*, *Yr6*, *Yr7*, *Yr8*, *Yr9*, *Yr10*, *Yr24* و *YrA* و *YrND* در سال زراعی ۸۱-۸۰ بیماری‌زایی گزارش شده و بیشترین فراوانی بیماری‌زایی برای ژنهای *Yr24*, *Yr9*, *Yr7* و *Yr2* و *YrA* بود (۵). در تعیین نژاد ۱۱ جدایه زنگ زرد از سال زراعی ۸۴-۸۳ برای ژنهای *YrA*, *Yr6*, *Yr7*, *Yr9*, *Yr10*, *Yr24*, *Yr27*, *YrCV*, *YrSD* و *YrSu* و *Yr2* و *YrND* بیماری‌زایی گزارش شده، بیشترین فراوانی بیماری‌زایی برای ژنهای *Yr2*, *Yr6*, *Yr7*, *Yr9* و *Yr24* و *YrA* مشاهده شد (۶). در گذشته تعیین تنوع ژنتیکی قارچ‌ها منحصراً به کمک تعیین نژاد و بر پایه استفاده از گروهی از

غیربیماریزا روی ژن مقاومت *Yr1* متمایز شدند. آنها یک ارتباط ضعیف اما مهم بین بیماریزایی و گروههای RAPD شناسایی نمودند. این نتایج همچنین نشان داد که که پلی مورفیسم DNA مستقل از بیماریزایی است.

لوریس و همکاران (۱۷) تنوع ژنتیکی جمعیت‌های *P. striiformis* f.sp. *tritici* را در طی اپیدمی‌های طبیعی به کمک نشانگر AFLP و چهار ترکیب آغازگر مطالعه نمودند. در این تحقیق ۶۷ مارکر پلی مورفیک برای ۲۴۷ جدایه آزمایش شده ردیابی گردید. در این مطالعات هیچ ارتباطی بین الگوی AFLP و پاتوتیپ‌ها وجود نداشت. هافمولر و همکاران (۱۳) مهاجرت اوردینوسپوره‌های *P. striiformis* f.sp. *tritici* را در شمال غرب اروپا بین کشورهای دانمارک، فرانسه، انگلستان و آلمان بر اساس نشانگر AFLP بررسی کردند. مجموعاً ۲۸ باند پلی مورفیک AFLP ردیابی و بر این اساس ۲۰ گروه فنوتیپی AFLP شناسایی شد. آنالیز تنوع AFLP نشان داد که قارچ به فراوانی بین انگلستان، آلمان، فرانسه و دانمارک مهاجرت می‌نماید. استیل و همکاران (۲۲) با استفاده از نشانگرهای مولکولی AFLP و به کمک شش ترکیب آغازگر بر اساس *PstI-MseI* تنوع ژنتیکی *P. striiformis* f.sp. *tritici* را بررسی نموده تئوری جهش گام به گام و تکامل بیمارگر به دنبال اولین جهش را تایید نمود. جوستسن و همکاران (۱۶) تنوع ژنتیکی *P. striiformis* f.sp. *tritici* را در دانمارک با ارزیابی شدت بیماریزایی و نشانگر AFLP بررسی نمودند. در این بررسی به کمک ۲۱ ترکیب آغازگر *PstI/MseI*، ۲۸ نشانگر AFLP شناسایی شده که ۱۶ فنوتیپ AFLP را در بین ۷۶ جدایه آشکار ساخت. نتایج با رفتار یک بیمارگر کاملاً غیرجنسی که توسط اسپوره‌های هوازاد در یک منطقه جغرافیایی وسیع پخش می‌شود همخوانی داشت.

در تحقیق حاضر علاوه بر تعیین نژاد جدایه‌های ایرانی قارچ عامل زنگ زرد با استفاده از ارقام استاندارد جهانی و

ارقام افتراقی استوار بود. گرچه این روش مزایا و معایب خاص خود را داشت ولی در جای خود به عنوان بهترین و مهمترین روش برای تعیین تفاوت ژنتیکی جمعیت‌های قارچ محسوب می‌شد. با ابداع روشهای مولکولی مبتنی بر DNA، شناسایی ژنوتیپ قارچ‌ها دچار تحول گردید. تحقیقات نشان داده است روش انگشت نگاری DNA، ابزاری قدرتمند برای تعیین تنوع ژنتیکی جدایه‌های قارچ‌ها می‌باشد. با استفاده از این تکنیک جمعیت‌های متعددی از قارچ عامل زنگ زرد گندم در نقاط مختلف دنیا مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفته و ابهامات آزمایشهای بیماریزایی برطرف گردیده است. این روش توانایی محققین را در گروهبندی ژنوتیپ‌های قارچ مزبور به‌طور فزاینده‌ای بالا برده است. عیب اساسی تکنیک‌های مولکولی پر هزینه بودن آنها می‌باشد، لذا گرچه نتایج حاصل از این تکنیک‌ها به علت تجزیه و تحلیل DNA بسیار به واقعیت نزدیک است ولی هزینه زیاد، به کارگیری آنها را دچار محدودیت می‌کند.

نشانگر AFLP^۱ به عنوان یک نشانگر مولکولی DNA مبتنی بر PCR کاربرد زیادی در مطالعات مولکولی داشته است. نشانگر AFLP برای مطالعه جمعیت‌های قارچی با تنوع ژنتیکی پائین بسیار مناسب است چرا که مارکرهای تکرار پذیر کافی فراهم می‌نماید (۱۳). در سالهای اخیر با توسعه روش‌های مبتنی بر DNA، بررسی ساختار ژنتیکی جمعیت‌های زنگ زرد گندم و مطالعه تنوع ژنتیکی *P. striiformis* f.sp. *tritici* توسط دانشمندان مختلف انجام شده است. چن و همکاران (۱۱) جزء اولین کسانی بودند که از مارکرهای مولکولی برای تعیین ساختار جمعیت قارچ عامل بیماری زنگ زرد گندم استفاده نمودند. آنها در بررسی ۱۱۵ جدایه، پلی مورفیسم DNA را بین نژادها نشان دادند. با تجزیه و تحلیل نتایج RAPD^۲ و کلاستر بندی آنها جدایه‌های بیماریزا روی ژن مقاومت *Yr1* از جدایه‌های

1 - Amplified Fragment Length Polymorphism

2 - Random Amplified Polymorphic DNA

بیماریزایی و ۶-۰ به عنوان غیر بیماریزایی در نظر گرفته شدند.

برای استخراج DNA با ساییدن اسپورها^۱ داخل بافر استخراج و به کمک ترکیب فنل-کلروفورم-ایزوامیل الکل تخریب دیواره سلولی انجام گرفت. پانزده میلی گرم یوردینیوسپور به تیوب های ۲ml اضافه و به اندازه حجم اسپور خرد شده سنگ های استریل سیلیکون به تیوب اضافه گردید. ۲۰۰ میکرولیتر بافر استخراج شامل Tris-Hcl (۱۰۰ میلی مولار)، EDTA (۲۰ میلی مولار) و NaCl (۰/۸ مولار) به تیوب ها اضافه شد. پس از اضافه کردن یک میکرولیتر مرکاپتواتانول با استفاده از یک دسته هاون کوچک^۲ پلاستیکی استریل اسپورها داخل لوله سائیده شدند. مجدداً ۳۰۰ میکرولیتر بافر استخراج به تیوب ها اضافه شده و پس از یک ورتکس ۳۰ ثانیه ای، تیوب ها در ۶۵ درجه سانتیگراد به مدت یک ساعت نگهداری شدند. سپس DNA طی چندین مرحله سانتریفوژ به روش لوریس و همکاران (۱۷) استخراج و برای حذف RNA، ۲ میکرولیتر RNase به این محلول اضافه و به مدت یک ساعت در دمای ۳۷^۰C نگهداری شد. DNA استخراج شده در ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری گردید.

آزمون AFLP با روش لوریس و همکاران (۱۷) با اندکی تغییر انجام گردید. برای این واکنش از آنزیم های برشی^۳ *EcoRI* و *MseI* ساخت شرکت Biolabs استفاده شد. واکنش جوش با اضافه شدن توالی های دو رشته ای آداپترهای^۴ *EcoRI* و *MseI* که متناظر با محل های برش^۵ *EcoRI* و *MseI* هستند به محلول قطعات برشی انجام گردید. واکنش PCR اولیه^۶ به کمک آغازگرهای

اروپائی، تنوع ژنتیکی جدایه ها با استفاده از تکنیک AFLP و ارتباط بین نژادهای فیزیولوژیک و گروه های انگشت نگاری DNA مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها

در سال زراعی ۸۵-۸۴، مجموعاً ۸۵ جدایه *P. striiformis* f.sp. *tritici* از مناطق شیوع زنگ زرد گندم شامل استانهای فارس، خوزستان، خراسان (شمالی و رضوی)، گلستان، مازندران، تهران، قزوین، همدان، ایلام، کرمانشاه، اردبیل و شهرستان ایرانشهر جمع آوری شد (جدول ۱). به محض وصول نمونه ها به گلخانه در اولین فرصت نسبت به مایه زنی مصنوعی نمونه ها اقدام شد. در کلیه مراحل تکثیر، گندم رقم بولانی به عنوان رقم حساس مورد استفاده قرار گرفت. عمل مایه زنی با مالیدن برگ های آلوده به سطوح برگ گیاهچه ها انجام گرفت. معمولاً ۱۲-۱۰ روز بعد از مایه زنی اولین علائم به شکل لکه های رنگ پریده در سطح برگ های تلقیح شده نمایان شدند و ۳ تا ۴ روز بعد اسپورها تولید شده و قابل جمع آوری بودند. پس از خشک کردن اسپورها در دسیکاتور حاوی سیلیکاژل و قرار دادن آنها در تیوب های پلاستیکی ویژه، تیوب ها تا زمان استفاده در فریزر با دمای ۸۰^۰C- نگهداری شدند.

تعیین نژاد به روش جانسون و همکاران (۱۵) و با اصلاحات پیشنهادی و لینگر و مکینتاش (۲۳) صورت گرفت. به منظور تعیین نژاد جدایه ها، از ارقام استاندارد افتراقی جهانی و اروپایی به علاوه ارقام تکمیلی استفاده گردید. پس از مایه زنی ارقام استاندارد با اسپورهای به دست آمده از هر جدایه، یادداشت برداری بر اساس روش مک نیل و همکاران (۱۹) در دو نوبت ۱۴ و ۱۷ روز بعد از مایه زنی انجام شد. گروه بندی بیماریزایی و غیر بیماریزایی هر جدایه بر اساس روش جانسون و همکاران (۱۵) و استابز (۲۲) صورت گرفت که در این روش تیپ های آلودگی ۹-۷ به عنوان

1 - Grinding method
2 - mini-pestle
3 - Restriction Enzymes
4 - Adapters
5 - Restriction Sites
6 - Pre-amplification PCR

نرم افزار NTSYS 2.11 و به روش UPGMA و بر اساس ضریب SM انجام گرفت. همچنین تجزیه و تحلیل داده‌ها با محوریت جمعیت‌ها به کمک نرم افزار Popgene 3.1 و به روش UPGMA بر اساس ضریب Nei انجام شد.

نتایج و بحث

در این تحقیق برای ژنهای *Yr1*, *Yr2*, *Yr4*, *Yr6*, *Yr7*, *Yr8*, *Yr9*, *Yr10*, *Yr19*, *Yr22*, *Yr23*, *Yr24*, *Yr SD*, *Yr* ND, *Yr* SU, *Yr* CV, *Yr* SP و *Yr* A ویرولانس دیده شد (جدول ۱). برای ژنهای *Yr5* و *Yr3* موجود در ارقام تجاری ویرولانس دیده نشد (شکل ۱). بیشترین بیماریزایی برای ژنهای *Yr2*, *Yr4*, *Yr7* و *Yr24* مشاهده گردید (شکل ۱). مجموعاً ۳۵ نژاد فیزیولوژیک شناسایی شد که نژاد 178EOA با هفت عضو فراوانترین نژاد بود. نژاد *64E241A⁺* با ۵ عضو در رتبه بعدی قرار گرفت. اکثر جدایه‌ها بر روی ژن مقاومت *Yr1* در رقم Chinese 166 بیماریزایی نداشته و فقط جدایه‌های *Ilam*، *Safi3 Ahvz.H*، *Ghazvin* نسبت به این ژن بیماریزایی نشان دادند. بر روی ژن *Yr2* که به صورت ژن مقاومت تک ژنی در رقم *Heines Kolben* وجود دارد، حدود ۹۴ درصد جدایه‌ها بیماریزایی نشان دادند. رقم *Heines PEKO* که دارای ژنهای مقاومت *Yr2* و *Yr6* است نسبت به ۳۷ جدایه حساسیت نشان داد. با توجه به عکس العمل حساسیت رقم تکمیلی *Kalyansona* با ژن *Yr2* به همین جدایه، بیماریزایی برای ژن *Yr2* و *Yr6* محرز شد. عکس العمل حساسیت رقم Lee از ارقام استاندارد افتراقی جهانی با ژن *Yr7* نسبت به اکثر نژادها، نشان دهنده بیماریزایی برای ژنهای *Yr23* و *Yr22* نیز می باشد (۱۱). بنا به اظهار نظر استابیز (۲۲) برای ژن *Yr7* در مقیاس جهانی بیماریزایی مشاهده شده است. این اظهار نظر بر اساس تحقیقات ایشان و عکس العمل رقم Lee به *P.striiformis*

EcoRI+0 (5'GTAGACTGCGTACCAATTC 3') و *MseI+0* (5' GACGATGAGTCCTGAGTAA 3') صورت پذیرفت. جهت تکثیر DNA از ترموسایکلر مدل Bio-Rad استفاده گردید. واکنش PCR انتخابی^۱ به کمک چهار آغازگر *EcoRI+2* به نامهای *EcoRI+AG*، *EcoRI+AC*، *EcoRI+GC*، *EcoRI+GT* و *EcoRI+GT* (5'GACTGCGTACCAATTCAG 3')، (5'GACTGCGTACCAATTCAC 3')، (5'GACTGCGTACCAATTCGC 3') و (5'GACTGCGTACCAATTCGT 3') و چهار آغازگر *MseI+2* به نامهای *MseI+AC*، *MseI+AG*، *MseI+AA*، *MseI+AA* (5'GATGAGTCCTGAGTAAAG 3')، (5'GATGAGTCCTGAGTAAAA 3') و *MseI+GT* (5'GATGAGTCCTGAGTAAAGT 3') انجام شد.

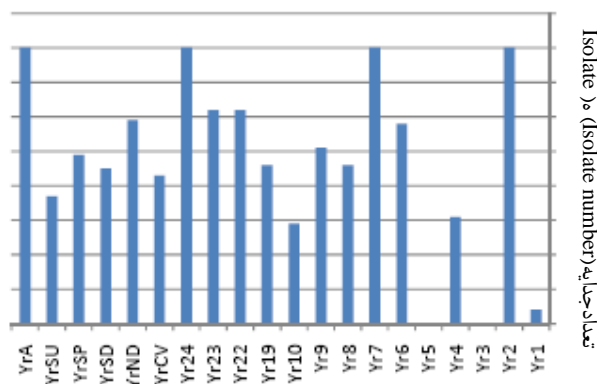
چهار ترکیب پرایمری A، B، C و D به ترتیب *EcoRI+GC*، *EcoRI+GT*، *MseI+AG*، *MseI+AA* در این تحقیق استفاده شدند. قطعات DNA محصولات واکنش PCR انتخابی روی ژل تفکیک کننده پلی اکریل آمید^۲ ۶/۵ درصد بررسی شدند. مدت الکتروفورز (Sequigen Bio-) (Rad) برای تمام نمونه‌ها ۲ ساعت با ولتاژ ۱۸۰۰، شدت جریان ۲۰۰ میلی آمپر و ۷۵ وات بود. رنگ آمیزی ژل پلی اکریل آمید با نیترات نقره^۳ بر طبق قرارداد Promega با تغییراتی انجام شد.

پس از ظهور ژل باندهای واضح و تکرار پذیر حد فاصل ۱۰۰ تا ۷۰۰ جفت باز به عنوان نشانگر در نظر گرفته شدند. برای باندهای هم ردیف وزن مولکولی نشانگر، عدد ۱ و عدم وجود آن عدد ۰ اختصاص داده شد و با استفاده از نرم افزار Excel ثبت شدند. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از

1 - Selective PCR
2 - Polyacrylamide denaturing gel
3 - Silver staining

به همراه یک ژن ناشناخته دیگر در رقم Riechersberg 42 از ارقام استاندارد افتراقی اروپایی دیده می شود.

f.sp.tritici استوار است. لذا می توان چنین نتیجه گیری کرد که برای دو ژن *Yr23* و *Yr22* نیز در مقیاس جهانی بیماریزایی وجود دارد. علاوه بر رقم Lee، ژن مقاومت *Yr7*



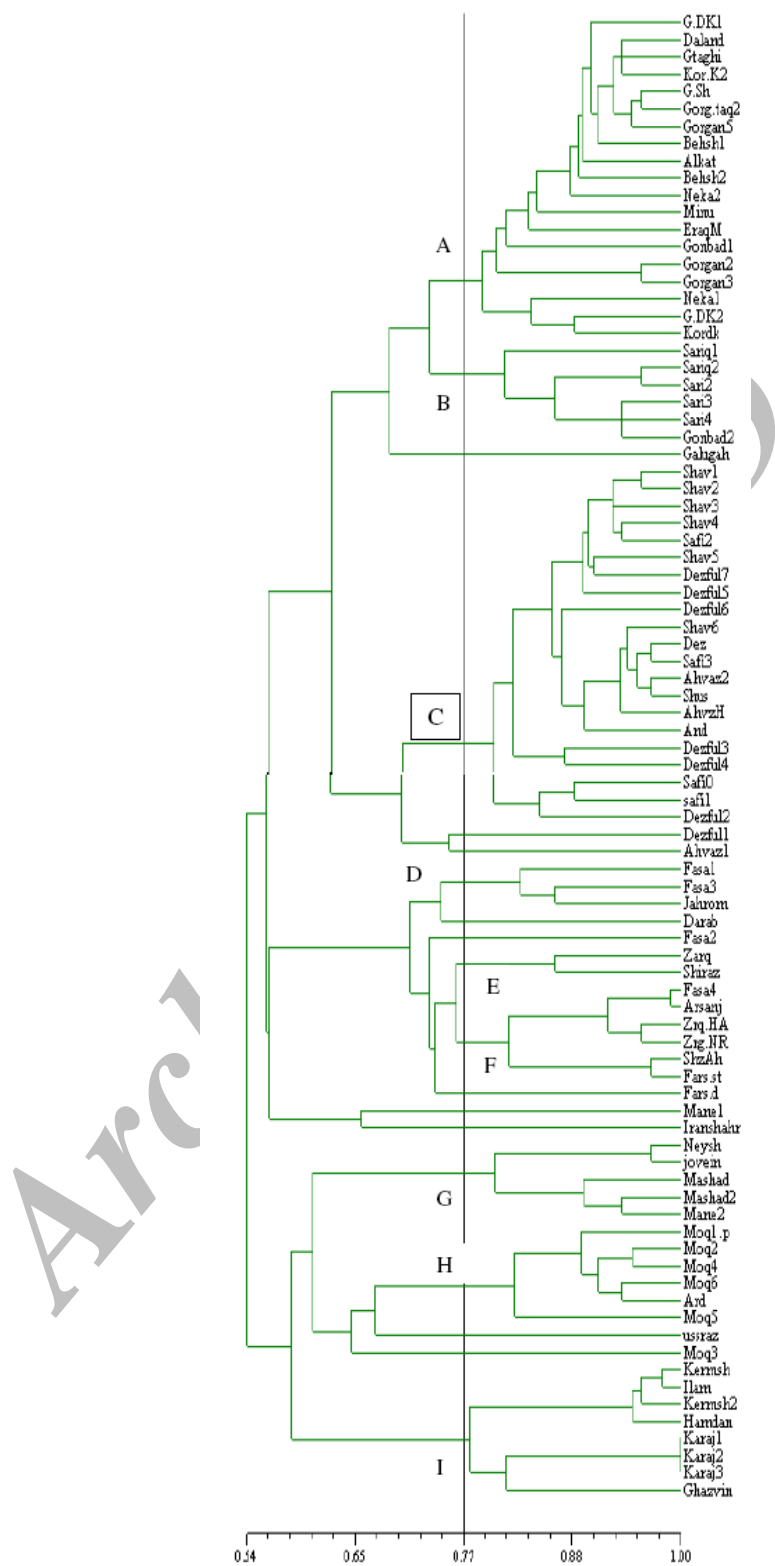
شکل ۱- فراوانی جدایه های بیماریزا روی ژنهای Yr

YrSU کمترین فراوانی را داشتند. نژادهای فیزیولوژیک موجود در این گروه در سایر گروههای انگشت نگاری AFLP نیز وجود دارد. بنابراین بر اساس نتایج به دست آمده نتوانستیم بین گروههای AFLP و نژادهای فیزیولوژیک ارتباطی برقرار نماییم.

گروه B نیز جدایه های مازندران و گلستان را شامل می شود که به ۵ نژاد مختلف تعلق دارند. وجود نژادهای های مشترک در این دو گروه و کم بودن تنوع ژنتیکی بین جدایه های این دو استان احتمالاً به علت افزایش امکان تبادلات ژنتیکی بین جدایه های استانهای مذکور است. به عبارت دیگر جریان ژنی باعث یکدست شدن ژنوتیپها در این دو استان شده است. شرایط آب و هوایی تقریباً مشابه و ارقام گندم شبیه به هم از دلایل دیگر وجود جمعیت های تقریباً مشابه عامل زنگ زرد است.

به علت فراوانی کم بیماریزایی نسبت به *Yr4* و *YrSU* به نظر می رسد استفاده از این ژنهای مقاومت به علاوه *Yr1*، *Yr3* و *Yr5* در ارقام قابل کشت در کمربند شمالی کشور مفید باشد.

برای ژن *Yr8* در بسیاری از مناطق کشور ویرولانسی مشاهده شد. ویرولانسی برای این ژن قبلاً در سالهای زراعی ۷۸-۷۷ و ۷۸-۷۹ نیز گزارش شده است (۳ و ۴). ژنوتیپ Copmair علاوه بر *Yr8* دارای ژن مقاومت *Yr19* نیز می باشد. بنابراین ویرولانسی بر روی این ژنوتیپ موید ویرولانسی بر *Yr19* نیز می باشد. آزمون AFLP باندهای مناسبی روی ژل پلی اکریل امید تولید نمود (شکل ۲). بر اساس نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل داده ها با نرم افزار NTSYS، در سطح ضریب شباهت ۷۷ درصد، کل جدایه ها در ۹ گروه اصلی A، B، C، D، E، F، G، H و I و همچنین ۱۰ گروه تک جدایه ای جای گرفتند (شکل ۲). بین مناطق جغرافیایی و گروههای انگشت نگاری AFLP ارتباط قابل توجهی وجود داشت. هر چند بین نژادها و گروههای AFLP ارتباط برجسته ای مشاهده نشد. در گروه A علاوه بر جدایه های استان گلستان، جدایه هایی از استان مازندران نیز وجود داشت. ۱۹ جدایه موجود در این گروه، متعلق به ۱۳ نژاد فیزیولوژیک و از روی ۷ رقم مختلف گندم جمع آوری شده بودند. در اعضای این گروه بیماریزایی نسبت به ژنهای مقاومت *Yr4* و



شکل ۲- دندروگرام حاصل از نتایج AFLP به کمک نرم افزار NTSYS به روش UPGMA و بر اساس ضریب تشابه SM

شش نژاد فیزیولوژیک برای آنها شناسایی شد. فقط جدایه Moq5 از منطقه مغان برای ژن *Yr10* بیماریزایی داشت.

گروه I جدایه‌های متعلق به کرج، قزوین و استانهای غربی را شامل شد. هشت جدایه مربوط به این گروه از روی چهار رقم گندم جمع آوری و شش نژاد برای آنها شناسایی شد. از ویژگی‌های مشترک جدایه‌های این گروه فراوانی نسبتاً کم بیماریزایی نسبت به ژنهای مقاومت *Yr4*، *YrSD* و *YrCV* است.

جدایه گلوگاه (Galugah) یک شاخه جداگانه به خود اختصاص داد. هر چند این جدایه از روی رقم تجن که برای سایر جدایه‌ها یا استانهای گلستان و مازندران مشترک است، جمع آوری شده بود ولی نژاد آن منحصر به فرد است. جدایه 1 Dezful نیز در سطح شباهت ۷۷٪ در شاخه جداگانه ای قرار گرفت. این جدایه از روی گندم رقم دوروم که یک رقم تتراپلوئید است جمع آوری شده بود. این جدایه بر روی اکثر ژنهای مقاومت ارقام افتراقی بیماریزایی بسیار کمی داشته و نژاد آن 4E15A+ شناسایی شد.

جدایه 1 Ahvaz نیز در شاخه جداگانه ای قرار گرفت. این جدایه در سطح شباهت ۷۵ درصد کاملاً شبیه به جدایه 1 Dezful بود هر چند از لحاظ رقم گندم و نژاد با آن کاملاً متفاوت است. جدایه Darab که به لحاظ جغرافیایی تفاوت قابل توجهی با سایر جدایه‌های استان فارس داشت در یک شاخه مجزا قرار گرفت. این جدایه از روی رقم داراب ۲ که ویژه مناطق گرمسیری است جمع آوری شده بود. مبدأ این رقم منطقه داراب است که در سال ۱۳۵۹ معرفی شده است. جدایه Fasa2 که از لحاظ نژاد فیزیولوژیک مشترکاتی با جدایه‌های گلستان، استانهای غربی و مازندران داشت نیز در شاخه مجزا جای گرفت. جدایه 1 Mane که از منطقه مانه و سملقان در استان خراسان شمالی جمع آوری شده است، در یک شاخه انفرادی دیده می‌شد. این جدایه از روی جو رقم و الفجر جمع آوری شده است.

در گروه C، ۲۱ جدایه استان خوزستان جای گرفتند. این جدایه‌ها متعلق به ۱۳ نژاد فیزیولوژیک مختلف بوده و از روی ۸ رقم متفاوت گندم جمع آوری شده بودند. اصلی‌ترین نژاد فیزیولوژیک شناسایی شده در این گروه 178EOA⁻ است که به غیر از جدایه ایرانشهر در گروه‌های دیگر وجود نداشت. نکته دیگر عدم بیماریزایی ۹ جدایه این گروه بر روی ارقام استاندارد جهانی و برخی ارقام تکمیلی است. از ویژگی‌های مشترک جدایه‌های این گروه فراوانی نسبتاً کم بیماریزایی نسبت به ژنهای مقاومت *Yr4*، *Yr10*، *YrCV* و *YrSP* است بنابراین استفاده از این ژنهای مقاومت به علاوه *Yr1*، *Yr3* و *Yr5* در ارقام قابل کشت در خوزستان باید مورد توجه قرار گیرد. جدایه‌های استان فارس تنوع ژنتیکی بالایی داشته و سه گروه جداگانه D، E و F و سه شاخه انفرادی را در خود جای داده‌اند. در گروه D سه جدایه، از روی سه رقم مختلف از منطقه فسا و جهرم جمع آوری شده و از سه نژاد متفاوت بودند. اعضای این گروه روی ژنهای *YrSU* و *YrSP*، *Yr1*، *Yr3* و *Yr5* بیماریزایی بودند. دو جدایه گروه E از لحاظ نژاد با جدایه‌های گروه D متمایز بودند. گروه F با بیشترین جدایه، از روی ۵ رقم مختلف جمع آوری و در آزمون تعیین نژاد تحت پنج نژاد مختلف شناسایی شدند. در این گروه برای ژنهای *Yr4*، *Yr10*، *YrSU*، *Yr1*، *Yr3* و *Yr5* بیماریزایی مشاهده شد. در مجموع ۱۴ جدایه استان فارس جمع آوری شده روی متعلق هشت رقم گندم به ۱۳ نژاد مختلف تعلق داشتند.

در گروه G پنج جدایه استانهای خراسان شمالی و رضوی متعلق به چهار نژاد بوده و از روی سه رقم جمع آوری شده بودند. از ویژگی‌های مشترک جدایه‌های این گروه عدم بیماریزایی نسبت به ژنهای مقاومت *Yr8* و *Yr19* است.

در گروه H جدایه‌های استان اردبیل قرار دارند. شش جدایه مورد بررسی از روی شش رقم مختلف گندم جمع آوری و

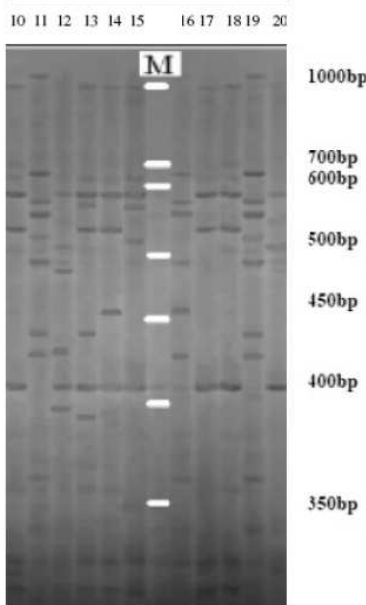
ادامه جدول ۱

Isolate	Cultivar	Location	Race	Race Phenotype*											AFLP Group									
Zarq	Chamran	Fars	179E251A*	-	-	-	4	-	-	7	8	9	10	19	-	-	24	CV	ND	-	SP	SU	A	E
Shiraz	Shiraz	Fars	38E82A*	-	2	-	-	-	6	7	8	9	-	19	22	23	24	CV	ND	SD	-	-	A	E
Fars.d	Falat	Fars	100E79A*	-	2	-	4	-	6	7	-	9	10	-	-	-	24	-	ND	SD	SP	-	A	single6
Mane 1	Vafaj	Khorasan	132E48A*	-	2	-	-	-	6	7	-	9	-	-	-	-	24	CV	ND	-	-	-	A	Single 7
Iranshahr	Line	Baluchestan	178E0A*	-	2	-	-	-	7	8	9	-	19	22	23	24	-	-	SD	-	SU	-	Single8	
Neysh	Roshan	Khorasan	222E79A*	-	2	-	4	-	6	7	-	9	10	-	22	23	24	-	ND	SD	SP	-	A	G
Jovein	Navid	Khorasan	190E40A*	-	2	-	-	-	7	-	9	10	-	22	23	24	CV	ND	-	-	-	A	G	
Mashad	Navid	Khorasan	198E239A*	-	2	-	4	-	6	7	-	9	-	-	-	-	24	CV	ND	-	SP	SU	A	G
Mashad2	Toos	Khorasan	222E79A*	-	2	-	4	-	6	7	-	9	10	-	22	23	24	-	ND	SD	SP	-	A	G
Mane2	Navid	Khorasan	190E283A*	-	2	-	4	-	6	7	-	9	-	-	22	23	24	CV	-	-	SP	SU	A	G
Moq1.p	Alvand	Ardebil	192E239A*	-	2	-	4	-	6	7	-	9	-	-	-	-	24	CV	ND	-	SP	SU	A	H
Moq2	Shahrar	Ardebil	290E254A*	-	2	-	-	-	6	7	8	9	-	19	22	23	24	CV	ND	SD	SP	SU	A	H
Moq4	Falat	Ardebil	190E283A*	-	2	-	4	-	6	7	-	9	-	-	22	23	24	CV	-	-	SP	SU	A	H
Moq6	Sabalan	Ardebil	188E223A*	-	2	-	4	-	6	7	8	9	-	19	22	23	24	-	ND	SD	SP	-	A	H
Ard	Sabalan	Ardebil	192E239A*	-	2	-	4	-	6	7	-	9	-	-	-	-	24	CV	ND	-	SP	SU	A	H
Moq5	Falat	Ardebil	190E179A*	-	2	-	4	-	6	7	-	9	10	-	-	-	24	-	ND	SD	SP	-	A	H
Moq3	Bulan	Ardebil	68E06A*	-	-	-	-	-	7	-	9	-	-	22	23	24	-	-	-	-	SP	SU	A	Single10
Kermsh	Pishaz	Kermanshah	71E206A*	-	2	-	-	-	6	7	8	9	10	19	22	23	24	-	ND	SD	SP	-	A	I
Ilam	Shiraz	Ilam	67E90A*	-	2	-	-	-	7	8	9	10	19	22	23	24	-	ND	-	SP	SU	-	I	
Kermsh2	Shiraz	Kermanshah	179E251A*	-	-	-	4	-	7	8	9	10	19	-	-	-	24	CV	ND	-	SP	SU	A	I
Hamadan	Alvand	Hamadan	64E241A*	-	2	-	-	-	6	7	8	9	10	19	22	23	24	-	ND	-	-	-	A	I
Karaj1	Bulan	Tehran	134E140A*	-	2	-	-	-	6	7	-	9	-	-	22	23	24	-	ND	-	-	-	A	I
Karaj2	Bulan	Tehran	34E73A*	-	2	-	-	-	6	7	8	9	-	19	22	23	24	CV	ND	SD	-	-	A	I
Karaj3	Bulan	Tehran	34E72A*	-	2	-	-	-	6	7	8	9	-	19	22	23	24	CV	ND	SD	-	-	A	I
Ghazvin	Alvand	Ghazvin	67E90A*	-	2	-	-	-	7	8	9	10	19	22	23	24	-	ND	-	SP	SU	-	I	

*- ویروالانس به 1= Yr1، 2= Yr2، 3= Yr3، 4= Yr4، 5= Yr5، 6= Yr6، 7= Yr7، 8= Yr8، 9= Yr9، 10= Yr10، 19= Yr19، 22= Yr22، 23= Yr23، A= YrA

، CV=CV، YrND=ND، YrSD=SD، YrSP=SP، YrSU=SU، Yr24=24 - عدم ویروالانس "

تک جدایه Iranshahr متعلق به استان سیستان و بلوچستان با جدایه 1 Mane شباهت کامل داشت. در شهرستان که از روی لاینهای آزمایشی مرکز تحقیقات کشاورزی ایران شهر به علت شرایط آب و هوایی ویژه، ظهور زنگ بلوچستان جمع آوری شده بود، در سطح شباهت ۶۶ درصد زرد گندم به ندرت اتفاق می افتد.



شکل ۲- نقوش الکتروفورزی AFLP بر روی ژل پلی اکریل آمید بر اساس ترکیب آغازگر EcoRI + GT - MseI + GT متعلق به ۱۱ جدایه

- Puccinia striiformis* f.sp. *tritici*
- 10- EraqM
 - 11- Sariq1
 - 12- Sariq2
 - 13- Gorgan2
 - 14- G Taqi
 - 15- gonbad1
 - 16- G.Sh
 - 17- Kor.K2
 - 18- Sari2
 - 19- Gorgan3
 - 20- Gorgan.Taq2

جدول ۲- شباهت و فاصله ژنتیکی* جمعیت‌های مورد مطالعه بر اساس ضریب Nei

Pop ID	Golestan	Fars	Khorasan	West/Nwest	Khuzestan	Mazandaran	Tehran/ Qazvin
Golestan	****	0.64	0.69	0.68	0.7	0.92	0.59
Fars	0.44	****	0.69	0.78	0.76	0.67	0.6
Khorasan	0.37	0.38	****	0.84	0.77	0.65	0.67
West/Nwest	0.38	0.25	0.17	****	0.77	0.66	0.74
Khuzestan	0.26	0.27	0.27	0.25	****	0.72	0.65
Mazandaran	0.08	0.4	0.43	0.41	0.32	****	0.56
Tehran/Qazvin	0.53	0.51	0.4	0.29	0.42	0.58	****

* Nei's genetic identity (above diagonal) and genetic distance (below diagonal).

احتمالاً نقش جریان ژنی در کاهش تنوع ژنتیکی و به عبارت دیگر همسان سازی جمعیت‌ها را پررنگ نماید (جدول ۲). در تحقیق حاضر ۹۷ جایگاه ژنی پلی مورفیک با به کارگیری چهار ترکیب پرایمری (۳۰/۹۷ درصد) پیدا شد که با نتایج AFLP برای سایر قارچها سازگار است (۱۸). تحقیقات نشان داده است که انتخاب جدایه‌ها، ترکیب آغازگرها و تعداد این ترکیب‌ها در نتایج آزمون AFLP تاثیر به سزایی دارد. مثلاً در تحقیق لوریس و همکاران (۱۷) که ۲۴۷ جدایه *P. stiiiformis* f.sp. *tritici* را مورد تحقیق قرار دادند ۱۸۹ جدایه، الگوی بانندی کاملاً مشابه داشتند، چرا که جدایه‌ها فقط از چندین مزرعه و از روی یک رقم جمع آوری شده بودند. در شرایط مزرعه ای و به خصوص در ارقام هموزن تنوع قابل ملاحظه ای قابل انتظار نیست. در تحقیق حاضر جدایه‌ها از ۵۲ منطقه مختلف ایران مربوط به ۱۳ استان کشور و ۲۵ رقم متفاوت جمع آوری شده بودند. از طرفی وجود تنوع ژنتیکی پائین در داخل جمعیت‌ها نیز احتمال وقوع جریان ژنی را تحت تاثیر عوامل جوی مانند باد و انسان در فواصل نزدیک به هم پررنگ می نماید. وجود تنوع ژنتیکی قابل قبول در جدایه‌های ایرانی بی تاثیر از جایگاه ایران به عنوان خاستگاه گندم و فراوانی خویشاوندان ژنتیکی میزبان نیست. وجود میزبانهای وحشی زنگ زرد گندم نیز یکی از فاکتورهای موثر در ژنتیک جمعیت زنگ زرد گندم می باشد. گودوین (۱۲) نشان داد که تنوع ژنتیکی *Phytophthora infestans* در مکزیک به

نژاد این جدایه در استان خوزستان نیز شناسایی شده است. جدایه Moq3 از روی رقم فوق العاده حساس بولانی جمع آوری شده بود، و در سطح ۶۵ درصد شباهت از سایر جدایه‌های استان اردبیل جدا شده و یک شاخه انفرادی را به خود اختصاص داده بود. بیماریزایی برای ژنهای *Yr2*، *YrA* و *Yr7, Yr24* تقریباً در همه جای کشور مشاهده شد که در صورت تایید نهایی این ژنها باید از برنامه به نژادی کنار گذاشته شوند.

نتایج AFLP با محوریت جمعیت‌ها به کمک نرم افزار Popgene3.1 به روش UPGMA و ضریب شباهت Nei بررسی شده و شباهت ژنتیکی و فاصله ژنتیکی جمعیت‌های مورد مطالعه به شرح جدول ۲ می باشد.

نتایج به دست آمده از این تحقیق نشان می دهد که شباهت ژنتیکی اکثر اعضای جمعیت‌ها با جمعیت غرب و شمال غرب (شامل استانهای ایلام، همدان، کرمانشاه و اردبیل) بیشتر از ۶۵ درصد است (جدول ۲) که احتمالاً جریانات مدیترانه ای و سودانی در نقل و انتقال اسپورها در ایران نقش داشته است و می تواند با وجود شرایط مناسب نهایتاً جریان ژنی به وقوع پیوسته باعث نزدیکی ژنتیکی جمعیت‌ها شده باشد.

با توجه به اینکه شباهت ژنتیکی جمعیت‌های مازندران با جمعیت‌های گلستان ۹۲ درصد است به نظر می رسد که این دو جمعیت یک دودمان کلونال را تشکیل دهند. وجود ارقام یکسان در این دو منطقه، شرایط آب و هوایی نزدیک به هم

محصول تک تک جهش‌هایی است که طی سالیان مختلف رخ داده است. سپس این جهش‌ها تحت فشار انتخابی میزبان قرار گرفته برخی با میزبان سازش پیدا نموده و منبع مایه تلقیح جدید می گردند. برخی از جهش یافته‌ها به کمک جریان‌ات هوایی به مناطق دیگر منتقل شده و ممکن است مسیر تکاملی متفاوتی را نسبت به مایه تلقیح اولیه طی نمایند. به‌طور خلاصه نتایج این تحقیق ضمن تایید نشانگر AFLP به عنوان یک تکنیک بسیار قدرتمند در مطالعه ژنتیک جمعیت نشان داد که کشت ارقام متفاوت در سالهای گذشته در مناطق مختلف کشور در ژنتیک جمعیت بیمارگرها تاثیر گذاشته است و تنوع ژنتیکی قابل ملاحظه‌ای در ایران وجود دارد. هر چند تنوع زیاد شانس ایجاد یک نژاد خطرناک را بیشتر می نماید ولی از طرف دیگر پرهیز از کشت ارقام هموزن در تمام نقاط کشور، امکان شیوع اپیدمی‌های ویرانگر را به حداقل رسانده است.

سپاسگزاری

از آقای پروفسور ژن شن کانگ به خاطر کمک در انجام تحقیقات مولکولی و همچنین سرکارخانم معصومه طلایی و سرکار خانم زهره بیات به خاطر کمک در انجام تحقیقات گلخانه ای نهایت تشکر را داریم.

عنوان خاستگاه اولیه سیب زمینی، بسیار بیشتر از تنوع مشاهده شده در ایرلند، حتی پس از اپیدمی شدید بیماری است. با توجه به تنوع ژنتیکی مشاهده شده برای جمعیت‌های عامل زنگ زرد گندم ایران، اهتمام به کشت ارقام با ژنهای مقاومت متفاوت به‌ویژه در مناطقی که بین جدایه‌های بررسی شده در آن مناطق شباهت ژنتیکی بیشتری وجود داشت، می تواند از طغیان بیمارگر تاحد زیادی جلوگیری نماید. نتایج نشان می دهد که آزمون AFLP کارائی بسیار بالایی در تعیین تنوع ژنتیکی جدایه‌ها داشته است.

توجه به این نکته ضروری است که آنچه در تحقیق حاضر به آن پرداخته شده است، مربوط به ۸۶ جدایه انتخابی از ۲۸۶ جدایه اولیه است که سعی شده حتی الامکان تفاوت‌های قابل ملاحظه ای با هم داشته باشند و از آزمون همزمان جدایه‌هایی که ویژگیهای بیماریزایی، جغرافیایی یا میزبانی یکسان داشتند اجتناب شود. هر چند نمونه برداری در طی یک فصل زراعی از نقاط مختلف ایران انجام شده است.

بدیهی است که نژادهای به‌دست آمده و همچنین این گروههای AFLP نتیجه تکامل همزمان بیمارگر و میزبان طی سالیان متوالی بوده است. برای بیمارگرهایی مانند زنگ زرد گندم که تکامل میزبان - بیمارگر به علت تغییر متناوب ژنهای مقاوم گیاه میزبان بسیار قوی است، تکامل جمعیت می تواند همراه با جهش تصادفی از غیر بیماریزایی به بیماریزایی باشد و به نظر می رسد که جمعیت‌های جدید

منابع

- ۱- واحد پاتولوژی غلات. ۱۳۷۳. گزارش تحقیقات انجام شده در مورد زنگ زرد گندم ۱۳۷۳-۱۳۷۲. بخش تحقیقات غلات. مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر. کرج.
- ۲- واحد پاتولوژی غلات. ۱۳۷۶. گزارش بیماریهای غلات، سال زراعی ۷۶-۷۵. بخش تحقیقات غلات. مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر. کرج.
- ۳- واحد پاتولوژی غلات. ۱۳۷۸. گزارش بیماریهای غلات، سال زراعی ۷۸-۷۷. بخش تحقیقات غلات. مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر. کرج.

- ۴- واحد پاتولوژی غلات. ۱۳۷۹. گزارش بیماریهای غلات، سال زراعی ۷۸-۷۹. بخش تحقیقات غلات. مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر. کرج.
- ۵- واحد پاتولوژی غلات. ۱۳۸۰. گزارش بیماریهای غلات، سال زراعی ۸۰-۸۱. بخش تحقیقات غلات. مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر. کرج.
- ۶- واحد پاتولوژی غلات. ۱۳۸۴. گزارش بیماریهای غلات، سال زراعی ۸۳-۸۴. بخش تحقیقات غلات. مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر. کرج.
7. Allison, C. and Isenbeck, K. 1930. Biologische specialisierung von *Puccinia glumarum tritici* Erikss. und Henn. *Phytopathology Z.* 2: 87-98.
 8. Bamdadian, A. 1972. Physiologic races of *Puccinia striiformis* West. In Iran. In: The Proceeding of European and Mediterranean cereal rust Conference. Praha-Czechoslovakia. pp. 90-95.
 9. Bamdadian, A. 1984. Variation in pathogenicity and evolution of *Puccinia striiformis* West, f.sp. *tritici*. pp. 153-156 in: Iran during 1980-1984. Proceeding of the 6 th European and Mediterranean cereal rust Conference.
 10. Bayles, R. A., Flath, K., Hovmoller, M.S. and de Vallavieille-Pope, C. 2000. Breakdown of the Yr17 resistance to yellow rust of wheat in northern Europe. *Agronomie* 20: 805-811.
 11. Chen, X.M., Line, R.F., and Leung, H. 1993. Relationship between virulence variation and DNA polymorphism in *Puccinia striiformis*. *Phytopathology* 83: 1489-1497.
 12. Goodwin, S. B., Spielman, L. J., Matuszak, J. M., Bergeron, S. N. and Fry, W. E. 1992. Clonal diversity and genetic differentiation of *Phytophthora infestans* populations in northern and central Mexico. *Phytopathology* 82, 955-61.
 13. Hovmøller, M. S., Justesen, A. F. and Brown, J. K. M. 2002. Clonality and long-distance migration of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* in north-west Europe. *Plant Pathology* (London), 51: 24-32.
 14. Hungerford, C. W. and Owens, C. E. 1923. Specialized varieties of *Puccinia glumarum* and hosts for variety *tritici*. *J. Agriculture. Research.* (Washington, D.C.), 25: 363-401.
 15. Johnson, R., Stubbs, R.W., Fuchs, E. and Chamberlain, N. H. 1972. Nomenclature for physiologic races of *Puccinia striiformis* infecting wheat. *Trans. Br. Mycology. Society* 58: 475-480.
 16. Justesen, A. F., Ridout, C. J. and Hovmøller, M. S. 2002. The recent history of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* in Denmark as revealed by disease incidence and AFLP markers. *Plant Pathology* (London), 51: 13-23.
 17. Lorys, M., Villaréal, M. A., Lannou, C., de Vallavieille-Pope, C. and Neema, C. 2002. Genetic Variability in *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* Populations Sampled on a Local Scale during Natural Epidemics. *Applied Environmental Microbiology* 68(12): 6138-6145.
 18. Majer, D. Mithen, R., Lewis, B. G., Vos, P. and Oliver, R. P. 1996. The use of AFLP fingerprinting for the detection of genetic variation in fungi. *Mycological Research* 100, 1107-11.
 19. McNeal, F. H., Konzak, C.F., Smith, E. P., Tate, W.S., and Russel T.S. 1971. Uniform system for recording and processing cereal research data. United stae, Department of Agricultural Research Services, ARS, pp. 34-121.
 20. Nazari, K. 1998. Evaluation of resistance in bread wheat cultivars and advanced lines to wheat yellow rust at seedling and adult-plant stage and possible postulation of genotypes by gene for gene hypothesis. M.Sc. thesis. Tabriz University.
 21. Niemann, E., Scharif, G. and Bamdadian, A. 1968. Die getreide roste in Iran. *Wirtsbereich, untercheidung Bedeutung Bekämpfung. Entomologie et Phytopathologie Appliquees.* 27: 25-41.
 22. Steele, K. A., Humphreys, E., Wellings, C. R. and Dickinson, M. J. 2001. Support for the stepwise mutation model for pathogen evolution in Australian *Puccinia striiformis* f.sp. *tritici* by use of molecular markers. *Plant Pathology*, 50: 174-180.
 23. Stubbs, R. W. 1985. Stripe rust. In *Cereal rusts. Vol. II. Disease, distribution, epidemiology, and control.* Edited by A.P. Roelfs and W.R. Bushnell. Academic Press, New York. pp. 61-101.
 24. Wellings, C. R. and McIntosh, R. A. 1990. *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* in Australasia: pathogenic changes during the first 10 years. *Plant Pathology*, (Oxford), 39: 316-325.

Virulence and Molecular diversity in *Puccinia striiformis* f.sp. *tritici* from Iran

H.Rabbani –Nasab* - M. Okhovat- M.Torabi- M.Abbasi- J. Mozaffari¹

Abstract

To study Virulence and molecular polymorphism variation of *Puccinia striiformis* Westend. f.sp.*tritici* Eriks. (Yellow rust disease agent) in Iran, 86 isolates were collected from all around the country. Race determination was carried out according to Johnson *et al.* (1972) method. In addition, isolates were analyzed by AFLP method by Four primer combinations . According to the results of race determination, 35 Physiological races were identified. Race 178E0A⁻ with 7 members was the most frequent followed by Race 64E241A⁺ with 5 members. Virulence was not detected on the commercial cultivars having *Yr1*(Except for 4 Isolates), *Yr3*, and *Yr5* genes. Virulence for *Yr2*, *Yr24*, *Yr7* and *YrA* was detected in all around the country. In average for every Primer combination 78 bands were recorded that 30 percent of them were polymorphic. Analysis of data by NTSYS software grouped all isolates in 9 main groups as A, B, C, D, E, F, G, H and I, and 10 single isolates groups in 77% similarity coefficient. There was significant relationship between geographic origins and AFLP fingerprinting groups. However there were not certain relationship between races and these groups. Genetic similarity between most of populations and West/Northwest population (contain Ilam, Hamadan, Kermanshah and Ardebil provinces) was more than 65% . This similarity may be because of Sudanian and mediteranian flows in transferring of spors from Northwest of Iran to North and Southwest of Iran and concluded to a gene flow.

Key words: Wheat, Yellow rust, Virulence, Molecular Polymorphism, AFLP, Race

*- Corresponding author Email: hrabbani_wsr@yahoo.com

1- Contribution from Tehran University and Reserch of Plant Protection Institute of Country and Research of Seed and Plant breeding Institute Respectively