

شناسایی جدایه‌های *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* با بیماری‌زائی برای ژن مقاومت *Sr31* در استان‌های غربی ایران

Detection of Isolates of *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* Virulent to Sr31 Resistance Gene in Western Provinces of Iran

کیومرث نظری^۱، معصومه مافی^۲، محمود نصرالهی^۳، مهرداد چایچی^۴،
فرزاد افشاری^۱ و زهره حسن پیات^۱

تاریخ پذیرش: ۱۳۸۶/۱۲/۱۶

تاریخ دریافت: ۱۳۸۶/۷/۱۹

- به ترتیب مریمی، استادیار و تکنیسین، مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج
 - دانشجوی کارشناسی ارشد رشته بیماری شناسی گیاهی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران
 - مریمی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی لرستان، بروجرد
 - مریمی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی همدان

تاریخ دریافت: ۱۳۸۶/۷/۱۹ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۶/۱۲/۱۶

نظری، که، مافی، م، نصرالهی، م، چایچی، م، افشاری، ف، و حسینات، ز. ۱۳۸۷. شناسایی جدایه‌های *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* با سامانه اثرباره ای دن مقاومت *Sr31* در استان‌های غرب ایران. *نهاد و پدر*: ۲۴-۲۱۳-۲۰۷.

موقیت آمیز این بیماری در ۴۰ سال گذشته به طور معنی داری موجب کاهش خسارت بیماری و همچنین فعالیت های تحقیقاتی شده بود. حدود ۵۰ ژن مقاومت به زنگ سیاه شناسائی شده است که تعدادی از آن ها در ارقام گندم در سطح جهانی به کار گرفته شده اند. به استثنای ژن غیر اختصاصی بـه نـژاد $Sr2$ (Race non-specific) که باعث مقاومت تدریجی (Slow rusting) در مرحله گیاه کامل می شود، بقیه ژن های مقاومت

زنگ سیاه یا زنگ ساقه (Black stem rust) گندم با عامل (Black or stem rust) بیماری گندم در جهان روزگاری مخرب ترین بیماری گندم محسوب می‌شد. اهمیت این بیماری به دلیل ظهور آن در حدود سه هفته قبل از برداشت و انهدام کل محصول در مدت زمان کوتاه، قابل درک خواهد بود. این بیماری در یک قرن گذشته با به کار گیری ژن‌های مقاومت در ارقام تجاری کنترل شده است. کنترل

است که در سیستم نامگذاری آمریکای شمالی این نژاد TTKSK نام گذاری شده است. این نژاد در مدت کوتاهی به کشورهای کنیا (سال ۱۹۹۹-۲۰۰۲)، اتیوپی (۲۰۰۳) و نهایتاً به یمن (۲۰۰۶) مهاجرت کرد. مسیر مهاجرتی این نژاد با مسیر طی شده توسط نژاد پر آزار *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* در سال‌های ۱۹۸۶ تا ۱۹۹۱ کاملاً مشابه است. این نژاد زنگ زرد که از آفریقا به ایران در سال ۱۹۹۲-۳ مهاجرت کرد موجب بروز اپیدمی و خسارت ۱ و ۱/۵ میلیون تنی محصول گندم به ترتیب در سال‌های ۱۳۷۲ و ۱۳۷۳ شد. مسیر حرکتی جریان‌های هوایی و همچنین پراکنش ارقام تجاری کاشته شده در این منطقه که همگی حساس به نژاد *Ug99* هستند، عامل مشابه‌تر مسیر مهاجرتی نژاد جدید زنگ سیاه با آنچه در مورد زنگ زرد اتفاق افتاد، محسوب می‌شود. مشابه‌تر ریخته ژنتیکی ارقام مورد کشت در مسیر احتمالی مهاجرت نژاد *Ug99*، که شدیداً نسبت به این نژاد حساسیت دارند، احتمال بروز اپیدمی زنگ سیاه را در این منطقه اپیدمیولوژیکی شدت بخشیده است. بر اساس تاریخچه و قایع اتفاق افتاده در مورد زنگ زرد و همچنین پیش‌بینی های انجام شده، ایران از جمله کشورهایی است که در مسیر مهاجرتی این نژاد قرار دارد. نژاد حامل ژن *Yr9* تنها پنج سال پس از پیدایش وارد کشور ایران شد. شرایط محیطی مناسب برای توسعه زنگ سیاه در ایران وجود دارد و بروز اپیدمی زنگ سیاه

حال ویژگی نژادی (Race specific) (داشته و در هر دو مرحله گیاهچه‌ای و گیاه کامل بروز می‌کنند. حدود چهل سال پیش ژن *Sr2* همراه تعدادی دیگر از ژن‌های ناشناخته کوچک اثر که به نام 'Sr2-Complex' معروف هستند، به عنوان عامل پایداری مقاومت به زنگ سیاه شناخته شد و به عنوان منبع مقاومت به این بیماری در ژرم پلاسم گندم تولید شده در سیمیت مورد استفاده قرار گرفت. استفاده وسیع از این ژن و تعداد دیگری از ژن‌های مقاومت به *Sr38* و *Sr24*، *Sr26*، *Sr31* و اخیراً ژن *Pgt* که از منابع خویشاوند گندم منتج شده‌اند، باعث کم اهمیت شدن این بیماری در دنیا شده است. به استثنای *Sr26*، همه تبادلات کروموزومی در گندم (Translocations) علاوه بر حمل ژن‌های مقاومت به *Pgt* حامل ژن‌های مقاومت به سایر بیماری‌های گندم هستند. ژن *Sr31* که بر روی قطعه تبادل کروموزومی 1B.1R قرار دارد با ژن‌های *Yr9* و *Lr26* که به ترتیب عامل مقاومت به زنگ زرد و زنگ قهوه‌ای هستند، پیوستگی ژنتیکی کامل دارد. در اواسط دهه ۱۹۸۰، تبادل کروموزومی 1B.1R به طور وسیعی در گندم‌های بهاره، نیمه زمستانه و زمستانه در کشورهای اروپائی، چین و آمریکا و همچنین در تعدادی از ارقام با منشاء سیمیت معرفی شده در کشورهای در حال توسعه، مورد استفاده قرار گرفت. پر آزاری برای ژن *Sr31* برای نخستین بار در سال ۱۹۹۹ در کشور اوگاندا گزارش شد. نام عمومی این نژاد *Ug99*

(Seri 82) به عنوان نشانه‌هایی از بروز احتمالی نژاد Ug99 در این مناطق ارزیابی شد. آلودگی زنگ سیاه هر دو ژنوتیپ در کرت‌های آزمایشی در مرکز تحقیقات کشاورزی همدان (اکباتان) نسبت به بروجرد شدیدتر بود. این آلودگی‌ها به عنوان احتمال حضور این نژاد در ایران که از قبل به عنوان هدف بعدی بروز بیماری پیش‌بینی شده بود، مورد توجه قرار گرفتند. نمونه‌های بیماری از مناطق مذکور جمع‌آوری و با استفاده از ارقام حساس بولانی و موروکو در گلخانه‌های واحد تحقیقات بیماری‌های غلات موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج تکثیر شدند. به منظور تعیین نژاد، دو نمونه جمع‌آوری شده از بروجرد و همدان در سال ۱۳۸۶، یک جدایه از نمونه‌های تعیین نژاد شده در سال ۱۳۷۵ که از منطقه بروجرد جمع‌آوری شده بود و در واحد تحقیقات بیماری‌های غلات نگهداری می‌شود (Nasrollahi *et al.*, 2001) و دو نمونه جمع‌آوری شده در سال ۱۳۸۶ از مناطق کلاردشت (استان مازندران) و پلدختر (استان لرستان) در تعیین نژاد‌های فیزیولوژیک با استفاده از لاین‌های تک ژنی زنگ سیاه مورد استفاده قرار گرفتند. علاوه بر این لاین‌ها، ارقام تجاری گندم حامل ژن Sr31 مانند فلات و شیروودی و همچنین دو رقم حساس بین المللی موروکو و Local Red نسبت به این جدایه‌ها مورد ارزیابی قرار گرفتند. گیاهچه‌های هشت روزه ارقام و لاین‌های مورد آزمایش با استفاده

در اثر نژاد Ug99 و یا هر نژادی که برای ژن مقاومت Sr31 که در اکثر ارقام ایرانی با منشاء سیمیت وجود دارد، باعث بروز خسارت بسیار شدید به تولید ملی گندم کشور خواهد شد. قبل از استفاده از ژرم پلاسم گندم سیمیت در ۱۹۷۷-۷۸، زنگ سیاه یکی از مهم‌ترین بیماری‌های گندم در ایران بود. (Scharif *et al.*, 1971) از چند گاهی به صورت منطقه‌ای در بعضی ارقام محلی گندم دیده می‌شد، اما پس از اپیدمی سال ۱۹۷۵-۷۶ در مناطق سواحل دریای خزر و مناطق جنوبی کشور (Bamdadian and Torabi, 1978) بیماری خسارت اقتصادی نداشته است. در سال زراعی ۱۳۸۵-۸۶ چندین گزارش مبنی بر بروز بیماری زنگ سیاه در مناطقی از استان‌های لرستان (بروجرد) و همدان دریافت شد که خصوصاً برای منطقه همدان که منطقه کشت ارقام زمستانه است و بیماری زنگ سیاه در این منطقه سابقه ندارد، غیر معمول ارزیابی شد. نتایج بررسی‌های انجام شده موید آلودگی دیر هنگام بیماری در کرت‌های آزمایشی و همچنین در بعضی از مزارع گندم کشاورزان در این مناطق بود. بعضی از مزارع آلودگی نسبتاً بالائی نشان دادند (آلودگی در بعضی مزارع تا ۶۰٪ دیده شد). بروز آلودگی در تعدادی از ارقام و لاین‌های حامل قطعه کروموزومی 1B.1R (دارای ژن Sr31) مانند لاین Federation×4/Kavkaz و رقم فلات

بررسی بیست جدایه زنگ سیاه از مناطق مختلف ایران، بیماری‌زائی برای ژن *Sr31* را در یک نمونه که از منطقه بروجرد جمع‌آوری شده بود روی لاین ایزوژنیک حاوی این ژن گزارش کرده بودند ولی به دلیل عدم وجود بیماری به علت شرایط نامناسب جوی، بررسی بیشتر در مورد فاکتورهای بیماری‌زائی زنگ سیاه در سال‌های بین ۱۳۷۶ تا ۱۳۸۶ امکان‌پذیر نبود، بنابراین نمی‌توان به طور دقیق در مورد وضعیت بیماری‌زائی برای ژن *Sr31* در ده سال گذشته اظهارنظر کرد. این موضوع که نمونه‌های بررسی شده در سال ۱۳۸۶ نژاد *Ug99* باشند و یا از جمعیت‌های محلی زنگ سیاه تولید شده‌اند، نیاز به بررسی‌های بیشتری دارد. به هر حال بروز بیماری زائی برای ژن *Sr31* موجود در ارقام تجاری گندم در چند منطقه کشور به عنوان خطری جدی برای تولید گندم در ایران ارزیابی می‌شود. ارزیابی مقاومت مزرعه‌ای تعداد ۱۰۰ رقم و لاین پیشرفته گندم ایرانی نسبت به نژاد بیماری‌زا برای ژن *Sr31* (نژاد *Ug99*) در کنیا در سال ۱۳۸۵ نشان داد که ۹۸٪ از این مواد نسبت به این نژاد کاملاً حساس هستند. نتایج این بررسی مقدماتی نشان‌دهنده وجود بیماری زائی برای ژن *Sr31* در ایران است و می‌تواند زنگ خطر جدی برای بروز همه جا گیر زنگ سیاه در مزارع گندم کشور در سال‌های با شرایط آب و هوایی مناسب باشد.

از مخلوط یوردینیوسپور و پودر تالک در مرحله برگ اول مایه‌زنی شدند. گیاهچه‌های مایه‌زنی شده در در دمای ۲۴–۲۶ درجه سانتی‌گراد، نور طبیعی و رطوبت نسبی اشباع به مدت ۲۴ ساعت نگهداری و سپس به شرایط گلخانه‌ای با دمای ۲۶–۲۸ درجه سانتی‌گراد و ۱۶ ساعت نور منتقل شدند. چهارده روز بعد از مایه‌زنی، تیپ آلدگی گیاهچه‌ای بر اساس روش مک اینتاش و همکاران (McIntosh *et al.*, 1995) و در مقیاس ۰–۴ یادداشت برداری شد. لاین‌های حامل ژن *Sr31* Federation⁴/Kavkaz (Line E/ Kavkaz) و همچنین ارقام فلات و شیروودی نسبت به جدایه‌های جمع‌آوری شده از مناطق پلدختر و کلاردشت در سال ۱۳۸۶ و همچنین جدایه تعیین نژاد شده از منطقه بروجرد در سال ۱۳۷۵ تیپ آلدگی پائین (تیپ آلدگی 1^+ تا 2^-) نشان دادند. ژنوتیپ‌های مذکور نسبت به هر دو جدایه جمع‌آوری شده از مناطق بروجرد و همدان در سال ۱۳۸۶ تیپ آلدگی بالا 3^+ 4 نشان دادند هر دو رقم حساس فوق نیز نسبت به همه جدایه‌ها حساس بودند (جدول ۱ و شکل ۱).

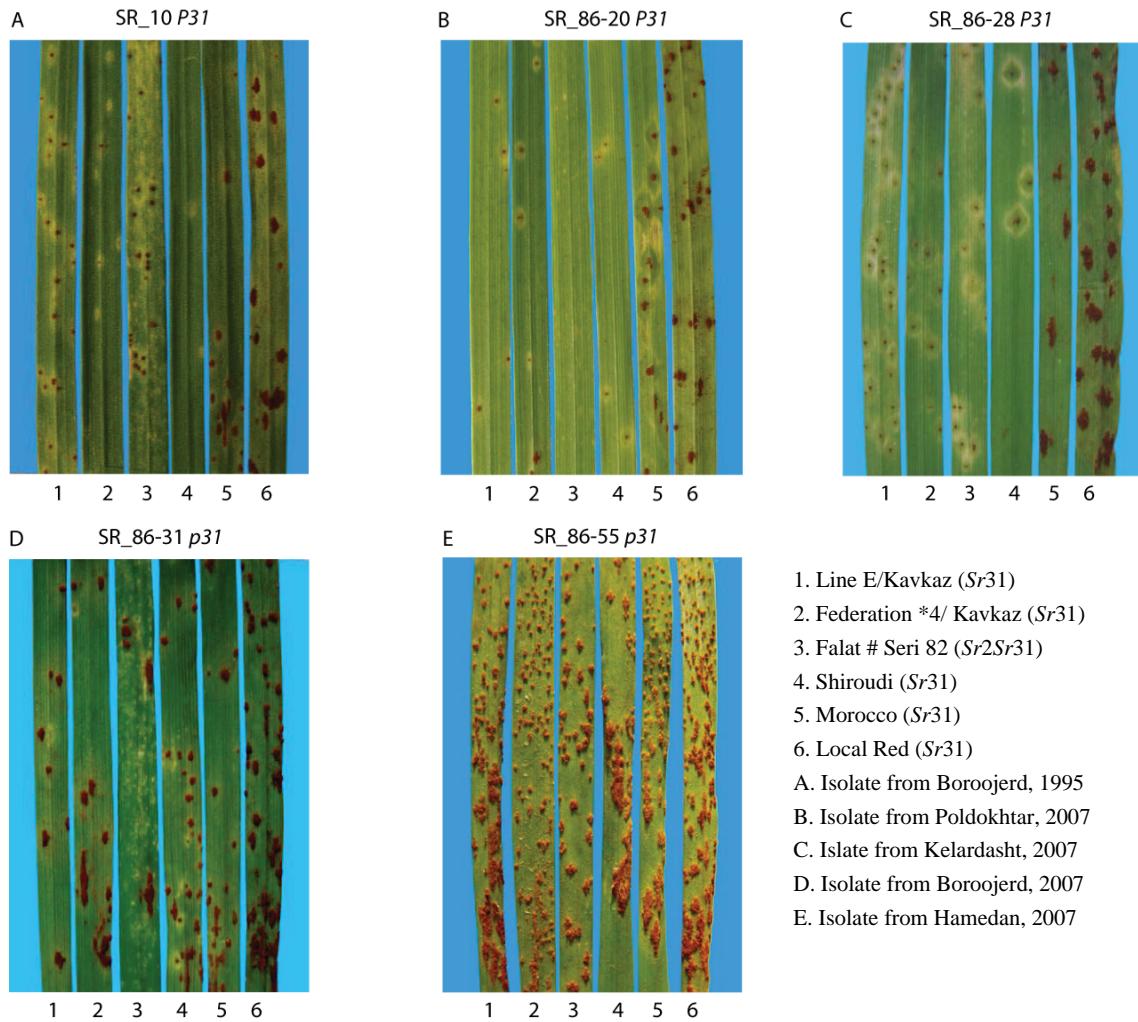
نتایج حاصل از بررسی حاضر نشان داد که جدایه‌های جمع‌آوری شده بروجرد و همدان در سال ۱۳۸۶ برای ژن *Sr31* بیماری زائی (ویرولانس) داشتند. قبل نصرالهی و همکاران (Nasrollahi *et al.*, 2001) با جمع‌آوری و

جدول ۱- تیپ های آلودگی گیاهچه‌ای لاین‌های تک زنی و ارقام تجاری حامل زن *Sr31* و ارقام
حساس *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* Local Red Morocco نسبت به پنج جدایه
جمع‌آوری شده در ایران

Table 1. Seedling infection types of selected *Sr*- isogenic lines and commercial cultivars carrying *Sr31* and the susceptible cultivars Morocco and Local Red against five isolates of *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* collected in Iran

Genotype	<i>Sr</i> -gene/s	Isolate جدایه				
		SR10 بروجرد- ۱۳۷۵	SR86-20 پلدختر- ۱۳۸۶	SR86-28 کلاردشت- ۱۳۸۶	SR86-31 بروجرد- ۱۳۸۶	SR86-55 همدان- ۱۳۸۶
		1996 Boroojerd	2007 Poldokhrar	2007 Kelardasht	2007 Boroojerd	2007 Hamedan
Line E/Kavkaz	<i>Sr31</i>	2=	11 +	22 +	3 +	4
Federation*4/Kavka Z	<i>Sr31</i>	11-	2=	2	4	4
Falat (Seri-82)	<i>Sr31Sr2</i>	22-	0;1=	0;	3 +	4
Shiroudi (Attila)	<i>Sr31</i>	0;1=	11 +	1+2=	3 +	4
Morocco	-	3+4	3 +	4	4	4
Local Red	-	4	4	4	4	4

Infection types 0-2 indicate resistance; 3-4 indicate susceptibility.



1. Line E/Kavkaz (*Sr31*)
 2. Federation *4/ Kavkaz (*Sr31*)
 3. Falat # Seri 82 (*Sr2Sr31*)
 4. Shiroudi (*Sr31*)
 5. Morocco (*Sr31*)
 6. Local Red (*Sr31*)
- A. Isolate from Boroojerd, 1995
B. Isolate from Poldokhtar, 2007
C. Isolate from Kelardasht, 2007
D. Isolate from Boroojerd, 2007
E. Isolate from Hamedan, 2007

شکل ۱- عکس العمل گیاهچه‌ای تعدادی از لاین‌ها و ارقام گندم حامل ژن *Sr31* و ارقام حساس نسبت به پنج جدایه زنگ سیاه Local Red و Morocco

Fig. 1. Seedling response of some lines and cultivars of wheat carrying *Sr31* and susceptible cultivars Morocco and Local Red to five isolates of stem rust

References

- Bamdadian, A., and Torabi, M.** 1978. Epidemiology of wheat stem rust in southern areas of Iran in 1976. Iranian Journal of Plant Pathology 14: 14-19 (in Farsi).
- McIntosh, R. A., Wellings, C. R., and Park, R. F.** 1995. Wheat Rusts: An Atlas of Resistance Genes. CSIRO Publications, Victoria, Australia.
- Scharif, G., Bamdadian, A., and Danesh-Pejoooh, B.** 1971. Physiologic races of *Puccinia graminis* var. *tritici* Erikss. & Henn. In Iran (1965-1970). Iranian Journal of Plant Pathology 6: 29-42 (in Farsi).

Archive of SID