بررسی بیماری زنگ قهوه‌ای جو و تنوع ژنتیکی آن در چند استان ایران

معصومه عبدالکریم[۱]، محمد ترابی[۲]، سعید رضائی[۱]، فرزاد افشاری[۲] و طیبه بخشی[۱]

۱- به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد بیماری شناسی گیاهی، دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی گیاهی و استادیار، واحد علوم و تحقیقات تهران ۲- به ترتیب استاد و دانشیار، موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج

نویسنده مسئول: معصومه عبدالکریم M.A2009MA@Yahoo.com

چکیده

در سال‌های ۱۳۸۶ و ۱۳۸۷ نمونه‌هایی از جو آلوده به زنگ قهوه‌ای *Puccinia hordei* از استان‌های مختلف کشور جمع‌آوری و به گلخانه موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج انتقال یافتند. با استفاده از گیاهچه‌های رقم حساس افضل، سیزده جدایه انتخاب، خالص‌سازی شده و تکثیر شدند. تعیین پاتوتیپ‌های عامل بیماری و فاکتورهای بیماریزائی (ژن‌های بیماریزائی) آن‌ها با استفاده از لاین‌های ایزوژنیک و بر اساس فرمول بیماریزائی/ غیر بیماریزائی انجام شد. در این بررسی جمعاً یازده پاتوژنیک شناسایی شد. جدایه Ard-86-1 با ۱۷ فاکتور ژن بیماریزائی بیشترین و جدایه Ard-87-3 با ۸ فاکتور بیماریزائی کمترین فاکتورهای بیماریزائی را داشتند. هیچکدام از جدایه‌ها روی ژن‌های *Rph* 7.g و *Rph* 15.ad بیماریزائی نداشتند ولی برای ژن‌های *Rph* 1.a، *Rph* 2.b، *Rph* 3.c، *Rph* 4.d، *Rph* 5+*Rph* 6.f، *Rph* 8.h، *Rph* 9.i، *Rph* 10.0، *Rph* 11.p، *Rph* 12، *Rph* 9.z + *Rph* 12، *Rph* 13.x، *Rph* 14.ad، *Rph* 2.j، *Rph* 2.y و *Rph* 2.t بیماریزائی وجود داشت. بیشترین فراوانی بیماریزائی برای ژن‌ها *Rph* 7.g و *Rph* 15.ad و کمترین فراوانی برای ژن *Rph* 5.e برابر با ۷/۶ درصد تعیین گردید. ژن‌های مقاوم نسبت به تمام جدایه‌ها می‌توانند به عنوان منابع مقاومت در برنامه اصلاحی این بیماری استفاده شوند.

واژگان کلیدی: زنگ قهوه‌ای جو، جدایه‌ها، فاکتورهای بیماریزائی، لاین‌های ایزوژنیک، تنوع ژنتیکی

مقدمه

زنگ قهوه ای جو با عامل *Puccinia hordei* G.Otth از مهمترین بیماری های جو در بسیاری از مناطق جهان است(Brooks *et al., 2000*). میزان خسارت آن در ارقام حساس و سال های همه گیری قابل توجه است و باعث کاهش محصول به میزان ۳۲ درصد می گردد مهمترین روش کنترل این بیماری به کاربردن ارقام مقاوم است ژن مقاومت به عامل زنگ قهوه ای در جو به نام ژن *Rph* معروف است. مقاومت به این بیماری توسط ژن های *Rph* از نظریه ژن برای ژن تبعیت می کند. این مقاومت مونوژنیک و کامل بوده و از مرحله گیاهچه ای تابلوغ در گیاه وجود دارد و جزء مقاومت های ناپایدار می باشد. ظهور پاتوتیپ های جدید در اثر پدیده های نوترکیبی غیر جنسی، جهش، نوترکیبی حاصل از تولید مثل جنسی وورود پاتوتیپ جدید از یک منطقه دیگر و فشار انتخابی ناشی از کاربرد رقم مقاوم صورت می گیرد و موجب تولید پاتوتیپ با بیماریزائی بالاتر یا پایین تر می شود. مطالعات نسبتاً زیادی در مورد پاتوتیپ های زنگ قهوه ای جو در مناطق مختلف از جهان انجام شده است. تاکنون در ایران در مورد بیماری زنگ قهوه‌ای جو و روش‌های کنترل آن هیچ‌گونه تحقیقی صورت نگرفته است با توجه به گزارشاتی حاکی از افزایش میزان پراکندگی و خسارت این بیماری در کشور (ترابی، مذاکرات شخصی) و همچنین محدود بودن اطلاعات در این زمینه، لازم بود تحقیقات اساسی

در مورد این بیماری و به ویژه در زمینه ارزیابی و بررسی تنوع عامل بیماری و مقاومت میزبان صورت گیرد. هدف از این تحقیق تعیین تنوع ژنتیکی در بیماریزایی قارچ عامل بیماری به کمک ارقام متمایز کننده (افتراقی) است.

مواد و روش ها

به منظور تعیین پاتوتیپ‌های قارچ عامل بیماری نمونه‌های مختلفی از زنگ قهوه‌ای روی ارقام مختلف جو از استان‌های مختلف کشور در سال‌های ۱۳۸٦ و ۱۳۸۷ جمع‌آوری و به گلخانه واحد پاتولوژی غلات موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج انتقال یافتند .با استفاده از گیاهچه‌های رقم حساس افضل، سیزده جدایه انتخاب، خالص‌سازی شده و تکثیر شدند. . برای تعیین پاتوتیپ و ژن‌های بیماریزائی جدایه‌ها از بیست لاین یا رقم ایزوژنیک که هر کدام حاوی یک یا چند ژن مقاومت مشخص بودند، استفاده شد. بذر هر لاین ایزوژنیک بطور جداگانه در گلدان های پلاستیکی حاوی خاک پاستوریزه در اتاق کشت ، کاشته شدند. از هر لاین ایزوژنیک سه تکرار کاشته شد و رقم حساس افضل نیز به عنوان شاهد در هر سری قرار داده شد. گیاهچه های هشت روزه لاین های ایروژنیک با استفاده از مخلوط یوردینیوسپور وپودر تالک در مرحله برگ اول مایه زنی شدند. . برای تعیین پاتوتیپ و ژن‌های بیماریزائی جدایه‌ها از بیست لاین یا رقم ایزوژنیک که هر کدام حاوی یک یا چند ژن مقاومت مشخص بودند، استفاده شد.

دوازده و چهارده روز بعد از مایه‌زن، تیپ آلودگی (Infecti on type) بر اساس مقیاس قراردادی ٤-۰ مطابق الگوی مکینتاش و همکاران (McIntosh *et al.,* 1995) یادداشت‌برداری شد.

در این بررسی تیپ‌های آلودگی ۲-۰ به عنوان واکنش ناسازگار (مقاوم) و تیپ‌های آلودگی ٤-۳ به عنوان واکنش سازگار (حساس) در نظر گرفته شدند.نتایج به دست آمده به صورت واکنش حساس (S) و یا مقاوم (R) طبقه‌بندی شدند و بر اساس نظریه ژن برای ژن، فرمول بیماریزائی هر جدایه مشخص شد. . تعداد فاکتور بیماریزائی در هر جدایه تعیین و پاتوتیپ آن مشخص گردید

نتایج و بحث

با توجه به فرمول بیماریزائی / غیر بیماریزائی، تعداد یازده پاتوتیپ از سیزده جدایه جمع‌آوری شده از مناطق مختلف کشور برای این قارچ شناسایی شد. بالاترین تعداد فاکتور بیماریزائی متعلق به جدایه شماره ۱ از منطقه اردبیل با تعداد ۱۷ فاکتور بیماریزائی بود. کمترین فاکتور بیماریزائی متعلق به جدایه شماره ۳ با ۸ فاکتور بیماریزائی از منطقه اردبیل بود.

نتایج بدست آمده نشان داد که لاین‌ها دارای ژن‌های *Rph* 15.ad و *Pph* 7.g نسبت به همه جدایه‌ها مقاوم بودند. بنابراین برای این ژن‌ها فاکتور بیماریزائی وجود نداشت. لاین‌ها با ژن‌های *Rph* 2.t، *Rph* 2.y، *Rph*2.j، *Rph* 13.x، *Rph* 9.i و *Rph* 1.a نسبت به همه جدایه‌ها حساس تشخیص داده شدند. بقیه ژن‌ها حالت بیماریزائی و غیر بیماریزایی با فراوانی‌های مختلف داشتند که برای تمایز بین جدایه‌های مختلف مورد استفاده قرار گرفت.

ژن‌های مقاوم نسبت به تمام جدایه‌ها می‌توانند به عنوان منابع مقاومت در برنامه اصلاحی این بیماری استفاده شوند. نتایج این آزمایش با نتایج تحقیقات انجام شده در اروپا (Niks *et al*., 2000) و استرالیا (park, 2003) مشابهت داشت.

نتیجه گیری کلی

تنوع زیاد پاتوتیپ‌ها (تعداد ۱۱ پاتوتیپ در ۱۳ جدایه) و توزیع فاکتورهای بیماریزائی در بین آن‌ها، نشان دهنده تنوع ژنتیکی این قارچ

و جمعیت ناهمگن آن در مناطق مورد بررسی است. با توجه به تنوع ژنتیکی قارچ عامل بیماری، مطالعات به صورت مداوم باید در مناطق مختلف کشور انجام شود و اطلاعات بیشتری در مورد تغییرات این قارچ حاصل شود.

جدول ۱- فرمول بیماریزائی/ غیربیماریزائی جدایه‌های زنگ قهوه‌ای جو

Table 4. Avirulence /virulence formula of isolates of barley leaf rust pathogen

شماره جدایه Isolates No.	منطقه Region	تعداد فاکتورهای بیماریزائی Virulence afactor number	فرمول بیماریزائی/ غیر بیماریزائی Avirulence/ Virulence Formula
87-3	Ardebil	8	4.d, 5.e, 6.f +5, 7.g, 8.h, 10.0, 11.p, g.2+12, 14ad , 15.ad/ 1.1.a , 2.b , 3.c, 9.i , 13.x , 2.j. 2.y, 2.t
87-1	Ardebil	10	5.e, 7.g, 9.z+12 , 14. ad, 15.ad /1,1.a , 2.b, 4.d , 8.h, 9.i , 10.0, 13.x , 2.j , 2.y , 2.t
86-1	Dezful	11	3.c, 5.e, 6.f + 5 , 7.g , 11.p , 9.z+12, 14.ad , 15.ad / 1.1-a,2.b, 4.d, 8-h , 9.i , 10.0 , 13.x , 12 , 2.j , 2.y , 2.t
86-2	Dezful	11	3.c, 5.e, 6.f + 5 , 7.g , 11.p , 9.z+12, 14.ad , 15.ad / 1.1-a,2.b, 4.d, 8-h , 9.i , 10.0 , 13.x , 12 , 2.j , 2.y , 2.t
86-1	Marivan	11	5.e , 7.g , 10.0 , 11.p , 15. ad, 12- / 1,1.a , 2.b , 3.c , 4.d, 9. i , 9.2+12 , 13.x , 14.ad,2.j, 2.y, 2.t
86-3	Gharakhil	13	5.e, 6.f+5 , 7.g , 8.h , 14.ad , 15.ad/ 1 , 1.a , 2.b , 3.c , 4.d , 9.i , 10.o, 11.p , 9.z +12 , 13, 12-,2.j , 2.y, 2.t
86-4	Gharakhil	13	5.e , 6.f+ 5, 7.g , 8.h, 14. ad, 15.ad/ 1,1. a , 2. b, 3.c , 4.d, 9.i, 10.0, 11.p , 9z+12 , 13. x, 12-, 2.j, 2.y,2.t.2
86-1	Boroujerd	13	5.e , 6.f+5 , 7.g , 1.0 , 15. ad / 1,1. a, 2. b, 3.c, 4.d, 8.h, 9.i , 11.p, 9.2+12, 13.x , 14.ad, 2. j , 2.y , 2.t
86-2	Boroujerd	13	5.e, 6-f+5, 7.g ,11.p , 15.ad / 1,1.a , 2.b , 3.c , 4.d, 9.i , 10.0 , 9.z+12 , 13.x , 14. ad , 12- , 2.j , 2.y , 2.t
87-2	Ardebil	13	5.e , 6.f+5 , 7.g, 14.ad, 15.ad / 1,1.a , 2. b, 3.c , 4.d , 8.h , 9.i, 10.0, 11.p, 9.z+12, 13.x, 12-, 2.j , 2-y , 2.t
86-1	Gharakhil	14	2.b, 5.e , 6.f+5 , 7.g , 15.ad / 1,1.a , 3.c , 4.d , 8.h , 9.i , 10.0 , 11. p , 9.z+12, 13.x , 14.ad , 12-, 2.j, 2.y , 2.t
86-2	Gharakhil	15	5.e , 7.g, 15. ad / 1, 1.a , 2. b, 3.c , 4.d , 6. f+5 , 8.h , 9.i , 10, 0, 11.p , 9.z +12,13.x , 12- , 2.j, 2.y , 2.t
86-1	Ardebil	17	7.g, 15.ad /1,1.a , 2.b , 3.c, 4.d, 5.e , 6.f + 5, 8.h, 9.i , 10.0, 11.p, 9.z +12, 13.x , 14.ad , 12-,2.j , 2.y, 2.t

منابع

1. Brooks, W. S., Griffey, C. A., Steffenson, B. J., Vivar, H. E. 2000. Genes governing resistance to *Puccinia hordei* in thirteen spring barley accessions. Phytophatology 90: 1131-1136.

2. McIntosh, R. A., C. R. Welling., and R. F. Park. 1995. Wheat rust: Anatlas of resistance genes. CSIRO, Australia, pp 200.
3. Niks, R. E., and Walther, U. 2000. Resistance against barley leaf rust *Puccinia hordei* in West European spring barley germ plasm.
4. Agronomie 20, 769-82.
5. Park RF, 2003. Pathogenic Specialization and pathotype distribution of *Puccinia hordei* in Australia, 1992-2001. Plant Disease 87, 1311-6.

Study on barley leaf rust disease and it's genetic variation in some provinces of Iran

M. Abdulkarim, M. Torabi , S. Rezaee , F. Afshari and A. Bakhshi
1- MSc. Student of plant Pathology and MSc . student of plant biotechnology , Islamic Azad university , Science and Research Branch , Tehran.
2- Professor , seed and plant Improvement Institute , Karaj , iran
Email: M.A2009MA@Yahoo.com

Abstract:

Infected samples of barley were collected from different provinces in 2008 and 2009, transferred to the green house at seed and plant improvement institute in Karaj. After purification and multiplication of spores on susceptible cultivar Afzal, 13 isolates were evaluated for their virulence genes. Pure spores of each isolate was inoculated separately on the first leaves of 20 near isogenic lines (differentials) in the green house. Based on infection phenotypes on leaf rust (*Rph*) resistance genes, 11 Pathotypes were identified. Isolates Ard-8b-1 with 17 virulence factors was the most virulent Pathotypes. Isolates Ard-87-3 with 8 virulence factors was low virulence. The genes *Rph* 3 and *Rph* 7 were effective to all the 13 isolates tested, whereas genes *Rph* 1.a, *Rph* 2.b, *Rph* 3.c, *Rph* 4.d, *Rph* 6.f + *Rph* 5, *Rph* 8.h, *Rph* 9.i, *Rph* 10.O, *Rph* 11.p, *Rph* 12, *Rph* 9.z +12, *Rph* 13.x, *Rph* 14.ad, *Rph* 2.j, *Rph* 2.y and *Rph* 2.t were effectiveness to all isolates. Frequencies of virulence for gene *Rph* 5.e was 7.6%
Resistance gene to all of the isolates can be used as resistance source of leaf rust in breeding programs in Iran.

Keywords: Brown leaf rust, isolates, virulence factors, isogenic lines, genetic variation