بررسی کارآیی ژن‌های مقاومت نسبت به *Puccinia graminis* f.sp. *tritici* عامل بیماری زنگ سیاه گندم در استان اردبیل

حسین کربلایی خیاوی*[۱]، محمد رضوی[۲] و یعقوب رشیدی دودکش[۳]

۱- ***نویسنده مسوول**: استادیار، بخش تحقیقات گیاه‌پزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان اردبیل، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اردبیل، ایران (hossein.karbalaei@yahoo.com)

۲- دانشیار، بخش تحقیقات بیماری‌های گیاهی، موسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

۳- مربی، بخش تحقیقات گیاه‌پزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان اردبیل، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اردبیل، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۱/۲۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۴/۲۹

چکیده

عامل بیماری زنگ سیاه گندم (*Puccinia graminis* f.sp. *tritici*) یکی از بیماری‌های مهم گندم در ایران است که خسارت سنگینی را در سال‌های شیوع بیماری می‌تواند وارد نماید. در چند سال اخیر نژادی از قارچ عامل بیماری به نام Ug99 و تغییر یافته‌های آن ظهور یافته است که روی گیاهان حامل اغلب ژن‌های مقاومت موجود در ارقام تجاری گندم، بیماری‌زا می‌باشند. با توجه به این که این ژن‌ها در منابع مقاومت به Ug99 به‌طور وسیع در مناطق گندم‌کاری ایران استفاده می‌گردد، لازم است وضعیت تغییرات ژنتیکی این قارچ به‌طور مداوم بررسی شود تا از ارقام مقاوم مناسب استفاده گردد. برای این منظور ٥٦ لاین افتراقی که از کشور کانادا تهیه شده بود، در مزرعه و تحت شرایط طبیعی در استان اردبیل هر لاین در دو ردیف یک متری در فصل پاییز کشت شدند و هر ده روز یک بار پای بوته‌ها به طریق غرقابی آبیاری شد تا شرایط بهینه برای توسعه بیماری مهیا گردد. مطابق با نتایج، در هر دو سال بیماری به خوبی در خزانه مستقر شد. گیاهان حامل ژن *SrMcN* حساس‌ترین ژن نسبت به زنگ سیاه گندم بود و بقیه گیاهان حامل ژن‌های نیمه مقاوم تا حساس بودند. در سال دوم نیز بیماری بخوبی ظاهر شد. گیاهان حامل ژن‌های *SrMcN*، *Sr9h* و *Sr42* حساس‌ترین ژن‌ها بودند، اما گیاهان حامل ژن‌های *Sr24* و *Sr47* مقاوم بودند که برای ایجاد ارقام مقاوم به زنگ سیاه در ایران توصیه می‌گردند. همچنین از گیاهان حامل ژن‌های *Sr31*، *Sr26* ، *Sr27* و *Sr28* که مقاومت نسبتاً خوبی نسبت به زنگ سیاه داشتند می‌توان در ترکیب با ژن‌های *Sr24* و *Sr47* در تولید ارقام مقاوم به زنگ سیاه استفاده نمود.

کلید واژه‌ها: زنگ ساقه، گندم، ژن‌های مقاومت، پرآزاری

دبیر تخصصی: دکتر فرزاد افشاری

مقدمه

بیماری زنگ سیاه با عامل *Puccinia graminis* f.sp. *tritici* از بیماری‌های مهم گندم در ایران می‌باشد که از لحاظ اهمیت بعد از زنگ زرد قرار دارد و تناوب همه‌گیری آن در زمان‌های مختلف موجب ایجاد خسارت قابل توجهی به محصول می‌شود (Szabo et al., 2014). اگر چه زنگ سیاه تا حدود زیادی توسط ارقام مقاوم کنترل شده است اما پتانسیل تهدید آن در برخی از مناطق دنیا که شرایط اپیدمی مساعد باشد وجود دارد. بیماری زنگ سیاه، طول عمر استفاده از ارقام مقاوم اصلاح شده را به چهار تا پنج سال کاهش می دهد. خسارت زنگ سیاه به یک بیماری حاد و خسارت زنگ زرد را به یک بیماری مزمن می‌توان تشبیه کرد (Okhovvat and zad, 2005). اخوت و زند، بامدادیان و ترابی در سال ۱۳۶۰ گزارش نمودند که این بیماری می تواند تا حدود ۹۰ درصد خسارت نیز ایجاد کند و در سال ۱۳۴۵ در گرگان و مازندران در اثر خسارت این زنگ مقدار بذر بدست آمده از ۲۰ سنبله آلوده ۲/۲۵ گرم در مقابل ۱۷ گرم در ۲۰ سنبله سالم بوده است. خسارت ناشی از این بیماری در کشور کانادا در سال ۱۹۵۴ به دلیل همه‌گیری زنگ سیاه بالغ بر ۵۰۰ میلیون دلار و در آمریکا طی سال های ۱۹۷۳ تا ۱۹۷۷ خسارت حاصل از اپیدمی زنگ سیاه در حدود ۲۱۷ میلیون دلار بوده است (Knott, 1989). این بیماری در سال‌های ۱۳۴۳ تا ۱۳۴۵ در مناطق شمالی کشور موجب خسارت شدید و ریزی و پوکی دانه‌ها گردید به طوری که از درو کردن آن‌ها نیز صرف نظر شد (Sharif et al., 1970). در سال ۱۳۵۵ به علت فراوانی باران‌های بهاره و مساعد شدن شرایط جوی در فروردین و اردیبهشت در نقاط جنوبی کشور از جمله استان کرمان و سیستان و بلوچستان مزارع گندم مورد حمله نژادهای ۳۴ و ۱۰۰ از زنگ سیاه قرار گرفت و تا حدود ۹۰ درصد خسارت وارد نمود (Bamdadian and Torabi, 1978).

تا سال ۱۹۹۸ حدود ۵۰ ژن مقاومت به زنگ سیاه شناخته شده است که تعدادی از آنها به برخی از ارقام انتقال داده شده است (McIntosh et al., 1998). از جمله آن‌ها ژن *Sr2* که بنظر می‌رسید تنها ژنی باشد که غیراختصاصی بوده (Mcfadden, 1930) و موجب مقاومت نسبی می‌گردد (Sunderwirth and Roelfs, 1980). این ژن به همراه چند ژن کوچک اثر از رقم Hope تهیه گردیده است و البته به تنهایی نمی‌تواند در مقابل فشار زیاد بیماری مؤثر باشد اما با ژن‌های کوچک اثر همراه مقاومت کافی ایجاد می‌نماید (Singh et al., 2006). در دهه‌های گذشته اهمیت بیماری زنگ سیاه به دلیل استفاده از ژن‌های مقاومت نظیر *Sr31*، *Sr26*، *Sr2* و *Sr36* کم‌تر شده بود ولی از سال ۱۹۹۹ به دلیل ظهور نژاد جدیدی از عامل بیماری تحت عنوان Ug99 از کشور اوگاندا، خطر بسیار بزرگی تولید گندم شمال آفریقا، جنوب و غرب آسیا را تهدید می‌کند. این نژاد روی گیاهان حامل ژن‌های زیادی از جمله *Sr31* و *Sr38* بیماری‌زایی (پرآزاری) دارد و اغلب ارقامی که در حال حاضر در مناطق مورد تهدید از جمله استرالیا، اروپا و آسیا کشت می‌شود به آن حساس هستند و پیش بینی شده است که این بیماری حدود ۵۰ میلیون هکتار از اراضی گندم مناطق فوق که معادل ۲۵درصد سطح کشت گندم دنیا است را آلوده نموده و خسارت جدی به محصول وارد خواهد کرد (Singh et al., 2006). این نژاد در سال ۱۳۸۷ از مناطق بروجرد و همدان گزارش گردید (Nazari et al., 2009) و بررسی‌های اخیر نشان می‌دهد که زنگ سیاه گندم در حال گسترش در کشورهایی نظیر عراق و آذربایجان می‌باشد (Hudson, 2016) و لازم است اقدامات جدی در این زمینه انجام شود.

در سال‌های اخیر تحقیقات زیادی در مراکز تحقیقاتی دنیا انجام شده و منابع مقاومت به این نژاد معرفی شده‌اند (Singh et al., 2015). طی سال‌های ۲۰۱۲-۲۰۰۶ در کنیا ژن *SrTmp*، تنها ژنی بود که در برابر تمامی نژادهای وابسته

به گروه Ug99 مقاوم بود و این ژن به رقم Robin انتقال داده شد و در کنیا بطور وسیع جهت مقابله با این بیماری مورد استفاده قرار گرفت (Newcomb et al., 2016)، اما در سال‌های ۲۰۱۴-۲۰۱۳ نژاد جدیدی از گروه Ug99 در کشورهای کنیا، اوگاندا، رواندا و مصر تحت عنوان TTKTK ظاهر شد که برای گیاهان حامل ژن *SrTmp* بیماری‌زا بود و اپیدمی‌های گسترده‌ای را در مناطقی که این رقم استفاده گردیده بود، ایجاد نمود (Newcomb et al., 2016). بررسی‌های اخیر نشان داد که در پاره‌ای از مناطق کشور از جمله لرستان (بروجرد)، اردبیل (ایستگاه تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی آلاروق اردبیل)، نقده (آذربایجان غربی)، کلاردشت (مازندران) و کالپوش (سمنان) روی ژن*SrTmp* پرآزاری وجود دارد و این امر نشان‌دهنده عدم کارآیی استفاده از ارقام مقاوم دارای ژن مقاومت *SrTmp*در مناطق فوق می‌باشد (Jafari, 2016).

هم‌چنین براساس بررسی‌های انجام شده ژن *Sr36* دارای مقاومت تقریباً مصون نسبت به خیلی از نژادهای زنگ سیاه به ویژه نژاد Ug99 می‌باشد. این ژن به طور وسیع در ارقام زمستانه ایالات متحده آمریکا استفاده می‌شود. Jin et al. (2009) نژاد جدیدی از کنیا گزارش نمودند که باعث شکسته شدن مقاومت ژن *Sr36* توأم با ژن *Sr31* گردید و این نژاد را تحت عنوان TTTSK نام‌گذاری نمودند. بررسی‌های اخیر نشان داد که در برخی از مناطق کشور نظیر اردبیل، کلاردشت و نقده روی ژن *Sr36* پرآزاری وجود دارد (Jafari, 2016)، لذا شکسته شدن مقاومت ژن‌هایی نظیر *Sr31* , *Sr38* , *SrTmp* و *Sr36* نشان‌گر وقوع تغییرات ژنتیکی در جمعیت‌های این قارچ در ایران می‌باشد و احتمال اپیدمی شدن آن در آینده وجود دارد و لازم است وضعیت تغییرات ژنتیکی این قارچ به طور مداوم بررسی شود تا با توجه به تغییرات ژنتیکی در نژادهای آن از ارقام مقاوم مناسب منطقه استفاده گردد.

مواد و روش‌ها

به‌منظور تعیین فاکتورهای بیماری‌زایی و غیربیماری‌زایی جمعیت‌های رایج بیمارگر زنگ سیاه، لاین‌های افتراقی بین المللی زنگ سیاه که شامل مجموعه ۲۰ تایی لاین‌های افتراقی بین المللی آمریکای شمالی و مجموعه ۳۶ تایی لاین‌های افتراقی تکمیلی به‌همراه شاهد حساس مک‌نیر ۷۰۱ (جدول ۱) در سال‌های زراعی ۱۳۹۷-۱۳۹۵ در استان اردبیل در مزرعه کشت شدند. تمامی لاین‌های افتراقی زنگ سیاه از مرکز تحقیقات غلات ایالت مانیتوبا در کانادا تهیه شد. در فصل پاییز (اواخر آبان ماه سال‌های مذکور) بذور هر کدام از لاین‌های افتراقی به‌میزان هشت گرم روی دو خط یک متری با فاصله ۳۰ سانتی‌متر از همدیگر روی یک پشته کاشته شدند و بعد از هر ده شماره از لاین‌های افتراقی، به‌منظور استقرار بهتر و گسترش بیش‌تر بیماری در خزانه تله رقم حساس مک‌نیر ۷۰۱ و در کل حاشیه آزمایش نیز روی دو خط یک متری (یک پشته) مخلوط ارقام حساس مک‌نیر۷۰۱ و موروکو کشت گردید. هر ده روز یکبار پای بوته ها به طریق غرقابی آبیاری شدند تا شرایط بهینه برای توسعه بیماری مهیا گردد. یادداشت برداری از شدت بیماری در اواخر مرحله گلدهی و در زیر خوشه و بر اساس مقیاس اصلاح شده کاب[1] (Peterson et al., 1948) در مقیاس ۱۰۰-۰ انجام شد. هم‌زمان، یادداشت برداری از واکنش گیاه به آلودگی جهت تعیین تیپ‌های آلودگی انجام گردید. شرح تیپ‌های آلودگی در این مقیاس عبارت بودند از: بدون آلودگی(0)، ظهور لکه‌های نکروز همراه و یا بدون جوش‌های ریز (R)، جوش‌های ریز احاطه شده با لکه‌های نکروز (MR)، جوش‌ها در اندازه‌های ریز و درشت همراه با کلروز و یا نکروز (M)، جوش‌های متوسط بدون نکروز اما ممکن است لکه‌های کلروزه وجود داشته باشد (MS) و

1- The modified Cobb scale

جدول ۱ – لیست لاین‌های افتراقی حاوی ژن های مقاومت به زنگ سیاه گندم دریافتی از مرکز تحقیقات غلات ایالت مانیتوبا در کانادا

Table 1. List of differential lines containing resistance genes to wheat stem rust obtained from the Cereal Research Center in Manitoba State, Canada

Code	Gene	Differential line	Origin/Pedigree	Source
1	*Sr5*	Mq*10/Tc//7*LMPG 2-1- 4-3 DK01	Thatcher	Knott 1990
2	*Sr21*	*T. monococcum*/8*LMPG-6 DK13	Einkorn CI 2433	Fetch, AAFC
3	*Sr9e*	K253/3*Steinwedel/8*LMPG-6 DK08	Citr 7778/3* Steinwedel	Knott 1990
4	*Sr7b*	Prelude*4/CI 14165	Hope/Chinese Spring (CI 14165)	Green 1981
5	*Sr11*	Lee/6*LMPG-6 DK37	Lee (CI 12488)	Knott 1990
6	*Sr6*	Kenya 58/9*LMPG-6 DK02	MME/6*Prelude	Knott 1990
7	*Sr8a*	CI 14167/9*LMPG-6 DK04	Red Egyptian/CS (CI 14167)	Knott 1990
8	*Sr9g*	Chinese Spring*7/Marquis 2B	Selection from Kubanka (CI 1516)	Fetch, AAFC
9	*Sr36*	Sr36 (CI 12632)/8* LMPG-6 DK22	CI 12632 *T.timopheevii*	Knott 1990
10	*Sr9b*	Prelude*4//2/Marquis*6/Kenya 117A	Kenya 117A	Fetch, AAFC
11	*Sr30*	Selection from Webster F3:F4#6	Webster CI 3780	Fetch, AAFC
12	*Sr17*	Prelude/8*Marquis*2/2/Esp 518/9	Esp 518/9	Fetch, AAFC
13	*Sr9a*	CI 14169/9*LMPG-6 DK05	Red Egyptian/CS (CI 14169)	Knott 1990
14	*Sr9d*	Hope/8*LMPG-6 DK07	Hope/CS (CI 14177)	Knott 1990
15	*Sr10*	W2691Sr10 CI 17388	Marquis*4/Egypt NA95/2/2*W2691	Watson, Sydney
16	*SrTmp*	CnsSrTmp	Triumph 64 (CI 13679)/Chinese Spring	Jin, USDA
17	*Sr24*	LcSr24Ag	Little Club/Agent (CI 13523)	Jin, USDA
18	*Sr31*	Sr31 (Benno)/6*LMPG-6 DK42	Kavkaz	Knott 1990
19	*Sr38*	VPM	VPM (PI 519303)	USDA
20	*SrMcN*	McNair 701 (CI 15288)		Jin, USDA
21	*Sr 7a*	P6T6 from 1979 hosts plots 175&176	Na101/Mq6	Fetch, AAFC
22	*Sr8b*	Barleta Benvenuto, 1986	CI 14196	Roelfs
23	*Sr9h*	RL6071/Webster	Webster 46-3	Fetch, AAFC
24	*Sr12*	CI 14175 3-B-Ra, 1973	Chinese Spring*5/Thatcher 3B	Loegering
25	*Sr13*	Khapstein	Prelude*4/2/Marquis*6/Khapstein	Dyck
26	*Sr14*	Line A, 1980 hosts	2691*2 X Khapstein	McIntosh
27	*Sr15*	RL 1888 P6T6 Inc. 177*178	Prelude*2/Norka	Dyck
28	*Sr16*	CI 14173 from 1973 hosts 1969 USDA	Thatcher/CS (CI 14173)	Loegering
29	*Sr18*	Marquis A	Little Club/Sr18Mq	Roelfs
30	*Sr19*	Marquis B	94A 236-1	Williams USDA
31	*Sr20*	Marquis C	94A 237-1	Williams USDA

32	*Sr22*	*T. monococcum* derivative Plot 1523	Mq*6//Stewart*3/RL5244	Dyck
33	*Sr25*	DK 16	Agatha (CI 14048)/9*LMPG-6 DK16	Knott 1990
34	*Sr26*	Eagle 1979		McIntosh
35	*Sr27*	Pot 752 IT;1- to TTKSK Morden	WRT 238-5 Imperial Rye	Roelfs
36	*Sr28*	Line AD reselected IT= ;	W2691/Kota select IT= ; W959 club no own	McIntosh
37	*Sr29*	RL 6046, 2009 # 776	Prelude/8*Marquis/2/Etiole de Choisy	Dyck
38	*Sr32*	ER 5155 5-203 1995	Sr32 (C82.1 CS)	Roelfs
39	*Sr33*	RL 5405 1995 inc	Tetra Canthatch/*T.tauschii* (RL 5288)	Kerber
40	*Sr34*	RL6098 from 1993 Plot 46&47 1998	RL6071*5/C-77-1	Dyck
41	*Sr35*	RL 6099 selected 0;1 to TTKS	RL6071*8/G2919 = C81.42	Dyck
42	*Sr37*	Prel*4/Tt2 79 Inc	Prelude*4/Line W (W3563)	Dyck
43	*Sr39*	RL 5711 from 95 GH Inc.	MqK8*//RL 5344 (A. spelt)/RL 5346 (T.mono)	Kerber
44	*Sr40*	RL 6087 08GH from 1993	RL6071*7/PGR6195	Dyck
45	*Sr41*	WldBt 01C 190-2	Baart/Waldron	Jin, USDA
46	*Sr42*	Norin 40	Norin 40, CN 30674	PGRC
47	*Sr43*	RWG 34	10N2088-1-2	Jin, USDA
48	*Sr44*	TAF2		Rouse USDA
49	*Sr45*	RL 5406 CN 1754	Tetra Canthatch/RL 5289	Kerber
50	*Sr46*	Aus 18913		Rouse USDA
51	*Sr47*	RWG36 11C22-9 Line 0969	RWG 36	Klindworth
52	*Sr48*	Arina		Rouse USDA
53	*Sr50*	Fed*3/Gabo*5		Rouse USDA
54	*Sr51*	TS1-38	T3SsS. 3AL	Jin, USDA
55	*Sr52*	F09-18-11	T6AS.6V#3L	Jin, USDA
56	*Sr53*	V6200-117 aka L117-5	T5DL-5M9L-M9S	Jin, USDA

جوش‌های بزرگ بدون کلروز و یا نکروز (S). سپس براساس عکس‌العمل لاین‌های افتراقی ژن‌های مقاومت زنگ سیاه که روی آن‌ها بیماری‌زایی وجود داشته باشد شناسایی شد.

نتایج

در سال زراعی ۱۳۹۶-۱۳۹۵ (سال اول این مطالعه) در برخی از لاین‌ها زنگ سیاه مشاهده شد. بیش‌ترین شدت بیماری روی لاین (CI 15288) McNair 701 حاوی ژن *SrMcN* با شدت 60S مشاهده گردید (جدول ۲). هم‌چنین در روی لاین‌های حاوی ژن‌های مقاومت *Sr17*، *Sr 10* ، *Sr 7a*، *Sr 13*، *Sr 14*، *Sr 15*، *Sr 18*، *Sr 25*، *Sr 29*، *Sr 34*، *Sr 35*، *Sr 48* و *Sr 52* واکنش نیمه حساس(MS) با شدت آلودگی ۲۰-۵ درصد مشاهده شد. لاین‌های حاوی ژن‌های مقاومت *Sr8a* و *Sr9g* واکنش نیمه مقاوم (MR) با شدت ۱۰ درصد نشان دادند ولی در بقیه ژن‌های مقاومت بیماری مشاهده نگردید.

جدول۲ – واکنش لاین‌های افتراقی حاوی ژن های مقاومت نسبت به زنگ سیاه گندم در شرایط طبیعی در سال ۹۶-۱۳۹۵

Table 2. Reaction of differential lines containing resistance genes to wheat stem rust under natural conditions during 2016-2017

Code	Gene	Disease severity and infection type	Code	Gene	Disease severity and infection type
1	*Sr5*	0	29	*Sr18*	20MS
2	*Sr21*	0	30	*Sr19*	0
3	*Sr9e*	0	31	*Sr20*	0
4	*Sr7b*	0	32	*Sr22*	0
5	*Sr11*	0	33	*Sr25*	10MS
6	*Sr6*	0	34	*Sr26*	0
7	*Sr8a*	10MR	35	*Sr27*	0
8	*Sr9g*	10MR	36	*Sr28*	0
9	*Sr36*	0	37	*Sr29*	20MS
10	*Sr9b*	0	38	*Sr32*	0
11	*Sr30*	0	39	*Sr33*	20M
12	*Sr17*	10MS	40	*Sr34*	20MS
13	*Sr9a*	0	41	*Sr35*	5MS
14	*Sr9d*	0	42	*Sr37*	0
15	*Sr10*	10MS	43	*Sr39*	0
16	*SrTmp*	30MS	44	*Sr40*	0
17	*Sr24*	0	45	*Sr41*	0
18	*Sr31*	0	46	*Sr42*	0
19	*Sr38*	0	47	*Sr43*	0
20	*SrMcN*	60S	48	*Sr44*	0
21	*Sr 7a*	10MS	49	*Sr45*	0
22	*Sr8b*	0	50	*Sr46*	25MS
23	*Sr9h*	0	51	*Sr47*	0
24	*Sr12*	0	52	*Sr48*	10MS
25	*Sr13*	10MS	53	*Sr50*	0
26	*Sr14*	10MS	54	*Sr51*	15MS
27	*Sr15*	10MS	55	*Sr52*	10MS
28	*Sr16*	0	56	*Sr53*	0

نتایج آزمایش در سال زراعی ۱۳۹۷-۱۳۹۶ (سال دوم) نشان داد که زنگ سیاه روی لاین‌های حاوی ژن‌های مقاومت *Sr17* و *Sr9a* با شدت آلودگی 30S، لاین‌های حاوی ژن‌های مقاومت*Sr9d* ، *Sr32* و *Sr44* با شدت آلودگی 20S، لاین‌های حاوی ژن‌های مقاومت *Sr14* و *Sr53* با شدت آلودگی 10S، لاین‌های حاوی ژن‌های مقاومت *Sr38* و *Sr52* با شدت آلودگی 5S، به ترتیب بیش‌ترین میزان آلودگی را داشتند (جدول ۳). لاین‌های حاوی ژن‌های مقاومت *Sr8 a*، *Sr 9g*، *Sr13* (با شدت آلودگی 10MR) ، *Sr5*، *Sr11*، *Sr9h* (با شدت آلودگی 5MR) کم‌ترین شدت آلودگی را داشتند و در بقیه لاین‌ها بیماری مشاهده نگردید.

بحث

نتایج بررسی در سال اول اجرای آزمایش نشان داد که ژن *SrMcN* حساس‌ترین ژن نسبت به زنگ سیاه گندم بود اما روی گیاهان حامل ژن‌های *Sr5*، *Sr21*، *Sr9e*، *Sr7b*، *Sr11*، *Sr6*، *Sr36*، *Sr9b* ، *Sr30*، *Sr9a*، *Sr9d*، *Sr 24*، *Sr31*، *Sr 38*، *Sr8b* ، *Sr9h*، *Sr12* ، *Sr16* ، *Sr19*

جدول۳ – واکنش لاین‌های افتراقی حاوی ژن‌های مقاومت نسبت به زنگ سیاه گندم در شرایط طبیعی در سال ۹۷-۱۳۹۶

Table 3. Reaction of differential lines containing resistance genes to wheat stem rust under natural conditions during 2017-2018

Code	Gene	Disease severity and infection type	Code	Gene	Disease severity and infection type
1	*Sr5*	5MR	29	*Sr18*	0
2	*Sr21*	0	30	*Sr19*	0
3	*Sr9e*	0	31	*Sr20*	0
4	*Sr7b*	0	32	*Sr22*	0
5	*Sr11*	5MR	33	*Sr25*	0
6	*Sr6*	0	34	*Sr26*	0
7	*Sr8a*	10MR	35	*Sr27*	0
8	*Sr9g*	10MR	36	*Sr28*	0
9	*Sr36*	0	37	*Sr29*	0
10	*Sr9b*	0	38	*Sr32*	20S
11	*Sr30*	0	39	*Sr33*	10M
12	*Sr17*	30S	40	*Sr34*	0
13	*Sr9a*	30S	41	*Sr35*	0
14	*Sr9d*	20S	42	*Sr37*	0
15	*Sr10*	O	43	*Sr39*	0
16	*SrTmp*	40MS	44	*Sr40*	0
17	*Sr24*	0	45	*Sr41*	0
18	*Sr31*	0	46	*Sr42*	0
19	*Sr38*	5S	47	*Sr43*	0
20	*SrMcN*	0	48	*Sr44*	20S
21	*Sr 7a*	0	49	*Sr45*	0
22	*Sr8b*	0	50	*Sr46*	15MS
23	*Sr9h*	5MR	51	*Sr47*	0
24	*Sr12*	0	52	*Sr48*	0
25	*Sr13*	10MR	53	*Sr50*	0
26	*Sr14*	10S	54	*Sr51*	25MS
27	*Sr15*	0	55	*Sr52*	5S
28	*Sr16*	0	56	*Sr53*	10S

Sr20 ، *Sr22*، *Sr26*، *Sr27*، *Sr28*، *Sr32*،*Sr37* ، *Sr39*، *Sr40* ، *Sr41*، *Sr42*، *Sr43*، *Sr44* ، *Sr45* ، *Sr47* ، *Sr50* و *Sr53* بیماری مشاهده نگردید. نتایج بدست آمده در سال دوم نیز نشان داد که ژن‌های *SrMcN*، *Sr9h* و *Sr42* حساس‌ترین ژن‌ها و اما ژن‌های *Sr24* و *Sr47* مقاوم بودند و این ژن‌ها پتانسیل بسیار خوبی برای تولید ارقام مقاوم به زنگ سیاه در ایران را دارند. این نتایج با یافته‌های افشاری (Afshari, 2013) که طی سال‌های ۱۳۸۹-۱۳۹۳ با کاشت خزانه تله فاکتورهای بیماری‌زایی عامل بیماری زنگ سیاه گندم را در مناطق کرج، کلاردشت، اهواز، گرگان، زرقان فارس، مشهد، اردبیل، بروجرد و همدان بررسی و گزارش نمود که در هیچ‌کدام از مناطق اجرای پروژه در طول چهار سال روی ژن *Sr24* بیماری‌زایی مشاهده نشد، کاملاً منطبق می‌باشد، ولی نام‌برده ژن *Sr47* را در آزمایش‌های خود مطالعه نکرده بود. در پژوهشی طی سال‌های ۱۳۸۹-۱۳۹۲ با بررسی ۶۴

جدایه زنگ سیاه گندم با استفاده از ۲۰ لاین افتراقی در شرایط گلخانه ۲۳ نژاد فیزیولوژیک را شناسایی نمودندکه نژاد TTTTF با بیماری زایی روی ۱۸ ژن پرآزارترین نژاد شناسایی گردید (Afshari et al., 2015). نتایج این محققین نشان داد که روی گیاهان حامل ژن‌های *Sr24* بیماری‌زایی مشاهده نشد و این نتیجه کاملاً با نتایج تحقیق حاضرمطابقت دارد. Omrani et al. (2018) در بررسی فاکتورهای بیماری‌زایی جدایه‌های زنگ ساقه (*Puccinia graminis* f. sp. *tritici*) و شناسایی منابع مقاومت در ژنوتیپ‌های سینتتیک گندم سیمیت گزارش کردند که بیماری‌زایی روی لاین‌های افتراقی حامل ژن‌های *Sr24*، *Sr26*، *Sr27*، *Sr31*، *Sr33*، *Sr39* و *Sr40* مشاهده نگردید. در پژوهش‌های صورت گرفته با بررسی نژادهای زنگ سیاه جمع‌آوری شده از مناطق مختلف کشور نشان داده شد که هیچ‌کدام از جدایه‌ها روی ژن‌های *Sr31* و Sr24 بیماری‌زا نبودند اما روی ژن‌های *Sr36*، *Sr38*، *SrTmp* و *SrMcN* بیماری‌زایی مشاهده نمودند. به‌نظر می‌رسد هیچ‌کدام از ژن‌های مقاومت *SrTmp*، *Sr38* و *Sr36* که در بسیاری از کشورها به عنوان منابع مقاومت به *Ug99* استفاده شده‌اند در ایران کارآیی لازم برای ایجاد مقاومت به زنگ سیاه را نخواهد داشت (Jafari, 2016; Karimi Jashni et al., 2019).

نتایج نشان داد که ژن‌های *Sr26*، *Sr27* و *Sr28* ژن‌های مقاوم بوده‌اند. به‌نظر می‌رسد که ژن‌های مقاوم *Sr26*، *Sr27* و *Sr28* که دارای مقاومت نسبتاً خوبی نسبت به بقیه ژن‌های مورد بررسی دارند را می‌توان در ترکیب با ژن‌های *Sr24* و *Sr47* برای ایجاد ارقام مقاوم به زنگ سیاه در ایران استفاده نمود. با توجه به احتمال گسترش نژادهای زنگ سیاه گندم در ایران در آینده نزدیک، ضروری است برنامه‌ریزی‌های لازم را جهت تولید ارقام مقاوم که ترکیبی از ژن‌های مقاوم مؤثر نظیر *Sr24*، *Sr47*، *Sr26*، *Sr27* و *Sr28* داشته باشند، انجام شود.

سپاس‌گزاری

بدین‌وسیله از کلیه همکاران محترم مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور و مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان اردبیل که در اجرای این تحقیق ما را یاری نمودند، تقدیر و تشکر می‌کنیم.

REFERENCES

Afshari, F. 2013. Genetics of pathogenicity of wheat stem rust pathogen (*Puccinia graminis* f.sp. *tritici*) and reaction of wheat genotypes to the disease. Iranian journal of plant protection science, 43: 357-365 (In Farsi with English Abstract).

Afshari, F., Aghaee, M., Jalal Kamali, M.R., Roohparvar, R., Malihipour, A., Khodarahmi, M., Ebrahimnejad, Sh., Aghnum, R., Chaichi, M., Dadrezaei, S.T., Dalvand, M., Dehghan, M.A., Zakeri, A.K., Shahbazi, K., Safari, S.A., Tabatabaei, N., Atahoseini, M., Nabati, E., Hooshyar, R., Yasaei, M., Nasrollahi, M., Mehrabi, R., Ghaffary, T., Hashemi, M., Patpour, M., and Bayat, Z. 2015. Surveillance and Pgt race analysis in Iran. Surveillance and Pgt race analysis in Iran, 2014. Poster presented at Borlaug Global Rust Initiative Technical Workshop, 17-20 September 2015, Sydney, Australia.

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).

Hudson, D. 2016. Surveys in Azerbaijan and Iraq indicate increasing presence of stem rust, from http://rusttracker.cimmyt.org/?p=7065.

Jafari, H. 2016. Final report of the project for preparing the distribution map of wheat stem rust in different regions of the country using GIS information system. Agricultural Information Technology Information Center. Agricultural Education and Extension Research Organization, 32 pp (In Farsi).

Jin, Y., Szabo, L.J., Rouse, M.N., Fetch, T.J., Pretorius, Z.A., Wanyera, R., and Njau, P. 2009. Detection of virulence to resistance gene Sr36 within the TTKS race lineage of *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*. Plant Disease, 93: 367-370.

Karimi Jashni, M., Razavi, M., and Mahdavi Amiri, M. 2019. Investigation of physiological strains of wheat stem rust in Iran. The First Congress of Plant Pathology of Iran, Karaj, Iran. 374-375 pp.

Knott, D.R. 1989. The wheat rusts: Breeding for resistance. Springer- Verlag Berlin Heidelberg. Pp:38-49.

Mcfadden, E.S. 1930. A successful transfer of emmer characteristics to vulgare wheat. Journal of American Society of Agronomy, 22: 1020-1034.

McIntosh, R.A., Hart, G.E., Devos, K.M., Gale, M.D., and Rogers, W.J. 1998. Catalogue of gene symbols for wheat. In: Slinkard A.E., Editor. Proceedings of the 9th International Wheat Genetics Symposium, 2-7 August 1998, Saskatoon. Canada, 5: 1-235.

Nazari, K., Mafi, M., Yahyaoui, A., Singh, R.P., and Park, R.F. 2009. Detection of wheat stem rust (*Puccinia graminis* f.sp. *tritici*) race TTKSK (Ug99) in Iran. Plant Disease, 93(3): 317.

Newcomb, M., Olivera, P.D., Rouse, M.N., Szabo, L.J., Johnson, J., Sam, G., Douglas, G. L., Ruth, W., Godwin, M., Sridhar, B., David, H., Mehran, P., Mogens, S. H., Thomas, G. F., and Yue, J. 2016. Kenyan isolates of *Puccinia graminis* f.sp. *tritici* from 2008-2014: Virulence to *SrTmp* in the Ug99 race group and implications for breeding programs. Phytopathology, 106:729-736.

Okhovvat, M., and zad, J. 2005. Mycology and fungal diseases of plants. Ayizh Publication, Tehran. (In Farsi).

Omrani, A., Aharizad, S., Roohparvar, R., Khodarahmi, M., and Toorchi, M. 2018. Virulence factors of wheat stem rust (*Puccinia graminis* f. sp. *tritici*) isolates and identification of resistance sources in CIMMYT wheat synthetic genotypes. Journal of Crop Breeding, 27 (10): 84-93 (In Farsi with English Abstract).

Peterson, R.F., Campbll, A.B., and Hannah, A.E. 1948. A diagrammatic scale for estimating rust intensity of leaves and stem of cereal. Canadian Journal of Research Section, 26: 496-500.

Sharif, gh., Bamdadian, A., and Danesh Pazhouh, B. 1970. Physiological strains of buckwheat rust in Iran from 1965 to 1970. Plant Diseases, 4 (6): 73-101 (In Farsi).

Singh, R.P., Hodson, D.P., Jin, Y., Huerta- Espino, J., Kinyua, M.G. Wanyera, R., Njau, P., and Ward, R.W. 2006. Current status, likely migration and strategies to mitigate the threat to wheat production from race Ug99 (TTKS) of stem rust pathogen. Nutrition and natural Resources, 1: 54.

Singh, R.P., Hodson, D.P., Jin, Y., Lagudah, E.S., Ayliffe, M.A., Bhavani, S., Rouse, M.N., Pretorius, Z.A., Szabo L.J., Huerta-Espino, J., Basnet, B.R., Lan, C., and Hovmøller, M.S. 2015. Emergence and spread of new races of wheat stem rust fungus: Continued threat to food security and prospects of genetic control. Phytopathology, 105: 872-884.

Sunderwirth, S.D., and Roelfs, A.P. 1980. Greenhouse characterization of the adult plant resistance of *Sr2* to wheat stem rust. Phytopathology, 70:634-637.

Szabo, L.J., Christina, A., and Park, R. 2014. *Puccinia graminis*. In: Dean, R.A. et al. (Eds.). Genomics of Plantassociated Fungi: Monocot Pathogens, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, outside the USA, pp. 177-196.

© 2021 Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International. (CC BY-NC 4.0 license) (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

Evaluating efficacy of resistance genes to *Puccinia Graminis* f.sp. *Tritici*, as the cause of wheat stem rust disease in Ardabil province (Northwestern Iran)

H. Karbalaei Khiavi[1*], M. Razavi[2] and Y. Rashidi Dodkesh[3]

1. ***Corresponding Author:** Assistant Professor, Plant Protection Research Department, Ardabil Agricultural and Natural Research and Education Center, AREEO, Ardabil, Iran (hossein.karbalaei@yahoo.com)
2. Associate Professor, Plant Pathology Research Department, Iranian Research Institute of Plant Protection, AREEO, Tehran, Iran
3. Instructor, Plant Protection Research Department, Ardabil Agricultural and Natural Research and Education Center, AREEO, Ardabil, Iran

(DOI): 10.22055/ppr.2021.16997

Received: 10 April 2021 Accepted: 20 July 2021

Abstract

Background and Objectives

The stem rust of wheat (*Puccinia graminis* f.sp. *tritici*) is one of the most important diseases of wheat in Iran causing severe yield loss in some years in the case of favourable condition for disease epidemic. In the recent years, a new race of stem rust (Ug99) and its new variants have been emerged, which are virulent on most resistance genes, such as *Sr31*, *Sr38*, etc., and have potential to spread rapidly and cause severe yield loss. The Ug99 race was first reported in 2009 from Lorestan and Hamadan provinces of Iran.

Materials and Methods

Results of a recent study conducted during 2011-2013 in Iran showed virulence on *Sr36*, *Sr38*, *SrMcN* and *SrTmp* genes and since, these genes have been used widely in genotypes resistant to Ug 99, there is a possibility of breakdown of these genes in Iran. Therefore, genetic variability of pathogen should be continuously investigated and resistance sources should be developed based on this information. For achieving this aim, 56 stem rust differential cultivars/lines obtained from the Cereal Research Center, Manitoba State, in Canada were planted in Ardabil Province, northwestern Iran under natural field conditions. The seeds of each cultivar/line were planted in two rows with 1 m of length and were irrigated every 10 days to promote disease development. Disease severity and type of infection of each cultivar/line were recorded based on the standard protocol at late flowering stage.

Results and Discussion

In the first year, the disease was developed only in Ardabil region. The *SrMcN* gene was the most susceptible gene, however, there was no virulence on *Sr5*, *Sr21*, *Sr9e*, *Sr7b*, *Sr11*, *Sr6*, *Sr36*, *Sr9b*, *Sr30*, *Sr9a*, *Sr9d*, *Sr24*, *Sr31*, *Sr38*, *Sr8b*, *Sr9h*, *Sr12*, *Sr16*, *Sr19*, *Sr20*, *Sr22*, *Sr26*, *Sr27*, *Sr28*, *Sr32*, *Sr37*, *Sr39*, *Sr40*, *Sr41*, *Sr42*, *Sr43*, *Sr44*, *Sr45*, *Sr47*, *Sr50* ,and *Sr53* genes. Other genes were moderately susceptible to virulence. In the second year, the disease was also developed. *SrMcN*, *Sr9h*, and *Sr42* genes were the most susceptible genes. However, no virulence was observed on *Sr24* and *Sr47* genes. The genes of *Sr31* and *Sr36* were resistant and susceptible, respectively. It seems that *Sr36* and *Sr38* genes have no

potential to be used in breeding for achieving resistance against stem rust disease in Iran. However, *Sr24* and *Sr47* genes, which were resistant in the study area, are recommended to be incorporated in breeding wheat for obtaining resistance against stem rust disease. In addition, *Sr31*, *Sr26*, *Sr27, and Sr28* genes, which were relatively resistant in most areas, were found to have potential to be combined with *Sr24* and *Sr47* genes in wheat breeding programs.

Keywords: Stem Rust, Wheat, Resistance Genes, Pathogenicity.