تعیین تعداد ژن‌های مقاومت به عامل بیماری زنگ سیاه گندم (*Puccinia graminis* f.sp. *tritici*)، نژاد Ug99 در دو رقم گندم

Determination of Number of Resistance Gene/s to Stem Rust Disease (*Puccinia graminis* f.sp. *tritici*), Race Ug99 in Two Wheat Cultivars

فرزاد افشاری[1*]

تاریخ دریافت: ۹۱/۰۶/۰۶ تاریخ پذیرش: ۹۱/۱۰/۰۵

چکیده

بیماری زنگ سیاه یکی از بیماری‌های مهم گندم در دنیا می‌باشد. میزان خسارت بیماری در ارقام حساس ۱۰۰-۷۰ درصد گزارش شده است. بهترین روش اقتصادی کنترل بیماری زنگ استفاده از ارقام مقاوم می‌باشد. در این تحقیق دو رقم گندم نان پس از تأیید مقاومت به بیماری زنگ سیاه نژاد Ug99 به نام‌های پارسی و سیوند با لاین حساس موراکو تلاقی یافتند و بذور هیبرید تهیه گردید. گیاهان نسل F_1 و F_2 به شکل تک‌بوته در مزرعه تحقیقاتی مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج برداشت و نهایتاً بذور نسل F_3 حاصل شدند. ارزیابی جمعیت F_3 در ایستگاه تحقیقاتی ناجورو - کنیا با استفاده از پاتوتایپ TTKST زنگ سیاه که به اختصار Ug99 نامیده می‌شود و بر روی گیاهان حامل ژن‌های *Sr31* و *Sr24* بیماری‌زایی داشت با ایجاد آلودگی انجام شد. جمعیت F_3 در سه گروه مقاوم، تفرق یافته و حساس دسته‌بندی شدند. نتایج حاصله این تحقیق، نشان‌دهنده‌ی تفرق صفت مقاومت با حضور دو ژن مقاومت مؤثر نسبت به پاتوتایپ TTKST بیماری زنگ سیاه برای هر دو رقم پارسی و سیوند بود. از آنجایی‌که به وضوح مارکر فیزیولوژیکی سیاه شدن ساقه و گلوم (PBC) در رقم پارسی و جمعیت F_3 آن مشهود بود و این مارکر فیزیولوژیکی پیوسته (لینک) با ژن مقاومت *Sr2* می‌باشد، می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که یکی از ژن‌های مؤثر در رقم پارسی مربوط به ژن *Sr2* و یک ژن دوم ناشناخته مؤثر در مرحله گیاه کامل بر می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: زنگ ساقه، حساسیت، بیماری‌زایی، ژنتیک

۱. دانشیار پژوهش، بخش تحقیقات غلات، مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج، کرج

*: نویسنده مسوول Email: fafshari2003@yahoo.com

مقدمه

عامل بیماری زنگ سیاه (ساقه) گندم قارچی است با نام علمی *Puccinia graminis* f.sp. *tritici* (*Pgt*) که یکی از عوامل مهم خسارت‌زای گندم در اکثر نقاط دنیا می‌باشد. *استاکمن و همکاران* (Stakman *et al.*, 1930) اولین گزارش نژاد فیزیولوژیک را برای عامل بیماری زنگ سیاه گندم بیان نمودند.

یوردسپورهای (یوریدینوسپور) زنگ ساقه نسبت به شرایط جوی مقاوم بوده و به‌راحتی مسافت طولانی (حدود ۸۰۰ کیلومتر) میان دشت‌های بزرگ آمریکای شمالی و همچنین فاصله‌ی ۲۰۰۰ کیلومتر استرالیا تا نیوزیلند و حداقل در ۷۵ سال گذشته سه بار فاصله‌ی میان شرق آفریقا تا استرالیا (۸۰۰۰ کیلومتر) را طی نمودند (Luig, 1985).

خسارت ایجاد شده توسط عامل بیماری می‌تواند بیش از سایر عوامل بیماری‌زای غلات باشد و اهمیت آن به نحوی است که میلیون‌ها هکتار مزارع سالم با پتانسیل بالای تولید محصول را می‌تواند در کمتر از یک ماه به‌طور کامل تخریب نماید (Singh *et al.*, 2006). میزان خسارت این بیماری بستگی مستقیم به‌میزان ماده اولیه آلوده‌سازی، شرایط آب و هوایی و حساسیت رقم دارد. گزارشات متعددی در مورد وقوع اپیدمی‌های شدید و گسترده از این بیماری درمناطق مختلف جهان وجود دارد. در سال ۱۹۵۵ یک اپیدمی همزمان زنگ ساقه و زنگ قهوه‌ای گندم سبب بروز خساراتی بالغ بر ۵۰۰ میلیون دلار درکانادا و آمریکا گردید (Knott, 1989). در اروپا دو اپیدمی از این بیماری یکی در سال ۱۹۶۰ در پرتغال و دیگری در سال ۱۹۶۲ در چک اسلواکی گزارش شد (Roelfs, 1985). ارزش کنترل بیماری زنگ سیاه گندم در کشور استرالیا سالیانه برابر ۱۲۴ میلیون دلاراسترالیا برآورد شده است (McIntosh *et al.*, 1995).

در ایران گزارشی دقیقی از خسارت عامل بیماری با توجه به مقاومت اکثر ارقام با منابع مقاومت سیمیت برای حداقل سه دهه گذشته موجود نمی‌باشد. این بیماری در ایران نیز طی سال‌های ۴۵ - ۱۳۴۳ در مناطق شمالی و شمال‌غرب شدت یافت، به‌نحوی که در مناطق شمالی کشور شامل مازندران و گرگان شدت آن از زنگ زرد بیشتر شد (شریف و همکاران، ۱۳۴۹). همچنین به‌علت مساعد بودن شرایط محیطی درسال ۱۳۵۵ در نقاط جنوبی به خصوص جنوب شرقی کشور، بیماری مزارع گندم را آلوده و تا ۹۰ درصد به محصول خسارت وارد نمود (بامدادیان و ترابی، ۱۳۵۷). در تحقیقی میزان خسارت زنگ سیاه بر روی یک رقم حساس گندم تا۸۰ درصد و رقم نیمه‌حساس گندم با ۱۰ روز رسیدگی فیزیولوژیک زودتر تا ۴۰ درصد گزارش گردید (Afshari, 2000).

ژن *Sr31* از گیاه چاودار رقم امپریال که با جابه‌جایی قطعه کروموزومی از چاودار به گندم 1BL/1RS به‌همراه ژن‌های مقاومت Yr9/Lr26/Sr31 به بیماری زنگ زرد، زنگ قهوه‌ای و زنگ سیاه منتقل شدند و در اکثر ارقام گندم مورد کشت دنیا از این بلوک ژنی جهت ایجاد مقاومت به بیماری فوق استفاده شد (McIntosh *et al.*, 1995). در تعدادی از ارقام گندم آمریکایی برای ایجاد مقاومت در مقابل بیماری زنگ سیاه از ژن *Sr36* استفاده گردید. برای گیاهان حامل ژن *Sr31* تا قبل از سال ۱۹۹۸ میلادی بیماری‌زایی گزارش نشده بود. این ترکیب ژنی در اکثر ژرم پلاسم‌های مرکز بین‌المللی تحقیقات ذرت و گندم (سیمیت) استفاده شد. این در شرایطی است که ژن *Sr31* در حال حاضر در تعداد زیادی از ژرم پلاسم‌های گندم‌های تیپ بهاره کشورهای منطقه خاورمیانه و شمال آفریقا از جمله ایران، در ارقامی مثل اترک و مهدوی به طور مستقیم یا به‌عنوان والدین مورد استفاده قرار گرفتند (Afshari, 2006).

از روش‌های منطقی کنترل بیماری زنگ سیاه می‌توان استفاده از ارقام مقاوم و نهایتاً به مبارزه شیمیایی اشاره کرد. در اوایل قرن بیستم و کمی بعد از کشف مجدد قوانین مندل، *بیفن* (Biffen, 1905) اثبات کرد که مقاومت به یک زنگ پیرو قوانین مندل است.

کان و همکاران در یک مطالعه ژنتیکی با استفاده از نژاد Ug99 زنگ سیاه و تلاقی بین رقم مقاوم Webster و لاین حساس RL6071 و ایجاد نسل‌های F_2 و F_3، نتیجه گرفتند که مقاومت در رقم Webster مربوط به دو ژن مستقل بود که یکی از این ژن‌ها *Sr30* بر روی کروموزوم 5DL و ژن دوم *SrWeb* بر روی کروموزوم 2BL قرار داشت و همچنین ژن *SrWeb* در مکان ژنی نزدیک به ژن *Sr9* قرار دارد و هر دو ژن *SrWeb* و *Sr30* به نژاد Ug99 مقاومت نشان دادند (Hiebert *et al.*, 2010).

در تحقیقی با استفاده از ۶۲ لاین گندم حاصل از تلاقی گندم دوروم و معمولی با گندم‌های *Thinopyrum junceum, Th. intermedium, Th. bessarabicum, Th. elongatum, Th. ponticum, Elymus rectisetus, Aegilops caudata,* و *Triticum peltoides* نسبت به نژاد Ug99 زنگ سیاه، تعداد ۳۰ لاین نسبت به نژادهای TTKSK, TTKST و TTTSK مقاوم گزارش شدند (Xu *et al.*, 2009).

ظهور نژاد خطرناک زنگ سیاه با نام عمومی (Ug99) و ایجاد بیماری بر روی اکثر ارقام گندم با ژن‌های مقاومت و به‌طور خاص ژن‌های *Sr38* و *Sr31* در سال ۱۹۹۹ در کشور اوگاندا و همچنین گزارش گسترش آن به کشور کنیا (2001) و یمن در سال ۲۰۰۶ میلادی و در انتهای فصل زراعی در بهار سال ۱۳۸۶ از منطقه بروجرد و همدان در ایران گزارش گردید (نظری و همکاران، ۱۳۸۷).

از ژن‌های مقاومت به بیماری زنگ سیاه که پس از حتی ظهور نژاد Ug99 مؤثر بود، ژن غیراختصاصی *Sr2* (non race -specific) است که باعث ایجاد مقاومت تدریجی (slow rusting) در مرحله گیاه کامل (Adult-plant) می گردد. این ژن به همراه تعدادی دیگر از ژن‌های ناشناخته کوچک اثر تحت نام *Sr2*-Complex معروف هستند. اکثر ژن‌های مقاومت به بیماری زنگ سیاه گندم حالت نژاد اختصاصی (race specific) داشته و جز ژن‌های گیاهچه‌ای می‌باشند که از مرحله گیاهچه‌ای تا گیاه کامل اثر خود را حفظ می‌نمایند(McIntosh *et al.*, 1995) .

شیوع نژاد جدید زنگ سیاه در منطقه خاورمیانه، همانند نژاد زنگ زرد با بیماریزایی بر روی گیاهان حامل ژن *Yr9* که در طی یک دهه از آفریقا به تمام مناطق خاورمیانه گسترش یافت با توجه به حرکت وضعی زمین و جریانات آب و هوایی از غرب به شرق قابل پیش‌بینی است (Afshari, 2008) . از آنجایی‌که هر چه تعداد ژن‌های مقاومت در یک رقم بیشتر باشد شانس شکسته شدن مقاومت در آن رقم به‌دلیل موتاسیون در پاتوژن و یا ظهور نژاد جدید از پاتوژن در یک منطقه کمتر خواهد بود، مطالعات ژنتیکی اطلاعات مناسبی را در اختیار محققان قرار می‌دهد. به‌دلیل احتمال شیوع بیماری نژاد Ug99 زنگ سیاه بر روی ارقام تجاری، کشور تحقیق اولیه با ارزیابی مواد ژنتیکی و ارقام تجاری مهم در کشور کنیا طی سال‌های ۱۳۸۶ تاکنون نشان‌دهنده مقاومت دو لاین گندم بود، که پس از معرفی به نام‌های سیوند (Kauz"S"/Azadi) و پارسی (Dove"S"/Buc"S"/ 2*Darab) نام‌گذاری شدند (Najafian *et al.* 2009 a,b). این دو رقم دارای خصوصیات مطلوب زراعی و کیفیت خوب برای کشت در اقلیم معتدل کشور می‌باشند. جهت تعیین تعداد ژن‌های دخیل در ایجاد مقاومت و امکان شناسایی آنها و پیش‌بینی نقش تعدد ژن‌های مقاومت شناسایی شده در حفظ و پایداری ارقام مورد مطالعه این تحقیق انجام شد.

مواد و روش‌ها

دو رقم تجاری گندم به نام‌های سیوند و پارسی که مقاوم به بیماری زنگ سیاه نژاد Ug99 بودند جهت مطالعه وراثت مقاومت به این بیماری در مزرعه تحقیقاتی موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج با رقم حساس موراکو تلاقی، و بذور هیبرید تهیه گردید.

بذور هیبرید (F_1) حاصله پس از برداشت در سال زراعی ۸۸-۱۳۸۷ جهت تهیه بذور نسل F_2 در مزرعه به تعداد ۱۰ بذر برای هر تلاقی کشت شدند. تک بوته‌های که تشکیل دهنده نسل F_2 بودند به‌طور جداگانه برداشت شدند. در سال زراعی بعد بذور F_3 از مزرعه به شکل تک بوته برداشت شدند.

دو رقم سیوند و پارسی و همچنین لاین حساس گندم موراکو به تعداد ۲۰-۱۵ بذر برای هر رقم در گلدان به قطر ۹ سانتی‌متر کاشته و پس از ۸ روز با ظهور برگ دوم، گیاهچه هر لاین با استفاده از اسپور قارچ مخلوط با پودر تالک به نسبت ۱:۴ با دو پاتوتایپ Ug99 و نژاد محلی کلاردشت به‌طور جداگانه در گلخانه‌های تحقیقاتی کرج مایه‌زنی شدند و در دمای ۲۰-۱۸ درجه سانتی‌گراد و شرایط تاریکی برای مدت ۲۴ ساعت نگهداری شدند. گیاهچه‌ها به محیط گلخانه در دمای ۲۴-۲۲ درجه سانتی‌گراد در زیر سرپوش شفاف انتقال یافته و پس از ۱۲و ۱۴ روز بسته به واکنش رقم حساس شاهد، یادداشت‌برداری براساس مقیاس 4-0 انجام شد. که واکنش بین 2-0 به‌عنوان مقاومت و واکنش 4-3 به عنوان حساسیت یا بیماری‌زایی تعیین گردید (McIntosh *et al.*, 1995). دو رقم سیوند و پارسی به همراه لاین حساس موراکو برای ارزیابی مقاومت در خطوط یک متری در ایستگاه تحقیقات کشاورزی کلاردشت برای زنگ سیاه در طی دو سال زراعی ۸۸-۸۷ و ۸۹-۸۸ کشت شدند. آلودگی در این ایستگاه به شکل طبیعی در فصل بهار ظاهر و بیماری بر روی اسپریدرهای کشت شده در اطراف مزرعه و مواد فوق به‌خوبی گسترش یافت. یادداشت‌برداری براساس تیپ و شدت آلودگی به روش اصلاحی کوب، رولفز و همکاران (Roelfs *et al.*, 1992)، و پترسون و همکاران (Peterson *et al.*, 1948) انجام شد.

در بهار سال ۱۳۹۰ تعداد ۱۰۰ جمعیت F_3 از تلاقی Parsi/Morocco و همچنین تعداد ۹۹ جمعیت F_3 از تلاقی Sivand/Morocco برای ارزیابی نسل‌ها به کنیا ارسال شدند. مواد ژنتیکی در شرایط مزرعه ایستگاه تحقیقات کشاورزی ناجورو-کنیا برای هر جمعیت F_3 به همراه والدین روی خطوط یک متری به تعداد ۴۰-۳۵ بذر برای هر لاین به فاصله ۳۰ سانتی‌متر از یکدیگر کاشته شدند. در کنار مواد ژنتیکی یک

سری ۲۰ تایی از لاین‌های استاندارد زنگ سیاه در شرایط مزرعه نیز کشت گردید. آلودگی مصنوعی مزرعه در چند نوبت در طول فصل با نژاد TTKST (Ug99) زنگ سیاه گندم جهت استقرار و گسترش بیماری انجام شد. این نژاد دارای قدرت بیماری‌زایی بالایی است و به‌طور خاص بر روی گیاهان حامل ژن *Sr31* و *Sr36* ایجاد بیماری‌زایی می‌نماید. یادداشت‌برداری از بیماری در مرحله‌ی ظهور سنبله، زمانی که در رقم حساس آلودگی ساقه ۱۰۰-۹۰٪ را داشت براساس روش تغییریافته کوب (Peterson *et al.* 1948) و همچنین تیپ آلودگی بر اساس روش *رولفز* و همکاران (Roelfs *et al.*, 1992) انجام شد. جمعیت نسل F_3 در ۳ گروه شامل مقاوم، تفرق یافته و حساس (Non-segregating Resistant, Segregating, Non-segregating Susceptible) قرار گرفتند و نسبت‌های حاصله با روش آماری کا- اسکور بررسی شدند (Knott, 1989).

لازم به ذکر است از آنجایی‌که در آزمایشات گلخانه‌ای مشخص شد مقاومت دو رقم فوق مربوط به مرحله‌ی گیاه کامل می‌باشد و امکان ارزیابی مرحله گیاه کامل به دلیل مسائل قرنطینه‌ای نژاد Ug99 در کشور وجود نداشت این قسمت از تحقیق در ایستگاه تحقیقاتی ناجورو کنیا انجام شد.

نتایج و بحث

در ارزیابی گلخانه‌ای دو رقم جدید گندم به نام‌های پارسی و سیوند نسبت به پاتوتایپ Ug99 زنگ سیاه، نشان‌دهنده‌ی واکنش حساسیت ۳ تا ۳+ آنها به این نژاد بود (جدول ۱). در ارزیابی مزرعه‌ای گیاه کامل طی سال‌های ۱۳۸۶ تا ۱۳۹۰ دو رقم فوق، در مزرعه تحقیقاتی کلاردشت با واکنش مقاومت (10MR) و ناجورو کنیا برای رقم پارسی 10MR و رقم سیوند 50M تعیین گردید (جدول ۱). از آنجایی‌که والدین در بررسی گیاهچه‌ای نسبت به نژاد Ug99 حساس بودند، نوع مقاومت به مقاومت گیاه کامل نسبت داده شد در نتیجه ارزیابی گیاهچه‌ای نسل F_3 صرفاً برای تعداد محدودی از لاین‌های آنها نیز انجام شد که نتیجه آن حساس بودن آنها در شرایط گلخانه بود. با وجود اینکه برای ژن *Sr2* در درجه‌ی حرارت ۲۵ درجه سانتی‌گراد و بالاتر در بعضی از ریخته‌های ژنتیکی ارقام و لاین‌ها با ایجاد کلروز در میان جوش‌های زنگ سیاه حامل این ژن گزارش شده بود (McIntosh *et al.*, 1995) ، اما در این تحقیق هر دو والد دارای واکنش حساسیت در شرایط گلخانه‌ای بودند، که این امر احتمالاً به ریخته ژنتیکی و یا درجه‌ی حرارت خاص مورد نیاز برای ظهور آن بر می‌گردد.

بر اساس نتایج لاین‌های افتراقی در مرحله‌ی گیاه کامل در مرکز تحقیقات ناجورو کنیا، زنگ سیاه نژاد (TTKST) Ug99 با فرمول غیربیماری‌زایی و بیماری‌زایی به شرح ذیل تأیید گردید، که برای گیاهان حامل دو ژن *Sr36* و *SrTmp* غیربیماری‌زا و برای سایر ژن‌های فوق بیماری‌زا بود. *Sr36,SrTmp/Sr5,Sr6,Sr7b,Sr8a,Sr9a,Sr9b,Sr9d,Sr9e,Sr 9g,Sr10,Sr11,Sr17,Sr21,Sr24,Sr30,Sr31,Sr38,SrMcn.* .

در مهر ۱۳۹۰ یادداشت‌برداری از مواد ژنتیکی نسل F_3 بر اساس ۳ گروه مقاوم - حساس و تفرق یافته انجام شد. نتایج مواد تلاقی در شرایط مزرعه در جدول شماره ۲ ارائه شده است. در رقم پارسی برای دو ژن با نسبت 7Non-seg. Res, 8Seg., 1Non-seg Sus. مطابقت داشته و به‌ترتیب ۷: ۵۳: ۴۰ یادداشت‌برداری گردید برای نسبت ژنتیکی ۱: ۸: ۷ با $P_{2d.f}$>0.50 غیرمعنی‌دار بود و چنین استنباط می‌شود دو ژن در مرحله‌ی گیاه کامل به شکل مکمل ایجاد مقاومت را در این لاین به عهده دارند (جدول ۲). از آنجایی‌که در والد پارسی ژن کنترل‌کننده پوشینه سیاه کاذب (Pseudo-Black Chaff = PBC) و ژن مقاومت*Sr2* به هم‌پیوسته (linkage) هستند، حضور یکی از ژن‌های مقاومت در مرحله‌ی گیاه کامل مربوط به ژن مقاومت *Sr2* می‌باشد (شکل ۱) که این موضوع در نسل F_3 به خوبی علاوه بر والد در شرایط مزرعه و گیاه کامل بر روی ساقه‌ها لاین های به‌خوبی نمایان بود. در مطالعه دیگری بر روی گروهی از ژنوتیپ‌های گندم ایرانی جهت تعیین ژن‌های مقاومت به زنگ‌های گندم، تأییدکننده وجود ژن مقاومت *Sr2* در رقم پارسی با استفاده از روش‌های مولکولی بود (Patpour *et al.*, 2011). ژن *Sr2* یکی از ژن‌های مؤثر به بیماری زنگ سیاه بعد از ظهور نژاد Ug99 می‌باشد که به عنوان یکی از منابع مقاومت به این بیماری در تلاقی‌ها و ایجاد مقاومت در ژرم‌پلاسم سیمیت استفاده شده است (Bahavani *et al.*, 2011). از آنجایی‌که نژاد زنگ سیاه استفاده شده در کنیا بر روی گیاهان حامل ژن‌های *Sr31* و *Sr24* بیماری‌زایی داشت، مطمئناً ایجاد مقاومت در دو رقم مورد مطالعه سیوند و پارسی به حضور سایر ژن‌های مقاومت بر می‌گردد.

در نسل F_3 تلاقی Sivand/Morocco تفرق برای دو ژن مقاومت گیاه کامل با نسبت‌های تفرقی 42R:49Seg:8Sus برای نسبت ژنتیکی ۱:۸:۷با $P_{2d.f.}$>0.50 یادداشت‌برداری شد و در نتیجه کااسکورهای محاسبه شده غیرمعنی‌دار بود (جدول ۲). در تحقیق مشابه‌ای با استفاده از نژاد Ug99 زنگ سیاه بر روی نسل‌های F_2 و F_3 تلاقی بین رقم مقاوم Webster و لاین حساس RL6071 مشخص شد که مقاومت در رقم Webster مربوط به دو ژن مستقل مقاومت می‌باشد، که با انجام کارهای

ملکولی یکی از این ژن‌ها *Sr30* و ژن دوم *SrWeb* تعیین گردیدند (Hiebert *et al.*, 2010).

در کار مشابه‌ای برای بیماری زنگ زرد در ایران بر روی ارقام مرودشت، شیرودی، پیشتاز، شیراز، دز و لاین C-78-7 با نسبت 7R:8Seg:1S هر لاین و یا رقم برای دو ژن تفرق یافته بودند، بجز لاین C-78-7 که فقط دارای مقاومت گیاه کامل (با دو ژن مقاومت گیاه کامل) بود، سایر ارقام دارای یک ژن گیاهچه‌ای و یک ژن مرحله‌ی گیاه کامل بودند از آنجایی‌که ژن *Yr18* یکی از ژن‌های مرحله‌ی گیاه کامل زنگ زرد گندم می‌باشد و در اکثر ارقام سیمیت از آن به‌عنوان یک منبع پایدار از آن نام می‌برند حضور آن دور از انتظار نبود (افشاری، ۱۳۸۶) (Singh and Rajaram, 1992). اصولاً اگر مقاومت تک ژنی و به‌طور خاص مربوط به ژن‌های مرحله گیاهچه‌ای باشد که از مرحله گیاهچه‌ای شروع و تا مرحله گیاه کامل ادامه دارد، این نوع مقاومت که معمولاً شکننده بوده و در اثر نژاد جدید عامل بیماری و یا موتاسیون در عامل بیماری شکسته خواهد شد و رقم حساس خواهد گردید. به‌عنوان مثال شکسته شدن مقاومت ژن *Sr31* که به‌طور وسیع در ژرم‌پلاسم سیمیت در دنیا پخش و برای حدود ۴ دهه به‌خوبی مورد استفاده قرار گرفته بود، نمونه‌ی دیگر در مورد شکسته‌شدن مقاومت رقم فلات در سال ۱۳۷۲ که مقاومت آن در اثر ژن *Yr9* بود و با ظهور نژاد جدید عامل بیماری با قدرت بیماریزایی بر روی این ژن را می‌توان نام برد (Torabi *et al.*, 1995). مثال دوم شکسته‌شدن مقاومت رقم چمران در سال ۱۳۸۰ که به شکل پراکنده در بعضی مزارع استان فارس و در سال زراعی ۸۴-۱۳۸۳ به شکل گسترده در این استان به‌وقوع پیوست (Afshari, 2004).

نجاو و همکاران (Njau *et al.*, 2010) ژن‌های مؤثر در برابر نژاد Ug99 را ژن‌های مرحله گیاهچه‌ای و گیاه بالغ نام می‌برند و پیوستگی برخی از این ژن‌ها را با ژن‌هایی مقاومت به زنگ زرد و قهوه‌ای را بیان نمودند. اگر چه مقاومت به زنگ سیاه می‌تواند در اثر ژن‌های گیاهچه‌ای و یا گیاه کامل ایجاد شود، ولی واکنش مقاومت ارقام و لاین‌ها با ترکیب ژن‌های مختلف می‌تواند پایداری (Durability) آنها را در درازمدت بیشتر کند (Singh *et al.* 2004).

بر اساس نتایج آزمون کا اسکور در جمعیت F_3 برای رقم سیوند (جدول ۲) می‌توان چنین نتیجه گرفت که حضور دو ژن به شکل مکمل غالب (Two complementary dominant genes) در این امر دخیل می‌باشد. در بررسی توسط سینگ و همکاران بر روی ۷۲۸ لاین گندم سیمیت مشخص شد که نزدیک ۸۰ درصد آنها مقاومت قابل قبولی نسبت به نژاد Ug99 در کنیا دارند که این مقاومت به‌طور خاص مربوط به ژن‌های *Sr25, Sr26, SrTmp* و تعدادی ژن‌های ناشناخته می‌باشد (Singh *et al.*, 2011). به‌طورکلی می‌توان چنین استنباط کرد که مقاومت در دو رقم پارسی و سیوند نمی‌تواند در اثر ژن‌های مقاومت *Sr5,Sr6,Sr7b,Sr8a,Sr9a ,Sr9b,Sr9d,Sr9e,Sr9g,Sr10,Sr11,Sr17,Sr21,Sr24,Sr30,Sr31,Sr38,SrMcn* باشد. زیرا نژاد مورد استفاده در ایستگاه ناجورو (TTKST) بر روی گیاهان حامل این ژن‌ها بیماری‌زا بود. اما حضور مقاومت مربوط به دو ژن *Sr36* و *SrTmp* در این دو رقم دور از انتظار نیست و به‌طور خاص گیاهان حامل ژن *Sr36* در مقابل نژاد TTKST با واکنش مقاومت 10MR نیز یادداشت‌برداری گردید.

اصولاً لاین‌ها و ارقامی که دارای بیش از یک ژن مقاومت (دو و یا سه) هستند شانس شکسته شدن مقاومت آنها توسط پاتوژن، همزمان بسیار محدود می‌باشد و می‌توان حداقل در یک دوره‌ی زمانی ۵-۴ ساله و یا حتی بیشتر از آنها با توجه به سایر شرایط رقم به‌خوبی استفاده نمود. با این وجود زیر نظر بودن ارقام و بیماری در کنترل هر چه بهتر این عامل خسارت‌زا بسیار ضروری می‌باشد. سایر کارهای تکمیلی در جهت تعیین مشابهت ژن‌های مقاومت در این ارقام و شناسایی مارکرهای مولکولی مناسب جهت ردیابی این ژن‌های مقاومت در آینده ضروری و پیشنهاد می‌گردد.

جدول ۱: عکس‌العمل دو رقم پارسی و سیوند، و رقم حساس موراکو نسبت به پاتوتایپ (Ug99) TTKST زنگ سیاه در مرحله گیاهچه-ای و گیاه کامل.

Table 1: The responses of 2 wheat cultivars and Morocco line to *Pgt*. (Ug99) TTKST in seedling and adult plant stages

لاین/رقم Cultivars /lines	شجره Pedigree	گیاهچه ای با Ug99 Seedling-Ug99	گیاهچه ای با نژاد محلی Seedling- Non Ug99	گیاه کامل با Ug99 Adult plant-Ug99	گیاه کامل غیر Ug99 Adult plant Non Ug99	مارکر مرفولوژیکی Pseudo-Black Chaff
Parsi	Dove"S"/Buc"S"//2*Darab	3+	3	10MR	10MR	+
Sivand	Kauz"S"/Azadi	3+	3	50M	10MR	-
Morocco	(Susceptible check)	3+	3	100S	100S	-

+ Confirm of morphological marker (PBC)

+ تأیید مارکر مرفولوژیکی (PBC)

جدول ۲: عکس‌العمل تلاقی‌های دو رقم پارسی و سیوند با لاین حساس موراکو در نسل F_3 نسبت به پاتوتایپ (Ug99) TTKST زنگ سیاه در مرحله گیاه کامل

Table 2: F_3 seedling response to *Pgt*. Pathotype (Ug99) TTKST among crosses of Parsi and Sivand wheat cultivars with Morocco

تلاقی Cross	مقاوم Non-segregating resistant	تفرق یافته Segregating	حساس Non-segregating susceptible	کااسکور $X^2_{7:8:1}$	ارزش P *P value*
Parsi / Morocco	40	53	7	0.59^{ns}	P.>0.50
Sivand/Morocco	42	49	8	0.58^{ns}	P.>0.50

ns : غیر معنی‌دار، جهت معنی‌دار بودن در سطح P=0.05 با دو درجه‌ی آزادی برابر ۹۹/۵ است.

ns: Non significant, Value for significance, at P=0.05 and 2d.f. is 99.5

جدول ۳: تعداد ژن‌های موثر نسبت به بیماری زنگ سیاه گندم نژاد TTKST در تجزیه میانگین نسل F_3 در مرحله گیاه کامل

Table 3: Estimated number of stem rust resistance genes segregating at the adult plant stages to *Pgt*. Pathotype TTKST F_3 populations of crosses of Parsi and Sivand wheat cultivars with susceptible Morocco

تلاقی Cross	تعداد ژن‌های مقاومت No. of resistance genes گیاهچه‌ای Seedling	گیاه کامل Adult plant	*مجموع Total
Parsi / Morocco	0	2	2
Sivand/Morocco	0	2	2

*= Two complementary dominant genes

* دو ژن غالب و مکمل

A **B**

شکل ۱: تصویر سمت راست (B) رقم پارسی مقاوم به نژاد Ug99 با علائم بارز Pseudo-Black Chaff و سمت چپ (A) لاین حساس موراکو

Fig. 1: Right (B), resistant Parsi cultivar to stem rust disease, race Ug99 with morphological marker Pseudo-Black Chaff, and left (A), Susceptible Check Line Morocco

جهت مطالعه منابع به صفحه‌های ۷-۹ متن انگلیسی مراجعه شود.