بسم الله الرحمن الرحيم

دانشکده کشاورزی
گروه زراعت و اصلاح نباتات

پایان نامه برای دریافت درجه کارشناسی ارشد در رشته
اصلاح نباتات

جداسازی ژن‌های مقاومت به زنگ برگی جو و تولید نشانگرهای مبتنی بر PCR با استفاده از روش پروفایل NBS

سمیه آهنگریان

اساتید راهنما:
دکتر علی حق‌نظری
دکتر حسین جعفری

اساتید مشاور:
دکتر جرارد ون‌در لیندن
دکتر رضا طالبی

مهر ۱۳۸۹

تقدیم به:

پدر بزرگوار و مادر مهربانم،
که فرسودن آن‌ها آسایش من بود.

تشکر و قدردانی:

حمد و سپاس بی‌منتها خدایی راست که فرصت آموختن را به من عطا نمود و ناهمواری‌های مسیر خردورزی را بی‌دریغ برایم خرد و کوچک جلوه‌گر کرد.

سپاس بی‌کران از بسترسازان راه فرزانگی که در صدر ایشان پدر و مادر بزرگوارم و برادرانم دکتر مهدی آهنگریان و مهندس محمدرضا آهنگریان قرار دارند.

تجلیل بی‌پایان من نثار اساتید راهنمای بزرگوارم آقایان دکتر علی حق‌نظری و دکتر حسین جعفری است که در طول تحصیل درس اخلاق به من آموختند و در انجام این پروژه با هدایت‌های علمی و معنوی خویش مرا یاری فرمودند.

مراتب سپاس خود را از استاتید مشاور گرانقدرم آقای دکتر رضا طالبی،که راهنمایی‌های بی‌شائبه‌شان چراغ راهم در پیمودن این مسیر بود و آقای دکتر جرارد ون‌در لیندن ابراز می‌نمایم.

از اساتید بزرگوارم آقایان دکتر محمدرضا عظیمی و دکتر فرید شکاری، که از ایشان درس علم وادب آموختم، نهایت قدردانی را دارم.

زحمات مسئول محترم آزمایشگاه بیوتکنولوژی خانم مهندس عظیم‌خانی را ارج می‌نهم.

بر خود فرض می‌دانم از زحمات آقای دکتر مردی در آزمایشگاه ژنومیکس مؤسسه تحقیقات بیوتکنولوژی کشاورزی کرج، آقایان دکتر سعیدی و دکتر عسکری در دانشکده فناوری‌های نوین دانشگاه شهید بهشتی قدردانی نمایم.

همچنین از دوستان بسیار خوبم خانم‌ها شیما صحرائیان، مهین هاشمی، شورانگیز جوانمردی، نسترن مهری و آقایان طاها شجاعی، علیرضا علیزاده، سپهر نراقی، جواد رشید آبادی، محمد حسینی تشکر می‌کنم.

سمیه آهنگریان

مهرماه۱۳۸۹

چکیده

زنگ برگی جو با عامل *Puccinia hordei* Otth. یکی از مهم‌ترین بیماری‌های جو می‌باشد که سالانه باعث کاهش عملکرد قابل ملاحظه‌ای در محصول جو می‌شود. استفاده از ژنوتیپ‌های مقاوم یکی از مؤثرترین و اقتصادی‌ترین روش‌ها برای کنترل بیماری می‌باشد. تاکنون روش‌های متفاوتی از قبیل غربالگری در مزرعه و گلخانه، انتخاب به کمک نشانگرها و روش‌های مولکولی دیگری مانند آنالیز RGAها، جهت شناسایی منابع جدید مقاومت به زنگ برگ جو به کار گرفته شده است. غربالگری بر اساس نشانه‌های مورفولوژیکی روش وقت‌گیری بوده و استفاده از پروتکل‌های مرسوم آنالیز RGAها نیز پرهزینه می‌باشد. اخیراً، تکنیک جدید و نسبتاً ساده‌ای به نام پروفایل NBS طراحی شده است که مبتنی بر PCR بوده و به‌طور مؤثرتری ژن‌های مقاومت و آنالوگ های آنها (RGA) را شناسایی کرده و به صورت همزمان نشانگرهای پلی‌مورفیک قابل تکثیری را برای مطالعه این ژن‌ها تولید می‌کند. در این مطالعه با بهره گیری از روش پروفایل NBS و استفاده از یک توده نقشه یابی حاصل از تلاقی دو رقم جو به نام‌های Vada و L94 اقدام به شناسایی و مکان‌یابی نشانگرهای پلی‌مورفیک مرتبط با ژنهای مقاومت گردید و ارتباط بین نشانگرهای NBS و QTLهای مربوط به مقاومت نسبی به بیماری زنگ برگی جو در توده نقشه یابی فوق بررسی شد. در این تحقیق تعداد ۷ نشانگر ملکولی پلی مورفیک مرتبط با ژنهای مقاومت شناسایی گردید که از بین آنها یک نشانگر با ژن کد کننده یک نوع پروتئین مرتبط با بیماریزایی (PR پروتئین)، که عامل القای بیان پاسخ فوق حساسیت (HR) به عوامل بیماریزای گیاهی در بافت‌های آلوده می‌باشند ، هم وقوعی نشان داد. نشانگرهای موجود با QTLهای مربوط به مقاومت نسبی به بیماری زنگ برگی جو تشابه مکانی نداشتند که این امر احتمالا نشان دهنده تفاوت ساختاری ژنهای دخیل در مقاومت نسبی با ژنهای مسئول واکنش فوق حساسیت می باشد.

واژگان کلیدی: جداسازی ژن‌های مقاومت، اتصال به نوکلئوتید غنی از تکرار لوسین، جو، زنگ برگی.

ف

فهرست مطالب

فصل اول: مقدمه

۱-۱- گیاه‌شناسی جو ۱
۱-۱-۱- جو ۴
۱-۱-۲- مشخصات گیاهی جو ۵
۱-۲- اهمیت جو به عنوان یک گونه مدل ۵
۱-۳- بیماری‌های جو ۶
۱-۳-۱- زنگها ۶
۱-۳-۲- چرخه زندگی ۷
۱-۳-۳- اپیدمی شناختی ۸
۱-۳-۴- زنگ برگی ۸
۱-۳-۵- کنترل بیماری ۹

فصل دوم: بررسی منابع

۲-۱- مقاومت به بیماری ۱۰
۲-۱-۱- مقاومت فوق حساسیت ۱۰
۲-۱-۲- مقاومت نسبی ۱۱
۲-۱-۳- اثرات متقابل مقاومت ۱۲
۲-۲- انواع ژن‌های مقاومت، نحوه توارث و عملکرد آنها
۲-۲-۱- ژن‌های مقاومت غالب ۱۳
۲-۲-۲- ژن‌های مقاومت مغلوب ۱۶
۲-۲-۳- ژن‌های مقاومت مغلوب حفاظت‌شده ۱۷
۲-۳- تکامل و سازمان‌یابی ژنوم ۱۷
۲-۴- مشخصات صورت‌های ساختاری ۱۸
۲-۴-۱- دمین انتهای آمینی ۱۹
۲-۴-۲- دمین NBS ۲۰
۲-۴-۳- دمین LRR ۲۱
۲-۴-۴- دمین کربوکسیل ۲۳

۲-۵- پروتئین‌های NBS-LRR چگونه عمل می‌کنند؟ ۲۴
۲-۶- مکانیسم‌های متفاوت شناسایی پاتوژن ۲۵
۲-۶-۱- شواهد شناسایی مستقیم ۲۶
۲-۶-۲- شواهد شناسایی غیر مستقیم ۲۷
۲-۷- مطالعه آنالوگهای ژن‌های مقاومت ۲۸
۲-۸- مکان‌یابی ژن‌های مقاومت ۳۵
۲-۸-۱- نقشه‌های سیتوژنتیکی ۳۵
۲-۸-۲- نقشه‌های فیزیکی ۳۶
۲-۸-۳- نقشه‌های ژنتیکی ۳۶
۲-۹- ساختن یک نقشه لینکاژی ۳۷
۲-۱۰- جمعیت‌های نقشه‌یابی ۳۷
۲-۱۱-شناسایی پلی‌مورفیسم ۳۸
۲-۱۲- تجزیه پیوستگی نشانگرها ۳۹

فصل سوم: مواد و روش‌ها

۳-۱- مواد گیاهی ۴۰
۳-۲- استخراج DNA ۴۰
۳-۲-۱- مراحل استخراج DNA ۴۰
۳-۳- تعیین کیفیت و کمیت DNA ۴۱
۳-۳-۱- الکتروفورز بر روی ژل آگارز ۴۲
۳-۳-۲- استفاده از نانودرآپ ۴۲
۳-۴- مرحله هضم آنزیمی و چسباندن ۴۳
۳-۵- واکنش زنجیره‌ای تکثیر اولیه ۴۴
۳-۵-۱- برنامه‌ریزی چرخه حرارتی برای واکنش زنجیره‌ای تکثیر اولیه ۴۴
۳-۶- واکنش زنجیره‌ای تکثیر انتخابی ۴۵
۳-۶-۱- برنامه‌ریزی چرخه حرارتی برای واکنش زنجیره‌ای تکثیر انتخابی ۴۵
۳-۷- آغازگرها و سازگارسازهای مورد استفاده در این پژوهش ۴۶
۳-۸- جداسازی و رنگ‌آمیزی قطعات تکثیر یافته ۴۶
۳-۸-۱- آماده کردن شیشه‌های سیستم الکتروفورزی ۴۷
۳-۸-۲- نحوه اتصال قطعات مختلف دستگاه ۴۷
۳-۹- ژل اکریلامید
۳-۹-۱- طرز تهیه محلول ۴۰٪ اکریلامید واسرشته‌ساز ۴۸

۲-۹-۳- تزریق ژل ۴۹
۳-۹-۳- نحوه کار با دستگاه الکتروفورز عمودی ۴۹
۴-۹-۳- الکتروفورز نمونه‌ها ۵۰
۱۰-۳- رنگ‌آمیزی با نیترات نقره ۵۱
۱۱-۳- امتیازبندی باندها ۵۱
۱۲-۳-اطلاعات مورد استفاده جهت مکان‌یابی نشانگرهای NBS ۵۲
۱۳-۳- نرم‌افزار مورد استفاده ۵۲
۱۴-۳- بررسی هم‌وقوعی نشانگرهایNBS با QTLهای دخیل در مقاومت ۵۴

فصل چهارم: نتایج و بحث

۱-۴- نتایج جداسازی DNA
۱-۱-۴- ارزیابی کیفیت با استفاده از الکتروفورز بر روی ژل آگارز ۵۴
۲-۱-۴- ارزیابی کمیت با استفاده از نانودرآپ ۵۴
۲-۴- ارزیابی صحت انجام تکثیر اولیه ۵۵
۳-۴- تجریه محصولات تکثیر اولیه ۵۵
۴-۴- پلی‌مورفیسم ۵۷
۵-۴- توانایی تکنیک پروفایل NBS در تولید نشانگرهای پلی‌مورفیک ۵۸
۶-۴- مکان‌یابی NBSها ۵۸
۷-۴- نشانگرهای NBS و عملکرد آنها ۶۲
۱-۷-۴- PR پروتئین‌ها ۶۲
۸-۴- NBSها و مقاومت فوق حساسیت ۶۴
۹-۴- ارتباط NBSها و QTLها ۶۵
۱۰-۴- نشانگرهای NBS و ژن‌های بزرگ‌اثر ۶۷
۱۱-۴- چشم‌اندازی در مورد پروفایل NBS ۶۸
پیشنهادات **۷۰**

منابع **۷۱**

فهرست اشکال

شکل ۱-۲ ..... ۱۴
شکل ۲-۲ ..... ۱۶
شکل ۳-۱ ..... ۱۹
شکل ۴-۲ ..... ۲۳
شکل ۵-۲ ..... ۲۵
شکل ۶-۲ ..... ۲۶
شکل ۱-۳ ..... ۴۸
شکل ۲-۳ ..... ۴۹
شکل ۳-۳ ..... ۵۰
شکل ۱-۴ ..... ۵۴
شکل ۲-۴ ..... ۵۵
شکل ۳-۴ ..... ۵۶
شکل ۴-۴ ..... ۶۰
شکل ۵-۴ ..... ۶۱
شکل ۶-۴ ..... ۶۳
شکل ۷-۴ ..... ۶۶

فهرست جداول

جدول ۱-۲ ..... ۲۰
جدول ۱-۳ ..... ۴۳
جدول ۲-۳ ..... ۴۴
جدول ۳-۳ ..... ۴۴
جدول ۴-۳ ..... ۴۵
جدول ۵-۳ ..... ۴۵
جدول ۶-۳ ..... ۴۶
جدول ۷-۳ ..... ۴۶
جدول ۸-۳ ..... ۴۷
جدول ۹-۳ ..... ۴۸
جدول ۱۰-۳..... ۵۲
جدول ۱-۴ ..... ۵۷
جدول ۲-۴ ..... ۶۲
جدول ۳-۴ ..... ۶۷

مقدمه

مقدمه

گیاهان برخلاف حیوانات، فاقد سلول‌های پدافند متحرک و سیستم ایمنی سازگارپذیر سوماتیکی هستند. در عوض، هر یک از سلول های گیاهی مسلح به سیستم ایمنی ذاتی بوده و قادر به دریافت سیستمیک علائم آلودگی هستند[۴۱]. بنابراین زمانیکه یک گیاه توسط پاتوژن مورد حمله قرار گرفته و آلوده می‌شود، تعدادی از ژن‌های دفاعی فعال می‌شوند. آنالیز توالی پروتئین‌های پیش‌بینی شده‌ای که توسط ژن‌های مقاومت کد شده اند، نشان داده است که دنباله های مشترکی در ژن‌های مقاومت از خاستگاه‌های متنوع و بدون توجه به پاتوژن هدف وجود داشته است که بر اساس ساختار و عملکرد می‌توانند به پنج دسته تقسیم شوند.

اکثر ژن‌های مقاومت پروتئین‌هایی را کد می‌کنند که از نظر دمین‌هایی تشکیل دهنده مشابه هم هستند. اغلب آن‌ها شامل یک محل اتصال به نوکلئوتید حفاظت شده (NBS) هستند که برای اتصال ATP یا GTP بسیار مهم است. دومین دمین کلیدی منطقه غنی از تکرار اسید آمینه لوسین (LRR) است. این دمین احتمالاً اجازه به‌کار افتادن اثرات متقابل پروتئین-پروتئین را می‌دهد. دمین LRR شامل رشته‌ای از موتیف‌های تکرار شونده اسیدآمینه‌های لوسین با دیگر اسیدآمینه‌های آبدوست[۱] در یک فاصله معین می‌باشد. پروتئین‌های NBS-LRR ممکن است در توالی انتهای آمینی خود متفاوت باشند. یک گروه شامل دمین TIR با همولوژی برای فاکتور مقاومت طبیعی Toll و ژن‌های گیرنده اینترلئوکین[۲] و دیگری شامل ساختار حلقوی مارپیچی[۳] می‌باشد.

احتمالا بسیاری از پروتئین‌های مقاومت (R)[۴] که مقاومت به بیماری را ایجاد می‌کنند، به صورت غیر مستقیم توسط افکتورهای کدشونده توسط پاتوژن، و نه توسط شناسایی مستقیم، فعال می‌شوند[۴۱].

1- Hydrophobic
2 -Toll Interleuhin Receptor-like
3- Coild-Coil
4 -Resistance

روشن شده است که دو شاخه از سیستم ایمنی در گیاه وجود دارد. یک شاخه از گیرنده‌های شناسایی الگوی غشای سیتوپلاسمی (PRRs)[1] استفاده می‌کنند که به توسعه کند الگوهای مولکولی مرتبط با پاتوژن (PAMP)[2] یا الگوهای مولکولی مرتبط با میکروب (MAMP) پاسخ می‌دهد از قبیل فلاژلین [۹۷]. گروه دوم به طور عمده در داخل سلول، با استفاده از پلی‌مورفیسم[3] محصولات پروتئین NBS-LRR که توسط ژن‌های R کد شده است پاسخ می‌دهد[۴۱].

افکتورهای پاتوژن از گروه‌های مختلف توسط پروتئین‌های NBS-LRR شناسایی شده و پاسخ‌های دفاعی مشابهی را فعال می‌کنند. NBS-LRR ایجادکننده مقاومت به بیماری در مقابل پاتوژن‌هایی که فقط می‌توانند روی بافت میزبان زنده رشدکنند (انگل‌های اجباری) یا پاتوژن‌های بیوتروف مؤثرند، اما در مقابل پاتوژن‌هایی که بافت میزبان را در طی تکثیر از بین می‌برند (نکروتروف) مؤثر نیستند [۴۱].

اهداف و ضرورت انجام این پژوهش

زنگ برگ جو یکی از مهم‌ترین بیماری‌های جو، بویژه در مناطق شمالی کشور به علت رطوبت بالا، می‌باشد. استفاده از کولتیوارهای مقاوم مناسب‌ترین روش در کنترل بیماری عنوان شده است.

مقاومت در جو نسبت به عامل بیماری زنگ برگی ممکن است توسط ژنهای اصلی یا بزرگ اثر (Major genes) و یا ژنهای فرعی یا کوچک اثر (QTLs) کنترل شود. مقاومت نسبی به زنگ برگی در جو یک مقاومت کمی است که بر مبنای واکنش فوق حساسیت نمی‌باشد. این نوع از مقاومت به خاطر وجود ژن‌هایی با اثرات کمی و نسبتاً کوچک است که اصطلاحاً QTL نامیده می‌شوند. نتایج تحقیقات اخیر نشان داده است که مجموعه‌ای از ژن‌های کوچک اثر(QTL) و ژن‌های بزرگ اثر (R-genes) مقاومت جو نسبت به قارچ عامل بیماری زنگ برگی را کنترل می‌کند. روش‌های مختلفی از قبیل غربالگری در مزرعه و یا انتخاب به کمک نشانگر برای یافتن منابع جدید مقاومت

1- Pattern Recognition Receptor
2- Microbial or Pathogen-associated molecular pattern
3- Polymorphism

به کاررفته است. اما غربالگری بر اساس ظواهر مورفولوژیکی به علت اثرات محیطی و روش‌های مولکولی از قبیل AFLP به علت وجود پلی‌مورفیسم در نواحی تصادفی ژنوم چندان مناسب نمی‌باشند. روش پروفایل NBS روش نسبتاً ساده و مؤثر برای تولید نشانگرهای مولکولی در مقایسه با روش‌های تصادفی از قبیل AFLP می‌باشد. این روش به صورت مؤثری ژن‌های مقاومت و آنالوگ‌های ژن‌های مقاومت را نشانمند کرده، در نتیجه تکنیک قدرتمندی جهت تولید نشانگرهایی است که به طور قطعی با ژن‌های R پیوسته‌اند. بنابراین امکان یافتن منابع جدیدی از ژن‌های مقاومت به زنگ برگ را در جو می‌دهد.

در این تحقیق از تکنیک پروفایل NBS برای شناسایی نشانگر های ملکولی مبتنی بر PCR استفاده شده است. هدف این تحقیق معرفی نشانگرهای ملکولی است که به جای قرار گرفتن در نقاط مختلف ژنوم جو، تنها نقاطی را در روی ژنوم جو هدف‌گیری کنند که به طور ساختاری با ژنهای مقاومت به عوامل بیماریزای بیوتروف ارتباط دارند. این انتخاب هدفمند می‌تواند در نهایت به شناسایی نشانگرهای پیوسته با ژنهای مقاومت به زنگ برگی جو منجر شود.

۱-۱- گیاه‌شناسی جو

۱-۱-۱- جو(*Hordeum vulgare* L)

جو زراعی گیاهی یک‌ساله و از تیره غلات (Graminea) می‌باشد که توسط انسان اهلی شده و در نقاطی ازخاور نزدیک که کاوش‌های باستان‌شناسی صورت گرفته همیشه با گندم امر[۱] و آین‌کورن[۲] دیده شده است[۳]. جو یکی از گیاهان مهم زراعی و در ترتیب چهارمین غله بعد از برنج، گندم و ذرت قرار دارد[۳]. اولین انواع کشت شده آن نیز جوهای دوپر می‌باشند. جو در طیف وسیعی از مکان‌ها، از مناطق پر باران تا بیابان‌ها، از مناطق سرد تا گرم و از سطوح پایین‌تر از سطح دریا تا بالای قله‌های کوه می‌روید. منشاء و موطن جو به طور قطع معلوم نیست و در این رابطه تئوری‌های مغایر و معارضی مطرح شده است اما هیچ‌یک دلایل کافی و مستندی در تعیین شواهد و قرائن منشاء این گیاه ارائه نمی‌دهد، در عین حال هارلان[۳] عقیده دارد که عموم جوهای وحشی و اهلی در منطقه‌ای که هم‌اکنون گونه جو وحشی یا هوردئوم اسپونتانئوم[۴] یافت می‌شود، روئیده است. این منقطه از کوه‌های زاگرس در غرب ایران و در سرتاسر جنوب ترکیه و سمت جنوب فلسطین امتداد دارد[۳].

جو یکی از متحمل‌ترین گیاهان دانه‌ای و علوفه‌ای است و دامنه سازگاری آن زیاد بوده، به همین دلیل در نقاطی از مناطق خشک و نیمه‌خشک که میزان بارندگی بسیار اندک وغیر قابل پیش‌بینی است و تکافوی تولید محصول رضایت‌بخش گندم را نمی‌کند، زراعت می‌شود. جو بیشتر جهت تولید دانه برای تغذیه دام و صنایع تخمیری کشت می‌شود. ارزش علوفه‌ای دانه‌های جو، قابل مقایسه با ارزش علوفه‌ای دانه‌های ذرت می‌باشد[۳].

جو وحشی گونه *Hordeum spontaneum C.koch* است که مرکز تنوع آن هلال حاصلخیز در منطقه خاور میانه است. خزانه ژنی *H. spontaneum* یک منبع وسیعی از تنوع برای ژنتیک‌دانان و اصلاح‌کنندگان و موضوع بسیاری از مطالعات تکاملی، سازگاری و ژنتیک جمعیت بوده است[۳].

1- Emer
2- Incorn
3- G. R. Harlan
4- Hordeum spontaneum

۲-۱-۱- مشخصات گیاهی جو

رشد و توسعه جو در شرایط معمولی مشابه گندم (با بعضی ویژگی‌های خاص مربوط به جنس، واریته و فرم‌ها) می‌باشد. جوانه زدن دانه‌های جو پوشیده و دو قطبی است و سبز کردن آن ۸-۱۲ روز بعد از کشت صورت می‌گیرد. تعداد ریشه‌های جنینی در جو بسته به رقم، اندازه و شرایط رشد و نمو ۵-۸ عدد است (ارقام پاییزه ۵-۶ عدد) و تعداد ریشه‌ها در دانه‌های بزرگ بیشتر از دانه‌های کوچک است، که یک تا تعدادی از آن‌ها به طور عمودی و تا عمق ۲ متر در خاک نفوذ می‌کند و بقیه در اطراف به طور جانبی در عمق ۴۰ سانتی‌متری خاک گسترش می‌یابد. سیستم ریشه‌ای در جو مثل سایر غلات سطحی و افشان است. ریشه‌های ثانویه در هنگام پنجه‌زدن از گره‌های مجاور سطح خاک به‌وجود می‌آیند و بعضی از آن‌ها مثل ریشه‌های اولیه به‌طور عمودی و به سمت پایین خاک نفوذ می‌کنند و بعضی به اطراف پخش شده و قشر فوقانی خاک را از یک توده متراکم ریشه پرمی‌کنند[۳].

۲-۱- اهمیت جو(*Hordeum vulgare* L.) به عنوان یک گیاه مدل

جو یک گونه مهم مدل جهت مطالعات ژنتیکی می‌باشد، به علت:

- دیپلوئید است و تعداد کروموزوم‌های آن نسبتاً کم است (n=۷).
- دارای طیف وسیعی از تنوع فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی است.
- ذخایر ژنتیکی به آسانی با خودگشنی ماندگار و ابدی می‌شوند و از بانک بذر در دسترس هستند.
- دوره زندگی نسبتاً کوتاهی دارد.
- نقشه ژنتیکی کاملاً تشریح شده آن بر اساس نشانگرهای مولکولی، پروتئینی، سیتوژنتیکی و مورفولوژیکی وجود دارد.

۳-۱- بیماری‌های جو

گیاهان، از جمله جو، ممکن است تحت تاثیر طیف گسترده‌ای از بیماری‌ها قرار گیرند که بر رشد و تکامل آن‌ها اثر گذارد. گرچه تعریف دقیق بیماری هنوز مورد بحث است، ولی بیشتر بیماری‌شناس‌ها توافق دارند که بیماری یعنی سوء کارکرد در فرآیندهای گیاه در زمان رشد گیاه یا در زمانی که گیاه خواب است. چون بیماری در یک دوره زمانی رخ می‌دهد، باید یک عامل یا یک علت مؤثر وجود داشته باشد که تداوم فرآیند بیماری را حفظ کند. این عامل بیماریزا ممکن است توسط یک عامل زنده و یا غیر زنده (برای مثال در اثر کمبود مواد معدنی) باشد.

از جمله عوامل بیماریزای زنده، قارچ‌ها هستند که شاید فراوان‌ترین پاتوژن‌های گیاهی باشند. قارچ‌ها ارگانیسم‌های کوچکی‌اند که کلروفیل ندارند و معمولاً به شکل رشته‌هایی به نام ریسه رشد می‌کنند. قارچ‌ها معمولاً از راه تشکیل اسپورها با باد، باران، ماشین‌آلات و غیره پخش شده و تولیدمثل می‌کنند. قارچ‌ها می‌توانند مستقیماً و یا از طریق منافذ طبیعی مثل روزنه‌ها به گیاه نفوذ کنند. قارچ‌ها به شکل اسپور یا اندام‌های غیر فعال (مثل اسکلرتیوم[1]) در خاک و بقایای گیاهی، یا به شکل ریسه (یعنی مسلیوم[2]) در داخل گیاه زنده ادامه حیات می‌دهند.

بیماری‌های قارچی شامل طیف وسیعی از بیماری‌ها می‌باشد که از آن جمله می‌توان به زنگ‌ها اشاره کرد[۱].

۱-۳-۱- زنگ‌ها

عامل سه بیماری زنگ، زنگ برگ، زنگ ساقه و زنگ زرد به جو حمله می‌کنند. در اثر بیماری نقاط قهوه‌ای قرمز فام تا قهوه‌ای یا جوش‌های زرد رنگ از اپیدرم اندام‌های هوایی گیاه بیرون می‌زند. نام بیماری از ماهیت زنگ مانند اسپورهایی که این جوش‌ها را تولید می‌کنند گرفته شده است. بسته به توانایی گیاه در مقاومت نسبت به آلودگی، علائم از خال‌های ریز و کم تا جوش‌هایی که

1-Sclerotium
2 -Mycelium

ممکن است تمام گیاه را بپوشاند متغیر است. در زنگ نواری یا زنگ زرد، جوش‌ها به شکل نوارهایی دراز روی برگ گیاهان بالغ ظاهر می‌شوند.

در میان این سه زنگ، به‌تازگی زنگ برگ بیشترین اهمیت را داشته است. صدمه به بوته جو، به مرحله رشدگیاه در هنگام بروز بیماری بستگی دارد. اپیدمی‌هایی که قبل یا در طول دوره گلدهی رخ می‌دهند، زیان‌آورترین هستند. آلودگی‌های خوشه نیز صرف نظر از اینکه سایر اندام‌های گیاه نیز مبتلا شده باشند یا نه، به‌ویژه زیان‌آورند. زنگ‌ها نیز همچون سفیدک سطحی سبب افزایش تعرق و تنفس و کاهش فتوسنتز بوته جو می‌شوند. زنگ‌ها به‌طور کلی از قدرت گیاه، پرشدن دانه و رشد ریشه‌ها می‌کاهند[۱].

زنگ‌های جو بوسیله سه قارچ بسیار اختصاصی ایجاد می‌شوند، که عامل زنگ برگ، قارچ *Puccinia hordei* است. این پاتوژن دارای نژاد های فیزیولوژیک متعددی می‌باشد که بدلیل نشان دادن الگوهای مختلفی از درجه بیماری‌زایی روی میزبان‌های افتراقی، قابل تفکیک‌اند. ژنهای خاصی در این قارچها درجه بیماری‌زایی آن‌ها را تعیین می‌کنند. برهم‌کنش این ژن‌های اختصاصی میزبان نوع آلودگی را معین می‌کند که این، به نوبت خود، برای تشخیص نژادهای قارچهای مولد زنگ استفاده می‌شود.

۲-۳-۱- چرخه زندگی

قارچهای عامل زنگ جو در حال حاضر پارازیت‌های اجباری به‌شمار می‌روند. بسیاری از جدایه‌ها علاوه بر جوانه زنی یوردینیوسپورها[1]، ظرفیت رشد محدود در شرایط آزمایشگاهی دارند، اما فرم‌هایی که بدون حضور میزبان قادر به اسپورزایی یا تکمیل چرخه زندگی خود باشند بسیار نادرند.

زنگ‌های جو به استثنای زنگ زرد، چرخه زندگی پیچیده‌ای دارند که شامل میزبان‌های واسط و تا ۵ مرحله اسپوری است. یوردینیوسپورها که به تعداد زیاد در بهار و تابستان تولید می‌شوند از نظر

1-Urdiniuspor

اپیدمی شناختی بسیار با اهمیت هستند. این اسپورها بوسیله باد روی بوته‌های دیگر پراکنده می‌شوند و تنها در عرض ۸ روز یا کمتر آلودگی‌های جدید بوجود می‌آورند.

۳-۳-۱- اپیدمی شناختی

هنگامی‌که در ناحیه‌ای وسیع بوته‌های سازگار جو و قارچ مولد زنگ وجود داشته باشد و شرایط محیطی نیز مساعد باشد، اپیدمی زنگ ایجاد می‌شود. قارچ مولد زنگ دارای ژن‌هایی برای بیماری‌زایی یا غیر بیماری‌زایی است که با ژن‌های کنترل‌کننده مقاومت یا حساسیت در جو برهم‌کنش اختصاصی دارند. اگر میزبان دارای ژنی برای مقاومت باشد که پاتوژن نتواند با ژنی برای بیماری‌زایی با آن مقابله کند، بیماری بسیار اندک خواهد بود یا اصلاً رخ نخواهد داد.

در صورت وجود رطوبت آزاد و دمای بین ۱۵ تا ۲۵ درجه سانتیگراد، نفوذ به گیاه در مدت ۶ تا ۸ ساعت کامل می‌شود و یوردینیوسپورهای ثانوی در مدت ۷ تا ۱۰ روز تولید می‌شوند.

میزبان‌های حد واسط نگه‌دارنده فرم‌های جنسی قارچ‌های مولد زنگ و منابع فرم‌های جدید بیماریزا و در بعضی مناطق منابع اینوکولوم اولیه در بهارند. نژادهای جدید زنگ ممکن است بدون دخالت میزبان‌های حد واسط از طریق جهش ژنتیکی و مکانیسم‌های فراجنسی در مراحل یوردینیومی به وجود آید[۱].

۴-۳-۱- زنگ برگی

زنگ برگی یا زنگ قهوه‌ای در حال حاضر مهم‌ترین بیماری جو است. زنگ برگ جو به وسیله قارچ *Puccinia hordei* Otth. ایجاد می‌شود. این زنگ بخصوص در مناطقی که گیاهان دیر به مرحله بلوغ می‌رسند اهمیت دارد و جوهای بهاره و پاییزه مناطق شرقی و غرب ایالات متحده، در افریقای شمالی، اروپا، نیوزلند، استرالیا و بعضی قسمت‌های آسیا انتشار گسترده‌ای دارد. زنگ برگ در ۲۵ سال گذشته در اروپا و امریکا خسارت قابل ملاحظه‌ای به بار نیاورده است، اما در سال‌های اخیر بیشتر

اهمیت یافته است. در سال ۱۹۸۱ در مینه‌سوتا و داکوتای شمالی روی برخی ارقام زراعی دیررس حمله بسیار شدید زنگ برگ رخ داد. خسارت، بویژه هنگامی که پاتوژن بوته‌ها را زود مورد حمله قرار می‌دهد و برگ پرچم را نیز آلوده می‌کند ممکن است زیاد باشد. گیاهان آلوده برگ‌های کوچک‌تر و ساقه‌های ضعیف‌تر دارند و حدود ۲ هفته زودتر از گیاهان سالم به مرحله بلوغ می‌رسند. آلودگی‌های شدید زود هنگام، باعث چروکیدگی دانه و اندکی کاهش در تعداد آنها می‌شود[۱].

۵-۳-۱- کنترل بیماری

در اکثر مناطق منبع اصلی اینوکولوم اولیه یوردینیوسپورهای زمستان‌گذران یا تابستان‌گذران هستند که روی جو ادامه حیات می‌دهند. چون یوردینیوسپورها می‌توانند تا فواصل دور پراکنده شوند، اینوکولوم زمستان‌گذران یا تابستان‌گذران می‌تواند با باد به مناطقی که زیر کشت جو رفته‌اند منتقل و آلودگی ایجاد کند. زنگ برگ را می‌توان با کاربرد قارچ‌کش‌های برگی، به خصوص انواع سیستمیک آن‌ها مانند، تریادیمفون، کنترل کرد. با این حال استفاده از قارچ‌کش‌ها تنها در هنگام اپیدمی شدید، از نظر اقتصادی قابل توصیه است. در اکثر موارد استفاده از ارقام زراعی مقاوم مهم‌ترین و مفیدترین روش کنترل است. چند ژن اصلی برای مقاومت که با pa، pa2، pa3 و غیره مشخص می‌شوند شناخته شده‌اند. فرض بر این است که ژنها بر مبنای رابطه ژن-در-مقابل ژن در تطبیق با ژن‌های بیماری‌زای پاتوژن عمل می‌کنند. با این حال در اکثر مناطق مهم تولید جو دنیا، بیماری‌زایی در مقابل این ژن‌های اصلی مقاومت دیده می‌شوند [۱].