بسم الله الرحمن الرحيم
الحمد لله رب العالمين الرحمن الرحيم مالك يوم الدين
اهدنا الصراط المستقيم صراط الذين
انعمت عليهم غير المغضوب عليهم
ولا الضالين

دانشگاه تربیت مدرس
دانشکده علوم زیستی
پایان نامه کارشناسی ارشد(M.Sc)
رشته زیست شناسی(ژنتیک)

شناسایی ژن سنتز کننده کیتین در زنگ برگ گندم و بررسی تظاهر آن در سطح RNA

نگارنده
زینب خفاجی

استاد راهنما
دکتر بهرام محمد سلطانی

استاد مشاور
دکتر مجید صادقی زاده

سال تحصیلی
شهریور ۸۸

تقدیم شراره یک شمع به خورشید موجب شرمندگی است و من با تمام این شرمندگی این اثر ناچیز را تقدیم می کنم به :

پدر و مادر عزیز و فداکارم که با صبر و فداکاري خود مرا در انجام این پایان نامه یاري رساندند.

سپاس خداوندی راست که اگر کمک و پشتیبانی همیشگی او نبود نمی‌توانستم هیچ یک از مراحل زندگیم را به پایان برسانم. پیش از همه از اساتید بزرگ زندگیم پدر و مادر عزیزم تشکر می‌کنم، که اگر کمک و دعاهای آنها نبود نمی‌توانستم ادامه تحصیل دهم.

از استاد راهنمایم جناب آقای دکتر بهرام محمد سلطانی به پاس زحمات بی دریغشان در جهت به انجام رساندن پایان نامه حاضر کمال تشکر را دارم، بی شک بدون نظرات سازنده آن بزرگوار تحقق چنین امری ممکن نبود. همچنین از زحمات بی شائبه جناب آقای دکتر مجید صادقی زاده که مشاوره این پایان نامه را به عهده داشتند تشکر و قدردانی می نمایم. از جناب آقای دکتر بهمنش به خاطر مشاوره‌های به موقع و همراهی‌شان در کل مدت پایان نامه تشکر ویژه دارم. استاد بزرگوار جناب آقای دکتر مولی که از کلاس های دانشگاهی ایشان کمال استفاده را بردم کمال تشکر را دارم و همچنین از جناب آقای رفیعی به خاطر همراهی و آموزشهای به موقع شان تشکر می‌کنم.

از کلیه اعضای خانواده‌ام که مشوق و پشتیبان همیشگی من بودنند کمال تشکر و قدردانی را دارم.

دوستان و همکلاسی های عزیزم، خانم ها و آقایان: دکتر خلج ، عباس پادگانه ، حمید بیات ، ابراهیم حسینی ، ابراهیم محمودی، احسان فراشاهی، مونس حیدری ، خدیجه جوادی، روشنک نجفی، زهرا بهادری ، مریم قلندری ، سپیده پارسی، حنان طاحون، حورا بلال و به تمامی آنان که در پیمودن راه درست زندگی یاریگرم بودند تشکر میکنم.

چکیده

زنگ های غلات (زنگ زرد یا نواری[1]، قهوه ای یا برگی[2]، سیاه و یا ساقه[3])، از مهمترین آفات گندم می‌باشند. بیماری زنگ برگ گندم از نظر گستردگی جهانی در مناطق زیر پوشش کشت گندم از مهمترین بیماری‌های گندم می‌باشد. درک مولکولی بهتر از ارتباط این پاتوژن با میزبانش امکان اتخاذ استراتژی‌های جدید جهت کنترل بیماری فراهم خواهد کرد. جهت مطالعه میانکنش پاتوژن و میزبان نیاز به کاربرد متدهای تحقیقات ژنتیکی از جمله کشت در پلیت و دستورزی ژنتیکی است. برخلاف زنگ ساقه، زنگ برگ گندم در پلیت قابل کشت نیست و روش‌های ترانسفورم کردن آن کار آمد نیستند. لذا احتمال داده می شود تفاوت اجزای دیواره سلولی این قارچ با زنگ ساقه آن را از این نظر را متمایز کرده باشد. کیتین یکی از ساختار های اصلی دیواره سلولی در قارچ ها میباشد و تا کنون پنج ژن سازنده کیتین در زنگ ساقه شناسایی و معرفی شده اند. هدف کلان این تحقیق جداسازی و بررسی بیان ژن‌های ناشناخته درگیر در سنتز کیتین در زنگ برگ با استفاده از پنج ژن سازنده کیتین در زنگ ساقه میباشد و جهت انجام این پروژه در صدد یافتن توالی یکی از این ژن ها هستیم. چهار EST[4] که همولوژی بالایی با ژن‌های کد کننده کیتین زنگ ساقه نشان میدهد در بانک EST خصوصی موسسه کشاورزی کانادا یافت شدند. در این پژوهش برای اولین بار بیان ژنهای سازنده کیتین در دو مرحله از زندگی زنگ برگ مورد بررسی قرار گرفت و بیان این ژن‌ها مشخص گردید. همچنین بخشهایی از توالی دو ژن سنتز کننده کیتین در زنگ برگ تعیین شد.

واژگان کلیدی : زنگ برگ گندم، ژن سنتز کننده کیتین، تعیین توالی

---

[1]- Yellow rust or Stripe rust
[2] - Brown rust or Leaf rust
[3] - Black rust or Stem rust
[4] - Expressed sequence tag

فهرست مندرجات

عنوان **شماره صفحه**

فصل اول: کلیات

۱-۱- مقدمه..... ۲

۱-۲- گیاهشناسی گندم ۲

۱-۳- بیماریهای غلات..... ۳

۱-۳-۱- زنگ ها..... ۴

۱-۳-۲- تاریخچه زنگ ها..... ۴

۱-۳-۳-اهمیت بیماری..... ۵

۱-۳-۴- قارچ های عامل زنگ..... ۵

۱-۳-۵- زنگ قهوه ای گندم ۶

۱-۳-۶- اهمیت و خسارت زنگ قهوه ای در دنیا..... ۷

۱-۴- علائم بیماری..... ۷

۱-۴-۱- اپیدمیولوژی زنگ قهوه ای ۸

۱-۴-۱-۱- عامل بیماری..... ۱۰

۱-۴-۲- چرخه زندگی عامل بیماری..... ۱۱

۱-۵- کنترل زنگ ها ۱۳

۱-۵-۱- روش های زراعی..... ۱۳

۱-۵-۲- ریشه کنی میزبان واسط..... ۱۴

۱-۵-۲-۱- کنترل شیمیایی..... ۱۴

۱-۶-رابطه زنگ-میزبان. ۱۴

۱-۷- شکسته شدن مقاومت..... ۱۵

۱-۸-ساختامان دیواره سلولی قارچ زنگ برگ..... ۱۵

۱-۸-۱-کیتین..... ۱۶

۱-۸-۲- ساختار شیمیایی کیتین ۱۷

۱-۸-۲-۱-ژن های سنتز کننده کیتین..... ۱۸

۱-۹- EST ۱۹

۱-۹- هدف از انجام این پروژه تحقیقاتی..... ۲۰

فصل دوم:مواد و روش ها

۲-۱- روش های مطالعه زنگها..... ۲۳
۲-۱-۱-آلوده نمودن مواد گیاهی..... ۲۳
۲-۱-۲-۱-روش مالشی اسپورها..... ۲۳
۲-۱-۲-۲-روش مایع پاشی(اسپری)..... ۲۴
۲-۱-۲-۳-روش پودرپاشی یا گردپاشی..... ۲۴
۲-۲-جمع آوری نمونه ها.. ..... ۲۴
۲-۲-۱-مراحله جوانه زنی اسپور با استفاده از الکل Nonanol..... ۲۵
۲-۳-استخراج DNA از اسپور های جوانه زده..... ۲۶
۲-۴- استخراج RNA از اسپور های جوانه زده ۲۷
۲-۴-۱-تعیین کیفیت RNA..... ۳۰
۲-۴-۱-۱-تعیین غلظت RNA به روش UV اسپکتروفتومتری..... ۳۰
۲-۴-۱-۲-تعیین کیفیت RNA به روش الکتروفورز ژل آگاروز..... ۳۱
۲-۵-تهیه cDNA..... ۳۲
۲-۶-محلول ها و بافرها..... ۳۳
۲-۶-۱-طرز تهیه محلول ها و بافرها..... ۳۴
۲-۷-کمی کردن داده های حاصل ازPCR ژنی..... ۳۵
۲-۷-۱-۱-روش انجام الکتروفورز ژل آگاروز..... ۳۶
۲-۷-۱-۲-رنگ آمیزی ژل آگاروز با رنگ اتیدیوم بروماید..... ۳۷
۲-۷-۲-عکس برداری از ژل آگاروز..... ۳۷
۲-۸-الیگونوکلئوتیدها..... ۳۸
۲-۸-۱- مشخصات ژن ها و توالی پرایمرهای استفاده شده..... ۳۸
۲-۸-۲-آماده سازی پرایمرهای PCR..... ۴۱
۲-۹-روش انجام واکنش PCR..... ۴۱
۲-۱۰-کیت ها..... ۴۳
۲-۱۱-کشت باکتری E.coli (DH5α) ۴۴
۲-۱۱-۱-محیط کشت LB مایع..... ۴۵
۲-۱۱-۱-۲-محیط کشت LB مایع به همراه آنتی بیوتیک..... ۴۴
۲-۱۱-۲-محیط کشت LB جامد..... ۴۵

۲-۱۲-مراحل تهیه باکتری مستعد..... ۴۶
۲-۱۲-۱-ترانسفورم کردن باکتری مستعد DH5α با پلاسمید..... ۴۷
۲-۱۲-۲-استخراج پلاسمید از باکتری های ترانسفورم شده..... ۴۸
۲-۱۲-۲-۱-استخراج پلاسمید در مقیاس کم..... ۴۸
۲-۱۲-۲-۲- استخراج پلاسمید در مقیاس کم با استفاده از روش TELT..... ۵۰
۲-۱۲-۳-کلون کردن در T/A vector..... ۵۱
۲-۱۳-Oxford Method..... ۵۳
۲-۱۴-آماده سازی نمونه به منظور ارسال برای تعیین توالی..... ۵۶
فصل سوم: نتایج
۳-۱-استخراج DNA و تعیین غلظت آن..... ۶۱
۳-۲-استخراجRNA..... ۶۱
۳-۳-RT-PCR..... ۶۲
۳-۳-۱-بررسی RT-PCR ژن های سنتز کننده کیتین در مرحله جوانه زنی..... ۶۳
۳-۳-۲-بررسی RT-PCR ژن های سنتز کننده کیتین در مرحله Housteria..... ۶۴
۳-۴-روش آکسفورد..... ۶۵
۳-۴-۱-انجام روش آکسفورد برای chs3a..... ۶۷
۳-۴-۲-انجام روش آکسفورد برای chs4..... ۷۳
۳-۵-شناسایی بخشی ازchs4 با استفاده از Housteria cDNA..... ۸۰
فصل چهارم: بحث و پیشنهادات
۴-۱- ضرورت تحقیق و اهداف آن..... ۸۴
۴-۲-۱- پروفایل بیان پنج ژن سنتز کننده کیتین در مرحله جوانه زنی با روش RT-PCR. ۸۸
۴-۲-۲- پروفایل بیان پنج ژن سنتز کننده کیتین در مرحله Housteria با روش RT-PCR..... ۸۹
۴-۲-۳- شناسایی قسمتی از ژن chs3a..... ۹۰
۴-۲-۴: شناسایی قسمتی از ژن chs4..... ۹۱
۴-۳-پیشنهادات..... ۹۵
فهرست منابع..... ۹۶
چکیده انگلیسی..... ۱۰۰

فهرست تصاویر

شکل ۱-۱: جوش ها مدور تا بیضی به رنگ قرمز در سطح برگ.....۸
شکل ۱-۲:چرخه زندگی قارچ زنگ برگ.....۱۳
شکل۱-۳:ساختار مولکول کیتین.....۱۸
شکل ۲-۱:نقشه پلاسمید pTZ57R/T.....۵۳
شکل ۲-۲:برنامه PCR روش آکسفورد.....۵۴
شکل ۲-۳:روش آکسفورد.....۵۵
شکل ۳-۱: همردیفی EST شماره یک با chs2 در زنگ ساقه.....۵۸
شکل۳-۲: همردیفی EST شماره دو با chs3a در زنگ ساقه.....۵۹
شکل ۳-۳: همردیفی EST شماره سه با chs3b در زنگ ساقه.....۵۹
شکل ۳-۴: همردیفی EST شماره چهار با chs4 در زنگ ساقه.....۵۹
شکل ۳-۵:همردیفی chs3a وchsB ۶۰
شکل ۳-۶: تصویر DNAی استخراج شده از اسپور قارچ جوانه زده زنگ برگ که بر روی ژل ۱٪ بارگذاری شده است.....۶۱
شکل۳-۷: RNA تام اسپور قارچ جوانه زده زنگ برگ گندم الکتروفورز شده در ژل آگارز ۱٪....۶۲
شکل۳-۸: نمای شماتیک از پرایمر های طراحی شده بر روی EST.....۶۳
شکل ۳-۹:پروفایل بیان پنج ژن سنتز کننده کیتین در مرحله جوانه زنی در اسپور زنگ برگ با روش RT-PCR.....۶۳
شکل ۳-۱۰: پروفایل بیان پنج ژن سنتز کننده کیتین در مرحله Housteria در اسپور زنگ برگ با روش RT-PCR.....۶۴
شکل ۳-۱۱: برای اطمینان از باند های گرفته شده با پرایمر های داخلی مخصوص هر ژن PCR گذاشته شد (Nested PCR) ۶۵
شکل ۳-۱۲: نمای شماتیک از روش آکسفورد.....۶۶
شکل ۳-۱۳: نمای شماتیک همردیفی بین EST مورد نظر و ژن سنتز نده کیتین دز زنگ ساقه گندم.....۶۷
شکل ۳-۱۴: EST متعلق به chs3a و محل پرایمرها بر روی آن.....۶۸
شکل۳-۱۵ : نتیجه BLAST توالی نوکلئوتیدی ژن سنتز کننده کیتین 3a در زنگ ساقه با EST مربوطه.....۶۸
شکل ۳-۱۶:مرحله اول روش آکسفوردchs3a.....۶۹

شکل۳-۱۷:مرحله دوم روش آکسفوردchs3a..... ۷۰
شکل ۳-۱۸: جایگاه پرایمرهای F1 و R1..... ۷۰
شکل ۳-۱۹: باند گرفته شده با پرایمرهای F1 و R1..... ۷۱
شکل ۳-۲۰: محل پرایمرهای بالادست و پاین دست در T\A vector و جایگاه ورود قطعه مورد نظر..... ۷۱
شکل ۳-۲۱: محصول PCR قطعه CHS3a (PP2\R1) ۷۲
شکل ۳-۲۲: نمونه ای از گراف حاصل از نتیجه تعیین توالی با پرایمر PP2 برای chs3a..... ۷۲
شکل ۳-۲۳: 947 bp توالی بدست آمده با پرایمر pp2 برای chs3a..... ۷۳
شکل ۳-۲۴: نمای شماتیک از محل تعیین توالی شده..... ۷۳
شکل ۳-۲۵: EST متعلق به ژن احتمالی سنتز کننده کیتین (Chs4) در زنگ برگ گندم و محل پرایمرها بر روی آن..... ۷۴
شکل ۳-۲۶: نمای شماتیک همردیفی بین EST مورد نظر و ژن سنتز کننده کیتین در زنگ ساقه گندم..... ۷۴
شکل ۳-۲۷ :نتیجه BLAST توالی نوکلئوتیدی ژن سنتز کننده کیتین ۴ در زنگ ساقه گندم و EST مربوطه..... ۷۵
شکل۳-۲۸: مرحله اول PCR با پرایمر های خارجی pp1 و R2 بر ای Chs4..... ۷۵
شکل۳-۲۹: مرحله دوم PCR با پرایمر های داخلی pp2 و R1 بر ای Chs4..... ۷۶
شکل ۳-۳۰: PCR باند کلون شده(CHS4PP2\R1) ۷۶
شکل ۳-۳۱: نمونه ای از گراف نتیجه تعیین توالی با پرایمر PP2 برای chs4..... ۷۷
شکل ۳-۳۲: 152bp توالی بدست آمده با پرایمر pp2 برای chs4..... ۷۷
شکل۳- ۳۳ :نتیجه همردیفی توالی بدست آمده باپرایمر PP2 برای CHS4..... ۷۷
شکل ۳-۳۴: ژن سنتز کننده احتمالی کیتین(CHS4) در زنگ برگ..... ۷۸
شکل ۳-۳۵: پرایمرهای طراحی شده براساس تعیین توالی جدید بدست آمده..... ۷۸
شکل۳-۳۶: روش آکسفورد با پرایمرهای PP1\R3 و با پرایمرهای PP2\R4..... ۷۹
شکل۳-۳۷: گام دوم روش آکسفورد، مرحله اول PCR با پرایمر های خارجی pp1 و R3..... ۷۹
شکل۳-۳۸: گام دوم روش آکسفورد، مرحله دوم PCR با پرایمر های داخلی pp2 و R4..... ۸۰
شکل ۳-۳۹: PCR باند کلون شده CHS4 (814\R4) با پرایمر های M13..... ۸۱
شکل ۳-۴۰: نمای شماتیک از رونوشت مربوط به ژن کد کننده کیتین در زنگ برگ و جایگاه پرایمر ۸۱۴..... ۸۱
شکل ۳-۴۱: نمونه ای از گراف نتیجه تعیین توالی با پرایمر 814 برای chs4..... ۸۲
شکل ۳-۴۲: 665bp توالی بدست آمده با پرایمر 814 بر روی Housteria cDNA..... ۸۲

شکل ۳-۴۳: نمونه ای از گراف نتیجه تعیین توالی با پرایمر R4 برای chs4.....۸۲
شکل ۳-۴۴: 228bp توالی بدست آمده با پرایمر R4 بر روی Housteria cDNA برای chs4....۸۲
شکل۴-۱:myosin-motor domain در ژن سنتز کننده کیتین زنگ ساقه.....۸۶
شکل۴-۲ :جایگاه دمین کیتین سینتاز در ژن chs3a در زنگ ساقه گندم.....۹۰
شکل ۴-۳ : نمای شماتیک از همولوژی EST شماره یک با رونوشت ژن chs3a در زنگ ساقه..۹۱
شکل۴-۴: دمین myosin-motor domains درchs4 زنگ ساقه گندم.....۹۲
شکل ۴-۵ : نمای شماتیک از همولوژی EST شماره چهار با ژن chs4 در زنگ ساقه.....۹۲
شکل۴- ۶: همردیفی بیش از ۶۶ ژن سنتز کننده کیتین.....۹۴

فهرست جداول

جدول ۱-۱: شرایط محیطی مورد نیاز برای زنگ قهوه‌ای..... ۱۰
جدول ۲-۱: مشخصات ژن ها و توالی پرایمرها..... ۳۸
جدول ۲-۲: مواد لازم برلای انجام PCR..... ۴۳
جدول ۳-۱: ژن های سنتز کننده کیتین در زنگ ساقه و همردیفی ESTهای زنگ برگ با ژن - های مربوطه..... ۶۰

فصل اول

کلیات

۱- ۱-مقدمه

گیاهان زراعی که در نقاط مختلف دنیا و در شرایط مختلف آب و هوایی کشت می گردنـد و محصول آنها به مصرف تامین غذای ضروری و اولیه انسان می رسد، قرن ها پیش از نباتات وحشی هم تیره خود حاصل شده اند. گندم احتمالاً یکی از اولین گیاهانی است که به وسیله انسان زراعت شده و به همین دلیل مهمترین گیاه زراعی به شـمار مـی رود، زیـرا زراعـت آن از تمـام گیاهـان ساده‌تر، تطابق آن در مناطق مختلف که دارای شرایط آب و هوایی متفاوتی می باشند، بیشتر و از طرف دیگر غذای اصلی و اولیه اغلب مردم جهان را تشکیل می‌دهند(۵) .

۱-۲-گیاهشناسی گندم

گندم گیاهی است خودگشن، تک لپه، علفی و یکساله از تیره غلات. ریشه های گندم افشان و سطحی است. ریشه های اصلی و فرعی از محل طوقه خارج شده و همگی هم قطـر مـی‌باشـند. ساقه گندم بندبند و توخالی و استوانه‌ای است به طوری که شکل استوانه‌ای و وجود دسـته‌هـای فیبر در آن موجب استحکام ساقه شده و این ویژگی تا اندازه‌ای ساقه را در مقابل ورس مقاوم می نماید. محل گره‌ها در ساقه توپر و مغز دار می باشد. در روی هر ساقه گنـدم معمـولاً تعـداد ۸-۷ برگ که از محل گره‌های ساقه خارج شده و به طور متناوب و یک در میان در طـول سـاقه قـرار گرفته اند وجود دارد. هر برگ از دو بخش نیام و پهنک تشکیل شده، نیام که بـه منزلـه دمبـرگ است ساقه را به صورت غلافی در بین دو گره در برگرفته و به استحکام ساقه کمک مـی‌کنـد. در حد فاصل برگ و دمبرگ زوایدی به نام زبانک[1] و گوشوارک[2] وجود دارد. در انتهای هر ساقه گندم یک سنبله وجود دارد که دارای یک محور اصلی است و در روی محور اصلی سنبلک ها یا سنبلچه ها بوجود می آیند و هر یک دارای ۳ تا ۵ گل می باشند که پس از عمل لقاح معمولاً دو گـل در

[1] . Ligule
[2] . Stipule

هر سنبلچه بارور و تبدیل به دانه می گردد. دانه گندم مانند سایر غلات، گندمه[1] می‌باشد و پوست دانه، آن را از اطراف احاطه نموده است (۱۱،۲،۴،۱).

۱- ۳-بیماری‌های غلات

با توجه به گسترش و رویش انواع گیاهان خانواده گرامینه و قدمت زراعت گندم، این گیاه در طول دوران رشد مورد حمله بسیاری از عوامل بیماریزا قرار می گیرد. دلیل این ادعا وجود آثار تاریخی پاره‌ای از آنها به صورت فسیل می باشد (۱). بر اساس برآورد خسارات وارده از بیماری های گیاهی، آفات و علفهای هرز به ترتیب: ۱۷-۱۸ و ۱۴ درصد برآورد گردیده است. همچنین میزان خسارت سالانه گندم در دنیا بیش از ۳۳ میلیون تن و معادل ۲ میلیارد دلار اعلام شده که این مقدار خسارت معادل ۹/۱ درصد از کل تولید محصول گندم دنیا می باشد , همچنین بر اساس تحقیقات کرامر ۱۹۶۷ (۵)، مشخص شده که بیشترین خسارت توسط انواع مختلف زنگ های گندم وارد می شود. بر این اساس خسارت برخی عوامل بدین ترتیب می باشد:

زنگ گندم ۴۶/۴٪، فوزاریوم ۷/۱٪، سپتوریوز ۷/۱٪، موزائیک مخطط ۷/۱٪، سیاهک آشکار ۵/۷٪، پوسیدگی ساقه گندم ۴/۳٪ و سایر بیماریها ۲۲/۳٪. همچنین با توجه به محاسبات وی خسارت گندم دنیا ناشی از حمله بیماریهای گیاهی معادل ۱۲/۵٪ برآورد گردیده است . بنابراین بیماریهای محدود کننده گندم به ترتیب اهمیت عبارتنداز: زنگ زرد، فوزاریوم، سپتوریا، سفیدک، سیاهک، زنگ قهوه‌ای، بیماریهای ریشه و طوقه، زنگ سیاه و سایر بیماریها از جمله بیماریهای ویروسی (۵).

[1] . Caryopse

۱-۳-۱-زنگ‌ها

زنگ‌های گندم از جمله مهمترین بیماریهایی هستند که در مجموع، سالانه ۱۵٪ محصول گندم جهان را از بین می برند (۵).زنگ ها متعلق به راسته اوردینال بوده و مهمترین گروه بازیدیو میست ها از نظر اقتصادی در جهان هستند.از خصوصیت مهم زنگ ها که باعث اهمیت بیشتر آنها در مقایسه با سایر بیماری ها می باشد وجود نژادهای فیزیولوژیک متعدد، قدرت تولید نژادها و بیوتیپ های جدید، خاصیت تکثیر و تولید مثل سریع و اپیدمی شدن آنها است. سه نوع بیماری زنگ به نام های زنگ ساقه (سیاه)، زنگ برگی (قهوه‌ای) و زنگ خطی (زرد) روی گندم وجود دارد. جوشها و لکه‌هایی که خشک و پودری است به رنگ های سیاه، قرمز و زرد و اندازه آن ها روی ارقام مختلف در درجات حرارتی، رطوبتی و نژادی متفاوت می باشد. تمام اندام هوایی گیاه علائم بیماری را نشان می دهد و در بهار و تابستان مشخص تر است و امکان دارد گیاه نشانه هایی بیش از یک زنگ را نشان دهد. اپیدمی زنگ که قبل از گل یا همزمان با آن اتفاق می افتد و آلودگی خوشه زیان فراوانی به بار می آورد. زیان زنگ ها علاوه بر کاهش محصول ارزش علوفه را نیز تقلیل داده و گیاه را نسبت به شرایط نامساعد زمستان و ابتلا به سایر بیماریها آسیب پذیر می سازد و مانند سفیدک سطحی از قدرت رویش گیاه و ریشه زایی آن می کاهد و گاهی می تواند برای دام ها هم سمی باشد (۴).

۱-۳-۲-تاریخچه زنگ‌ها

تاریخچه بروز زنگ‌ها که همزمان با کشت گندم گزارش شده است از نظر تاریخی از اهمیت فراوانی برخوردار است. از نظر فیلوژنی اولین زنگها مربوط به دوره کربونیفر در حدود ۲۵۰ میلیون سال قبل است که روی سرخس ها گزارش شد. کاوش های باستان شناسی در فلسطین امروزی حاکی از وجود اوردینوسپورهای زنگ ساقه در ۱۳۰۰ سال قبل از میلاد است. ارسطو (۳۸۴-۳۲۲)

قبل از میلاد عقیده داشت که زنگ ها توسط بخارهای گرم تولید می‌شوند و اشاره‌ای به خسارت این بیماری و سالهایی که اپیدمی آن به وقوع پیوست نموده است (۵). در واقع زنگ‌ها از دیرزمان وجود دارند . در سال ۱۹۴۶ چستر اولین مجموعه تاریخی راجع به زنگ برگ را منتشر ساخت (۶).

۱-۳-۳-اهمیت بیماری

اگر چه زنگ سیاه، قهوه ای و زنگ زرد گندم اصولاً در تمام مناطق گندم خیز در سرتاسر جهان ظاهر می شوند ولی به دلیل وجود شرایطی از جمله تنوع شرایط آب و هوایی و تاثیر آن بر بیولوژی عوامل این بیماری ها و میزان حساسیت ارقام غالب مورد کشت در مناطق مختلف دنیا، اهمیت اقتصادی و پراکنش جغرافیایی هر یک از سه بیماری بالا متفاوت است. این زنگ به استثنای عربستان از همه کشورها گزارش شده است (۵،۷،۹).

ژنتیک واکنش میزبان- عامل بیماری زا در زنگ های غلات به طور وسیعی مطالعه شده است و آنچه که از این مطالعات بدست آمده نشان می دهد که مقاومت به زنگ ها از نظر بافت شناسی، بیوشیمیایی و بیولوژی قابل تفسیر است (۱۰).

۱-۳-۴- قارچ های عامل زنگ

قارچ های زنگ جزء قارچ های راسته اوردینال می باشند. تخمین زده می شود که حدود ۵۰۰ گونه متعلق به ۱۵۰-۱۴۰ جنس متفاوت در این راسته وجود دارد. اکثر آنها عامل بیماری در گیاهان بوده و اغلب بیشترین خسارت را به گیاهان زراعی وارد می کنند. در چرخه زندگی آنها بازیدیوم و بازیدیوسپور تولید می شود. نام قارچ های عامل زنگ در حقیقت از جوش ها و اسپورهایی گرفته شده که رنگ زرد زنگ زده دارند. قارچ های عامل زنگ به سه شکل متفاوت مشاهده می شوند:

۱- گونه هایی که پنج فرم متفاوت اسپور در چرخه زندگی خود دارند.

۲- گونه هایی که برای تکمیل دوره زندگی خود بـه دو میزبـان غیرمـرتبط نیـاز دارنـد و در مقابل گونه هایی که قادرند روی یک میزبان چرخه زندگی خودرا کامل کنند.

۳- گونه هایی که دارای میزبان ویژه و اختصاصی هستند (۵،۷).

۱-۳-۵-زنگ قهوه‌ای گندم

زنگ قهوه ای یا زنگ برگی[1] نیز یکی از مهمتـرین بیماریهـای گنـدم در دنیاسـت (۵). ایـن بیماری در تمام مناطقی که تحت کشت گندم قرار دارند ظاهر شده و گستردگی بیشتری نـسبت به زنگ زرد و سیاه در عرصـه جهـانی دارد. از نظـر اهمیـت بعـد از زنـگ زرد، زنـگ قهـوه ای از مهمترین بیماریهای گندم می باشد و تقریباً در تمام مناطقی که گندم کاشته می شـود بیمـاری ظاهر شده است(۹،۷،۵).

در ایران نیز اهمیت و خسارت ایـن بیمـاری بعـد از زنـگ زرد در درجـه دوم قـرار دارد ولـی گستردگی آن از زنگ زرد بیشتر است و به غیر از سالهایی که به صورت همه گیـر ظـاهر شـده و باعث کاهش چشمگیر محصول می شود همه ساله این بیماری در اواخـر فـصل رویـش گنـدم در مزارع ظاهر می شود و باعث کاهش نسبی محصول می‌گردد، دانـه هـای گنـدم مبـتلا بـه عامـل بیماری چروکیده, کوچک و نامرغوب شده و وزن محصول تا ۹۰٪ کاهش می یابد و در مواردی نیز میزان پروتئین آن کاهش می‌یابد (۵). در مجامع بین المللی با اصـطلاح زنـگ بـرگ و در ایـران بیشتر با نام زنگ قهوه ای استفاده می شود (۶).گرچه خسارت زنگ قهـوه ای کلـی نیـست ولـی میزان کاهش عملکرد تا ۴۰٪ نیز در ارقام حساس[2] گزارش شده است (۵) که این کاهش عملکرد به دلیل کمتر شدن سطح فتوسنتز کننده و افزایش تنفس در گیاه است که در این صورت دانه ها

[1] . Brown or Leaf Rust
[2] . Susceptible

چروکیده و کوچکتر از حد معمول می‌باشد. زنگ قهوه ای در سال‌هایی که شرایط جوی برای رشد آن مناسب باشد محصول گندم را به میزان فراوانی کاهش می دهد. این زنگ نسبت به شرایط محیطی حساس تر از زنگ سیاه است. در حال حاضر این بیماری با استفاده از ارقام مقاوم آن که اکثراً از منابع ژنتیکی مرکز بین المللی منشأ گرفته اند کنترل می گردد. این بیماری حدود ۲ هفته بعد از زنگ زرد روی بوته های گندم در مناطق مستعد ظاهر شده و بیشترین خسارت آن در زمان ظهور سنبله است که در اکثر مناطق با شرایط گرمای آخر فصل روبرو شده و خسارت آن ناچیز ارزیابی می گردد.علیرغم مقاومت ارقام نسبت به زنگ قهوه‌ای با توجه به پتانسیل بالقوه عامل بیماری در بروز نژادهای جدید این بیماری باید در برنامه اصلاح برای ارقام مقاوم پرمحصول مدنظر قرار گیرد(۵).

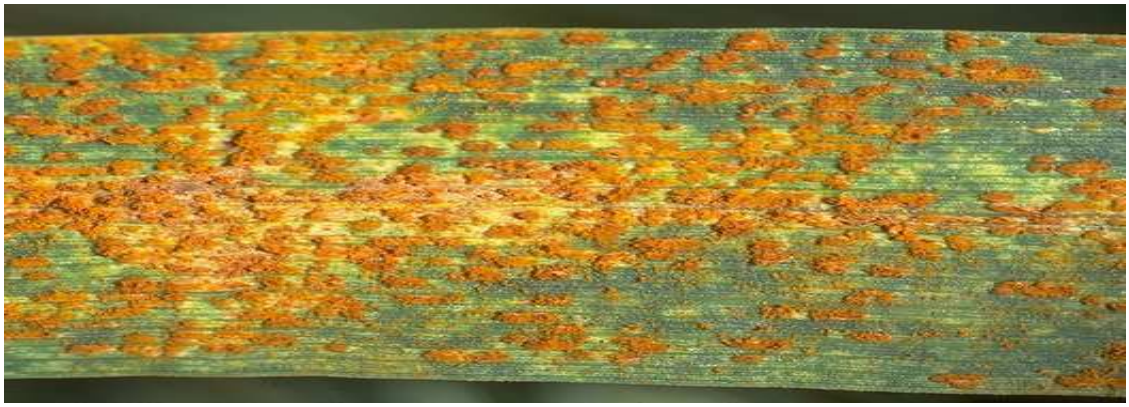
۱-۳-۶-اهمیت و خسارت زنگ قهوه ای در دنیا

تاکنون گزارشات متعددی از ابعاد خسارت ناشی از این بیماری در نقاط مختلف جهان ارائه شده است. زنگ قهوه‌ای در کشورهای امریکای جنوبی شایع است و تاثیر آن روی تولید گندم از گذشته شناخته شده بود. به همین دلیل نژاد گندم در برزیل و آرژانتین با اتخاذ روش های اصلاح نباتی ارقام بسیار مقاومی اصلاح کردند که بعضی از این ارقام به طور گسترده‌ای بعنوان منبع مقاومت مورد استفاده قرار می گیرند(۵).

۱-۴-علائم بیماری

علائم اصلی بیماری زنگ قهوه ای شامل جوش های (یوردیاها) مدور تا بیضی به رنگ قرمز، نارنجی شکوفا با قطر ۱/۵ میلیمتر که بیشتر روی سطح برگ قرار می گیرند. در این جوشها برخلاف جوش های زنگ سیاه، بافت اپیدرم پاره شده مشخص در حاشیه جوش ها دیده نمی‌شود.

یوریدوسپورها تقریباً کروی و قهوه ای رنگ و دارای دیواره خاردار می باشند و ۸-۳ سوراخ تندش دارند که در دیواره آنها پراکنده است. جوش های تلیال به اندازه یوردیا (جوشهای مرحله یوریدی) هستند و در زیر اپیدرم، در سطح پهنک یا غلاف برگ ظاهر می شوند، رنگ آنها سیاه براق است و شکوفا نیستند، دو سلولی با دیواره ضخیم هستند که قسمت انتهایی آنها ممکن است گرد یا پهن باشد. تلیوسپورها در بعضی شرایط یا هنگامی که بوته‌ها نزدیک رسیدن آلوده می‌گردند ممکن است تشکیل نشوند و مانند تلیوسپورهای زنگ ساقه در اثر سرما دیدن تحریک به جوانه زدن می شوند. (۵،۱۲،۷). در شرایط مرطوب اسپورهای تابستانه این زنگ روی ریشک ها، گلوم ها و بین گره های ساقه تولید می شود. ممکن است اسپورها زیر برگ هم ظاهر شوند(۷)(شکل ۱-۱).



شکل ۱-۱: جوش ها مدور تا بیضی به رنگ قرمز در سطح برگ

۱-۴-۱-اپیدمیولوژی زنگ قهوه‌ای

جوانه زدن اسپور این زنگ و رشد و نمو قارچ آن بیش از زنگ سیاه در مقابل حرارت و نور حساس است. دمای مناسب جهت تکامل اسپور بین ۲۰-۱۵ċ و زمان نهفتگی در این دما ۱۱-۸ روز است (۵). این بیماری در حرارت های بین ۳۰-۱۰Ċ به سرعت گسترش می‌یابد (۶).