دانشگاه ولی‌عصر(عج) رفسنجان
دانشکده‌ی کشاورزی
گروه گیاه‌پزشکی

پایان‌نامه‌ی کارشناسی‌ارشد
رشته‌ی مهندسی کشاورزی- بیماری شناسی گیاهی

بررسی پراکنش آلودگی ایسیومی زرشک و اهمیت آن در بیماری زنگ زرد و زنگ سیاه گندم در استان لرستان

استاد راهنما
دکتر حسین علایی

استادان مشاور
دکتر ابراهیم صداقتی
مهندس علی دهقانی

نگارنده
فرشته مهدی‌نیا

بهمن ۱۳۹۲

دانشگاه ولی‌عصر(عج) رفسنجان
دانشکده‌ی کشاورزی
گروه گیاهپزشکی

پایان‌نامه‌ی کارشناسی‌ارشد
رشته‌ی مهندسی کشاورزی- بیماری‌شناسی گیاهی

فرشته مهدی نیا

بررسی پراکنش آلودگی ایسیومی زرشک و اهمیت آن در بیماری زنگ زرد گندم در استان لرستان

در تاریخ۹۲/۱۱/۲۷ توسط هیأت داوران زیر بررسی و با درجه‌ی.....به تصویب نهایی رسید.

۱- استاد راهنمای پایان‌نامه	دکترحسین علایی	با مرتبه‌ی علمی استادیار	امضاء
۲- استاد مشاور پایان‌نامه	دکتر ابراهیم صداقتی	با مرتبه‌ی علمی استادیار	امضاء
۳- استاد مشاور پایان‌نامه	مهندس علی دهقان	با مرتبه‌ی علمی مربی	امضاء
۴- استاد داور داخل گروه	دکتر روح الله صابری ریسه	با مرتبه‌ی علمی استادیار	امضاء
۵- استاد داور داخل گروه	دکتر ثمین حسینی	با مرتبه‌ی علمی استادیار	امضاء
۶ – نماینده‌ی تحصیلات تکمیلی	دکتر مریم دهجی پور	با مرتبه‌ی علمی استادیار	امضاء

تمامی حقوق مادی مترتب بر نتایج مطالعات، ابتکارات و نوآوری‌های حاصل از پژوهش موضوع این پایان‌نامه، متعلق به دانشگاه ولی‌عصر (عج) رفسنجان است.

تقدیر و تشکر

شکر و سپاس ایزد منان آن که به قلم قداست و به انسان کرامت بخشید و او را به زیور علم و معرفت بیاراست.

بی شک اجرای این رساله مرهون راهنمایی و کمک استادان، همکاران و دوستان متعددی است که بدون کمک این عزیزان انجام این تحقیق میسر نبود. از استاد راهنمای ارجمند آقای دکتر حسین علایی جهت عهده دار بودن هدایت این رساله و قبول زحمات فراوان، تشویق و تاکیدات بسیار سودمندشان به خاطر بالابردن کیفیت علمی این پژوهش صمیمانه تشکر نموده و توفیق روز افزون ایشان را از خداوند متعال خواستارم. از آقای دکتر ابراهیم صداقتی استاد مشاور ارجمند این رساله به لحاظ همکاری فراوان صمیمانه سپاسگذارم. از مهندس علی دهقانی استاد مشاور ارجمند این رساله به خاطر راهنمایی ها و کمک های بی دریغشان نهایت قدردانی را می نمایم.

از استاد بزرگوار آقای دکتر خدایگان به خاطر کمک ها و راهنمایی های بی دریغشان سپاسگزارم. از استادان محترم گروه گیاه پزشکی آقای دکتر صابری و آقای دکتر حسینی و سرکار خانم دکتر حسینی که افتخار شاگردیشان را در این دوره داشتم صمیمانه قدردانی می کنم. از مسئول آزمایشگاه گروه بیماری شناسی آقای مهندس خجسته، همچنین مسئول آزمایشگاه مرکزی سرکار خانم مهندس دهقان به خاطر همکاری فراوان سپاسگزارم.

از همه ی مسئولین و استادان دانشکده کشاورزی دانشگاه ولیعصر(عج) که اینجانب را یاری کردند، و همچنین از مسئولین منابع طبیعی و جهاد کشاورزی استان لرستان صمیمانه سپاسگزارم.

از خانواده ام که با فراهم نمودن محیطی مناسب امکان ادامه تحصیل اینجانب را فراهم آورده و در کلیه مراحل با وجود سختی های فراوان یاری گر من بوده اند، بسیار سپاسگزارم.

برای همه بزرگواران از درگاه ایزد منان آرزوی طول عمر همراه با عافیت درخواست می نمایم.

تقدیم به

پدر دلسوزم، اسوه صبر و شکیبایی؛

مادر مهربانم، تجسم لطف و مهربانی؛

برادران گرامیم، که دوستشان دارم؛

و

به تمامی معلمان و استادانم،

آنان که در وادی گمنامی‌ها، عشق، علم و ایمان را در گوشم نجوا کردند

چکیده

زنگ زرد یکی از مهم‌ترین بیماری‌های گندم در بسیاری از مناطق جهان و از جمله ایران است. در این مطالعه نقش بوته‌های زرشک درون زیستگاهای طبیعی استان لرستان مورد بررسی قرار گرفت. از مناطق رویشگاه‌های طبیعی زرشک استان لرستان شامل ازنا، الیگودرز، بروجرد و دورود نمونه‌برداری صورت گرفت. شناسایی گونه‌های زرشک میزبان و همچنین سطح‌بندی میزان آلودگی بوته‌های زرشک در هر منطقه انجام شد. آزمون بیماری‌زایی ایسیوسپورها روی چند رقم گندم شامل: رقم الوند، بهار، بولانی و موروکو در شرایط آزمایشگاهی و شرایط مزرعه‌ای صورت گرفت. به منظور ردیابی زنگ زرد و زنگ سیاه گندم در مرحله ایسیومی زنگ زرشک و بر پایه‌ی مشخصه‌های مولکولی، با استفاده از آغازگرهای اختصاصی L۳۱۸ و ۵Sk ناحیه‌ی IGS از ژنوم DNA ریبوزومی، همچنین تکثیر ناحیه‌ی ITS-rDNA با استفاده از آغازگرهای ITS۱F/Rust۱ صورت گرفت، سپس نمونه‌ها خالص‌سازی و توالی‌یابی شدند. با استفاده از محصول PCR به‌دست آمده و تفاوت اندازه‌ی باندهای مشاهده شده زنگ سیاه و زنگ زرد در نمونه‌ها ردیابی گردید. علایم بیماری زنگ گندم روی ارقام حساس گندم بولانی و مورکو مشاهده شد. در مناطق نمونه‌برداری ازنا و دورود در آزمون بیماری‌زایی و مولکولی صددرصد نمونه‌ها ایجاد زنگ زرد نمودند. در بوته‌های زرشک مناطق الیگودرز و بروجرد آزمون بیماری‌زایی روی ارقام حساس گندم ایجاد زنگ زرد و زنگ سیاه گندم نمودند، ردیابی مولکولی نیز الگوی مشابهی را نشان دادند. با توجه به نتایج به‌دست آمده از الگوی باندی ایسیوسپورهای مناطق نمونه‌برداری، ردیابی زنگ سیاه و زنگ زرد از بوته‌های زرشک می‌توان نتیجه گرفت که این گونه زرشک در منطقه تهدیدی جدی برای مزارع گندم به عنوان میزبان دو گونه زنگ گندم می‌باشد که در تولید نژادهای جدید با توان بیماری‌زایی متفاوت موثر بوده و در صورت شرایط محیطی مساعد می‌توانند در اپیدمی زنگ سیاه و زنگ زرد نقش مهمی ایفا کنند.

واژگان کلیدی: زنگ زرد، گندم، زرشک، لرستان، DNA ریبوزومی

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل اول: مقدمه ۱

۱-۱- مقدمه ۱

فصل دوم: پیشینه پژوهش ۶

۲-۱- گندم ۶

۲-۱-۱- تاریخچه گندم ۶

۲-۱-۲- گیاه‌شناسی گندم ۷

۲-۱-۳- اهمیت اقتصادی گندم ۹

۲-۱-۴- سطح زیر کشت و میزان تولید گندم ۹

۲-۲- بیماری‌های مهم غلات ۱۰

۲-۲-۱- زنگ‌های غلات ۱۰

۲-۲-۲- بیماری زنگ زرد گندم ۱۰

۲-۲-۳- طبقه‌بندی عامل بیماری زنگ زرد گندم ۱۱

۲-۲-۴- تاریخچه بیماری زنگ زرد گندم ۱۲

۲-۲-۵- خسارت و اهمیت اقتصادی بیماری زنگ زرد در ایران و جهان ۱۳

۲-۲-۶- پراکنش زنگ زرد گندم در دنیا ۱۵

۲-۲-۷- علائم بیماری زنگ زرد گندم ۱۶

۲-۲-۸- زیست شناسی زنگ زرد ۱۷

۲-۲-۹- میزبان‌های عامل بیماری زنگ زرد ۱۸

۲-۲-۹-۱- میزبان‌های اولیه ۱۸

۲-۲-۹-۲- میزبان حد واسط ۱۹

۲-۲-۱۰- چرخه زندگی زنگ زرد ۲۰

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

۲-۲-۱۱- اپیدمیولوژی زنگ زرد گندم ۲۳

۲-۳- اصطلاح نژادهای فیزیولوژیک، بیوتیپ، نمونه و جدایه..... ۲۴

۲-۴- نژادهای *Puccinia striiformis* f.sp. *tritici* روی گندم..... ۲۵

۲-۵- مدیریت زنگ زرد گندم..... ۲۷

۲-۶- تحقیقات مولکولی قارچ *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* ۲۷

فصل سوم: مواد و روش‌ها..... ۳۳

۳-۱-۱- نمونه‌برداری از مزارع گندم ۳۳

۳-۱-۲- نمونه‌برداری از بوته‌های زرشک ۳۳

۳-۱-۳- برآورد میزان آلودگی ایسیومی بوته‌های زرشک ۳۵

۳-۱-۴- تعیین گونه‌های زرشک ۳۷

۳-۲- کاشت ارقام گندم به‌منظور تکثیر زنگ گندم..... ۳۸

۳-۳- روش‌های مایه‌زنی..... ۳۹

۳-۳-۱- استفاده از قلم‌مو یا گوش‌پاک‌کن (روش مالشی) ۳۹

۳-۳-۲- استفاده از روش گردپاشی ۴۰

۳-۴- شرایط مناسب نفوذ و رشد قارچ عامل بیماری زنگ زرد..... ۴۱

۳-۵- آزمایشات مزرعه‌ای..... ۴۲

۳-۶- مشاهده میکروسکوپی و نگه‌داری گندم آلوده شده..... ۴۳

۳-۷- ردیابی مولکولی زنگ زرد..... ۴۳

۳-۷-۱- تهیه تک کلون جهت استخراج DNA ۴۴

۳-۷-۲- استخراج DNA ۴۵

۳-۷-۳- تکثیر و تعیین توالی منطقه‌ی IGS ۴۶

عنوان **صفحه**

۳-۷-۴- خالص‌سازی و توالی‌یابی ناحیه‌ی IGS و ناحیه‌ی ITS-rDNA ۴۶
فصل چهارم: نتایج و بحث ۴۸
۴-۱- ردیابی زنگ گندم و ایسیوسپورهای زنگ زرشک از مناطق نمونه‌برداری ۴۸
۴-۲- رویشگاه‌های طبیعی بوته‌های زرشک در استان لرستان ۴۹
۴-۳-شناسایی گونه‌های زرشک میزبان مرحله ایسیومی ۴۹
۴-۴- آلودگی به زنگ در بوته‌های زرشک در استان لرستان ۵۰
۴-۵- بررسی مرفولوژی ایسیوسپورها ۵۱
۴-۶- تکثیر زنگ گندم با استفاده از ایسیوسپور در مطالعات آزمایشگاهی *in vitro* ۵۲
۴-۷- تکثیر زنگ گندم با استفاده از ایسیوسپور در آزمایشات مزرعه‌ای *in vitro* ۵۴
۴-۸- شناسایی مولکولی ۵۶
۴-۸-۱- تکثیر ناحیه‌ی IGS ۵۸
۴-۸-۲- تکثیر ناحیه‌ی ITS ۶۴
۴-۸-۳- توالی‌های ناحیه‌ی IGS ۶۵
۴-۸-۴- توالی‌های ناحیه‌ی ITS ۷۲
۴-۹- بحث ۷۶
فصل پنجم: نتیجه‌گیری کلی و پیشنهادها ۸۳
۵-۱- نتیجه‌گیری کلی ۸۳
۵-۲- پیشنهادها ۸۴
منابع ۸۶

فهرست شکل‌ها

عنوان **صفحه**

شکل ۲-۱ چرخه زندگی زنگ زرد پس از سال ۲۰۱۰ با در نظر گرفتن میزبان واسط (زرشک)..... ۲۳
شکل ۳-۱ نقشه استان لرستان مناطق نمونه‌برداری شده بوته‌های زرشک..... ۳۴
شکل ۳-۲ تصاویر نمونه‌های زرشک براساس سطح بندی..... ۳۷
شکل ۳-۳ نمایی از گیاهچه‌های گندم کاشته شده برای مایه‌زنی..... ۳۸
شکل ۳-۴ A- اسیوسپورهای مناطق نمونه‌برداری به‌همراه پودر تالک..... ۴۱
شکل ۳-۵ مزرعه آزمایشی آزمون بیماری‌زایی گندم..... ۳۴
شکل۳-۶ آزمایش مزرعه‌ای گیاهچه‌های گندم با استفاده از مایه‌ی تلقیح مناطق مختلف استان ترتیب کاشت ارقام گندم..... ۴۲
شکل ۳-۷ نمای تک کلون‌های استفاده شده برای استخراج DNA..... ۴۴
شکل ۴-۱ برش میکروسکوپی ایسیوم‌های زنگ زرشک ۵۲
شکل ۴-۲ تصاویر بینی‌کولر اسپورهای زنگ سیاه و یوردینیوسپورهای زنگ زرد..... ۵۳
شکل ۴-۳ نمایی از کشت مزرعه‌ای گندم ۵۵
شکل ۴-۴ نمایی از گندم‌های آلوده به زنگ گندم ۵۵
شکل ۴-۵ تکثیر ناحیه IGS جدایه‌های اسیوسپوری بوته‌های زرشک منطقه ازنا با استفاده از جفت آغازگر L۳۱۸ / ۵SK..... ۶۰
شکل ۴-۶ تکثیر ناحیه‌ی IGS، جدایه‌های اسیوسپوری بوته‌های زرشک منطقه دورود با استفاده از جفت آغازگر L۳۱۸ / ۵SK..... ۶۱
شکل ۴-۷ تکثیر ناحیه‌ی IGS با استفاده از جفت آغازگر L۳۱۸ / ۵SK جدایه‌های اسیوسپوری مناطق مختلف نمونه‌برداری..... ۶۲
شکل۴-۸ تکثیر ناحیه‌ی IGS با استفاده از جفت آغازگر L۳۱۸ / ۵SK جدایه‌های اسیوسپوری مناطق مختلف نمونه‌برداری..... ۶۳

عنوان **صفحه**

شکل۴-۹ تکثیر ناحیه‌ی IGS با استفاده از جفت آغازگر SK۵ / L۳۱۸ جدایه‌های اسیوسپوری تک باندی بروجرد و الیگودرز ۶۴
شکل۴-۱۰ تکثیر ناحیه‌ی ITS با استفاده از جفت آغازگر ITS۱F و RUST۱ جدایه‌های اسیوسپوری بوته‌های زرشک و زنگ گندم ۶۵
شکل۴-۱۱ مقایسه‌ی نقشه توالی ناحیه rDNA— IGS جدایه‌ی اسیوسپوری زنگ زرشک A۱۲، CH۹ و B۸ با توالی مرجع گونه‌ی *P. striiformis* ۶۶
شکل۴-۱۲ مقایسه‌ی نقشه توالی ناحیه rDNA— ITS جدایه‌ی اسیوسپوری زنگ زرشک CH۹ با توالی مرجع گونه‌ی *P. striiformis* ۷۲

فهرست جدول‌ها

عنوان **صفحه**

جدول۳-۱ مناطق نمونه‌برداری شده.....۳۵
جدول۳-۲ سطح‌بندی آلودگی ایسیومی در بوته‌های زرشک.....۳۶
جدول۴-۱ تعداد باندهای مناطق نمونه‌برداری.....۵۶
جدول۴-۲- نمونه‌های زنگ زرد، زنگ سیاه، زنگ قهوه‌ای، نمونه‌های ایسیوم مناطق نمونه‌برداری‌شده.....۵۷

فصل اول

مقدمه

امروز در دنیایی زندگی می‌کنیم که روند رو به افزایش جمعیت خصوصا در کشورهای در حال توسعه توجه به امر تامین غذای مردم را ضروری ساخته است. اصولا تامین غذا و تغذیه یکی از محورهای عمده‌ی محرومیت‌زدایی و توسعه‌ی اقتصادی، اجتماعی بوده و امنیت غذایی، مشخصه‌ی سلامت جامعه می‌باشد. رشد فزاینده‌ی جمعیت و الگوی مصرف متداول به‌خصوص در کشورهای در حال توسعه، توجه به امر تأمین غذایی مردم را به یک امر غیرقابل اجتناب تبدیل کرده است. امروزه بحران غذا و سوء تغذیه یکی از بزرگ‌ترین معضلات جامعه‌ی بشری بوده، لذا برای مردم جهان دو راه باقی می‌ماند، نخست کنترل شدید جمعیت، دوم افزایش تولید. در کشور ما، در سال‌های اخیر از روند افزایش بی‌رویه‌ی جمعیت تا حدودی ممانعت به عمل آمده، ولی با نرخ افزایش رشد جمعیت، توفیق حاصل از افزایش مواد غذایی خیلی زود خنثی و بی‌اثر می‌شود. در رابطه با افزایش مواد غذایی و تولید بیش‌تر، استفاده از راه‌هایی هم‌چون ایجاد انگیزه (Stimulus Factors)، افزایش سطح زیرکشت (Extensive Agriculture)، بالا بردن میزان عملکرد در واحد سطح (Intensive

(Agriculture و همچنین جلوگیری از ضایعات می‌تواند موثر باشد. ملت‌ها باید با انتخاب راه‌های مناسب و مطلوب و به‌کار بستن اصول به‌نژادی و به‌زراعی به استقلال اقتصادی عینیت بخشند. گندم به‌عنوان یکی از عمده‌ترین محصولات کشاورزی و تأمین‌کننده‌ی بیش‌ترین نیاز غذایی انسآن‌ها در کشورهای مختلف می‌باشد، که ۵۵ درصد کربوهیدرات‌ها و ۵۰ درصد پروتئین دنیا توسط غلات به‌ویژه گندم تامین می‌شود (Ali, ۲۰۱۲). سطح زیر کشت گندم از سایر محصولات زراعی بیشتر است، ۲۲۰ میلیون هکتار از اراضی در دنیا زیر کشت گندم است که حدود ۱۶ درصد از سطح زمین‌های زراعی دنیا (حدود ۲۴۰ میلیون هکتار) را به خود اختصاص می‌دهد. تولید گندم در این اراضی در حدود ۶۰۰ میلیون تن است (Ali, ۲۰۱۲). نیمی از اراضی تولید کننده‌ی گندم مربوط به کشورهای در حال توسعه است (Crossa *et al.*, ۲۰۰۷). در ایران حدود ۳۰ درصد از اراضی، زیرکشت گندم می‌باشد. به عبارتی ۶/۵ میلیون هکتار از اراضی، تقریبا ۳۵ درصد آن را گندم آبی و حدود ۶۵ درصد را گندم دیم تشکیل می‌دهند و بیش از ۱۴ میلیون تن گندم در این اراضی تولید می‌شود. سطح برداشت شده‌ی گندم در سال زراعی ۸۹-۱۳۸۸ حدود هفت میلیون هکتار برآورد شده که از این سطح ۶۳/۴ درصد کشت دیم و ۳۶/۶ درصد زیرکشت گندم آبی است. تولید این محصول در سال ۱۳۸۸، ۱۳ میلیون و ۴۰۰ هزار تن بوده و در سال ۱۳۸۷ که با اقلیم خشک مواجه بودیم هفت میلیون و ۹۰۰ هزار تن گندم تولید شد. سطح زیرکشت گندم آبی و دیم در استان لرستان ۳۷۹۰۱۰ هکتار می‌باشد (آمارنامه کشاورزی، ۸۹-۱۳۸۸). در حال حاضر گندم با سرانه مصرف حدود ۱۹۴ کیلوگرم در سال، نقش محوری در امنیت غذایی جامعه ایران دارد. لذا با توجه به نقش مستقیم و غیرمستقیم گندم در تامین غذایی انسآن‌ها، جزء محصولات استراتژیک محسوب می‌گردد. به علت نقش انحصاری که بعضی از کشورهای تولیدکننده‌ی گندم مانند آمریکا، کانادا، استرالیا، آرژانتین و غیره در عرضه و صادرات گندم دارند، تهیه و خرید گندم از بازارهای جهانی با قیمت‌های متعارف امکان‌پذیر نخواهد بود. با کمی تامل درمی‌یابیم در دنیای امروز گندم نه تنها یک ماده‌ی غذایی اساسی و مهم است، بلکه از لحاظ سیاسی نیز از اهمیتی هم‌پایه‌ی نفت و حتی برتر از آن برخوردار است. طبق آمار منتشره‌ی بانک جهانی به ازای هر یک درصد افزایش تولید گندم در کشورهای عقب‌مانده یک تا نیم درصد فقر کاهش می‌یابد (Word Bank, ۲۰۰۵). در کشورهایی هم‌چون ایران که در مناطق جغرافیایی خشک و نیمه‌خشک دنیا واقع هستند، همواره برای تولید گندم با مشکلاتی نظیر خشک‌سالی و کمبود آب روبه‌رو می‌باشند. علاوه بر آن بیماری‌های گندم، محدودیت‌های بیشتری را برای تولید گندم به وجود آورده است. مهم‌ترین و گسترده‌ترین این بیماری‌ها زنگ‌ها می‌باشند. سه نوع زنگ در گندم دیده می‌شود که عبارتند از: زنگ زرد، زنگ

قهوه‌ای و زنگ سیاه، نه تنها از نظر میزان خسارت، پراکنش و نقش بارز آن‌ها در اقتصاد کشورها، بلکه از نظر پیچیدگی روابط مابین آن‌ها با میزبان‌هایشان و بالاخص گندم، در شکل‌گیری و توسعه‌ی فعالیت‌های علمی و تحقیقاتی نقش به‌سزایی داشته‌اند(Larkin *et al.*, ۱۹۹۵). از نظر خسارت وارد شده در بین زنگ‌ها، زنگ زرد گندم شایع‌تر از سایر زنگ‌ها است، در ایران به دلیل تنوع آب و هوایی، هر سه زنگ وجود دارند که خطری بزرگ برای تولید گندم محسوب می‌شوند، زیرا زنگ‌ها می‌توانند در تمام مراحل رشد (گیاهچه، پنجه‌زنی، ساقه رفتن و گلدهی) آلودگی شدید در گندم به‌وجود آورند (Roelfs *et al.*, ۱۹۹۲). در حال حاضر زنگ‌های گندم، مناطق خاورمیانه، آسیای‌شرقی، مرکزی و جنوب آسیا را تهدید می‌کند شایان ذکر است که این مناطق ۳۷ درصد از تولید گندم جهان را به عهده دارند و از طرفی نیز اصلی‌ترین غذای مردم این مناطق محسوب می‌شود به‌طوری‌که ۴۰ درصد سرانه کالری به گندم اختصاص دارد. در سال‌هایی که شرایط محیطی مطلوب باشد و رقم‌های حساس کشت شده باشند، ممکن است اپیدمی ایجاد شود که پیامد آن کاهش حداقل ۶۰ درصدی عملکرد خواهد بود، در برخی منطقه‌ها در اثر اپیدمی زنگ ۱۰۰ درصد محصول نیز از بین رفته است. در کشور ما هر چند سال یک‌بار اپیدمی زنگ‌ها به‌ویژه زنگ زرد رخ می‌دهد و از این طریق خسارت قابل‌توجهی به محصول وارد می‌آید. از طرف دیگر محصول باقی‌مانده نیز ارزش غذایی و اقتصادی ناچیز برای تولیدکننده دارد (Wiese, ۱۹۸۷). زنگ‌ها را می‌توان با روش‌های به‌زراعی محدود کرد، اما این روش‌ها کارایی مطلوب را ندارند. همچنین برای کنترل زنگ‌ها می‌توان از قارچ‌کش‌ها استفاده نمود، اما با توجه به کارایی و هزینه‌بر بودن این روش مناسب نیست و از طرفی نیز این احتمال وجود دارد که به‌واسطه‌ی استفاده از قارچ‌کش‌ها، پاتوژن‌های مقاوم به قارچ‌کش گسترش یابند. روش اصلاح و ایجاد ارقام مقاوم با استفاده از ژن‌های مقاومت تمام مرحله‌ای، کم هزینه‌ترین، مطمئن‌ترین، کم‌خطرترین روش محسوب می‌شود (Chen, ۲۰۰۵). با این وجود شایان ذکر است زنگ‌ها به‌ویژه زنگ زرد با داشتن نژادهای فیزیولوژیک متعدد، فرم‌های بیماری‌زایی متفاوت و توان به وجود آوردن نژادهای جدید از طریق جهش و یا نوترکیبی در تولید مثل جنسی، ایجاد ارقام مقاوم را با مشکل مواجه کرده است. گندم از نظر مقدار تولید و سطح زیرکشت مهم‌ترین محصول کشاورزی ایران است و افزایش محصول آن روز به روز مورد توجه قرار گرفته و از نظر اقتصادی و تامین غذا از اهمیت خاصی برخوردار است. این گیاه همه ساله در اثر ابتلا به آفات و بیماری‌های مختلف متحمل خسارت سنگینی می‌شود. در حالی‌که متوسط عملکرد و کل تولید گندم در سال‌های اخیر افزایش چشم‌گیری داشته است، ولی بیماری‌های گندم هنوز هم یکی از عوامل ناپایداری عملکرد از سالی به سال دیگر در کشورهای تولید کننده‌ی این محصول است.

مناسب‌ترین روش کنترل موثر زنگ زرد گندم استفاده از ارقام مقاوم است. در بسیاری از موارد، استفاده از ژن‌های مقاومت اختصاصی به عنوان یک روش کنترل، موفقیت‌آمیز نبوده است چرا که جمعیت بیمارگر به‌سرعت دچار دگرگونی شده و در عرض چند سال قادر خواهد بود بر ژن‌های مقاومت معرفی شده غلبه نمایند (Bayles *et al.*, ۲۰۰۰). با این حال اطلاعات بیشتری در خصوص ساختار ژنتیکی جمعیت‌های طبیعی مورد نیاز است تا بتوان تاثیرات این مقاومت‌ها را ارزیابی و یا پیش‌بینی کرد. توانایی به‌نژادگرها برای توسعه‌ی روش‌های کنترل پایدار و موثر علیه بیماری‌های گیاهان زراعی و به‌ویژه زنگ زرد گندم، عمدتاً به دانش بررسی ساختار جمعیت بیمارگر و پتانسیل آن برای سازگاری با ارقام جدید بستگی دارد (McDonald and Linde, ۲۰۰۲). هر چند تحقیقات زیادی در خصوص زنگ زرد انجام شده و در حال انجام است، ولی شناسایی کامل ساختار ژنتیکی جمعیت‌های این بیمارگرها در مناطق جغرافیایی بزرگ (کشور و قاره) و کوچک (مزرعه، گیاه و حتی یک جوش) ضروری است (Boeger *et al.*, ۱۹۹۳). بوته‌های زرشک *Berberis* sp به عنوان میزبان واسط دو بیمارگر مهم غلات، زنگ سیاه گندم (*Puccinia graminis*) و زنگ زرد گندم (*P. striiformis*) شناخته شده است. بوته‌های زرشک به عنوان میزبان واسط زنگ زرد یا زنگ نواری گندم گزارش شده‌اند (Jin *et al.*, ۲۰۱۰). بوته‌های زرشک به احتمال زیاد نقش مهمی در ایجاد نژاد جدید بازی می‌کنند. در همه‌گیری‌ها، زنگ نواری به آسانی از مزرعه‌ای به مزرعه دیگر منتشر می‌شود. در صورتی‌که بیمارگر با جمعیت‌های میزبان یکنواخت[۱] مواجه شود، شدیدترین بیماری در مقیاس مزرعه‌ای به‌وقوع می‌انجامد. رقابت بین ژنوتیپ‌های بیمارگر برای دسترسی به بافت میزبان بسیار شدید است و این پدیده تعیین‌کننده‌ی تغییرات جمعیت در حد فاصل زمانی ابتدا و انتهای همه‌گیری بیماری است (Lamb, ۲۰۰۰). ساختار ژنتیکی جمعیت‌های بیمارگر در مزرعه تاثیرات عمیقی بر کارایی روش‌های کنترل بیماری دارد. به‌عنوان مثال بهره‌گیری از استراتژی کنترلی میزبان‌های مقاوم از قبیل رقم مخلوط[۲] یا مولتی‌لاین[۳]ها به شدت تحت تاثیر تنوع موضعی بیمارگر است (Afshan *et al.*, ۲۰۱۱). در گذشته تعیین تنوع ژنتیکی قارچها منحصراً به کمک تعیین نژاد و بر پایه‌ی استفاده از گروهی از ارقام افتراقی استوار بود. گرچه این روش مزایا و معایب خاص خود را داشت ولی در جای خود به‌عنوان

---

[۱] Homogeneous

[۲] Cultivar mixtures

[۳] Multi line

بهترین و مهم‌ترین روش برای تعیین تفاوت ژنتیکی جمعیت‌های قارچ محسوب می‌شد. با ابداع روش‌های مولکولی مبتنی بر DNA شناسایی ژنوتیپ قارچ‌ها دچار تحول گردید. انگشت‌نگاری DNA نشان داده است که این روش، ابزار قدرتمند برای تعیین تنوع ژنتیکی جدایه‌های قارچ‌ها می‌باشد. با استفاده از این تکنیک جدید جمعیت‌های متعددی از قارچ عامل زنگ زرد گندم در نقاط مختلف دنیا مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفته و ابهامات آزمایش‌های بیماری‌زایی را برطرف نموده، توانایی محققین را در گروه‌بندی ژنوتیپ‌های قارچ مزبور به‌طور فزاینده‌ای بالا برد. عیب اساسی تکنیک‌های مولکولی پرهزینه بودن آن‌ها می‌باشد، لذا گرچه نتایج حاصل از این تکنیک‌ها به علت تجزیه و تحلیل DNA بسیار به واقعیت نزدیک است، ولی هزینه‌ی زیاد به‌کارگیری آن‌ها را دچار محدودیت می‌کند. تاکنون تعداد زیادی از نشانگرهای DNA معرفی شده و در تجزیه‌های ژنتیکی موجودات استفاده شده‌اند. این نشانگرها از نظر بسیاری از ویژگی‌ها مانند درجه‌ی چندشکلی، غالب یا همبارز بودن، تعداد جایگاه‌های تجزیه شده در هر آزمایش، تکرار پذیری و نیاز یا عدم نیاز به توالی‌یابی DNA الگو با همدیگر متفاوتند. در این تحقیق علاوه بر آزمون بیماری‌زایی اسیوسپورهای زنگ زرشک روی ارقام گندم حساس به زنگ زرد و زنگ سیاه گندم صورت گرفت، همچنین تکثیر توالی rDNA IGS۱ جدایه‌های اسیوسپورهای زنگ زرشک با جدایه قارچ *Puccinia striiformis* f.sp. *tritici* مقایسه شد. بر این اساس تنوع جدایه‌ها بر اساس توالی rDNA IGS۱ بررسی شد. به طور خلاصه اهداف این پژوهش به شرح زیر می‌باشد:

۱- ردیابی و پایش بیماری زنگ گندم در سطح مزارع استان لرستان در مجاورت رویشگاه‌های بوته‌های زرشک منطقه.

۲- تعیین وضعیت پراکندگی بوته‌های زرشک در سطح استان و شناسایی مرحله‌ی تابستان‌گذرانی بیماری زنگ گندم.

۳- بررسی میزان آلودگی به زنگ در بوته های زرشک (*Berberis* sp.).

۴ - بررسی نقش بوته‌های زرشک به عنوان میزبان واسط زنگ زرد گندم در استان لرستان با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز PCR[۱] (Barnes and Szabo, ۲۰۰۷a)

۵ - بررسی توالی rDNA -IGS۱ و اهمیت آن در مطالعه تنوع ژنتیکی

[۱] Polymerase chain reaction

فصل دوم

پیشینه‌ی پژوهش

۲-۱- گندم

۲-۱-۱- تاریخچه گندم

گندم جزء اولین گیاهان زراعی می‌باشد که اهلی شده و توسط انسان کشت گردیده است. گندم سازگارترین گیاه در بین گونه‌های مورد کشت و زرع غلات است. زراعت آن ساده بوده و با شرایط مختلف آب و هوایی تطابق دارد (خدابنده، ۱۳۸۴). تاریخچه‌ی اهلی‌کردن گندم احتمالا به ۱۲۰۰ تا ۱۸۰۰ سال قبل از میلاد به خاورمیانه برمی‌گردد و شاید شروع آن با جمع‌آوری بذر اجداد وحشی گندم فعلی صورت گرفته باشد. گمان می‌رود منطقه‌ای در جنوب غرب آسیا به نام Fertile crescent مبدا و خاستگاه گندم باشد. مرکز اصلی گندم‌های اولیه که شامل *Triticum monococcum* L. و *T. dicoccum* L. هستند از سوریه و فلسطین می‌باشد که از این منطقه به مصر و بین‌النهرین و سپس به ایران آمده است. تجار اولیه، گندم را به اروپا و مهاجران اروپایی در قرن هفدهم گندم را به قاره‌ی آمریکا بردند. برخی از گیاه‌شناسان نیز مرکز اولیه‌ی گندم را مصر می‌دانند، زیرا که دانه‌های گندم در مقبره مصریان قدیم و در کنار رود نیل به دست آمده است (بهینا، ۱۳۷۳).

۲-۱-۲- گیاه‌شناسی گندم

گندم در شاخه‌ی گیاهان گلدار (Spermatophyta)، زیرشاخه‌ی نهاندانگان (Angiosperma)، رده‌ی گیاهان تک لپه (Monocotyledon)، راسته‌ی Glumiflorea، تیره‌ی غلات Poaceae، جنس *Triticum* و گونه‌ی *Triticum aestivum* قرار می‌گیرد که دارای گونه‌های متعددی می‌باشد (خدابنده،۱۳۸۴). گندم گیاهی علفی، یک‌ساله و خودگشن است. ساقه‌ی آن بند بند بوده که اصطلاحاً به آن ماشوره‌ای (توخالی) گفته می‌شود، ساقه‌ی اصلی گندم معمولا شش میانگره دارد ولی در ارقام مختلف تعداد میانگره‌ها از پنج تا هفت عدد تغییر می‌کند. گره‌های ساقه توپر و به هم فشرده است (کریمی، ۱۳۷۱). طول ساقه ۳۰-۱۵۰ سانتی‌متر و در روی هر ساقه معمولا تعداد هفت تا هشت برگ نیزه‌ای متشکل از دو قسمت نیام و تیغه وجود دارد. تیغه به‌منزله‌ی پهنک برگ در محل گره بالاتر به نیام متصل می‌شود. در حد فاصل برگ و دم‌برگ در هر دو طرف زوایدی بی‌رنگ به نام گوشوارک وجود دارد، بین گوشوارک‌ها نیز یک پرده‌ی بی‌رنگ به نام زبانک وجود دارد که در امتداد ساقه و به سمت بالا کشیده شده است (خدابنده، ۱۳۸۴). اغلب ارقام گندم به‌جز ساقه‌ی اصلی دارای ساقه‌های ثانویه نیز هستند که به آن‌ها پنجه[۱] می‌گویند. گل آذین گندم از نوع سنبله‌ی مرکب و با رشد محدود است که در انتهای هر ساقه دیده می‌شود. هر سنبله دارای یک محور اصلی است که سنبلک‌ها یا سنبلچه‌ها به طور متناوب در دو طرف آن قرار گرفته‌اند یک سنبلچه دارای یک تا نه گلچه است که این گلچه‌ها هم به‌طور متناوب روی محور سنبلچه قرار گرفته‌اند. در زمان گرده‌افشانی و عمل لقاح به‌طور معمول دو تا چهار گلچه در هر سنبله بارور و تبدیل به دانه می‌شود (کریمی، ۱۳۷۱). هر گلچه دارای یک مادگی، سه پرچم و دو عدد بالشتک است. هر پرچم دارای یک میله و یک بساک و مادگی نیز از یک تخمدان و یک کلاله‌ی پروش منشعب تشکیل گردیده است. سنبلچه توسط دو پوشینه‌ی برگ مانند به نام گلوم[۲] پوشانده می‌شود. هر گلچه نیز توسط دو عضو به نام پوشینک[۳] از اطراف احاطه گردیده که پوشینک زیرین را لما و پوشینک بالایی را پالئا می‌نامند. برخی از انواع گندم در انتهای پوشینه دارای تیغه‌های بلند و باریکی به نام ریشک می‌باشند. ریشک‌ها می‌توانند اندازه‌ی مختلفی داشته باشند (خدابنده، ۱۳۸۴). از نظر شکل ظاهری، ریشه‌ی گندم افشان و سطحی است و تمام ریشه‌های فرعی و اصلی از محل طوقه خارج می‌شوند.

---

[۱] Tiller

[۲] Glum

[۳] Glumel

میوه‌ی گندم، گندمه بوده و از سه بخش به نام‌های پوسته، آندوسپرم و جنین تشکیل شده است. رنگ آن در ارقام مختلف متفاوت می‌باشد و بین سفید مایل به زرد، تا قرمز تیره تغییر می‌کند (خدابنده، ۱۳۸۴).

۲-۱-۳- اهمیت اقتصادی گندم

گندم مقام اول را از نظر تغذیه مستقیم انسان داراست و به دلیل ارزانی و فراوانی در الگوی غذایی سه‌چهارم جمعیت جهان جایگاه مهمی دارد. علاوه بر تغذیه‌ی مستقیم، گندم به شکل غیرمستقیم در مصرف دام و طیور و صنایع، نقش به‌سزایی در زندگی انسان‌ها ایفا نموده است (Miller and Reader, ۱۹۸۷)، هرچند که می‌دانیم کمبود آمینواسیدهای لیسین[۱] و تریپتوفان[۲] سبب شده است، که ارزش غذایی پروتئین گندم کمتر از پروتئین‌های حیوانی باشد. اهمیت گندم بیشتر مربوط به خواص فیزیکی و شیمیایی موادی است که دانه‌ی آن را تشکیل می‌دهد. مهم‌ترین این مواد پروتئین گلوتن است که برای خاصیت منحصر به فرد کششی است که در مدت تخمیر خمیری که مایه زده شده است دی اکسید کربن را نگه می‌دارد و باعث ایجاد خواص پخت‌پذیری مخصوصی در گندم می‌شود. حدود ۸۰ درصد پروتئین گلوتن از گلیادین[۳] و گلوتینین[۴] تشکیل شده است. میزان و کیفیت گلوتن تولید شده به‌وسیله‌ی هر ژنوتیپ گندم از اولین موارد تعیین کیفیت آرد گندم به شمار می‌آید. دانه‌ی گندم عامل کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها، کانی‌ها و ویتامین‌های مهم، که برای بقاء انسان ضروری هستند، می‌باشد. ویتامین‌های موجود در دانه‌ی گندم عبارتند از: ویتامین B۱ (تیامین)، B۲ (ریبوفلاوین)، B۶ (پیریدوکسین)، نیاسین، ویتامین E و اسیدپانتوتنیک که همه‌ی این موارد از نظر تغذیه‌ای دارای اهمیت هستند (بهینا، ۱۳۷۳). ۵۵ درصد کربوهیدرات‌ها، ۵۰ درصد پروتئین و ۲۰ درصد کالری مردم توسط گندم تامین می‌شود (Ali, ۲۰۱۲). در دنیای امروز، گندم از لحاظ سیاسی از اهمیتی هم‌پای نفت و شاید برتر از آن برخوردار است و باید گفت

---

[۱] Lysine

[۲] Tryptophan

[۳] Gliadin

[۴] Glutenin