ژنتیک نوین
دوره هجدهم، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۲
صفحه ۳۵۶ - ۳۴۷

ارزیابی مقاومت به زنگ برگ برخی از ژنوتیپ‌های آژیلوپس در مرحله‌های گیاهچه‌ای و گیاه کامل

Leaf rust resistance evaluation of *Aegilops* genotypes at the seedling and adult plant stages

سیما ابراهیمی[۱]، علی دادخدایی[*۲]، بهرام حیدری[۲]، روح‌اله نادری خراجی[۲]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد ژنتیک و به‌نژادی گیاهی، بخش تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، ایران

۲- به‌ترتیب دانشیار، استاد، دانشیار، بخش تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، ایران

Ebrahimi S[1], Dadkhodaie A[*2], Heidari B[2], Naderi kharaji R[2]

1- MSc Student, Department of Plant Production and Genetics, School of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran
2- Associate Professor, Professor, Associate Professor, Department of Plant Production and Genetics, School of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: dadkhodaie@shirazu.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۲/۰۱ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۷/۲۶)

چکیده

گونه‌های زیادی از آژیلوپس در ایران وجود دارند که بسیاری از آن‌ها مقاوم به بیماری زنگ گندم هستند. بنابراین با توجه به توانایی بیمارگرها در شکستن مقاومت، پژوهش‌هایی که در زمینه شناسایی و بهره‌گیری از این گونه‌ها صورت نگرفته است، کافی نیست. برخی از این گونه‌ها از لحاظ ظاهری به‌هم شباهت دارند اما دارای سطح پلوئیدی متفاوت هستند. به‌همین دلیل سطح پلوئیدی گونه‌های *Aegilops crassa*، *Ae. neglecta* و *Ae. vavilovii* توسط دستگاه فلوسایتومتری تعیین شد و از گیاه *Ae. tauschii* (2n=2x=14) به‌عنوان مرجع استفاده شد. محتوای ژنوم گونه‌های *Ae. crassa* و *Ae. neglecta* حدود دو برابر گیاه مرجع بود و بنابراین به‌عنوان گونه تتراپلوئید (2n=4x) شناسایی شدند درحالی‌که این مقدار در *Ae. vavilovii* که هگزاپلوئید (2n=6x) بود، حدود سه برابر بود. به‌منظور شناسایی مقاومت به زنگ برگ، ۴۹ ژنوتیپ خالص از گونه‌های *Ae. crassa*، *Ae. neglecta*، *Ae. geniculata*، *Ae. kotschyi*، *Ae. biuncialis* و گونه *Ae. vavilovii* بررسی شدند. ابتدا یوریدینیوسپورهای چهار پاتوتیپ بر روی رقم گندم روشن که حساس به زنگ برگ می‌باشد، در گلخانه تکثیر شدند. سپس، همه ژنوتیپ‌ها در مرحله دو برگی در شرایط ۱۰۰ درصد رطوبت و ۲۴ ساعت تاریکی با این پاتوتیپ‌ها مایه‌زنی شدند. بعد از دو هفته، نمره‌دهی براساس مقیاس ۰ تا ۴ انجام شد و ژنوتیپ‌ها طیف وسیعی از بسیار مقاوم ($0;^{=}$) تا کاملا حساس (3^{+}) را نشان دادند. در ارزیابی مقاومت در مرحله گیاه کامل نیز، سطوح متفاوتی از مقاومت (MR تا R) مشاهده شد. این پژوهش مقدمه‌ای بر شناسایی ژن‌های مقاومت در این ژنوتیپ‌ها و نوع عمل آن‌ها در پژوهش‌های بعدی می‌باشد.

واژه‌های کلیدی

آژیلوپس
پاتوتیپ
زنگ برگ
سطح پلوئیدی
فلوسایتومتری

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-12-08]

مقدمه

پیش‌بینی می‌شود جمعیت دنیا تا سه دهه آینده به ده میلیارد نفر برسد که در نتیجه آن، تأمین مواد غذایی با مشکل رو به رو خواهد شد. بنابراین باید با افزایش عملکرد در واحد سطح این مشکل را رفع نمود که مستلزم بهبود ژنتیکی و افزایش پتانسیل ژنتیکی گیاهان می‌باشد. گندم یکی از منابع ارزشمند تأمین کالری مورد نیاز انسان، است که اهمیت زیادی در امنیت غذایی دارد (Gupta et al. 2008) ولی عملکرد این گیاه در اثر تنش‌های زیستی[1] و غیر زیستی[2] کاهش می‌یابد که از آن‌ها می‌توان به خشکی، شوری، سرما، آفات، بیماری‌ها و علف‌های هرز اشاره کرد (Montesinos et al. 2002). بنابراین، از اهداف به‌نژادی گندم، تولید ارقام مقاوم به انواع تنش‌ها و افزایش عملکرد گندم می‌باشد (William et al. 2005).

زنگ‌ها[3] از جمله تنش‌های زیستی و زیان‌بارترین بیماری‌های گندم می‌باشند که توسط قارچ‌های راسته Uredinales، رده بازیدیومیست‌ها ایجاد می‌شوند و موجب کاهش کمیت و کیفیت دانه می‌شوند (McCallum et al. 2012). سه بیماری زنگ در خانواده‌ی گندمیان زراعی و وحشی ایجاد می‌شوند که شامل زنگ نواری (زنگ زرد)[4]، زنگ برگ (زنگ قهوه‌ای)[5] و زنگ ساقه (زنگ سیاه)[6] می‌باشند. اگرچه زنگ نواری شایع‌ترین نوع بیماری زنگ می‌باشد (Roelfs et al. 1992)، زنگ برگ در دنیا گستردگی بیشتری دارد و در نتیجه، منجر به خسارت سالانه بیشتری می‌شود (Chester 1946).

زنگ برگ که توسط قارچ *Puccinia triticina* ایجاد می‌شود، از خانواده Pucciniaceae می‌باشد. محدوده میزبانی این قارچ، گندم نان (*Triticum aestivum* L.)، گندم دوروم (*T. turgidum* L. var. *durum*) وگونه‌های مختلف *Aegilops* می‌باشد (Melvin et al. 2008). این بیماری برای اولین بار در غرب، شمال غرب، خوزستان و بخش‌هایی از خراسان و گرگان در سال ۱۳۲۵ گزارش شد (Esfandiari 1947). بیماری در مکان‌هایی که ارقام حساس کشت شوند و شرایط محیطی برای رشد قارچ فراهم باشد، ظاهر می‌شود (Agrios 2005) و نشانه‌های آن، جوش‌های بیضی شکل و پراکنده به رنگ نارنجی مایل به قهوه‌ای در سطح برگ می‌باشد.

قارچ مولد زنگ دارای نژادهای فیزیولوژیک[7] متعددی می‌باشد که در اثر جهش یا مهاجرت به‌وجود آمده‌اند. این نژادهای جدید باعث شکسته شدن ژن‌های مقاومت و در نتیجه حساسیت ارقام زراعی می‌شود و اولین بار توسط Mains and Jackson (1923)، گزارش شدند. اگرچه استفاده از قارچ‌کش‌ها روشی آسان برای مقابله با بیماری زنگ می‌باشد اما راهبردی همیشگی و کارآمد نیست، چون بیمارگرها بعد از مدتی به آن‌ها مقاوم شده و گسترش می‌یابند (Chen 2005). این در حالی است که شکستن مقاومت چندژنی به یک‌باره رخ نمی‌دهد و همین‌طور اثرات مخرب محیط زیستی ندارد. پس مقاومت ژنتیکی نسبت به مبارزه شیمیایی کارایی بیشتری دارد (Kammholz et al. 2001).

جنس *Aegilops* به‌عنوان منبع مقاومت به زنگ، مورد توجه به‌نژادگران قرار گرفته است و ژن‌های مقاومت با روش‌های به‌نژادی و بیوتکنولوژی به لاین‌های مناسب منتقل شده‌اند (Ellis et al. 2014). این جنس از خانواده Poaceae و زیر خانواده Pooideae می‌باشد و دارای ۱۱ گونه دیپلوئید (2n=2x=14)، ۱۰ گونه تتراپلوئید (2n=4x=28) و ۲ گونه هگزاپلوئید (2n=6x=42) می‌باشد. دراین جنس گونه‌های *Ae. crassa* و *Ae. neglecta* دارای سطوح پلوئیدی تتراپلوئید و هگزاپلوئید می‌باشند (Schneider et al. 2008). برخی از آن‌ها که دارای ژنوم مشترک با گندم هستند، در به‌نژادی گندم بسیار حائز اهمیت می‌باشند و به‌علت سازگاری با شرایط گوناگون و مقاومت به بیماری‌ها از جمله زنگ، گزینه مناسبی برای پژوهش‌های ژنتیکی می‌باشند. برای انجام چنین پژوهش‌هایی باید اطلاعات کافی از این گیاهان در دسترس باشد.

با وجود اینکه گونه‌های زیادی از آژیلوپس در ایران وجود دارند و بسیاری از آن‌ها می‌توانند منبع مناسبی برای مقاومت به زنگ باشند، پژوهش‌هایی که در این زمینه صورت گرفته است (Aliakbari et al. 2020; Davoudnia and Dadkhodaie 2022)،

[1] Biotic stresses
[2] Abiotic stresses
[3] Rust diseases
[4] Stripe rust or Yellow rust
[5] Leaf rust or Brown rust
[6] Stem rust or Black rust
[7] Physiological races

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-12-08]

کافی نیست. لذا این پژوهش به‌منظور بررسی مقاومت به زنگ برگ در جنس آژیلوپس انجام شد. بدین منظور ابتدا با استفاده از فلوسایتومتری سطح پلوئیدی گونه‌های مورد پژوهش شناسایی و سپس مقاومت آن‌ها نسبت به زنگ برگ ارزیابی شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در آزمایشگاه سیتوژنتیک و گلخانه‌ی بخش تولید و ژنتیک گیاهی دانشگاه شیراز انجام شد. ابتدا ۴۹ ژنوتیپ مورد استفاده در پژوهش تکثیر و خالص‌سازی شدند (جدول ۱)، بدین منظور از تک بذر استفاده شد.

با استفاده از دستگاه فلوسایتومتری، سطح پلوئیدی پنج اکوتیپ *Ae. crassa*، دو اکوتیپ *Ae. neglecta* و لاین‌های *Ae. vavilovii*، در مقایسه با گیاه مرجع[1] *Ae. tauschii* که دارای سطح پلوئیدی 2n=2x=14 می‌باشد، تعیین شد. بدین منظور، ابتدا برگ‌های جوان گیاه با استفاده از تیغ به طور کامل خرد شده و سپس از بافر استخراج هسته (به میزان ۴۰۰ میکرولیتر برای هر نمونه) و بافر رنگ‌آمیزی DAPI[2] (به میزان ۱۶۰۰ میکرولیتر) تولید شده در شرکت Sysmex Partec کشور آلمان، برای هر نمونه استفاده شد. مخلوط حاصل به‌ترتیب از فیلترهای ۵۰ میکرونی و ۳۰ میکرونی عبور داده شد و در دستگاه فلوسایتومتری (Partec، آلمان) قرار گرفت. این رنگ به‌صورت کمپلکس در نواحی بازهای A-T باند شده و توسط نور ماورابنفش در ۳۵۰ نانومتر برانگیخته می‌شود و از این طریق، محتوای DNA سلول برآورد می‌شود (Godelle et al. 1993). در این روش، سلول‌های رنگ‌آمیزی شده در یک جریان سیال قرار می‌گیرند و به‌صورت تکی از مقابل پرتو نوری ماورابنفش عبور می‌کنند. نور ماورابنفش پس از برخورد به سلول پراکنده می‌شود و طول موج دیگری از سلول بازتاب می‌شود و به‌صورت هیستوگرام بر روی صفحه نمایش دستگاه آشکار می‌شود. تعداد سلول‌های شمارش‌شده (Total count) توسط دستگاه بیشتر از ده هزار سلول در نظر گرفته می‌شود تا محتوای ژنوم به‌درستی برآورد شود. برای تنظیم دستگاه و کاهش مقدار noise، از gain=320 و low-limit=30 استفاده شد.

واکنش ژنوتیپ‌ها (پنج اکوتیپ *Ae. crassa*، دو اکوتیپ *Ae. neglecta*، یک اکوتیپ *Ae. geniculata*، یک اکوتیپ *Ae. kotschyi* و دو اکوتیپ *Ae. biuncialis* و ۳۸ تک بوته از گونه *Ae. vavilovii*) نسبت به زنگ برگ در مرحله‌های گیاهچه‌ای و گیاه کامل ارزیابی شد. از آن‌جایی که پاتوتیپ‌ها برای مدت طولانی در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شده بودند، قبل از استفاده، تیوب حاوی اسپور به مدت ۴ تا ۵ دقیقه در بن‌ماری (دمای ۳۷ تا ۴۰ درجه سانتی‌گراد) قرار داده شد (جدول ۲). پاتوتیپ‌ها بر روی رقم حساس به زنگ برگ (روشن) در گلخانه تکثیر شدند و در مرحله‌ی ۲ برگی مایه‌زنی[3] انجام شد. برای این کار برگ را با روغن توئین ۲۰[4] مرطوب کرده و سپس به‌وسیله قلم‌مو، اسپور را به سطح برگ انتقال داده و گیاهچه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی و رطوبت اشباع قرار گرفتند. پس از آن، گیاهچه‌ها به مدت دو هفته در دمای ۱۸ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند و اسپور حاصل جمع‌آوری شد.

ژنوتیپ‌های آژیلوپس نیز در مرحله دو برگی و با روش ذکر شده با استفاده از اسپور تازه مایه‌زنی شدند. یادداشت‌برداری و نمره‌دهی حدود دو هفته بعد از مایه‌زنی به روش Roelfs et al. 1992 انجام شد. بر طبق این روش، به تیپ‌های آلودگی[5] نمره‌هایی از ۰ تا ۴ داده می‌شود. نمره‌های ۰، ۱ و ۲ نشان‌دهنده مقاومت و نمره‌های ۳ و ۴ نشان‌دهنده‌ی حساسیت می‌باشد (جدول ۳). بعد از بررسی مقاومت ژنوتیپ‌ها در مرحله‌ی گیاهچه‌ای، همه‌ی ژنوتیپ‌ها نشا شدند و مقاومت ژنوتیپ‌هایی که در مرحله‌ی گیاهچه‌ای به بیماری زنگ برگ حساس بودند، در مرحله گیاه کامل ارزیابی شد. روش مایه‌زنی همانند قبل بود و پس از ظهور کامل برگ پرچم انجام شد. ابتدا مقاومت ژنوتیپ‌ها نسبت به همان پاتوتیپ مورد استفاده در مرحله گیاهچه‌ای و سپس با مخلوط چهار پاتوتیپ بررسی شد. یادداشت‌برداری سه هفته پس از مایه‌زنی و بر روی برگ پرچم صورت گرفت و نمره‌دهی به‌صورت R، MR، S و MS بود (جدول ۴).

[1] Reference
[2] 4,6-Di Amino 2-Phenyl Indole
[3] Inoculation
[4] Tween 20
[3] Infection types (ITs)

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-12-08]

جدول ۱- محل جمع‌آوری و مشخصات جغرافیایی ژنوتیپ‌های آژیلوپس مورد استفاده برای ارزیابی مقاومت به بیماری زنگ برگ در مرحله‌های گیاهچه‌ای و گیاه کامل

ژنوتیپ	محل جمع‌آوری	عرض جغرافیایی	طول جغرافیایی
Aegilops vavilovii	شیراز	۲۹ ۴۳ ۵۰ / ۲۸۶	۵۲ ۳۵ ۱۲ / ۹۴۳
Ae. crassa	اراک	۳۴ ۶۷ / ۵۲۷	۹۹ ۴۴ ۸ / ۱۸
Ae. crassa	کمیجان-همدان	۳۴ ۴۴ ۵۱ / ۵۱۱	۴۹ ۲۴ ۷۳ / ۱۱۱
Ae. crassa	کمیجان-قهاوند	۳۴ ۴۶ ۱۲ / ۳۴۲	۴۹ ۷۴ ۳ / ۰۸۷
Ae. crassa	بیجار-دیواندره	۳۵ ۴۹ ۲۶ / ۹۳۶	۷۱ ۶۳ ۶ / ۷۷۵
Ae. biuncialis	علیصدر-بیجار	۳۵ ۳۱ ۳۹ / ۸۸	۴۸ ۰۲ ۸ / ۴۶۷
Ae. geniculata	مرند	۳۸ ۳۲ ۱۳ / ۳۲۸	۴۵ ۲۰ ۲۴ / ۵۲۴
Ae. kotschyi	ساوه	۳۵ ۱۸ ۰ / ۰۵	۵۰ ۱۷ ۴۳ / ۶۷۹
Ae. neglecta	*	*	*
Ae. crassa	*	۳۱ ۳۳ ۹ / ۰۳۴	۵۱ ۱۰ ۴۹ / ۶۴۵
Ae. neglecta	تنگ ابوالحیات	۲۹ ۴۱ ۰ / ۲۷	۵۱ ۴۹ ۴۴ / ۲۱۶
Ae. biuncialis	محمود آباد	۳۱ / ۸۷	۵۴ / ۸۷

* اطلاعات موجود نبود

جدول ۲- پاتوتیپ‌های مورد استفاده در ارزیابی مقاومت به زنگ برگ در مرحله‌های گیاهچه‌ای و گیاه کامل ۴۹ ژنوتیپ آژیلوپس و پرآزاری و ناپرآزاری آن‌ها

فنوتیپ**	بیماری‌زایی	محل جمع‌آوری	جدایه*
BDKLQ	*2c, 3a, 3bg, 11, 14b, 17, 24, 30, B*	گلستان	91-15
BDTPG	*3ka, 11, 14a, 14b, 17, 18 , 24, 30, B*	خوزستان	94-18
CDFMQ	*3a, 3bg, 14b, 17, 18, 24, 30, B*	اردبیل	93-24
FJPSQ	*2c, 3a, 3bg, 3ka, 10, 14a, 14b, 16, 17, 24, 30, B*	اردبیل	93-44

* عدد سمت چپ سال جمع‌آوری جدایه و عدد سمت راست شماره آن سال را نشان می‌دهد.

** فنوتیپ براساس لاین‌های ایزوژن تاچر مطابق روش نامگذاری آمریکای شمالی مشخص شد (Long and Kolmer, 1989)

جدول ۳- تیپ‌های آلودگی زنگ برگ در مرحله گیاهچه‌ای (Roelfs et al. 1992)

علائم	واکنش میزبان	تیپ آلودگی*
عدم وجود هیچ گونه جوش	مصون	۰
عدم وجود جوش و وجود لکه‌های کلروزه و نکروزه حاصل از واکنش فوق حساسیت	تقریباً مصون	;
جوش‌های کوچک احاطه شده توسط نواحی نکروزه	خیلی مقاوم	۱
جوش‌های کوچک تا متوسط احاطه شده توسط نواحی کلروزه و نکروزه و احاطه شدن نواحی با آب‌سوختگی سبز توسط نواحی کلروزه	مقاوم	۲
جوش‌های با اندازه متوسط همراه با نواحی کلروزه	حساس	۳
جوش‌های بدون نواحی کلروزه	کاملاً حساس	۴
نامتجانس، وجود جوش‌هایی با اندازه‌های متفاوت	نامتجانس	X

* تغییرات تیپ‌های آلودگی به وسیله علائم زیر نشان داده شد.

- برای جوش‌های کوچکتر از حد معمول و + برای جوش‌های بزرگتر از حد معمول استفاده شد.

; برای نشان دادن مقاومت خیلی زیاد است.

Chlorosis (C): بر لکه‌های کلروزه بیشتر از حد معمول دلالت می‌کند.

Necrosis (N): لکه‌های نکروزه بیشتر از حد معمول را نشان می‌دهد.

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-12-08]

جدول ۴- تیپ‌های آلودگی زنگ برگ در مرحله گیاه کامل بر اساس درصد سطح آلودگی برگ (Roelfs et al. 1992)

واکنش میزبان	سطح آلودگی برگ (٪)	تیپ آلودگی
مقاوم	% 0-20	R (resistant)
نیمه مقاوم	% 40	MR (moderately resistant)
نیمه حساس	% 80	MS (moderately susceptible)
حساس	% 100	S (susceptible)

جدول ۵- نتایج فلوسایتومتری سه گونه مختلف آزیلوپس

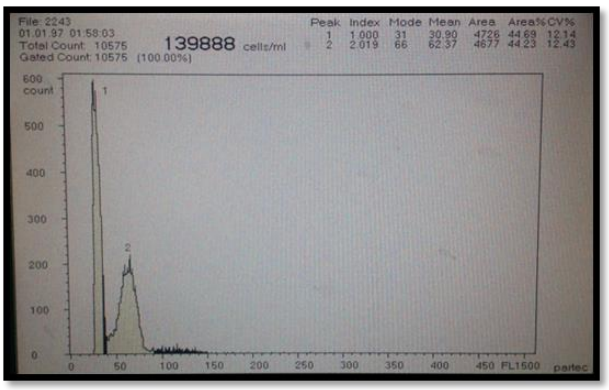
ضریب تغییرات	میانگین پیک فلوسایتومتری	گونه
11.37-13.69	61.08-82.20	*Ae. crassa*
11.03-13.64	64.16-70.26	*Ae. neglecta*
12.22-16.02	95.79-98.63	*Ae. vavilovii*

حداکثر شدت آلودگی در هر تیپ آلودگی برابر با R=0.2، MR=0.4، MS=0.8 و S=1.0 می‌باشد.

نتایج

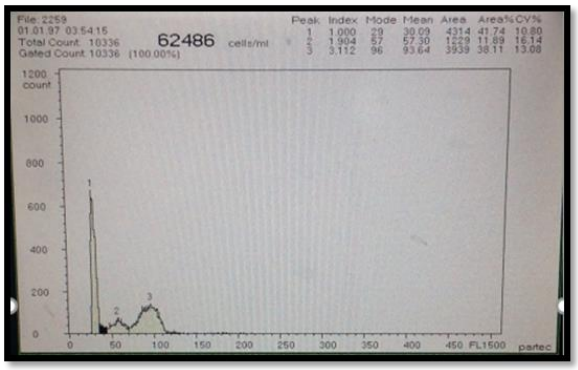
تعیین سطح پلوئیدی ژنوتیپ‌های *Ae. crassa*، *Ae. neglecta* و *Ae. vavilovii* در مقایسه با *Ae. tauschii*

در این پژوهش پنج اکوتیپ *Ae. crassa* مورد بررسی قرار گرفتند، که دارای میانگین پیک فلوسایتومتری در بازه ۶۱/۰۸ تا ۸۲/۲۰ و ضریب تغییرات در بازه ۱۱/۳۷ تا ۱۳/۶۹ درصد بودند. برطبق نمودارهای حاصل از دستگاه فلوسایتومتری، عدد میانگین (محتوای ژنوم یا پیک فلوسایتومتری) گیاه مرجع برابر با ۴۲/۶۵ و ضریب تغییرات آن ۱۲/۳۱ درصد بود. میانگین اکوتیپ‌های *Ae. crassa* تقریباً دو برابر میانگین حاصل از ژنوتیپ گیاه مرجع بود (شکل ۱). پیک فلوسایتومتری برای اکوتیپ شماره ۴۶ گونه *Ae. neglecta* برابر با ۷۰/۲۶ با ضریب تغییرات ۱۱/۰۳ درصد بود در حالی‌که مقادیر مرتبط برای اکوتیپ شماره ۴۸ همین گونه، برابر با ۶۴/۱۶ با ضریب تغییرات ۱۳/۶۴ درصد بود. با توجه به این‌که ژنوتیپ *Ae. tauschii* دارای میانگین۴۲/۶۵ می‌باشد، مقادیر میانگین هر دو ژنوتیپ ذکر شده دو برابر آن می‌باشد. زمانی‌که از مخلوط هر اکوتیپ با گیاه مرجع استفاده شد، مقدار محتوای ژنوم در *Ae. neglecta* دو برابر گیاه *Ae. tauschii* بود.



شکل ۱- محتوای ژنوم مخلوط دو گونه *Ae. tauschii* و *Ae. crassa* با فلوسایتومتری

(محور افقی نمودار: نشانگر محتوای DNA سلول‌ها بر حسب پیکوگرم؛ محور عمودی: تعداد هسته‌های شمارش شده؛ ۱: پیک فلوسایتومتری مرتبط با *Ae. tauschii*؛ ۲: پیک فلوسایتومتری مرتبط با *Ae. crassa*)



شکل ۲- محتوای ژنوم مخلوط دو گونه *Ae. tauschii* و *Ae. vavilovii* با فلوسایتومتری

(محور افقی نمودار: نشانگر محتوای DNA سلول‌ها بر حسب پیکوگرم؛ محور عمودی: تعداد هسته‌های شمارش شده؛

۱: پیک فلوسایتومتری مرتبط با *Ae. tauschii*؛ ۲: مرحله G_2 سلولی؛ ۳: پیک فلوسایتومتری مرتبط با *Ae. vavilovii*)

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-12-08]

محتوای ژنوم در گونه *Ae. vavilovii*، در بازه ۹۵/۷۹ تا ۹۶/۱۲ با ضریب تغییرات ۱۲/۲۲ تا ۱۶/۰۲ درصد می‌باشد و مخلوط گیاه مرجع (*Ae. tauschii*) و لاین‌های *Ae. vavilovii*، عدد میانگین ۹۵/۷۹ داشت که حدود سه برابر گیاه مرجع بود (شکل ۲). مقایسه این گونه با گونه *Ae. crassa* نیز انجام گرفت. بدین منظور از مخلوط برگ اکوتیپ شماره ۳۹ (*Ae. crassa*) و *Ae. vavilovii* استفاده شد. پیک فلوسایتومتری گونه *Ae. crassa* (۶۱/۰۸) حدود دو سوم گونه *Ae. vavilovii* (۹۸/۶۳) بود (جدول ۵).

ارزیابی مقاومت در مرحله گیاهچه‌ای و گیاه کامل

گیاهچه‌های گونه *Ae. vavilovii* نسبت به پاتوتیپ‌های زنگ برگ، تیپ‌های آلودگی متفاوتی از کاملاً حساس (3^+) تا کاملاً مقاوم ($0;^=$) نشان دادند (جدول ۵، شکل ۳). گیاهچه‌های حساس نسبت به همان پاتوتیپی که حساس بودند، در مرحله گیاه کامل، مقاومت نشان دادند (جدول ۵، شکل ۴). همین‌طور مقاومت بسیار بالایی مخلوط نسبت به مخلوط چهار پاتوتیپ نشان دادند (جدول ۵). از پنج ژنوتیپ *Ae. crassa* مورد ارزیابی در این پژوهش، ژنوتیپ‌های شماره ۳۹، ۴۲ و ۴۷ به هر چهار پاتوتیپ، تیپ آلودگی بالایی ($IT=3^+$) نشان دادند، یعنی این ژنوتیپ‌ها نسبت به هر چهار پاتوتیپ حساس بودند. ژنوتیپ شماره ۴۰ به سویه ۱۵-۹۱ خیلی مقاوم ($IT=;1$) بود و در برابر سه پاتوتیپ دیگر، حساسیت ($IT=3^+$) نشان داد. ژنوتیپ شماره ۴۱ به سویه ۱۸-۹۴ مقاومت ($IT=2$) نشان داد و در برابر بقیه پاتوتیپ‌ها حساس ($IT=3^+$) بود (جدول ۵). گیاهچه‌های حساس در مرحله گیاه کامل نسبت به مخلوط چهار پاتوتیپ، مقاوم بودند. هر دو ژنوتیپ *Ae. neglecta* نسبت به هر چهار پاتوتیپ، مقاومت بسیار بالایی نشان دادند ($^=$; تا N;)، یعنی به زنگ برگ بسیار مقاوم بودند (جدول ۵). در بررسی دو ژنوتیپ *Ae. biuncialis*، ژنوتیپ شماره ۴۳ به سویه‌های شماره ۲۴-۹۳ و ۴۴-۹۳ حساس بود ولی در برابر دو پاتوتیپ دیگر مقاوم بود. ژنوتیپ شماره ۴۹ نیز به دو سویه شماره ۱۸-۹۴ و ۲۴-۹۳ واکنش بالایی نشان داد ولی در برابر دو پاتوتیپ دیگر مقاوم بود (جدول ۵). تنها ژنوتیپ *Ae. geniculata*، در برابر سویه ۱۸-۹۴ مقاومت نشان داد ($IT=2C$) ولی در برابر سه پاتوتیپ دیگر حساس ($IT=3^+$) بود (جدول ۵).

تنها ژنوتیپ *Ae. kotschyi* بررسی شده در این پژوهش نیز به تمام پاتوتیپ‌ها مقاوم ($IT=1C$ تا $IT=2$) بود (جدول ۵).

شکل ۳- تیپ‌های آلودگی ژنوتیپ‌های مختلف *Aegilops tauschii* نسبت به عامل زنگ برگ در مرحله گیاهچه‌ای (۱: ژنوتیپ ۲۸ مایه‌زنی شده با پاتوتیپ ۲۴-۹۳ با تیپ آلودگی 2C؛ ۲: ژنوتیپ ۳۱ مایه‌زنی شده با پاتوتیپ ۱۵-۹۱ با تیپ آلودگی 1؛ ۳: ژنوتیپ ۸ مایه‌زنی شده با پاتوتیپ ۴۴-۹۳ با تیپ آلودگی 3^+؛ ۴: ژنوتیپ ۳ مایه‌زنی شده با پاتوتیپ ۱۸-۹۴ با تیپ آلودگی؛ ۵: ژنوتیپ ۱۶ مایه‌زنی شده با پاتوتیپ ۱۸-۹۴ با تیپ آلودگی 3^+)

شکل ۴- تیپ‌های آلودگی ژنوتیپ‌های مختلف *Aegilops tauschii* نسبت به عامل زنگ برگ در مرحله گیاهچه‌ای (۱: ژنوتیپ ۱۵ مایه‌زنی شده با پاتوتیپ ۱۸-۹۴ با تیپ آلودگی 10R؛ ۲: ژنوتیپ ۸ مایه‌زنی شده با پاتوتیپ ۴۴-۹۳ با تیپ آلودگی 10R-MR؛ ۳: ژنوتیپ ۳۶ مایه‌زنی شده با پاتوتیپ ۱۵-۹۱ با تیپ آلودگی 5R؛ ۴: ژنوتیپ ۹ مایه‌زنی شده با پاتوتیپ ۱۸-۹۴ با تیپ آلودگی 20R-MR؛ ۵: ژنوتیپ ۱۶ مایه‌زنی شده با پاتوتیپ ۱۸-۹۴ با تیپ آلودگی 10R؛ ۶: ژنوتیپ ۳۷ مایه‌زنی شده با پاتوتیپ ۱۵-۹۱ با تیپ آلودگی 5R)

گیاهچه‌های حساس مورد بررسی در پژوهش، در مرحله گیاه کامل نسبت به مخلوط چهار پاتوتیپ مقاوم بودند و سطح آلودگی برگ‌ها از 0R تا 15R بود.

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-12-08]

جدول ۶- مقاومت به زنگ برگ ژنوتیپ‌های *Ae. vavilovii*، *Ae. crassa*، *Ae. neglecta*، *Ae. biuncialis*، *Ae. geniculata* و *Ae. kotschyi* در مرحله گیاهچه‌ای و مرحله گیاه کامل نسبت به چهار پاتوتیپ

		Seedling				**APR	***APR
Code	Genotype	Pt* 15	Pt 18	Pt 24	Pt 44	Mix Pt	
1	*Ae. vavilovii*	;CN	;N	;	1N	5R	
2	*Ae. vavilovii*	;CN	;C	;N	2C	0R	
3	*Ae. vavilovii*	;C	;	;	2C	0R	
4	*Ae. vavilovii*	;C	;C	;	2C	0R	
5	*Ae. vavilovii*	;CN	;N	;C	2C	0R	
6	*Ae. vavilovii*	;N	2N	;N	33^{-}	5R	5-10R
7	*Ae. vavilovii*	2N	;C	;N	33^{-}	5-10R	5-10R
8	*Ae. vavilovii*	;1CN	;	1	3^{+}	R	10R-MR
9	*Ae. vavilovii*	;CN	3^{+}	;C	;CN	0R	20R-MR
10	*Ae. vavilovii*	;	3^{+}	;N	;C	0R	20R-MR
11	*Ae. vavilovii*	;C	1N	$0;^{=}$	;	10R	
12	*Ae. vavilovii*	;	1N	;N	;N	5R	
13	*Ae. vavilovii*	;	1N	;N	;N	10R	
14	*Ae. vavilovii*	$0;^{=}$	1N	;CN	;N	10-15R	
15	*Ae. vavilovii*	;CN	3^{+}	;C	;CN	R	10R
16	*Ae. vavilovii*	;	3^{+}	$0;^{=}$	;	5-10R	10R
17	*Ae. vavilovii*	;N	;N	$0;^{=}$	;N	10R	
18	*Ae. vavilovii*	;C	;N	$0;^{=}$	;C	0R	
19	*Ae. vavilovii*	;	$0;^{=}$	$0;^{=}$	;	5R	
20	*Ae. vavilovii*	;N	;CN	$0;^{=}$	;N	5R	
21	*Ae. vavilovii*	0;	;	$0;^{=}$	;CN	5R	
22	*Ae. vavilovii*	$0;^{=}$	;	$0;^{=}$	;	0R	
23	*Ae. vavilovii*	$0;^{=}$	;N	2C	1	10-15R	
24	*Ae. vavilovii*	$0;^{=}$	;	2C	;N	5R	
25	*Ae. vavilovii*	;N	;N	2C	$0;^{=}$	R	
26	*Ae. vavilovii*	;C	;C	2C	;N	10R	
27	*Ae. vavilovii*	;	1CN	2C	1	0R	
28	*Ae. vavilovii*	;	1N	2C	;N	0R	
29	*Ae. vavilovii*	$0;^{=}$	;N	$0;^{=}$	1	0-5R	
30	*Ae. vavilovii*	$0;^{=}$	;C	$0;^{=}$	;C	0R	
31	*Ae. vavilovii*	1	;N	;	1N	10R	
32	*Ae. vavilovii*	1	;C	;	;	10R	
33	*Ae. vavilovii*	$0;^{=}$	;N	;	;N	10R	
34	*Ae. vavilovii*	$0;^{=}$	;N	;	;N	R	
35	*Ae. vavilovii*	$0;^{=}$	;	;	;N	R	
36	*Ae. vavilovii*	3^{+}	$0;^{=}$	$0;^{=}$	;N	R	5R
37	*Ae. vavilovii*	3^{+}	;CN	1	;C	0R	5R
38	*Ae. vavilovii*	3^{+}	;N	;	;	0R	R-MR
39	*Ae. crassa*	3^{+}	3^{-}	3^{-}	3^{-}	0R	
40	*Ae. crassa*	;1	3^{+}	3^{+}	3^{+}	5R	
41	*Ae. crassa*	3^{+}	2	3^{+}	3^{+}	0R	
42	*Ae. crassa*	3^{+}	3^{+}	3^{+}	3^{+}	R	
43	*Ae. biuncialis*	2	2N	33^{+}	3^{+}	R	
44	*Ae. geniculata*	3^{+}	2C	3^{+}	3^{+}	0R	
45	*Ae. kotschyi*	1C	2	;1C	;12	0R	
46	*Ae. neglecta*	$;^{=}$	;	$;^{-}$	;	0R	
47	*Ae. crassa*	3^{+}	3^{-}	3^{+}	3^{+}	R	
48	*Ae. neglecta*	;N	;-	;N	;C	0R	
49	*Ae. biuncialis*	;12	3^{+}	3^{+}	12^{+}	0R	

* Pt: Pathotype
** APR: Adult Plant Resistance
*** Adult Plant Resistance by one pathotype in susceptible seedlings

بحث

در بررسی سطح پلوئیدی گونه‌های مورد ارزیابی مشخص شد که دو گونه *Ae. crassa* و *Ae. neglecta* دارای میانگین پیک فلوسایتومتری حدود دو برابری نسبت به گونه *Ae. tauschii* بودند. بنابراین ژنوتیپ‌های متعلق به این دو گونه تتراپلوئید بودند. در پژوهش مشابهی که برای تعیین سطح پلوئیدی این دو گونه انجام شد، از جو دیپلوئید و گندم هگزاپلوئید به‌عنوان گیاه مرجع استفاده شد. سطح پلوئیدی این گونه‌ها دارای پیک فلوسایتومتری تقریباً دو برابر جو دیپلوئید و دو سوم گندم هگزاپلوئید بود و

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-12-08]

بنابراین به‌عنوان گیاه تتراپلوئید شناخته شدند (Aghaie et al. 2014). به‌دلیل اینکه دستگاه فلوسایتومتری تخمینی از محتوای ژنوم را برآورد می‌کند، برای برآورد سطح پلوئیدی نیاز به گیاه مرجع مرتبط با گونه مورد نظر می‌باشد. برای تعیین دقیق سطح پلوئیدی ژنوتیپ‌ها می‌توان با تهیه اسلایدهای میتوزی و بررسی آن‌ها با میکروسکوپ نوری کروموزوم‌ها را شمارش کرد. همچنین با استفاده از روش‌های نواربندی کروموزوم (Chromosome banding) و روش هیبریداسیون در محل فلوئورسنت (FISH) با میکروسکوپ‌های فلورسنت می‌توان به بررسی دقیق‌تر کروموزوم‌ها پرداخت (Song et al. 2020).

آژیلوپس‌هایی که در این پژوهش ارزیابی شدند، می‌توانند منبع بالقوه مهمی برای مقاومت به زنگ برگ باشند. در بررسی میزان مقاومت به زنگ برگ، اکوتیپ‌های *Ae. crassa* در مرحله گیاهچه‌ای حساس به زنگ برگ بودند. اگرچه در بعضی از گیاهچه‌ها، مقاومت نسبت به یک پاتوتیپ خاص مشاهده شد، عملاً کاربردی در انتقال مقاومت نخواهند داشت زیرا این ژنوتیپ‌ها نسبت به سایر پاتوتیپ‌ها حساس بودند. این در حالی بود که هر دو ژنوتیپ *Ae. neglecta* نسبت به هر چهار سویه مورد استفاده مقاوم بودند. نتایج این پژوهش با نتایج مطالعات قبلی در ایران که ژنوتیپ‌های حساس و مقاوم به زنگ قهوه‌ای را در هر دو گونه مشاهده کردند، مشابه بود (Aliakbari et al. 2020; Davoudnia and Dadkhodaie 2022). در پژوهش در کشورهای دیگر نیز چنین نتایجی گزارش شده است (Anikster et al. 2005, Vikas et al. 2014). به‌عنوان مثال، در پژوهش ویکاس و همکاران (۲۰۱۴)، چهار اکوتیپ *Ae. crassa* مورد بررسی، نسبت به زنگ برگ کاملاً مقاوم بودند (Vikas et al. 2014) که می‌تواند ناشی از تفاوت اکوتیپ‌ها و پاتوتیپ‌ها می‌باشد. تنها ژن مقاومتی که از گونه *Ae. neglecta* به گندم نان منتقل شده است، *Lr62* می‌باشد که با تولید لاین‌های با کروموزوم اضافه از گونه *Ae. neglecta* accession 155 انجام شد (Marais et al. 2009). تنها ژنوتیپ *Ae. kotschyi* مورد بررسی در پژوهش که از اطراف ساوه جمع‌آوری شده بود، به تمام پاتوتیپ‌ها مقاومت نشان داد. مطابق گزارش کیلیان و همکاران ، این گونه در مناطق مختلفی از ایران یافت می‌شود (Kilian et al. 2011).

همچنین ژنوتیپ *Ae. buincialis* به دو پاتوتیپ مقاومت نشان داد و در برابر دو پاتوتیپ دیگر حساس بود. تاکنون ژن مقاومت در هیچ کدام از این دو گونه شناسایی نشده است. ژنوتیپ *Ae. geniculata* نیز نسبت به سه پاتوتیپ، تیپ آلودگی بالایی نشان داد و در برابر یکی از پاتوتیپ‌ها مقاوم بود. تاکنون فقط یک ژن مقاومت به زنگ برگ (*Lr57*) از این گونه به گندم نان منتقل شده است. این ژن در گونه *Ae. geniculata* accession 3547 شناسایی و از طریق تلاقی برگشتی به رقم گندم حساس واریته WL711 منتقل شد (Kuraparthy et al. 2007). در گونه *Ae. vavilovii* که هگزاپلوئید می‌باشد و از اطراف شیراز جمع‌آوری شد، هم ژنوتیپ‌های حساس و هم مقاوم به زنگ برگ در مرحله گیاهچه‌ای شناسایی شدند. مقاومت موجود در این ژنوتیپ در برابر همه‌ی پاتوتیپ‌ها مؤثر بود و تاکنون هیچ ژن مقاومت به زنگ برگی در این گونه شناسایی نشده است. بنابراین، شانس اینکه مقاومت موحود در این ژنوتیپ جدید باشد، خیلی زیاد است. از آن‌جایی‌که این ژنوتیپ دارای سطح پلوئیدی مشابه با گندم می‌باشد و همین طور ژنوم D آن با گندم مشترک می‌باشد، احتمالاً ژن مقاومت به زنگ برگ در این گونه برای استفاده در برنامه‌های به‌نژادی گندم مناسب باشد و می‌تواند به ارقام حساس گندم منتقل شود. لذا بررسی دقیق‌تر ژنتیکی و سیتوژنتیکی این گونه توصیه می‌شود.

تمام گیاهچه‌های حساس به زنگ برگ در این پژوهش، نسبت در مرحله گیاه کامل مقاومت بالایی نشان دادند. لذا می‌توان از آن‌ها برای انتقال ژن گیاه کامل بهره برد. براساس میزان تلاقی‌پذیری این ژنوتیپ‌ها با گندم، مسیر تولید هیبریدها و انتقال ژن مقاومت به گندم متفاوت خواهد بود. به‌طوری‌که، هر چه ژنوم و سطح پلوئیدی شباهت بیشتری با گندم داشته باشند، تلاقی‌پذیری بهتر و انتقال ژن به گندم راحت‌تر صورت می‌گیرد.

نتیجه‌گیری کلی

به‌طور کلی بر اساس نتایج این پژوهش می‌توان از ژنوتیپ‌های *Ae. neglecta*، *Ae. kotschyi* و *Ae. vavilovii* برای انتقال ژن مقاومت به زنگ برگ به گندم بهره برد. هر جند هر کدام از ژنوتیپ‌های مقاوم آژیلوپس که در این پژوهش مقاومت به زنگ قهوه‌ای نشان دادند، می‌توانند دهنده ژن مقاومت به گندم باشند،

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-12-08]

انتقال ژن از اکوتیپ‌هایی با همولوژی بیشتر با گندم آسان‌تر است. بنابراین به‌علت اینکه گونه *Ae. vavilovii* دارای سطح پلوئیدی 6x می‌باشد و دارای ژنوم مشترک D با گندم می‌باشد، می‌توان از آن به‌عنوان دهنده ژن مقاومت در تلاقی با گندم بهره برد. از آن‌جایی که تمام ژنوتیپ‌های *Ae. vavilovii* در مرحله گیاه کامل مقاومت به زنگ برگ نشان دادند و تاکنون ژن مقاومت به زنگ برگ در این ژنوتیپ شناسایی نشده است، این پژوهش مقدمه‌ای برای شناسایی و بررسی بیشتر مقاومت در این گونه می‌باشد. با استفاده از روش‌های به‌نژادی کلاسیک مانند تلاقی برگشتی، می‌توان ژن‌های مقاومت به بیماری را به رقم حساس انتقال داد. ابتدا با تلاقی ژنوتیپ‌های حساس با مقاوم این گونه و تولید نسل F_1 و بررسی نسبت‌های ژنوتیپی می‌توان به ماهیت ژن کنترل‌کننده مقاومت پی برد. در نسل F_2 می‌توان تعداد ژن‌های کنترل‌کننده مقاومت را تعیین کرد و با تولید نسل‌های بعدی، ژن(های) مقاومت در این ژنوتیپ‌ها را نقشه‌یابی کرد.

منابع

Aghaie MJ, Vaezi Sh, Ebrahimi M, Tavakoli M (2014) Investigation of karyotypic traits in some species of *Aegilops* collection in Iran. Iranian Journal of Crop Science 44:441-453. (In Farsi).

Agrios GN (2005) Plant Pathology. 5th edition, Amsterdam, Netherland 26-401.

Aliakbari A, Dadkhodaie A, Heidari B. (2020) Phenotypic and genetic diversity of leaf rust resistance in wheat wild relatives. Journal of Phytopathology 168:428-438.

Anikster Y, Manisterski J, Long DL, Leonard KJ (2005) Resistance to leaf rust, stripe rust, and stem rust in *Aegilops* spp. in Israel. Plant Disease 89:303-308.

Chen XM (2005) Epidemiology and control of stripe rust on wheat. Canadian Journal of Plant Pathology 27:314-337.

Davoudnia B, Dadkhodaie A (2022) Phenotypic and molecular dissection of all-stage and adult-plant leaf rust resistance in Iranian *Aegilops tauschii*. Physiological and Molecular Plant Pathology 122:101918

Dinh HX, Singh D, Periyannan S, Park RF, Pourkheirandish M (2020) Molecular genetics of leaf rust resistance in wheat and barley. Theoretical and Applied Genetics 133:2035-2050.

Ellis GJ, Lagudah SE, Wolfgang S, Peter ND (2014) The past, present and future of breeding rust resistant wheat. Frontiers in Plant Science, Australia 5:641.

Esfandiari E (1947) Cereal rusts in Iran. Applied Entomology and Phytopathology 4:67-76. (In Farsi).

Godelle B, Cartier D, Marie D, Brown SC, Siljak-ya-kovlev S (1993) Heterochromatin study demonstrating the non-linearity of fluorometry useful for calculating genomic base composition. Cytometry 14:618-629.

Gupta PK, Mir RR, Mohan A, Kumar J (2008) Wheat genomics: present status and future prospects. International Journal of Plant Genomics 60:36-51.

Kammholz SJ, Campbell AW, Sutherland MW, Hollamby GJ, …, Sheppard JA (2001) Establishment and characterization of wheat genetic mapping populations. Australian Journal of Agricultural Research 52:1079-1088.

Kilian B, Mammen K, Millet E, Sharma R, Graner A, Salamini F, Hammer K, Özkan H (2011). *Aegilops*. In C. Kole (Ed.), (pp. 1-76). Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-14228-4_1

Kuraparthy V, Chhuneja P, Dhaliwal S, Kaur S, …, Gill B (2007) Characterization and mapping of cryptic alien introgression from *Aegilops geniculata* with new leaf rust and stripe rust resistance genes *Lr57* and *Yr40* in wheat. Theoretical and Applied Genetics 114:1379-1389.

Long DL, Kolmer JA (1989) A north american system of nomenclature for *Puccinia recondita* f. sp. *tritici*. Phytopathology 79:525-529.

Mains EB, Jackson HS (1923) Strains of the leaf rust of wheat, *Puccinia triticina*, in the United States. Phytopathology 13: 1-36.

Marais GF, Marais AS, McCallum B, Pretorius ZA (2009) Transfer of leaf rust and stripe rust resistance genes *Lr62* and *Yr42* from *Aegilops neglecta* Req. ex Bertol. to common wheat. Crop Science 49:871-879.

McCallum B, Hiebert C, Huerta-Espino J, Cloutier S (2012) Wheat leaf rust. In: Sharma I (Ed.) Disease resistance in wheat. CABI International 33-62.

Melvin DB, James AK, David FG (2008) Wheat leaf rust caused by *Puccinia triticina*. Molecular Plant Pathology 9:563-575.

Montesinos E, Bonaterra A, Badosa E, Frances J, …, Moragrega C (2002) Plant-microbe interactions and the new biotechnological methods of plant disease control. International Microbiology 5:169-175.

Roelfs AP, Singh R, Saari E (1992) Rust disease of wheat: concepts and methods of disease management. CIMMYT, Mexico 81p.

Schneider A, Linc G, Molnar I, Molnar-Lang M (2008) Utilisation of *Aegilops* (goatgrass) species to widen the genetic diversity of cultivated wheat. Euphytica 163:1-19.

Song Zh, Dai Sh, Bao T, Zuo Y, …, Yan Z (2020) Analysis of structural genomic diversity in *Aegilops umbellulata*, *Ae. markgrafii*, *Ae. comosa* and *Ae.*

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-12-08]

uniaristata by fluorescence in situ hybridization karyotyping. Frontiers in Plant Science 11:710-725.
William HM, Singh RP, Trethowan R, Ginkel M, Pellegrinshi A, Huerta-Espino J, Hoisington D (2005) Biothechnology applications for wheat improvement at CIMMYT. Turkish Journal of Agriculture and Forestry 29:113-119.

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-12-08]