

شماره	کد موسسه	کد استان

بسمه تعالی
وزارت کشاورزی
سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی
طرح تحقیقاتی

۱- عنوان طرح: (فارسی و انگلیسی)

تهیه لاینهای سینتتیک گندم زراعی مقاوم به زنگ زرد گندم با استفاده جمعیت‌های ایرانی
T. tauschii
Production syntetic hexaploide line for resistance to wheat stem leaf rust using
Iranian population of *T. tauschii*

الف: اجرای طرح این طرح در جلسه مورخ شورای تات استان
مورد تایید قرار گرفت.

دبیر شورای تات استان

ب: اجرای این طرح در جلسه مورخ شورای تحقیقات موسسه

کمیته فنی

..... مورد تایید قرار گرفت.

رئیس شورای تحقیقات موسسه

ج: اجرای این طرح در جلسه مورخ کمیسیون بررسی و هماهنگی
طرحهای تحقیقاتی برای بار

..... مطرح و مورد تصویب قرار
.....

رئیس کمیسیون بررسی و هماهنگی طرحهای تحقیقاتی

شماره	کد موسسه	کد استان

عنوان طرح:

تهیه لاینهای سینتتیک گندم زراعی مقاوم به زنگ زرد گندم با استفاده جمعیت‌های ایرانی
T. tauschii

Production syntetic hexaploide line for resistance to wheat stem leaf rust using
Iranian population of *T. tauschii*

اسامی مجریان طرح:

نام و نام خانوادگی	مرتبه علمی	رشته تحصیلی	سمت در اجرای طرح	محل خدمت
محمد جعفرآقایی	عضو هیئت علمی (مربی)	اصلاح نباتات	مجری مسئول و هماهنگ کننده	موسسه اصلاح بذر- کرج
رضا بزرگی پور	عضو هیئت علمی (دانشیار)	ژنتیک	مجری مسئول	موسسه اصلاح بذر- کرج
عبدالحسین طوطیایی	عضو هیئت علمی (مربی)	اصلاح نباتات	مجری مسئول	موسسه اصلاح بذر- کرج
شاهپور ابراهیم نژاد	کارشناس	اصلاح نباتات	مجری مسئول	مرکز تحقیقات کشاورزی ساری
علی ملیحی پور	عضو هیئت علمی (مربی)	بیماریهای گیاهی	مجری مسئول	موسسه اصلاح بذر- کرج

سازمان مجری طرح:

سازمان تحقیقات و آموزش کشاورزی، موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر

محل اجرا: کرج، مازندران

مدت اجرا: شش سال از پائیز ۱۳۸۱

- جمع اعتبارات مورد نیاز طرح: ۴۶۰,۰۰۰,۰۰۰ ریال

چکیده:

به منظور معرفی منابع جدید مقاومت به زنگ زرد گندم و کاهش نیاز به مصرف سموم شیمیایی، تعداد ۱۵۰ نمونه گندم وحشی دیپلوئید *T. tauschii* در شرایط مزرعه و آزمایشگاه در مراحل گیاهچه‌ای و بلوغ برای مقاومت به سوش‌های شایع بیماری زنگ زرد گندم ارزیابی گردیده و نمونه‌های دیپلوئید مقاوم به این بیماریها انتخاب و با گندم تتراپلوئید *T. turgidum var. durum* تلاقی داده می‌شوند. کروموزومهای نتاج هیبرید حاصل با استفاده از تیمار کلشیسین دوبل گردیده و گیاهان آمفی‌پلوئید هگزاپلوئید سینتتیک تهیه می‌گردد. گیاهان حاصله مجددا در مزرعه و آزمایشگاه برای مقاومت به بیماری فوق‌الذکر ارزیابی گردیده و نمونه‌های مقاوم حاصل جهت استفاده در برنامه‌های بهنژادی گندم زراعی بکار برده می‌شود.

مقدمه

بیماری زنگ شامل زنگ قهوه‌ای (*P. recondite*) و زنگ زرد (*Puccinia striiformis*) بصورت مجزا یا باهمدیگر بر روی گندم زراعی روی می‌دهد. زنگها از نظر تاریخی اهمیت فراوانی داشته و تاریخچه بروز آنها به زمان شروع کشت گندم می‌رسد. زنگها با نابود کردن مهمترین منبع غذایی بشر باعث تغییر تاریخ تمدنهای اولیه شده‌اند. توانایی پیشرفت زنگ گندم در ایجاد اپیدمی‌های گسترده یخویی شناخته شده است. در طی دهه‌های گذشته در آمریکای شمالی زنگ گندم حداقل سالانه یک میلیون تن عملکرد گندم را کاهش داده است. برای سایر مناطق کشت و کار گندم نیز آمار مشابهی در دسترس است.

اپیدمی زنگ هنگامی که پیش از گلدهی روی می‌دهد خسارت بیشتری وارد می‌کند. همچنین آلودگی خوشه حتی اگر سایر قسمت‌های گیاه آلوده نباشد بشدت زیان آور است. در کنار کاهش محصول دانه، زنگ باعث کاهش ارزش علوفه، تحمل سرمای زمستانه و مقاومت به سایر بیماریها می‌شود. زنگها مانند سفیدک سطحی موجب تغییر اپیدرم، افزایش تعرق و تنفس و کاهش فتوسنتز می‌شوند. رویهمرفته، زنگها باعث کاهش توان گیاه، پر شدن دانه و رشد ریشه می‌شوند. گندمهای زنگ زده کمتر قابل پهن کردن بوده و گاها برای دامها سمی هستند (Wiese 1987).

اپیدمی زنگ قهوه‌ای در استانهای آذربایجان غربی، ایلام، شمال خوزستان، کرمانشاه و دشت مغان شدت دارد. همچنین وجود زنگ زرد در استانهای گلستان، مازندران، آذربایجان غربی، خوزستان، اصفهان، فارس، سیستان بلوچستان و دشت مغان گزارش گردیده است.

برای مبارزه با بیماری زنگ علالت علاوه بر کاشت ارقام مقاوم از سموم تیلت، بایلتون (شریفی تهرانی و پوررحیم ۱۳۷۲)، دی کلون، زینب، مانب، سابیتان، پلنت‌واکس (اخوت ۱۳۷۸) استفاده شده است. همچنین ضد عفونی بذر با سموم بنومیل، بوتریزو، فناریمول و بایلتون برای کنترل زنگ زرد و حتی زنگ قهوه‌ای توصیه شده است (سالاری ۱۳۷۰).

اگرچه تاکنون استفاده از منابع مقاومت در لاینهای پیش رفته و یا توده‌های بومی حاصل ژنهای مقاومت و حتی گونه‌های تتراپلوئید و دیپلوئید گندم رایج بوده و نتایج درخشانی داشته است اما پیش بینی می‌شود منابع مقاومت با ارزش و پایداری در خویشاوندان وحشی گندم وجود داشته باشد و کوششهای فراوانی برای استفاده از این پتانسیل بالقوه در جریان می‌باشد.

Ma et al. 1995a, ۷۴ لاین گندم سینتتیک حاصل از تلاقی گندم تتراپلوئید *T. turgidum* var. *durum* و والدین آنها را برای مقاومت به زنگ زرد در مرحله گیاهچه‌ای در گلخانه و مرحله بلوغ در مزرعه مورد ارزیابی قرار داده و مشاهده کردند که ۱۵ لاین سینتتیک مانند والدینشان به زنگ زرد مقاومت نشان می‌دادند.

در یک بررسی دیگر توسط همین محققین ۳۴ نمونه گندم تتراپلوئید *T. turgidum* var. *durum*، ۲۷۸ نمونه گندم دیپلوئید *T. tauschii* و ۲۶۷ نمونه گندم سینتتیک حاصل از تلاقی دو گونه اولیه را برای مقاومت به زنگ زرد نواری در مرحله گیاهچه و بلوغ ارزیابی کردند. ۴۶٪ نمونه‌های *T. tauschii* و ۲۳٪ نمونه‌های *T. turgidum* به همراه ۱۲٪ از نمونه‌های سینتتیک در مرحله

گیاهچه‌ای به این بیماری مقاومت نشان می‌دادند. معمولاً نمونه‌های مقاوم در مرحله گیاهچه‌ای در مرحله بلوغ نیز مقاومت نشان می‌دادند (Ma et al. 1995b).

Yildirm et al. 1995 مجموعه‌ای از ۲۷۹ نمونه *T. tauschii* برای مقاومت به بیماریهای ناشی از *Puccinia striiformis* و *Pseudocercospora herpotrichoides* ارزیابی نمودند. گیاهچه‌های نمونه‌های مورد ارزیابی با ۴ سوس بیماری زای *P. striiformis* و یک سوس بیماری زای *P. herpotrichoides* تلقیح گردیدند. آنها مشاهده کردند که ۱۷٪ نمونه‌های مورد بررسی به سوسهای *P. striiformis* و ۴۵٪ نمونه‌ها به *P. herpotrichoides* و ۳۹٪ نمونه به هر دو بیماری مقاومت نشان می‌دادند. نمونه‌های مقاوم به *P. striiformis* اکثراً از نواحی حاشیه دریای خزر در ایران و آذربایجان جمع‌آوری شده بودند.

Cox et al. 1995 تعداد ۳۹۱ لاین BC2F2 حاصل از تلاقی بین گندم نان *T. aestivum* و گندم دیپلوئید وحشی *T. tauschii* برای مقاومت به بیماریها و فنوتیپ مناسب انتخاب گردیده و در مطالعات مزرعه‌ای برای صفات زراعی مورد بررسی قرار گرفتند. در تمام مراحل انتخاب، لاینهای BC2F2 از نظر مقاومت به بیماری زنگ قهوه‌ای، عملکرد دانه و کیفیت دانه برتر از والدین مکرر خود بودند.

Innes & Kerber 1994 تعداد ۱۲ نمونه گندم دیپلوئید وحشی را برای مقاومت به زنگ قهوه‌ای گندم (*P. recondite*) و زنگ سیاه (*P. graminis f. sp. Tritici*) را مورد بررسی قرار دادند. آنها توانستند چهار ژن که مقاومت به زنگ قهوه‌ای و یک ژن که مقاومت به زنگ سیاه را در مرحله گیاهچه‌ای کنترل می‌کردند و یک ژن مقاومت به زنگ سیاه در مرحله بلوغ را شناسایی نمایند. این ژنها از لحاظ ژنتیکی از ژنهایی که قبلاً شناسایی و به گندم نان منتقل شده بودند فاصله داشته و به دامنه وسیعی از سوسهای بیماری‌زا مقاومت نشان می‌دادند. دو تا از ژنهای مقاومت به زنگ برگ در لاینهای سینتتیک هگزاپلوئید بروز نیافتند. اما دو ژن دیگر در لاینهای سینتتیک بخوبی بروز یافته و مقاومتی مانند والدین دیپلوئید خود نشان می‌دادند. یکی از ژنها بر روی بازوی کوتاه کروموزوم 2D در فاصله بیشتر از ۵۰ سانتی مورگان از سانترومر و ژن دیگر بر روی کروموزوم 5D قرار داشتند. ژن مقاومت به زنگ سیاه در مرحله گیاهچه بر روی کروموزوم 1D قرار داشت و درجه بروز آن در سطح هگزاپلوئید بستگی به سابقه ژنتیکی لاینها داشت.

Assefa & Fehrman 1998 مجموعه‌ای شامل ۱۹۴ نمونه از هفت گونه ازیلوپس را برای مقاومت به پنج بیماری مهم گندم شامل زنگ قهوه‌ای (*P. recondita f. sp. tritici*)، زنگ سیاه (*P. graminis f. sp. tritici*) مورد ارزیابی قرار دادند. از میان ۱۶۰ نمونه گندم دیپلوئید وحشی *T. tauschii* تعداد ۱۷ نمونه به زنگ برگ و تعداد ۱۳ نمونه به زنگ ساقه مقاومت نشان دادند. برخی از نمونه‌ها همزمان به ۲-۴ بیماری مقاومت نشان می‌دادند. این محققین نتیجه‌گیری کردند که گونه *T. tauschii* که میدا ژنوم D در گندم نان است می‌تواند در انتقال سریع ژنهای مقاومت به لاینهای پیشرفته گندم نان استفاده شود.

ایران یکی از مراکز اصلی تنوع گندم دنیا و همچنین خویشتاوندان وحشی آن است. گندم وحشی دیپلوئید *T. tauschii* در اکثر نواحی کشور و بویژه در حاشیه دریای مازندران و استانهای عربی، آذربایجان غربی و خراسان که مراکز شیوع بیماری زنگ می‌باشند یافت می‌گردد. اکنون بیش از ۳۰۰ نمونه گندم وحشی *T. tauschii* در کلکسیون بانک ژن جمع‌آوری گردیده است. محققین زیادی ارزش گونه‌های وحشی گندم ایران را در اصلاح ارقام پیشرفته و مقاوم به بیماریهای گندم نان مورد تأیید قرار داده‌اند (Yildirm et al. 1995).

اهداف تحقیق:

- شناسایی نمونه‌های مقاوم به بیماری زنگ زرد گندم در توده‌های ایرانی *T. tauschii*
- تهیه لاینهای سینتتیک گندم هگزاپلوئید مقاوم به زنگ با استفاده از تلاقی نمونه‌های مقاوم از گونه *T. tauschii* و نمونه‌های مناسب از توده‌های ایرانی گونه *T. turgidum var. durum*

مواد و روشها:

مواد گیاهی مورد استفاده عبارتند از ۱۵۰ نمونه گندم دیپلوئید *T. tauschii* موجود در کلکسیون بانک ژن به همراه نمونه‌هایی که در زمان اجرای تحقیق و بسته به مورد از نواحی شیوع بیماری زنگ جمع‌آوری خواهند شد. نمونه‌های مناسب شناخته شده با تلاقی پذیری بالا و کیفیت مطلوب از نمونه‌های ایرانی گونه *T. turgidum var. durum* موجود در کلکسیون بانک ژن. همچنین لاینهای پیشرفته و ارقام تجاری گندم هگزاپلوئید بعنوان شاهد آزمایشات.

در اولین سال آزمایش به منظور تکثیر و تامین بذر یکنواخت جهت اجرای آزمایش تمام نمونه‌های گیاهی مورد بررسی در مزرعه تحقیقاتی بانک ژن در کرج کشت گردیده و ضمن احیاء و تکثیر بذر کافی جهت ادامه آزمایشان برای صفات مورفولوژیکی و فنولوژیکی مطابق دیسکریپتور IPGRI ارزیابی می‌کردند. همچنین در همین سال سوشهای مهم و شایع انواع زنگ گندم جمع‌آوری، ایزوله و تکثیر می‌شوند.

در سال دوم نمونه‌ها در آبان ماه در ایستگاه تحقیقاتی ساری بعنوان نواحی مناسب اپیدمی زنگ تحت سیستم میست و رطوبت بالا کشت می‌گردد. به منظور ایجاد شرایط آلودگی در بین ردیفها ارقام گندم حساس به زنگ کشت نموده و در اردیبهشت ماه سال بعد از آغاز مرحله خوشه‌دهی نمونه‌ها به فاصله هر سه روز با استفاده از محلول اینوکولوم قارچ حاوی اسپور مجموعه‌ای از سوشهای مهم شایع در ایران اسپری می‌شوند. از آغاز اولین نشانه‌های بیماری در شاهد‌های حساس آزمایش، کلیه نمونه‌ها در سه مرحله برای تیپ آلودگی و درصد آلودگی با استفاده از روش ارزیابی C obb مورد ارزیابی قرار می‌گیرند. براساس نتایج این آزمایش حدود ۵۰ نمونه مقاوم و حساس نسبت به زنگ انتخاب می‌گردد.

نمونه‌های مقاوم و حساس انتخاب شده از مرحله اول در پتری دیش در دمای ۱۸-۲۰ درجه سانتیگراد کشت و در مرحله دو برگگی هر پتری دیش بوسیله روغن سوسپانسیون حاوی

اورودیوسپور یکی از سوسه‌های مورد بررسی تلقیح می‌گردد. پس از ۷-۱۱ روز نیپ آلودگی مطابق سیستم معرفی شده بوسیله Brower and Young (1975) ارزیابی می‌گردد. در این روش به هر نمونه یک کد شامل دو رقم و یک حرف تخصیص داده می‌شود. که اولین رقم بیانگر مقدار اسپورزایی نسبی (صفر= فاقد و ۹= حداکثر) و دومین رقم بیانگر اندازه زخم (صفر= فاقد و ۹= حداکثر) و حرف بیانگر ظاهر بافت اطراف زخم خواهد بود.

تعداد ۲-۳ نمونه *T. tauschii* مقاوم برای زنگ انتخاب و با نمونه‌های مناسب از گونه تتراپلوئید *T. turgidum var. durum* تلاقی داده می‌شوند. ۱۵-۲۰ روز پس از تلاقی، بذور تشکیل شده جمع‌آوری و جنین‌های نارس بر روی محیط کشت B5 منتقل می‌گردند. پس از تشکیل و رشد گیاهچه‌ها به محیط هیدروپونیک منتقل گردیده و گیاهچه‌ها در مرحله پنجه‌دهی با کلشیسین تیمار می‌شوند. با شمارش کروموزمی در بوته‌های حاصله تشکیل لاینهای آمفی‌پلوئید تائید می‌گردد. بذور حاصل از لاینهای سیننتیک بارور جهت ارزیابی مقاومت به انواع زنگ گندم مجدداً در آزمایشگاه در مرحله گیاهچه و در مزرعه در مرحله بلوغ به روش قبلی مورد بررسی قرار گرفته و لاینهای گندم هگزاپلوئید سیننتیک که دارای مقاومت مناسبی به زنگ گندم مورد نظر باشند جهت استفاده در برنامه‌های اصلاح گندم نان در اختیار بخشها و موسسات درگیر اصلاح گندم نان قرار داده می‌شود.

زمانبندی اجرای طرح:

سال اول: احیا و تکثیر مواد گیاهی، جمع‌آوری، ایرولاسیون و تکثیر سوسه‌های بیماریزای زنگ گندم در کرج

سال دوم: ارزیابی نمونه‌ها در شرایط مزرعه در ایستگاههای تحقیقاتی گرگان و ساری

سال سوم: ارزیابی نمونه‌های انتخابی در شرایط آزمایشگاهی در کرج

سال چهارم: تلاقی نمونه‌های مقاوم از گونه دیپلوئید *T. tauschii* با گندم تتراپلوئید *T. turgidum var. durum* و تهیه گیاهان آمفی‌پلوئید

سال پنجم: ارزیابی نتایج سیننتیک در شرایط مزرعه و آزمایشگاه و انتخاب نمونه‌های مقاوم

سال ششم: تکثیر بذر نمونه‌ها؛ تکمیل فعالیتهای عقب مانده و تهیه گزارش نهایی

منابع مورد استفاده:

- اخوت م. ۱۳۷۸. بیماریهای غلات. انتشارات دانشگاه تهران.
- شریفی تهرانی ع. و ر. پوررحیم. ۱۳۷۲. بررسی امکان مبارزه تلفیقی با بیماری زنگ زرد گندم. اولین کنگره زراعت و اصلاح نباتات ایران. دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران. کرج
- جعفرآقایی، م. و ج. مظفری. ۱۳۸۰. استفاده از بیوتکنولوژی برای انتقال تحمل به شوری از خویشاوندان وحشی به گندم نان در ایران. نشریه بیوتکنولوژی. ۴:۱، ۷-۱۴

- جعفرآقایی، م؛ گ. پندین؛ و. چرنف و ر. بزرگی. «نور». تلاقی پذیری شش گونه آزیلوبس

ایران با گندم نان. مجله علوم کشاورزی ایران (زیر چاپ)

- Ma H.; R. Singh & A. Mujeeb Kazi. 1995. Suppression/ expression of resistance to stripe rust in synthetic hexaploid wheat. *Euphytica*. 83:2, 87-93.
- Yildirim A.; S. Jones; T. Murray; T. Cox & R. Line. 1995. Resistance to stripe rust and eyespot disease of wheat in *Triticum tauschii*. *Plant Disease*. 79: 12, 1230-1236.
- Marais, G.; G. Potgieter & H. Roux. 1994. An assessment of the variation for stem rust resistance in the progeny of a cross involving the *Triticum* species *aestivum*, *turgidum* and *tauschii*. *South African Journal of Plant and Soil*. 11: 1, 15-19.
- Ma H.; R. Singh & A. Mujeeb Kazi. 1995. Resistance to stripe rust in *Triticum turgidum*, *T. tauschii* and their synthetic hexaploids. *Euphytica*. 82: 2, 117-124.
- Cox, T.; R. Sears; R. Bequette & T. Martin. 1995. Germplasm enhancement in winter wheat X *Triticum tauschii* backcross populations. *Crop Science*. 35: 3, 913-919.
- Innes, R. & E. Kerber. 1994. Resistance to wheat leaf rust and stem rust in *Triticum tauschii* and inheritance in hexaploid wheat of resistance transferred from *T. tauschii*. *Genome*. 37: 5, 813-822.
- Assefa, S. & H. Ferhrmann. 1998. Resistance in *Aegilops* species against leaf rust, stem rust, septoria tritici blotch, eyespot and powdery mildew of wheat. *Zeitschrift für pflanzenkrankheiten und pflanzenschutz*. 105:6, 624-631.

پیش بینی اعتبارات مورد نیاز طرح :

- ماده ۵

شرح	مبلغ سالانه (هزار ریال)	جمع شش سال (هزار ریال)
حق التحقیق ، حق الزحمه	۲۰۰۰۰۰	۱۲۰۰۰۰
کارگر فصلی	۱۰۰۰۰	۶۰۰۰۰
جمع		۱۸۰۰۰۰

- هزینه های جانبی

شرح	مبلغ سالانه (هزار ریال)	جمع شش سال (هزار ریال)
مواد شیمیایی	۱۵۰۰۰	۶۰۰۰۰
لوازم آزمایشگاهی مصرفی	۱۵۰۰۰	۶۰۰۰۰
ماموریت همکاران	۶۰۰۰	۳۶۰۰۰
		۱۵۶۰۰۰

- ماده ۱۲ و ۱۳

شرح	مبلغ سالانه (هزار ریال)	جمع شش سال (هزار ریال)
تجهیزات آزمایشگاهی	۱۵۰۰۰	۹۰۰۰۰
کامپیوتر		۱۰۰۰۰
کتاب و نشریات فنی	۴۰۰۰	۲۴۰۰۰
		۱۲۴۰۰۰

- جمع اعتبارات مورد نیاز طرح : ۴۶۰,۰۰۰,۰۰۰ ریال