10.22092/sppi.2020.123481

"مجله نهال و بذر"
جلد ۳۶، شماره ۳، سال ۱۳۹۹

مقاله پژوهشی

ارزیابی مقاومت به بیماری زنگ قهوه‌ای در ارقام محلی و تجاری گندم نان در شرایط مزرعه و با استفاده از نشانگرهای مولکولی پیوسته به ژن های *Lr34/Yr18/Sr57*

Evaluation of Resistance to Leaf Rust Disease in Bread Wheat Landraces and Commercial Cultivars Under Field Conditions and By Using Molecular Markers Linked to *Lr34/Yr18/Sr57* Genes

محسن سرهنگی[۱]، خلیل زینلی نژاد[۲]، آندریاس بورنر[۳]، علی اصغر نصراله نژاد قمی[۴]، مصطفی آقایی سربرزه[۵]، سید طه دادرضایی[۶] و رحیم مهرابی[۷]

۱- دانشجوی دکتری، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.
۲و ۴- استادیار، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.
۳- استاد، بانک ژن، موسسه تحقیقات ژنتیک محصولات گیاهی لیبنز، گیترزلبن، آلمان.
۵- استاد، مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران.
۶-استادیار، مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران.
۷- دانشیار، گروه بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۴/۱۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۶/۰۵

چکیده

سرهنگی،م.، زینلی نژاد، خ.، بورنر، آ.، نصراله نژاد قمی، ع.، آقایی سربرزه، م.، دادرضایی، س. ط. و مهرابی، ر. ۱۳۹۹. ارزیابی مقاومت به بیماری زنگ قهوه‌ای در ارقام محلی و تجاری گندم نان در شرایط مزرعه و با استفاده از نشانگرهای مولکولی پیوسته به ژن های *Lr34/Yr18/Sr57* . **مجله نهال و بذر۳۶:** ۲۷۱-۲۵۵.

زنگ قهوه‌ای به عنوان گسترده‌ترین بیماری زنگ گندم در جهان شناخته می‌شود و سهم آن در کاهش عملکرد در بسیاری از نقاط جهان همواره مورد توجه بوده است. شناسایی و استفاده از ژن‌های مقاومت به عوامل بیماری‌زای گیاهی در ذخایر توارثی یکی از مهمترین راهکارهای وارد کردن منابع جدید مقاومت به ارقام تجاری اصلاح شده می‌باشد. در این تحقیق ۸۲ ژنوتیپ متنوع گندم نان شامل ارقام محلی و تجاری گندم جمع‌آوری شده از کشورهای جنوب غرب آسیا و برخی نقاط دیگر جهان در شرایط مزرعه و همچنین با استفاده از نشانگرهای مولکولی ارزیابی شدند. در ارزیابی مزرعه‌ای تعداد ۵۶ ژنوتیپ واکنش حساس، ۲۲ ژنوتیپ واکنش نیمه‌حساس، چهار ژنوتیپ واکنش مقاوم و یا مصون نسبت به بیماری زنگ قهوه‌ای نشان دادند. واکنش‌های نیمه‌حساس تا مصون در دامنه ژنتیکی متنوع مانند ژنوتیپ‌هایی با منشاء ایران، نپال، پاکستان، ترکیه و هندوستان مشاهده شد. در این رابطه ارقام محلی سهم بسزایی داشتند که نشان دهنده اهمیت مطالعه منابع ژنتیکی موجود در بانک‌های ژن است. نتایج آزمون ژنتیکی ژن *Lr34* با استفاده از نشانگرهای مولکولی *csLV34*، *caSNP4* و *caSNP12*، تطابق کاملی با هم داشتند و هر سه نشانگر قطعه مربوط به آلل مقاومت را در شش ژنوتیپ نشان دادند. در آزمون ژنتیکی ارقامی از ایران با منشاء CIMMYT و همچنین ژنوتیپ‌های از هندوستان و ترکیه در بردارنده آلل موثر ژن *Lr34* بودند. تنوع مشاهده شده و همچنین ژنوتیپ‌های حامل ژن مقاومت *Lr34* در این تحقیق می‌توانند کمک موثری در پیشبرد برنامه‌های به‌نژادی برای مقاومت به بیماری زنگ قهوه‌ای گندم نان در کشور باشند.

واژه‌های کلیدی: تنوع ژنتیکی، ذخایر ژنتیکی، مقاومت گیاه کامل، نیمه حساس، نشانگرهای SNP.

نگارنده مسئول: khalil1381@yahoo.com تلفن: ۰۷۱۳۲۵۵۶۷۱۶

مقدمه

گندم با سطح زیر کشت بیش از ۲۱۴ میلیون هکتار و تولید حدود ۷۳۴ میلیون تن دانه یکی از مهم‌ترین گیاهان زراعی به شمار می‌رود (Anonymous, 2018). با رشد روزافزون جمعیت، افزایش تقاضا برای گندم سالانه به میزان ۱/۶ درصد افزایش خواهد داشت به گونه‌ای که باید تا سال ۲۰۵۰ عملکرد دانه در واحد سطح گندم به میانگین پنج تن در هکتار برسد (Anonymous, 2013).

بیماری‌های زنگ از جمله مهم‌ترین عوامل خسارت‌زای عملکرد گندم در سراسر دنیا می‌باشند (Singh *et al*., 2016) که در این میان زنگ قهوه‌ای (*Puccinia triticina* Eriks.) با دامنه وسیع گسترش در نقاط مختلف دنیا و قدرت بیماری‌زایی بالا از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (Huerta-Espino *et al*., 2011). این بیماری در ایران نیز یکی از مهم‌ترین بیماری‌های گندم به شمار می‌رود (Torabi *et al*., 2001). اسپور بیماری‌های زنگ گندم قادر است توسط باد فاصله‌های طولانی درون و حتی بین قاره‌ای را پیموده و در مناطق جدید باعث وقوع همه‌گیری شود (Walter *et al*., 2016; Visser *et al*., 2019).

اگرچه روش‌های کنترل شیمیائی قادر به کنترل میزان زیادی از خسارت بیماری به عملکرد گندم هستند، ولی موثرترین و اقتصادی‌ترین روش مقابله با بیماری‌ها استفاده از ارقام مقاوم به بیماری است. تا سال ۲۰۱۷ میلادی نزدیک به ۸۰ ژن برای مقاومت به زنگ قهوه‌ای در گندم گزارش شد و در فهرست ژن‌های گندم قرار گرفته‌اند (McIntosh *et al*., 2017).

اکثر این ژن‌ها دارای اثر بزرگ (Major genes) بوده که مقاومت به یک یا چند نژاد خاص (Race specific resistance) از بیمارگر را کند می‌کنند (Singh *et al*., 2011). این نوع مقاومت در هر دو مرحله گیاهچه‌ای و گیاه کامل موثر است و در بیشتر موارد از طریق واکنش فوق حساسیت بروز می‌کند (Bolton *et al*., 2008). باید توجه داشت که بر اثر فشار گزینش در پرآزاری نژاد مولد زنگ، معمولا بعد از چند سال مقاومت ارقام دارای مقاومت اختصاصی شکسته می‌شود (Ghazvini *et al*., 2018). تکامل نژادهای جدید زنگ‌ها با استفاده از جهش و نوترکیبی منجر به ظهور نژادهای جدید با قدرت بیماری‌زایی جدید شده و خطر شیوع ناگهانی بیماری در یک منطقه را به دنبال دارد (Singh *et al*., 2011; Caldwell, 1968).

دسته دیگری از ژن‌ها مقاومت در مرحله گیاه کامل (Adult plant resistance) را کنترل می‌کنند. این نوع مقاومت حاصل عمل گروهی از ژن‌ها با اثر کوچک (Minor genes) بوده که مقاومت به طیف وسیعی از نژادهای بیمارگر (Non-race specific resistance)، تاخیر در پیشرفت بیماری (Slow rusting) و یا

مقاومت نسبی به بیماری (Partial resistance) را القا می‌کنند (Singh *et al*., 2011). باید توجه داشت که ژن‌های مقاومت در مرحله گیاه کامل غالبا در مرحله گیاهچه تظاهر نمی‌کنند و در گیاه کامل دارای مقاومت نسبی به سطوحی از شدت بیماری هستند (Lagudah, 2010). با وجود کوچک بودن میزان مقاومت غیراختصاصی، تجمع ژن‌های کوچک‌اثر در یک رقم مقاومت پایداری را به وجود می‌آورد (Singh *et al*., 2000).

جایگاه‌های ژنی شناسایی شده مرتبط با مقاومت در مرحله گیاه کامل همواره در سراسر دنیا در پروژه‌های اصلاح گندم مورد استفاده قرار می‌گیرند. از جمله مهم‌ترین این جایگاه‌های ژنی می‌توان *Lr34/Yr18/Sr57/Pm38*، *Lr46/Yr29/Sr58/Pm39*، *Lr68* و *Lr67/Yr46/Sr55/Pm46* را نام برد (Dyck, 1987; Singh *et al*., 1998; William *et al*., 2003; Hiebert *et al*., 2010; Herrera-Foessel *et al*., 2011; Randhawa *et al*., 2018) که در این بین جایگاه ژنی *Lr34/Yr18/Sr57/Pm38* از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. این جایگاه ژنی قادر به کنترل بیماری‌های زنگ قهوه‌ای (*Lr34*)، زنگ زرد (*Yr18*)، زنگ سیاه (*Sr57*) و سفیدک پودری (*Pm38*) در یک بلوک ژنی با پیوستگی بسیار نزدیک و یا به صورت یک ژن با چند اثر از موثرین جایگاه‌های ژنی کنترل کننده بیماری‌های زنگ در گندم به شمار می‌رود (Spielmeyer *et al*., 2005, Dakouri *et al*., 2010; Kolmer *et al*., 2008; Krattinger *et al*., 2009; Lagudah *et al*., 2009; Huerta-Espino *et al*., 2020).

این جایگاه ژنی که روی بازوی کوتاه کروموزوم 7D قرار دارد (Dyck, 1987)، در مقایسه با گیاهان حساس باعث طولانی‌تر شدن دوره نهان آلودگی، کاهش تعداد و اندازه جوش‌ها در دو هفته بعد از آلودگی می‌شود. پرآزاری بیمارگر زنگ قهوه‌ای روی این جایگاه ژنی مشاهده نشده است (Krattinger *et al*., 2009; Lagudah *et al*., 2010) و به عنوان یکی از منابع ژنی پایدار شناخته می‌شود.

با گسترش روزافزون فناوری های نوین در علم اصلاح نباتات، انتخاب به کمک نشانگر (Marker assisted selection = MAS) به عنوان راهکاری ارزشمند در پروژه‌های به‌نژادی برای مقاومت به بیماری‌های زنگ گندم در سراسر دنیا مورد استفاده قرار می گیرند. در سال‌های اخیر تعدادی از نشانگرهای مولکولی پیوسته با جایگاه ژنی *Lr34/Yr18/Sr57/Pm38* معرفی و مورد استفاده قرار گرفته‌اند از جمله نشانگر مولکولی *csLV34* (Lagudah *et al*., 2006)، نشانگرهای سری *Cssfr* (Lagudah *et al*., 2009) و همچنین نشانگرهای سری *cam*، *caIND* و *caSNP* که نسبت به نشانگر *CsLV34* در فاصله نزدیکتری از جایگاه ژنی مذکور قرار دارند (Dakouri *et al*., 2010).

در پژوهشی با کشف یک جهش در اگزون ۱۰ ژن *Lr34* که فقط در ژنوتیپ‌های حساس دیده می‌شد و همچنین معرفی یک هاپلوتایپ جدید و بررسی سایر هاپلوتایپ‌های این ناحیه از ژنوم دانشمندان توانستند تعداد ۱۰ نشانگر مولکولی جدید و با همبستگی بالا را برای این ژن معرفی کنند (Dakouri *et al*., 2010). نشانگرهای معرفی شده جزو نزدیکترین نشانگرها نسبت به ژن *Lr34* به شمار می‌روند.

البته فاصله بین آلل‌های مثبت و منفی در برخی از این نشانگرها (مانند نشانگر *caIND11* با اختلاف ۲bp در آلل‌های مثبت و منفی) به اندازه‌ای کم است که ردیابی آنها با سامانه های معمول الکتروفورز پلی‌اکریلامید یا آگارز سخت و یا غیرممکن است (Ghazvini *et al*., 2018). در این میان نشانگرهای *caSNP4* و *caSNP12* از جمله نشانگرهایی هستند که پیوستگی بالایی با جایگاه ژنی مذکور نشان داده‌اند. این نشانگرها در صورت وجود آلل موثر مقاومت به ترتیب قطعاتی با اندازه‌ی ۳۹۰ و ۲۳۴ جفت بازی را در الکتروفورز ژل آگارز ۱/۵ درصد به صورت بارز نشان می‌دهند (Dakouri *et al*., 2010).

در دهه‌های اخیر با معرفی ارقام اصلاح شده و گسترش آنها در سراسر جهان، جایگزینی کشت ارقام بومی گندم با ارقام اصلاح شده باعث محدود شدن تنوع ژنتیکی در ژنوتیپ‌های گندم در سطح مزارع شده است (Lopes *et al*. 2015). بنابراین ردیابی و شناسایی منابع جدید تنوع ژنتیکی در مقاومت به زنگ قهوه‌ای در ارقام و توده‌های بومی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (Qureshi *et al*., 2017).

هدف این پژوهش یافتن منابع جدید مقاومت به نژادهای زنگ قهوه‌ای غالب در کشور بود. بدین منظور تعدادی از ارقام تجاری و بومی گندم ایران و سایر نقاط جهان از جمله آسیا و کشورهای خاستگاه گندم در شرایط مزرعه‌ای و همچنین با استفاده از نشانگرهای مولکولی پیوسته با بلوک ژنی *Lr34/Yr18/Sr57/Pm38* مورد بررسی قرار گرفتند.

مواد و روش‌ها

ژنوتیپ‌های مورد بررسی در پژوهش حاضر شامل ۸۲ ژنوتیپ متنوع از ارقام و لاین‌های خالص حاصل از توده‌های محلی گندم نان می‌باشند. این نمونه‌ها پس از جمع آوری از منابع مختلف در بانک ژن دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان نگهداری شدند و پس از کشت و ارزیابی در مزرعه برای رسیدن به یکنواختی درون هر جمعیت، به صورت تک سنبله تکثیر شدند. منشا این ژنوتیپ‌ها از کشورهای ایران، افغانستان، پاکستان، هند، عراق، سوریه، ترکیه، آذربایجان، تاجیکستان به همراه تعدادی از ارقام با منشاء مراکز بین‌المللی تحقیقات کشاورزی بود (جدول ۱) که در شرایط مزرعه‌ای و شرایط

جدول ۱- لیست ژنوتیپ‌های گندم نان مورد ارزیابی، واکنش آنها نسبت به زنگ قهوه‌ای و وضعیت آللی نشانگرهای پیوسته به ژن *Lr34*

Table 1. List of the evaluated bread wheat genotypes, their reaction to leaf rust and the amplified marker alleles linked to *Lr34* gene

ردیف No.	نام/کد Name/Code	منبع Reference	خاستگاه Origin	شجره Pedigree	واکنش به زنگ قهوه‌ای Reaction to leaf rust	وضعیت آللی نشانگرهای پیوسته به ژن *Lr34* Alleles of markers linked to *Lr34* gene		
					Ahvaz	*csLv34*	*caSNP4*	*caSNP12*
1	ATRI 519	IPK	India	NA**	50MS	0	0	0
2	ATRI 532	IPK	India	NA	50MS	0	0	0
3	ATRI 537	IPK	India	NA	10MS	0	0	0
4	ATRI 572	IPK	Afghanistan	NA	20MS	0	0	0
5	ATRI 1494	IPK	Turkey	NA	90S	0	0	0
6	ATRI 1536	IPK	Turkey	NA	90S	0	0	0
7	ATRI 1541	IPK	Turkey	NA	60S	0	0	0
8	ATRI 2162	IPK	Turkey	NA	90S	0	0	0
9	ATRI 2188	IPK	Turkey	NA	90S	0	0	0
10	ATRI 2202	IPK	Turkey	NA	70S	0	0	0
11	ATRI 2430	IPK	Afghanistan	NA	70S	0	0	0
12	ATRI 2437	IPK	Nepal	NA	60MS	0	0	0
13	ATRI 2448	IPK	Nepal	NA	20MS	0	0	0
14	ATRI 2452	IPK	Nepal	NA	60S	0	0	0
15	ATRI 2494	IPK	Afghanistan	NA	70S	0	0	0
16	ATRI 2547	IPK	Afghanistan	NA	90S	0	0	0
17	ATRI 2611	IPK	Nepal	NA	90S	0	0	0
18	ATRI 2636	IPK	Afghanistan	NA	40S	0	0	0
19	ATRI 2657	IPK	Afghanistan	NA	70S	0	0	0
20	ATRI 2678	IPK	Afghanistan	NA	90S	0	0	0
21	ATRI 2846	IPK	Afghanistan	NA	70S	0	0	0
22	ATRI 2912	IPK	Afghanistan	NA	90S	0	0	0
23	ATRI 3166	IPK	Afghanistan	NA	90S	0	0	0
24	ATRI 3405	IPK	Afghanistan	NA	60S	0	0	0
25	ATRI 3945	IPK	Afghanistan	NA	80S	0	0	0
26	ATRI 3995	IPK	Afghanistan	NA	90S	0	0	0
27	ATRI 5498	IPK	Iran	NA	80S	0	0	0
28	ATRI 5555	IPK	Iran	NA	60S	0	0	0
29	ATRI 5643	IPK	Iran	NA	70S	0	0	0
30	ATRI 5721	IPK	Iran	NA	20MS	0	0	0
31	ATRI 5947	IPK	Iran	NA	10MS	0	0	0
32	ATRI 5956	IPK	Iran	NA	10MS	0	0	0
33	ATRI 5961	IPK	Iran	NA	10R	0	0	0
34	ATRI 6084	IPK	Iran	NA	80S	0	0	0
35	ATRI 8156	IPK	Iraq	NA	80S	0	0	0
36	ATRI 8159	IPK	Iraq	NA	90S	0	0	0
37	ATRI 8311	IPK	India	NA	20MS	0	0	0
38	ATRI 8317	IPK	India	NA	40MS	1	1	1
39	ATRI 8366	IPK	Iraq	NA	100S	0	0	0
40	ATRI 8419	IPK	India	NA	70S	0	0	0
41	ATRI 9721	IPK	India	NA	30MS	0	0	0
42	ATRI 9897	IPK	India	NA	30MS	1	1	1
43	ATRI 9951	IPK	Turkey	NA	10MS	1	1	1
44	ATRI 10293	IPK	Pakistan	NA	70S	0	0	0
45	ATRI 10429	IPK	Pakistan	NA	70S	0	0	0
46	ATRI 10995	IPK	India	NA	60S	0	0	0
47	ATRI 11530	IPK	Iraq	NA	80S	0	0	0
48	ATRI 11545	IPK	Iraq	NA	60S	0	0	0
49	ATRI 15277	IPK	Iraq	NA	90S	0	0	0
50	ATRI 15280	IPK	Iraq	NA	90S	0	0	0
51	ATRI 15919	IPK	India	NA	60S	0	0	0
52	ATRI 16087	IPK	Iraq	NA	90S	0	0	0

- IPK: Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (Gatersleben, Germany). -موسسه تحقیقات ژنتیک محصولات گیاهی لیبنز (گیترزلبن، آلمان)
- SPII: Seed and Plant Improvement Institute. - موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر
- CIMMYT: International Maize and Wheat Improvement Center. - مرکز بین المللی تحقیقات ذرت و گندم
- ICARDA: International Center for Agricultural Research in the Dry Areas. مرکز بین المللی تحقیقات کشاورزی برای مناطق خشک
- NA: Not available. - در دسترس نبود.

ادامه جدول ۱ — Table 1. Continued

ردیف No.	نام/کد Name/Code	منبع Reference	خاستگاه Origin	شجره Pedigree	واکنش به زنگ قهوه‌ای Reaction to leaf rust Ahvaz	وضعیت آللی نشانگرهای پیوسته به ژن *Lr34* Alleles of markers linked to *Lr34* gene *csLv34*	*caSNP4*	*caSNP12*
53	ATRI 17195	IPK	Turkey	NA	90S	0	0	0
54	ATRI 17552	IPK	Pakistan	NA	90S	0	0	0
55	ATRI 17559	IPK	Tajikistan	NA	90S	0	0	0
56	ATRI 17562	IPK	Tajikistan	NA	70S	0	0	0
57	ATRI 19186	IPK	Turkey	NA	40S	0	0	0
58	ATRI 19262	IPK	Pakistan	NA	60S	0	0	0
59	Hirmand	SPII	CIMMYT	Byt/</Jar//Cfn/Sr70>M/jup"s"	20Ms	0	0	0
60	01C0204851	Czech.	Czech	NA	30MS	0	0	0
61	01C0204936	Czech.	Switzerland	NA	20MS	0	0	0
62	ICBW108799	ICARDA	Iraq	NA	90S	0	0	0
63	ICBW108759	ICARDA	Iraq	NA	90S	0	0	0
64	ICBW110707	ICARDA	Syria	NA	80S	0	0	0
65	ICBW98824	ICARDA	Syria	NA	90S	0	0	0
66	ICBW42070	ICARDA	Syria	NA	90S	0	0	0
67	ICBW140887	ICARDA	Azerbaijan	NA	20MS	0	0	0
68	ICBW138678	ICARDA	Azerbaijan	NA	60S	0	0	0
69	ICBW138673	ICARDA	Azerbaijan	NA	80S	0	0	0
70	ICBW138380	ICARDA	Azerbaijan	NA	80S	0	0	0
71	Morvarid	SPII	CIMMYT	Milan/Sha7	0	0	0	0
72	Bam	SPII	CIMMYT	Vee"s"/Nac//1-66-22	10R	1	1	1
73	Kavir	SPII	CIMMYT	Stm/3/ Kal//V534/Jit716	90S	0	0	0
74	Sardari	SPII	Iran	NA	90S	0	0	0
75	Tajan	SPII	CIMMYT	Bpw"s"/Nkt"s"	5Ms	0	0	0
76	SARC 1	Pakistan	Pakistan	NA	5MS	0	0	0
77	ICBW 138789	ICARDA	Syria	NA	90S	0	0	0
78	Barat	SPII	CIMMYT	SLVS*/Pastor	60S	0	0	0
79	Shoosh	SPII	ICARDA	CBRD-3/Stork *X Dicoccoides*	5MS	1	1	1
80	Baharan	SPII	CIMMYT	Kauz/Pastor//PBW-343	20MS	0	0	0
81	MV-17	SPII	Hungary	Martonvasar-17	0	1	1	1
82	Boulani	SPII	Iran	NA	90S	0	0	0

- IPK: Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (Gatersleben, Germany). — موسسه تحقیقات ژنتیک محصولات گیاهی لیبنز (گیترزلبن، آلمان)
- SPII: Seed and Plant Improvement Institute. — موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر
- CIMMYT: International Maize and Wheat Improvement Center. — مرکز بین المللی تحقیقات ذرت و گندم
- ICARDA: International Center for Agricultural Research in the Dry Areas. — مرکز بین المللی تحقیقات کشاورزی برای مناطق خشک
- NA: Not available. — در دسترس نبود.

همه‌گیری بیماری زنگ قهوه‌ای در خزانه زنگ قهوه‌ای در ایستگاه تحقیقات کشاورزی گلستان اهواز مورد آزمایش قرار گرفتند.

این ژنوتیپ‌ها در دهه اول آذر ۱۳۹۸ کشت شدند. هر ژنوتیپ روی دو خط یک متری روی یک پشته کشت شد. رقم حساس بولانی به فاصله هر ده ژنوتیپ یک پشته به عنوان شاهد و در اطراف خزانه آزمایشی به عنوان پخش کننده بیماری (Spreader) کشت شد.

جدایه‌های مورد استفاده شامل یکسری از جدایه‌های غالب منطقه بودند که در گلخانه‌های

تحقیقاتی واحد بیماری های غلات موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر خالص سازی و بر روی رقم حساس بولانی برای استفاده در مزرعه تکثیر شدند. برای مایه‌زنی مصنوعی خزانه آزمایشی از ۲۸ دی تا ۱۸ بهمن (هر هفت روز یکبار) با استفاده از مخلوطی از جدایه‌ها در هنگام غروب آفتاب و افزایش رطوبت نسبی مزرعه گردپاشی (مخلوط اسپور زنگ و پودر تالک به نسبت ۱ به ۴) صورت گرفت.

یادداشت برداری نهایی در مرحله ظهور برگ پرچم و در زمان رسیدن میزان آلودگی به بیماری بر روی رقم حساس بولانی به حد نهایی، از طریق درصد پوشش آلوده سطح برگ (۱۰۰-۰) بر اساس روش اصلاح شده کاب (Peterson *et al*., 1948) و تعیین تیپ آلودگی (Roelfs *et al.,* 1992) انجام شد.

آزمایش‌های مولکولی در آزمایشگاه ژنتیک دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شد. استخراج DNA از برگ‌های سالم بر اساس روش CTAB (Saghai-Maroof *et al*., 1984) بود. ارزیابی کمیت و کیفیت DNA استخراج شده با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری (Thermo Electron, Wi53711, USA) در طول موج‌های ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر و همچنین الکتروفورز ژل آگارز ۰/۸ درصد انجام شد.

سپس DNA ژنومی در غلظت ۲۵ نانوگرم در میکرولیتر جهت استفاده در واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) رقیق شد. آزمون ژنتیکی حضور یا عدم حضور آلل مقاومت در جایگاه‌های ژنی *Lr34/Yr18/Sr57* که در ادامه مقاله به اختصار *Lr34* خوانده می‌شود، بر اساس تفاوت توالی موجود بین آلل‌های $Lr34^{+}$ و $Lr34^{-}$ در ژنوتیپ‌های مورد بررسی با استفاده از نشانگرهای مولکولی *csLV34*، *caSNP4* و *caSNP12* (جدول ۲) انجام شد.

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در حجم ۱۵ میکرولیتر برای هر واکنش بدین صورت انجام شد: PCR Buffer (1X)، نشانگر مولکولی (۲۰۰ نانومول)، *Taq* Polymerase (یک واحد)، dNTPs (۰/۲ میلی‌مولار)، MgCl2 (۱/۵ میلی‌مولار) و DNA ژنومی (۵۰ نانوگرم). چرخه‌های حرارتی به‌صورت یک مرحله واسرشته‌سازی اولیه به مدت سه دقیقه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد، ۳۵ چرخه شامل: ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه، سپس به مدت ۳۰ ثانیه (۶۵ درجه سانتی‌گراد برای نشانگرهای *caSNP4* و *caSNP12* و ۵۵ درجه سانتی‌گراد برای نشانگر *csLV34*)، ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶۰ ثانیه و در نهایت مرحله بسط نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه صورت گرفت. محصولات PCR با استفاده از الکتروفورز ژل آگارز ۱/۵ درصد در کنار نشانگر وزنی ۵۰bp با ولتاژ ۱۰۰ ولت تفکیک شدند. از رنگ‌آمیزی اتیدیوم برمایید

جدول ۲- نام نشانگر، نام آغازگر، توالی آغازگر، دمای اتصال در واکنش زنجیره‌ای پلیمراز و اندازه آلل تکثیر شده

Table 2. Marker name, primer name, primer sequence, annealing temperature in PCR and size of the amplified allele

نشانگر Marker	جفت آغازگر Primer pair	توالی آغازگر Primer sequence 5' -3'	دمای اتصال Annealing temperature (°C)	اندازه آلل Allele size (bp)	منبع Reference
csLV34	csLV34F	GTTGGTTAAGACTGGTGATGG	55	150/229	Lagudah *et al*., 2006
	csLV34F	TGCTTGCTATTGCTGAATAGT			
caSNP4	caSNP4F	GCGTTTCTGTCACCAGAAGT'	65	390	Dakouri *et al* ,.2010
	caSNP4R	AATAAACTCGCGCCTCTTGA			
caSNP4	caSNP12F	TCCCCAGTTTAACCATCCTG	65	234	Dakouri *et al* ,.2010
	caSNP12R	CATTCAGTCACCTCGCAGC			

برای ردیابی قطعات تکثیر شده PCR در دستگاه ژل داکیومنت (UVitech, England) استفاده شد.

نتایج و بحث

یادداشت برداری از خزانه تله زنگ قهوه‌ای از ارقام افتراقی در سال زراعی ۹۹-۱۳۹۸ نشان داد که برای گیاهان حامل ژن‌های *Lr22b*، *Lr1*، *Lr2a*، *Lr2c*، *Lr10*، *Lr11*، *Lr12*، *Lr14a*، *Lr16*، *Lr17*، *Lr18*، *Lr28*، *Lr29*، *Lr35* و *Lr13* پرآزاری و برای گیاهان حامل ژن‌های *Lr2b*، *Lr3*، *Lr3ka*، *Lr3bg*، *Lr9*، *Lr14b*، *Lr15*، *Lr19*، *Lr20*، *Lr21*، *Lr22a*، *Lr23*، *Lr24*، *Lr25*، *Lr26*، *Lr30*، *Lr32*، *Lr33*، *Lr34*، *Lr36* و *Lr37* در شرایط گیاه کامل نا پرآزاری وجود داشت.

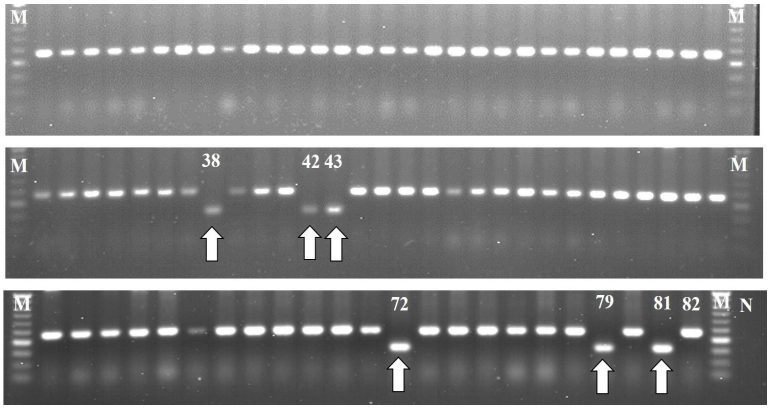
نتایج ارزیابی مزرعه‌ای حاکی از آن بود که در میان ژنوتیپ‌های مورد بررسی تعداد ۵۶ ژنوتیپ واکنش حساس، ۲۲ ژنوتیپ واکنش نیمه‌حساس، دو ژنوتیپ واکنش مقاوم و دو ژنوتیپ واکنش مصون را نسبت به بیماری زنگ قهوه‌ای نشان دادند. در واقع ۳۱/۷ درصد از ارقام و ژنوتیپ‌ها در این پژوهش نسبت به بیماری زنگ قهوه‌ای در شرایط مزرعه واکنش نیمه‌حساس، مقاوم و یا مصون را نشان دادند (جدول ۱).

واکنش بسیار حساس رقم شاهد بولانی (90S) که پس از هر ۱۰ ژنوتیپ کاشته شده بود بیانگر استقرار و گسترش مناسب بیماری زنگ قهوه‌ای در سطح خزانه تله زنگ قهوه ای بود. ژنوتیپ شماره ۸۱ (MV-17) با مبدا کشور مجارستان واکنش مصون نشان داد. همچنین ژنوتیپ‌های شماره ۳۳ (ATRI 5961)، شماره ۷۲ (Bam) و شماره ۷۱ (Morvarid) به ترتیب واکنش مقاوم 10R، 10R و مصون را نشان دادند (جدول ۱). ژنوتیپ شماره ۳۳

(ATRI 5961) یک نمونه از توده محلی منطقه گرگان می‌باشد که از بانک ژن کشور آلمان تهیه شده است. این یافته بار دیگر نشان دهنده اهمیت حفظ و مطالعه ذخایر توارثی برای شناسایی منابع جدید مقاومت می‌باشد.

به‌منظور بررسی حضور یا عدم حضور آلل موثر مقاومت $Lr34^{+}$ در این پژوهش از سه نشانگر مولکولی شناخته شده برای این جایگاه ژنی استفاده شد (جدول ۲). اولین نشانگر مولکولی استفاده شده برای ردیابی حضور یا عدم حضور آلل $Lr34^{+}$ در این ارزیابی نشانگر *csLV34* بود. این نشانگر مولکولی، نشانگری همبارز است که با تکثیر دو قطعه به اندازه‌های ۱۵۰bp و ۲۲۹bp (به‌ترتیب آلل موثر مقاومت $Lr34^{+}$ و حساسیت $Lr34^{-}$) در الکتروفورز ژل آگارز، ابزاری کارآمد جهت ردیابی این جایگاه ژنی به حساب می‌آید (Lagudah *et al*., 2006).

در میان ۸۲ ژنوتیپ مورد بررسی در پژوهش حاضر تعداد شش ژنوتیپ دارای قطعه ۱۵۰ جفت بازی بودند (شکل ۱) که به حضور آلل موثر مقاومت این جایگاه ژنی در این ژنوتیپ‌ها اشاره دارد. این نشانگر به عنوان یک نشانگر رایج در ردیابی جایگاه ژنی *Lr34* از زمان معرفی در سال ۲۰۰۶ تاکنون همواره در نقاط مختلف دنیا مورد استفاده قرار گرفته است (Kolmer *et al*., 2008; El-Orabey *et al*., 2019; Skowrońska *et al*., 2019).



شکل ۱- الگوی الکتروفورزی ژل آگارز ۱/۵ درصد برای نشانگر مولکولی *csLV34* مربوط به ژنوتیپ‌های مورد بررسی در این پژوهش. M: نشانگر وزنی ۵۰bp، N: کنترل منفی PCR، شماره ۸۲: رقم حساس بولانی و باندهایی که با فلش نشان داده شده‌اند بیانگر آلل مؤثر $Lr34^{+}$ (۱۵۰bp) هستند.

Fig. 1. Electrophoresis of 1.5% agarose gel for *csLV34* molecular marker in evaluated genotypes. M: 50 bp molecular-weight marker, N: Negative control of PCR, 82: susceptible cultivar Boulani and amplified DNA bands for $Lr34^{+}$ (150 bp) are indicated by arrows.

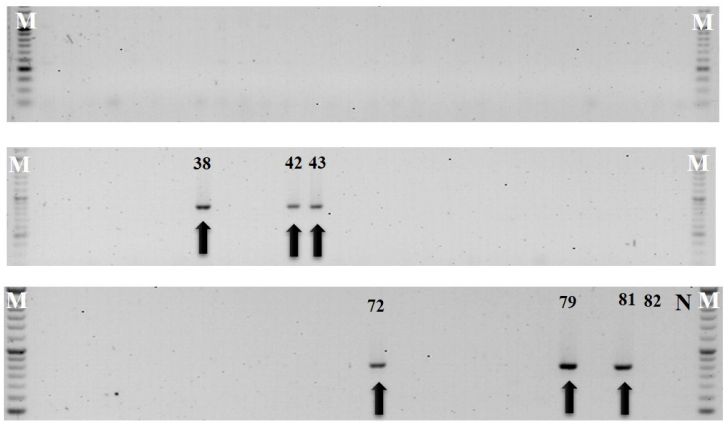
در پژوهشی بر روی ۱۲۴ ژنوتیپ از ارقام و لاین‌های ایرانی گندم با نشانگر مولکولی *csLV34* مشخص شد که در مجموع ۳۹ ژنوتیپ (۳۱ درصد) در بردارنده آلل موثر مقاومت بودند (Dadrezaei *et al*., 2013). در پژوهش مشابه‌ای از بین ۸۵ رقم و لاین گندم مورد بررسی تعداد ۲۳ ژنوتیپ (۲۷ درصد) در بردارنده آلل مرتبط با مقاومت در این جایگاه ژنی بودند (Ghazvini *et al*., 2018).

بررسی‌های صورت گرفته نشان از آن دارد که این جایگاه ژنی کد کننده مقاومت در مرحله گیاه کامل از فراوانی نسبتا خوبی در بین ارقام اصلاح شده ایرانی برخوردار است. در تحقیق حاضر نیز ژنوتیپ‌های شماره ۷۲ و ۷۹ به ترتیب ارقام ایرانی شوش و بم بودند که قطعه ۱۵۰جفت بازی را نشان دادند (جدول ۱). لازم به ذکر است که با وجود قدرت بالای تشخیص این نشانگر، بروز خطای مثبت کاذب به عنوان یکی از مشکلات استفاده از آن می باشد که در تحقیقات مختلفی گزارش شده است (Lagudah *et al*., 2009; Dakouri *et al*., 2010; Ghazvini *et al*., 2018).

نتایج آزمون ژنتیکی جایگاه ژنی *Lr34* با استفاده از نشانگرهای *caSNP4* و *caSNP12*، تطابق کاملی با هم داشتند و هر دو نشانگر قطعه مربوط به آلل مقاومت را در شش ژنوتیپ شامل ژنوتیپ های شماره ۳۸، ۴۲، ۴۳، ۷۲، ۷۹ و ۸۱ نشان دادند (شکل ۲ و ۳). نتایج آلل‌های حاصل از نشانگرهای مذکور نیز همبستگی کاملی با نتایج آلل‌های بدست آمده از نشانگر *csLV34* داشت (جدول ۱). با توجه به تایید نتیجه هر سه نشانگر مولکولی و در نظر گرفتن پیوستگی بالای نشانگرهای مورد استفاده با این جایگاه ژنی، می‌توان با ضریب اطمینان بسیار بالایی این شش ژنوتیپ را حامل آلل موثر مقاومت $Lr34^{+}$ دانست.

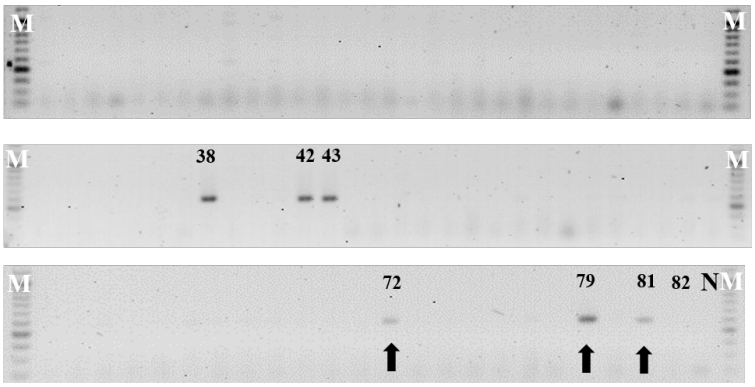
مقایسه نتایج ارزیابی در شرایط مزرعه با ارزیابی‌های مولکولی نشان داد که ژنوتیپ‌های دارنده آلل مقاومت دارای واکنشی از نوع مصون، مقاوم و یا نیمه حساس بودند. ژنوتیپ-های شماره ۳۸ و ۴۲ با منشاء هندوستان و ژنوتیپ شماره ۴۳ با منشاء ترکیه (به ترتیب با واکنش‌های 40MS، 30MS و 10MS) به بیماری زنگ قهوه‌ای واکنش نیمه‌حساس را نشان دادند. ژنوتیپ شماره ۷۹ رقم ایرانی شوش با واکنش نیمه‌حساس (5MS) و ژنوتیپ های ۷۲ و ۸۱ به ترتیب مربوط به رقم ایرانی بم واکنش نیمه‌مقاوم (10MR) و رقم مجارستانی MV-17 با منشاء کشور مجارستان مصون (0) بودند (جدول ۱).

قزوینی و همکاران (Ghazvini *et al*., 2018) و همچنین روبیالز و نیکز (Rubiales and Niks, 1995) نیز دامنه‌ای از واکنش های مصون تا نیمه‌حساس را در ارقام و لاین‌های گندم حامل ژن *Lr34* گزارش کردند. کولمر و همکاران (Kolmer *et al*., 2008) تعداد ۱۲۳ ژنوتیپ از توده‌های بومی گندم ایران را مورد بررسی قرار



شکل ۲- الگوی الکتروفورزی ژل آگارز ۱/۵ درصد برای نشانگر مولکولی *caSNP4* مربوط به ژنوتیپ‌های مورد بررسی در این پژوهش. M: نشانگر وزنی ۵۰bp، N: کنترل منفی PCR، شماره ۸۲: رقم حساس بولانی و باندهایی که با فلش نشان داده شده‌اند بیانگر آلل موثر $Lr34^{+}$ (۳۹۰bp) هستند.

Fig. 2. Electrophoresis of 1.5% agarose gel for *caSNP4* molecular marker in the evaluated genotypes. M: 50 bp molecular-weight marker, N: Negative control of PCR, 82: susceptible cultivar Boulani and amplified DNA bands for $Lr34^{+}$ (390 bp) are indicated by arrows.



شکل ۳- الگوی الکتروفورزی ژل آگارز ۱/۵ درصد برای نشانگر مولکولی *caSNP12* مربوط به ژنوتیپ‌های مورد بررسی در این پژوهش. M: نشانگر وزنی ۵۰bp، N: کنترل منفی PCR، شماره ۸۲: رقم حساس بولانی و باندهایی که با فلش نشان داده شده‌اند بیانگر آلل موثر $Lr34^{+}$ (۲۳۴bp) هستند.

Fig. 3. Electrophoresis of 1.5% agarose gel for *caSNP12* molecular marker in the evaluated genotypes. M: 50 bp molecular-weight marker, N: Negative control of PCR, 82: susceptible cultivar Boulani and amplified DNA bands for $Lr34^{+}$ (234 bp) are indicated by arrows.

دادند و مشخص شد که تنها ۲/۴ درصد از ژنوتیپ‌های مورد بررسی در آن پژوهش حامل ژن *Lr34* بودند. واکنش مصون یا مقاوم برخی از این ژنوتیپ‌ها می‌تواند مربوط به حضور سایر ژن‌های مقاومت باشد که در ترکیب با ژن *Lr34* سطح بالایی از مقاومت را در میزبان کد کرده‌اند. دادرضایی و همکاران (Dadrezaei *et al*., 2013) گزارش کردند که رقم MV-17 علاوه بر ژن *Lr34* حامل جایگاه ژنی *Lr26/Sr31/Yr9* نیز می‌باشد.

ارزیابی و مقایسه واکنش ژنوتیپ‌ها در آزمایش مزرعه‌ای و آزمون نشانگرهای مولکولی پیوسته نشان داد ژن‌های مقاومت دیگری غیر از *Lr34* در برخی از این ژنوتیپ‌ها بود، زیرا همانطور که نتایج جدول ۲ نشان می‌دهد ژنوتیپ‌هایی هستند که سطح بالایی از مقاومت و یا حتی مصونیت را داشتند ولی در آزمون مولکولی فاقد ژن *Lr34* شناخته شدند. به عنوان مثال ژنوتیپ شماره ۷۱ (رقم تجاری مروارید) با وجود داشتن واکنش مصون فاقد ژن مقاومت *Lr34* بود.

نتایج پژوهش قزوینی و همکاران (Ghazvini *et al*., 2018) در خصوص مصونیت رقم تجاری مروارید در شرایط مزرعه نسبت به بیماری زنگ قهوه‌ای و نیز بررسی این جایگاه ژنی با نتایج پژوهش حاضر تطابق کامل داشت. دادرضایی و همکاران (Dadrezaei *et al*., 2013) جایگاه ژنی *Lr37* را در این رقم زراعی با استفاده از نشانگر مولکولی پیوسته با ژن مذکور را گزارش نمودند. بنابراین به نظر می‌رسد واکنش مصون این رقم زراعی در مقابل بیماری زنگ قهوه‌ای تا اندازه زیادی ناشی از جایگاه ژنی *Lr37* و یا ژن‌های مقاومت دیگری باشد. ارزیابی‌های بیشتر و ردیابی سایر جایگاه‌های ژنی دخیل در مقاومت به زنگ‌های گندم اطلاعات کامل‌تری در مورد ژن‌های موثر در واکنش مقاومت این رقم بدست خواهد داد.

پیوستگی ژنهای مقاومت به زنگ قهوه‌ای، زنگ زرد، زنگ سیاه و سفیدک پودری از مهمترین خصوصیاتی است که باعث شده است این بلوک ژنی در برنامه‌های به‌نژادی گندم از اهمیت ویژه‌ای برخوردار باشد. در مجموع نتایج این پژوهش نشان داد که ژنوتیپ‌های مورد بررسی که اکثرا ارقام بومی ایران و سایر کشورهای آسیایی بودند از نظر مقاومت به ایزوله‌های زنگ قهوه‌ای منطقه اهواز در مرحله گیاه کامل از تنوع نسبتا خوبی برخوردار بودند. واکنش‌هایی از نیمه‌حساس تا مصون در دامنه ژنتیکی متنوعی مانند ژنوتیپ‌هایی با منشاء ایران، نپال، پاکستان، ترکیه و هندوستان مشاهده شد. همچنین در آزمون ژنتیکی جایگاه ژنی *Lr34* ارقامی از ایران با منشاء CIMMYT و ژنوتیپ‌هایی از هندوستان، مجارستان و ترکیه در بردارنده آلل مؤثر این ژن بودند.

تنوع در منشاء ژنوتیپ‌های مقاوم می‌تواند شاهدی از تفاوت ژن‌های مقاومت در این ژنوتیپ‌ها باشد و این تنوع وجه مشخصه ذخایر

توارثی است (Zahravi and Afshari, 2018). ارقام محلی گندم در سراسر دنیا خصوصا کشورهای خاورمیانه به عنوان خاستگاه گندم یکی از ارزشمندترین منابع برای ژن‌های مقاومت و تحمل در برابر تنش‌های زنده و غیرزنده به شمار می‌روند.

با توجه به کاهش کشت ارقام محلی و جایگزینی آن با ارقام اصلاح شده جدید در سراسر دنیا، شناسایی و استفاده از تنوع ژنتیکی ارزشمند ارقام محلی راهکاری موثر در جلوگیری از یکنواختی و محدود شدن زمینه ژنتیکی ارقام اصلاح شده می‌باشد. در این پژوهش سعی بر آن بود که ژنوتیپ‌هایی با تنوع ژنتیکی بالا از کشورهای متفاوت جهت یافتن منابع جدید مقاومت نسبت به پاتوتیپ‌های غالب بیماری زنگ قهوه‌ای موجود در جنوب ایران مورد بررسی قرار گیرند. تنوع مشاهده شده و همچنین ژنوتیپ‌های حامل ژن‌های مقاومت در این پژوهش می‌تواند کمک موثری در پیشبرد برنامه‌های به‌نژادی برای مقاومت به بیماری زنگ قهوه‌ای گندم در کشور باشد. نتایج این پژوهش در کنار بررسی‌های بیشتر برای ردیابی سایر جایگاه‌ای ژنی دخیل در مقاومت به بیماری‌های زنگ قهوه ای گندم، امکان تقویت زمینه ژنتیکی ارقام اصلاح شده جدید را بیش از پیش فراهم می‌آورد.

سپاسگزاری

نگارندگان از مدیریت بخش تحقیقات غلات موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر و دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان که شرایط و امکانات لازم برای اجرای این پروژه تحقیقاتی را فراهم آوردند سپاسگزاری می کنند.

References

Anonymous, 2013. Wheat: vital grain of civilization and food security, Annual report 2013. Research Program on Wheat, CGIAR Mexico, D. F., Mexico. 24 pp.

Anonymous, 2018. FAO Statistical data. Available on: www.faostat.org.

Bolton, M. D., Kolmer, J. A., and Garvin, D. F. 2008. Wheat leaf rust caused by *Puccinia triticina*. Molecular Plant Pathology 9: 563–575.

Caldwell, R. M. 1968. Breeding for general and/or specific plant disease resistance. pp. 263-272. In: Proceedings of the 3rd International Wheat Genetics Symposium. Canberra, Australia

Dadrezaei, S. T., Nazari, K. Afshari, F., and Mohammadi Goltapeh, E. 2013. Phenotypic and molecular characterization on of wheat leaf rust resistance gene *Lr34* in Iranian wheat cultivars and advanced lines. American Journal of Plant Science 4:

1821–1833.

Dakouri, A., McCallum, B. A., Walichnowski, A. Z., and Cloutier, S. 2010. Fine mapping of the leaf rust *Lr34* locus in *Triticum aestivum* (L.) and characterization of large germplasm collections support the ABC transporter as essential for gene function. Theoretical and Applied Genetics 121: 373–384.

Dyck, P. L. 1987. The association of a gene for leaf rust resistance with the chromosome 7D suppressor of stem rust resistance in common wheat. Genome 29: 467–469.

El-Orabey, W. M., Hamwieh, A., and Ahmed, S. M. 2019. Molecular markers and phenotypic characterization of adult plant resistance genes *Lr34*, *Lr46*, *Lr67* and *Lr68* and their association with partial resistance to leaf rust in wheat. Genetics 98: 82.

Ghazvini, H., Sarhangi, M., and Afshari, F. 2018. Identification of molecular markers linked to *Lr34/Yr18* gene and evaluation of resistance to leaf rust and yellow rust in wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars and promising lines. Iranian Journal of Crop Sciences 19: 108-125 (in Persian).

Herrera-Foessel, S. A., Lagudah, E. S., Huerta-Espino, J., Hayden, M. J., Bariana, H. S., Singh., D., and Singh, R. P. 2011. New slow rusting leaf rust and stripe rust resistance genes *Lr67* and *Yr46* in wheat are pleiotropic or closely linked. Theoretical and Applied Genetics 122: 239–249.

Herrera-Foessel, S. A., Singh, R. P., Huerta-Espino, J., Garry, M. R., Sambasivam, K. P., Libby, V., Violeta, C., Caxia, L., and Lagudah, E. S. 2012. *Lr68*: a new gene conferring slow rusting resistance to leaf rust in wheat. Theoretical and Applied Genetic 124:1475–1486.

Hiebert, C. W., Thomas, J. B., McCallum, B. D., Humphreys, D. G., DePauw, R. M., Hayden, M. J., Mago, R., Schnippenkoetter, W., and Spielmeyer, W. 2010. An introgression on wheat chromosome 4DL in RL6077 (Thatcher*6/PI 250413) confers adult plant resistance to stripe rust and leaf rust (*Lr67*). Theoretical and Applied Genetics 121: 1083–1091.

Huerta-Espino, J., Singh, R. P., Crespo-Herrera, L. A., Villaseñor-Mir, H. E., Rodriguez-Garcia, M. F., Dreisigacker, S., Barcenas-Santana, D., and Lagudah, L. 2020. Adult plant slow rusting genes confer high levels of resistance to rusts in bread wheat cultivars from Mexico. Frontiers in Plant Science 11: 824.

Huerta-Espino, J., Singh, R. P., Germanm S., McCallumm, B. D., Park, R. F.,

Chen, W. Q., and Bhardwaj, S. C. 2011. Global status of wheat leaf rust caused by *Puccinia triticina*. Euphytica 179: 143−160.

Kolmer, J. A., Singh, R. P. Garvin, D. F. Viccars, L., William, H. M., Huerta-Espino, J., Ogbonnaya, F. C., Raman, H., Orford, S., Bariana, H. S., and Lagudah, E. S. 2008. Analysis of the *Lr34/Yr18* rust resistance region in wheat germplasm. Crop Science 48: 1841–1852.

Krattinger, S. G., Lagudah, E. S., Spielmeyer, W., Singh, R. P., Huerta-Espino, J., McFadden, H., Bossolini, E., Selter, L. L., and Keller, B. 2009. A putative ABC transporter confers durable resistance to multiple fungal pathogens in wheat. Science 323: 1360–1363.

Lagudah, E. S. 2010. Molecular genetics of race non-specific rust resistance in wheat. pp. 183. In: Proceedings of Borlaug Global Rust Initiative (BGRI) 2010 Technical Workshop, Saint Petersburg, Russia.

Lagudah, E. S., Krattinger, S. G., Herrera-Foesse, S. A., Singh, R. P., Huerta-Espino, J., Spielmeyer, W., Brown-Guedira, G., Selter, L. L., and Keller, B. 2009. Gene-specific markers for the wheat gene which confers resistance to multiple fungal pathogens. Theoretical and Applied Genetic 119: 889–898.

Lagudah, E. S., McFadden, H., Singh, R. P., Huerta-Espino, J., Bariana, H. S., and Spielmeyer, W. 2006. Molecular genetic characterization of the *Lr34/Yr18* slow rusting resistance gene region in wheat. Theoretical and Applied Genetic 114: 21–30.

Lopes, M. S., El-Basyoni, I., Baenziger, P. S., Singh, S., Royo, C., Ozbek, K., Aktas, H., Ozer, E., Ozdemir, F., and Manickavelu, A. 2015. Exploiting genetic diversity from landraces in wheat breeding for adaptation to climate change. Journal of Experimental Botany 66: 3477-3486.

McIntosh, R. A., Dubcovsky, J., Rogers, W., Morris, C., Appels, R., Xia, X. C., and Azul, B. 2017. Catalogue of gene symbols for wheat. pp. 11. In: Proceedings of the 12th International Wheat Genetics Symposium, Yokohama; Japan.

Peterson, R. F., Campbell, A. B., and Hannah, A. E. 1948. A diagrammatic scale for estimating rust intensity of leaves and stems of cereals. Canadian Journal of Research 26: 496-500.

Qureshi, N., Bariana, H., Kolmer, J. A., Miah, H., and Bansal, U. 2017. Genetic and molecular characterization of leaf rust resistance in two durum wheat landraces. Phytopathology 107: 1381-1387.

Randhawa, M. S., Lan, C., Basnet, B. R., Bhavani, S., Huerta-Espino, J., Forrest, K. L., Hayden, M. J., and Singh, R. P. 2018. Interactions among genes *Sr2/Yr30*, *Lr34/Yr18/Sr57* and *Lr68* confer enhanced adult plant resistance to rust diseases in common wheat (*Triticum aestivum* L.) line 'Arula'. Australian Journal of Crop Science 12: 1023-1033.

Roelfs, A. P., Singh, R. P., and Saari, E. E. 1992. Rust Disease of wheat: concepts and methods of disease management. CIMMYT, Mexico, D.F., Mexico. 81 pp.

Rubiales, D., and R. E. Niks. 1995. Characterization of *Lr34*, a major gene conferring nonhypersensitive resistance to wheat leaf rust. Plant Disease 79: 1208–1212.

Saghai-Maroof, M. A., Soliman, K. M., Jorgensen R. A., and Allard, R. W. 1984. Ribosomal DNA spacer–length polymorphism in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location and population dynamics. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 81: 8014–8019.

Singh, R. P., Huerta-Espino, J., and Rajaram, S. 2000. Achieving near-immunity to leaf and stripe rusts in wheat by combining slow rusting resistance genes. Acta Phytopathlogica Hungarica 35: 133–139.

Singh, R. P., Huerta-Espino, J., Bhavani, S., Herrera-Foessel, S. A., Singh, D., Singh, P. K., Velu, G., Mason, R. E., Jin, Y., Njau, P., and Crossa, J. 2011. Race non-specific resistance to rust diseases in CIMMYT spring wheat. Euphytica 179: 175–186.

Singh, R. P., Singh, P. K., and Rutkoski, J. 2016. Disease impact on wheat yield potential and prospects of genetic control. Annual Review of Phytopathology 54: 303–22.

Skowrońska, R., Kwiatek, M., Tomkowiak, A., and Nawracała, J. 2019. Development of multiplex PCR to detect slow rust resistance genes *Lr34* and *Lr46* in wheat. Applied Genetics 60: 301–304.

Spielmeyer, W., McIntosh, R. A., Kolmer, J., and Lagudah, E. S. 2005. Powdery mildew resistance and *Lr34/Yr18* genes for durable resistance to leaf and stripe rust cosegregate at a locus on the short arm of chromosome 7D of wheat. Theoretical and Applied Genetic 111: 731-735.

Torabi, M., Nazari, K., and Afshari, F. 2001. Genetics of pathogenicity of *Puccinia recondite* f. sp. *tritici*, the causal agent of leaf rust of wheat. Iranian Journal of Agriculture Science 32: 625–635 (in Persian).

Visser, B., Meyer, M., Park, R. F., Giligan, C., Burgin, L. E., Hort, M. C., Hodson, D. P., and Pretorius, Z. 2019. Microsatellite analysis and urediniospore dispersal simulation support the movement of *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* from southern Africa to Australia. Phytopathology 109: 133-144.

Walter, S., Ali, S., Kemen, E., Nazari, K., Bahri, B. A., Enjalbert, J., Hansen, J. G., Brown, J. K. M., Sicheritz-Pontén, T., Jones, J., Vallavieille-Pope, C. D., Hovmøller, M. S., and Justese, A. F. 2016. Molecular markers for tracking the origin and worldwide distribution of invasive strains of *Puccinia striiformis.* Ecology and Evolution 6: 2790–2804.

William, M., Singh, R. P., Huerta-Espino, J., Ortiz Islas, S., and Hoisington, D. 2003. Molecular marker mapping of leaf rust resistance gene *Lr46* and its association with stripe rust resistance gene *Yr29* in wheat. Phytopathology 93: 153–159.

Zahravi, M., and Afshari, F. 2018. Identification of resistance sources to yellow rust in some genotypes of bread wheat collection of the national plant gene bank of Iran. Seed and Plant Improvement Journal 34: 1-14 (in Persian).