

شناسائی ژن‌های مقاومت به زنگ‌ها در تعدادی از ژنوتیپ‌های گندم ایران با استفاده از نشانگرهای مولکولی

## Detection of Wheat Rust Resistance Genes in some Iranian Wheat Genotypes by Molecular Markers

سیدطه دادرضایی<sup>۱</sup> و کیومرث نظری<sup>۲</sup>

۱- استادیار، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، اهواز

۲- محقق ارشد، مرکز منطقه‌ای تحقیقات زنگ غلات، ازبیر، ترکیه

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۴/۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۱۰/۱۸

### چکیده

دادرضایی، س. ط. و نظری، ک. ۱۳۹۴. شناسائی ژن‌های مقاومت به زنگ‌ها در تعدادی از ژنوتیپ‌های گندم ایران با استفاده از نشانگرهای مولکولی. مجله به‌نژادی نهال و بذر ۱-۳۱: ۱۸۷-۱۶۳.

در این تحقیق حضور و عدم حضور ۱۸ ژن از ژن‌های مقاومت به زنگ قهوه‌ای (*Lr*)، زنگ سیاه (*Sr*) و زنگ زرد (*Yr*) در ۱۲۴ ژنوتیپ گندم ایران با استفاده از نشانگرهای مولکولی مورد بررسی قرار گرفت. با استفاده از نشانگرهای مولکولی ژن‌های مقاومت گیاهچه‌ای *Lr*<sub>25</sub>، *Lr*<sub>28</sub>، *Lr*<sub>29</sub> و *Sr*<sub>26</sub> و یا قطعات ژنی *Lr*<sub>19</sub>/*Sr*<sub>25</sub>، *Lr*<sub>20</sub>/*Sr*<sub>15</sub>/*Pm*<sub>1</sub>، *Lr*<sub>24</sub>/*Sr*<sub>24</sub>، *Lr*<sub>26</sub>/*Sr*<sub>31</sub>/*Yr*<sub>9</sub>، *Lr*<sub>35</sub>/*Sr*<sub>39</sub> و *Lr*<sub>37</sub>/*Sr*<sub>38</sub>/*Yr*<sub>17</sub> و همچنین حضور و عدم حضور قطعه ژنی مقاومت گیاه کامل نسبت به زنگ قهوه‌ای، زنگ زرد و سفیدک پودری *Lr*<sub>34</sub>/*Yr*<sub>18</sub>/*Pm*<sub>36</sub> در ۱۲۴ ژنوتیپ گندم ایران بررسی شد. نتایج نشان داد با استفاده از نشانگرهای به کار گرفته شده ژن‌های مقاومت گیاهچه‌ای *Lr*<sub>25</sub>، *Lr*<sub>28</sub>، *Lr*<sub>29</sub> و *Sr*<sub>26</sub> و همچنین قطعه‌های ژنی *Lr*<sub>20</sub>/*Sr*<sub>15</sub> و *Lr*<sub>35</sub>/*Sr*<sub>39</sub> در هیچ کدام از ۱۲۴ ژنوتیپ مورد بررسی به جز در شاهد‌های مثبت حامل ژن‌ها مشاهده نشد. قطعه ژنی *Lr*<sub>24</sub>/*Sr*<sub>24</sub> تنها در لاین M-87-18 ردیابی شد. فراوان‌ترین ژن‌های ردیابی شده در ژنوتیپ‌های گندم ایران متعلق به قطعه‌های ژنی *Lr*<sub>26</sub>/*Sr*<sub>31</sub>/*Yr*<sub>9</sub> در ۴۰ ژنوتیپ و *Lr*<sub>34</sub>/*Yr*<sub>18</sub>/*Pm*<sub>36</sub> در ۳۹ ژنوتیپ بود. پانزده ژنوتیپ از جمله ارقام تجن، اترک، دز، استار، رسول و MV-17 حامل هر دو قطعه ژنی مذکور بودند. قطعه ژنی *Lr*<sub>37</sub>/*Sr*<sub>38</sub>/*Yr*<sub>17</sub> در هفت ژنوتیپ ردیابی شد. لاین‌های WS-86-13، N-86-6 و N-87-6 حامل دو قطعه ژنی *Lr*<sub>37</sub>/*Sr*<sub>38</sub>/*Yr*<sub>17</sub> و *Lr*<sub>26</sub>/*Sr*<sub>31</sub>/*Yr*<sub>9</sub> بودند و لاین S-87-20 حامل دو قطعه ژنی *Lr*<sub>34</sub>/*Yr*<sub>18</sub>/*Pm*<sub>36</sub> و *Lr*<sub>37</sub>/*Yr*<sub>17</sub>/*Sr*<sub>38</sub> بود. با استفاده از نشانگر csLV34b در هیچ یک از گندم‌های دوروم قطعه ژنی *Lr*<sub>34</sub> وجود نداشت.

واژه‌های کلیدی: زنگ‌های گندم، ژن‌های مقاومت، مقاومت گیاهچه‌ای، مقاومت گیاه کامل، نشانگرهای مولکولی.

## مقدمه

زنگ‌ها همواره به عنوان بیماری‌های مهم گندم، دارای خسارت اقتصادی قابل توجهی در سطح جهان بوده‌اند و بیشترین خسارت را در طول تاریخ به این محصول وارد کرده‌اند. سه بیماری زنگ گندم شامل زنگ زرد یا نواری *Puccinia striiformis* f.sp. *tritici* زنگ قهوه‌ای یا برگ *Puccinia triticina* Eriksson و زنگ ساقه یا ساقه *Puccinia graminis* Pers. f.sp. *tritici* بوده و از این میان زنگ قهوه‌ای گندم به لحاظ وسعت پراکندگی و میزان خسارت در دنیا، مهم‌ترین بیماری گندم به شمار می‌رود (Huerta-Espino *et al.*, 2011). در ایران این بیماری از نظر اهمیت پس از بیماری زنگ زرد قرار دارد (Torabi *et al.*, 2003). اصلاح برای ایجاد مقاومت در ارقام گندم نسبت به این بیماری بیشترین تاثیر و راهبرد پیشگیرانه در کاهش خسارت بیماری دارد. در حال حاضر وجود بیش از ۱۵۰ ژن مقاومت به سه زنگ قهوه‌ای، زنگ زرد و زنگ ساقه در گندم و یا گرامینه‌هایی که با گندم خویشاوندی دارند تایید شده است که در حدود ۷۰ ژن مربوط به ژن‌های مقاومت به زنگ قهوه‌ای است (McIntosh *et al.*, 2012, 1995). پیش نیاز استفاده مستقیم از ژن‌های مقاومت به زنگ در برنامه به‌نژادی، شناسایی ژن‌های مقاومت موجود در منابع مختلف و در ارقام گندم است. برای اطلاع از موثر بودن ژن‌ها باید از ساختار ژنتیکی

بیمارگر شناخت کافی وجود داشته باشد سپس نسبت به انتخاب و انتقال ژن به ارقام برای مناطق اقدام شود. در مطالعه پاتوتایپ‌ها و نژادهای فیزیولوژیک عامل بیماری زنگ قهوه‌ای گندم و پراکنش آن در ایران مشخص شد که تنوع بسیار بالایی در جمعیت عامل بیماری زنگ قهوه‌ای کشور وجود دارد (Dadrezai *et al.*, 2012). به دلیل تنوع بالای نژادها در ایران تنها تعداد کمی از ژن‌های مقاومت، به تمام پاتوتایپ‌های موجود در کشور مقاومت خوبی نشان دادند (Dadrezai *et al.*, 2012). تجزیه جمعیت زنگ قهوه‌ای در اروپا یک ترکیب بالایی از بیماری‌زایی در بیمارگر را نشان داده و میان پیدایش و شکسته شدن مقاومت ارقامی که ژن‌های مقاومت مربوطه را حمل می‌کنند پیوستگی وجود دارد به عنوان مثال در سال ۱۹۹۵ پاتوتایپ‌هایی از زنگ قهوه‌ای با بیماری‌زایی روی ژن‌های  $Lr_2$ ،  $Lr_{11}$ ،  $Lr_{17}$  و  $Lr_{26}$  با فراوانی بالایی در اروپا ردیابی شدند در همان زمان ارقامی که این ژن‌های مقاومت را حمل می‌کردند در مقیاس وسیع کشت می‌شدند. رقم *Contra* که حامل ژن  $Lr_{17}$  بود در ۸/۴٪ مناطق اروپا کشت می‌شد و رقم *Toronto* که حامل ژن  $Lr_{26}$  بود در ۷٪ مناطق اروپا کشت می‌شد (Park *et al.*, 2001). به دلیل تنوع بیماری‌زایی بالا در جدایه‌های مختلف زنگ مقاومت نژاد اختصاصی در کل پایدار نبوده و شکسته شدن مقاومت آن برای

صفت مورد نظر دارد که موجب موثر بودن نشانگرها در پس زمینه‌های متفاوت ژنتیکی و تکرار پذیری بالا و قابل اعتماد بودن آن نشانگر در آزمایشگاه‌ها می‌شود (Gupta *et al.*, 1999). اعتباریابی نشانگرهای مولکولی در پس زمینه‌های متفاوت ژنتیکی یک پیش نیاز در کاربرد آن‌ها در فرایند انتخاب به کمک نشانگرهای پیوسته است (Błaszczyk *et al.*, 2008). اگرچه نشانگرهای مولکولی متعددی برای جایگاه مقاومت به زنگ قهوه‌ای توسط محققان مختلف شرح داده شده است ولی اطلاعات کمی در مورد استفاده عملی از آن‌ها در اصلاح گندم وجود دارد (Stepień *et al.*, 2003). برای ژن‌های مقاومت به زنگ قهوه‌ای  $Lr_1$ ,  $Lr_9$ ,  $Lr_{10}$ ,  $Lr_{13}$ ,  $Lr_{16}$ ,  $Lr_{19}$ ,  $Lr_{20}$ ,  $Lr_{21}/Lr_{40}$ ,  $Lr_{24}$ ,  $Lr_{25}$ ,  $Lr_{26}$ ,  $Lr_{28}$ ,  $Lr_{29}$ ,  $Lr_{34}$ ,  $Lr_{35}$ ,  $Lr_{37}$ ,  $Lr_{39}/41$ ,  $Lr_{46}$ ,  $Lr_{47}$ ,  $Lr_{50}$ ,  $Lr_{51}$  و  $Lr_{52}$  (Gold *et al.*, 1999؛ Huang and Gill, 2001؛ Mago *et al.*, 2005؛ Obert *et al.*, 2005؛ Helguera *et al.*, 2005a,b) نشانگرهای مبتنی بر PCR (SNPs, SSRs, STS, SCARs, CAPSs) توسعه یافته است. بیشترین فراوانی ژن‌های زنگ قهوه‌ای که در ارقام گندم اروپایی شناسایی شده‌اند عبارتند از  $Lr_{11}$ ,  $Lr_{13a}$ ,  $Lr_{17b}$ ,  $Lr_{20}$ ,  $Lr_{26}$  و  $Lr_{37}$  (Woxniak-Strzembicka, 2003). (Pathan and Park, 2006).

اعتبار و موفقیت آمیز بودن نشانگرهای

ژن‌های  $Lr_2$ ,  $Lr_3$ ,  $Lr_9$ ,  $Lr_{11}$ ,  $Lr_{18}$ ,  $Lr_{24}$  و  $Lr_{26}$  گزارش شده است (Kolmer, 2005). مقاومت نژاد غیر اختصاصی تنها به سه ژن مقاومت به زنگ قهوه‌ای  $Lr_{34}$  (Krattinger *et al.*, 2009) و  $Lr_{46}$  (Singh *et al.*, 1998) و ژن جدید  $Lr_{67}$  که اخیراً معرفی شده (Herrera-Foessel *et al.*, 2011) محدود می‌شود که پیوستگی با واکنش فوق حساسیت ندارند.

روش‌های معمول در انتقال ژن‌های مقاومت زنگ از خویشاوندان گندم یا هر می کردن ژن‌ها در لاین‌های پیشرفته اصلاحی بسیار طولانی و پر زحمت است. این کار پیچیده و نیازمند اجرای آزمون‌های آلودگی در جمعیت در حال تفرق با استفاده از نژادهای مناسب است. نشانگرهای مولکولی پیوسته به ژن‌های مقاومت زنگ نسبت به انتخاب فنوتیپی که دارای محدودیت است برتری بارز و اثبات شده‌ای دارد. در کل استفاده از نشانگرهای مولکولی باعث تسهیل انتخاب در هر می کردن ژن‌ها، تلاقی‌های برگشتی و همچنین سهولت انتخاب والدین در برنامه‌های تلاقی می‌شود (Francia *et al.*, 2005). (Gupta *et al.*, 1999). شناسایی موثر ژن‌های مقاومت به زنگ را امکان پذیر می‌کند (Stepień *et al.*, 2003). کاربرد موفقیت آمیز نشانگرهای DNA در برنامه‌های به‌نژادی بستگی به میزان پیوستگی میان نشانگر و

مطلوب را در ژنوتیپ‌ها تشخیص داد. استفاده از این تکنیک در برنامه‌های به‌نژادی در کنار ارزیابی‌های فنوتیپی در مزرعه و یا گلخانه بهره‌وری در انتخاب را بالا برده است.

دستیابی به اطلاعات ژن‌های مقاومت موجود در ژنوتیپ گندم ایران با استفاده از نشانگرهای مولکولی برای بهبود وضعیت مقاومت ارقام به زنگ‌ها و انتخاب دقیق ژرم‌پلاسماها در تلاقی‌ها و برنامه به‌نژادی کشور از اهداف اصلی این پژوهش بود. همچنین ارزیابی دقت نشانگرهای مولکولی برای ردیابی ژن‌های مقاومت به زنگ‌ها و ارزش تشخیصی نشانگرها در مقایسه با داده‌های به دست آمده از مزرعه و گلخانه از جمله اهداف دیگر این مطالعه بود.

## مواد و روش‌ها

### مواد گیاهی

بذر ۱۲۴ رقم تجاری و لاین‌های پیشرفته هگزاپلوئید و تتراپلوئید گندم ایران از کلکسیون بخش تحقیقات غلات موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر دریافت شد. دو سری بذر ارقام تقریباً ایزوژنیک افتراقی تاچر که دارای ژن‌های مقاومت به زنگ قهوه‌ای و همچنین بذر ارقام افتراقی دریافت شده از کانادا که حامل ژن‌های زنگ سیاه و زرد بودند به عنوان کنترل مثبت استفاده شدند. در این آزمایش با استفاده از نشانگرهای مولکولی مربوط به ژن‌های مقاومت گیاهچه‌ای  $Lr_{25}$ ،  $Lr_{28}$ ،  $Lr_{29}$  و  $Sr_{26}$  یا قطعه‌های ژنی  $Lr_{19}/Sr_{25}$ ،  $Lr_{20}/Sr_{15}/Pm_1$

مولکولی برای ژن‌های اختصاصی  $Lr_9$ ،  $Lr_{10}$ ،  $Lr_{19}$ ،  $Lr_{24}$ ،  $Lr_{28}$ ،  $Lr_{29}$ ،  $Lr_{35}$ ،  $Lr_{37}$  و  $Lr_{47}$  روی سری لاین‌های تقریباً ایزوژنیک تاچر و لاین‌های اصلاح شده بررسی شد. تجزیه و تحلیل این نشانگرها در هفت آزمایشگاه اروپایی موفقیت‌آمیز بود (Błaszczyk et al., 2004)؛ ارزیابی (Chelkowski et al., 2003). ۱۲ نشانگر اختصاصی جدید STS و SCAR با پیوستگی با ژن‌های مقاومت به زنگ قهوه‌ای  $Lr_9$ ،  $Lr_{19}$ ،  $Lr_{20}$ ،  $Lr_{21}$ ،  $Lr_{24}$ ،  $Lr_{25}$ ،  $Lr_{26}$ ،  $Lr_{28}$ ،  $Lr_{29a}$  و  $Lr_{37}$  در سری ۴۴ تایی لاین‌های تقریباً ایزوژنیک تاچر و ژنوتیپ‌های گندم مرجع با قیاس ژن‌های مقاومت زنگ قهوه‌ای انجام شده است (Chelkowski et al., 2003)؛ (Błaszczyk et al., 2004, 2008).

در تحقیقات به‌نژادی گندم کشورهای پیشرفته استفاده‌های عملی از علوم و تکنولوژی‌های نشانگرهای مولکولی در به‌نژادی نهادینه شده است. استفاده از نشانگرهای مولکولی در به‌نژادی گندم دقت و سرعت شناسایی منابع مقاومت را افزایش داده و استفاده از این منابع در ارقام زراعی را بسیار کوتاه کرده است. امروزه با به کارگیری این علوم و تکنیک‌های اصلاح نباتات طول این زمان کاهش یافته است، در واقع یک راه میان‌بر برای تشخیص فنوتیپی ارقام نشانگرهای ژنتیکی هستند و با کمک نشانگرها می‌توان ژن‌های

تحقیق در ترموسیکل 100 PTC (MJ Research, Waltham, MA) تکثیر شد. محصول تکثیر شده در ژل آگاروز که حاوی بافر 0.5X TBE تفکیک شدند و سپس ژل برای رنگ آمیزی به مدت ۱۵ دقیقه در اتیدیوم بروماید قرار داده شدند. سپس در دستگاه ژل داکيومنت دیجیتالی UV (Gel Doc XR Universal Hood II) با استفاده از بسته نرم‌افزاری (Bio-Rad, München, Germany) آل‌ها مشاهده و عکس برداری شدند.

#### نتایج و بحث

مشخصات ژنوتیپ‌های گندم مورد بررسی در جدول ۱ و مشخصات نشانگرهای مولکولی ژن‌های مقاومت به زنگ‌ها و توالی آن‌ها در جدول ۲ نشان داده شده‌اند.

#### اختصاصی بودن نشانگرهای DNA برای

##### ژن‌های مقاومت به زنگ‌ها

در این آزمایش با استفاده از نشانگرهای مولکولی مربوط به ژن‌های مقاومت گیاهچه‌ای  $Lr_{25}$ ،  $Lr_{28}$ ،  $Lr_{29}$  و  $Sr_{26}$  و قطعات ژنی  $Lr_{20}/Sr_{15}/Pm_1$ ،  $Lr_{24}/Sr_{24}$ ،  $Lr_{35}/Sr_{39}$  و  $Lr_{26}/Sr_{31}/Yr_9$  و همچنین  $Lr_{37}/Sr_{38}/Yr_{17}$  قطعه ژنی مقاومت گیاه کامل نسبت به زنگ قهوه‌ای و زنگ زرد و سفیدک پودری  $Lr_{34}/Yr_{18}/Pm_{36}$  در ۱۲۴ ژنوتیپ گندم ایران بررسی گردید باندهای اختصاصی برای ژن‌های

$Lr_{24}/Sr_{24}$ ،  $Lr_{35}/Sr_{39}$ ،  $Lr_{26}/Sr_{31}/Yr_9$  و  $Lr_{37}/Sr_{38}/Yr_{17}$  همچنین حضور و عدم حضور قطعه ژنی مقاومت گیاه کامل نسبت به زنگ قهوه‌ای و زنگ زرد و سفیدک پودری  $Lr_{34}/Yr_{18}/Pm_{36}$  که در گروه ژن‌های مرحله گیاه کامل (APR) به یک زنگ یا چند زنگ قرار می‌گیرد در ۱۲۴ ژنوتیپ گندم ایران بررسی شد. نشانگرهای مولکولی اختصاصی مورد استفاده روی ارقام ایزوژنیک که ژن‌های مقاومت را حمل می‌کنند به عنوان شاهد‌های مثبت و منفی آزمایش منظور شدند.

#### استخراج DNA

برای استخراج DNA از روش اصلاح شده تری متیل آلومینیم بروماید CTAB دستور العمل سیمیت (Anonymous, 2005) استفاده شد.

#### واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR)

واکنش PCR جفت پرایمرهای انتخاب شده در ارقام گندم بر اساس دستورالعمل آزمایشگاهی یکاردا انجام شد. حجم نهایی واکنش  $20 \mu\text{l}$  PCR و شامل  $2 \mu\text{l}$  از DNA گیاه،  $10 \mu\text{l}$  بافر 10X PCR، 0.5 units از Taq DNA پلی‌مرز، dNTPs (غلظت نهایی 0.2 mM) و پرایمرها غلظت نهایی هر کدام (0.1 mM) بود واکنشگرها از Applied Biosystems (Foster City, CA) تهیه شدند. نشانگرهای مولکولی ژن‌های مقاومت مورد بررسی در این

جدول ۱- مشخصات ژنوتیپ‌های گندم ایران و حضور ژن‌های مقاومت به سه زنگ قهوه‌ای، زرد و سیاه به کمک نشانگرهای مولکولی پیوسته به این ژن‌ها

Table 1. Profile of Iranian wheat genotypes and the presence of resistance genes to leaf, yellow and stem rust, by molecular markers linked to these genes

No.	Wheat genotype	Pedigree	<i>Lr26/Sr31/Yr9</i>	<i>Lr37/Sr38/Yr17</i>	<i>Lr34/Yr18/Pm36</i>	<i>Lr24/Sr24</i>	<i>Lr20/Sr15</i>	<i>Lr25</i>	<i>Lr28</i>	<i>Lr29</i>	<i>Lr35/Sr39</i>	<i>Sr26</i>
			<i>Lr26</i>	<i>Lr37</i>	<i>Lr34</i>	<i>Lr24</i>	<i>Lr20</i>	<i>Lr25</i>	<i>Lr28</i>	<i>Lr29</i>	<i>Lr35</i>	
1	Adl	Adl	<i>Sr31</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	Alamoot	KVZ/Ti71/3/Maya"s//Bb/Inia/4/Kj2/5/Anza/3/Pi/Ndr/Hys	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	Alborz	Fn-Md*K117a/Cofn2(Son64-k1.Rend/Cno"s"LR642-SON64)CM-2182	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	Alvand	1-27-6275/CF1770	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	Aflak	S-80-18	-	-	<i>LR34</i>	-	-	-	-	-	-	-
6	Arta	Arta	<i>Sr31</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	Arya	Stork	-	-	MIS	-	-	-	-	-	-	-
8	Atrak	Bow"s//Nkt"s"(CM67428-GM-LR-5M-3R-LB-Y)	<i>Sr31</i>	-	H	-	-	-	-	-	-	-
9	Azar 2	Azar 2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	Bahar	Bloy ka	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11	Bam	Vee"s//Nac//1-66-22	-	-	<i>LR34</i>	-	-	-	-	-	-	-
12	Falat	Kvz/Buho"s//Kal/Bb= Seri82	<i>Sr31</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13	Mahdavi	Ti/Pch/5/Mt48/3/Wt*/Nar59/Tota63/4/Mus	<i>Sr31</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14	Tajan	Bow"s//Nkt"s"(CM67428-GM-LR-5M-3R-LB-Y)	<i>Sr31</i>	-	<i>LR34</i>	-	-	-	-	-	-	-
15	Shirodi	Attila(CM85836-4Y-OM-OY-8M-OY-opz)	<i>Sr31</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16	Dez	Kauz*2/Opta//Kauz	<i>Sr31</i>	-	<i>LR34</i>	-	-	-	-	-	-	-
17	Moghan 3	Luan/3/V763.23/V879.C8//Pvn/4/Picus/5/Opata	<i>Sr31</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	Mis
18	Darya	SHAU/Chil	<i>Sr31</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
19	Star	Star"s	<i>Sr31</i>	-	H	-	-	-	-	-	-	-
20	Rasool	Veery"s"=Kvz/Buho "s//Kal/BB	<i>Sr31</i>	-	<i>LR34</i>	-	-	-	-	-	-	-
21	Golestan	Alondra"s	<i>Sr31</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
22	Chamran 2	Attila 50Y//Attila/Ben	<i>Sr31</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
23	Veerynak	Veerynak	<i>Sr31</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
24	Chamran	Attila(CM85836-50Y-OM-OY-3M-OY)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
25	Maron	Avd*Pchu((28mt54A*N10-Brv21-1c/Kt54B)Nar59,1093))7c	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
26	Navid	(Kirkpinar 79) 63-112/66-2*7C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
27	Hirmand	Byt/4/Iar//Cfn//Sr70/3/Jup"s	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-
28	Zarin	PK15841	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
29	Darab 2	Maya"s//Nac	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-
30	Chanab	Chanab	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
31	Nicknejad	F13471/Crow"s	-	-	<i>LR34</i>	-	-	-	-	-	-	-
32	Kavir	Stm/3/Kal//V534/Jit716	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
33	Marvdasht	HD2172/Bloudan//Azadi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
34	Pishtaz	Alvand//Aldan/Ias58	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
35	Shiraz	Gv/D630//Ald"s//3/Azd	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
36	Hamon	Falat/Roshan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
37	Toos	"Spn/Mcd//Cama/3/Nzr"	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
38	Shahriar	KVZ/Ti71/3/Maya"s//Bb/Inia/4/Kj2/5/Anza/3/Pi/Ndr/Hys	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
39	Ghods	Rsh/5/Wt/4/Nor10/K54*2//Fn/3/Ptr/6/Omid//Kal/Bb	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
40	Sistan	Bank"s//Vee"s	-	-	<i>LR34</i>	-	-	-	-	-	-	-
41	Neishabour	1-63-31/3/12300/Tob//cno/sx	-	-	<i>LR34</i>	-	-	-	-	-	-	-
42	Moghan 1	(LR-N10B)*An3E	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-

Table 1. Continued

No.	Wheat genotype	Pedigree	Lr26/Sr31/Yr9 Lr26	Lr37/Sr38/Yr17 Lr37	Lr34/Yr18/Pm36 Lr34	Lr24/Sr24 Lr24	Lr20/Sr15 Lr20	Lr25 Lr25	Lr28 Lr28	Lr29 Lr29	Lr35/Sr39 Lr35	Sr26
43	Moghan 2	choti Lerma	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-
44	Yavarous	Yavaros79	-	-	MIS	-	-	-	-	-	-	-
45	Zagros	CN,79/7/2*Ser82	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-
46	Sepahan	Azd/5/L2453/1347/4/Kal//Bb/Kal/3/Au//Y50E/Kal*3	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-
47	Dena	Tarro3	-	-	MIS	-	-	-	-	-	-	-
48	Pishgham	Bkt/90-Zhong87	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
49	Sabalan	908*FnA12)*1-32-4382	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
50	Sivand	Kaus"s"/Azd	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
51	Omid	Omid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
52	Shapasand	Shapasand	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
53	Karaj 1	(200H*Vfn)Rsh	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
54	Karaj 2	(Fa*Th-Mt)Omid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
55	Karaj 3	(Dre*Mxp/Son64*Tzpp-Y54)Nai60	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
56	Tabasea	Tabasea	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
57	Inia	Inia	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-
58	Kaveh	Fta-P1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
59	Sorkh Tokhm	Sorkh Tokhm	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
60	Morvaread	milan/shaw7	-	Yr17	-	-	-	-	-	-	-	-
61	Gaspard	Gaspard	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
62	Gascogen	Gascogen	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
63	Soissons	Iena/3/Jena//Hybride-Naturel/HN-35	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
64	Karkkeh	Shwa/Mald//Aaz	-	-	MIS	-	-	-	-	-	-	-
65	Oroum	Alvand//Ns732/Her	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
66	MV-17	MV-17	Sr31	-	LR34	-	-	-	-	-	-	-
67	N-86-4	MILAN CM75118//KA CM 75118/K1/3/TAJAN (DH)	Sr31	-	-	-	-	-	-	-	-	-
68	N-86-6	VORONA/CNO79//KAUZ/3/MILAN	Sr31	Yr17	-	-	-	-	-	-	-	-
69	N-86-11	CMH82A.1294/2*KAUZ//MUNIA/CHTO/3/MILAN	Sr31	-	-	-	-	-	-	-	-	Mis
70	N-87-4	BAV92/PRINIA//TAM200/PRL	Sr31	-	-	-	-	-	-	-	-	-
71	N-87-6	JIMAI36/3/3/OASIS/KAUZ//4*BCN/4/89ZHONG2	Sr31	Yr17	-	-	-	-	-	-	-	-
72	N-87-13	PF74354//LD/ALD/4/2*BR12*2/3/JUP//PAR214*6/FB6631/5/SW89-5124*2/FASAN/6/TILH	Sr31	-	-	-	-	-	-	-	-	-
73	N-88-3	MERUA//TURACO/CHIL/3/TAJAN	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
74	N-87-16	NANJING2149/KAUZ/4/JUP/ALD*S"//KIT"S"/3/VEE"S"/5/SHA 7//HAHN"S"*2/PRL"S"	-	Yr17	-	-	-	-	-	-	-	-
75	C-87-14	SHA 7//HAHN"S"*2/PRL "S"/3/ATRAK	-	Yr17	-	-	-	-	-	-	-	-
76	C-83-8	130L1.11//F35.70/Mo73/4/Ymh/Tob//Med/3/Lira	-	-	LR34	-	-	-	-	-	-	-
77	C-84-8	Mihan = BKT/90Zhong87	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
78	C-85-3	Ghk"S"/Bow"S"//90Zong87/3/Shiroodi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
79	C-86-6	Yan7578.128//Chil/2*Star	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Mis
80	C-85-6	Mv17/Zrn	Sr31	-	H	-	-	-	-	-	-	-
81	C-86-3	Bloudan/3/Bb/7C*2//Y50E/3*Kal/4/Mv17	Sr31	-	-	-	-	-	-	-	-	-
82	M-85-16	PASTOR/3/VORONA/CNO79//KAUZ	Sr31	-	-	-	-	-	-	-	-	-
83	M-85-17	SITE/MO/3/Vorona/Bau//Bau	Sr31	-	-	-	-	-	-	-	-	-
84	M-85-6	Seri 82//Shuha"S"/4/Rbs/Anza/3/Kvz/Hys//Ymg/Tob	-	-	LR34	-	-	-	-	-	-	-
85	M-85-7	Seri82//Shuha"S"/4/Rbs/Anza/3/Kvz/Hys//Ymg/Tob	-	-	LR34	-	-	-	-	-	-	-
86	M-85-15	Mv22-77//Stephon/3/Mon"s"/Lmu"s"//Falke/4/Zarin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
87	M-86-3	Gaspard/3/Jup/Bjv//Kauz/4/Kayson/Glenson	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Table 1. Continued

No.	Wheat genotype	Pedigree	Lr26/Sr31/Yr9 Lr26	Lr37/Sr38/Yr17 Lr37	Lr34/Yr18/Pm36 Lr34	Lr24/Sr24 Lr24	Lr20/Sr15 Lr20	Lr25 Lr25	Lr28 Lr28	Lr29 Lr29	Lr35/Sr39 Lr35	Sr26
88	M-86-5	Alvd//Aldan/las*2/3/Gaspard	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
89	M-86-7	Alvd//Aldan/las/3/Druchamps/4/kauz/Stm	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
90	M-86-9	Owl 85256-*3OH-*O-*EOH/Mv17/3/Alvd//Aldan/las	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Mis
91	M-87-18	BABAX/LR42//BABAX	-	-	-	Lr24	-	-	-	-	-	-
92	S-83-4	F60314.76/MRL//CNO79/3/KA/NAC/4/STAR	Sr31	-	LR34	-	-	-	-	-	-	-
93	S-84-14	PASTOR/3/KAUZ*2/OPATA//KAUZ	Sr31	-	H**	-	-	-	-	-	-	-
94	S-87-2	VEE/PJN//2*KAUZ/3/PASTOR	Sr31	-	-	-	-	-	-	-	-	-
95	S-87-8	KAUZ*2/BOW//KAUZ/3/BABAX	Sr31	-	-	-	-	-	-	-	-	-
96	S-87-18	CBRD-3/STORK X DICOCCOIDES	Sr31	-	-	-	-	-	-	-	-	-
97	S-85-19	INQALAB91*2/KUKUN	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
98	S-87-20	OASIS/KAUZ//4*BCN/3/2*PASTOR	-	Yr17	H	-	-	-	-	-	-	-
99	S-87-21	520- BABAX/LR42//BABAX*2/3/VIVITSI	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
100	WS-85-15	PBW343*2/KONK	Sr31	-	LR34	-	-	-	-	-	-	-
101	WS-86-5	Shi#4414/Crow"S"//Azd	Sr31	-	-	-	-	-	-	-	-	-
102	WS-86-8	SW89.5181/KAUZ	Sr31	-	LR34	-	-	-	-	-	-	-
103	WS-86-11	MUNIA/3/RUFF/FGO//YAV79/4/PASTOR	Sr31	-	-	-	-	-	-	-	-	-
104	WS-86-12	PJN/BOW//OPATA*2/3/CROC_1/AE.SQUARROSA (224)//OPATA	Sr31	-	LR34	-	-	-	-	-	-	-
105	WS-86-13	VORONA/CNO79//KAUZ/3/MILAN	Sr31	Yr17	-	-	-	-	-	-	-	-
106	WS-86-14	KAUZ/PASTOR	Sr31	-	LR34	-	-	-	-	-	-	-
107	SS-85-11	OMBU/ALAMO//MAHOOTI/3/1-66-22	Sr31	-	LR34	-	-	-	-	-	-	-
108	SS-85-20	OMBU/ALAMO//KAV/3/PASOR/SORKHTOKHM..	Sr31	-	H	-	-	-	-	-	-	-
109	DM-79-2	PORTO-7	-	-	MIS	-	-	-	-	-	-	-
110	DM-81-6	PLATA-1/SNM//PLATA-9	-	-	MIS	-	-	-	-	-	-	-
111	DM-82-6	SOOTY-9/RASCON-37	-	-	MIS	-	-	-	-	-	-	-
112	DM-83-10	AUK/GUIL//GREEN	-	-	MIS	-	-	-	-	-	-	-
113	DM-84-3	RASCON-37/BEJAH-7	-	-	MIS	-	-	-	-	-	-	-
114	DM-85-10	RASCON-37/BEJAH-7	-	-	MIS	-	-	-	-	-	-	-
115	MS-85-15	Ombu/Alamo//Mahooti/3/1-66-22	-	-	LR34	-	-	-	-	-	-	-
116	MS-85-12	Ombu/Alamo//Alvd/3/Kauz/Stm	-	-	LR34	-	-	-	-	-	-	-
117	MS-84-13	GF-gy54/Attila	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-
118	MS-85-17	Sakha 8/Darab#2//1-66-22	-	-	LR34	-	-	-	-	-	-	-
119	MS-84-16	Gk zombor/Zrn	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
120	SS-85-6	1-66-22/3/GUP/BGY//kauz	-	-	LR34	-	-	-	-	-	-	-
121	SS-85-10	OMBU/ALAMO//ALVD/3/1-66-22	-	-	LR34	-	-	-	-	-	-	-
122	SS-85-14	SAKHA 8/DARAB#2//1-66-22	-	-	LR34	-	-	-	-	-	-	-
123	Bezostaya	Bezostaya	-	-	LR34	-	-	-	-	-	-	-
124	Susceptible control	Bolany	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Mis:missing band



جدول ۲- مشخصات نشانگرهای مولکولی ژنهای مقاومت به زنگ، توالی، اندازه قطعه تکثیر شده و شرایط PCR به کار رفته برای شناسایی ژنهای مقاومت در ژنوتیپهای گندم ایران

Table 2. Molecular markers, primer sequences, expected fragment sizes and PCR conditions to identify DNA marker linked for rust resistance genes in Iranian wheat genotypes

Gene	Genome location	Primer Name	Forward/Reverse Sequence of primer (5'-3')	Expected Size		PCR Condition
				Present	Absence	
<i>Lr20/Sr15</i>	7AL	STS638-L STS638-R	ACAGCGATGAAGCAATGAAA GTCCAGTTGGTTGATGGAAT	540 bp		94oC/3min.; 40 cycles (94oC /1 min; 58oC/1 min; 72oC/2 min); 72oC/10 min
<i>Lr24/Sr24</i>	3DL	Sr24#12-F Sr24#12-R	CACCCGTGACATGCTCGTA AACAGGAAATGAGCAACGATGT	500 bp		94oC/3min.; touchdown step (7 cycles, 1oC down each cycle ) (94oC/30s; 65oC/30s; 72oC/40s);30 cycles (94oC/30s; 58oC/30s; 72oC/40s) 72oC/10min
<i>Lr25</i>	4BS	Lr25F20 Lr25R19	CCACCCAGAGTATAACCAGAG CCACCCAGAGCTCATAGAA	1800 bp		94oC/3min.; 36 cycles (94oC/1min; 58oC/1min; 72oC/2min ); 72oC/10min
<i>Lr26/Sr31/Yr9/Pm8</i>	Lbl	Iag95F Iag95R	CTCTGTGGATAGTTACTTGATCGA CCTAGAACATGCATGGCTGTTACA	1200 bp		94oC/3min.; 30 cycles (94oC/30s; 55oC/1min; 72oC/70s); 25oC/2min
<i>Lr28</i>	4AL	SCS421570-1 SCS421570-2	ACAAGGTAAGTCTCCAACCA AGTCGACCGAGATTTAACC	570 bp		94oC/2min.; 35 cycles (94oC/1min; 60oC/1min; 72oC/1min); 72oC/7min
<i>Lr29</i>	7DS	IPY10-R Lr29F24	GTGACCTCAGGCAATGCACACAGT GTGACCTCAGAACCGATGTCCATC	900 bp		94oC/3min.; 15 cycles (94oC/1min; 60oC/1min; 72oC/2min); 25 cycles (94oC/1min; 57oC/1min; 72oC/2min) 72oC/10min
<i>Lr34/Yr18/Pm38/Ltn1</i>	7DL	csLV34F csLV34R	GTTGGTTAAGACTGGTGATGG TGCTTGCTATTGCTGAATAGT	150 bp	229 bp	94oC/3min.;45 cycles (94oC/15s; 58oC/15s; 72oC/15s); 72oC/10min
<i>Lr35/Sr39</i>	2B	Sr39F Sr39R	AGAGAGAGTAGAAGAGCTGC AGAGAGAGAGCATCCACC	900 bp		94oC/3min.; 35 cycles (94oC/1min; 60oC/1 min; 72oC/2min); 72oC/10min
<i>Lr37/Yr17/Sr38</i>	2AS	VENTRIUP LN2	AGGGGCTACTGACCAAGGCT TGCAGCTACAGCAGTATGTACACAAAA	259 bp		94oC/1min.; 30 cycles (94oC/45s; 65oC/30s; 72oC/1 min); 72oC/7min
<i>Sr26</i>	6 AL	Sr26#43-F Sr26#43-R	AATCGTCCACATTGGCTTCT CGCAACAAAATCATGCACTA	207 bp ( Present )		94oC/3min.; 35 cycles (94oC/1min; 60oC/1min; 72oC/2min); 72oC/10min
<i>Sr26</i>		BE518379-F BE518379-R	AGCCCGAAAATCTACTTTGA TTAAACGGACAGAGCACACG	303 bp ( Absence )		94oC/3min.; 35 cycles (94oC/1min; 60oC/1min; 72oC/2min); 72oC/10min

برای شناسایی ژن *Lr29* دو نشانگر SCAR به نام‌های IPY10 و *Lr29F24/R24* بررسی شد. باند 900 bp در نشانگر *Lr29F24/R24* تنها در لاین Tc+*Lr29* ایجاد شد و در دیگر ژنوتیپ‌ها و رقم حساس تاچر هیچ بانندی دیده نشد.

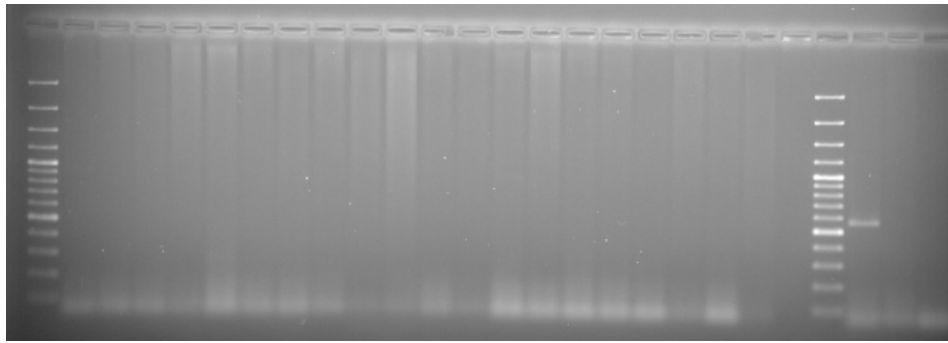
برای تشخیص ژن *Sr26* دو نشانگر *Sr26#43* و BE518379 که به ترتیب در پیوستگی و عدم پیوستگی با جایگاه *Sr26* ارتباط دارند استفاده شد. جفت پرایمر نشانگر *Sr26#43* یک تک باند پلی مورفیک 207 bp تنها در رقم تاچر حامل ژن شاهد مثبت تشکیل داد و در دیگر لاین‌های مورد بررسی بانندی تولید نکرد. پرایمر نشانگر BE518379 یک باند پلی مورفیک 303 bp در تمام ژنوتیپ‌های مورد بررسی و رقم تاچری که ژن را حامل نمی‌کند تولید کرد.

نشانگر *Sr24#12* برای ژن مقاومت زنگ قهوه‌ای *Lr24* تنها در لاین M-87-18 و شاهد مثبت (Tc+*Lr Lr24*) تکثیر گردید و باند اختصاصی 500 bp در دیگر لاین‌ها و رقم کنترل منفی وجود نداشت (شکل ۲).

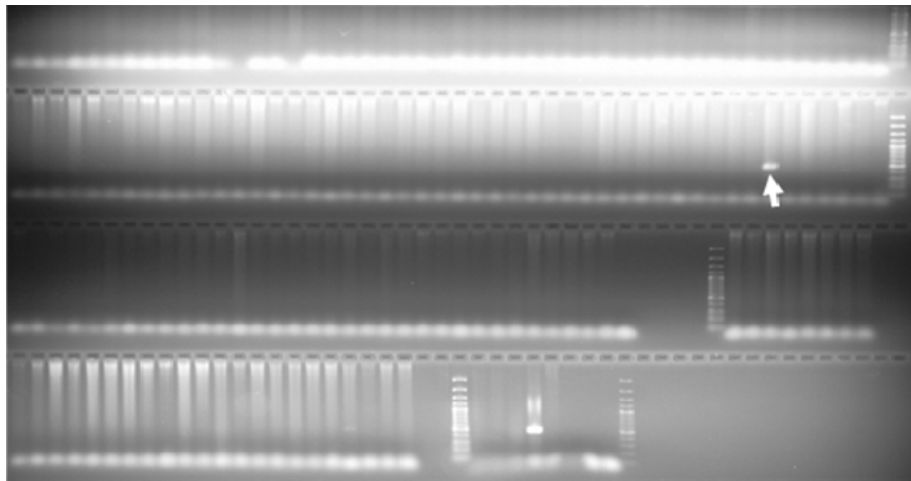
جفت پرایمرهای *Lr25F20/Lr25R19* برای شناسایی ارقام گندمی که ژن *Lr25* را (<http://maswheat.ucdavis.edu>) حمل می‌کنند پیشنهاد شده است. در این مطالعه باند مورد انتظار 1800 bp در لاین‌های که ژن *Lr25* را حمل می‌کنند مشاهده نشد و تنها در شاهد مثبت آن لاین تقریباً ایزوژنیک تاچر مشاهده شد.

مقاومت گیاهچه‌های *Lr25*، *Lr28*، *Lr29* و *Sr26* قطعات ژنی *Lr20/Sr15/Pm1* و *Lr35/Sr39* تنها در لاین‌های ایزوژنیک شاهد مثبت که ژن‌های مقاومت به زنگ‌ها را حمل می‌کردند و دارای ژن‌های مربوطه بودند ظاهر شدند و تمام ژنوتیپ‌های مورد بررسی در این تحقیق با نشانگرهای پیوسته به این ژن‌ها بانندی تولید نکرده و فاقد این ژن‌ها تشخیص داده شدند (جدول ۱ و شکل ۱). برای ژن‌های مقاومت *Lr24/Sr24*، *Lr31/Lr26/Yr9* و *Yr17/Lr37/Sr38* و همچنین قطعه ژنی *Lr34/Yr18/Pm36* علاوه بر شاهد‌های مثبت به ترتیب در ۱، ۴۰، ۷ و ۳۹ ژنوتیپ باندهای اختصاصی قطعات ژنی مذکور تکثیر شدند و این ژنوتیپ‌ها به عنوان حاملین این قطعات شناسایی شدند. نتایج واکنش زنجیره‌ای پلیمرز و باندهای تولید شده به این شرح بود که نشانگر STS638 که برای پیوستگی با جایگاه ژن‌های مقاومت *Lr20-Pm1* معرفی شده است (Neu et al., 2002). باند 542-bp را در ژنوتیپ‌های حامل تولید می‌کند و تنها در لاین Tc+*Lr20* که دارای ژن *Lr20* بود این باند را تولید کرد و هیچ باند اختصاصی در دیگر ارقام و رقم حساس تاچر تولید نکرد (شکل ۱).

نشانگر *SCS421570* برای شناسایی ژن *Lr28* استفاده شد. نیمرخ تشکیل باند 570 bp نشانگر *SCS421570* تنها در لاین Tc+*Lr28* که دارای ژن *Lr28* بود به دست آمد و در سایر ژنوتیپ‌ها غایب بود.



شکل ۱- تکثیر نشانگر اختصاصی ژن مقاومت به زنگ قهوه‌ای  $Lr_{20}$  در ژنوتیپ‌های گندم  
Fig. 1. Amplification the specific marker of rust resistance gene  $Lr_{20}$  in wheat genotypes(ladder: 100-bp)

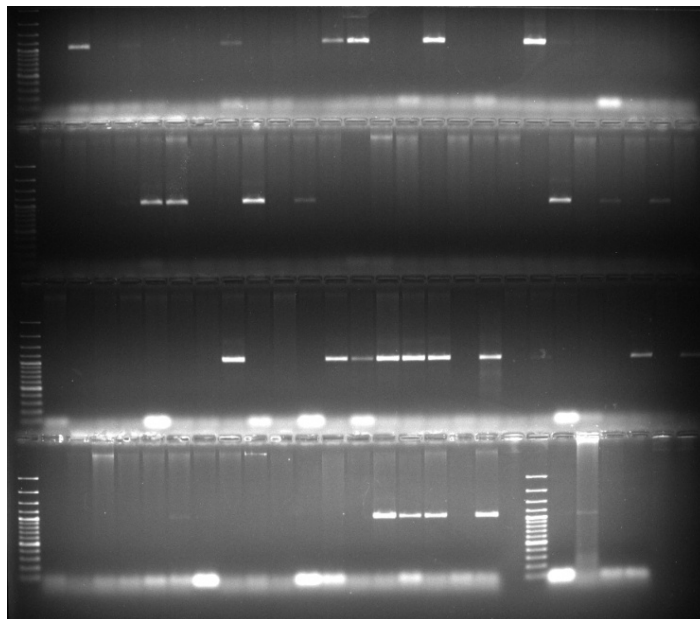


شکل ۲- تکثیر نشانگر اختصاصی ژن مقاومت به زنگ قهوه‌ای  $Lr_{24}/Sr_{24}$  در ژنوتیپ‌های گندم  
پیکان: لاین M-87-18

Fig. 2. Amplification the specific marker of rust resistance gene  $Lr_{24}/Sr_{24}$  in wheat genotypes  
Arrow: line M-87-18

ژنوتیپ‌های ایرانی بود. وجود این قطعات به دلیل حضور چند ژن مقاومت و چند اثری بودن آن‌ها و ترکیب ژن‌های مقاومت اختصاصی و مقاومت غیر اختصاصی در یک ژنوتیپ ارزش این ژنوتیپ‌ها را در برنامه‌های به‌نژادی فوق‌العاده بالا می‌برد. از جمله این ژنوتیپ‌ها می‌توان به ارقام اترک، تجن، دز، رسول، استار و MV-17 اشاره کرد. همچنین ارقام فلات،

نشانگر Iag95 برای ژن  $Sr_{31}/Lr_{26}/Yr_9$  یک باند شاخص 1200 bp در ژنوتیپ‌های که ژن  $Lr_{26}$  را حمل می‌کنند و لاین Tc+Lr26 تشکیل داد (شکل ۳). از ۱۲۴ ژنوتیپ مورد بررسی ۴۰ ژنوتیپ حامل این قطعه ژنی مهم بودند. که در این میان ۱۵ ژنوتیپ حامل هر دو قطعه ژنی  $Sr_{31}/Lr_{26}/Yr_9$  و  $Lr_{34}/Yr_{18}/Pm_{36}$  بودند این دو قطعه ژنی فراوان‌ترین قطعه ژنی مورد بررسی در



شکل ۳- تکثیر نشانگر اختصاصی ژن مقاومت به زنگ قهوه‌ای  $Lr_{26}/Sr_{31}/Yr_9$  در ژنوتیپ‌های گندم  
Fig. 3. Amplification the specific marker of rust resistance gene  $Lr_{26}/Sr_{31}/Yr_9$  in wheat genotypes

(Mago *et al.*, 2005a,b).

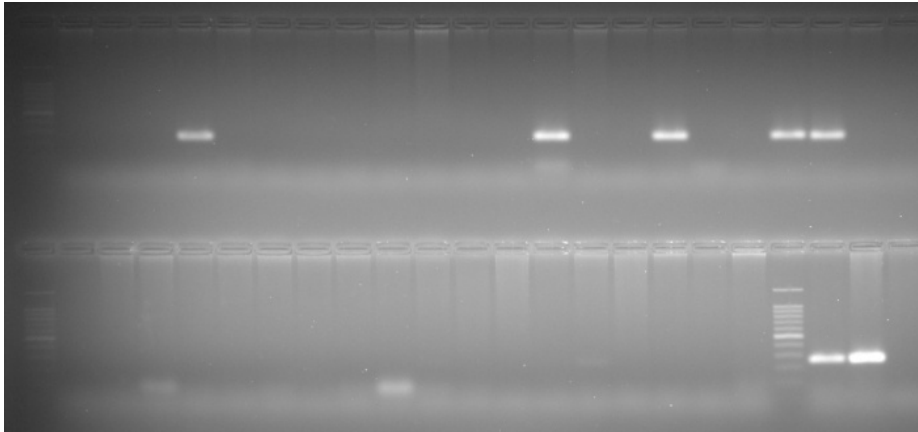
دو نشانگر VENTRIUP و LN2 که با قطعه ژنی  $Lr_{37}/Sr_{38}/Yr_{17}$  پیوستگی دارند در هفت ژنوتیپ و لاین Tc+Lr37 که ژن  $Lr_{37}$  را حمل می‌کند باند 259 bp را ایجاد کردند و در سایر ارقام هیچ محصولی مشاهده نشد. به عبارتی از ۱۲۴ ژنوتیپ مورد بررسی تنها هفت ژنوتیپ حامل قطعه ژنی  $Lr_{37}/Sr_{38}/Yr_{17}$  بودند که در میان آن‌ها لاین‌های N-86-6، N-87-6 و WS-86-13 حامل قطعات ژنی  $Lr_{26}/Sr_{31}/Yr_9$  و  $Lr_{37}/Sr_{38}/Yr_{17}$  بودند و لاین S-87-20 حامل دو قطعه ژنی  $Lr_{37}/Sr_{38}/Yr_{17}$  و  $Lr_{34}/Yr_{18}/Pm_{36}$  بود (شکل ۴).

برای ژن  $Lr_{34}$  تولید باند 150bp باعث تشخیص ژن  $Lr_{34}$  در ارقام حامل ژن می‌شود.

مهدوی، شیروودی، دریا، آرتا، عدل، گلستان، چمران ۲ و ویریناک حامل قطعه ژنی  $Sr_{31}/Lr_{26}/Yr_9$  بودند.

به نظر می‌رسد که فراوانی این قطعات در ژنوتیپ‌های مورد بررسی بیشتر به دلیل استفاده ژرم‌پلاسم مشتق شده از سیمیت خصوصاً رقم Kauz در برنامه‌های به‌نژادی ایران باشد.

منشاء هر دو ژن مقاومت به زنگ قهوه‌ای  $Lr_{25}$  و  $Lr_{26}$  چاودار است. اما ژن  $Lr_{25}$  در قطعه کروموزوم 2R چاودار وجود دارد که به کروموزوم 4A گندم با انتقال یک 4A/2R منتقل شده و ژن  $Lr_{26}$  در جابجایی 1BL/1RS قرار گرفته است. در مقابل ژن مقاومت به زنگ قهوه‌ای  $Lr_{24}$  از *Agropyron elongatum* به کروموزوم 3DS گندم نان منتقل شده است



شکل ۴- تکثیر نشانگر اختصاصی ژن مقاومت به زنگک قهوه‌ای *Lr37/Sr38/Yr17* در ژنوتیپ‌های گندم و دو شاهد مثبت

Fig. 4. Amplification the specific marker of rust resistance gene *Lr37/Sr38/Yr17* in wheat genotypes and two positive controls

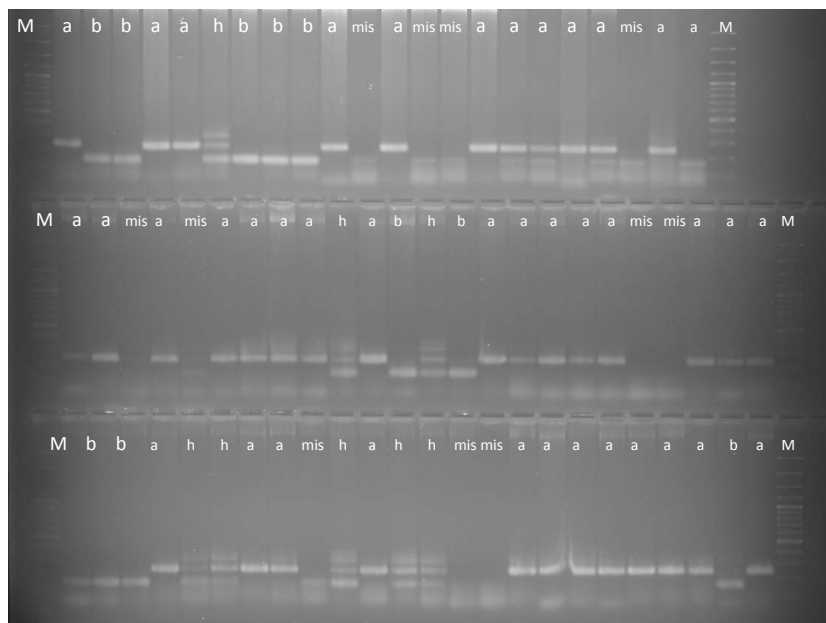
تشخیصی است، دارای ژن *Lr34* تشخیص داده شدند که این گروه خود نیز به دو گروه ۲۵ رقمی هموزیگوت که فقط باند 150bp را تولید کردند و ۱۴ ژنوتیپ علاوه بر باند 150bp دارای باند 229-bp نیز بودند، تقسیم شدند. از ۱۴ ژنوتیپ هتروزیگوت ۱۲ ژنوتیپ از آنها فنوتیپ نشانگر منحصر بفردی را ارائه کردند. در این دوازده ژنوتیپ محصول تکثیر شده PCR دارای الگوی سه بانندی بود که شامل آلل *csLV34a* و آلل *csLV34b* هر دو به همراه یک باند اضافی با وزن مولکولی بالاتر (280bp) بودند. در مطالعه کولمر و همکاران (Kolmer et al., 2008) که شامل کلکسیون ارقام جهانی بود نیز الگوی سه بانندی در ارقام هتروزیگوت مشاهده شد با این تفاوت که اغلب ارقام هتروزیگوت دارای الگوی دو بانندی بودند و ارقامی که تولید الگوی سه بانندی کردند دارای فراوانی کمتری بودند. ضمن این که

این باند متعلق به آلل *csLV34b* که با ژن *Lr34* پیوسته و همراه است، می‌باشد (Kolmer et al., 2008). باند دیگری که تولید می‌شود باند بزرگ‌تر بوده (229-bp) و متعلق به آلل *csLV34a* است که با عدم حضور *Lr34* همراه است. زمانی که رقم فاقد ژن مقاومت *Lr34* باشد این آلل بزرگ‌تر تولید می‌شود. اما در ارقامی که هتروزیگوت هستند هر دو آلل حضور دارند و هر دو باند را به طور همزمان تولید می‌کنند (Kolmer et al., 2008).

بر اساس نتایج به دست آمده، از ۱۲۴ ژنوتیپ بررسی شده ۸۵ ژنوتیپ فاقد این ژن بودند و تنها باند تکثیر شده در این ارقام باند 229-bp بود. این باند متعلق به آلل *csLV34a* است و نشان از عدم حضور ژن *Lr34* در این ژنوتیپ‌ها دارد. سی و نه ژنوتیپ نیز به دلیل تولید باند 150bp که برای ژن *Lr34* باند

تنها تولید باند 229-bp کردند و شاهد منفی (آب) هیچ بانندی تولید نکرد (شکل ۵).

شاهد مثبت این مطالعه تنها باند 150bp و تاچر و رقم بولانی حساس و همچنین تمام ارقام حساس



شکل ۵- تکثیر محصول PCR گندم با استفاده از پرایمرهای csLV34 F and R

M: نشانگر (ladder) 100-bp ؛ a: تولید باند بزرگتر (229 bp) این آلل طویل تر مترادف با csLV34a و عدم وجود ژن *Lr34*؛ b: تولید باند کوچکتر (150 bp) حضور آلل csLV34b که تشخیص دهنده ژن *Lr34*؛ h: هتروزیگوت؛ mis: فقدان هر گونه باند

Fig. 5. PCR products from wheat cultivars using csLV34 F and R primers

M: 100-bp ladder; a: The larger amplification product (229 bp) corresponds to csLV34a size marker; b: the smaller product (150 bp) is the csLV34b allele; h: heterozygote; mis: missing band

در لاین‌های پیشرفته اقلیم گرم و مرطوب شمال از هشت لاین پیشرفته شمال کشور هیچ کدام حامل ژن *Lr34* نبودند و همه دارای آلل csLV34a بودند و از هفت لاین پیشرفته اقلیم سرد دو لاین دارای ژن *Lr34* و از ده لاین پیشرفته اقلیم گرم جنوب چهار لاین دارای ژن *Lr34* بودند. از ده لاین اقلیم معتدل دو لاین دارای باند 150bp بودند که دلالت بر وجود ژن *Lr34* در این دو لاین داشت.

فراوانی آلل csLV34b (150bp) که با ژن *Lr34* پیوستگی دارد در ارقام و لاین‌های ایرانی ارزیابی شده بالا بود و از ۱۲۴ ژنوتیپ بررسی شده ۳۹ ژنوتیپ آلل تشخیصی *Lr34* را داشتند که فراوانی ۳۱٪ رانشان می‌دهد (جدول ۱) و به تفکیک به شرح ذیل بود: در ارقام تجاری ایران از ۶۶ رقم تجاری ۱۸ رقم دارای آلل csLV34b که تشخیص دهنده ژن *Lr34* است را دارا بودند.

همکاران در سال ۱۳۸۸). همچنین رقم بم که اخیراً برای مناطق معتدل با تنش شوری خاک و آب معرفی شده است حامل ژن  $Lr_{34}$  است (Vahabzadeh et al., 2009).

در این مطالعه ده ژنوتیپ از گندم دوروم شامل چهار رقم و شش لاین بررسی شدند، این ژنوتیپ‌ها هیچ بانندی جهت تایید حضور و یا عدم حضور ژن  $Lr_{34}$  تولید نکردند. برای این ژنوتیپ‌ها به طور جداگانه آزمایش با شاهد‌های مثبت و منفی چندین نوبت تکرار شد که نتیجه مشابه به دست آمد. عدم وجود باندها یا قطعه تکثیر شده در گندم‌های دوروم به دلیل فقدان ژنوم D قابل توجیه است زیرا که ژن  $Lr_{34}$  در روی بازوی کوچک کروموزوم شماره هفت ژنوم D واقع شده است (Dyck, 1987) و باید پرایمرها روی این قسمت قرار گیرد تا تکثیر شوند. به دلیل نبود این ژنوم در ارقام تراپلویید (گندم دوروم) این قطعه در این ارقام تکثیر نمی‌گردد.

نتایج انجام PCR نشان داد که نشانگرهای پیوسته با ژن‌های مقاومت  $Lr_{20}$ ،  $Lr_{25}$ ،  $Lr_{26}$ ،  $Lr_{28}$ ،  $Lr_{29}$ ،  $Lr_{35}$  و  $Sr_{26}$  تنهادر سری لاین‌های تقریباً ایزوژنیک تاچر (NIL) تولید باندها اختصاصی کردند و در هیچ کدام از ژنوتیپ‌های مورد بررسی تکثیر نشدند. نتایج این بررسی پیوستگی نشانگرهای به کار رفته در این پژوهش را با ژن‌های مورد مطالعه را تایید کرد. PCR انجام شده برای نشانگرهای مولکولی در ژن‌های مورد مطالعه در دامنه وسیعی از پس

ارقامی که تحت شرایط استرس محیطی بررسی و برای تحمل به این شرایط انتخاب شده بودند بسیار متفاوت و بدین شرح زیر بودند:

از هفت لاین پیشرفته انتخاب شده در شرایط استرس رطوبتی، چهار لاین دارای ژن  $Lr_{34}$  بودند (۵۰٪). از پنج لاین پیشرفته انتخاب شده در شرایط شوری در مناطق معتدل چهار لاین حامل این ژن بودند و از پنج لاین پیشرفته انتخاب شده در شرایط شوری در مناطق گرم جنوب تمام پنج لاین حامل این ژن بودند یعنی ۹۰٪ ارقام پیشرفته متحمل به شوری حامل این ژن بودند. به نظر می‌رسد ارقامی که حامل ژن  $Lr_{34}$  هستند شرایط تنش محیطی را بهتر تحمل می‌کنند و اغلب ارقامی که برای مناطق دارای استرس شوری و رطوبتی که قبلاً معرفی شدند نیز مانند ارقام هیرمند، سیستان، نیشابور، نیک نژاد، تجن و داراب ۲ دارای ژن  $Lr_{34}$  بودند. رقم اینیا که به عنوان رقم مقاوم به شوری در آزمایش‌های شوری مطرح است حامل ژن  $Lr_{34}$  است. رقم استار که یک رقم نسبتاً دیررس است و در حال حاضر در سطح قابل توجهی در استان خوزستان کشت می‌شود در آزمایش بررسی صفات تحمل به شوری ارقام و لاین‌های گندم در شرایط آزمایشگاه و مزرعه، نتایج نشان داد که درصد جوانه‌زنی و استقرار گیاهچه (طول ساقه‌چه و ریشه‌چه) این رقم در شرایط شوری آزمایشگاه و عملکرد دانه در شرایط خاک شور مزرعه برتری نسبی خوبی نسبت به سایر ارقام دارد (بر اساس گزارش نهایی آینه و

$Sr_{31}/Lr_{26}/Yr_9$ ،  $Lr_{24}/Sr_{24}Yr_{17}/Lr_{37}/Sr_{38}$  و  $Lr_{34}/Yr_{18}/Pm_{36}$  به ترتیب در ۱، ۴۰، ۷ و ۳۹ ژنوتیپ شناسایی شدند. تعداد کم ژن‌های مقاومت در ژنوتیپ‌های خاستگاه گندم جهان نشان از عدم استفاده از منابع ژنی متنوع خصوصاً ژرم پلاسما بومی بوده و اتکا فراوان به برخی ژنوتیپ‌های ممتاز سیمیت در برنامه‌های به‌نژادی دارد. فراوانی قطعات ژنی  $Sr_{31}/Lr_{26}/Yr_9$  و  $Lr_{34}/Yr_{18}/Pm_{36}$  در ژنوتیپ‌های گندم ایران نشان از تثبیت این آلل در میان گندم‌ها را دارد. در این پژوهش نشانگرهای مولکولی مربوط به ژن‌های مقاومت به زنگ برای بررسی تخصص یافتگی وردیابی ژن‌های زنگ قهوه‌ای در ۱۲۴ رقم گندم بررسی شد. نتایج به دست آمده با اطلاعات عکس‌العمل این ژنوتیپ‌ها در شرایط گلخانه و مزرعه نسبت به سه زنگ مقایسه شد. استفاده از نشانگرهای مولکولی مربوط به ژن‌ها با داده‌های ارزیابی‌ها فنوتیپی مزرعه و گلخانه‌ای زنگ‌ها قابل اعتماد بودن نشانگرهای DNA را تایید کرد (نتایج منتشر نشده).

ردیابی ژن‌های مقاومت به زنگ قهوه‌ای توسط نشانگرهای تشخیصی برای ترکیب ژن‌های مقاومت به زنگ قهوه‌ای در ارقام برای مقاومت پایدار بر علیه زنگ قهوه‌ای یک امر بسیار ضروری است. از ۱۵۰ ژن مقاومت به زنگ‌ها که در گندم شرح داده شده است. بسیاری از آن‌ها ژن مقاومت نژاد اختصاصی هستند و تعدادی از آن‌ها در حال حاضر توسط

زمینه‌های ژنتیکی متفاوت موفقیت آمیز بود و این نشانگرها برای این ژن‌ها اختصاصی هستند. بنابر این پیشنهاد می‌شود که به عنوان یک پیش نیاز اصلاح این نشانگرها در برنامه‌های به‌نژادی گندم ایران مورد بهره‌برداری قرار گیرند. به‌نژادگران غلات جهت افزایش دقت در برنامه‌های به‌نژادی نیاز به نهادینه کردن استفاده از نشانگرهای مولکولی دارد. به‌نژادگرها باید اطلاعات جامعی از لاین‌ها و ارقام اصلاحی موجود در برنامه‌های به‌نژادی خود داشته باشند و بدانند که کدام ژن در کدام ژنوتیپ وجود دارد و کدام ژنوتیپ فاقد آن است و برنامه جامعی تدوین شود که حلقه‌های اطلاعاتی مورد نیاز برنامه به‌نژادی در ژنوتیپ‌ها تکمیل و این اطلاعات به صورت مدون در اختیار به‌نژادگرها برای استفاده در برنامه‌های تلاقی قرار گیرد. در برنامه به‌نژادی گندم ایران تاکنون اطلاعات مدونی در خصوص حضور ژن‌های مقاومت به بیماری در چرخه ژرم پلاسما و به خصوص قطعه‌های تلاقی و والدین به کار رفته در تلاقی‌ها وجود نداشته است. عدم توجه به فراهم آوردن و سامان‌دهی چنین داده‌هایی در برنامه‌های به‌نژادی منجر به کاهش بازدهی برنامه خواهد شد.

نتایج این پژوهش نشان داد ژرم پلاسما گندم ایران فاقد ژن‌های مقاوم متنوع است و تنوع در ژنوتیپ‌های بررسی شده پایین است. در مجموع ۱۲۴ رقمی که بررسی شد تنها برای ژن‌های مقاومت



دست آوردن ارقامی با سطح بالای محافظت از بیماری در شرایط فشار بالای بیماری چندین ژن مقاومت زنگ تدریجی (مرحله کامل گیاه) مختلف مورد نیاز است که با هم ترکیب شود. به نژادگران گندم می‌توانند از ژن‌های مقاومت زنگ تدریجی به عنوان مکمل ژن‌های مقاومت نژاد اختصاصی استفاده کنند. آن‌ها مقاومت پایدار و مقاومت نژاد غیر اختصاصی مرحله گیاه کامل را تامین می‌کنند اما اثر آن‌ها خیلی کمتر از مقاومت ژن‌های نژاد اختصاصی است.

نشانه‌های مولکولی به کار رفته در این پژوهش برای ژن‌های مختلف زنگ‌های قهوه‌ای، زرد و سیاه در ژنوتیپ‌های گندم ایران در این پژوهش تایید شد و در مطالعات به نژادی ابزار موثری در تشخیص حضور این ژن‌ها در گندم هستند و می‌تواند به عنوان نشانه‌های ارزیابی در انتخاب به کار برده شوند این نتیجه‌گیری توسط نتایج این آزمایش در مقایسه با ارزیابی آلودگی در شرایط گلخانه و مزرعه با پاتوتیپ‌های تعیین بیماری زایی شده و تجزیه تحلیل نشانه‌های مولکولی و اطلاعات حاصل از آن‌ها برای حضور ژن‌های مقاومت (اطلاعات در حال انتشار) تایید شد، خصوصاً نرخ آلودگی کمتر برای ژنوتیپ‌های دارای ژن‌های مرحله کامل گیاه در مزرعه را تنها با نتایج حاصل از نشانه‌گر مولکولی می‌توان توضیح داد که بر اساس اطلاعات مرحله گیاهچه‌ای در گلخانه همانند ژنوتیپ‌های فاقد ژن‌های مقاومت کاملاً به زنگ حساس بودند. علاوه بر آن تنها نتایج

به نژادگرها برای تولید ارقام مقاوم جدید مورد استفاده قرار گرفته‌اند. در هر صورت مقاومتی که توسط این ژن‌ها تولید می‌شود می‌تواند کوتاه مدت باشد چرا که نژادهای جدید بیمارگر زنگ‌ها از جمله زنگ قهوه‌ای *P. triticina* به طور مستمر ظاهر شده و بیماری زایی برای این ژن‌ها تولید می‌شود. نتایج مطالعات دادرزائی و همکاران (Dadrezai et al., 2012) نشان داد تنوع بسیار بالایی در جمعیت عامل بیماری زنگ قهوه‌ای ایران وجود دارد. به دلیل تنوع بالای نژادها در ایران تنها تعداد کمی از ژن‌های مقاومت، به تمام پاتوتیپ‌های موجود مقاومت خوبی داشتند و تقریباً ژن مقاومتی که نسبت به تمام پاتوتیپ‌ها مقاوم باشد وجود نداشت. هرچند که فراوانی این پاتوتیپ‌ها بسیار کم است اما در جمعیت عامل بیماری وجود دارند و راهبردهای نامناسب مانند استفاده از مقاومت تک ژنی باعث گسترش و تثبیت فراوانی این نژادها می‌شود. پتانسیل بالقوه بیماری زایی جمعیت زنگ قهوه‌ای کشور توانایی بیماری زایی روی اکثر ژن‌های مقاومت را دارد و یک هشدار جدی به برنامه‌ریزان و به نژادگران است تا در استفاده از این ژن‌ها یک راهبرد مناسب‌تر از مقاومت تک ژنی را به کار گیرند. چراکه با استفاده از تک ژن‌های مقاومت در این ارقام در حقیقت به این نژادها فرصت تکثیر داده و پس از چند سال وجود آن‌ها در کشور بارز و فراوانی آن تثبیت می‌شود (Dadrezai et al., 2012). برای به

قرار گرفت. بیماری‌زایی به  $Lr_{37}$  در سال ۲۰۰۲ از جنوب استرالیا گزارش شد (Pathan and Park, 2006). اغلب ژن‌های مقاومت به زنگ قهوه‌ای موجود در ارقام اروپایی نژاد اختصاصی هستند (Goyeau and Lannou, 2011) و ژن‌هایی مانند  $Lr_{13}$ ،  $Lr_{10}$  و  $Lr_{37}$  مغلوب شده‌اند.

نتایج مطالعات نشان می‌دهد اگر در مناطقی سطح زیر کشت ارقام حامل ژن به خصوصی افزایش پیدا کند تغییر ناگهانی در حساسیت در ارقام حامل تک ژن مقاومت عمودی رخ می‌دهد. برخی از ژن‌های مقاومت شرح داده شده مقاومت کامل تاکنون داشته‌اند با این حال انتظار این است که این ژن‌ها زمانی که به صورت گسترده در ارقام به کار روند پایداری نداشته باشند همانند ژن  $Lr_9$  که توسط کولمر (Kolmer, 2005) شرح داده شد.

نتایج بررسی‌های متعدد نشان داده که ترکیب ژن‌های مقاومت عمودی در ارقام ممکن است که یک راهبرد موثر در جلوگیری از شکسته شدن ژن‌های مقاومت به زنگ قهوه‌ای باشد. برای ترکیب ژن‌های مقاومت جهت دستیابی به مقاومت پایدارتر و ثبات طولانی‌تر نشانگرهای مولکولی که پیوستگی نزدیکی با ژن‌های مقاومت به زنگ دارند یک ابزار تشخیصی موثر و قابل اطمینان هستند. در مجموع نژادهای جدید بر اساس قاعده ژن برای ژن در ارقامی که حامل تنها تعداد کمی ژن مقاومت هستند و به طور وسیعی کشت می‌شوند

نشانگر دلالت بر وجود ژن  $Lr_{34}$  در ارقامی که نرخ آلودگی پایین‌تر در مقایسه با رقم حساس دارد. به دلیل حساسیت بالای این نشانگرها در تشخیص آلل ژن مورد بررسی داشتن بذر خالص از ارقام مورد نظر و عدم اختلاط با سایر ارقام نکته حساس و مهم در ارایه نتایج قابل اعتماد است.

با این حال ژن  $Lr_{34}$  تنها ژن مقاومت غیر اختصاصی ردیابی شده در ارقام ایرانی است دیگر ژن مقاومت غیر اختصاصی  $Lr_{46}$  تا کنون در ارقام ایرانی بررسی نشده است. مدارکی دال بر این که جمعیت جدیدی از بیمارگر زنگ پس از معرفی ارقام جدید در دسترس قرار می‌گیرند وجود دارد. رقم *Mannitou* حامل ژن  $Lr_{13}$  در کانادا در سال ۱۹۶۶ معرفی شد و کاملاً مقاوم بود اما به وضعیت حساس در سال ۱۹۸۷ تغییر پیدا کرد (Kolmer, 1992). استفاده بیش از اندازه از یک تک ژن مقاومت مانند  $Lr_{10}$ ،  $Lr_{13}$  و  $Lr_{37}$  باعث تحریک گزینش برای پاتوتیپ‌های از زنگ قهوه‌ای می‌شود که بر ژن‌های مقاومت مربوطه فایق آیند. ارقام *Tommi* و *Punch* که ژن  $Lr_{37}$  را حمل می‌کنند در مناطق بسیار وسیعی کشت می‌شدند و تنها تا سال ۲۰۰۶ مقاومت از خود نشان دادند. ژن  $Lr_{37}$  از خویشاوند وحشی گندم *Aegilops ventricosa* مشتق (Goyeau and Lannou, 2011) و به لاین VPM1 فرانسوی منتقل شد که بطور وسیعی در اصلاح گندم مورد استفاده

گزینش می‌شوند (Goyeau *et al.*, 2006).

در این مطالعه ژن *Lr34* در ارقام با منشأ ایرانی تنها در ارقام و لاین‌هایی که با لاین بسیار قدیمی ۱-۶۶-۲۲ که شجره آن نامشخص است تلاقی داشته‌اند حضور داشت و تقریباً بقیه ارقام ایرانی واجد این ژن، از ژرم‌پلاسم‌های بین‌المللی خصوصاً سیمیت دریافت شده بودند وجود داشت. با معرفی ارقام با منشأ سیمیت در ایران فراوانی این ژن در ارقام ایرانی افزایش یافته است. در بررسی ۱۲۳ رقم محلی (Landrace) ایران توسط کولمر و همکاران در سال (Kolmer *et al.*, 2008) تنها سه رقم (۲/۴٪ ارقام) دارای ژن *Lr34* بودند. همچنین در سایر نقاط دنیا نیز آلل *csLV34b* در اغلب ارقام محلی وجود نداشت. افزایش حضور ژن *Lr34* در ارقام اصلاح شده ممکن است به طور مستقیم و یا غیر مستقیم ناشی از کوشش و تلاش‌های به‌نژادگران در جهت آمیختن *Lr34/Yr18* در ارقام جدید باشد.

در ارقام و ژرم‌پلاسم مشتق شده از سیمیت نسبت قابل توجهی از ژرم‌پلاسم سیمیت دارای ژن *Lr34/Yr18* بودند (Singh and Rajaram, 1991) در ارزیابی ارقام سیمیت در مزرعه و با نشانگر مولکولی از مجموع ۱۲۷ رقم، ۵۲ رقم فاقد صفت *Ltn* (Leaf tip necrosis) و ۷۵ رقم دارای این صفت بودند. تجزیه و تحلیل با نشانگر *csLV34* نشان داد همه ارقامی که فاقد فنوتیپ نکروز نوک برگ بودند آلل *csLV34a* را حمل

می‌کنند و آلل *csLV34b* که همراه است با حضور ژن‌های *Lr34/Yr18* در ۶۲ رقم از ۷۵ رقمی که فنوتیپ نکروز نوک برگ داشتند وجود داشت (Kolmer *et al.*, 2008). ارقامی که دارای سوختگی نوک برگ باشند ممکن است حامل ژن *Lr46* باشند چرا که ارقام حامل این ژن نیز با درجاتی از سوختگی نوک برگ همراه است (Rosewarne *et al.*, 2006).

در این آزمایش دو بار با فاصله یک ماه انجام شد و برای برخی ارقام خصوصاً ارقام دوروم چندین بار تکرار شد. نتایج به دست آمده در تمام آزمون‌ها مشابه بود نشانگرها روی ۱۲۴ ژنوتیپ ایرانی برای تعیین وجود و یا عدم وجود ژن *Lr34* متناظر مقاومت به زنگ قهوه‌ای غربال شدند و اختصاصی بودن بالایی با ارقام تقریباً ایزوژنیک و ارقامی که پس زمینه‌های متفاوت ژنتیکی داشتند نشان دادند. نشانگر مولکولی برای ژن *Lr34* ابزار موثری در تشخیص حضور این ژن در گندم است و می‌تواند به عنوان نشانگر ارزیابی در انتخاب به کار برده شود.

در این مطالعه ارقامی که در شرایط استرس بررسی و انتخاب شدند بیشترین درصد حضور ژن *Lr34* را داشتند و به نظر می‌رسد احتمالاً این ژن در بالا بردن میزان تحمل ارقام در شرایط استرس محیطی نیز موثر باشد و تمام لاین‌ها و ارقام منتخب اقلیم گرم و مرطوب شمال کشور فاقد ژن *Lr34* بودند. این ارقام در شرایط محیطی و به دور از تنش محیطی مانند خشکی، گرما،

(De Waard *et al.*, 2006). به نظر می‌رسد که ترانسپورترهای ABC یکی از عوامل تاثیرگذار در مقاومت گیاهان به شوری بوده و احتمالاً در ارقام مقاوم به شوری که دارای این نوع ترانسپورتر هستند نیز این سیستم فعال باشد و یون‌های نمک اضافی را به صورت فعال از داخل سلول به خارج پمپ کرده و از این طریق سبب افزایش تحمل به شوری در ارقام مختلف شوند یا باعث شناسایی یون‌های شوری شده و از ورود آن‌ها به سیتوزول ممانعت کند لذا این ارقام متحمل به شوری هستند. این فرضیه با ارزیابی ارقام دوروم که فاقد ژنوم D و به شوری حساس‌تر از ارقام گندم نان هستند نیز تقویت می‌شود. احتمالاً برای ژن *Lr34* علاوه بر ایجاد مقاومت به زنگ قهوه‌ای، زنگ زرد، سفیدک سطحی و ویروس کوتولگی زردی جو در گندم، در صفت تحمل به تنش‌های محیطی مانند شوری نقش داشته باشد. شاید یکی از سازوکارهای عمل ژن *Lr34* در ایجاد مقاومت نسبی به بیمارگر عامل زنگ قهوه‌ای، خارج کردن توکسین‌ها، متابولیت‌ها یا سایر مواد مضر ترشح شده توسط بیمارگر به سلول‌های میزبان باشد. به عنوان مثال فاکتورهای بیماری‌زایی که توسط هوستوریم بیمارگر ترشح می‌شوند و برای تسهیل رشد بیمارگر در سلول میزبان ضروری هستند توسط این ترانسپورترها به خارج از سلول پمپ می‌شود. این عمل باعث رشد آهسته بیمارگر در مقایسه با میزبان‌هایی که فاقد این ژن هستند می‌شود و در نتیجه باعث بروز

سرما و تنش شوری انتخاب شده‌اند و اما اقلیم گرم و خشک جنوب و پس از آن لاین‌های اقلیم سرد بیشترین فراوانی ژن *Lr34* را داشتند. با توجه به این که ژن *Lr34* یک ژن متعلق به بالا خانواده ترانسپورترهای ABC است، در حقیقت این بالا خانواده تولید پروتئین‌های متصل به غشای پلاسما می‌کنند که در انتقال مواد در دو سوی غشا نقش دارند. ترانسپورترهای ABC می‌توانند طیف گسترده‌ای از موادی که برای سلول مضر (Cytotoxic) باشند را برخلاف شیب غلظت در دو سوی غشاء سلولی جابه‌جا کنند (Bauer *et al.*, 1999; Theodoulou, 2000). ترانسپورترهای دارو ابتدا در سلول‌های سرطانی مقاوم به داروهای ضدسرطان شناسایی شدند. این ترانسپورترها در سلول‌های سرطانی، داروهای مصرفی را به خارج سلول انتقال می‌دادند و باعث می‌شدند که سلول‌های سرطانی به دارو مقاوم باشند این ساز و کار در قارچ‌های مقاوم به سموم نیز شناخته شده است به طوری که در قارچ‌ها با دفع بیشتر و پایین آوردن غلظت قارچکش در حد زیر آستانه کشندگی در داخل سلول‌های قارچی سبب ایجاد مقاومت به قارچکش می‌شوند. علاوه بر عملکرد دفع قارچکش‌ها و داروها، ترانسپورترها می‌توانند ترشح مایکوتوکسین‌های سایر قارچ‌ها، ترکیبات طبیعی ضد میکروبی سایر اورگانیزم‌ها را به خارج از سلول دفع کنند و سبب ایجاد مقاومت در قارچ‌ها شوند

فنوتیپ تعداد جوش‌های کم‌تر و اندازه کوچک‌تر جوش‌ها و دوره نهان‌آلودگی طولانی‌تر می‌شود چرا که این مواد تسهیل‌کننده رشد بیمارگر از سلول خارج شده و غلظت آن در محیط کم می‌شود. از طرفی چون این مواد برای سلول گیاه مضر بوده خروج آن‌ها باعث می‌شود که تحمل گیاه بالا رفته و بر عملکرد فیزیولوژیکی گیاه تاثیر منفی زیادی نداشته باشد. در کل پمپ مواد مضر سلولی به خارج از سلول گیاهی باعث ارتقای تحمل گیاه به تنش‌های زنده و غیر زنده می‌شود. بهرحال ارزیابی دقیق‌تر رابطه بین وجود این ژن و تحمل به تنش‌های محیطی از جمله شوری به بررسی بیشتر و کامل‌تری نیاز دارد.

### سپاسگزاری

این مقاله بر اساس نتایج به دست آمده از دوره آموزشی بلند مدت در بیماری‌های زنگ گندم با کد Ref. # PR 46519 که از نظر مالی توسط پروژه مشترک ICARDA/FAO در تقویت برنامه‌های ملی در مدیریت بیماری پستیانی شد استخراج شده است. بدین وسیله از آقای مهندس وهاب‌زاده رئیس وقت بخش تحقیقات غلات و مسئولین مرکز بین‌المللی تحقیقات کشاورزی مناطق خشک (ایکاردا) که شرایط شرکت در دوره و اجرای این تحقیق را فراهم کردند تشکر و قدردانی می‌شود.

### References

- Anonymous 2005.** Laboratory Protocols: CIMMYT Applied Molecular Genetics Laboratory, 3rd Edition, CIMMYT, Mexico City, DF. Mexico.
- Bauer, B. E., Wolfger, H., and Kuchler, K. 1999.** Inventory and function of yeast ABC proteins: about sex, stress, pleiotropic drug and heavy metal resistance. *Biochemical Biophysical Acta, Biomembranes* 108: 217-236.
- Blaszczyk, L., Chelkowski, J., Korzun, V., Kraic, J., Ordon, F., Ovesná, J., Purnhauser L., Tar, M., and Vida, G. 2004.** Verification of STS markers for leaf rust resistance genes of wheat between seven European laboratories. *Cellular & Molecular Biology Letters* 9: 805-817.
- Blaszczyk, L., Krämer, I., Ordon, F., Chelkowski, J., Tyrka, M., and Vida, G. 2008.** Validity of selected DNA markers for breeding leaf rust resistant wheat. *Cereal Research Communications* 36(2): 201-213.

- Chelkowski, J., Golka, L., and Stepień, Ł. 2003.** Application of STS markers for leaf rust resistance genes in near-isogenic lines of spring wheat cv. 'Thatcher'. *Journal of Applied Genetics* 44(3): 323-338.
- Dadrezaei, S. T., Mohammadi Goltappeh, E., Afshari, F., and Nazari, K. 2012.** Pathotypes and physiologic races of *Puccinia triticina* Erik's. the causal agent of wheat leaf rust and their distribution in Iran in 2009 and 2010. *Seed and Plant Improvement Journal* 28-1: 685-715 (in Persian).
- De Waard, M. A., Andrade, A. C., Hayashi, K., Schoonbeek, H., Stergiopoulos, I., and Zwiers, L. H. 2006.** Impact of fungal drug transporters on fungicide sensitivity, multidrug resistance and virulence. *Pest Management Science* 62: 195-207.
- Francia, E., Tacconi, G., Crosatti, C., Barabaschi, D., Bulgarelli, D., Dall'Aglio, E., and Valè, G. 2005.** Marker assisted selection in crop plants. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 82: 317-342.
- Gold, J., Harder, D., Townley-Smith, F., Aung, T., and Procunier, J. 1999.** Development of a molecular marker for rust resistance genes *Sr<sub>39</sub>* and *Lr<sub>35</sub>* in wheat breeding lines. *Electronic Journal of Biotechnology* 'http://www.ejb.org'. 2(1).
- Goyeau, H., and Lannou, C. 2011.** Specific resistance to leaf rust expressed at the seedling stage in cultivars grown in France from 1983 to 2007. *Euphytica* 178: 45-62.
- Goyeau, H., Park, R., Schaeffer, B., and Lannou, C. 2006.** Distribution of pathotypes with regard to host cultivars in frenches wheat leaf rust populations. *Phytopathology* 96(3): 264-273.
- Gupta, P. K., Varshney, R. K., Sharma, P. C., and Ramesh, B. 1999.** Molecular markers and their applications in wheat breeding. *Plant Breeding* 118: 369-390.
- Helguera, M., Vanzetti, L., Soria, M., Khan, I.A., Kolmer, J., and Dubcovsky, J. 2005.** PCR markers for *Triticum speltoides* Leaf rust resistance gene *Lr<sub>51</sub>* and their use to develop isogenic hard red spring wheat lines. *Crop Science* 45: 728-734.
- 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 *Lr<sub>67</sub>* and *Yr<sub>46</sub>* in wheat are pleiotropic or closely linked. *Theoretical and Applied Genetics* 122: 239-249.

- Huang, L., and Gill, B. S. 2001.** An RGA-like marker detected all known *Lr21* leaf rust resistance gene family members in *Aegilops tauschii* and wheat. *Theoretical and Applied Genetics* 103:1007–1013.
- Huerta-Espino, J., Singh, R. P., Germa'n, S., McCallum, B. D., Park, R. F., Chen, W. Q., Bhardwaj, S. C., and Goyeau, H. 2011.** Global status of wheat leaf rust caused by *Puccinia triticina*. *Euphytica* 179: 143-160.
- Kolmer, J. A. 1992.** Virulence heterozygosity and gametic phase disequilibria in two populations of *Puccinia recondita* (wheat leaf rust fungus). *Heredity* 68: 505-513.
- Kolmer, J. A. 2005.** Tracking wheat rust on a continental scale. *Current Opinions in Plant Biology* 8: 441-449.
- Kolmer, J. A., Singh, R. P., Garvin, D. F., Viccars, L., William, H. M., Huerta-Espino J., Ogonnaya. 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., Spielmeier, W., Singh, R. P., Huerta, E. 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.
- Mago, R., Miah, H., Lawrence, G. J., Wellings, C. R., Spielmeier, W., Bariana, H. S., McIntosh, R. A., Pryor, A. J., and Ellis, J. G. 2005a.** High-resolution mapping and mutation analysis separate the rust resistance genes *Sr31*, *Lr26*, and *Yr9* on the short arm of rye chromosome 1. *Theoretical and Applied Genetics* 112:41-50.
- Mago, R., Bariana, H. S., Dundas, I. S., Spielmeier, W., Lawrence, G. J., Pryor, A. J., and Ellis, J. G. 2005b.** Development of PCR markers for the selection of wheat stem rust resistance genes *Sr24* and *Sr26*in diverse wheat germplasm. *Theoretical and Applied Genetics* 111: 496-504.
- McIntosh, R. A., Welling's, C. R., and Park, R. F. 1995.** *Wheat Rusts: an Atlas of Resistance Genes*. Kluwer Academic Publishers, the Netherlands.
- McIntosh, R. A., Yamazaki, Y., Devos, K. M., Dubcovsky, J., Rogers, J., and Appels, R. 2012.** Catalogue of gene symbols for wheat. 2012. Supplement. KOMUGI Integrated Wheat Science Database. Available on line: <http://www.shigen.nig.ac.jp/wheat/komugi/genes/symbolclasslist.jsp>.

- Neu, C. H., Stein, N., and Keller, B. 2002.** Genetic mapping of the *Lr20-Pm1* resistance locus reveals suppressed recombination on chromosome arm 7AL in hexaploid wheat. *Genome* 45: 737-744.
- Obert, D. E., Fritz, A. K., Moran, J. L., Singh, S., Rudd, J. C., and Menz, M. A. 2005.** Identification and molecular tagging of a gene from PI 289824 conferring resistance to leaf rust (*Puccinia triticina*) in wheat. *Theoretical and Applied Genetics* 110: 1439-1444.
- Park, R. F., Goyeau, H., Felsenstein, F. G., Bartoš, P., and Zeller, F. J. 2001.** Regional phenotypic diversity of *Puccinia triticina* and wheat host resistance in western Europe, 1995. *Euphytica* 122: 113-127.
- Pathan, A. K., and Park, R. F. 2006.** Evaluation of seedling and adult plant resistance to leaf rust in European wheat cultivars. *Euphytica* 149: 327-342.
- Rosewarne, G. M., Singh, R. S., Huerta-Espino, J., William, H. M., Bouchet, S., Cloutier, S., McFadden, H., and Lagudah, E. S. 2006.** Leaf tip necrosis, molecular markers and  $\beta$ 1-proteasome subunits associated with the slow rusting resistance genes *Lr46/Yr29*. *Theoretical and Applied Genetics* 112: 500-508.
- Singh, R. P., Mujeeb-Kazi, A., and Huerta-Espino, J. 1998.** *Lr46*: a gene conferring slow-rusting resistance to leaf rust in wheat. *Phytopathology* 88(9): 890-894.
- Singh, R. P., and Rajaram, S. 1991.** Resistance to *Puccinia recondita* f. sp. *tritici* in 50 Mexican bread wheat cultivars. *Crop Science* 31: 1472-1479.
- Stępień, Ł., Golka, L., and Chelkowski, J. 2003.** Leaf rust resistance genes of wheat: identification in cultivars and resistance sources. *Journal of Applied Genetics* 44(2): 139-149.
- Theodoulou, F. L. 2000.** Plant ABC transporters. *Biochimica Biophysica Acta, Biomembranes* 1465: 79-103.
- Torabi, M., Mardoukhi, V., Froutan, A., Aliramaei, M., Dadrezaie, S. T., Akbari Moghaddam, H., Rajaei, S., and Azimi, H. 2003.** Virulence genes of *Puccinia recondita* f. sp. *tritici*, the causal agent of wheat leaf rust in some regions of Iran during 1995-1999. *Seed and Plant* 18: 432-449 (in Persian).
- Vahabzadeh, M., MajidiHeravan, E., Haj Akhound Meybodi, H., Tabatabaei, M. T., Bozorgipour, R., Bakhtiar, F., Akbari, A., Pakdel, A., Sharif Alahosseini, M., Afyouni, D., Rostami, H., Azarmjou, H., Kouhkan, S. H., Amiri-**



- JebalBarez, G. H. R., Saberi, M. H., Binabaji, H., Ghandi, A., Bahraei, S., Torabi, M., Nazari, K., and Pirayeshfar, B. 2009.** Bam, a new bread wheat cultivar for moderate zones with salinity of soil and water. *Seed and Plant Improvement Journal* 25-1: 223-226 (in Persian).
- Woxniak-Strzembicka, A. 2003.** Wirulencja populacji *Puccinia recondita* f. sp. *tritici* w Polsce w latach 1998-2001. *Biuletyn Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roslin* 230: 109-117.

