"مجله علوم زراعی ایران"
جلد بیستم، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۷

شناسایی نشانگرهای مولکولی پیوسته با ژن *Lr34/Yr18* و ارزیابی مقاومت به زنگ قهوه‌ای و زنگ زرد در ارقام و لاین‌های امید بخش گندم نان (*Triticum aestivum* L.)

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

حبیب‌اله قزوینی[۱]، محسن سرهنگی[۲] و فرزاد افشاری[۳]

چکیده

قزوینی، ح.، م. سرهنگی و ف. افشاری. ۱۳۹۷. شناسایی نشانگرهای مولکولی پیوسته با ژن *Lr34/Yr18* و ارزیابی مقاومت به زنگ قهوه‌ای و زنگ زرد در ارقام و لاین های امید بخش گندم نان (*Triticum aestivum* L.). **مجله علوم زراعی ایران. ۲۰(۲): ۱۲۵-۱۰۸.**

زنگ قهوه‌ای (*Puccinia triticina*) و زنگ زرد (*Puccinia striiformis*) از مهم‌ترین و رایج‌ترین بیماری‌های گندم در اغلب کشورهای جهان محسوب شده و نقش چشمگیری در کاهش محصول گندم دارند. انتقال ژن‌های مقاومت به ارقام گندم یکی از مؤثرترین و اقتصادی‌ترین روش‌های مبارزه با این بیماری‌ها است. یکی از ژن‌هایی که باعث القای مقاومت و پایداری مقاومت گیاه نسبت به زنگ قهوه‌ای و زرد گندم می‌شود، ژن *Lr34/Yr18* است. در سال‌های اخیر نشانگرهای مولکولی متعددی که با ژن *Lr34/Yr18* پیوستگی نزدیکی دارند، شناسایی شده‌اند. در این تحقیق، حضور ژن *Lr34/Yr18* در ۸۵ رقم و لاین امیدبخش گندم کشور در ارزیابی مزرعه ای و همچنین با استفاده از نشانگرهای مولکولی جدید مورد ارزیابی قرار گرفت. ارزیابی ژنوتیپ‌های گندم نسبت به عامل بیماری‌های زنگ زرد و زنگ قهوه‌ای به صورت مشاهده‌ای در سال ۱۳۹۳به ترتیب در خزانه بیماری‌های بخش تحقیقات غلات کرج و ایستگاه گلستان اهواز انجام شد و ارقام و لاین های مورد بررسی به‌صورت مصنوعی آلوده‌سازی شدند. نتایج بررسی‌های مولکولی نشان داد که سه نشانگر جدید caSNP4، caSNP12 و Cssfr1، دقت بیشتری نسبت به نشانگر csLV34 در تشخیص ژن *Lr34/Yr18* دارند و به راحتی می‌توان از آنها در آزمایشگاه‌هایی با امکانات محدود استفاده کرد. بر اساس نتایج حاصل از نشانگرهای caSNP4 وcaSNP12، از مجموع ۸۵ ژنوتیپ گندم مورد بررسی در این تحقیق، آلل‌های پیوسته با ژن *Lr34/Yr18* در ۱۸ ژنوتیپ مشاهده شدند. مقایسه نتایج ارزیابی مزرعه‌ای با آزمایشات مولکولی نشان داد که اکثر ژنوتیپ‌های واجد ژن *Lr34* دارای واکنش‌های از نوع مقاوم و نیمه مقاوم تا نیمه حساس با شدت کم نسبت به زنگ قهوه‌ای و زنگ زرد بودند.

واژه‌های کلیدی: به‌نژادی مولکولی، بیماری زنگ، گزینش به کمک نشانگر، گندم، مقاومت گیاه بالغ و نشانگر هم بارز.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۰/۱۶ تاریخ پذیرش:۱۳۹۷/۰۵/۰۳ این مقاله مستخرج از طرح تحقیقاتی مصوب موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر با شماره ۹۲۱۴۱-۰۳-۰۳-۰۲ می‌باشد.

۱- دانشیار پژوهش، مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی (مکاتبه کننده)
(پست الکترونیک: Habib_ghaz@yahoo.com)
۲- کارشناس ارشد، مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی
۳- استاد پژوهش، مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-11-17]
[DOR: 20.1001.1.15625540.1397.20.2.2.7]

مقدمه

زنگ قهوه‌ای و زنگ زرد که به ترتیب توسط دو قارچ *Puccinia triticina* و *Puccinia striiformis* به وجود می‌آیند، از بیماری‌های مهم ایجاد افت محصول گندم در بیشتر نقاط دنیا از جمله ایران محسوب می‌شوند. در سال زراعی ۷۳-۱۳۷۲ با ظهور نژاد جدید زنگ زرد، مقاومت گندم رقم فلات با بیماری‌زایی این نژاد روی ژن مقاومت *Yr9* شکسته شد. با توجه به کشت گسترده رقم سازگار و پرمحصول فلات در مناطق وسیعی از کشور، پس از ظهور نژاد جدید زنگ زرد با قدرت بیماری زایی روی این رقم اپیدمی شدیدی در کشور رخ داد. بروز اپیدمی زنگ زرد در سال زراعی ۷۳-۱۳۷۲ در ایران باعث کاهش محصول گندم به میزان ۱/۵ میلیون تن شد (Torabi *et al*., 1995). بیماری زنگ قهوه‌ای نیز از مهم‌ترین بیماری‌های گندم در ایران محسوب می‌شود (Torabi *et al*., 2001). اگر چه میزان خسارت این بیماری نسبت به زنگ زرد و زنگ سیاه کمتر است، اما به دلیل فراوانی بیشتر و انتشار گسترده‌تر آن، در مجموع در سطح جهانی خسارت بیشتری به محصول گندم دنیا وارد می‌کند.

اگر چه کنترل شیمیایی زنگ گندم می‌تواند میزان خسارت بیماری به محصول گندم را کاهش دهد، اما در حال حاضر مؤثرترین و اقتصادی‌ترین روش مقابله با بیماری‌های گندم، استفاده از ارقام مقاوم است. تاکنون بیش از ۶۰ ژن مقاومت به زنگ قهوه‌ای و بیش از ۴۰ ژن مقاومت به زنگ زرد گندم شناسایی و در فهرست ژن‌های گندم قرار گرفته‌اند (McIntosh *et al*., 2008). اکثر ژن‌های مقاومت شناخته شده نسبت به نژادهای مختلف زنگ‌ها دارای مقاومت خاص نسبت به یک یا چند نژاد (Race specific resistance) بوده و به عنوان ژن‌های اصلی (Major genes) و دارای اثرات بزرگ محسوب می‌شوند (Singh *et al*., 2011). با این حال بر اثر فشار گزینش در بیماری‌زایی نژاد مولد زنگ، معمولاً بعد از چند سال مقاومت ارقام دارای ژن‌های مقاومت اختصاصی، شکسته می‌شود. تکامل نژادهای جدید زنگ‌ها با استفاده از مهاجرت، جهش و نوترکیبی باعث ظهور ژنوتیپ‌های جدید با قدرت بیماری‌زایی جدید شده و خطر شیوع ناگهانی بیماری در یک منطقه را به همراه دارد (Caldwell, 1968). از این رو برای اصلاح گندم‌های مقاوم، همواره نیاز به جستجو برای پیدا کردن منابع جدید مقاومت و وارد کردن آن‌ها به ژنوتیپ‌های سازگار می‌باشد. یکی از مطمئن‌ترین روش‌های جلوگیری از اپیدمی‌های ناخواسته زنگ‌ها، استفاده از ژن‌هایی با مقاومت غیراختصاصی یا ژن‌های با اثرات کوچک (Minor genes) است. این ژن‌ها دارای خصوصیات مختلفی از قبیل مقاومت مؤثر در مرحله گیاه بالغ، تأخیر در پیشرفت بیماری (Slow rusting)، مقاومت نسبی به بیماری (Partial resistance)، مقاومت غیراختصاصی (Non-race specific resistance) و دارای اثرات افزایشی کوچک تا متوسط هستند (Singh *et al*., 2011). در ژن‌های غیراختصاصی، مقاومت به زنگ‌ها در اثر تأخیر در پیشرفت بیماری ایجاد می‌شود که به عنوان مقاومت پایدار (Durable resistance) نیز شناخته می‌شود و سازوکار این مقاومت از واکنش ژن در مقابل ژن که در ژن‌های اختصاصی دیده می‌شود، متفاوت است (Lowe *et al*., 2011). اگر چه ژن‌های غیراختصاصی مقاومت کوچک تا متوسطی را به ارقام می‌دهند، ولی وقتی تعداد چهار تا پنج ژن کوچک اثر با هم در یک رقم جمع شوند، سطح بسیار خوبی از مقاومت به زنگ‌ها در میزبان بوجود می‌آید (Singh *et al*., 2000).

امروزه ژن‌های متعددی که عامل ایجاد مقاومت غیراختصاصی هستند، شناسایی شده و در بسیاری از برنامه‌های اصلاحی گندم در نقاط مختلف دنیا، خصوصاً در مرکز بین‌المللی تحقیقات گندم و ذرت (CIMMYT) مورد استفاده قرار می‌گیرند. از جمله ژن‌های کوچک‌اثر که در حال حاضر

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-11-17]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1397.20.2.2.7]

به میزان بسیار زیادی مورد استفاده قرار می‌گیرند *Lr34/Yr18/Sr57/Pm38*، *Lr46/Yr29/Pm39* و *Lr67/Yr46* برای مقاومت به زنگ قهوه‌ای، زنگ زرد و سفیدک حقیقی هستند (Hiebert *et al*, 2010; Herrera-Foessel *et al*., 2011; Dyck, 1987; Singh *et al*., 1998; William *et al*., 2003). این سه ژن با ژن مؤثر در سوختگی نوک برگ پیوستگی نشان داده‌اند (Singh *et al*., 2011). از میان این ژن‌ها، ژن *Lr34* که یکی از مؤثرترین ژن‌های کنترل کننده زنگ قهوه‌ای و زرد است، به عنوان ژن *Yr18* نیز شناخته شده و تلاش‌های زیادی برای مکان‌یابی دقیق آن انجام شده است (Spielmeyer *et al*., 2005, Dakouri *et al*., 2010; Kolmer *et al*. 2008; Krattinger *et al*., 2009; Lagudah *et al*., 2009). این ژن همچنین مقاومت به زنگ زرد را کنترل نموده و ژن *Yr18* همراه با سایر ژن‌های مقاومت، به عنوان منبع مناسبی برای مقاومت به زنگ زرد در اکثر کشورها مورد استفاده قرار گرفته و از مقاومت آن تحت عنوان *Yr18* complex نام برده می‌شود (Singh and Rajaram, 1992). اخیرا مقاومت به زنگ سیاه در گیاه بالغ گندم (*Sr57*) نیز به ژن مزبور نسبت داده شده است (Yu *et al*, 2014). نتایج بررسی‌های اولیه نشان داد که ژن مقاومت به زنگ قهوه‌ای *Lr34* روی بازوی کوچک کروموزوم 7D گندم قرار گرفته است (Dyck, 1987). همزمان با کشف و گسترش استفاده از نشانگرهای مولکولی در دهه‌های گذشته، در سال‌های اخیر نشانگرهای مولکولی پیوسته-ای برای این ژن شناسایی شده‌اند که ابزار مؤثری برای استفاده در برنامه‌های اصلاحی گندم دنیا از طریق گزینش با استفاده از نشانگرها (MAS) محسوب می‌شود (Dakouri *et al*., 2010; Kolmer *et al*. 2008; Krattinger *et al*., 2009; Lagudah *et al*., 2009).

با معرفی نشانگر csLV34 در سال ۲۰۰۶، تعداد زیادی از محققان برای بررسی حضور ژن *Lr34* در ارقام گندم مناطق مختلف دنیا از این نشانگر استفاده کردند (Lagudah *et al*., 2006). هم بارز بودن این نشانگر و تولید باندهای واضح و قابل نمره‌دهی، به اضافه سهولت کار با آن به دلیل تفاوت ۸۰ بازی اندازه آلل‌های پیوسته با مقاومت و آلل حساسیت و همچنین استفاده از ژل آگارز برای جداسازی باندها، از دلایل محبوبیت این نشانگر در ارزیابی حضور ژن *Lr34* در ارقام گندم می‌باشد. کراتینگر و همکاران (Krattinger *et al*., 2009) قطعه ژنومی با طول ۰/۱۵ سانتی مورگان را که در برگیرنده ژن *Lr34* بود را کلون و توالی‌یابی نموده و گزارش کردند که قطعه مذکور در برگیرنده شش ژن مختلف است که از بین آن‌ها تنها یک ژن کدکننده پروتئین ناقل غشایی بنام ABC (ATP-binding cassette) به عنوان بهترین کاندیدا برای ژن *Lr34* بود. این ژن یک قطعه ۱۱۸۰۵ نوکلئوتیدی است که شامل ۲۴ اگزون بوده و در مجموع یک پروتئین انتقال‌دهنده با ۱۴۰۱ اسیدآمینه را تولید می‌کند. اگرچه قبل از کلون کردن کامل ژن *Lr34* و توالی‌یابی آن نیز نشانگرهای مولکولی نزدیکی برای این ژن شناسایی شده بودند، ولی یافته‌های اخیر باعث تسریع در طراحی آغازگرهای مناسب برای تکثیر قطعاتی از این ژن به عنوان نشانگرهای مولکولی کاملاً پیوسته با این ژن گردید. لاگودا و همکاران (Lagudah *et al*., 2009) نشانگرهای سری Cssfr را که فاصله نزدیکتری را با ژن *Lr34* داشتند معرفی کردند. داکوری و همکاران (Dakouri *et al*., 2010) نیز نشانگرهای سری cam، caIND و caSNP را که از نشانگر csLV34 به ژن *Lr34* نزدیک‌تر بودند، معرفی کردند.

این تحقیق با هدف ارزیابی حضور ژن *Lr34* در تعدادی از ارقام و لاین‌های امیدبخش گندم کشور با استفاده از نشانگرهای مولکولی و انتخاب بهترین نشانگرها بر اساس مقایسه نتایج حاصل از هرکدام از آنها و سهولت کار با آن‌ها در آزمایشگاه با امکانات محدود انجام شد.

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-11-17]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1397.20.2.2.7]

مواد و روش‌ها

در پژوهش حاضر، واکنش ۸۵ ژنوتیپ گندم شامل تعدادی از ارقام تجاری، لاین‌های امیدبخش و لاین‌های کاندید معرفی شده برای اقلیم‌های سرد و معتدل کشور (جدول ۱) (در شرایط آبیاری متداول، تنش خشکی انتهای فصل و تنش شوری)، نسبت به بیماری‌های زنگ زرد و زنگ قهوه‌ای در مرحله گیاه بالغ انجام شد و حضور ژن مقاومت گیاه بالغ *Lr34* در این ژنوتیپ ها با استفاده از نشانگرهای مولکولی مورد ارزیابی قرار گرفت.

ارزیابی ژنوتیپ‌های گندم نسبت به عامل بیماری‌های زنگ زرد و زنگ قهوه‌ای، با کشت بذر آنها روی دو خط یک متری روی یک پشته، به ترتیب در خزانه بیماری‌های بخش تحقیقات غلات کرج و ایستگاه گلستان اهواز انجام شد. در ابتدا و انتهای آزمایش و نیز به فاصله هر ۱۰ لاین، رقم حساس به بیماری بولانی کاشته شد. به‌منظور تولید انبوه زادمایه (اینوکلوم) زنگ زرد جدایه کرج و زنگ قهوه‌ای جدایه اهواز، بذرهای رقم بولانی بصورت توده‌ای در گلدان‌های محتوی خاک معمولی کاشته شده و پس از ۱۰ روز که برگ اول گیاهچه‌ها بطور کامل ظاهر شد، ضمن مرطوب کردن برگ‌ها با محلول حاوی روغن توئین (یک قطره Tween20 در یک لیتر آب)، گیاهچه‌ها با استفاده از محلول‌پاش دستی یا قلم مو، به‌صورت جداگانه با قارچ عامل بیماری زنگ زرد و زنگ قهوه‌ای (به نسبت ۱ و ۴ با پودر تالک؛ یک قسمت اسپور زنگ و چهار قسمت پودر تالک) مخلوط و مایه زنی شدند. مجدداً روی گیاهچه‌ها مه‌پاشی شده و گیاهچه‌هایی که با اسپور زنگ زرد مایه زنی شده بودند، بعد از قرار دادن درپوش‌های پلاستیکی روی گلدان‌ها، به مدت ۲۴ ساعت در شرایط مرطوب در اتاق سرد (۱۰ درجه سلسیوس) در تاریکی قرار داده شده و پس از آن به گلخانه با دمای ۱۸ درجه سلسیوس و دوره نوری ۱۶ ساعت (۱۵-۱۰ هزار لوکس) و هشت ساعت تاریکی منتقل شدند. گیاهچه‌هایی که با اسپور زنگ قهوه‌ای مایه زنی شده بودند، پس از مه‌پاشی مجدد و گذاشتن درپوش‌های پلاستیکی برای حفظ رطوبت، به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۱۸ درجه سلسیوس در تاریکی قرار داده شده و سپس به گلخانه با دمای ۲۲ درجه سلسیوس و دوره نوری ۱۶ ساعت (۱۵-۱۰ هزار لوکس) روشنایی و هشت ساعت تاریکی منتقل شدند. از روز پانزدهم پس از مایه زنی، هر سه روز یک بار اقدام به جمع آوری و نگهداری اسپور از گلدان‌ها شد. این کار تا زمان از بین رفتن گیاهچه‌ها در گلدان‌ها ادامه یافت. مایه زنی مصنوعی خزانه‌های زنگ زرد و زنگ قهوه‌ای بصورت جداگانه در ایستگاه‌های آزمایشی به‌ترتیب با استفاده از جدایه کرج و جدایه اهواز (بصورت مخلوطی از اسپور زنگ و پودر تالک) با استفاده از سمپاش پشتی اتومایزر از مرحله پنجه‌زنی شروع و تا زمان ظهور برگ پرچم (سه بار) انجام شد. یادداشت برداری از بیماری در مرحله ظهور برگ پرچم و حتی الامکان پس از رسیدن میزان بیماری رقم حساس (موروکو) به حد نهایی از طریق تعیین درصد پوشش آلوده سطح برگ (۱۰۰-۰) بر اساس روش اصلاح شده کاب (The modified Cobb's scale) (Peterson *et al*.,1948) انجام شد.

استخراج DNA جهت استفاده در واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) از برگ‌های سالم و غیر آلوده گیاهان مورد بررسی و بر اساس روش CTAB (Saghai-Maroof *et al*., 1984) با کمی تغییرات انجام شد. ارزیابی کمیت و کیفیت DNA با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Wi53711, Thermo Electron Corporation, USA) در طول موج‌های ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر و الکتروفورز DNA استخراج شده در ژل آگارز ۰/۸ درصد انجام شد. غلظت DNA ژنوتیپ‌های مختلف برای استفاده در PCR با استفاده از آب دو بار تقطیر شده استریل، به میزان ۲۵ نانوگرم در میکرولیتر تنظیم

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-11-17]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1397.20.2.2.7]

جدول ۱- واکنش ارقام و لاین‌های گندم مورد ارزیابی نسبت به زنگ زرد و قهوه‌ای در مزرعه و وضعیت آللی نشانگرهای پیوسته با ژن *Lr34*

Table 1. Reaction of studied wheat cultivars/lines to yellow rust and leaf rust in the field and their amplified alleles with linked *Lr34* primers

ردیف No.	کد برنامه به نژادی Breeding program code	شجره Pedigree	واکنش به زنگ زرد Reaction to yellow rust	واکنش به زنگ قهوه‌ای Reaction to leaf rust	وضعیت آللی نشانگرهای پیوسته با ژن *Lr34* Alleles of linked *Lr34* primers			
			Karaj	Ahvaz	snp4	snp12	cssfr1	csLV34
1	ER-90-3	Pishtaz//Lov24/Coc 75	5MR*	10MS	0	0	0	0
2	ER-90-4	Pishtaz//Lov24/Coc 75	5R	0	0	0	0	0
3	ER-90-5	Pishtaz/3/Jup/Bjy"s"//Kauz"s"	5R	0	0	0	0	0
4	ER-90-6	Pishtaz//Falat/Barakat	5MR	40MS	0	0	0	0
5	ER-90-7	Bow"s"/Vee"s"//1-60-3/3/Cocoraque 75/4/Chamran	10MR	0	0	0	0	0
6	ER-90-8	4771//Fkn/Gb/3/Vee "s"/Vee "s"/4/Buc "s"/5/1-66-44/6...	0	0	0	0	0	0
7	ER-90-9	IR/FR (Aldric)	0	0	0	0	0	0
8	ER-90-10	IR/FR (FD03142)	0	0	0	0	0	0
9	ER-90-11	PFAU/MILAN//FISCAL	30R	5MS	0	0	0	0
10	ER-90-12	Gv/Ald "s"/5/Ald "s"/4/Bb/Gll/Cno..../6/Marv	5R	5MS	1	1	1	1
11	ER-90-13	NAC/TH.AC//3*PVN/3/MIRLO/BUC/4/2*PASTOR	10R	0	0	0	0	0
12	ER-90-14	VORB/FISCAL	5R	0	0	0	0	0
13	ER-90-15	PRL/2*PASTOR	10MR	40MS	0	0	0	0
14	ER-90-16	SHARP/3/PRL/SARA//TSI/VEE#5/5/VEE/LIRA//...	5R	0	0	0	0	0
15	ER-90-17	WAXWING*2/TUKURU	5R	0	0	0	0	0
16	ER-90-18	WBLL1*2/BRAMBLING	10MR	0	0	0	0	0
17	WS-86-14	KAUZ/PASTOR	0	0	1	1	1	1
18	WS-87-15	PBW343*2/KUKUNA	0	0	1	1	1	1
19	WS-88-6	Alvd/Aldan/Ias*2/3/Bez	0	10MS	0	0	0	0
20	WS-88-13	WAXWING*2/KIRITATI	50MS	0	0	0	0	0
21	M-87-16	KAUZ//ALTAR 84/AOS/3/PASTOR	0	5R	0	0	0	0
22	M-88-10	Alvd/Aldan/Ias*2/3/Bez	0	40MS	0	0	0	0
23	M-88-16	Alvand//Aldan/Ias/3/1-73-240/4/Alamoot	20MR	10MS	0	0	0	0
24	Ms-87-8	1-66-22/3/Alvd//Aldan/Ias	20MR	30MS	0	0	1	1
25	Ms-87-9	Desprez80/Rsh//1-66-22/Inia	0	30MS	0	0	1	1
26	Ms-88-8	1-66-22/Passarinho/3/Vee/Nac//1-66-22	0	30MS	1	1	1	1
27	Ms-88-16	Alborz/5/K62909/4/Cno//K58/Tob/3/Wa/5/Chen…	0	0	1	1	1	1
28	Ms-89-4	Mrn/Catbird	0	0	1	1	1	1
29	Ms-89-6	Alvd//Aldan/Ias 58/3/Kvr	0	0	1	1	1	1
30	Ms-89-7	Gv/D630//Ald"s"/3/Azd/4/Rsh/5/Kauz/Stm	10MR	30MS	1	1	1	1
31	Ms-89-8	Chamran/Kavir	0	30MS	0	0	1	1
32	Ms-89-10	T.AestxTi(La(Frkal.xGb))=(1-66-22)/5/Kauz*2/...	0	0	0	0	0	1
33	Ms-89-11	T.AestxTi(La(Frkal.xGb))=(1-66-22)/5/SNH.9	0	30MS	0	0	0	1
34	Ms-89-12	Atrak/3/Chen/Aeg.sq(Taus)//BCN CMBW98...	0	0	1	1	1	1
35	Ms-89-13	Kauz*2/Opata//Kauz/3/Sakha 8/4/Tam 200	0	30MS	1	1	1	1
36	ER-C-90-4	Zrn/Shiroodi/6/Zrn/5/Omid/4/Bb/Kal//Ald/3/...	5MR	40MS	0	0	0	0
37	ER-C-90-5	Owl/Kavir/3/Owl//Vee/Nac	5R	70MS	0	0	0	0
38	ER-C-90-6	Shi4414/Crow"s"//V82187/T.aest/5/Ti/4/La/3/Fr...	10MR	0	0	0	0	0
39	ER-C-90-7	Rsh/Tam200//Alvd	0	60MS	0	0	0	0
40	ER-C-90-8	Alvd//Aldan"s"/IAS58/3/MV17/5/Kal/Bb//Cj"s"...	0	0	0	0	0	0
41	ER-C-90-9	Akn/81-130ks73h530//Vee/3/Novosadska	0	70MS	1	1	1	0
42	ER-C-90-10	Alpu	10MR	0	1	1	1	1
43	ER-C-90-11	Eudiele	5R	70MS	0	0	0	0
44	ER-C-90-12	Aldric	5R	0	0	0	0	0
45	ER-C-90-13	Fioreetto	5R	0	0	0	0	0
46	ER-C-90-14	Fdo 11042	5R	50MS	0	0	0	0
47	C-85-3	Chk"S"/Bow"s"//90Zhcong87/3/Shiroodi	0	0	0	0	0	0
48	C-85-6	MV17/Zrn	0	10MS	0	0	0	0
49	C-86-3	Bloudan/3/Bb/7c*2//Y5OE/3*Kal/4/MV17	0	60MS	0	0	0	0
50	C-86-5	Yan 7578.128//Chil/2*Stan	0	10MS	0	0	0	0
51	C-86-6	Yan 7578.128//Chil/2*Stan	0	10MS	0	0	0	0
52	C-87-6	Alvd//Aldan/Ias*2/3/Gaoland	10MR	0	0	0	0	0
53	C-87-11	Bazzwood/MV17	0	40MS	0	0	0	0
54	C-87-12	Bazzwood/MV17	0	70MS	0	0	0	0
55	C-87-18	Bilinmayen-6	0	0	1	1	1	1
56	C-88-4	Gaocogan/Cal.no.3625//Alboot	0	90MS	0	0	0	0
57	C-88-13	Gds/4/Anza/3/Pi/nan//Hys/5/Vee/Nac/6/…	0	20MS	0	0	0	0
58	C-88-14	Gds/4/Anza/3/Pi/nan//Hys/5/Vee/Nac/6/…	0	10MS	0	0	0	0
59	C-89-6	Fdo2062	0	0	0	0	0	0
60	C-89-7	Zrn*2/Gazland	0	70MS	0	0	0	0
61	C-89-15	Fdo4085	0	0	0	0	0	0
62	-	Parsi	20MR	0	0	0	0	0
63	-	Sivand	50MS	70MS	0	0	0	0
64	-	Sirvan	20MR	0	0	0	0	0
65	-	Pishtaz	0	0	0	0	0	0
66	-	Morvarid	0	0	0	0	0	0
67	-	Soisson	0	10MS	0	0	0	0
68	-	Gascogen	0	0	0	0	0	0
69	-	Gaspard	0	10MS	0	0	0	0
70	-	Baz	60MS	0	0	0	0	0
71	-	MV-17 (*Lr34/Yr18*)	10MR	0	1	1	1	1
72	-	Oroum	5MR	0	0	0	0	0
73	-	Zareh	10MR	5MR	1	1	1	1
74	-	Mihan	5R	70MS	0	0	0	0
75	-	Sorkhtokhm	100S	0	0	0	0	0
76	-	Chamran	70MS	0	0	0	0	0
77	-	Falat	80MS	0	0	0	0	0
78	-	Darab#2	60MS	0	1	1	1	1
79	-	Bam	0	0	1	1	1	1
80	-	Sistan	0	40MS	1	1	1	1
81	-	Arg	0	0	0	0	1	1
82	-	Moghan 3	70MS	0	0	0	0	0
83	-	Shiroodi	90S	0	0	0	0	0
84	-	Shiraz	90S	70MS	0	0	0	0
85	-	Morocco (Suc. Check)	100S	80S	0	0	0	0
جمع					18	18	22	23

* R: Resistant; MR: Moderately resistant; MS: Moderately susceptible; S: Susceptible

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-11-17]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1397.20.2.2.7]

شد. نشانگرهای مورد استفاده بر اساس نتایج مطالعات قبلی در رابطه با نشانگرهای مرتبط با ژن *Lr34* انتخاب شدند (Lagudah *et al*., 2006; Lagudah *et al*., 2009; Dakouri *et al*., 2010):

الف- برای بررسی حضور یا عدم حضور ژن *Lr34* از یک نشانگر مولکولی مبتنی بر نقاط نشانمند از توالی (STS) استفاده شد (Lagudah *et al*., 2006). نشانگر مولکولی مورد نیاز برای شناسایی ژن *Lr34* با پرایمری با نام STS-csLV34 تکثیر می‌شود. آلل پیوسته با مقاومت ($Lr34^{+}$) با اندازه 150-bp و آلل نول ($Lr34^{-}$) با اندازه 229-bp روی ژل آگارز ظاهر می‌شوند . توالی آغازگرهای مورد استفاده برای پرایمر STS-csLV34 و دمای اتصال آن در واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در جدول ۲ نشان داده شده است.

ب- حضور یا عدم حضور ژن *Lr34* بر مبنای تفاوت توالی موجود بین آلل های مؤثر ($Lr34^{+}$) و غیر مؤثر ($Lr34^{-}$) و یا وجود و یا فقدان آلل‌های تعدادی از نشانگرهای مولکولی STS که توسط لاگودا و همکاران (Lagudah *et al*., 2009) معرفی شده‌اند، مورد بررسی قرار گرفت. فهرست نشانگرهای جدید ارائه شده توسط لاگودا و همکاران (Lagudah *et al*., 2009) برای تشخیص حضور ژن *Lr34*، توالی آغازگرهای مورد استفاده و دمای اتصال آغازگرها در واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در جدول ۲ ارائه شده است.

ج- حضور یا عدم حضور ژن *Lr34* بر مبنای تفاوت توالی موجود بین آلل های $Lr34^{+}$ و $Lr34^{-}$ در ژنوتیپ ها همچنین با استفاده از تعدادی از نشانگرهای SSR سری cam، نشانگرهای SNP سری caSNP و نشانگرهای اختصاصی ژنی که توسط داکوری و همکاران (Dakouri *et al*., 2010) معرفی شده و قدرت تشخیصی آن‌ها بیشتر از نشانگرهای قدیمی نظیر csLV34 عنوان شده، مورد بررسی قرار گرفت. فهرست نشانگرهای جدید مورد استفاده برای تشخیص حضور ژن *Lr34* در تحقیق انجام شده توسط داکوری و همکاران (Dakouri *et al*., 2010)، توالی آغازگرهای مورد استفاده و دمای اتصال آغازگرها در واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در جدول ۲ ارائه شده است.

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز براساس روش لاگودا و همکاران (Lagudah *et al*., 2006 & 2009) و داکوری و همکاران (Dakouri *et al*., 2010) در حجم ۲۰ میکرولیتر برای هر واکنش با استفاده از PCR Buffer (1X)، آغازگرهای مورد نظر (۲۰۰ نانومول)، آنزیم تگ پلیمراز (یک واحد)، dNTPs به میزان ۰/۲ میلی‌مول، $MgCl_2$ به میزان دو میلی‌مول و DNA به میزان ۵۰ نانوگرم برای هر واکنش انجام شد. برنامه حرارتی PCR به صورت یک چرخه واسرشته سازی اولیه در دمای ۹۴ درجه سلسیوس به مدت سه دقیقه، ۳۵ چرخه شامل مراحل واسرشته سازی در دمای ۹۴ درجه سلسیوس به مدت ۴۵ ثانیه، مرحله اتصال ۵۵ درجه سلسیوس برای آغازگر csLV34، مرحله اتصال ۵۸ درجه سانتی‌گراد (در مورد همه آغازگرهای ریزماهواره cam و caIND11 و آغازگرهای Cssfr) یا مرحله اتصال ۶۵ درجه سانتی گراد (برای آغازگرهای caSNP4 و caSNP12) به مدت ۳۰ ثانیه و مرحله بسط در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت یک دقیقه و در خاتمه بسط نهایی در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۱۰ دقیقه تنظیم گردید. پس از اتمام چرخه‌ها، نمونه‌ها از دستگاه خارج و تا قبل از الکتروفورز دردمای ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شدند. محصولات حاصل از PCR روی ژل آگارز دو درصد و با استفاده از الکتروفورز با ولتاژ ۱۰۰ ولت تفکیک شده و با استفاده از محلول اتیدیوم بروماید رنگ‌آمیزی و باندهای هر نمونه با اشعه ماورا بنفش در دستگاه ژل داکیومنت (UVitech, England) عکس‌برداری شدند. تجزیه و تحلیل و امتیازبندی باندهای حاصل بر مبنای اندازه باندها در مقایسه با نشانگر وزنی به صورت صفر (عدم وجود باند) و یک (وجود باند) انجام شد.

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-11-17]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1397.20.2.2.7]

جدول ۲- نام نشانگر، نام آغازگر، توالی آغازگر و دمای اتصال در واکنش زنجیره‌ای پلیمراز برای نشانگرهای پیوسته با ژن *Lr34* مورد استفاده برای ارقام و لاین‌های امیدبخش گندم

Table 2. Designation of the linked markers to *Lr34* gene, their forward and revers primers, primer sequences and annealing temperatures in PCR for wheat lines and cultivars

Marker نشانگر	Primer آغازگر	Primer sequence توالی آغازگر	Anealing temperature (ºC) دمای اتصال	Reference منبع
STS-csLV34	csLV34F	5'- GTTGGTTAAGACTGGTGATGG-3'	55	Lagudah *et al*., 2006
	csLV34R	5' - TGCTTGCTATTGCTGAATAGT-3'		
Cssfr1	L34DINT9F	5'-TTGATGAAACCAGTTTTTTTTCTA-3'	58	Lagudah *et al*., 2009
	L34PLUSR	5'-GCCATTTAACATAATCATGATGGA-3'		
Cssfr2	L34DINT9F	5'-TTGATGAAACCAGTTTTTTTTCTA-3'	58	Lagudah *et al*., 2009
	L34MINUSR	5'-TATGCCATTTAACATAATCATGAA-3'		
Cssfr5 (Multiplex)	L34SPF	5'-GGGAGCATTATTTTTTTCCATCATG-3'	58	Lagudah *et al*., 2009
	L34DINT13R2	5'-ACTTTCCTGAAAATAATACAAGCA-3'		
	L34DINT9F	5'-TTGATGAAACCAGTTTTTTTTCTA-3'		
	L34MINUSR	5'-TATGCCATTTAACATAATCATGAA-3'		
cam1	cam1F	5'-TGGCATGAGAAGAAAGCGTA-3'	58	Dakouri *et al* ,2010
	cam1R	5'-CCGCTACCGCAGTAATGTCT-3'		
cam2	cam2F	5'-GACAACAAACAGGACCTGGCACT-3'	58	Dakouri *et al* ,2010
	cam2R	5'-CACCCAAAGAGAAGGAACCA-3'		
cam11	cam11F	5'-CCAGGGTGCATCCCAAGTA-3'	58	Dakouri *et al* ,2010
	cam11R	5'-ACCGAAAGTGTTTTGGAGTG-3'		
cam16	cam16F	5'-AACAATGAATACCCTAGCAGAGC-3'	58	Dakouri *et al* ,2010
	cam16R	5'-CGAACGCGTGGTTGTCAT-3'		
cam23	cam23F	5'-CGGCCCTGAAAATCGTACT-3'	58	Dakouri *et al* ,2010
	cam23R	5'-CATGTATGGTGCGTGCTTGT-3'		
caIND11	caIND11F	5'-GTCTCCCAATCTGCATGCTC-3'	58	Dakouri *et al* ,2010
	caIND11R	5'-TACCTCCCAAAAGCCAGTTG-3'		
caSNP4	caSNP4F	5'-GCGTTTCTGTCACCAGAAGT-3'	65	Dakouri *et al* ,2010
	caSNP4R	5'-AATAAACTCGCGCCTCTTGA-3'		
caSNP12	caSNP12F	5'-TCCCCAGTTTAACCATCCTG-3'	65	Dakouri *et al* ,2010
	caSNP12R	5'-CATTCAGTCACCTCGCAGC-3'		

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-11-17]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1397.20.2.2.7]

نتایج و بحث

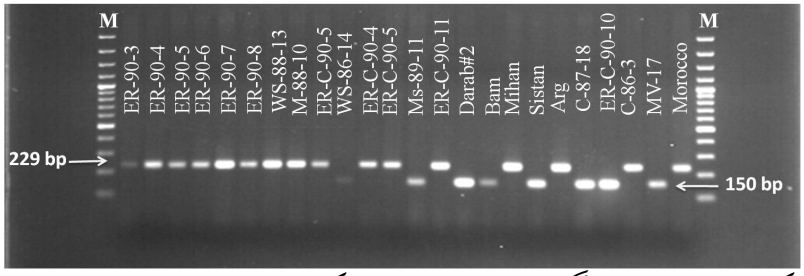
نتایج آزمایش مزرعه‌ای نشان داد که از ۸۵ ژنوتیپ گندم مورد ارزیابی، دو رقم شاهد موروکو و محلی سرخ‌تخم با 100S و ارقام شیرودی و شیراز با 90S دارای واکنش حساس، هفت ژنوتیپ با 50MS تا 80MS دارای واکنش نیمه‌حساس، ۱۷ ژنوتیپ با 5MR تا 20MR دارای واکنش نیمه مقاوم، ۱۴ ژنوتیپ با 5R تا 30R دارای واکنش مقاوم و ۴۳ ژنوتیپ دارای واکنش مصونیت (0) نسبت به زنگ زرد بودند (جدول ۱). واکنش‌های بسیار حساس 100S در رقم شاهد موروکو و رقم محلی سرخ‌تخم نشان دهنده استقرار خوب بیماری در خزانه زنگ زرد بود. در آزمایش ارزیابی واکنش مزرعه‌ای به زنگ قهوه‌ای در خزانه اهواز از ۸۵ ژنوتیپ مورد آزمایش، گندم شاهد رقم موروکو دارای واکنش 80S بود، در حالی که ۳۷ ژنوتیپ دارای واکنش نیمه حساس (5MS تا 90MS)، یک ژنوتیپ دارای واکنش نیمه مقاوم (5MR)، یک ژنوتیپ دارای واکنش مقاوم (5R) و ۴۵ ژنوتیپ دارای واکنش مصونیت (0) نسبت به زنگ قهوه‌ای بودند (جدول ۱). در این آزمایش نیز واکنش بسیار حساس (80S) در رقم شاهد موروکو، نشان دهنده استقرار خوب بیماری در خزانه زنگ قهوه‌ای بود. در مجموع ۲۰ ژنوتیپ دارای واکنش مصونیت نسبت به هر دو بیماری بودند. از ۲۵ ژنوتیپ که نسبت به بیماری زنگ قهوه‌ای واکنش مصونیت نشان دادند، نسبت به زنگ زرد مقاوم (۸ ژنوتیپ)، نیمه مقاوم (۹ ژنوتیپ)، نیمه حساس (۶ ژنوتیپ) و حساس (۲ ژنوتیپ) بودند. نتایج نشان داد که ۲۳ ژنوتیپ دارای واکنش مصونیت نسبت به زنگ زرد بوده ولی نسبت به زنگ قهوه‌ای واکنش‌های مقاوم تا نیمه حساس داشتند. در بین این ژنوتیپ‌ها فقط یک لاین واکنش مقاوم (5R) داشت و ۲۲ ژنوتیپ دیگر واکنش‌های نیمه حساس (10MS تا 90MS) داشتند (جدول ۱).

جهت بررسی حضور جایگاه ژنی *Lr34*، نشانگرهای مولکولی csLV34، Cssfr1، Cssfr2، Cssfr5، cam1، cam2، cam11، cam8،cam23، caSNP4، caSNP12 و caIND11 مورد استفاده قرار گرفتند. به منظور آزمون حضور آلل مقاومت ژن *Lr34* در ژنوتیپ‌های مورد بررسی ابتدا با استفاده از پرایمرهای نشانگر مولکولی STS-csLV34 اقدام به تکثیر آلل‌های پیوسته با این ژن گردید. آلل مقاومت (*Lr34*$^{+}$) با اندازه ۱۵۰ bp و آلل غیر عامل (*Lr34*$^{-}$) با اندازه ۲۲۹ bp روی ژل آگارز آشکار گردید (شکل ۱). از میان ۸۵ ژنوتیپ گندم مورد ارزیابی ۲۳ ژنوتیپ دارای آلل ۱۵۰ بازی بودند که نشان دهنده فراوانی خوب این آلل (۲۷ درصد) در بین لاین‌های امیدبخش و ارقام تجاری گندم نان کشور است (جدول ۱). دادرضایی و همکاران (Dadrezaei *et al*., 2013) در آزمایشی روی ۱۳۰ ژنوتیپ گندم نان ایران، اظهار داشتند که آلل ۱۵۰ بازی در ۴۳ ژنوتیپ تکثیر شد که حدود ۳۳ درصد از کل ارقام و لاین‌های مورد ارزیابی بود. این یافته‌ها تایید کننده نتایج آزمایش حاضر در رابطه با حضور قابل ملاحظه آلل ۱۵۰ بازی نشانگر مولکولی STS-csLV34 در ژنوتیپ‌های گندم مورد ارزیابی بود. با توجه به سهولت استفاده از نشانگر STS-csLV34، از سال ۲۰۰۶ و بعد از معرفی این نشانگر، تعداد زیادی از محققان برای بررسی حضور ژن *Lr34* در ارقام گندم استرالیا، کانادا، امریکا، ایران و مرکز بین‌المللی تحقیقات گندم و ذرت از این نشانگر استفاده نموده‌اند (Wu *et al*., 2010; Dadrezaei *et al*., 2013; Kolmer *et al*., 2008; Yang *et al*., 2013). نوترکیبی مشاهده شده بین این نشانگر و ژن *Lr34* در نتاج حاصل از برخی از ارقام گندم و همچنین نتایج غیرشفاف حاصل از قیاس ژنی (gene postulation)، ابهاماتی را در استفاده از این نشانگر بوجود آورده است (Kolmer *et al*., 2008; McCallum *et al*., 2008; Lagudah *et al*., 2009). با وجود قدرت خوب این نشانگر در تشخیص ژن *Lr34* در دامنه وسیعی از گندم‌های بررسی شده

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-11-17]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1397.20.2.2.7]

از نقـاط مختلـف دنیـا، در برخـی مطالعـات درجـه زیـادی از خطـای مثبـت کـاذب دیـده شـده اسـت (Dakouri *et al*., 2010 ;Lagudah *et al*., 2009). بـه‌عنـوان مثـال در ارزیـابی مقاومـت تـوده‌هـای بـومی گنـدم چـین نسـبت بـه زنـگ زرد، تعـداد ۱۵۱ تـوده بـومی بـرای حضـور آلـل مقاومـت در نشـانگر STS-csLV34 (۱۵۰ bp) مـورد ارزیـابی قـرار گرفـت و حضـور ایـن آلـل در ۸۲/۱ درصـد از ایـن تـوده‌هـا اثبـات شـد، بـه طوریکـه یـک چهـارم ایـن تـوده‌هـا واکنش بسـیار حساسـی بـه زنـگ زرد در مزرعـه نشـان دادنـد. نکتـه قابـل توجـه در ایـن تحقیـق ایـن بـود کـه توالی باند ۱۵۰ بازی تکثیر شـده در ایـن تـوده‌هـا کـاملا مشابه توالی قطعات DNA تکثیرشده در ارقام مقاوم بـود (Wu *et al*., 2010).



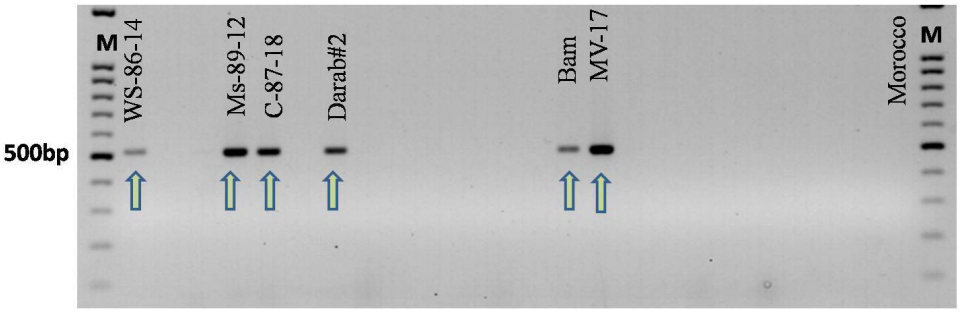
شکل ۱- باندهای تکثیر شده توسط نشانگر csLV34 حاصل از الکتروفورز مربوط به تعدادی از ارقام و لاین‌های گندم مورد بررسی. M: مارکر وزنی ۱۰۰bp و باندهایی که با فلش نشان داده شده‌اند، بیانگر آلل مؤثر *Lr*34^{+} (۱۵۰ bp) و یا آلل غیر مؤثر *Lr*34^{-} (۲۲۹ bp) هستند

Fig. 1. Gel electrophoresis of DNA bands amplified using csLV34 marker in some of the studied wheat cultivars/lines. M: 100 bp molecular-weight size marker and amplified DNA bands for *Lr*34^{+} (150 bp) and *Lr*34^{-} (229 bp) are indicated by arrows

همسانه سازی (کلون) و تـوالی یـابی اولیـه ژن *Lr34* در ارقام مقاوم و حساس نشان داد کـه دو پلـی‌مورفیسـم تک نوکلئوتیدی در اینترون ۴ و اگزون ۱۲ و یک قطعه حذف شده سه نوکلئوتیدی در اگـزون ۱۱ ژن *Lr34* در بین ایـن ارقـام مشـاهده شـد (Krattinger *et al*., 2009). کلون کردن ژن *Lr34* و توالی‌یـابی ترتیـب نوکلئوتیـدی آن روی کرومـوزوم 7D گنـدم، روش بسـیار مناسـبی جهت طراحی آغازگرهای مناسب برای تکثیـر قطعـاتی از آن بـه عنـوان نشـانگرهای مولکـولی کـاملا پیوسـته بـا ایـن ژن بوجـود آورد (Lagudah *et al*., 2009; Dakouri *et al*., 2010). جهـت بررسـی دقیـق‌تـر حضـور آلـل مقاومـت ژن *Lr34* در ژنوتیـپ‌هـای گنـدم مـورد بررسـی، از نشـانگرهای مولکـولی Cssfr1، Cssfr2، Cssfr5، cam1، cam2، cam8، cam23، caSNP4، caSNP12 و caIND11 کـه بـر مبنـای پلـی‌مورفیسـم موجـود در اگـزون ۱۱ در ژن *Lr34* طراحی شـده‌انـد (Lagudah *et al*., 2009) استفاده شـد. با اسـتفاده از نشـانگر Cssfr1 قطعـه‌ای بـا انـدازه ۵۱۷ bp که به صورت اختصاصی بیانگر وجود آلل مـؤثر *Lr*34^{+} است، تکثیر شـد (شـکل ۲). ایـن نشـانگر یـک نشـانگر غالـب بـوده و در ژنوتیـپ هـایی کـه فاقـد آلـل مـؤثر مقاومت بودند، هیچ‌گونه قطعـه‌ای در محصـولات PCR تکثیـر نشـد (شـکل ۲). در ایـن تحقیـق از ۸۵ لایـن و رقم گندم مـورد ارزیـابی، ۲۲ ژنوتیـپ دارای آلـل ۵۱۷ بـازی بـوده و سـایر ژنوتیـپ‌هـا دارای آلـل نـول بودنـد (جـدول ۱). حضـور آلـل هـای *Lr*34^{+} در نشـانگرهای STS-csLV34 و Cssfr1 دارای همبسـتگی خـوبی بـود و در اکثـر مـوارد، غیـر از چنـد

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-11-17]
[DOR: 20.1001.1.15625540.1397.20.2.2.7]

استثنا شامل ژنوتیپ‌های شماره ۳۲، ۳۳ و ۴۱ (جدول ۱)، همبستگی کاملی در نتایج حضور یا عدم حضور آلل های مرتبط با ژن *Lr34* در ژنوتیپ‌ها مشاهده شد.



شکل ۲- باندهای تکثیر شده توسط نشانگر Cssfr1 حاصل از الکتروفورز مربوط به تعدادی از ارقام و لاین‌های گندم مورد بررسی. M: مارکر وزنی ۱۰۰ bp و باندهایی که با پیکان نشان داده شده‌اند، بیانگر آلل مؤثر $Lr34^{+}$ (۵۱۷ bp) هستند

Fig. 2. Gel electrophoresis of DNA bands amplified using Cssfr1 marker in some of the studied wheat cultivars/lines. M: 100 bp molecular-weight size marker and amplified DNA bands for $Lr34^{+}$ (517 bp) are indicated by arrows

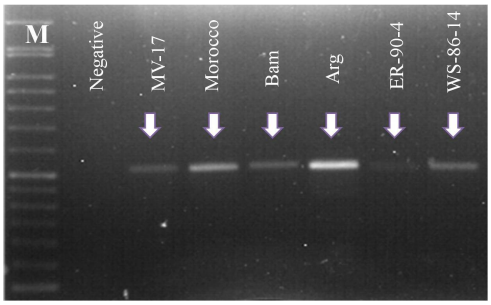
نشانگر Cssfr2 نیز یک نشانگر غالب بوده که توسط لاگودا و همکاران (Lagudah *et al.*, 2009) معرفی شده است و به صورت اختصاصی با تکثیر قطعه‌ای با اندازه ۵۲۳ bp، بیانگر وجود آلل مؤثر $Lr34^{-}$ بوده و عدم تشکیل این باند، نشان دهنده وجود آلل مؤثر مقاومت است. نتایج آزمون حضور ژن *Lr34* با این نشانگر نشان داد که باند ۵۲۳ bp در کلیه ارقام و لاین‌های مورد بررسی و همچنین رقم کنترل مثبت آزمایش (رقم مقاوم MV17) وجود داشت (شکل ۳)، درصورتی که این باند نشان دهنده آلل مرتبط با حساسیت بوده و باید فقط در ارقام و لاین‌های حساس دیده می‌شد. با تکرار آزمایش، نتایج مشابهی بدست آمد و قطعه ۵۲۳ بازی مجددا در کلیه ژنوتیپ‌ها تکثیر گردید. این موضوع می‌تواند به کیفیت مواد مورد استفاده در واکنش زنجیره‌ای پلیمراز، استفاده از دستگاه بسیار دقیق تفکیک کننده قطعات DNA (ABI DNA Analyzer) توسط محققان معرفی کننده این آغازگر (Lagudah *et al.*, 2009) و یا عدم تکرارپذیری این نشانگر مربوط باشد. یکی از اختلاف‌های عمده در مورد نحوه اجرای واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در آزمایش حاضر با واکنش زنجیره‌ای پلیمراز انجام شده توسط معرفی‌کنندگان پرایمر Cssfr2، استفاده از روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با شروع داغ (Hot start PCR) بود که یک روش تغییریافته است که با غیر فعال کردن آنزیم DNA پلیمراز در درجه حرارت‌های پایین‌تر از تکثیر باندهای غیراختصاصی جلوگیری می‌کند. وجود باندهای کم رنگ در شکل ۳ می‌تواند دلالت بر اتصال غیراختصاصی این پرایمر در ناحیه تکثیر نشانگر داشته باشد. بهر حال با توجه به محدود بودن منابع مالی پروژه و قیمت بسیار زیاد آنزیم HotStar Taq polymerase نسبت به آنزیم Taq polymerase معمولی، در این تحقیق از آنزیم معمولی استفاده شد که نتایج بدست آمده رضایت بخش نبود. این نتایج نشان می‌دهند که استفاده از این نشانگر مولکولی برای بررسی حضور ژن *Lr34* در آزمایشگاه‌هایی با امکانات محدود دارای نتایج روشنی نبوده و در تحقیقات آینده استفاده از این نشانگر در آزمایشگاه‌های مولکولی با امکانات اولیه پیشنهاد نمی‌شود.

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-11-17]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1397.20.2.2.7]

نشانگر Cssfr5 همانند دو نشانگر Cssfr1 و Cssfr2 بر مبنای پلی‌مورفیسم موجود در اگزون ۱۱ توسعه یافته است. این نشانگر یک نشانگر هم‌بارز بوده که از ترکیب آغازگرهای L34SPF/L34DINT13R2 و L34DINT9F/L34MINUSR بدست می‌آید. محصولات واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با دو اندازه ۷۵۱bp (*Lr34*$^{+}$) و ۵۱۷ bp (*Lr34*$^{-}$) روی ژل آگارز دو درصد قابل تفیک هستند (Lagudah *et al*., 2009). در تحقیق حاضر از روش پی سی آر چند گانه (Multiplex PCR) که منجر به تکثیر آلل‌های نشانگر Cssfr5 مرتبط با مقاومت به *Lr34* می‌گردد نیز استفاده شد، اما با وجود چند مرتبه تکرار پی سی آر، هیچ گونه باند نشان دهنده مقاومت یا حساسیت در ارقام کنترل مثبت و منفی مشاهده نشد. عدم تکثیر باندهای مورد انتظار در نشانگر Cssfr5 در این تحقیق نیز می‌تواند به کیفیت مواد مورد استفاده در واکنش زنجیره‌ای پلیمراز و یا عدم تکرارپذیری این نشانگر مربوط باشد. بهر حال، براساس نتایج بدست آمده توصیه می‌شود که همانند نشانگر Cssfr2 برای بررسی حضور ژن*Lr34* در ژنوتیپ‌های گندم در آزمایشگاه‌هایی با امکانات اولیه، از این نشانگر استفاده نشود.

داکوری و همکاران (Dakouri *et al.*, 2010) علاوه بر پلی مورفیسم مشاهده شده در اینترون ۴ و اگزون ۱۲ و جهش سه نوکلئوتیدی در اگزون ۲۲، یک جهش دیگر در اگزون ۱۰ ژن *Lr34* را که فقط در ژنوتیپ‌های حساس دیده می‌شود، شناسایی کردند. این محققان غیر از چهار هاپلوتایپ معرفی شده برای نشانگرهای اختصاصی ژن *Lr34* ، یک هاپلوتایپ جدید را نیز برای شناسایی حضور این ژن معرفی نمودند. در این هاپلوتایپ، علی‌رغم حذف قطعه سه نوکلئوتیدی در اگزون ۱۱ که ظاهرا باید نشان دهنده وجود ژن *Lr34* باشد، ژنوتیپ‌هایی با فنوتیپ حساس مشاهده شدند. بر مبنای این یافته‌های جدید و مشاهدات دقیق‌تر در توالی ژنومی ژن *Lr34* و نقاط مجاور این ژن، داکوری و همکاران (Dakouri *et al.*, 2010) ۱۰ نشانگر جدید را برای شناسایی ژن *Lr34* معرفی کردند. باید خاطرنشان کرد که این محققان این نشانگرها را بر مبنای تفکیک باندهای DNA در دستگاه ABI 3130x1 که قابلیت تمایز باندهایی با اختلاف اندازه حتی دو جفت باز را در قطعات حاصل از PCR دارد، معرفی کرده‌اند. با توجه به اینکه اختلاف اندازه بین آلل‌های نشان دهنده مقاومت و آلل‌های نشان دهنده حساسیت در این نشانگرها در اکثر موارد بسیار کم است، با سیستم‌های الکتروفورز ژل آگارز و پلی‌اکریل‌آمید، در بیشتر مواقع



شکل ۳- باندهای تکثیر شده توسط نشانگر Cssfr2 حاصل از الکتروفورز برای تعدادی از ارقام و لاین‌های گندم مورد بررسی. M: مارکر وزنی ۵۰ bp و باندهایی که با پیکان نشان داده شده‌اند، بیانگر آلل *Lr*34^{-} (۵۲۳ bp) هستند

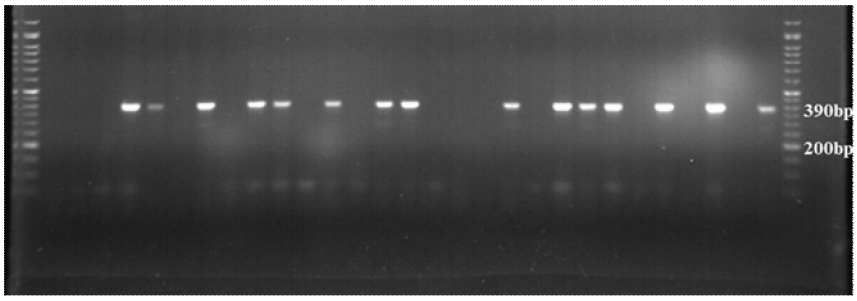
Fig. 3. Gel electrophoresis of DNA bands amplified using Cssfr2 marker in some of the studied wheat cultivars/lines. M: 50 bp molecular-weight size marker and amplified DNA bands for *Lr*34^{-} (523 bp) are indicated by arrows

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-11-17]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1397.20.2.2.7]

تمایز فاصله بین آلل‌ها در این سیستم‌های الکتروفورزی به سختی امکان‌پذیر است، با این وجود بر اساس وجود نشانگرهای بارز (وجود آلل مثبت و آلل نول) و نشانگرهای همبارز (اختلاف در اندازه باندهای تولید شده) به‌ترتیب از سیستم‌های الکتروفورزی ژل آگارز و پلی‌اکریل‌آمید برای جداسازی محصولات حاصل از نشانگر های مولکولی جدید شامل cam1، cam2، cam8، cam11، cam23، caIND11 استفاده شد. با توجه به تفاوت بسیار کم اندازه قطعات تکثیرشده توسط این نشانگرها در ژنوتیپ های مختلف نتایج قابل قبولی از این بررسی‌ها بدست نیامد ومشخص شد که تمایز باندهای ظاهر شده از یکدیگر در سیستم الکتروفورزی ژل آگارز و پلی اکریل‌آمید میسر نیست. بر اساس این نتایج پیشنهاد می‌شود که از نشانگرهای فوق برای تشخیص ژن *Lr34* در آزمایشگاه‌هایی با امکانات محدود استفاده نشود.

نشانگرهای caSNP4 و caSNP12 از گروه نشانگرهای SNP بوده و ازجمله جدیدترین و دقیق‌ترین نشانگرهای مولکولی شناخته شده برای ردیابی ژن *Lr34* به شمار می‌روند (Dakouri *et al.,* 2010). علاوه بر لینکاژ بالایی که بین این دو نشانگر و ژن مورد نظر وجود دارد، کاربرد آسان و کم هزینه آن‌ها از مهم‌ترین مزیت‌های این نشانگرها به شمار می‌رود. محصولات PCR نشانگرهای caSNP4 و caSNP12 در صورت وجود ژن مقاومت، به ترتیب دارای قطعه‌ای به اندازه bp ۳۹۰ و bp ۲۳۴ در الکتروفورز ژل آگارز ۱/۵ درصد بوده و در صورت عدم وجود ژن، هیچ قطعه‌ای در هر دو نشانگر تکثیر نمی‌شود (Dakouri *et al.,* 2010).در تحقیق حاضر از این دو نشانگر برای ردیابی ژن *Lr34* در ژنوتیپ‌های گندم استفاده شد. نتایج نشان داد که باندهای واضح و روشنی با استفاده از هر دو نشانگر بدست آمد که نمره‌دهی آن‌ها براساس اندازه باند مورد انتظار بسیار ساده بود (شکل ۴ و شکل ۵). نتایج همچنین حاکی از آن بود که همبستگی کاملی بین این دو نشانگر وجود داشت و با استفاده از هر دو نشانگر caSNP4 وcaSNP12 ، ۱۸ لاین و رقم دارای آلل های مرتبط با لینکاژ ژنی با ژن *Lr34* بودند (جدول ۱). نتایج حاصل از این نشانگرها دارای همپوشانی بالایی با نشانگرهای STS-csLV34 و Cssfr1 بود و همه ۱۸ ژنوتیپی که با این نشانگرها به عنوان حامل ژن *Lr34* شناسایی شدند، با استفاده از دو نشانگر STS-csLV34 و Cssfr1 نیز به عنوان ژنوتیپ های $Lr34^{+}$ شناخته شده بودند. بهر حال با توجه به محل استقرار نشانگر caSNP4 و caSNP12 روی ژن کدکننده پروتئین انتقال دهنده غشایی ABC، برای بررسی حضور ژن *Lr34* با استفاده از این نشانگرها اطمینان بیشتری حاصل می‌شود.

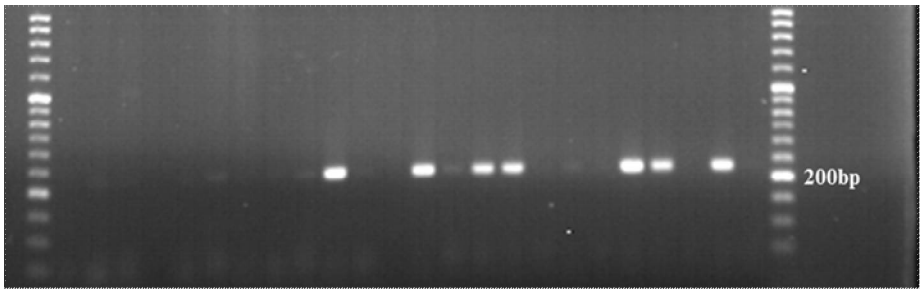


شکل ۴- باندهای تکثیر شده توسط نشانگر caSNP4 حاصل از الکتروفورز برای تعدادی از ارقام و لاین‌های گندم مورد بررسی. M: مارکر وزنی ۵۰bp است

Fig. 4. Gel electrophoresis of amplified products using caSNP4 marker in some of the studied wheat cultivars/lines. M: 50 bp molecular weight size marker

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-11-17]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1397.20.2.2.7]



شکل ۵- باندهای تکثیر شده توسط نشانگر caSNP12 حاصل از الکتروفورز برای تعدادی از ارقام و لاین‌های گندم مورد بررسی. M: مارکر وزنی 50 bp است

Fig. 5. Gel electrophoresis of amplified products using caSNP12 marker in some of the studied wheat cultivars/lines. M: 50 bp molecular weight size marker

در تحقیق حاضر از میان ارقام تجارتی گندم، ارقام زارع، داراب ۲، بم، سیستان و MV17 با استفاده از نشانگرهای csLV34، caSNP4 ، caSNP12 و Cssfr1 واجد آلل‌های شناخته شده و پیوسته با مقاومت به زنگ قهوه‌ای بودند. رقم ارگ تنها با استفاده از نشانگرهای csLV34 و Cssfr1 واجد آلل‌های شناخته شده مرتبط با مقاومت بود و با توجه به عدم تکثیر آلل‌های نشانگرهای caSNP4 و caSNP12 که نزدیک‌ترین نشانگرها به ژن *Lr34* بودند، با احتمال زیاد فاقد این ژن می‌باشد. نتایج این تحقیق نشان داد که ارقام گندم میهن، چمران، فلات، پارسی، سیوند، سیروان، پیشتاز، مروارید، مغان ۳، شیرودی، شیراز و اروم، ارقام خارجی سویسون، گاسکوژن، گاسپارد و باز و رقم محلی سرخ تخم، فاقد ژن *Lr34* هستند. در بین لاین‌های امیدبخش اقلیم‌های سرد و معتدل گندم، سه لاین در اقلیم معتدل، هفت لاین از برنامه شوری اقلیم معتدل و سه لاین در اقلیم سرد کشور با استفاده از نشانگرهای csLV34، caSNP4، caSNP12 و Cssfr1 واجد آلل‌های شناخته شده و پیوسته با مقاومت به زنگ قهوه‌ای بودند (جدول ۱). سه لاین امیدبخش دیگر در برنامه شوری اقلیم معتدل واجد آلل‌های شناخته شده مرتبط با مقاومت تنها در نشانگرهای csLV34 و Cssfr1 بودند. همانطوری که قبلا هم اشاره شد، با توجه به عدم تکثیر آلل‌های مرتبط با مقاومت در نشانگرهای caSNP4 و caSNP12، این لاین‌ها با احتمال زیاد فاقد ژن *Lr34* هستند.

مقایسه نتایج آزمایش مزرعه‌ای با آزمایشات مولکولی نشان می‌دهد که اکثر ژنوتیپ‌های واجد ژن *Lr34* دارای واکنش‌های از نوع مصون، مقاوم و نیمه مقاوم تا نیمه حساس با شدت کم نسبت به زنگ‌های زرد و قهوه‌ای می‌باشند و در هیچ موردی واکنش حساس دیده نشد (جدول ۱). بیشترین شدت آلودگی زنگ قهوه‌ای در ژنوتیپ‌های واجد ژن *Lr34* در لاین ER-C-90-9 با واکنش 70MS در خزانه بیماری‌های ایستگاه اهواز و بیشترین شدت آلودگی زنگ زرد در ژنوتیپ‌های واجد ژن *Lr34* در رقم داراب ۲ با واکنش 60MS در خزانه بیماری‌های کرج مشاهده شد.

از بین ارقام و لاین‌های واجد ژن *Lr34* در این تحقیق تنها رقم داراب ۲ واکنش نیمه‌حساس 60MS نسبت به زنگ زرد در شرایط مزرعه‌ای را نشان داد، ولی این رقم واکنش مصون نسبت به زنگ قهوه‌ای داشت. در شرایط آلودگی مصنوعی مزرعه، واکنش نیمه حساس با شدت بالای بیماری نسبت به زنگ زرد و قهوه‌ای، حتی در ژنوتیپ‌هایی که واجد ژن‌های مقاومت گیاه کامل بودند، دیده شد. رابیالز و نیکز (Rubiales and Niks, 1995) گزارش کردند که حتی در

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-11-17]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1397.20.2.2.7]

ژنوتیپ‌هایی با ژن *Lr34* ، دامنه وسیعی از واکنش نسبت به قارچ عامل زنگ قهوه‌ای، از واکنش نزدیک به حساس با جوش‌هایی که در منطقه پایین برگ ظاهر می‌شوند تا لکه‌های بسیار ریز (flecks) در منطقه نوک برگ دیده می‌شود. ذاکری و همکاران (Zakeri *et al.*, 2014) اظهار نمودند که واکنش رقم داراب ۲ نسبت به زنگ زرد در شرایط مزرعه‌ای واکنش نیمه حساس 70MS بود، با این وجود بر اساس نسبت‌های ژنتیکی به دست آمده از واکنش جمعیت F_3 حاصل از تلاقی رقم داراب ۲ و رقم حساس Avocet S نسبت به زنگ زرد در شرایط مزرعه‌ای، گزارش شد که بر اساس آزمون همگنی مربع کای، نسبت‌های پیش بینی شده ۱ (مقاوم تفرق نیافته)، ۲ (مقاوم تفرق یافته) و ۱ (حساس تفرق نیافته) در جمعیت، دلالت بر وجود یک ژن غالب مقاومت به زنگ زرد در مرحله گیاه کامل در رقم داراب ۲ دارد.

با توجه به این که وجود ژن *Lr34* باعث القای مقاومت جزئی در ژنوتیپ های گندم می‌شود، واکنش‌های مصون و مقاوم تعدادی از ژنوتیپ‌ها می‌تواند به حضور ژن‌های مقاومت دیگر در ژنوم آن‌ها مربوط باشد. در تحقیق انجام شده توسط صفوی و افشاری (Safavi and Afshari, 2014)، لاین ER-90-12 یکی از دو لاین با واکنش مقاوم (R) در بین بیست ژنوتیپ مورد آزمایش بود که مقاومت بسیار بالایی نسبت به زنگ زرد در مرحله گیاه کامل نشان داد. در تحقیق حاضر لاین ER-90-12 یکی از لاین‌هایی بود که بر اساس ارزیابی مولکولی واجد ژن *Lr34* بود. مقاومت مزرعه‌ای نسبت به زنگ زرد در این لاین می‌تواند با حضور ژن *Lr34* که مقاومت به زنگ زرد را نیز در مرحله گیاه کامل را کنترل می‌کند، مرتبط باشد.

اگرچه تا کنون برای ارزیابی حضور ژن *Lr34* در ژنوتیپ‌های گندم در سراسر دنیا از نشانگر csLV34بیشترین استفاده انجام گرفته است، پیش بینی می شود که نشانگرهای مبتنی بر توالی ژن *Lr34* که اطلاعات بسیار دقیق‌تری از حضور این ژن ارائه می‌کنند بزودی جایگزین نشانگرهای قدیمی خواهند شد (McCallum *et al.*, 2012). در این تحقیق از میان تعداد زیادی از نشانگرهای معرفی شده جدید که اکثرا در آزمایشگاه‌های مجهز مراکز تحقیقاتی کشورهای پیشرفته دنیا توسعه یافته‌اند، سه نشانگر جدید caSNP4، caSNP12 و Cssfr1 که در سیستم‌های رایج آزمایشگاه‌هایی با امکانات محدود از قبیل تانک الکتروفورز افقی و عمودی و سیستم رنگ آمیزی معمول اتیدیوم بروماید با سهولت قابل تکثیر و ردیابی هستند و همچنین احتمال نوترکیبی بین آن‌ها و ژن *Lr34* بسیار نادر است، برای بررسی‌های حضور ژن *Lr34* پیشنهاد می‌شوند. با توجه به این که موقعیت مکانی ژن *Lr34* دقیقا در بین دو نشانگر caSNP4 و caSNP12 قرار دارد، بهترین ترکیب برای اطمینان از حضور این ژن، مشاهده باندهای مرتبط با مقاومت (به ترتیب دارای قطعه‌هایی به اندازه ۳۹۰ bp و ۲۳۴ bp) در هر دو نشانگر می‌باشد. بهر حال، استفاده از نشانگرهای csLV34 و Cssfr1 به همراه دو نشانگر SNP و هاپلوتایپ حاصل می‌تواند اطمینان بیشتری را از حضور ژن *Lr34* داشته باشد. با استفاده از این هاپلوتایپ هر گونه مشکلی که ناشی از خطاهای آزمایشی در PCR و بارگذاری در ژل آگاروز و الکتروفورز در مورد دو نشانگر SNP باشد، قابل ردگیری، شناسایی و تکرار آزمایش می‌باشد.

شناسایی حضور ژن *Lr34* در ارقام تجارتی، لاین‌های امیدبخش و لاین‌های در حال معرفی گندم نان می‌تواند ابزار مفیدی برای تلاقی‌های هدفمند و انتقال و ردگیری این ژن در لاین‌های اصلاحی باشد تا در برنامه‌های اصلاحی جهت رسیدن به مقاومت پایدار ارقام از آن استفاده شود. نتایج تحقیق حاضر اطلاعات قابل‌توجهی را در ارتباط با نحوه انتخاب والدین تلاقی‌ها برای انتقال مؤثر ژن *Lr34* در برنامه به نژادی اقلیم‌های سرد و معتدل کشور را در اختیار به نژادگران قرار می‌دهد. تلفیق مقاومت ناشی از این ژن با

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-11-17]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1397.20.2.2.7]

مقاومت‌های ناشی از ژن‌های بزرگ اثر می‌تواند موجب مقاومت بیشتر ارقام گندم نسبت به کلیه زنگ‌ها شود. هیبرت و همکاران (Hiebert *et al*., 2011) اظهار نمودند که ترکیب ژن *SrCad* و *Lr34* در ژنوتیپ‌های گندم باعث مقاومت بسیار بالا در مقابل نژاد زنگ سیاه Ug99 می‌شود، در صورتی که در غیاب ژن *Lr34* تنها سطح متوسطی از مقاومت در ژنوتیپ‌های حامل ژن *SrCad* مشاهده شد. اطلاعات بدست آمده از این تحقیق همچنین می‌تواند کمک مؤثری به هرمی کردن ژن‌هایی با اثرات کوچک و اثرات بزرگ در زمینه ژنتیکی ارقام و لاین‌های گندم در کشور نماید. نتایج حاصل از این تحقیق به به‌نژادگران گندم کشور این امکان را خواهد داد تا با بررسی مقاومت ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در کنار عملکرد آن‌ها، ابزار گزینشی دقیق‌تری برای انتخاب نهایی و معرفی ارقام جدید گندم در اختیار داشته باشند.

منابع مورد استفاده References

Caldwell, R. M. 1968. Breeding for general and/or specific plant disease resistance. pp 263–272. *In:* Findlay, K.W. and K.W. Shepherd (Eds.). Proceedings of the 3rd international wheat genetics symposium. Australian Academy of Science, August 5-9, Canberra, Australia.

Dadrezaei, S. T., K. Nazari, F. Afshari and E. Mohammadi Goltapeh. 2013. Phenotypic and molecular characterizati on of wheat leaf rust resistance gene *Lr34* in Iranian wheat cultivars and advanced lines. AJPS 4(9): 1821–1833.

Dakouri, A., B. McCallum, A. Walichnowski and S. Cloutier. 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. Theor. Appl. Genet. 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.

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

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

Hiebert, C. W., T. G. Fetch, T. Zegeye, J. B. Thomas, D. J. Somers, D. G. Humphreys, B. D. McCallum, S. Cloutier, D. Singh and D. R. Knott. 2011. Genetics and mapping of seedling resistance to Ug99 stem rust in Canadian wheat cultivars 'Peace' and 'AC Cadillac'.

Theor. Appl. Genet. 122: 143–149.

Kolmer, J. A., R. P. Singh, D. F. Garvin, L. Viccars, H. M. William, J. Huerta-Espino, F. C. Ogbonnaya, H. Raman, S. Orford, H. S. Bariana and E. S. Lagudah. 2008. Analysis of the *Lr34/Yr18* rust resistance

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-11-17]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1397.20.2.2.7]

region in wheat germplasm. Crop. Sci. 48: 1841–1852.

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

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

Lagudah, E. S., S. G. Krattinger, S. A. Herrera-Foesse, R. P. Singh, J. Huerta-Espino, W. Spielmeyer, G. Brown-Guedira, L. L. Selter and B. Keller. 2009. Gene-specific markers for the wheat gene *Lr34/Yr18/Pm38* which confers resistance to multiple fungal pathogens. Theor. Appl. Genet. 119: 889–898.

Lowe, I., D. Cantu and J. Dubcovsky. 2011. Durable resistance to the wheat rusts: Integrating systems biology and traditional phenotype-based research methods to guide the deployment of resistance genes. Euphytica, 179(1): 69–79.

McCallum, B. D., D. J. Somers, D. G. Humphreys and S. Cloutier. 2008. Molecular marker analysis of *Lr34* in Canada western red spring wheat cultivars. p. 137. *In:* Proceedings of 11th International Wheat Genetics Symposium, Brisbane, Australia, 24–29 Aug, 2008.

McCallum, B. D., C. Hiebert, J. Huerta-Espino and S. Cloutier. 2012. Wheat leaf rust. p 33–62. *In:* Sharma, I., (Ed.) Disease resistance in wheat. CAB International, Wallingford.

McIntosh, R. A., Y. Yamazaki, J. Dubcovsky, J. Rogers, C. Morris, D. J. Somers, R. Appels and K. M. Devos. 2008. Catalogue of gene symbols for wheat. p. 1–59. *In:* Appels *et al.,* (Eds.), Proceedings of the 11th International Wheat Genetics Symposium, 235. 24–29 August 2008. Brisbane, QLD. Australia.

Peterson, R. F., A. B. Campbell and A. E. Hannah.1948. A diagrammatic scale for estimating rust intensity of leaves and stems of cereals. Can. J. Res. 26: 496–500.

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

Safavi, S. A. and F. Afshari. 2014. Seedling and adult plant reaction of some promising wheat lines to yellow rust. Iran. J. Pl. Pathol. Sci. 45(2): 241–250.(In Persian with English abstract).

Saghai-Maroof, M. A., K. M. Soliman, R. A. Jorgensen and R. W. Allard. 1984. Ribosomal DNA sepacer-length polymorphism in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location and population dynamics. Proc. Nat. Ac. Sci. USA. 81: 8014–8019.

Singh, R. P. and S. Rajaram. 1992. Genetics of adult-plant resistance to leaf rust in 'Frontana' and three CIMMYT wheats. Genome, 35: 24–31.

Singh, R. P., A. Kazi-Mujeeb and J. Huerta-Espino. 1998. *Lr46*: a gene conferring slow rusting resistance to leaf rust in wheat. Phytopathology, 88: 890–894.

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-11-17]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1397.20.2.2.7]

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

Spielmeyer, W., R. A. McIntosh, J. Kolmer and E. S. Lagudah. 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. Theor. Appl. Genet. 111: 731-735.

Torabi, M., V. Mardokhi, K. Nazari, F. Afshari, A. R. Forootan, M. A. Ramai, H. Golzar and A. S. Kashani. 1995. Effectiveness of wheat yellow rust resistance genes in different part of Iran. Cereal Rusts and Powdery Mildew Bulletin, 23: 9–12.

Torabi, M., K. Nazari and F. Afshari. 2001. Genetics of pathogenicity of *Puccinia recondite* f. sp. *tritici*, the causal agent of leaf rust of wheat. Iran. J. Agric. Sci. 32(3): 625–635. (In Persian with English abstract).

William, M., R. P. Singh, J. Huerta-Espino, S. Ortiz Islas and D. Hoisington. 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.

Wu, L., X. Xia, H. Zhu, S. Li, Y. Zheng and Z. He. 2010. Molecular characterization of *Lr34/Yr18/Pm38* in 273 CIMMYT wheat cultivars and lines using functional markers. Sci. Agric. Sin. 43: 4553–4561.

Yang, E. N., G. M. Rosewarne, S. A. Herrera-Foessel, J. Huerta-Espino, Z. X. Tang, C. F. Sun, Z. L. Ren and R. P. Singh. 2013. QTL analysis of the spring wheat ‘‘Chapio’’ identifies stable stripe rust resistance despite inter-continental genotype x environment interactions. Theor. Appl. Genet. 126(7): 1721–1732.

Yu, L. X., H. Barbier, M. N. Rouse, S. Singh, R. P. Singh, S. Bhavani, J. Huerta-Espino and M. E. Sorrells. 2014. A consensus map for Ug99 stem rust resistance loci in wheat. Theor. Appl. Genet. 127(7): 1561–1581.

Zakeri, A., F. Afshari, S. Rajaee, M. Yassaie, A. Nikzad and F. Hassani. 2014. Inheritance of resistance to stripe rust in several commercial cultivars and selected elite genotypes of wheat from Fars province. Iran. J. Plant Pathol. 50(2): 63–74. (In Persian with English abstract).

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-11-17]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1397.20.2.2.7]

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

Ghazvini, H.[1], M. Sarhangi[2] and F. Afshari[3]

ABSTRACT

Ghazvini, H., M. Sarhangi and F. Afshari. 2018. Identification of molecular markers linked with *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(2): 108-125. (In Persian).**

Leaf rust (*Puccinia triticina*) and yellow rust (*Puccinia striiformis*) are known as the most important and prevalent diseases of wheat worldwide, causing significant losses in the world's wheat production. Transfer of leaf and yellow rusts resistance genes to wheat cultivars is one of the most economical and effective methods to control of diseaseses. *Lr34/Yr18* is a resistance gene which confers a durable resistance to wheat leaf and yellow rusts. In the recent years, several molecular markers linked to *Lr34/Yr18* have been identified. In this experiment, presence of *Lr34/Yr18* in some Iranian wheat cultivars and promising lines was evaluated under field condition along with some recently developed molecular markers. Evaluation of plant resistance of wheat genotypes to yellow rust and leaf rust was conducted under artificial inoculation in disease nurseries of Cereal Research Department, SPII, Karaj and Golestan station in Ahvaz, Iran respectively, in 2014. Results of molecular assays indicated that three markers caSNP4, caSNP12 and Cssfr1 predicted presence of *Lr34/Yr18* with more confidence compared to csLV34. These markers may be easily used in the genetic laboratories with limited equipments. Based on the results of caSNP4 and caSNP12 markers, from 85 wheat genotypes, 18 genotypes had linked alleles to *Lr34/Yr18* gene. Comparison of the field evaluation with results of molecular assay indicated that most of the wheat genotypes with *Lr34* gene had resistance and moderately resistant to moderately susceptible infection responses to leaf rust and yellow rust.

Key words: Adult plant resistance, Codominant marker, Marker assisted selection, Molecular breeding and Wheat.

Received: January, 2018 Accepted: July, 2018

1. Associate Prof., Seed and Plant Improvement Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran (Corresponding author) (Email: Habib_ghaz@yahoo.com)
2. Research Officer, Seed and Plant Improvement Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran
3. Professor, Seed and Plant Improvement Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-11-17]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1397.20.2.2.7]