

## غربال ژرم پلاسما گندم نان و شناسایی منابع ژنتیکی مقاوم به زنگ قهوه‌ای

مهدی زهراوی<sup>۱\*</sup>، سید طه دادرزائی<sup>۱</sup> و محمد علی دهقان<sup>۲</sup>

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۱/۳۰

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۲/۰۲

### چکیده

زنگ قهوه‌ای یکی از بیماری‌های مهم گندم در جهان و ایران است و استفاده از ارقام مقاوم مؤثرترین ابزار مقابله با این بیماری می‌باشد، اما مقاومت ارقام به دلیل فشار گزینشی وارد شده بر بیمارگر، پس از مدتی بی‌اثر می‌شود و جستجو برای منابع ژنتیکی جدید مقاومت را اجتناب‌ناپذیر می‌سازد. تحقیق حاضر به منظور شناسایی این منابع مقاومت در ژرم پلاسما گندم نان انجام شد. بدین منظور، تعداد ۹۷ نمونه ژنتیکی از مجموعه گندم نان بانک ژن گیاهی ملی ایران در شرایط آلودگی طبیعی در ایستگاه تحقیقات عراقی محله گرگان در سال ۹۷-۱۳۹۶ مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که ۴۶/۴ درصد از نمونه‌های ژنتیکی مورد بررسی دارای ضریب آلودگی صفر بودند که برای ارزیابی در مرحله گیاهچه‌ای انتخاب شدند. ارزیابی گیاهچه‌ای در گلخانه با استفاده از چهار پاتوتیپ با فرمول پرآزاری/ناپرآزاری مشخص انجام شد. نتایج تجزیه‌های کمی و کیفی، نمونه‌های ژنتیکی مورد بررسی را به گروه‌های مختلفی با مقاومت اختصاصی نسبت به یک یا چند پاتوتیپ، گروه‌بندی کرد. با مقایسه واکنش مقاومت نمونه‌های ژنتیکی با فرمول پرآزاری/ناپرآزاری در پاتوتیپ‌ها، حضور ژن مقاومت *Lr14a* در نمونه ژنتیکی ۵۱۲۷ احتمال داده شد. همچنین این مقایسات بیانگر احتمال حضور ژن‌های مقاومت ناشناخته در تعداد زیادی از نمونه‌های ژنتیکی مورد بررسی بود. در مجموع نتایج این تحقیق نشان‌دهنده ظرفیت ارزشمند ژرم پلاسما گندم نان برای شناسایی احتمالی ژن‌ها و منابع جدید مقاومت به زنگ قهوه‌ای بود. از این‌رو، پیشنهاد می‌شود تحقیقات تکمیلی برای ارزیابی و غربال مواد ژنتیکی گندم نان انجام شود.

واژه‌های کلیدی: بانک ژن، بیمارگر، پرآزاری، زنگ برگی، ژن مقاومت

۱- استادیار پژوهش، مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران  
 ۲- استادیار پژوهش، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی گلستان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، گرگان، ایران  
 \* نویسنده مسئول: [mzahravi@yahoo.com](mailto:mzahravi@yahoo.com)

## مقدمه

و نیز ساختار ژنتیکی جمعیت بیمارگر و تغییرات آن انجام گرفته است. نتایج بررسی تغییرات فاکتورهای پرآزاری (Virulence) عامل بیماری زنگ قهوه‌ای در گندم در سال‌های ۱۳۷۴ تا ۱۳۷۸ با استفاده از خزانه‌های تله در ساری، کرمانشاه، مغان، زابل، اهواز، شیراز و اردبیل، نشان‌دهنده پرآزاری ژن‌های مقاومت مختلفی در سال‌ها و مناطق مورد مطالعه بود (Torabi *et al.*, 2002). بررسی نحوه توارث مقاومت به زنگ قهوه‌ای در تعدادی از لاین‌های پیشرفته گندم توسط تلاقی دیالک نشان داد که رقم N-75-8 دارای ژن‌های مغلوب بیش‌تری برای افزایش دوره کمون و کاهش تیپ آلودگی بود (Nasr Elahnezhad Ghomi *et al.*, 2003). مهدیان و دهقان (Mahdian and Dehghan, 2004) با جمع‌آوری ۲۰ جدایه زنگ قهوه‌ای از مزارع مختلف استان‌های مازندران و گلستان در سال ۱۳۸۲ و تعیین پاتوتیپ آن‌ها مشاهده کردند که پاتوتیپ 5.5.0.7 از منطقه ساری-مهدشت با غلبه بر هفت ژن مقاومت، آلودگی بالایی ایجاد کرد و شدیدترین پاتوتیپ بود. تمام جدایه‌ها روی لاین حامل ژن *Lr30* پرآزار بودند، ولی هیچ‌کدام از آن‌ها روی لاین‌های حامل ژن‌های *Lr2a*، *Lr9*، *Lr24* و *Lr26* پرآزار نبودند. افشاری و همکاران (Afshari *et al.*, 2005) فاکتورهای پرآزاری عامل زنگ قهوه‌ای و تغییرات آن‌ها را در دوازده منطقه کشور با کاشت خزانه‌های تله طی دو سال زراعی ۱۳۸۱ و ۱۳۸۲ مورد مطالعه قرار دادند. بر اساس نتایج حاصل از دو سال یادداشت‌برداری، برای لاین‌های حامل ژن‌های *Lr9*، *Lr18*، *Lr19*، *Lr25*، *Lr28*، *Lr29*، *Lr34*، *Lr35*، *Lr36* و *Lr37* پرآزاری مشاهده نشد و این لاین‌ها در تمامی مناطق مورد بررسی واکنش مقاومت نشان دادند. نصرالله‌نژاد قمی و همکاران (Nasr Elahnezhad Ghomi *et al.*, 2006) نیز نحوه توارث مقاومت به زنگ قهوه‌ای گندم در مرحله گیاه کامل را در دو لاین پیشرفته گندم مقاوم، N-75-15 و N-75-20، با استفاده از روش تجزیه میانگین نسل‌ها مورد بررسی قرار دادند. مطالعه نحوه عمل ژن‌ها نشان داد که علاوه بر آثار افزایشی و غالبیت، آثار اپیستازی نیز نقش مهمی در کنترل صفات داشتند، اما واریانس غالبیت نسبت به واریانس افزایشی نقش مهم‌تری در کنترل صفات داشت. زرنندی و همکاران (Zarandi *et al.*, 2011) با تعیین فاکتورهای پرآزاری عامل بیماری در ۳۰ جدایه زنگ قهوه‌ای جمع‌آوری شده از ۱۳ منطقه ایران در سال ۱۳۸۶ مشاهده کردند که تمام جدایه‌ها روی

بیماری زنگ قهوه‌ای با عامل قارچی *Puccinia triticina* Eriks. رایج‌ترین و گسترده‌ترین زنگ گندم است (Huerta-Espino *et al.*, 2011). ابتلاء به این بیماری در مراحل اولیه رشد گندم می‌تواند منجر به کاهش بیش از ۵۰ درصدی عملکرد شود. خسارت به عملکرد گندم ناشی از زنگ قهوه‌ای در آمریکای سال‌های ۲۰۰۲ الی ۲۰۰۴ بیش از سه میلیون تن با ارزشی بیش از ۳۵۰ میلیون دلار برآورد شده است (Appel *et al.*, 2009). مقاومت ژنتیکی اقتصادی‌ترین، مؤثرترین و به لحاظ اکولوژیکی پایدارترین راه به حداقل رساندن خسارت به گیاه ناشی از بیماری زنگ قهوه‌ای می‌باشد (Draz *et al.*, 2015). در حال حاضر ابزار کنترل این بیماری به‌طور عمده مبتنی بر اصلاح و توسعه ارقام مقاوم است (Panwar *et al.*, 2018). تا کنون بیش از ۷۰ ژن مقاومت اصلی (R) برای این بیماری گزارش شده است که اغلب وابسته به نژاد هستند و سبب مقاومت به برخی از نژادهای این بیمارگر می‌شوند (McCallum *et al.*, 2016). اگرچه ژن‌هایی مانند *Lr34* نیز وجود دارند که هنوز توسط موتاسیون در جمعیت بیمارگر بی‌اثر نشده‌اند (McCallum *et al.*, 2011). بیش‌تر ژن‌های مقاومت به زنگ قهوه‌ای از زمان گیاهچه تا پایان حیات گیاه موثر هستند، اما ژن‌های مقاومتی مانند *Lr12*، *Lr13*، *Lr22a* و *Lr34* شناسایی شده‌اند که در مرحله گیاه کامل ظهور می‌یابند (McCallum *et al.*, 2016). آل‌های مقاومتی که وارد ارقام منتخب شده‌اند، به دلیل نظام تک‌کشتی، فشار زیادی به بیمارگر ایجاد می‌کنند که تکامل، آن را به سمت ایجاد نژادهای جدیدی سوق می‌دهد، به نحوی که دیگر توسط این آل‌های مقاومت قابل شناسایی نیستند و به این ترتیب مقاومت ناشی از این آل‌ها، در مدت نسبتاً کوتاهی بی‌اثر می‌شود (Webb *et al.*, 2006; McCallum *et al.*, 2016). به نظر می‌رسد تکامل پویا و پرشتاب این بیمارگر به موازات تغییرات اقلیمی، در جهت تسریع شیوع این بیماری در جهان می‌باشد (Helfer, 2014). این امر جستجو برای شناسایی منابع مقاومت نسبت به این بیماری را اجتناب‌ناپذیر می‌کند. شناسایی ژن‌های مقاومت در ارقام جدید و قدیم گندم می‌تواند تصویر جامعی از مقاومت به زنگ قهوه‌ای را ایجاد و اصلاح برای مقاومت را تسهیل کند (McCallum *et al.*, 2016). این بیماری در کشور ما نیز از اهمیت زیادی برخوردار است و مطالعاتی در مورد شناسایی ژنتیک مقاومت در ارقام

۹۰-۱۰۰ درصد داشت، بر اساس روش اصلاحی کوب (Peterson *et al.*, 1948) انجام شد. ضریب آلودگی با ترکیب دو جزء مقاومت تیپ آلودگی و درصد آلودگی محاسبه شد. نمونه‌های ژنتیکی که در مزرعه تظاهر مقاوم داشتند، برای ارزیابی در مرحله گیاهچه‌ای تحت شرایط گلخانه انتخاب شدند.

به منظور ارزیابی در مرحله گیاهچه، ۲۶ نمونه ژنتیکی در شرایط گلخانه‌ای از نظر مقاومت به بیماری زنگ قهوه‌ای نسبت به چهار پاتوتیپ مورد ارزیابی قرار گرفتند. این پاتوتیپ‌ها شامل یک جدایه از خوزستان، یک جدایه از مازندران و دو جدایه از گلستان بودند که در فروردین و اردیبهشت‌ماه سال ۱۳۹۷ جمع‌آوری شده و فرمول پرآزاری / ناپرآزاری (Avirulence) آن‌ها با استفاده از لاین‌های افتراقی (لاین‌های تقریباً ایزوژنیک تاچر) مشخص شد (جدول ۲). دلیل استفاده از این پاتوتیپ‌ها در تحقیق حاضر، تنوع بالای آن‌ها از لحاظ بیماری‌زایی و نیز پرآزاری برای تمام ژنوتیپ‌های حامل ژن‌های مقاومت (به جز ژنوتیپ‌های حامل ژن‌های  $Lr9$   $Lr19$   $Lr27+31+10$  و  $Lr28$ ) بود. از این رو انتخاب این پاتوتیپ‌ها پاسخ‌گوی اهداف تحقیق بود، به نحوی که منابع معرفی شده در این پژوهش مقاومت موثری برای کل کشور داشته باشند.

آزمایش تحت شرایط کنترل شده در گلخانه واحد بیماری‌شناسی بخش تحقیقات غلات مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر انجام شد. بذر نمونه‌های ژنتیکی در گلدان‌هایی به قطر ۱۵ سانتی‌متر حاوی خاک، ماسه و پیت‌ماس کشت شدند. سپس گیاهچه‌ها توسط اسپور قارچ عامل بیماری زنگ قهوه‌ای معلق شده در حامل روغن معدنی سالتروپ به کمک پمپ باد و نازل ویژه اسپورپاشی مایه‌زنی شدند. گلدان‌های مایه‌زنی شده توسط هر پاتوتیپ به صورت جداگانه در یک سینی و در زیر سرپوش شفاف کریستالی قرار داده شدند. سپس سینی‌های حاوی ژنوتیپ‌های مایه‌زنی شده، به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی در دمای ۲۰-۱۸ درجه سلسیوس و رطوبت اشباع قرار گرفتند و پس از ۲۴ ساعت، ژنوتیپ‌های مایه‌زنی شده به گلخانه‌های زنگ قهوه‌ای با دمای ۲۳-۲۰ درجه سلسیوس، نور ۱۶۰۰۰ لوکس و چرخه نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی منتقل شدند.

لاین‌های حامل ژن‌های  $Lr3$ ،  $Lr3bg$ ،  $Lr14b$ ،  $Lr20$ ،  $Lr22b$ ،  $Lr25$ ،  $Lr28$ ،  $Lr29$ ،  $Lr35$ ،  $Lr36$  و  $Lr37$  در هر دو منطقه بود (Shaban and Afshari, 2011). دادرزائی و همکاران (Dadrezai *et al.*, 2012) نژاد متفاوت از جدایه‌های قارچ عامل بیماری جمع‌آوری شده از مزارع گندم کل کشور در سال‌های ۱۳۸۸ و ۱۳۸۹ را شناسایی کردند. نژاد TFTTN با پرآزاری روی ۳۱ ژن مقاومت به زنگ قهوه‌ای، بیش‌ترین توان بیماری‌زایی را در میان جدایه‌های مورد بررسی داشت. همچنین تنها تعداد محدودی از ژن‌های مقاومت به تمام پاتوتیپ‌های موجود مقاومت خوبی داشتند. نتایج تحقیقات نشان می‌دهد که ژرم پلاسم گندم از ظرفیت ارزشمندی جهت شناسایی منابع مقاومت به بیماری‌ها از جمله زنگ‌ها برخوردار است. این تحقیق با هدف غربال بخشی از ژرم پلاسم گندم نان بانک ژن گیاهی ملی ایران جهت بررسی امکان شناسایی منابع جدید مقاومت به زنگ قهوه‌ای انجام گرفت.

## مواد و روش‌ها

تعداد ۹۷ نمونه ژنتیکی از کلکسیون گندم نان بانک ژن گیاهی ملی ایران که از کشورهای آلمان، اروگوئه، افغانستان، اسپانیا، ایالات متحده آمریکا، ایتالیا، بلژیک، پرتغال، ترکیه، شوروی (سابق)، ژاپن، فنلاند، فرانسه، هلند و هندوستان دریافت شده بودند (جدول ۱) در شرایط آلودگی طبیعی بیماری زنگ قهوه‌ای در سال زراعی ۱۳۹۷-۱۳۹۶ مورد ارزیابی قرار گرفتند. بدین منظور بذر هر ژنوتیپ در ایستگاه تحقیقاتی عراقی محله گرگان در ردیفی به طول یک متر کشت و به ازای هر ده نمونه ژنتیکی، یک ردیف بذر رقم بولانی به عنوان پخش کننده آلودگی کشت شد. ارزیابی مقاومت با یادداشت برداری برای درصد و تیپ آلودگی انجام شد. تیپ آلودگی در مقیاس R (مقاوم)، MR (نیمه‌مقاوم)، M (متوسط)، MS (نیمه‌حساس) و S (حساس) بر اساس روش رولفز و همکاران (Roelfs *et al.*, 1992) ارزیابی شد. یادداشت برداری برای درصد آلودگی در مرحله ظهور برگ پرچم و زمانی که رقم حساس (بولانی) آلودگی

جدول ۱- نمونه‌های ژنتیکی کلسیون گندم نان مورد ارزیابی برای مقاومت به بیماری زنگ قهوه‌ای

Table 1. Bread wheat accessions used for the study of resistance to wheat leaf rust

| Accession code | Origin  | Accession code | Origin      |
|----------------|---------|----------------|-------------|
| KC 4435        | India   | KC 4631        | Afghanistan |
| KC 4438        | India   | KC 4635        | Afghanistan |
| KC 4442        | Russia  | KC 4638        | Afghanistan |
| KC 4446        | USA     | KC 4639        | Afghanistan |
| KC 4447        | USA     | KC 4640        | Afghanistan |
| KC 4481        | USA     | KC 4644        | Afghanistan |
| KC 4482        | USA     | KC 4652        | Afghanistan |
| KC 4492        | Uruguay | KC 4654        | Afghanistan |
| KC 4494        | Uruguay | KC 4657        | Afghanistan |
| KC 4504        | USA     | KC 4662        | Afghanistan |
| KC 4506        | USA     | KC 4668        | Afghanistan |
| KC 4509        | Germany | KC 4669        | Afghanistan |
| KC 4518        | USA     | KC 4671        | Finland     |
| KC 4519        | USA     | KC 4675        | Finland     |
| KC 4520        | USA     | KC 4680        | Turkey      |
| KC 4521        | USA     | KC 4696        | Japan       |
| KC 4522        | USA     | KC 5004        | Spain       |
| KC 4525        | USA     | KC 5005        | Spain       |
| KC 4529        | USA     | KC 5006        | Spain       |
| KC 4530        | USA     | KC 5010        | Spain       |
| KC 4531        | USA     | KC 5011        | Belgium     |
| KC 4532        | USA     | KC 5012        | Belgium     |
| KC 4533        | USA     | KC 5017        | Russia      |

Table 1. Continued

جدول ۱- ادامه

| Accession code | Origin      | Accession code | Origin   |
|----------------|-------------|----------------|----------|
| KC 4534        | USA         | KC 5021        | Russia   |
| KC 4535        | USA         | KC 5028        | Italy    |
| KC 4553        | USA         | KC 5030        | Italy    |
| KC 4554        | USA         | KC 5034        | Japan    |
| KC 4557        | USA         | KC 5036        | Russia   |
| KC 4560        | USA         | KC 5040        | Italy    |
| KC 4561        | USA         | KC 5041        | Italy    |
| KC 4568        | USA         | KC 5042        | Russia   |
| KC 4575        | Spain       | KC 5048        | Italy    |
| KC 4577        | Spain       | KC 5058        | Spain    |
| KC 4586        | Netherlands | KC 5061        | France   |
| KC 4587        | Netherlands | KC 5086        | Portugal |
| KC 4588        | Netherlands | KC 5100        | Portugal |
| KC 4593        | USA         | KC 5101        | Portugal |
| KC 4598        | France      | KC 5102        | Portugal |
| KC 4599        | Netherlands | KC 5103        | Portugal |
| KC 4600        | India       | KC 5104        | Portugal |
| KC 4604        | USA         | KC 5105        | Portugal |
| KC 4607        | USA         | KC 5106        | Portugal |
| KC 4612        | Afghanistan | KC 5113        | Portugal |
| KC 4613        | Afghanistan | KC 5117        | Portugal |
| KC 4614        | Afghanistan | KC 5118        | Portugal |
| KC 4618        | Afghanistan | KC 5125        | Portugal |
| KC 4625        | Afghanistan | KC 5126        | Portugal |
| KC 4626        | Afghanistan | KC 5127        | Portugal |
| KC 4630        | Afghanistan | -              | -        |

جدول ۲- فرمول پرآزاری/ناپرآزاری جدایه‌های زنگ قهوه‌ای در ارزیابی ژرم پلاسم گندم نان

Table 2. Avirulence/virulence formula for isolates of wheat leaf rust used in the resistance evaluation of bread wheat germplasm

| Isolate    | Avirulence   | Virulence  |
|------------|--|--|
| Khozestan  | <i>Lr1, Lr2a, Lr2b, Lr9, Lr15, Lr16, Lr19, Lr27+31+10, Lr28, Lr29</i>  | <i>Lr2c, Lr3, Lr3ka, Lr3bg, Lr10, Lr11, Lr14a, Lr14b, Lr15, Lr17, Lr18, Lr20, Lr21, Lr23, Lr24, Lr25, Lr26, Lr30, Lr32, Lr33, Lrb, Lr36</i>                  |
| Mazandaran | <i>Lr9, Lr10, Lr16, Lr19, Lr27+31+10, Lr28</i>                         | <i>Lr1, Lr2a, Lr2b, Lr2c, Lr3, Lr3ka, Lr3bg, Lr11, Lr14a, Lr14b, Lr15, Lr17, Lr18, Lr20, Lr21, Lr23, Lr24, Lr25, Lr26, Lr29, Lr30, Lr32, Lr33, Lr36, Lrb</i> |
| Golestan1  | <i>Lr1, Lr2a, Lr2b, Lr9, Lr10, Lr19, Lr20, Lr26, Lr27+31+10, Lr28</i>  | <i>Lr2c, Lr3, Lr3ka, Lr3bg, Lr11, Lr14a, Lr14b, Lr15, Lr16, Lr17, Lr18, Lr21, Lr23, Lr24, Lr25, Lr29, Lr30, Lr32, Lr33, Lr36, Lrb</i>                        |
| Golestan2  | <i>Lr1, Lr2a, Lr2b, Lr9, Lr14a, Lr19, Lr20, Lr26, Lr27+31+10, Lr28</i> | <i>Lr2c, Lr3, Lr3ka, Lr3bg, Lr10, Lr11, Lr14b, Lr15, Lr16, Lr17, Lr18, Lr21, Lr23, Lr25, Lr29, Lr30, Lr32, Lr33, Lr36, Lrb</i>                               |

به‌منظور انجام تجزیه کمی واکنش مقاومت، توزیع فراوانی ضریب آلودگی در مزرعه مورد بررسی قرار گرفت. ارتباط بین پاتوتیپ‌ها براساس واکنش مقاومت نمونه‌های ژنتیکی، با محاسبه ضرایب همبستگی بررسی شد. ابعاد داده‌ها با استفاده از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی کاهش یافته و پراکنش نمونه‌های ژنتیکی مبتنی بر مقادیر مؤلفه‌های اصلی در بای‌پلات مورد بررسی و تحلیل قرار گرفت. شباهت بین نمونه‌های ژنتیکی براساس فاصله اقلیدسی محاسبه و به‌صورت گرافیکی نمایش داده شد. نمونه‌های ژنتیکی با استفاده از دندروگرام تجزیه خوشه‌ای به روش حداقل واریانس Ward گروه‌بندی و سپس صحت گروه‌بندی حاصل از تجزیه خوشه‌ای با استفاده از تجزیه تابع تشخیص خطی فیشر بررسی شد. کلیه تجزیه‌های آماری و رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزارهای R و SPSS انجام شد.

در ارزیابی گیاهچه‌ای، ۱۲ الی ۱۴ روز پس از مایه‌زنی، از تیپ آلودگی ژنوتیپ‌های مایه‌زنی شده بر اساس روش مک‌اینش و همکاران (McIntosh *et al.*, 1995) یادداشت برداری شد (جدول ۳). در این روش حرف N برای نکروز بیش از حد معمول هر کدام از تیپ‌های آلودگی، علامت منفی (-) برای ظهور کم‌تر از حد معمول هر کدام از تیپ‌های آلودگی، علامت مثبت (+) برای ظهور بیش‌تر از حد معمول هر کدام از تیپ‌های آلودگی و حرف C برای کلروز بیش از حد معمول هر کدام از تیپ‌های آلودگی استفاده می‌شود. نمره‌های متفاوت از تیپ‌های آلودگی در ارقام بررسی شده به‌عنوان ژنتیک هتروژنسیتی برای مقاومت تفسیر می‌شود و با استفاده از ویرگول (,) فنوتیپ‌ها را متمایز می‌کند. در این حالت، عمومی‌ترین فنوتیپ اول یادداشت شد. تیپ‌های آلودگی ۰ تا +۲ و نیز تیپ‌های هتروژنوس X و Y و Z به‌عنوان مقاوم و تیپ آلودگی ۳-۴ به‌عنوان حساس منظور شد (McIntosh *et al.*, 1995).

جدول ۳- واکنش میزبان و توصیف تیپ‌های آلودگی مورد استفاده در سیستم زنگ قهوه‌ای گندم

Table 3. Host response and infection type descriptions used in wheat leaf rust system

| Host response (class)  | Infection type | Disease symptoms   |
|------------------------|----------------|--|
| Immune                 | o              | No uredinia or other macroscopic sign of infection   |
| Nearly immune          | ;              | No uredinia, but hypersensitive necrotic or chlorotic flecks present   |
| Very resistant         | 1              | Small uredinia surrounded by necrosis  |
| Moderately resistant   | 2              | Small to medium uredinia often surrounded by Chlorosis or necrosis; green island may be surrounded by chlorotic or necrotic border |
| Heterogeneous          | X              | Random distribution of variable-sized uredinia on single leaf  |
| Heterogeneous          | Y              | Ordered distribution of variable-sized   |
| Heterogeneous          | Z              | Ordered distribution of variable-sized   |
| Moderately susceptible | 3              | Medium-sized uredinia that may be associated with chlorosis  |
| Susceptible            | 4              | Large uredinia without chlorosis   |

## نتایج و بحث

ژنوتیپ‌های محلی گندم تتراپلوئید کشور اسپانیا، ۲۰ درصد از مجموعه ژرم‌پلاسم نسبت به زنگ قهوه‌ای مقاوم بودند (Martínez-Moreno *et al.*, 2021). در تحقیق حاضر نیز حدود ۴۶/۴ درصد از مواد ژنتیکی مقاومت نشان دادند که در مقایسه با نتایج تحقیقات بالا، میزان قابل قبولی است و نشان‌دهنده ظرفیت مناسب این مجموعه از ژرم‌پلاسم به عنوان منابع مقاومت به زنگ قهوه‌ای است. همچنین نتایج این تحقیق نشان داد که میزان مقاومت مشاهده شده در مجموعه مواد ژنتیکی مورد مطالعه علاوه بر انواع ژنوتیپ‌ها، تا اندازه زیادی تابع نژادهای رایج در مزرعه یا نژادهای مورد استفاده در گلخانه نیز می‌باشد و به عبارت دیگر، با توجه به ژنوتیپ‌ها یا نژادهای مورد استفاده، میزان متفاوتی از مقاومت می‌تواند مشاهده شود.

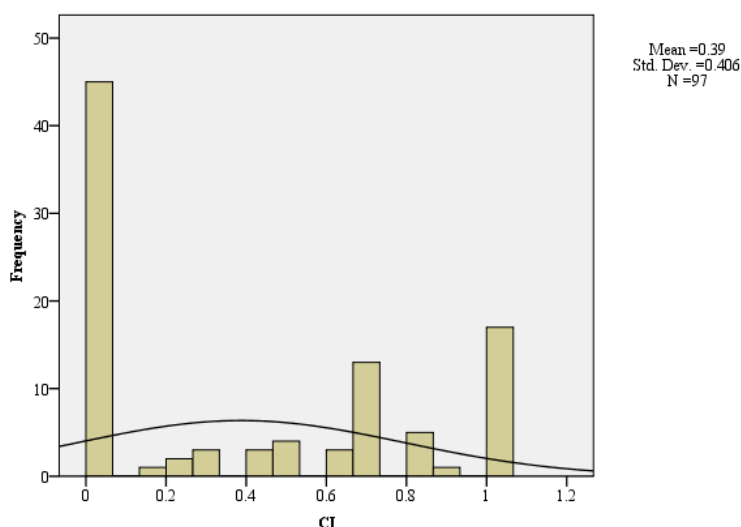
نتایج آزمایش گلخانه‌ای با استفاده از چهار پاتوتیپ نشان داد که به‌طور متوسط نمونه‌های ژنتیکی ۴۵۳۱ و ۴۵۳۴ دارای کم‌ترین و نمونه‌های ۵۰۴۱ و ۵۰۸۶ دارای بیش‌ترین ضریب آلودگی بودند (نتایج ارائه نشده است). بررسی ضرایب همبستگی بین پاتوتیپ‌های مورد بررسی، وجود همبستگی معنی‌دار بین دو پاتوتیپ مازندران و گلستان ۲ ( $r=0/63^{**}$ ) و خوزستان و مازندران ( $r=0/62^{**}$ ) را نشان داد (شکل ۲). تجزیه به مؤلفه‌های اصلی نیز نشان داد که ۷۹ درصد از تغییرات موجود در داده‌ها توسط دو مؤلفه اصلی اول قابل تبیین است (جدول ۵). در مؤلفه اصلی اول، تمام ضرایب مثبت و به‌جز ضریب مربوط به پاتوتیپ گلستان ۱، سایر ضرایب نزدیک به هم بودند. در مؤلفه اصلی دوم، ضریب پاتوتیپ‌های گلستان ۲ و مازندران، دارای علامت مثبت و ضریب پاتوتیپ‌های گلستان ۱ و خوزستان، دارای علامت منفی بود.

شاخص‌های آماری توزیع فراوانی صفت ضریب آلودگی در جدول ۴ ارائه شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، دامنه تغییرات این صفت یک است که به معنی وجود طیفی از واکنش‌ها در محدود واکنش حداقل (صفر یا مقاومت کامل) و حداکثر (یک یا حساسیت کامل) می‌باشد. همچنین توزیع فراوانی دارای کشیدگی منفی است که به معنی افزایش فراوانی در دو سمت انتهایی توزیع (مقاومت کامل و حساسیت کامل) نسبت به شرایط نرمال است. بیش‌ترین فراوانی به ضریب آلودگی صفر اختصاص داشت (شکل ۱) که منجر به انتخاب تعداد زیادی از نمونه‌های ژنتیکی به عنوان منابع مقاومت به زنگ قهوه‌ای گندم شد. این نمونه‌های ژنتیکی برای ارزیابی دقیق‌تر در گلخانه در مرحله گیاهچه‌ای مورد انتخاب قرار گرفتند. منابع مقاومت به زنگ قهوه‌ای در مجموعه‌های مختلف ژرم‌پلاسم گندم با فراوانی متفاوتی مورد شناسایی قرار گرفته‌اند. از بین ۲۸۸ نمونه ژنتیکی متعلق به کلکسیون گندم واولوف، ۷۶/۴ درصد حساس و ۲۳/۶ درصد در مرحله گیاهچه‌ای نسبت به زنگ قهوه‌ای مقاوم بودند (Riaz *et al.*, 2017). ارزیابی ۳۳۱ ژنوتیپ متنوع گندم در برابر چهار نژاد رایج زنگ قهوه‌ای نشان داد که بیش‌تر آن‌ها حساس بوده و فقط ۲۲ ژنوتیپ (۶/۶ درصد) نسبت به هر چهار نژاد مقاوم بودند (Sapkota *et al.*, 2019). در بررسی ۴۰ رقم گندم کره‌ای، فقط دو رقم نسبت به زنگ قهوه‌ای مقاوم بودند (Kim *et al.*, 2019)، و از بین ۲۶۴ رقم گندم پاییزه و ۱۴۳ رقم گندم بهاره متعلق به کشور روسیه نیز به ترتیب ۵ و ۳۰ درصد از ارقام پاییزه و بهاره دارای مقاومت مؤثر گیاهچه‌ای بودند (Gulyaeva, 2020). در ارزیابی کلکسیون هسته

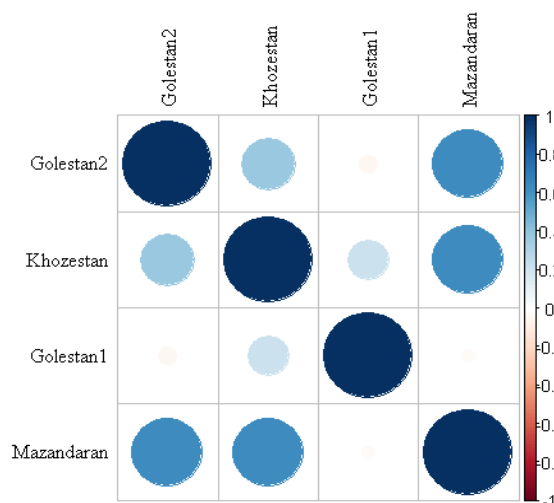
جدول ۴- شاخص‌های آماری توزیع فراوانی ضریب آلودگی در ارزیابی ژرم‌پلاسم گندم نان نسبت بیماری زنگ قهوه‌ای گندم

Table 4. Statistical indices of frequency distribution of infection coefficient in the resistance evaluation of bread wheat germplasm to wheat leaf rust

| Statistics                 | Value |
|----------------------------|-------|
| Mean                       | 0.39  |
| Median                     | 0.30  |
| Standard deviation         | 0.41  |
| Skewness                   | 0.35  |
| Standard error of skewness | 0.24  |
| Kurtosis                   | -1.56 |
| Standard error of kurtosis | 0.49  |
| Range                      | 1     |
| Minimum                    | 0     |
| Maximum                    | 1     |



شکل ۱- نمودار توزیع فراوانی ضریب آلودگی در ارزیابی مزرعه‌ای ژرم پلاسم گندم نان نسبت بیماری زنگ قهوه‌ای گندم در مزرعه گرگان  
Figure 1. Frequency distribution of coefficient of infection in the resistance evaluation of bread wheat germplasm to wheat leaf rust at the field in Gorgan



شکل ۲- نمایش گرافیکی ضرایب همبستگی بین پاتوتیپ‌های زنگ قهوه‌ای در ارزیابی ژرم پلاسم گندم نان در مرحله گیاهچه‌ای در گلخانه  
Figure 2. Graphical presentation of correlation coefficients between isolates of wheat leaf rust in resistance evaluation of bread wheat germplasm at seedling stage in greenhouse

بزرگ‌تری از لحاظ مؤلفه اصلی اول دارند. بر اساس ضرایب مؤلفه اصلی دوم نمونه‌های ژنتیکی دارای تیپ آلودگی بالاتر در برابر پاتوتیپ‌های گلستان ۲ و مازندران و تیپ آلودگی پایین‌تر نسبت به پاتوتیپ‌های گلستان ۱ و خوزستان مقدار عددی بزرگ‌تری دارند و می‌توان نتیجه گرفت که نمونه‌های ژنتیکی واقع در این ناحیه متمایل به مقاومت اختصاصی

نمونه‌های ژنتیکی مورد بررسی در نمودار بای پلات دو مؤلفه اصلی اول از یکدیگر تفکیک شدند (شکل ۳). ناحیه سمت راست بالا (ربع اول) مربوط به مقادیر عددی مثبت از لحاظ دو مؤلفه اصلی می‌باشد. بر اساس ضرایب مؤلفه اصلی اول، نمونه‌های ژنتیکی با تیپ آلودگی بالاتر نسبت به پاتوتیپ‌های گلستان ۲، خوزستان و مازندران مقدار عددی

خوزستان و مازندران و براساس ضرایب مؤلفه اصلی دوم، مبتنی بر تیپ آلودگی بالاتر در برابر پاتوتیپ‌های گلستان ۱ و خوزستان می‌باشد. لذا انتظار می‌رود نمونه‌های ژنتیکی در این ناحیه از بای‌پلات اکثراً در طیف حساس قرار گیرند. نمونه‌های ژنتیکی ۴۴۴۷، ۴۵۰۹، ۴۶۶۸، ۵۰۱۱، ۵۰۴۰، ۵۰۴۱، ۵۰۴۲، ۵۰۸۶، ۵۱۰۰، ۵۱۱۳، ۵۱۱۷ و ۵۱۱۸ در این ناحیه واقع شدند.

روش تجزیه به مؤلفه‌های اصلی در سایر تحقیقات نیز به‌منظور بررسی و تفکیک ژنوتیپ‌ها بر اساس واکنش مقاومت به بیماری‌ها مورد استفاده قرار گرفته است. تجزیه به مؤلفه‌های اصلی بر اساس واکنش مقاومت به بیماری سفیدک پودری در ارقام افتراقی گندم، ژن‌های مقاومت مؤثر را به تفکیک کانون‌های آلودگی در سال‌های مختلف، مشخص نمود (Zahravi et al., 2019). همچنین با استفاده از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی، تعداد ۴۶ ژنوتیپ گندم نان براساس مقاومت اختصاصی نسبت به هر یک از نژادهای زنگ زرد مورد مطالعه، متمایز شدند (Zahravi et al., 2009). در مطالعه حاضر نیز تفکیک نمونه‌های ژنتیکی با استفاده از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی، با مقاومت اختصاصی آنها نسبت به پاتوتیپ‌های مورد بررسی در تطابق بود. مجموع این نتایج به انضمام اینکه مجموع واریانس توجیه شده توسط دو مؤلفه اصلی اول مقداری مناسب و قابل قبول (۷۹ درصد) است، نشان می‌دهد که این تکنیک برای کاهش ابعاد داده‌ها و تجمیع نتایج واکنش مقاومت ژنوتیپ‌ها نسبت به بیماری در قالب تعداد محدودی شاخص (مؤلفه‌های اصلی) به خوبی قابل استفاده می‌باشد.

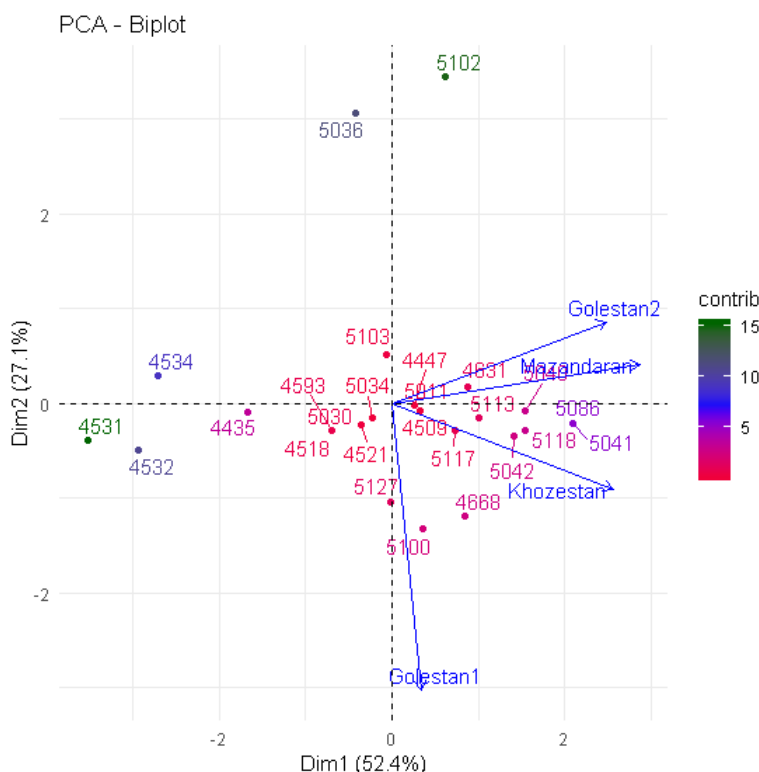
نسبت به پاتوتیپ گلستان ۱ هستند. نمونه‌های ژنتیکی ۴۶۳۱ و ۵۱۰۲ در این ناحیه از بای‌پلات قرار گرفتند. ناحیه سمت چپ بالای بای‌پلات (ربع دوم) به نمونه‌های ژنتیکی دارای مقادیر عددی منفی از مؤلفه اصلی اول و مقادیر عددی مثبت از مؤلفه اصلی دوم اختصاص دارد. در مؤلفه اصلی اول، تیپ آلودگی پایین‌تر در برابر پاتوتیپ‌های گلستان ۲، خوزستان و مازندران مقدار عددی این مؤلفه اصلی را به سمت مقادیر منفی سوق می‌دهد در مؤلفه اصلی دوم تیپ آلودگی بالاتر در برابر پاتوتیپ‌های گلستان ۲ و مازندران در مثبت شدن مقادیر عددی این مؤلفه اصلی تأثیر دارد. نمونه‌های ژنتیکی ۴۵۳۴، ۵۰۳۶ و ۵۱۰۳ در این ناحیه از بای‌پلات قرار گرفتند. ناحیه سمت چپ پایین بای‌پلات (ربع سوم) متعلق به نمونه‌های ژنتیکی دارای مقدار عددی منفی برای هر دو مؤلفه اصلی می‌باشد. مقدار عددی منفی در مؤلفه اصلی اول از تیپ آلودگی پایین برای پاتوتیپ‌های گلستان ۲، خوزستان و مازندران و در مؤلفه اصلی دوم از تیپ آلودگی بالاتر در برابر پاتوتیپ‌های گلستان ۱ و خوزستان حاصل می‌شود. لذا برآیند دو مؤلفه اصلی می‌تواند منجر به تمایز نمونه‌های ژنتیکی دارای تیپ آلودگی پایین‌تر (مقاومت بیشتر) در برابر پاتوتیپ‌های گلستان ۲ و مازندران گردد. نمونه‌های ژنتیکی ۴۴۳۵، ۴۵۱۸، ۴۵۲۱، ۴۵۳۱، ۴۵۳۲، ۴۵۹۳، ۵۰۳۰، ۵۰۳۴ و ۵۱۲۷ در این ناحیه قرار گرفتند. ناحیه سمت راست پایین (ربع چهارم) بای‌پلات، با مقادیر عددی مثبت برای مؤلفه اصلی اول و مقادیر عددی منفی برای مؤلفه اصلی دوم مشخص می‌شود که براساس ضرایب مؤلفه اصلی اول، مبتنی بر تیپ آلودگی بالاتر در برابر پاتوتیپ‌های گلستان ۲،

جدول ۵- نتایج تجزیه به مؤلفه‌های اصلی مبتنی بر تیپ آلودگی نمونه‌های ژنتیکی منتخب گندم نان نسبت به پاتوتیپ‌های بیماری زنگ قهوه‌ای گندم در مرحله گیاهچه در گلخانه

Table 5. The results of principal component analysis based on infection type of selected bread wheat accessions to isolates of wheat leaf rust at seedling stage in greenhouse

| Pathotype              | Principal components |        |
|------------------------|----------------------|--------|
|                        | First                | Second |
| Golestan1              | 0.07                 | -0.92  |
| Golestan2              | 0.54                 | 0.26   |
| Khozestan              | 0.56                 | -0.27  |
| Mazandaran             | 0.63                 | 0.13   |
| Eigen Values           | 2.09                 | 1.94   |
| Proportion of Variance | 0.52                 | 0.27   |
| Cumulative Proportion  | 0.52                 | 0.79   |





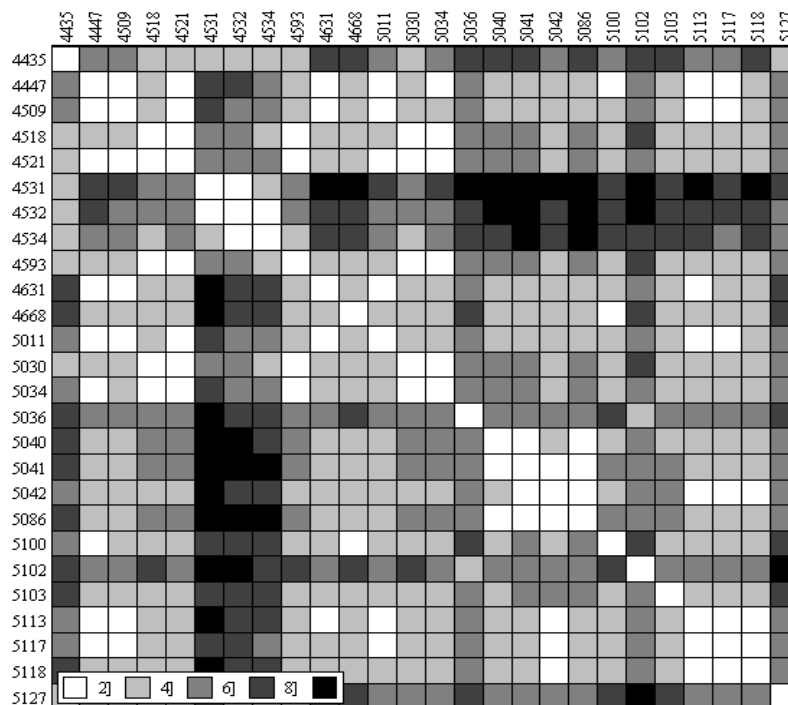
شکل ۳- پراکنش نمونه‌های ژنتیکی منتخب گندم نان در بای پلات دو مؤلفه اصلی اول مبتنی بر تیپ آلودگی نسبت به پاتوتیپ‌های بیماری زنگ قهوه‌ای گندم در شرایط گلخانه در مرحله گیاهچه

Figure 3. Distribution of selected bread wheat accessions in the biplot of the first two principal components based on infection type to isolates of wheat leaf rust at seedling stage in greenhouse

متوسط تیپ آلودگی بیش‌تری در برابر پاتوتیپ‌های گلستان ۱، گلستان ۲ و خوزستان و متوسط تیپ آلودگی نسبتاً کم‌تری در برابر پاتوتیپ مازندران داشتند. گروه سوم شامل دو نمونه ژنتیکی ۵۰۳۶ و ۵۱۰۲، دارای بیش‌ترین میانگین تیپ آلودگی در برابر پاتوتیپ گلستان ۲ و کم‌ترین میانگین تیپ آلودگی در برابر پاتوتیپ‌های گلستان ۱ و خوزستان بود. گروه چهارم نیز شامل نمونه‌های ۴۴۴۷، ۵۰۴۲، ۵۰۴۱، ۵۰۴۰، ۵۰۱۱، ۴۶۶۸، ۴۶۳۱، ۴۵۰۹، ۵۰۸۶، ۵۱۰۰، ۵۱۰۳، ۵۱۱۳، ۵۱۱۷ و ۵۱۱۸ بود که ویژگی آن، دارا بودن بیش‌ترین میانگین تیپ آلودگی برای پاتوتیپ‌های گلستان ۱، مازندران و خوزستان بود، در حالی که برای پاتوتیپ گلستان ۲ نیز بعد از گروه سوم، از بالاترین میانگین تیپ آلودگی برخوردار بود. نتایج بررسی صحت گروه‌های حاصل از تجزیه خوشه‌ای با استفاده از تجزیه تابع تشخیص خطی فیشر حاکی از تطابق صد درصدی اعضاء منتسب شده به گروه‌ها بود و بدین وسیله گروه‌بندی تجزیه خوشه‌ای مورد تأیید قرار گرفت (جدول ۶).

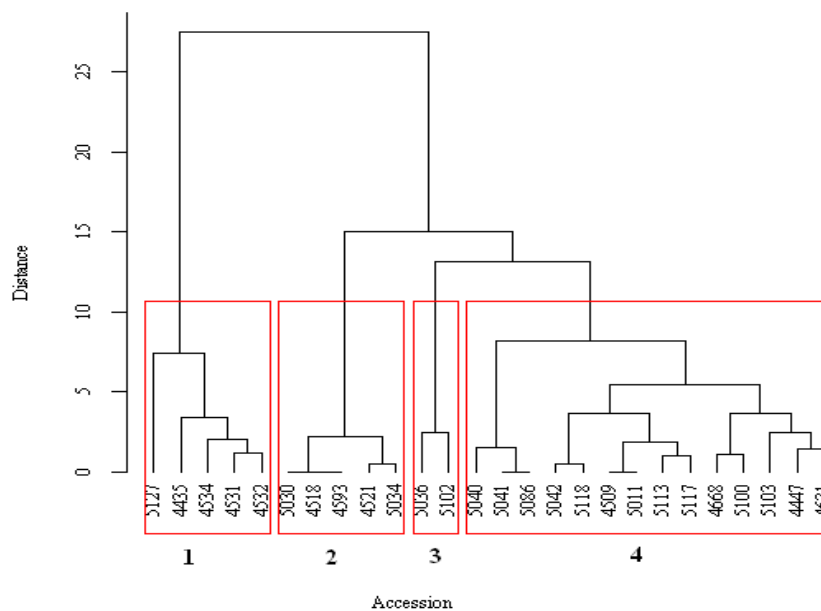
بررسی فاصله اقلیدسی بین نمونه‌های ژنتیکی نشان داد که از بین نمونه‌های مورد بررسی، ۴۵۳۱ و ۵۱۰۲ دارای بیش‌ترین و ۴۵۲۱ و ۵۰۳۴ و نیز ۵۰۴۲ و ۵۱۱۸ دارای کم‌ترین فاصله بودند (شکل ۴). همچنین با بررسی فاصله اقلیدسی بین نمونه‌های ژنتیکی در هر یک از کشورهای مبدأ دریافت آن‌ها مشخص شد که از بین نمونه‌های ژنتیکی با منشأ کشور پرتقال، نمونه‌های ۵۱۰۲ و ۵۱۲۷ دارای بیش‌ترین و ۵۱۱۳ و ۵۱۱۷ دارای کم‌ترین فاصله ژنتیکی و از بین نمونه‌های ژنتیکی دریافتی از ایالات متحده آمریکا نیز نمونه‌های ۴۴۴۷ و ۴۵۳۱ دارای بیش‌ترین فاصله ژنتیکی بودند.

تجزیه خوشه‌ای به روش Ward نمونه‌های ژنتیکی مورد بررسی را به چهار گروه تفکیک کرد (شکل ۵). گروه اول که شامل نمونه‌های ۴۴۳۵، ۴۵۳۱، ۴۵۳۲، ۴۵۳۴ و ۵۱۲۷ بود، کم‌ترین میانگین تیپ آلودگی را در برابر پاتوتیپ‌های گلستان ۲ و مازندران داشت. نمونه‌های ژنتیکی ۴۵۱۸، ۴۵۲۱، ۴۵۹۳، ۵۰۳۰ و ۵۰۳۴ در گروه دوم قرار گرفتند و



شکل ۴- نمایش گرافیکی فواصل ژنتیکی بین نمونه‌های ژنتیکی منتخب گندم نان مبتنی بر تیپ آلودگی نسبت به پاتوتیپ‌های بیماری زنگ قهوه‌ای گندم در شرایط گلخانه در مرحله گیاهچه

Figure 4. Graphical presentation of genetics distances between selected bread wheat accessions based on infection type to isolates of wheat leaf rust at seedling stage in greenhouse



شکل ۵- دندروگرام تجزیه خوشه‌ای نمونه‌های ژنتیکی منتخب گندم نان به روش وارد مبتنی بر تیپ آلودگی نسبت به پاتوتیپ‌های بیماری زنگ قهوه‌ای گندم در شرایط گلخانه در مرحله گیاهچه

Figure 5. Dendrogram of cluster analysis of selected bread wheat accessions by Ward method based on infection type reaction to isolates of wheat leaf rust at seedling stage in greenhouse

جدول ۶ - بررسی صحت و میزان تطابق گروه‌بندی حاصل از تجزیه خوشه‌ای با استفاده از تجزیه تابع تشخیص

Table 6. Evaluation of the accuracy and conformity of the grouping derived from cluster analysis using discriminant function analysis

|         | Clusters | Predicted group members |     |     |     | Total |
|---------|----------|-------------------------|-----|-----|-----|-------|
|         |          | 1                       | 2   | 3   | 5   |       |
| Number  | 1        | 5                       | 0   | 0   | 0   | 5     |
|         | 2        | 0                       | 5   | 0   | 0   | 5     |
|         | 3        | 0                       | 0   | 2   | 0   | 2     |
|         | 4        | 0                       | 0   | 0   | 14  | 14    |
| Percent | 1        | 100                     | 0   | 0   | 0   | 100   |
|         | 2        | 0                       | 100 | 0   | 0   | 100   |
|         | 3        | 0                       | 0   | 100 | 0   | 100   |
|         | 4        | 0                       | 0   | 0   | 100 | 100   |

بومی در برابر چهار پاتوتیپ زنگ قهوه‌ای، مواد ژنتیکی مورد مطالعه توسط تجزیه خوشه‌ای در سه گروه حساس، نیمه حساس تا نیمه مقاوم و مقاوم تا مصون طبقه‌بندی شدند و بیش از ۷۸ درصد از ژنوتیپ‌ها در گروه حساس جای گرفتند (Delfan *et al.*, 2020).

تمایز نمونه‌های ژنتیکی براساس منشاء دریافت آنها نیز مورد مطالعه قرار گرفت. بررسی میانگین تیپ آلودگی به تفکیک کشورهای منشاء نشان داد که نمونه‌های ژنتیکی هندوستان و افغانستان به ترتیب، کوچک‌ترین و بزرگ‌ترین میانگین تیپ آلودگی را دار بودند. در نمودار مقیاس‌بندی چندبعدی نیز هندوستان و افغانستان دورتر از سایر نمونه‌ها واقع شدند و در مقابل، کشورهای آلمان و بلژیک و نیز ایتالیا و پرتغال در مجاورت یکدیگر قرار گرفتند (شکل ۶).

مقاومت مشاهده شده در نمونه‌های ژنتیکی به روش تجزیه کیفی و به‌منظور شناسایی ژن‌های مقاومت احتمالی در آن‌ها نیز مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور نیاز به توجه به فرمول پرآزاری/ناپرآزاری در پاتوتیپ‌های مورد بررسی و مقایسه با واکنش تظاهر یافته در نمونه‌های ژنتیکی می‌باشد (جدول ۷). بر اساس واکنش مقاومت نمونه‌های ژنتیکی، هفت الگوی متفاوت مقاومت-حساسیت در برابر پاتوتیپ‌ها قابل استخراج می‌باشد. نمونه ژنتیکی ۵۱۲۷ فقط در برابر پاتوتیپ گلستان ۲ مقاومت نشان داد. مقایسه فرمول پرآزاری/ناپرآزاری پاتوتیپ‌ها نشان داد که گلستان ۲، تنها پاتوتیپ پرآزار روی گیاه حامل ژن مقاومت *Lr14a* بود و از این رو احتمال حضور این ژن در نمونه ژنتیکی ۵۱۲۷ وجود دارد. ژن مقاومت *Lr14a* از رقم یاروسلاو (Yaroslav) گندم امر (Emmer) منشاء گرفته و توسط مک‌فادن (McFadden 1930) به گندم هگزاپلوئید Hope و H-44 انتقال یافته است. مک‌ایننتاش و همکاران (McIntosh *et al.*

تجزیه خوشه‌ای روش رایجی است که برای گروه‌بندی مواد ژنتیکی براساس صفات و ویژگی‌های مختلف از جمله مقاومت به بیماری زنگ قهوه‌ای مورد استفاده قرار گرفته است. نتایج گروه‌بندی بر اساس صفات مقاومت به زنگ قهوه‌ای، لاین‌های آزمایشی الیت اقلیم‌های سرد و معتدل را در خوشه‌های متفاوتی تفکیک کرد (Zarandi *et al.*, 2009). در تجزیه خوشه‌ای بر اساس صفات مقاومت به بیماری زنگ قهوه‌ای، لاین‌های پیشرفته گندم در سه گروه مقاوم و نیمه مقاوم و حساس تفکیک شدند (Ghasemzadeh *et al.*, 2010). در ارزیابی مقاومت به زنگ قهوه‌ای در مرحله گیاه بالغ نیز ژنوتیپ‌های مورد مطالعه بر اساس تجزیه خوشه‌ای در چهار گروه بصورت مقاوم نیمه مقاوم، نیمه حساس و حساس دسته بندی شدند (Ebrahimian *et al.*, 2019). یکی از وجوه تمایز مطالعه حاضر با تحقیقات بالا، عدم تشکیل گروه حساس در تجزیه خوشه‌ای است که دلیل آن هم انتخاب مواد ژنتیکی برای مطالعه گلخانه‌ای از بین نمونه‌های ژنتیکی است که در ارزیابی مزرعه‌ای تظاهر مقاوم داشتند و از این رو واکنش مقاومت در آن‌ها در برابر حداقل یکی از پاتوتیپ‌های مورد بررسی انتظار می‌رفت. وجه تمایز دیگر تحقیق حاضر با تحقیقات قبلی، انجام تجزیه خوشه‌ای بر اساس داده‌های حاصل از بررسی ژرم پلاسم مورد مطالعه در برابر چند پاتوتیپ (به‌جای یک پاتوتیپ) است. در این حالت (تجزیه خوشه‌ای بر اساس داده‌های حاصل از واکنش در برابر چند پاتوتیپ)، گروه‌های تشکیل شده می‌توانند بیانگر وجود مقاومت اختصاصی در برابر یک یا چند پاتوتیپ باشند که نشان‌دهنده تنوع در ژن‌های مقاومت موجود در ژنوتیپ‌های مورد بررسی می‌باشد. در تحقیقی مشابه مقاومت گیاهچه‌ای ۳۲۰ ژنوتیپ گندم شامل ارقام اصلاح شده و ژنوتیپ‌های

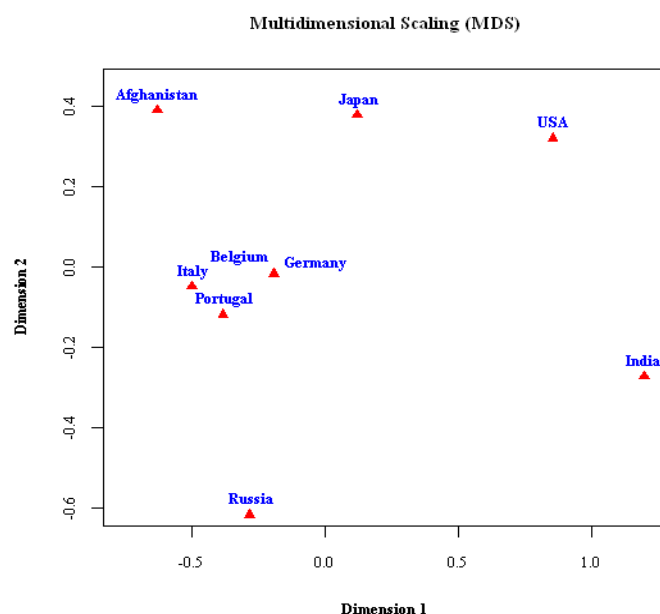
al., 1967) گزارش کردند که این ژن با اثر غالبیت ناقص سبب ایجاد تیپ آلودگی X روی Hope و H-44 لاین‌های اشتقاق یافته از آن‌ها، Spica، Renown و Redman می‌شود. ژن مقاومت *Lr14a* با ژن مقاومت به زنگ سیاه *Sr17* و ژن مقاومت به سفیدک پودری *Pm5* دارای پیوستگی می‌باشد. بررسی‌های سیتوژنتیکی، مکان این ژن را روی بازوی بلند کروموزوم 7B مشخص کرده‌اند (Law *et al.*, 1966; Law, 1967; McIntosh *et al.*, 1967). جالب اینکه این ژن تا کنون در هیچ‌یک از ارقام گندم دوروم یا گندم‌های تتراپلوئید شناسایی نشده است. علاوه بر این، نمونه ژنتیکی اولیه یاروسلاو که حامل این ژن بود نیز مفقود شده است (McIntosh *et al.*, 1995; Herrera-Foessel *et al.*, 2008).

نمونه‌های ژنتیکی ۴۴۴۷، ۴۵۰۹، ۴۶۳۱، ۴۶۶۸، ۵۰۱۱، ۵۰۴۰، ۵۰۴۱، ۵۰۴۲، ۵۰۸۶، ۵۱۰۰، ۵۱۰۳، ۵۱۱۳، ۵۱۱۷ و ۵۱۱۸ علیرغم تظاهر مقاومت در مرحله گیاه کامل، در برابر هر چهار پاتوتیپ در مرحله گیاهچه‌ای حساسیت نشان دادند که این امر، حضور ژن‌های مقاومت گیاه کامل را در این نمونه‌های ژنتیکی محتمل می‌نماید. مقایسه پنج الگوی مقاومت-حساسیت در نمونه‌های ژنتیکی و تحلیل نتایج آن براساس فرمول پرآزاری/ناپرآزاری در چهار پاتوتیپ مورد مطالعه، منجر به شناسایی ژن مقاومت مشخصی در نمونه‌های ژنتیکی ۴۵۱۸، ۴۵۲۱، ۴۵۳۱، ۴۵۳۲، ۴۵۳۴، ۴۵۹۳، ۵۱۰۲، ۵۰۳۰، ۵۰۳۴ و ۵۰۳۶ نشد که برای این کار لازم است از تعداد بیش‌تری از پاتوتیپ متنوع و نیز از نشانگرهای مولکولی پیوسته با ژن‌های مقاومت معین استفاده شود. مقایسه نتایج روش‌های تجزیه کمی و کیفی تا حدود زیادی دارای انطباق بود. در بای‌پلات مؤلفه‌های اصلی، همان‌طور که اشاره شد، بر اساس ضرایب مؤلفه‌ها، ناحیه سمت راست و بالا به نمونه‌های ژنتیکی با ویژگی مقاومت اختصاصی نسبت به پاتوتیپ گلستان ۱ اختصاص دارد. نمونه ژنتیکی ۵۱۰۲ در انتهای این ناحیه

قرار گرفت که در تجزیه کیفی نیز مشخص شد دارای مقاومت اختصاصی نسبت به پاتوتیپ گلستان ۱ می‌باشد. نمونه‌های ژنتیکی ۴۵۳۱، ۴۵۳۲ و ۴۵۳۴ نیز در انتهای سمت چپ محور مؤلفه اصلی دوم در بای‌پلات قرار گرفتند که وجه تشابه آن‌ها، حساسیت نسبت به پاتوتیپ گلستان ۱ می‌باشد. این نمونه‌های ژنتیکی در تجزیه خوشه‌ای نیز در گروه مشابهی قرار گرفتند. نمونه‌های ژنتیکی ۴۵۱۸، ۴۵۲۱، ۴۵۹۳، ۵۰۳۰ و ۵۰۳۴ که بر اساس تجزیه کیفی دارای مقاومت اختصاصی به پاتوتیپ مازندارن بودند، در مجاورت یک‌دیگر در سمت چپ مبدا مختصات بای‌پلات و در اطراف محور مؤلفه اصلی دوم واقع شده‌اند و در تجزیه خوشه‌ای در گروه دوم واقع شدند. همچنین نمونه‌های ژنتیکی ۴۴۴۷، ۴۵۰۹، ۴۶۶۸، ۵۰۱۱، ۵۰۴۰، ۵۰۴۱، ۵۰۴۲، ۵۰۸۶، ۵۱۰۰، ۵۱۱۳، ۵۱۱۷ و ۵۱۱۸ با تظاهر حساسیت در برابر هر چهار پاتوتیپ مورد مطالعه، همگی در ناحیه سمت راست و پایین بای‌پلات قرار گرفتند و در تجزیه خوشه‌ای نیز در همگی در گروه چهارم دسته‌بندی شدند.

### نتیجه‌گیری کلی

مجموع نتایج این تحقیق نشان‌دهنده‌ی ظرفیت مناسب مواد ژنتیکی کلکسیون گندم نان بانک ژن گیاهی ملی ایران برای شناسایی منابع مقاومت به زنگ قهوه‌ای بود. نمونه‌های ژنتیکی ۴۵۱۸، ۴۵۲۱، ۴۵۳۱، ۴۵۳۲، ۴۵۳۴، ۴۵۹۳، ۵۱۰۲، ۵۰۳۰، ۵۰۳۴ و ۵۰۳۶ احتمالاً دارای ژن مقاومت متفاوت از لاینهای افتراقی می‌باشند و حضور ژن مقاومت *Lr14a* در نمونه ژنتیکی ۵۱۲۷ محتمل می‌باشد. شناسایی دقیق ژن‌های مقاومت موجود در این مواد ژنتیکی با ارزیابی توسط تعداد زیادتری از پاتوتیپ‌ها و همچنین با استفاده از نشانگرهای مولکولی امکان‌پذیر است. همچنین پیشنهاد می‌گردد تحقیق به منظور ارزیابی و غربال برای مقاومت به زنگ قهوه‌ای در کلکسیون گندم نان بانک ژن گیاهی ملی ایران ادامه یابد.



شکل ۶- پراکنش منشاء دریافت نمونه‌های ژنتیکی منتخب گندم نان بر اساس تیپ آلودگی نسبت به پاتوتیپ‌های بیماری زنگ قهوه‌ای گندم در مرحله گیاهچه‌ای در گلخانه با استفاده از روش تحلیل مقیاس‌بندی چندبعدی

Figure 6. Distribution of the origin of bread wheat accessions based on infection type reaction to isolates of wheat leaf rust at seedling stage in greenhouse using multi-dimensional scaling method

جدول ۷- واکنش نمونه‌های ژنتیکی منتخب گندم نان نسبت به پاتوتیپ‌های بیماری زنگ قهوه‌ای گندم در مرحله گیاهچه‌ای در گلخانه

Table 7. Reaction of selected bread wheat accessions to isolates of wheat leaf rust at seedling stage in greenhouse

| Accession | Pathotype |           |           |            |
|-----------|-----------|-----------|-----------|------------|
|           | Golestan1 | Golestan2 | Khozestan | Mazandaran |
| 4435      | R         | R         | S         | R          |
| 4447      | S         | S         | S         | S          |
| 4509      | S         | S         | S         | S          |
| 4518      | S         | S         | S         | R          |
| 4521      | S         | S         | S         | R          |
| 4531      | S         | R         | R         | R          |
| 4532      | S         | R         | S         | R          |
| 4534      | S         | R         | S         | R          |
| 4593      | S         | S         | S         | R          |
| 4631      | S         | S         | S         | S          |
| 4668      | S         | S         | S         | S          |
| 5011      | S         | S         | S         | S          |
| 5030      | S         | S         | S         | R          |
| 5034      | S         | S         | S         | R          |
| 5036      | R         | S         | S         | S          |
| 5040      | S         | S         | S         | S          |
| 5041      | S         | S         | S         | S          |
| 5042      | S         | S         | S         | S          |
| 5086      | S         | S         | S         | S          |
| 5100      | S         | S         | S         | S          |
| 5102      | R         | S         | S         | S          |
| 5103      | S         | S         | S         | S          |
| 5113      | S         | S         | S         | S          |
| 5117      | S         | S         | S         | S          |
| 5118      | S         | S         | S         | S          |
| 5127      | S         | R         | S         | S          |

## تضاد منافع

نویسنده (گان) تایید می‌کنند که این تحقیق در غیاب هر گونه روابط تجاری یا مالی که می‌تواند به‌عنوان تضاد منافع بالقوه تعبیر شود، انجام شده است.

همچنین این مقاله حاصل یک کار تحقیقاتی اصیل بوده و تا کنون به‌طور کامل به هیچ زبانی و در هیچ نشریه یا همایشی چاپ و منتشر نشده و هیچ اقدامی نیز برای انتشار آن در هیچ نشریه یا همایشی صورت نگرفته و نخواهد گرفت.

## رعایت اخلاق در نشر

نویسنده (گان) اعلام می‌کنند که در نگارش این مقاله به‌طور کامل از اخلاق نشر از جمله سرقت ادبی، سوء رفتار، جعل داده‌ها و یا ارسال و انتشار دوگانه، پیروی کرده‌اند.

## اجازه انتشار مقاله

نویسنده (گان) با چاپ این مقاله به صورت دسترسی باز موافقت کرده و کلیه حقوق استفاده از محتوا، جدول‌ها، شکل‌ها، تصویرها و غیره را به ناشر واگذار می‌کنند.

## References

- Afshari, F., Torabi, M., Kia, S., Dadrezaei, S. T., Safavi, S. A., Chaichi, M., Karbalaee Khiavi, H., Zakeri, A., Bahrami Kamangar, S., Nasrollahi, M., Patpour, M. and Ebrahimnejad, S. 2005. Monitoring of virulence factors of *Puccinia triticina* Eriksson, the causal agent of wheat leaf rust in Iran during 2002-2004. **Seed and Plant Improvement Journal** 21 (4): 485-496. (In Persian with English Abstract).
- Appel, J. A., DeWolf, E., Bockus, W. W. and Todd, T. 2009. Kansas cooperative plant disease survey report preliminary Kansas wheat disease loss estimates. August 11, 2009. [http://www.ksda.gov/includes/document\\_center/plant\\_protection/Plant%20Disease20Reports/2009KSWheatDiseaseLossEstimates.pdf](http://www.ksda.gov/includes/document_center/plant_protection/Plant%20Disease20Reports/2009KSWheatDiseaseLossEstimates.pdf). Accessed 29 November 2010 Ausemus, E.R., Harrington, J.B., Reitz, L.P., Worzella.
- Arzani, A., Ahoonmanesh, A. and Torabi, M. 2005. A genetic study of adult plant resistance to brown (leaf) rust in bread wheat. **Iranian Journal of Agriculture Science** 36 (2): 363-373. (In Persian with English Abstract).
- Dadrezaei, S. T., Mohammadi Goltappeh, E., Afshari, F. and Nazari, K. 2012. Pathotypes and physiologic races of *Puccinia triticina* Eriks. The causal agent of wheat leaf rust and their distribution in Iran in 2009 and 2010. **Seed and Plant Improvement Journal** 28-1 (4): 685-815. (In Persian with English Abstract).
- Delfan, S., Bihamta, M. R., Dadrezaei, S. T., Abbasi, A. R. and Aalipour H. 2020. Evaluation of resistance to leaf rust (*Puccinia tritici* Eriks.) at seedling stage in wheat genotypes. **Seed and Plant** 36 (4): 483-508. (In Persian with English Abstract).
- Draz, I. S., Abou-Elseoud, M. S., Kamara, A. E. M., Alaa-Eldein, O. A. E. and El-Bebany, A. F. 2015. Screening of wheat genotypes for leaf rust resistance along with grain yield. **Annals of Agricultural Sciences** 60: 29-39.
- Ebrahimian, M., Nasrollahnezhad Ghomi, A. A., Zaynali Nezhad, Kh. and Ramazanpour, S. S. 2019. Evaluation of resistance to leaf rust at adult stage in some bread wheat cultivars. **Journal of Plant Production (Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources)** 26 (3): 89-102. (In Persian with English Abstract).
- Ghasemzadeh, E., Afshari, F., Khodarahmi, M. and Bihamta, M. R. 2010. Study on the genetics of resistance to leaf rust in some advanced lines of wheat at seedling stage. **Iranian Journal of Agronomy and Plant Breeding** 6 (3): 51-59. (In Persian with English Abstract).
- Gulyaeva, E. 2020. Breeding of bread wheat for leaf rust resistance in Russia. In BIO web of conferences. **EDP Sciences** (18): 00013.
- Helfer, S. 2014. Rust fungi and global change. **New Phytologist** 201 (3): 770-780.
- Herrera-Foessel, S. A., Singh, R. P., Huerta-Espino, J., William, H. M., Garcia, V., Djurle, A. and Yuen, J. 2008. Identification and molecular characterization of leaf rust resistance gene *Lr14a* in durum wheat. **Plant Disease** 92 (3): 469-473.
- Huerta-Espino, J., Singh, R. P., German, 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 (1): 143-160.

- Kia, S. and Afshari, F. 2011.** A study of the virulence factors of *Puccinia triticina* Eriksoon, the causal agent of wheat leaf rust in Golestan province during 2002-2007. **Iranian Journal of Plant Protection Science** 42 (1): (In Persian with English Abstract).
- Kim, M., Lee, A., Truong, H. A., Kang, C. S., Choi, C., Chung, N., Lee, H. and Lee, B. C. 2019.** Evaluation of leaf rust resistance and characteristics of Korean wheats. **Journal of Applied Biological Chemistry** 62 (3): 293-297.
- Law, C. N. 1967.** The location of genetic factors controlling a number of quantitative characters in wheat. **Genetics** 56: 445-461.
- Law, C. N. and Wolfe, M. S. 1966.** Location of genetic factors for mildew resistance and ear emergence time on chromosome 7B of wheat. **Canadian Journal of Genetics and Cytology** 8:462-470.
- Mahdian, S. and Dehghan, M. A. 2004.** Identification of pathotypes of *Puccinia triticina* Eriksoon, the causal agent of wheat leaf rust in Golestan and Mazandaran provinces. **Entomology and Phytopathology** 72 (2):29-38. (In Persian with English Abstract).
- Martínez-Moreno, F., Giraldo, P., Cátedra, M. D. M. and Ruiz, M. 2021.** Evaluation of leaf rust resistance in the Spanish core collection of tetraploid wheat landraces and association with ecogeographical variables. **Agriculture** 11 (4): 277.
- McCallum, B. D., Hiebert, C. W., Cloutier, S., Bakkeren, G., Rosa, S. B., Humphreys, D. G., Marais, G. F., McCartney, C. A., Panwar, V., Rampitsch, C. and Saville, B. J. 2016.** A review of wheat leaf rust research and the development of resistant cultivars in Canada. **Canadian Journal of Plant Pathology** 38 (1): 1-18.
- McCallum, B. D., Humphreys, D. G., Somers, D. J., Dakouri, A. and Cloutier, S. 2011.** Allelic variation for the rust resistance gene *Lr34/Yr18* in Canadian wheat cultivars. **Euphytica** 183: 261-274.
- McFadden, E. S. 1930.** A successful transfer of emmer characters to *vulgare* wheat. **American Society of Agronomy** 22: 1020-1034.
- McIntosh, R. A., Luig, N. H. and Baker, E. P. 1967.** Genetic and cytogenetic studies of stem rust, leaf rust, and powdery mildew resistance in Hope and related wheat cultivars. **Australian Journal of Biological Sciences** 20: 1181-92.
- McIntosh, R. A., Wellings, C. R. and Park, R. F. 1995.** Wheat rusts: An Atlas of resistance genes. CSIRO, Australia.
- Nasr Elahnezhad Ghomi, A. A., Bihamtha, M. R., Hossein Zadeh, A., Taleei, A., Shahnejat Bushehri, A. A. and Torabi, M. 2006.** The mode of inheritance to wheat leaf rust at adult plant stage. **Iranian Journal of Agriculture Science** 37-1 (1): 135-143. (In Persian with English Abstract).
- Nasr Elahnezhad Ghomi, A. A., Hosseyn Zadeh, A., Torabi, M. and Ghanadha, M. R. 2003.** Study on the genetics of resistance to leaf rust in some advanced lines of wheat at seedling stage. **Seed and Plant Improvement Journal** 19(3): 281-294. (In Persian with English Abstract).
- Panwar, V., Jordan, M., McCallum, B. and Bakkeren, G. 2018.** Host-induced silencing of essential genes in *Puccinia triticina* through transgenic expression of RNAi sequences reduces severity of leaf rust infection in wheat. **Plant Biotechnology Journal** 16 (5): 1013-1023.
- Peterson, R. F., Campbell, A. B. and Hannah, A. E. 1948.** A diagrammatic scale for estimating rust intensity on leaves and stems of cereals. **Canadian Journal of Research** 26 (5): 496-500.
- Riaz, A., Athiyannan, N., Periyannan, S. K., Afanasenko, O., Mitrofanova, O. P., Platz, G. J., Aitken, E. A., Snowdon, R. J., Lagudah, E. S., Hickey, L. T. and Voss-Fels, K. P. 2018.** Unlocking new alleles for leaf rust resistance in the Vavilov wheat collection. **Theoretical and Applied Genetics** 131 (1): 127-144.
- Roelfs, A. P., Singh, R. P. and Saari, E. E. 1992.** Rust diseases of wheat concepts and methods of disease management. CIMMYT, Mexico, pp. 80.
- Sapkota, S., Hao, Y., Johnson, J., Buck, J., Aoun, M. and Mergoum, M. 2019.** Genome-wide association study of a worldwide collection of wheat genotypes reveals novel quantitative trait loci for leaf rust resistance. **The Plant Genome** 12 (3): 190033.
- Torabi, M., Mardoukhi, V., Foroutan, A., Kashani, A., Aliramaei, M., Dadrezaei, S. T., Akbari Moghadam, H., Rajaei, S. and Azimi H. 2002.** 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 Improvement Journal** 18 (4): 432-449. (In Persian with English Abstract).

- Torabi, M., Nazari, K. and Afshari, F. 2001.** Genetics of pathogenicity of *Puccinia recondite* f.sp. *tritici*, the causal agent of wheat leaf rust. **Iranian Journal of Agriculture Science** 32 (3): 625-635. (In Persian with English Abstract).
- Webb, C. A. and Fellers, J. P. 2006.** Cereal rust fungi genomics and the pursuit of virulence and avirulence factors. **FEMS Microbiology Letters** 264 (1): 1-7.
- Zahravi, M., Asgharzadeh, P., Afshari, F. and Bihamta, M. R. 2009.** Study of relationships among components of resistance to yellow rust (*Puccinia striiformis* f.sp. *tritici*) in Iranian wheat landraces. **Modern Genetics Journal** 4 (4): 33-43. (In Persian with English Abstract).
- Zahravi, M., Dehghan, M. A., Fallahi, H. A. and Azimi, H. 2019.** Efficiency of resistance genes in wheat to powdery mildew in some centers of disease incidence in Iran. **Iranian Journal of Genetics and Plant Breeding** 8 (1): 12-15. (In Persian with English Abstract).
- Zarandi, F., Afshari, F. and Rezaee, S. 2011.** Virulence factors of *Puccinia triticina* the causal agent of wheat leaf rust in different parts of Iran. **Seed and Plant Improvement Journal** 27 (2): 219-231. (In Persian with English Abstract).
- Zarandi, F., Afshari, F. and Rezaei S. 2009.** Study of resistance components at seedling stage and field resistance to leaf rust in some elite wheat lines. **Seed and Plant Improvement Journal** 25-1 (4): 569-584. (In Persian with English Abstract).





University of Guilan  
Faculty of Agricultural  
Sciences

doi: 10.22124/CR.2021.19936.1676

(Research Article)

**Cereal Research**  
Vol. 11, No. 1, Spring 2021 (13-29)

## **Screening of bread wheat germplasm and identification of genetic resources resistant to leaf rust disease**

**Mehdi Zahravi<sup>1\*</sup>, Taha Dadrezaei<sup>1</sup> and Mohammad Ali Dehghani<sup>2</sup>**

Received: February 18, 2021

Accepted: May 22, 2021

### **Abstract**

Leaf rust is one of the most important wheat diseases in the world and Iran and the use of resistant cultivars is the most effective tool against this disease, however, the resistance of the cultivars becomes ineffective following a selective pressure on the pathogen, which makes the search for new resistance genetic resources unavoidable. The present study was performed to identify these sources of resistance in wheat germplasm. Therefore, 97 accessions from the bread wheat collection of National Plant Gene Bank of Iran were investigated under natural infection condition at Eraghi-Mahale Research Station, Gorgan, Iran, in 2017-2018. The results showed that 46.4% of the studied accessions had a zero infection coefficient that were selected for evaluation at the seedling stage. Seedling evaluation was performed in greenhouse using four pathotypes with determined virulence-avirulence factors. The results of qualitative and quantitative analyzes grouped the studied accessions into different groups with specific resistance to one or more pathotypes. Comparison of resistance response of the accessions with avirulence/virulence formula in the pathotypes indicated the possibility of presence of *Lr14a* in the accession 5127. Furthermore, these comparisons revealed the possibility of presence of unknown resistance genes in many of the accessions under study. The results of this study showed the valuable capacity of the bread wheat germplasm to possibly identify new genes and sources of resistance to leaf rust. Therefore, it is suggested that additional research be done to evaluate and screen the bread wheat germplasm.

**Keywords:** Brown rust, Gene bank, Pathogen, Resistance gene, Virulence

---

1. Research Assist. Prof., Seed and Plant Improvement Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran

2. Research Assist. Prof., Agriculture and Natural Resources Research Center of Golestan, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Gorgan, Iran

\* Corresponding author: [mzahravi@yahoo.com](mailto:mzahravi@yahoo.com)