Crop Biotech.
Summer (2017) 18: 15-25.

مجله علمی ـ پژوهشی زیست‌فناوری گیاهان زراعی
سال هفتم، شماره هیجدهم، تابستان ۱۳۹۶ (۲۵-۱۵)

شناسایی ژن‌های مقاومت به زنگ‌های ساقه و قهوه‌ای در برخی از لاین‌های امیدبخش گندم با استفاده از نشانگرهای مولکولی

علی عمرانی[۱]، سعید اهری‌زاد[۲*]، رامین روح‌پرور[۳]، منوچهر خدارحمی[۳]، محمود تورچی[۲]
۱ و ۲. دانشجوی دوره دکترای اصلاح نباتات و استادان، گروه به‌نژادی و بیوتکنولوژی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
۳. استادیاران، موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۲/٤- تاریخ تصویب: ۱۳۹٦/٦/۲۹)

Identification of stem and leaf rust resistance genes in some promising wheat lines using molecular markers

Ali Omrani[1], Saeid Aharizad[2*], Ramin Roohparvar[3], Manoochehr Khodarahmi[3], Mahmoud Toorchi[2]
1, 2. Ph. D. Student and Professors, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran.
3. Assistant Professors, Seed and Plant Improvement Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran
(Received: Apr. 24, 2017 -Accepted: Sep. 20, 2017)

Abstract

Stem and leaf rusts are the most devastating wheat diseases, worldwide. Utilization of genetic resistance and improvement of resistant cultivars are considered as the most reliable approaches to control wheat rusts. Identification of rust resistance sources and the involved resistance genes is one of the requirements for achieving sustainable resistance as well as resistant cultivars. Molecular markers have been identified for a significant number of, stem and leaf rusts resistance genes/loci. In this study, selected pre-released wheat promising lines of four Iranian major climate zones (Hot and humid, Hot and dry, moderate and Cold) were evaluated for the presence of seedling resistance genes or loci linked to the four molecular markers *Sr39/Lr35, Sr31/Yr9/Lr26/Pm8/Pm17, Sr24/Lr24* and *Sr22*. Based on the results *Sr39/Lr35* locus was identified only in line SEP59, while *Sr31/Yr9/Lr26/Pm8/Pm17* locus in lines S-84-14 and SEP49. *Sr24/Lr24* and *Sr22* loci were not identified in all lines tested. The results of this study showed a low frequency of the resistance loci in pre-released promising lines and, thus, lines possessing these loci should be incorporated in wheat breeding programs in order to increase their frequency in new cultivars.

Keywords: Genetic resistance, Loci, Resistance sources and Yield loss

چکیده

زنگ‌های ساقه و قهوه‌ای از خسارت‌زاترین بیماری‌های گندم در سراسر جهان می‌باشند. استفاده از مقاومت ژنتیکی و تولید ارقام مقاوم مطمئن‌ترین روش کنترل زنگ‌ها به‌شمار می‌رود. شناسایی منابع مقاومت به زنگ و تعیین ژن‌های مقاومت موجود در آن‌ها یکی از ملزومات رسیدن به ارقام مقاوم و ایجاد مقاومت پایدار می‌باشد. برای تعداد قابل توجهی از ژن‌های مقاومت به زنگ ساقه و قهوه‌ای، نشانگرهای مولکولی مرتبط شناخته شده است. در این تحقیق برخی از لاین‌های امیدبخش گندم در دست معرفی چهار اقلیم (گرم و مرطوب شمال، گرم و خشک جنوب، معتدل و سرد) کشور جهت تشخیص حضور ژن‌ها و یا جایگاه‌های ژنی مقاومت گیاهچه‌ای شامل *Sr39/Lr35*، *Sr31/Yr9/Lr26/Pm8/Pm17*، *Sr24/Lr24* و *Sr22* با استفاده از نشانگرهای مولکولی پیوسته با آن‌ها مورد بررسی قرار گرفتند. با توجه به نتایج به‌دست آمده از این تحقیق مشخص شد که جایگاه ژنی *Sr39/Lr35* تنها در لاین SEP59 و جایگاه ژنی *Sr31/Yr9/Lr26/Pm8/Pm17* در لاین‌های S-84-14 و SEP49 وجود دارد. سایر جایگاه‌های ژنی در هیچ کدام از لاین‌های مورد بررسی شناسایی نشدند. نتایج به دست آمده از این تحقیق نشان داد که فراوانی حضور این ژن‌ها در لاین‌های امیدبخش گندم پایین بوده و بنابراین بایستی با استفاده از لاین‌های حاوی ژن‌های مقاومت در برنامه‌های اصلاح گندم، فراوانی حضور این ژن‌ها در ارقام اصلاح شده افزایش یابد.

واژه‌های کلیدی: جایگاه ژنی، کاهش عملکرد، منابع مقاومت و مقاومت ژنتیکی.

* نویسنده مسئول: سعید اهری‌زاد
E-mail: s.aharizad@yahoo.com

مقدمه

گندم مهم‌ترین محصول زراعی کشور می‌باشد. تنش‌های زنده از جمله بیماری‌ها یکی از عوامل محدود کننده عملکرد گندم در واحد سطح می‌باشند. سه بیماری قارچی زنگ زرد، زنگ ساقه و زنگ قهوه‌ای هر ساله باعث خسارت‌های زیادی به محصول گندم در کشورهای مختلف می‌شوند. از ویژگی‌های مهم زنگ‌ها می‌توان به وجود نژادهای فیزیولوژیک متعدد، پتانسیل بالا در تولید نژادها و بیوتیپ‌های جدید، سرعت تکثیر و همه‌گیر شدن اشاره کرد. زنگ‌های غلات در هر منطقه‌ای که میزبان‌های حساس کشت شوند و شرایط محیطی نیز مناسب باشد، می‌توانند باعث بروز همه‌گیری و خسارت‌های شدید شوند (Singh *et al*., 2011).

بیماری زنگ سیاه یا زنگ ساقه با عامل *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*، مهم‌ترین و خسارت‌زاترین بیماری گندم در بسیاری از کشورهای جهان بوده و در شرایط همه‌گیری پتانسیل از بین بردن کامل محصول گندم را در مزارع دارد (Singh *et al*., 2015). زنگ ساقه در شمال آمریکا، استرالیا، آفریقا، خاورمیانه، جنوب و جنوب‌شرق آسیا و مناطق وسیعی از اروپا از اهمیت فوق‌العاده‌ای برخوردار است (McIntosh *et al*., 1995). وضعیت جغرافیایی، شرایط محیطی مساعد و تنوع جمعیت گیاهی موجود در ارتفاعات آفریقای شرقی منطقه‌ای ایده‌ال را برای سیر تکاملی نژادهای جدید زنگ‌ها فراهم ساخته است (Singh *et al*., 2006).

زنگ قهوه‌ای گندم با عامل *Puccinia triticina* f. sp. *tritici* گسترده‌ترین دامنه انتشار را در بین زنگ‌های گندم دارا بوده و خسارت ۳۰ درصدی محصول برای این بیماری گزارش شده است (Huerta-Espino *et al.,* 2011). در نواحی مختلف جهان با توجه به شرایط آب و هوایی میزان اهمیت زنگ‌های گندم متفاوت است. در ایران از لحاظ میزان خسارت سالانه زنگ‌ها، زنگ قهوه‌ای بعد از زنگ زرد قرار دارد. میزبان واسط که یک منبع اصلی برای ایجاد ترکیبات جدید ژنی با پرآزاری و قدرت تهاجم بالاتر در زنگ‌ها محسوب[2] می‌شود، برای عوامل این دو بیماری گیاه زرشک با نام علمی *Berberis vulgaris* می‌باشد. قارچ‌های عامل این بیماری‌ها در مناطق معتدل به‌وسیله‌ی یوردینیوسپور تولید مثل نموده و در غیاب گندم به‌عنوان میزبان اصلی، زمستان‌گذرانی بر روی میزبان‌های دیگری از غلات انجام می‌شود (Jin *et al*., 2010). در شروع فصل بهار گیاه زرشک منبع زادمایه اولیه برای ایجاد آلودگی به زنگ بوده و آلودگی اولیه را ایجاد می‌نماید. برنامه ریشه‌کنی زرشک در آمریکای شمالی باعث حذف منابع آلودگی اولیه و کاهش فراوانی ظهور نژادهای جدید زنگ ساقه در این مناطق شد (Kolmer *et al*., 2007).

کنترل شیمیایی (استفده از سموم قارچ‌کش مؤثر) می‌تواند از خسارت شدید زنگ‌ها بکاهد، اما به لحاظ ملاحظات زیست محیطی و ظهور جدایه‌های بیمارگر مقاوم به سموم توصیه می‌شود به عنوان آخرین روش کنترلی استفاده شود. با توجه به این‌که به‌کارگیری مقاومت ژنتیکی و تولید ارقام مقاوم، سبب کاهش یا حذف مصرف سموم شیمیایی می‌شود، این روش به عنوان اقتصادی‌ترین، سالم‌ترین و مطمئن‌ترین روش کنترل بیماری‌های زنگ گندم می‌باشد (Chen, 2005). انتقال ژن‌های مقاومت مؤثر به زنگ ساقه به ارقام زراعی گندم و هرمی نمودن این ژن‌ها در ژرم‌پلاسم سازگار از مهم‌ترین راهبردهای بهنژادی برای کنترل این بیماری می‌باشد (Singh *et al*., 2006). استفاده از نشانگرهای مولکولی برای شناسایی حضور ژن‌های مقاومت مؤثر در ارقام تجاری و لاین‌های پیشرفته و امیدبخش گندم ابزار مناسبی برای بهنژادگران می‌باشد، به‌طوری‌که با

1. Virulence
2. Aggressiveness

استفاده از آن می‌توانند تلاقی‌های هدفمندی را در جهت رسیدن به مقاومت پایدار ارقام در مقابل بیماری‌ها به‌ویژه زنگ‌ها پایه‌ریزی کنند. همچنین این ابزار می‌تواند انتخاب افراد جمعیت را در کلیه مراحل هرمی کردن ژن‌ها و تلاقی‌های برگشتی تسهیل نماید (Francia *et al*., 2005).

یکی از نژادهای پرآزار زنگ ساقه نژاد Ug99 می‌باشد که با نژاد TTKSK به جهان معرفی شده است (Pretorius *et al*., 2000) و تنها نژاد شناخته شده *P. graminis* f. sp. *tritici* است که برای ژن *Sr31* که از رقم امپریال چاودار به گندم منتقل شده و بیش از ۳۰ سال سبب مقاومت جهانی گندم نسبت به بیماری زنگ ساقه شده است، پرآزاری دارد (Singh *et al*., 2006). این نژاد اولین بار در سال ۱۹۹۹ در اوگاندا شناسایی شده (Pretorius *et al*., 2000) و در سال ۲۰۰۱ در کنیا، ۲۰۰۳ در اتیوپی و در ۲۰۰۷ در شمال سودان، یمن و ایران نیز مشاهده گردیده است (Nazari *et al*., 2009). در سال ۲۰۰۹ نژاد Ug99 در استان خوزستان در جنوب ایران، در مناطقی که گندم‌های بهاره کشت می‌شوند، مجدداً گزارش شد (Patpour, 2013). نژاد Ug99 علاوه بر ژن *Sr31* روی ژن *Sr38* نیز پرآزاری دارد. این نژاد به تدریج روی ژن‌های مقاومت *Sr24* (Jin *et al*., 2008) و *SrTmp* که از ژن‌های مقاومت در برابر نژاد Ug99 بودند، نیز پرآزاری یافته است (Patpour *et al*., 2016).

برای زنگ قهوه‌ای نیز تنوع نژادی بسیار بالایی در جمعیت عامل بیماری در سراسر دنیا وجود دارد (McIntosh *et al.,* 1995). برای برخی از ژن‌های مقاومت به زنگ قهوه‌ای مثل ژن‌های *Lr2*، *Lr3*، *Lr9*، *Lr11*، *Lr18*، *Lr24* و *Lr26* پرآزاری گزارش شده است (Kolmer, 2005).

تعداد ژن‌های مقاومت در برابر Ug99 بسیار محدود بوده و این ژن‌ها در ساختار ژنتیکی همه ارقام رایج در مناطق مختلف جهان وجود ندارند. از جمله این ژن‌ها که توانسته‌اند مقاومت خوبی را در برابر نژاد Ug99 نشان دهند، می‌توان ژن‌های *Sr39*، *Sr36*، *Sr26*، *Sr25*، *Sr24*، *Sr22*، *Sr2*، *SrCad* و *SrAmigo* را نام برد. همه این ژن‌ها از خویشاوندان وحشی گندم و یا چاودار زراعی به گندم منتقل شده‌اند و به‌جز *Sr2* همگی از نوع ژن‌های مقاومت گیاهچه‌ای بوده و از مهم‌ترین ژن‌های مسئول مقاومت پایدار به زنگ ساقه در سطح بین‌المللی می‌باشند (Jin & Singh, 2006). از مجموع بیش از ۱۵۰ ژن شناسایی شده مقاومت به زنگ‌ها در گندم و خویشاوندهای وحشی آن، تاکنون بیش از ۵۸ ژن اصلی مقاومت به زنگ ساقه و حدود ۷۰ ژن مقاومت به زنگ قهوه‌ای معرفی شده است که اکثر آن‌ها ژن‌های مقاومت گیاهچه‌ای بوده و مقاومت اختصاص به نژاد را ایجاد می‌کنند. نژاد Ug99 و واریانت‌های مشتق از آن بر روی بیش از ۴۶ ژن مقاومت پرآزاری نشان داده‌اند (McIntosh *et al*., 2012). Li *et al*. (2016) به‌منظور شناسایی ژن‌های مقاومت *Sr25/Lr19*، *Sr26*، *Sr28*، *Sr31/Yr9/Lr26/Pm8/Pm17*، *Sr32* و *Sr38/Lr37/Yr17* در ۱۱۹ لاین و رقم گندم چینی از نشانگرهای مولکولی مرتبط با این ژن‌ها استفاده نموده و در مجموع بلوک ژنی *Sr31/Yr9/Lr26/Pm8/Pm17* را در ۴۳ نمونه، بلوک ژنی *Sr38/Lr37/Yr17* را در ۱۰ نمونه، ژن *Sr28* را در ۱۲ نمونه، ژن *Sr32* را در یک نمونه گزارش کردند و حضور ژن‌های *Sr25* و *Sr26* در هیچ یک از ۱۱۹ نمونه گندم مورد بررسی گزارش نشد. در این پژوهش در پنج نمونه بلوک‌ژنی *Sr31/Yr9/Lr26/Pm8/Pm17* به‌همراه بلوک ژنی *Sr38/Lr37/Yr17* و در هشت نمونه دیگر به‌همراه ژن *Sr28* مشاهده گردید. Bakhtiar *et al*. (2015) با بررسی هشت جایگاه ژنی مقاومت به زنگ‌ها شامل *Yr5*، *Yr15*، *Lr34/Yr18/Pm38*، *Sr38/Yr17/Lr37*، *Yr27*، *Sr31/Yr9/Lr26*، *Yr36* و *Yr48* در ۱۵۰ لاین هاپلویید مضاعف شده

گندم به همراه والدین، گزارش نمودند که نشانگرهای مورد استفاده برای مکان‌های ژنی *Yr5*، *Yr15*، *Yr27* و *Yr36* قادر به تشخیص چند شکلی بین والدها، جمعیت و شاهد حساس نبودند. برای مکان‌های ژنی *Sr38/Yr17/Lr37* و *Yr48* عدم تکثیر باندهای مورد نظر بیان‌کننده عدم حضور آلل مؤثر این جایگاه‌های ژنی در والدین لاین‌های هاپلویید مضاعف شده بود. سه لاین هاپلویید مضاعف شده دارای بلوک ژنی *Sr31/Yr9/Lr26* و شش لاین هاپلویید مضاعف نیز حاوی بلوک ژنی *Lr34/Yr18/Pm38* گزارش شدند.

در تحقیق حاضر ۳۶ لاین امیدبخش گندم که از لحاظ عملکرد و سایر صفات زراعی مطلوب بودند، برای تشخیص حضور و عدم حضور چهار جایگاه ژنی *Sr22*، *Sr24/Lr24*، *Sr31/Yr9/Lr26* و *Sr39/Lr35* با استفاده از نشانگرهای مولکولی مرتبط مورد بررسی قرار گرفتند.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق ۳۶ لاین امیدبخش گندم متعلق به هر چهار اقلیم (گرم و مرطوب شمال، گرم و خشک جنوب، معتدل و سرد) کشور که در سال‌های آینده تعدادی از آن‌ها امکان معرفی به‌عنوان رقم زراعی جدید را دارند (مشخصات شجره لاین‌ها در جدول ۱ ارایه شده است) توسط چهار نشانگر مولکولی مرتبط با مقاومت گیاهچه‌ای به بیماری های زنگ ساقه و قهوه‌ای گندم شامل بلوک‌های ژنی *Sr22*، *Sr24/Lr24*، *Sr31/Yr9/Lr26/Pm8/Pm17* و *Sr39/Lr35* مورد بررسی قرار گرفتند. مشخصات هر یک از نشانگرهای مولکولی مرتبط با بلوک‌های ژنی در جدول ۲ ارایه شده است. لاین‌های مورد بررسی به صورت جداگانه در گلدان‌های پلاستیکی حاوی خاک مزرعه و پیت ماس به نسبت ۲:۱، کشت گردید و استخراج DNA از برگ‌های جوان جدا شده در مرحله سه برگی با استفاده از روش CTAB انجام شد (Saghai-Maroof *et al*., 1984). خصوصیات کمی و کیفی DNA استخراج شده شامل غلظت، شکستگی و وجود یا عدم وجود RNA توسط اسپکتروفتومتری (Termo electron corporation) در طول موج ۲۶۰ نانومتر و الکتروفورز ژل آگارز ۰/۸ درصد بررسی گردید. سپس غلظت نمونه‌های DNA برای استفاده در واکنش زنجیره‌ای پلیمراز به ۲۵ نانوگرم در میکرولیتر رسید. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در حجم ۱۵میکرولیتر برای هر واکنش با استفاده از بافر PCR (1X)، آغازگرهای مورد نظر برای هر ژن یا بلوک ژنی (۲۰۰nM)، آنزیم تک‌پلیمراز (یک واحد)، dNTPs به میزان ۰/۲ mM، $MgCl_2$ به‌میزان ۲ mM و DNA به میزان ۵۰ ng برای هر واکنش انجام شد. برنامه حرارتی PCR در دستگاه Bio Rad T100 به صورت یک چرخه واسرشت سازی اولیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳ دقیقه، ۳۵ چرخه شامل مراحل واسرشت سازی در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه، مرحله اتصال با توجه به دمای اتصال نشانگرها (جدول۲) به مدت ۳۰ ثانیه و مرحله بسط در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷ دقیقه تنظیم شد. پس از اتمام PCR، نمونه‌ها از دستگاه خارج شده و تا قبل از الکتروفورز در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند.

سپس محصولات حاصل از PCR توسط دستگاه الکتروفورز (Electrophoresis power supply EPS600) روی ژل آگارز ۱/۵ درصد حاوی بافر TBE 0.5X با ولتاژ ۱۰۰ آمپر تفکیک شدند و ژل حاصل با استفاده از اتیدیوم بروماید به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه رنگ‌آمیزی و توسط اشعه UV در دستگاه ژل داکیومنت (Uvitec Uvipro siloer) با استفاده از بسته نرم‌افزاری (Bio-Rad, München, Germany) مورد عکس برداری قرار گرفت. تجزیه و تحلیل و نمره‌دهی آلل‌ها به صورت مقایسه با نشانگر وزنی (Mass ladder marker) و شاهدهای مثبت و منفی به‌صورت صفر (عدم وجود نوار) و یک (وجود نوار) انجام شد.

جدول ۱. مشخصات لاین‌های امیدبخش گندم چهار اقلیم کشور مورد استفاده در این پژوهش

No.	Line	Pedigree
1	N-87-20	SABUF/7/ALTAR 84/AE.SQUARROSA (224)//YACO/6/CROC_1/…
2	N-90-7	OASIS/SKAUZ//4*BCN/3/2*PASTOR
3	N-90-12	BABAX/LR42//BABAX*2/3/VIVITSI
4	N-91-8	PFAU/MILAN/5/CHEN/AEGILOPS SQUARROSA(TAUS)//BCN/3/VEE#7/BOW/4/PASTOR
5	N-91-9	PFAU/MILAN/3/SKAUZ/KS94U215//SKAUZ
6	N-91-15	NANJING2149/KAUZ/4/JUP/ALD"S"//KIT"S"/3/VEE"S"/5/SHA7 //HAHN"S"*2/PRL"S"
7	N-91-17	MILAN/S87230//BABAX
8	N-92-9	VOROBEY
9	N-92-10	KLCQ/ER2000//WBLL1
10	N-92-12	SHA3/CBRD//PRL/2*PASTOR
11	N-92-19	PBW343/TONI//TROST/3/SOVA
12	S-78-11	Bow"s"/CM34798/3/Snb/Pewee"s"//Snb/Mus
13	S-84-14	PASTOR/3/KAUZ*2/OPATA//KAUZ
14	S-90-3	Pishtaz//Falat/Barakat
15	S-90-4	Bow"s"/Vee"s"//1-60-3/3/Cocoraque 75/4/Chamran
16	S-90-5	IR/FR
17	S-90-6	Alborz/5/K62909/4/Cno//K58/Tob/3/Wa/5/Chen/Aeg.sq(Taus)//BCNY3/6/ Alborz/5/K62909/4/Cno//K58/Tob/3/Wa
18	S-90-7	Alborz/5/K62909/4/Cno//K58/Tob/3/Wa/5/Chen/Aeg.sq (Taus)//BCNY3/6/Alvand//Aldan"s"/Ias58
19	S-91-6	Alvand//Aldan"s"/IAS58/3 /Vee/Nac
20	S-91-13	PFAU/MILAN/5/CHEN/AEGILOPS SQUARROSA(TAUS)//BCN/3/VEE#7/BOW/4/PASTOR
21	S-91-15	PRL/2*PASTOR/4/CHOIX/STAR/3/HE1/3*CNO79//2*SERI
22	M-91-6	Tui//CMH 76-252/Pvn "s"/3/Flt
23	M-91-10	PRL/2*PASTOR/4/CHOIX/STAR/3/HE1/3*CNO79//2*SERI
24	C-87-11	Basswood/Mv17
25	C-87-12	Basswood/MV17
26	C-87-13	Bhr*5/Aga//Sni/3/Trk13/4/Gaspard
27	C-88-4	Gascogne/Col. no. 3625//Alamoot
28	C-88-13	Qds/4/Anza/3/Pi/Nar//Hys/5/Vee/Nac/6/Gascogne/7/Zrn
29	C-89-6	Fdo 2062
30	C-89-7	Zrn*2/Gaspard
31	C-89-15	Fdo 4085
32	C-90-11	Eudiele
33	C-91-4	Zrn/Shiroodi/6/Zrn/5/Omid/4/Bb/Kal//Ald/3/Y50E/Kal*3//Emu
34	SEP- 49	CNO79
35	SEP-58	SOVA
36	SEP-59	68.111/RGB-U//WARD/3/AE.SQUARROSA (328)

جدول ۲. مشخصات نشانگرهای مولکولی مورد استفاده برای جایگاه‌های ژنی مختلف

No. شماره	Locus جایگاه ژنی	Marker name نشانگر	Forward 5´-3´	Reverse 5´-3´	Annealing temperature دمای اتصال (°C)	Allele size (bp) اندازه باند
1	*Sr22*	WMC633	ACACCAGCGGGGATATTTGTTAC	GTGCACAAGACATGAGGTGGA TT	60°C	117
2	*Sr24/Lr24*	Sr24#12	CACCCGTGACATGCTCGTA	AACAGGAAATGAGCAACGATGT	62°C	500
3	*Sr31/Yr9/Lr26/ Pm8/Pm17*	Iag95	CTCTGTGGATAGTTACTTGATCGA	CCTAGAACATGCATGGCTGTTACA	55°C	1100
4	*Sr39/Lr35*	Sr39#22r	AGAGAAGATAAGCAGTAAACATG	TGCTGTCATGAGAGGAACTCT G	60°C	487

نتایج و بحث

به‌کارگیری نشانگرهای مولکولی پیوسته با ژن‌های مقاومت ضمن تعیین تنوع ژنتیکی میان افراد و تایید نتایج حاصل از بررسی‌های تنوع فنوتیپی در گلخانه و مزرعه، می‌تواند موجب تسریع شناسایی منابع مقاومت و استفاده از آن‌ها در برنامه‌های به نژادی به منظور تجمع ژن‌های مقاومت در ژنوتیپ‌های مطلوب گردد (Francia *et al*., 2005).

در تحقیق حاضر برای تشخیص حضور و عدم حضور چهار جایگاه ژنی *Sr22*، *Sr24/Lr24*، *Sr31/Yr9/Lr26* و *Sr39/Lr35* با استفاده از نشانگرهای مولکولی مرتبط در ۳۶ لاین امیدبخش گندم مورد بررسی قرار گرفتند. هر چهار جایگاه ژنی مذکور از مؤثرترین ژن‌های مقاومت به اکثر نژادهای زنگ ساقه موجود در کشور (Afshari *et al*., 2015) و سه جایگاه‌های ژنی *Sr22*، *Sr24/Lr24* و *Sr39/Lr35* از مؤثرترین ژن‌های مقاومت در برابر نژاد Ug99 و اکثر واریانت‌های آن می‌باشند و با ژن‌های مقاومت به زنگ قهوه‌ای نیز پیوسته هستند.

آزمون ژنتیکی جایگاه ژنی *Sr22*

ژن *Sr22*، مقاومت گیاهچه‌ای اختصاصی به زنگ ساقه را کد می‌کند. این ژن بر روی بازوی بزرگ کروموزوم 7A قرار دارد (Khan *et al*., 2005). ژن *Sr22* از گندم *Triticum monococcum* منشا گرفته است (Kerber & Dyck, 1973) و از جمله ژن‌هایی می‌باشد که در مقابل نژاد Ug99 و اکثر واریانت‌های آن مقاومت مؤثری ایجاد می‌کند. نشانگرهای مختلفی برای آزمون ژنتیکی این ژن معرفی شده است. در این پژوهش از نشانگر مولکولی STS به‌نام WMC633 استفاده شد که محصول PCR این نشانگر در صورت وجود ژن مقاومت قطعه‌ای به‌طول ۱۱۷ جفت باز را روی ژل آگارز ۱/۵٪ نشان می‌دهد، ولی در صورت عدم وجود آن هیچ نواری تشکیل نمی‌شود (Olson *et al*., 2010). از آنجا که نشانگرهای STS از نوع درون مکان ژنی، همبارز و بسیار تکرار پذیر می‌باشند، از این نشانگرها می‌توان برای مکان‌یابی سریع‌تر هر نوع ژن در نقشه‌های مولکولی استفاده کرد. بدین ترتیب که ابتدا دو یا سه جایگاه STS برای هر کروموزم شناسایی می‌شود. سپس با شناسایی یک ژن جدید، ارتباط پیوستگی بین ژن و جایگاه ژنی STS مشخص می‌شود. نشانگرهای STS در برنامه‌های انتخاب به کمک نشانگر، گزینه‌ای بسیار مناسب به شمار می‌روند (Chawla, 2002). به‌عنوان شاهد مثبت از لاین دارای ژن *Sr22* به‌نام RL5244 موجود در مجموعه ارقام افتراقی زنگ ساقه استفاده گردید. آزمون ژنتیکی حضور و یا عدم حضور ژن *Sr22* در لاین‌های مورد بررسی حاکی از آن بود که در هیچ‌کدام از این لاین‌ها ژن مقاومت *Sr22* وجود ندارد. در بررسی دیگری این جایگاه ژنی در هیچ یک از ۱۰۳ رقم و لاین پیشرفته گندم ایرانی مورد مطالعه شناسایی نشد (Patpour *et al*., 2014b). وجود این جایگاه ژنی در هفت ژنوتیپ از گندم‌های بومی استان گیلان موجود در بانک ژن گیاهی ملی ایران گزارش گردیده است (Khademian, 2012).

آزمون ژنتیکی جایگاه ژنی *Sr24/Lr24*

جایگاه ژنی مقاومت به زنگ ساقه و زنگ قهوه‌ای *Sr24/Lr24* مقاومت اختصاصی و تک ژنی را در مرحله گیاهچه‌ای کد می‌کند. این جایگاه ژنی بر روی بازوی بزرگ کروموزوم 3D قرار دارد (Smith *et al*., 1968). منشا این ژن از گونه *Agropyron elongatum* است که دارای پیوستگی بالایی با ژن *Lr24* می‌باشد. با کشف *Sr24* تصور می‌شد که این ژن توانایی ایجاد مقاومت در برابر تعداد زیادی از جدایه‌های زنگ ساقه را دارد، ولی با ظهور واریانت‌های نژاد Ug99 مقاومت آن شکسته شد (Mago *et al*., 2010). نشانگرهای مختلفی برای آزمون ژنتیکی این ژن معرفی شده است. در این

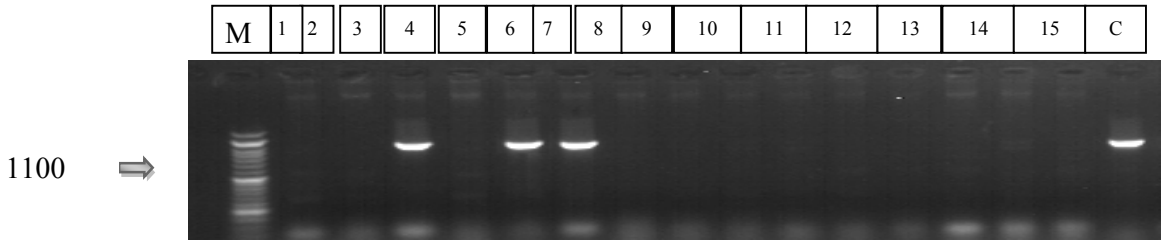
پژوهش از نشانگر مولکولی STS به‌نام *SR24# 12* استفاده شد که محصول PCR این نشانگر در صورت وجود ژن *Sr24* قطعه‌ای به طول ۵۰۰ جفت باز را بر روی ژل آگارز ۱/۵٪ نشان می‌دهد، ولی در نمونه‌های فاقد این ژن هیچ نواری تکثیر نمی‌گردد (Mago *et al*., 2005a). به عنوان شاهد مثبت از لاین حامل این ژن به‌نام LcSr24Ag موجود در مجموعه ارقام افتراقی زنگ ساقه استفاده گردید. آزمون ژنتیکی حضور و یا عدم حضور ژن *Sr24* در لاین‌های مورد بررسی حاکی از آن بود که ژن مقاومت *Sr24* در هیچ کدام از این لاین‌ها وجود ندارد. Mohammadi *et al.* (2013) در بررسی تعدادی از ارقام و لاین‌های ایرانی Mehrabi *et al.* (2014) با مطالعه لاین‌های پیشرفته ایرانی حضور این بلوک ژنی را در هیچ یک از ژنوتیپ‌ها شناسایی نکردند. Patpour *et al.* (2014b) نیز با بررسی ۱۰۳ رقم و لاین پیشرفته گندم ایران گزارش نمودند که در هیچ یک از ژنوتیپ‌های مورد مطالعه بلوک ژنی *Sr24/Lr24* وجود ندارد. Dadrezaei & Nazari (2015) در پژوهشی بر روی ۱۲۴ ژنوتیپ گندم ایران، وجود این بلوک ژنی را در یکی از ژنوتیپ‌ها (M-87-18) گزارش نمودند.

آزمون ژنتیکی جایگاه ژنی *Sr31/Yr9/Lr26/Pm8/Pm17*

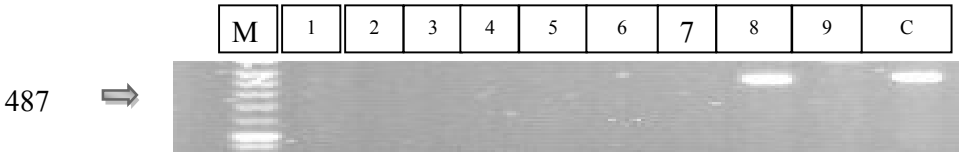
جایگاه ژنی *Sr31/Yr9/Lr26/Pm8/Pm17* مقاومت در مرحله گیاهچه‌ای را به صورت اختصاصی بروز داده و در یک جایگاه ژنی با ژن‌های مقاومت به زنگ زرد *Yr9*، مقاومت به زنگ قهوه‌ای *Lr26* و مقاومت به سفیدک پودری *Pm8* و *Pm17* پیوسته می‌باشد (Weng *et al*., 2007). این جایگاه ژنی روی کروموزوم 1BL گندم نان قرار دارد که به واسطه یک جابجایی از کروموزوم 1RS چاودار منشا گرفته است. بازوی کوتاه کروموزوم شماره ۱ چاودار (1RS) یکی از موفق‌ترین منابع خارجی استفاده شده برای بهبود ویژگی‌های گندم است و به‌طور گسترده‌ای در برنامه‌های بهنژادی مورد استفاده قرار گرفته است (McIntosh *et al*., 1995). نژاد Ug99 توانست بر اثر مؤثر ژن *Sr31* که مقاومت به زنگ ساقه را که به صورت طولانی مدت در دنیا از خود نشان داده بود، غلبه نماید. این ژن به‌جز نژاد Ug99 و واریانت‌های آن در مقابل بعضی دیگر از نژادهای مهم جهانی مانند TKTTF و TTTTF که از نژادهای غالب کشور در چند سال اخیر می‌باشند (Patpour *et al*., 2014a)، مقاومت مؤثری ایجاد می‌کند. برای تشخیص حضور آلل مؤثر *Sr31/Yr9/Lr26/Pm8/Pm17* از نشانگر مولکولی Iag95 استفاده گردید. این نشانگر STS با جایگاه ژنی مورد نظر دارای پیوستگی کاملی می‌باشد و حضور این جایگاه را با تکثیر قطعه‌ای به‌طول ۱۱۰۰ جفت باز نشان می‌دهد (Mago *et al*., 2005b). برای کنترل مثبت ژن *Sr31* از لاین Sr31/6*LMPG موجود در مجموعه ارقام افتراقی زنگ ساقه و همچنین از رقم MV17 (Bakhtiar *et al*., 2015) استفاده گردید. بررسی‌های انجام شده در این تحقیق نشان داد که بلوک ژنی مهم *Sr31/Yr9/Lr26/Pm8/Pm17* در لاین‌های گندم SEP49 و S-84-14 وجود دارد (شکل ۱). در سایر لاین‌های مورد بررسی آلل مقاومت مشاهده نشد. Mehrabi *et al.* (2014) از بین ۲۲ لاین پیشرفته و در دست معرفی ایرانی وجود ژن *Sr31* را فقط در لاین WS-89-7 توسط نشانگر مولکولی Iag95 گزارش کردند. Patpour *et al.* (2014b) با بررسی ۱۰۳ رقم و لاین پیشرفته گندم ایرانی توسط نشانگر مولکولی Iag95 حضور ژن *Sr31* را در ۹ رقم Atrak، Dez، Golestan، Bahar، Shiroudi، Rassool، Falat، Zagross، MV17 و ۱۰ لاین N-85-5، N-86-7، N-86-8، N-86-12، WS-85-8، WS-85-15، WS-85-16، M-85-16، M-85-17 و C-85-6 گزارش نمودند.

آزمون ژنتیکی جایگاه ژنی *Sr39 /Lr35*

ژن *Sr39* مقاومت گیاهچه‌ای را به صورت اختصاصی بروز داده و با ژن مقاومت به زنگ قهوه‌ای *Lr35* دارای پیوستگی می‌باشد. و بر روی کروموزوم 2B گندم قرار دارد. این جایگاه ژنی ابتدا از خویشاوند وحشی گندم *Aegilops speltoides* L. به رقم Thatcher انتقال داده شده است (Kerber & Dyck, 1990). برآورد شده است که *Sr39* باعث ایجاد مقاومت در برابر حدود ۱۲۰۰ جدایه عامل زنگ ساقه می‌شود. این ژن یکی از مهم‌ترین ژن‌هایی است که در برابر نژاد Ug99 و واریانت‌های جدید آن ایجاد مقاومت می‌نماید. برای تشخیص حضور آلل مؤثر *Sr39/Lr35* از نشانگر مولکولی *Sr39#22r* استفاده گردید. این نشانگر STS با جایگاه ژنی مورد نظر دارای پیوستگی کاملی بوده و حضور این بلوک ژنی را با تکثیر قطعه‌ای به‌طول ۴۸۷ جفت باز نشان می‌دهد (Mago *et al*., 2009). به‌عنوان شاهد مثبت از لاین حامل ژن *Sr39* به‌نام RL5711 موجود در مجموعه ارقام افتراقی زنگ ساقه استفاده گردید. بر اساس بررسی‌های انجام شده در این تحقیق بلوک ژنی *Sr39/Lr35* تنها در لاین SEP59 شناسایی شد و در سایر لاین‌های مورد بررسی آلل مقاومت مشاهده نشد (شکل ۲). در بررسی تعدادی از گندم‌های بومی استان گیلان موجود در بانک ژن گیاهی ملی ایران، حضور بلوک ژنی *Sr39/Lr35* در سه ژنوتیپ گزارش گردید (Khademian, 2012). بر اساس دو پژوهش انجام شده بر روی ۱۲۴ و ۱۰۳ ژنوتیپ گندم ایران، بلوک ژنی *Sr39/Lr35* در هیچ یک از ژنوتیپ‌های مورد بررسی شناسایی نشده است (Dadrezaei & Nazari, 2015; Patpour *et al*., 2014b).



شکل ۱. شناسایی بلوک ژنی *Sr31/Yr9/Lr26/Pm8/Pm17* در لاین‌های امید بخش گندم بر روی ژل آگارز ۱/۵٪ به صورت تشکیل نواری به طول ۱۱۰۰ جفت باز با استفاده از نشانگر اختصاصیIag95. ستون‌ها به‌ترتیب نشانگر وزنی DNA (M)، (1)S-90-5، (2) S-91-15، (3) S-84-14، (4) C-87-11، (5) SEP49، (6) MV17، (7) C-89-6، (8) C-88-4، (9) M-91-10، (10) N-91-15، (11) M-87-20، (12) N-92-9، (13) C-90-11، (14) C-91-4، (15) N-90-7 و شاهد مثبت (C) Sr31/6*LMPG می‌باشند.



شکل ۲. شناسایی بلوک ژنی *Sr39 /Lr35* در لاین‌های امید بخش گندم بر روی ژل آگارز ۱/۵ ٪ به صورت تشکیل نواری به طول ۴۸۷ جفت باز با استفاده از نشانگر اختصاصی *Sr39#22r*. ستون‌ها به‌ترتیب نشانگر وزنی DNA (M)، (1) C-87-11، (2) S-91-15، (3) S-84-14، (4) M-87-20، (5) N-92-9، (6) S-78-11، (7) N-92-12، (8) SEP59، (9) SEP49 و رقم شاهد مثبت (C) RL5711 می‌باشند.

نتیجه‌گیری کلی

ژن‌های *Sr22*، *Sr24* و *Sr39* علاوه بر اینکه نسبت به نژاد Ug99 مقاومت مؤثری ایجاد می‌کنند تاکنون برای این ژن‌ها پرآزاری در کشور گزارش نشده است (Afshari *et al*., 2015). ژن *Sr31* نیز فقط در مقابل نژاد Ug99 پرآزار است ولی در برابر سایر نژادهای زنگ ساقه مقاومت گیاهچه‌ای مؤثری ایجاد می‌کند.

نژاد Ug99 در سال‌های اخیر در استان‌های جنوبی کشور گزارش شده است (Afshari *et al*., 2015; Patpour, 2013). در صورت گسترش نژاد Ug99 در سطح کشور این احتمال وجود دارد که اپیدمی‌های شدیدی ایجاد خواهد شد و امنیت غذایی به خطر خواهد افتاد. به دلیل اینکه نتایج به‌دست آمده از این تحقیق نشان می‌دهد که فراوانی حضور ژن‌های مقاومت مؤثر مورد بررسی در ارقام در دست معرفی گندم کشور پایین می‌باشد و نتایج سایر پژوهش‌های دیگر نیز بیانگر همین مطلب می‌باشد، بنابراین لازم است تا با پایش مولکولی ژن‌های مقاومت به زنگ ساقه و زنگ قهوه‌ای، نسبت به شناسایی و استفاده از ژنوتیپ‌های مقاوم و منابع مقاومت به این بیماری‌ها در برنامه‌های به نژادی گندم اقدام شده و فراوانی حضور این ژن‌ها در ژرم‌پلاسم گندم کشور با هدف تولید و معرفی ارقام مقاوم و کنترل غیر شیمیایی زنگ‌ها افزایش یابد.

سپاسگزاری

این تحقیق به عنوان قسمتی از پایان‌نامه دکترای نگارنده اول در بخش تحقیقات غلات مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج اجرا گردید. بدین وسیله از آقایان و خانم‌ها مهندسین محسن سرهنگی، اسمعیل ابراهیمی، امیر کبیری، زهره حسن بیات و الهام الاحسنی که در انجام این پژوهش مشارکت داشتند، تشکر و قدردانی می‌گردد.

REFERENCES

Afshari F, Aghaee M, Jalal Kamali MR, Roohparvar R, Malihipour A, Khodarahmi M, Ebrahimnejad Sh, Aghnum R, Chaichi M, Dadrezaei ST, Dalvand M, Dehghan MA, Zakeri AK, Shahbazi K, Safari SA, Tabatabaei N, Atahoseini M, Nabati E, Hooshyar R, Yasaei M, Nasrollahi M, Mehrabi R, Ghaffary T, Hashemi M, Patpour M, Bayat Z (2015) Surveillance and *Pgt* race analysis in Iran, 2014. Borlaug Global Rust Initiative, 123pp.

Bakhtiar F, Farshadfar E, Aghaee Sarbarzeh M, Ghazvini H, Afshari F (2015) Study on the presence of yellow and stem rust resistance genes in doubled haploid lines of bread wheat using molecular markers. Crop Biotechnology, 10: 41-56.

Chawla HS (2002) Introduction to plant biotechnology, Pant University of Agriculture and Technology, Pant Nagar, India 140pp.

Chen XM (2005) Epidemiology and control of strip rust *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* on wheat. Plant pathology, 27: 314-337.

Dadrezaei ST, Nazari K (2015) Detection of wheat rust resistance genes in some Iranian wheat genotypes by molecular markers. Seed and Plant Improvement Journal, 31: 163-187.

Francia E, Tacconi G, Crosatti C, Barabaschi D, Bulgarelli D, Dall'Aglio E, Valè G (2005) Marker assisted selection in crop plants. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 82: 317-342.

Jin Y, Singh RP (2006) Resistance to recent eastern African stem rust isolates with virulence to *Sr31* in US wheat. Plant Disease, 90: 476-480.

Jin Y, Szabo LJ, Carson M (2010) Century-old mystery of *Puccinia striiformis* life history solved with the

identification of *Berberis* as an alternate host. Phytopathology, 100: 432-435.

Jin Y, Szabo LJ, Pretorius ZA, Singh RP, Ward R, Fetch T (2008) Detection of virulence to resistance gene *Sr24* within race TTKS of *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*. Plant Disease, 92: 923-926.

Huerta-Espino J, Singh RP, Germán S, McCallum BD, Park RF, Chen WQ, Bhardwaj SC, Goyeau H (2011) Global status of wheat leaf rust caused by *Puccinia triticina*. Euphytica, 179: 143-160.

Kerber ER, Dyck PL (1973) Inheritance of stem rust resistance transferred from diploid wheat (*Triticum monococcum*) to tetraploid and hexaploid wheat and chromosome location of the gene involved. Canadian Journal of Genetics and Cytology, 15: 397-409.

Kerber ER, Dyck PL (1990) Transfer to hexaploid wheat of linked genes for adult-plant leaf rust and seedling stem rust resistance from an amphiploid of *Aegilops speltoides* X *Triticum monococcum*. Genome, 33: 530-537.

Khademian B (2012) Identification of wheat stem rust resistance genes in Gilan native genotypes in National Plant Gene Bank of Iran. M.Sc. Thesis, Faculty of Agriculture, Payam Noor University, Tehran, Iran, 140 PP (in Persian).

Khan R, Bariana H, Dholakia B, Naik S, Lagu M, Rathjen A, Bhavani S, Gupta V (2005) Molecular mapping of stem and leaf rust resistance in wheat. Theoretical and Applied Genetics, 111: 846-850.

Kolmer JA (2005) Tracking wheat rust on a continental scale. Current Opinions in Plant Biology, 8: 441-449.

Kolmer JA, Jin Y, Long DL (2007) Wheat leaf and stem rust in the United States. Australian Journal of Agricultural Research, 58: 631-638.

Li TY, Cao YY, Wu XX, Xu XF, Wang WL (2016) Seedling resistance to stem rust and molecular marker analysis of resistance genes in wheat cultivars of Yunnan, China. PLOS ONE, 11: 1-14.

Mago R, Bariana HS, Dundas IS, Spielmeyer W, Lawrence GJ, Pryor AJ, Ellis JG (2005a) Development of PCR markers for the selection of wheat stem rust resistance genes *Sr24* and *Sr26* in diverse wheat germplasm. Theoretical and Applied Genetics, 111(3): 496-504.

Mago R, Brown-Guedira G, Dreisigacker S, Breen J, Jin Y, Singh RP, Appels R, Lagudah ES, Ellis J, Spielmeyer W (2010) An accurate DNA marker assay for stem rust resistance gene. Theoretical and Applied Genetics, 122: 735-744.

Mago R, Miah H, Lawrence GJ, Wellings CR, Spielmeyer W, Bariana HS, McIntosh RA, Pryor AJ, Ellis JG (2005b) High-resolution mapping and mutation analysis separate the rust resistance genes *Sr31*, *Lr26* and *Yr9* on the short arm of rye chromosome 1. Theoretical and Applied Genetics, 112(1): 41-50.

Mago R, Zhang P, Bariana HS, Verlin DC, Bansal UK, Ellis JG, Dundas IS (2009) Development of wheat lines carrying stem rust resistance gene *Sr39* with reduced Aegilops speltoides chromatin and simple PCR markers for marker-assisted selection. Theoretical and applied genetics, 119(8): 1441-1450.

McIntosh RA, Wellings CR, Park RF (1995) Wheat Rusts: An Atlas of Resistance Genes. Australia: CSIRO. Publications, Victoria, Australia. 200 pp.

McIntosh RA, Yamazaki Y, Devos KM, Dubcovsky J, Rogers J, Appels R (2012) Catalogue of Gene Symbols for Wheat. 2012. Supplement. KOMUGI Integrated Wheat Science Database. Available on line: http://www.shigen.nig.ac.jp/wheat/komugi/genes/symbolclasslist.jsp.

Mehrabi R, Sarhangi M, Ala- Hassani E, Ghazvini H, Afshari F (2014) Study on the presence of resistance gene loci

to yellow, stem and leaf rust diseases using molecular markers in pre-released wheat lines. Journal of Crop Biotechnology, 7: 49-58.

Mohammadi M, Torkamaneh D, Patpour M (2013) Seedling stage resistance of Iranian bread wheat germplasm to race Ug99 of *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*. Plant Disease, 97: 387-392.

Nazari K, Mafi M, Yahyaoui A, Singh RP, Park RP (2009) Detection of wheat stem rust (*Puccinia graminis* f. sp. *tritici*) race TTKSK (Ug99) in Iran. Plant Disease, 93: 317.

Olson EL, Brown-Guedira G, Marshall D, Stack E, Bowden RL, Jin Y, Rouse M, Pumphrey MO (2010) Development of wheat lines having a small introgressed segment carrying stem rust resistance gene *Sr22*. Crop science, 50(5): 1823-1830.

Patpour M (2013) Study on genetic and virulence diversity of *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* populations in Iran and stem rust resistance genes in wheat. Ph.D. Thesis, Agricultural Biotechnology, National Institute of Genetic Engineering and Biotechnology, Tehran, Iran, 165pp.

Patpour M, Hovmøller MS, Justesen AF, Newcomb M, Olivera P, Jin Y, Szabo LJ, Hodson D, Shahin AA, Wanyera R, Habarurema I, Wobibi S (2016) Emergence of virulence to *SrTmp* in the Ug99 Race Group of Wheat Stem Rust, *Puccinia graminis* f. sp. *tritici,* in Africa. Plant Disease, 100: 522.

Patpour M, Nazari K, Ogbonnaya F, Alavi SM, Mousavi A (2014a) Detection of resistance sources to Iranian prevalent stem rust races in commercial wheat cultivars. Seed and Plant Improvement Journal, 30: 133-154.

Patpour M, Nazari K, Ogbonnaya F, Alavi SM, Mousavi A (2014b) Phenotypic and molecular characterization of resistance to stem rust in wheat cultivars and advanced breeding lines from Iran and Syria. Crop Breeding Journal, 4: 1-14.

Pretorius ZA, Singh RP, Wagoire WW, Payne TS (2000) Detection of virulence to wheat stem rust resistance gene *Sr31* in *Puccinia graminis*. f. sp. *tritici* in Uganda. Plant Disease, 48: 203.

Saghai-Maroof MA, Soliman KM, Jorgensen RA, Allard RW (1984) Ribosomal DNA spacer-length polymorphisms in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics. Proceedings of the National Academy of Sciences. U.S.A. 81: 8014-8019.

Singh RP, Hodson DP, Huerta-Espino J, Jin Y, Bhavani S, Njau P, Herrera-Foessel S, Singh PK, Singh S, Govindan V (2011) The emergence of Ug99 races of the stem rust fungus is a threat to world wheat production. Annual Review of Phytopathology, 49: 465-481.

Singh RP, Hodson DP, Jin Y, Huerta-Espino J, Kinyua MG, Wanyera R, Njau P, Ward RW (2006) Current status, likely migration and strategies to mitigate the threat to wheat production from race Ug99 (TTKS) of stem rust pathogen. CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources, 54: 1-13.

Singh RP, Hodson DP, Jin Y, Lagudah ES, Ayliffe MA, Bhavani S, Rouse MN, Pretorius ZA, Szabo LJ, Huerta-Espino J, Basnet BR, Lan C, Hovmøller, MS (2015) Emergence and spread of new races of wheat stem rust fungus: Continued threat to food security and prospects of genetic control. Phytopathology, 105: 872-884.

Smith EL, Schlehuber AM, Young HC, Edwards LH (1968) Registration of agent wheat. Crop Science, 8: 511-512.

Weng Y, Azhaguvel P, Devkota R, Rudd J (2007) PCR-based markers for detection of different sources of 1AL.1RS and 1BL.1RS wheat-rye translocations in wheat background. Plant Breeding, 126: 482-486.