



ارزیابی مقاومت ژنوتیپ‌های گندم نسبت به بیماری زنگ ساقه با استفاده از تجزیه بای پلات (GGE biplot)

علی عمرانی^{۱*} و رامین روح‌پرور^۲

۱- *نویسنده مسوول: استادیار، بخش علوم زراعی و باغی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی اردبیل، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج، مغان، ایران (a.omrani@areeo.ac.ir)

۲- استادیار بخش تحقیقات علوم زراعی و باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی آذربایجان شرقی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج، تبریز، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۱/۰۴

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۹/۱۹

چکیده

بیماری قارچی زنگ سیاه یا ساقه گندم با عامل *Puccinia graminis f. sp. tritici* (Pgt) به دلیل قابلیت از بین بردن کامل محصول در مزارع، تهدیدی بسیار جدی برای امنیت غذایی در سراسر جهان به‌شمار می‌آید. کارآمدترین روش کنترل این بیماری شناسایی ژن‌های مقاومت مؤثر نسبت به بیمارگر در ارقام مقاوم و ایجاد مقاومت‌های ژنتیکی پایدار از طریق هرمی-سازی ژن‌های مقاومت مؤثر در ژنوتیپ‌های مطلوب گندم می‌باشد. به‌منظور شناسایی منابع مقاومت جدید، بررسی واکنش مقاومت ۳۰ ژنوتیپ گندم همراه با شاهد حساس موروکو (Morocco) با شش نژاد (TTRTF، TTTTF، TKTTF، PKRTF، PKSTF و TKSTC) با دارا بودن الگوی بیماری‌زایی متفاوت در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار به‌صورت آزمایش‌های جداگانه انجام شد. نتایج فنوتایپینگ و تجزیه واریانس، حاکی از تنوع فنوتیپی بالا برای اجزای مقاومت اندازه‌گیری شده (تیپ آلودگی و دوره نهفتگی) در بین ژنوتیپ‌های گندم بود. براساس تجزیه خوشه‌ای، ژنوتیپ‌های گندم از نظر اجزای مقاومت مذکور در سه گروه اصلی مقاوم، حساس و نیمه مقاوم تا نیمه حساس قرار گرفتند. از بین ژنوتیپ‌های گندم مورد مطالعه ۱۱ ژنوتیپ (۳۵ درصد) نسبت به تمام نژادها واکنش حساسیت، چهار ژنوتیپ (۱۳ درصد) شامل (مهرگان (G1)، (G2) 2EBWYT-20، (G3) 2EBWYT-21 و (G17) WS-86-13)) نسبت به تمام نژادها واکنش مقاومت و ۱۶ ژنوتیپ (۵۲ درصد) نیز واکنش نیمه مقاومت تا نیمه حساسیت (واکنش اختصاصی) نشان دادند. نتایج تجزیه بای پلات ژنوتیپ در محیط/نژاد (GGE biplot) حاکی از آن بود که ژنوتیپ G17 مقاوم‌ترین ژنوتیپ با روند پاسخ‌دهی یکنواخت نسبت به نژادهای مورد مطالعه بود. از ژنوتیپ‌های دارای درجات مختلف مقاومت به زنگ ساقه در این تحقیق می‌توان به‌عنوان منابع مقاومت برای تولید مواد پیش‌اصلاحی با پایه ژنتیکی گسترده مقاومت برای تهیه ارقام مقاوم جدید و پایدار گندم استفاده نمود.

کلید واژه‌ها: تجزیه خوشه‌ای، تیپ آلودگی، دوره نهفتگی و منابع مقاومت

دبیر تخصصی: دکتر سعید عباسی

مقدمه

گندم^۱ مهم‌ترین محصول زراعی و راهبردی دنیا در تامین بخش عمده انرژی مصرفی روزانه مردم جهان می‌باشد. دارا بودن ارزش غذایی بالا، ارزان و در دسترس بودن و سازگار بودن با سیستم گوارش انسان، کیفیت مناسب برای نانوبی و سایر خصوصیات خوب دیگر باعث شده این گیاه در برنامه غذایی حدود ۴/۶ میلیارد نفر جای بگیرد (FAO, 2021). سطح زیر کشت گندم در عرصه جهانی حدود ۲۱۸ میلیون هکتار است که نتیجه آن سالانه ۷۶۵ میلیون تن محصول دانه است. تولید گندم در سال‌های اخیر تا حدودی متغیر و دارای نوسان بوده، میزان تولید گندم در جهان طی سال‌های ۲۰۰۵ تا ۲۰۲۰ میلادی بین ۵۲۰ تا ۷۶۶ میلیون تن متغیر بوده است (FAO, 2021). طبق آمارها نرخ رشد تولید گندم در دوره‌های مختلف افزایش یافته و این میزان افزایش تولید تا حد زیادی مرهون افزایش عملکرد در واحد سطح بوده است.

براساس گزارش وزارت جهاد کشاورزی، میزان تولید کل غلات کشور حدود ۲۰/۵ میلیون تن که معادل ۲۵/۲ درصد از کل محصولات کشاورزی تولید شده می‌باشد. گندم هم از نظر سطح زیرکشت و هم از نظر تولید، رتبه اول را در بین محصولات زراعی کشور را به خود اختصاص داده است. سطح برداشت گندم در سال زراعی ۱۴۰۰ حدود ۶/۷ میلیون هکتار و میزان تولید کل گندم کشور نیز حدود ۱۲ میلیون تن برآورد شده است (Ahmadi et al., 2021).

با وجود نیاز اساسی به افزایش تولید گندم در سطح جهان، اما هر ساله تولید گندم در جهان با مشکلات متعددی از جمله انواع تنش‌های زنده و غیرزنده روبرو می‌باشد. تعداد زیادی از بیماری‌ها در سطح جهان (اعم از عوامل قارچی، باکتریایی، ویروسی و نماتد) سبب کاهش عملکرد و کیفیت محصول گندم می‌شوند. در برخی از منابع میزان خسارت عوامل مختلف بیماری‌زا به محصول گندم بین ۱۰ تا ۱۵ درصد از تولید کل گزارش شده است (Agrios, 2005).

از میان بیماری‌های قارچی، زنگ ساقه یا ساقه با عامل *Puccinia graminis f. sp. tritici* (Pgt) مخرب‌ترین بیماری گندم در سراسر جهان شناخته می‌شود و در ده‌های اخیر چالش بسیار جدی تولید گندم بوده که در زمان‌های وقوع همه‌گیری میزان خسارت این بیماری تا ۱۰۰ درصد محصول در مزرعه نیز می‌رسد (Singh et al., 2015; Olivera Firpo et al., 2022). زنگ ساقه از دامنه میزبانی بسیار گسترده برخوردار بوده و گونه‌های بسیاری از خانواده گرامینه (حدود ۳۶۵ گونه گرامینه^۲) از میزبان‌های قارچ *Pgt* محسوب می‌شوند (Szabo et al., 2014).

وجود میزبان‌های تناوبی برای تولید مثل جنسی و نوترکیبی‌های ژنی جدید برای قارچ عامل بیماری ضروری بوده و نتیجه نوترکیبی‌های ژنی منجر به ظهور نژادهای جدید عامل بیماری می‌شود. زنگ ساقه از نژادهای فیزیولوژیک متعدد (بین ۲۸۰ تا ۳۰۰ نژاد) با الگوی بیماری‌زایی متفاوت برخوردار می‌باشد (Berlin et al., 2012). خسارت در یک بازه زمانی کوتاه در اواخر رشد محصول ایجاد می‌گردد (McIntosh et al., 1995). علایم بیماری زنگ ساقه (جوش‌های قهوه‌ای تیره، کشیده حاوی یوردینیوسپورها) در تمامی قسمت‌های هوایی گندم ظاهر می‌گردد (Singh et al., 2015). همه‌گیری‌های مکرر زنگ ساقه در سال‌های گذشته در مناطق مختلف جهان گزارش شده است. همه‌گیری این بیماری در جنوب امریکا (German et al., 2007) هند و استرالیا (Park, 2007) در قاره آفریقا به کرات گزارش شده است (Pretorius et al., 2007). همه‌گیری شدید این بیماری در قاره آفریقا سال ۲۰۱۴ در جنوب اتیوپی به وقوع پیوست و میزان خسارت به محصول گندم در حد نابودی کامل بود (Olivera et al., 2015). در سال‌های اخیر گسترش زنگ ساقه در اروپا به‌ویژه در انگلستان و ایتالیا بسیار چشم‌گیر بوده و بیم آن وجود دارد که همه‌گیری‌های وسیع زنگ ساقه در این قاره به‌ویژه در کشورهای عمده تولید کننده گندم رخ دهد. طبق بررسی‌ها منابع مقاومت در بین ژنوتیپ‌های

شدن مقاومت ایجاد شده در ارقام مقاوم فعلی می‌شوند. بنابراین اصولی‌ترین روش تولید ارقام مقاوم باید با توجه به نژادهای موجود زنگ‌ها در مناطق مختلف تهیه شوند (Szabo et al., 2014).

بیش از ۶۰ ژن اصلی مقاومت به زنگ ساقه در گندم شناسایی و معرفی شده‌اند که به استثنای چند ژن مقاومت مثل *Sr55*، *Sr56*، *Sr57* و *Sr58* (ژن‌های مقاومت در مرحله گیاه بالغ) مابقی ژن‌های مقاومت اختصاص به نژاد (ژن‌های مقاومت گیاهچه‌ای) هستند (Singh et al., 2015; 2016; Huerta-Espino et al., 2020).

در ایران، عوامل جغرافیایی و شرایط آب و هوایی تاثیرگذار در چرخه زندگی زنگ‌های گندم در اکثر مناطق فراهم بوده و هر سه زنگ فعالیت گسترده بر روی میزبان اصلی خود گندم در کشور دارند. در ایران تنوع نژادی هر سه نوع زنگ گندم بالا بوده و دلیل این امر می‌تواند وجود میزبان‌های تناوبی زنگ‌ها و شرایط جغرافیایی و محیطی مناسب برای گسترش زنگ‌ها باشد. اخیراً نیز نژادهای جدید *Pgt* به نام‌های *TTRTF* و *TTTKK* برای اولین بار در ایران شناسایی شده است (Omran et al., 2021; 2020). مقاومت در اکثر ژنوتیپ‌های مقاوم گندم در کشور به بیماری زنگ ساقه تک‌ژنی بوده و بسیار آسیب‌پذیر هستند (Patpour et al., 2014; Dadrezaei et al., 2017; Nazari et al., 2017). بنابراین نیاز به شناسایی منابع مقاومت جدید و ژن‌های مقاومت مؤثر در آنها به منظور ایجاد مقاومت‌های پایدار چندژنی نسبت به نژادهای مختلف بیمارگر زنگ ساقه که لازمه آن داشتن اطلاعات تکمیلی در مورد الگوی بیماری‌زایی نژادهای بیمارگر موجود در کشور است، بسیار ضروری می‌باشند.

یکی از روش‌های آماری که می‌توان از آن برای گروه-بندی محیط‌ها (نژادها) از لحاظ پاسخی که ژنوتیپ‌ها در مقابل نژادها ایجاد می‌کنند و همچنین شناسایی ژنوتیپ‌های مقاوم (مناسب) برای هر یک از نژادها و روابط برقرار در بین نژادها و ژنوتیپ‌ها در برنامه‌های به‌نژادی گندم بهره برد،

گندم موجود در اروپا که دارای مقاومت مؤثر نسبت به نژادهای جدید *Pgt* باشند، محدود می‌باشد (Lewis et al., 2018). در ایران تاکنون همه‌گیری شدید زنگ ساقه دو بار گزارش شده است، اولین همه‌گیری در سال ۱۳۴۵ در مناطق شمالی و شمال‌غرب (Sharif et al., 1970) و دومین همه‌گیری در سال ۱۳۵۵، در نقاط جنوبی و جنوب‌شرقی ایران گزارش شده است (Bamdadian & Torabi, 1999).

برای کنترل این بیماری می‌توان به روش‌های زراعی از جمله تغییر زمان کاشت، شکستن چرخه زندگی قارچ عامل بیماری در مراحل حساس زندگی مثل شخم زدن و زیر خاک نمودن بقایای محصول قبلی و علف‌های هرز اطراف مزرعه، حذف کردن درختچه‌های زرشک (حذف میزبان‌های تناوبی) اشاره نمود. کنترل بیمارگرهای زنگ‌های گندم توسط سموم قارچ‌کش به‌ویژه قارچ‌کش‌های سیستمیک مانند گروه تریازول می‌تواند مؤثر باشد اما به دلیل مشکلات زیست محیطی، عدم کنترل کامل بیماری با تعداد محدود سمپاشی و بالا بودن هزینه-های هر بار سمپاشی در سطوح وسیع معمولاً توصیه نمی‌شود؛ مگر زمانی که بیماری زنگ به صورت همه‌گیری درآمده باشد. مطمئن‌ترین، کارآمدترین و سالم‌ترین روش کنترل این بیماری استفاده از ارقام مقاوم (مقاومت ژنتیکی) است (McCallum et al., 2016). بررسی ژنتیک بیماری‌زایی قارچ‌های عامل زنگ-های گندم و شناسایی منابع مقاومت و تعیین ژن‌های مقاومت در میزبان و انتقال آن‌ها به ارقام مطلوب و هرمی نمودن این ژن‌ها در ژرم‌پلاسما سازگار به منظور تولید ارقام مقاوم پایدار از راهکارهای اصلی برای کنترل نژادهای جدید زنگ‌های گندم می‌باشد (Singh et al., 2015; McCallum et al., 2016).

الگوی بیماری‌زایی نژادهای زنگ‌های گندم به‌ویژه زنگ ساقه به دلیل انعطاف تغییرپذیری ژنتیکی بالا دائماً در حال تغییر می‌باشند. دلیل این امر سپری نمودن چرخه جنسی (نوترکیبی-های ژنی) روی میزبان‌های تناوبی است که بیمارگر را قادر می‌سازد پس از مدت کوتاهی (معمولاً ۳ تا ۵ سال) نژادهای جدیدی (یا واریانت‌های جدید) ایجاد کرده و موجب شکسته

از مجموعه ۲۰ تایی ژنوتیپ‌های استاندارد و افتراقی آمریکای شمالی دریافتی از مرکز بین المللی سیمیت^۳ و مجموعه ژنوتیپ‌های افتراقی تکمیلی استفاده شد. تعیین نژاد و فرمول الگوی بیماری‌زایی پاتوتیپ‌های مورد مطالعه براساس روش جین و همکاران (Jin et al., 2008) تعیین گردید. برای غربال نمودن مقاومت گیاهچه‌ای ۳۰ ژنوتیپ گندم که هر یک دارای خصوصیات مطلوبی بودند به همراه شاهد حساس موروکو^۴ نسبت به شش پاتوتیپ تعیین نژاد شده قارچ *Pgt* با اندازه‌گیری اجزای مقاومت شامل تیپ آلودگی و دوره نهفتگی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار مورد بررسی قرار گرفت.

کاشت ژنوتیپ‌های گندم (مجموعه ژنوتیپ‌های استاندارد و افتراقی زنگ ساقه و ژنوتیپ‌های گندم مورد بررسی) در مخلوط خاک مناسب مزرعه و پیت‌ماس به نسبت ۲:۱ داخل گلدان‌های به قطر ۱۰ سانتی‌متر انجام شد و گیاهچه‌های هفت روزه‌ی آنها که برگ اول کامل و برگ دوم تازه سبز شده بود (مرحله ۱۲ از مقیاس زادوکس و همکاران (Zadoks et al., 1974)) با زادمایه‌ی نژادهای قارچ بیمارگر مایه‌زنی گردید. زادمایه بیمارگر بدین صورت تولید شد که هر یک از پاتوتیپ‌های قارچ به‌طور جداگانه پس از جداسازی جوش‌های زنگ ساقه، خالص‌سازی از طریق تکثیر تک‌جوش، به‌طور جداگانه با استفاده از سوسپانسیون یوردینوسپور خالص در روغن سالترو^۵ ۱۷۰ (طبق دستورالعمل استاندارد ۱/۵ میلی‌گرم یوردینوسپور به ازای هر میلی‌لیتر از روغن سالترو) بر روی گیاهچه‌ها مایه‌زنی شدند (در هر آزمایش یک نژاد از عامل بیماری برای مایه‌زنی ژنوتیپ‌ها استفاده شد). برای جلوگیری از اختلاط نژادها پس از هر مایه‌زنی محوطه اتاق و ابزارهای کار با الکل ۷۰ درصد و آب ضد عفونی شد (Mohammadi et al., 2013).

روش بای پلات بر مبنای مدل‌های چند متغیره بای پلات ژنوتیپ در محیط/نژاد^۱ (اثر اصلی ژنوتیپ و برهمکنش ژنوتیپ و محیط) می‌باشد. مدل -GGE- بای پلات که توسط یان و همکاران ابداع گردید، به دلیل آسان بودن و با دقت بالا در انجام آنالیزها و ارزیابی‌ها، مورد توجه به‌نژادگران واقع شده است (Yan et al., 2000). دهقانی و همکاران (Dehghani et al., 2013) برای گروه‌بندی F1 های حاصل از تلاقی پنج رقم گندم در قالب طرح دیالال از لحاظ ترکیب‌پذیری برای مقاومت بیشتر به زنگ زرد از روش تجزیه بای پلات بر مبنای مدل‌های GGE بای پلات استفاده نمودند.

در تحقیق حاضر، برخی از ژنوتیپ‌های گندم که از لحاظ صفات زراعی (عملکرد، طول سنبله، قطر ساقه، طول برگ پرچم، ارتفاع، تعداد سنبله در مترمربع و وزن هزاردانه) مطلوب بودند به‌منظور شناسایی منابع مقاومت جدید در آنها نسبت به نژادهای متفاوت بیمارگر زنگ ساقه، مورد بررسی قرار گرفتند. برای شناسایی مقاوم‌ترین ژنوتیپ و روابط موجود بین ژنوتیپ‌ها و نژادها از روش بای پلات بر مبنای مدل‌های GGE بای پلات نیز استفاده گردید.

مواد و روش‌ها

آزمایش‌های تعیین نژاد و ارزیابی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه

تمامی آزمایش‌های مربوط به این تحقیق در گلخانه زنگ ساقه بخش تحقیقات غلات واحد پاتولوژی موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج انجام شد. به‌منظور تعیین الگوی پرآزاری^۲ روی ژن‌های مقاومت زنگ ساقه و تعیین نژاد شش جدایه زنگ ساقه جمع‌آوری شده از مناطق مختلف کشور (شامل اقلیم‌های سرد، معتدل و گرم و مرطوب شمال) که به‌صورت تک‌جوش تکثیر شده بودند،

4- Morocco
5- Saltrol oil

1- GGE biplot
2- Virulence
3- CIMMYT

نسخه ۹/۳، برای آزمون نرمالیتی از نرم افزار Minitab نسخه ۱۶، برای تعیین الگو پذیری تنوع ژنتیکی در پاسخ ژنوتیپ‌ها نسبت به نژادها با استفاده از اجزای مقاومت از تجزیه خوشه-ای استفاده شد. برای تجزیه خوشه‌ای از نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ و روش وارد^۳ بر پایه فاصله اقلیدسی^۴ استفاده گردید.

جهت تجزیه داده‌های آزمایش به روش بای‌پلات ژنوتیپ در محیط/نژاد (GGE بای‌پلات) از نرم‌افزار GGE biplot بر مبنای سه الگوی: بررسی روابط بین محیط‌ها، تعیین بهترین ژنوتیپ در هر مکان، رتبه‌بندی ژنوتیپ‌ها بر اساس ژنوتیپ ایده‌آل استفاده شد. در این تحقیق برای شناسایی روابط موجود بین ژنوتیپ‌ها و نژادها مورد استفاده قرار گرفت. این مدل بر اساس تجزیه به مقادیر منفرد طبق رابطه زیر انجام شد.

$$Y_{ij} - \mu - \beta_j = \lambda_1 \xi_{i1} \eta_{j1} + \lambda_2 \xi_{i2} \eta_{j2} + \varepsilon_{ij}$$

در این رابطه Y_{ij} میانگین ژنوتیپ i ام در محیط j ام، μ میانگین کل ژنوتیپ‌ها، β_j اثر اصلی محیط j ام، λ_1 و λ_2 مقادیر ویژه برای اولین و دومین مولفه، ξ_{i1} و ξ_{i2} بردارهای ویژه ژنوتیپی، η_{j1} و η_{j2} بردارهای محیطی مولفه اول و دوم و ε_{ij} مقدار باقیمانده برای ژنوتیپ i ام در محیط j ام هستند. مزیتی که این روش سنجش دارد این است که PC1 و PC2 واحد یکسانی دارند (Yan et al., 2000).

نتایج

تعیین نژاد و شناسایی پرآزاری (Virulence) جدایه‌های *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* بر روی ژن‌های مقاومت *Sr*

با توجه به ارزش‌های تعیین شده برای تیپ آلودگی ژنوتیپ‌های استاندارد و افتراقی بین‌المللی زنگ ساقه مورد استفاده بر اساس مقیاس تغییر یافته صفر تا چهار مک‌این‌تاش و همکاران (McIntosh et al., 1995)، جدایه مربوط به منطقه

پس از مایه‌زنی، گیاهچه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در اتاق کاملاً تاریک با دمای ۱۸ درجه سلسیوس و شرایط رطوبتی در حد اشباع قرار گرفتند. سپس گیاهچه‌های مایه‌زنی شده به گلخانه با دمای ۲۴ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۶۵ درصد با دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی (با شدت نوری ۱۶۰۰۰ لوکس) و ۸ ساعت تاریکی انتقال داده شدند. برای اندازه‌گیری دوره نهفتگی^۱ (تعداد روز از زمان مایه‌زنی تا ظهور اولین جوش) برای ژنوتیپ‌های گندم مورد مطالعه هفت روز بعد از مایه‌زنی، تمامی برگ‌های گیاهچه‌ها بررسی و به وسیله حلقه پلاستیکی گیاهچه‌هایی که اولین جوش روی برگ آن ظاهر شده بود، علامت گذاری شدند. از رنگ‌های مختلف حلقه‌های پلاستیکی برای روزهای متمادی استفاده شد. سپس تعداد روز از زمان مایه‌زنی تا مشاهده-ی اولین جوش بر روی برگ اول و دوم تک تک بوته‌ها در هر سه تکرار یادداشت برداری شد و میانگین سه تکرار برای هر یک از ژنوتیپ‌ها در نظر گرفته شد.

برای ثبت تیپ آلودگی^۲ کلیه ژنوتیپ‌ها، ۱۴ روز پس از مایه‌زنی با یادداشت برداری از واکنش گیاهچه‌ها نسبت به نژادهای زنگ ساقه با استفاده از مقیاس (تغییر یافته) صفر تا چهار مک‌این‌تاش و همکاران (McIntosh et al., 1995) انجام گرفت. هر شش پاتوتیپ به‌طور جداگانه و در شرایط کاملاً یکسان گلخانه انجام یافت.

برای متمایز شدن کلاس‌های فنوتیپی مختلف موجود در مقیاس تغییر یافته مذکور هر یک از کلاس‌ها رتبه‌بندی گردید (جدول ۱) و میانگین سه تکرار برای هر یک از ژنوتیپ‌ها در نظر گرفته شد. لازم به ذکر است مشاهدات مربوط به تکرارهای که با سایر تکرارها تفاوت زیادی داشت حذف گردید و دوباره مایه‌زنی و یادداشت برداری اجزای مقاومت مذکور صورت گرفت.

تجزیه داده‌ها

جهت آزمون عدم تجانس به روش بارتلت و تجزیه واریانس مرکب طرح آزمایشی به کار رفته از نرم افزار SAS

3- Ward

4- Euclidean distance

1- Latent period

2- Infection type

مقاومت ژنوتیپ‌های گندم نسبت به زنگ ساقه در مرحله گیاهچه‌ای

برای واکاوی داده‌ها به علت انجام آزمایش‌ها در زمان‌های مختلف (خالص‌سازی و تکثیر جداگانه پاتوتیپ‌ها) از تجزیه واریانس مرکب استفاده شد. همگن بودن خطا در آزمایش‌ها با استفاده از آزمون بارتلت، انجام تجزیه واریانس مرکب را بلامانع نشان داد. نتایج تجزیه واریانس مرکب تیپ آلودگی و دوره نهفتگی ژنوتیپ‌های گندم (جدول ۳) نشان داد که در بین ژنوتیپ‌ها تفاوت‌های ژنتیکی برای تیپ آلودگی و دوره نهفتگی در سطح احتمال یک درصد وجود دارد. معنی دار شدن اثر نژاد تأیید می‌کند که نژادها متفاوت از یکدیگر از لحاظ بیماری‌زایی بودند و یا به عبارت دیگر بیانگر تنوع ژنتیکی در بین نژادها می‌باشد.

گرگان با کد 94-1 (اقلیم گرم و مرطوب شمال) به عنوان نژاد TKTTF، جدایه‌ی مربوط به منطقه بروجرد با کد 94-8 (اقلیم معتدل) به عنوان نژاد TTTTF، جدایه‌ی متعلق به منطقه خسروشهر-ایلخچی با کد 94-27 (اقلیم سرد) به عنوان نژاد TKSTC، جدایه‌ی مربوط به منطقه اشنویه-نقده با کد 94-31 (اقلیم سرد) به عنوان نژاد TTRTF و جدایه‌های مربوط به منطقه بجنورد با کدهای 94-43 و 94-48-1 (اقلیم معتدل) به ترتیب به عنوان نژادهای PKRTF و PKSTF شناسایی و نام‌گذاری شدند. اطلاعات مربوط به ژنتیک بیماری‌زایی پاتوتیپ‌ها شامل کارایی هر یک از ژن‌های مقاومت *Sr* موجود در مجموعه ژنوتیپ‌های استاندارد و افتراقی آمریکای شمالی در برابر این پاتوتیپ‌ها به صورت الگوی ژنی غیر مؤثر/مؤثر در جدول ۲ ارائه شده است.

جدول ۱- نحوه امتیاز دهی برای گروه‌های فنوتیپی بیماری زنگ ساقه روی میزبان گندم

Phenotypic groups of black rust disease	0	0;	;	1;	1	1+	2-	2	2+	3-	3	3+	4
Scoring	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13

جدول ۲- الگوی غیر مؤثر/مؤثر ژن‌های مقاومت *Sr* برای نژادهای قارچ *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* مورد استفاده در ارزیابی مقاومت ژنوتیپ‌های گندم

Table 2. Ineffective/effective pattern of *Sr* resistance genes of *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* races used for resistance evaluation of wheat genotypes

Isolate	Race	Province	Town	Effective genes / Ineffective genes	No. Ineffective genes
94-1	TKTTF	Golestan	Gorgan	<i>Sr5, 6, 7b, 8a, 9a, 9b, 9d, 9e, 9g, 10, 13+17, 21, 30, 36, 38, Tmp, Mcn / Sr11, 24, 31</i>	17
94-8	TTTTF	Lorestan	Broujerd	<i>Sr5, 6, 7b, 8a, 9a, 9b, 9d, 9e, 9g, 10, 11, 13+17, 21, 30, 36, 38, Tmp, Mcn / Sr24, 31</i>	18
94-27	TKSTC	East Azarbaijan	Khosroshahr - Ilkhechi	<i>Sr5, 6, 7b, 8a, 9a, 9b, 9d, 9e, 9g, 10, 21, 30, 36, Tmp, Mcn / Sr11, 13+17, 24, 31, 38</i>	15
94-31	TTRTF	West Azarbaijan	Oshnavieh-Naghadeh	<i>Sr5, 6, 7b, 8a, 9a, 9b, 9d, 9e, 9g, 10, 11, 13+17, 21, 36, 38, Tmp, Mcn / Sr24, 30, 31</i>	17
94-43	PKRTF	North Khorasan	Bojnourd	<i>Sr5, 6, 7b, 8a, 9a, 9b, 9d, 9e, 9g, 10, 13+17, 36, 38, Tmp, Mcn / Sr11, 21, 24, 30, 31</i>	15
94-48-1	PKSTF	North Khorasan	Bojnourd	<i>Sr5, 6, 7b, 8a, 9a, 9b, 9d, 9e, 9g, 10, 30, 36, 38, Tmp, Mcn / Sr11, 13+17, 21, 24, 31</i>	15

و ۱۱ ژنوتیپ (۳۵ درصد) دارای واکنش حساسیت (بیشترین مقدار برای تیپ آلودگی و کمترین مقدار برای دوره نهفتگی) نسبت به تمامی نژادهای مورد مطالعه بودند. ۱۶ ژنوتیپ (۵۲ درصد) نیز دارای واکنش مقاومت اختصاصی بودند که در برابر برخی از نژادها واکنش مقاومت و در برابر برخی دیگر واکنش حساسیت نشان دادند.

شکل ۲ رابطه موجود بین نژادها را نشان می‌دهد. در این شکل زاویه بین محور نژادها بیانگر همبستگی بین دو نژاد را نشان می‌دهد. کسینوس زاویه بین بردارهای نژادها بیانگر میزان همبستگی و طول بردارها بیانگر شدت همبستگی می‌باشد. لازم به ذکر است زوایای حاده بیانگر همبستگی مثبت و زوایای منفرجه بیانگر همبستگی منفی است.

شکل ۴ رتبه‌بندی را براساس بهترین (مقاوم‌ترین) ژنوتیپ‌ها را نشان می‌دهد. هر چقدر ژنوتیپ‌ها از مبدا بای پلات فاصله داشتند مقاومت در این ژنوتیپ‌ها بیشتر و هر چقدر ژنوتیپ‌ها به مبدا بای پلات نزدیک‌تر بودند، مقاومت کمتر بود یا به عبارت دیگر واکنش مقاومت ژنوتیپ‌ها به صورت نیمه مقاومت تا نیمه حساس بود. ژنوتیپ‌هایی که در بروز مقاومت دارای نوسان بودند (در برابر بیشتر نژادها مقاومت کامل و در مقابل تعداد کم‌تر از نژادها واکنش نیمه مقاومت داشتند) نسبت به خط افقی فاصله بیشتر داشتند و ژنوتیپ‌هایی که دارای مقاومت یکنواخت‌تر تقریباً به تمامی نژادها داشتند به خط افقی نزدیک‌تر بودند

معنی‌دار شدن اثر ژنوتیپ در سطح احتمال یک درصد بیانگر وجود تنوع ژنتیکی بین ژنوتیپ‌ها از لحاظ مقاومت به نژادهای زنگ ساقه مورد مطالعه می‌باشد. معنی‌دار شدن برهمکنش ژنوتیپ × نژاد در سطح احتمال یک درصد، ضمن این که ثابت می‌کند ژنوتیپ‌ها در مقابل نژادهای مورد مطالعه واکنش یکسان نداشتند، وجود مقاومت اختصاصی ژنوتیپ‌ها را نسبت به این نژادها تأیید می‌نماید. مقادیر میانگین مربوط به تیپ آلودگی و دوره نهفتگی در هر سه تکرار برای هر یک از ژنوتیپ‌ها نسبت به هر نژاد در جدول ۴ ارائه شده است. لازم به یادآوری است که همبستگی منفی بالایی بین تیپ آلودگی و دوره نهفتگی به اثبات رسیده است.

نتایج بررسی واکنش گیاهچه‌ای ۳۰ ژنوتیپ آزمایشی و شاهد حساس مورد استفاده نسبت به تک تک نژادهای مورد مطالعه (تجزیه خوشه‌ای براساس روش وارد) نشان داد (شکل ۱)، برای تعیین بهترین ژنوتیپ مقاوم نسبت به هر نژاد از نمودار چند وجهی شکل ۳ استفاده گردید. نمودار چند وجهی از وصل نمودن ژنوتیپ‌هایی حاصل می‌شود که بیشترین فاصله را از مبدا بای پلات داشته و سایر ژنوتیپ‌ها در داخل آن قرار می‌گیرند. ژنوتیپ‌هایی که در راس قرار دارند بهترین ژنوتیپ از نظر مقاومت نسبت به نژاد مجاور خود در محل قرارگیری می‌باشد.

چهار ژنوتیپ (۱۳ درصد) دارای واکنش مقاومت (کمترین مقدار برای تیپ آلودگی و بیشترین مقدار برای دوره نهفتگی)

جدول ۳- تجزیه واریانس مرکب صفات تیپ آلودگی و دوره نهفتگی ژنوتیپ‌های گندم نسبت به نژادهای عامل بیماری زنگ ساقه

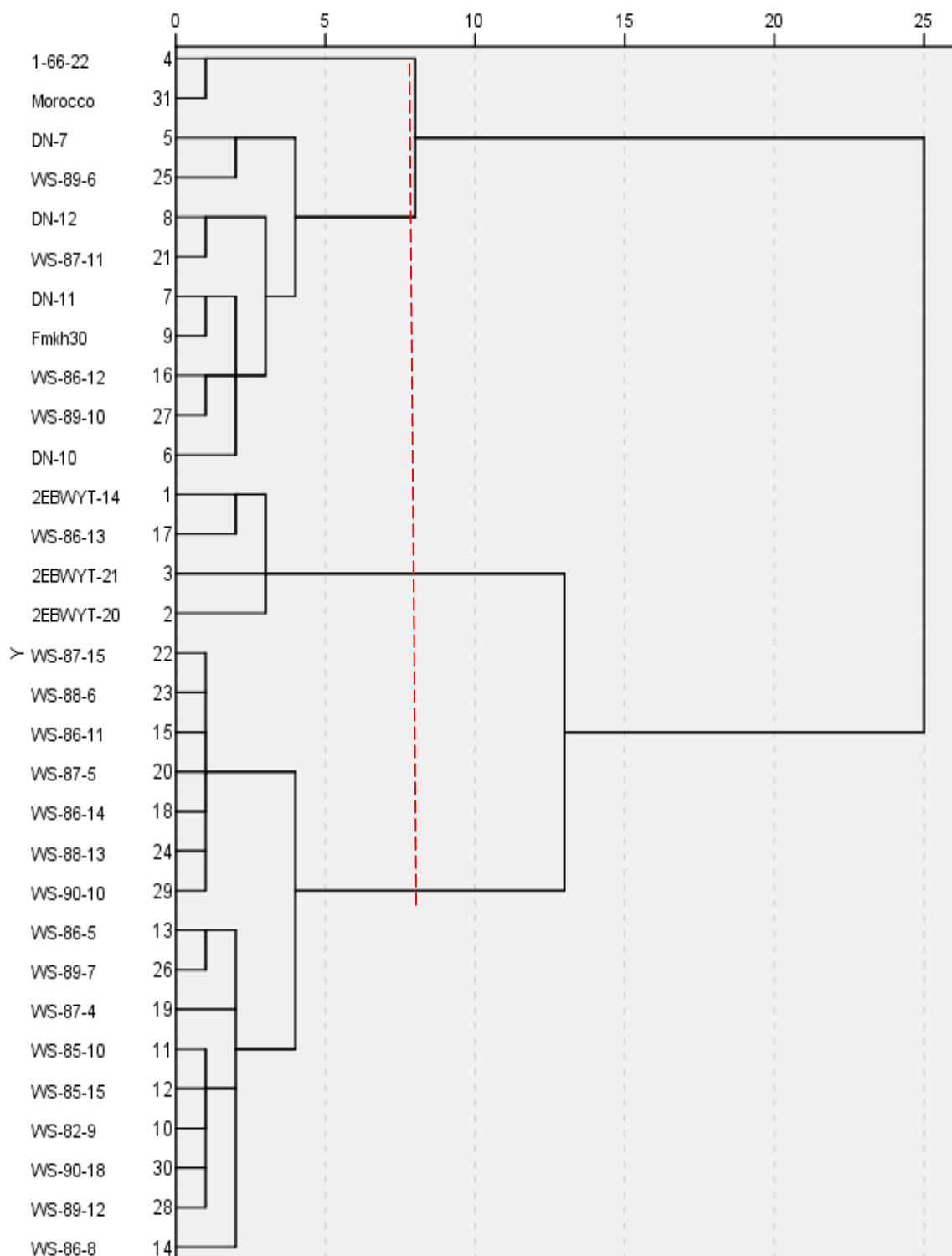
Table 3. Combined analysis of variance for infection type and latent period of wheat genotypes to stem rust races

S.O.V	Df	It	Lp
Race	5	18.63**	12.51**
Error (1)	12	2.7	1.97
Genotype	30	93.72**	63.41**
Genotype* Race	150	74.47**	53.84**
Error (2)	360	11.66	9.97
CV%		12.31	10.87

* and **= Significant at 5% and 1% probability levels, respectively
ns = not Significant, IT: Infection type, LP: Latent period

جدول ۴- مقادیر تیپ آلودگی و دوره نهفتگی ژنوتیپ‌های گندم در برابر نژادهای قارچ *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*Table 4. Values of the infection type and latent period in wheat genotypes to *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* races

No.	Genotype	TKTTF		TTTTF		TTRTF		TKSTC		PKRTF		PKSTF	
		Latent period	Infection type	Latent period	Infection type	Latent period	Infection type	Latent period	Infection type	Latent period	Infection type	Latent period	Infection type
G1	2EBWYT-14 Mehregan	13.35	3.35	10.12	7.08	10.28	7.32	10.34	7.45	11.62	6.28	11.78	6.45
G2	2EBWYT-20	10.64	7.13	10.54	7.46	10.76	7.14	12.97	3.96	11.54	5.6	13.1	3.79
G3	2EBWYT-21	13.52	3.16	10.48	7.49	13.03	4.12	12.92	4.34	10.68	7.31	10.53	7.36
G4	1-66-22	8.39	11.49	8.25	11.53	8.42	11.53	8.31	11.73	8.62	11.65	8.2	11.74
G5	DN-7	8.83	11.45	8.36	11.13	11.25	6.37	8.41	10.99	9.06	11.03	8.52	11.13
G6	DN-10	9.22	10.43	9.31	10.27	9.43	9.99	9.41	10.08	11.98	5.77	9.6	9.83
G7	DN-11	9.54	10.13	9.47	9.83	9.17	10.28	9.87	8.37	9.25	9.93	9.45	10.38
G8	DN-12	8.91	11.23	8.96	11.14	8.9	10.17	9.11	10.35	9.38	10.53	10.88	7.37
G9	Fmkh30	9.18	10.31	9.31	10.05	9.09	9.98	9.43	10.23	9.68	10.05	8.96	9.97
G10	WS-85-9	9.88	9.23	10.24	8.12	9.82	8.97	10.38	7.15	10.3	8.11	9.92	8.99
G11	WS-85-10	9.54	9.26	9.89	9.39	10.12	7.89	9.68	9.06	9.44	9.74	10.11	8.45
G12	WS-85-15	9.92	8.97	10.05	8.74	10.47	7.99	10.23	8.03	9.73	9.27	10.38	8.23
G13	WS-86-5	11.41	6.43	10.25	8.26	10.35	8.17	10.67	7.31	9.39	10.24	9.63	9.26
G14	WS-86-8	10.15	9.79	11.93	5.47	10.07	9.19	9.69	9.21	9.49	10.1	9.25	10.05
G15	WS-86-11	10.63	7.61	10.55	7.49	10.24	8.15	10.51	7.33	10.29	8.42	10.65	7.09
G16	WS-86-12	10.45	8.21	9.32	10.23	10.53	8.02	9.58	9.92	10.19	8.55	9.74	9.63
G17	WS-86-13	11.28	6.32	12.11	5.54	11.98	5.79	11.36	6.86	12.07	5.41	11.39	7.11
G18	WS-86-14	11.02	6.98	10.93	6.78	11.09	7.11	10.57	6.74	11.56	6.33	10.67	6.14
G19	WS-87-4	10.11	7.89	9.21	9.98	10.39	7.98	12.29	5.71	9.34	9.79	10.19	8.11
G20	WS-87-5	10.79	7.36	10.11	8.41	10.85	7.72	10.74	7.59	9.89	9.57	10.77	7.42
G21	WS-87-11	9.74	9.08	9.56	9.23	9.93	8.97	10.09	9.17	9.66	9.31	12.1	5.28
G22	WS-87-15	10.45	7.79	9.83	8.54	10.31	8.23	10.79	7.11	10.59	7.48	10.69	7.4
G23	WS-88-6	10.18	8.22	10.43	7.98	10.27	8.32	10.48	7.96	10.92	7.58	10.96	7.39
G24	WS-88-13	10.76	7.32	10.65	7.29	10.93	7.18	10.76	7.21	10.71	7.29	10.81	7.39
G25	WS-89-6	9.86	9.18	9.66	8.99	12.11	5.17	9.86	9.36	9.85	8.99	9.49	10.34
G26	WS-89-7	10.42	8.12	10.84	7.31	10.64	7.51	10.4	8.12	9.38	10.15	9.44	9.89
G27	WS-89-10	10.51	6.46	9.12	9.95	9.44	10.1	9.63	9.91	9.58	9.83	9.21	10.37
G28	WS-89-12	10.28	8.11	10.25	8.21	9.84	9.19	10.02	7.78	9.75	9.41	9.73	9.25
G29	WS-90-10	10.57	7.58	10.93	6.99	10.83	7.23	9.27	9.65	11.11	7.16	10.8	7.63
G30	WS-90-18	9.76	9.59	10.23	8.26	9.93	8.45	9.92	9.11	10.35	8.2	9.73	9.64
G31	Morocco	8.11	12	8.09	12	8.17	12	8.11	12	8.07	12	8.34	12



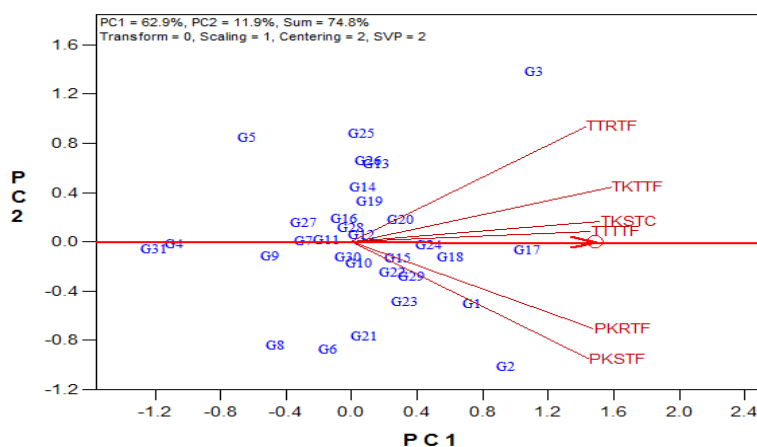
شکل ۱- نمودار تجزیه خوشه‌ای داده‌های تیپ آلودگی و دوره نهفتگی ژنوتیپ‌های گندم مورد مطالعه نسبت به نژادهای مختلف *Pgt*- با استفاده از روش -Ward- و فاصله اقلیدسی در مرحله گیاهچه‌ای

Figure 1. The dendrogram of cluster analysis based on Ward's method and Euclidean distance using the latent period and infection type data of wheat genotypes studied for different *Pgt* races at the seedling stage

بحث

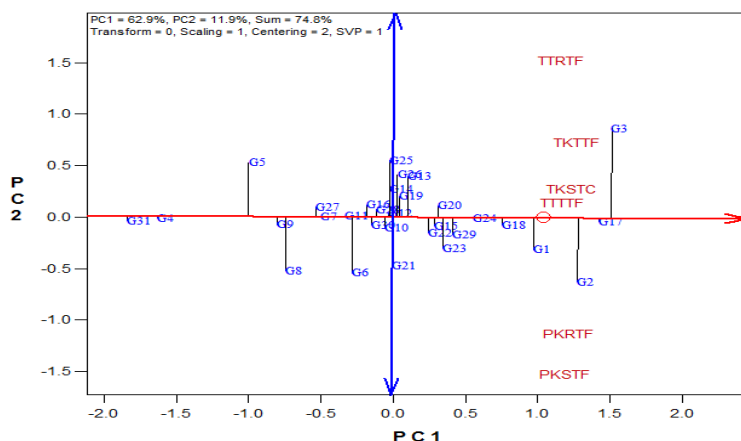
روی ژنوتیپ‌های حامل ژن‌های *Sr5*، *Sr6*، *Sr7b*، *Sr8a*، *Sr9a*، *Sr9b*، *Sr9d*، *Sr9e*، *Sr9g*، *Sr10*، *Sr36*، *SrTmp* و *SrMcN* (۱۳ ژن مقاومت) بیماری‌زایی داشتند، این ژن‌ها در مقابل بسیاری از نژادهای دیگر نیز اثر بخشی لازم را ندارند (Omrani et al., 2018). بنابراین ژن‌های مقاومت غیر مؤثر معرفی می‌شوند. در صورتی که همه نژادها روی ژنوتیپ‌های حامل ژن‌های *Sr24* و *Sr31* عدم بیماری‌زایی نشان دادند. بنابراین دو ژن مذکور به عنوان ژن‌های مقاومت مؤثر در برابر نژادهای مورد بررسی و نژادهای مشابه آن‌ها معرفی می‌گردند. به کارگیری آن‌ها در ژنوتیپ‌های مطلوب سبب ایجاد مقاومت نسبت به نژادهای مورد استفاده و نژادهای مشابه آن‌ها خواهد شد.

تنوع ژنتیکی در بین نژادهای فیزیولوژیک زنگ ساقه بسیار بالا بوده و حدود ۳۰۰ نژاد متفاوت از لحاظ الگوی بیماری‌زایی شناسایی شده است (Singh et al., 2015; Omrani et al., 2018). با توجه به نتایج حاصل از آزمایش‌های تعیین نژاد و همچنین نتایج تجزیه واریانس مرکب (معنی‌دار بودن اثر نژادها)، تنوع ژنتیکی در بین پاتوتیپ‌های مورد استفاده کاملاً مشهود است. براساس نتایج حاصل از واکنش ژنوتیپ‌های استاندارد و افتراقی گندم حامل ژن‌های مختلف مقاومت به زنگ ساقه (*Sr*) نسبت به نژادهای قارچ (*Pgt*)، همه نژادهای مورد بررسی بر



شکل ۲- نمودار روابط (همبستگی) بین نژادها با استفاده از روش GGE Biplot

Figure 2. Diagram of correlations among races using the GGE biplot method



شکل ۳- نمودار چند وجهی GGE Biplot نشان دهنده مقاوم‌ترین ژنوتیپ‌ها برای هر یک از نژادها

Figure 3. Diagram of Polygons of GGE biplot method that display the most resistant genotypes for each race

یک از ژنوتیپ‌ها در مقابل نژادهای متفاوت نیز یکسان نبود و تنوع بسیار بالایی را نشان داد. عمرانی و همکاران (Omrani et al., 2018)، همچنین صارمی‌راد و همکاران (Saremirad et al., 2022) تنوع ژنتیکی را در ژنوتیپ‌های سینتیک و ارقام تجاری گندم نسبت به نژادهای زنگ ساقه گزارش نمودند. طبق گزارش‌های محققین اکثر ارقام تجاری گندم نسبت به نژادهای پرآزار قارچ *Pgt* شناسایی شده در دهه‌های اخیر حساس هستند و این یک تهدید جدی برای امنیت غذایی در سطوح جهانی می‌باشد (Singh et al., 2015). نتایج این تحقیق نیز نشان داد منابع مقاومت مؤثر نسبت به نژادهای زنگ ساقه محدود می‌باشد. بنابراین باید از این منابع مقاومت ارزشمند به‌طور صحیح و اصولی در برنامه‌های به‌نژادی گندم استفاده شود.

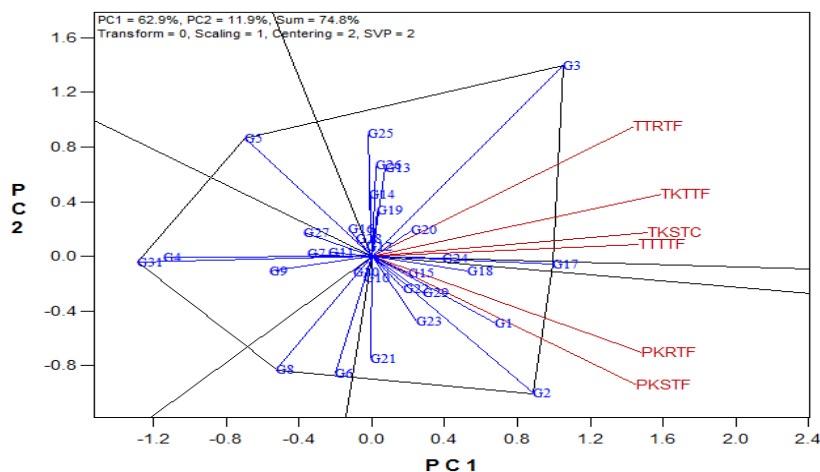
به‌منظور بررسی تنوع ژنوتیپ‌ها، محیط‌ها (نژادهای بیمارگر زنگ ساقه) و مطالعه برهمکنش ژنوتیپ‌ها و نژادها و روابط موجود بین آنها از تجزیه گرافیکی GGE بای‌پلات استفاده شد. براساس این روش دو مؤلفه اصلی اول و دوم ($PC1=62.9$ و $PC2=11.9$) مجموعاً ۷۴/۸ درصد از تغییرات واریانس را توجیه کردند. به‌دلیل این که دو مؤلفه اول و دوم اکثریت تغییرات کل را توجیه می‌نمایند، بنابراین ماهیت برهمکنش ژنوتیپ- نژاد چندان پیچیده نیست و می‌توان از آنها برای گروه‌بندی نژادهای زنگ ساقه و ژنوتیپ‌های گندم استفاده نمود.

ژنوتیپ حامل ژن *Sr11* در برابر نژادهای TKTTF، PKRTF، PKSTF و TKSTC، ژنوتیپ حامل ژن *Sr21* در برابر نژادهای TTRTF و PKSTF، ژنوتیپ حامل *Sr30* در برابر نژادهای TTRTF و PKRTF و ژنوتیپ حامل ژن *Sr38* در برابر نژاد TKSTC و ژنوتیپ حامل ژن‌های *Sr13+17* در برابر نژادهای TKSTC و PKSTF واکنش مقاومت اختصاصی نشان دادند.

براساس نتایج حاصله ژن *Sr11* نسبت به سایر ژن‌های مقاومت فوق‌الذکر که مسبب واکنش مقاومت اختصاصی به نژادها بودند در برابر تعداد بیشتری از نژادهای مورد مطالعه (چهار نژاد از شش نژاد به کار رفته) اثر بخشی مؤثر داشت. بنابراین استفاده درست از ژن‌های مقاومت اختصاصی برای مناطقی که پاتوتیپ‌ها از آنجا جمع‌آوری شدند در کنار سایر ژن‌های مقاومت برای ایجاد ارقام مقاوم چند ژنی مخصوص این مناطق می‌تواند مؤثر واقع گردد و نتایج بهتری از مقاومت ایجاد نماید.

در آزمایش صارمی و همکاران (Saremirad et al., 2022) نیز ژنوتیپ‌های افتراقی حامل ژن‌های مقاومت *Sr11*، *Sr24*، *Sr30* و *Sr31* نسبت به نژادهای مورد مطالعه، واکنش مقاومت قابل قبولی ایجاد نمودند.

با توجه به نتایج ارزیابی مقاومت ژنوتیپ‌ها، نه تنها بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه از لحاظ میزان مقاومت به نژادهای بیماری زنگ ساقه تنوع ژنتیکی وجود دارد بلکه عکس‌العمل هر



شکل ۴- نمودار روابط بین واکنش ژنوتیپ‌ها نسبت به نژادها

Figure 4. Diagram of the relationship among the reaction of genotypes to races

نتیجه‌گیری

از ژنوتیپ‌های مقاوم شناسایی شده (ژنوتیپ‌های مهرگان (G1)، (G2) 2EBWYT-20، (G3) 2EBWYT-21 و WS-86-13 (G17)) می‌توان با اطمینان بیشتری در برنامه‌های ملی به‌نژادی گندم برای مقاومت به زنگ ساقه در اقلیم‌های مختلف کشور، برای بهبود و گسترش پایه ژنتیکی مقاومت ژنوتیپ‌های با پتانسیل مطلوب استفاده نمود. از مقاومت ژنوتیپ (G17) می‌توان در تمامی مناطق جمع‌آوری پاتوتیپ‌ها استفاده نمود.

از ژنوتیپ‌های دارای درجات مختلف مقاومت به زنگ ساقه شناسایی شده در این تحقیق که در مقابل تنها برخی از نژادها واکنش مقاومت داشتند می‌توان نسبت به نژادهایی که در برابر آنها مقاومت نشان دادند به صورت اختصاصی استفاده نمود. برای ژنوتیپ‌هایی که در مرحله گیاهچه‌ای مقاومت نشان دادند به دلیل تعدد و تنوع ژن‌های احتمالی مؤثر در مقاومت، ردیابی و تعیین دقیق ژن‌های مقاومت مؤثر در هر کدام از این ژنوتیپ‌ها مشکل است. با این وجود استفاده از نژادهای بیشتر و ژنوتیپ‌های افتراقی ایزوژن جهت فراهم نمودن شرایط اختصاصی‌تر در برهم‌کنش بیمارگر و میزبان که می‌تواند تا حدودی به شناسایی دقیق‌تر ژن‌های مقاومت مؤثر در هر ژنوتیپ را امکان‌پذیر نماید، توصیه می‌گردد. همچنین استفاده از نشانگرهای مولکولی مرتبط با ژن‌های مقاومت گزارش شده می‌تواند اطلاعات ارزشمندی را برای تشخیص و تأیید ژن‌های مقاومت گیاهچه‌ای مؤثر در ژنوتیپ‌های گندم مورد بررسی در کوتاه‌ترین زمان فراهم نماید.

ارزیابی مقاومت ژنوتیپ‌های مورد بررسی در مرحله گیاه کامل نیز می‌تواند به شناسایی ژن‌های مقاومت مرحله گیاه کامل در ژنوتیپ‌ها که پر اهمیت‌تر از ژن‌های مقاومت مرحله گیاهچه‌ای هستند، منجر شود. وجود ژن‌های مقاومت مرحله گیاه کامل در یک ژنوتیپ حتی در صورت حساسیت ژنوتیپ در مرحله گیاهچه‌ای دور از انتظار نیست. امید است استفاده درست، منطقی و برنامه‌ریزی شده از مجموع ژن‌های مقاومت مؤثر گیاهچه‌ای و گیاه بالغ در کنار هم در برنامه‌های به‌نژادی

صارمی‌راد و همکاران (Saremirad et al., 2022) در آزمایش ارزیابی ارقام تجاری نسبت به زنگ سیاه با استفاده از روش بای-پلات، مجموع مؤلفه اول و دوم را حدود ۷۰/۸ برآورد نمودند. در آزمایش ارزیابی مقاومت لاین‌های گندم نسبت به زنگ قهوه‌ای با استفاده از همین روش مجموع مؤلفه اول و دوم را حدود ۷۰/۸ برآورد شد (Akan & Akcura, 2018).

در شکل ۲ هر اندازه زاویه میان بردارهای مربوط به نژاد کم‌تر باشد، بین آن‌ها همبستگی بالایی وجود خواهد داشت. بنابراین با توجه به این شکل نژادهای TKSTC و TTTTF بیشترین همبستگی مثبت (رابطه) یا به عبارت دیگر بیشترین قرابت از لحاظ الگوی بیماری‌زایی با یکدیگر برای ژنوتیپ‌ها داشتند و نژادهای PKSTF و TTRTF نیز کمترین همبستگی یا به عبارت دیگر کمترین قرابت الگوی بیماری‌زایی با یکدیگر برای ژنوتیپ‌ها داشتند. برای سایر نژادها نیز روابط کاملاً مشهود است.

با توجه به نمودار چند وجهی (شکل ۳) ژنوتیپ‌های G2 و G17 مقاوم‌ترین ژنوتیپ‌ها نسبت به دو نژاد PKSTF و PKRTF، ژنوتیپ‌های G3 و G17 مقاوم‌ترین ژنوتیپ‌ها در مقابل سایر نژادها بودند. ژنوتیپ G17 نسبت به تمامی نژادهای مورد مطالعه جزء مقاوم‌ترین ژنوتیپ‌ها شناسایی شد.

باتوجه به شکل ۴ ژنوتیپ‌هایی که در قسمت مثبت این محور قرار دارند دارای مقاومت بیشتری هستند و بالعکس ژنوتیپ‌هایی که در قسمت منفی قرار گرفته‌اند، از واکنش حساسیت برخوردار می‌باشند. خطی که از مبدأ گذشته و روی محور میانگین نژادها عمود شده است، نشانگر متوسط تیپ آلودگی ژنوتیپ‌ها است؛ ژنوتیپ‌های دارای تیپ آلودگی بالاتر از متوسط در سمت راست محور و ژنوتیپ‌های دارای تیپ آلودگی پایین‌تر از متوسط در سمت چپ محور قرار می‌گیرند. به عبارتی نزدیک به انتهای مثبت محور میانگین نژادها باشد و بیرون زدگی آن از این محور نیز حداقل باشد. بر این اساس ژنوتیپ‌های G17، G1، G2 و G3 به ترتیب ژنوتیپ‌های برتر می‌باشند. این ژنوتیپ‌ها به عنوان یک معیار برای ارزیابی سایر ارقام می‌تواند استفاده شوند. هرچقدر فاصله یک ژنوتیپ از این ژنوتیپ کمتر باشد ژنوتیپ مناسب‌تری می‌باشد.

بخش تحقیقات غلات بابت فراهم نمودن امکانات لازم برای انجام این تحقیق، همکاران واحد پاتولوژی غلات خانم‌ها و آقایان مهندس زهره حسن بیات، الهام الاحسنی، امیر کبیری و اسمعیل ابراهیمی به خاطر مساعدت در انجام این تحقیق تشکر و قدردانی می‌گردد.

گندم برای ایجاد مقاومت به زنگ‌ها منجر به ایجاد ارقام مقاوم جدید پایدار شود.

سپاس‌گزاری

بدین وسیله از ریاست و معاونت پژوهش، فناوری و انتقال یافته‌های مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، ریاست

REFERENCES

- Ahmadi, K., Ebadzadeh, H. R., Hatami, F., Mohamadnia Afrooz, Sh., Esfandiari Pour, E. & Abass Taleghani, R. (2021). Agricultural statistics: 2019-20 Cropping cycle. The first volume: Field crops. *Ministries of Agricultural- Jihad*, Tehran. 97 pp.
- Agrios, G. N. (2005). *Plant Pathology* (5th ed.), California, USA. Elsevier Academic Press, 952 pp.
- Akan, K., & Akcura, M. E. V. L. Ü. T. (2018). GGE biplot analysis of reactions of bread wheat pure lines selected from central anatolian landraces of Turkey to leaf rust disease (*Puccinia triticina*) in multiple location-years. *Cereal Research Communications*, 46(2), 311-320.
- Bamdadian, A. & Torabi, M. (1999). Study on epidemic of wheat stem rust in the south parts of Iran in 1977. *Entomology and Phytopathology Journal*, 14, 19-24. (In Farsi with English summary)
- Berlin, A., Djurle, A., Samils, B. & Yuen, J. (2012). Genetic variation in *Puccinia graminis* collected from oats, rye, and barberry. *Phytopathology*, 102(10), 1006-1012.
- Dadrezaei, S. T. & 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. (In Farsi with English summary)
- Dehghani, H., Moghaddam, M., Bihamta, M.R., Sabaghnia, N. & Mohammadi, R. (2013). Biplot analysis of diallel data in strip rust of wheat. *Australasian Plant Pathology*, 42(5), 601-608.
- FAO. (2021). FAOSTAT Database on Agriculture, Food and Agriculture Organization of the United Nations. Available at: <http://faostat3.fao.org/faostat-gateway/go/to/home/E>
- German, S., Barcellos, A., Chaves, M., Kohli, M., Campos, P. and de Viedma, L. (2007). The situation of common wheat rusts in the Southern Cone of America and perspectives for control. *Australian Journal of Agricultural Research*, 58(6), 620-630.
- Jin, Y., Szabo, L. J., Pretorius, Z. A., Singh, R. P., Ward, R. & Fetch J. T. (2008). Detection of virulence to resistance gene *Sr24* within race TTKS of *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*. *Plant Disease*, 92(6), 923-926.
- Huerta-Espino, J., Singh, R., Crespo-Herrera, L. A., Villaseñor-Mir, H. E, Rodriguez-Garcia, M. F., Dreisigacker, S., Barcenar-Santana, D. & Lagudah, E. (2020). Adult Plant Slow Rusting Genes

- Confer High Levels of Resistance to Rusts in Bread Wheat Cultivars from Mexico. *Frontiers in Plant Science*, 11,824.
- Lewis, C. M., Persoons, A., Bebbler, D. P., Kigathi, R. N., Maintz, J., Findlay, K., ... & Berlin, A. (2018). Potential for re-emergence of wheat stem rust in the United Kingdom. *Communications biology*, 1(1),13.
- McCallum, B. D., Hiebert, C. W., Cloutier, S., Bakkeren, G., Rosa, S. B., Humphreys, D. G., Marias, G. F., McCartney, C. A., Panwar, V., Rampitsch, C., Saville, B. J. & Wang, X. (2016). A review of wheat leaf rust research and the development of resistant cultivars in Canada. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 38,118.
- McIntosh, R. A., Wellings, C. R. & Park, R. F. (1995). Wheat rusts: an atlas of resistance genes. Csiro Publishing. 200 pp.
- 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(3), 387-392.
- Olivera, P. D., Villegas, D., Cantero-Martínez, C., Szabo, L. J., Rouse, M. N., Luster, D. G., et al. (2022). A unique race of the wheat stem rust pathogen with virulence on *Sr31* identified in Spain and reaction of wheat and durum cultivars to this race. *Plant Pathology*, 71, 873-889.
- Omrani, A., Aharizad, S., Roohparvar, R., Khodarahmi, M. & Toorchi, M. (2017). Identification of stem and leaf rust resistance genes in some promising wheat lines using molecular markers. *Crop Biotechnology*, 18,15-25. (In Farsi with English summary)
- Omrani, A., Aharizad, S., Roohparvar, R., Khodarahmi, M. & Toorchi, M. (2018). Virulence factors of wheat stem rust (*Puccinia graminis* f. sp. *tritici*) isolates and identification of resistance sources in CIMMYT wheat synthetic genotypes. *Journal of Crop Breeding*, 10(27),84-93. (In Farsi with English summary)
- Omrani, A. & Roohparvar, R. (2020). 'First report of TTKTK, a variant of the race TTKSK (Ug99) of *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* with virulence on the resistance genes *Sr31* and *SrTmp* in Iran'. *Journal of Applied Research in Plant Protection*, 9(3),87-89. (In Farsi with English summary)
- Omrani, A. & Roohparvar, R. (2021). First report of TTRTF race of the wheat stem rust pathogen, *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* from Iran (Northwest, Cold Zone). *Journal of Applied Research in Plant Protection* 9 (4),101–103. (In Farsi with English summary)
- Olivera, P., Newcomb, M., Szabo, L. J., Rouse, M., Johnson, J., Gale, S., Luster, D. G., Hodson, D., Cox, J. A., Burgin, L. & Hort, M. (2015). Phenotypic and genotypic characterization of race TKTTF of *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* that caused a wheat stem rust epidemic in southern Ethiopia in 2013–14. *Phytopathology*, 105(7),917-928.
- Park, R. F. (2007). Stem rust of wheat in Australia. *Australian Journal of Agricultural Research*, 58(6),558-566.
- Patpour, M., Nazari, K., Ogbonnaya, F., Ogbonnaya, F., Alavi, S. M., Alavi, S. M., Mousavi, A. & Mousavi, A. (2014). 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),1-14.

Pretorius, Z. A., Pakendorf, K. W., Marais, G. F., Prins, R. & Komen, J. S. (2007). Challenges for sustainable cereal rust control in South Africa. *Australian Journal of Agricultural Research*, 58(6), 593-601.

Saremirad, A., Bihamta, M. R., Malhipour, A., Mostafavi, K., & Alipour, H. (2022). Evaluation of seedling stage resistance of commercial bread wheat cultivars to black rust disease using GGE biplot method. *Journal of Crop Breeding*, 186-196. (In Farsi with English summary)

Sharif, G. h., Bamdadian, A. & Daneshpajoh, B. (1970). Physiological races of wheat stem rust in Iran (1965-1970). *Plant Pest and Disease*, 6, 73-100. (in Farsi)

Singh, R. P., Hodson, D. P., Jin, Y., Lagudah, E. S., Ayliffe, M. A., Bhavani, S., Rouse, M. N., Pretorius, Z. A., Szabo, L. J., Huerta-Espino, J., Basnet, B. R., Lan, C. & Hovmøller, M. S. (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.

Singh, R. P., Singh, P. K., Rutkoski, J., Hodson, D. P., He, X., Jørgensen, L. N., ... & Huerta-Espino, J. (2016). Disease impact on wheat yield potential and prospects of genetic control. *Annual review of phytopathology*, 54, 303-322.

Szabo, L. J., Cuomo, C. A., & Park, R. F. (2014). *Puccinia graminis*. *Genomics of plant-associated fungi: monocot pathogens*, 177-196.

Yan, W., Hunt, L. A., Sheng, Q. & Szlavnic, Z. (2000). Cultivar evaluation and mega-environment investigation based on the GGE biplot. *Crop Science*, 40(3), 597-605.

Zadoks, J. C., Chang, T. T., & Konzak, C. F. (1974). A decimal code for the growth stages of cereals. *Weed research*, 14(6), 415-421.



© 2023 by the authors. Licensee SCU, Ahvaz, Iran. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-Noncommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0 license) (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>).



Investigation of wheat genotypes' resistance to stem rust through GGE biplot analysis

A. Omrani^{1*}, R. Roohparvar²

1. ***Corresponding Author:** Assistant Professor, Crop and Horticultural Science Research Department, Ardabil Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Moghan, Iran (a.omrani@areeo.ac.ir)
2. Assistant Professor, Crop and Horticultural Science Research Department, East Azarbaijan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Tabriz, Iran

Received: 10 December 2023

Accepted: 24 January 2024

Abstract

Background and Objectives

Stem rust, also known as black rust and caused by the fungus *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* (*Pgt*), poses a substantial threat to global food security by potentially devastating wheat crops. This disease can lead to a 100% loss in wheat crop yields under epidemic conditions. The combined impact of rust, including stripe rust, leaf rust, and stem rust, on overall wheat production is estimated at around \$5 billion annually. Stem rust exhibits distinctive symptoms, such as dark brown pustules, appearing across all parts of the wheat plant. Recent reports highlight recurring stem rust epidemics across various global regions. Notably, there has been a significant spread of stem rust in Europe, particularly in England and Italy. Iran has also experienced two severe stem rust epidemics. The most effective strategy to mitigate the impact of this disease involves identifying and incorporating resistant genes from cultivars displaying robust resistance into favored wheat genotypes. This approach aims to establish enduring genetic resistance, representing a crucial method for disease control.

Materials and Methods

To uncover novel sources of resistance, an experiment was conducted to assess the resistance reactions of 30 wheat genotypes and a susceptible check (Morocco) against six distinct *Pgt* races, each characterized by unique pathogenicity patterns (TKTTF, TTTF, TTRTF, PKRTF, PKSTF, and TKSTC). The experiment followed a randomized complete block design with three replications. Each *Pgt* race was independently utilized for evaluating the genotypes, with the measured resistance components encompassing the infection type and latent period. Statistical analyses were performed using SAS software (v. 3.9) to perform analysis of variance (ANOVA) for the experimental design, Minitab (v. 16) for normality tests, and SPSS (v. 16) software for cluster analysis. The bi-plot method, grounded in multivariable models, emerged as a valuable statistical approach for classifying environments (races) due to its simplicity, high accuracy in

analyses, and evaluative capabilities. Additionally, this method proved effective in identifying resistant genotypes to each of the races and elucidating the relationships between them.

Results

The results indicated that the differential genotypes carrying the *Sr11*, *Sr21*, *Sr30* and *Sr13+17* genes exhibited a distinct resistance reaction against the studied races. Notably, the *Sr11* gene demonstrated a notable effect on four out of the six races. Among the races, TKSTC and TTTTF displayed the highest positive correlation, while PKSTF and TTRTF races exhibited the lowest correlation with each other. Phenotyping and ANOVA revealed significant phenotypic diversity among wheat genotypes concerning the measured resistance components to *Pgt* races. Cluster analysis effectively categorized the wheat genotypes into three primary groups: resistant, susceptible, and moderately resistant to moderately susceptible. Among the studied wheat genotypes, 11 (35%) displayed susceptibility to all races, while four genotypes (G1, G2, G3, and G17) (13%) showed resistance against all races. The remaining 16 genotypes (52%) demonstrated moderately resistant to moderately susceptible (specific reaction) responses. The biplot analysis (GGE biplot) identified genotype G17 as the most resistant genotype with a uniform response to all races.

Discussion

Genotypes with varying degrees of resistance to *Pgt* races identified in this study can serve as new and sustainable sources of resistance for breeding wheat cultivars with a broad genetic basis of resistance. Expanding the study to include a broader array of races and differential isogenic lines can refine conditions, enabling more precise identification of effective resistance genes in each genotype. Furthermore, evaluating the resistance of the examined genotypes at the adult plant stage proves invaluable in identifying resistance genes, which carry greater significance than those observed solely at the seedling stage. The existence of resistance genes at the adult plant stage remains plausible, even in cases where the genotype exhibits sensitivity during the seedling stage. The strategic and reasonable utilization of effective resistance genes at both the seedling and adult plant stages is envisioned to contribute to the development of new, resilient varieties with stable resistance.

Keywords: *Cluster analysis, infection type, latent period, sources of resistance*

Associate editor: S. Abbasi (Ph.D.)

Citation: Omrani, A & Roohparvar, R. (2024). Investigation of wheat genotypes' resistance to stem rust through GGE biplot analysis. *Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture)*, 46(3), 83-97. [https:// 10.22055/ppr.2024.45521.1721](https://10.22055/ppr.2024.45521.1721).