

Transfer of two non-specific genes, *Yr18* and *Yr29*, inducing yellow rust resistance to a drought-tolerant wheat line derived from the Kalheydari

Shahrzad Foroodi safat, Soraya Pourtabrizi[✉], Ali Kazemi pour, Roohollah Abdolshahi



Department of Plant Production and Genetic Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran

Corresponding author

[✉]s.pourtabrizi@empl.uk.ac.ir

Keywords

Co-dominant Inheritance,
Marker-Assisted
Backcrossing, Near-
Isogenic Line, Water-
deficit, Yellow rust

Abstract

One of the most significant biological threats to wheat (*Triticum aestivum*) is yellow rust disease, caused by the fungus *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*. To manage this disease and ensure the sustainability of wheat yield, the fundamental strategy focuses on identifying and effectively utilizing resistance genes against this disease in wheat. Considering the prevailing drought conditions in Iran and the importance of drought tolerance, the current research focused on a near-isogenic line derived from the Kalheydari wheat cultivar, a winter variety and drought-tolerant variety in western Iran. The main objective was to enhance the resistance of this line against the disease through the transfer of two resistance genes, *Yr18* and *Yr29*, respectively from the standard donor parents Lalbahadur/Pavon and Opata 85, using the backcrossing method with the aid of molecular markers and gene pyramiding. To facilitate the selection process and increase the accuracy and possibility of simultaneous tracking of target alleles, specific molecular markers were used. Based on molecular experimental results, the co-dominant inheritance pattern of the transferred genes allowed for clear differentiation of homozygous susceptible, heterozygous, and homozygous resistant genotypes in the breeding populations. In the final evaluation, the transfer of the two genes *Yr18* and *Yr29* into the new wheat line derived from the Kalheydari cultivar was confirmed. This finding demonstrates the utility of molecular markers as an important tool in accelerating and successfully transferring desirable traits to wheat in breeding programs.

Received: 16 February 2026

Revised: 4 July 2026

Accepted: 4 July 2026

Available online: 6 July 2026

Cite this article:

Foroodi safat Sh, Pourtabrizi S, Kazemi pour A, Abdolshahi R, 2026. Transfer of two non-specific genes, *Yr18* and *Yr29*, inducing yellow rust resistance to a drought-tolerant wheat line derived from the Kalheydari. *Appl Res Plant Prot* 15 (2): 95–105.

<https://dx.doi.org/10.22034/arpp.2026.22023>



Copyright© 2026 University of Tabriz, Published by the University of Tabriz.

This is an open access article under the CC BY NC license (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/2.0/>)

انتقال دو ژن غیراختصاصی *Yr18* و *Yr29* القا کننده مقاومت در برابر زنگ زرد به لاین گندم متحمل به خشکی مشتق از رقم کل حیدریشهرزاد فرودی صفات، ثریا پورتبریزی[✉]، علی کاظمی پور، روح اله عبدالشاهی

گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران

نویسنده مسئول: s.pourtabrizi@empl.uk.ac.ir

دریافت: ۱۴۰۴/۱۱/۲۷ بازنگری: ۱۴۰۵/۰۴/۱۳ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۴/۱۳

چکیده

یکی از مهم‌ترین تهدیدهای زیستی گندم (*Triticum aestivum*)، بیماری زنگ زرد است که توسط قارچ *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* ایجاد می‌شود. برای مدیریت این بیماری و تضمین دوام عملکرد گندم، راهبرد بنیادی بر شناسایی و به‌کارگیری مؤثر ژن‌های مقاومت به این بیماری در گندم متمرکز است. با در نظر گرفتن شرایط غالب کم‌آبی در ایران و اهمیت تحمل به تنش خشکی، پژوهش حاضر بر روی یک لاین ایزوژن نزدیک به‌دست آمده از گندم رقم کل حیدری، که یک رقم زمستانه و مقاوم به خشکی در غرب کشور است، متمرکز گردید. هدف اصلی، تقویت مقاومت این لاین در برابر بیماری از طریق انتقال دو ژن مقاومت *Yr18* و *Yr29* به‌ترتیب از طریق والد‌های بخشنده استاندارد Lalbahadur/Pavon و Opata 85 با استفاده از روش تلاقی برگشتی به کمک نشانگرهای مولکولی و هرمی‌سازی ژن‌های مذکور بود. به منظور تسهیل فرآیند انتخاب و افزایش دقت و امکان ردیابی هم‌زمان آلل‌های هدف، از نشانگرهای مولکولی اختصاصی استفاده شد. براساس نتایج آزمایش‌های مولکولی، الگوی وراثتی هم‌بارزی در ژن‌های منتقل‌شده، امکان تفکیک واضح ژنوتیپ‌های هموزیگوت حساس، هتروزیگوت و هموزیگوت مقاوم را در جمعیت‌های اصلاحی فراهم آورد. در ارزیابی نهایی، انتقال دو ژن *Yr18* و *Yr29* به لاین جدید گندم به‌دست آمده از رقم کل حیدری تأیید گردید. این یافته، کاربرد نشانگرهای مولکولی را به عنوان ابزاری مهم در تسریع و موفقیت انتقال صفات مطلوب به گندم در پروژه‌های به‌نژادی به اثبات می‌رساند.

کلمات کلیدی: تلاقی برگشتی به کمک نشانگر، زنگ زرد، کمبود آب، لاین ایزوژن نزدیک، وراثت هم‌بارزی

مقدمه

راهکاری مؤثر و بلندمدت در مبارزه با این بیماری شناخته می‌شود. بیش از ۲۸۰ ژن مقاومت در برابر بیماری زنگ شناسایی شده است که از میان آنها، حدود ۱۰۵ ژن جز ژن‌های مقاومت نسبت به بیماری زنگ زرد می‌باشد (Basnet et al. 2022; Omrani et al. 2024). طبق مطالعات صورت گرفته ژن‌های مقاومت *Yr28*, *Yr25*, *Yr20*, *Yr9*, *Yr8*, *Yr7*, *Yr6*, *Yr3*, *Yr2*, *Yr29*, *Yr31* و *YrExp2* کارایی لازم خود را در برابر نژادهای بیماری‌زا زنگ زرد در سطح جهان از دست داده‌اند. ژن‌های مقاومت *Yr5* و *Yr15* جز ژن‌های مقاومت مؤثر و سایر ژن‌های مقاومت *Yr32*, *Yr27*, *Yr26*, *Yr24*, *Yr18*, *Yr17*, *Yr10*, *Yr4*, *Yr1*, *Yr43*, *Yr44*, *Yr64*, *Yr65*, *Yr76*, *Yr84*, *YrSD*, *YrCV* و *YrSP*، *YrSU* و *YrND* در مقابل برخی نژادهای زنگ زرد در سطح جهان کارایی دارد (Chen 2020; Safavi 2021; Omrani et al. 2024). اگرچه تحقیقات جامع تنها بر بخش محدودی از این ژن‌ها متمرکز بوده است، اما ژن‌هایی نظیر *Yr9* و *Yr29* و *Y36*

قارچ *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* (Pst)، عامل بیماری زنگ نواری گندم، یکی از مهم‌ترین تهدیدهای زیستی در نظام‌های کشاورزی به شمار می‌رود و با ایجاد خسارت گسترده، موجب کاهش چشمگیر عملکرد و کیفیت گندم، می‌شود. این بیماری با تخریب بافت‌های برگ و اختلال در فرآیندهای فیزیولوژیکی نظیر تنفس، منجر به کاهش راندمان فتوسنتز و در نهایت توقف رشد طبیعی گیاه می‌گردد. از سوی دیگر، جذب مواد غذایی از سلول‌های گیاه توسط عامل بیماری‌زا، تأثیر منفی مستقیمی بر کیفیت دانه و عملکرد نهایی محصول دارد (Line et al. 2002; Chen et al. 2005; Liu et al. 2020). استفاده مکرر و کنترل‌نشده از قارچ‌کش‌ها علاوه بر تشدید آلودگی‌های زیست‌محیطی، زمینه‌ساز بروز مقاومت در جمعیت‌های قارچی بیماری‌زا می‌باشد. از این رو، به‌کارگیری اصلاحات ژنتیکی در ارقام گندم به منظور دستیابی به مقاومت پایدار و بهینه، به‌عنوان

کامل محسوب می‌شود (Liu et al. 2020; Msundi et al. 2021). پژوهش‌ها نشان داده‌اند که هرمی‌سازی موفق ژن‌های مقاومت در برابر زنگ زرد، نیازمند ترکیب مجموعه‌ای از ژن‌های مقاومت اختصاصی و غیر اختصاصی از جمله *Yr36*, *Yr18*, *Yr15*, *Yr5* و *Yr46* است. این راهکار، با بهره‌گیری همزمان از روش‌های به‌نژادی کلاسیک و ابزارهای مولکولی مانند استفاده از انتخاب به کمک نشانگر در تلاقی برگشتی، به‌طور قابل توجهی روند انتقال این ژن‌های حیاتی را به ارقام تجاری و لاین‌های برتر گندم نان تسریع می‌بخشد (Klymiuk et al. 2018). بهره‌گیری از نشانگرهای مولکولی، علاوه بر صرفه‌جویی زمانی و تضمین ثبات و اطمینان نتایج، به طور مؤثری کارایی را بهبود بخشیده و امکان غربالگری بسیار دقیق‌تری را برای صفات ژنتیکی پیچیده در هر مرحله و هر نسل از برنامه به‌نژادی فراهم می‌کند (Jena & Babiker et al. 2009; Mackill, 2008). پیش از این، در پژوهشی دیگر و به عنوان راهکاری برای ایجاد مقاومت در شرایط بارندگی مطلوب و احتمال بروز اپیدمی بیماری، انتقال دو ژن مقاومت به زنگ زرد *Yr5* و *Yr15* با استفاده از نشانگر در قالب تلاقی‌های برگشتی به ارقام گندم روشن، مهدوی، شیراز و کل‌حیدری پیشنهاد شده است (Pouryousefi et al. 2022 a,b). شواهد پژوهشی، برتری بازده ژنتیکی تلاقی برگشتی به همراه انتخاب به کمک نشانگر را نسبت به گزینش فنوتیپی تایید می‌کنند (Rutkoski et al. 2022; Mirahmadi et al. 2024). با تکیه بر اهمیت رویکرد هرمی کردن ژن‌ها، احتمال رویارویی با شکست همزمان مقاومت‌های ناشی از ژن‌های *Yr18* و *Yr29* بسیار اندک است؛ به طوری که، ژن دوم به عنوان یک عامل ایمنی، تداوم مقاومت ژنتیکی رقم را حفظ خواهد کرد. هرچند مقاومت مبتنی بر دو ژن، پایداری بسیار بیشتری نسبت به ژن‌های منفرد نشان می‌دهد، اما امکان از بین رفتن مقاومت هر دو ژن در افق بلندمدت وجود دارد. با این حال، از آنجا که عمر مفید اقتصادی ارقام کشاورزی معمولاً از یک دهه فراتر نمی‌رود، توجیه اقتصادی برای پایداری بالای مقاومت در لاین‌های دارای دو ژن وجود دارد. در راستای این دیدگاه، هدف این پژوهش بر هرمی‌سازی ژن‌های مقاومت *Yr18* و *Yr29* در لاین ایزوژن نزدیک کل‌حیدری زودرس متمرکز شد. هدف نهایی این تحقیق علاوه بر حفظ تحمل به خشکی، دستیابی به مقاومت پایدار در برابر زنگ نواری گندم، جلوگیری از شیوع اپیدمی‌ها و خسارت به محصول و در نتیجه کاهش قابل توجه هزینه‌های اقتصادی برای کنترل بیماری است.

به دلیل کارایی بالا و تأثیر قابل توجه در مقابله با بیماری، به‌طور گسترده در برنامه‌های به‌نژادی ارقام گندم مورد استفاده قرار گرفته‌اند. نکته مهم آنکه برخی از این ژن‌های مقاومت، نه تنها در برابر زنگ نواری بلکه در برابر سایر گونه‌های زنگ نیز خاصیت دفاعی نشان می‌دهند؛ برای مثال، ژن‌های *Lr46/Yr29* و *Lr67/Yr46* توانایی ایجاد مقاومت همزمان در برابر زنگ زرد و زنگ قهوه‌ای را دارا هستند. با این حال، به دلیل شکست مقاومت تک‌ژن‌ها در طول زمان، امروزه گرایش به سمت استفاده از بلوک‌های ژنی افزایش یافته است. بنابراین، شناسایی، بررسی پراکنش و ترکیب ژن‌های زنگ زرد می‌تواند نقش مؤثری در توسعه ارقام جدید گندم با مقاومت پایدار و بلندمدت در برابر این بیماری ایفا کند (Zhang et al. 2024). مقاومت به زنگ زرد گندم از نظر دسته‌بندی دوره رشدی گیاه به دو دسته مقاومت گیاهچه‌ای و مقاومت گیاه کامل تقسیم می‌شود (Omrani et al. 2024). برخی از ژن‌های شناخته‌شده مانند *Yr29*, *Yr18*, *Yr16* و *Yr30*, *Yr39* و *Yr52* دارای مقاومت گیاه کامل در برابر زنگ نواری گندم هستند (Ma et al. 1996; William et al. 2003; Morgounov et al. 2012). در میان آنها، ژن *Yr18* به دلیل مقاومت غیراختصاصی و پایدار خود، بیش از یک قرن است که مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته است (Kolmer et al. 2008; Mirahmadi et al. 2024). این ژن که با فعال‌سازی ژن‌های مرتبط با نکرز نوک برگ پرچم در مرحله بلوغ گیاه، موجب افزایش مقاومت طبیعی در برابر قارچ عامل زنگ زرد می‌شود (Krattinger et al. 2009; Mirahmadi et al. 2024)، نخستین بار در کانادا شناسایی شد (Dyck, 1987) و در اوایل قرن بیستم با بهره‌گیری از فناوری‌های اصلاح ژنتیکی نوین به گونه‌ای از گندم‌های ایتالیایی منتقل گردید. ژن *Yr29* نیز یکی دیگر از عوامل کلیدی در مدیریت زنگ نواری محسوب می‌شود. این ژن بر روی کروموزوم 1B قرار دارد و به‌عنوان دومین ژن مؤثر در ایجاد مقاومت تدریجی و غیراختصاصی در برابر بیماری شناخته می‌شود (William et al. 2003; Kolmer et al. 2008).

ظهور سریع نژادهای جدید عوامل بیماری‌زا، مقاومت ژنتیکی را بی‌اثر کرده و کارایی بسیاری از ژن‌های شناخته شده را از بین می‌برد. وجود چهار تا پنج ژن مقاومت غیر اختصاصی در یک رقم گندم، منجر به ایجاد سطوح بالایی از مقاومت ترکیبی و پایدار در برابر عوامل بیماری‌زا می‌شود (Huerta-Epino et al. 2020). هرمی کردن ژن‌ها بویژه با به‌کارگیری روش انتخاب به کمک نشانگر (Marker Assistant Selection)، روشی مؤثر برای دستیابی به مقاومت پایدار و گسترده در برابر زنگ نواری در گیاه

مواد و روش‌ها

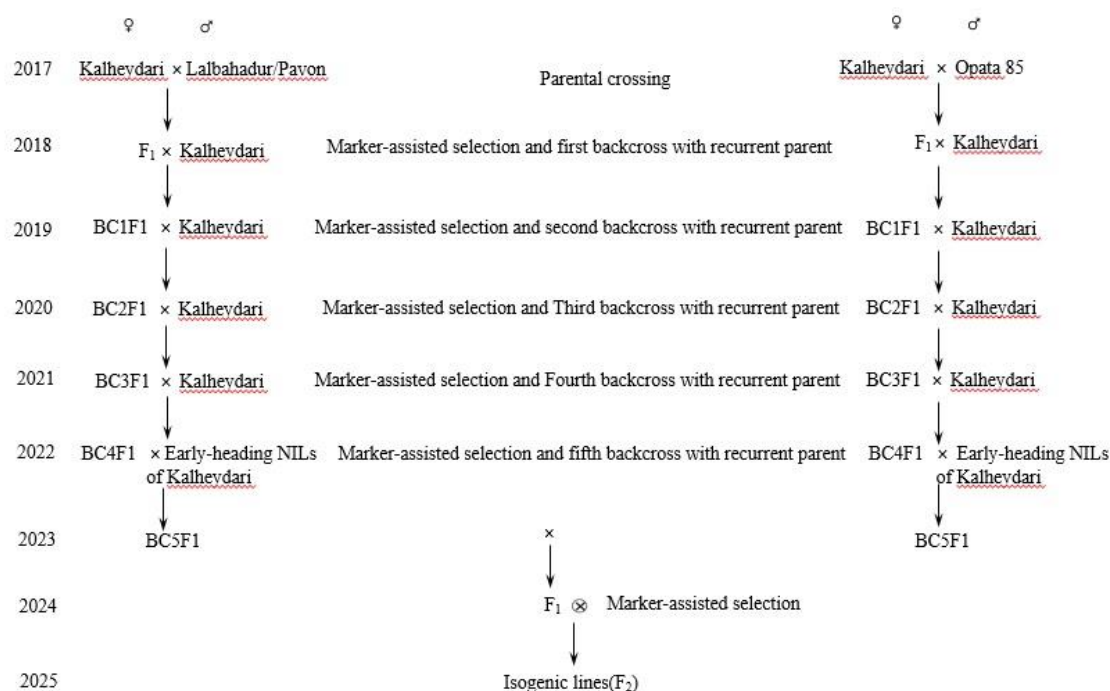
مواد گیاهی

مواد گیاهی مورد استفاده شامل دو دسته بودند: والدین مقاوم به زنگ زرد (بخشده) شامل لاین‌های استاندارد Lalbahadur/Pavon و Opata 85 که بذور آنها از مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر تأمین گردید و والدین گیرنده (تکراری) شامل رقم کل‌حیدری و لاین ایزوژن نزدیک کل‌حیدری زودرس، که در دو مرحله از این پژوهش به کار گرفته شدند. با توجه به تنش‌های آبی و نیاز روزافزون به ارقام مقاوم به خشکی، حتی در گندم‌های آبی، تحمل به خشکی اهمیت ویژه‌ای یافته است. رقم کل‌حیدری به عنوان یک گندم نان زمستانه که در مناطق دیم غرب ایران کشت می‌شود، دارای این ویژگی است، با این حال یک رقم نیمه‌دیررس محسوب می‌گردد

(Abdolshahi *et al.* 2013). در مقایسه، رقم اکسکلیبر یک رقم استرالیایی بهاره و زودرس است. در یک پژوهش به‌نژادی موازی و مجزا، با استفاده از تلاقی برگشتی، تلاش شد زودرسی از رقم استرالیایی اکسکلیبر (والد بخشنده) به نتاج رقم ایرانی کل‌حیدری انتقال داده شود. این انتقال پس از پنج نسل تلاقی برگشتی و خودگشتی (BC₅F₅)، منجر به تولید لاین‌های ایزوژن نزدیک گردید. دستاورد اصلی این بود که عملکرد دانه لاین ایزوژن نزدیک کل‌حیدری زودرس در مناطق دیم نسبت به والد اصلی به‌طور چشمگیری افزایش یافت که در واقع نشان‌دهنده پتانسیل بالای زودرسی برای جبران خسارت تنش خشکی انتهای فصل است (Dorrani-Nejad *et al.* 2022). با این حال، لاین مذکور برخلاف خصوصیات مثبت، فاقد پتانسیل مقاومت مطلوب در برابر زنگ بود.

شکل ۱. توسعه لاین‌های ایزوژن (ILs) برای ژن‌های Yr18 و Yr29 با استفاده از تلاقی برگشتی به کمک نشانگر.

Figure 1. Development of isogenic lines (ILs) for Yr18 and Yr29 genes using marker assisted backcrossing.



آزمایش‌های مزرعه‌ای

تمامی مراحل مربوط به کشت این پژوهش در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه شهید باهنر کرمان (عرض جغرافیایی: 30°28' N، طول جغرافیایی: 57°03'E) انجام شد. در پژوهش‌های قبلی که از سال ۱۳۹۶ با هدف انتقال ژن‌های مقاومت Yr18 و Yr29 آغاز شد، ابتدا رقم کل‌حیدری با والدینی که حاوی ژن‌های

مقاومت به زنگ زرد بودند، تلاقی داده شد. سپس با اجرای سه مرحله تلاقی برگشتی، جمعیت اولیه لازم برای اهداف این تحقیق ایجاد گردید (Pouryousefi *et al.* 2022a). در پژوهش حاضر، دو برنامه تلاقی برگشتی مجزا بین والدین بخشنده دارای ژن‌های مقاومت مربوطه و والد تکراری کل‌حیدری انجام شد (شکل ۱). عملیات دورگ‌گیری در این راستا شامل انتخاب پایه مادری

کل‌حیدری زودرس گردید و از آنها به عنوان والد تکراری در مطالعات زنگ نواری استفاده شد. روند پژوهش در بهار سال ۱۴۰۱ با انجام پنجمین نسل تلاقی برگشتی در هر دو برنامه انتقال ژن‌های مقاومت *Yr18* و *Yr29* ادامه یافت و در این نسل، نتاج هموزیگوت با استفاده از نشانگرهای مولکولی شناسایی شدند. در ادامه، در بهار سال ۱۴۰۲، تلاقی بین نتاج هموزیگوت حاوی ژن‌های مقاومت *Yr18* و *Yr29* جهت دستیابی به لاین‌های همری صورت گرفت؛ این فرآیند در نسل F_1 با انتخاب به کمک نشانگر تسهیل گردید. در نهایت، برای تثبیت ژنتیکی لاین ایزوژن همری شده حاوی ژن‌های مقاومت *Yr18* و *Yr29* در پس‌زمینه ژنتیکی لاین ایزوژن نزدیک کل‌حیدری زودرس، نتاج منتخب با کمک نشانگرهای مولکولی، خودگشن شدند.

مناسب، اخته نمودن سنبله مادری، آماده‌سازی پایه پدری و انجام موفقیت‌آمیز گرده‌افشانی بود. شرایط زراعی نیز با فاصله ۴۰ سانتی‌متری بین ردیف‌ها و ۲۰ سانتی‌متری روی ردیف‌ها تعریف شد؛ بذور در عمق ۴ تا ۵ سانتی‌متری کاشته شده و آبیاری به روش غرقابی و با فواصل ده روز یکبار اجرا گردید. پس از انجام چهار نسل تلاقی برگشتی با والد تکراری کل‌حیدری و انجام انتخاب به کمک نشانگرهای مولکولی تا سال ۱۴۰۰، برنامه انتقال ژن‌های مقاومت *Yr18* و *Yr29* پیش رفت. به طور موازی، در پروژه‌ای مجزا، انتقال ویژگی زودرسی از والد بخشنده‌ی استرالیایی اکسکلیر به والد تکراری نیمه دیررس کل‌حیدری از طریق تلاقی برگشتی در طی سال‌های ۱۳۹۰ تا ۱۴۰۱ انجام شد که در نسل پنجم منجر به تولید لاین‌های ایزوژن نزدیک به

جدول ۱. جزئیات آلی و توالی آغازگرها برای تکثیر ژن‌های *Yr18* و *Yr29*.

Table 1. Allelic details and primers sequence to amplify *Yr18*, *Yr29* genes.

Gene name	Prime name	Primer sequence (5' - 3')	Target	Amplicon size (bp)	Reference
<i>Yr18</i>	csLV34	F:TTGGTTAAGACTGGTGATGG R:TGCTTGCTATTGCTGAATAGT	Resistance sensitive	150 229	(Lagudah <i>et al.</i> 2006)
<i>Yr29</i>	BARC89	F:GCGAATTAGCATCTGCATCTGTTTGAG R:CGGTCAACCACTACTGCACAAC	Resistance sensitive	110 95	(Lowe <i>et al.</i> 2011)

جدول ۲. برنامه حرارتی و شرایط زمانی مراحل مختلف واکنش PCR زنجیره‌ای پلی‌مراز.

Table 2. Thermal cycling conditions for the different stages of the Polymerase Chain Reaction.

Gene name	Temperature	Time	Initial denaturation	Denaturation	Annealing	Extension	Final Extension	Cycles
<i>Yr18</i>	Temperature (°C)		94	94	53	72	72	38
	Time		2min	30 sec	30 sec	30 sec	45 sec	
<i>Yr29</i>	Temperature (°C)		94	94	59.9	72	72	36
	Time		2min	30 sec	30 sec	30 sec	45 sec	

مطالعات آزمایشگاهی

اندازه‌ای معادل ۱۵۰ جفت باز و آل حساسیت اندازه‌ای برابر با ۲۲۹ جفت باز نشان می‌دهد (Lagudah *et al.* 2006). برای شناسایی ژن *Yr29*، از نشانگر مولکولی BARC89 استفاده شد. در این نشانگر، آل مرتبط با مقاومت، اندازه‌ای برابر ۱۱۰ جفت باز و آل حساسیت، اندازه‌ای معادل ۹۵ جفت باز را پس از واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز نشان می‌دهد (Lowe *et al.* 2011) (جدول ۱). فرآیند تکثیر آل‌های مقاومت و حساسیت با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز در دستگاه ترموسایکلر گردادیان (Biometra Tone, Analytik Jena, Germany) و بر اساس شرایط ذکر شده در جدول ۲ انجام شد. مخلوط واکنش در تمامی آزمایش‌ها، با حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر، شامل ۱ میکرولیتر از دی‌ان‌ای ژنومی الگو (با غلظت نهایی ۵۰ نانوگرم) و ۱

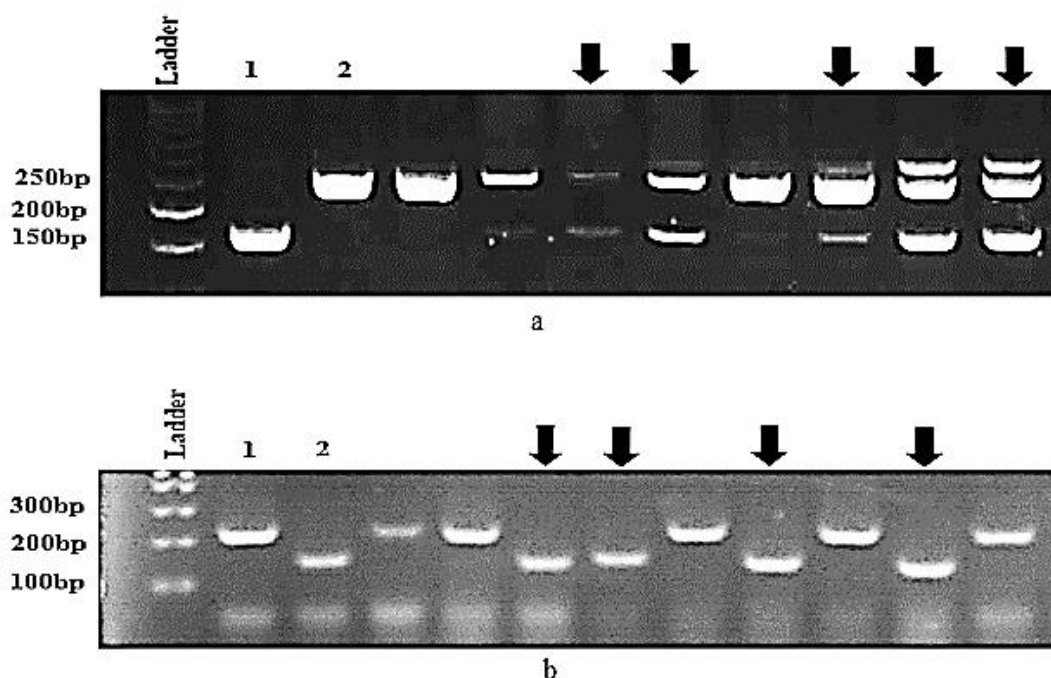
فرایند ارزیابی انتقال ژن‌های مقاومت به زنگ در جمعیت‌های در حال تفرق با تهیه نمونه‌های برگ‌ی و استخراج دی‌ان‌ای ژنومی انجام شد (Zhang *et al.* 1998). کیفیت و کمیت سنجی دی‌ان‌ای استخراج شده با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Epoch-BioTek) و از طریق الکتروفورز ژل آگارز ارزیابی شد. به منظور بررسی حضور یا عدم حضور ژن *Yr18* از نشانگر مولکولی csLV34 بهره گرفته شد (Lagudah *et al.* 2006). محبوبیت این نشانگر در ارزیابی مقاومت، عمدتاً به دلیل هم‌بارز بودن و تولید باندهای واضح و قابل‌شمارش است. مزیت دیگر این نشانگر، سهولت استفاده از آن به دلیل تفاوت اندازه آل مقاوم و آل حساس می‌باشد. در الکتروفورز ژل آگارز، آل مرتبط با مقاومت،

با شناسایی ژنوتیپ‌های ژنوتیپ‌های دارای ژن مقاومت به زنگ *Yr18* و *Yr29* به کمک نشانگرهای ملکولی، تلاقی بین آنها به منظور هرمی کردن این دو ژن مقاومت صورت گرفت و در ادامه، خودگشتی انجام شد. جهت اطمینان از انتخاب صحیح بوته‌های دارای هر دو ژن مقاومت، استخراج و واکنش زنجیره‌ای پلیمرز تکرار و بعد از الکتروفورز و عکس‌برداری، صحت انتخاب تایید شد.

نتایج

در این پژوهش، دو هدف اصلی انتقال صفت زودرسی به رقم کل‌حیدری و سپس انتقال همزمان ژن‌های مقاومت *Yr18* و *Yr29* به لاین ایزوژن نزدیک کل‌حیدری زودرس دنبال شد.

میکرولیتراز هر آغازگر (با غلظت نهایی ۰/۵ پیکومول) بود. این مخلوط همچنین حاوی ۱۰ میکرولیتراز 2X Taq PreMix از میکرولیتراز ۱۰ (Cat: C101081; Iran; DENAZist) بود که شامل آنزیم *Taq DNA polymerase*، بافر واکنش، مخلوطی از dNTPها، تثبیت‌کننده پروتئین، و اجزای کمکی جهت تسهیل الکتروفورز، از جمله رنگ بارگذاری بود. برای تکمیل حجم، هفت میکرولیتراز آب مقطر به این ترکیب افزوده شد. تمامی آزمایش‌های مولکولی در طول پروژه برای اطمینان از دقت و تکرارپذیری نتایج، دوبار تکرار گردیدند. محصولات حاصل از واکنش بر روی ژل آغاز با غلظت‌های ۲ و ۴ درصد و در حضور بافر الکتروفورز (TBE 0.5x) تفکیک شدند. سپس با رنگ ایمن DNA Green Viewer رنگ‌آمیزی شد و باندهای حاصل با استفاده از اشعه ماورابنفش در دستگاه عکس‌برداری از ژل (Gel Doc, Vilber, Quantum 4) مشاهده گردیدند.



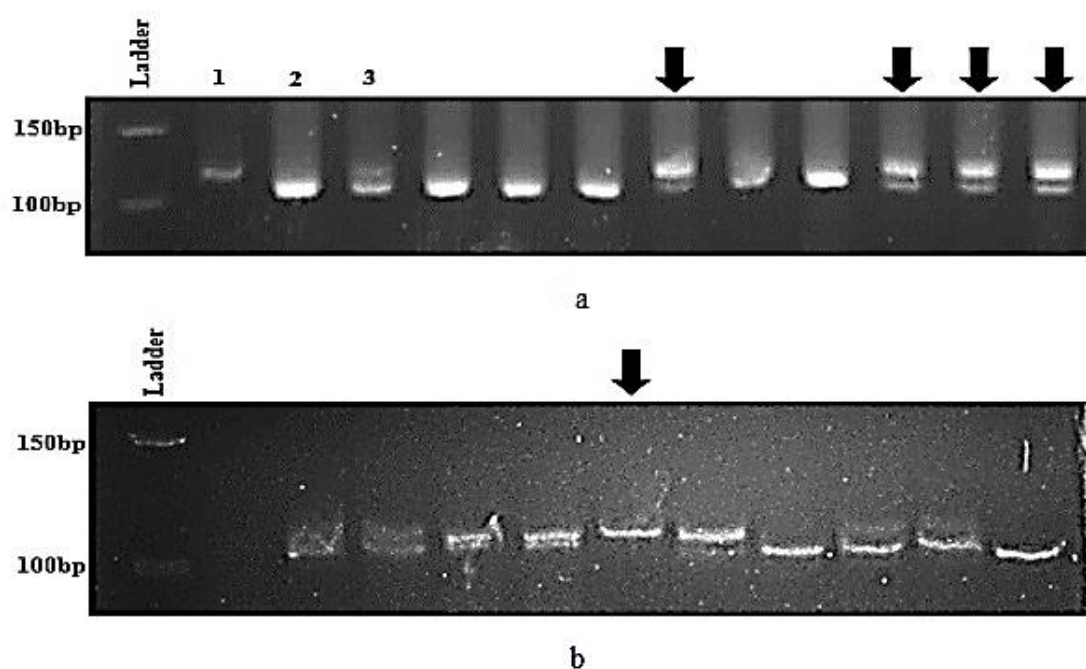
شکل ۲. تنوع ژنتیکی نتاج حاوی ژن *Yr18*. a: شماره‌های ۱ و ۲ به ترتیب لاین استاندارد Lalbahadur/Pavon (حامل ژن *Yr18*) و لاین ایزوژن نزدیک حساس کل‌حیدری را نشان می‌دهند. نتاج هتروزیگوت دارای دو باند مقاومت و حساسیت هستند. b: شماره‌های ۱ و ۲ به ترتیب لاین ایزوژن نزدیک حساس کل‌حیدری و لاین استاندارد Lalbahadur/Pavon (حامل ژن *Yr18*) را نشان می‌دهند. نتاج هموزیگوت (دارای باند مقاومت) گزینش شده‌اند. نتاج گزینش شده حاصل از تلاقی برگشتی با فلش نشان داده شده‌اند (برخی از نتایج آورده شده است). از یک لدر ۱۰۰ جفت بازی برای تعیین اندازه قطعات استفاده شد.

Figure 2. Genetic diversity of progenies carrying the *Yr18* gene. a: Numbers 1 and 2 represent the standard line Lalbahadur/Pavon carrying the *Yr18* gene and the susceptible near-isogenic line Kalheydari, respectively. The heterozygous progenies show two bands corresponding to resistance and susceptibility. b: Numbers 1 and 2 represent the susceptible near-isogenic line Kalheydari and the standard line Lalbahadur/Pavon carrying the *Yr18* gene, respectively. The selected homozygous progenies exhibit the resistance band. The selected progenies derived from the backcross are indicated with arrows (a subset of the results is shown). A 100-bp+ DNA ladder was used to determine the size of the fragments.

برای ارزیابی و اطمینان از انتقال ژن *Yr18* به لاین ایزوژن نزدیک (کل‌حیدری زودرس)، از نشانگر *csLV34* استفاده شد. این نشانگر با تولید یک باند ۱۵۰ جفت‌بازی در والد مقاوم (Lalbahadur/Pavon) و یک باند ۲۲۹ جفت‌بازی در والد حساس (کل‌حیدری) الگوهای هم‌بارز را نشان داد. با ایجاد نسل‌های اولیه تلاقی برگشتی و ادامه آن تا نسل *BC₅F₅*، نتاج به دقت از نظر وجود آلل حساس (۲۲۹ جفت‌بازی) و آلل مقاوم (۱۵۰ جفت‌بازی) مورد غربالگری و تکرار قرار گرفتند. همانطور که در شکل ۲a مشاهده می‌شود، برخی از نتاج در طول پژوهش (که با فلش مشخص شده‌اند) دارای هر دو باند (۲۲۹ و ۱۵۰ جفت‌بازی) بودند که نشان‌دهنده ژنوتیپ هتروزیگوت بود. نتاجی که تنها باند ۱۵۰ جفت‌بازی را نشان دادند، به عنوان هموزیگوت مقاوم انتخاب شدند (شکل ۲b). این الگو تأییدکننده الگوی وراثت هم‌بارز برای این ژن بود.

انتقال صفت زودرسی و ارزیابی عملکرد لاین ایزوژن نزدیک
بر اساس راهکار تلاقی برگشتی در یک پژوهش موازی، صفت زودرسی از رقم استرالیایی اکسکلیبر به رقم زمستانه و مقاوم به خشکی کل‌حیدری منتقل شد. پس از پنج نسل تلاقی برگشتی و خودگشتی (*BC₅F₅*)، لاین‌های ایزوژن نزدیک با پس‌زمینه ژنتیکی غالب کل‌حیدری (اما با زودرسی اکسکلیبر) تولید شدند. ارزیابی‌های اولیه عملکرد دانه در شرایط دیم حاکی از افزایش معنادار عملکرد دانه لاین ایزوژن نزدیک کل‌حیدری زودرس، در مقایسه با والد مادری (کل‌حیدری)، در شرایط تنش خشکی بود. این یافته نشان می‌دهد که راهکار انتقال صفت زودرسی از والد زودرس به والد مقاوم به خشکی، می‌تواند بخشی از افت عملکرد ناشی از تنش خشکی پایان فصل را جبران نماید؛ هرچند این لاین فاقد مقاومت کافی در برابر بیماری زنگ زرد بود.

*ارزیابی ژنتیکی ژن مقاومت *Yr18* با نشانگر *csLV34**



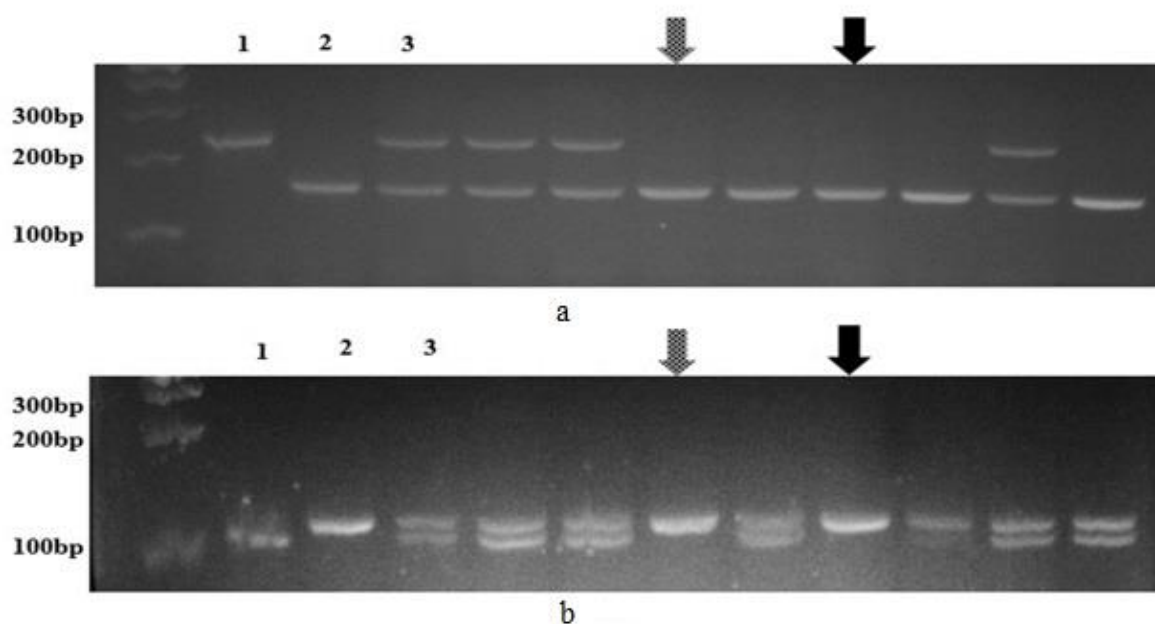
شکل ۳. تنوع ژنتیکی نتاج حاوی ژن (*Yr29*). a: شماره‌های ۱ و ۲ به ترتیب لاین استاندارد Opata85 (حامل ژن *Yr29*) و لاین ایزوژن نزدیک حساس کل‌حیدری را نشان می‌دهند. شماره ۳ ترکیب محصول PCR والدین جهت اطمینان از گزینش صحیح است. نتاج هتروزیگوت دارای دو باند مقاومت و حساسیت هستند. b: نتاج هموزیگوت (دارای باند مقاومت) گزینش شده‌اند. نتاج گزینش شده حاصل از تلاقی برگشتی با فلش نشان داده شده‌اند (برخی از نتایج آورده شده است). از یک لدر ۵۰ جفت‌بازی برای تعیین اندازه قطعات استفاده شد.

Figure 3. Genetic diversity of progenies carrying the *Yr29* gene. a: Numbers 1 and 2 represent the standard line Opata85 carrying the *Yr29* gene and the susceptible near-isogenic line Kalheydari, respectively. The heterozygous progenies show two bands corresponding to resistance and susceptibility. b: The selected homozygous progenies exhibit the resistance band. The selected progenies derived from the backcross are indicated with arrows (a subset of the results is shown). A 50-bp DNA ladder was used to determine the size of the fragments.

ارزیابی ژنتیکی ژن مقاومت Yr29 با نشانگر BARC89

ژن Yr29 (که همچنین با ژنهای Lr64 و Sr58 مرتبط است)، با استفاده از نشانگر BARC89 مورد ارزیابی قرار گرفت. آلل مقاوم با طول باند ۱۱۰ جفت باز و آلل حساس با طول باند ۹۵ جفت باز شناسایی شد. نتایج الکتروفورز نشان داد که این ژن نیز الگوی وراثت همباز را دنبال می‌کند. نتاج هتروزیگوت که دارای هر دو باند ۹۵ جفت باز و ۱۱۰ جفت باز بودند (شکل ۳a)، شناسایی و برای تلاقی‌های بعدی جهت هرمی‌سازی انتخاب شدند. لاین‌های خالص‌شده نهایی پس از خودگشتی، دارای باند ۱۱۰ جفت باز (مقاوم) بودند (شکل ۳b). دستیابی به لاین‌های ایزوژن هرمی با ژن‌های Yr18 و Yr29

در مرحله نهایی، با تلاقی نتاج هموزیگوت دارای ژن Yr18 و نتاج هموزیگوت دارای ژن Yr29، نسل F₁ تولید و سپس فرآیند انتخاب برای دستیابی مطمئن به ژنوتیپ‌های هموزیگوت برای هر دو ژن آغاز شد. پس از انجام خودگشتی نهایی، ژل‌های الکتروفورز (شکل ۴) تنوع ژنتیکی نتاج نهایی را نشان دادند. نمونه‌های منتخب (مشخص شده با فلش‌های مشابه) که دارای باند ۱۵۰ جفت باز (Yr18) و باند ۱۱۰ جفت باز (Yr29) بودند، به عنوان لاین‌های ایزوژن هرمی شده که در برابر زنگ نواری مقاوم هستند، نهایی شدند. تفکیک بهتر باندها در این مرحله با استفاده از ژل‌های آگارز با غلظت متفاوت (۲٪ برای Yr18 و ژل ۴٪ برای Yr29) انجام گرفت.



شکل ۴. دستیابی به نتاج حاوی هر دو ژن (Yr18+ Yr29). a: شماره‌های ۱ و ۲ به ترتیب لاین ایزوژن نزدیک حساس کل‌حیدری و لاین استاندارد Lalbahadur/Pavon (حامل ژن Yr18) را نشان می‌دهند. شماره ۳ ترکیب محصول PCR والدین جهت اطمینان از گزینش صحیح است. نتاج هموزیگوت دارای باند مقاومت هستند. b: شماره‌های ۱ و ۲ به ترتیب لاین ایزوژن نزدیک حساس کل‌حیدری و لاین استاندارد Opata85 (حامل ژن Yr29) را نشان می‌دهند. شماره ۳ ترکیب محصول PCR والدین جهت اطمینان از گزینش صحیح است. نتاج هموزیگوت دارای باند مقاومت گزینش شده‌اند. (فلش‌های مشابه نشان دهنده ی وضعیت دو ژن در یک بوته‌اند). از یک لدر ۱۰۰ جفت بازی برای تعیین اندازه قطعات استفاده شد.

Figure 4. Development of progenies carrying both genes (Yr18 + Yr29). a: Numbers 1 and 2 represent the susceptible near-isogenic line Kalheydari and the standard line Lalbahadur/Pavon carrying the Yr18 gene, respectively. Number 3 shows the PCR product profile of the parents for confirmation of correct selection. The homozygous progenies possess the resistance band. b: Numbers 1 and 2 represent the susceptible near-isogenic line Kalheydari and the standard line Opata85 carrying the Yr29 gene, respectively. Number 3 shows the PCR product profile of the parents for confirmation of correct selection. The selected homozygous progenies (possessing the resistance band) have been chosen. (The similar arrows indicate the status of the two genes in a single plant). A 100-bp+ DNA ladder was used to determine the size of the fragments.

بحث

عملکرد مناسب، تحمل کافی در برابر تنش‌های محیطی از جمله خشکی و عوامل بیماری‌زای کلیدی مانند زنگ نواری را داشته باشند. رقم کل‌حیدری به دلیل تحمل ذاتی به خشکی

اهمیت کشاورزی گندم در ایران، به ویژه در مناطق نیمه‌خشک غرب کشور، مستلزم توسعه ارقامی است که علاوه بر

اثرات مثبتی بر محیط زیست نیز بگذارد (Pouryousefi *et al.* 2022). به کارگیری ترکیب به‌نژادی کلاسیک و تلاقی برگشتی به کمک نشانگر انتقال ژن‌های مقاومت به زنگ نواری را به ارقام و لاین‌های برتر گندم نان تسریع می‌بخشد. در پژوهش انجام شده روی انتقال چهار ژن مقاومت به زنگ زرد به گندم رقم کل حیدری با روش تلاقی برگشتی به کمک نشانگر، مطالعه تا نسل BC₃F₁ پیش رفت (Pouryousefi *et al.* 2022a). اما در این پژوهش افزون بر پیشرفت نسل‌های تلاقی برگشتی، به منظور دستیابی به مقاومت پایدار در برابر بیماری‌ها، استراتژی هرمی کردن ژن از طریق انتقال دو ژن Yr29 و Yr18 مورد استفاده قرار گرفت. این عمل با انجام تلاقی‌های متقابل بین ژنوتیپ‌های هتروزیگوت گزینش‌شده در هر دو ژن صورت پذیرفت. در این فرایند بعد از انجام تلاقی بین لاین ایزوژن نزدیک کل حیدری زودرس با نتاج هتروزیگوت گزینش‌شده در نسل BC₅F₁ در دو ژن Yr29 و Yr18 نسل F₁ در هر یک از برنامه‌های انتقال ژن Yr29 و Yr18 بدست آمد. این پژوهش با انجام تلاقی‌های بین دو جمعیت F₁ ادامه یافت. بعد از تولید نسل و انتخاب ژنوتیپ‌های هموزیگوت برای هر دو ژن، تکثیر به روش خودگشتی انجام (F₂) و لاین‌های ایزوژن هرمی شده برای دو ژن Yr29 و Yr18 حاصل شد. علاوه بر این در این پژوهش برای اولین بار مقاومت به زنگ نواری از لحاظ این دو ژن و زودرسی در زمینه ژنتیکی رقم کل حیدری هرمی شده‌اند. با توجه به همبستگی بالای اپیدمی‌های زنگ زرد با سال‌های دارای بارندگی مطلوب، پیش‌بینی می‌شود لاین‌های مقاوم حاصل از این پژوهش، فاقد افت عملکرد بوده و در نتیجه، برتری عملکردی خود را نسبت به شاهد حساس، یعنی رقم کل حیدری حفظ نمایند. بدین ترتیب، این پژوهش با موفقیت دو هدف عمده بهبود زودرسی رقم کل حیدری با حفظ ویژگی تحمل به خشکی، انتقال و تثبیت همزمان هر دو ژن مقاومت Yr29 و Yr18 در قالب یک لاین ایزوژن محقق ساخته است. این لاین‌های جدید به عنوان مواد اولیه ارزشمندی برای برنامه‌های به‌نژادی تکمیلی، به منظور تجاری‌سازی ارقام مقاوم و پایدار گندم در مناطق دیم و آبی کشور، قابل بهره‌برداری خواهند بود.

سپاسگزاری

نویسندگان مقاله از دانشگاه شهید باهنر کرمان به خاطر حمایت مالی این تحقیق و از مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر جهت تامین بذور والدهای Lalbahadur/Pavon و Opata 85 سپاس‌گزاری می‌نمایند.

(Abdolshahi *et al.* 2013)، یک والد مادری ارزشمند در برنامه‌های به‌نژادی مناطق دیم است. انتقال صفت زودرسی از رقم استرالیایی اکسکلیر به این رقم با ارزش، یک راهکار موفقیت‌آمیز برای سازگاری بیشتر با شرایط اقلیمی بوده و نتایج پژوهش موازی (افزایش عملکرد در شرایط دیم) این رویکرد را تأیید می‌کند. با این حال، همانطور که پیش‌بینی می‌شد، لاین ایزوژن زودرس شده فاقد مقاومت کافی در برابر زنگ زرد بود. برای دستیابی به مقاومت پایدار، استراتژی هرمی کردن ژن‌های مقاومت به عنوان یک راهکار کلیدی در به‌نژادی نوین مورد توجه قرار گرفت. انتقال همزمان دو ژن Yr29 و Yr18 در این پژوهش بر پایه مطالعات گسترده‌ای است که نشان می‌دهد هرمی‌سازی، مقاومت را در برابر شکستن توسط عوامل بیماری‌زای جهش‌یافته پایدارتر می‌سازد (Fuchs 2017; Zhang *et al.* 2018). استفاده از نشانگرهای مولکولی برای گزینش هر دو ژن، کارایی و دقت برنامه تلاقی برگشتی را به شدت افزایش داد. نشانگر csLV34 که امکان تفکیک واضح ژنوتیپ‌ها را فراهم کرد، در فاصله ۰/۴ سانتی مورگان با ژن Lr34 قرار دارد. این نشانگر هم بارز است و اختلاف فاصله ۸۰ جفت بازی آلل‌های مقاومت و حساسیت موجب سهولت ارزیابی این نشانگر می‌باشد (Lagudah *et al.* 2006) که به خوبی در نسل‌های تلاقی برگشتی تثبیت گردید. نشانگر BARC89 نیز با تفکیک ۱۵ جفت‌بازی، امکان شناسایی ژنوتیپ‌های هتروزیگوت و در نهایت هرمی شده را فراهم نمود. نکته قابل توجه در مورد Yr29، اثر پلیوتروپیک آن است، در این اثر، یک ژن واحد، بر چندین صفت فنوتیپی به‌ظاهر نامرتب با یکدیگر تأثیر می‌گذارد و به این ترتیب Yr29 نیز علاوه بر زنگ زرد، مقاومت‌هایی را در برابر زنگ قهوه‌ای (Lr46) و زنگ سیاه (Sr58) فراهم می‌آورد. (Singh *et al.* 2011; Pouryousefi *et al.* 2022)، که یک مزیت اضافی برای پایداری مقاومت فراهم می‌کند. هرمی کردن ژن‌های مقاومت اختصاصی و غیراختصاصی یک راهکار مؤثر برای ایجاد مقاومت پایدار شناخته شده است (Beddow *et al.* 2015; Fuchs, 2017; Zhang *et al.* 2018;) (Haider *et al.* 2023). تأثیر هرمی کردن ترکیب ژن‌های Yr18 و Yr29 به عنوان یک راهکار مؤثر برای ایجاد مقاومت پایدار، به زمینه ژنتیکی رقم وابسته است بطوری که بر اساس پژوهش‌های انجام شده در رقم Bajio53 بسیار تأثیرگذار، اما در ارقام Nayar و Lerma آثار متوسطی مشاهده شد (Huerta-Espino 2020). ژن‌های Yr29/Lr46/Sr58 و Yr18/Lr34/Pm38/Sr57 در مرحله گیاه کامل با اثر پلیوتروپیک نسبت به چند عامل بیماری‌زا موجب مقاومت نسبی می‌شوند و این مقاومت پایدار است و می‌تواند

References

- Abdolshahi R, Safarian A, Nazari M, Pourseyedi S, Mohamadi-Nejad G, 2013. Screening drought-tolerant genotypes in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) using different multivariate methods. *Archives of Agronomy & Soil Science* 59(5): 685–704.
- Babiker E, Ibrahim AM, Yen Y, Stein J, 2009. Identification of a microsatellite marker associated with stem rust resistance gene'sr35'in wheat. *Australian Journal of Crop Science* 3(4): 195–200.
- Basnet B, Juliana P, Bhattarai K, Upreti U, 2022. A review on major rust resistance gene and amino acid changes on wheat (*Triticum aestivum* L.). *Advances in Agriculture* 2022(1): 7419326.
- Beddow JM, Pardey PG, Chai Y, Hurley TM, Kriticos DJ, et al., 2015. Research investment implications of shifts in the global geography of wheat stripe rust. *Nature Plants* 1(10): 1–5.
- Chen XM, 2005. Epidemiology and control of stripe rust [*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*] on wheat. *Canadian Journal of Plant Pathology* 27(3): 314–37.
- Chen X, 2020. Pathogens which threaten food security: *Puccinia striiformis*, the wheat stripe rust pathogen. *Food Security* 12(2): 239.
- Dorrani-Nejad M, Kazemipour A, Maghsoudi-Moud AA, Abdolshahi R, 2022. Wheat breeding for early heading: does it improve grain yield under drought stress and well-watered conditions? *Environmental & Experimental Botany* 200: 104902.
- Dyck PL, 1987. The association of a gene for leaf rust resistance with the chromosome 7D suppressor of stem rust resistance in common wheat. *Genome* 29(3): 467–9.
- Fuchs M, 2017. Pyramiding resistance-conferring gene sequences in crops. *Current Opinion in Virology* 26: 36–42.
- Haider MW, Kaur J, Bala R, Singh S, Srivastava P, et al., 2023. Stripe rust resistance gene (s) postulation in wheat germplasm with the help of differentials and tagged molecular markers. *Scientific Reports* 13(1): 9007.
- Huerta-Espino J, Singh R, Crespo-Herrera LA, Villaseñor-Mir HE, Rodriguez-Garcia MF, et al., 2008. Adult plant slow rusting genes confer high levels of resistance to rusts in bread wheat cultivars from Mexico. *Frontiers in Plant Science* 11: 824.
- Jena KK, Mackill DJ, 2008. Molecular markers and their use in marker-assisted selection in rice. *Crop Science* 48(4): 1266–76.
- Klymiuk V, Yaniv E, Huang L, Raats D, Fatiukha A, et al., 2018. Cloning of the wheat Yr15 resistance gene sheds light on the plant tandem kinase-pseudokinase family. *Nature Communications* 9(1): 3735.
- Kolmer JA, Singh RP, Garvin DF, Viccars L, William HM, et al., 2008. Analysis of the Lr34/Yr18 rust resistance region in wheat germplasm. *Crop Science* 48(5): 1841–52.
- Krattinger SG, Lagudah ES, Spielmeier W, Singh RP, Huerta-Espino J, et al., 2009. A putative ABC transporter confers durable resistance to multiple fungal pathogens in wheat. *Science* 323(5919): 1360–3.
- Lagudah ES, McFadden H, Singh RP, Huerta-Espino J, Bariana HS, et al., 2006. Molecular genetic characterization of the Lr34/Yr18 slow rusting resistance gene region in wheat. *Theoretical & Applied Genetics* 114(1): 21–30.
- Line RF, 2002. Stripe rust of wheat and barley in North America: a retrospective historical review. *Annual Review of Phytopathology* 40(1): 75–118.
- Liu R, Lu J, Zhou M, Zheng S, Liu Z, et al., 2020. Developing stripe rust resistant wheat (*Triticum aestivum* L.) lines with gene pyramiding strategy and marker-assisted selection. *Genetic Resources & Crop Evolution* 67(2): 381–91.
- Lowe I, Jankuloski L, Chao S, Chen X, See D, et al., 2011. Mapping and validation of QTL which confer partial resistance to broadly virulent post-2000 North American races of stripe rust in hexaploid wheat. *Theoretical & Applied Genetics* 123(1): 143–57.
- Ma H, Singh RP, 1996. Contribution of adult plant resistance gene Yr18 in protecting wheat from yellow rust. *Plant Disease* 80: 66–69.
- Mirahmadi H, Bagherzadeh F, Pourtabrizi S, Kazemipour A, Dorrani-nejad M, et al., 2024. Using marker-assisted backcrossing to transfer stripe rust resistance genes to Iranian wheat cultivars. *Plant Production & Genetics* 5(2): 201–10.
- Morgounov A, Tufan HA, Sharma R, Akin B, Bagci A, et al., 2012. Global incidence of wheat rusts and powdery mildew during 1969–2010 and durability of

- resistance of winter wheat variety Bezostaya. *European Journal of Plant Pathology* 132: 323–340.
- Msundi EA, Owuoche JO, Oyoo ME, Macharia G, Singh RP, *et al.*, 2021. Identification of bread wheat genotypes with superior grain yield and agronomic traits through evaluation under rust epiphytotic conditions in Kenya. *Scientific Reports* 11(1): 21415.
- Omrani A, Afshari F, Shahbazi K, Kabiri A, 2024. Investigating the reaction of resistance to stripe rust disease (*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*) in commercial cultivars and promising wheat lines (candidate to be introduced as a commercial cultivar). *Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture)*. 47(3): 79–97. (In Persian with English abstract)
- Pouryousefi K, Pourtabrizi S, Mohamadinejad G, Ghaderi M, Nakhoda B, *et al.*, 2022a. Transferring four yellow rust resistance genes to wheat cv. Kalhaydari using marker assisted backcrossing. *Plant Pathology [Internet]* 57 (4): 291–301. (In Persian with English abstract)
- Pouryousefi K, Pourtabrizi S, Mohamadinejad G, Ghaderi M, Nakhoda B, *et al.*, 2022b. Transferring of *Yr5* and *Yr15* genes using marker assisted back cross to confer yellow rust resistance. *Modern Genetics Journal [Internet]* 17 (1): 79–85. (In Persian with English abstract)
- Rutkoski JE, Krause MR, Sorrells ME, 2022. Breeding methods: population improvement and selection methods. In wheat improvement: food security in a changing climate 3. Springer, 13 pp.
- Safavi SA, 2021. Field-based assessment of partial resistance to yellow rust in some candidate wheat lines. *Journal of Applied Research in Plant Protection* 9 (4): 33–47.
- Singh RP, Huerta-Espino J, Bhavani S, Herrera-Foessel SA, Singh D, *et al.*, 2011. Race non-specific resistance to rust diseases in CIMMYT spring wheats. *Euphytica* 179(1): 175–86.
- William M, Singh RP, Huerta-Espino J, Islas SO, Hoisington D, 2003. Molecular marker mapping of leaf rust resistance gene *Lr46* and its association with stripe rust resistance gene *Yr29* in wheat. *Phytopathology* 93(2): 153–9.
- Zhang M, Zeng M, Tian B, Liu Q, Li G, *et al.*, 2024. Evaluation of resistance and molecular detection of resistance genes to wheat stripe rust of 82 wheat cultivars in Xinjiang, China. *Scientific Reports* 14(1): 31308.
- Zhang S, Wen Z, DiFonzo C, Song Q, Wang D, 2018. Pyramiding different aphid-resistance genes in elite soybean germplasm to combat dynamic aphid populations. *Molecular Breeding* 38(3): 29.
- Zhang YP, Uyemoto JK, Kirkpatrick BC, 1998. A small-scale procedure for extracting nucleic acids from woody plants infected with various phytopathogens for PCR assay. *Journal of Virological Methods* 71(1): 45–50.