Etude de lignées de blé tendre utilisées dans un programme d'amélioration génétique pour la résistance à la rouille jaune en Algérie

Study of soft winter wheat lines in a genetic program for improved yellow rust resistance in Algeria

Chaneze Amira Zaidi[*1], Abdelkader Benbelkacem [2] & Louhichi Brinis[1]

[1]Department de biologie, Université Badji Mokhtar, BP 12, 23000, Annaba, Algérie
[2]Institut national de recherché agronomique (INRA), Constantine, Algérie

Soumis le :23/02/2017 *Révisé le : 24/12/2017* *Accepté le : 25/01/2018*

ملخص

تمت دراسة ثلاثة أصناف Hiddab 1220* Avocet 'S' ciano 79 تمت دراستها كأساس جيني للتكيف مع الظروف المحلية . أصناف Avocet 'S * 3 / Yr18' و Ciano 79. يعتبر HDأساسا لتكيف مع الظروف المحلية. أصناف Avocet 'S * 3 / Yr18' و Ciano 79 خطوط ذات جينات مقاومة رئيسية Yr 18 و Yr 27 المقاومة و المختارة في CIMMYT. على أساس هذه الدراسة, Ciano 79 حاملة جين Yr27 أظهرت مقاومة أفضل للصدأ الأصفر في الظروف المحلية وجودة تكنولوجية أفضل في ضوء وجود وحدات gluenines HMW 5 + 10 مكان Glu-DI ونتيجة لذلك ، يمكن استخدامه في إنتاج أصناف جديدة من القمح اللين ذات جودة تكنولوجية ومقاومة جيدة. اظهرت الجينيات Yr 18 مستوى متوسط من المقاومة , وهدا الجين يمكن استخدامها مع pyramiding الجين الآخر الذي ينطوي على دمج جينات مقاومة محددة معتدلة. لإنتاج أصناف ذات مقاومة أكثر دواما للصدأ. تائج هذه الدراسة سيتم تطويرها بشكل أكبر عن طريق توصيف الواسمات الجزيئية وتشكيل تركيبة وحدات الغلوتينين ذات الوزن الجزيئي المرتفع (HMW) ؛ للسلالة الحصول عليها من اجل تحديد السلالة الاولية لاستخدامها بعد في برنامج تحسين مقاومة الصدأ الأصفر.

الكلمات المفتاحية :القمح اللين.جينات المقاومة .الصدأ الأصفر.شدة المرض..غلوتينين

Résumé

Trois cultivars, Hiddab 1220, Yr18/3 Avocet 'S' et Ciano 79, ont été étudiés. HD est considérée comme une base génétique d'adaptation aux conditions locales. Les variétés Yr18/3* Avocet 'S' et Ciano 79, sont des lignées avec des gènes majeurs de résistance Yr18 et Yr27, choisies dans du matériel du CIMMYT. Sur la base de cette étude, Ciano 79 portant le gène Yr27, a montré une meilleure résistance à la rouille jaune dans les conditions locales et une meilleure qualité technologique, vu la présence de sous-unités de gluténines à HMW 5+10 du locus Glu-D1. De ce fait il peut être utilisé dans la production de nouvelles variétés de blé tendre résistantes et de bonne qualité technologique. Le gène Yr18 a montré un niveau de résistance modéré ; ce gène pouvant être utilisé avec d'autre gène par pyramidage, qui consiste à l'incorporation des gènes de résistance spécifiques majeurs pour produire des variétés présentant une résistance plus durable aux rouilles. Les résultats de cette étude, seront approfondis par la caractérisation par marqueurs moléculaires et analyse de la composition des sous-unités de gluténines à haut poids moléculaire (HMW), des descendances obtenues, afin d'identifier des pré-lignées qui seront utilisées dans un programme d'amélioration de résistance à la rouille jaune.*

Mots clé : *Blé tendre-gènes de résistance rouille jaune-sévérité de la maladie- gluténine à HWM.*

Abstract

*Three cultivars, Hiddab 1220, Yr18/3 * Avocet 'S' and Ciano 79, were studied. HD is considered a genetic adaptation basis for local conditions. TheYr18/3 * Avocet 'S' and Ciano 79 varieties are lines with major Yr18 and Yr27 resistant genes, selected from CIMMYT material. On the basis of this study, Ciano 79 carrying the Yr27 gene showed better resistance to yellow rust under local conditions and better technological quality, given the presence of HMW 5 + 10 glutenin subunits of Glu locus -D1. As a result, it can be used in the production of new soft wheat varieties that are yellow rust resistant and of good technological quality. The Yr18 gene showed a moderate level of resistance, indicating that this gene can be used with other genes by pyramidization, which consists of the incorporation of major specific resistance genes to produce varieties with more durable resistance to rusts. The results of this study will be further explored by molecular marker characterization and composition analysis of obtained progenic or off-spring high molecular weight (HMW) glutenin subunits in order to identify predecessors that might be used in a Yellow rust resistance improvement program.*

Key words: *Triticum aestivum- resistance genes- yellow rust-disease severity- - HWM glutenin*

[*] *Auteur correspondant : shanez.amira@hotmail.com*

©UBMA - 2018

1. INTRODUCTION

En Algérie, la céréaliculture constitue la principale spéculation de l'agriculture par son importance dans l'alimentation de la population et l'importance des superficies qu'elle occupe. Bien qu'elle couvre 3,5 millions d'hectares, soit 60% des superficies cultivées, le rendement demeure faible et irrégulier. En 2016, la production de blé en Algérie a atteint 3 500 000 tonnes [1]. Toutefois, l'Algérie reste parmi les premiers pays importateurs de blé dans le monde, selon le centre national de l'informatique et des statistiques(C.N.I.S)les importations des blés en 2015 ont été de l'ordre de 13,67 million de tonnes[2]. Les faibles niveaux de rendement sont souvent expliqués par l'irrégularité de la pluviométrie et la sensibilité de la majorité des cultivars aux maladies fongiques. Ce qui a contraint l'introduction de nouvelles variétés à haut rendement, ces dernières se sont rapidement avérées inadaptées et présentent une sensibilité aux maladies. Parmi les maladies fongiques les plus courantes chez le blé tendre (*Triticum aestivum* L.), on note la rouille jaune, causée par *Puccinia striiformis* Westend. F. Sp. *tritici* Eriks (Pst). Elle est largement répandue avec des épidémies à grande échelle [3];[4]. Cette maladie prévaut dans les climats froids et durant les années les plus froides [5]. Elle Cause des pertes de rendement (10 à 70%), de la qualité des céréales ainsi que la paille [3]. En Algérie la rouille jaune avait affecté durant la campagne agricole 2003/2004 la région Est, provoquant des dégâts considérables sur le blé tendre et surtout sur la variété HD 1220, où il y a eu même une incidence de 70 à 100% sur le rendement des cultures touchées[6]. Bien que plusieurs fongicides efficaces soient disponibles pour la lutte contre la rouille jaune, leur utilisation augmente le coût de production et sont considérés comme néfastes à l'environnement. Dès lors, le développement de nouvelles variétés présentant des résistances durables à la rouille jaune est devenu un enjeu majeur pour les sélectionneurs de blé, pour faire face à cette épidémie. Plusieurs gènes qui confèrent une résistance à ces rouilles ont été identifiés et utilisés dans les programmes de sélection visant à réduire les pertes de rendement[7]. Jusqu'à ce jour plus de 70 gènes de résistance à la rouille ont été identifiés chez le blé [8].De nombreux marqueurs moléculaires liés à des gènes de résistance spécifiques à la rouille ont été caractérisés dans le blé et peuvent être utilisés dans la sélection assistée par marqueurs (SAM). Parmi les techniques les plus fiables, on note les microsatellites ou « SSR », vu leur abondance dans le génome elles présentent des niveaux plus élevés de polymorphismes par rapport aux autres marqueurs. Cependant, en raison de la coévolution de l'hôte et du pathogène, la plupart des cultivars de blé avec des gènes spécifiques à la race sont devenus inefficaces dans une période de temps où ils ont été largement utilisés en raison de l'émergence de nouvelles races de rouille virulentes [9]; [10]; [11]; [12]. Le pathogène fongique évolue rapidement en nouvelles races par mutation et hybridation somatique[13]. De ce fait la recherche de nouvelles variétés avec différents gènes de résistance reste continuellement nécessaire pour remplacer les variétés devenues sensibles. Le développement et l'utilisation de gènes de résistance dans la production du blé est l'approche la plus efficace, la plus économique et la plus respectueuse de l'environnement pour la lutte contre la rouille jaune du blé [3]. Parmi toutes les mesures de contrôle de cette maladie, la résistance génétique est la seule mesure de contrôle économique et pratique, qui n'entraîne aucun coût supplémentaire à l'agriculteur [14]. La résistance à la rouille de type non spécifique est souvent associée à un accroissement du temps entre l'infection et la sporulation (périodes latentes plus longues), production de moins d'urédinées et de tailles urediniennes plus faibles [15]; [16]; [17]. De nombreuses études ont rapportés que le gène Yr18 comme étant associé à Lr34, gène de résistance à la rouille brune (*Puccinia triticina* Eriks), confèrent une résistance (slow rusting) à la rouille brune et jaune et sont connus pour être pléiotropes ou complètement liés l'un à l'autre [18];[19]. Bien que les gènes Lr34 et Yr18 ne puissent pas fournir une résistance adéquate en condition de maladie sévère [20];[21];[22], ils pourraient contribuer à atteindre des niveaux acceptables de résistance en combinaison avec d'autres gènes de résistance [23];[24]. Le locus Lr34/Yr18, est de grande valeur en raison de sa contribution à la résistance durable contre deux pathogènes de rouille [25]. Le gène de résistance Yr27, antérieurement connu sous le nom de gène de 'Selkirk' ou YrSk, est présent dans un certain nombre de blés produits et distribués par le CIMMYT (Centre International d'Amélioration du Maïs et du Blé)[26]. Yr27 a été localisé dans le chromosome 2B du blé et s'est révélé étroitement lié aux gènes de résistance à la rouille brune Lr13 et Lr23. Bien que le gène Yr27 fût souvent difficile à identifier dans les populations ségrégantes au stade plantule, il est apparemment très efficace pour conférer une résistance aux cultures dans des conditions de terrain[27].La pérennité d'une variété est d'autant mieux assurée si elle donne, d'abord, des rendements régulièrement élevés, qu'elle possède une qualité boulangère satisfaisante, voire excellente et un niveau acceptable de résistance aux maladies.

©UBMA - 2018

Cependant, dans le blé algérien l'information sur l'existence de source de résistance à la rouille jaune n'est pas disponible. Ainsi, il est donc utile d'introduire dans nos variétés locales des sources de résistance à la rouille jaune. L'objectif principal de notre étude est de mettre en évidence l'efficacité de la résistance à la rouille jaune de quelques lignées parentales de blé tendre, utilisées dans un programme d'amélioration assistée par marqueurs moléculaires. Pour atteindre cet objectif, il était nécessaire de développer trois volets complémentaires, qui sont :

i. Sélection sur la base du rendement ;
ii. Sélection sur la base de la composition du grain en protéines de réserve ;
iii. Sélection sur la base des indices de tolérance aux stress dus au pathogène.

2. MATERIEL ET METHODES

2.1 *Conduite de l'expérimentation*

L'expérimentation a été conduite sur le site de la station expérimentale de l'Institut Technique des Cultures Maraichères et Industrielles (I.T.C.M.I) El-Kous, au cours de la campagne agricole 2015/2016. La station est située à une altitude de 5 m, aux coordonnées géographiques 36°47'11.70"N et 7°51'59.24"E. Les terres sont caractérisées par un relief plat. Les sols, appartenant à la classe des sols argileux à limono- argileux. Les lignées parentales ont été semés chacune sur des parcelles élémentaires de 6 rangs de 1 m de long avec 20cm d'écartement entre rangs adjacents, selon un dispositif en blocs complètements randomisés avec trois répétitions. La dose de semis appliquée pour chaque génotype était de 25g/m^2.

2.2 *Matériel végétal*

Les lignées étudiées au cours de cette étude, sont : Hiddab 1220 (HD), *Yr*18/3* Avocet 'S'(*Var1*), Ciano 79(*Var2*) et Morocco(Mo). HD est considérée comme une base génétique d'adaptation aux conditions locales, elle est utilisée dans la majorité des étages bioclimatiques du pays, et elle est très appréciée par les agriculteurs. Néanmoins, elle présente une sensibilité élevée à la rouille jaune, son rendement chute fortement sous forte attaque de ce pathogène. *Var1* et *Var2* sont considérées comme une base génétique de résistance à la rouille jaune. Ce sont des lignées avec des gènes de résistance Yr18 et Yr27 respectivement, choisies dans du matériel du CIMMYT. Le cultivar Mo, considéré comme super-sensible, a été semé comme épandeur de spores et en tant que témoin sensible de référence.

2.3 Dépistage de la maladie au champ

L'infection a eu lieu naturellement. Les notations sur terrain de la maladie ont débuté lorsque les premiers symptômes ont commencé à apparaître sur les feuilles. Six évaluations de la gravité ont été effectuées, soit tous les trois à sept jours jusqu'à la fin de l'épidémie. L'évaluation de la gravité (sévérité) de l'infection a été basée sur l'échelle de Cobb modifiée [28], où le pourcentage des tissus affectés par la rouille a été estimé visuellement sur les trois dernières feuilles, pour 20 plants de chaque cultivar. Tandis que la réponse qualitative de l'hôte à l'infection, à savoir le type d'infection (TI) a été évaluée comme décrit par Roelfs et *al*.[29]. Trois types d'infection ont été utilisés: R (résistant, sans tissu sporulant dans les lésions, ou de très petite taille et entouré de nécrose et de chlorose), MR (modérément résistant, avec une petite zone de tissu sporulé entourée de chlorose ou de nécrose), MS (modérément sensible, avec une zone sporulée de taille modérée et sans chlorose ni nécrose). Le développement de l'épidémie est exprimé également par une variable intégrative, l'aire sous la courbe de progression de la maladie (AUDPC), qui a été également calculé pour chaque cultivar, en utilisant l'équation adoptée par Pandy et *al*.(1989)[30]. La valeur de cette AUDPC dépend du nombre de notations effectuées et également de la durée en jours entre chacune des notations, selon la formule suivante: AUDPC = Σ [(yi + yi+n)/2] * [(ti - ti+n)].Avec yi : % de destruction à l'i^{ème} observation et yi + 1, % de destruction à l'i^{ème}+1 observation. ti : date de l'i^{ème} observation en jour après plantation et ti + 1, la date de l'i^{ème} +1 observation. Afin d'évaluer le rendement des mesures post récolte ont été effectuées : le poids de 1000 grains(PMG)et le rendement en grain(Rdt), diverses mesures ont été faites au cours de la saison: la précocité(DPV) et la surface foliaire(SF).

©UBMA - 2018

2.4 Caractérisation moléculaire

Ces observations ont été appuyées par l'analyse de l'ADN par PCR afin de confirmer les observations sur champ et mettre en évidence la résistance à la rouille jaune des cultivars étudiés. Les marqueurs disponibles ont été testé afin d'identifier ceux à utiliser en sélection assistée par marqueurs(Tab.1).

2.4.1 Extraction de l'ADN génomique

L'ADN génomique total des échantillons a été extrait à partir des graines en suivant le protocole proposé par Saghai- Maroof et *al*. [31], comme suit : pour chaque génotype, on a procédé au broyage dans un mortier d'un demi-grain. La farine obtenue est transférée dans un Eppendorf de 2ml. On ajoute500µl de tampon d'extraction (100 mM Tris–HClpH 8). Après agitation au vortex, le mélange est incubé à 65°C avec agitation constante. On ajoute 500µl de chloroforme alcool isoamyl (24 :1) et on mélange bien les phases. On centrifuge à 13.000 r.p.m. pendant 10 minutes. On récupère 400µl de la phase supérieure et on la transfère à un nouveau tube. On ajoute 400µl d'isopropanol refroidi préalablement à(-20°C) et on mélange doucement. Après centrifugation pendant 5 minutes à 13.000 r.p.m. On élimine le surnageant et on ajoute 500µl d'éthanol a 70% refroidi à(-20°c), on décolle le culot, et on le laisse durant 5 minutes à température ambiante. On élimine le surnageant et on laisse sécher les tubes. On suspend l'ADN dans 100µl de TE et on le garde au frigo à 4°C.

2.4.2 Visualisation et quantification de l'ADN génomique

L'ADN obtenu est observé aux deux différentes longueurs d'onde 260/280 et 260/230 à l'aide du Nanodrop spectrophotomètre (*Biophotometer*), en utilisant 5µl d'ADN, chargés sur du gel d'agarose à 2%.

2.4.3 Amplification PCR et analyse électrophorétique

Des amplifications par PCR ont été effectuées en utilisant le mélange réactionnel de PCR suivant: 2µl de la matrice d'ADN, 1µl de tampon 6X et 15µl d'eau, 2,5 µl de désoxynucléotide triphosphates (dNTPs), 1,25 µl de chaque amorce et 1U de polymerase Taq. L'amplification par PCR a été réalisée dans un thermo-cycler(Bio-Rad Thermal Cyclers C1000). Les conditions cycliques thermiques étaient les suivantes: étape de dénaturation initiale pendant 2 min à 94°C, suivie par 35 cycles de 1 min à 94°C(dénaturation), 1 min à 37°C(appariement), 2 min à 72°C(élongation), suivi d'une élongation finale de 5 min à 72°C. Les températures d'appariement des amorces étaient différentes en fonction de la température de fusion (tableau 1). Les produits d'amplification (4µl de PCR, 2µl de tampon SBx6 (*Sample Buffer* x6) et 6µl d'eau),ont été résolus par électrophorèse dans un gel d'agarose à 2% colorés avec le GelRed(*Biotium*), et visualisés avec un système de documentation de gel microDOC avec transilluminateur à UV. Les amorces expérimentées ont été retenus en fonction des résultats déjà décrits [27];[32];[33];[34];[35].

Tableau 1. Marqueurs moléculaires utilisés et programme d'amplification PCR recommandé

Marqueurs moléculaire	Localisation	Type de marqueur	Gènes	Température d'appariement
Xgwm410	2BS	SSR	Yr27	53°C
Xgwm55	2BL	SSR	Yr27	58°C
Xgwm 16	2B	SSR	Yr27	50°C
Xgwm148	2B	SSR	Yr27	55°C
Xgwm295	7D	SSR	Yr18	58°C
Xbar092	7D	SSR	Yr18	50°C
csLV34	7D	STS	Yr18	55°C

2.5 Analyse des gluténines à haut poids moléculaire(HMW)

La méthode de séparation des protéines de réserve utilisée, est l'électrophorèse SDS-PAGE.L'extraction des protéines a été réalisée à partir de la farine obtenue après broyage du demi-grain (20 mg)et recueillie dans un Ependorff de 1,5 ml. L'analyse a été effectuée sur 08 graines pour chaque génotype avec objectif de déterminer l'homogénéité de chaque variété et d'analyser la composition de gluténines à haut poids moléculaire(HWM) pour chaque parent.

La méthode utilisée pour l'extraction des protéines est la technique d'extraction séquentielle décrite par Singh et *al*.[36] et qui consiste à extraire les protéines de réserve séquentiellement selon leur solubilité dans les trois solutions d'extraction de base (Tab. 2).

©UBMA - 2018

Tableau 2. Composition des solutions utilisées pour l'extraction des protéines de réserve

Solution A	Solution B	Solution C
50 % (v/v) Propanol	50 % (v/v) Propanol	2 % (p/v) SDS
	0,08 M Tris-HCl pH 8.0	40% (p/v) Glycérol
		0,02% (p/v) bleu de Bromophénol
		0,08 M Tris- HCl pH 8,0

Dans cette méthode de séparation, deux types de gels sont utilisés (tableau 3) : Un gel de séparation qui permet de fractionner les différentes protéines et les sous-unités protéiques selon leurs poids moléculaires et un gel de concentration permettant de retenir les impuretés et de tasser les protéines. Le tampon de migration est constitué de : glycine à 40% (p/v), de Tris-HCLpH8,8 à 0.08 (p/v), de SDS à 2% (p/v) et bleu de bromophénol 0,02 % (p/v). Après le dépôt des échantillons (18 à 24 µl), la migration est menée avec une intensité constante de 45mA/gel pendant 2-3 heures. Après la sortie du front de migration (coloré en bleu), les gels sont démoulés et recouverts avec une solution de coloration constituée d'un fixateur des protéines, le TCA (acide trichloracétique)à 12%, éthanol 96° et d'un colorant, le bleu de Coomassie R250. On utilise 250 ml de solution pour chaque gel. Les gels sont maintenus en agitation pendant 24 heures pour éviter le dépôt du colorant. Après, ils sont décolorés à l'eau du robinet. La lecture des gels est faite sur la base des nomenclatures établies par Payne et Lawrence [37] et Vallegaand Waines[38], modifiées par Branlard et *al*.[39].

Tableau 3. Composition des gels de séparation et de concentration de SDS-PAGE.

Gel de séparation (running gel) à12%		Gel de concentration (stacking gel)	
Acrylamide 35%	17,5 ml	Acrylamide 35%	1,71 ml
Bisacrylamide 2%	3 ml	Bisacrylamide 2%	0,433ml
Eau distillée	18,8	Eau distillée	15,2 ml
Tris HCL pH 8,8	8,3	Tris HCL pH 6,8	2,5 ml
SDS 10%	0,5	SDS 10%	0,2 ml
Ammonium persulfate (APS) 1% (p/v)	1,25	Ammonium persulfate (APS) 1% (p/v)	1,0 ml
TEMED	25µl	TEMED	20µl

2.6 Analyse statistique

Les données collectées ont été analysées selon le dispositif en blocs complètement randomisés avec trois répétitions. Pour l'analyse statistique le logiciel utilisé est le MINTAB 16.0.

3. RESULTATS ET DISCUSSION

3.1 Dépistage de la maladie au champ

Selon les données obtenues sur le terrain (tableau 4), nous constatons que Mo, a présenté une sensibilité modérée de type MS à la maladie. Ainsi, le niveau de résistance des cultivars n'a pas été évalué comparativement à un contrôle sensible. Il existe des preuves d'un certain niveau de résistance de Morocco à la rouille jaune dans les conditions de champ [40], et il ne peut être exclu qu'un certain niveau de résistance quantitative contre un isolat donné existe dans cet ancien cultivar. Ces mêmes résultats ont été obtenus par Azzimonti et *al.*[41]. Aucun des cultivars étudiés, n'a présenté une susceptibilité complète à l'infection. *Var1*a présenté une sensibilité modérée(MS), ces résultats confirment les résultats obtenus par Bux et *al.*[42]. Notons que *Var2* portant le gène de résistance,

©UBMA - 2018

Yr27 a été efficace, ce cultivar a été résistant(R). Ces résultats coïncident avec ceux obtenus par McDonald et *al*.[27]. Comme décrit par Wellings [26] et illustré par McIntosh et *al*.[7], les plantules des génotypes de blé avec le gène de résistance Yr27, lorsqu'ils sont infectés par des pathotypes Pst australiennes produisent des nécroses de types d'infections faibles nécrotiques avec des quantités variables de spores. La variété locale HD était moyennement résistante(MR). En se basant sur la sévérité finale de la maladie, nous avons obtenu des taux de 20%, 40% et 50%. *Var1* a présenté une sévérité de la maladie allant jusqu'à 50%. *Var2* avait une meilleure résistance avec une sévérité de 20%, la variété HD a présenté une sévérité de 20% et Mo 40%. Parmi les 04 lignées analysées sous épidémie au champ, nous constatons qu'elles ont présenté une résistance quantitative au pathogène, avec des valeurs allant de 124 à 430. La lignée*Var2* avec une valeur de 124, apparait ici comme modérément résistante, alors que *Var1* s'est montré la plus sensible, avec une valeur de 430. A la lumière de ces résultats, nous déduisons que *Var2*, a présenté une meilleure résistance et une évolution plus lente de la maladie par rapport aux autres lignées. Cette même lignée a montré un PMG maximum (39 g). Par contre *Var1*, qui a montré une valeur élevée d'AUPDC(430)par rapport aux autres lignées, a produit des grains avec le plus faible PMG (34,33 g). Cependant, le cultivar Mo, a présenté un PMG élevé (37,33 g), avec une valeur AUPDC relativement élevée. Le rendement le plus élevé a été obtenu par la lignée *Var2*(11,12 qx/ha). Le rendement plus faible a été de 3,56qx/ha, chez Mo qui a présenté une sensibilité modérée à l'infection. Auparavant, Allan et *al*.[43] ont également signalé l'impact de la rouille sur les pertes de rendement des grains. En ce qui concerne la précocité, nous constatons que la *Var1*, dont le cycle végétatif a été le plus long (116 j), a présenté une sensibilité élevé au pathogène (50%) et la valeur la plus élevée d'AUPDC(430).

Tableau 4.Paramètres de résistance des cultivars étudiés avec le PMG et le rendement obtenu

Génotypes	TI	Sévérité	AUPDC	DPV (J)	SF (Cm^2)	PMG (G)	Rdt (Qx/ha)
HD	MR	20	204	100	45,49	35,00	8,95
Var1	MS	50	430	116	58,39	34,33	10,21
Var2	R	20	124	103	53,12	39,00	11,12
Mo	MS	40	284	100	54,81	37,33	3,56

Selon les résultats obtenus (tableau5), on note une corrélation positive hautement significative entre la sévérité de la maladie et l'AUPDC(0,887). Nous constatons également une corrélation positive significative entre le PMG(0,587), l'AUPDC(0,589)et la sévérité de la maladie, ces résultats correspondent à ceux obtenus par Ali et *al.*[12]; En dépit de la sensibilité à la rouille, le PMG peut être dû, au potentiel génétique de la variété. Le rendement et la sévérité de la maladie présentent une corrélation positive non significative(0,203), James et *al*.[44]ont démontré qu'il existe dans différentes situations une corrélation entre les pertes de rendement et la valeur de AUDPC. Néanmoins, certaines études ont proposé que la tolérance et le potentiel de rendement seraient négativement corrélés [45];[46];[47]. Selon Ney et *al*.[48], ces types d'approche apportent peu de possibilités de généralisation car ils ne prennent pas en compte le fonctionnement du couvert. Dans le cas de la caractérisation de la maladie par l'AUDPC, le pourcentage de nécroses peut être élevé tout en laissant suffisamment de surface photosynthétique saine pour assurer une production suffisante d'assimilats. Une corrélation positive est observée entre la sévérité de la maladie et la surface foliaire(SF), ce qui peut s'expliquer comme un moyen de compensation mis en œuvre par la plante en réponse à l'attaque parasitaire. La diminution de la photosynthèse des parties malades peut être compensée, soit par une augmentation de la photosynthèse des parties saines, soit par une augmentation de surface foliaire [48]. La photosynthèse des feuilles saines d'une plante malade ou des parties saines d'une feuille malade peut être, dans certains cas, augmentée temporairement en présence de la maladie [49].Une corrélation négative a été notée entre le PMG et le rendement, ces résultats confirment ceux obtenus par Bahlouli et *al*.[50], qui indiquent que l'expression d'un rendement élevé est associée positivement à un nombre d'épis par m^2, aux nombres de grains par m^2 et de la fertilité des épis mais négativement liée au PMG. Signalons que Ledent [51], dans une étude menée pendant quatre années sur 77 génotypes de blé, ne trouve pas de corrélations significatives entre le poids moyen d'un grain et le rendement par mètre carré.

©UBMA - 2018

Tableau 5.Matrice de corrélation des paramètres analysés

	PMG	RDT	DPV	SF	AUPDC	Sévérité
RDT	-0,157 0,626	1				
DPV	0,210 0,512	0,184 0,567	1			
SF	0,047 0,884	0,014 0,965	0,537 0,072	1		
AUPDC	0,587 0,045*	0,195 0,544	0,502 0,096	0,622 0,031	1	
Sévérité	0,589 0,044*	0,203 0,527	0,505 0,094	0,436 0,157	0,887 0,000***	1

3.2 Caractérisation moléculaire

Des analyses moléculaires avec le marqueur csLV34 ont amplifié deux allèles d'une taille de 150 bp étroitement lié au gène de résistance Yr18 et à une autre taille de 230 bp, non associé à la résistance (figure2). Le génotype HD, *Var1* et *Var2*, portent un allèle marqueur de 150 bp, indiquant la présence de Yr18 dans ces cultivars. Le marqueur Xbarc92 met en évidence le polymorphisme existant entre les génotypes analysés (figure1). Le gène de résistance Yr18, qui confère une résistance à la rouille jaune au stade plante adulte, a fourni un certain niveau de résistance, dans les conditions locales du champ au cours de l'année d'étude. La résistance durable à la rouille jaune chez de nombreuses variétés de blé, a été attribuée à la présence du gène Yr18 [18];[19]. Les gènes de résistance à la rouille jaune, non spécifiques englobent Yr18, Yr29, Yr30, Yr36, Yrns-B1 et YrA1 à YrA8[52], confèrent une résistance lente. En tant que source majeure et contribuant à la résistance durable des plantes adultes, les cultivars portant le gène Yr18 ont été cultivés sur une superficie considérable pendant plus de 50 ans [53] ;[54].Un marqueur moléculaire récemment développé, csLV34 lié à Yr18 [34] a confirmé ces résultats en démontrant que la *Var1* possédait cette résistance, résultats soutenus par l'étude de Shah et *al*.[55].

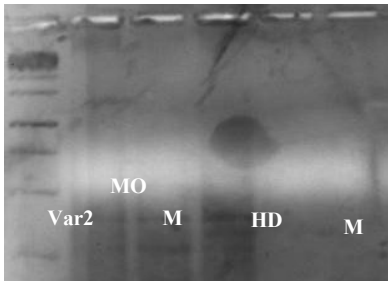

Figure 1 : Xbarc92, PCR amplification des génotypes HD, Var1 Var2 et Mo. M est le marqueur (λ, 1 KB)

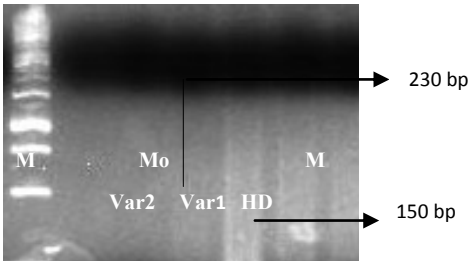

Figure 2: csLV34 PCR amplification des génotypes HD, Var1 Var2 et Mo. M est le marqueur (λ, 1 KB)

3.3 Analyse électrophorétique du polymorphisme des SG-HMW:

De nombreuses études ont démontré que les gluténines (HMW)sont le groupe de protéines de l'endosperme qui présentent la plus grande influence sur les propriétés technologiques de la pâte du blé et que 60% des variations qui existent dans la force du gluten des différentes variétés de blé s'expliquent par la variabilité dans la composition du gluten[56];[57];[58].La composition génétique en sous-unités de gluténines HMW est représentée dans le tableau 6. La lecture des gels de l'électrophorèse nous permet d'identifier trois (03) sous-unités de gluténines à HMW codifiées par les

©UBMA - 2018

locus *Glu-A1*: 1 (allèle *a*), 2*(allèle *b*) nulle (allèle *c*).Le locus *Glu-B1*, codifie les allèles b, *f* et *i* (paire de sous-unités 7+8, 13+16 et 17+18, respectivement). On identifie aussi la paire de sous-unités 7*+9, qui a été décrite auparavant par Tahir et *al*.[59] et Rodrigez-Quijano et *al*.[60] et la paire des sous-unités 7*+8 (allèle*u*, décrit par Pogna et *al*.)[61]. Le locus *Glu-D1*, codifie trois allèles : *a*(pour les sous unités 2+12),l'allèle *c*(pour 4+12) décrites par Payne et Lawrence [37]et l'allèle *d*(pour la paire de sous-unités 5+10).

Tableau 6 : Loci codifiant les sous-unités des gluténines (HMW) des lignées analysées.

Locus	Allèle	Sous-unités de gluténines HMW
Glu-A1	*a*	1
	b	2*
	c	Nulle
Glu-B1	*b*	7+8
	f	13+16
	i	17+18
	u	7*+8
Glu-D1	*a*	2+12
	c	4+12
	d	5+10

Le tableau 7 représente les sous unités des gluténines (HMW) des génotypes étudiés. Nous constatons que*Var2*, présentent la paire de sous unités 5+10 du locus*Glu-D1*.Payne et *al*. [62] ; [63]et Pogna et *al*.[61]ont mis en évidence l'influence des sous-unités de gluténines 5+10 du locus *Glu-D1*, de la bonne qualité boulangère par rapport à l'allèle 2+12.Sánchez-Garcia et *al.*[64]ont démontré que les lignées qui présentent les sous-unités 5+10, présentent de meilleures caractéristiques technologiques et ceci indépendamment des gluténines HMW qui se trouvent au niveau des deux autres loci.

Tableau 7.Composition allélique des sous-unités de gluténines HMW des lignées parentales étudiées

Varietés	Loci		
	Glu-A1	Glu-B1	Glu-D1
Var1	Nulle	7*+8	2+12
Var2	1	17+18	5+10
Mo	Nulle (2*)	7+8	2+12
HD	1	17+18	4+12

4. CONCLUSION

Sur la base de cette étude, le cultivar Ciano79(*Var2*), portant le gène de résistance Yr27, a montré une meilleure résistance à la rouille jaune, un meilleur PMG(39 g), un meilleur rendement(11,12 qx/ha) et une meilleure qualité technologique, vu la présence de sous-unités de gluténines à HMW 5+10 du locus *Glu-D1*. De ce fait il peut être utilisé dans la production de nouvelles variétés de blé tendre résistantes et de bonne qualité boulangère. La production de ce matériel, nous permettra de disposer de descendances qui feront l'objet de travaux plus approfondis qui seront menés en continuité dans ce programme. L'exploitation de ces résultats doit conduire à la création de futurs géniteurs et/ou de variétés cumulant différents QTL de résistance à la rouille jaune par une approche de sélection assistée par marqueurs (SAM). Le gène Yr18 présent dans le cultivar *Yr18*/3* Avocet 'S', a montré un niveau de résistance modéré. Ce gène peut être utilisé avec d'autre gène par pyramidage, comme une stratégie de lutte préalable dans la région pour combattre le problème de rouille jaune. Les cultivars analysés

©UBMA - 2018

pour la mise en évidence du gène de résistance Yr18 en utilisant le marqueur csLV34 devraient être confirmés plus tard par des marqueurs spécifiques. Les résultats de cette étude, seront approfondis par la caractérisation par marqueurs moléculaires et analyse de la composition des gluténines HMW, des descendances obtenues, afin d'identifier des pré-lignées qui seront utilisées dans un programme d'amélioration de résistance à la rouille jaune. Notons également que durant les années de forte contamination, l'infection par un pathotype peut se faire naturellement, comme ça été le cas pour cet essai, vu les conditions climatiques favorables à la dissémination du champignon. Toutefois, c'est un frein à la bonne interprétation des résultats et donc à la détection des gènes majeurs spécifiques efficaces. En cas de contamination naturelle, il est aussi difficile d'évaluer la stabilité d'un QTL, dont l'expression va être modifiée en fonction des pathotypes qui interviennent dans la relation hôte-pathogène et du pool génétique. La détection de QTL dépend comme aussi de l'effet « notateur » car le repérage d'individus moyennement résistants est parfois plus délicat, quand l'évaluation repose, soit sur une note globale donnée à la lignée, soit sur une moyenne de notes obtenues sur chaque plante de la lignée [65]. A cet effet, des essais supplémentaires seront effectués afin de mettre en évidence la stabilité du matériel au cours des années.

REFERENCES

[01] FAO, 2014. Données statistiques des cultures. http://www.fao.org/faostat/fr/#data/QC , 18.02.2017.

[02] CNIS, 2016. Statistique du commerce extérieur de l'Algérie. Rap.19p.

[03] Chen X.M. 2005. Epidemiology and control of stripe rust (*Puccinia striiformis* f. sp. tritici) on wheat. *Can J Plant Pathol*., 27:314-337.

[04]Bux H., Rasheed A., Mangrio S.M., Abro S.A., Shah S.J.A., Ashraf M. and Chen X., 2012. Comparative Virulence and Molecular Diversity of Stripe Rust (*Puccinia striiformis* f. sp.tritici) Collections from Pakistan and United States. *Int. J. Agric. Biol*., 14: 851–860.

[05] Singh R.P., Huerta-Espino J., Roelfs A.P. 2002. Bread wheat improvement and production. Food and Agriculture Organization of United Nations, Rome.

[06] Ouffroukh A., Khelifi D., Dehimat L., 2011. Contribution à l'étude des maladies foliaires des céréales «Approche à l'étude épidémiologique et identification de la jaunisse nanisante de l'orge dans les céréales d'hiver dans les régions de l'Est d'Algérie », Sciences & Technologie C – N°33 Juin (2011), pp.53-61.

[07] McIntosh R. A., Wellings C. R., and Park R. F. 1995. Wheat Rusts: An Atlas of Resistance Genes. CSIRO Australia, Melbourne, Australia, and Kluwer Academic Publ. Dordrecht, the Netherlands.

[08] Cheng P. and Chen X.M. 2010. Molecular mapping of a gene for stripe rust resistance in spring wheat cultivar IDO377s. *Theor. Appl*. Genet., 121: 195-204.

[09] Wang F.L., Wu L.R., Xu S.C., Yang J.X. and Liu S.Y.1996. Systematic investigations on the breakdown of resistance in wheat cultivar Mianyang derivatives to stripe rust. *Acta. Phytopath. Sin*. 26: 105-109.

[10] Wu L.R. and Niu Y.C., 2000. Strategies of sustainable control of wheat stripe rust in China. *Sci. Agric. Sin*.33:1-7.

[11] Fu D L, Uauy C, Distelfeld A, Blechl A, Epstein L, Chen X, Sela H, Fahima T and Dubcovsky. 2009. A kinase-start gene confers temperature-dependent resistance to wheat stripe rust. *Science*., 323(591): 1357-1360.

[12] Ali M., Ji W.Q., Hu Y.G., Baloch G.M., Zhang H. and Wang C.Y. 2010. Molecular implications from SSR markers for stripe rust (*Puccinia striiformis* F.sp. tritici) resistance gene in bread wheat line N95175. *Pak. J. Bot*., 42(1): 383-390.

[13] Stubbs R.W. 1985. Stripe rust. In: Roelfs AP, Bushnell WR eds. Cereal rusts. vol. II. Disease, distribution, epidemiology, and control. Academic Press, New York, pp. 61-101.

[14] Singh R. P., William H. M., Huerta-Espino J., Rosewarne G. 2004. Wheat Rust in Asia: Meeting the Challenges with Old and New Technologies. *In* "Proceedings of the 4th International Crop Science Congress", Brisbane.

[15] Drijepondt S.C., Pretorius Z.A., 1989. Greenhouse evaluation of adult-plant resistance conferred by the gene *Lr34* to leaf rust of wheat. *Plant Dis*., 73:669-671.

[16] Rubiales D., Niks R.E. 1995. Characterization of *Lr34*, a major gene conferring non-hypersensitive resistance to wheat leaf rust. *Plant Dis*., 79:1208–1212.

[17] Kolmer J.A. 1996. Genetics of resistance to wheat leaf rust. *Annu Rev Phytopathol.,* 34: 435–455.

[18] McIntosh R.A .1992. Close genetic linkage of genes conferring adult plant resistance to leaf rust and stripe rust in wheat. *Plant Pathol*., 41:523-527.

[19] Singh R.P. 1992b. Genetic association of leaf rust resistance gene *Lr34* with adult-plant resistance to stripe rust in bread wheat. *Phytopathol*.82: 835-838.

[20] Ma H., and Singh R. P. 1996. Contribution of adult plant resistance gene *Yr18* in protecting wheat from yellow rust. *Plant Dis*., 80:66-69.

©UBMA - 2018

[21] Singh R. P., and Gupta A. K. 1992c. Expression of wheat leaf rust resistance gene *Lr34* in seedlings and adult plants. *Plant Dis*., 76:489-491.

[22] Singh R. P., and Huerta-Espino J. 1997. Effect of leaf rust resistance gene *Lr34* on grain yield and agronomic traits of spring wheat. *Crop Sci*. 37:390-395.

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

[24] Singh R. P., Huerta-Espino J., and William M. 2001. Slow rusting genes based resistance to leaf and yellow rusts in wheat: Genetics and breeding at CIMMYT. Pages 103-108 in: Proc. 10th Assembly of the Wheat Breeding Soc. of Australia, Mildura, Australia.

[25] Krattinger S.G., Lagudah E.S., Spielmeyer W., Singh R.P., Huerta-Espino J., et al. 2009. A putative ABC transporter confers durable resistance to multiple fungal pathogens in wheat. *Science*., 323: 1360-1363.

[26]Wellings C.R.1992. Resistance to stripe (yellow) rust in selected spring wheats. Vortr¨age f¨ur Pflanzenz¨uchtung 24: 273–275.

[27] McDonald D.B., McIntosh R.A., Wellings C.R., Singh R.P. & Nelson J.C. 2004. Cytogenetical studies in wheat XIX. Location and linkage studies on gene *Yr27* for resistance to stripe (yellow) rust. *Euphytica.,* 136: 239–2

[28] Peterson R.F., Campbell A.B., Hannah A.E. 1948. A diagrammatic scale for rust intensity on leaves and stems of cereals. *Can J Res*., 26: 496-500.41.

[29] Roelfs A.P., Singh R.P., and Saari E.E. 1992. Rust diseases of wheat: concepts and methods of disease management. CIMMYT: Mexico.

[30]Pandey H.N., Menon T.C.M, Rao M.V., 1989. A simple formula for calculating area under disease progress curve. RACHIS, 8 (2), pp. 38–39.

[31] Saghai-Maroof M.A., Soliman K.M., Jorgensen R.A. and Allard R.W. 1984. Ribosomal DNAsepacer-length polymorphism in barley: mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics. *Proc Natl Acad Sci*., 81:8014–8019.

[32] Yang E.N., Rosewarne G.M., Herrera Foessel S.A., Huerta Espino J., Tang Z.X., Sun C.F., Ren Z. L., Singh R.P. 2013. QTL analysis of the spring wheat ''Chapio'' identifies stable stripe rust resistance despite inter-continental genotype 3 environment interactions. *Springer.*126 :1721–1732

[33] Kolmer J. A., Ravi P. Singh, David F. Garvin, Libby Viccars, Harinder M. William, Julio Huerta-Espino,Francis C. Ogbonnaya, Harsh Raman, Simon Orford, Harbans S. Bariana, and Evans S. Lagudah.2008. Analysis of the *Lr34/Yr18* Rust Resistance Region in Wheat Germplasm Crop *Science*., 48:1841–1852.

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

[35] Lagudah ES, Krattinger SG, Herrera-Foessel S, Singh RP, Huerta-Espino J, et al. 2009. Gene-specific markers for the wheat gene Lr34/Yr18/Pm38 which confers resistance to multiple fungal pathogens. *Theor Appl Gene.,* 119: 889-898.

[36] Sing N.K., Shepherd K.W., Cornish G.B.1991. A simplified SDS-PAGE procedure for separating LMW subunits of glutenin. *Journal of Cereal Science.*, 14: 203-208.

[37] Payne P.I. and Lawrenc G.J. 1983. Catalogue of alleles for the complex gene loci *Glu-A1*, *Glu-B1* and *Glu-D1* which code for high-molecular-weight subunits of glutenin in hexaploid wheat. *Cereal Research Communication.,* 11: 29-35.

[38] Vallega V., Waines J.G.1987. High molecular weight glutenin subunit variation in *Triticum turgidum* var. dicoccum. *Springer.*74 :706–710

[39] Branlard G., Autran J.C, Monneveux P. 1990. High molecular weight glutenin subunit in durum wheat (*T. durum*).*International Journal of Plant Breeding Research*., 78 : 353–35.

[40] Denissen C.J.M.1991. Influence of race and post infection temperature on two components of partial resistance to wheat leaf rust in seedlings of wheat. *Euphytica*.,58 : 13-20.

[41] Azzimonti G., Lannou C., Sache I. and Goyeau H., 2013.Components of quantitative resistance to leaf rust in wheat cultivars: diversity, variability and specificity Plant pathology.,62 : 970-981.

[42] Bux H, Ashraf M, Chen XM, Mumtaz AS (2011) Effective genes for resistance to stripe rust and virulence of Puccinia striiformis f. sp. tritici in Pakistan. Afr J Biotech10(28): 5489-5495.

[43] Allen R.E., Vogel O.A., Purdy L.H. 1963. Influence of stripe rust on yield and test weights of closely related lines of wheat. *Crop Sci*., 3: 564-565.

[44] James WPT, Branch WJ, Southgate OAT,1978. Calcium binding by dietary fibre. Lancet 1:63B-639.

[45] Paveley, N. D., Sylvester-Bradley, R., Scott, R. K., Craigon, J., and Day, W. 2001. Steps in predicting the relationship of yield on fungicide dose. Phytopathology 91:708-716.

[46] Parker SR, Welham S, Paveley ND, Foulkes J, Scott RK., 2004. Tolerance of Septoria leaf blotch in winter wheat, Plant Pathology, vol. 53 pp. 1-10.

©UBMA - 2018

[47] Foulkes MJ., Sylvester-Bradley R., Weightman R ., Snape JW., 2007. Identifying physiological traits associated with improved drought resistance in winter wheat, Field Crops Research , vol. 103: pp 11-24.

[48] Ney B., Tivoli B., Bancal M.O. 1998. Effet des agents pathogènes sur le fonctionnement de la plante et des populations cultivées. Modélisation de leur nuisibilité. Fonctionnement des peuplements végétaux sous contraintes environnementales Ed. INRA, Paris, 2000 (les colloques N°93).

[49] Bancal M.O. and Huet PH., 1998. Fonctionnement d'un peuplement de blé d'hiver soumis à une attaque tardive de rouille brune (*Puccinia recondita*). Fonctionnement des peuplements végétaux sous contraintes environnementales Ed. INRA, Paris, 2000 (les colloques N°93).

[50] Bahlouli F., Bouzerzour H. and Benmahammed A., 2008. Effets de la vitesse et de la durée du remplissage du grain ainsi que de l'accumulation des assimilats de la tige dans l'élaboration du rendement du blé dur (*Triticum durum* Desf.) dans les conditions de culture des hautes plaines orientales d'Algérie. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 2008 12(1), 31-39

[51] Ledent J.F. 1982. Morphology and yield in winter wheat grown in high yielding conditions. Crop Sci. 22, 1115-1120

[52] Flor H.H.1956.The complementary genic systems in flax and flax rust. *Adv Genet.,* 8: 29-54.

[53] Shaner G. 1996. Breeding for partial resistance in oats to rusts. Pages 307-313 in: Scoles G, Rossnagel B, Fairbairn, C (eds) Proc V Int. Oat Conf. and Int. Barley Genetics Symp.

[54] Singh R.P. and Rajaram S.1994. Genetics of adult plant resistance to stripe rust in ten spring bread wheats. *Euphytica* 72: 1-7.

[55] Shah K.H., Nostramo R., Zhang B., Varia S.N., Klett B.M., Herman P.K. 2014. Protein kinases are associated with multiple, distinct cytoplasmic granules in quiescent yeast cells. *Genetics.,* 198(4):1495-512

[56] Moonen J.H.E., Scheepsta A., Graveland A.1982. Use of the SDS-sedimentation test and SDS-polyacrylamide gel electrophoresis for screening breeder's samples of wheat for breadmaking quality. *Euphytica*, 31: 677-690.Pandey HN, Menon TCM, Rao MV (1989) A single formula for calculating area under disease progress curve. *Rachis.,* 2: 38-39.

[57] Payne P.I., Nithingale M.A., Krattiger A.F., Holt L.M. 1987. The relationship between HMWglutenin subunit composition and the breadmaking quality of British grown wheat varieties. *Journal of Science Food Agriculture*., 40: 51-65.

[58] Rodriguez-Quijano M. and Carrillo J.M. 1996. Linkage map of prolamin loci *Gli-D4* and *Gli-D5* in hexaploid wheat. *Plant Breeding*., 115: 189-191.

[59] Tahir M., Turchetta T., Anwar R. and Lafiandra D., 1996. Assessment of genetic variability in hexaploid wheat landraces of Pakistan based on polymorphism for HMW glutenin subunits. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 43: 211-230.

[60] Rodriguez-Quijano M., Vázquez J.F., Moita-Brites C. and Carrillo J.M., 1998. Allelic variation of HMW glutenin subunits in Portugueses landraces of *Triticum aestivum* ssp. *vulgare*. *J. Genet. & Breed.,* 52: 95-98.

[61 Pogna N.E., Mellini F., Beretta A.M., Dal Belin Peruffo A. 1989?. The HMW-GS of common wheat cultivars grown in Italy. *Journal of Genetics & Breeding.,* 43: 17-24.

[62] Payne P. I., Holt l. M., Jackson E. A., and Law C. N. 1984a. Wheat storage proteins: Their genetics and their potential for manipulation by plant breeding. Phil. Trans. *R. Soc. Lond. B*., 304:359.

[63] Payne P.I., Jackson E.A. and Holt L.M., 1984b. The association between γ-gliadin 45 and gluten strength in durum wheat varieties: A direct causal effect or the result of genetic linkage. *J. Cereal Sci*., 2: 73-81.

[64]Sanchez-Garcia M, Álvaro F, Peremarti A, Martín-Sánchez JA, Royo C., 2015. Changes in bread-making quality attributes of bread wheat varieties cultivated in Spain during the 20th century. Eur J Agron; 63: 79–88. doi: 10.1016/j.eja.2014.11.006.

[65] Shah SJA, Hussain S, Ahmad M, Farhatullah, Ibrahim M., 2014 Characterization of Slow Rusting Resistance against Puccinia striiformis f. sp. tritici in Candidate and Released Bread Wheat Cultivars of Pakistan. J Plant Pathol Microb 5:223. doi:10.4172/2157-7471.1000223.

©UBMA - 2018