

«مقاله پژوهشی»

شناسایی نشانگرهای CBDP و SCoT مرتبط با بیماری‌های زنگ‌برگی، سفیدک پودری و

لکه برگی سپتوریایی در ژنوتیپ‌های گندم بهاره

بهزاد نعیمی‌نظام‌آباد^۱، فاختک طلایی^{۲*}، عباس بیابانی^۳، حسین صبوری^۳، معصومه خیرگو^۴

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی، گروه تولیدات گیاهی، دانشکده علوم کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد، ایران.

۲. استادیار، گروه تولیدات گیاهی، دانشکده علوم کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد، ایران.

۳. دانشیار، گروه تولیدات گیاهی، دانشکده علوم کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد، ایران.

۴. مربی پژوهش بیماری‌شناسی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی گنبد کاووس، گنبد، ایران.

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۰/۲۴ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۳/۲۷)

Investigation of informative CBDP and SCoT markers for leaf rust, powdery mildew and septoria leaf blotch diseases in spring wheat genotypes

Behzad Naeimi Nezam abad¹, Fakhtak Taliei^{2*}, Abbas Biabani³, Hossein Sabouri³, Masoumeh Kheirgu⁴

1. M.Sc. Student, Department of Plant Production, College of Agriculture and Natural Resources, University of Gonbad Kavous, Gonbad, Iran.

2. Assistant Professor, Department of Plant Production, College of Agriculture and Natural Resources, University of Gonbad Kavous, Gonbad, Iran.

3. Associate Professor, Department of Plant Production, College of Agriculture and Natural Resources, University of Gonbad Kavous, Gonbad, Iran.

4. Department of Horticulture and crop research, Golestan Kavous Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Gonbad Kavous, Iran.

(Received: Jan. 14, 2021 - Accepted: Jun. 17, 2021)

Abstract

Fungal leaf diseases are the most destructive factors to wheat (*Triticum aestivum* L.) yield. Therefore, identification of resistance sources to important fungal diseases is a great importance to increase wheat yield. In order to identify informative CBDP and SCoT markers for leaf rust, powdery mildew and septoria leaf blotch disease, 63 wheat genotypes were planted through the augment design in agricultural research station of Araghmahaleh (Gorgan) during 2018-19. Clustering based on UPGMA, put the genotypes into 3 groups with 24, 17 and 22 individuals. Among the studied genotypes, genotypes No. 49 and 60 showed highest resistance to all three diseases. Association analysis showed that from 16 CBDP and SCoT primers, 99 bands produced in total, which 43 bands were polymorph. The maximum percent of polymorphism belonged to SCoT primers and the minimum polymorphism belonged to CBDP. SCoT11-2, CBDP 10-2 was shown significant correlation with all three diseases. SCoT21-3 was also significantly ($P < 0.05$) associated with powdery mildew and leaf rust. Furthermore SCoT4-5, SCoT8-6 and CBDP 15-6 had significant relation to brown rust and Septoria leaf blotch. Use of this technique individually or in combination with other molecular markers is recommended for other breeding programs such as gene mapping.

Keywords: CBDP and SCoT markers, Leaf diseases, Wheat.

چکیده

بیماری‌های قارچی برگ گندم از جمله مهم‌ترین عوامل کاهش عملکرد این محصول استراتژیک می‌باشند. بنابراین شناسایی منابع مقاومت به بیماری‌های مهم قارچی گندم از اهمیت بالایی برای افزایش عملکرد این محصول برخوردار است. به منظور شناسایی نشانگرهای حاوی اطلاعات CBDP و SCoT برای بیماری‌های زنگ‌برگی، سفیدک پودری و سپتوریوز برگ، ۶۳ ژنوتیپ گندم به صورت طرح اگمنت در ایستگاه تحقیقات کشاورزی عراقی محله (گرگان)، در سال زراعی ۹۸-۱۳۹۷ کاشته شدند. ژنوتیپ‌ها با استفاده از تجزیه خوشه‌ای و براساس روش UPGMA به سه گروه دسته‌بندی شدند که این گروه‌ها به ترتیب ۲۴، ۱۷ و ۲۲ عضو داشتند. از بین ژنوتیپ‌های مورد بررسی ژنوتیپ‌های شماره ۴۹ و ۶۰ مقاومت بالایی نسبت به هر سه بیماری نشان دادند. نتایج تجزیه ارتباط نشان داد که در مجموع از ۱۶ جفت آغازگر به کار رفته، ۹۹ آلل تکثیر شدند که از بین آنها ۴۳ آلل چندشکلی نشان دادند. بیشترین درصد چندشکلی مربوط به آغازگر نوع SCoT و کم‌ترین آن مربوط به آغازگر CBDP بود. و نشانگرهای SCoT11-2 و CBDP 10-2 با هر سه بیماری ارتباط معنی‌داری نشان دادند. همچنین نشانگر SCoT21-3 با دو بیماری سفیدک پودری و زنگ قهوه‌ای ارتباط معنی‌داری ($P < 0.05$) داشت. همچنین سه نشانگر SCoT4-5، SCoT8-6 و CBDP 15-6 به طور معنی‌داری با دو بیماری زنگ‌برگی و سپتوریوز برگ در ارتباط بودند. از این نشانگرها می‌توان به صورت مجزا و یا در ترکیب با دیگر نشانگرها در سایر برنامه‌های اصلاحی مانند مکان‌یابی و تهیه نقشه‌های ژنتیکی استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: گندم، بیماری‌های برگ، نشانگرهای CBDP و SCoT

مقدمه

گندم (*Triticum aestivum* L.) یکی از مهم‌ترین محصولات زراعی در سراسر دنیاست و بیش از ۴۰ درصد از غذای اکثریت مردم جهان را تشکیل می‌دهد. در کشورهای توسعه یافته، ۹۵ درصد جمعیت از آرد تهیه شده از گندم و ذرت به‌عنوان منبع اصلی غذایی استفاده می‌کنند (Coventry et al., 2011). با توجه به افزایش تقاضای جهانی و کشوری برای گندم، اصلاح ارقامی با پتانسیل بالاتر عملکرد و کیفیت دانه، ضروری به نظر می‌رسد (Vanda and Hoshmand, 2010). بیماری‌های قارچی سالانه خسارت قابل توجهی به محصول گندم در سراسر دنیا وارد می‌سازند (Jaczevska-Kalicka and Krasinski, 2011). در بین بیماری‌های گندم، بیماری‌های برگ‌ی تاثیر به‌سزایی در کاهش عملکرد گندم در بسیاری از مناطق دنیا دارند. کاهش عملکرد ناشی از بیماری‌های برگ‌ی و سنبله گندم حدود ۳۰ درصد برآورد شده و به تناسب شرایط آب و هوایی و نوع رقم متفاوت است (Tanveer et al., 2016). زنگ‌ها، سپتوریوز برگ‌ی و سفیدک پودری از جمله مهم‌ترین بیماری‌های برگ‌ی گندم در اقلیم شمال کشور می‌باشد.

زنگ‌برگی یا قهوه‌ای با عامل *Puccinia triticina* Eriks. یکی از مهم‌ترین بیماری‌های گندم در بسیاری از نقاط کشت گندم در دنیا به شمار می‌آید (Kolmer, 2013). این بیمارگر، یک قارچ بیوتروفیک اجباری است که عمدتاً برگ‌های گندم را در مراحل مختلف رشد آلوده می‌کند، همچنین قادر است غلاف برگ و گل را نیز آلوده نماید. این بیماری در ارقام حساس، کاهش عملکرد بیش از ۵۰٪ را سبب می‌گردد (Terefe et al., 2011). میزان خسارت بیماری زنگ برگ‌ی بر عملکرد گندم در ایران ۶ الی ۴۶ درصد برآورد شده است (Dadrezai et al., 2018). اصلاح برای مقاومت گیاه میزبان همچنان یک روش پیشگیرانه، موثر و پایدار برای

کنترل همه‌گیری‌های زنگ‌برگی گندم است که می‌تواند سبب کاهش اثرات مخرب زیست‌محیطی قارچ‌کش‌ها شود (Figlan et al., 2020). تا کنون حدود ۸۰ ژن مقاومت به زنگ‌برگی در انواع گندم مطالعه و شناسایی شده است (Qureshi et al., 2018). بسیاری از این ژن‌ها با استفاده از نشانگرهای مولکولی مختلف بر روی کروموزوم گندم مکان‌یابی شده‌اند (Qiu et al., 2020). Dakouri و همکاران (۲۰۱۰) نشانگرهای مولکولی مختلف شامل cam، caIND و caSNP را به‌عنوان نشانگرهای نزدیک به ژن مقاومت *Lr34* معرفی نمودند. بررسی حضور یا عدم حضور ژن مقاومت *Lr34* با استفاده از نشانگرهای مولکولی مبتنی بر STS و SNP نشان داد که اکثر ژنوتیپ‌های واجد ژن *Lr34* دارای واکنش‌های از نوع مقاوم و نیمه مقاوم تا نیمه‌حساس با شدت کم نسبت به زنگ‌برگی بودند (Qazvini et al., 2018). همچنین بررسی ژن‌های مقاومت به زنگ‌برگی گندم در ده ژنوتیپ گندم با استفاده از نشانگرهای SSR نشان داده است که ژنوتیپ‌های مقاوم حداقل دارای سه ژن مقاومت می‌باشند (Tomkowiak et al., 2019). Qiu و همکاران (۲۰۲۰) نیز با بررسی ۳۵ ژنوتیپ گندم با استفاده از نشانگرهای InDel، موفق شدند جایگاه دقیق ژن مقاومت *LrLC10 (Lr13)* که یک ژن مقاومت اختصاصی نژاد است را در گندم شناسایی نمایند. بیماری سفیدک پودری گندم به‌وسیله قارچ *Blumeria tritici* f.sp. *graminis* ایجاد می‌شود یکی از مهم‌ترین بیماری‌های گندم در جهان است که شرایط هوایی خنک و مرطوب باعث ایجاد خسارت شدید به عملکرد دانه گندم می‌شود. این بیماری در کشورهای مختلف حدود پنج تا ۴۱ درصد کاهش محصول ایجاد می‌کند (Vechet, 2006). استفاده از ارقام مقاوم اقتصادی‌ترین روش کاهش خسارت ناشی از این بیماری است (Li et al., 2009). تاکنون بیش از ۷۰ ژن/آلل (*Pm*) در ۶۰

مقاومت کمی یا نسبی به این بیماری در گندم مورد شناسایی قرار گرفته است (Brown *et al.*, 2015; Adhikari *et al.*, 2015). بررسی ژن‌های مقاومت به این بیماری در ۱۸۰ ژنوتیپ گندم نان با استفاده از ۱۶ نشانگر SSR، وجود تنوع ژنتیکی بالا (۶/۶۷ تا ۹۶/۱ درصد) را بین ژنوتیپ‌های گندم از نظر وجود ژن‌های *Stb* اثبات نمود (Mekonnen *et al.*, 2019). همچنین مطالعه‌ی ۲۲۵ لاین گندم با استفاده از نشانگرهای SSR نشان داد است که QTL‌های کنترل‌کننده مقاومت به بیماری سپتوریوز برگی بر روی ۱۱ کروموزوم گندم قرار دارند (Arraiano and Brown, 2017).

از آنجا که ایجاد مقاومت به بیماری‌های گندم با استفاده از روش‌های متداول اصلاح نباتات مشکل و وقت‌گیر می‌باشد و از طرف دیگر ارزیابی تنوع ژنتیکی و فوتویی گندم از نظر صفات زراعی و واکنش در مقابل بیماری‌ها در طراحی برنامه‌های اصلاحی بسیار ضروری هست، لذا شناسایی نشانگرهای آگاهی بخش مرتبط با این صفات، انتخاب گیاهانی با پتانسیل عملکرد بالا که توانایی ژنتیکی مقاومت به بیماری را در مراحل مختلف رشد گیاه دارند امکان‌پذیر می‌سازد. همزمان با کشف و گسترش استفاده از نشانگرهای مولکولی در دهه‌های گذشته، در سال‌های اخیر ارتباط بین نشانگرهای مولکولی و ژن‌های مقاومت به بیماری‌های برگ (مانند *Lr*، *Pm* و *Stb*) شناسایی شده‌اند که ابزاری مؤثر برای استفاده در برنامه‌های اصلاحی گندم دنیا از طریق گزینش جمعیتی با استفاده از نشانگرها (MAS) محسوب می‌شود (Dakouri *et al.*, 2010; Arraiano and Brown, 2017; Qazvini *et al.*, 2018; Mekonnen *et al.*, 2019; Tomkowiak *et al.*, 2019; Jia *et al.*, 2020; Qiu *et al.*, 2020). اخیراً چندین سیستم نشانگری جدید مبتنی بر PCR توسعه یافته‌است که نشانگرهای Start

مکان ژنی برای مقاومت به این بیماری در گندم معمولی شناسایی شده است (Li *et al.*, 2019). از آنجا که مقاومت‌های تک ژنی اغلب ناپایدار هستند، کشف ژن‌های جدید مقاومت به این بیماری و اصلاح صفات زراعی در لاین‌های دارای این ژن‌ها همواره ضروری به نظر می‌رسد (Li *et al.*, 2009). کاربرد نشانگرهای مولکولی مبتنی بر توالی RNA (BSR-seq) در شناسایی ژن‌های *Pm* در لاین‌های گندم نشان داد که این نشانگر کارایی بالایی در انتخاب بر مبنای نشانگر (MAS) دارد و با استفاده از آن می‌توان لاین‌های با مقاومت بالا و صفات زراعی مطلوب را انتخاب نمود (Jia *et al.*, 2020). همچنین براساس نتایج مطالعه مقاومت ۳۴ ژنوتیپ زراعی و وحشی جو نسبت به بیماری سفیدک پودری با استفاده از ۱۶ آغازگر *JSSR*، شش آغازگر به‌عنوان آل‌های آگاهی بخش مرتبط با تحمل به بیماری سفیدک پودری معرفی شدند (Ahmadi *et al.*, 2017).

بیماری لکه‌برگی سپتوریایی گندم که توسط *Zymoseptoria tritici* (Desm.) یکی از خسارت‌زاترین بیماری‌های برگ گندم در اروپا و بسیاری از مناطق دیگر کشت گندم آسیا از جمله ایران، استرالیای غربی و آمریکای شمالی به شمار می‌رود (Czembor *et al.*, 2011). خسارت ناشی از بیماری لکه‌برگی سپتوریایی در شرایط آب و هوایی مساعد و مدیریت کمتر بیماری، می‌تواند به بیش از ۵۰ درصد برسد. گسترش لکه‌برگی سپتوریایی با توسعه کشت ارقام پا کوتاه مقاوم به زنگ و همچنین با افزایش مصرف کودهای نیتروژن‌دار افزایش یافته و خسارت بیماری در صورتی که آلودگی قبل از سنبله رخ دهد، به مراتب شدیدتر خواهد بود (Simon *et al.*, 2012). براساس گزارش‌های موجود، تا کنون ۱۸ ژن (*Stb*) دخیل در مقاومت کیفی به بیماری سپتوریوز برگ (STB) در گندم نان مکان‌یابی شده است (Brown *et al.*, 2015). به‌علاوه چندین QTL کنترل‌کننده

تالک، با نسبت ۱:۴ انجام شد. همچنین آلودگی مصنوعی ژنوتیپ‌ها برای سپتوریوز برگی با پخش کردن برگ‌های آلوده و تلقیح سوسپانسیون اسپور بیمارگر (تهیه شده از آزمایشگاه بخش تحقیقات علوم زراعی و باغی مرکز تحقیقات و آموزش گلستان) با دستگاه سمپاش موتوری پشتی در سه نوبت انجام شد. یادداشت‌برداری از میزان شدت بیماری زنگ‌برگی پس از یکنواختی در ظهور بیماری روی رقم حساس، از طریق تعیین درصد پوشش آلوده سطح برگ (۰-۱۰۰) براساس تیپ آلودگی براساس روش Roelfs (1992) و به شرح زیر انجام شد: 0 = مصون؛ بدون هیچ‌گونه علائم، R = مقاوم؛ ظهور لکه‌های نواری نکروتیک و کلروتیک، بدون ظهور اسپور، یا جوش‌های ریز و پراکنده، MR = نیمه‌مقاوم؛ ظهور جوش‌های کوچک زنگ که به وسیله لکه‌های نکروتیک احاطه شدند، MS = نیمه‌حساس؛ ظهور جوش‌هایی به اندازه متوسط، بدون لکه نکروتیک، S = وجود جوش‌های بزرگ زنگ به مقدار فراوان و بدون لکه‌های کلروتیک گاهی همراه با این لکه‌ها. داده‌های مربوط به شدت بیماری و نوع آلودگی با هم ترکیب شده و از ترکیب آنها ضریب آلودگی محاسبه گردید. ضریب آلودگی از ضرب شدت بیماری در عکس‌العمل میزبان بدست آمد. ارزیابی واکنش لاین‌ها به بیماری‌های سفیدک پودری و سپتوریوز برگی در مرحله ظهور سنبله و بلافاصله پس از مشاهده اولین علائم بیماری و براساس روش دو رقمی (Double digit system) پیشنهاد شده توسط Eyal و همکاران (۱۹۸۷) در مقیاس ۰۰-۹۹ انجام شد که رقم اول (سمت چپ) نشان‌دهنده میزان پیشرفت عمودی بیماری از برگ‌های پایین به برگ‌های بالای گیاه به روش Saari and Prescott (۱۹۷۵) و رقم دوم (سمت راست) نشان‌دهنده میزان شدت بیماری (درصد آلودگی سطح برگ) می‌باشد.

Box) CDBP و (SCoT) codon targeted (Derived Polymorphism) و از جمله آنها می‌باشند. ارائه میزان بالای چندشکلی و تکرارپذیری بالا سبب شده است تا این سیستم نشانگری بتواند در مطالعات مرتبط با ساختار جمعیت، تنوع ژنتیکی، مکان‌یابی صفات کمی و همچنین اشباع نقشه‌های ژنتیکی مورد توجه قرار گیرد (Singh et al., 2014). هدف از این تحقیق بررسی تنوع ژنتیکی ۶۳ ژنوتیپ گندم از نظر واکنش به بیماری‌های برگی و شناسایی نشانگرهای مولکولی مرتبط با این بیماری‌ها با استفاده از نشانگرهای نوظهور CDBP و SCoT می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و محل اجرای آزمایش

به منظور تعیین ارتباط بین نشانگرهای مولکولی با مقاومت به بیماری‌های مهم برگی گندم شامل زنگ‌برگی، سفیدک پودری و سپتوریوز، ۶۱ ژنوتیپ گندم (جدول ۱) دریافتی از خزانه‌های مرکز بین‌المللی اصلاح گندم و ذرت (CIMMYT) و مرکز تحقیقات بین‌المللی در مناطق خشک (ICARDA)، به همراه دو رقم کریم و قابوس به عنوان شاهد‌های محلی، در قالب طرح آگمنت در خطوط یک‌متری، در مزرعه ایستگاه تحقیقات کشاورزی گرگان (عراقی محله) وابسته به مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی گلستان کاشته شدند. رقم حساس بولانی به عنوان گسترش‌دهنده بیماری‌ها در حاشیه همه ردیف‌ها کشت شد. تأمین نیازهای کودی و مبارزه با علف‌های هرز براساس عرف منطقه و توصیه‌های فنی انجام شد. مایه‌زنی مصنوعی برای بیماری زنگ قهوه‌ای در مرحله پنجه‌زنی به کمک گردپاشی دستی و با مخلوطی از اسپور قارچ (تهیه شده از واحد تحقیقات بیماری‌های غلات کرج) و پودر

جدول ۱. شجره ۶۳ ژنوتیپ مختلف گندم

Table 2. Pedigree of 63 different wheat genotypes

Pedigree	Entry
Karim	1
Ghabous	2
PAVON (dwarf)/KAUZ (tall) IRW 05-06-84-OMAR-OMAR_0MAR	3
CROC-1/AE.SQUARROSA (205)//KAUZ/3/SASIA/4/CHEN/ AEGILOPS QUARROSA(TAUS)//BCN /3/VEE#7/ IRW 05-06-221-OMAR-OMAR_0MAR	4
ZARGANA-3//JUN/BOMB IRW 05-06-333-OMAR-OMAR_0MAR	5
SOROCA//SAULESKU #44/TR810200 IRW 05-06-171-OMAR-OMAR_0MAR	6
SERI 82/SHUHA'S//GRU90-204782/3/SARDARI/KAU"s"//NAO IRW 05-06-210-OMAR-OMAR_0MAR	7
ALTAY/GAHAR IRW 05-06-41-OMAR-OMAR_0MAR	8
NGDA146/4/YMH/TOB//MCD/3/LIRA/5/F130L1.12/ 6/PELSART /3/DONG87//TJB368.251/BUC/4/RSK/NAC IRW 05-06-138-OMAR-OMAR_0MAR	9
NGDA146/4/YMH/TOB//MCD/3/LIRA/5/F130L1.12/ 6/PELSART /3/DONG87//TJB368.251/BUC/4/RSK/NAC IRW 05-06-138-OMAR-OMAR_0MAR	10
GAHAR/3/KAUZ/PASTOR//PASTOR*2/OPATA IRW 05-06-145-OMAR-OMAR_0MAR	11
Sardari/Ardabil 82 - 33 IRBW07-23-54-36 IRBW07-23-54-36-OSAR-OSAR_0MAR	12
MV14-2000//SHARK/F4105W2.1	13
37025 Turkey/Sabalan//AKSEL IRW08-291-0Mar-0Mar	14
RAN/NE701136//CI13449/CTK/3/CUPE/4/SXL/VEE/5/1D13.1/MLT//TRK13/3/PKL70/LIRA/6/5299 IRW08-540-0Mar-0Mar	15
Altay/3/PTZ NISKA/UT1556-170//UNKNOWNT IRW08-076-0Mar-0Mar	16
Sabalan//Fenkang/Sefid IRW08-102-0Mar-0Mar	17
Fgs/Azar-2 IRW08-220-0Mar-0Mar	18
Fenkang/Sefid/6/RAN/NE701136//CI13449/CTK/3/CUPE/4/SXL/VEE/5/1D13.1/MLT//TRK13/3/PKL70/LIRA IRW08-250-0Mar-0Mar	19
WESTON/VEE/6/RAN/NE701136//CI13449/CTK/3/CUPE/4/SXL/VEE/5/1D13.1/MLT//TRK13/3/PKL70/LIRA IRW08-323-0Mar-0Mar	20
PAVON DWARF/Azar-2 IRW08-151-0Mar-0Mar	21
PAVON DWARF/Azar-2 IRW08-151-0Mar-0Mar	22
Trakia/Maga"s"74/Mon"s"3/Shahi/4/91-142 a 61/3/F35.70/MO73//1D13.1/MLT IRW08-232-0Mar-0Mar	23
Bayrak tar/4/DONSKAYA POLUKARLIKOVAYA/OLVIA /3/2*AGRI/BJY//VEE IRW08-126-0Mar-0Mar	24
G.B	25
G.B	26
Vee/Nac//SARA-BW-F6-06-85-86-2-5 IRW2009-10-048-OMA-OMA-OMA-OMA-OMA-1MA	27
Maroon/3/Sardari//Ska/Aurifen IRW2009-10-003-OMA-OMA-OMA-OMA-OMA-3MA	28
Maroon/3/Sardari//Ska/Aurifen IRW2009-10-003-OMA-OMA-OMA-OMA-OMA-4MA	29
Maroon/Gahar IRW2009-10-006-OMA-OMA-OMA-OMA-OMA-5MA	30
Arvand//78Zhong291/Azar2 IRW2009-10-058-OMA-OMA-OMA-OMA-OMA-4MA	31
Chenab/GB-SARA-2 IRW2009-10-023-OMA-OMA-OMA-OMA-OMA-6MA	32
Chenab/GB-SARA-27 IRW2009-10-023-OMA-OMA-OMA-OMA-OMA-7MA	33
Wang shui bai//78Zhong291/Azar2 IRW2009-10-070-OMA-OMA-OMA-OMA-OMA-4MA	34
Sorkhtokhm/Desconciad-7 IRW2009-10-112-OMA-OMA-OMA-OMA-OMA-8MA	35
Kavir//78Zhong291/Azar2 IRW2009-10-087-OMA-OMA-OMA-OMA-OMA-4MA	36
K5-OMA-OMA-OMA-OMA-OMA-4MA	37
K50-OMA-OMA-OMA-OMA-OMA-3MA	38
Arvand//78Zhong291/Azar2 IRW2009-10-058-OMA-OMA-OMA-OMA-OMA-4MA	39
KARL/NIOBRARA//TAM200/KAUZ/3/TAM200/KAUZ	40
Mahooti/6/Vee"s"//Pvn"s"//4/Cc//Cal/Sr/3/Kal/Bb/5/Sabalan IRW2009-10-115-OMA-OMA-OMA-OMA-OMA	41
Bocro-4/Shahi(Ir64...Ste//Weebill1 IRW2009-10-142-OMA-OMA-OMA-OMA-OMA	42
Systani/3/KS82W409/SPN//TAM106/TX78V3630 IRW2009-10-143-OMA-OMA-OMA-OMA-OMA	43
Azar-2/14- Gen Bank IRW2009-10-171-OMA-OMA-OMA-OMA-OMA	44
F130-L-1-12//PONY/OPATA/3/Kharchia IRW2009-10-217-OMA-OMA-OMA-OMA-OMA	45
Shahi/Prl"S"//Fenkang15/Sefid/3/316 Collection IRW2009-10-230-OMA-OMA-OMA-OMA-OMA	46
Int F5 2014-44-OMA-1MA	47
Int F5 2014-54-OMA-1MA	48
Int F5 2014-70-OMA-3MA	49
Int F5 2014-78-OMA-1MA	50
MK 3744/BWKLDN-95 (23FAWWON)	51
TX71A983.4/TX69D4812//PYN/3/VPM/MOS83.11.4.8//PEW/4/NS-55-25 (23FAWWON)	52
DAGDAS/APCB-40 (23FAWWON)	53
Mahooti/6/Vee"s"//Pvn"s"//4/Cc//Cal/Sr/3/Kal/Bb/5/Sabalan IRW2009-10-z-OMA-OMA-OMA-OMA-OMA	54
Maroon/Gahar IRW2009-10-006-OMAR-00SAR-0SAR-0SAR-0SAR-1SAR	55
Bocro-4/Shahi(Ir64Ste//Weebill1 IRW2009-10-142-0Mar- -0MAR-00SAR-0SAR-0SAR-0SAR-2SAR	56
SARDARI-HD83//LINFEN875072/KAUZ/4/92 ZHONG 257//CNO79/PRL/3/ OK82282 //BOW/NKTT IRW2009-10-214--OMAR-00SAR-0SAR-0SAR-0SAR-1SAR	57
KROSHKA/4/VORONA//MILAN/SHA7/3/MV17	58
CITARI-9/MV18-2000//STARSHINA	59
ZCL/3/PGFN//CNO67/SN64/4/SERI/5/UA.2837/6/ATTILA/3*BCN/7/ZARGANA-6	60
Sardari	61
Azar2	62
Homa	63

تجزیه و تحلیل داده‌های مورفولوژیک و تجزیه ارتباط بین صفات مورفولوژیک و مولکولی با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۴ (IBM Crop, 2010) انجام شد. بررسی تنوع داده‌های مولکولی بعد از امتیازبندی باندها به صورت صفر و یک، با استفاده از نرم افزار Popgene (Yeh *et al.*, 1997) انجام شد. برای این منظور هر کدام از صفات فنوتیپی به‌عنوان متغیر وابسته و آلل‌های تکثیر یافته به‌عنوان متغیر مستقل در نظر گرفته شدند. برای شناسایی دقیق‌تر آلل‌های مرتبط استفاده شد. گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها به روش UPGMA و با استفاده از نرم‌افزار XLSTAT انجام شد. برش دندروگرام براساس مقادیر آماره F صورت گرفت.

استخراج DNA و واکنش زنجیره ای پلی‌مراز
استخراج DNA از نمونه‌های برگ گیاه گندم در مرحله پنجه‌زنی با استفاده از نیتروژن مایع و به روش CTAB انجام شد (Saghai-Marooft *et al.*, 1984). جهت بررسی کیفیت DNA نمونه‌ها با روش الکتروفورز افقی بر روی ژل آگارز ۰/۸ درصد بررسی شد. واکنش PCR مطابق جداول ۲-۴ و با استفاده از نشانگرهای CDBP و SCOT با میزان PIC بالا انجام شد. توالی پرایمرهای مورد استفاده در جدول ۵ آورده شده است. الکتروفورز DNA تکثیری روی ژل اکریل امید ۶ درصد انجام شد و رنگ‌آمیزی به روش سریع نیترات نقره صورت گرفت (An *et al.*, 2009). ژل‌های به‌دست‌آمده در کاورهای پلاستیکی بسته‌بندی و برای نمره‌دهی در یخچال نگهداری شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

جدول ۲. مواد مورد استفاده در واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز برای نشانگرهای SCOT و CDBP
Table 2. Materials for amplification of CDBP and SCOT marker using PCR

Components	Concentration	Amount (μl)
Buffer PCR10X	1X	1
MgCl ₂	50 mM	0.48
dNTP	10 μl	0.6
Taq DNA Polymerase Enzyme		0.12
Primer	60 ng	1.5 μl
DNA diluted	0.75-0.5 ng	2.5 μl
H ₂ O		3.8 μl
the Final content		10 μl

جدول ۳. برنامه حرارتی برای تکثیر جایگاه‌های CDBP 11- CDBP 10- SCOT2- CDBP 15

Table 3. Thermal Program for amplification of the SCOT2- CDBP 10 - CDBP 11- CDBP 15 marker

Num. of cycle	Time (minute)	Temperature (°C)	Step
1	5'	95	Primary denaturing DNA
35	1'	95	Denaturing DNA
		61	Annealing
		72	Synthesis
1	5'	72	Final duplication

جدول ۴. برنامه حرارتی برای تکثیر جایگاه‌های SCOT4- SCOT5-SCOT8-SCOT9- SCOT11- SCOT12- SCOT14- SCOT21-

SCOT24 -SCOT26- CDBP 4 - CDBP 12

Table 4. Thermal Program for amplification of SCOT4-SCOT5-SCOT8-SCOT9- SCOT11-SCOT12-SCOT14-SCOT21-SCOT24-SCOT26- CDBP 4- CDBP 12 marker

Num. of cycle	Time (minute & second)	Temperature (°C)	Step
1	5'	94	Primary denaturing
10	1'	94	Denaturing
		55	Annealing
		72	Synthesis
25	1'	94	Denaturing
		50	Annealing
		72	Synthesis
1	5'	72	Final duplication

جدول ۵. مشخصات آغازگرهای مورد استفاده

Table 5. Characteristics of used primer

Marker	Annealing	Sequence
SCoT2	61	5-CAACAATGGCTACCACCC-3
SCoT4	50-55	5-CAACAATGGCTACCACCT-3
SCoT5	50-55	5-CAACAATGGCTACCACGA-3
SCoT8	50-55	5-CAACAATGGCTACCACGT-3
SCoT9	50-55	5-CAACAATGGCTACCAGCA-3
SCoT11	50-55	5-AAGCAATGGCTACCACCA-3
SCoT12	50-55	5-ACGACATGGCGACCAACG-3
SCoT14	50-55	5-ACGACATGGCGACCACGC-3
SCoT21	50-55	5-CACCATGGCTACCACCAT-3
SCoT24	50-55	5-CCATGGCTACCACCGCCA-3
SCoT26	50-55	5-ACAATGGCTACCACCATC-3
CAAT 4	50-55	5-TGAGCACGATCCAATAAG-3
CAAT 10	61	5-TGAGCACGATCCAATGTT-3
CAAT 11	61	5-TGAGCACGATCCAATTGC-3
CAAT 12	50-55	5-TGAGCACGATCCAATATA-3
CAAT 15	61	5-TGAGCACGATCCAATTGA-3

همچنین این نمودار (شکل ۱-C) وجود چهار خوشه را در خوشه‌بندی ژنوتیپ‌ها براساس بیماری سفیدک پودری گندم تایید کرد. در این حالت ۸۲/۷۲ درصد از واریانس کل در بین گروه‌ها و ۱۷/۲۸ درصد از واریانس کل در درون گروه‌ها وجود داشت. نتایج به‌دست‌آمده حاصل از تجزیه خوشه‌ای داده‌ها برای مقاومت به بیماری زنگ‌برگی با استفاده از الگوریتم UPGMA (شکل ۲-A) ۶۷ درصد ژنوتیپ‌های مورد بررسی، دارای مقاومت نسبی به بیماری بودند به طوری که ژنوتیپ‌ها در سه گروه مقاوم با ۲۷ ژنوتیپ و میانگین شدت بیماری ۲/۵۹، گروه نیمه‌مقاوم با ۱۵ ژنوتیپ و میانگین شدت بیماری ۳۳/۱ و گروه حساس به بیماری با ۲۱ ژنوتیپ و میانگین شدت بیماری ۷۸/۳۳ قرار گرفتند (جدول ۷). همچنین ژنوتیپ شماره یک (رقم شاهد کریم) واکنش کاملاً حساس داشت که نشان دهنده استقرار مناسب بیماری در خزانه مورد بررسی می‌باشد، درحالی‌که ژنوتیپ شماره دو (رقم شاهد قابوس) در گروه مقاوم به بیماری قرار گرفت. مشابه این نتایج، بررسی واکنش ۸۵ رقم تجاری و ژنوتیپ گندم به بیماری زنگ‌برگی نشان داد که اغلب ژنوتیپ‌ها (۴۷ ژنوتیپ) مقاوم به بیماری یا مصون هستند (Qazvini et al., 2018).

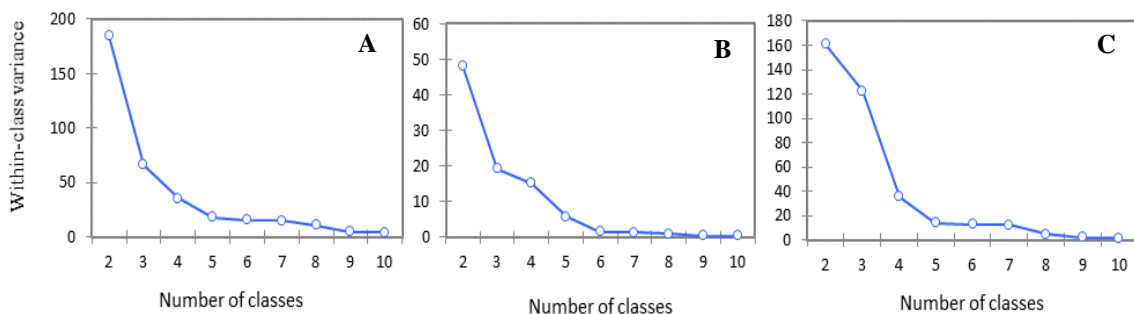
نتایج و بحث

بررسی مقدار شدت سه بیماری نشان داد که بیشترین مقدار شدت بیماری در مورد زنگ‌برگی برابر ۷۷/۷۸ درصد (در ژنوتیپ شماره ۳۴)، سپتوریوز برگی برابر ۴۹/۳۸ درصد (در ژنوتیپ شماره ۴) و سفیدک پودری برابر ۹۰ درصد (در ژنوتیپ‌های شماره ۳۵، ۴۴، ۶۱ و ۶۳) بود. همچنین کم‌ترین مقدار بیماری، برای هر سه بیماری مورد بررسی برابر صفر بود. دامنه تغییرات شدت بیماری نشان دهنده‌ی تنوع ژنتیکی بالای ژنوتیپ‌های مورد بررسی از نظر واکنش به این بیماری‌ها می‌باشد. با هدف گروه‌بندی ژنوتیپ‌های گندم مورد مطالعه از نظر بیماری‌های مورد بررسی، تجزیه خوشه‌ای انجام گردید. مقایسه واریانس درون گروه‌ها در حالت‌های مختلف برش دندروگرام و آماره F در جدول ۶ نشان داده شده است. نمودار روند نزول واریانس درون گروه‌ها با هدف ایجاد تعداد خوشه کمتر، برش دندروگرام با سه خوشه برای زنگ قهوه‌ای و سپتوریوز برگی (شکل ۱-B, A) را تایید کرد. در این حالت برای بیماری زنگ قهوه‌ای ۸۴/۱۲ درصد از واریانس کل در بین گروه‌ها و ۱۵/۸۸ درصد از واریانس کل در درون گروه‌ها و در مورد بیماری سپتوریوز برگی ۹۰/۹ درصد از واریانس کل در بین گروه‌ها و تنها ۹/۱۰ درصد از واریانس کل در درون گروه‌ها وجود داشت.

جدول ۶ روند تغییر واریانس در حالت‌های مختلف برش دندروگرام‌ها برای بررسی مقاومت به سه بیماری زنگ‌برگی، سپتوریوز برگ‌گی و سفیدک پودری در ژنوتیپ‌های گندم مورد بررسی

Table 6. Evolution of variance in different truncation for evaluating resistance in studied wheat genotypes to Leaf rust, Septoria leaf blotch and powdery mildew

Variance/class		2	3	4	5	6
Leaf Rust	Variance between class	184.67	66.44	35.53	17.73	15.70
	Variance within class	978.51	1096.74	1127.65	1145.45	1147.48
	F- value	5.30 ^{ns}	16.51 ^{**}	31.74 ^{**}	64.62 ^{**}	73.10 ^{**}
Septoria leaf blotch	Variance between class	48.20	19.17	15.17	5.80	1.58
	Variance within class	162.47	191.51	195.50	204.88	209.09
	F- value	3.37 ^{ns}	9.99 ^{**}	12.89 ^{**}	35.34 ^{**}	132.25 ^{**}
Powdery mildew	Variance between class	160.85	122.54	35.54	14.02	12.85
	Variance within class	44.85	83.16	170.15	191.67	192.84
	F- value	0.28 ^{ns}	0.68 ^{ns}	4.79 ^{**}	13.67 ^{**}	15.00 ^{**}



شکل ۱. ارتباط بین برش دندروگرام بیماری‌های (A) زنگ‌برگی، (B) لکه برگ‌گی سپتوریایی و (C) سفیدک پودری در نقاط مختلف و واریانس درون گروه‌ها در ژنوتیپ‌های مختلف گندم

Figure 1. The relationship between dendrogram cutting in different locations and the within-class variance for A) Leaf rust, B) Septoria leaf blotch and C) powdery mildew in different wheat genotypes

سپتوریوز برگ‌گی با میانگین بیماری ۲۲/۵۹ و ۳۹/۵۸ درصد قرار گرفتند (جدول ۷). بررسی مقاومت ۲۳۰ رقم تجاری و لاین امید بخش گندم نسبت به قارچ عامل بیماری لکه برگ‌گی سپتوریایی نشان داد که در مرحله گیاهچه‌های ۲۵-۴۹ درصد ارقام و لاین‌ها و در مرحله گیاه کامل ۳۹ درصد ژنوتیپ‌ها واکنش مقاومت نشان دادند (Motlagh *et al.*, 2015). همچنین بررسی واکنش ۱۳۵ ژنوتیپ و رقم گندم بهاره نسبت به این بیماری در استان گلستان نشان داد که ۴۸ درصد ژنوتیپ‌ها به گروه‌های مقاوم و نیمه مقاوم و ۴۵ درصد به گروه نیمه حساس تعلق داشتند (Kheirgu *et al.*, 2020).

همچنین براساس دندروگرام بیماری سفیدک پودری، ژنوتیپ‌ها در چهار گروه بسیار حساس، نیمه حساس، نیمه مقاوم و مقاوم قرار گرفتند (شکل ۲-C)

این در حالی‌ست در مطالعه‌ی دیگری در استان گلستان، از بین ۴۱ ژنوتیپ مورد بررسی، تنها ۳۴ درصد ژنوتیپ مقاوم و نیمه مقاوم به این بیماری بودند. این امر می‌تواند به توانایی بالای عامل بیماری (ناشی از تولید زیاد اسپور و چند چرخه‌ای بودن بیمارگر) در مقابله با فشار انتخاب ناشی از استفاده ژنوتیپ‌های مقاوم مرتبط باشد. بنابراین مقاومت ارقام تجاری پس از مدتی ممکن است شکسته شود (Ebrahimian *et al.*, 2019). ژنوتیپ‌های مورد بررسی در این مطالعه براساس واکنش به بیماری سپتوریوز برگ‌گی در سه گروه مقاوم با میانگین بیماری ۲/۴۳ و دو گروه نیمه مقاوم قرار گرفتند (شکل ۲-B). ۳۴ ژنوتیپ در گروه مقاوم به بیماری سپتوریوز برگ‌گی با بیشینه و کمینه مقدار بیماری ۱۲/۳۵ و صفر و ۲۹ ژنوتیپ در دو گروه ژنوتیپ‌های نیمه مقاوم به

گروه‌بندی ۶۳ ژنوتیپ با تجزیه خوشه‌ای براساس نشانگرهای CBDP و SCoT و روش UPGMA و ضریب تشابه جاکارد و برش دندروگرام، ژنوتیپ‌ها را به سه گروه تقسیم کرد (شکل ۳). این گروه‌ها به ترتیب ۲۴، ۱۷ و ۲۲ عضو داشتند. افراد داخل گروه‌ها دارای شباهت‌هایی بودند، برای مثال در گروه یک که بیشترین تعداد ژنوتیپ را دارا بود و ژنوتیپ‌های شماره ۱ تا ۲۳ و شماره ۴۵ در این گروه قرار داشتند، ۱۰ ژنوتیپ متعلق به این گروه شامل ژنوتیپ‌های شماره ۳، ۵، ۶، ۷، ۸، ۱۲، ۱۳، ۱۴، ۱۵ و ۲۰ به هر دو بیماری سپتوریوز برگی و زنگ قهوه‌ای مقاومت نشان دادند اما نسبت به بیماری سفیدک پودری نیمه‌حساس بودند. همچنین ژنوتیپ‌های شماره ۴۷، ۵۰ و ۵۸ که مقاومت قابل قبولی به هر سه بیماری نشان دادند همگی در گروه سوم قرار گرفتند.

نتایج تجزیه ارتباط بین نشانگرهای CBDP و SCoT و بیماری‌های سفیدک پودری، زنگ قهوه‌ای و سپتوریوز برگی در ۶۳ ژنوتیپ گندم نشان داد که در مجموع از ۱۶ جفت آغازگر به کار رفته، ۴۳ آلل مرتبط با صفات واکنش به بیماری‌ها تکثیر شدند (جدول ۸). در این بین ۱۲ آلل مرتبط با بیماری سفیدک پودری، ۱۶ آلل مرتبط با بیماری سپتوریوز برگی و ۱۵ آلل با بیماری زنگ قهوه‌ای در ارتباط بودند. نشانگرهای SCOT9-5، SCOT4-4، SCOT11-2، CBDP 4-4، 2 با بیماری سفیدک پودری، نشانگرهای SCOT5-6، SCOT12-2 با بیماری سپتوریوز برگی و نشانگرهای SCOT8-6، SCOT2-3 با بیماری زنگ قهوه‌ای ارتباط مثبت و معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد نشان دادند. نشانگرهای SCOT11-2 و CBDP 10-2 با هر سه بیماری ارتباط معنی‌داری نشان دادند. همچنین نشانگر SCOT21-3 با دو بیماری سفیدک پودری و زنگ قهوه‌ای ارتباط معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد داشت. سه نشانگر SCOT4-5، SCOT8-6 و CBDP 15-6 به طور معنی‌داری با دو بیماری زنگ قهوه‌ای و سپتوریوز برگی در ارتباط بودند.

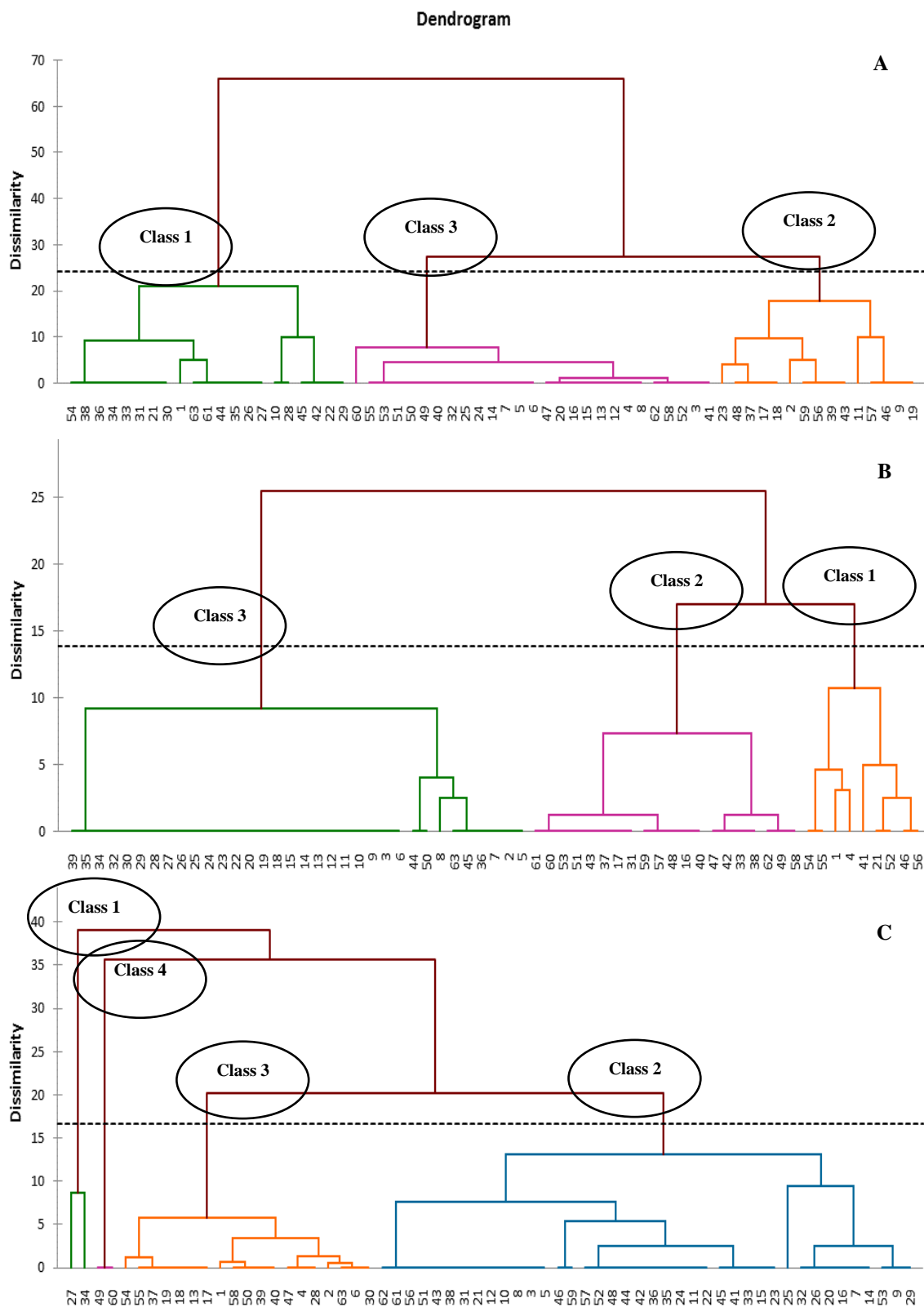
که گروه‌های بسیارحساس و مقاوم هر کدام با دو عضو، میانگین شدت بیماری به ترتیب برابر صفر و ۷۳/۴۶ داشتند و ۹۳ درصد جدایه‌ها واکنش نیمه‌حساس به بیماری نشان دادند (جدول ۷). در ارزیابی مقاومت ۲۰۰ لاین گندم نان بهاره به بیماری سفیدک پودری در شرایط مزرعه‌ای در استان گلستان، ۹۰ درصد لاین‌ها حساس و بدون ژن مقاومت به بیماری گزارش گردیدند (Dehghan, Saravani و همکاران (۲۰۱۸)، با بررسی واکنش ۵۰ ژنوتیپ گندم به بیماری سفیدک پودری در مرحله گیاهچه‌ای، ژنوتیپ‌ها را به سه گروه تقسیم نمودند که بیشترین تعداد (۳۴ ژنوتیپ) حساس به بیماری بودند.

براساس نتایج به‌دست آمده، دو ژنوتیپ ۴۹ و ۶۰ مقاومت بالایی به هر سه بیماری نشان دادند اما دو ژنوتیپ شماره ۲۷ و ۳۴ که نسبت به دو بیماری سفیدک پودری و زنگ قهوه‌ای حساسیت بالایی داشتند، در گروه مقاوم به بیماری سپتوریوز برگی قرار گرفتند. همچنین در مجموع ژنوتیپ‌های شماره ۶، ۱۳، ۴۰، ۴۷، ۵۰ و ۵۸ مقاومت قابل قبولی به این بیماری‌ها نشان دادند. از این ژنوتیپ‌ها می‌توان در برنامه‌های به‌نژادی به منظور هرمنبندی ژن‌ها، تلاقی‌های چندگانه و مرکب و تلاقی‌های برگشتی به منظور ایجاد مقاومت در ژنوتیپ‌های با عملکرد بالا و مقاوم به بیماری استفاده کرد (Goudemand *et al.*, 2013).

جدول ۷. میانگین مقدار سه بیماری زنگ قهوه‌ای، لکه برگی سپتوریایی و سفیدک پودری در گروه‌های حاصل از تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌های گندم به روش UPGMA

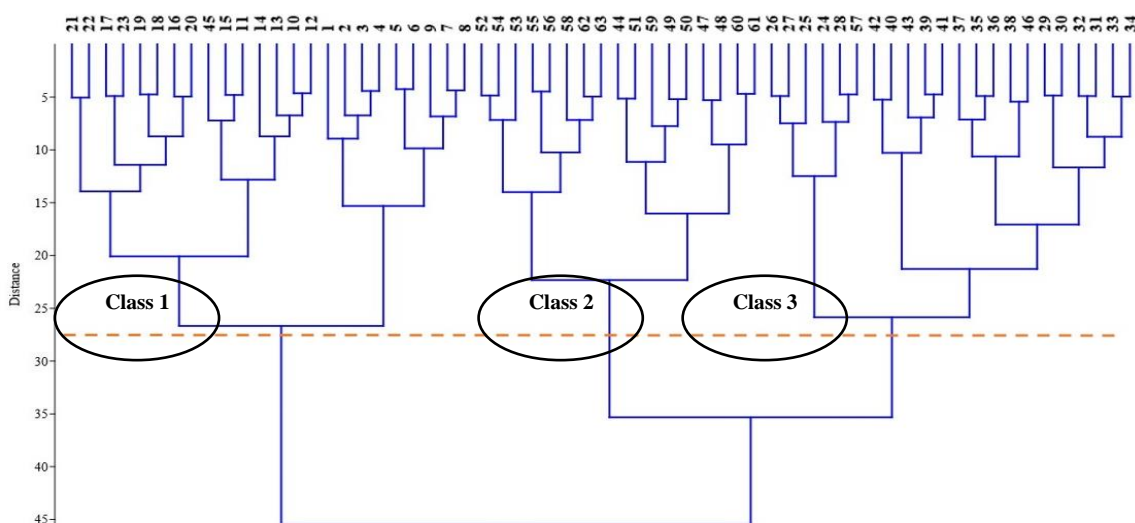
Table 7. Mean disease severity for Leaf rust, Septoria leaf blotch and powdery mildew in different classes based on cluster analysis of wheat genotypes using UPGMA method

Disease	Class 1	Class 2	Class 3	Class 4
Leaf Rust	78.333	30.067	2.593	-
Septoria leaf blotch	39.576	22.593	2.433	-
Powdery Mildew	73.460	42.161	21.962	0.000



شکل ۲. دندروگرام ژنوتیپ‌های گندم مورد بررسی از نظر بیماری‌های (A) زنگ‌برگی، (B) لکه برگ‌گی سپتوریایی و (C) سفیدک پودری با استفاده از روش UPGMA

Figure 2. Dendrogram of studied wheat genotypes using UPGMA method, based on A) leaf rust, B) septoria leaf blotch and C) powdery mildew



شکل ۳. دندوگرام تجزیه خوشه‌ای ۶۳ ژنوتیپ گندم براساس نشانگرهای SCoT و CBDP

Figure 3. Cluster Analysis of 63 wheat genotypes based on SCOT and CBDP markers.

ژنتیکی مناسب است. کمترین مقدار درصد چندشکلی به آغازگر 12 CBDP با ۳۸/۸۸ درصد اختصاص یافت. همچنین کمترین شاخص نشانگری MI به نشانگر (PR1) SCoT2 با مقدار ۰/۷۳ و بالاترین مقدار آن به نشانگر (PR6) SCoT8 با مقدار ۳/۸۰۸ اختصاص داده شد که نشان‌دهنده قدرت تفکیک بالاتر این آغازگر نسبت به سایر آغازگرهاست. براساس شاخص‌های ژنتیکی محاسبه‌شده می‌توان بیان نمود که SCoT8 به دلیل داشتن درصد جایگاه چندشکلی، بالا و محتوای اطلاعات چندشکلی بیشتر، بیشترین تنوع را بر روی جمعیت مورد مطالعه داشته است. مطالعه بر روی گیاه چچم با استفاده از ۱۵ نشانگر مولکولی SCoT نشان داد که در مجموع ۸۶ باند تولیدشده ۱۲ باند یک‌شکل مشاهده شد و سایر باندها چندشکل بودند (Farshadfar *et al.*, 2017). همچنین در بررسی ارزیابی تنوع ژنتیکی در ۱۰۳ توده *Aegilops* با استفاده از دو نشانگر SCoT و CBDP مشخص شد که در مجموع ۱۵ آغازگر SCoT و ۱۵ آغازگر CBDP به ترتیب ۱۶۴ و ۱۴۱ قطعه چندشکل تکثیر کردند که در نتیجه متوسط کلیه شاخص‌های تعیین‌کننده کارایی نشانگرهای مولکولی برای آغازگرهای SCoT بیشتر از CBDP بود (Pour-aboughadareh *et al.*, 2019).

براساس نتایج به‌دست‌آمده (جدول ۹)، نشانگرهای SCoT8 و CAAT 15 با ۱۳ باند بیشترین و نشانگرهای SCoT26 و CBDP 4 و CBDP 12 به ترتیب با ۶، ۷ و ۷ باند کمترین تعداد باند و ترکیب نشانگری را نشان دادند. همچنین بیشترین تعداد مونومرف (تک‌شکل) مربوط به نشانگر 15 CBDP و کمترین تعداد مربوط به SCoT8 و SCoT21 و CBDP 4 بودند (شکل ۴). محتوای اطلاعات چندشکل (PIC) از ۰/۳۱۶ تا ۰/۵۰۰ متغیر و به‌طور متوسط ۰/۳۵۱ بود. نشانگر 10 CBDP با مقدار ۰/۵۰۰ بیشترین و SCoT21 با ۰/۳۱۶ کمترین مقدار PIC را به خود اختصاص دادند. همچنین براساس نتایج بدست‌آمده بیشترین مقدار شاخص شانون (I) متعلق به نشانگر SCoT26 با مقدار ۰/۶۱۱ بود. این شاخص معیاری برای اندازه‌گیری میزان الل‌های چندشکل در یک جایگاه چندژنی است. همچنین برآورد شاخص‌نی نشان داد که تنوع بین ۰/۳۳ تا ۰/۴۵ متغیر بود. آغازگر SCoT9 و SCoT21 و به ترتیب بیشترین (۰/۴۵) و کمترین (۰/۱۷) مقدار شاخص‌نی را نشان دادند. میانگین این شاخص ۰/۳۵۷ برآورد شد. بیشترین مقدار درصد چندشکل متعلق به نشانگر SCoT8 با مقدار ۸۱ درصد بود که نشان داد این نشانگر برای بررسی تنوع

جدول ۹. نتایج حاصل از بررسی ۶۳ ژنوتیپ گندم با استفاده از نشانگرهای SCoT و CBDP

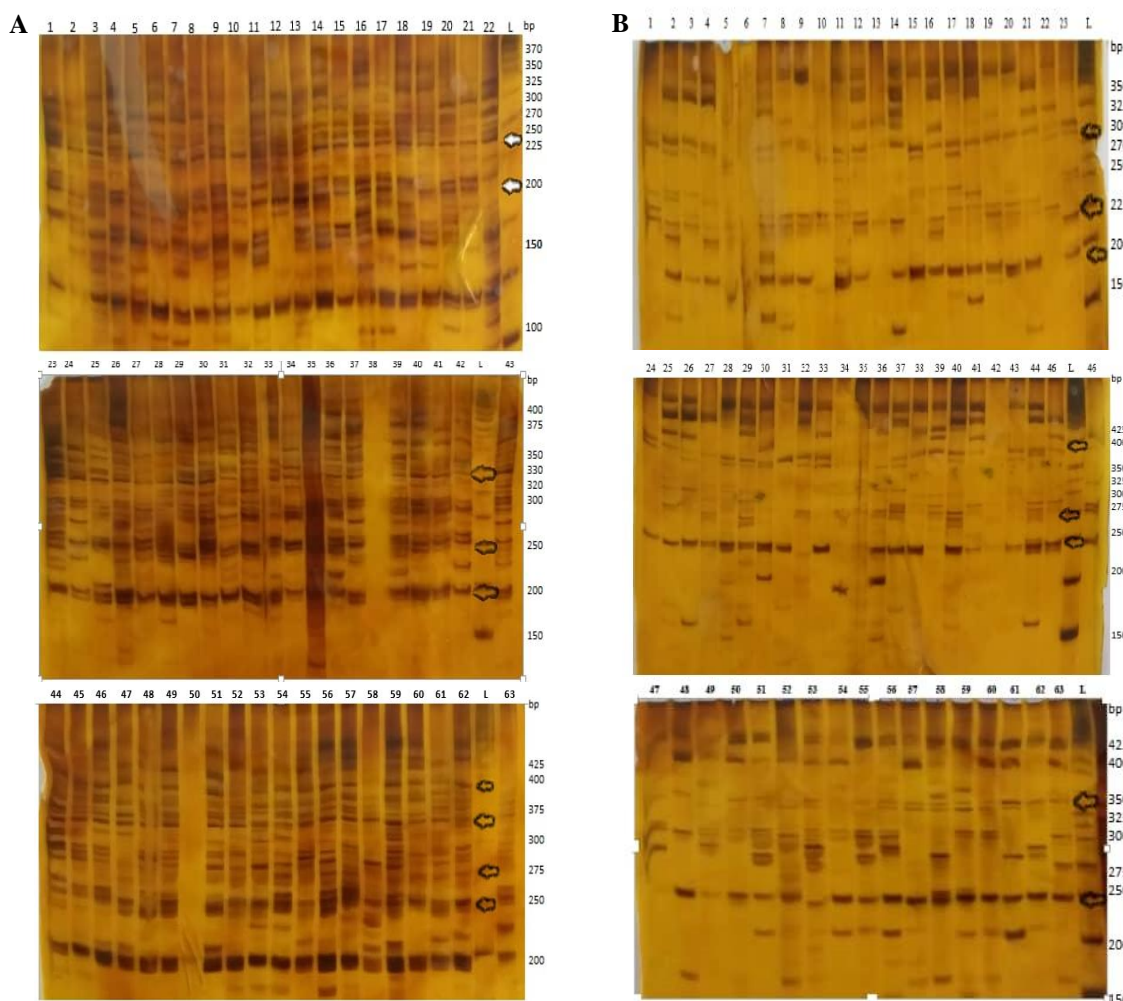
Table 8. Results from investigating on 63 wheat genotypes using SCoT and CBDP primers

Monomorph	Number of bands	Polymorphic allele	NE	H	I	PIC	MI	Polymorphism	Primer name
6	10	4	1.76775	0.42272	0.60987	0.456	0.730	62.500	SCoT2(PR1)
4	9	5	1.36253	0.24276	0.39446	0.402	1.117	69.231	SCoT4(PR3)
5	10	5	1.61602	0.36345	0.54774	0.490	1.225	66.667	SCoT5(PR4)
3	13	10	1.76473	0.42243	0.61002	0.495	3.808	81.250	SCoT8(PR6)
6	9	3	1.829633	0.450211	0.641722	0.476	0.476	60.000	SCoT9(PR7)
9	10	1	1.57093	0.3556	0.48925	0.487	0.049	52.632	SCoT11(PR8)
8	11	3	1.537009	0.312172	0.520690	0.479	0.392	57.895	SCoT12(PR9)
6	11	5	1.5404	0.3408	0.520854	0.480	1.091	64.706	SCoT14(PR10)
3	8	5	1.24395	0.17835	0.310225	0.316	0.988	72.727	SCoT21(PR12)
7	9	2	1.725666	0.402477	0.585644	0.492	0.219	56.250	SCoT24(PR13)
5	6	1	1.759733	0.423216	0.6118	0.482	0.080	54.545	SCoT26(PR14)
3	7	4	1.430357	0.286985	0.454042	0.440	1.006	70.000	CBDP 4(PR18)
5	11	6	1.681054	0.3936	0.579345	0.500	1.636	68.750	CBDP 10(PR24)
4	11	7	1.7143	0.404154	0.589527	0.499	2.223	73.333	CBDP 11(PR25)
7	11	4	1.058090	0.384485	0.566714	0.499	0.726	38.889	CBDP 12(PR26)
8	13	5	1.517384	0.330723	0.509169	0.474	0.912	61.905	CBDP 15(PR29)
5.56	9.93	4.37	1.5699	0.3571	0.5338	0.466	1.042	63.205	mean

NE: Number of Efficient allele, HE: Nee genetic diversity index, I: Shanon index, PIC: Polymorphic Information Content, MI: Marker Index.

ژن‌های Lr19, Lr24, Lr25, Lr27, Lr29 (McCartney *et al.*, 2005) و Lr9, Lr10, Lr13 و در ادامه نشانگرهای STS و SCAR (Prabhu *et al.*, 2004) برای شناسایی ژن‌های مقاومت به زنگ قهوه‌ای مورد استفاده قرار گرفتند. وجود ارتباط بین تنوع بالا در ژنوتیپ‌های گندم و واکنش به بیماری سفیدک پودری را با استفاده از هشت آغازگر IRAP, IPBS, ISSR مورد بررسی قرار گرفته و اثبات شده است (Masoudi *et al.*, 2016). براساس نتایج مطالعه مقاومت ۳۴ ژنوتیپ زراعی و وحشی جو نسبت به بیماری سفیدک پودری با استفاده از ۱۶ آغازگر ISSR، ۶ آغازگر به‌عنوان آل‌های آگاهی بخش مرتبط با تحمل به بیماری سفیدک پودری معرفی شدند (Ahmadi *et al.*, 2017). همچنین Saravani و همکاران (۲۰۱۸) نشان دادند که تنوع قابل قبولی در بین ۱۱۶ ژنوتیپ گندم نان در ارتباط با واکنش به بیماری سفیدک پودری وجود دارد که با استفاده از ۱۰ آغازگر IRAP و ISSR قابل بررسی می‌باشد.

در پژوهشی بر روی ۲۰ رقم تجاری و امیدبخش زیتون از ۲۵ نشانگر CBDP استفاده شد که در نتیجه در مجموع ۷۵۵ قطعه ال چندشکل تکثیر شد. میانگین محتوای اطلاعات چندشکل (PIC) و شاخص نشانگری (MI) آغازگرها به ترتیب ۰/۹۴۱ و ۵/۶۴ بود که بیانگر کارایی و قدرت تمایز بالای نشانگرهای CBDP می‌باشد (Fabriki Ourang *et al.*, 2017). نشانگرهای مولکولی، ارزیابی تنوع ژنتیکی را تسهیل نموده و به دلیل سرعت بالا و دقت در ردیابی تنوع در جمعیت، جایگزین مناسبی برای سایر روش‌ها می‌باشد (Kara *et al.*, 2016). مطالعه بر روی ارقام رایج گندم سیستان برای مقاومت به بیماری زنگ زرد، قهوه‌ای و سیاه نشان داد که از ۱۰ جفت آغازگر ریزماهواره ۹ آغازگر تکثیرکننده و چندشکل بودند (Shahraki *et al.*, 2017). همچنین شناسایی ژن‌های مقاومت به زنگ قهوه‌ای با طراحی نشانگرهای RAPD (Autrique *et al.*, 1995) RFLP (Prins *et al.*, 2001)، برای



شکل ۴. الگوی باندهای تکثیر شده به وسیله‌ی پرایمر (A) SCoT2(PR1) و (B) CBDP 15(PR29) در ۶۳ ژنوتیپ گندم
 Figure 4. Amplification patterns of the selected markers A) SCoT2(PR1) and B) CBDP 15(PR29) in 63 wheat genotypes

فراگیر بودن آغازگرهای آن در ژنوم گیاهان از دیگر مزایای این نشانگر محسوب می‌شود (Collard and Mackill, 2009). وجود تنوع قابل ملاحظه و چندشکلی مطلوبی را در بین ژنوتیپ‌های دو گونه *Lolium* با استفاده از نشانگر SCoT گزارش شده است (Farshadfar et al., 2017). نشانگر CBDP نیز از جمله نشانگرهای جدید است که براساس نواحی حفاظت‌شده پروموتور ژن‌ها و با استفاده از یک آغازگر واحد می‌باشد. این آغازگرها همگی دارای توالی CCAAT به‌عنوان هسته‌ی اصلی و ثابت بوده که منجر به نشان دادن چندشکلی موجود در ناحیه جعبه CAAT پروموتور ژن‌های گیاهان می‌شوند.

در این تحقیق از دو نشانگر CBDP و SCoT برای بررسی ژنوتیپ‌ها استفاده شد. نشانگر SCoT یکی از نشانگرهای جدید مبتنی بر واکنش زنجیره‌ای پلیمرز است که براساس توالی‌های آغاز ATG در ژن‌های گیاهی طراحی شده است. با استفاده از این نشانگر نواحی بین کدون‌های آغاز ATG طی واکنش زنجیره‌ای پلیمرز تکثیر و تفاوت بین افراد آشکار می‌شود (Kalendar, 2007). این نشانگر از چندشکلی و تکرارپذیری بالایی در مقایسه با ISSR و RAPD برخوردار هستند و در طراحی آغازگرهای این نشانگر به اطلاعات مربوط به توالی نوکلئوتیدی ژنوم نیاز نیست. همچنین آشکارسازی اطلاعات ژنتیکی وسیع و

جدول ۸. تجزیه ارتباط بین نشانگرهای مولکولی و واکنش به سه بیماری سفیدک پودری، سپتوریوز برگ و زنگ قهوه‌ای
Table 9. Associate analysis of molecular markers for response to Powdery mildew, Septoria leaf spot and Leaf rust

F	Standard error	Regression coefficient	Primer	F	Standard error	Regression coefficient	Primer	
18.288	8.37	-6.792*	(SCoT24)-3	13.559	13.07	9.091**	(SCoT9)-5	Powdery mildew
17.943	8.03	5.120*	(SCoT5)-4	15.704	11.81	13.502**	(CBDP 4)-4	
18.343	7.64	6.196*	(CBDP 10)-2	17.068	10.75	6.383*	(CBDP 4)-3	
18.072	7.40	-14.019*	(SCoT21)-3	16.553	10.16	11.900**	(SCoT11)-2	
18.448	7.08	4.952*	(CBDP 12)-7	16.694	9.52	10.020**	(SCoT4)-7	
18.547	6.84	4.363*	(CBDP 4)-2	17.026	8.97	10.519**	(SCoT9)-2	
Adjusted R ²			0.816	(intercept)			8.561	
14.613	7.85	7.975**	(SCoT12)-2	18.706	12.80	-14.492**	(SCoT11)-2	Leaf Septoriosis
14.860	7.56	-6.776**	(SCoT8)-6	12.426	11.64	5.893*	(SCoT11)-3	
15.224	7.27	7.144*	(CAAT 10)-3	11.365	11.23	14.018**	(SCoT5)-6	
15.559	7.00	4.749*	(SCoT12)-1	11.401	10.70	-8.592**	(SCoT11)-2	
16.341	6.68	-12.447**	(SCoT4)-5	11.814	10.14	-5.152*	(SCoT21)-5	
17.543	6.32	-5.730*	(CBDP 15)-6	12.984	9.46	-16.243**	(SCoT14)-6	
18.808	5.98	-6.064*	(CBDP 10)-2	13.160	9.05	5.188*	(CBDP 10)-5	
20.154	5.66	-4.542*	(SCoT8)-2	14.147	8.51	-8.072**	(CBDP 11)-5	
Adjusted R2			0.891	(intercept)			29.045	
12.819	20.696	-15.497*	(SCoT11)-6	15.358	30.732	-8.087*	(CBDP 4)-5	Leaf Rust
13.137	19.831	21.890*	(SCoT21)-3	12.011	29.297	23.715*	(SCoT4)-5	
13.849	18.832	-15.392*	(CBDP 10)-2	11.765	27.655	25.846**	(SCoT8)-6	
14.673	17.860	20.765*	(SCoT8)-4	13.613	25.324	-28.406**	(CBDP 15)-3	
15.068	17.161	15.939*	(CBDP 12)-8	12.767	24.430	-15.897*	(CBDP 15)-6	
15.769	16.381	13.067*	(SCoT11)-2	12.037	23.716	-23.909**	(SCoT2)-5	
16.616	15.602	11.616*	(CBDP 10)-6	11.938	22.813	27.294**	(SCoT2)-3	
Adjusted R ²			0.841	(intercept)			22.665	

ایجاد چندشکلی زیاد با قابلیت اعتماد بالا، نشانگرهای مناسبی در ارزیابی تنوع ژنتیکی می‌باشند. کاربرد نشانگرهای مولکولی به علت سرعت بالا و همچنین دقت در ردیابی تنوع در جمعیت و نیز عدم تاثیرپذیری از شرایط آب و هوایی جایگزین مناسبی برای سایر روش‌ها می‌باشد (Kara et al., 2016). شناسایی نشانگرهای مولکولی مرتبط با ژن‌های مقاومت، برای توسعه‌ی مقاومت به بیماری‌های گندم، به‌ویژه در هرمی‌کردن ژن‌های مقاومت ضروری‌ست (Qiu et al., 2020). در این تحقیق برای اولین بار ارتباط بین نشانگرهای هدفمند ژنی شامل CCoT و CCoT با مقاومت با بیماری‌های مهم گندم مورد بررسی قرار می‌گیرد. نتایج این تحقیق نشان داد که نشانگرهای مورد بررسی با صفت واکنش به سه بیماری مهم برگ گندم مرتبط بودند که می‌تواند مقدمه‌ای بر انجام تحقیقات دقیق‌تر در نواحی کاندید شناسایی شده در ژنوم باشند. با

همانند نشانگر SCoT، تکرارپذیری بالا و چندشکلی قابل قبول از ویژگی‌های این نشانگر است که سبب افزایش کارایی آن در مطالعات مرتبط با تنوع ژنتیکی، ساختار جمعیت و تهیه نقشه‌های ژنتیکی شده است (Singh et al., 2014). از نشانگرهای CCoT به‌طور موفقیت‌آمیزی در بررسی تنوع ژنتیکی و تجزیه ساختار جمعیت در انواع ژرم‌پلاسما زراعی و وحشی گندم استفاده شده است (Etminan et al., 2018). بررسی تنوع ژنتیکی توده‌های آزیلوپس با استفاده از دو نشانگر CCoT و CCoT نشان داد که هر دو سیستم نشانگری به خوبی قادر به شناسایی چندشکلی موجود در نمونه‌های مورد بررسی بودند (Pour-Aboughadareh et al., 2020). مقایسه‌ی نشانگرهای CCoT، CCoT و ISSR در ارزیابی تنوع گندم دوروم (Heidari et al., 2017) و گندم نان (Hamidi et al., 2014) نشان داده است که نشانگرهای هدفمند ژنی مانند CCoT و CCoT با

به بیماری‌های گندم در سطح ژنوم را اثبات می‌نماید که می‌توان در تحقیقات آتی با استفاده از تکنیک‌های مهندسی ژنتیک این ژن‌ها را به جمعیت‌ها و واریته‌های فاقد آنها انتقال داد. بنابراین انجام تحقیقات بیشتر با استفاده از تعداد بیشتری از این نشانگرها و سایر نشانگرهای مولکولی پیشنهاد می‌گردد.

توجه به این نتایج، مجموعه نشانگرهای استفاده‌شده در این پژوهش برای اهدافی نظیر تمایز، شناسایی، ارزیابی تنوع و روابط ژنتیکی جمعیت‌های گندم سودمند می‌باشند. از سوی دیگر یافته‌های این پژوهش کارآمدی روش مکان‌یابی ارتباطی را در شناسایی دقیق و مؤثر مکان‌های کنترل‌کننده واکنش

REFERENCES

- Adhikari TB, Mamidi S, Gurung S, Bonman JM (2015) Mapping of new quantitative trait loci (QTL) for resistance to *Septoria tritici* blotch in spring wheat (*Triticum aestivum* L.). *Euphytica*. 205(3):699-706.
- Ahmadi M, Fazeli A, Arminian A (2017) Identification of Informative ISSR Marker Linked to Resistance to Powdery Mildew in Barley (*Hordeum vulgare*) at Adult Growth Stage. *J Crop Breed*. 9(22): 31-40.
- An ZW, Xie LL, Cheng H, Zhou Y, Zhang Q, He XG, Huang HS (2009) A silver staining procedure for nucleic acids in polyacrylamide gels without fixation and pretreatment. *Anal. Biochem*. 391(1):77-79.
- Arraiano LS, Brown JK. (2017) Sources of resistance and susceptibility to *Septoria tritici* blotch of wheat. *Mol. plant pathol*. 18(2):276-92.
- Autrique E, Tanksley SD, Sorrells ME, Singh RP (1995) Molecular markers for four leaf rust resistance genes introgressed into wheat from wild relatives. *Genome*. 38 (1): 75-83.
- Brown JKM, Chartrain L, Lasserre-Zuber P, and Saintenac C (2015) Genetics of resistance to *Zymoseptoria tritici* and applications to wheat breeding. *Fungal Genet. Biol*. 79, 33–41.
- Buerstmayr H, Lemmens M, Berlakovich S, Ruckenbauer P (1999) Combining ability of resistance to head blight caused by *Fusarium culmorum* (W.G. Smith) in the F1 of a seven parent diallel of winter wheat (*Triticum aestivum* L.). *Euphytica*. 110: 199-206.
- Collard BC, Mackill DJ (2009) Start Codon Targeted (SCoT) polymorphism: a simple novel DNA marker technique for generating gene-targeted markers in plants. *Plant Mol Biol Rep*. 27(1): 86–93
- Coventry DR, Yadav A, Poswal RS, Sharma RK, Gupta RK, Chhokar RS, Gill SC, Kumar V, Kumar A, Mehta A, Kleemann SG (2011) Irrigation and nitrogen scheduling as a requirement for optimising wheat yield and quality in Haryana, India. *Field Crops Res*. 123(2): 80-88.
- Czembor PC, Radecka-Janusik M, Mańkowski D (2011) Virulence spectrum of *Mycosphaerella graminicola* isolates on wheat genotypes carrying known resistance genes to *Septoria tritici* blotch. *Phytopath*. 159(3): 146-154.
- Dadrezaei ST, Tabatabai N, Lakzadeh I, Jafarnejhad A, Afshari F, Hassan Bayat Z (2018) Evaluation of tolerance to leaf rust disease in some selected bread wheat genotypes. *Appl. Entomol. Phytopathol*. 86(1): 29-40.
- Dakouri A, McCallum B, Walichnowski A, and Cloutier S (2010) Fine-mapping of the leaf rust Lr34 locus in *Triticum aestivum* (L.) and characterization of large germplasm collections support the ABC transporter as essential for gene function. *Theor. Appl. Genet*. 121: 373–384.
- Dehghan M (2009) Resistant genotypes

- of preliminary, advanced and invigorating climate, hot and humid north to powdery mildew in wheat. (Research Project Final Report). Publication of Agriculture and Natural Resources, Research Center of Golestan, 15 p.
- Ebrahimyan M, Nasrollahnezhad Ghomi AA, Null K, Ramezani SS (2019) Evaluation of resistance to leaf rust at adult stage in some bread wheat cultivars. *J. Plant Product. Res.* 26(3):89-102.
- Etminan A, Pour-Aboughadareh A, Mohammadi R, Noori A, Ahmadi-Rad A (2018) Applicability of CAAT box-derived polymorphism (CBDP) markers for analysis of genetic diversity in durum wheat. *Cereal Res Commun.* 46(1): 1-9.
- Eyal Z, Scharen AL, Prescott JM, and Van Ginkel M (1987) The Septoria Disease of Wheat: Concepts and Methods of Disease Management. CIMMYT Mexico, D. F.
- Fabriki Ourang S, Golmohammadi M, Karimi H (2019) Evaluation of genetic relationships among promising and commercial olive varieties using gene-targeted CAAT box-derived polymorphism (CBDP) markers. *J. Agric. Biotech.* 10(4): 93-109.
- Farshadfar M, Shirvan, H, Amjadian M, Yaghotipoor A (2017) Application of SCoT marker to discriminate *Lolium perenne* and *Lolium multiflorum* species. *Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breed. and Gene. Res.* Vol. 26(1):207-220.
- Figlan S, Ntushelo K, Mwadzingeni L, Terefe T, Tsilo TJ, Shimelis H (2020) Breeding Wheat for Durable Leaf Rust Resistance in Southern Africa: Variability, Distribution, Current Control Strategies, Challenges and Future Prospects. *Front. Plant Sci.* 11:549.
- Ghazvini H, Sarhangi M, Afshari F (2018) Identification of molecular markers linked to Lr34/Yr18 gene and evaluation of resistance to leaf rust and yellow rust in wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars and promising lines. *Iranian J, Crop Sci.* 20(2):108-25.
- Goudemand E, Laurent V, Duchalais L, Ghaffary SM, Kema GH, Lonnet P, Margalé E, Robert O (2013) Association mapping and meta-analysis: two complementary approaches for the detection of reliable Septoria tritici blotch quantitative resistance in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Mol. Plant Breed.* 32(3): 563-584.
- Hamidi H, Talebi R, Keshavarz F (2014) Comparative efficiency of functional gene based markers, start codon targeted polymorphism (SCoT) and conserved DNA-derived Polymorphism (CDDP) with ISSR markers for diagnostic fingerprinting in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Cereal Res Commun* 42(4): 558-567.
- Heidari P, Etminan A, Azizinezhad R, Khosroshahli M (2017) Genomic variation studies in durum wheat (*Triticum turgidum* ssp. *durum*) using CBDP, SCoT and ISSR markers. *Indian J Genet Pl Br.* 77(3): 379-386.
- IBM Corp. Released (2010) IBM SPSS Statistics for Windows, Version 19.0. Armonk, NY: IBM Corp.
- Jaczewska-Kalicka A, & Krasinski T (2010) Pathogenic fungi dominating in winter wheat in the years 2006-2009. *Prog. Plant Prot.* 50: 642-647.
- Jia M, Xu H, Liu C, Mao R, Li H, Liu J, Du W, Wang W, Zhang X, Han R, Wang X (2020) Characterization of the powdery mildew resistance gene in the elite wheat cultivar Jimai 23 and its application in marker-assisted selection. *Frontiers in genetics.* 2;11:241.
- Kalendar R (2007) FastPCR: a PCR primer design and repeat sequence searching software with additional tools for the manipulation and analysis of DNA and protein. Available

- atwww.biocenter.helsinki.fi/programs/fastpcr.htm; 2007.
- Kara K, Mezghani N, Debbabi OS, Madini M, Rached-Kanouni M, Naceur MB (2016) Assessment of genetic diversity of wheat (*Triticum aestivum* L.) using agro-morphological characters and microsatellite markers. *Int J Biosci.* 9: 92-101.
- Kheirgu M, Panjeh N, Taliey F (2020) Identification of New Sources of Resistance to *Zymoseptoria tritici* Blotch in Genotypes of Spring Bread Wheat. *J. Appl. Res. Plant Protect.* 9(2):31-43.
- Kolmer J (2013) Leaf rust of wheat: pathogen biology, variation and host resistance. *Forests.* 4(1): 70–84.
- Li G, Fang T, Zhang H, Xie C, Li H, Yang T, Nevo E, Fahima T, Sun Q, Liu Z (2009) Molecular identification of a new powdery mildew resistance gene Pm41 on chromosome 3BL derived from wild emmer (*Triticum turgidum* var. *Dicoccoides*). *Theo Appl Genet.* 119(3): 531–539.
- Li GQ, Cowger C, Wang XW, Carver BF, and Xu XY (2019). Characterization of Pm65, a new powdery mildew resistance gene on chromosome 2AL of a facultative wheat cultivar. *Theor. Appl. Genet.* 132, 2625–2632.
- Masoudi H, Sabouri H, Taliei F, Jafarbay J (2016) Investigation of Genetic Diversity and Relationship for Morphophenological Traits and Resistance to Powdery mildew in Wheat Germplasm Using IRAP, ISSR and iPBS Markers. *J Crop Sci Biotech.* 7 (18): 41-56.
- McCartney, C, Somers D, McCallum B, Thomas J, Humphreys D, Menzies J, Brown P (2005) Microsatellite tagging of the leaf rust resistance gene Lr16 on wheat chromosome 2BSc. *Mol. Breed.* 15(4): 329-337.
- Mekonnen T, Haileselassie T, Kaul T, Sharma M, Geleta B, Tesfaye K (2019) Molecular screening of *Zymoseptoria tritici* resistance genes in wheat (*Triticum aestivum* L.) using tightly linked simple sequence repeat markers. *Europe. J. Plant Pathol.* 155(2):593-614.
- Mohammadbeygi A, Roohparvar R, Torabi M (2014) Resistance sources to Septoria leaf blotch in selected wheat genotypes. *Seed Plant Improv. J.* 30(3):605-621.
- Motlagh SF, Rohparvar R, Kia S, Zamanizadeh HR (2015) Evaluation of resistance of some wheat cultivars and lines to septoria leaf blotch at seedling and adult plant stages. *Seed and Plant Improve. J* 31(3): 509-529.
- Pour-Aboughadareh A, Etminan A, Shooshtari L, Maleki-Tabrizi N (2019) Comparative Assessment of SCoT and CBDP Markers for Investigation of Genetic Diversity Existing in Different Aegilops Species. *Agric. Biotechnol.* 11 (4): 153-174.
- Prabhu K, Gupta S, Charpe A, Koul S (2004) SCAR marker tagged to the alien leaf rust resistance gene Lr19 uniquely marking the *Agropyron elongatum*-derived gene Lr24 in wheat: a revision. *Plant Breed.* 123(5): 417-420.
- Prins R, Groenewald J, Marais G, Snape J, Koebner R (2001) AFLP and STS tagging of Lr19, a gene conferring resistance to leaf rust in wheat. *Theor. Appl. Genet.* 103(4): 618-624.
- Qiu L, Wang H, Li Y, Wang W, Liu Y, Mu J, Geng M, Guo W, Hu Z, Ma J, Sun Q (2020) Fine mapping of the wheat leaf rust resistance gene LrLC10 (Lr13) and validation of its co-segregation markers. *Frontiers in Plant Sci.*;11:470.
- Qureshi N, Bariana H, Kumran VV, Muruga S, Forrest KL, Hayden MJ, et al (2018) A new leaf rust resistance gene Lr79 mapped in chromosome 3BL from the durum wheat landrace Aus26582. *Theor. Appl. Genet.* 131,

- 1091–1098.
- Roelfs AP, Singh RP, Saari EE (1992) Rust diseases of wheat: concepts and methods of diseases Management. CIMMYT, Mexico, DF. 81p.
- Saari EE, Prescott JM (1975) A scale for appraising the foliar intensity of wheat disease. *Plant Disease Reporter*. 59: 377-380.
- Saghai-Marouf MA, Soliman KM, Jorgensen RA, Allard RW (1984) Ribosomal DNA sepaer length polymorphism in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location and population dynamics. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 81(24): 8014–8019.
- Saravani S, Sabouri H, Taliei F, Biabani A, Rahemi Karizaki, A (2018) Evaluation of genetic diversity of wheat genotypes in terms of powdery mildew resistance, grain yield, yield components and molecular markers. *J. Agric. Biotech.* 11 (3): 57-82.
- Shahraki M, Imam Juma AA, Fakheri BA, Fazeli Nasab B (2017) 'Identification of diversity of Sistan wheat cultivars in terms of genes resistant to wheat rust diseases with microsatellite markers', *J Crop Sci Biotechnol.* 8 (23): 57-58.
- Simón MR, Cordo CA, Castillo NS, Struik PC, Börner A (2012) Population structure of *Mycosphaerella graminicola* and locatio of genes for resistance to the pathogen: recent advances in Argentina. *Int J Agron* 1–7.
- Singh AK, Rana MK, Singh S, Kumar S, Kumar R, Singh R (2014) CAAT box-derived polymorphism (CBDP): a novel promoter-targeted molecular marker for plants. *J. Plant Biochem. Biotech* 23: 175–183.
- Tanveer H, Ishtiaq M, Mehrban A, Waheeda M, Shahzad A, Mehwish M (2016) Assessment of wheat foliar mycoflora and its management strategies in district bhimber, azad kashmir, pakistan. *Appl. Ecol. Environ. Res.* 14(5): 49-65.
- Terefe T, Pretorius Z, Bender C, Visser B, Herselman L, Negussie T (2011) First report of a new wheat leaf rust (*Puccinia triticina*) race with virulence for Lr12, 13, and 37 in South Africa. *Eur. J. Plant Pathol.* 139: 95–105.
- Tomkowiak A, Skowrońska R, Buda A, Kurasiak-Popowska D, Nawracała J, Kowalczewski PŁ, Pluta M, Radzikowska D (2019) Identification of leaf rust resistance genes in selected wheat cultivars and development of multiplex PCR. *Open Life Sciences.* 14(1):327-34.
- Vanda M, Hoshmand S (2011) Genetic analysis of grain yield and related traits in durum genotypes using diallel. *Iranian J Crop Sci.* 13: 206-218.
- Vechet L (2006) Reaction of winter wheat cultivars and breeding lines to *Blumeria graminis* f.sp. *tritici*. *Plant Protect. Sci.* 42: 15–20.
- Yeh FC, Yang RC, Boyle TJB, Ye ZH, Mao JX (1997) POPGENE, The user-friendly shareware for population genetic analysis. Edmonton, Molecular Biology and Biotechnology Center, University of Alberta, Canada.