

## شناسایی نشانگرهای ریزماهواره پیوسته با ژن‌های مقاومت به بلایت فوزاریومی سنبله در گندم

### Identification of Microsatellite Markers Linked to *Fusarium* Head Blight Resistance Genes in Wheat

کوروش حاتم سروری<sup>۱</sup>، حجت‌اله مظاهری لقب<sup>۲\*</sup> و محسن مردی<sup>۳</sup>

#### چکیده

به منظور شناسایی نشانگرهای مولکولی پیوسته با ژن‌های کنترل‌کننده مقاومت به بلایت فوزاریومی سنبله در گندم، جمعیت‌های  $F_{3:4}$  و  $F_{3:5}$  حاصل از تلاقی دو والد فلات (حساس) و سومای ۳ (مقاوم) طی دو سال، در شرایط مزرعه و تحت آلودگی مصنوعی، مورد ارزیابی فنوتیپی قرار گرفتند. توسعه بیماری به وسیله سطح زیر منحنی پیشرفت آلودگی اندازه‌گیری شد. چند شکلی والدین با استفاده از ۱۷۰ جفت آغازگر ریزماهواره بررسی شد و از ۴۱ آغازگر چندشکل در بین والدین، برای ارزیابی ۱۳۸ فرد از جمعیت  $F_{3:4}$  استفاده شد. بررسی نتایج فنوتیپی نشان داد که والدین و جمعیت‌های درحال تفکیک در مقاومت به بیماری، دارای اختلاف‌های معنی‌دار بودند. بهترین تفکیک برای مقاومت در ۲۲ تا ۲۶ روز پس از آلودگی اولیه مشاهده شد. با استفاده از تجزیه مولکولی، دو QTL مرتبط با مقاومت به بیماری، بر روی بازوی کوتاه کروموزوم‌های 3B و 5B در جمعیت مورد ارزیابی شناسایی شدند که مجموعاً ۱۶ درصد از تغییرات سطح زیر منحنی پیشرفت آلودگی را توجیه کردند.

**واژه‌های کلیدی:** گندم، بلایت فوزاریومی سنبله، ریزماهواره، سطح زیر منحنی پیشرفت آلودگی

---

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان  
۲. دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان  
۳. دانشیار پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی، کرج  
\* نویسنده مسوول  
Email: [hojat.mazahery@yahoo.co.uk](mailto:hojat.mazahery@yahoo.co.uk)  
این مقاله از پایان نامه کارشناسی ارشد نگارنده اول استخراج گردیده است.

نمود. اشمولکه و همکاران (Schmolke *et al.* 2005) با بررسی بر روی ۱۴۵ اینبرد لاین نوترکیب و استفاده از نشانگرهای AFLP<sup>۱</sup> و ریزماهوره چهار QTL را بر روی کروموزوم‌های 1BL، 2BL، 6AL و 7BS که مجموعاً ۴۱ درصد تغییرات فنوتیپی را توجیه می‌کردند، شناسایی نمود. گل‌سینگر و همکاران (Gilsinger *et al.* 2005) با آزمایش بر روی یک جمعیت اینبرد لاین نوترکیب و بهره‌گیری از نشانگر ریزماهوره، چهار QTL را که اصلی‌ترین آن‌ها ۲۹ درصد تغییرات را توجیه می‌کرد، شناسایی نمود. ژو و همکاران (Zhou *et al.* 2010) با استفاده از نشانگر ریزماهوره مدل چندگانه، یک QTL را بر روی کروموزوم 3BS که ۴۵/۶ درصد از تغییرات فنوتیپی را توجیه می‌کرد، شناسایی نمودند. ناجی و همکاران (Naji *et al.* 2008) نیز با استفاده از نشانگرهای ریزماهوره، یک QTL بر روی کروموزوم 3BS با ۱۶ درصد توجیه تغییرات فنوتیپی، شناسایی کردند. ژانگ و همکاران (Zhang *et al.* 2010) با استفاده از ۳۹۵ نشانگر ریزماهوره و ۱۲۵ نشانگر AFLP، پنج QTL را در کروموزوم‌های 3B، 6B، 7A، 1B و 2D با توجیه تغییرات فنوتیپی از ۴/۹۸ درصد (2D) تا ۳۱/۶۹ درصد (3B) شناسایی کردند. این پژوهش به منظور شناسایی تعدادی از نشانگرهای ریزماهوره پیوسته با QTL‌های مقاومت به FHB گندم در جمعیت‌های در حال تفرق حاصل از تلاقی والد حساس فلات با والد مقاوم سومای ۳ و تعیین سهم هر QTL در تبیین تغییرات ژنتیکی این صفت انجام شد. نشانگرهای پیوسته با مقاومت به FHB شناسایی شده در این پژوهش پس از تایید سایر محققین در برنامه‌های اصلاحی به منظور افزایش مقاومت به این بیماری در گندم می‌توانند مورد استفاده قرار گیرند.

## مواد و روش‌ها

### مواد گیاهی

این آزمایش با به کارگیری جمعیت‌های F<sub>3:5</sub> و F<sub>3:4</sub> حاصل از تلاقی والد مقاوم سومای ۳ و والد حساس فلات با همکاری پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی در کرج انجام شد. رقم سومای ۳، بومی کشور چین بوده و در مکان‌های مختلف، برای مقاومت به FHB مورد ارزیابی قرار گرفته و ثابت شده است که دارای مقاومت بالا می‌باشد (singh *et al.* 1995). رقم بهاره فلات که در مرکز سیمیت ایجاد شده است،

گندم یکی از محصولات راهبردی و اساسی کشور بوده و از دیدگاه اقتصاددانان، افزایش تولید گندم می‌تواند زمینه‌ساز استقلال و رفع وابستگی به سایر کشورها باشد. چرا که نقش مهمی در تامین غذای مردم برعهده دارد (Rajabi *et al.* 2004). بلایت فوزاریومی سنبله درگندم یا FHB (*Fusarium head blight*) که عموماً اسکب (Scab) نامیده می‌شود، یکی از بیماری‌های زیان‌آور در مناطق گرم و مرطوب کشت گندم درجهان می‌باشد. علائم این بیماری به راحتی قابل تشخیص اند. FHB، باعث ایجاد خسارات متعددی در گیاه گشته، سلامت انسان و دام را به خطر می‌اندازد (Bai *et al.* 1994). در شرایط اپیدمی این بیماری، تا ۷۰ درصد کاهش عملکرد در شمال کشور گزارش شده است (Tutiaei 2002, Forutan *et al.* 1993 and Malihi Pur *et al.* 2000). روش‌های کنترل زراعی و شیمیایی به دلیل وجود تنوع وسیع عامل بیماری‌زایی و هم‌چنین وابستگی شدت بیماری به شرایط محیطی، به‌طور کامل مؤثر نبوده و به نظر می‌رسد ایجاد واریته‌های مقاوم، اقتصادی‌ترین و مؤثرترین روش کنترل بیماری می‌باشد (Buerstmayr *et al.* 1999). از آنجا که ایجاد مقاومت به FHB گندم با استفاده از روش‌های متداول اصلاح نباتات مشکل و وقت‌گیر می‌باشد، نشانگرهای مولکولی می‌توانند در جهت تکمیل روش‌های اصلاحی مفید باشند. در این پژوهش، با استفاده از جمعیت‌های در حال تفکیک که از تلاقی ژنوتیپ‌های حساس و مقاوم به این بیماری ایجاد شده‌اند، با مکان‌یابی ژن‌های کنترل‌کننده مقاومت و تعیین اثرات ژنتیکی آن‌ها، درک بهتری از ژنتیک مقاومت و چگونگی تعیین استراتژی‌های اصلاحی برای افزایش مقاومت به این بیماری، امکان‌پذیر خواهد بود. هم‌چنین، به کمک نشانگرهای مولکولی پیوسته با ژن‌های مقاومت، امکان انتقال قطعات کروموزومی حامل ژن‌های مقاومت به والد حساس زراعی و نهایتاً ایجاد واریته مقاوم جدید، میسر می‌گردد.

گزارش‌های متعددی در مورد شناسایی نشانگرهای مولکولی پیوسته با ژن مقاومت به FHB گندم توسط گروه‌های تحقیقاتی مختلف در سال‌های اخیر منتشر شده است. یانگ و همکاران (Yang *et al.* 2005) با استفاده از ۱۷۲ ریزماهوره بر روی یک جمعیت اینبرد لاین نوترکیب، سه QTL<sup>۱</sup> را بر روی کروموزوم‌های 5DL، 4BL و 3BS معین

2. Amplified fragment length polymorphism

1. Quantitative trait loci

آلودگی ارزیابی شدند. سطح زیر منحنی پیشرفت آلودگی به- وسیله فرمول تغییرشکل یافته شیر و فینی (Shaner & Finney, 1977) برای هر گیاه  $F_{3:4}$  براساس میانگین سه سنبله و برای هر کرت براساس میانگین ۱۰ بوته محاسبه گردید. میانگین سنبله‌ها در هر گیاه  $F_{3:4}$  و میانگین کرت‌ها جهت تجزیه‌های آماری برای ارزیابی مقاومت به FHB مورد استفاده قرار گرفتند. تجزیه واریانس بر اساس طرح بلوک‌های کامل تصادفی با استفاده از نرم‌افزارهای SAS و SPSS انجام شد.

### استخراج DNA و ارزیابی ژنوتیپی

جهت استخراج DNA، برگ‌های جوان و سالم ۱۳۸ گیاه  $F_{3:4}$ ، در مرحله پنجه‌دهی به میزان ۲-۳ گرم جمع‌آوری و DNA ژنومی با استفاده از روش سقایی معروف و همکاران (Saghai Maroof, et al. 1984) استخراج گردید. بدین منظور، برگ‌ها پس از پودر شدن و افزودن بافر استخراج CTAB، مورد عمل آنزیم RNase قرار گرفته و بعد از استفاده از ایزوپروپانل و انجام عمل سانتریفیوژ، DNA گیاه رسوب نمود. سپس، کیفیت و کمیت DNA با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری گردید. چندشکلی والدین با استفاده از ۱۷۰ نشانگر ریزماهوره که توسط رودر و همکاران (Roeder et al. 1998) طراحی شده بود، مورد بررسی قرار گرفت. واکنش زنجیره‌ای پلیمرز با استفاده از دستگاه ترموسایکلر پرکین المر مدل ۹۶۰۰ در حجم ۱۵  $\mu$ l انجام گردید. برای انجام الکتروفورز از دستگاه الکتروفورز عمودی ساخت شرکت BIO-Rad استفاده شد. برای تفکیک قطعات تکثیر شده از ژل پلی‌اکریل‌امید واسرشته ساز ۶ درصد استفاده شد. زمان الکتروفورز بسته به طول محصولات تکثیر از ۲۰-۴۰ دقیقه متغیر بود و از توان ۸۵-۸۰ وات استفاده گردید. پس از پایان الکتروفورز، رنگ‌آمیزی ژل با روش نیترات نقره انجام شد. نمونه‌ها طبق روش لندر و همکاران (Lander et al. 1987) امتیاز دهی شدند. ابتدا تجزیه مولکولی با استفاده از ۱۷۰ نشانگر ریزماهوره بر روی والدین و در نهایت تجزیه SSR (Simple sequence repeat) با استفاده از ۴۱ نشانگر چندشکل بر روی جمعیت  $F_{3:4}$  انجام شد. نقشه‌های پیوستگی با استفاده از نرم‌افزار MAPMAKER ver 3.00 و فاصله کمتر از ۵۰ سانتی‌مورگان و  $LOD \geq 3$  حاصل گردیدند. تجزیه رگرسیون چند نشانگری به‌وسیله نرم‌افزار SAS، مکان‌یابی فاصله‌ای ساده و مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب با استفاده از نرم‌افزار PLABQTL ver 4.0

با وجود خصوصیات مطلوب زراعی و سطح زیر کشت زیاد در ایران، نسبت به FHB بسیار حساس می‌باشد (Golzar et al. 1998). جمعیت‌های در حال تفرق، پس از تلاقی دو رقم فلات و سومای ۳ در گلخانه موسسه تحقیقات بیوتکنولوژی کشاورزی ایران، ایجاد شدند (Mardi, 2002). به منظور ارزیابی عملکرد والدین، لاین Remus از آلمان به‌عنوان شاهد حساس و لاین CM\_82036 از چین به‌عنوان شاهد مقاوم مورد استفاده قرار گرفتند. به‌منظور استخراج DNA، نمونه‌های برگ‌ها از برگ‌های جوان و سالم هر بوته نسل  $F_{3:4}$  در مرحله پنجه‌دهی، برداشته شد. نمونه‌ها پس از انجماد در ازت مایع، به دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد منتقل گردیدند و تا زمان استخراج DNA در این دما نگهداری شدند.

### ارزیابی مزرعه‌ای

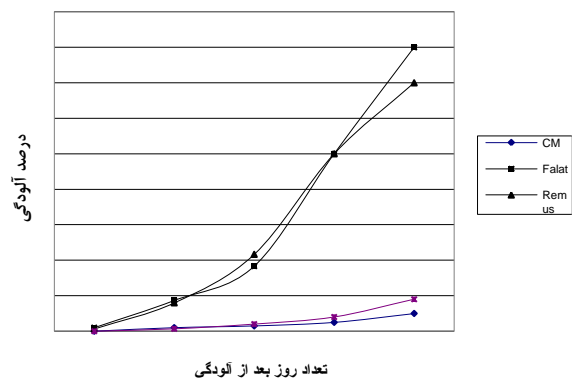
جمعیت‌های  $F_{3:4}$  و  $F_{3:5}$  طی دو سال مورد ارزیابی قرار گرفتند. در سال اول، بذور  $F_3$  با تراکم کاشت چهار بذر در هر ردیف و به فاصله ۲۵ سانتی‌متر از یکدیگر به همراه والدین و شاهد‌های مقاوم و حساس با عمق کاشت ۵ سانتی‌متر به- صورت دستی کشت شدند، که تعداد ۱۳۸ گیاه  $F_{3:4}$  مورد ارزیابی قرار گرفتند. در سال دوم، ۱۳۸ خانواده  $F_{3:5}$  (حاصل از گیاهان  $F_{3:4}$ ) در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار مورد بررسی قرار گرفتند. هر کرت شامل دو خط یک متری با ۱۷ سانتی‌متر فاصله و تراکم کاشت ۶ گرم بذر در هر کرت از یکدیگر بود. مراقبت‌های معمول زراعی همانند سال اول انجام شد. جهت آلودگی مصنوعی از ماکروکنیدی‌های تک جدایه قارچ *F. graminearum* IF65 تکثیر یافته در محیط ماش، طبق روش بورسمایر و همکاران (Buerstmayr et al. 1999) استفاده شد. بعد از افشانه کردن، سنبله‌های آلوده شده توسط یک پوشش پلاستیکی به‌منظور نگهداری رطوبت به مدت ۲۰ ساعت پوشانیده شدند. تکرار آلودگی (دو روز پس از آلودگی اول) به‌دلیل وجود تنوع گل‌دهی در داخل کرت‌ها انجام شد. در هر گیاه  $F_{3:4}$  سایر سنبله‌های غیر آلوده جهت تولید بذر  $F_4$  حفظ شدند و در زمستان سال اول در گلخانه تکثیر یافتند. در هر گیاه  $F_{3:4}$  رطوبت لازم به‌وسیله پوشش پلاستیکی و در هر خانواده  $F_{3:5}$  به‌وسیله سیستم مه- پاش به مدت ۲۰ ساعت پس از آلودگی اولیه انجام شد. در سال اول، سه سنبله از هر گیاه  $F_{3:4}$  و در سال دوم، ۱۰ سنبله از هر خانواده  $F_{3:5}$  در هر کرت، درصد پیشرفت بیماری سنبله توسط شاخصی بر مبنای صفر درصد (بدون بیماری) تا ۱۰۰ درصد (آلودگی کامل)، ۱۰، ۱۴، ۱۸، ۲۲ و ۲۶ روز پس از

پس از انتخاب از نشانگرها به‌عنوان کوفاکتور طبق روش پیشنهادی یانسن و استم (Jansen & Stam *et al.* 1994) انجام شد.

## نتایج و بحث

### تجزیه فنوتیپی

در شکل ۱، پیشرفت آلودگی لاین‌های والدینی و شاهد ۱۰، ۱۴، ۱۸، ۲۲ و ۲۶ روز پس از آلودگی اولیه نشان داده شده است. سطح آلودگی یکسان تا ۱۴ روز پس از آلودگی اولیه مشاهده شد. بنابراین ژنوتیپ‌ها در مقاومت تیپ I (مقاومت به آلودگی اولیه) تا ۱۴ روز پس از آلودگی اولیه، دارای اختلاف نبودند. پیشرفت سریع بیماری در لاین‌های حساس از روز ۱۸ به بعد آغاز شد. لاین‌های مقاوم دارای سرعت رشد کم و تقریباً خطی تا پایان دوره ارزیابی بودند. بهترین تفکیک برای مقاومت در روزهای ۲۲ تا ۲۶ روز پس از آلودگی اولیه مشاهده شد، لذا اختلاف مشاهده شده در مقاومت به FHB می‌تواند مربوط به مکانیزم مقاومت تیپ II (مقاومت به گسترش آلودگی) باشد، که نسبت به مقاومت تیپ I کمتر تحت تاثیر محیط می‌باشد.



شکل ۱: منحنی پیشرفت درصد آلودگی لاین‌های والدینی و شاهد، آلوده شده با *F. graminearum*

Fig 1: The graph of disease progressing in parental and control lines, infected by *F. graminearum*

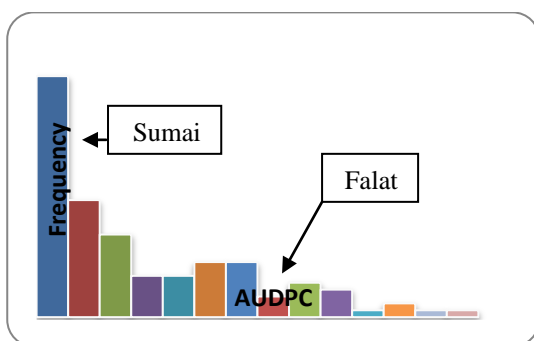
به‌دلیل همبستگی بالای سطح زیر منحنی پیشرفت آلودگی<sup>۱</sup> (AUDPC) با درصد آلودگی در روزهای ۲۲ و ۲۶، در برنامه‌های اصلاحی برای افزایش مقاومت به FHB زمان ارزیابی جمعیت‌های بزرگ ۲۲ یا ۲۶ روز پس از آلودگی اولیه توصیه می‌گردد (Mardi 2002).

در سال اول رطوبت لازم و یکنواخت به‌وسیله پوشش پلاستیکی و در سال دوم به‌وسیله سیستم مه‌پاش فراهم شد و چون مدرکی وجود ندارد که مقاومت به FHB در گندم

اختصاصی است، آلودگی مصنوعی در مرحله گرده‌افشانی با استفاده از یک جدایه (*F. graminearum* IFA65) با قدرت تهاجمی بالا انجام شد (Van Eeuwijk *et al.*, 1995). آلودگی یکنواخت و ارزیابی درصد آلودگی سنبله، امکان بررسی هم-زمان مقاومت تیپ I و تیپ II را میسر نمود (Schroeder *et al.*, 1963).

درصد آلودگی سنبله در سومای ۳ (والد مقاوم) و CM-82036 (شاهد مقاوم) به‌ترتیب ۹ و ۵ درصد بود در حالی که فلات (والد حساس) و Remus (شاهد حساس) به ترتیب ۸۵ و ۷۰ درصد آلودگی داشتند.

مقدار AUDPC<sup>۱</sup> در والد حساس ۶/۱۵ و در والد مقاوم ۰/۶ بود (شکل ۲). از آن‌جا که وجود اختلاف معنی‌دار در صفات مورد مطالعه در والدین، شرط اصلی تجزیه‌های QTL می‌باشد، این اختلاف در والدین انتخابی (فلات و سومای ۳) به وضوح مشاهده شد. بنابراین، امکان ایجاد تفرق در نسل‌های حاصل از آن‌ها وجود داشته و انتخاب والدین جهت تشکیل جمعیت‌های در حال تفرق به درستی انجام شده است. همچنین، وجود تفرق در صفت مورد مطالعه در جمعیت‌های مورد استفاده در مکان‌یابی ژن‌های کنترل کننده صفات کمی ضروری بوده، که نتایج نشان دادند صفت AUDPC دارای تفرق مناسبی (نرمال) در جمعیت‌های F<sub>4</sub> و F<sub>5</sub> بود. بنابراین، با استفاده از نسل‌های اولیه، مکان‌یابی ژن‌های کنترل کننده صفات کمی امکان پذیر گردید.



شکل ۲: توزیع فراوانی میانگین AUDPC در میانگین دو نسل جمعیت‌های حاصل از تلاقی فلات/سومای آلوده شده با *F. graminearum*

Fig 2: The graph of AUDPC average frequency in mean of two population derived from crossing between Falat/Sumai3, infected by *F. graminearum*

1. Area under the disease progress curve

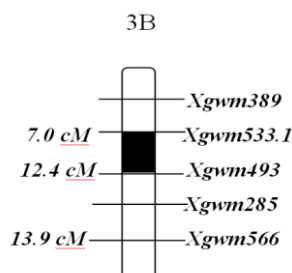
### تجزیه مولکولی

نشانه‌های ریزماهواره و یا استفاده از نشانگر AFLP، امکان به‌دست آمدن گروه‌های لینکاژی بیشتری میسر می‌گردد. تجزیه مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب با استفاده از ۶ گروه لینکاژی و داده‌های فنوتیپی (AUDPC) در نسل‌های  $F_{3:4}$  و  $F_{3:5}$  و میانگین دو نسل، در جدول ۱ و شکل ۴ نشان داده شده است. نتایج نشان دادند، دو QTL در حدفاصل مکان‌های ژنی  $Xgwm493$ - $Xgwm533$  بر روی کروموزوم 3B و  $Xgwm371$ - $Xgwm540$  بر روی کروموزوم 5B، مجموعاً ۱۶ درصد از تغییرات کل AUDPC را با اثر کاهشی توجیه نمودند. منبع الل مقاومت از والد سومای ۳ بود.

ارزیابی مولکولی افراد  $F_{3:4}$ ، با استفاده از ۴۱ نشانگر چندشکل به‌دست آمده از مجموع ۱۷۰ نشانگر ریزماهواره انجام شد. شکل ۳ الگوی نواریندی نشانگر ریزماهواره  $Xgwm285$  را در والدین و تعدادی از افراد جمعیت  $F_{3:4}$  نشان می‌دهد. گروه‌بندی لینکاژی در جمعیت مورد مطالعه، ۱۸ نشانگر ریزماهواره را با در نظر گرفتن حداکثر فاصله ۵۰ سانتی مورگان و  $LOD \geq 3$ ، به ۶ گروه منتسب نمود. منتسب نشدن مابقی نشانگرها به گروه‌های لینکاژی، به‌علت فاصله بیشتر از ۵۰ سانتی مورگان این نشانگرها با نشانگر مجاور خود بوده، که با استفاده از تعداد بیشتری از



شکل ۳: الگوی نواریندی نشانگر ریزماهواره  $Xgwm285$  در والدین فلات (F) و سومای ۳ (S) و تعدادی از افراد جمعیت  $F_{3:4}$   
 Fig. 3. The banding pattern of  $Xgwm285$  (microsatellite marker) in parents Falat (F), Sumai3 (S) and a number  $F_{3:4}$  individuals



شکل ۴: مکان QTL شناسایی شده بر روی کروموزوم 3B بر اساس سطح زیر منحنی پیشرفت آلودگی در نسل‌های  $F_{3:4}$  و  $F_{3:5}$  و میانگین دو نسل حاصل از تلاقی فلات/ سومای ۳

Fig. 4. Identified QTL on chromosome 3B according to AUDPC in  $F_{3:4}$ ,  $F_{3:5}$  generations

جدول ۱: تجزیه QTL برای سطح زیر منحنی پیشرفت آلودگی با استفاده از مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب در جمعیت حاصل از تلاقی

فلات/سومای ۳ آلوده شده به‌وسیله *F. graminearum*

Table 1: QTL analysis for AUDPC, using CIM in the population derived from crossing between Falat/Sumai3, infected by *F. graminearum*

Source of resistance allele	Chromosome	Area under the disease progress curve		Location distance (Interval)	Model
		LOD (logarithm of odds)	VE (percent of explained phenotypic variance)		
Sumai#3	3B	3.22	8.6	<i>Xgwm533</i> - <i>Xgwm493</i>	CIM
	5B	4.02	7.4	<i>Xgwm371</i> - <i>Xgwm540</i>	CIM

CIM = Composite Interval Mapping

شناسایی نشانگرهای ریزماهوره پیوسته با ژن‌های مقاومت به ...

نتایج این تحقیق نشان داد، با وجود این‌که تاکنون تنها تعداد محدودی والد مقاوم به وسیله ارزیابی‌های بین‌المللی و برنامه‌های اصلاحی گزارش شده است، اصلاح برای افزایش مقاومت به FHB با استفاده از والدین مقاوم و ارزیابی مواد گیاهی در نتاج، به وسیله علایم ظاهری بیماری در شرایط محیطی کنترل شده، میسر می‌باشد. توزیع مقادیر AUDPC نشان داد که مقاومت به بلایت فوزاریومی سنبله یک صفت کمی است. مشاهده تفکیک متجاوز برای مقاومت در نسل‌های اولیه، امکان انتخاب برای نتاج مقاوم در این نسل‌ها را میسر می‌سازد. علیرغم مطالعه ۱۷۰ نشانگر SSR، تنوع فنوتیپی توجیه نشده، به علت اندازه بزرگ ژنوم گندم و عدم تجزیه مولکولی قسمت‌های مختلف آن در این تحقیق می‌باشد. در این مطالعه با استفاده از تجزیه مکان‌یابی فاصله‌ای ساده و مرکب، دو ناحیه ژنومی با اثر افزایشی برای مقاومت به FHB گندم شناسایی شدند. مهم‌ترین QTL روی بازوی کوتاه کروموزوم 3B قرار داشت که ۸/۶ درصد از گسترش آلودگی را توجیه نمود.

دومین QTL شناسایی شده، بر روی بازوی کوتاه کروموزوم 5B قرار داشته که این قطعه ژنومی ۷/۴ درصد از کل تغییرات فنوتیپی را توجیه نمود. با توجه به این‌که در حال حاضر بهترین استراتژی برای تولید گندم مقاوم به FHB گندم، تجمع ژن‌های مقاوم از منابع مختلف مقاومت می‌باشد، بنابراین نشانگرهای SSR شناسایی شده در این پژوهش پس از تایید توسط سایر محققین قابلیت استفاده در انتخاب تسهیل شده به وسیله نشانگرها را دارا می‌باشد.

### سیاس‌گذاری

این پژوهش با حمایت دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی سینا و همکاری پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی در محل پژوهشکده (کرج)، انجام شده است که بدین وسیله سیاس‌گذاری می‌گردد.

## Identification of Microsatellite Markers Linked to *Fusarium* Head Blight Resistance Genes in Wheat

Hotamsorouri<sup>1</sup>, K., Mazahery-Laghab<sup>2\*</sup>, H. and Mardi<sup>3</sup>, M.

### Abstract

In order to identify the molecular markers Linked to *Fusarium* head blight resistance genes in wheat, F<sub>3:4</sub> and F<sub>3:5</sub> populations derived from crossing between cv. Falat (susceptible) and cv. Sumai3 (resistant) were evaluated, during two years in farm conditions, under artificial infection. Disease development was measured by area under the disease progress curve (AUDPC). The parental polymorphism was assessed using 170 SSR primer pairs. The 41 polymorphic primer pairs were selected for genotyping of F<sub>3:4</sub> individuals. The phenotypic results indicated that, parents and the segregating populations had significant differences for FHB resistance. The best segregation for the resistance was observed in 22 to 26 days after the initial infection. The results of molecular analysis indicated 2 QTLs related to disease resistance, on short arms of 3B and 5B chromosomes, explained 16 % of the phenotypic variation for AUDPC.

**Keywords:** AUDPC, *Fusarium* head blight, Microsatellite, Wheat

### References

- Bai, G. and Shaner, G. 1994. Scab of wheat: prospects for control. *Plant Disease* 78: 760-766.
- BIO-RAD, Laboratories. Sequi-Gen GT Nucleic Acid Electrophoresis Cell Instruction Manual. Denaturing polyacrylamide GEL Electrophoresis.
- BIO-RAD, Sequi-Gen GT Nucleic Acid Electrophoresis Cell Instruction Manual, Catalogue No.165-3860-3
- Buerstmayr, H., Lemmens, M., Berlakovich, S. and Ruckebauer, 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.
- Forutan, A., Ershad, J., Dalili, A., Bamdadian, T. and Gerami, Gh. 1993. Spread of *Fusarium* head blight in Mazandaran. Abstracts of 11<sup>th</sup> Plant protection congress in Iran, Gilan University, Rasht. Iran.
- Gilsinger, J., Kongm L., Shenm X. and Ohm, H. 2005. DNA markers associated with low *Fusarium* head blight incidence and narrow flower opening in wheat: *Theoretical and Applied Genetics*, 110(7):1218-25.
- Golzar, H. 1989. *Fusarium* head blight, study of the cause of disease, ways of infection and the transfer of infection by seeds. *Plant Diseases*. 25, 38-45.
- Golzar, H., forutan, A. and Ershad, J. 1998. Study of Specieses of *Fusarium* genus, the agent of *Fusarium* head blight disease and research for resistance sources of the *F. graminearum* in gorgan and Mazandaran province. *Scientific and research Quarterly of Plant Pathologists Association in Iran*, N. 3 and 4: 34, 121-127.
- Jansen, R. C. and Stam, P. 1994. High resolution of quantitative traits into multiple loci via interval mapping. *Genetics* 136: 1447-1455.
- Lander, E .S., Green, P., Abrahamson, J., Barlow, A., Daley, M. J., Lincoln, S. E. and Newburg, L. 1987. MAPMAKER: an interactive computer package of constructing primary genetic linkage maps of experimental and natural populations. *Genomics*, 1: 174-181.
- Lemmens, M., Burtstmayr, H., Wimmer, E., Grausgruber, H. and Ruckebauer, P. 1995. Ahrenfusariose bei Weizen: Vergleich mehrerer kunstlicher Inokulationstechniken. Bericht uber die Tagung der Arbeitsgemeinschaft der Saatzuchtleiter im Rahmen der Vereinigung Osterreichischer Pflanzenzuechter, Gumpenstein, November 21-23.
- Malihi Pur, A., Okhovat, M. and Alizadeh, A. 2000. Analysis of *Fusarium* head blight disease progress in wheat in controlled conditions using epidemiologic models. *Scientific and research quarterly of Plant Pathologists Association in Iran*, N. 1 and 2: 36, 135-154.
- Mardi, M., Ghareyazie, B., Buerstmayr, H., Lemmens, M., Mohammadi, S. A., Moshrefzadeh, N. and Ruckebauer, P. 2004. Genetic analysis of resistance to *Fusarium* head blight in wheat (*Triticum aestivum* L.).(Submitted).

---

1. M.Sc. student, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan

2. Associate Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, University of Bu- Ali Sina, Hamedan

3. Associated Professor, Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran, Karaj

\*: Corresponding author      Email: hojat.mazahery@yahoo.co.uk

- Mardi, M., Yazdisamadi, B., Ghanadha, M.R., Ghareyazie, B., Talei, A. R. and Buerstmayr, H. 2002. Genetic analysis of inbred lines and their cross for *Fusarium* head blight resistance in common wheat. *Journal of Applied Genetics*, 43A: 267-278.
- Mardi, M. 2002. Localization of genes controlling the *Fusarium* head blight resistance in wheat. *PhD thesis*. Agronomy Faculty, tehran University.
- Naji, AM., Moghaddam, M., Ghaffari, MR., Irandoost, HP., Farsad, LK., Pirseyedi, SM., Mohammadi, SA. and Ghareyazie B, Mardi M. 2008. Validation of EST-derived STS markers localized on Qfhs.ndsu-3BS for *Fusarium* head blight resistance in wheat using a 'Wangshuibai' derived population. *Journal of Genetics and Genomics*. 35(10):625-9.
- Parry, D. W., Jenkinson, P. and McLeod, L. 1995. *Fusarium* ear blight (scab) in small grain cereals - a review. *Plant Pathology*. 44: 207-238.
- Rajabi, Gh. and Behruzin, M. 2004. The Guidance of pests and diseases of wheat fields in Iran. N. 18, Introduction, Publishing Organization of Agriculture Research and Education.
- Roeder, M. S., Korzun, V., Wendehake, K., Plaschke, J., Tixier, M. H., Leroy, P. and Ganal, M. W. 1998. A microsatellite map of wheat. *Genetics* 149: 2007-2023.
- Saghai Maroof, M. A., Biyashev, Yang, G. P., Zhang, Q. and Allard, R. W. 1984. Extraordinarily polymorphic microsatellite DNA in barley: species diversity, chromosomal location, population dynamics. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 91: 5466-5470
- Singh, R. P., Ma, H. and Rajaram, S. 1995. Genetic analysis of resistance to scab in spring wheat cultivar Frontana. *Plant Disease*. 79: 238-240.
- Schmolke, M., Zimmermann, G., Buerstmayr, H., Schweizer, G., Miedaner, T., Korzun, V., Ebmeyer, E. and Hartl, L. 2005. Molecular mapping of *Fusarium* head blight resistance in the winter wheat population Dream/Lynx. *Theoretical and Applied Genetics*; 111(4):747-56.
- Schroeder, H. W. and Christensen, J. J. 1963. Factors affecting the resistance of wheat to scab caused by *Gibberella zeae*. *Phytopathology* 53: 831-838.
- Shaner, G. and Finney, R. A. 1977. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing resistance in Knox wheat. *Phytopathology*; 67: 1051-1056.
- Singh, R. P., Ma, H. and Rajaram, S. 1995. Genetic analysis of resistance to scab in spring wheat cultivar Frontana. *Plant Disease*. 79: 238-240.
- Tutiaei, A. 2002. The study of relationship between the time of heading and intensity of *Fusarium* head blight on wheat populations of Iran. Abstracts of 7<sup>th</sup> Agronomy and Plant Breeding Congress in Iran. 23-25 August, Karaj, Iran.
- Van Eeuwijk, F. A., Mesterhazy, A., Kling, Ch. I., Ruckebauer, P., Saur, L., Buerstmayr, H., Lemmens, M., Keizer, L. C. P., Maurin, N. and Snijders, C. H. A. 1995. Assessing non-specificity of resistance of wheat to head blight caused by inoculation with European strains of *Fusarium culmorum*, *F. graminearum* and *F. nivale*, using a multiplicative model for interaction. *Theoretical and Applied Genetics*. 90: 221-228.
- Yang, J., Bai, G. and Shaner, GE. 2005. Novel quantitative trait loci (QTL) for *Fusarium* head blight resistance in wheat cultivar Chokwang. *Theoretical and Applied Genetics*. 111(8):1571-1579.
- Zhang, M., Zhangm, R., Yang, J. and Luo, P. 2010. Identification of a new QTL for *Fusarium* head blight resistance in the wheat genotype "Wang shui-bai". *Molecular Biology Reports*; 37(2):1031-5.
- Zhou, MP., Hayden, M. J., Zhang, ZY., Lu, WZ. and Ma, HX. 2010. Saturation and mapping of a major *Fusarium* head blight resistance QTL on chromosome 3BS of Sumai 3 wheat. *Journal of Applied Genetics*. 51(1), pp. 19-25.