

ژن‌ها یا مکان‌های ژنی مرتبط با مقاومت به بیماری بلایت فوزاریومی سنبله در برخی لاین‌های امیدبخش گندم

Genes/QTLs Associated to Fusarium Head Blight (FHB) Resistance in some Promising Lines of Wheat

علی ملیحی پور^۱، محمدعلی دهقان^۲ و کمال شهبازی^۳

- ۱- استادیار، مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران
- ۲- استادیار، بخش تحقیقات علوم زراعی- باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان گلستان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، گرگان، ایران
- ۳- مربی، بخش تحقیقات علوم زراعی- باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان اردبیل (مغان)، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اردبیل، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۰/۲۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۴/۲۲

چکیده

ملیحی پور، ع.، دهقان، م. ع. و شهبازی، ک. ۱۳۹۶. ژن‌ها یا مکان‌های ژنی مرتبط با مقاومت به بیماری بلایت فوزاریومی سنبله در برخی لاین‌های امیدبخش گندم. *مجله به‌نژادی نهال و بذر* ۱-۳۳: ۱۷۵-۱۵۳. [10.22092/spij.2017.115547](https://doi.org/10.22092/spij.2017.115547)

بیماری بلایت فوزاریومی سنبله که توسط قارچ *Fusarium graminearum* ایجاد می‌شود، یکی از بیماری‌های مخرب گندم در اقلیم گرم و مرطوب شمال ایران است. این بیماری علاوه بر کاهش محصول، به علت تولید مایکوتوکسین‌های مختلف توسط عامل بیماری تهدیدی جدی برای سلامت انسان و دام به شمار می‌رود. در تحقیق حاضر بیست ژنوتیپ امیدبخش گندم به همراه دو رقم شاهد سومای ۳ (Sumai 3) و فلات، با استفاده از نشانگرهای مولکولی SSR از نظر وجود ژن‌ها یا مکان‌های ژنی (QTLs) مرتبط با مقاومت به بیماری بلایت فوزاریومی سنبله مورد بررسی قرار گرفتند. این ژنوتیپ‌ها از نظر مقاومت و تأیید وجود ژن‌ها یا مکان‌های ژنی مرتبط با مقاومت، در شرایط مزرعه و گلخانه نیز ارزیابی شدند. در این تحقیق، از ۴۳ نشانگر بررسی شده، ارتباط چهار نشانگر مولکولی *Xgwm282* و *Xgwm261*، *Xgwm304*، *Xbarc117* با مکان‌های ژنی مرتبط با مقاومت به بیماری بلایت فوزاریومی سنبله در چندین ژنوتیپ آزمایشی مشخص شد. داده‌های فنوتیپی به دست آمده نیز وجود مقاومت در این ژنوتیپ‌ها را تأیید کردند. اطلاعات به دست آمده از این بررسی می‌تواند در گزینش ژنوتیپ‌های مقاوم برای معرفی ارقام جدید و تهیه شناسنامه ارقام مفید باشد.

واژه‌های کلیدی: گندم، بلایت فوزاریومی سنبله، ژن‌های مقاومت، نشانگرهای SSR، QTL.

مقدمه

(Dexter *et al.*, 1996, 1997). بالاخره این که، این بیماری از طریق کاهش جوانه‌زنی بذر، ایجاد بلایت گیاهچه (Seedling blight) و پوسیدگی طوقه (Foot rot) باعث ایجاد خسارات غیر مستقیم نیز می‌شود (Sutton, 1982; Parry *et al.*, 1995).

طی سه دهه اخیر اپیدمی‌های گسترده‌ای از این بیماری در مناطق مختلف جهان روی داده است. در ایران، با این که این بیماری از زمان‌های دور به طور پراکنده در ایران وجود داشته است، ولی از اوایل دهه ۱۳۶۰ آلودگی شدیدی از آن به خصوص در استان‌های گلستان و مازندران مشاهده شده است (Bamdadian and Torabi, 1983). از اوایل دهه ۱۳۷۰ تاکنون، علاوه بر مناطق شمالی کشور و منطقه مغان که محل‌های اصلی آلودگی به این بیماری بوده و بیماری هر چند سال یک بار به صورت همه‌گیری در آمده است، بیماری به طور غیر معمول در سال ۱۳۷۵ در برخی مناطق استان هرمزگان و در سال ۱۳۷۶ در برخی مزارع گندم جیرفت واقع در استان کرمان خسارت وارد کرد. آخرین گزارش از همه‌گیری بیماری بلایت فوزاریومی سنبله به سال ۱۳۹۰ در منطقه مغان برمی‌گردد که خسارت قابل توجهی به ارقام گندم حساس به بیماری وارد کرد (مجتبی وهاب‌زاده، مذاکرات شخصی).

تفاوت در واکنش ارقام مختلف گندم در برابر بیماری بلایت فوزاریومی سنبله از زمان

بیماری بلایت فوزاریومی سنبله (*Fusarium head blight*) که توسط گونه‌های مختلف قارچ *Fusarium* به ویژه گونه *Fusarium graminearum* ایجاد می‌شود، یکی از مهم‌ترین بیماری‌های گندم است که در صورت مصادف شدن زمان گل‌دهی گندم با شرایط آب و هوایی گرم و مرطوب باعث خسارت به این محصول می‌شود. این بیماری علاوه بر کاهش عملکرد، روی کیفیت محصول نیز اثر بسیار مخربی داشته و دانه‌های گندم آلوده به بیماری ممکن است دارای مقدار زیادی از میکوتوکسین‌های (Mycotoxins) تولید شده توسط قارچ‌های عامل بیماری از قبیل دی‌اوکسی‌نیوالنول (Deoxynivalenol) و زیرالنون (Zearalenone) باشند که تهدیدی جدی برای بهداشت انسان و دام و سلامت مواد غذایی به شمار می‌روند (McMullen *et al.*, 1997; Bai and Shaner, 1994; Parry *et al.*, 1995; Sutton, 1982; Tuite *et al.*, 1990). هم‌چنین، غلات مورد تجارت ممکن است به خاطر وجود دانه‌های آلوده به فوزاریوم یا آلوده بودن با یک یا چند تا از میکوتوکسین‌ها به قیمت ارزان‌تر خریداری شده و یا اصلاً خرید نشوند (McMullen *et al.*, 1997; Tuite *et al.*, 1990). علاوه بر آن، خواص آردسازی، نانوائی و ماکارونی‌سازی گندم ممکن تحت تأثیر این بیماری قرار گیرد

(QTLs) القا کننده مقاومت به این بیماری در سرتاسر ژنوم گندم توزیع شده‌اند (Bai and Shaner, 2004). نشانگرهای مولکولی متصل به QTLهای القا کننده مقاومت به بیماری که مشکلات گفته شده در بالا را ندارند، ابزارهای بسیار خوبی برای مطالعه صفات کمی از قبیل مقاومت به بلایت فوزاریومی و ردیابی ژن‌ها یا مکان‌های ژنی مرتبط با مقاومت به این بیماری به شمار می‌روند. انتخاب به کمک نشانگرها (Marker-assisted selection) برای مقاومت به بیماری بلایت فوزاریومی سنبله در بیش از یک دهه گذشته به عنوان یک هدف مورد استفاده قرار گرفته است (van Sanford *et al.*, 2001). شناخته شده‌ترین ژن مقاومت به این بیماری که وجود آن در چندین مطالعه نقشه‌یابی (Mapping) مورد تأیید قرار گرفته، ژن *Fhb1* است که روی کروموزوم 3BS قرار دارد (Buerstmayr *et al.*, 2009). این ژن مقاومت تاکنون در مناطق مختلف جهان از جمله امریکا (Pumphrey *et al.*, 2007)؛ del Blanco *et al.*, 2003؛ Zhou *et al.*, 2003؛ کانادا (McCartney *et al.*, 2007)؛ استرالیا (Yang *et al.*, 2003)؛ و آلمان (Xie *et al.*, 2007)؛ به روش کلاسیک (Miedaner *et al.*, 2006) یا به کمک نشانگرهای مولکولی به گندم‌های

شناسایی این بیماری در سال ۱۸۹۱ توسط آرتر، توسط خود وی گزارش شد (Arthur, 1891). بعد از آن به طور مداوم برای یافتن منابع مقاومت به بیماری و استفاده از آن‌ها در برنامه‌های به‌نژادی تلاش شده است (Bai and Shaner, 1994, 2004). تاکنون مقاومت کامل یا مصونیت در برابر بلایت فوزاریومی سنبله گزارش نشده است اما تنوع زیادی از نظر میزان مقاومت به بیماری در ژنوتیپ‌های گندم و خویشاوندان آن مشاهده و مستند شده است (Bai and Shaner, 1994, 2004).

ارزیابی مقاومت به این بیماری به طور معمول فقط در زمان گیاه کامل و وقتی که گیاه گندم به مرحله گل‌دهی رسیده باشد امکان‌پذیر است. این امر به این معناست که در آزمایش‌های انتقال مقاومت، انجام تلاقی با یک ژنوتیپ آزمایشی ناشناس ممکن نخواهد بود مگر وقتی که در مرحله گیاه کامل مقاومت آن در برابر این بیماری مشخص شده باشد. از طرف دیگر، این بیماری تحت تأثیر عوامل محیطی قرار می‌گیرد و این عوامل به ویژه در شرایط مزرعه ممکن است باعث انحراف در ارزیابی میزان مقاومت موجود در گیاه از مقدار واقعی آن شوند. نتایج مطالعات نشان داده‌اند که مقاومت به بیماری بلایت فوزاریومی سنبله صفتی کمی بوده و نحوه وراثت آن در گیاه از قوانین ژنتیک کمی پیروی می‌کند. هم‌چنین، معلوم شده است که مکان‌های ژنی صفات کمی

گندم به ویژه در اقلیم گرم و مرطوب شمال همه ساله از نظر مقاومت به این بیماری مورد بررسی قرار گیرند تا از معرفی ارقام حساس به بیماری جلوگیری شود. در راستای این هدف، وجود ژن‌ها یا مکان‌های ژنی مرتبط با مقاومت به بیماری بلایت فوزاریومی سنبله در ژنوتیپ‌های گندم امیدبخش سال ۱۳۹۱ این اقلیم با استفاده از نشانگرهای مولکولی SSR مورد بررسی قرار گرفت. هم‌چنین، به منظور تأیید وجود این ژن‌ها یا مکان‌های ژنی، مواد آزمایشی گفته شده از نظر مقاومت به بیماری در شرایط مزرعه و گلخانه نیز مورد ارزیابی قرار گرفتند.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

مواد گیاهی مورد استفاده در این تحقیق، بیست ژنوتیپ گندم مربوط به آزمایش‌های مقایسه عملکرد یکنواخت امیدبخش سال ۱۳۹۱ اقلیم گرم و مرطوب شمال کشور (ERWYT-N-91) بودند که به همراه دو رقم سومای ۳ (Sumai 3) و فلات، به ترتیب به‌عنوان شاهد‌های مقاوم و حساس، در شرایط مزرعه و گلخانه مورد بررسی قرار گرفتند. دو شماره اول از بیست ژنوتیپ گفته شده، به ترتیب ارقام تجاری مروارید و گنبد بودند که در بخش وسیعی از اقلیم گرم و مرطوب کشت می‌شوند. هم‌چنین، در بررسی‌های مربوط به نشانگرهای مولکولی در این تحقیق دو رقم گندم مقاوم سومای ۳ و ونگشویبای

مختلف انتقال داده شده است. میدانر و همکاران (Miedaner *et al.*, 2006) نشان دادند که انتخاب به کمک نشانگرها برای سه QTL مقاومت به بیماری بلایت سنبله، در بهبود مقاومت به این بیماری در گندم‌های بهاره در آلمان بسیار مؤثر بوده است. محققان به این نتیجه رسیده‌اند که انتخاب به کمک نشانگرها برای QTL‌های بزرگ اثر از قبیل QTL‌های روی کروموزوم‌های 3BS و 5A ابزار مؤثری برای بهبود سریع سطح مقاومت به بیماری بلایت سنبله در ژنوتیپ‌های گندم پیشرفته و پرمحصول به شمار می‌رود (Buerstmayr *et al.*, 2009). وایلد و همکاران (Wilde *et al.*, 2007) پیشنهاد کردند که به منظور دستیابی به دامنه کاملی از تنوع مقاومت به بیماری لازم خواهد بود به دنبال انتخاب به کمک نشانگرها، انتخاب فنوتیپی هم مدنظر قرار گیرد تا آن‌عده از الل‌هایی هم که به کمک نشانگرها آشکار نشده‌اند به کار گرفته شوند.

تولید و استفاده از ارقام مقاوم، عملی‌ترین، اقتصادی‌ترین و سالم‌ترین روش از نظر زیست‌محیطی برای کنترل پایدار بیماری فوزاریومی سنبله است (Yang *et al.*, 2005). با توجه به این که یکی از مهم‌ترین اهداف بخش تحقیقات غلات مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر معرفی ارقام با عملکرد بالا و مقاوم به بیماری‌ها از جمله بیماری بلایت فوزاریومی است، ضروری است، لازم است همه ژنوتیپ‌های گندم مربوط به برنامه‌های به‌نژادی

ضرب وقوع بیماری در شدت بیماری بر عدد ۱۰۰ محاسبه شد (Stack and McMullen, 1994).

برای بررسی واکنش ژنوتیپ‌های آزمایشی در شرایط گلخانه (کرج)، شش گیاه از هر ژنوتیپ در سه گلدان (تکرار) مختلف حاوی مخلوطی از خاک معمولی و ورمی کمپوست (به نسبت ۵۰٪ از هر کدام) به مرحله سنبله‌دهی رسانده شده و حداقل چهار سنبله از آن‌ها هر کدام با ۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون مخلوطی از اسپورهای پنج جدایه قارچ عامل بیماری (حدود 5×10^4 اسپور در هر میلی‌لیتر) جمع‌آوری شده از منطقه گرگان به کمک میکروپاپیت به روش نقطه‌ای مایه‌زنی شدند. سه هفته بعد از مایه‌زنی هر سنبله، درصد پیشرفت بیماری (شدت بیماری) در آن از طریق تعیین نسبت سنبلچه‌های آلوده به کل سنبلچه‌های سنبله تعیین شد.

نشانه‌های مولکولی مورد استفاده

به منظور انجام بررسی‌های مولکولی روی مواد آزمایشی و جمع‌آوری داده‌های ژنوتیپی مربوطه، تعداد ۴۳ نشانگر SSR یا ریزماهواره (Microsatellite) که قبلاً ارتباط آن‌ها با ژن‌ها یا QTL‌های مرتبط با مقاومت به بیماری بلایت فوزاریومی سنبله به اثبات رسیده بود (Buerstmayr et al., 2009) روی مواد گفته شده در بالا مورد آزمایش قرار گرفتند. این نشانگرها که از نوع $Xgwm$ ، $Xcfd$ ، $Xbarc$ یا

(Wangshuibai) به منظور مقایسه باندهای مربوط به الل‌های مقاوم آن‌ها و الل‌های احتمالی موجود در ژنوتیپ‌ها مورد استفاده قرار گرفتند.

بررسی واکنش ژنوتیپ‌های آزمایشی نسبت به

بیماری

برای جمع‌آوری داده‌های فنوتیپی، ژنوتیپ‌های مورد آزمایشی طی دو سال زراعی ۹۲-۱۳۹۱ و ۹۳-۱۳۹۲ در شرایط آلودگی مصنوعی مزرعه در ایستگاه‌های تحقیقات کشاورزی عراقی محله (گرگان) و اولتان (مغان) ارزیابی شدند. هر یک از ژنوتیپ‌ها در آذر ماه روی یک خط یک و نیم متری در سه تکرار کاشته شده و تا بهار سال بعد به مرحله سنبله‌دهی رسانده شدند. برای مایه‌زنی خزانه‌های آزمایشی از مخلوط پنج جدایه قارچ عامل بیماری (*F. graminearum*) جمع‌آوری شده از هر یک از مناطق گفته شده استفاده شد. با رسیدن هر ژنوتیپ به ۵۰٪ گل‌دهی، اقدام به اسپورپاشی سنبله‌های آن با استفاده از محلول اسپورهای قارچ عامل بیماری (حدود 5×10^4 اسپور در هر میلی‌لیتر) شد و این کار دو روز دیگر تکرار شد. برای کمک به توسعه بیماری، آبیاری افشانه در خزانه‌های آزمایشی برقرار شد. حدود سه هفته پس از اولین اسپورپاشی، وقوع بیماری (Diseas incidence) و شدت بیماری (Disease severity) هر ژنوتیپ بر اساس مقیاس ۰-۱۰۰ درصد تعیین و شاخص بیماری هر کدام از آن‌ها از طریق تقسیم کردن حاصل

Xwmc بودند همگی از شرکت سیناکلون (تهران، ایران) تهیه شده بودند.

استخراج DNA، عملیات PCR و مقایسه باندها

استخراج DNA از برگ‌های جوان گندم گرفته شده از گیاهان در مرحله سه برگی و با استفاده از روش CTAB (Saghai-Marooft *et al.*, 1984) ولی با مقداری تعدیل و تغییر انجام شد. کیفیت DNA استخراج شده از نظر خصوصیات کمی و کیفی توسط دستگاه اسپکتروفتومتر و الکتروفورز ژل آگارز بررسی شد. عملیات PCR در حجم ۲۰ مایکرولیتر برای هر واکنش که متشکل از ترکیب زیر بود انجام شد: $MgCl_2$ به میزان ۲ میلی‌مولار، هر کدام از dNTPs به غلظت ۰/۲ میلی‌مولار، هر کدام از آغازگرهای رفت و برگشت به میزان ۱۰ پیکومول بر میکرولیتر، PCR buffer (1X) و ۱ واحد آنزیم تک پلیمرز به همراه ۵۰ نانوگرم DNA.

عملیات PCR طبق برنامه زیر در یک دستگاه PCR از نوع BIO-RAD T100™ (Bio-Rad Laboratories, Inc., Hercules, CA, USA) یا Mastercycler® gradient (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) انجام شد: یک چرخه واسرشت‌سازی (Denaturing) اولیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ دقیقه، ۳۵ چرخه شامل مراحل واسرشت‌سازی در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه، مرحله اتصال

(Annealing) در دمایی بسته به دمای اتصال نشانگرها به مدت ۳۰ ثانیه، مرحله بسط (Extension) در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه و در خاتمه یک چرخه بسط نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه. بعد از این مرحله، محصول PCR با استفاده از ژل پلی‌اکریلامید (Polyacrylamide) ۶٪ تفکیک شده و پس از رنگ آمیزی با محلول اتیدیوم بروماید (Ethidium bromide) در یک دستگاه ژل داگ (Gel Doc.) معمولی (UVItec Ltd., Cambridge, UK) با اشعه UV عکس برداری شد.

در مورد هر نشانگر مولکولی باند تشکیل شده در هر ژنوتیپ آزمایشی با باند تشکیل شده در شاهد مقاومی که نشانگر مربوطه و ژن مقاومت یا QTL متصل به آن قبلاً از آن گزارش شده بودند مقایسه شد. یکسان بودن باند مشاهده شده در هر ژنوتیپ آزمایشی و شاهد مقاوم مربوطه به معنای وجود نشانگر مورد نظر در آن ژنوتیپ و به تبع آن وجود ژن مقاومت یا QTL متصل به آن در نظر گرفته شد.

نتایج و بحث

مشخصات ژنوتیپ‌های گندم مورد استفاده در این تحقیق در جدول ۱ و نشانگرهای مولکولی استفاده شد به همراه مشخصات آنها در جدول ۲ نشان داده شده است.

جدول ۱- مشخصات لاین‌های مربوط به آزمایش‌های مقایسه عملکرد یکنواخت امیدبخش اقلیم گرم و مرطوب شمال در سال ۱۳۹۱ (ERWYT-N-91) مورد استفاده در تحقیق حاضر به همراه شاهد‌های مقاوم و حساس

Table 1. Specification of the lines of the Elite Regional Wheat Yield Trials from the North warm and humid zone in 2012 (ERWYT-N-91) used in the present study along with resistant and susceptible checks

شماره ژنوتیپ* Genotype no.	نام / کد ژنوتیپ* Name/ code of Genotype	پدیرگی Pedigree	منشأ Origin
1	N-91-1	Morvarid	-
2	N-91-2	Gonbad	-
3	N-91-3	CHAMRAN/ZAGROS	GORGAN
4	N-91-4	CHAMRAN/PASTOR	GORGAN
5	N-91-5	ZAGROS/ARVAND//CATBIRD /3/SHIROODI	GORGAN
6	N-91-6	PFAU/SHANGHAI#3/3/NAI60/HN//SY/4/ SHIROODI/5/KAUZ/STAR	GORGAN
7	N-91-7	KAUZ/CMH77.308//BAU/3/SHANGHAI8E249/4/ CATBIRD/5/TAJAN/6/SHIROODI	GORGAN
8	N-91-8	PFAU/MILAN/5/CHEN/AEGILOPS SQUARROSA (TAUS)//BCN/3/VEE#7/BOW/4/PASTOR	30 th ESWYT ¹ , CIMMT, Mexico
9	N-91-9	PFAU/MILAN/3/KAUZ/KS94U215//SKAUZ	42 th IBWSN ² , CIMMYT, Mexico
10	N-91-10	TILHI/5/PF74354//LD/ALD/4/2*BR12*2/3/JUP// PAR214*6/FB6631/6/ATTILA/2*PASTOR	42 th IBWSN, CIMMYT, Mexico
11	N-91-11	WHEAR/CHAPIO/3/C80.1/3*BATAVIA//2*WBLL1	42 th IBWSN, CIMMYT, Mexico
12	N-91-12	CNDO/R143//ENTE/MEXI_2/3/AEGILOPS SQUARROSA (TAUS)/4/WEAVER/5/PICUS/6/FISCAL	20 th HRWSN ³ , CIMMYT, Mexico
13	N-91-13	PGO/SERI//BAU/3/DUCULA	15 th HRWSN ⁴ , CIMMYT, Mexico
14	N-91-14	PF74354//LD/ALD/4/2*BR12*2/3/JUP//PAR214*6 /FB6631/5/SW89-5124*2/FASAN/6/TILH	CIMMYT, Mexico
15	N-91-15	NANJING2149/KAUZ/4/JUP/ALD"S"//KIT"S"/3/ VEE"S"/5/SHA 7//HAHN"S"*2/PRL"S"	GORGAN
16	N-91-16	SABUF/7/ALTAR 84/AE.SQUARROSA (224)//...	GORGAN
17	N-91-17	MILAN/S87230//BABAX	2 nd EBWYT ⁵ , CIMMYT, Mexico
18	N-91-18	MILAN/ATTILA//ATTILA-4Y	Unknown
19	N-91-19	CAL/NH/H567.71/3/SERI/4/CAL/NH/H567.71/5/2*KAUZ/...	28 th ESWYT ⁶ , CIMMYT, Mexico
20	N-91-20	BABAX/LR42//BABAX*2/3/VIVITSI	3 rd EBWYT ⁷ , CIMMYT, Mexico
21	Sumai 3	-	-
22	Wangshuibai	-	-
23	Falat	-	-

* شماره‌های ۱ تا ۲۰ مواد مربوط به آزمایش‌های مقایسه عملکرد یکنواخت امیدبخش اقلیم گرم و مرطوب شمال در سال ۱۳۹۱ (ERWYT-N-91)، شماره‌های ۲۱ و ۲۲ شاهد‌های مقاوم و شماره ۲۳ شاهد حساس هستند.

۱- ۳۰امین آزمایش مقایسه عملکرد گندم بهاره امیدبخش، ۲- ۴۲امین خزانه بین‌المللی غربال گندم نان، ۳- ۲۰امین خزانه غربال گندم مناطق پرباران، ۴- ۱۵امین خزانه غربال گندم مناطق پرباران، ۵- دومین آزمایش مقایسه عملکرد گندم نان امیدبخش، ۶- ۲۸امین آزمایش مقایسه عملکرد گندم بهاره امیدبخش و ۷- سومین آزمایش مقایسه عملکرد گندم نان امیدبخش، همگی درفت شده از مرکز بین‌المللی اصلاح ذرت و گندم (CIMMYT)، مکزیک.

* The genotypes 1 to 20 are representing the lines of the Elite Regional Wheat Yield Trials from the North warm and humid zone in 2012 (ERWYT-N-91), 21 and 22 the resistant checks, and 23 the susceptible check.

1. 30th Elite Spring Wheat Yield Trial, 2. 42nd International Bread Wheat Screening Nursery, 3. 20th High Rainfall Wheat Screening Nursery, 4. 15th High Rainfall Wheat Screening Nursery, 5. 2nd Elite Bread Wheat Yield Trial, 6. 28th Elite Spring Wheat Yield Trial, and 7. 3rd Elite Bread Wheat Yield Trial, all received from the International Maize and Wheat Improvement Center (CIMMYT), Mexico D.F., Mexico.

در دو منطقه گرگان و مغان و دو دو سال

واکنش ژنوتیپ‌های آزمایشی در برابر بیماری

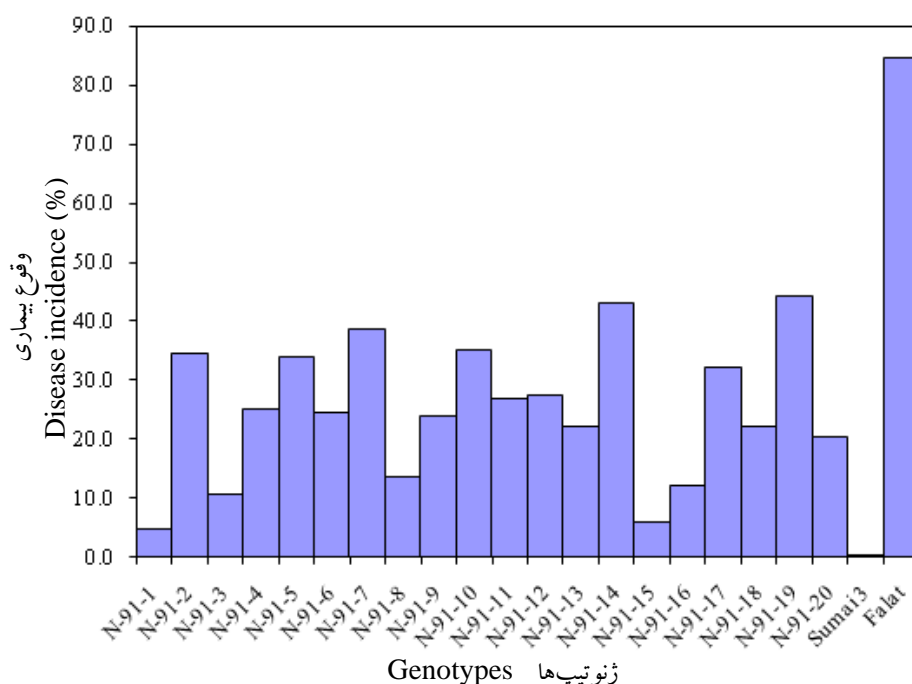
آزمایش، ژنوتیپ‌های آزمایشی از نظر میزان

بر اساس میانگین داده‌های مربوط به بیماری

جدول ۲- نشانگرهای مولکولی، دمای اتصال و توالی‌های رفت و برگشت آغازگر آن‌ها
Table 2. Molecular markers and their annealing temperatures and forward and reverse primer sequences

شماره نشانگر	نام نشانگر	دمای اتصال	توالی رفت آغازگر	توالی برگشت آغازگر
Marker no.	Name	annealing temperature	Primer forward sequence	Primer reverse sequence
1	<i>Xbarc8</i>	51	GCGGGAATCATGCATAGGAAAAC	GCGGGGGCGAAACATACACATAA
2	<i>Xbarc107</i>	61	CGAACTGAAACTGAAAACACAG	AGGGAGAGTGGACGTCATAAATTG
3	<i>Xbarc117</i>	51	TCATGCGTGCTAAGTGCTAA	GAGGGCAGGAAAAAGTGACT
4	<i>Xbarc125</i>	51	GCGTCGAGGGTAAAACAACATAT	GTAGCGTCAGTGCTCACACAATGA
5	<i>Xbarc133</i>	51	AGCGCTCGAAAAGTCAG	GGCAGGTCCAACCTCCAG
6	<i>Xbarc200</i>	51	GCGATATGATTTGGAGCTGATTG	GCGATGACGTTAGATGCGGAATTG
7	<i>Xcfd84</i>	61	GTTGCCTCGGTGTCGTTTAT	TCCTCGAGGTCCAAAACATC
8	<i>Xgwm18</i>	61	TGGCGCCATGATTGCATTATCTTC	GGTTGCTGAAGAACCCTATTTAGG
9	<i>Xgwm47</i>	61	TTGCTACCATGCATGACCAT	TTCACCTCGATTGAGGTCCT
10	<i>Xgwm149</i>	61	CATTGTTTTCTGCCTCTAGCC	CTAGCATCGAACCTGAACAAG
11	<i>Xgwm157</i>	61	GTCGTCGCGGTAAGCTTG	GAGTGAACACACGAGGCTTG
12	<i>Xgwm210</i>	61	TGCATCAAGAATAGTGTGGAAG	TGAGAGGAAGGCTCACACCT
13	<i>Xgwm261</i>	61	CTCCCTGACGCCTAAGGC	CTCGGCTACTAGCCATTG
14	<i>Xgwm274</i>	61	AACTTGCAAAACTGTTCTGA	TATTTGAAGCGTTTGATT
15	<i>Xgwm282</i>	61	TTGGCCGTGTAAGGCAG	TCTCATTACACACAACACTAGC
16	<i>Xgwm293</i>	61	TACTGGTTCACATTGGTGCG	TCGCCATCACTCGTTC AAG
17	<i>Xgwm304</i>	61	AGGAAACAGAAATATCGCGG	AGGACTGTGGGGAATGAATG
18	<i>Xgwm311</i>	61	TCACGTGGAAGACGCTCC	CTACGTGCACCACCATTTTG
19	<i>Xgwm335</i>	61	CGTACTCCACTCCACACGG	CGGTCCAAGTGCTACCTTTC
20	<i>Xgwm368</i>	61	CCATTTACCTAATGCCTGC	AATAAAACCATGAGCTCACTTGC
21	<i>Xgwm371</i>	61	GACCAAGATATTCAAACCTGGCC	AGCTCAGCTTGCTTGGTACC
22	<i>Xgwm374</i>	61	ATAGTGTGTTGCATGCTGTGTG	TCTAATTAGCGTTGGCTGCC
23	<i>Xgwm382</i>	61	GTCAGATAACGCCGTCCAAT	CTACGTGCACCACCATTTTG
24	<i>Xgwm389</i>	61	ATCATGTGATCTCCTTGACG	TGCCATGCACATTAGCAGAT
25	<i>Xgwm425</i>	61	GAGCCCACAAGCTGGCA	TCGTTCTCCCAAGGCTTG
26	<i>Xgwm484</i>	61	ACATCGCTCTTCACAAACCC	AGTTCGCGTCATGGCTAGG
27	<i>Xgwm501</i>	61	GGCTATCTCTGGCGCTAAAA	TCCACAAACAAGTAGCGCC
28	<i>Xgwm518</i>	61	AATCACAACAAGGCGTGACA	CAGGGTGGTGCATGCAT
29	<i>Xgwm608</i>	61	ACATTGTGTGTGCGGCC	GATCCCTCTCCGCTAGAAGC
30	<i>Xgwm639</i>	61	CTCTCTCCATTCCGTTTTCC	CATGCCCCCTTTTCTG
31	<i>Xgwm644</i>	61	GTGGGTCAAGGCCAAGG	AGGAGTAGCGTGAGGGGC
32	<i>Xgwm674</i>	61	TCGAGCGATTTTCTCTGC	TGACCGAGTTGACCAAAACA
33	<i>Xwmc41</i>	51	TCCCTCTTCCAAGCGCGGATAG	GGAGGAAGATCTCCCGGAGCAG
34	<i>Xwmc96</i>	61	TAGCAGCATGCTTAGCATCAA	GTTTCAGTCTTTCACGAACACG
35	<i>Xwmc149</i>	61	ACAGACTTGGTTGGTGCCGAGC	ATGGGCGGGGGTGTAGAGTTTG
36	<i>Xwmc175</i>	61	GCTCAGTCAAACCGCTACTTCT	CACTACTCCAATCTATCGCCGT
37	<i>Xwmc181</i>	61	TCCTTGACCCCTTGCACTAACT	ATGGTTGGGAGCACTAGCTTGG
38	<i>Xwmc245</i>	61	GCTCAGATCATCCACCAACTTC	AGATGCTCTGGGAGAGTCCTTA
39	<i>Xwmc264</i>	61	CTCCATCTATTGAGCGAAGGTT	CAAGATGAAGCTCATGCAAGTG
40	<i>Xwmc331</i>	61	CCTGTTGCATACTTGACCTTTTT	GGAGTTCAATCTTTCATCACCAT
41	<i>Xwmc428</i>	61	TTAATCCTAGCCGTCCTTTTT	CGACCTTCGTTGGTTATTTGTG
42	<i>Xwmc474</i>	61	ATGCTATTAACACTAGCATGTGTC	AGTGGAACATCATTCTGGTA
43	<i>Xwmc539</i>	61	GCAAGTAGGACCTTACAGTTCT	GTTATAACCTTTGTCCCTCAC

وقوع بیماری در شرایط مزرعه (شکل ۱)، همان‌طوری که انتظار می‌رفت پایین‌ترین مقدار وقوع بیماری در شاهد مقاوم رقم سومای ۳ (۰/۴٪) و بالاترین آن در شاهد حساس رقم فلات (۰/۸۴٪) مشاهده شد. بدون در نظر گرفتن شاهد‌های مقاوم و حساس به بیماری، ژنوتیپ N-91-1 (رقم مروارید) با داشتن ۰/۴٪ وقوع بیماری به عنوان مقاوم‌ترین ژنوتیپ از بین بیست ژنوتیپ آزمایشی بود و پس از آن دو ژنوتیپ N-91-15 و N-91-3 به ترتیب با داشتن وقوع بیماری ۰/۶ و ۰/۱۰ درصد، از نظر این صفت از مقاومت بسیار بالایی در برابر بیماری برخوردار



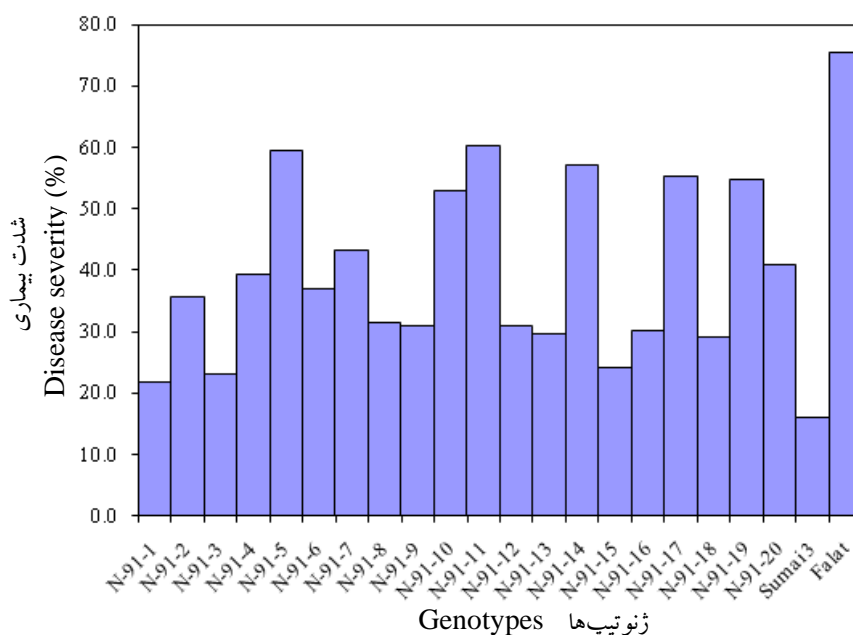
شکل ۱- میانگین وقوع بیماری در ژنوتیپ‌های گندم، شاهد مقاوم (Sumai 3) و شاهد حساس (Falat) در شرایط مزرعه در دو منطقه گرگان و مغان در دو سال زراعی ۹۲-۱۳۹۱ و ۹۳-۱۳۹۲

Fig. 1. Mean disease incidence of wheat genotypes, resistant (Sumai 3) and susceptible (Falat) check cultivars under field conditions in two locations of Gorgan and Moghan in two growing seasons of 2012-13 and 2013-14

مروارید) با داشتن شاخص بیماری ۰/۹٪ از نظر این شاخص نیز به عنوان مقاوم‌ترین ژنوتیپ در بین بیست ژنوتیپ آزمایشی ارزیابی شد و به دنبال آن دو ژنوتیپ آزمایشی N-91-15 و N-91-3 به ترتیب با داشتن شاخص بیماری ۱/۷ و ۲/۵ درصد، همچنان جزو ژنوتیپ‌های پیش‌تاز بوده و بعد از رقم مروارید، بالاترین سطح مقاومت را از خود نشان دادند.

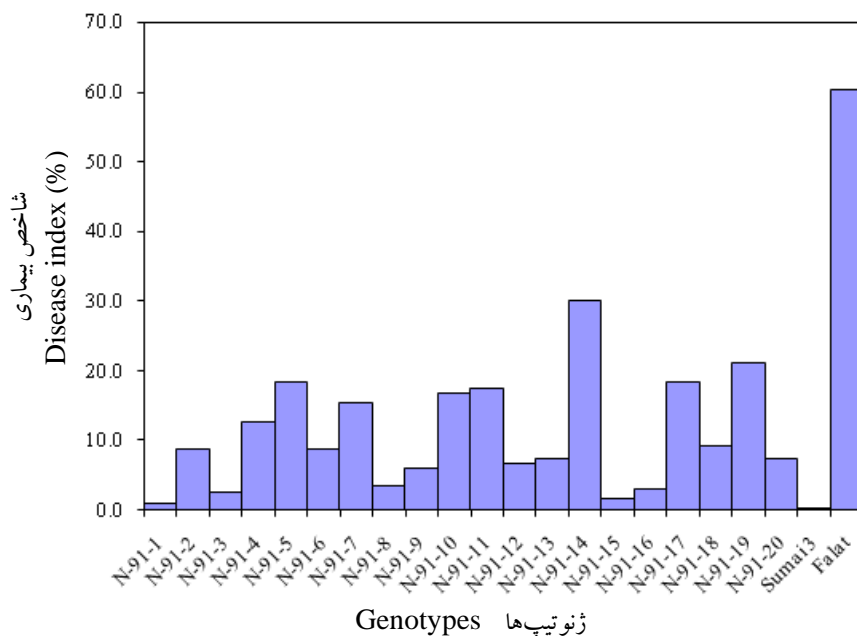
از نظر شدت بیماری ارزیابی شده در شرایط گلخانه (شکل ۴)، ژنوتیپ N-91-1 (رقم مروارید) در مقایسه با شرایط مزرعه واکنش متفاوتی داشت و با شدت بیماری ۴۰/۶٪ در جایگاه متوسط قرار گرفت. شاهد حساس فلات

بودند. از نظر شدت بیماری (شکل ۲)، صرف نظر از شاهد‌های مقاوم و حساس به بیماری که به ترتیب دارای پایین‌ترین (۱/۱۶٪) و بالاترین (۵/۷۵٪) شدت بیماری بودند، ژنوتیپ N-91-1 (رقم مروارید) با داشتن شدت بیماری ۲۱/۸٪ به عنوان مقاوم‌ترین ژنوتیپ آزمایشی بود و دو ژنوتیپ آزمایشی N-91-3 و N-91-15 به ترتیب با داشتن شدت بیماری ۲۳/۱ و ۲۴/۳ درصد، از نظر این صفت بعد از آن قرار داشتند. از نظر شاخص بیماری (شکل ۳)، بدون در نظر گرفتن شاهد‌های مقاوم و حساس به بیماری که به ترتیب پایین‌ترین (۴/۰٪) و بالاترین (۳/۶۰٪) شاخص بیماری را داشتند، ژنوتیپ N-91-1 (رقم



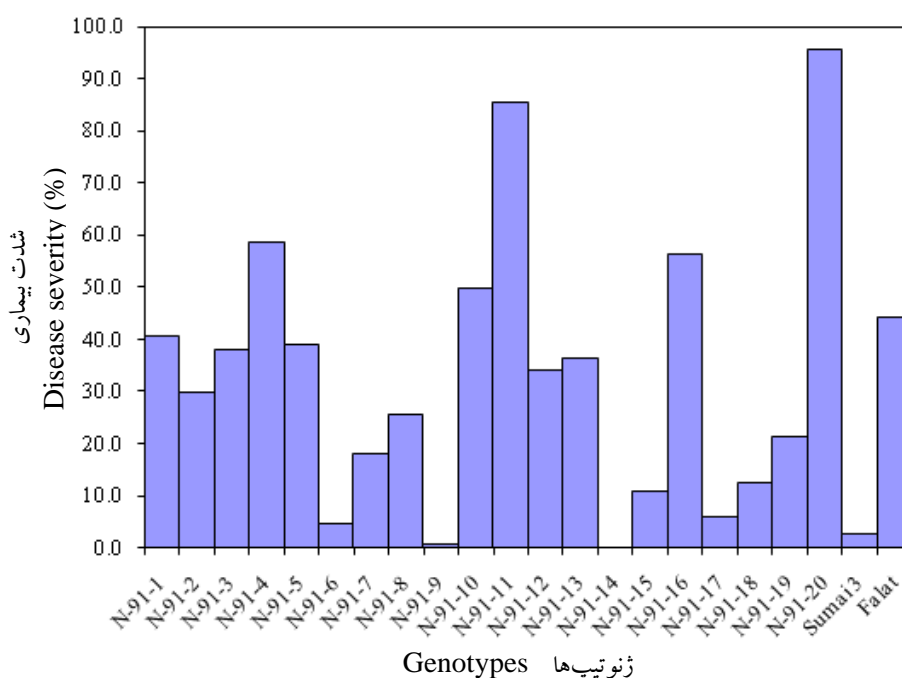
شکل ۲- میانگین شدت بیماری در ژنوتیپ‌های گندم، شاهد مقاوم (Sumai 3) و شاهد حساس (Falat) در شرایط مزرعه در دو منطقه گرگان و مغان در دو سال زراعی ۱۳۹۱-۹۲ و ۱۳۹۲-۹۳

Fig. 2. Mean disease severity of wheat genotypes, resistant (Sumai 3) and susceptible (Falat) check cultivars under field conditions in two locations of Gorgan and Moghan in two growing seasons of 2012-13 and 2013-14



شکل ۳- میانگین شاخص بیماری در ژنوتیپ‌های گندم، شاهد مقاوم (Sumai 3) و شاهد حساس (Falat) در شرایط مزرعه در دو منطقه گرگان و مغان در دو سال زراعی ۱۳۹۱-۹۲ و ۱۳۹۲-۹۳

Fig. 3. Mean disease index of wheat genotypes, resistant (Sumai 3) and susceptible (Falat) check cultivars under field conditions in two locations of Gorgan and Moghan in two growing seasons of 2012-13 and 2013-14



شکل ۴- میانگین شدت بیماری در ژنوتیپ‌های گندم، شاهد مقاوم (Sumai 3) و شاهد حساس (Falat) در شرایط گلخانه. ژنوتیپ N-91-14 به علت مشکل سبز شدن فاقد داده می‌باشد.

Fig. 4. Mean disease severity of wheat genotypes, resistant (Sumai 3) and susceptible (Falat) check cultivars under greenhouse conditions. Due to lack of germination and growth for the genotype N-91-14, there was no data for that

بافت‌های گیاهی (مقاومت نوع II) از زمان‌های قدیم شناسایی و معرفی شده بودند (Schroeder and Christensen, 1963). بعداً سه نوع مقاومت دیگر شامل مقاومت به تجمع توکسین در بافت‌های گیاهی (مقاومت نوع III)، مقاومت به آلودگی دانه (مقاومت نوع IV) و تحمل گیاه در برابر بیماری گزارش شدند (Wang and Miller, 1988؛ Mesterházy, 1995؛ Miller et al., 1985). به طور کلی، ارزیابی مقاومت نوع I در شرایط عادی از طریق اسپورپاشی گیاهان با قارچ عامل بیماری در شرایط مزرعه امکان‌پذیر است. در چنین شرایطی، ثبت مقدار یا درصد وقوع

نیز واکنش بسیار متفاوتی در مقایسه با شرایط مزرعه داشت و با شدت بیماری ۴/۴۴٪ در کنار رقم مروارید قرار گرفت. دو ژنوتیپ N-91-9 و N-91-20 به ترتیب با داشتن شدت بیماری ۹/۰٪ و ۸/۹۵٪ به ترتیب مقاوم‌ترین و حساس‌ترین ژنوتیپ آزمایشی در بین مواد مورد بررسی بودند که این امر هم بسیار متفاوت از واکنش آن‌ها در شرایط مزرعه بود.

تاکنون پنج نوع مقاومت ژنتیکی نسبت به بیماری بلایت فوزاریومی سنبله در گندم شناسایی شده است. دو نوع از این مقاومت‌ها یعنی مقاومت به آلودگی اولیه (مقاومت نوع I) و مقاومت به گسترش قارچ عامل بیماری در

بیش‌ترین کار روی مقاومت نوع II انجام شده است. ضمناً به نظر می‌رسد که این مقاومت در مقایسه با مقاومت نوع I پایدارتر بوده و کم‌تر تحت تأثیر عوامل غیر ژنتیکی قرار می‌گیرد (Bai and Shaner, 1994).

با توجه به آنچه که در بالا گفته شد، سه ژنوتیپ N-91-1 (مروراید)، N-91-15 و N-91-3 با داشتن کم‌ترین مقادیر وقوع بیماری (به ترتیب ۴/۸، ۶/۰ و ۱۰/۶ درصد) باید دارای بالاترین سطح مقاومت نوع I باشند. از طرف دیگر، هر سه این ژنوتیپ‌ها به ترتیب با داشتن ۰/۹، ۱/۷ و ۲/۵ درصد شاخص بیماری، از این نظر هم بهترین وضعیت را داشته و مقاوم‌ترین ژنوتیپ‌ها ارزیابی شدند. با توجه به این دو موضوع می‌توان نتیجه‌گیری کرد که یا مقاومت نوع I موجود در این سه ژنوتیپ است که خیلی خوب عمل کرده و علاوه بر مقدار وقوع بیماری به طور برجسته روی مقدار شاخص بیماری نیز تأثیر گذاشته است و یا این که متناسب با مقاومت نوع I، مقاومت نوع II موجود در این مواد هم بالاست که همگام با هم روی شاخص بیماری تأثیر گذاشته‌اند. با نگاه به داده‌های به دست آمده از بررسی مقاومت نوع II در شرایط گلخانه مشاهده می‌شود که دو ژنوتیپ N-91-1 (مروراید) و N-91-3 به ترتیب با داشتن ۴۰/۶ و ۳۸/۱ درصد شدت بیماری تقریباً در میانه نتایج مقایسه میانگین‌ها قرار گرفته‌اند و بنابراین، ممکن است مقاومت نوع II در آن‌ها خیلی تأثیرگذار نباشد. برعکس،

بیماری می‌تواند معیاری از این نوع مقاومت باشد. برعکس، آنچه که در شرایط مزرعه بعد از اسپورپاشی گیاهان به عنوان شدت بیماری ثبت می‌شود نمی‌تواند به طور اختصاصی نشان دهنده مقاومت نوع II باشد بلکه بیانگر ترکیبی از دو نوع مقاومت I و II است، بنابراین با توجه صرف به مقدار شدت بیماری یک ژنوتیپ آزمایشی در شرایط مزرعه امکان تفکیک این دو نوع مقاومت و مشخص کردن سهم هر یک در ایجاد بیماری وجود ندارد. همین‌طور، شاخص بیماری نیز که از تقسیم کردن حاصل ضرب وقوع بیماری در شدت بیماری بر عدد ۱۰۰ به دست می‌آید نشان دهنده ترکیب این دو نوع مقاومت است. به هر حال، با توجه این که شاخص بیماری در برگیرنده هم وقوع بیماری و هم شدت بیماری در مزرعه است، از نظر کاربردی بسیار مهم بوده و استفاده از آن در غربال کردن ژنوتیپ‌های آزمایشی، انتخاب مواد و تصمیم‌گیری‌های مربوط به مدیریت این بیماری بسیار مفید و تعیین کننده است.

برعکس آزمایش مزرعه‌ای، ارزیابی مقاومت نوع II در شرایط کنترل شده گلخانه و از طریق مایه‌زنی نقطه‌ای امکان‌پذیر است. در چنین شرایطی، ثبت میزان پیشرفت بیماری در سنبله که ممکن است به آن شدت بیماری هم گفته شود معیاری از این نوع مقاومت خواهد بود. به دلایل مختلف، از جمله تحت کنترل بودن، ساده بودن نوع مقاومت مورد بررسی و امکان کار کردن در فصل‌های مختلف،

I متصل است (Chen *et al.*, 2006)، در دو ژنوتیپ N-91-11 و N-91-15 با باند مربوط به رقم سومای ۳ یکسان بود (شکل ۵). اندازه باند این نشانگر در هر سه نوع گندم سومای ۳، CM-82036 (از مشتقات سومای ۳) و ونگشویبای یکسان و برابر با 239 bp گزارش شده است (McCartney *et al.*, 2004). میزان وقوع بیماری دو ژنوتیپ گفته شده به ترتیب ۲۶/۸ و ۶/۰ درصد به دست آمد که به طور قابل توجهی کم‌تر از میزان وقوع بیماری در شاهد حساس (۸۴/۵٪) بود (شکل ۱). با توجه به این توضیحات، احتمال وجود یک QTL مرتبط با مقاومت به بیماری در این دو ژنوتیپ وجود دارد. وجود این QTL موجود در روی کروموزوم 5A و ارتباط آن با نشانگر *Xbarc117* اولین بار از گندم رقم W14 که خود از مشتقات سومای ۳ است، گزارش شده است (Chen *et al.*, 2006). این QTL دارای اثر قابل توجهی روی مقاومت به وقوع بیماری در مزرعه (مقاومت نوع I) بوده و در جمعیت به دست آمده از W14، ۲۴٪ تنوع فنوتیپی را پوشش داده است (Chen *et al.*, 2006).

ردیابی مقاومت با استفاده از نشانگر *Xgwm304*

نشانگر *Xgwm304* و QTL(های) مرتبط با آن از کروموزوم 5A در گندم ونگشویبای برای مقاومت به وقوع بیماری یا مقاومت نوع I (Lin *et al.*, 2006) و در گندم CM-82036 (از مشتقات سومای ۳) برای مقاومت به

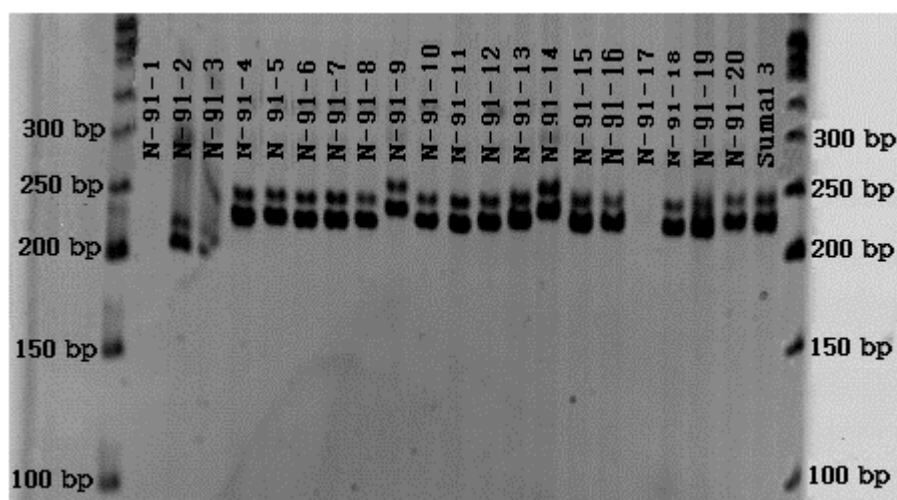
ژنوتیپ N-91-15 با داشتن ۱۱/۰٪ بیماری در گلخانه و جایگاه چهارم از نظر مقاومت احتمالاً از نظر داشتن این نوع مقاومت هم وضعیت مطلوبی دارد.

وضعیت کلی نشانگرهای مولکولی مورد استفاده

از ۴۳ نشانگر بررسی شده روی ژنوتیپ‌های آزمایشی، ارتباط چهار نشانگر *Xbarc117*، *Xgwm261*، *Xgwm304* و *Xgwm282* با QTLهای مرتبط با مقاومت به بیماری بلایت فوزاریومی سنبله در ژنوتیپ‌های آزمایشی مشخص شد. سایر نشانگرها به دلایل مختلف از قبیل عدم بسط هر گونه باند DNA، چندشکلی (Polymorphic) نبودن باندهای تشکیل شده، یا عدم وجود شاهد مناسب در بین مواد آزمایشی برای اثبات وجود ارتباط باند تشکیل شده با مقاومت به بیماری قابل استفاده نبودند. برخی نشانگرها هم باندهای واضحی را تشکیل دادند که در همه ژنوتیپ‌های آزمایشی مشابه هم ولی متفاوت از باندهای تشکیل شده در شاهدها بودند که به معنای عدم وجود ارتباط بین ژنوتیپ‌های آزمایشی و شاهد و در نتیجه عدم وجود ارتباط با مقاومت به بیماری در میان ژنوتیپ‌های آزمایشی بود.

ردیابی مقاومت با استفاده از نشانگر *Xbarc117*

در بررسی حاضر، اندازه باند نشانگر *Xbarc117* که خود به یک QTL القا کننده مقاومت به وقوع بیماری در مزرعه (مقاومت نوع

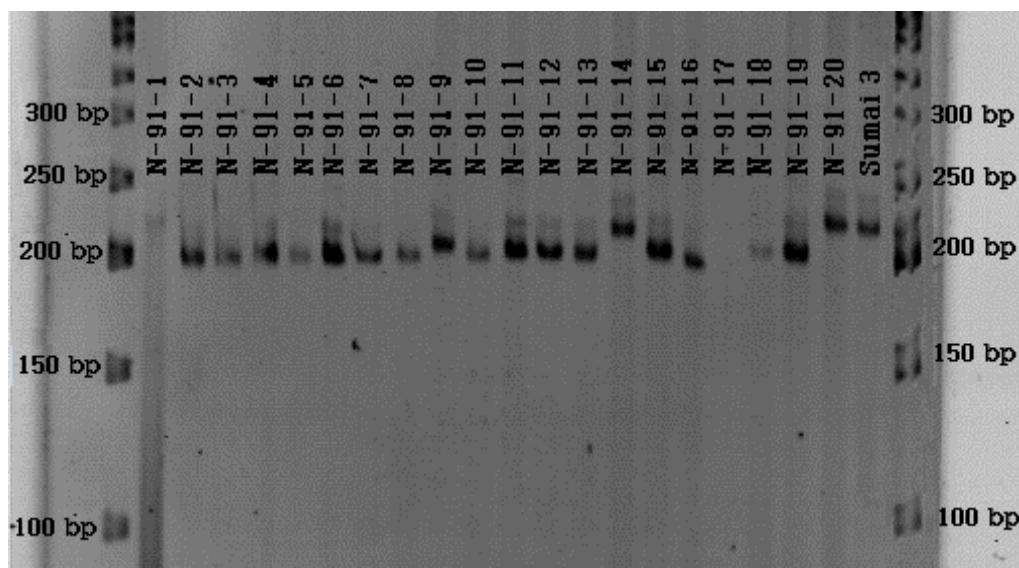


شکل ۵- الگوی بانندی تشکیل شده توسط نشانگر *Xbarc117* در ژنوتیپ‌های گندم و شاهد مقاوم سومای ۳ (Sumai 3). ستون‌های چپ و راست عکس نشان دهنده شاخص اندازه‌گیری (ladder) ۵۰ bp هستند.

Fig. 5. Band patterns of the SSR marker *Xbarc117* for wheat genotypes and the resistant check Sumai 3. The lanes in the left and right sides of the picture are representing the 50-bp ladder.

N-91-20 مشاهده شد که می‌تواند دلیلی بر وجود QTL(های) القا کننده مقاومت به بیماری روی کروموزوم 5A در این دو ژنوتیپ باشد (شکل ۶). با توجه به مقدار وقوع بیماری ۴۳/۱ و ۲۰/۴ درصد به ترتیب در دو ژنوتیپ بالا که در مقایسه با میزان بیماری شاهد حساس (۸۴/۵٪) نسبتاً پایین است (شکل ۱)، وجود QTL متصل به نشانگر *Xgwm304* و نقش آن در القای مقاومت نوع I و کاهش بیماری در این دو ژنوتیپ تأیید می‌شود. برعکس، با توجه به شدت بیماری ۹۵/۸٪ ژنوتیپ N-91-20 در شرایط گلخانه (شکل ۴)، احتمالاً در این گندم QTL خاصی برای ایجاد مقاومت نوع II وجود نداشته و یا در صورت وجود، عمل نمی‌کند. با توجه به این اطلاعات و آنچه که در منابع

گسترش بیماری یا مقاومت نوع II (Buerstmayr *et al.*, 2002) گزارش شده‌اند. اثر این QTL(ها) روی دو نوع مقاومت گفته شده به ترتیب ۲۰/۳-۱۶/۶ و ۱۱/۰ درصد بوده است (Lin *et al.*, 2006). هم‌چنین، ارتباط این نشانگر و یک QTL القا کننده مقاومت به گسترش بیماری روی همان کروموزوم در یک گندم زمستانه رومانیایی به نام Fundulea 201R که هیچ خویشاوندی و نسبتی با گندم‌های با منشأ چین از قبیل سومای ۳ و ونگشویبای ندارد گزارش شده است (Shen *et al.*, 2003). اندازه باند نشانگر گفته شده، در گندم سومای ۳ برابر با 233 bp گزارش شده است (McCartney *et al.*, 2004). در بررسی حاضر، این نشانگر در دو ژنوتیپ N-91-14 و



شکل ۶- الگوی بانندی تشکیل شده توسط نشانگر *Xgwm304* در ژنوتیپ‌های گندم و شاهد مقاوم سومای ۳ (Sumai 3). ستون‌های چپ و راست عکس نشان دهنده شاخص اندازه‌گیری (ladder) ۵۰ bp هستند.

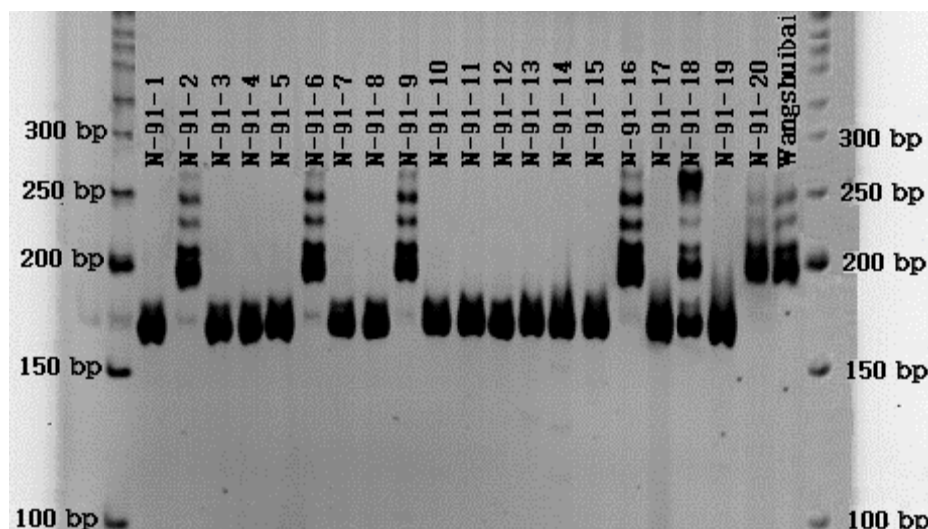
Fig. 6. Band patterns of the SSR marker *Xgwm304* for wheat genotypes and the resistant check Sumai 3. The lanes in the left and right sides of the picture are representing the 50-bp ladder.

در گندم و ننگشویبای در شرایط مزرعه به اثبات رسیده است (Jia *et al.*, 2005)، در شش ژنوتیپ N-91-9، N-91-6، N-91-2، N-91-16، N-91-18 و N-91-20 مشاهده شد (شکل ۷). شدت بیماری این ژنوتیپ‌ها در شرایط مزرعه از ۲۹/۱ تا ۴۱/۰ درصد متغیر بود که در مقایسه با مقدار بیماری شاهد حساس (۷۵/۵٪) کم‌تر بوده (شکل ۲) و وجود QTL متصل به نشانگر گفته شده و القای مقاومت به بیماری را تأیید می‌کند. در هر حال، براساس اطلاعات موجود، این QTL فقط ۱۰/۶٪ از تنوع فنوتیپی را پوشش می‌دهد (Jia *et al.*, 2005). شایان ذکر است که همانند سایر موارد، ممکن است QTL‌های دیگری هم روی این صفت و

گفته شده آمده است، ممکن است بتوان به این نتیجه رسید که حداقل دو نوع QTL مختلف روی کروموزوم 5A وجود دارند که هر کدام برای یکی از دو نوع مقاومت نوع I یا II فعال هستند. با توجه به نبود داده فنوتیپی برای ژنوتیپ N-91-14 در شرایط گلخانه، شاهدی برای اثبات وجود QTL جهت القای مقاومت نوع II در این گندم وجود ندارد.

ردیابی مقاومت با استفاده از نشانگر *Xgwm261*

سومین نشانگری که در تحقیق حاضر وجود آن در برخی ژنوتیپ‌های آزمایشی به اثبات رسید نشانگر *Xgwm261* بود. این نشانگر که وجود آن روی کروموزوم 2D و ارتباط آن با QTL القاکننده مقاومت در برابر شدت بیماری



شکل ۷- الگوی بانندی تشکیل شده توسط نشانگر *Xgwm261* در ژنوتیپ‌های گندم و شاهد مقاوم ونگشویبای (Wangshuibai). ستون‌های چپ و راست عکس نشان دهنده شاخص اندازه‌گیری مقاوم (ladder) ۵۰ bp هستند.

Fig. 7. Band patterns of the SSR marker *Xgwm261* for wheat genotypes and the resistant check Wangshuibai. The lanes in the left and right sides of the picture are representing the 50-bp ladder.

۵۶/۳ و ۹۵/۸ درصد به‌دست آمد (شکل ۴)، بنابراین احتمالاً مقاومت نوع I در دو ژنوتیپ گفته شده روی پایین آمدن شدت بیماری تأثیر گذاشته است. در سه ژنوتیپ دیگر، یعنی N-91-6، N-91-9 و N-91-18، شدت بیماری در گلخانه بسیار پایین و به ترتیب ۴/۸، ۰/۹ و ۱۲/۴ درصد به‌دست آمد (شکل ۴) که می‌تواند نشان دهنده وجود مقاومت نوع II در آن‌ها باشد. از طرف دیگر، وقوع بیماری در این ژنوتیپ‌ها هم نسبتاً پایین و به ترتیب ۲۴/۵، ۲۴/۰ و ۲۲/۱ درصد بود (شکل ۱) که باید ناشی از مقاومت نوع I باشد. هم‌چنین براساس نتایج به‌دست آمده در این بررسی، در ژنوتیپ N-91-2 هم وقوع بیماری (مزرعه) و هم شدت

پایین نگه داشتن نسبی شدت بیماری دخیل بوده باشند. همان‌طوری که قبلاً گفته شد به‌طور معمول تنها با در نظر گرفتن داده‌های شدت بیماری در مزرعه، امکان تفکیک کردن دو نوع مقاومت I و II دخیل در این صفت وجود ندارد. اما به هر حال، ممکن است توجه به داده‌های مربوط به وقوع بیماری در مزرعه و شدت بیماری در گلخانه به تفکیک این دو نوع مقاومت کمک کند. در مقایسه این دو نوع داده مشخص شد که در دو ژنوتیپ N-91-16 و N-91-20 وقوع بیماری نسبتاً پایین بوده و به ترتیب ۱۲/۱ و ۲۰/۴ درصد است (شکل ۱). برعکس، شدت بیماری در گلخانه در این دو بالا و به ترتیب

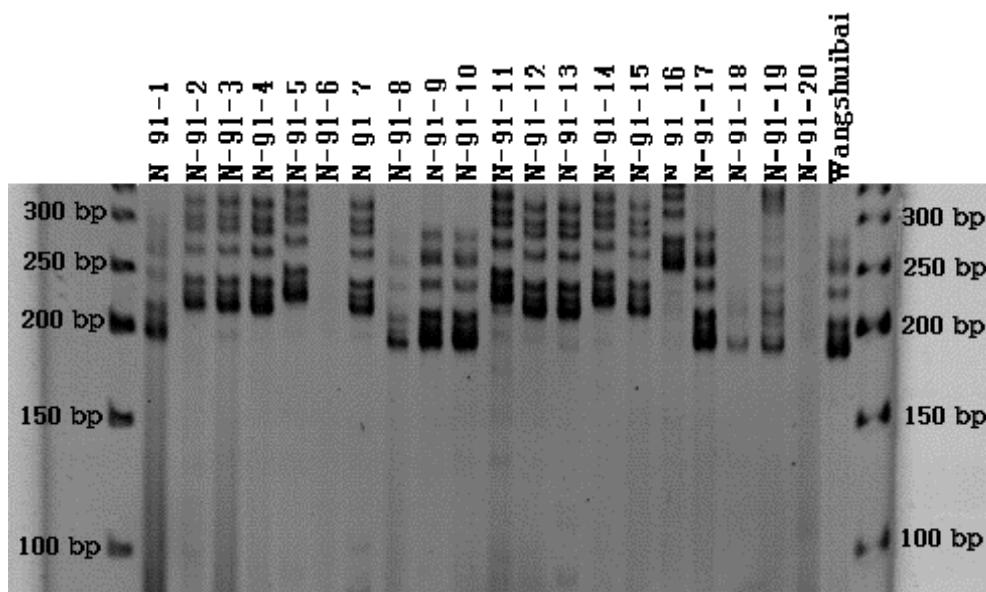
N-91-17 و N-91-18 گرچه میزان وقوع بیماری در مزرعه خیلی بالا نبوده و به ترتیب ۲۴/۰، ۳۲/۲ و ۲۲/۱ درصد تعیین شد (شکل ۱) که این امر ممکن است نشان دهنده QTL‌های القا کننده مقاومت نوع I در آن‌ها باشد، ولی به علت این که شدت بیماری این دو ژنوتیپ در شرایط گلخانه بسیار پایین و به ترتیب ۰/۹، ۶/۱ و ۱۲/۴ درصد به دست آمد (شکل ۴)، باید QTL‌های ایجاد کننده مقاومت نوع II در این مورد نقش بسیار پررنگی داشته باشند. همین طور، با توجه به پایین بودن شدت بیماری در گلخانه (۲۱/۳٪) در مقایسه با وقوع بیماری در مزرعه (۴۴/۴٪) در مورد ژنوتیپ آزمایشی N-91-19، به نظر می‌رسد که اثر مقاومت نوع II در کاهش بیماری در این ژنوتیپ بیش تر از مقاومت نوع I باشد. برعکس، در دو لاین N-91-8 و N-91-10 وقوع بیماری نسبتاً پایین (به ترتیب ۱۳/۶ و ۳۵/۱ درصد) و شدت بیماری (گلخانه) نسبتاً بالا (به ترتیب ۲۵/۶ و ۵۰/۰ درصد) بود که این موضوع ممکن است نشان دهنده اثر بیش تر مقاومت نوع I روی کاهش بیماری باشد.

به عنوان نتیجه گیری کلی، در این تحقیق بیست ژنوتیپ مربوط به آزمایش‌های مقایسه عملکرد یکنواخت امیدبخش اقلیم گرم و مرطوب شمال در سال ۱۳۹۱ (ERWYT-N-91) به همراه ارقام شاهد مقاوم و حساس از نظر مقاومت به بیماری بلایت فوزاریومی سنبله در شرایط مزرعه و گلخانه

بیماری (گلخانه) نسبتاً پایین بود (به ترتیب ۳۴/۵ و ۲۹/۸ درصد) که ممکن است دلیلی بر وجود هر دو نوع مقاومت I و II در آن باشد.

ردیابی مقاومت با استفاده از نشانگر Xgwm282

چهارمین نشانگری که در تحقیق حاضر در برخی ژنوتیپ‌های آزمایشی مشاهده شد و ممکن است نشان دهنده QTL القا کننده مقاومت در آن‌ها باشد نشانگر Xgwm282 بود. این نشانگر و QTL متصل به آن قبلاً از کروموزوم 7A در گندم ونگشویبای گزارش شده و معلوم شده است که این QTL می‌تواند ۱۲/۶٪ تنوع فنوتیپی را در ارتباط با شدت بیماری در مزرعه پوشش دهد (Jia et al., 2005). در تحقیق حاضر، وجود این نشانگر در پنج ژنوتیپ N-91-8، N-91-9، N-91-10، N-91-17، N-91-18 و N-91-19 به اثبات رسید (شکل ۸). شدت بیماری این لاین‌ها در شرایط مزرعه از ۳۱/۰ تا ۵۵/۲ درصد متغیر بود که در مقایسه با میزان بیماری شاهد حساس (۷۵/۵٪)، متوسط بود (شکل ۲)، بنابراین به احتمال قوی QTL‌هایی در پایین آوردن سطح شدت بیماری در این ژنوتیپ‌ها مؤثر بوده‌اند هر چند که ممکن است آن‌ها الزاماً QTL یا QTL‌های متصل به نشانگر Xgwm282 نباشند. با ملاحظه داده‌های مربوط به میزان وقوع بیماری در مزرعه و شدت بیماری در گلخانه در مورد ژنوتیپ‌های آزمایشی فوق مشاهده می‌شود که در مورد سه ژنوتیپ N-91-9،



شکل ۸- الگوی بانندی تشکیل شده توسط نشانگر *Xgwm282* در ژنوتیپ‌های آزمایشی گندم و شاهد مقاوم ونگشویبای (Wangshuibai). ستون‌های چپ و راست عکس نشان دهنده شاخص اندازه‌گیری (ladder) ۵۰ bp هستند.

Fig. 8. Band patterns of the SSR marker *Xgwm282* for wheat genotypes and the resistant check Wangshuibai. The lanes in the left and right sides of the picture are representing the 50-bp ladder.

این که شدت بیماری ژنوتیپ N-91-15 در شرایط گلخانه نیز بسیار پایین بود به نظر می‌رسد که این ژنوتیپ از مقاومت نوع II نیز برخوردار است. هم‌چنین، به نظر می‌رسد که ژنوتیپ آزمایشی N-91-9 با داشتن پایین‌ترین میانگین شدت بیماری در شرایط گلخانه، بالاترین سطح مقاومت نوع II را دارد.

در بررسی ۴۳ نشانگر SSR به منظور استفاده از آن‌ها در گزینش ژنوتیپ‌های مقاوم به بیماری در تحقیق حاضر، چهار نشانگر *Xbarc117*، *Xgwm304*، *Xgwm261* و *Xgwm282* به دلیل تشکیل باندهای واضح و آشکار برای ژنوتیپ‌های آزمایشی و چندشکلی بودن

مورد استفاده و بررسی قرار گرفتند. این ژنوتیپ‌ها موادی هستند که از تلاقی والدین مناسب و بعد از سال‌ها تحقیق در بخش تحقیقات غلات مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر به این مرحله رسیده و یا از مرکز بین‌المللی اصلاح ذرت و گندم (CIMMYT) دریافت شده‌اند.

براساس میانگین وقوع بیماری به دست آمده از دو سال ارزیابی ژنوتیپ‌های آزمایشی در شرایط مزرعه، سه ژنوتیپ N-91-1 (رقم مروارید)، N-91-15 و N-91-3 به ترتیب دارای پایین‌ترین میانگین وقوع بیماری بودند که نشانه وجود مقاومت نوع I در آن‌ها است. با توجه به

متصل به QTL‌هایی هستند که مقاومت به بیماری بلایت فوزاریومی سنبله را فقط تا حد مشخصی پوشش می‌دهند. با توجه به این امر، با این که براساس داده‌های فنوتیپی به دست آمده از این تحقیق، برخی ژنوتیپ‌های آزمایشی در شرایط مزرعه یا گلخانه دارای مقاومت بالایی بودند چهار نشانگر گفته شده در بالا در آن‌ها وجود نداشته و نمی‌توان در باره QTL‌های متصل به آن‌ها اظهار نظر کرد. در هر حال، با آزمایش نشانگرهای متفاوت می‌توان ژن‌ها یا QTL‌های دیگر را نیز که دارای اثرات فنوتیپی بیش‌تری هستند ردیابی کرد. در این مورد نشانگرهایی از قبیل *Xgwm274*، *Xgwm389*، *Xgwm493*، *Xgwm533*، *Xbarc133* و *Xbarc147* که روی کروموزوم 3BS قرار دارند، دو نشانگر *Xgwm156* و *Xgwm291* روی کروموزوم 5A و نشانگر *Xgwm644* روی کروموزوم 6B (Buerstmayr et al., 2009) ممکن است بسیار کارآمد باشند.

سپاسگزاری

از آقای اسمعیل ابراهیمی میمند و خانم فریبا پورپناهی تکنسین‌های بخش تحقیقات غلات مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر به خاطر کمک به اجرای این تحقیق و جمع‌آوری داده‌های فنوتیپی و ژنوتیپی سپاسگزاری می‌شود. هزینه‌های اجرای این تحقیق از محل اعتبارات پروژه مصوب شماره ۹۱۲۲۷-۰۳-۰۳-۰۰ مؤسسه تحقیقات اصلاح و

باندهای تشکیل شده در بین ژنوتیپ‌های حساس و مقاوم، توانستند به آشکار کردن تفاوت بین ژنوتیپ‌های حساس و مقاوم کمک کنند. براساس گزارش‌های چاپ شده در منابع مختلف، این نشانگرها متصل به QTL‌هایی هستند که در ایجاد مقاومت به بیماری بلایت فوزاریومی سنبله و پایین آوردن میزان بیماری در ارقام و لاین‌های گندم نقش دارند (Buerstmayr et al., 2009). در این رابطه، وجود نشانگر *Xbarc117* و QTL متصل به آن که القاکننده مقاومت در برابر وقوع بیماری (مقاومت نوع I) است، در دو ژنوتیپ N-91-11 و N-91-15 به اثبات رسید. هم‌چنین، وجود نشانگر *Xgwm304* و QTL متصل به آن که آن هم القاکننده مقاومت نوع I است، در دو ژنوتیپ N-91-14 و N-91-20 ثابت شد. علاوه بر آن، مشخص شد که نشانگر *Xgwm261* در ژنوتیپ‌های N-91-2، N-91-6، N-91-9، N-91-16، N-91-18 و N-91-20 و نشانگر *Xgwm282* در ژنوتیپ‌های آزمایشی N-91-8، N-91-9، N-91-10، N-91-17، N-91-18 و N-91-19 وجود دارند. هر دو نشانگر مذکور به QTL(هایی) ارتباط دارند که القاکننده مقاومت در برابر شدت بیماری هستند. در مورد هر چهار نشانگر گفته شده، داده‌های فنوتیپی به دست آمده از تحقیق حاضر نیز به طور مشخصی یافته‌های ژنوتیپی مربوطه و احتمال وجود QTL‌های متصل به آن‌ها را تأیید کردند. در هر حال، چهار نشانگر گفته شده در بالا،

تهیه نهال و بذر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی تأمین شده است.

References

- Arthur, J. C. 1891.** Wheat scab. Indiana Agricultural Experiment Station Bulletin 36: 129-138.
- Bai, G. H., and Shaner, G. E. 1994.** Scab of wheat: prospects for control. Plant Disease 78: 760-766.
- Bai, G.-H., and Shaner, G.E. 2004.** Management and resistance in wheat and barley to fusarium head blight. Annual Review of Phytopathology 42: 135-161.
- Bamdadian, A., and Torabi, M. 1983.** Important Diseases of Wheat and Barely and Methods of Scoring. Plant Pests and Diseases Research Institute Publications Tehran, Iran. 67 pp. (in Persian).
- Buerstmayr, H., Ban, T., and Anderson, J.A. 2009.** QTL mapping and marker-assisted selection for fusarium head blight resistance in wheat: a review. Plant Breeding 128: 1-26.
- Buerstmayr, H., Lemmens, M., Hartl, L., Doldi, L., Steiner, B., Stierschneider, M., and Ruckenbauer, P. 2002.** Molecular mapping of QTLs for fusarium head blight resistance in spring wheat. I. Resistance to fungal spread (Type II resistance). Theoretical and Applied Genetics 104: 84-91.
- Chen, J., Griffey, C. A., Maroof, M. A. S., Stromberg, E. L., Biyashev, R. M., Zhao, W., Chappell, M. R., Pridgen, T. H., Dong, Y., and Zeng, Z. 2006.** Validation of two major quantitative trait loci for fusarium head blight resistance in Chinese wheat line W14. Plant Breeding 125: 99-101.
- del Blanco, I. A., Frohberg, R. C., Stack, R. W., Berzonsky, W. A., and Kianian, S. F. 2003.** Detection of QTL linked to fusarium head blight resistance in Sumai 3-derived North Dakota bread wheat lines. Theoretical and Applied Genetics 106: 1027-1031.
- Dexter, J. E., Clear, R. M., and Preston, K. R. 1996.** Fusarium head blight: Effect on the milling and baking of some Canadian wheats. Cereal Chemistry 73: 695-701.
- Dexter, J. E., Marchylo, B. A., Clear, R. M., and Clarke, J. M. 1997.** Effect of fusarium head blight on semolina milling and pasta-making quality of durum wheat. Cereal Chemistry 74: 519-525.

- Jia, G., Chen, P., Qin, G., Bai, G., Wang, X., Wang, S., Zhou, B., Zhang, S., and Liu, D. 2005.** QTLs for fusarium head blight response in a wheat DH population of Wangshuibai/Alondra's'. *Euphytica* 146: 183-191.
- Lin, F., Xue, S. L., Zhang, Z. Z., Zhang, C. Q., Kong, Z. X., Yao, G. Q., Tian, D. G., Zhu, H. L., Li, C. J., Cao, Y., Wei, J. B., Luo, Q. Y., and Ma, Z. Q. 2006.** Mapping QTL associated with resistance to Fusarium head blight in the Nanda2419 x Wangshuibai population. II: Type I resistance. *Theoretical and Applied Genetics* 112: 528-535.
- McCartney, C. A., Somers, D. J., Fedak, G., and Cao, W. 2004.** Haplotype diversity at fusarium head blight resistance QTLs in wheat. *Theoretical and Applied Genetics* 109: 261-271.
- McCartney, C. A., Somers, D. J., Fedak, G., DePauw, R. M., Thomas, J., Fox, S. L., Humphreys, D. G., Lukow, O., Savard, M. E., McCallum, B. D., Gilbert, J., and Cao, W. 2007.** The evaluation of FHB resistance QTLs introgressed into elite Canadian spring wheat germplasm. *Molecular Breeding* 20: 209-221.
- McMullen, M., Jones, R., and Gallenberg, D. 1997.** Scab of wheat and barley: A reemerging disease of devastating impact. *Plant Disease* 81: 1340-1348.
- Mesterházy, A. 1995.** Types and components of resistance to fusarium head blight of wheat. *Plant Breeding* 114: 377-386.
- Miedaner, T., Wilde, F., Steiner, B., Buerstmayr, H., Korzun, V., and Ebmeyer, E. 2006.** Stacking quantitative trait loci (QTL) for Fusarium head blight resistance from non213 adapted sources in an European elite spring wheat background and assessing their effects on deoxynivalenol (DON) content and disease severity. *Theoretical and Applied Genetics* 112: 562-569.
- Miller, J. D., Greenhalgh, R., Wang, Y., and Lu, M. 1991.** Trichothecene chemotypes of three Fusarium species. *Mycologia* 83: 121-130.
- Parry, D. W., Jenkinson, P., and McLeod, L. 1995.** Fusarium ear blight (scab) in small grains-a review. *Plant Pathology* 44: 207-238.
- Pumphrey, M. O., Bernardo, R., and Anderson, J. A. 2007.** Validating the *Fhb1* QTL for fusarium head blight resistance in near-isogenic wheat lines developed from breeding populations. *Crop Science* 47: 200-206.

- Saghai-Marooif, M. A., Soliman, K. M., Jorgensen, R. A. and Allard, R. W. 1984.** Ribosomal DNA spacer-length polymorphisms in barley mendelian inheritance, chromosomal location and population dynamics. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 81: 8014-8018.
- Schroeder, H. W., and Christensen, J. J. 1963.** Factors affecting resistance of wheat to scab caused by *Gibberella zeae*. *Phytopathology* 53: 831-838.
- Shen, X. R., Ittu, M., and Ohm, H. W. 2003.** Quantitative trait loci conditioning resistance to fusarium head blight in wheat line F201R. *Crop Science* 43: 850-857.
- Stack, R. W., and McMullen, M. P. 1994.** A visual scale to estimate severity of fusarium head blight in wheat-PP1095. North Dakota State University, Fargo, ND, USA.
- Sutton, J. 1982.** Epidemiology of wheat head blight and maize ear rot caused by *Fusarium graminearum*. *Canadian Journal of Plant Pathology* 4: 195-209.
- Tuite, J., Shaner, G., and Everson, R.J. 1990.** Wheat scab in soft red winter wheat in Indiana USA in 1986 and its relation to some quality measurements. *Plant Disease* 74: 959-962.
- van Sanford, D., Anderson, J., Campbell, K., Costa, J., Cregan, P., Griffey, C., Hayes, P. and Ward, R. 2001.** Discovery and deployment of molecular markers linked to fusarium head blight resistance: an integrated system for wheat and barley. *Crop Science* 41:638-644.
- Wang, Y. Z., and Miller, J. D. 1988.** Effects of *Fusarium graminearum* metabolites on wheat tissue in relation to fusarium head blight resistance. *Journal of Phytopathology* 122: 118-125.
- Wilde, F., Korzun, V., Ebmeyer, E., Geiger, H.H., and Miedaner, T. 2007.** Comparison of phenotypic and marker-based selection for fusarium head blight resistance and DON content in spring wheat. *Molecular Breeding* 19: 357-370.
- Xie, G.Q., Zhang, M.C., Chakraborty, S., and Liu, C.J. 2007.** The effect of 3BS locus of ‘Sumai 3’ on fusarium head blight resistance in Australian wheats. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 47: 603-607.
- Yang, Z., Gilbert, J., Fedak, G., and Somers, D.J. 2005.** Genetic characterization of QTL associated with resistance to fusarium head blight in a doubled-haploid spring wheat population. *Genome* 48: 187-196.

- Yang, Z., Gilbert, J., Somers, D.J., Fedak, G., Procnier, J.D., and McKenzie, I.H. 2003.** Marker assisted selection of fusarium head blight resistance genes in two doubled haploid populations of wheat. *Molecular Breeding* 12: 309-317.
- Zhou, W.C., Kolb, F.L., Bai, G.H., Domier, L.L., Boze, L.K., and Smith, N.J. 2003.** Validation of a major QTL for scab resistance with SSR markers and use of marker-assisted selection in wheat. *Plant Breeding* 122: 40-46.