

## شناسایی نشانگرهای ریزماهواره پیوسته با مکان‌های ژنی کمی برای مقاومت به بلایت فوزاریومی سنبله در گندم

ایرج برنوسی<sup>۱\*</sup>، محسن مردی<sup>۲</sup>، محمدرضا بی‌همتا<sup>۳</sup>، صفورا امید<sup>۳</sup>، بهمن یزدی صمدی<sup>۳</sup>  
و عبدالهادی حسین‌زاده<sup>۳</sup>

(تاریخ دریافت: ۱۳۸۵/۱۲/۵؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۷/۱۲/۱۰)

### چکیده

بلایت فوزاریومی سنبله یکی از بیماری‌های مخرب گندم است که باعث کاهش عملکرد و کیفیت دانه می‌شود. کاشت ارقام مقاوم یک روش مؤثر، اقتصادی و سالم از نظر زیست‌محیطی برای کنترل این بیماری است. یک مکان ژنی کمی (QTL) برای مقاومت به بلایت فوزاریومی سنبله با عنوان Qfhs.ndsu-3BS در رقم مقاوم Sumai 3 شناسایی و توسط محققین مختلف تأیید شده است. رقم مقاوم Sumai 3 با رقم حساس فلات تلاقی داده شد. سه نشانگر ریزماهواره Xgwm 533, Xgwm 493, Xgwm 389 پیوسته با Qfhs.ndsu-3BS برای گزینش به کمک نشانگر در نسل‌های BC<sub>1</sub> و BC<sub>2</sub> مورد استفاده قرار گرفتند و خودباروری BC<sub>3</sub> یک نسل ادامه یافت. احتمال پیوستگی بین نشانگرها و Qfhs.ndsu-3BS با استفاده از تابع احتمال دو جمله‌ای محاسبه گردید. با این فرض که تعداد دفعات مشاهده آلل نشانگر مشابه والد دهنده با Qfhs.ndsu-3BS در یک جمعیت، تابعی از فاصله بین آنها و تعداد تلاقی‌های برگشتی یا خودباروری برای ایجاد جمعیت است. پیوستگی مکان ژنی ریزماهواره Xgwm 493 با Qfhs.ndsu-3BS معنی‌دار بود.

واژه‌های کلیدی: گندم، بلایت فوزاریومی سنبله، نشانگرهای ریزماهواره، مکان‌های ژنی کمی (QTL)

### مقدمه

از این سال‌ها یکی از بیماری‌های مهم گندم عنوان شده است (۳، ۴ و ۵). بلایت فوزاریومی سنبله عملکرد و کیفیت دانه را به‌ویژه زمانی که مرحله گل‌دهی گندم با هوای گرم و مرطوب مصادف می‌شود به‌شدت کاهش می‌دهد (۱۶) و مایکوتوکسین‌های تولید شده توسط عامل بیماری در دانه‌ها تجمع می‌یابند (۱۱). در این صورت سلامتی انسان و دام با

بلایت فوزاریومی سنبله یا (Fusarium head blight) یکی از بیماری‌های قارچی مخرب گندم در مناطق گرم و مرطوب جهان است (۸) که حداقل از ۲۵ کشور جهان گزارش شده است (۱۸ و ۲۶). در ایران نیز از سال‌ها پیش این بیماری به‌طور پراکنده مشاهده شده (۱ و ۲) و به‌خاطر اپیدمی شدید در بعضی

۱. استادیار زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

۲. عضو هیئت علمی مؤسسه بیوتکنولوژی کشاورزی، کرج

۳. به ترتیب استادان و دانشیار زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران

\*: مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: ibernosi@yahoo.com

است مورد استفاده قرار داد. هدف از این تحقیق بسط تئوری کپلر و همکاران (۱۴) برای شناسایی نشانگرهای پیوسته با QTL اصلی با استفاده از داده‌های ژنوتیپی مقاومت به بلایت فوزاریومی سنبله بود.

### شرح تئوری

احتمال مشاهده آلل نشانگر والد دهنده (donor) در نسل‌های پیشرفته حاصل از تلاقی برگشتی یا خودباروری با یک موقعیت پیوسته با QTL ( $r < 0.5$ ) یا غیر پیوسته ( $r = 0.5$ ) با آن تابعی از فاصله ژنتیکی  $r$  و تعداد تلاقی‌های برگشتی یا خود باروری مورد استفاده برای ایجاد نسل پیشرفته است. مقدار این احتمال را می‌توان از فرمول زیر به دست آورد:

$$p = R! / DP! NODP! \left( \frac{0}{5} \right)^{b+1} \left( 1 - \left( \frac{0}{5} \right)^{b+1} \right)^{NODP} \quad [1]$$

$R$  = تعداد لاین‌های مقاوم

$DP$  = تعداد لاین‌های مقاوم حامل آلل نشانگر Sumai 3

$NODP$  = تعداد لاین‌های مقاوم بدون آلل نشانگر Sumai 3

$b$  = تعداد تلاقی‌های برگشتی (یا خود باروری)

این فرمول توسط کپلر و همکاران (۱۴) برای شناسایی نشانگرهای مولکولی پیوسته با صفات کیفی در جمعیت NILها پیشنهاد شده است. در واقع احتمال مشاهده آلل نشانگر با QTL در یک گیاه، پس از تلاقی برگشتی و خود باروری، برابر  $(1-r)^{b+1}$  است، که  $b$  برابر با تعداد تلاقی‌های برگشتی یا خودباروری و  $r$  فاصله ژنتیکی بین نشانگر و QTL است. اگر فرض شود که بین نشانگر و QTL پیوستگی وجود ندارد، آنگاه این احتمال برابر  $(1-0.5)^{b+1}$  خواهد بود. حال اگر بیش از یک گیاه مورد آزمون قرار بگیرد تعداد دفعات مشاهده آلل نشانگر با QTL در گیاهان مورد آزمون، یک متغیر تصادفی با توزیع احتمال دو جمله‌ای است (فرمول ۱) و از این رو می‌توان احتمال مشاهده شانس آلل نشانگر در گیاهان مورد آزمون را برآورد نمود. پس از به دست آوردن این احتمال می‌توان معنی دار بودن آن را با مقدار احتمال اشتباه نوع اول محاسبه شده از

مصرف محصولات حاصل از این دانه‌ها به خطر می‌افتد (۱۹). استفاده از روش‌های شیمیایی برای کاهش شدت بیماری به علت تأثیر متغیر قارچ‌کش‌ها، هزینه زیاد و نگرانی‌های زیست‌محیطی ناشی از مصرف مواد شیمیایی مقرون به صرفه نیست (۱۶ و ۲۵). کنترل زراعی آن نیز به سبب دامنه وسیع میزبانی *F. graminearum* ممکن نیست (۲۰). بیشتر محققین عقیده دارند که بهترین راه مقابله دراز مدت با این بیماری، دست‌یابی به ارقام مقاوم است (۱۷).

ارزیابی فنوتیپی مقاومت به بیماری بلایت فوزاریومی سنبله به زمان و منابع زیادی نیاز دارد (۸، ۱۰ و ۲۲). هم‌چنین تأثیر عوامل محیطی در ایجاد و توسعه آلودگی احتمال فرار میزبان از آلودگی را افزایش و دقت ارزیابی را کاهش می‌دهد (۲۵). علاوه بر این، مقاومت به بیماری در معرض اثر متقابل شدید ژنوتیپ در محیط قرار دارد (۱۲). گزینش به کمک نشانگرهای مولکولی ممکن است مشکلات مربوط به تأثیر محیط و اثر متقابل ژنوتیپ در محیط را کاهش داده و سرعت برنامه‌های به‌نژادی را افزایش دهد (۱۳).

نشانگرهای مولکولی پیوسته با مقاومت به بلایت فوزاریومی سنبله قبلاً گزارش شده است و یک QTL اصلی روی بازوی کوتاه کروموزوم 3B در رقم Sumai 3 و نتایج آن شناسایی و در جمعیت‌های مختلف تأیید شده است (۷ و ۲۸).

مطالعات ژنتیکی برای شناسایی نشانگرهای پیوسته با مکان‌های ژنی صفات کمی (QTLs) به جمعیت‌هایی مانند لاین‌های اینبرد نوترکیب (RIL)، لاین‌های تقریباً ایزوژنیک (NIL)، لاین‌های هاپلوئید مضاعف شده (DH) یا لاین‌های حاصل از تلاقی برگشتی و ارزیابی فنوتیپی و ژنوتیپی تعداد زیادی گیاه نیاز دارند. کپلر و همکاران (۱۴) یک روش برای ردیابی صفات کیفی با استفاده از نشانگرهای مولکولی براساس تابع احتمال دو جمله‌ای پیشنهاد کرده‌اند که به ارزیابی فنوتیپی و ژنوتیپی تعداد کمی گیاه نیاز دارند. به نظر می‌رسد روش مذکور را بتوان برای شناسایی نشانگرهای مولکولی پیوسته با QTL اصلی در لاین‌های اصلاحی که شجره آنها شناخته شده

فرمول ویر (۲۷) به نقل از کپلر و همکاران (۱۴) آزمون نمود.

$$\alpha_m = 1 - 10^{-\left[ \frac{(\log(1 - \alpha_e))}{n} \right]} \quad [2]$$

$\alpha_m$  = میزان اشتباه نوع اول آزمون

$\alpha_e$  = میزان اشتباه نوع اول مورد قبول

n = تعداد نشانگرهای مورد استفاده

## مواد و روش‌ها

### مواد گیاهی

در این تحقیق رقم 3 Sumai به‌عنوان والد مقاوم و رقم فلات به‌عنوان والد حساس مورد استفاده قرار گرفت. 3 Sumai یک گندم بهاره است (*Triticum aestivum* L.) که در سال ۱۹۷۴ در مؤسسه علوم کشاورزی سوزهو چین معرفی شد و اولین رقم مقاوم به بلایت فوزاریومی سنبله است که از تفکیک متجاوز تلاقی دو رقم نسبتاً حساس به‌دست آمده است (۱۵). رقم فلات نیز یک گندم بهاره است که در مرکز سیمیت (CIMMYT) اصلاح شده و نسبت به بلایت فوزاریومی سنبله بسیار حساس است (۶). تلاقی بین فلات و 3 Sumai در گلخانه مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج انجام شد و نسل BC<sub>1</sub> از تلاقی با والد حساس به‌دست آمد. در نسل BC<sub>1</sub> گیاهانی که دارای حداقل دو آلل مشابه با والد مقاوم از سه نشانگر ریزماهواره Xgwm 533, Xgwm 493, Xgwm 389 بودند، گزینش شده و پس از تلاقی با والد حساس نسل BC<sub>2</sub> ایجاد گردید. نسل BC<sub>3</sub> نیز به‌روش مشابهی از تلاقی گیاهان گزینش شده BC<sub>2</sub> با والد حساس به‌دست آمد. پس از آن خود باروری نسل BC<sub>3</sub> به‌روش بالک تک بذر (Single seed descent) ادامه یافت.

### آزمایش‌های گلخانه‌ای

در سال ۱۳۸۲، جمعیت حاصل از خودباروری BC<sub>3</sub> (ایجاد شده به‌کمک نشانگر) در گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه مورد ارزیابی فنوتیپی قرار گرفتند. برای این کار پس از کاشت بذور در داخل لیوان‌های پلاستیکی، گیاهچه‌های حاصل به‌مدت

چهار هفته و در دمای سه تا پنج درجه سلسیوس با هشت ساعت روشنایی بهاره شدند. سپس ۱۴۰ گیاهچه به‌همراه ۳۰ گیاهچه از هر والد به داخل گلدان‌های ۲۵ سانتی‌متری (هر گلدان شامل یک گیاهچه) محتوی مخلوطی از خاک مزرعه، ماسه و کود دامی پیوسته به نسبت ۳:۱:۱ منتقل شدند و به‌طور تصادفی در سطح گلخانه قرار گرفتند و مراقبت‌های زراعی در طول رشد تا ظهور سنبله در گیاهان آزمایشی انجام گردید. سنبله اصلی هر گیاه در مرحله گل‌دهی آلوده شده و گیاهان از نظر مقاومت نوع II (گسترش آلودگی درون سنبله) مورد ارزیابی قرار گرفتند.

### آلودگی مصنوعی و ارزیابی بیماری

جهت ایجاد آلودگی، مخلوطی از ماکروکنیدیوم‌های چهار جدایه محلی ایرانی *F. graminearum* با قدرت آلودگی بالا مورد استفاده قرار گرفت (اهدایی مهندس سراج آذری- مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر و نهال کرج) این جدایه‌ها از واحد پاتولوژی بخش غلات مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج تهیه گردید. تکثیر ماکروکنیدیوم‌ها در محیط حاوی عصاره ماش طبق روش بورسمایر و همکاران (۹) انجام شد. در مرحله گل‌دهی ۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون ماکروکنیدیوم با غلظت  $10^4 \times 5$  اسپور در میلی‌لیتر (شمارش شده توسط لام) با یک میکروپیپت به داخل یک سنبلچه در یک سوم تا یک چهارم انتهای سنبله اصلی تزریق گردید و سنبله‌های آلوده در داخل کیسه‌های نایلونی قرار گرفتند. پس از سه روز کیسه‌های نایلونی برداشته شد و گیاهان در دمای ۱۹-۲۹°C با رطوبت بالا نگهداری شدند. سه هفته پس از مایه‌زنی، سنبلچه‌های آلوده و کل سنبلچه‌های زیر نقطه آلودگی (شامل نقطه آلودگی) شمارش شد و نسبت تعداد سنبلچه‌های آلوده به تعداد کل سنبلچه‌های زیر نقطه آلودگی برای تمام روزهای ارزیابی محاسبه گردید.

### تجزیه مولکولی

به‌منظور شناسایی چند شکلی در میان والدین و انجام گزینش به‌کمک نشانگر و بسط ثنوری کپلر و همکاران (۱۴) برای

واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز شامل واسرشته‌سازی اولیه در  $94^{\circ}\text{C}$  به مدت سه دقیقه،  $35$  چرخه شامل یک دقیقه واسرشته‌سازی در  $94^{\circ}\text{C}$ ، یک دقیقه در  $60^{\circ}\text{C}$  جهت الحاق آغازگر به رشته الگو، دو دقیقه در  $72^{\circ}\text{C}$  برای بسط و چرخه نهایی در  $72^{\circ}\text{C}$  به مدت  $10$  دقیقه انجام گرفت. برای تفکیک قطعات تکثیر یافته، ژل پلی‌آکریل‌آمید  $6$  درصد و دستگاه الکتروفورز (Bio-Rad model Sequi-Gen Gt) مورد استفاده قرار گرفت و آشکارسازی باندها توسط رنگ‌آمیزی با نیترات نقره انجام شد (۲۴). امتیازدهی باندها براساس وجود و یا عدم وجود آلل خاص در هر مکان ریزماهواره انجام گردید.

### نتایج و بحث

سه نشانگر ریزماهواره Xgwm 389, Xgwm 493, Xgwm 533 در میان والدین چند شکلی نشان دادند (شکل ۱). نشانگر Xgwm 533 دارای دو آلل در والد Sumai 3 بود. اندرسون و همکاران (۷) وجود آلل نشانگر Xgwm 533.1 را در حدود  $145\text{bp}$  و آلل نشانگر Xgwm 533.2 را بین  $95-100\text{bp}$  گزارش نموده‌اند. آنها پیوستگی نشانگر Xgwm 493 را با مقاومت به بلایت فوزاریومی سنبله در جمعیت  $3 \times \text{Stoa}$  گزارش نمودند. این نشانگر  $41/6$  درصد از تغییرات فنوتیپی را در جمعیت فوق توجیه می‌نمود. توزیع فراوانی نسبت سنبله‌های آلوده در شکل ۲ نشان داده شده است. تغییرات فنوتیپی قابل توجهی در جمعیت وجود داشت. شدت بیماری از  $5$  تا  $95$  درصد متغیر بود. در تجزیه رگرسیون برای نسبت سنبله‌های آلوده، مکان ژنی پیوسته با نشانگرهای Xgwm 493 واقع در بازوی کوتاه کروموزوم 3B در حدود  $23$  درصد از تغییرات فنوتیپی را توجیه نمود.

### احتمال برای نشانگر Xgwm 493-3BS

در ارزیابی گلخانه‌ای جمعیت حاصل از خود باروری  $BC_3$  از نظر مقاومت به گسترش آلودگی درون سنبله  $12$  گیاه دارای نسبت سنبله‌های آلوده کمتر از  $20$  درصد بود. تجزیه ژنتیکی

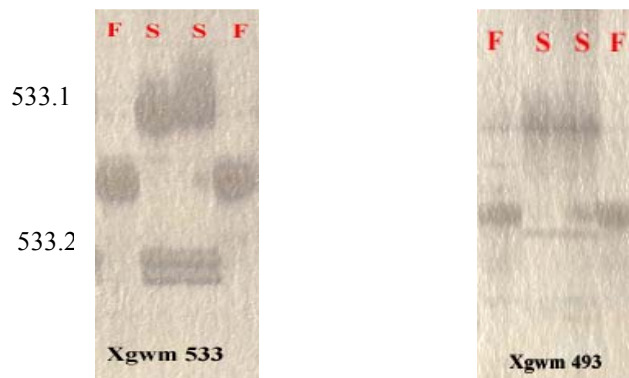
ردیابی نشانگرهای پیوسته با QTL به ترتیب والدین، جمعیت‌های  $BC_1$  و  $BC_2$  و جمعیت حاصل از خودباروری  $BC_3$  (ایجاد شده به کمک نشانگر) با سه نشانگر ریزماهواره Xgwm 533, Xgwm 493, Xgwm 389 روی بازوی کوتاه کروموزوم 3B، بر اساس نقشه رودر و همکاران (۲۱) مورد تجزیه مولکولی قرار گرفتند.

### استخراج DNA

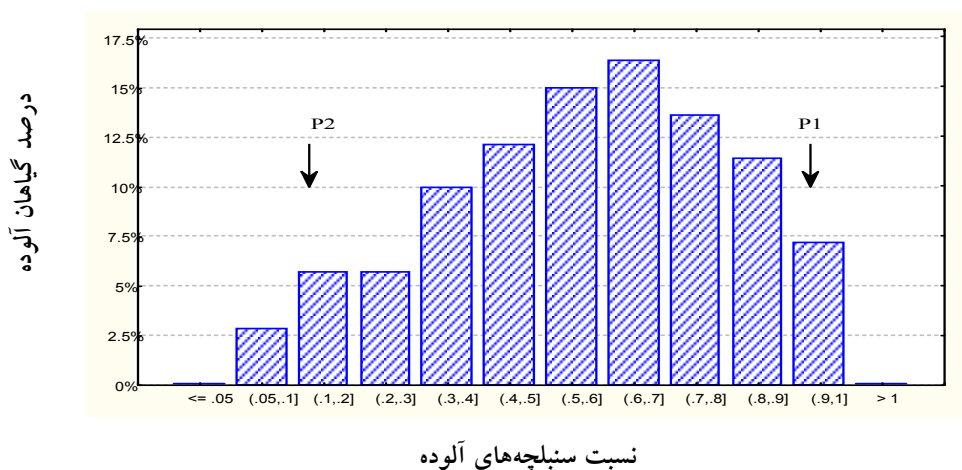
برای استخراج DNA به میزان سه گرم برگ از گیاهچه‌های آزمایشی جدا گردید. نمونه‌های برگی در لوله‌های  $1/5$  میلی‌لیتری به‌طور جداگانه و با برچسب در داخل ازت مایع منجمد شده و به آزمایشگاه بخش ژنومیک مؤسسه تحقیقات بیوتکنولوژی کشاورزی ایران-کرج انتقال یافتند و تا زمان استفاده در فریزر با دمای  $80^{\circ}\text{C}$  - نگه‌داری شدند. برگ‌ها در آزمایشگاه توسط دستگاه لایوفیلیزر به مدت  $72$  ساعت خشک شده و در داخل لوله‌های  $1/5$  میلی‌لیتری پودر گردید. DNA طبق روش سقایی معروف و همکاران (۲۳) استخراج شد. کیفیت و کمیت DNA با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر و الکتروفورز دو میکرولیتر DNA به دست آمده در ژل آگارز یک درصد و مقایسه تراکم باند آن با مقدار استاندارد قطعات نشانگر  $\lambda\text{-DNA-EcoR I/ Hind III}$  تعیین شد. غلظت نمونه‌های DNA استخراجی در حد  $20\text{ ng} / \mu\text{L}$  برای کلیه نمونه‌ها یکسان‌سازی شد.

### تجزیه ریزماهواره

واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR) طبق روش رودر و همکاران (۲۱) با تغییر حجم واکنش به  $15$  میکرولیتر و با استفاده از دستگاه ترموسایکلر (Touchgene Gradient) انجام شد. به‌طور مختصر، هر نمونه  $15$  میکرولیتری حاوی بافر  $10 \times$  ( $50$  میلی‌مولار کلرید پتاسیم،  $10$  میلی‌مولار تریس - اسیدکلریدریک و  $0/1$  درصد ژلاتین)،  $1/5$  میلی‌مولار کلرید منیزیم، یک واحد آنزیم Taq DNA پلی‌مراز،  $10$  پیکومول از هر آغازگر،  $0/25$  میلی‌مولار از هر dNTP و  $20$  نانوگرم از DNA ژنومی بود.



شکل ۱. چند شکلی والدین از نظر نشانگر ریزماهوره Xgwm (533, 493) (Falat = F, Sumai 3 = S)



شکل ۲. توزیع نسبت سنبلیچه‌های آلوده در جمعیت حاصل از خودباروری BC3 (ایجاد شده به کمک نشانگر) حاصل از تلاقی P1=Falat و P2=Sumai 3 مایه‌زنی شده با *F. graminearum*

$$\alpha_{m(0/0.5)} = 1 - 10^{-\left[\left(\frac{\log(1-0/0.5)}{3}\right)^2\right]} = 0/0.169 \quad [5]$$

از این رو احتمال این که آلل نشانگر Xgwm 493-3BS مشابه والد مقاوم به طور تصادفی در گیاهان مقاوم جمعیت حاصل از خودباروری BC<sub>3</sub> واقع شود بسیار کمتر از سطح معنی دار آزمون (0/0.033) است. بنابراین بین مکان ژنی مقاومت به گسترش آلودگی درون سنبله با آلل نشانگر ریزماهوره Xgwm 493-3BS پیوستگی قوی وجود دارد. این نتیجه با گزارش‌های سایر محققین مطابقت دارد (۷ و ۲۸). آلل نشانگر والد مقاوم از سایر نشانگرهای مورد آزمون در هیچ گیاه مقاوم

جمعیت فوق توسط نشانگرهای ریزماهوره نشان داد که در بین ۱۲ گیاه مقاوم، پنج گیاه دارای آلل نشانگر Xgwm 493-3BS مشابه والد مقاوم است. بنابراین مطابق تابع احتمال دو جمله‌ای (فرمول ۱) احتمال این که نشانگر فوق به‌طور شانسی در پنج گیاه از ۱۲ گیاه مقاوم مشاهده شود برابر است با:

$$p = \frac{12!}{5!7!} \left(\frac{0}{5}\right)^5 \left(1 - \left(\frac{0}{5}\right)^5\right)^7 = 4/8 \times 10^{-4} \quad [3]$$

طبق فرمول ویر (۲۷)، سطح معنی دار آزمون برای این موقعیت (n=۳) با میزان اشتباه نوع اول 0/0.5 و 0/0.1 برابر است با:

$$\alpha_{m(0/0.1)} = 1 - 10^{-\left[\left(\frac{\log(1-0/0.1)}{3}\right)^2\right]} = 0/0.033 \quad [4]$$

جدول ۱. هاپلوتا‌یپ‌ها و میانگین درصد سنبلیچه‌های آلوده ۱۴۰ گیاه جمعیت حاصل از خودباروری BC<sub>3</sub> (ایجاد شده به کمک نشانگر) از تلاقی Sumai 3 × Falat مایه‌زنی شده با *F. graminearum*

هاپلوتا‌یپ*	** نوع آلل	میانگین درصد سنبلیچه‌های آلوده
۱	۳،۳،۳	۲۳/۲ (۱۲) ***
۲	۳،۱،۳	۲۸/۴ (۹)
۳	۲،۲،۲	۴۸/۳ (۳۴)
۴	۱،۳،۱	۱۶/۲ (۷)
۵	۲،۱،۲	۵۷/۹ (۱۳)
۶	۲،۳،۲	۴۱/۷ (۶)
۷	۱،۲،۱	۶۸/۸ (۲۱)
۸	۳،۲،۲	۳۶/۷ (۱)
۹	۱،۱،۲	۷۱/۵ (۲)
۱۰	۱،۱،۱	۷۹/۸ (۳۵)

\*: هاپلوتا‌یپ‌ها براساس آلل و ترکیبات آلی دو رقم والدی Sumai 3 و Falat برای مکان‌های ژنی سه نشانگر ریزماهواره Xgwm 533, Xgwm 493, Xgwm 389 مشخص شده است.

\*\* : انواع آلل‌ها به صورت: ۳= آلل Sumai 3 = ۲= هتروزایگوس برای آلل‌های والدی ۱= آلل Falat امتیازبندی شده است.

\*\*\* : اعداد داخل پرانتز تعداد گیاهان دارای آلل مشابه را نشان می‌دهد.

استفاده قرار داد. از این رو به دلیل عدم ایجاد جمعیت‌های تفکیک مانند لاین‌های اینبرد نوترکیب (RIL) و لاین‌های هاپلوئید مضاعف شده (DH) در زمان و هزینه‌ها صرفه‌جویی می‌شود. علاوه بر این توان آزمون این روش در ردیابی مکان‌های ژنی کمی اصلی بیشتر است و به تعداد افراد کمتری در رابطه با سایر نسل‌های تفکیک برای شناسایی نشانگرهای پیوسته با QTL نیاز است. با وجود این که با افزایش تعداد افراد مورد ارزیابی دقت آزمون افزایش می‌یابد تعداد نشانگرهای مورد استفاده نیز احتمال یافتن پیوستگی بین نشانگر و QTL را افزایش می‌دهد.

به تنهایی مشاهده نشد (جدول ۱). از آنجایی که این QTL بین نشانگرهای ریزماهواره Xgwm 493 و Xgwm 533 قرار دارد (۲۸). نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که QTL فوق به نشانگر Xgwm 493 نزدیک‌تر است. از ای نرو این نشانگر می‌تواند در گزینش به کمک نشانگر مفید واقع شود، در حالی که نشانگرهای Xgwm 533 و Xgwm 389 به ترتیب از اهمیت کمتری برخوردار می‌باشند

نتایج نشان می‌دهد که روش فوق را می‌توان برای ردیابی نشانگرهای پیوسته با مکان‌های ژنی کمی اصلی در لاین‌های اصلاحی که ممکن است با استفاده از تلاقی برگشتی یا خودباروری برای اهداف دیگری به دست آمده باشند، مورد

## منابع مورد استفاده

۱. ارشاد، ج. ۱۳۷۴. قارچ‌های ایران. انتشارات سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران.
۲. بامدادیان، ع. و م. ترابی. ۱۳۶۸. بیماری‌های گندم و جو و نحوه یادداشت برداری از آنها. انتشارات مؤسسه تحقیقات آفات و بیماری‌های گیاهی، تهران.
۳. زمانی زاده، ح. و ه. خرسندی، ۱۳۷۴. گونه‌های فوزاریوم و میکوتوکسین‌های آنها در گندم‌های استان مازندران. بیماری‌های گیاهی ۳۱: ۳۷-۲۳.
۴. فروتن، ع. ج. ارشاد، ع. دلیلی، ط. بامدادیان و ق. گرامی. ۱۳۷۲. شیوع بلایت خوشه گندم در مازندران. خلاصه مقالات یازدهمین کنگره گیاه پزشکی ایران، دانشگاه گیلان، رشت.
۵. گلزار، ح. ۱۳۶۸. بیماری بلایت خوشه گندم- بررسی در مورد عامل بیماری نحوه آلودگی و انتقال به وسیله بذر. بیماری‌های گیاهی ۲۵: ۲۲-۱۷.
۶. گلزار، ح. ع. فروتن و ج. ارشاد. ۱۳۷۷. بررسی گونه‌های جنس *Fusarium* عامل فوزاریومی سنبله گندم و جستجوی منابع مقاومت نسبت به گونه *F. graminearum* در گرگان و مازندران. بیماری‌های گیاهی ایران ۳۴: ۱۶۹-۱۵۸.
7. Anderson, J.A., R.W. Stack, S. Liu, B.L. Waldron, A.D. Fjeld, C. Coyne, B.R. Moreno-Sevilla, J. Mitchell, Q.J. Song, P.B. Cregan and R.C. Frohberg. 2001. DNA markers for a Fusarium head blight QTL in two wheat populations. *Theor. Appl. Genet.* 102:1164-1168.
8. Bai, G.H. and G. Shaner. 1994. Scab of wheat: prospects for control. *Plant Dis.* 78: 760-766.
9. Buerstmayr H., M. Lemmens, L. Hartl, L. Doldi, B. Steiner, M. Stierschneider and P. Ruckenbauer. 2002. Molecular mapping of QTLs for Fusarium head blight resistance in spring wheat. I. Resistance to fungal spread (type II resistance). *Theor. Appl. Genet.* 104: 84-91.
10. Campbell, K.A.G. and P.E. Lipps. 1998. Allocation of resources: sources of variation in Fusarium head blight Screening nurseries. *Phytopathology* 88: 1078-1086.
11. Chelkowski, J. 1991. Fungal pathogens influencing cereal seed quality at harvest. PP. 53-56. *In: J. Chelkowski (Ed.), Cereal Grain: Mycotoxins, Fungi and Quality in Drying and Storage. Developments in Food Science, Elsevier, Amsterdam.*
12. Dardis, J.V. and E.J. Walsh. 2002. Control of Fusarium head blight in wheat under Irish growing conditions: Current situation and future prospects. *Biology and Environment: Proc. RI. Acady.* 102: 93-103.
13. Guo, P.G., G.H. Bai and G.E. Shaner. 2003. AFLP and STS tagging of a major QTL for Fusarium head blight resistance in wheat. *Theor. Appl. Genet.* 106: 1011-1017.
14. Kaeppler, S.M., R.L. Phillips and T.S. Kim. 1993. Use of near-isogenic lines derived by backcrossing or selfing to map qualitative traits. *Theor. Appl. Genet.* 87: 233-237.
15. Liu, Z.Z. and Z.Y. Wang. 1991. Improved scab resistance in China: sources of resistance and problems. PP. 178-188 *In: Saunders, D.A. (Ed.), Wheat for the Nontraditional Warm Areas. Proc. Conference July 29-Aug. 3, Foz de Iquacu, Brazil, CIMMYT Int. Mexico, D.F.*
16. McMullen M., R. Jones and D. Gallenberg. 1997. Scab of wheat and barley: a re-emerging disease of devastating impact. *Plant Dis.* 81: 1340-1348
17. Miedaner, T. 1997. Breeding wheat and rye for resistance to Fusarium diseases. *Plant Breed.* 116: 201-220.
18. Parry, D.W., P. Jenkinson and L. McLeod. 1995. Fusarium ear blight (scab) in small grain cereals - A review. *Plant Pathol.* 44: 207-238.
19. Prelusky, D.B., B. A. Rotter and R.G. Rotter. 1994. Toxicology of mycotoxins. PP. 359-403. *In: Miller, J.D. and Trenholm, H.L. (Ed.), Mycotoxins in Grain, Compounds Other Than Aflatoxin. Eagan Press, St. Paul.*
20. Reis, E.M. 1990. Integrated disease management. The changing concepts of controlling head blight and spot blotch. PP. 165-177. *In: D.A. Saunders (Ed.), Wheat for the Nontraditional, Warm Areas, CIMMYT, Mexico, D.F.*
21. Roder, M.S., V. Korzun, K. Wendehake, J. Plaschke, M.H. Tixier, P. Leroy and M.W. Ganal. 1998. A microsatellite map of wheat. *Genetics* 149: 2007-2023.
22. Rudd, J.C., R.D. Horsley, A.L. McKendry and E.M. Elias. 2001. Host plant resistance genes for Fusarium head blight: sources, mechanisms, and utility in conventional breeding systems. *Crop. Sci.* 41:620-627.
23. Saghai-Marooif, M.A., K. Soliman, R.A. Jorgensen and R.W. Allard. 1984. Ribosomal DNA spacer-length

- polymorphisms in barley: mendelian inheritance, chromosomal location and population dynamics. Proc. Nati. Acad. 81: 8014-8018.
24. Sambrook, J., B.F. Fritsch and T. Maniatis. 1989. Molecular Cloning, a Laboratory Manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press, USA.
  25. Shen, X., M. Zhou, W. Lu and H. Ohm. 2003. Detection of Fusarium head blight resistance QTL in a wheat population using bulked segregant analysis. Theor. Appl. Genet. 106: 1041-1047.
  26. Sutton, J.C. 1982. Epidemiology of wheat head blight and maize ear rot caused by *Fusarium graminearum*. Can. J. Plant Pathol. 4: 195-209.
  27. Weir, B.S. 1990. Genetic data analysis. Sinauer. Sinauer Assoc, Sunderland [cited by kaepler et al. (1993) Teor.] Appl. Genet. 87: 223-237
  28. Zhou, W., F.L. Kolb, G. Bai, G. Shaner and L.L. Domier. 2002. Genetic analysis of scab resistance QTL in wheat with microsatellite and AFLP markers. Genome 45: 719-727.