

## تقويم كفاءة بعض مؤشرات المقاومة الجزيئية لأصناف من القمح في مقاومة مرض لفحة السنابل المتسبب عن الفطر *Fusarium graminearum* في محافظة صلاح الدين، العراق

عبير رؤوف محمود القيسي<sup>1</sup>، عبد الله عبد الكريم حسن<sup>2</sup>، وليد محمد صالح<sup>1</sup> وفاتن حسن يحيى<sup>3</sup>

(1) دائرة البحوث الزراعية، وزارة العلوم والتكنولوجيا، جمهورية العراق؛ (2) قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة تكريت،

جمهورية العراق، البريد الإلكتروني: drabdullah.has67@tu.edu.iq؛ (3) قسم المختبرات المركزية، جامعة تكريت، العراق.

### الملخص

القيسي، عبير رؤوف محمود، عبد الله عبد الكريم حسن، وليد محمد صالح وفاتن حسن يحيى. 2021. تقويم كفاءة بعض مؤشرات المقاومة الجزيئية لأصناف من القمح في مقاومة مرض لفحة السنابل المتسبب عن الفطر *Fusarium graminearum* في محافظة صلاح الدين، العراق. مجلة وقاية النبات العربية، 39(2): 96-108.

تم الحصول على 12 عزلة فطرية تعود للجنس *Fusarium* من حبوب القمح المصابة بمرض لفحة السنابل بواقع 4 عزلات للنوع *F. culmorum* و 3 عزلات للنوع *F. graminearum* وعزلتان لكل من النوعين *F. moniliforme* و *F. equiseti* وعزلة واحدة للنوع *F. avenaceum*. أظهرت النتائج ان جميع هذه العزلات ابدت حدوث الإصابة بمرض لفحة السنابل في القمح (صنف تموز 2) وقد أظهرت العزلات 2 *F. graminearum*، 3 *F. graminearum* و 3 *F. culmorum* أعلى قيم للدليل الإصابة بفطر *Fusarium* اذ بلغ 51.45، 50.37 و 50.03، على التوالي، في حين بلغت ادنى قيم لهذا الدليل 24.61 و 32.04 في العزلتين *F. culmorum* و *F. avenaceum*، على التوالي. تم تأكيد تشخيص النوع الاكثر إمرضية 2 *F. graminearum* حسب التشخيص الجزيئي المعتمد على تطابق النتائج النيوكليوتيدي لجين هذا الفطر 5.8S rRNA مع التتابعات النيوكليوتيدية لسلاسل الفطور الموجودة ضمن قاعدة بيانات البنك الوراثي العالمي (المدرجة في الموقع الالكتروني NCBI) وسجلت هذه العزلة في البنك الوراثي العالمي Genbank ضمن الرقم العالمي MT998864.1. أوضحت النتائج أن 12 صنفاً من أصناف القمح المدروسة والتي شملت الأصناف شام 6، أبوغريب، بابل، ميلان، سالي، الحدباء، ربيعة، بحوث 206، شام 4، ابياء 99، دور 29، والعز أنها سجلت ادنى نسب في معايير الإصابة مقارنة بالأصناف الأخرى. يشير دليل الإصابة بالفطر FII إلى تفوق معنوي لأصناف شام 6، أبوغريب، ميلان وبابل (التي لم تختلف معنوياً فيما بينها) في ادنى قيمة لهذا الدليل اذ بلغ 16.84 و 16.86 و 17.44 و 17.84 على التوالي. وانعكس تأثير معايير الإصابة بمرض لفحة سنابل القمح في النسبة المئوية للحبوب المتضررة (FDK) حيث أبدت أدنى نسبة 38.43، 39.23، 41.58، 41.82 و 42.03% لأصناف شام 6، أبوغريب، ميلان، بابل والحدباء، على التوالي. أظهرت نتائج الترحيل الكهربائي لنواتج استخدام بادئات المؤشرات الوراثية *Xgwm389* و *6B NOR* و *Xgwm126* المصاحبة لجينات المقاومة *Fhb1*، *Fhb2* و *Fhb3*، على التوالي، ل 28 صنفاً من أصناف القمح، تسجيل اربعة أصناف شملت شام 6، أبوغريب، بابل وميلان حزم بحجم جزيئي 140 زوج قاعدي لمؤشر الجين *Fhb1* (*Xgwm389*) والتي تعد من المؤشرات التي لها دور في مقاومة مرض لفحة السنابل على القمح، كما وأظهرت وجود حزمة واحدة بلغ حجمها الجزيئي 220 زوج قاعدي في الصنف سالي لمؤشر الجين *Fhb2* (*6B NOR*) والذي يشير إلى صفة المقاومة. اما ناتج الترحيل الكهربائي لمؤشر الجين *Fhb2* (*Xgwm126*) فقد أظهر صنف القمح الحدباء فقط وجود حزمة حجم جزيئي 2100 زوج قاعدي وهو الناتج الذي يعبر عن صفة المقاومة لهذا الصنف. وأشارت نتائج هذه الدراسة إلى وجود علاقة بين انخفاض معايير الإصابة بمرض لفحة السنابل مع وجود المؤشرات الوراثية الخاصة بالمقاومة في أصناف شام 6، أبوغريب، بابل، ميلان، سالي والحدباء، في حين أبدت الأصناف ربيعة، بحوث 206، شام 4، ابياء 99، دور 29، والعز انخفاضاً في معايير الإصابة بدرجة أقل من الأصناف المتبقية ولكن دون وجود أي ناتج للمؤشرات الوراثية المدروسة.

كلمات مفتاحية: مرض لفحة السنابل، المؤشرات الجزيئية، جينات المقاومة، أصناف القمح، *Fusarium*.

### المقدمة

ينتشر في معظم دول العالم. يسبب هذا المرض عدة أنواع من الفطر *Fusarium* وتشير الدراسات إلى أن الأنواع *F. graminearum*، *F. proliferatum*، *F. culmorum*، *F. moniliforme*، *F. equiseti* و *F. avenaceum* الأكثر تردداً في إحداث المرض، إذ تؤدي إلى

يعد مرض لفحة السنابل (Fusarium head blight: FHB) على القمح/الحنطة اللين/الطري (*Triticum aestivum*) المتسبب عن بعض أنواع جنس الفطر *Fusarium* من الأمراض المهمة اقتصادياً والذي

أكثر من 100 موقع جيني له علاقة بمقاومة القمح لمرض FHB، وعليه فقد اعتمدت الكثير من الدراسات على جينات مقاومة المرض FHB في برامج تربية وتهجين الخطوط الوراثية للقمح (Brar *et al.*, 2019؛ Xu *et al.*, 2020؛ Paudel, 2020).

تعد الجينات Fhb1، Fhb2، Fhb3، Fhb4، Fhb5، Fhb6 و Fhb7 الجينات الرئيسية المكتشفة لحد الآن والتي لها دور في مقاومة بعض أصناف القمح ضد مرض FHB (Zhua *et al.*, 2019). ولتنوع هذه الجينات وتعابيرها الوراثية في الأصناف المختلفة، اكتشفت العديد من المؤشرات الوراثية المرتبطة (بدرجات متفاوتة) بهذه الجينات والتي تقع على مختلف الكروموسومات. فالمؤشرات المصاحبة لجين المقاومة Fhb1 والذي يقع على الكروموسوم 3BS على سبيل المثال تكون مختصة بطراز المقاومة Type II (Yu *et al.*, 2008) ومؤشرات *gwm493* و *gwm533* المصاحبة لجين المقاومة Fhb1 تكون مختصة بطراز المقاومة Type II (Cuthbert *et al.*, 2007)، في حين ذكر Lemmens *et al.* (2005) ارتباط الجين Fhb1 بمقاومة السم DON من خلال تحويله إلى المركب DON-3-O-glucoside (المنخفض السمية)، ولطراز المقاومة نفسه (Type II) تصاحب المؤشرات *gwm133* و *gwm644* الجين Fhb2 (Cuthbert *et al.*, 2007) والمؤشرات BE586744-STs و BE404728-STs و BE586111-STs تصاحب الجين Fhb3 (Qi *et al.*, 2008)، أما طراز المقاومة Type I فتصاحب الجين Fhb 4 كل من المؤشرين *barc20* و *wmc349* (Xue *et al.*, 2010)، كما تصاحب المؤشرين *barc100* و *barc56* الجين Fhb5 (Xue *et al.*, 2011). أثبت دور الجين Fhb1 في أعلى الأصناف التي حملت هذا الجين إذ بلغت قيم إنتاج السم DON ونسبة الحبوب المتضررة ودليل المرض ونسبة حدوث المرض وشدته إلى 7.8 جزء بالمليون و 40% و 13.3 و 45.3% و 28.5%، على التوالي، مقارنة بعدم وجود الجين إذ بلغت القيم 14.9 جزء بالمليون و 61% و 19.8 و 60.2% و 32.5%، على التوالي (Castro Aviles, 2019). لم يقتصر دور مقاومة القمح ضد مرض FBH بطرز المقاومة المذكورة أعلاه فقط، بل اكتشف العديد من جينات المقاومة التي تشفر مواد ابيضية لها دور مهم في مقاومة المرض مثال ذلك الجينات ضمن منطقة الجين QTL-Fhb2 التي تشفر إنتاج المواد الايضية مثل CoA basic Helix Loop Helix callose synthase (CS) ligase (4CL) glutathione S-transferase (bHLH041) transcription factor cinnamyl alcohol (ABC4) transporter-4 (ABC4) (GST) dehydrogenase (CAD) (Dhokane *et al.*, 2016)، Pore-forming Lipase *TaGDSL* (Schweiger *et al.*, 2016)، Pectin methyl toxin-like *TaPFT* (Rawat *et al.*, 2016) esterase inhibitor *Wfhb1\_c1* (aka *WFhb1-1*) (Paudel *et al.*, 2017) و His-rich Ca-binding protein *TaHRC* or *TaHis*

انخفاض في كمية الحاصل فضلاً عن انخفاض في نوعية الحبوب من خلال تغير لونها وتعفنها وانكماشها، ولعل افراز السموم الفطرية من قبل الفطر المسبب وخاصة السم (DON) Deoxyynivalenol يمثل أهم خطر على الإنسان وحيوانات المزرعة (Caia *et al.*, 2019)؛ (Wei *et al.*, 2005).

لا توجد احصائيات وافية على انتشار المرض في الوطن العربي، وفي دراسة اجريت في سورية بلغ معدل الحقول الموبوءة بالمرض سنوياً 56.5%، ومتوسط نسب الحبوب المتضررة 29.0%، بينما سجلت الإصابات الأعلى في المناطق الغربية الشمالية لسهل الغاب (الشعبي وآخرون، 2018). تعد كمية لقاح الفطر الممرض *F. graminearum* وطرق انتقاله من خلال انتقال الأبواغ الكونيدية إلى ازهار النبات عن طريق الهواء أو رذاذ الماء وكذلك الظروف البيئية وحدث الإصابة الأولية عوامل مهمة لحدوث المرض وتطوره وتؤدي كل من درجات الحرارة والرطوبة دوراً محدداً للإصابة فضلاً عن ظروف التربة مثل التسميد النتروجيني والكثافة النباتية والتنافس مع النباتات الأخرى (Osborne & Stein, 2007).

هناك عدة استراتيجيات لمكافحة مرض FHB مثل المبيدات الكيميائية والأحيائية والعمليات الزراعية كالدورات الزراعية وعمليات الحراثة (McMullen *et al.*, 2012) ويعد استخدام المبيدات الكيميائية من الطرائق الأخطر في مكافحة المرض نظراً للأضرار التي تسببها هذه المبيدات على الانسان ونظامه البيئي فضلاً عن زراعة محصول القمح بمساحات واسعة مما يجعل استخدام المبيدات الكيميائية غير مجدية من الناحية الاقتصادية. لذلك اتجهت الدراسات إلى التحري عن الأصناف المقاومة لهذا المرض. يحمل معنى مقاومة صنف القمح ضد مرض FBH عدة اوجه منها ما يخص الصفات المظهرية المرتبطة بالمقاومة مثل ارتفاع النبات ووجود أو عدم وجود المظلات وكثافة السنبيلات وطول السويقة وضيق فتحة الزهرة وقصر وقت التزهير (Gilsinger *et al.*, 2005؛ 2001؛ 2004؛ Snijders؛ Rudd *et al.*, 2001؛ 2003). وهناك صفات فسيولوجية خاصة بمقاومة مرض FHB قسمت إلى خمسة أنماط (V-I)، حيث أن النمط I= المقاومة اتجاه الإصابة الأولية، النمط II= المقاومة ضد انتشار المسبب، النمط III= تحلل السم الفطري ومنع تراكمه، النمط IV= مقاومة ضد اصابة الحبوب، النمط V= تحمل النبات للإصابة وتحمل اجهاد السم الفطري وإنتاج الحاصل (Mesterhazy *et al.*, 1999). وتقع أنماط المقاومة المتعددة تحت تأثير عدد كبير من الجينات الوراثية، فقد ذكر Saber *et al.* (2002) ان 37% من جينات القمح لها استجابة (حساسية/مقاومة) للإصابة بالفطر *F. graminearum* المسبب للمرض والتي أظهرت من خلال التحاليل الوراثية أنماطاً مختلفة. كما ذكر Buerstmayr *et al.* (2002) أن هناك

بعد الإلحاق بالمرمض بأكياس النايلون الشفافة لمدة 7 أيام لتوفير الظروف المناسبة لتحقيق الإصابة بالمرمض.

### تقدير معايير الإصابة

تم تقدير نسبة الإصابة حسب ما يلي (Engle *et al.* 2003):

$$\text{نسبة الإصابة للسنايل} = \frac{\text{عدد السنايل المصابة}}{\text{عدد السنايل الكلي}} \times 100$$

أما شدة الإصابة فقد قدرت بحساب النسبة المئوية للسنييلات التي تظهر أعراض مرضية - حسب مساحة الإصابة المتغايرة لونيا - التي تتراوح 0-100% وفقاً لمقياس Stack & McMullen (1994).

تم تقدير دليل الإصابة بفطر *Fusarium* (FII) كما يلي (Diaz de Ackermann & Kohli, 1997):

$$\text{FII} \% = \frac{\text{نسبة الإصابة} \times \text{شدة الإصابة}}{100}$$

### التشخيص الجزيئي لعزلة الفطر الأكثر امراضية

لتأكيد تشخيص عزلة الفطر الأكثر إمرضية اجري التشخيص الجزيئي لها، وشمل استخلاص الحامض النووي الكلي باستخدام مسحة من مستعمرة الفطر نقية حديثة النمو (عمر 5 أيام، ناتجة من بوع مفرد) واستخلص الحامض النووي DNA باستخدام عدة الاستخلاص ZR Fungal/Bacterial/Yeast DNA Mini Prep™ شركة ZR الأمريكية، وذلك حسب تعليمات الشركة المجهزة. اجري الترحيل الكهربائي على هلام الأجاروز 1.5% ثم أظهرت حزم الحامض النووي DNA الجينومي باستخدام الأشعة فوق البنفسجية (302 nm) بعد تصبغها بصبغة red stain (Intron Korea) حددت منطقة الجين ITS باستخدام تقاعل البلمرة المتسلسل PCR باستخدام جهاز البلمرة الحراري (Applied Biosystem 9700) في عملية التضاعف، وتم مضاعفة منطقة ITS باستخدام تقاعل البلمرة المتسلسل (PCR)، واستخدام البادئات (White *et al.*, 1990):

Forward 5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3'  
Reverse 5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'

انجز تقاعل البلمرة المتسلسل بحجم 25 مايكروليتر (Taq PCR PreMix) بحجم 5 مايكروليتر؛ البادئ الأمامي والعكسي بحجم 1 مايكروليتر (10 picomols/μl) لكل منهما؛ الدنا الجينومي بحجم 1.5 مايكروليتر والماء المقطر بحجم 16.5 مايكروليتر). أما برنامج التفاعل فشمّل (الدورة الأولى: النسخ الابتدائي عند حرارة 95°س لمدة 3 دقائق، الدورات 35 دورة نسخ عند حرارة 95°س لمدة

(Su *et al.*, 2019). كما أن وجود الجين wall-associated receptor-like kinase (WAK2) gene في الصنف المقاوم يسهم في المحافظة على بكتين الجدران الخلوية بحالة ارتباطات عالية المثل وهذا بدوره يحمي الجدار النباتي من اختراق الفطر. واستخدمت الأصناف الحاوية لهذا الجين في سلسلة تهجينات في برامج التربية (Gadaleta *et al.*, 2019).

لما تقدم يبدو ان التحري عن الأصناف المقاومة للمرض او التي تحمل بعض مؤشرات مقاومة هذا المرض من الطرائق الواعدة والأمنة للسيطرة على المرض. لذا هدفت الدراسة الحالية إلى اختبار بعض المؤشرات الوراثية التي اثبتت فعاليتها في دراسات سابقة في مقاومة مرض FHB على بعض أصناف القمح المزروعة بالعراق تحت ظروف الإصابة الاصطناعية في الحقل.

### مواد البحث وطرائقه

#### عزل وتشخيص المسببات المرضية

تم الحصول على 12 عزلة فطرية من حبوب القمح لعدد من أصناف القمح المزروعة في سلسلة تجارب محطة ابحاث قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة تكريت لمواسم زراعية سابقة، والتي أظهرت اعراض الإصابة بمرض لفحة سنايل القمح. اجري العزل عن طريق اجراء التعقيم السطحي للحبوب والزرع في وسط بطاطا دكستروز آجار (PDA) حسب ما ذكر في دراسة سابقة (عبود وآخرون، 2017)، وشخصت العزلات مظهرياً حسب الدراسات ذات العلاقة (Booth, 1977؛ Leslie & Summerell, 2006) اعتماداً على الفحوصات العيانية والمجهورية، ثم اجري اختبار الإمرضية لها.

#### اختبار إمرضية الفطور المعزولة

اختبرت إمرضية الفطور المعزولة بواسطة زراعة الصنف تموز 2 (وهو أحد أصناف القمح الذي سجلت عليه ملاحظات عيانية بإصابته المرتفعة خلال التجارب السابقة الخاصة بزراعة القمح) اذ تمت الزراعة في ظروف الحقل في الموسم الزراعي 2018/2019 واعتمدت الزراعة في الأصص بحجم 10 كغ بعد تعقيم التربة بالفورمالين 5% لمدة ثلاثة أيام ومن ثم تهوية التربة لمدة 7 أيام. زرعت 15 بذرة في كل اصيص وبواقع 3 أصص لكل مسبب مرضي ثم اجريت العمليات الخاصة بإدارة النباتات من ري وتسميد (عبود وآخرون، 2017).

#### الإصابة الاصطناعية لأصناف القمح

اجريت العدوى الاصطناعية حسب طريقة القطن المشبعة بالمعلق البوعي للفطور المعزولة والتي ذكرها الشعبي وآخرون (2018). غطيت النباتات

2019-2020. اعتمدت الزراعة في الأصص بحجم 10 كغ بعد تعقيم التربة بالفورمالين 5% لمدة ثلاثة أيام ومن ثم تهوية التربة لمدة 7 أيام. زرعت 20 بذرة لكل صنف في كل أصيص وبواقع خمسة أصص لكل صنف، ثم اجريت العمليات الخاصة بإدارة النباتات من ري وتسميد، كما اجريت العدوى الاصطناعية حسب ما ذكر في تجربة اختبار العزلات الفطرية.

#### تقدير معايير الإصابة ونسبة الحبوب المتضررة

قدرت نسبة الإصابة و شدة الإصابة والدليل المرضي حسب ما ذكر في تجربة اختبار العزلات الفطرية. كما قدرت نسبة الحبوب المتضررة لجميع حبوب كل مكرر لكل صنف كنسبة مئوية (عدد الحبوب المتضررة/العدد الكلي للحبوب × 100) إذ تم احتساب عدد الحبوب المتضررة حسب الأعراض المرضية الظاهرة عليها والتي شملت الحبوب الضامرة والنحيفة والمتلونة باللون الأبيض.

#### دراسة بعض مؤشرات المقاومة الجزيئية في أصناف القمح

لاستخلاص المادة الوراثية DNA، تم سحق 0.5 غ من الاوراق الفتية لنباتات القمح باستخدام النيتروجين السائل وبعتماد البروتوكول المدرج في عدة الاستخلاص Genomic DNA mini kit (plant) (المجهز من شركة Geneaid). بعد استخلاص الـ DNA اجري الترحيل الكهربائي على هلام الأكاروز 2%، تم الكشف على حزم DNA الجينومي تحت الأشعة فوق البنفسجية UV في جهاز توثيق الهلام Gel documentation. لإجراء تفاعل البلمرة المتسلسل استخدمت ثلاثة مؤشرات جزيئية بواقع مؤشر جزيئي واحد لكل من جينات المقاومة Fhb1 و Fhb2 و Fhb3 (جدول 1).

45 ثانية، الالتحام عند 25°س لمدة دقيقة واحدة، الاستطالة الأولى عند حرارة 72°س لمدة دقيقة واحدة ثم دورة واحدة شملت الاستطالة الثانية عند حرارة 72°س لمدة سبعة دقائق. تم فصل ناتج الـ PCR باستخدام الترحيل الكهربائي على هلام الأكاروز 1.5%، ثم ظهرت الحزم باستخدام الأشعة فوق البنفسجية (302 nm) بعد تصيغها بصبغة red stain (Intron Korea). حدد التتابع النيوكليوتيدي للجين المضخم مباشرة بعد الحصول على ناتج تضاعف الجين عن طريق ارسال 25 مايكروليتر من ناتج التفاعل (PCR product) و10 مايكروليتر بتركيز 10 بيكامول من كل بادئ إلى الشركة الكورية (Biotechnology lab، DNA sequencer 3730XL، Applied Biosystem) ثم قورنت النتائج من خلال برنامج حاسوبي موصل على شبكة الإنترنت (أداة بحث موقعيه أساسية للتتابع النيوكليوتيدي) BLAST مع قاعدة البيانات في المركز العالمي للمعلومات الوراثية National Center for Biotechnology Information (NCBI) لإجراء التوافق للتتابع الجيني لعزلات الفطريات المراد تشخيصها ومعرفة نوعها أو جنسها مع التتابعات في قاعدة البيانات المعروفة والمشخصة مسبقاً. بعد تشخيص العزلات الفطرية سجلت نسبة التشابه والمسافة الوراثية مع السلالات المسجلة في البنك الوراثي مع رسم الشجرة الوراثية باستخدام البرنامج MEGA-X. كما اجري تسجيل هذه العزلة في البنك الوراثي العالمي للموقع اعلاه.

#### التجربة الحقلية لتقويم أصناف من القمح في مقاومة مرض لفحة السنابل

نفذت زراعة 28 صنفاً من أصناف القمح (المتحصلة عليها من مركز تكنولوجيا البذور، قسم الادامة والاكتثار، وزارة العلوم والتكنولوجيا وكلية الزراعة، جامعة تكريت، محافظة صلاح الدين، العراق) واجريت الزراعة في محطة ابحاث قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة تكريت للموسم

**جدول 1.** بادئات المؤشرات الوراثية المصاحبة لجينات مقاومة مرض لفحة السنابل (Fhb1, Fhb2, Fhb3) على القمح التي استخدمت في هذه الدراسة.  
**Table 1.** Primers of genetic markers associated with FHB resistance genes (Fhb1, Fhb2 and Fhb3) on wheat used in this study.

المرجع Reference	الجين الخاص بالمؤشر الوراثي Specific gene for marker	التعبير الجيني* Gene expression*	الحجم الجزيئي لناتج التضاعف (زوج قاعدي) Molecular size for amplification product (bp)	المؤشر الوراثي Genetic Marker	البيانات المستخدمة Primers used
Procnier <i>et al.</i> , 2001	Fhb1	R	140	Xgwm389	5'-ATCATGTCTCGATCTCCTTGACG-3'
Zhou <i>et al.</i> , 2003		S	120		5-TGCCATGCACATTACCAGAT-3
Procnier <i>et al.</i> , 2001	Fhb2	R	2100	6B NOR	5'-TGGTAAAGTCCCTTGMTGAAA-3'
		S	1600		5'-GCACCGTTTGTGACCATCAT-3'
Procnier <i>et al.</i> , 2001	Fhb3	R	220	Xgwm 126	5'-CACACGCTCCACCATGAC-3'
		S	200		5'-GTTGAGTTGATGATGCGGGAGG-3'

\* S= Susceptible, R=Resistant

\* S=مقاوم، R=مقاوم

## التحليل الإحصائي

حللت البيانات باستخدام برنامج SPSS وتمت المقارنة بين المتوسطات حسب اختبار أقل فرق معنوي عند مستوى احتمال 0.05 (الراوي وخلف الله، 1980).

## النتائج والمناقشة

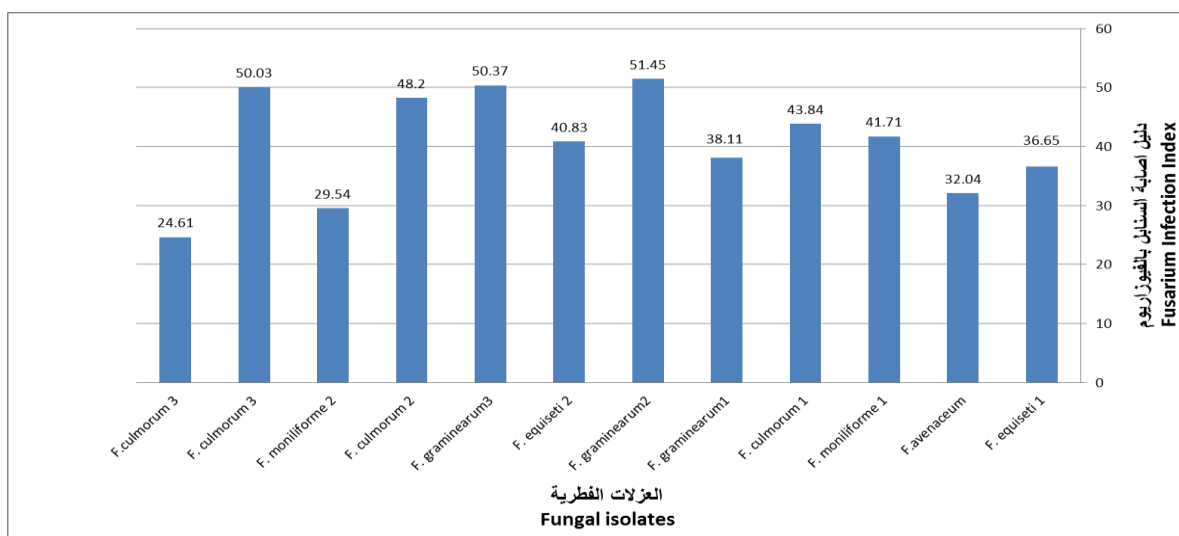
أظهر الفحص العياني لمستعمرات الفطور المعزولة بعائديتها جميعاً إلى الجنس *Fusarium* بواقع 4 عزلات للنوع *F. culmorum* و 3 عزلات للنوع *F. graminearum* وعزلتان لكل من النوعين *F. avenaceum* و *F. moniliforme* و *F. equiseti* وعزلة واحدة للنوع *F. culmorum* وعلى صعيد إمرضية هذه العزلات فقد أظهرت النتائج المبينة في الشكل 1 أن جميع هذه العزلات أبدت حدوث الإصابة بالمرض في القمح (صنف تموز 2) وبينت النتائج تبايناً في إمرضية هذه الفطور، فقد أظهرت العزلات 2 *F. graminearum*، *F. culmorum* 3 و *F. graminearum* 3 أعلى قيم لدليل الإصابة بـ *Fusarium* إذ بلغ 51.45، 50.37 و 50.03، على التوالي، في حين بلغت أدنى قيم لهذا الدليل 24.61 و 32.04 في العزلتين *F. culmorum* و *F. avenaceum*، على التوالي. وحسب هذه النتائج فقد اعتمدت عزلة الفطر 2 *F. graminearum* في تنفيذ التجارب اللاحقة، كما وتم التشخيص الجزيئي لها لتأكيد التشخيص المظهري.

حضر مزيج التفاعل بحجم نهائي 25 مايكروليتر اعتماداً على تعليمات الشركة المصنعة Promega، حيث مزج خليط التفاعل المكون من 12.5 مايكروليتر من GoTaq Green Master Mix و 1 مايكروليتر من كل بادئ بتركيز 10 بيكو مول و 2 مايكروليتر من DNA الجينومي لكل صنف من أصناف القمح المحلية المدروسة واكمل الحجم النهائي بالماء المقطر. وضع مزيج التفاعل في جهاز PCR thermal cycler وضبط برنامج عمل الجهاز لكل بادئ على حدة كما يلي:

لمؤشرات الجينين FHB1 و FHB3 دورة واحدة (denaturation 1) عند حرارة 94°س لمدة دقيقة واحدة و 45 دورة تبدأ بـ (denaturation 2) عند حرارة 94°س لمدة دقيقة واحدة ومن ثم الإلتحام عند حرارة 64°س ولمدة دقيقة واحدة لمؤشر الجين الأول وحرارة 61°س لمدة دقيقة واحدة أيضاً لمؤشر الجين الثاني، وبعدها الإمتداد 1 و 2 عند حرارة 72°س لمدة دقيقتين لكلا المؤشرين وبعدها حفظ ناتج الـ PCR عند حرارة 4°س.

أما مؤشر الجين FHB2 فقد كان برنامج التضاعف له كما يلي دورة واحدة (denaturation 1) عند حرارة 94°س لمدة دقيقة واحدة، و 32 دورة (denaturation 2) عند حرارة 94°س لمدة دقيقة واحدة ومن ثم الإلتحام عند حرارة 60°س لمدة دقيقة واحدة ومن ثم الإمتداد 1 و الإمتداد 2 عند حرارة 72°س لمدة دقيقتين وحفظ ناتج الـ PCR عند حرارة 4°س.

رحل ناتج الـ PCR لكل مؤشر على هلام الأكاروز 1.5% مع مؤشر بحجم 200 أزواج قاعدي لمؤشرات الجينين FHB1 و FHB3 أما مؤشر الجين FHB2 فرحل على هلام الأكاروز مع الدليل الحجمي (lambda)، واستخدمت صبغة Red Safe المذابة مع هلام الأكاروز لإظهار الحزم.



شكل 1. دليل إصابة السنابل بـ *Fusarium* لأنواع المعزولة من الفطر *Fusarium* في القمح المصابة (صنف تموز 2).

Figure 1. Fusarium infection index (FII) for the *Fusarium* sp. infection of wheat heads (Tammoz 2 cultivar).

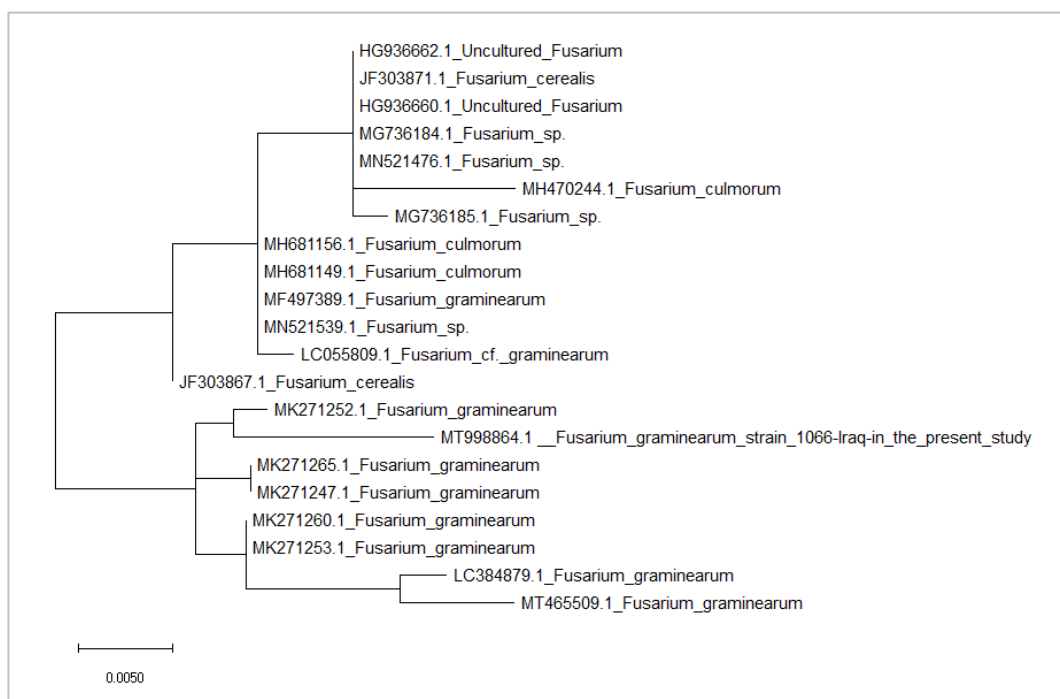


الإصابة مقارنة بالأصناف الأخرى (جدول 2). ابدت الأصناف ميلان، أبوغريب، شام 6، وبابل تقوفاً معنوياً لأدنى نسبة إصابة بلغت 40.58، 41.44، 42.54 و 43.07%، على التوالي (بدون فروق معنوية بين هذه الأصناف). يليها نسب إصابة أقل لكل من الأصناف سالي، الحدباء، ابياء 99، ربيعة، العز، الدور 29، بحوث 206، وشام 4. أما فيما يخص شدة الإصابة فقد سجلت الأصناف شام 6، أبوغريب، بابل وميلان تقوفاً معنوياً لأدنى شدة إصابة بلغت 39.59، 40.68، 41.43 و 42.98%، على التوالي (بدون وجود فروق معنوية فيما بينها)، يليها بشدة إصابة اقل كل من الأصناف سالي، الحدباء، ابياء 99، بحوث 206، دور 29، ربيعة، شام 4 والعز. ويشير دليل الإصابة بمرض لفحة السنابل الفيوزارمي إلى تقوفاً معنوياً لأصناف شام 6، أبوغريب، ميلان وبابل (التي لم تختلف معنوياً فيما بينها) في أدنى قيمة لهذا الدليل إذ بلغ 16.84، 16.84، 17.44 و 17.84، على التوالي، تليها الأصناف سالي، الحدباء، ابياء 99، ربيعة، دور 29، بحوث 206، العز، وشام 4. انعكس تأثير معايير الإصابة بمرض FHB في نسبة الحبوب المتضررة وقد أبدت أدنى نسبة معنوياً 38.43، 39.23، 41.58، 41.82 و 42.03% لأصناف شام 6، أبوغريب، ميلان، بابل والحدباء، على التوالي (من دون تسجيل فروق معنوية فيما بينها) تلاها أصناف ربيعة، سالي، ابياء 99، العز، بحوث 206، شام 4، ودور 29.

تميز الفطر *F. graminearum* النامي في وسط PDA بلون المستعمرة البني المائل إلى الاصفرار إلى بني فاتح مائل إلى الاحمرار مع تلون المنطقة المركزية للمستعمرة بلون بني محمر - برتقالي، أما لون الطبقة الخلفي فكان بلون أحمر غامق. أوضح الفحص المجهرى وجود الأبواغ الكونيدية الكبيرة سميقة الجدار مقسمة إلى 5-6 اقسام منحنية قليلاً مع غياب الأبواغ الكونيدية الصغيرة، وقد اثبت تشخيص الفطر إلى مستوى النوع حسب التشخيص الجزيئي المعتمد على تطابق التتابع النيوكليوتيدي لجين هذا الفطر rRNA 5.8S مع التتابعات النيوكليوتيدية لسلاسل الفطور الموجودة ضمن قاعدة بيانات البنك الوراثي العالمي (المدرجة في الموقع الالكتروني NCBI). ويبين الشكل 2 الشجرة الوراثية للفطر *F. graminearum* قيد الدراسة مع السلالات العالمية والذي يقع في العنقود نفس مع الفطر *F. graminearum* المسجل بالرقم MK271252.1 مع انخفاض شديد في المسافة الوراثية فيما بينهما التي بلغت 0.010 وبنسبة تشابه بلغت 98.57%. سجلت عزلة الفطر *F. graminearum* المعزول في هذه الدراسة والأكثر إمراضية في البنك الوراثي العالمي Genebank تحت الرقم العالمي MT998864.1.

#### تقويم أصناف من القمح في مرض لفحة السنابل FHB

بينت النتائج أن 12 صنفاً من أصناف القمح المدروسة والتي شملت الأصناف شام 6، أبوغريب، بابل، ميلان، سالي، الحدباء، ربيعة، بحوث 206، شام 4، ابياء 99، دور 29، والعز، سجلت أدنى نسب في معايير



شكل 2. الشجرة الوراثية التي تبين تقارب عزلة الفطر *F. graminearum* المحلية مع بعض العزلات العالمية المسجلة في البنك الوراثي العالمي.  
Figure 2. Genetic relationship tree of *F. graminearum* local isolate compared with world strains.

Table 2. Infection parameters with FHB disease of wheat cultivars studied.

الحبوب المتضررة بالمرض (%) Fusarium damaged kernels (%)	دليل الإصابة بالمرض Fusarium infection index	شدة الإصابة (%) Disease severity	نسبة الإصابة (%) FHB disease incidence	رقم الصنف في لوح هلام الاجاروز Cultivar number on the agarose gel	أصناف القمح Wheat cultivars	
55.12	46.92	65.58	71.55	1	Al-Nameh	الناعمة
56.67	49.51	67.71	73.12	2	Clark	كلارك
53.35	48.2	66.30	72.70	3	Entisar	انتصار
43.12	23.44	48.79	48.04	4	Rabia	ربيعة
63.54	50.89	67.34	75.56	5	Tamouz 2	تموز 2
51.45	42.89	60.04	71.43	6	Al-Tahadi	التحدي
38.43	16.84	39.59	42.54	7	Sham 6	شام 6
44.87	25.32	48.02	52.73	8	Bohoth 206	بحوث 206
46.06	26.93	50.65	53.17	9	Sham 4	شام 4
56.50	45.03	63.02	71.46	10	Hashemia	هاشمية
54.59	49.11	66.93	73.38	11	Tamouz 3	تموز 3
53.67	45.92	61.61	74.54	12	Latifia	لطيفية
55.51	44.42	62.55	71.02	13	Eratoum	ايراتوم
43.17	20.70	44.64	46.36	14	Sally	سالي
39.23	16.86	40.68	41.44	15	Abu Ghraib	أبوغريب
63.16	55.07	71.72	76.78	16	Ryz Kary	رزكاري
44.06	22.69	47.91	47.37	17	Iba 99	ايباء 99
47.13	24.75	48.70	50.82	18	Dor 29	دور 29
42.03	21.82	46.37	47.05	19	Al-Hadba'a	الحدباء
51.20	44.28	61.04	72.54	20	Florokya	فلوريكا
54.33	51.80	68.47	75.65	21	Ali	علي
56.62	50.80	71.87	70.68	22	Mandal	مندل
65.54	54.41	71.03	76.60	23	Hydab	هضاب
41.82	17.84	41.43	43.07	24	Babel	بابل
52.26	47.37	65.05	72.82	25	Al-Barakah	البركة
44.55	25.60	51.43	49.76	26	Al Ezz	العز
41.58	17.44	42.98	40.58	27	Milan	ميلان
57.04	55.49	70.68	78.51	28	ICSAD	اكساد
3.71	3.03	4.37	3.11			أقل فرق معنوي عند احتمال 5% LSD at P=0.05

فقط لاصناف القمح الحدباء بحجم جزئي 2100 زوج قاعدي وهو الناتج الذي يعبر عن صفة المقاومة لهذا الصنف ولم تظهر باقي الحزم الحجم الجزئي 1600 زوج قاعدي كتعبير للأصناف الحساسة للجين Fhb2، وقد ظهرت حزم بحجم جزئي 50 زوج قاعدي بدلاً عنها (شكل 4). كما بينت النتائج (جدول 3) وجود حزمة واحدة للمؤشر Xgwm126 المصاحب للجين Fhb3 بلغ حجمها الجزئي 220 زوج قاعدي في الصنف سالي والذي يشير إلى صفة المقاومة في حين أعطت جميع الأصناف الأخرى حزماً بحجم جزئي 200 زوج قاعدي والذي يشير إلى حساسية هذه الأصناف (شكل 5).

أظهرت النتائج (جدول 3) أن الاحجام الجزئية لبعض المؤشرات المصاحبة لحينات مقاومة مرض لفحة السنابل وطرز تعبير هذه المؤشرات على 28 صنفاً من أصناف القمح والتي شملت مؤشرات متعلقة بالجينات Fhb1، Fhb2، و Fhb3، تسجيل أربعة أصناف شملت شام 6، أبوغريب، بابل، وميلان حزم بحجم جزئي 140 زوج قاعدي للمؤشر الوراثي Xgwm389 المصاحب للجين Fhb1 (شكل 3) والذي يعد من الجينات التي لها دور في مقاومة مرض لفحة السنابل على القمح. في حين بلغ الحجم الجزئي لحزمة بقية الأصناف 120 زوج قاعدي وهو الحجم الذي يشير إلى حساسية هذه الأصناف للمرض. أما ناتج الترحيل الكهربائي للمؤشر 6B NOR المصاحب للجين Fhb2 فأكد وجود حزمة

جدول 3. طرز التعبير الوراثي لبعض المؤشرات الجزيئية العائدة لجينات المقاومة Fhb1 و Fhb2 و Fhb3 في أصناف القمح المدروسة.

**Table 3.** Expression modes of some molecular markers related to resistance genes Fhb1, Fhb2 and Fhb3 in the wheat cultivars studied.

الحجم الجزيئي للمؤشر (الجين Fhb3)	الحجم الجزيئي للمؤشر (الجين Fhb2)	الحجم الجزيئي للمؤشر (الجين Fhb1)	رقم الصنف في لوح هلام الاكاروز	أصناف القمح
طراز تعبير المؤشر* Expression mode*	طراز تعبير المؤشر* Expression mode*	طراز تعبير المؤشر* Expression mode*	Cultivar lane number on the agarose gel	Wheat cultivars
S	200	S	1	Al-Nameh الناعمة
S	200	S	2	Clark كلارك
S	200	S	3	Entisar انتصار
S	200	S	4	Rabia ربعة
S	200	S	5	Tamouz 2 تموز 2
S	200	S	6	Al-Tahadi التحدي
S	200	R	7	Sham 6 شام 6
S	200	S	8	Bohoth 206 بحوث 206
S	200	S	9	Sham 4 شام 4
S	200	S	10	Hashemia هاشمية
S	200	S	11	Tamouz 3 تموز 3
S	200	S	12	Latifia لطيفية
S	200	S	13	Eratoum ايراتوم
R	220	S	14	Sally سالي
S	200	S	15	Abu Ghraib أبو غريب
S	200	S	16	Ryz Kary رزكاري
S	200	S	17	Iba 99 ايباء 99
S	200	S	18	Dor 29 دور 29
S	200	R	19	Al-Hadba'a الحدباء
S	200	S	20	Florokya فلوريكا
S	200	S	21	Ali علي
S	200	S	22	Mandal مندل
S	200	S	23	Hydab هضاب
S	200	R	24	Babel بابل
S	200	S	25	Al-Barakah البركة
S	200	S	26	Al Ezz العز
S	200	R	27	Milan ميلان
S	200	S	28	ICSAD اكساد

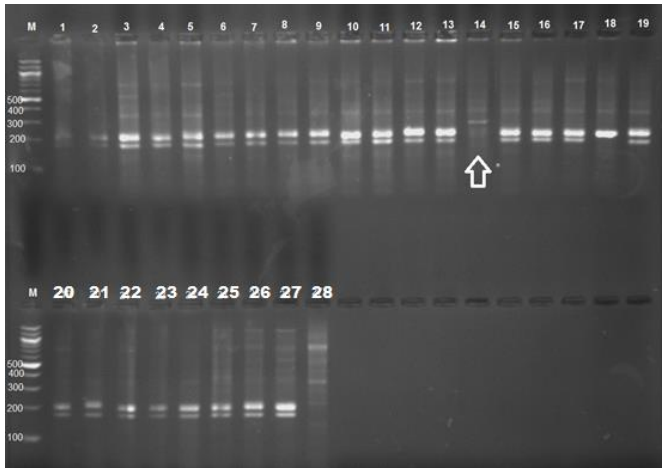
\* S= Susceptible, R=Resistant

\* S= حساس، R= مقاوم

دراسات أخرى الفطر *F. graminearum* كمسبب رئيس لحدوث المرض كونه الأكثر سيادة في عدة دول مثل الصين والولايات المتحدة الأمريكية وكندا وغيرها (Saber et al., 2002؛ Trail, 2009)، وهذا يتفق مع نتائج دراستنا. ولعل تفسير ذلك التنوع في أنواع الفطر *Fusarium* واختلاف قابليتها للإمراضية في الدراسة الحالية والدراسات السابقة هو قدرتها على احداث الإصابة بهذا المرض ولكن بدرجات ضراوة مختلفة بسبب تركيبها الوراثي الذي ينعكس في بعض صفاتها المظهرية والفسولوجية مثل امتلاك بعضها عوامل الضراوة كالسموم الفطرية والأنزيمات الهاضمة المهمة في احداث المرض، فضلاً عن تكيف أنواع من الفطر *Fusarium* في بيئات قد لا تناسب أنواع أخرى. فقد ذكر Moss (2002) أن أكثر أنواع الفطر *Fusarium* شيوعاً في أحداث مرض FHB هي *F. graminearum*، *F. culmorum* و *F. avenaceum* ويسود الأول

يسبب مرض لفحة سنابل القمح الإصابة بعدد من أنواع الفطر *Fusarium* وسجلت في هذه الدراسة عزلات تعود لخمسة أنواع شملت *F. graminearum*، *F. culmorum*، *F. equiseti* و *F. moniliforme* و *F. avenaceum* وسجلت الدراسات السابقة تبايناً في تلك الأنواع حيث سجل الشعبي وآخرون (2018) النوع *F. culmorum* وهو الأكثر تردداً مقارنة بالأنواع المسجلة الأخرى التي تضمنت: *F. equiseti*، *F. moniliforme*، *F. sambucinum*، *F. proliferatum*، *F. compactum*، *F. solani*، *F. semitectum* و *F. crookwellense* و *F. avenaceum* في حين سجلت دراسة Liddell (2003) إضافة إلى الأنواع اعلاه الأنواع *F. poae*، *F. cerealis*، *F. sporotrichoides*، *F. tricinctum*، *F. acuminatum* و *F. oxysporum* و *F. verticillioides*. ذكرت





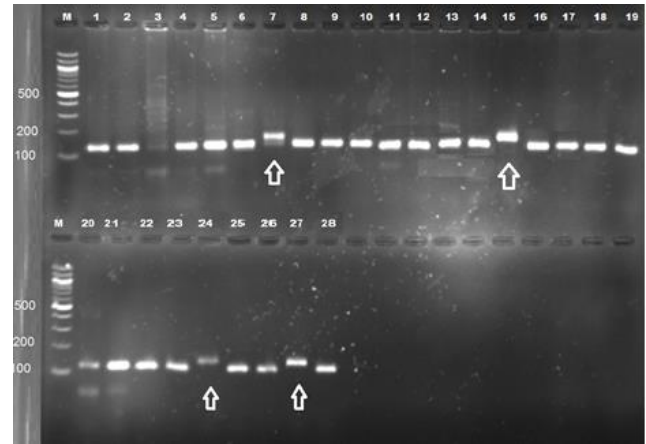
**شكل 5.** الترحيل الكهربائي لنتاج تضاعف المؤشر *Xgwm126* المصاحب لجين المقاومة *Fhb3* (200 زوج قاعدي للأصناف الحساسة، 220 زوج قاعدي للأصناف المقاومة) المؤشرة بالأسهم، وتمثل أرقام المسارات تسلسل أصناف القمح كما هو مذكور في جدول 2.

**Figure 5.** Electrophoresis of the *Xgwm126* marker product associated with *Fhb3* gene (200 bp for the sensitive cultivars, 220 bp for the resistant cultivars), and the number of the gel lanes represent the different cultivars tested as indicated in Table 2.

عند مقارنة نتائج معايير الإصابة مع نواتج المؤشرات الجزيئية المصاحبة لجينات المقاومة لوحظ تباين في سلوك الأصناف إذ ان وجود نواتج المؤشرات الجزيئية ضمن الحزم التي تشير إلى مقاومة الصنف في الأصناف شام 6، بابل، أبوغريب، وميلان (للمؤشر *Xgwm389* التابع للجين *Fhb1*) و الحدباء (للمؤشر *6B NOR* التابع للجين *Fhb2*) وسالي (للمؤشر *Xgwm 126* التابع للجين *Fhb3*) ينطبق مع سلوك هذه الأصناف بالمقارنة مع تسجيلها أدنى معايير الإصابة بالمرض، في حين أظهرت أصناف ربيعة، بحوث 206، شام 4، ابياء 99، دور 29، والعز انخفاضاً في معايير الإصابة دون وجود لأي مؤشر وراثي من المؤشرات المدروسة وهذا ربما يعزى إلى وجود مؤشرات وراثية أخرى تابعة لجينات المقاومة السبعة من *FHB1* إلى *FHB7*.

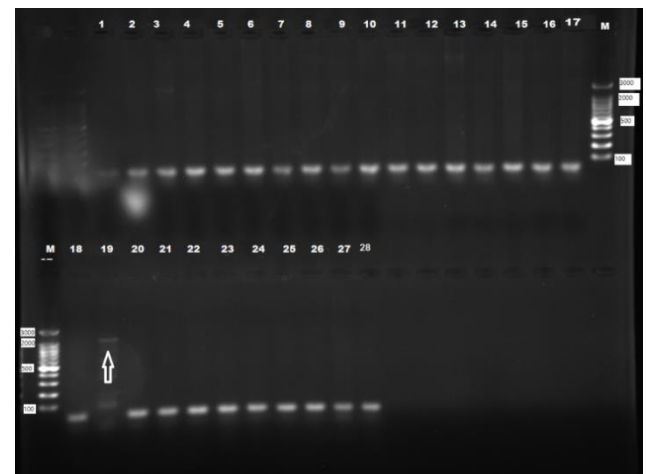
بالرغم من تسجيل انخفاض في معايير الإصابة بالمرض في الأصناف التي سجلت وجود المؤشرات الجزيئية المدروسة، إلا أنه لم يتم تسجيل وجود مقاومة تامة (صنف منيع) ضد المرض *FHB* من قبل أي صنف وهذا يتفق مع عدة دراسات سابقة (Brar *et al.*, 2019؛ Xu *et al.*, 2020؛ Gadaleta *et al.*, 2019؛ Caia *et al.*, 2019) كما يتفق مع دراسة Scherloski *et al.* (2015) الذين استخدموا 19 مؤشراً وراثياً لبيان صفة مقاومة مرض *FHB* لـ 96 صنف من القمح. وأثبتت الدراسة ارتباط المؤشرات *wgwm389*، *xgwm533*، *xbarc180*، *wmc398* و *xbarc101* بمقاومة بعض تلك الأصناف للمرض ولم يتم تسجيل مقاومة تامة ضد المرض إذ بلغ معدل

في المناطق الدافئة من العالم مثل أمريكا وكندا وأستراليا ووسط أوروبا بينما يسود الفطر *F. culmorum* في المناطق الباردة مثل شمال غرب أوروبا.



**شكل 3.** الترحيل الكهربائي لنتاج تضاعف المؤشر *Xgwm389* المصاحب لجين المقاومة *Fhb1* (120 زوج قاعدي للأصناف الحساسة، 140 زوج قاعدي للأصناف المقاومة) المؤشرة بالأسهم، وتمثل أرقام المسارات تسلسل أصناف القمح كما هو مذكور في جدول 2.

**Figure 3.** Electrophoresis of the *Xgwm389* marker products associated with *Fhb1* gene (120 bp for the sensitive cultivars, 140 bp for the resistant cultivars), and the number of the gel lanes represent the different cultivars tested as indicated in Table 2.



**شكل 4.** الترحيل الكهربائي لنتاج تضاعف المؤشر *6B NOR* المصاحب لجين المقاومة *Fhb2* (1600 زوج قاعدي للأصناف الحساسة وهي لم تظهر في أي صنف، 2100 زوج قاعدي للأصناف المقاومة) مؤشرة بالأسهم، وتمثل أرقام المسارات تسلسل أصناف القمح كما هو مذكور في جدول 2.

**Figure 4.** Electrophoresis of the *6B NOR* marker product associated with *Fhb2* gene (1600 bp for the sensitive cultivars, 2100 bp for the resistance cultivars), and the number of the gel lanes represent the different cultivars tested as indicated in Table 2.

1-13%، وفسرت هذه الظاهرة بوجود تداخلات جينية أخرى. مع ذلك هناك عدة عوامل تؤثر في الإصابة إضافة إلى حساسية/مقاومة العائل مثل الظروف البيئية والمعاملة بالمبيدات الفطرية واختلاف التطبيقات الزراعية في الزراعة (Yu et al., 2008؛ Klux et al., 2008). فضلاً عن تلك العوامل، يعد التركيب الوراثي للمسبب المرضي من العوامل المهمة في حدوث مرض لفحة السنابل (Buerstmayr et al., 2009)، وغالباً ما تتكسر المقاومة نتيجة تغير المسبب المرضي. يمكن الإستنتاج من الدراسة الحالية أهمية المؤشرات الوراثية المصاحبة لجينات مقاومة مرض FHB والتي تعطي صورة واضحة لمقاومة أصناف القمح كأداة سريعة على مستوى المختبر، والإفادة منها في برامج التربية، ولأجل اكمال صور مقاومة الأصناف لآبد من اختبار أكبر عدد من المؤشرات الوراثية في الدراسات اللاحقة.

شدة الإصابة للأصناف المقاومة 1.98-41.3%. كما أشارت دراسة Lia et al. (2019) استخدام مؤشرات المقاومة للجين Fhb1 في التربية والتهجين بين الخطوط الوراثية للقمح وسجلت مقاومة ضد المرض انخفضت فيها شدة الإصابة بالمرض إلى أدناها إذ بلغت 23.3-25.5% في الأصناف التي تحمل ذلك الجين. لم تسجل في الدراسة الحالية إصابة شديدة (100%)، أي لم نجد صنفاً حساساً 100% لدى أصناف القمح المدروسة مما يدل على وجود رصيد جيني ظاهر أو كامن يتفاعل مع الممرض أو حدوث تداخلات وراثية تسهم في مقاومة المرض. ففي دراسة Brar et al. (2019)، ادخلت الأصناف الحاوية على مؤشرات وراثية مصاحبة للجينات Fhb1، Fhb2 و Fhb5 في برامج التربية والتهجين وانتجت خطوطاً متباينة المقاومة، وذكرت الدراسة ان بعض الخطوط التي لم تحمل الجينات الثلاثة اعلاها انخفضت فيها شدة الإصابة إلى

## Abstract

Al-Qaissi, A.R.M., A.A. Hassan, W.M. Saleh and F.H. Yehya. 2021. Evaluation of Some Molecular Resistance Markers of the Wheat Cultivars for Control of Head Blight Disease Caused by *Fusarium graminearum* in Salah Aldin Province, Iraq. Arab Journal of Plant Protection, 39(2): 96-108.

Twelve fungal isolates of the genus *Fusarium* were isolated from bread wheat grains infected with Fusarium head blight; 4 isolates of *F. culmorum*, 3 isolates of *F. graminearum*, 2 isolates of *F. equiseti* and *F. moniliforme*, and one isolate of *F. avenaceum*. The results obtained showed that all of these isolates caused head blight disease in wheat (Tamoz 2 cultivar). The isolates *F. graminearum* 2, *F. graminearum* 3 and *F. culmorum* 3 showed the highest Fusarium infection index (FII), which was 51.45, 50.37, and 50.03, respectively, whereas the lowest values were 24.61 and 32.04 for the isolates of *F. culmorum* and *F.avenaceum*, respectively. The identification of the most pathogenic isolates of *F. graminearum* 2 was confirmed by molecular diagnosis based on the matching of the nucleotide sequence of the 5.8S rRNA gene of this fungus with the nucleotide sequences of the fungal strains contained in the World Genbank database (listed on the NCBI website) and this isolate was recorded in Global Genbank under the accession number MT998864.1. The results obtained also showed that 12 of the studied wheat cultivars (Sham 6, Abu Ghraib, Babil, Milan, Sally, Hadbaa, Rabia, Bohoth 206, Sham 4, Iba 99, Dor 29 and Al Ezz) had the lowest infection levels compared to other cultivars. The FII values obtained suggested a significant superiority of the cultivars Sham 6, Abu Ghraib, Milan and Babel (which did not differ significantly among each other) with lowest values of 16.84, 16.86, 17.44 and 17.84, respectively. The effect of infection with FHB was reflected in the percentage of Fusarium damaged kernels (FDK), with lowest values of 38.43, 39.23, 41.58, 41.82 and 42.03% for the cultivars Sham 6, Abu Ghraib, Milan, Babel and Hadba, respectively. The electrophoresis of PCR products of *Xgwm389*, *6B NOR* and *Xgwm 126* markers associated with the resistance genes Fhb1, Fhb2 and Fhb3, respectively, carried out on twenty eight wheat cultivars showed that four cultivars (Sham 6, Abu Ghraib, Babel and Milan) produced bands of 140 bp in size for the marker of Fhb1 gene (*Xgwm389*), which is considered one of the indicators for resistance to FHB disease of wheat. The test also showed the presence of a single band of 220 bp in the wheat cultivar Sally for the gene marker Fhb2 (*6B NOR*), which indicates resistance to FHB disease. Whereas, the electrophoresis product for the gene marker Fhb2 (*Xgwm 126*) produced a band of 2100 bp in size, reflecting the presence of resistance characteristic in this cultivar. The results of this study indicated the presence of a relationship between the decrease in the infection parameters with the presence resistance genetic markers in the cultivars Sham 6, Abu Ghraib, Babel, Milan, Sally and Hadbaa, whereas the cultivars Rabia, Bohoth 206, Sham 4, Iba 99, Dor 29 and Al Ezz showed a decrease in infection parameters to a lesser degree than the remaining cultivars, but without the presence of the genetic markers investigated.

**Keywords:** Fusarium head blight disease, molecular markers, resistance genes, wheat cultivars, *Fusarium* sp.

**Affiliation of authors:** A.R.M. Al-Qaissi<sup>1</sup>, A.A. Hassan<sup>2</sup>, W.M. Saleh<sup>1</sup> and F.H. Yehya<sup>3</sup>. (1) Agriculture Researches Office, Ministry of Science and Technology, Iraq; (2) Department of plant protection, College of Agriculture, University of Tikrit, Iraq, Email: drabdullah.has67@tu.edu.iq; (3) Central Laboratories Department, University of Tikrit, Iraq.

## References

[Al-Chaabi, S., S. Al-Masri, A. Nehlawi, L. Al-Matroud and T. Abu-Fadel. 2018. Monitoring of *Fusarium* wheat head blight distribution, its causal agents, and pathogenicity variation in Al-Ghab plain, Syria. Arab Journal of Plant Protection, 36: 98-113.

<http://dx.doi.org/10.22268/AJPP-036.2.098113>

عبود، هادي مهدي، حسن عبد الله عبد الكريم ومحمد مصطفى مزبان. 2017. عزل وتشخيص الفطريات المصاحبة لمرض تعفن جذور

الشعبي، صلاح، صفية المصري، عدنان نحلاوي، لنا المطرود وتيسير أبو الفضل. 2018. تقصي انتشار مرض لفحة فيوزاريوم سنابل القمح ومسبباته في سهل الغاب في سورية، والتباين في قدراتها الإراضية في سهل الغاب في سورية. مجلة وقاية النبات العربية، 36: 98-113.

<http://dx.doi.org/10.22268/AJPP-036.2.098113>

- Dhokane, D., S. Karre, A.C. Kushalappa and C. McCartney.** 2016. Integrated metabolic transcriptomics reveals fusarium head blight candidate resistance genes in wheat QTL-Fhb2. *PLoS One*, 11: e0155851.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0155851>
- Diaz de Ackermann, M. and M.M. Kohli.** 1997. Research on *Fusarium* head blight of wheat in Uruguay. Pages 13-18. In: *Fusarium* head scab, global status and future prospects. H.J. Dubin, L. Gilchrist, J. Reeves and A. Mc Nab (eds.). Mexico, D. F. CIMMYT. 130 pp.
- Engle, J.S., L.V. Madden and P.E. Lipps.** 2003. Evaluation of inoculation methods to determine resistance reactions of wheat to *Fusarium graminearum*. *Plant Disease*, 87: 1530-1535.  
<https://doi.org/10.1094/PDIS.2003.87.12.1530>
- Gadaleta, A., P. Colasuonno, S.L. Give, A. Blanco and A. Giancaspro.** 2019. Map-based cloning of *QFhb.mgb-2A* identifies a *WAK2* gene responsible for *Fusarium* Head Blight resistance in wheat. *Scientific Reports*, 9: 6929.  
<https://doi.org/10.1038/s41598-019-43334-z>
- Gilsinger, J., L. Kong, X. Shen and H. Ohm.** 2005. DNA markers associated with low *Fusarium* head blight incidence and narrow flower opening in wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 110: 1218-1225.  
<https://doi.org/10.1007/s00122-005-1953-4>
- Klix, M.B., M. Beyer and J.A. Verreet.** 2008. Effects of cultivar, agronomic practices, geographic location, and meteorological conditions on the composition of selected *Fusarium* species on wheat heads. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 30: 46-57.  
<https://doi.org/10.1080/07060660809507495>
- Lemmens, M., U. Scholz, F. Berthiller, C. Dall'Asta, A. Koutnik, R. Schuhmacher, G. Adam, H. Buerstmayer, A. Mesterhazy, R. Krska and P. Ruckebauer.** 2005. The ability to detoxify the mycotoxin deoxynivalenol colocalizes with a major quantitative trait locus for *Fusarium* head blight resistance in wheat. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 18: 1318-1324.  
<https://doi.org/10.1094/MPMI-18-1318>
- Leslie, J.F. and S.B. Summerell.** 2006. The *Fusarium* laboratory manual. ISBN, Wiley-Blackwell. 388 pages.
- Lia, T., Z. Hongjun, H. Yiwen, S. Zhenqi, D. Yun, L. Hongwei, M. Chunyan, Y. Guangjun, L. Huili, Y. Liqiang, Z. Tongquan, Y. Li, L. Hongjie and Z. Yang.** 2019. Effects of the *Fhb1* gene on *Fusarium* head blight resistance and agronomic traits of winter wheat. *The Crop Journal*, 7: 799-808.  
<https://doi.org/10.1016/j.cj.2019.03.005>
- Liddell, C.M.** 2003. Systematics of *Fusarium* species and allies associated with *Fusarium* head blight. Pages 35-43. In: *Fusarium Head Blight of Wheat and Barley*. K.J. Leonard and W.R. Bushnell (eds.). APS Press, St. Paul, Minnesota, USA. 512 pp.
- McMullen, M., G. Bergstrom, E. De Wolf, R. Dill-Macky, D. Hershman, G. Shaner and D. Van Sanford.** 2012. A unified effort to fight an enemy of wheat and barley: *Fusarium* head blight. *Plant Disease*, 96: 1712-1728.  
<https://doi.org/10.1094/PDIS-03-12-0291-FE>
- القمح وتحديد مسببات المرض ومقاومتها: 2 - التكامل في مقاومة المرض حقلياً. مجلة جامعة تكريت للعلوم الزراعية، 17: 319-332.
- [**Abbound, H. M., H. A. Abdelkarin and M. M. Mezyan.** 2017. Isolation and identification of fungi associated with the wheat roots rot disease and determination of its pathogens and control methods. 2- disease control integration in field *Journal of Tikrit University for Agriculture Sciences*, 17: 319-332. (In Arabic).]
- الراوي، خاشع محمود وعبد العزيز محمد خلف الله. 1980. تصميم وتحليل التجارب الزراعية. دار الكتب للطباعة والنشر، جامعة الموصل. 488 صفحة.
- [**El-Rawi, Kh.M. and A.M. Khalafallah.** 1980. Design and Analysis of agricultural experiments. Dar El-Kotob Publishers, University of Mosel. 488 pp. (In Arabic).]
- Booth, C.** 1977. *Fusarium*: laboratory guide for identification to the major species. Commonwealth Mycology Institute, Kew, Surrey, England. 57 pp.
- Brar, G. S., L. B. Anita, R. Yuefeng, A. H. Maria, J. P. Curtis, R. K. Hadley and J. H. Pierre.** 2019. Genetic factors affecting *Fusarium* head blight resistance improvement from introgression of exotic Sumai 3 alleles (including Fhb1, Fhb2, and Fhb5) in hard red spring wheat. *BMC Plant Biology*, 19: 179.  
<https://doi.org/10.1186/s12870-019-1782-2>
- Buerstmayer, H., B. Steiner, L. Hart, M. Griesser, N. Angerer, D. Lengauer and M. Lemmens.** 2002. Molecular mapping of QTLs for *Fusarium* head blight resistance in spring wheat. In: Proceedings of the National *Fusarium* Head Blight Forum. S.M. Canty, J. Lewis, L. Siler and R.W. Ward (eds.). December 7-9, 2002, Erlanger, KY. East Lansing: Michigan State University Pesquisa Agropecuaria Brasileira, 50: 63-72.
- Buerstmayer, H., T. Ban and J.A. Anderson.** 2009. QTL mapping and marker-assist selection for *Fusarium* head blight resistance in wheat: a review. *Plant Breeding*, 128: 1-26.  
<https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.2008.01550.x>
- Caia, J., W. Shan, S. Zhenqi, L. Tao, Z. Xianghui and B. Guihua.** 2019. Meta-analysis of QTL for *Fusarium* head blight resistance in Chinese wheat landraces. *The Crop Journal*, 7: 784-798.  
<https://doi.org/10.1016/j.cj.2019.05.003>
- Castro Aviles, A.** 2019. Identification of quantitative trait loci (QTLs) for resistance to *Fusarium* head blight (FHB) in wheat variety AGS 2060 and evaluation of the effect of Fhb1 resistance gene on FHB Reaction in a Louisiana wheat breeding population. LSU Doctoral Dissertations. 5089, Louisiana State University and Agricultural and Mechanical College, USA. 107 pp.  
[https://digitalcommons.lsu.edu/gradschool\\_dissertations/5089](https://digitalcommons.lsu.edu/gradschool_dissertations/5089)
- Cuthbert, P.A., D.J. Somers and A.L. Brulé-Babel.** 2007. Mapping of Fhb2 on chromosome 6BS: a gene controlling *Fusarium* head blight field resistance in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 114: 429-437.  
<https://doi.org/10.1007/s00122-006-0439-3>



- Schweiger, W., B. Steiner, S. Vautrin, T. Nussbaumer, G. Siegwart, M. Zamini, F. Jungreithmeier, V. Grat, M. Lemmens, K.F.X. Mayer and H. Berges. 2016. Suppressed recombination and unique candidate genes in the divergent haplotype encoding *Fhb1*, a major Fusarium head blight resistance locus in wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 129: 1607-1623. <https://doi.org/10.1007/s00122-016-2727-x>
- Snijders, C.H.A. 2004. Resistance in wheat to *Fusarium* infection and trichothecene formation. *Toxicological Letters*, 153: 37-46. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2004.04.044>
- Somers, D.J., G. Fedak and M. Savard. 2003. Molecular mapping of novel genes controlling Fusarium head blight resistance and deoxynivalenol accumulation in spring wheat. *Genome*, 46: 555-564. <https://doi.org/10.1139/g03-033>
- Stack, R.W. and M.P. McMullen. 1994. A visual scale to estimate severity of Fusarium Head Blight in Wheat. NDSU Extension Service: PP-1095. <https://www.ag.ndsu.edu/ndipm/publications/wheat/documents/pp1095.pdf>
- Su, Z., A. Bernardo, B. Tian, H. Chen, S. Wang, H. Ma, S. Cai, D. Liu, D. Zhang, T. Li and H. Trick. 2019. A deletion mutation in *TaHRC* confers *Fhb1* resistance to Fusarium head blight in wheat. *Nature Genetics*, 51: 1099-1105. <https://doi.org/10.1038/s41588-019-0425-8>
- Trail, F. 2009. For blighted waves of grain: *Fusarium graminearum* in the postgenomics era. *Plant Physiology*, 149: 103-110. <https://doi.org/10.1104/pp.108.129684>
- Wei, Y.M., Y.C. Hou, Z.H. Yan, W. Wu, Z.Q. Zhang, D.C. Liu and Y.L. Zheng. 2005. Microsatellite DNA polymorphism divergence in Chinese wheat (*Triticum aestivum* L.) landraces highly resistant to *Fusarium* head blight. *Journal of Applied Genetics*, 46: 3-9.
- White, T.J., T. Bruns, S. Lee and J.W. Taylor. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. Pages 315-322. In: PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications. M.A. Innis, D.H. Gelfand, J.J. Sninsky, and T.J. White (eds.). Academic Press. USA. 482 pp.
- Xu, Q., X. Fuchao, Q. Dandan, L. Meifang, F. George, C. Wenguang, Y. Lijun and D. Jing. 2020. Molecular mapping of QTLs conferring Fusarium head blight resistance in Chinese wheat cultivar Jingzhou 66. *Plants*, 9: 1021. <https://doi.org/10.3390/plants9081021>
- Xue, S., F. Xu, M. Tang, Y. Zhou, G. Li, X. An, F. Lin, H. Xu, H. Jia, L. Zhang, Z. Kong and Z. Ma. 2011. Precise mapping *Fhb5*, a major QTL conditioning resistance to *Fusarium* infection in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 123: 1055-1063. <https://doi.org/10.1007/s00122-011-1647-z>
- Xue, S., G.Q. Li, H.Y. Jia, F. Xu, F. Lin, M.Z. Tang, Y. Wang, X. An, H.B. Xu, L.X. Zhang, Z.X. Kong and Z.Q. Ma. 2010. Fine mapping *Fhb4*, a major QTL conditioning resistance to Fusarium infection in bread
- Mesterhazy, A., T. Bartok, C.G. Mirocha and R. Komoroczy. 1999. Nature of wheat resistance to *Fusarium* head blight and the role of deoxynivalenol for breeding. *Plant Breeding*, 118: 97-110. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0523.1999.118002097.x>
- Moss, M.O. 2002. Mycotoxin review-2. *Fusarium*. *Mycologist*, 16: 158-161.
- Osborne, L.E. and J. M. Stein. 2007. Epidemiology of Fusarium head blight on small grain cereals. *International Journal of Food Microbiology*, 119: 103-108. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.07.032>
- Paudel, B. 2020. Molecular facet of host-pathogen interactions in Fusarium head blight in wheat *Triticum aestivum*. PhD thesis, South Dakota State University. USA.
- Paudel, B., Y. Zhuang, S. Dahal, A. Ma, T. Raihan and Y. Yen. 2017. Detection and quantification of *Wfhb1-1* protein during FHB pathogenesis in wheat shows the role of this gene in disease resistance. Page 50. In: Proceedings of 2017 National Fusarium Head Blight Forum. December 3-5, 2017. Milwaukee, Wisconsin.
- Procunier, J.D., J. Gilbert, F.T. Townley-smith, K. Armstrong and G. Fedak. 2001. Markers for Fusarium head blight (FHB) disease resistance. U.S. Patent No. 6197518. Washington.
- Qi, L.L., M.O. Pumphrey, B. Friebe, P.D. Chen and B.S. Gill. 2008. Molecular cytogenetic characterization of alien introgressions with gene *Fhb3* for resistance to Fusarium head blight disease of wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 117: 1155-1166. <https://doi.org/10.1007/s00122-008-0853-9>
- Rawat, N., M.O. Pumphrey, S.X. Liu, X.F. Zhang, V.K. Tiwari, K. Ando, H.N. Trick, W.W. Bockus, E. Akhunov, J.A. Anderson and B.S. Gill. 2016. Wheat *Fhb1* encodes a chimeric lectin with agglutinin domains and a pore-forming toxin-like domain conferring resistance to Fusarium head blight. *Nature Genetics*, 48: 1576-1580. <https://doi.org/10.1038/ng.3706>
- 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 Science*, 41: 620-627. <https://doi.org/10.2135/cropsci2001.413620x>
- Saber G., G. Jeannie, P. Suvira and J. D. Procunier. 2002. High resolution profiling of wheat genes differentially expressed in response to *Fusarium graminearum* infection. Page 30. In: Proceedings of the National Fusarium Head Blight Forum. S.M. Canty, J. Lewis, L. Siler and R.W. Ward (eds.). December 7-9, 2002, Erlanger, KY. East Lansing: Michigan State University.
- Scherloski, A., T.D.N. Montecelli, F. Mioranza, F. Lazzari, L.R.T. Polo and A. Schuster. 2015. Validation of molecular markers for wheat resistance to Fusarium head blight in Brazilian wheat genotypes. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, 50: 63-72. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2015000100007>

for scab resistance with SSR markers and use of marker-assisted selection in wheat. *Plant Breeding*, 122: 40-46.

<https://doi.org/10.1046/j.1439-0523.2003.00802.x>

**Zhua, Z., Y. Haoa, M. Mergoumc, G. Baid, G. Humphreyse, S. Cloutiere, X. Xiaa and Z. Hea.** 2019. Breeding wheat for resistance to Fusarium head blight in the Global North: China, USA, and Canada. *The Crop Journal*, 7: 730-738.  
<https://doi.org/10.1016/j.cj.2019.06.003>

Received: October 12, 2020; Accepted: May 19, 2021

wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 121: 147-156.

<https://doi.org/10.1007/s00122-010-1298-5>

**Yu, J.B., G.H. Bai, W.C. Zhou, Y.H. Dong and F.L. Kolb.** 2008. Quantitative trait loci for Fusarium head blight resistance in a recombinant inbred population of Wangshuibai wheat. *Phytopathology*, 98: 87-94.

<https://doi.org/10.1094/PHTO-98-1-0087>

**Zhou, W.C., F.L., Kolb, G.H., Bai, L.L. Domier, L.K. Boze and N.J. Smith.** 2003. Validation of a major QTL

تاريخ الاستلام: 2020/10/12؛ تاريخ الموافقة على النشر: 2021/5/19