

ارزیابی مقاومت به بیماری سفیدک پودری در تعدادی از ژنوتیپ‌های جو اسپانتانوم ایران

Evaluation of Resistance to Powdery Mildew Disease in some of Iranian Genotypes of *Hordeum spontaneum*

مهدی زهراوی^۱، سهیل نوروزی^۲، مهران پاتپور^۱ و محمدرضا بی‌همتا^۳

- ۱- استادیار، مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران
- ۲- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران
- ۳- استاد، گروه زراعت و اصلاح نباتات، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۲/۲۴ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۴/۱۴

چکیده

زهراوی، م.، نوروزی، س.، پاتپور، م. و بی‌همتا، م. ر. ۱۳۹۶. ارزیابی مقاومت به بیماری سفیدک پودری در تعدادی از ژنوتیپ‌های جو اسپانتانوم ایران. مجله به‌نژادی نهال و بذر ۱-۳۳: ۲۶-۲۶-۱۰.22092/spij.2018.117862.۴۴۱

به‌منظور مطالعه مقاومت به سفیدک پودری و تعیین ژن‌های مقاومت در ژرم‌پلاسما جو اسپانتانوم ایران، ۲۹ ژنوتیپ از کلکسیون جو وحشی بانک ژن گیاهی ملی ایران مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور جدایه‌های عامل بیماری از مزارع آلوده در کرج، ساری و زرقان جمع‌آوری و در گلخانه بر روی گیاهچه رقم حساس افضل تلقیح و به‌صورت تک‌کلنی تکثیر شدند. با استفاده از نوزده لاین تقریباً ایزوژنیک، پنج پاتوتیپ متفاوت، متمایز شد. ارزیابی مقاومت ژنوتیپ‌ها در گلخانه توسط پاتوتیپ‌های مذکور و در مرحله گیاهچه‌ای انجام شد. نتایج بررسی واکنش لاین‌های افتراقی نشان داد که جدایه کرج ۲ دارای توان بیماری‌زایی بالاتری نسبت به جدایه‌های دیگر بود. در هیچ یک از جدایه‌ها، فاکتور بیماری‌زایی برای ژن‌های *Mla9*، *Mla3*، *Mla1+MI(A12)*، *mlo5* و *Mla13+MI(Ru3)* وجود نداشت، بنابراین این ژن‌ها دارای مقاومت مؤثر در هر سه منطقه آزمایش بودند. روابط بین جدایه‌ها با ترسیم بای‌پلات مقیاس‌بندی چندبعدی مبتنی بر ماتریس فاصله، مورد بررسی قرار گرفت. از بین ژرم‌پلاسما جو اسپانتانوم مورد بررسی، فقط ژنوتیپ ۳۱۴ در برابر تمام جدایه‌ها واکنش مقاومت نشان داد. الگوی واکنش ژنوتیپ‌های ۴۳۴، ۱۰۰۶، ۴۵۱، ۱۰۴۰، ۴۹۵ و ۵۵۵ نسبت به جدایه‌های مورد بررسی با واکنش هیچ کدام از نوزده لاین ایزوژنیک مطابقت نداشت. بنابراین می‌توان وجود ژن(های) مقاومتی به غیر از ژن‌های مقاومت موجود در لاین‌های ایزوژنیک مورد بررسی را در این ژنوتیپ‌ها احتمال داد. نتایج این تحقیق بر وجود منابع مقاومت به سفیدک پودری در ژرم‌پلاسما جو اسپانتانوم ایران و احتمال حضور ژن مقاومت جدید دلالت داشت.

واژه‌های کلیدی: جو، ژرم‌پلاسما، لاین ایزوژنیک، سفیدک سطحی، ژن مقاومت.

مقدمه

بیماری سفیدک پودری با عامل قارچی *Blumeria graminis* f. sp. *hordei* DC. f. از گسترده‌ترین بیماری‌های جو است (Repkova et al., 2006). اپیدمی این بیماری منجر به کاهش عملکرد دانه، علوفه و کیفیت مالت می‌شود. ثابت شده است که جو وحشی اسپانتانوم (*Hordeum spontaneum*) منبع غنی برای ژن‌های مقاومت به بیماری سفیدک پودری است (Williams, 2003). این امر ناشی از گزینش طبیعی میزبان تحت ظهور عامل بیماری در زمان طولانی است که سبب ایجاد پلی‌مورفیسم در مکان‌های ژنی مقاومت (R) در جمعیت‌های وحشی جو شده است (Repkova et al., 2006). ژنتیک مقاومت به این بیماری، تعداد زیادی ژن را در بر می‌گیرد (Jorgensen, 1994). تحقیق پیرامون عمل ژن‌های مذکور در حال انجام است و خصوصیات پروتئین‌های R لازم برای فعال‌سازی سیستم دفاعی مشخص شده است (Ayliffe and Lagudah, 2004؛ Panstruga and Schulze-Lefert, 2002؛ Williams, 2003؛ Zhou et al., 2001). تمام هفت کروموزوم جو دارای ژن‌های مقاومت شناسایی شده هستند و ژن‌های جدید به‌طور مستمر در حال بررسی و تعیین مکان در ژنوم جو هستند. یورگنسن (Jorgensen, 1994) خلاصه‌ای از مکان‌های ژنی مربوط به

ژن‌های وابسته به نژاد (Race-specific) که مقاومت به سفیدک پودری را اعطاء می‌کنند، ارائه کرد. موسمن و همکاران (Moseman et al., 1981) گزارش کردند که بسیاری از نمونه‌های ژنتیکی *H. spontaneum* جمع‌آوری شده در فلسطین اشغالی حاوی بیش از یک ژن برای مقاومت به سفیدک پودری هستند. سگال و همکاران (Segal et al., 1980) و فیشبک (Fischbeck, 1981) اظهار داشتند که حدود پنجاه درصد نمونه‌های ژنتیکی مقاوم جمع‌آوری شده از جمعیت‌های طبیعی *H. spontaneum* در فلسطین اشغالی دارای ژن‌های مقاومتی هستند که به خانواده ژنی *Mla* تعلق ندارند. جاهور و فیشبک (Jahoor and Fischbeck, 1987) تعداد ۴۲ لاین اشتقاق‌یافته از نتاج F7 حاصل از تلاقی ارقام جو با نمونه‌های ژنتیکی متفاوت *H. spontaneum* جمع‌آوری شده از فلسطین اشغالی را توسط سه جدایه سفیدک پودری مورد ارزیابی قرار داده و نتیجه گرفتند که جمعیت طبیعی جو وحشی اسپانتانوم در فلسطین اشغالی، خزانه ژنتیکی بزرگی را برای مقاومت به سفیدک پودری تشکیل می‌دهد. دریسیتل و باکلن (Dreiseitl and Bockelman, 2003) تعداد ۱۳۸۳ نمونه ژنتیکی جو اسپانتانوم از کلکسیون غلات دانه‌ریز USDA را برای مقاومت به سفیدک پودری در جمهوری چک غربال کردند. نتایج تحقیق نشان داد که تعداد

برآورد کرد. شفاءالدین و همکاران (Shaffaaedin *et al.*, 2003) واکنش ۲۷۸ نمونه جو بومی دوردیفه مناطق غرب کشور را نسبت به بیماری سفیدک پودری بررسی کردند. نتایج نشان داد که نمونه‌های مزبور از نظر واکنش به سفیدک پودری بسیار متنوع بوده و دامنه تغییرات این صفت در کرج از مصون تا بسیار حساس (صفر الی نه) و در گرگان از مقاوم تا بسیار حساس (دو الی نه) ارزیابی شد. پاتپور و همکاران (Patpour *et al.*, 2005) پراکنش و تغییرات بیماری‌زایی عامل بیماری سفیدک پودری را در سال‌های ۱۳۷۹ تا ۱۳۸۱ با کاشت هفده لاین تقریباً ایزوژنیک (Near isogenic lines) مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که بیماری‌زایی برای ژن *Mlk* دارای بیشترین پراکنش در مناطق مورد اجرای آزمایش بود و پس از آن به ترتیب برای ژن‌های *Ml(La)*، *Ml9* و *Mla18* بیماری‌زایی ثبت شد. نتایج بررسی مقاومت ۴۴ لاین پیشرفته جو دیم نسبت به بیماری سفیدک پودری در کرج و گرگان توسط پاتپور و همکاران (Patpour *et al.*, 2006) نشان داد که در مرحله گیاه کامل در گرگان، چهار لاین دارای واکنش مقاومت و در کرج، شش لاین مصون و چهار لاین مقاوم بودند.

با توجه به مطالب ذکر شده، تحقیق حاضر به منظور مطالعه مقاومت به سفیدک پودری و تعیین ژن‌های مقاومت در ژرم پلاسما جو اسپانتانوم ایران متعلق به کلکسیون جو وحشی

۱۲۳ نمونه ژنتیکی نسبت به ۲۲ پاتوتیپ در ارزیابی گلخانه‌ای و همچنین در بررسی مزرعه‌ای مقاومت نشان دادند. آن‌ها اظهار داشتند که نمونه‌های مذکور منابع نویدبخشی در اصلاح جو برای مقاومت به بیماری سفیدک پودری هستند. دریسیتل و دینور (Dreiseitl and Dinoor, 2004) واکنش ۱۲۱ نمونه جو اسپانتانوم متعلق به ناحیه مدیترانه و بیست رقم استاندارد را نسبت به ۳۸ جدایه جمع‌آوری شده از فلسطین اشغالی ارزیابی کردند. هیچ‌گونه واکنش سازگاری بر روی ژن‌های *mlo* و *Mlh2* و همچنین در نمونه ژنتیکی PI 466634 مشاهده نشد. نتایج این تحقیق نشان‌دهنده وجود تنوع وسیعی در منابع جدید مقاومت بود. رپکوا و همکاران (Repkova *et al.*, 2006) چهار نمونه ژنتیکی جو اسپانتانوم مقاوم به سفیدک پودری را با هدف تعیین تعداد ژن‌های مسئول مقاومت در هر نمونه، نوع مقاومت ژن‌ها و ارتباط آن‌ها با مکان ژنی *Mla* مورد بررسی قرار دادند. در یک نمونه ژنتیکی، یک مکان ژنی مسئول مقاومت شناسایی شد که با مکان ژنی *Mla* بر روی کروموزوم IHS در ارتباط بود. همچنین در سه نمونه ژنتیکی دیگر، دو مکان ژنی مستقل برای کنترل مقاومت شناسایی شد. نقوی و همکاران (Naghavi *et al.*, 2001) با بررسی توارث‌پذیری و نحوه عمل ژن برای مقاومت به بیماری سفیدک پودری در جو، تعداد ژن را بسته به نوع صفت و تلاقی بین یک تا دو ژن

بانک ژن گیاهی ملی ایران انجام شد.

مواد و روش‌ها

تعداد ۲۹ ژنوتیپ ایرانی جو اسپانتانوم (*H. spontaneum*) از کلکسیون جو وحشی بانک ژن گیاهی ملی ایران برای مطالعه واکنش مقاومت نسبت به بیماری سفیدک پودری مورد ارزیابی قرار گرفتند.

جدایه‌های عامل بیماری از مزارع آلوده در کرج، ساری و زرقان در سال زارعی ۱۳۸۸-۸۹ جمع‌آوری و به گلخانه واحد پاتولوژی بخش تحقیقات غلات در مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر انتقال داده شدند. برگ‌های آلوده بر روی گیاهچه رقم حساس افضل تلقیح شدند، سپس از طریق جداسازی تک‌کلنی و تکثیر مجدد، نسبت به خالص‌سازی جدایه‌ها اقدام شد. جدایه‌های خالص شده بر روی لاین‌های افتراقی در سه تکرار، تلقیح شدند. بدین منظور از نوزده لاین تقریباً ایزوژنیک با والد مادری Pallas که از دانشگاه واگننگن کشور هلند تهیه شده بود، استفاده شد.

با مقایسه واکنش لاین‌های افتراقی، پاتوتیپ‌های متفاوت متمایز و به‌منظور ارزیابی ژنوتیپ‌ها در نظر گرفته شد. ارزیابی ژنوتیپ‌ها در گلخانه و در مرحله گیاهچه‌ای انجام شد. بدین منظور بذر ژنوتیپ‌های جو اسپانتانوم در گلدان در سه تکرار کشت شد. عمل تلقیح، ده

روز پس از کشت بذور، از طریق مالش برگ‌های آلوده رقم افضل بر روی برگ گیاهچه ژنوتیپ‌های جو اسپانتانوم انجام گرفت. ژنوتیپ‌های تلقیح شده با هر جدایه (پاتوتیپ) در یک سینی قرار داده شد و با درپوش پلاستیکی از ژنوتیپ‌های تلقیح شده توسط جدایه‌های دیگر مجزا شد. دمای گلخانه در طول رشد گیاهچه‌ها، انجام تلقیح و ارزیابی بین ۲۰ الی ۲۲ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد.

واکنش مقاومت گیاهچه‌ها ده روز پس از تلقیح بر اساس مقیاس صفر تا چهار مینز و دیتز (Mains and Dietz, 1930) بررسی شد. با بررسی واکنش لاین‌های افتراقی، فاکتورهای بیماری‌زایی در پاتوتیپ‌های مورد بررسی تعیین شد. میزان شباهت بین پاتوتیپ‌ها از طریق محاسبه فواصل اقلیدسی به‌دست آمد. روابط بین پاتوتیپ‌ها با استفاده از ترسیم بای‌پلات مقیاس‌بندی چندبعدی مبتنی بر ماتریس فاصله بین پاتوتیپ‌ها بررسی شد. با مقایسه الگوی واکنش ژنوتیپ‌ها با الگوی واکنش لاین‌های افتراقی، حضور احتمالی ژن‌ها در آن‌ها مشخص شد. گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها با استفاده از دندروگرام تجزیه خوشه‌ای به روش وارد (Ward) انجام پذیرفت.

نتایج و بحث

منشأ ژنوتیپ‌های جو وحشی اسپانتانوم مورد بررسی و مشخصات لاین‌های تقریباً ایزوژنیک جو در جدول‌های ۱ و ۲ آورده شده است.

جدول ۱- منشأ ۲۹ ژنوتیپ جو وحشی اسپانتانوم مورد بررسی در آزمایش ارزیابی مقاومت به

بیماری سفیدک پودری

Table 1. Origin of 29 genotypes of *Hordeum spontaneum* under study for evaluation of resistance to powdery mildew disease

| No. | Accession | Origin | منشاء | No. | Accession | Origin | منشاء |
|-------|-----------|-----------------|----------------|-------|-----------|------------|----------|
| شماره | کد دسترسی | | | شماره | کد دسترسی | | |
| 1 | 220 | Lorestan | لرستان | 16 | 758 | Khuzestan | خوزستان |
| 2 | 310 | Tehran | تهران | 17 | 759 | Khuzestan | خوزستان |
| 3 | 312 | Tehran | تهران | 18 | 927 | Khorasan | خراسان |
| 4 | 314 | Tehran | تهران | 19 | 932 | Khorasan | خراسان |
| 5 | 331 | Tehran | تهران | 20 | 969 | Ilam | ایلام |
| 6 | 374 | Tehran | تهران | 21 | 971 | Ilam | ایلام |
| 7 | 423 | Ilam | ایلام | 22 | 975 | Ilam | ایلام |
| 8 | 425 | Ilam | ایلام | 23 | 1006 | Kermanshah | کرمانشاه |
| 9 | 434 | West Azarbayjan | آذربایجان غربی | 24 | 1007 | Kermanshah | کرمانشاه |
| 10 | 451 | West Azarbayjan | آذربایجان غربی | 25 | 1035 | Kermanshah | کرمانشاه |
| 11 | 456 | West Azarbayjan | آذربایجان غربی | 26 | 1040 | Kermanshah | کرمانشاه |
| 12 | 470 | East Azarbayjan | آذربایجان شرقی | 27 | 1050 | Kermanshah | کرمانشاه |
| 13 | 494 | Tehran | تهران | 28 | 1068 | Kermanshah | کرمانشاه |
| 14 | 495 | Fars | فارس | 29 | 1088 | Lorestan | لرستان |
| 15 | 555 | Fars | فارس | | | | |

جدول ۲- مشخصات لاین‌های تقریباً ایزوژنیک جو برای مقاومت به بیماری سفیدک پودری

Table 2. Features of near-isogenic barley lines for resistance to powdery mildew disease

| No. | Line | Resistance gene | No. | Line | Resistance gene |
|-------|--------|-----------------------|-------|------|--------------------|
| شماره | لاین | ژن مقاومت | شماره | لاین | ژن مقاومت |
| 1 | Pallas | <i>Mla8</i> | 11 | P013 | <i>Mla23</i> |
| 2 | P01 | <i>Mla1, Mi(A12)</i> | 12 | P016 | <i>MIK</i> |
| 3 | P02 | <i>Mla3</i> | 13 | P017 | <i>MIK(1)</i> |
| 4 | P03 | <i>Mla6, Mla14</i> | 14 | P019 | <i>MIP</i> |
| 5 | P04B | <i>Mla7, Mi(No3)</i> | 15 | P020 | <i>Mlat</i> |
| 6 | P08B | <i>Mla9</i> | 16 | P021 | <i>Mlg, Mi(Cp)</i> |
| 7 | P09 | <i>Mla10, Mi(Du2)</i> | 17 | P022 | <i>mlo5</i> |
| 8 | P010 | <i>Mla12, Mi(Em2)</i> | 18 | P023 | <i>Mi(La)</i> |
| 9 | P011 | <i>Mla13, Mi(Ru3)</i> | 19 | P024 | <i>Mlh</i> |
| 10 | P012 | <i>Mla22</i> | | | |

،P012 ،P010 ،P09 ،P04B ،PALAS
P024 و P023 ،P021 ،P020 ،P017،P016
نسبت به تمام پاتوتیپ‌ها حساس بودند
(تمام پاتوتیپ‌ها بر روی لاین‌های مذکور
بیماری‌زایی داشتند). بر این اساس، تمام
پاتوتیپ‌های مورد بررسی برای ژن‌های *Mla8*،
Mla10 + Mi(Du2)، *Mla7 + Mi(No3)*

پس از خالص‌سازی و تکثیر نمونه‌های قارچ
عامل بیماری، نسبت به تعیین پاتوتیپ آن‌ها با
استفاده از لاین‌های ایزوژنیک اقدام شد. با انجام
مقایسه واکنش گیاهچه‌ای ۱۹ لاین ایزوژنیک
سفیدک پودری، تعداد پنج جدایه با پاتوتیپ
متفاوت برای ارزیابی مواد ژنتیکی در نظر گرفته
شد. نتایج بررسی نشان داد که لاین‌های

ایزوژنیک تفاوت داشتند (لاین P03 با ژن‌های مقاومت *Mla6* و *Mla14*، لاین P013 با ژن مقاومت *Mla23* و لاین P019 با ژن مقاومت *MlaP*). جدایه ساری ۲ تنها پاتوتیپ فاقد فاکتور بیماری‌زایی برای ژن مقاومت *Mla23* و جدایه ساری ۱ تنها پاتوتیپ فاقد فاکتور بیماری‌زایی برای ژن مقاومت *MlaP* بود. بیشترین تفاوت در بیماری‌زایی بر روی لاین P03 با ژن‌های مقاومت *Mla6+Mla14* مشاهده شد.

جدایه‌های کرج به‌طور مشترک برای ژن‌های مقاومت *Mla8*، *Mla7+Ml(No3)*، *Mla12+Ml(Em2)*، *Mla10+Ml(Du2)*، *MIP*، *MIK(1)*، *MIK*، *Mla23*، *Mla22*، *Mlh* و *Ml(La)*، *Mlg+Ml(CP)*، *Mlat* دارای فاکتور بیماری‌زایی و برای ژن‌های مقاومت *Mla1+Ml(A12)*، *Mla3*، *mlo5*، *Mla13+Ml(Ru3)* و *Mla9*، *Mla6+Mla14* فاقد فاکتور بیماری‌زایی بودند.

MIK(1)، *MIK*، *Mla22*، *Mla12+Ml(Em2)*، *Mlh* و *Ml(La)*، *Mlg+Ml(CP)*، *Mlat* دارای فاکتور بیماری‌زایی بودند (جدول ۳). لاین‌های P01، P02، P08B، P011 و P022 نسبت به تمام پاتوتیپ‌ها مقاوم بودند و لذا در هیچ‌یک از جدایه‌ها، فاکتور بیماری‌زایی برای ژن‌های *Mla9*، *Mla3*، *Mla1+Ml(A12)*، *Mla13+Ml(Ru3)* و *mlo5* وجود نداشت.

با تقسیم تعداد فاکتورهای بیماری‌زایی در هر جدایه بر تعداد کل، توان بیماری‌زایی برای هر جدایه محاسبه شد (جدول ۳). جدایه کرج ۲ با تعداد نوزده فاکتور بیماری‌زایی دارای توان بیماری‌زایی بالاتری نسبت به جدایه‌های کرج ۱، ساری ۱ و زرقان بود. جدایه‌های کرج از لحاظ بیماری‌زایی بر روی یک لاین ایزوژنیک (لاین P03 با ژن‌های مقاومت *Mla6* و *Mla14*) با یکدیگر متفاوت بودند در حالی که جدایه‌های ساری از لحاظ بیماری‌زایی بر روی سه لاین

جدول ۳- فرمول غیر بیماری‌زایی / بیماری‌زایی جدایه‌های سفیدک پودری جو

Table 3. Avirulence/virulence formula of isolates of barley powdery mildew pathogen

| نام جدایه | تعداد فاکتور بیماری‌زایی | درصد بیماری‌زایی | فرمول غیر بیماری‌زایی/بیماری‌زایی |
|--------------|--------------------------|-------------------|--|
| Isolate name | Virulence factor number | Pathogenicity (%) | Avirulence/virulence formula |
| Karaj 1 | 17 | 65.38 | <i>Mla8</i> , <i>Mla7</i> , <i>Ml(No3)</i> , <i>Mla10</i> , <i>Ml(Du2)</i> , <i>Mla12</i> , <i>Ml(Em2)</i> , <i>Mla22</i> , <i>Mla23</i> , <i>MIK</i> , <i>MIK(1)</i> , <i>MIP</i> , <i>Mlat</i> , <i>Mlg</i> , <i>Ml(Cp)</i> , <i>Ml(La)</i> , <i>Mlh/ Mla1</i> , <i>Ml(A12)</i> , <i>Mla3</i> , <i>Mla6</i> , <i>Mla14</i> , <i>Mla9</i> , <i>Mla13</i> , <i>Ml(Ru3)</i> , <i>mlo5</i> |
| Karaj 2 | 19 | 73.08 | <i>Mla8</i> , <i>Mla6</i> , <i>Mla14</i> , <i>Mla7</i> , <i>Ml(No3)</i> , <i>Mla10</i> , <i>Ml(Du2)</i> , <i>Mla12</i> , <i>Ml(Em2)</i> , <i>Mla22</i> , <i>Mla23</i> , <i>MIK</i> , <i>MIK(1)</i> , <i>MIP</i> , <i>Mlat</i> , <i>Mlg</i> , <i>Ml(Cp)</i> , <i>Ml(La)</i> , <i>Mlh/ Mla1</i> , <i>Ml(A12)</i> , <i>Mla3</i> , <i>Mla6</i> , <i>Mla14</i> , <i>Mla9</i> , <i>Mla13</i> , <i>Ml(Ru3)</i> , <i>MIP</i> , <i>mlo5</i> |
| Sari 1 | 16 | 61.54 | <i>Mla8</i> , <i>Mla7</i> , <i>Ml(No3)</i> , <i>Mla10</i> , <i>Ml(Du2)</i> , <i>Mla12</i> , <i>Ml(Em2)</i> , <i>Mla22</i> , <i>Mla23</i> , <i>MIK</i> , <i>MIK(1)</i> , <i>Mlat</i> , <i>Mlg</i> , <i>Ml(Cp)</i> , <i>Ml(La)</i> , <i>Mlh/ Mla1</i> , <i>Ml(A12)</i> , <i>Mla3</i> , <i>Mla6</i> , <i>Mla14</i> , <i>Mla9</i> , <i>Mla13</i> , <i>Ml(Ru3)</i> , <i>MIP</i> , <i>mlo5</i> |
| Sari 2 | 18 | 69.23 | <i>Mla8</i> , <i>Mla6</i> , <i>Mla14</i> , <i>Mla7</i> , <i>Ml(No3)</i> , <i>Mla10</i> , <i>Ml(Du2)</i> , <i>Mla12</i> , <i>Ml(Em2)</i> , <i>Mla22</i> , <i>MIK</i> , <i>MIK(1)</i> , <i>MIP</i> , <i>Mlat</i> , <i>Mlg</i> , <i>Ml(Cp)</i> , <i>Ml(La)</i> , <i>Mlh/ Mla1</i> , <i>Ml(A12)</i> , <i>Mla3</i> , <i>Mla6</i> , <i>Mla14</i> , <i>Mla9</i> , <i>Mla13</i> , <i>Ml(Ru3)</i> , <i>Mla23</i> , <i>mlo5</i> |
| Zarghan | 17 | 65.38 | <i>Mla8</i> , <i>Mla7</i> , <i>Ml(No3)</i> , <i>Mla10</i> , <i>Ml(Du2)</i> , <i>Mla12</i> , <i>Ml(Em2)</i> , <i>Mla22</i> , <i>Mla23</i> , <i>MIK</i> , <i>MIK(1)</i> , <i>MIP</i> , <i>Mlat</i> , <i>Mlg</i> , <i>Ml(Cp)</i> , <i>Ml(La)</i> , <i>Mlh/ Mla1</i> , <i>Ml(A12)</i> , <i>Mla3</i> , <i>Mla6</i> , <i>Mla14</i> , <i>Mla9</i> , <i>Mla13</i> , <i>Ml(Ru3)</i> , <i>mlo5</i> |

در ژنوتیپ ۳۱۴ محتمل است.

الگوی واکنش ژنوتیپ‌های ۴۳۴، ۱۰۰۶، ۴۵۱، ۱۰۴۰، ۴۹۵ و ۵۵۵ نسبت به جدایه‌های مورد بررسی با واکنش هیچ کدام از نوزده لاین ایزوژنیک مطابقت نداشت. لذا می‌توان وجود ژن(های) مقاومتی به غیر از ژن‌های مقاومت موجود در لاین‌های ایزوژنیک مورد بررسی را در این ژنوتیپ‌ها احتمال داد. تعداد ۱۷ ژنوتیپ نیز نسبت به تمام جدایه‌های مورد بررسی حساس بودند.

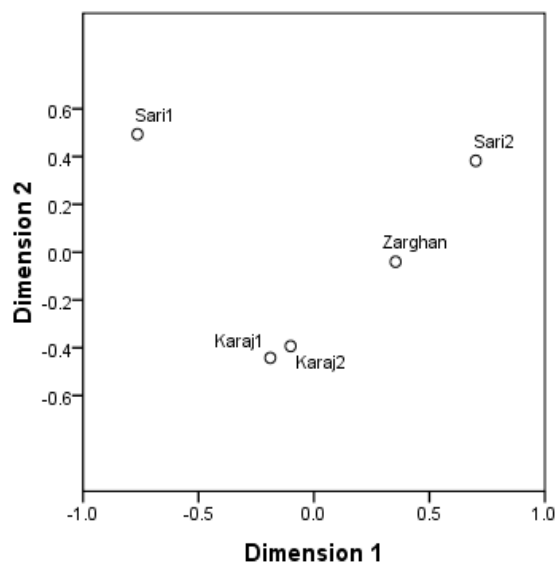
دندروگرام تجزیه خوشه‌ای، ژنوتیپ‌های مورد بررسی را در سه گروه قرار داد (شکل ۲). ژنوتیپ ۳۱۴ به‌طور مجزا از سایر ژنوتیپ‌ها واقع شد. گروه دوم ده ژنوتیپ را در بر داشت که شامل ژنوتیپ‌های ۴۹۵، ۵۵۵، ۴۲۳، ۴۵۱، ۱۰۴۰، ۷۵۹، ۱۰۰۷، ۳۷۴، ۴۳۴ و ۱۰۰۶ بودند. این گروه خود مشتمل بر سه زیرگروه بود؛ زیرگروه اول شامل ژنوتیپ‌های ۴۹۵ و ۵۵۵، زیرگروه دوم شامل ژنوتیپ‌های ۴۲۳، ۴۵۱، ۱۰۴۰ و زیرگروه سوم شامل ژنوتیپ‌های ۷۵۹، ۱۰۰۷، ۳۷۴، ۴۳۴ و ۱۰۰۶ بود. سایر ژنوتیپ‌ها در گروه سوم قرار گرفتند (شکل ۲).

مجموع نتایج این تحقیق نشان داد که از بین ۲۹ ژنوتیپ جو اسپانتانوم مورد بررسی، فقط یک ژنوتیپ (۳/۴ درصد از ژنوتیپ‌ها) در برابر تمام جدایه‌های مورد بررسی مقاوم بود (جدول ۴). در تحقیق شفاءالدین و همکاران (Shaffaaedin et al., 2003) بر روی ۲۷۸ نمونه جو بومی، تعداد معدودی نمونه

جدایه‌های ساری به‌طور مشترک برای ژن‌های مقاومت $Mla8$ ، $Mla7+Ml(No3)$ ، $Mla10+Ml(Du2)$ ، $Mla12+Ml(Em2)$ ، $Mla22$ ، MlK ، $MlK(1)$ ، $Mlat$ ، Mlh و $Ml(CP)$ دارای فاکتور بیماری‌زایی و برای ژن‌های مقاومت $Mla1+Ml(A12)$ ، $Mla3$ ، $Mla9$ ، $Mla13+Ml(Ru3)$ و $mlo5$ فاقد فاکتور بیماری‌زایی بودند.

به‌منظور بررسی روابط بین پاتوتیپ‌ها از روش مقیاس‌بندی چندبعدی و ترسیم بای‌پلات مبتنی بر فاصله اقلیدسی استفاده شد (شکل ۱). در نمودار بای‌پلات، جدایه‌های کرج ۱ و کرج ۲ نزدیک به هم و جدایه‌های ساری ۱ و ساری ۲ دور از یکدیگر واقع شدند. جدایه ساری ۱ دورترین فاصله را از سایر جدایه‌ها داشت. نزدیکترین فاصله، بین جدایه‌های کرج ۱ و کرج ۲ وجود داشت. جدایه زرقان تقریباً به یک اندازه با جدایه‌های کرج ۱ و کرج ۲ از سوی و با جدایه ساری ۲، از سوی دیگر فاصله داشت.

نتایج حاصل از واکنش ژنوتیپ‌های جو اسپانتانوم در مقابل جدایه‌های سفیدک پودری در جدول ۴ ارائه شده است. ژنوتیپ ۳۱۴ در برابر تمام جدایه‌ها واکنش مقاومت نشان داد. با توجه مطابقت این نتایج با واکنش لاین‌های ایزوژنیک P01، P02، P08B، P011 و P022، وجود ژن‌های مقاومت $Mla1+Ml(A12)$ یا $Mla3$ یا $Mla9$ یا $Mla13+Ml(Ru3)$ یا $mlo5$



شکل ۱- پراکنش جدایه های سفیدک پودری جو در نمودار بای پلات مبتنی بر مقیاس بندی چندبعدی
 Fig. 1. Distribution of isolates of barley powdery mildew disease in biplot on the basis on multidimensional scaling

جدول ۴- واکنش ژنوتیپ های جو اسپانتانوم به پنج جدایه سفیدک پودری

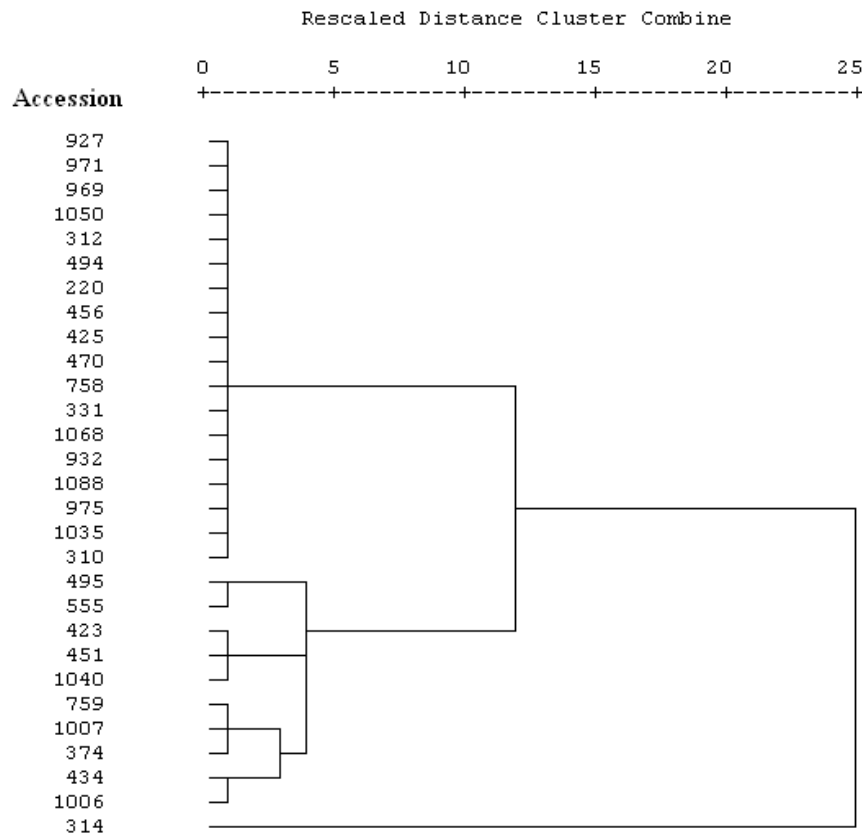
Table 4. Reaction of genotypes of *Hordeum spontaneum* to five isolates of barley powdery mildew

| شماره No. | کد دسترسی Accession | جدایه سفیدک پودری Powdery mildew isolate | | | | |
|--------------|------------------------|---|---------|--------|--------|---------|
| | | Karaj 1 | Karaj 2 | Sari 1 | Sari 2 | Zarghan |
| 1 | 220 | S | S | S | S | S |
| 2 | 310 | S | S | S | S | S |
| 3 | 312 | S | S | S | S | S |
| 4 | 314 | R | R | R | R | R |
| 5 | 331 | S | S | S | S | S |
| 6 | 374 | S | S | S | S | S |
| 7 | 423 | S | S | S | S | S |
| 8 | 425 | S | S | S | S | S |
| 9 | 434 | R | S | R | R | S |
| 10 | 451 | R | S | S | S | S |
| 11 | 456 | S | S | S | S | S |
| 12 | 470 | S | S | S | S | S |
| 13 | 494 | S | S | S | S | S |
| 14 | 495 | S | S | S | R | R |
| 15 | 555 | S | S | S | S | R |
| 16 | 758 | S | S | S | S | S |
| 17 | 759 | S | S | S | S | S |
| 18 | 927 | S | S | S | S | S |
| 19 | 932 | S | S | S | S | S |
| 20 | 969 | S | S | S | S | S |
| 21 | 971 | S | S | S | S | S |
| 22 | 975 | S | S | S | S | S |
| 23 | 1006 | R | S | S | R | S |
| 24 | 1007 | S | S | S | S | S |
| 25 | 1035 | S | S | S | S | S |
| 26 | 1040 | S | R | S | S | S |
| 27 | 1050 | S | S | S | S | S |
| 28 | 1068 | S | S | S | S | S |
| 29 | 1088 | S | S | S | S | S |

R: Resistant; S: Susceptible

R: مقاوم؛ S: حساس

Dendrogram using Ward Method



شکل ۲- دندروگرام تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌های جو اسپانتانوم در ارزیابی توسط پنج جدایه سفیدک پودری

Fig. 2. Dendrogram of cluster analysis of genotypes of *Hordeum spontaneum* in evaluation by five isolates of powdery mildew

با ارزشی برای مقاومت به سفیدک پودری است ولی برای شناسایی نمونه‌های دارای مقاومت مؤثر باید تعداد زیادی ژنوتیپ مورد ارزیابی قرار گیرد. قرار گرفتن ژنوتیپ ۳۱۴ به‌طور مجزا از سایر ژنوتیپ‌ها در دندروگرام تجزیه خوشه‌ای با نتایج بررسی واکنش مقاومت ژنوتیپ‌ها در تطابق است چرا که ژنوتیپ ۳۱۴ تنها ژنوتیپ با واکنش مقاومت در برابر هر پنج جدایه مورد بررسی بود.

در دو منطقه مورد آزمایش، مقاومت نشان دادند به‌نحوی که فراوانی نمونه‌های مقاوم و نیمه‌مقاوم به‌ترتیب ۴/۴ و ۱/۱ درصد در کرج و گرگان بود. در تحقیق دریسیتل و دینور (Dreiseitl and Dinooor, 2004) بر روی ۱۲۱ نمونه جو اسپانتانوم نیز فقط نمونه ژنتیکی PI 466634 در برابر تمام جدایه‌های مورد بررسی واکنش مقاومت نشان داد. این نتایج نشان می‌دهد علی‌رغم این که ژرم‌پلاسم جو منبع

ژنی وابسته به نژاد است که خصوصیات ژنتیکی آن به‌طور کامل مورد مطالعه قرار گرفته و ۳۲ آلل شناخته‌شده را در بر می‌گیرد که مجموعه‌ای از آلل‌های حقیقی مربوط به کروموزوم IH است (Kintzios *et al.*, 1995). لاین Algerian به‌عنوان والد دهنده ژن مقاومت *Mla1* شناخته شده است که به همراه ژنی دیگر به نام *Ml(A12)* حضور دارد (Jorgensen, 1992).

هیچ ژنی با مقاومت مؤثر اختصاصی در هریک از مناطق کرج، ساری و زرقان شناسایی نشد به‌طوری‌که در یک منطقه مؤثر و در دو منطقه دیگر غیر مؤثر باشد. این نتیجه نشان می‌دهد که فشار انتخابی برای خلق پاتوتیپ جدید یا افزایش جمعیت پاتوتیپ بیماری‌زا، به‌طور اختصاصی در هر یک از مناطق وجود نداشت. تمام جدایه‌های کرج و زرقان و یکی از دو جدایه ساری برای ژن‌های مقاومت *Mla23* و *MIP* دارای فاکتور بیماری‌زایی بودند (جدایه ساری ۱ برای *Mla23* و جدایه ساری ۲ برای *MIP*).

این نتیجه اهمیت لزوم تعدد نمونه‌برداری از قارچ عامل بیماری برای بررسی فاکتورهای بیماری‌زایی و شناسایی ژن‌های مقاومت مؤثر را نشان می‌دهد، به‌طوری‌که اگر نمونه‌برداری فقط منحصر به جدایه فاقد فاکتور بیماری‌زایی برای هریک از ژن‌های مقاومت مذکور بود، احتمال داشت به‌عنوان ژن‌های مقاومت مؤثر شناسایی شوند.

ژن‌های مقاومت *Mla3*، *Mla9*، *Mlo5* در *Mla1+Ml(A12)* و *Mla13+Ml(Ru3)* برابر جدایه‌های هر سه منطقه مورد آزمایش (کرج، ساری و زرقان) واکنش مقاومت نشان دادند. در تحقیق پاتپور و همکاران (Patpour *et al.*, 2005) برای ژن‌های *Mla3*، *Mla6*، *Mla7+MLAb*، *Mlg+MICP*، *Mla13*، *Mlo*، *Mlp*، *Mla16* و *Mla19* در هیچ‌یک از مناطق کشور بیماری‌زایی دیده نشد. بنابراین نتایج این تحقیق از لحاظ مؤثر بودن ژن‌های مقاومت *Mla3* و *Mla13* با تحقیق پاتپور و همکاران (۲۰۰۵) مطابقت دارد. جنسن و همکاران (Jensen *et al.*, 1992) حضور ژن *Mla3* و یک ژن دیگر با پیوستگی نزدیک را که *Ml(Tu2)* نامید، در چندین رقم و والد دهنده آن (Sv57-510/44) گزارش کردند. یورگنسن (Jorgensen, 1992) اظهار داشت ژن *Mla9* در رقم Welam که از رقم Monte Cristo گرفته شده است به همراه دو ژن دیگر (که آن‌ها را *Ml(MC3)* و *Ml(MC4)* نامید) حضور دارد. رقم Rupee به‌عنوان والد دهنده ژن مقاومت *Mla13* شناخته شده است (Jorgensen, 1992). رقم Rupee دو ژن مقاومت با پیوستگی نزدیک (با فاصله ۳/۹ درصد نوترکیبی) دارد. ژن *Mla13* غالب است و ژن دیگر تظاهر شبه‌غالب دارد (Moseman and Jorgensen, 1973). این ژن توسط گیس (Giese, 1981) به‌عنوان *Ml(Ru3)* نامیده شد. *Mla* یکی از مکان‌های

چندبعدی توانسته است این تفاوت‌ها را متمایز نماید و از این رو استفاده از آن مفید و لازم بود. در این تحقیق تعداد شش ژنوتیپ (۴۳۴، ۱۰۰۶، ۴۵۱، ۱۰۴۰، ۴۹۵ و ۵۵۵) با ژن مقاومت متفاوتی از مجموعه ژن‌های مقاومت موجود در لاین‌های ایزوژنیک مورد استفاده شناسایی شد. به‌منظور تعیین ژن مقاومت در این ژنوتیپ‌ها پیشنهاد می‌شود ارزیابی واکنش مقاومت در این ژنوتیپ‌ها با تعداد زیادتری از پاتوتیپ‌های سفیدک پودری انجام شود. همچنین با استفاده از نشانگرهای مولکولی قبلاً شناسایی شده می‌توان احتمال حضور ژن‌های جدید در این ژنوتیپ‌ها را بررسی کرد.

در ارتباط با هفده ژنوتیپ جو اسپانتانوم با واکنش حساسیت نسبت به تمام جدایه‌های مورد آزمایش، سه احتمال را می‌توان مطرح کرد؛ یا ژنوتیپ‌های مذکور فاقد ژن مقاومت به سفیدک پودری است، یا با توجه به مطابقت این نتایج با واکنش لاین‌های ایزوژنیک Pallas، P04B، P09، P010، P012، P016، P017، P020، P021، P023 و P024 وجود ژن‌های مقاوم *Mla8* یا *Mla7+Ml(No3)* یا *Mla10+Ml(Du2)* یا *Mla12+Ml(Em2)* یا *MlaK* یا *MlaK(1)* یا *Mlat* یا *Mlg* و *Mla(CP)* یا *Mla(La)* یا *Mlah*، در این ژنوتیپ‌ها محتمل است و یا این که ژنوتیپ‌های مذکور واجد مقاومت در مرحله گیاه بالغ هستند. بر این اساس پیشنهاد می‌شود مطالعه برای وجود مقاومت گیاه

تفاوت جدایه‌های کرج از لحاظ فاکتور بیماری‌زایی فقط برای *Mla6+ Mla14* در مقایسه با تفاوت جدایه‌های ساری از لحاظ فاکتور بیماری‌زایی برای ژن‌های مقاومت *Mla6+ Mla14* و *MlaP*، *Mla13* نشان‌دهنده تنوع بیشتر موجود در جمعیت پاتوتیپ‌های رایج در ساری است. این تفاوت، در نمودار بای‌پلات حاصل از مقیاس‌بندی چندبعدی با قرار گرفتن جدایه‌های کرج در مجاورت یکدیگر و جدایه‌های ساری دور از یکدیگر، به‌خوبی نشان داده شده است (شکل ۱). دورتر واقع شدن جدایه ساری ۱ از سایر جدایه‌ها ناشی از توان بیماری‌زایی کمتر آن است. علی‌رغم این که جدایه زرقان از لحاظ توان بیماری‌زایی شبیه جدایه کرج ۱ بود ولی در نمودار بای‌پلات، جدایه کرج ۱ به جدایه کرج ۲ نزدیک‌تر از جدایه زرقان بود (شکل ۱). علت این امر می‌تواند ناشی از نوع واکنش باشد به عبارت دیگر شباهت پاتوتیپ‌ها به یکدیگر از شباهت آن‌ها در بیماری‌زایی یا عدم بیماری‌زایی در مجموعه واحدی از ژنوتیپ‌ها حاصل می‌شود و نه از توان بیماری‌زایی آن‌ها که حاصل از تظاهر کلی پاتوتیپ است. به عبارت دیگر دو پاتوتیپ که توان بیماری‌زایی مشابهی دارند الزاماً ممکن است مشابه نباشند چرا که توان بیماری‌زایی مشابه ممکن است ناشی از تعداد یکسان فاکتورهای بیماری‌زایی در آن‌ها باشد و نه مشابه بودن فاکتورهای بیماری‌زایی در آن‌ها. استفاده از نمودار بای‌پلات مبتنی بر مقیاس‌بندی

آزمایش (کرج، ساری و زرقان) شناسایی می‌شوند. بر این اساس پیشنهاد می‌شود پس از انجام آزمایش‌های تکمیلی توسط تعداد زیادتری از پاتوتیپ‌ها و تأیید مؤثر بودن مقاومت، از این ژن‌ها در برنامه‌های اصلاحی مقاومت به سفیدک پودری جو برای مناطق مذکور استفاده شود.

بالغ در این ژنوتیپ‌ها صورت گیرد. با توجه به مقاومت لاین‌های ایزوژنیک P01، P02، P08B، P011 و P022 در برابر تمام جدایه‌ها، ژن‌های مقاومت *Mla1+Ml(A12)*، *mlo5*، *Mla9*، *Mla3* و *Mla13+Mla(Ru3)* به‌عنوان ژن‌های مؤثر برای مقاومت در سفیدک پودری در سه منطقه مورد

References

- Ayliffe, M. A., and Lagudah, E. S. 2004. Molecular genetics of disease resistance in cereals. *Annals of Botany* 94: 765-773.
- Dreiseitl, A., and Bockelman, H. E. 2003. Sources of powdery mildew resistance in a wild barley collection. *Genetic Resources and Crop Evolution* 50(4): 345-350.
- Dreiseitl, A., and Dinooor, A. 2004. Phenotypic diversity of barley powdery mildew resistance sources. *Genetic Resources and Crop Evolution* 51(3): 251-257.
- Fischbeck, G. 1981. Ergebnisse von untersuchungen iiber krankheitsresistenz in Israelischen populationen von *Hordeum spontaneum* Im hmblick auf gegenwartsprobleme der resistenziichtung. *Tagungsbericht der "Arbeitsgemeinschaft der Saatzuchtler"* Gumpenstein 32: 3-13.
- Giese, H. 1981. Powdery mildew resistance genes in the *Ml-a* and *Ml-k* regions on barley chromosome 5. *Hereditas* 95: 51-62.
- Jahoor, A., and Fischbeck, G. 1987. Sources of resistance to powdery mildew in barley lines derived from *Hordeum spontaneum* collected in Israel. *Plant Breeding* 99(4): 274-281.
- Jensen, H. P., Christensen, E., Jorgensen, J. H., and Helms, J. 1992. Powdery mildew resistance genes in 127 Northwest European spring barley varieties. *Plant Breeding* 108: 210-228.
- Jorgensen, J. H. 1992. Multigene Families of Powdery Mildew Resistance Genes in Locus *Mla* on Barley Chromosome 5. *Plant Breeding* 108: 53-59.
- Jorgensen, J. H. 1994. Genetics of powdery mildew resistance in barley. *Critical Review of Plant Science* 13: 97-119.

- Kintzios, S., Jahoor, A., and Fischbeck, G. 1995.** Powdery mildew resistance genes *Mla29* and *Mla32* in *H. spontaneum* derived winter barley lines. *Plant Breeding* 114: 265-266.
- Mains E. B., and Dietz, S. M. 1930.** Physiologic forms of barley mildew, *Blumeria graminis* f.sp. *hordei*. *Phytopathology* 20: 229-239.
- Moseman, J. G., and Jorgensen, J. H. 1973.** Differentiation of resistance genes at the *Ml-a* locus in six pairs of isogenic barley lines. *Euphytica* 22: 189-196.
- Moseman, J. G., Baenziger, P. S., and Kilpatrick, R. A. 1981.** Genes Conditioning resistance of *Hordeum spontaneum* to *Erysiphe graminis* f. sp. *hordei*. *Crop Science* 21: 229-232.
- Naghavi, M. R., Ghanadha, M. R., Yazdi Samadi, B., and Torabi, M. 2001.** Inheritance of resistance to barley powdery mildew at adult plant stage. *Seed and Plant* 17:140-150 (in Persian).
- Panstruga, R., and Schulze-Lefert, P. 2002.** Live and let live: Insights into powdery mildew disease and resistance. *Molecular Plant Pathology* 3: 495-502.
- Patpour, M., Torabi, M., Aghnum, R. Dadrezaie, S. T., Afshari, F., and Ahmadian Moghaddam, M. S. 2005.** Virulence factors of barley powdery mildew pathogen and their variation in some parts of Iran 2000-2002. *Seed and Plant* 21: 303-315 (in Persian).
- Patpour, M., Dehghan, M. A., and Afshari, F. 2006.** Reactions of some Dryland Barley Advanced Lines to Powdery Mildew (*Blumeria graminis* f.sp. *hordei* Em. Marchal). *Seed and Plant* 22(3): 431-441 (in Persian).
- Repkova, J., Dreiseitl, A., Lízal, P., Kyjovská, Z., Teturová, K., Psočková, R., and Jahoor, A. 2006.** Identification of resistance genes against powdery mildew in four accessions of *Hordeum vulgare* ssp. *spontaneum*. *Euphytica* 151(1): 23-30.
- Segal, A., Manisterski, J., Fischbeck, G., and Wahl, I. 1980.** How plant populations defend themselves in natural ecosystems. In: Horsfall, J. G., and Cowling, E. B. (eds.) *Plant Disease Volume V. How Plants Defend Themselves*. pp. 76-102. London: Academic Press.
- Shaffaaedin, S., Patpour, M., Dehghan, M. A., and Torabi, M. 2003.** Study of powdery mildew reaction of two rowed barley landraces from West of Iran. *Seed and Plant* 19: 25-36 (in Persian).

Williams, K. J. 2003. The molecular genetics of disease resistance in barley. *Australian Journal Agricultural Research* 54: 1065-1079.

Zhou, F. S., Kurth, J. C., Wei, F. S., Elliott, C., Vale, G., Yahiaoui, N., Keller, B., Somerville, S., Wise, R., and Schulze-Lefert, P. 2001. Cell-autonomous expression of barley *Mla1* confers race-specific resistance to the powdery mildew fungus via a Rar1-independent signaling pathway. *Plant Cell* 13: 337-350.