

بررسی اثربخشی ژن‌های مقاومت به بیماری سفیدک پودری جو و تنوع

بیماری‌زایی پاتوتیپ‌های *Blumeria graminis* f.sp. *hordei*

Evaluation of the Effectiveness of Barley Powdery Mildew Resistance Genes and Pathogenicity Diversity of *Blumeria graminis* f. sp. *hordei* Pathotypes

مهدی زهراوی^{۱*}، شقایق شهوه^۲، رضا خلیلی آذر^۳، مهران پاتپور^۱، شاهپور ابراهیم‌نژاد^۳، محمدرضا بی‌همتا^۴

۱- مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

۲- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرج، کرج، ایران

۳- مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی مازندران، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی،

ساری، ایران

۴- گروه زراعت و اصلاح نباتات، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

Zahravi M^{۱*}, Shahveh Sh^۲, Khaliliazar R^۲, Patpour M^۱, Ebrahimnejad Sh^۳,
Bihamta MR^۴

1- Seed and Plant Improvement Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran

2- Islamic Azad University, Karaj Branch, Karaj, Iran

3- Mazandaran Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Sari, Iran

4- Department of Agronomy and Plant Breeding, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: Mehdi.zahravi@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۵/۲۸ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۳/۲۲

چکیده

سفیدک پودری یکی از مهم‌ترین بیماری‌های در گیاه جو است. بسیاری از ژن‌های مقاومت به این بیماری در اثر تغییر در جمعیت بیمارگر و ظهور نژادهای بیماری‌زا، بی‌اثر شده‌اند و لذا شناسایی ژن‌های دارای مقاومت مؤثر در برابر پاتوتیپ‌های این بیماری از اهمیت زیادی برخوردار است. بدین منظور ابتدا نسبت به جمع‌آوری جدایه‌های بیمارگر از نقاط مختلف کشور اقدام شد. جدایه‌های جمع‌آوری شده، تکثیر، خالص‌سازی و بر روی مجموعه‌ای از لاین‌های ایزوژنیک حاوی ژن‌های مقاومت متفاوت، تلقیح شدند. نتایج واکنش لاین‌های ایزوژنیک در برابر پاتوتیپ‌های مورد مطالعه نشان‌دهنده وجود تنوع زیادی در مقاومت این لاین‌ها و همچنین پاتوتیپ‌ها از لحاظ تنوع بیماری‌زایی بود. دامنه تیپ آلودگی برای پاتوتیپ‌های مختلف از ۲ تا ۴ و درصد ضریب تغییرات آن از ۱۹/۳۵ تا ۶۲/۸۳ درصد متغیر بود. ژن *mlo5* مؤثرترین مقاومت را ظاهر ساخت و بعد از آن، ژن‌های مقاومت *Mla9* و *Mla13+MI(Ru3)* بیشترین اثربخشی را نشان دادند. به‌منظور کاهش ابعاد داده‌ها و تفکیک و تمایز بهتر ژن‌های مقاومت، از روش تجزیه به مؤلفه‌های اصلی استفاده شد و نتایج نشان داد که ۸۵/۱۷ درصد از تغییرات در داده‌ها توسط پنج مؤلفه اصلی اول قابل توجیه است. ژن‌های مقاومت همچنین با استفاده از تجزیه خوشه‌ای در چهار گروه متمایز شدند. نتایج این تحقیق تنوع بالا و پویایی جمعیت پاتوتیپ‌های سفیدک پودری جو در کشور را نشان داد که بر اهمیت پایش مداوم این تغییرات تأکید دارد. از بین ژن‌های مقاومت مورد بررسی *Mla9* و ترکیب ژنی *Mla13+MI(Ru3)* کارایی بالاتری نشان دادند که می‌توان هر یک را به‌طور مجزا در برنامه‌های اصلاحی وارد نمود و یا از راهکار تجمیع استفاده نمود. همچنین ژن‌های مقاومت *Mla9*، *Mla22*، *Mla1* و *Mla7+MI(No3)* جهت استفاده در ناحیه ساری و ژن‌های مقاومت *Mla9*، *Mla13+MI(Ru3)* و *Mla7+MI(No3)* جهت استفاده در ناحیه گرگان قابل توصیه می‌باشند. از سوی دیگر ترکیب ژنی *Mla12+MI(Em2)* و ژن مقاومت *Mlh*، غیر مؤثر شناخته شدند و توصیه شد که از کاربرد آن‌ها اجتناب شود و یا راهبردهای احتیاطی لازم در این رابطه اتخاذ شود.

واژه‌های کلیدی

بیمارگر

ژن مقاومت

ژنوتیپ‌های افتراقی

میزبان

مقدمه

جو (*Hordeum vulgare* L.) چهارمین محصول مهم در جهان در میان غلات، محسوب می‌شود و در تولید خوراک دام، مالت و غذا مورد استفاده قرار می‌گیرد. در سال‌های اخیر، مصرف جو به‌عنوان ماده غذایی به دلیل خواص سلامت‌بخش آن، محبوبیت بیشتری یافته است (Geng et al. 2022; Lukinac and Jukić 2022). این غله باستانی اکنون در گستره وسیع‌تری از محیط‌ها نسبت به سایر غلات کشت می‌شود و متوسط سطح برداشت آن در سراسر جهان حدود ۴۸/۹ میلیون هکتار برآورد شده است (Ovesna et al. 2023).

عوامل متعددی از قبیل تنش‌های زیستی و غیرزیستی عملکرد جو را کاهش می‌دهد. از جمله‌ی این عوامل، فقدان ژن‌هایی است که مقاومت پایدار در برابر بیماری‌های قارچی را فراهم می‌کنند. سفیدک پودری یکی از شایع‌ترین بیماری‌های قارچی است که غلات را تحت تأثیر قرار می‌دهد. عامل این بیماری در جو، قارچ اجباری *Blumeria graminis* (DC.) Golovin ex Speer f.sp. *hordei* Em. Marchal (Bgh) می‌باشد (Glawe 2008). این قارچ به‌عنوان یکی از مهم‌ترین بیماری‌های دارای اهمیت اقتصادی در جو شناخته می‌شود و می‌تواند موجب کاهش قابل توجه عملکرد شود. مطالعات متعددی نشان داده‌اند که قارچ سفیدک پودری جو به‌سرعت نژادهای جدیدی تولید می‌کند و اسپورهای آن توسط باد در مسافت‌های طولانی پراکنده می‌شوند (Czembor and Czembor 2023). این بیماری در اکثر مناطق کشت جو در سراسر جهان، به‌ویژه در نواحی با اقلیم خنک و مرطوب، رخ می‌دهد (Guo et al. 2024). دوره رشد نسبتاً طولانی همراه با اقلیم خنک و مرطوب شرایط، مساعدی را برای رشد Bgh فراهم می‌کند. به همین دلیل، سفیدک پودری شایع‌ترین بیماری جو در اروپا محسوب می‌شود (Jørgensen and Wolfe 1994). علاوه بر این، جو در اروپا در سطوح وسیع کشت می‌شود و بیش از ۶۰ درصد از تولید جهانی جو از این قاره تأمین می‌گردد (Shakhatreh et al. 2010). کاهش عملکرد گیاه جو به میزان ۱۵-۱۰ درصد بر اثر سفیدک پودری در سطح جهان رایج است، اما در مناطق با اقلیم معتدل این کاهش می‌تواند به ۴۰ درصد نیز برسد (Czembor et al. 2000; Chaure et al. 2002). علاوه بر کاهش عملکرد دانه در

مزارعی که آلودگی سفیدک پودری وجود داشته است، ویژگی‌های کیفی نامطلوب برای تولید مالت از جمله افزایش میزان پروتئین دانه و عدم یکنواختی در اندازه دانه‌ها، رخ می‌دهد (Rehman et al. 2020).

کنترل سفیدک پودری و سایر بیماری‌های قارچی در مزارع جو به‌طور متداول با استفاده از قارچ‌کش‌ها و کشت ارقام مقاوم انجام شده است. استفاده از حفاظت شیمیایی شرایط را برای گزینش و ظهور نژادهای مقاوم به قارچ‌کش فراهم می‌کند (Patel et al. 2014)، اما کشت ارقام جو مقاوم از نظر اقتصادی زیست‌محیطی مطلوب‌ترین روش محسوب می‌شود. در واقع، کشت ارقام جو مقاوم به بیماری، مؤثرترین راهبرد برای کنترل بیماری‌های منتقل‌شونده از طریق هوا مانند سفیدک پودری است (Burdon et al. 2014). استفاده از ارقام مقاوم، کارآمدترین روش کنترل بیماری در نظام‌های زراعی پایدار محسوب می‌شود که باعث کاهش هزینه‌های مالی و نیروی کار برای کشاورزان می‌شود (Guo et al. 2024). مقاومت مؤثر نه تنها از ارقام زراعی محافظت می‌کند، بلکه تولید زادمایه^۱ و گسترش بیمارگر به مناطق وسیع‌تر که منجر به شیوع بیماری می‌شود را کاهش می‌دهد (Hovmoller et al. 2000). در کشت غلات از جمله جو، در اکثر موارد کنترل بیماری‌های قارچی بر اساس اصول مدیریت تلفیقی آفات^۲ (IPM) انجام می‌شود (Jørgensen and Wolfe 1994). این رویکرد، ترکیبی از روش‌های بیولوژیکی، زراعی، فیزیکی و شیمیایی است که با هدف کاهش ریسک‌های اقتصادی، بهداشتی و زیست‌محیطی به کار گرفته می‌شود. اخیراً، استفاده از مقاومت ژنتیکی به‌عنوان یکی از اجزای مدیریت تلفیقی آفات اهمیت بیشتری یافته است؛ این امر به دلیل اجرای سیاست‌های کشاورزی دوست‌دار محیط زیست در بسیاری از کشورهای جهان است (Czembor and Czembor 2023).

ژن‌های متعددی برای مقاومت به سفیدک پودری در جو شناسایی شده‌اند (Ames et al. 2015). این ژن‌ها سبب ایجاد مقاومت در مرحله گیاهچه‌ای و/یا مقاومت در گیاه بالغ^۳ (APR) می‌شوند.

¹ inoculum

² Integrated pest management

³ Adult Plant Resistance

کروموزوم جو توزیع شده‌اند و برخی از آنها شامل ژن‌های مقاومت مرحله گیاهچه‌ای/گیاه بالغ هستند. بیشتر این QTLها در ایجاد مقاومت جزئی نقش دارند، با اینحال گزینه مؤثری برای اصلاح ارقام جو مقاوم به سفیدک پودری محسوب می‌شوند (Guo et al. 2024).

این مطالعه با هدف ارزیابی اثربخشی ژن‌های مقاومت به بیماری سفیدک پودری در جو و همچنین ارائه تصویری جامع از تنوع پاتوتیپ‌های این بیماری در کشور انجام شد.

مواد و روش‌ها

به منظور جمع‌آوری جدایه‌های سفیدک پودری جو، در بهار سال ۱۳۹۰ به نواحی مختلف در کشور که بر روی گیاه جو، علائم بیماری مشاهده شده بود شامل گنبد، گرگان، هشتگرد، اصفهان، کرج، مشهد، ساری، شهرکرد، شیراز و زرکان عزیمت شد. در این نواحی با جدا کردن برگ‌های آلوده از بوته‌ها و قرار دادن آنها در داخل پاکت‌های کاغذی، نمونه‌برداری شده و نمونه‌های برگ‌ی به گلخانه واحد پاتولوژی بخش تحقیقات غلات مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر انتقال داده شد. در مرحله بعد، تکثیر جدایه‌ها بر روی رقم حساس افضل انجام گرفت. بدین منظور رقم افضل از قبل در داخل گلخانه در گلدان کشت شده بود و بعد از انتقال جدایه‌ها (جمع‌آوری شده از نواحی مختلف کشور) به گلخانه، برای تکثیر جدایه‌ها مورد استفاده قرار گرفت. تکثیر جدایه‌ها با مالش برگ‌های آلوده بر روی برگ رقم افضل (در زمان ده روز پس از کشت بذور) انجام شد. دمای گلخانه در طول رشد گیاهچه‌ها و انجام تلقیح بین ۲۰ الی ۲۲ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. بعد از تکثیر جدایه‌ها، نسبت به خالص سازی آنها اقدام شد. بدین منظور تک کلنی قارچ، با مالش گوش‌پاک‌کن از روی برگ‌ها جدا شده و بر روی رقم حساس افضل تلقیح شد. شرایط نگهداری گلدان‌ها حاوی بوته‌های تلقیح شده جهت استقرار و توسعه بیماری مشابه مرحله قبل بود. سپس برای تعیین پاتوتیپ جدایه‌های تکثیر شده، اسپور آنها به‌طور جداگانه بر روی لاین‌های ایزوژنیک تلقیح شد. لاین‌های ایزوژنیک مورد استفاده در این تحقیق، توسط دانشگاه واگنینگن هلند از طریق انجام تلاقی با رقم Pallas به‌عنوان والد مادری، ایجاد شده بودند

ژن‌هایی که در هر دو مرحله گیاهچه‌ای و بالغ عمل می‌کنند، مقاومت در تمام مراحل رشد^۱ (ASR) را ایجاد می‌نمایند. مقاومت می‌تواند کامل (مصونیت) یا ناقص (مقاومت جزئی)، وابسته به نژاد یا غیروابسته به نژاد و پایدار (مانند مقاومت *mlo*) باشد. ژن‌های کیفی، مقاومت میزبان را نسبت به نژادهای ناپرازار (avirulent) بیمارگر یا حساسیت نسبت به نژادهای پرازار (virulent) تعیین می‌کنند. تاکنون نزدیک به ۱۰۰ ژن کیفی گزارش شده است که بیشتر آنها در کروموزوم 1H و به‌ویژه به‌صورت آلل‌های *Mla* قرار دارند (Dreiseitl 2020). با این حال، مقاومت ژن-در-مقابل-ژن، اغلب در تعاملات بین گیاهان و بیمارگر سازگار با میزبان مشاهده می‌شود. براساس مدل عملکردی ژن‌های مقاومت (R) در سیستم ژن-در-مقابل-ژن (Flor 1971)، ویژگی‌های ژن مقاومت (R) در میزبان نسبت به ژن پرازاری در نژاد مکمل بیمارگر، تعیین‌کننده است. در این حالت استفاده از ژن‌های R خاص در نهایت باعث تکامل بیمارگرها و غلبه آنها بر مقاومت می‌شود (Cowger et al. 2018; Golzar et al. 2016). سیستم دیگر تعامل بین میزبان و بیمارگر از نوع مقاومت ژن *mlo* است. ژن *mlo* یک ژن فاقد عملکرد، غیر اختصاصی و مغلوب است و مقاومت گسترده‌ای در برابر کل گونه‌های سفیدک پودری فراهم می‌کند (Dreiseitl 2020). این ژن به‌طور گسترده در برنامه‌های اصلاحی جو بهاره اروپا استفاده شده است (Dreiseitl 2017). هرچند اصلاح‌گران توانسته‌اند اثرات پلیوتروپیک ژن *mlo* شامل لکه‌های نکروتیک برگ و کاهش عملکرد دانه را برطرف کنند، همچنان توصیه می‌شود که این ژن در اصلاح جو پاییزه استفاده نشود؛ چراکه حضور *mlo* در هر دو نوع جو بهاره و پاییزه می‌تواند موجب سازگاری سالانه بیمارگر و در نهایت منجر به تکامل تدریجی و کاهش تدریجی کارایی این ژن مقاومت منحصربه‌فرد شود (Jørgensen 1992).

علاوه بر ژن‌های وابسته به نژاد *Mla* و ژن غیر وابسته به نژاد *mlo* مکان‌های ژنی کمی (QTL) متعددی برای مقاومت به سفیدک پودری در جو گزارش شده‌اند (Ge et al. 2021; Piechota et al. 2019; 2020; Novakazi et al. 2020; Gupta et al. 2018; Ames et al. 2015; Li and Zhou 2011, Silvar et al. 2006, Shtaya et al. 2010). این QTLها در تمامی هفت

¹ All Stage Resistance

تجزیه به مؤلفه‌های اصلی کاهش داده شد و پراکنش نمونه‌ها در نمودار دو بعدی مؤلفه‌های اصلی بررسی شد. از آنجا که مقادیر واکنش مقاومت در برابر تمامی پاتوتیپ‌ها در بازه یکنواخت و محدود صفر تا ۴ اندازه‌گیری شده بودند، داده‌ها از نظر دامنه تغییرات و واحد اندازه‌گیری همگن تلقی شدند از این‌رو، استاندارسازی داده‌ها پیش از انجام تجزیه به مؤلفه‌های اصلی اعمال نگردید. در این شرایط، تجزیه به مؤلفه‌های اصلی بر اساس داده‌های خام و با استفاده از ماتریس کوواریانس انجام شد. این رویکرد از بروز سوگیری ناشی از تفاوت مقیاس متغیرها جلوگیری کرده و امکان حفظ الگوهای واقعی پاسخ زیستی ژن‌های مقاومت نسبت به پاتوتیپ‌های مختلف را فراهم می‌سازد. همچنین با انجام تجزیه خوشه‌ای بر اساس فواصل اقلیدسی و به روش وارد، ژن‌های مقاومت در قالب گروه‌های مختلف از یکدیگر متمایز شدند. تعیین محل برش دندروگرام بر اساس بررسی همزمان ساختار خوشه‌بندی در دندروگرام، الگوهای واکنش ژن‌ها در نقشه دمایی، و پراکنش نمونه‌ها در نمودارهای کاهش ابعاد (تجزیه به مؤلفه‌های اصلی) صورت گرفت، به گونه‌ای که خوشه‌های حاصل ضمن بیشینه‌سازی تمایز بین گروه‌ها از نظر الگوی واکنش مقاومت به پاتوتیپ‌های مختلف، از منظر زیستی نیز قابل تفسیر باشند. فاصله ژن‌های مقاومت با ترسیم نمودار مبتنی بر روش تجزیه مقیاس‌بندی چندبعدی نمایش داده شد. تجزیه و تحلیل‌های آماری و رسم نمودارها با کدنویسی در نرم‌افزار R، نسخه ۲.۳.۴ تحت محیط R studio، نسخه ۲۰۲۳.۹.۱.۴۹۴ انجام شد.

و هریک، دارای ژن مقاومت منحصر به فردی بودند (جدول ۱). هر لاین در دو تکرار، و در هر تکرار به صورت پنج عدد از بذر هر لاین در یک گلدان کشت شد و گلدان‌های مربوط به هر مجموعه از لاین‌های ایزوژنیک در یک سینی قرار داده شد. تلقیح لاین‌های ایزوژنیک به شیوه تکان دادن گلدان‌های حاوی اسپور تکثیر شده (توسط رقم افضل) بر روی آن‌ها انجام شد. بعد از انجام تلقیح، بر روی سینی حاوی گلدان‌ها، درپوش پلاستیکی قرار داده شد تا از اختلاط اسپور پاتوتیپ‌های مختلف جلوگیری شود. گلدان‌ها در شرایطی مشابه با مرحله قبل نگهداری شدند. واکنش گیاهچه لاین‌های ایزوژنیک ده روز پس از تلقیح بر اساس مقیاس صفر تا چهار مینز و دیتز (Mains and Dietz 1930)، یادداشت برداری شد (جدول ۲).

ماتریس واکنش لاین‌های ایزوژنیک در برابر پاتوتیپ‌ها با ترسیم نقشه دمایی نشان داده شد. آماره‌های توصیفی شامل حداقل، حداکثر، دامنه، میانگین، انحراف معیار و ضریب تغییرات پاتوتیپ‌ها محاسبه شد. با توجه به اینکه داده‌های مربوط به واکنش ژن‌های مقاومت در برابر پاتوتیپ‌ها ماهیت رتبه‌ای داشتند و الزامی به تبعیت از توزیع نرمال برای آن‌ها وجود نداشت، بررسی ارتباط بین پاتوتیپ‌ها با استفاده از ضریب همبستگی اسپیرمن انجام شد. همبستگی اسپیرمن یک روش ناپارامتری مبتنی بر رتبه‌ها است که نسبت به نرمال نبودن داده‌ها و وجود مقادیر پرت حساسیت کمتری دارد و برای سنجش روابط یکنواخت (صعودی یا نزولی) بین متغیرها مناسب است. استفاده از این روش امکان ارزیابی دقیق‌تر الگوهای همبستگی بین پاتوتیپ‌ها را بدون نقض مفروضات آماری فراهم می‌کند. ابعاد داده‌ها توسط

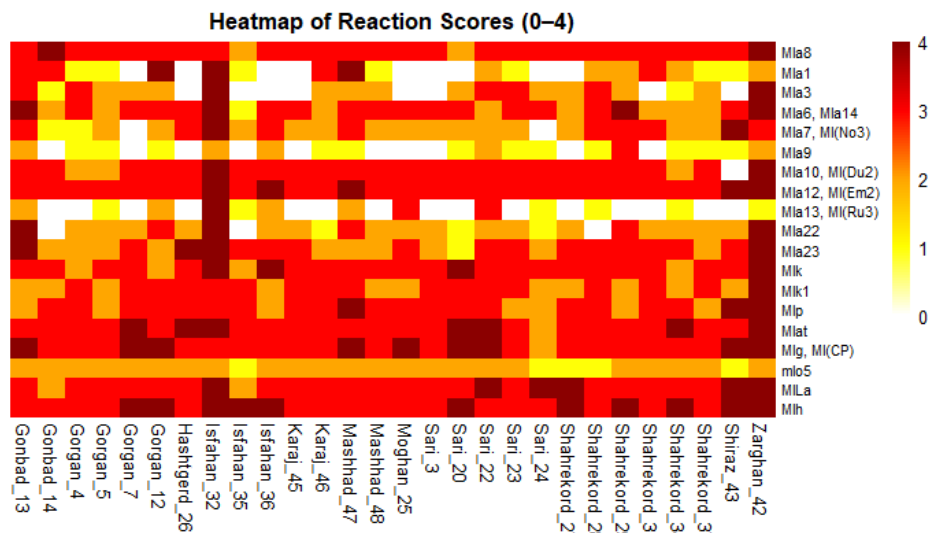
جدول ۱- لاین‌های ایزوژنیک مورد استفاده برای تفکیک پاتوتیپ‌های سفیدک پودری جو

شماره	نام لاین	ژن مقاومت	شماره	نام لاین	ژن مقاومت
۱	Pallas	<i>Mla8</i>	۱۱	P-013	<i>Mla23</i>
۲	P-01	<i>Mla1</i>	۱۲	P-016	<i>Mlk</i>
۳	P-02	<i>Mla3</i>	۱۳	P-017	<i>Mlk1</i>
۴	P-03	<i>Mla6, Mla14</i>	۱۴	P-019	<i>Mlp</i>
۵	P-04B	<i>Mla7, Ml(No3)</i>	۱۵	P-020	<i>Mlat</i>
۶	P-08B	<i>Mla9</i>	۱۶	P-021	<i>Mlg, Ml(CP)</i>
۷	P-09	<i>Mla10, Ml(Du2)</i>	۱۷	P-022	<i>mlo5</i>
۸	P-010	<i>Mla12, Ml(Em2)</i>	۱۸	P-023	<i>MILa</i>
۹	P-011	<i>Mla13, Ml(Ru3)</i>	۱۹	P-024	<i>Mlh</i>

۱۰	P-012	Mla22
----	-------	-------

جدول ۲- مقیاس مینز و دیتز (Mains and Dietz 1930) مورد استفاده برای ارزیابی واکنش لاین های ایزوژنیک مورد استفاده در برابر پاتوتیپ های سفیدک پودری

تیپ آلودگی	علائم
۰	بدون بروز هرگونه علائم قابل مشاهده (مصونیت کامل)
۱	لکه های نکروتیک بسیار ریز، معمولاً به صورت نقاط کوچک، بدون رشد میسلیمی و بدون تشکیل اسپور (واکنش فوق حساس)
۲	کلروز نسبتاً فراوان، رشد میسلیمی کاهش یافته و بدون اسپورزایی یا با اسپورزایی بسیار اندک
۳	رشد میسلیمی متوسط همراه با اسپورزایی متوسط، در برخی موارد کلروز مشاهده می شود
۴	اسپورزایی فراوان با کلنی های کاملاً توسعه یافته و در برخی موارد تشکیل جزایر سبز



شکل ۱- نقشه دمایی واکنش لاین های ایزوژنیک (حامل ژن های مقاومت) در برابر پاتوتیپ های مختلف سفیدک پودری جو بر مبنای واکنش در دامنه صفر تا چهار (Mains and Dietz 1930)

نتایج و بحث

آلودگی برای پاتوتیپ های مختلف از ۲ تا ۴ متغیر بود. پاتوتیپ های Gorgan_5, Sari_22, Gonbad_13 و Isfahan_32 دارای کمترین دامنه برای تیپ آلودگی (۲) بودند و پاتوتیپ های Isfahan_35, Sari_24, Gonbad_14, Shahrekord_27, Gorgan_7, Hashtgerd_26, Moghan_25, Sari_20 و Shiraz_43 دامنه کامل (۴) داشتند. همچنین براساس آماره ضریب تغییرات، پاتوتیپ های Isfahan_32, Sari_22, Gonbad_13 و Zarghan_42 به ترتیب با ضریب تغییرات ۱۹/۳۵، ۲۳/۹۲، ۲۴/۲۲ و ۲۷/۷۶ درصد، کمترین تنوع و پاتوتیپ های Isfahan_35, Sari_24, Shiraz_43 و Gorgan_7 به ترتیب با ۶۲/۸۳، ۶۲/۰۶، ۵۸/۳۹ و ۵۶/۸۶ درصد، بیشترین تغییرات در تیپ آلودگی را بر روی لاین های مورد بررسی ظاهر نمودند.

نتایج واکنش لاین های ایزوژنیک در برابر پاتوتیپ های مورد مطالعه نشان دهنده وجود تنوع زیادی در مقاومت این لاین ها و همچنین در پاتوتیپ ها از لحاظ تنوع بیماری زایی بود (شکل ۱). براین اساس ۲۸ پاتوتیپ متفاوت شناسایی شد. که میزان پرآزایی با محاسبه میانگین تیپ آلودگی ظاهر شده در مقابل هر پاتوتیپ قابل بررسی و مقایسه می باشد (جدول ۳). آماره های توصیفی برای تیپ آلودگی لاین های ایزوژنیک در برابر پاتوتیپ های متفاوت در جدول ۳ ارائه شده است. ملاحظه می شود که بزرگترین میانگین تیپ آلودگی مربوط به پاتوتیپ های Isfahan_32, Zarghan_42, Gonbad_13 و Mashhad_47 (به ترتیب ۳/۵۸، ۳/۴۷، ۲/۹۵ و ۲/۸۹) و کوچکترین میانگین، مربوط به پاتوتیپ های Isfahan_35, Sari_24, Gonbad_14 و Sari_3 (به ترتیب ۱/۹۵، ۲/۰، ۲/۱۱ و ۲/۱۶) بود. دامنه تیپ

(نسبت به ۱۲ لاین)، ظاهر شدند. این پاتوتیپ‌ها به‌طور مشترک برای لاین‌های حاوی *Mla1*، *Mla3*، *Mla7+MI(No3)*، *Mla9*، *Mla13+MI(Ru3)*، *Mla22*، *Mla23*، *Mlk1*، *Mlp* و *mlo5* فاقد پرازاری بودند.

براساس واکنش مقاومت لاین‌های ایزوژنیک مشخص شد که لاین‌های حاوی ژن مقاومت *mlo5* در برابر تمام ۲۸ پاتوتیپ، واکنش مقاومت نشان داد، لذا مؤثرترین مقاومت از سوی این ژن تظاهر پیدا کرده است (شکل ۱). بعد از آن، ژن مقاومت *Mla9* در برابر پاتوتیپ *Shahrekord_29* حساس بود. لاین حاوی ترکیب ژنی *Mla13+MI(Ru3)* در برابر ۲۵ پاتوتیپ مقاومت نشان داد و در برابر پاتوتیپ‌های *Sari_22*، *Moghan_25* و *Isfahan_32* حساس بود. لاین حاوی ژن مقاومت *Mla22* در برابر ۲۲ پاتوتیپ، تظاهر مقاومت داشت و در برابر پاتوتیپ‌های *Isfahan_32*، *Gorgan_12*، *Gonbad_13*، *Shahrekord_29*، *Isfahan_32* و *Zarghan_42* حساسیت نشان داد. لاین‌های حاوی ژن‌های مقاومت *Mla1* و *Mla3* در برابر ۲۱ پاتوتیپ مقاومت نشان دادند. این لاین‌ها از لحاظ حساسیت در برابر پاتوتیپ‌های *Isfahan_36*، *Shiraz_43*، *Karaj_46*، *Sari_3* و *Isfahan_36* اشتراک داشتند، ولی واکنش متفاوتی در برابر پاتوتیپ‌های *Gorgan_4*، *Gorgan_12*، *Gonbad_14*، *Sari_22*، *Sari_23*، *Shahrekord_28*، *Shahrekord_31*، *Karaj_46* و *Mashhad_47* نشان دادند. لاین حاوی ترکیب ژنی *Mla7+MI(No3)* در برابر ۱۸ پاتوتیپ مقاومت نشان داد و در برابر پاتوتیپ‌های *Gonbad_13*، *Hashtgerd_26*، *Shahrekord_28*، *Shahrekord_29*، *Shahrekord_31* و *Shiraz_43* حساس بود. لاین‌های حاوی ژن‌های مقاومت *Mla23* و *Mlk1* در برابر ۱۱ پاتوتیپ مقاومت نشان دادند. این لاین‌ها از لحاظ حساسیت در برابر پاتوتیپ‌های *Gorgan_7*، *Sari_22*، *Sari_23*، *Hashtgerd_26*، *Shahrekord_28*، *Shahrekord_31*، *Isfahan_32*، *Isfahan_35*، *Zarghan_42* و *Karaj_45* اشتراک داشتند، ولی واکنش متفاوتی در برابر پاتوتیپ‌های *Gorgan_5*، *Sari_24*، *Gorgan_12*، *Gorgan_4*، *Sari_3*، *Gonbad_13*،

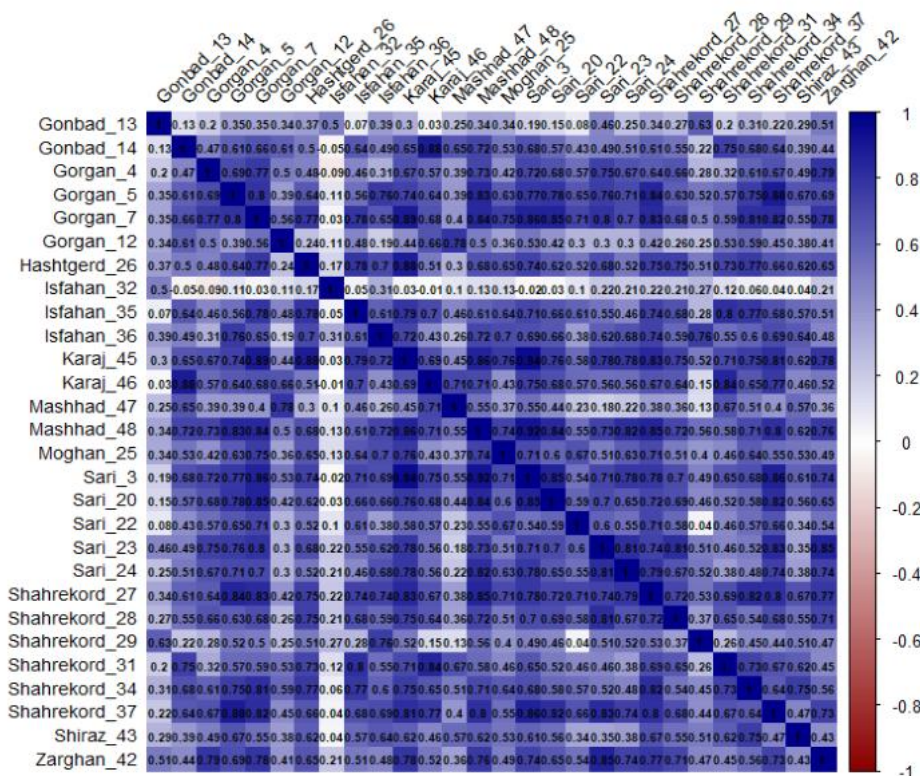
براساس نتایج واکنش لاین‌های ایزوژنیک در برابر پاتوتیپ‌های مورد مطالعه (شکل ۱) مشخص شد که پاتوتیپ *Isfahan_32* دارای بیشترین میزان پرازاری می‌باشد به‌طوری که فقط دو لاین حاوی ژن‌های مقاومت *Mla9* و *mlo5* در برابر آن واکنش مقاومت نشان دادند. بعد از آن پاتوتیپ *Zarghan_42* قرار دارد که صرفاً برای لاین‌های حاوی ژن‌های مقاومت *Mla1*، *Mla9*، *Mla13+MI(Ru3)* و *mlo5* فاقد پرازاری بود. سه پاتوتیپ *Gonbad_13*، *Shahrekord_28* و *Mashhad_47* برای پنج لاین، با ناپرازاری ظاهر شدند و لذا از لحاظ میزان پرازاری در رتبه بعدی قرار می‌گیرند. این پاتوتیپ‌ها برای لاین‌های حاوی *Mla9*، *Mla13+MI(Ru3)* و *mlo5* به‌طور مشترک دارای ناپرازاری بودند. پاتوتیپ‌های *Sari_22*، *Hashtgerd_26*، *Shahrekord_29* و *Shahrekord_31* برای شش لاین، دارای ناپرازاری بودند. تمام این پاتوتیپ‌ها برای لاین حاوی ژن مقاومت *mlo5* ناپرازاری داشتند. پاتوتیپ‌های *Gorgan_7*، *Gorgan_12*، *Sari_23*، *Moghan_25* و *Karaj_45* برای هفت لاین دارای ناپرازاری بودند. لاین‌های حاوی *Mla9*، *Mla7+MI(No3)* و *mlo5* به‌طور مشترک در برابر این پاتوتیپ‌ها، مقاوم بودند. پاتوتیپ‌های *Sari_3*، *Isfahan_36*، *Shiraz_43* و *Karaj_46* برای هشت لاین، ناپرازاری داشتند. لاین‌های حاوی *Mla3*، *Mla9*، *Mla13+MI(Ru3)* و *Mla22* در برابر این پاتوتیپ‌ها مقاوم بودند. پاتوتیپ‌های *Gorgan_4*، *Sari_20*، *Shahrekord_27* و *Mashhad_48* با پرازاری نسبت به نه لاین ظاهر شدند. لاین‌های حاوی *Mla1*، *Mla7+MI(No3)*، *Mla9*، *Mla13+MI(Ru3)* و *Mla22* در برابر این پاتوتیپ‌ها واکنش مقاومت داشتند. پاتوتیپ‌های *Gonbad_14* و *Shahrekord_37* در برابر ده لاین ناپرازار بودند. لاین‌های حاوی *Mla3*، *Mla6+Mla14*، *Mla9*، *Mla7+MI(No3)*، *Mla13+MI(Ru3)* و *mlo5* در برابر این پاتوتیپ‌ها، مقاوم ظاهر شدند. پاتوتیپ‌های *Shahrekord_34* و *Isfahan_35* نسبت به ۱۱ لاین، ناپرازار بودند. لاین‌های حاوی *Mla1*، *Mla3*، *Mla6+Mla14*، *Mla9*، *Mla7+MI(No3)*، *Mla13+MI(Ru3)*، *Mla22*، *Mlk* و *mlo5* در برابر این پاتوتیپ‌ها، مقاوم بودند. و در نهایت پاتوتیپ‌های *Gorgan_5* و *Sari_24* با کمترین میزان پرازاری

جدول ۳- آماره‌های توصیفی برای تیپ آلودگی براساس واکنش لاین‌های ایزوژنیک (حامل ژن‌های مقاومت) نسبت به پاتوتیپ‌های سفیدک پودری جو

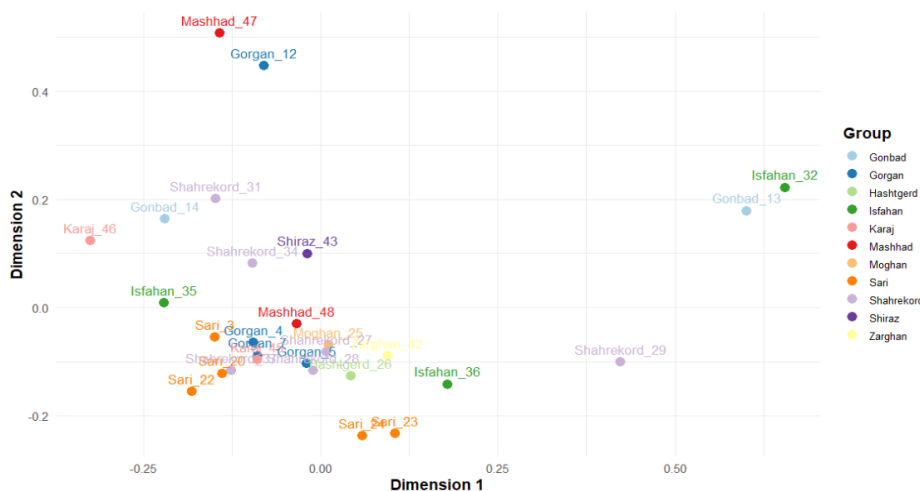
پاتوتیپ	دامنه	حداقل	حداکثر	میانگین	انحراف معیار	ضریب تغییرات (درصد)
Gonbad_13	۲	۲	۴	۲/۹۵	۰/۷۱	۲۳/۹۲
Gonbad_14	۴	۰	۴	۲/۱۱	۱/۲۰	۵۶/۸۶
Gorgan_4	۳	۰	۳	۲/۲۶	۰/۹۳	۴۱/۲۵
Gorgan_5	۲	۱	۳	۲/۲۱	۰/۷۱	۳۲/۲۷
Gorgan_7	۴	۰	۴	۲/۳۷	۱/۳۸	۵۸/۳۹
Gorgan_12	۳	۱	۴	۲/۷۴	۰/۸۱	۲۹/۴۴
Hashtgerd_26	۴	۰	۴	۲/۳۷	۱/۳۴	۵۶/۶۷
Isfahan_32	۲	۲	۴	۳/۵۸	۰/۶۹	۱۹/۳۵
Isfahan_35	۴	۰	۴	۱/۹۵	۱/۲۲	۶۲/۸۳
Isfahan_36	۴	۰	۴	۲/۵۳	۱/۱۲	۴۴/۴۹
Karaj_45	۳	۰	۳	۲/۲۱	۱/۲۳	۵۵/۵۷
Karaj_46	۳	۰	۳	۲/۳۷	۰/۹۰	۳۷/۷۹
Mashhad_47	۳	۱	۴	۲/۸۹	۰/۸۱	۲۷/۹۶
Mashhad_48	۳	۰	۳	۲/۲۶	۰/۹۹	۴۳/۸۰
Moghan_25	۴	۰	۴	۲/۳۷	۱/۱۶	۴۹/۱۸
Sari_3	۳	۰	۳	۲/۱۶	۱/۲۱	۵۶/۲۶
Sari_20	۴	۰	۴	۲/۳۷	۱/۳۰	۵۴/۸۹
Sari_22	۲	۲	۴	۲/۸۴	۰/۶۹	۲۴/۲۲
Sari_23	۳	۰	۳	۲/۴۲	۰/۹۰	۳۷/۲۴
Sari_24	۴	۰	۴	۲/۰	۱/۱۱	۵۵/۲۸
Shahrekdord_27	۴	۰	۴	۲/۲۶	۱/۲۴	۵۴/۸۰
Shahrekdord_28	۳	۰	۳	۲/۴۷	۰/۹۶	۳۸/۹۸
Shahrekdord_29	۴	۰	۴	۲/۶۸	۰/۸۹	۳۲/۹۸
Shahrekdord_31	۳	۰	۳	۲/۳۷	۱/۱۲	۴۷/۱۲
Shahrekdord_34	۳	۱	۴	۲/۳۷	۰/۹۰	۳۷/۷۹
Shahrekdord_37	۳	۰	۳	۲/۲۶	۰/۸۷	۳۸/۵۳
Shiraz_43	۴	۰	۴	۲/۴۲	۱/۵۰	۶۲/۰۶
Zarghan_42	۳	۱	۴	۳/۴۷	۰/۹۶	۲۷/۷۶

جغرافیایی تطابق داشت و در برخی موارد با آن در تناقض بود که خود نشان‌دهنده تنوع بالای درون جمعیتی پاتوتیپ‌ها می‌باشد. به‌عنوان مثال پاتوتیپ‌های با منشاء ساری و همچنین اکثر پاتوتیپ‌های با منشاء گرگان در نزدیکی یکدیگر واقع شدند (تجمع نشان دادند)، برعکس پاتوتیپ‌های با منشاء اصفهان در سطح نمودار، پراکنش نشان دادند. پاتوتیپ‌های با منشاء شهرکرد نیز دارای پراکنندگی نسبی بودند به عبارت دیگر نه به اندازه پاتوتیپ‌های ساری و گرگان، مجتمع بودند و نه پراکنش گسترده‌ای در حد پاتوتیپ‌های با منشاء اصفهان داشتند.

به‌منظور بررسی دقیق‌تر ارتباط بین پاتوتیپ‌های مورد بررسی، ضرایب همبستگی آن‌ها با استفاده از روش مقیاس‌بندی چند بعدی در فضای دو بعدی، نگاشت شد (شکل ۳). این نمودار، تفکیک و تمایز پاتوتیپ‌ها را به خوبی نشان داد. به‌عنوان مثال پاتوتیپ‌های Isfahan_32 و Gonbad_13، دورتر از سایر پاتوتیپ‌ها در قسمت سمت راست نمودار قرار گرفتند. همچنین پاتوتیپ‌های Mashhad_47 و Gorgan_12 در قسمت سمت چپ و بالای نمودار، به‌طور مجزا از سایر پاتوتیپ‌ها واقع شدند. موقعیت قرار گرفتن پاتوتیپ‌ها در این نمودار تا حدی با فواصل



شکل ۲- ماتریس همبستگی بین پاتوتیپ های سفیدک پودری بر اساس واکنش لاین های ایزوژنیک مقاوم به سفیدک پودری جو



شکل ۳- نگاهت گرافیکی ارتباط پاتوتیپ های سفیدک پودری بر اساس واکنش لاین های ایزوژنیک حاوی ژن های مقاومت توسط روش مقیاس بندی چند بعدی

نتایج تجزیه به مؤلفه های اصلی نشان داد که ۸۵/۱۷ درصد از تغییرات در داده ها توسط پنج مؤلفه اصلی اول قابل توجیه است. دو مؤلفه اصلی اول ۶۷/۶۳ درصد از واریانس داده ها را در بر داشتند (جدول ۴). در مؤلفه اصلی اول ضریب تمام پاتوتیپ ها مثبت بود و پاتوتیپ های Mashhad_48، Shahrekord_27، Karaj_45، Sari_3 و Shahrekord_37 ضرایب بزرگتری نسبت به سایر پاتوتیپ ها داشتند. ضریب مثبت برای تمام پاتوتیپ ها در این مؤلفه اصلی بیانگر این است که مقادیر بزرگتر در این مؤلفه اصلی با تیپ آلودگی بزرگتر لاین های ایزوژنیک در برابر پاتوتیپ ها حاصل می شود. لذا مقادیر عددی بزرگتر برای مؤلفه

نتایج تجزیه به مؤلفه های اصلی نشان داد که ۸۵/۱۷ درصد از تغییرات در داده ها توسط پنج مؤلفه اصلی اول قابل توجیه است. دو مؤلفه اصلی اول ۶۷/۶۳ درصد از واریانس داده ها را در بر داشتند (جدول ۴). در مؤلفه اصلی اول ضریب تمام پاتوتیپ ها مثبت بود و پاتوتیپ های Mashhad_48، Shahrekord_27، Karaj_45، Sari_3 و Shahrekord_37 ضرایب بزرگتری نسبت به سایر پاتوتیپ ها داشتند. ضریب مثبت برای تمام پاتوتیپ ها در این مؤلفه اصلی بیانگر این است که مقادیر بزرگتر در این مؤلفه اصلی با تیپ آلودگی بزرگتر لاین های ایزوژنیک در برابر پاتوتیپ ها حاصل می شود. لذا مقادیر عددی بزرگتر برای مؤلفه

Gonbad_13، Hashtgerd_26، Karaj_45، Sari_3، Moghan_25، Mashhad_48 و Sari_22 در ربع اول قرار گرفت که به معنای همبستگی مثبت آن‌ها با هر دو مؤلفه اصلی می‌باشد. از بین این پاتوتیپ‌ها، Sari_24 بیشترین همبستگی را با مؤلفه اصلی دوم داشت و با نزدیک‌ترین فاصله با آن قرار گرفت. بردار پاتوتیپ‌های Mashhad_47، Gorgan_12، Shahrekord_31، Gonbad_14، Karaj_46، Isfahan_35، Shahrekord_34، Isfahan_32 و Shahrekord_28 و Shiraz_43 در ربع چهارم قرار گرفت که به نشان‌دهنده همبستگی مثبت آن‌ها با مؤلفه اصلی اول و همبستگی منفی آن‌ها با مؤلفه اصلی دوم می‌باشد. از بین این پاتوتیپ‌ها، Mashhad_47 قوی‌ترین همبستگی (منفی) را با مؤلفه اصلی دوم داشت و با نزدیک‌ترین فاصله با آن قرار گرفت. با در نظر گرفتن پاتوتیپ‌ها با منشاء مشابه، مشاهده می‌شود که از بین پاتوتیپ‌های متعلق به گرگان، بردار Gorgan_12 در خلاف جهت بردارهای Gorgan_4، Gorgan_5 و Gorgan_7 و در ربع چهارم قرار گرفت. بردارهای Isfahan_32 و Isfahan_35 همسو با یکدیگر و در خلاف جهت بردار Isfahan_36 واقع شدند. بردار پاتوتیپ‌های متعلق به ساری هم جهت بوده و همگی در ربع اول قرار گرفتند. در مورد پاتوتیپ‌های شهرکرد، بردارهای Shahrekord_27، Shahrekord_29 و Shahrekord_37 هم‌جهت با یکدیگر در ربع اول و بردارهای Shahrekord_28، Shahrekord_31 و Shahrekord_34 در خلاف جهت آن‌ها و در ربع چهارم واقع شدند.

اصلی اول نشان‌دهنده حساسیت بیشتر نسبت به همه پاتوتیپ‌ها است و برعکس. لذا برای یافتن مؤثرترین ژن‌های مقاومت باید از کوچک‌ترین مقادیر این مؤلفه اصلی انتخاب کرد. لاین‌های حاوی ژن‌های مقاومت $Mla3$ ، $Mla1$ ، $Mla9$ ، $Mla13+Mi(Ru3)$ و $mlo5$ دارای کوچک‌ترین مقدار برای این مؤلفه اصلی بودند (شکل ۴).

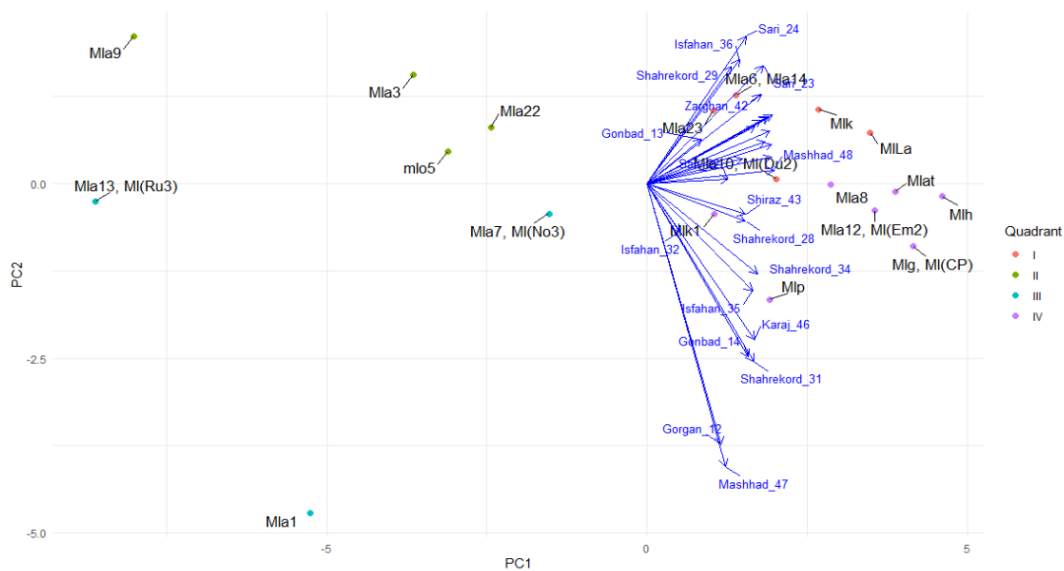
در مؤلفه اصلی دوم برخی پاتوتیپ‌ها، ضریب مثبت و برخی دیگر، ضریب منفی داشتند. لذا این مؤلفه اصلی برتفکیک ژن‌ها براساس مقاومت اختصاصی آن‌ها تأکید دارد. براساس ضرایب پاتوتیپ‌ها، مقادیر عددی بزرگتر در مؤلفه اصلی دوم، لاین‌های حساس‌تر در برابر پاتوتیپ‌های Sari_24، Isfahan_36، Sari_23 و Shahrekord_29 و مقادیر عددی کوچک‌تر، لاین‌های حساس‌تر در برابر پاتوتیپ‌های Mashhad_47، Gorgan_12، Shahrekord_31، Gonbad_14 و Karaj_46 را متمایز می‌کند. لاین‌های حاوی ژن‌های مقاومت $Mla6+Mla14$ ، $Mla3$ ، $Mla9$ و $Mla23$ دارای بزرگ‌ترین و لاین‌های Mlp ، $Mla1$ ، $Mla12+Mi(Em2)$ و $Mla7+Mi(No3)$ ، $Mlk1$ ، $Mlg+Mi(CP)$ دارای کوچک‌ترین مقدار عددی برای مؤلفه اصلی دوم بودند (شکل ۴).

پاتوتیپ‌های مورد بررسی نیز در نمودار دو بعدی مبتنی بر مؤلفه‌های اصلی اول و دوم به صورت بردارهایی تفکیک شدند. بردار پاتوتیپ‌های Sari_24، Isfahan_36، Sari_23، Shahrekord_29، Zarghan_42، Shahrekord_27، Gorgan_5، Gorgan_7، Sari_20، Gorgan_4، Shahrekord_37

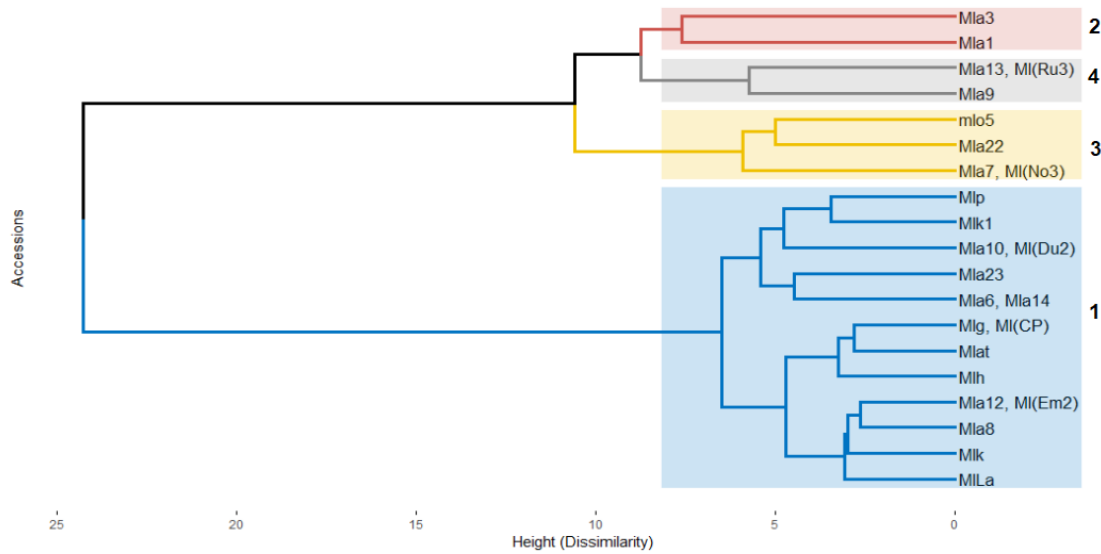
جدول ۴- بردارها و مقادیر ویژه در تجزیه به مؤلفه‌های اصلی تیپ آلودگی لاین‌های ایزوژنیک (حامل ژن‌های مقاومت) در واکنش به پاتوتیپ‌های سفیدک پودری جو

پاتوتیپ	مؤلفه اصلی				
	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5
Gonbad_13	۰/۱۰	۰/۰۷	۰/۴۸	-۰/۳۸	۰/۰۷
Gonbad_14	۰/۱۸	-۰/۲۹	-۰/۰۵	۰/۱۸	-۰/۰۹
Gorgan_4	۰/۲۰	۰/۰۹	۰/۱۶	۰/۲۹	-۰/۰۸
Gorgan_5	۰/۲۲	۰/۱۱	-۰/۰۲	۰/۰۳	۰/۰۵
Gorgan_7	۰/۲۲	۰/۱۱	۰/۰	۰/۱۳	۰/۰۷
Gorgan_12	۰/۱۳	-۰/۴۳	۰/۱۹	-۰/۰۲	۰/۰۶
Hashtgerd_26	۰/۲۱	۰/۰۷	-۰/۱۴	-۰/۲۰	-۰/۰۹
Isfahan_32	۰/۰۶	-۰/۰۸	۰/۳۶	-۰/۳۰	۰/۵۲
Isfahan_35	۰/۱۹	-۰/۱۸	-۰/۲۸	-۰/۰۳	۰/۱۱

Isfahan_36	۰/۱۷	۰/۲۱	-۰/۲۹	-۰/۳۲	-۰/۰۱
Karaj_45	۰/۲۳	۰/۰۷	-۰/۱۴	-۰/۱۳	-۰/۱۱
Karaj_46	۰/۱۹	-۰/۲۶	۰/۰۵	۰/۲۶	-۰/۱۵
Mashhad_47	۰/۱۴	-۰/۴۷	۰/۱۱	-۰/۰۷	۰/۰۱
Mashhad_48	۰/۲۳	۰/۰۲	۰/۱۰	۰/۰۴	-۰/۰۴
Moghan_25	۰/۱۷	۰/۰۴	-۰/۳۰	-۰/۲۶	۰/۲۶
Sari_3	۰/۲۳	۰/۰۴	-۰/۱۴	-۰/۰۸	-۰/۱۳
Sari_20	۰/۲۱	۰/۱۱	-۰/۰۸	۰/۱۶	-۰/۰۴
Sari_22	۰/۱۵	۰/۰۱	-۰/۱۵	۰/۲۲	۰/۵۲
Sari_23	۰/۲۱	۰/۲۰	۰/۲۱	۰/۱۵	-۰/۰۶
Sari_24	۰/۱۸	۰/۲۴	۰/۰۱	۰/۱۷	۰/۲۱
Shahrekord_27	۰/۲۳	۰/۱۱	۰/۰۳	-۰/۰۱	۰/۱۳
Shahrekord_28	۰/۱۸	-۰/۰۶	۰/۰۶	۰/۱۸	۰/۱۳
Shahrekord_29	۰/۱۵	۰/۱۹	۰/۲۶	-۰/۲۰	-۰/۳۸
Shahrekord_31	۰/۱۹	-۰/۳۰	-۰/۰۵	-۰/۱۶	-۰/۱۸
Shahrekord_34	۰/۲۰	-۰/۱۵	-۰/۱۰	-۰/۱۰	۰/۰
Shahrekord_37	۰/۲۲	۰/۰۹	۰/۰۴	۰/۱۵	-۰/۱۱
Shiraz_43	۰/۱۸	-۰/۰۵	-۰/۰۹	-۰/۲۶	-۰/۱۴
Zarghan_42	۰/۲۱	۰/۱۵	۰/۲۷	۰/۰۶	۰/۰
مقدار ویژه	۱۶۷۹	۲/۱۴	۱/۸۰	۱/۷۶	۱/۳۵
واریانس توجیه شده (درصد)	۵۹/۹۷	۷/۶۵	۶/۴۳	۶/۳	۴/۸۱
واریانس توجیه شده تجمعی (درصد)	۵۹/۹۷	۶۷/۶۳	۷۴/۰۶	۸۰/۳۶	۸۵/۱۷



شکل ۴- پراکنش ژن‌های مقاومت به سفیدک پودری در نمودار مؤلفه‌های اصلی مبتنی بر تیپ آلودگی لاین‌های ایزوژنیک در برابر پاتوتیپ‌های مختلف سفیدک پودری جو



شکل ۵- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای لاین‌های ایزوژنیک (حامل ژن‌های مقاومت) براساس تیپ آلودگی در برابر پاتوتیپ‌های مختلف سفیدک پودری جو

آلودگی در برابر پاتوتیپ‌های Sari_22 و Sari_24 بود. لاین‌های حاوی ژن‌های مقاومت *Mla9* و *Mla13+MI(Ru3)* میانگین تیپ آلودگی این خوشه همچنین در برابر سایر پاتوتیپ‌ها در اکثر موارد پایین بود و در گروه مقاومت قرار می‌گرفت. در خوشه چهارم قرار گرفتند و دارای کم‌ترین میانگین تیپ آلودگی در برابر اکثر پاتوتیپ‌ها بود و لذا به‌عنوان مقاوم‌ترین گروه شناسایی می‌شود. پراکنش ژن‌های مقاومت در نمودار مقیاس‌بندی چندبعدی نیز مورد بررسی قرار گرفت. همان‌طور که در شکل ۶ مشاهده می‌شود ژن‌های مقاومت مورد بررسی تمایز واضحی، متناسب با دسته‌بندی حاصل از تجزیه خوشه‌ای نشان دادند به نحوی که ژن‌های متعلق به خوشه اول در منتهی الیه سمت راست نمودار (با رنگ قرمز) واقع شدند. در مجاورت این ژن‌ها در بخش میانی نمودار، نمونه‌های خوشه سوم با رنگ آبی و سپس ژن‌های متعلق به خوشه دوم با رنگ سبز، واقع شدند. در منتهی الیه سمت چپ نمودار نیز ژن‌های خوشه چهارم (با رنگ بنفش) قرار گرفتند.

تجزیه خوشه‌ای به‌منظور تفکیک ژن‌های مقاومت از لحاظ اثربخشی انجام شد و لاین‌های مورد بررسی در چهار گروه قرار گرفتند (شکل ۵). لاین‌های حاوی ژن‌های مقاومت *Mla8*، *Mla23*، *Mla12+MI(Em2)*، *Mla10+MI(Du2)*، *Mla6+Mla14* در *Mlh* و *MILa*، *Mlg+MI(CP)*، *Mlat*، *Mlp*، *Mlk1*، *Mlk* خوشه اول قرار گرفتند. این خوشه دارای بزرگترین میانگین تیپ آلودگی در برابر تمام پاتوتیپ (به‌جز Isfahan_32) بود و لذا به‌عنوان حساس‌ترین خوشه شناسایی می‌شود (جدول ۵). لاین‌های حاوی ژن‌های مقاومت *Mla3* و *Mla1* در خوشه دوم واقع شدند. این گروه بیشترین حساسیت را نسبت به پاتوتیپ Isfahan_32 در بین سایر گروه‌ها نشان داد، به‌صورت اختصاصی در برابر پاتوتیپ‌های Isfahan_36 و Moghan_25 و به‌طور مشترک با خوشه چهارم، در برابر پاتوتیپ‌های Hashtgerd_26، Karaj_45 و Sari_3 مصون بودند. لاین‌های حاوی ژن‌های مقاومت *Mla7+MI(No3)*، *Mla22* و *mlo5* در خوشه سوم قرار گرفتند و ویژگی‌های آن‌ها، دارا بودن کم‌ترین میانگین تیپ

جدول ۵- میانگین تیپ آلودگی گروه‌های تشکیل شده حاصل از تجزیه خوشه‌ای لاین‌های ایزوژنیک (حامل ژن‌های مقاومت) براساس واکنش در برابر پاتوتیپ‌های سفیدک پودری جو

پاتوتیپ	خوشه			
	اول	دوم	سوم	چهارم
Gonbad_13	۳/۰۸	۳/۰	۳/۰	۲/۰
Gonbad_14	۲/۷۵	۲/۰	۱/۰	۰/۰

Mla13 + MlRu3, *Mla6 + Mla14*, *Mla1 + Mla2*, *Mla9 mlo5* و *Mla13 + MlRu3*, *Mla10 + MlDu2*, *Mla7 + MlNo3* پرازاری نداشتند (Rsaliyev et al. 2017). ژن *Mla* از جمله ژن‌های مهم مقاومت به سفیدک پودری است که مقاومت وابسته به نژاد در جو ایجاد می‌کند، و در کروموزوم 1H قرار دارد (Leng et al. 2018). با اینحال برخی از آل‌های *Mla* برای بروز مقاومت کامل به ژن‌های دیگری نیاز دارند، به‌عنوان مثال *Mla10* وابسته به ژن دیگری به نام *Rar1* می‌باشد (Halterman and Wise 2004). با توجه به شناسایی چندین ژن با مقاومت در برابر طیف وسیعی از نژادهای بیمارگر، یکی از راهبردهای افزایش دوام مقاومت، تجمع^۱ این ژن‌ها می‌باشد (Guo et al., 2024). این راهبرد متکی بر تأمین مستمر منابع جدید مقاومت، از جمله ژن‌هایی با وراثت مستقل، برای مقابله با جمعیت‌های در حال تکامل بیمارگر است. با توجه به تعداد محدود ژن‌های مقاومت در ارقام زراعی، پژوهشگران به‌منظور بازیابی مقاومت از دست‌رفته یا جستجوی ژن‌های مقاومت جدید از ذخایر ژرم‌پلاسما بومی، اقدام به وحشی‌سازی مجدد^۲ محصولات کشاورزی کرده‌اند (Razzaq et al. 2021b).

در تحقیق حاضر تعدادی از ژن‌ها نیز مقاومت مؤثری را نشان ندادند. ترکیب ژن‌های مقاومت *Mla12+Ml(Em2)* و ژن مقاومت *Mlh* در برابر هیچ یک از پاتوتیپ‌ها تظاهر مقاومت نداشتند. سایر تحقیقات نیز بی اثر شدن برخی از ژن‌های مقاومت به سفیدک پودری جو را گزارش داده‌اند. در قزاقستان، در سال‌های ۲۰۱۵ و ۲۰۱۶ تعداد ۱۰۷ جدایه سفیدک پودری جو از هفت جمعیت جو زراعی در نقاط مختلف کشور جمع‌آوری و از نظر پرازاری مورد بررسی قرار گرفتند. تمامی این جدایه‌ها نسبت به ژن مقاومت *Mla8* پرازار بودند (Rsaliyev et al. 2017). مشاهده این موضوع، امری رایج است چراکه ژن‌های مقاومت اصلی، وابسته به نژاد هستند و تحت تأثیر چرخه‌ای از تغییرات جمعیت بیمارگر موسوم به رونق و کساد^۳ قرار دارند، به‌طوری که نژادهای بیماری‌زای جدید سرانجام طی چند سال، مقاومت را از بین می‌برند (Piechota et al. 2019).

تحقیق حاضر، تلاش شد با استفاده از پاتوتیپ‌های متنوع، مؤثرترین ژن‌های مقاومت شناسایی شوند. براین اساس ژن مقاومت *mlo5* با مقاومت در برابر تمام ۲۸ پاتوتیپ مورد استفاده، مؤثرترین مقاومت را نشان داد. این ژن مقاومت در طی دهه‌های اخیر نقش کلیدی در مقاومت گیاه به سفیدک پودری ایفا کرده است (Kusch and Panstruga 2017; Jørgensen et al. 1992). *mlo* در حقیقت یک آل مغلوب است که از لندریس‌های اتیوپی مشتأ گرفته و به‌طور گسترده‌ای وارد ارقام اروپایی شده است (Piechota et al. 2019). ژن *mlo* در بخش میانی بازوی بلند کروموزوم 4H قرار دارد و بیش از ۴۰ آل مختلف از این ژن شناسایی شده است (Reinstädler et al. 2010; Lyngkjær et al. 2000). با این حال، علی‌رغم کارایی ژن *mlo* این ژن دارای چندین محدودیت است. ژن *mlo* اثر پلئوتروپیک ایجاد می‌کند، به‌گونه‌ای که لکه‌های نکروتیک به‌صورت خودبه‌خود روی برگ‌ها ظاهر می‌شوند، این وضعیت منجر به کاهش فتوسنتز و در نتیجه کاهش اندازه دانه و کاهش عملکرد می‌شود (Kusch and Panstruga 2017). افزون بر این، گیاهان جو دارای آل مقاومت *mlo* نسبت به برخی بیماری‌های لکه‌ای از لکه برگ‌ی قهوه‌ای (Spot blotch) و لکه برگ‌ی رامولاریا (*Ramularia leaf spot*) حساس هستند (Genievskaya et al. 2023; McGrann et al. 2014). همچنین اگرچه ژن *mlo* طی ۵۰ سال گذشته کارایی بالایی داشته است، اما جدایه‌های پرازار نسبت به *mlo* در اروپا، ژاپن، استرالیا و چین گزارش شده‌اند (Wang et al. 2023; Tucker et al. 2013; Lyngkjær et al. 2000).

در تحقیق حاضر علاوه بر *mlo* ژن‌های با مقاومت در برابر تعداد زیادی از پاتوتیپ‌ها شناسایی شدند که از جمله می‌توان از ژن مقاومت *Mla9* نام برد که فقط در برابر یک پاتوتیپ (*Shahrekord_29*) حساسیت نشان داد و ترکیب ژنی *Mla13+Ml(Ru3)* که در برابر ۲۵ پاتوتیپ مقاوم بود. پایداری مقاومت این ژن‌ها در تحقیق زهراوی و همکاران (Zahravi et al. 2018) نیز گزارش شده بود. علاوه بر این، ژن مقاومت *Mla22* در برابر ۲۲ پاتوتیپ مقاوم بود. در تحقیقی دیگر، هیچ یک از ۱۰۷ جدایه سفیدک پودری جو از هفت جمعیت جو زراعی جمع‌آوری شده از نقاط مختلف کشور قزاقستان نسبت به ژن‌های مقاومت

¹ Pyramiding

² Rewilding

³ Boom and bust effect

بر اساس نتایج تحقیق حاضر همچنین می‌توان در مورد به کار بردن ژن‌های مقاومت به صورت محلی و ناحیه‌ای توصیه‌هایی ارائه داد. به‌عنوان مثال با توجه به اینکه ژن‌های مقاومت *Mla9*، *Mla22*، *Mla1* و *Mla7+Mi(No3)* در برابر هر پنج پاتوتیپ با منشاء ساری واکنش مقاومت نشان دادند می‌توان استفاده از این ژن‌ها به صورت محدود به این ناحیه را مورد بررسی قرار داد. به‌طور مشابه استفاده از ژن‌های مقاومت *Mla9*، *Mla13+Mi(Ru3)* و *Mla7+Mi(No3)* را در ناحیه گرگان می‌توان در نظر گرفت.

نتایج این تحقیق در مجموع تنوع بالا و پویایی جمعیت پاتوتیپ‌های سفیدک پودری جو در کشور را نشان داد و لذا بر اهمیت پایش مداوم این تغییرات تأکید داشت. همچنین ژن‌های مقاومت بر اساس اثربخشی آن‌ها مورد بررسی و مقایسه قرار گرفتند که در برنامه‌های اصلاحی قابل کاربرد می‌باشند. از بین ژن‌های مقاومت مورد بررسی *mlo*، *Mla9* و ترکیب ژنی

کارایی بالاتری نشان دادند که می‌توان هر یک را به‌طور مجزا در برنامه‌های اصلاحی وارد نمود و یا از راهکار تجمیع استفاده نمود. همچنین ژن‌هایی نیز جهت استفاده در ناحیه محدود جغرافیایی محدود شناسایی شدند بدین ترتیب که ژن‌های مقاومت *Mla9*، *Mla22*، *Mla1* و *Mla7+Mi(No3)* جهت استفاده در ناحیه ساری و ژن‌های مقاومت *Mla9*، *Mla13+Mi(Ru3)* و *Mla7+Mi(No3)* جهت استفاده در ناحیه گرگان قابل توصیه می‌باشند. از سوی دیگر ترکیب ژنی *Mla12+Mi(Em2)* و ژن مقاومت *Mlh*، غیرمؤثر شناخته شدند و بایستی یا از استفاده از آن‌ها احتراز شود و یا در صورت حضور این ژن‌ها در شجره ارقام مورد کشت، از طریق تلاقی این ارقام با ژنوتیپ‌های حاوی ژن‌های مقاومت کارآمد، در جهت اصلاح و توسعه ارقام دارای مقاومت مؤثر به بیماری سفیدک پودری جو اقدام نمود.

منابع

- Ames N, Dreiseitl A, Steffenson BJ, Muehlbauer GJ (2015) Mining wild barley for powdery mildew resistance. *Plant Pathology* 64:1396–1406.
- Burdon JJ, Barrett LG, Rebetzke G, Thrall PH (2014) Guiding deployment of resistance in cereals using evolutionary principles. *Evolutionary Applications* 7:609–624.
- Chaure P, Gurr SJ, Spanu P (2000) Stable transformation of *Erysiphe graminis* an obligate biotrophic pathogen of barley. *Nature Biotechnology* 18:205–207.
- Cowger C, Mehra L, Arellano C, Meyers E, Murphy JP (2018) Virulence differences in *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* from the central and eastern United States. *Phytopathology* 108:402–411.
- Czembor JH (2002) Resistance to powdery mildew in selections from Moroccan barley landraces. *Euphytica* 125:397–409.
- Czembor JH, Czembor E (2023) Sources of resistance to powdery mildew in wild barley (*Hordeum vulgare* subsp. *spontaneum*) collected in Jordan, Lebanon, and Libya. *Agronomy* 13:2462.
- Dreiseitl A (2017) Genes for resistance to powdery mildew in European barley cultivars registered in the Czech Republic from 2011 to 2015. *Plant Breeding* 136:351–356.
- Dreiseitl A (2020) Specific resistance of barley to powdery mildew, its use and beyond: a concise critical review. *Genes* 11:971.
- Flor HH (1971) Current status of the gene-for-gene concept. *Annu Review of Phytopathology* 9:275–296.
- Ge C, Wentzel E, D'Souza N, Chen K, Oliver RP, Ellwood SR (2021) Adult resistance genes to barley powdery mildew confer basal penetration resistance associated with broad-spectrum resistance. *Plant Genome* 14: e20129.
- Geng L, Li M, Zhang G, Ye L (2022) Barley: A potential cereal for producing healthy and functional foods. *Food Quality and Safety* 6: fyac012.
- Genievskaya Y, Zatybekov A, Abugalieva S, Turuspekov Y (2023) Identification of quantitative trait loci associated with powdery mildew resistance in spring barley under conditions of southeastern Kazakhstan. *Plants* 12:2375.
- Glawe DA (2008) The powdery mildews: A review of the world's most familiar (yet poorly known) plant pathogens. *Annu Review of Phytopathology* 46:27–51.
- Golzar H, Shankar M, D'Antuono M (2016) Responses of commercial wheat varieties and differential lines to western Australian powdery mildew (*Blumeria graminis* f. sp. *tritici*) populations. *Australasian Plant Pathology* 45:347–355.
- Guo J, Zhao C, Gupta S, Platz G, Snyman L, Zhou M (2024) Genome-wide association mapping for seedling and adult resistance to powdery mildew in barley. *Theoretical and Applied Genetics* 137:50.
- Gupta S, Vassos E, Sznajder B, Fox R, Khoo KH, Loughman R, Chalmers KJ, Mather DE (2018) A locus on

- barley chromosome 5H affects adult plant resistance to powdery mildew. *Molecular Breeding* 38:1–10.
- Halterman DA, Wise RP (2004) A single-amino acid substitution in the sixth leucine-rich repeat of barley MLA6 and MLA13 alleviates dependence on RAR1 for disease resistance signaling. *Plant Journal* 38:215–226.
- Hovmoller MS, Caffier V, Jalli M, Andersen O, Besenhofer G, Czembor JH, Dreiseitl A, Flath K, Fleck A, Heinrics F, et al. (2000) The European barley powdery mildew virulence survey and disease nursery 1993–1999. *Agronomie* 20:729–744.
- Jørgensen IH (1992) Discovery, characterization and exploitation of *Mlo* powdery mildew resistance in barley. *Euphytica* 63:141–152.
- Jørgensen JH, Wolfe M (1994) Genetics of powdery mildew resistance in barley. *Critical Reviews in Plant Sciences* 13:97–119.
- Kusch S, Panstruga R (2017) *mlo*-based resistance: an apparently universal “weapon” to defeat powdery mildew disease. *Molecular Plant and Microbe Interaction* 30:179–189.
- Leng Y, Zhao M, Wang R, Steffenson BJ, Brueggeman RS, Zhong S (2018) The gene conferring susceptibility to spot blotch caused by *Cochliobolus sativus* is located at the *Mla* locus in barley cultivar Bowman. *Theoretical and Applied Genetics* 131:1531–1539.
- Li H, Zhou M (2011) Quantitative trait loci controlling barley powdery mildew and scald resistances in two different barley doubled haploid populations. *Molecular Breeding* 27:479–490.
- Lukinac J, Jukić M (2022) Barley in the production of cereal-based products. *Plants* 11:3519.
- Lyngkjær MF, Newton AC, Atzema JL, Baker SJ (2000) The barley *mlo*-gene: an important powdery mildew resistance source. *Agronomie* 20:745–756.
- Mains EB., Dietz, SM (1930). Physiologic forms of barley mildew, *Blumeria graminis* f.sp. *hordei*. *Phytopathology* 20: 229-239.
- McGrann GRD, Stavrinides A, Russell J, Corbitt MM, Booth A, Chartrain L, Thomas WTB, Brown JKM (2014) A trade off between *mlo* resistance to powdery mildew and increased susceptibility of barley to *Ramularia* leaf spot. *Journal of Experimental Botany* 65:1025–1037.
- Novakazi F, Krusell L, Jensen JD, Orabi J, Jahoor A, Bengtsson T, PPP Barley Consortium (2020) You had me at “MAGIC”!: four barley MAGIC populations reveal novel resistance QTL for powdery mildew. *Genes* 11:1512.
- Ovesna J, Chrpova J, Kolarikova L, Svoboda P, Hanzalova A, Palicova J, Holubec V (2023) Exploring wild *Hordeum spontaneum* and *Hordeum marinum* accessions as genetic resources for fungal resistance. *Plants* 12:3258.
- Patel N, Desai P, Patel N, Jha A, Gautam HK (2014) Agronanotechnology for plant fungal disease management: a review. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 3:71–84.
- Piechota U, Czembor PC, Słowacki P, Czembor JH (2019) Identifying a novel powdery mildew resistance gene in a barley landrace from Morocco. *Journal of Applied Genetics* 60:243–254.
- Piechota U, Słowacki P, Czembor PC (2020) Identification of a novel recessive gene for resistance to powdery mildew (*Blumeria graminis* f. sp. *hordei*) in barley. *Plant Breeding* 139:730–742.
- Razzaq A, Saleem F, Wani SH, Abdelmohsen SAM, Alyousef HA, Abdelbacki AMM, Alkallas FH, Tamam N, Elansary HO (2021a) De-novo domestication for improving salt tolerance in crops. *Frontiers in Plant Science* 12:681367.
- Razzaq A, Wani SH, Saleem F, Yu M, Zhou M, Shabala S (2021b) Rewilding crops for climate resilience: economic analysis and de novo domestication strategies. *Journal of Experimental Botany* 72:6123–6139.
- Rehman S, Amouzoune M, Hiddar H, Aberkane H, Benkirane R, Filali-Maltouf A, Al-Jaboobi M, Acqbouch L, Tsivelikas A, Verma RPS, Kehel, Z (2020) Traits discovery in *Hordeum vulgare* sbsp. *spontaneum* accessions and in lines derived from interspecific crosses for enhancing barley breeding efforts. *Crop Science* 61:219–233.
- Reinstädler A, Müller J, Czembor JH, Piffanelli P, Panstruga R (2010) Novel induced *mlo* mutant alleles reveal functionally important domains in the barley *Mlo* protein. *BMC Plant Biology* 10:31.
- Rsaliev A, Pahratdinova Z, Rsaliev S (2017) Characterizing the pathotype structure of barley powdery mildew and effectiveness of resistance genes in Kazakhstan. *BMC Plant Biology* 17:178.
- Shakhatreh Y, Haddad N, Alrababah M, Grando S, Ceccarelli S (2010) Phenotypic diversity in wild barley accessions collected in Jordan. *Genetic Resources and Crop Evolution* 57:131–146.
- Shtaya M, Marcel TC, Sillero JC, Nicks RE, Rubiales D (2006) Identification of QTLs for powdery mildew and scald resistance in barley. *Euphytica* 151:421–429.
- Silvar C, Dhif H, Igartua E, Kopahnke D, Gracia MP, Lasa JM, Ordon F, Casas AM (2010) Identification of quantitative trait loci for resistance to powdery mildew in a Spanish barley landrace. *Molecular Breeding* 25:581–592.
- Tucker MA, Jayasena K, Ellwood SR, Oliver RP (2013) Pathotype variation of barley powdery mildew in Western Australia. *Australasian Plant Pathology* 42:617–623.
- Wang Y, Zhang G, Wang F, Lang X, Zhao X, Zhu J, Hu C, Hu J, Zhang Y, Yao X, Liu, H (2023) Virulence variability and genetic diversity in *Blumeria graminis* f. sp. *hordei* in Southeastern and Southwestern China. *Plant Disease* 107:809–819.
- Zahravi M, Norouzi S, Patpour M, Bihanta MR (2018) Evaluation of resistance to powdery mildew disease in some Iranian genotypes of *Hordeum spontaneum*. *Seed Plant Journal* 33:441–454. (In Farsi)