دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی

شناسایی نشانگرهای ISSR آگاهی بخش مرتبط با تحمل به سفیدک پودری در گیاه بالغ جو

معصومه احمدی[۱]، آرش فاضلیِ[۲] و علی آرمینیان[۳]

۱ و ۳- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد و استادیار، دانشگاه ایلام
۲- استادیار، دانشگاه ایلام، (نویسنده مسوول: a.fazeli@ilam.ac.ir)
تاریخ دریافت: ۹۴/۹/۶ تاریخ پذیرش: ۹۴/۱۱/۲۷

چکیده

بیماری سفیدک پودری جو (Blumeria graminis f.sp.hordi) یکی از مخرب‌ترین بیماری‌های برگی جو است که باعث کاهش عملکرد جو در جهان می‌شود. از نشانگرهای مولکولی DNA می‌توان جهت بررسی تنوع ژنتیکی و درک بهتر زمینه ژنتیکی مقاومت به سفیدک پودری جهت انتخاب ژنوتیپ‌های مناسب قبل از بروز بیماری استفاده کرد. از این رو انتخاب ارقام مقاوم و متحمل به بیماری احتیاج به شناسایی مارکرهای مولکولی مرتبط با بیماری دارد. در این تحقیق، تنوع ژنتیکی و فنوتیپی و همچنین مارکرهای مولکولی مرتبط با تحمل به بیماری سفیدک پودری در ۳٤ ژنوتیپ زراعی و وحشی جو مورد بررسی قرار گرفت. با استفاده از ١٦ آغازگر ISSR در مجموع ۱۲۵ آلل تکثیر و ۱۲٤ (۹۹/۲۷) آلل به عنوان آلل چند شکل تشخیص داده شدند. تعداد آلل‌های تکثیر شده از ۵ تا ۱۰ با میانگین ۷/۹۳ برای هر آغازگر متفاوت بود. محتوای اطلاعات چندشکلی از ۰/۱۷ در آغازگر 15 تا ۰/٤٤ برای آغازگر LBMB-B و شاخص نشانگر از ۰/۸٤ برای آغازگر 809 تا ۳/۸۵ برای آغازگر UBC836 متفاوت بود. ژنوتیپ‌های مقاوم و حساس بیشترین فاصله ژنتیکی و ژنوتیپ‌های مقاوم و نیمه مقاوم کمترین فاصله ژنتیکی را نشان دادند. نتایج حاصل از ارتباط بین صفت مقاومت به بیماری و ۱۲۵ آلل تکثیر شده با استفاده از روش رگرسیون چندگانه (گام‌به‌گام) منجر به شناسایی شش قطعه ژنومی با اندازه 1000bp,1000bp,300bp,1500bp,700bp,1000bp به‌ترتیب مربوط به آغازگرهای 12,UBC840,826,ISSR10 LBMB,826, به عنوان آلل‌های آگاهی بخش مرتبط با تحمل به بیماری سفیدک پوردی در جو گردید. نتایج تحقیق نشان می‌دهد که نشانگر ISSR، نشانگر مناسبی جهت غربال گری ژرم پلاسم‌های جو در مقابل بیماری سفیدک پودری می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: نشانگر ISSR، تنوع ژنتیکی، مقاومت به بیماری، سفیدک پودری، جو

مقدمه

جو (*Hordeum vulgare*) ازنظر اهمیت غذایی و سطح زیر کشت، پس از گندم، ذرت و برنج مقام چهارم را در میان غلات دارد. اما با توجه به سازگاری به شرایط آب و هوایی متنوع بیشترین سطح زیر کشت را در مقایسه با سایر غلات دارد (۱۳). عملکرد کمی وکیفی جو تحت تأثیر تنش‌های زیستی و غیر زیستی کاهش می‌یابد. یکی از این تنش‌های زیستی بیماری قارچی سفیدک پودری هست که با توجه به مرحله ظهور و شدت بیماری تأثیر زیادی روی عملکرد کیفی و کمی جو دارد. قارچ عامل بیماری سفیدک پودری (*Blumeria graminisf.sp.hordi*) یکی از آسکومیست های بیوتروف از خانواده *Erysighales* بوده که به‌صورت انگل اجباری رشد می‌کند. این بیماری در درجه حرارت ۲۰-۱۲درجه سانتی‌گراد و آب‌وهوای مرطوب خیلی سریع گسترش می‌یابد (۱۲)، خسارت ناشی از این بیماری در شمال آمریکا و شمال و مرکز اروپا ۳۰ ٪ تخمین زده می‌شود که بیشترین خسارت مربوط به اروپا می‌باشد (۶). در ایران نیز این بیماری در صورت مساعد بودن شرایط آب و هوایی ازجمله بیماری‌های مهم و مؤثر در کاهش تولید این محصول به شمار می‌رود (۴).

بیشتر برنامه‌های اصلاحی جو بر اساس گزینش فنوتیپی و مورفولوژیکی استوار است که با توجه به محدود بودن تعداد نشانگرهای مورفولوژیکی و متأثر بودن آنها از عوامل محیطی، کاربرد این‌گونه نشانگرها محدود می‌باشد (۲۷،۹). امروزه، نشانگرهای مولکولی به‌عنوان ابزاری مفید جهت ارزیابی تنوع ژنتیکی موجود در ژرم پلاسم، تعیین مکان ژن‌های مقاومت به بیماری، تنش‌های محیطی و همچنین رابطه بین اجداد وحشی و رقم‌های اصلاح‌شده در گیاهان به‌کاربرده می‌شوند (۵). ازاین‌رو، تعیین ارتباط بین نشانگرهای مولکولی و صفات مورفولوژیکی و فنوتیپی، می‌تواند گامی مؤثر در استفاده از گزینش جمعیتی باشد (۲۵). شناسایی نشانگرهای مولکولی پیوسته با ژن‌های کنترل‌کننده‌ی صفات، به‌عنوان روشی بسیار مفید جهت شناسایی ارقام مقاوم می‌باشد. نشانگرهای بین ریزماهواره‌ای ژنومی (ISSR)، یک دسته از نشانگرهای مولکولی مبتنی بر تکثیر قطعات کوتاه DNA، درون توالی‌های تکراری ساده می‌باشند. این قطعات درونی چندشکلی بالایی، حتی در میان ژنوتیپ‌های بسیار نزدیک نشان می‌دهند، که ناشی از فقدان محدودیت‌های کارکردی در این مناطق ژنومی می‌باشد (۲۴). آگاهی از فاصله ژنتیکی بین افراد و جمعیت‌ها و روابط خویشاوندی بین آنها امکان تهیه جمعیت‌های مناسب برای ترسیم نقشه ژنتیکی و مکان‌یابی ژن‌ها را فراهم می‌کند (۲۱). از سال ۱۹۷۰ تاکنون بیش از ۱۰۰ ژن مقاوم به این بیماری گزارش‌شده است که از نظریه ژن برای ژن فلور پیروی می‌کنند (۲۲). تاکنون مطالعات زیادی روی سفیدک پودری در جو گزارش‌شده است. پسرکلو و همکاران (۲۱) گزارش نمودند که صفات شدت بیماری

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2024-10-12]
[DOI: 10.29252/jcb.9.22.31]

وسطح زیر منحنی بیماری (AUDPC) توسط مدل افـزایش- غالبیت کنترل می‌شد کـه سـهم اثـرات غالبیـت بیشـتر بـود همچنین نتایج آنها نشان داد که هر دو صفت توسـط بـیش از یک ژن کنترل می شوند.

فاضلی و همکاران (۱۱) گزارش نمودند که وراثت‌پذیری عمومی برای صفت تیپ آلودگی برگ پرچم در دو تلاقی جو به ترتیب ۶۸ و ۸۸٪ می باشد. ژوین گیلا و همکاران (۲۶) در تحقیقی که بر روی ارقام موتانت جو با مارکر ISSR و RAPD انجام دادند بیان داشتندکه تمامی کلنی‌های مورد مطالعه به بیماری زنگ مقاوم و در برابر سفیدک پودری دارای مقادیر متفاوت حساسیت تا مقاومت بودند.

خدارحمی و همکاران (۱۶) بـا اسـتفاده از روش تجزیـه ارتباطی، ۵ نشانگر SSR مرتبط با سطح زیر منحنی پیشـرفت بیماری (AUDPC) و ۴ نشـانگر مـرتبط بـا ضـریب آلـودگی نهایی را درگندم برای مقاومت بـه زنـگ زرد معرفـی کردنـد. ایواندیک و همکاران (۱۴)، بـا اسـتفاده از ۳۳ نشـانگر SSR و روش تجزیه ارتباطی، نشانگرهای مرتبط بازمان گلدهی تحت رژیم‌های مختلف رشدی را در جو شناسایی کردند. اوواسـینا و همکاران (۲۰) با استفاده از ۴۰ آغـازگر رپیـد، ۷۰-۶۰ درصـد آغازگرها چند شکل بودند که تنها ۷ آغازگر مرتبط بـا بیمـاری بودند.

با توجه به اهمیت بیماری، پاسـخ ژنتیکـی سـایر غـلات درمقابل بیماری سفیدک پودری مورد مطالعه قرار گرفته اسـت (۲،۱). در این رابطه، آهنگر و همکاران (۱) در تحقیقـی، بیـان ژن‌های مرتبط با بیماری‌زایی و همچنین آنـزیم فنیـل آلانـین آمونیالاز را در گندم‌های حساس و مقاوم آلوده شده با سفیدک پودری بررسی نموده و نشان دادند که قارچ میکوریزا با القـای مقاومت سیستمیک منجر به بیان زودهنگام و سریع گیاه گندم شده و با افزایش بیان ژن‌های دفاعی سبب القای مقاومـت در آن می‌گردد. علاوه بر کاربرد مارکرهای آگاهی بخـش ISSR در مطالعات، بررسی تنوع ژنتیکی جهت تخمین فاصله ژنتیکی و انتخـاب والـدین در برنامـه هـای اصـلاحی یکـی دیگـر از مهمتـرین کاربردهـای نشـانگرهای مولکـولی اسـت. ملـک محمدی و همکـاران (۲۸) بـا اسـتفاده از مـارکر ISSR تنـوع ژنتیکی ۴۸ ژنوتیپ سویا را بررسی نمودند نتایج نشان داد کـه این نشانگر قابلیت تولید چند شکلی در بین ژنوتیپ های سویا را دارد. پهلـوانی و همکـاران (۲۹) ارتبـاط بـین نشـانگرهای مولکولی SSR و کیفیت دانه گندم را بررسی نمودند که نتـایج نشان داد نشانگرهایی با محتوی چند شـکلی و تنـوع ژنتیکـی بالادر تفکیک و تمایز افراد نقش مهمی دارند.

ارزیابی تنوع ژنتیکـی و فنـوتیپی جـو در مقابـل پاتوتیـپ عامل بیماری سفیدک پودری در طراحی برنامه‌های اصـلاحی بسیار ضروری هست، لذاشناسایی نشـانگرهای آگـاهی‌بخـش مرتبط با بیماری سفیدک پودری انتخاب گیاهانی کـه توانـایی ژنتیکی مقاومت به بیماری را در مراحـل مختلـف رشـد گیـاه دارند امکان‌پذیر می‌سازد. هدف اصلی ایـن تحقیـق شناسـایی مارکرهای آگاهی‌بخش، ISSR مرتبط با مقاومت بـه بیمـاری سفیدک پودری در نمونه‌های مختلف جو است بـه ایـن امیـد که از نتایج حاصله بتـوان در برنامـه‌هـای اصـلاح بـرای ایـن بیماری استفاده نمود.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

جهت بررسی مقاومت جو نسبت به بیماری سفیدک پودری،۳۴ ژنوتیپ (۲۱ ژنوتیپ زراعی از ارقام مرکز تحقیقات نهال و بذر کرج و۱۳ ژنوتیپ از ارقام وحشی استان ایلام همراه با رقم حساس افضل)، در مقابل بیماری سفیدک پودری ارزیابی شدند تمامی ژنوتیپ‌ها (جدول ۱) در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در گلخانه دانشگاه ایلام در گلدان‌هایی با قطر دهانه ۲۰ سانتی‌متر کشت گردیدند.

تهیه مایع تلقیح، آلودگی مصنوعی و ارزیابی بیماری: اسپور قارچ با کاردک از روی برگهای رقم افضل جدا و در یک ارلن حاوی ۲۵۰ سی‌سی آب مقطر ریخته شد و با استفاده از همزن خوب مخلوط شدند. محلول از صافی عبور داده شد تا پوشش میسلیومی قارچ و دیگر مواد مانند پوسته برگ جو، از آن جدا شود. اسپورهای قارچ با استفاده از لام هموسایتومتر به تعداد $۱۰^{۶}$ اسپور در هر میلی‌لیتر شمارش گردید و سپس به حجم ۱ لیتر رسانیده شد. مایه‌کوبی در مرحله تورم سنبله، انجام گردید و سپس شرایط بهینه جهت رشد قارچ از نظر رطوبت و دما (رطوبت ۷۵ درصد و دمای ۲۰ تا ۲۲ درجه سانتی‌گراد) فراهم گردید. میزان آلودگی و سطح پیشرفت بیماری گیاهان در ۵ نوبت به فواصل ۲ روز با روش ساری و پرسکات (۲۱) در مقیاس ۹-۰ که بیان‌کننده ارتفاع نسبی بیماری یا پیشرفت آن از برگ‌های پایین به‌طرف سنبله است انجام گردید، با این روش مقیاس ۳-۰ مقاوم، ۴ نیمه مقاوم، ۶-۵ نیمه حساس و ۷ به بالا حساس در نظر گرفته شد. سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری AUDPC[1] بر اساس فرمول (۱) مولد وان و همکاران (۱۸) محاسبه گردید.

$$AUDPC=\sum_{i=۱}^{n-۱}(y_i + y_{i+۱})/۲(t_i + t_{i+۱})$$

در فرمول فوق n دفعات ارزیابی، y مقدار بیماری و t زمان (روز) است.

استخراج DNA ژنومی و تجزیه داده‌ها: از ژنو تیپ‌های کشت‌شده در گلخانه در مرحله دو تا سه برگی نمونه‌های برگی تازه جمع‌آوری و DNA ژنومی به روش CTAB بر اساس روش دویل و همکاران (۵) استخراج گردید. کیفیت و کمیت DNA استخراجی با روش اسپکتروفتومتری و ژل آگارز ۰/۸ درصد تعیین و به میزان ۱۰ نانوگرم در میکرو لیتر برای انجام واکنش PCR رقیق‌سازی شد. ۱۶ آغازگر ISSR انتخاب و مورد استفاده قرار گرفتند (جدول ۲).

1- Area under Disease Progress Curve (AUDPC)

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2024-10-12]

[DOI: 10.29252/jcb.9.22.31]

جدول ۱- مشخصات ژنو تیپ‌های زراعی و وحشی جو و عکس‌العمل فنوتیپی آنها در مقابل بیماری سفیدک پودری

Table 1. Characteristic of wild and cop genotypes of Barley and there phenotypic responses to powdery mildew disease

ردیف	نام علمی گیاه	نام رقم	فنوتیپ	ردیف	نام علمی گیاه	نام رقم	فنوتیپ
۱	*H. vulgare*	کویر ۵۷	S	۲۰	*H.bulbosum*	4	S
۲	*H. vulgare*	ترکمن ۵۹	MR	۲۱	*H.bulbosum*	7	S
۳	*H. vulgare*	فجر ۳۰	MR	۲۲	*H.spanteneum*	850	SS
۴	*H. vulgare*	جنوب۵۱	SS	۲۳	*H.spanteneum*	1260	S
۵	*H. vulgare*	ارس ۵۵	R	۲۴	*H.spanteneum*	978	S
۶	*H. vulgare*	صحرا۵۰	R	۲۵	*H. vulgare*	836	S
۷	*H. vulgare*	یوسف	MR	۲۶	*H. vulgare*	1275	SS
۸	*H. vulgare*	بهمن ۴۳	R	۲۷	*H.spanteneum*	837	S
۹	*H. vulgare*	نیمروز	R	۲۸	*H.spanteneum*	2	S
۱۰	*H. vulgare*	دشت ۵۸	R	۲۹	*H.bulbosum*	8	S
۱۱	*H. vulgare*	بهرخ	SS	۳۰	*H.spanteneum*	1226	S
۱۲	*H. vulgare*	ریحان ۰۳	MR	۳۱	*H.spanteneum*	1667	S
۱۳	*H. vulgare*	ریحان	S	۳۲	*H.spanteneum*	5	S
۱۴	*H. vulgare*	زهک	MR	۳۳	*H.spanteneum*	813	S
۱۵	*H. vulgare*	نیک ۴۶	R	۳۴	*H. vulgare*	806	S
۱۷	*H. vulgare*	ریحان ۴۸	S				
۱۸	*H. vulgare*	ماکویی ۴۲	S				
۱۹	*H. vulgare*	کارون ۵۷	S				

S(Sensetive) حساس، Ss(Semi-sensetive) نیمه حساس، MR(Moderate-resistance) نیمه مقاوم، R(Resistance) مقاوم

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در دستگاه ترموسایکلر (Baiorad) در حجم ۲۰ میکرولیتر شامل ۱۵ نانوگرم DNA ژنومی، بافر PCR10X به میزان 2 µL، Mgcl2 mM20 به میزان ۱/۸ میکرولیتر، dNTP 1mM به‌میزان ۰/۴ میکرولیتر، آنزیم Taq پلیمراز 5U به میزان ۰/۳ میکرولیتر و ۱۲ نانوگرم از هر آغازگر انجام گرفت. چرخه دمایی واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با برنامه زمانی ۴ دقیقه واسرشته سازی اولیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد، ۱۰ چرخه اولیه به‌صورت تاچ داون (به طوری‌که دمای اتصال آغازگر به رشته الگو ۵ درجه سانتی‌گراد بالاتر از دمای واقعی در نظر گرفته شد و به ازای هر چرخه، ۰/۵ درجه از دمای اتصال کاهش‌یافته تا به دمای اتصال واقعی برسد) و ۲۵ چرخه شامل ۳۰ ثانیه واسرشته سازی در ۹۴ درجه سانتی‌گراد، دمای توصیه شده برای هر آغازگر به مدت ۴۵ ثانیه (جهت اتصال آغازگرها) و ۲ دقیقه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد و سپس بسط نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷ دقیقه انجام شد. تفکیک محصولات تکثیری با استفاده از ژل آگارز ۱/۵ درصد انجام شد.

پس از امتیازدهی الگوهای باندی به‌صورت صفر (عدم حضور) و یک (حضور) و ارزیابی فنوتیپی ژنوتیپ‌ها ازنظر واکنش به پیشرفت بیماری در گلخانه، برای شناسایی نشانگرهای مرتبط و پیوسته باصفت تحمل به بیماری سفیدک پودری جو، تجزیه رگرسیون گام‌به‌گام با در نظر گرفتن مکان‌های نشانگری به‌عنوان متغیر مستقل و داده‌های فنوتیپی به‌عنوان متغیر وابسته انجام گرفت. جهت بررسی صحت الل‌های آگاهی‌بخش، تجزیه تابع تشخیص انجام شد. تجزیه‌های آماری با استفاده از نرم‌افزارهای MINITAB17 و GenALExe 6.41 انجام گرفت.

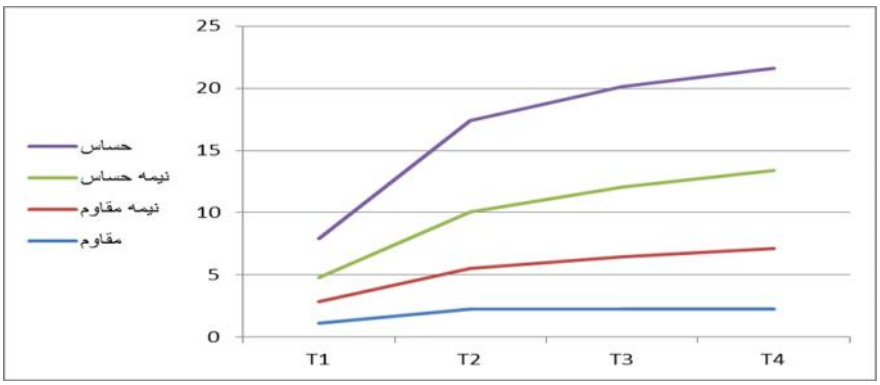
نتایج و بحث

نتایج ارزیابی‌های فنوتیپی: میزان سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری در مرحله بلوغ (AUPDC) محاسبه گردید. داده‌های حاصل برای صفت AUDPC نرمال بوده ولی داده‌های صفت شدت بیماری نرمال نبودند که برای نرمال کردن داده‌ها تبدیل جذری به‌کاربرده شد. با انجام اسپورپاشی، ارقام مقاوم کمترین واکنش را در فواصل دوره‌های اندازه‌گیری، نسبت به بیماری نشان دادند و ارقام نیمه مقاوم در روزهای اول مقداری حساسیت نشان دادند و به‌تدریج کاهش یافت. بیشترین میزان AUDPC پس از طی دوره‌های اندازه‌گیری، مربوط به رقم حساس افضل به میزان۹/۸۶ بود و ژنوتیپ‌های ۳۳، ۲۲، ۲۰، ۲۹، ۲۸ و ۲۷ علاوه بر رقم حساس افضل، به ترتیب بیشترین مقدار AUDPC را به میزان ۹/۸، ۹/۷، ۹/۵، ۹/۴، ۹/۲۲ و ۹/۲ را داشتند که از ژنوتیپ‌های حساس بودند و ضرورت بررسی‌های بیشتر را پس از ارزیابی مشاهده‌ای نشان می‌داد. کمترین میزان AUDPC مربوط به ژنوتیپ‌های ۵ و ۶ به میزان ۱/۱۳ بود که از ارقام مقاوم بودند.

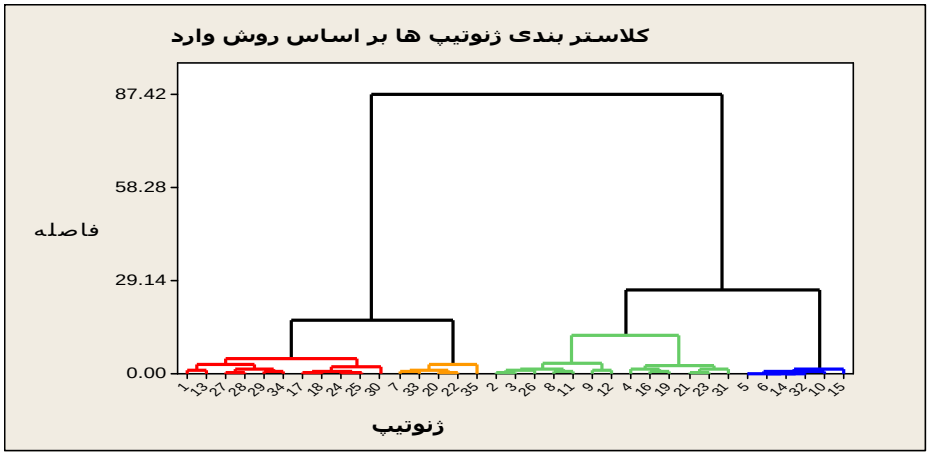
نمودار حاصل برای AUDPC نشان داد که ارقام مقاوم کمترین مقدار پیشرفت بیماری را در فواصل پنج دوره اندازه‌گیری برای پیشرفت بیماری نشان می‌دهند و ارقام حساس بیشترین پیشرفت آلودگی را نسبت به سایر ارقام نشان دادند (شکل ۱). داده‌های AUDPC حاصل برای ژنوتیپ‌ها بر اساس روش وارد با نرم‌افزار MINITAB خوشه‌بندی شدند. دندروگرام حاصل (شکل ۲) ژنوتیپ‌ها را در سطح آماری ۰/۰۵ در فاصله ۲۹/۱۴ به چهارخوشه تقسیم‌بندی نمود، که خوشه یک شامل ژنوتیپ های حساس بودند و خوشه ۲ شامل ژنوتیپ‌های ۱۲، ۹، ۱۱، ۸، ۲۶، ۳، ۲، ۴، ۱۶، ۱۹، ۲۱، ۲۳ و ۳۱ که نیمه‌مقاوم تا حساس بودند. خوشه ۳ شامل ژنوتیپ‌های ۷، ۲۰، ۳۳، ۲۲ و ۳۵ بودندکه همگی در برابر قارچ عامل بیماری سفیدک پودری حساسیت نشان داده و درصد بالایی از آلودگی را نشان دادند. خوشه ۴ شامل ژنوتیپ‌های ۵، ۶، ۱۰، ۱۴، ۱۵ بود که همگی در برابر عامل بیماری از خود مقاومت نشان دادند.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2024-10-12]

[DOI: 10.29252/jcb.9.22.31]



شکل ۱- نمودار سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری (AUDPC) برای ژنوتیپ‌ها مورد مطالعه در چهار زمان پس از اسپور پاشی
Figure 1. Area Under Disease Progress Curve (AUDPC) for studies genotypes at Four times after sporulation



شکل ۲- دندوگرام سطح زیر منحنی پیشرفت آلودگی ژنوتیپ‌ها بر اساس روش وارد
Figure 2. Dendrogram of area under disease progress curve of genotypes based on Ward method

ژنوتیپ‌های ۵، ۶، ۱۰، ۱۴، ۱۵ در برابر قارچ عامل بیماری سفیدک پودری از خود مقاومت نشان دادند که همگی آنها از ارقام زراعی بودند. میزان AUDPC در ارقام وحشی در مقایسه با ارقام زراعی بیشتر بود که نشان‌دهنده حساسیت ارقام وحشی است و نمونه‌های گونه *H. bulbosum* نسبت به *H. spanteneum* در برابر عامل بیماری حساس‌تر بودند. ازجمله ارقامی که در مطالعه حاضر در مرحله گیاه بالغ از خود مقاومت نشان داد رقم زراعی ارس بود که از آن می‌توان در برنامه‌های اصلاحی به‌عنوان والد دهنده جهت تولید ارقام مقاوم استفاده نمود. مشیری در بررسی‌هایی که بین سال‌های ۱۳۷۳-۱۳۶۶ روی ۱۷ رقم جو انجام داد مشاهده کرد که تنها دو رقم ارس و استار به سفیدک پودری مقاومت نشان دادند (۱۹).

نتایج ارزیابی‌های مولکولی: ارزیابی مولکولی با استفاده از ۱۶ آغازگر ISSR روی DNA ژنومی ۳۴ ژنوتیپ جو انجام شد. در مجموع ۱۲۵ آلل تکثیر شد که از این تعداد ۱۲۴ آلل (۹۹/۲ درصد آلل ها) به‌عنوان چند شکل تشخیص داده شدند. متوسط تعداد الل‌های تولیدشده برای هر آغازگر، ۷/۹۳ بود. چندشکلی بالای حاصل در پژوهش حاضر را می‌توان به کارایی بالای نشانگر ISSR نسبت داد. از آنجایی که در روش ISSR، آغازگرها مکمل نواحی ریزماهواره‌ای می‌باشند که در یوکاریوت‌ها در سراسر ژنوم پراکنده‌اند بنابراین استفاده از این روش می‌تواند سطح بالایی از چندشکلی را فراهم کند (۱۰). ژوین گیلا و همکاران (۲۶) از بین ۱۱۳ جایگاه رپید و ۱۵۳ جایگاه ISSR تولیدشده، تنها ۸۵/۷-۵۳/۸ درصد قطعات چندشکلی نشان دادند. دامنه اللی برای کل آغازگرهای مورد استفاده از ۱۰۰ الی ۱۵۰۰ جفت باز (bp) متغیر بود. در این سیستم نشانگری بیشترین محتوای اطلاعات چندشکلی مربوط به آغازگر LBMB-B با میزان ۰/۴۴ و کمترین محتوای چندشکلی متعلق به آغازگر ۱۵با مقدار ۰/۱۷ بود. متوسط محتوای اطلاعات چندشکلی در این آغازگرها به میزان ۰/۳۲مشاهده شد (جدول ۲). تعداد زیاد مکان‌های تکثیرشده در این آزمایش نشان می‌دهد که تعداد کمی از نشانگرهای ISSR با میزان اطلاعات چندشکل بالا، می‌تواند تعداد زیادی نمونه و جمعیت‌های مختلف جو را تفکیک کند. قبلاً نیز تحقیقات مختلفی کارایی بالای نشانگرهای ISSR را در مطالعات مرتبط با تنوع ژنتیکی و روابط تکاملی را درگونه‌های گیاهی مختلف نشان‌داده است (۱۷،۱۵،۳).

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2024-10-12]
[DOI: 10.29252/jcb.9.22.31]

جدول ۲- وضعیت تکثیر آغازگرهای مورد استفاده در تکثیر ژنوم ۳۴ ژنوتیپ جو مورد استفاده در این تحقیق

Table 2. The amplification status of the primers used in genome amplification of 34 barley genotypes used in this research

نام پرایمر	توالی پرایمر	دمای اتصال	تعداد الل	تعداد الل های پلی مورفیسم	درصد پلی مورفیسم	PIC	اندازه قطعات
UBC836	(AG)7ACYA	۵۳	۱۰	۱۰	۱۰۰	۰/۳۸۵	۱۰۰۰–۱۰۰
UBC841	(GA)8YC	۵۵	۹	۹	۱۰۰	۰/۳۲	۱۰۰۰–۲۰۰
ISSR10	(AC)8G	۵۲	۱۰	۱۰	۱۰۰	۰/۳۰۱	۱۵۰۰–۲۰۰
12	(AC)8AT	۵۲	۹	۹	۱۰۰	۰/۳۱	۱۵۰۰–۲۰۰
826	(AC)8C	۴۵/۷	۸	۸	۱۰۰	۰/۲۸	۱۰۰۰–۳۰۰
UBC853	(TC)8RT	۵۳	۱۰	۱۰	۱۰۰	۰/۳۱	۱۵۰۰–۲۰۰
UBC840	(GA)8YT	۵۳	۸	۸	۱۰۰	۰/۳۹	۱۵۰۰–۴۰۰
UBC812	(GA)8A	۵۰	۹	۹	۱۰۰	۰/۳۳	۱۵۰۰–۵۰۰
811	(GA)8C	۳۵/۷	۶	۶	۱۰۰	۰/۳۱۷	۱۵۰۰–۵۰۰
LBMB-B	GACAGACAGAGAGACATT	۴۱/۸	۸	۸	۱۰۰	۰/۳۴	۱۵۰۰–۴۰۰
ISSR04	(AC)8C	۵۲	۷	۷	۱۰۰	۰/۲۹	۱۰۰۰–۳۰۰
LBMB-C	GACAAAGACAGACAGTC	۴۱/۷	۶	۶	۱۰۰	۰/۴۴	۱۰۰۰–۴۰۰
809	(AG)8G	۳۹	۵	۴	۸۰	۰/۲۱	۱۵۰۰–۳۰۰
15	(AC)8TG	۵۴	۷	۷	۱۰۰	۰/۱۷	۱۰۰۰–۳۰۰
134	(AG)8AA	۵۰	۷	۷	۱۰۰	۰/۳۸	۱۰۰۰–۱۰۰
144	(GA)9C	۵۴	۶	۶	۱۰۰	۰/۴	۸۰۰–۳۰۰

R =(A یا G) ,Y =(C یا T)

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2024-10-12]

[DOI: 10.29252/jcb.9.22.31]

در بین این ۱۶ آغازگر، آغازگرهای UBC836 و UBC853 بیشترین تعداد آلل در میان آلل‌های تولیدی توسط هر آغازگر را داشتند. آغازگر 809 نیز با ۵ آلل کمترین تعداد آلل رابخود اختصاص دادند. به‌منظور تعیین ارتباط بین صفت تحمل به بیماری (فنوتیپ) با داده‌های مولکولی و شناسایی نشانگرهایی که بالقوه قابلیت پیوستگی با این صفت رادارند از روش رگرسیون گام به‌گام استفاده شد.

از بین ۱۲۴ الل آغازگر بین‌ریزماهواره‌ای استفاده شده در این تحقیق، ۶ الل همبستگی معنی‌داری با این چهار گروه فنوتیپی از نظر میزان تحمل به بیماری نشان دادند. اولین آلل (دارای بالاترین همبستگی) که وارد مدل رگرسیون شده، آلل مربوط به آغازگر 12 با اندازه ۱۰۰۰bp بوده و به ترتیب آلل‌های بعدی مربوط به آغازگرهای UBC840 با اندازه ۱۰۰۰bp و 826 با اندازه باند۳۰۰ bp و ISSR10 با اندازه باند ۱۵۰۰ bp و LBMB با اندازه باند ۷۰۰ bp و 826 با اندازه باند ۱۰۰۰ bp می‌باشند. نشانگرهای مذکور را می‌توان به‌عنوان نشانگرهای آگاهی‌بخش مرتبط باتحمل به بیماری سفیدک پودری جو جهت استفاده در برنامه‌های اصلاحی استفاده نمود. آلل‌های شماره ۲۰، ۳۰، ۸۹ فقط در ارقام مقاوم ونیمه مقاوم مشاهده شدند و آلل‌های ۳۹، ۵۹، ۸۹ در ارقام نیمه حساس و حساس دیده شدند (جدول ۳). نتایج این تحقیق در تأمین اطلاعات اولیه برای انتخاب گیاهان دارای سطوح مناسب مقاومت و انتخاب در مراحل اولیه (گیاهچه) از طریق نشانگرهای مرتبط مفید می‌باشد.

اصلاحی (۸) در مطالعه‌ای با استفاده از ۷ نشانگر RAPD اقدام به تفکیک ارقام مقاوم و حساس در ۳ رقم گندم نسبت به بیماری سوختگی برگ گندم نمود و از بین نشانگرها تنها نشانگر OPH20 توانست یک باند پلی‌مورفیک در ناحیه ۱۲۰۰bp در ارقام مقاوم ایجاد کند که این باند در ارقام حساس مشاهده نشد. خدارحمی و همکاران (۱۶) با استفاده از روش تجزیه ارتباط، ۵ نشانگر SSR مرتبط با سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری (AUDPC) و ۴ نشانگر مرتبط با ضریب آلودگی نهایی را در گندم برای مقاومت به زنگ زرد معرفی کردند.

آهنگر و همکاران در مطالعاتی (۲،۱) به بررسی ژنتیکی پاسخ گیاه گندم به بیماری سفیدک پودری نمودند. در مطالعه‌ی اول، بیان ژن‌های مرتبط با بیماری‌زایی و همچنین آنزیم فنیل آلانین آمونیالاز را در در مقابل سفیدک پودری بررسی نموده و نشان دادند که قارچ میکوریزا با القای مقاومت، با افزایش بیان ژن‌های دفاعی سبب القای مقاومت در آن می‌گردد.

در مطالعه‌ی دوم (۲) با در معرض قرارد دادن دو رقم حساس و مقاوم گندم بنام‌های فلات و تجن در مقابل سفید سطحی، و بررسی بیان ژن‌های مورد نظر نشان دادند که میزان بیان ژن‌های مورد نظر در ارقام، پس از آلودگی روند افزایشی داشت. بطوری‌که در هر دو رقم حساس و مقاوم، بیشترین میزان بیان ژن‌ها ۲۴ ساعت پس از آلودگی بوده تا از نفوذ و استقرار هاستوریوم قارچ در میزبان ممانعت نماید. لذا چنین ژن‌هایی در کنار ژن‌های اصلی، باعث تشدی و حفظ مقاومت می‌شوند. بیان چنین ژن‌هایی با افزایش زمان بعد از آلودگی کاهش یافته و در برهمکنش عامل بیماری و گیاه نقش اساسی دارند.

جدول ۳- گزینش الل‌های آگاهی‌بخش آغازگرهای ISSR با استفاده از رویه آماری رگرسیون

Table 3. Selection of informative ISSR markers using regression statistical procedure

نام آغازگر	شماره آلل	اندازه آلل	ضریب رگرسیون	آماره T	سطح معنی‌داری (P-Value)
12	۳۰	۱۰۰۰bp	۰/۵۲	۳/۸۸	۰
UBC840	۵۹	۱۰۰۰bp	۰/۴۸	۵/۵۸	۰
826	۴۶	۳۰۰bp	۰/۴	۳/۴۴	۰/۰۰۲
ISSR10	۲۰	۱۵۰۰bp	۰/۹۴	۳/۶۱	۰/۰۰۱
LBMB-B	۸۹	۷۰۰bp	۰/۳۶	۳/۰۴	۰/۰۰۵
826	۳۹	۱۰۰۰bp	۰/۲۲	۲/۳۷	۰/۰۲

در این مطالعه صفت تحمل به بیماری سفیدک پودری در ۳۴ ژنوتیپ زراعی و وحشی جو موردبررسی قرارگرفته و با استفاده از ۶ الل مرتبط باتحمل به بیماری سفیدک پودری در ۵ آغازگر ISSR طبقه‌بندی شدند. حال، با استفاده از آنالیز تشخیص می‌توانیم تابعی را ترسیم نماییم که به‌وسیله آن بتوان گروه‌ها را ازنظر تحمل به بیماری از یکدیگر تفکیک نموده و همچنین صحت این آلل‌های آگاهی‌بخش را نیز مشخص نماید. ماتریس ساختاری (جدول ۴)، همبستگی‌های درون‌گروهی ترکیبی بین متغیرهای جداشده (گروه‌ها ازنظر میزان تحمل) و توابع را نشان می‌دهد. با توجه به این ساختار، می‌توان معادله تابع تشخیص را به‌صورت زیر نوشت:

$$y=\beta_0+\beta_1M_1+\beta_2M_2+\beta_3M_3+\beta_4M_4+\beta_5M_5+\beta_6M_6$$

$$y=-7.249+2.891M1+1.038M2+0.629M3+0.886M_4+9.524M_{5+}4.531M_6$$

در این معادله y متغیر وابسته (ژنوتیپ‌ها)، β_0 عرض از مبدأ، β_1، β_2 و β_3، β_4، β_5 و β_6 به ترتیب ضرایب تابع برای الل‌های آگاهی‌بخش مربوط به نشانگرهای M_1 (۱۴)، M_2 (UBC840) و M_3(826) و M_4(ISSR10) و M_5 (LBMB-B) و M_6 (826) می‌باشد.

مقدار تابع بدست آمده برای میانگین هر یک از گروه‌ها به ترتیب ۲/۶۹، ۲/۷۴ و ۱/۶۹- و ۱/۱۹- بوده که تفاوت معنی‌داری با هم داشته و صحت آلل‌های آگاهی‌بخش مرتبط باتحمل به بیماری را با احتمال بسیار بالایی تأیید می‌نماید (جدول ۵).

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2024-10-12]

[DOI: 10.29252/jcb.9.22.31]

جدول ۴- ماتریس ساختاری ضرایب تابع تشخیص کانونیک

Table 4. Structural matrix of canonical detection function coefficient

نام آغازگر	شماره آلل	اندازه آلل	ضرایب تابع
12	۳۰	۱۰۰۰bp	۲/۸۹۱
UBC840	۵۹	۱۰۰۰bp	۱/۰۳۸
826	۴۶	۳۰۰bp	۰/۶۲۹
ISSR10	۲۰	۱۵۰۰bp	۰/۸۸۶
LBMB-B	۸۹	۷۰۰bp	۹/۵۲۴
826	۳۹	۱۰۰۰bp	۴/۵۳۱

(Constant)=-7.249 عرض از مبدأ

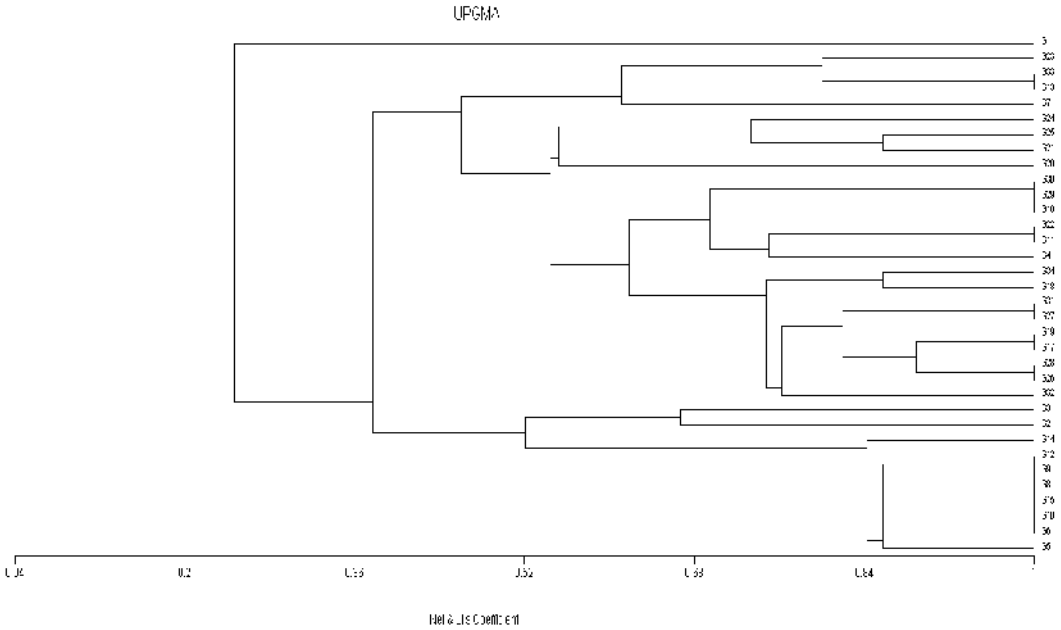
جدول ۵- مقدار تابع تشخیص کانونیک ارزیابی‌شده برای میانگین گروه‌ها

Table 5. The value of the canonical detection function evaluated for the mean of the groups

گروه‌ها	مقدار تابع
مقاوم	۲/۶۹
نیمه مقاوم	۲/۷۴
نیمه حساس	-۱/۶۹
حساس	-۱/۱۹

برای بررسی روابط ژنتیکی ژنوتیپ‌های مورداستفاده ازنظر میزان تحمل به بیماری، از ماتریس عدم تشابه دایس و الگوریتم نزدیکترین همسایه جهت خوشه‌بندی ژنوتیپ‌ها استفاده شد. در این نوع روش تجزیه‌ای از شش نشانگر آگاهی‌بخش مرتبط باتحمل به بیماری برای گروه‌بندی ۳۴ ژنوتیپ گیاه جو استفاده شد. در خوشه به‌دست‌آمده، ژنوتیپ‌های ۵، ۶، ۸، ۹، ۱۰ و ۱۵ در بررسی‌های فنوتیپی مقاومت نشان داده بودند در یک گروه و ژنوتیپ‌های ۲، ۳، ۷، ۱۴ و ۱۲ که نیمه مقاوم بودند در گروه دیگر واقع شدند علاوه بر این‌ها ژنوتیپ های نیمه حساس و حساس در گروه جداگانه قرار گرفته‌اند (شکل ۳). این گروه‌بندی نشان می‌دهد که الل‌های آگاهی‌بخش مرتبط با تحمل به بیماری سفیدک پودری به‌درستی توانایی تفکیک ژنوتیپ‌ها را بر اساس فنوتیپ دارند.

مقایسه سطوح تنوع بین تحقیقات مختلف مشکل است زیرا تعداد الل‌های شناسایی‌شده در هر جایگاه، میزان تنوع ژنتیکی نمونه‌ها و تعداد ژنوتیپ‌های مورد بررسی در تحقیقات مختلف متفاوت است با این‌حال آغازگرهای انتخاب شده علاوه بر نشان دادن تنوع آللی، نتایج مفیدی ازنظر تنوع و وابستگی نشانگر به مقاومت و حساسیت ژنوتیپ‌ها نشان دادند.



شکل ۳- گروه‌بندی ۳۴ ژنوتیپ زراعی و وحشی جو با استفاده از دندروگرام تهیه‌شده الگوریتم نزدیک‌ترین همسایه و ماتریس عدم تشابه جاکارد بر اساس ۶ آغازگر ISSR آگاهی‌بخش مرتبط باتحمل به بیماری

Figure 3. Clustering of 34 wild and crop barley genotypes using nearest neighboring algorithms and Jaccards dissimilarity matrix based on 6 informative ISSR markers related to disease-tolerant

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2024-10-12]

[DOI: 10.29252/jcb.9.22.31]

بهترین روش برای شناسایی و جداسازی ارقام با سطوح متفاوت تحمل به بیماری سفیدک پودری در حال حاضر مطالعه تفاوت‌های موجود در سطح DNA شناسایی نشانگرهای پیوسته با ژن‌های کنترل‌کننده‌ی صفات، به‌عنوان تکنیکی بسیار مفید، جهت شناسایی این تفاوت‌ها می‌باشد. در این مطالعه ارتباط بین صفت تحمل به بیماری و ۱۲۴ آلل تکثیرشده بررسی شد، با استفاده از روش‌رگرسیون گام به‌گام، شش قطعه ژنومی با اندازه ۱۰۰۰bp، ۷۰۰bp، ۱۵۰۰bp، ۳۰۰bp، ۱۰۰۰bp، ۱۰۰۰bp به ترتیب مربوط به آغازگرهای ۱۲و UBC840 و LBMB-B و *826*و *826* و ISSR10 به‌عنوان آلل‌های مرتبط باتحمل به بیماری شناسایی شدند. این قطعات ارقام مقاوم و نیمه مقاوم را از ارقام حساس و نیمه حساس تفکیک نمودند. در نتیجه این آلل‌ها به عنوان آلل‌های آگاهی‌بخش مرتبط باتحمل به بیماری سفیدک در گیاه جو شناسایی شدند. بر اساس تابع تشخیص خطی حاصل از آلل‌های آگاهی‌بخش، این ژنوتیپ‌ها به چهار گروه مقاوم، نیمه مقاوم، نیمه حساس و حساس تفکیک شدند که با نتایج بررسی فنوتیپی ژنوتیپ‌های در شرایط گلخانه‌ای مطابقت داشت. به‌طورکلی می‌توان با استفاده از ۶ آغازگر که توانایی تکثیر لوکوس‌های آگاهی‌بخش رادارند گیاهان را در مراحل مختلف گیاهچه ای مورد غربالگری قرار دارد که کمک شایانی به بهنژادگران در کوتاه کردن زمان و کاهش هزینه می نماید.

منابع

1. Ahangar, L., V. Babaei-zad, G.A. Ranjbar, H. Najafi-Zarini and A. Biabani. 2014. Expression profile of defense-related genes in susceptible and resistant wheat cultivars in response to powdery mildew infection. Novin Genetics J0urnal, 10: 33-46 (In Persian).
2. Ahangar, L., V. Babaei-zad, G.A. Ranjbar, H. Najafi-Zarini and A. Biabani. 2012. Study on expression of Phenylalanine ammonia-lyase and phatogenesis-related genes in wheat symbiont with endomycorrhizal fungus *Piriformospora Indica* after infection with powdery mildew. Plant diseases Journal, 50: 369-384 (In Persian).
3. Azizi, H., A. Burnouse, B. Abdollahi Mandoulakani and R. Darvishzadeh. 2012. Study of genetics structure and diversity in cultivated alfalfa popoulations (*Medicago sativa*) using ISSR markers. Modern Genetics Journal, 4: 61-69.
4. Behdad, E. 2006. Phytopathology and Important Plant Diseases in Iran. Ghom, Iran: Atre-Etrat Pub. 785 pp (In Persian).
5. Condon, F.C., C.R. Gustus. Donald and K.P. Smith. 2008. Effect of advanced cycle breeding on genetic diversity in barley breeding germplasm. Crop Science, 48: 1027-1036.
6. Czembor, J.H. 2000. Powdery mildew resistance in selection from Moroccan barley landraces. Phytoparasitica, 28: 65-78.
7. Doyle, J.J and J.L. Doyle. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. Phytochemical Bulletin, 19: 11-15.
8. Eslahi, M. 2014. Using RAPD Markers in the separation of wheat varieties resistant and susceptible to leaf spot disease of wheat Spray. . Journal of Plant Pathology, 3: 15-22.
9. Farshadfar, M., S.H. Fareghi, EA. Farshadfar and A.A. Jafari.2008. Evaluation of the genetic diversity of alfalfa using morphological and chemical indices. Journal of rangeland and forest research and genetic modification of plants, 16: 13-1.
10. Fabriki, O.S., M. Shamsbakhsh. M.J. Jalali and A. Jafari. 2009. Genetic diversity in indigenous masses of Iranian Melon (*Cucumis melo* L.) using the micro-satellite markers (ISSR). Iranian Journal of Bioogy, 22: 271-281.
11. Fazeli, A., N.A. Babaeian Jelodar, M.R. Naghavi, E. Khodadadi, M. Chardoli, B. Zarei and E. Sedaghatfar. 2013. Evaluation of infection type and inheritance of resistance to powdery mildew in two crosses in barley. International Journal of Agronomy and Agricultural Research, 3: 1-9.
12. Hacquard, S., B. Kracher, T. Maekawa, S. Vernaldi, P. Schulze-Lefert and E.V.L.V. Themaat. . 2013. Mosaic genome structure of the barley powdery mildew pathogen and conservation of transcriptional programs in divergent hosts. Proceeding of the National Academy of Science of the United States of Amrica (PNAS), 110: 2219-2228.
13. Hayes, P.M. 1992. Economic trait loci (Quantitative Trait Loci-QTL) analysis progress report. North American Barley Genome Mapping. Project (NABGMP). Barley Genetics Newsletter, 21: 30-31.
14. Ivandic, V., C.A. Hackett, E. Nevo, R. Keith, W.T.B. Thomas and B.P. Forster. 2002. Analysis of simple sequence repeats (SSRs) in wild barley from the Fertile Crescent: associations with ecology, geography and flowering time. Plant Molecular Biology, 48: 511-527.
15. Jun, T.H., K. Van, M.Y. Kim, S.H. Lee and D.R. Walker. 2008. Association analysis using SSR markers to find QTL for seed protein content in soybean. Euphytica, 62: 179-191.
16. Khodarahmi, M., S.A. Mohammadi and M.R. Jalal Kamali. 2009. Identification of informative marker for yellow rust resistant related cultivars. The 6th national biotechnology congress of Iran. 13-15 Aug, Milad tower conference hall, Tehran, Iran.
17. Li, Q., Q.C. Liu, H. Zhai, D.F. Ma, X. Wang, X.Q. Li and Y.P. Wang. 2008. Genetic diversity in main parents of sweet potato in china as revealed by ISSR Markers. Acta Agronomical Sinicia, 34: 972-977.
18. Moldovan, V., M. Moldovan and R. Kadar. 2005. Assessment of winter wheat cultivars for resistance to Fusarium head blight //Ann. Wheat Newslett, 51: 97-98.
19. Moshiri, Sh. 1995. Determination resources barley resistance to some diseases common in Khorasan. Abstract of 12th of Iranian plant protection. Karaj, 53 pp.
20. Ovesna, J., L. Kucera, R. Bockova and V. Holubec. 2002. Characterization of powdery mildew resistance donors within *Triticum boeoticum* accessions using RAPDs. Plant Breed, 38: 117-124.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2024-10-12]

[DOI: 10.29252/jcb.9.22.31]

21. Peseraklu, S., H. Soltanlou, S.S. Ramezanpour, A.A. Nasrollahnezhad, M. Kalateh and Sh. Kia. 2012. Evaluation of genetic diversity of barley powdery mildew disease on some of barley genotypes. 12th Iranian Crop Science Congress, 1-4.
22. Jørgensen, J.H. 1988. *Erysiphe graminis*, powdery mildew of cereals and grasses. Adv. Plant. Pathology, 6: 137-157.
23. Saari, E.E. and J.M. Prescott. 1975. A scale for appraising the foliar intensity of wheat disease. Plant Disase Reporter, 59: 377-380.
24. Younis, R.A.A., O.M. Ismaeil and S.S. Soliman. 2008. Identification of Sex-specific DNA Markers for Date Palm (*Phoenix dactylifera* L.) Using RAPD and ISSR Techniques. Research Journal of Agriculture and Biological Sciences, 4: 278-284.
25. Virk, P.S., B.V. Ford-Lioyd, M.T. Jackson, H.S. Pooni, T.P. Clemeno and H.J. Newbury. 1996. Marker-assisted prediction of agronomic traits using diverse rice germplasm. Third International Rice Genetics Symposium, Manilla, Philippines, 307-316.
26. Zvingila, D., V. Vaitkuniene, J. Patamsts, A. Leisrurmaite, M. StanIute, L. Balciuniene., T. Cesniene, V. Kleizaite, R. Siuksta and R. Rancelis. 2012. DNA polymorphisem and agronomic traits of revertants from barley (*Hordeum vulgare* L.) mutant tw. Žemdirbystė=Agriculture, 99: 139-148.
27. Zaccardelli, M., S. Gnocchi, M. Carelli and C. Scotti. 2003. Variation among and within Italian alfalfa ecotypes by means of bioagronomic characters and amplified fragment length polymorphism analyses. Plant Breeding, 122: 61-65.
28. Malekmohamadi, Z., H. Sabori, A. Biabani and E. Hezarjaribi. 2016. Study of Genetic Diversity of Soybean (Glycine max) using ISSR Markers. Journal of crop breeding. 8: 124-133 (In Persian).
29. Pahlavani, S., A. Izanloo, S. Parsa and M.G. Ghaderi. 2016. Association between Grain Quality Traits and SSR Molecular Markers in Some Bread Wheat Genotypes. Journal of Crop Breeding, 8: 25-36 (In Persian).

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2024-10-12]

[DOI: 10.29252/jcb.9.22.31]

Identification of Informative ISSR Marker Linked to Resistance to Powdery Mildew in Barley (*Hordeum vulgare*) at Adult Growth Stage

Masoumeh Ahmadi[1], Arash Fazeli[2] and Ali Arminian[3]

1 and 3- Graduated M.Sc. Student and Assistant Professor, Ilam University
2- Assistant Professor, Ilam University, (Corresponding author: a.fazeli@ilam.ac.ir)
Received: June 27, 2015 Accepted: February 16, 2016

Abstract

Powdery mildew (*Blumeria graminis f. Sp. Hordei*) is one of the most destructive foliar diseases in barley that cause yield reduction worldwide. DNA molecular markers can be used to study the genetic diversity and better understanding of genetic predisposition to disease resistance to powdery mildew in barley at early growth stage. Selection of resistance and tolerance need to identify molecular markers associated with disease. In present study, genetic and phenotypic variations and also molecular markers linked to tolerance to powdery mildew in 34 of cultivated and wild barley genotypes were investigated. Using 16 ISSR ma rkers in total amplified 125 alleles that 124 (99.27%) of that were identified as polymorphic alleles. Number of amplified alleles ranged from 5 to 10 with an average 7.93 was different for each primer. Polymorphic Information Content (PIC) were varied from 0.17 (15) to 0.44 (LBMB-B) and also Molecular Index (MI) varied from 0.84 (primer No. 809) to 3.85 (UBC836). Resistance and susceptible genotypes show the highest genetic distance, however, resistance and tolerant genotypes show the lowest genetic distance. Multiple regression analysis (stepwise) between trait resistances amplified 125 alleles identified six fragments 1000 bp (primer No. 826), 700 bp (LBMB), 1500 bp (ISSR10), 300 bp (primer No. 826), 1000 bp (UBC840) and 1000 bp (primer No. 12), respectively. Results indicated that ISSR markers are suitable for screening of barley germplasm tolerant to powdery mildew disease.

Keywords: Barley, Genetic diversity, ISSR markers, Powdery mildew, Resistance

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2024-10-12]

[DOI: 10.29252/jcb.9.22.31]