



Scientific article

Genetic diversity and putative hybridization between *Puccinia striiformis* formae speciales in Iran using SSR and IGS1 markersSAFARALI SFAVI¹ , FARZAD AFSHARI², MAHDI ARZANLOU³

1- Associate Professor, Crop and Horticultural Science Research Department, Ardabil Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Ardabil, Iran 2- Professor, Department of Cereal Research, Seed and Plant Improvement Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran 3- Professor, Department of Plant Protection, College of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

(Received: 2025; Accepted: Sep 2025)

Abstract

Yellow rust small-grain cereals, caused by the fungal pathogen *Puccinia striiformis*, is one of the most economically important diseases in Iran and worldwide. This pathogen has various forma special, including the wheat form (Pst) and the barley form (Psh). Sexual reproduction on barberry, hybridization, and intercontinental migrations play key roles in its high genetic diversity, especially in Asian populations. In this study, genetic diversity of 18 isolates (selected from a total of 36 isolates based on geographical origin, host species, and pathotypic diversity), comprising 12 Psh isolates from barley and 6 Pst isolates from wheat and wild barley collected from different regions of Iran, was investigated using the IGS1 region and five microsatellite markers (RJ18, RJ21, RJ2N, RJ10N, RJ11N). The IGS1 marker clearly distinguished wheat from barley isolates by generating seven distinct banding patterns. SSR analysis detected 14 banding patterns with an average of 2.8 bands per locus; the RJ2N locus exhibited the highest diversity with 4 bands and the highest PIC value (0.4). Genetic diversity was higher in Psh than in Pst isolates. The presence of double banding patterns in some Psh isolates indicated shared alleles with Pst and suggested possible hybridization. The UPGMA dendrogram grouped isolates into three main clusters. Genetic similarity among isolates from distant regions could be consistent with the distribution of similar genotypes across different geographical areas. The high diversity in Iranian populations, especially in Ardabil, highlights the potential for rapid pathogen evolution and underscores the need for continuous monitoring using more precise molecular tools. Identification of isolates with a putative hybrid origin represents a serious warning for agriculture, as hybridization can lead to emergence of new, more damaging races by transferring pathogenicity and aggressiveness genes between forma special, ultimately resulting in breakdown of host resistance.

Key words: Barley yellow rust, Genetic diversity, Microsatellite markers, IGS1 region, Hybridization, *Puccinia striiformis*



مقاله پژوهشی

تنوع ژنتیکی و هیبریداسیون احتمالی بین فرم‌های اختصاصی زنگ زرد جو و گندم در ایران با استفاده از

نشانه‌های SSR و IGS1

صفرعلی صفوی¹✉، فرزاد افشاری²، مهدی ارزانلو³

1 - دانشیار پژوهش بخش تحقیقات علوم زراعی و باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان اردبیل، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اردبیل ایران، 2 - استاد پژوهش، بخش تحقیقات غلات، موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، 3 - استاد گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز

(تاریخ دریافت: 1404؛ تاریخ پذیرش: شهریور 1405)

چکیده

بیماری زنگ زرد غلات دانه‌ریز با عامل *Puccinia striiformis* یکی از مهم‌ترین بیماری‌های اقتصادی در ایران و جهان است. این بیمارگر دارای فرم‌های اختصاصی مختلف از جمله فرم اختصاصی گندم (Pst) و جو (Psh) می‌باشد. تولیدمثل جنسی روی زرشک، هیبریداسیون و مهاجرت‌های بین‌قاره‌ای در تنوع ژنتیکی بالای آن، به‌ویژه در جمعیت‌های آسیایی، نقش کلیدی دارند. در این پژوهش، تنوع ژنتیکی ۱۸ جدایه (انتخاب‌شده از میان ۳۶ جدایه بر اساس تفاوت در منشأ جغرافیایی، گونه میزبان و الگوی بیماری‌زایی) شامل ۱۲ جدایه Psh از جو و ۶ جدایه Pst از گندم و جو وحشی، از مناطق مختلف ایران، با استفاده از ناحیه IGS1 و پنج نشانگر ریزوماهواره‌ای (RJ18, RJ21, RJ2N, RJ10N, RJ11N) بررسی شد. نشانگر IGS1 با هفت الگوی بانندی، جدایه‌های گندم را از جو به خوبی متمایز کرد. در نشانگرهای SSR، ۱۴ الگوی بانندی با میانگین ۲/۸ باند در هر جایگاه شناسایی شد و جایگاه RJ2N با ۴ باند و بالاترین شاخص PIC (0/4) بیشترین تنوع را نشان داد. تنوع ژنتیکی در جدایه‌های Psh بیشتر از Pst بود. الگوهای بانندی دوگانه در برخی جدایه‌های Psh حاکی از آلل‌های مشترک با Pst و هیبریداسیون احتمالی بود. دندروگرام UPGMA جدایه‌ها را در سه گروه اصلی قرار داد. شباهت ژنتیکی بین جدایه‌های مناطق دور از هم، می‌تواند با پراکنش ژنوتیپ‌های مشابه میان مناطق جغرافیایی مختلف سازگار باشد. تنوع بالای مشاهده شده در جمعیت‌های ایرانی، به‌ویژه در اردبیل، نشان‌دهنده پتانسیل تکامل سریع بیمارگر و ضرورت پایش مستمر با ابزارهای مولکولی دقیق‌تر است. شناسایی جدایه‌های با منشأ احتمالی هیبریدی هشدار جدی برای کشاورزی است، زیرا هیبریداسیون می‌تواند با انتقال ژن‌های بیماری‌زایی و تهاجمی بین فرم‌های اختصاصی، به ظهور نژادهای جدید با خسارت بیشتر و شکست مقاومت ارقام منجر شود.

واژه‌های کلیدی: زنگ زرد جو، تنوع ژنتیکی، نشانگرهای ریزوماهواره‌ای، ناحیه IGS1، هیبریداسیون، *Puccinia striiformis*

✉Safaralisafavi@yahoo.com

©2026, The Author(s). Published by Iranian Research Institute of Plant Protection (IRIPP). This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>)

مقدمه

زنگ زرد غلات دانه‌ریز توسط گونه قارچی *Puccinia striiformis* Westend ایجاد می‌شود که در سراسر جهان پراکنش دارد (Holtz et al., 2014). گونه قارچی *Puccinia striiformis* یک عامل بیماری‌زای زنده‌پرور (Biotroph)، انگل اجباری و دارای میزبان واسط است (Hovmoller et al., 2011). در گذشته تصور می‌شد این قارچ کوتاه‌چرخه (Microcyclic) است، اما مرحله تولید مثل جنسی آن روی گونه‌های *Berberis* (Jin, 2011; Zhao et al., 2013, 2021) و *Mahonia aquifolium* (Wang and Chen, 2013) به اثبات رسیده است. زنگ زرد به‌طور سنتی بر اساس میزبان آلوده شده به فرم‌های اختصاصی مختلفی تقسیم می‌شود. فرم اختصاصی *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* (Pst) عمدتاً روی گندم دیده می‌شود، اما روی جو، چاودار و تربیتکاله نیز گزارش شده است (Cheng et al., 2016). این فرم اختصاصی مهم‌ترین عامل بیماری زنگ زرد از لحاظ اقتصادی است که به طور گسترده‌ای مطالعه شده است. زنگ زرد جو توسط *Puccinia striiformis* f. sp. *hordei* (Psh) ایجاد می‌شود. فرم اختصاصی جدیدی به نام *Puccinia striiformis* f. sp. *pseudo-hordei* (Psp-h) که موجب بیماری زنگ زرد روی جوهای وحشی در استرالیا می‌شود، در سال ۲۰۰۰ تشریح شد (Wellings et al., 2000). این فرم اختصاصی اساساً روی گونه‌های جو وحشی دیده شده و روی بیشتر ارقام گندم و جو غیر بیماری‌زا است (Wellings et al., 2000; Golegaonkar et al., 2013).

زنگ زرد جو در اروپا و آسیا از سال‌ها پیش وجود داشته و همه‌گیری‌های شدیدی از این بیماری در کشورهای شمال‌غربی و مرکزی اروپا، هندوستان، بنگلادش، نپال، چین و ژاپن گزارش شده است (Chen et al., 1995). در سال ۱۹۷۵ عامل بیماری زنگ زرد جو از اروپا به آمریکا منتقل و بیشتر کشورهای آمریکایی را فراگرفت (Dubin and Stubbs, 1986). این بیماری ابتدا توسط اسفندیاری در سال ۱۳۲۶ از ایران گزارش شد (Esfandiari, 1947). کاهش عملکرد ناشی از بیماری زنگ زرد روی جو در

برخی کشورهای نواحی آمریکای جنوبی از ۳۰ تا ۷۰ درصد متغیر بوده است (Dubin and Stubbs, 1986). این بیماری در ایران در برخی نقاط به‌ویژه استان‌های اردبیل، خراسان (Safavi et al., 2012a, Zahravi et al., 2023)، فارس (Zakeri et al., 2018) و خوزستان (Safavi et al., 2014) در حال افزایش است. در بررسی صفوی و همکاران (Safavi et al., 2012b) کاهش اجزای عملکرد ناشی از بیماری زنگ زردجو در اردبیل روی ارقام حساس و ارقام دارای مقاومت تدریجی (Slow rusting resistance) به ترتیب ۵۰٪ و ۲۰٪ برآورد شده است.

ساختار ژنتیکی جمعیت‌های زنگ زرد در چندین قاره با استفاده از نشانگرهای مختلفی بررسی و مطالعه شده است. نیوتن و همکاران در انگلیس از الگوی ایزوآنزیمی و dsRNA برای مطالعه روابط فرم‌های اختصاصی و نژادهای *Puccinia striiformis* استفاده کردند (Newton et al., 1985). آن‌ها گزارش کردند که *P. s. f. sp. hordei* و *P. s. f. sp. tritici* الگوهای ایزوآنزیمی و dsRNA متفاوتی دارند، اما نتوانستند تفاوت‌هایی بین نژادهای *Puccinia striiformis* در گندم و جو پیدا کنند. زامبینو و همکاران (Zambino et al., 1992) نیز با استفاده از توالی‌یابی ناحیه ITS، روابط بین آن‌ها را گزارش کردند. در بررسی ربانی نسب و همکاران (Rabbaninasab et al., 2008) درباره شدت بیماری‌زایی و تنوع مولکولی عامل زنگ زرد گندم در ایران، ارتباط قابل توجهی بین مناطق جغرافیایی و گروه‌های انگشت‌نگاری AFLP وجود داشت، هرچند ارتباط مشخصی بین نژادها و این گروه‌ها مشاهده نشد. نتایج نشان داد که شباهت ژنتیکی اکثر جمعیت‌ها با جمعیت غرب و شمال غرب بیش از ۶۵ درصد است.

واحدهای تکراری DNA ریبوزومی (rDNA) به‌عنوان عاملی مناسب برای شناسایی بسیاری از گونه‌های قارچی استفاده شده‌اند (Takamatsu, 1998). IGS تنوع بین‌گونه‌ای و داخل‌گونه‌ای بیشتری نسبت به ITS نشان می‌دهد. کماجاتی و همکاران (Komajati et al., 2004) با استفاده از توالی‌های IGS، SSR و SRAP، چندشکلی *P. striiformis* را مطالعه نمودند. آن‌ها بین

با یکی از ژنوتیپ‌های قدیمی زنگ زرد گندم (جمع‌آوری شده از آمریکا) داشت. تعدادی از جدایه‌ها نیز در گروهی قرار گرفتند که احتمال هیبرید بودن بین دو فرم اختصاصی را تقویت می‌کرد (Holtz et al., 2014).

در سال‌های اخیر، پیشرفت‌های چشمگیری در زمینه شناخت ساختار ژنتیکی جمعیت‌های *Puccinia striiformis* در سطح جهانی به دست آمده است. شارما-پودیال و همکاران (Sharma et al., 2020) با به‌کارگیری ۲۴ نشانگر ریزماهورای هم‌بارز، ۲۸۳ جدایه Pst از ۱۶ کشور مختلف جهان را مورد بررسی قرار دادند و تنوع ژنتیکی بالایی را در این جمعیت‌ها مشاهده کردند. آن‌ها همچنین شواهد محکمی مبنی بر مهاجرت گسترده جدایه‌ها بین قاره‌ها، به‌ویژه از آسیا به سایر نقاط جهان، ارائه دادند. نکته جالب‌توجه اینکه تنوع ژنتیکی در جمعیت‌های آسیایی (از جمله مناطق نزدیک به ایران) به طور قابل توجهی بیشتر از سایر مناطق بود که نشان‌دهنده مرکزیت تنوع این بیمارگر در قاره آسیا می‌باشد. در زمینه تکامل میزبانی و جهش‌های میزبانی، دینگ و همکاران (Ding et al., 2021) با ترکیب داده‌های ژنوتیپی، فنوتیپی و ژنومیکی، مسیرهای تکاملی جمعیت‌های کلونال Pst در استرالیا را آشکار ساختند. آن‌ها وجود فرم اختصاصی جدیدی به نام *P. striiformis* f. sp. *pseudo-hordei* را با ژنوتیپ‌های منحصربه‌فرد چندلوکوسی (MLG) تأیید کردند که توانایی آلوده کردن جوهای وحشی و برخی غلات را دارد و نشان‌دهنده پرش میزبانی در این بیمارگر است. علاوه بر این، نقش تولیدمثل جنسی در ایجاد تنوع ژنتیکی بیش از پیش روشن شده است. رودریگز-آلگابا و همکاران (Rodriguez-Algaba et al., 2017)، با بررسی دقیق جمعیت‌های *P. striiformis* روی میزبان واسط *Berberis vulgaris* در اروپا، تنوع ژنتیکی بسیار بالایی را در تلیوسپورها و اسپورسپورها مشاهده کردند و ثابت نمودند که تولیدمثل جنسی یک منبع مهم برای ایجاد نژادهای جدید با ترکیبات بیماری‌زایی جدید است. این یافته اهمیت میزبان‌های واسط مانند زرشک را در چرخه بیماری و تکامل بیمارگر بیش از پیش آشکار می‌سازد. همچنین در حوزه ابزارهای مولکولی، ساوادی و همکاران

P. striiformis f. sp. *hordei* و *P. striiformis* f. sp. *tritici* و تفاوت مشاهده کردند، اما درون فرم اختصاصی اول تنوع چندانی وجود نداشت. سلین و همکاران (Celine et al., 2002) در مطالعه توالی IGS1 متعلق به سه جدایه اروپایی قارچ عامل زنگ زرد گندم، وجود چندشکلی را گزارش نمودند.

در بررسی تنوع ژنتیکی با استفاده از نشانگرهای SSR و فنوتیپ بیماری‌زایی، جدایه‌هایی از زنگ زرد از پاکستان و آمریکا مقایسه شدند (Bux et al., 2012). دندروگرام حاصل بر اساس داده‌های مولکولی، جدایه‌ها را در پاتوتیپ‌هایی گروه‌بندی کرد که شباهت ژنتیکی داشتند. پاتوتیپ‌هایی از هر دو کشور که در یک گروه قرار می‌گرفتند، نیای مشترکی داشتند. در این بررسی، بین تنوع حاصل از نشانگرهای مولکولی SSR و تنوع حاصل از فنوتیپ‌های بیماری‌زایی همبستگی معنی‌داری مشاهده نشد که نشان‌دهنده استقلال توارث آن‌ها است (Bux et al., 2012). در تحقیق دیگری با استفاده از نشانگرهای SSR و فنوتیپ بیماری‌زایی، جدایه‌هایی از آمریکا و چین مقایسه شدند (Zhan et al., 2012). در این بررسی، از ۸۶ جدایه چینی، ۵۴ نژاد و از ۵۱ جدایه آمریکایی، ۵۰ نژاد بر اساس تنوع بیماری‌زایی مشخص شدند و هیچ‌یک از جدایه‌های دو کشور فنوتیپ بیماری‌زایی مشترکی نشان ندادند. از ۱۳۷ جدایه بررسی شده بر اساس نشانگرهای SSR، ۱۰۲ ژنوتیپ شناسایی شد که ۷۱ ژنوتیپ از چین و ۳۱ ژنوتیپ از آمریکا بودند. در این بررسی، همبستگی پایین اما معنی‌داری ($r=0.34$) بین داده‌های SSR و تنوع بیماری‌زایی مشاهده شد (Zhan et al., 2012).

در مطالعه دیگری، تنوع ژنتیکی ۲۶۱ جدایه *P. striiformis* (از گندم، جو و تریتیکاله) در آلبرتای کانادا با نشانگرهای SSR بررسی شد (Holtz et al., 2013). در این بررسی، ۲۸ ژنوتیپ SSR برای کل جدایه‌ها مشخص شد که ۱۳ ژنوتیپ مربوط به زنگ زرد گندم (*P. striiformis* f. sp. *tritici*) و ۱۵ ژنوتیپ مربوط به زنگ زرد جو (*P. striiformis* f. sp. *hordei*) بودند و تنوع ژنتیکی زنگ زرد جو بیشتر از زنگ زرد گندم بود. در این مطالعه، یکی از ژنوتیپ‌های غالب زنگ زرد جو، ارتباط ژنتیکی بسیار نزدیکی

(Single-pustule isolation) خالص‌سازی شدند تا یکنواختی ژنتیکی هر جدایه تضمین شده و هرگونه آلودگی ناشی از وجود جمعیت‌های مخلوط اسپور حذف شود.

استخراج DNA

استخراج DNA ژنومی با استفاده از روش CTAB انجام شد (Moller et al. 1992). برای سنجش غلظت DNA، 5 µl از هر نمونه با 995 میکرولیتر آب دی‌یونیزه ترکیب شده و حجم نهائی 1000 میکرولیتر حاصل شد. این محلول در دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل Ependorf, BioPhotometer) قرارداده شد و غلظت DNA بر اساس ng/µl اندازه‌گیری شد برای اطمینان از دقت، اندازه‌گیری‌ها دو بار تکرار شدند.

استفاده از نشانگرهای SSR: در این مطالعه از پنج آغازگر ریزماهواره‌ای (SSR) شامل RJ21، RJ18 (Enjalbert et al., 2002) و RJ2N، RJ10N و RJ11N (Bahri et al., 2009) برای تشخیص اولیه و ارزیابی تنوع ژنتیکی جدایه‌های دو فرم اختصاصی

Puccinia striiformis f. sp. *hordei* و *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* استفاده شد (جدول 2). واکنش PCR شامل مراحل زیر بود: یک مرحله جداسازی اولیه رشته‌های DNA در 94 درجه سلسیوس به مدت 2 دقیقه، سپس 35 چرخه جداسازی رشته‌های DNA در دمای 94°C برای 30 ثانیه، اتصال آغازگرها در 52°C برای 30 ثانیه و گسترش در 72°C برای 30 ثانیه، و در نهایت یک مرحله گسترش نهایی در 72°C به مدت 5 دقیقه. مخلوط واکنش PCR شامل بافر PCR 1×، MgCl₂ به غلظت 1/5 میلی‌مول، dNTP به میزان 0/2 میلی‌مول، 0/4 میکرومول از هر آغازگر، 10 نانوگرم DNA، و 0/4 واحد آنزیم Taq DNA Polymerase بود.

(Savadi et al., 2020)، موفق به طراحی و توسعه 50 جفت آغازگر ریزماهواره‌ای جدید (PsSSRs) ویژه Pst شدند که از قدرت تفکیک بالایی برخوردار بوده و قابلیت انتقال به سایر گونه‌های زنگ را نیز دارند. این نشانگرها می‌توانند به عنوان ابزارهای مکملی برای بررسی تنوع ژنتیکی در جمعیت‌های ایرانی مورد استفاده قرار گیرند. در مطالعه حاضر، با توجه به اهمیت زنگ زرد و همچنین یافته‌های جدید جهانی درباره تنوع ژنتیکی، مهاجرت، هیبریداسیون و نقش تولیدمثل جنسی در تکامل این بیمارگر، تنوع ژنتیکی تعدادی از جدایه‌های زنگ زرد جو و گندم با استفاده از نشانگرهای مولکولی بررسی می‌شود تا علاوه بر تعیین تنوع ژنتیکی، ارتباط ژنتیکی بین جدایه‌های متعلق به دو فرم اختصاصی نیز مشخص گردد و نتایج آن با پژوهش‌های بین‌المللی اخیر مقایسه شود.

مواد و روش‌ها

نمونه‌های مورد مطالعه

از میان 36 جدایه‌ی جمع‌آوری شده از مناطق مختلف ایران، تعداد 18 جدایه به صورت هدفمند به گونه‌ای انتخاب گردیدند که بیشترین تنوع موجود در کل مجموعه را پوشش دهند. مبنای انتخاب، تفاوت در منشأ جغرافیایی، گونه‌ی میزبان و الگوی پرآزاری/ناپرآزاری (بر اساس واکنش به ارقام افتراقی جو) بود تا تمامی گروه‌های اصلی تنوع در مطالعه‌ی حاضر پوشش داده شوند. این مجموعه شامل 12 پاتوتیپ زنگ زرد جو (*Puccinia striiformis* f. sp. *hordei*) و 6 جدایه متعلق به زنگ زرد گندم و جو وحشی (*P. striiformis* f. sp. *tritici*) بود (جدول 1). اسپورهای هر جدایه پس از تکثیر در شرایط ایزوله، برای استخراج DNA مورد استفاده قرار گرفتند. پیش از استخراج DNA، تمامی جدایه‌ها با استفاده از روش تک‌جوشی

جدول 1- جدایه‌های زنگ زرد (*Puccinia striiformis*) مورد استفاده در این مطالعه و محل جمع‌آوری آنها

Table 1. Stripe rust (*Puccinia striiformis*) isolates used in this study and their geographical origin

No.	Isolate	Pathotype ¹	Aviulence/Virulence formula ²	Host	Collection locations
1	92-2	PSH-74	2, 3, 4, 6, 8, 9, 10, 11/1, 5, 7, 12	Barley	Pasargad, Fars
2	92-4	PSH-51	2, 3, 4, 6, 8, 9, 10, 11, 12/1, 5, 7	Barley	Pasargad, Fars
3	92-5	PSH-51	2, 3, 4, 6, 8, 9, 10, 11, 12/1, 5, 7	Barley	Sivand, Fars
4	92-7	PSH-83	2, 3, 4, 6, 8, 9, 11/1, 5, 7, 10, 12	Barley	Neyshabur, Razavi Khorasan
5	92-8	PSH-84	2, 3, 4, 8, 9, 12/1, 5, 6, 7, 10, 11	Barley	Mashhad, Razavi Khorasan
6	92-27	PSH-85	2, 3, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12/1, 4, 11	Barley	Ardebil, Ardebil
7	92-28	PSH-56	2, 3, 4, 6, 9, 10, 11/1, 5, 7, 8, 12	Barley	Ardebil, Ardebil
8	92-29	PSH-86	3, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12/1, 2, 4, 11	Barley	Ardebil, Ardebil
9	92-30	PSH-87	2, 3, 4, 6, 8, 11/1, 5, 7, 9, 10, 12	Barley	Ardebil, Ardebil
10	92-31	PSH-51	2, 3, 4, 6, 8, 9, 10, 11, 12/1, 5, 7	Barley	Ardebil, Ardebil
11	92-34	PSH-88	2, 3, 4, 6, 7, 9, 10, 11/1, 5, 8, 12	Barley	Ardebil, Ardebil
12	92-36	PSH-89	2, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 11/1, 5, 10, 12	Barley	Miandoab, West Azerbaijan
13	92-37	Pst	Not determined	Wild barley	Marivan, Kordestan
14	92-38	Pst	Not determined	Wild barley	Sanandaj, Kordestan
15	92-19	Pst	Not determined	Wheat	Shush, Khozestan
16	92-43	Pst	Not determined	Wheat	Gorgan, Golestan
17	92-51	Pst	Not determined	Wheat	Zarghan, Fars
18	92-55	Pst	Not determined	Wheat	Marvdasht, Fars

1, 2: Pathotype designations and virulence/avirulence formulas are based on the results of Safavi ET AL. (2014). ² Virulence/avirulence patterns were determined using differential barley lines.

جدول 2- آغازگرهای نشانگر SSR مورد استفاده در مطالعه تنوع ژنتیکی جدایه‌های زنگ زرد (PUCCINIA STRIIFORMIS)

Table 2. SSR primers used in the genetic diversity analysis of PUCCINIA STRIIFORMIS isolates

Primers	Sequence of forward or reverse primer	Molecular weight of amplified bands (bp ¹)
RJ18 (F) ² RJ18 (R) ³	CTGCCCATGCTCTTCGTC GATGAAGTGGGTGCTGCTG	355, 358
RJ21(F) RJ21(R) RJ2N(F) RJ2N(R)	TTCCTGGATTGAATTCGTCG CAGTTCTCACTCGGACCCAG TTGTGGCGGAAGGGAACG GCATGAAACGATCAAAGAAGATAGC	170, 176 158, 161, 170, 173, 176, 182, 188, 191
RJ10N(F) RJ10N(R) RJ11N(F) RJ11N(R)	ACGTGCCAGCTCAACTCTC AAGGGGCGGATGGATTACG CCGACACCTCCTCTGATCG ACTCCGCTGCTCATCTTCG	224, 228, 231 174, 176, 178, 180, 182, 183, 185

1: Molecular weight of amplified bands based on the results of Enjalbert et al. (2002) and Bahri et al. (2009).

2: Forward primer

3: Reverse primer

بود. شرایط حرارتی شامل: جداسازی اولیه رشته‌های DNA در ۹۴°C برای 2 دقیقه، سپس 35 چرخه شامل 30 ثانیه در ۹۴°C، 30 ثانیه در ۵۲°C، 60 ثانیه در ۷۲°C، و در پایان یک مرحله گسترش نهایی به مدت 5 دقیقه در ۷۲°C بود.

استفاده از نشانگر IGS1: برای بررسی تنوع ژنتیکی در ناحیه بین ژنی IGS1 از آغازگرهای Q و Y (Fox et al., 1995) استفاده شد (جدول 3). واکنش PCR در حجم نهایی 20 میکرولیتر انجام شد و شامل: بافر PCR 1×، MgCl₂ به غلظت 1/5 میلی‌مول، dNTP به میزان 0/2 میلی‌مول، 0/4 میکرومول از هر آغازگر، 10 نانوگرم DNA، و 0/4 واحد Taq DNA Polymerase

جدول 3- آغازگرهای IGS1 مورد استفاده در مطالعه تنوع ژنتیکی جدایه‌های زنگ زرد

Table 3. IGS1 primers used in the study of genetic diversity of *Puccinia striiformis* isolates

Primers	Sequence of forward or reverse primer	Molecular weight of amplified bands (bp ¹)
Q(F) Y(R)	ACGCCTCTAAGTCAGAAT TCGCAGAGCGAACGGGAT	1200-1700

1: Molecular weight of amplified bands based on the results of Holtz et al. (2013a).

استفاده از نرم‌افزار Gen Alex (نسخه 6.501) و بر پایه فرمول زیر محاسبه شد:

$$PIC = 1 - \sum p_i^2 - \sum_{j=1}^{n-1} \sum_{i=1}^n 2p_i p_j^2$$

P_i و P_j به ترتیب فراوانی آلل‌های i ام و j ام و n تعداد آلل‌ها می‌باشد. با استفاده از فراوانی آللی آماره PIC برای هر نشانگر به طور جداگانه محاسبه گردید. در این رابطه، P_i و P_j به ترتیب فراوانی آلل‌های i ام و j ام، و n نشان‌دهنده تعداد کل آلل‌ها است. محاسبه این شاخص برای هر نشانگر به طور جداگانه و بر مبنای فراوانی آللی انجام پذیرفت. در ترسیم دندروگرام، الگوی چندشکلی بر اساس حضور (مقدار 1) یا عدم حضور (مقدار 0) باندهای اختصاصی برای هر جفت آغازگر در نمونه‌ها ثبت گردید. با توجه به اینکه در این مطالعه از ژل آگارز متافور با قدرت تفکیک محدود استفاده شده و امکان تعیین دقیق آلل‌های هر جایگاه (به صورت هتروزیگوت/هموزیگوت) وجود نداشته است، داده‌های حاصل به صورت الگوی باندی (حضور/عدم حضور) تحلیل شدند. بنابراین، این رویکرد معادل تحلیل آللی استاندارد نشانگرهای هم‌بارز (SSR) نبوده و صرفاً به عنوان تحلیل الگوی باندی (banding-pattern analysis) در نظر گرفته می‌شود. از این رو، نتایج حاصل (شاخص PIC، تعداد باندها و دندروگرام) باید با در نظر گرفتن این محدودیت تفسیر شوند. ماتریس تشابه به کارگیری ضریب تشابه جاکارد محاسبه و تجزیه کلاستر مبتنی بر مدل SAHN در نرم‌افزار NTSYS-pc (نسخه ۲.۰۲) اجرا گردید. در نهایت، دندروگرام‌ها با استفاده از الگوریتم UPGMA و بر مبنای ضریب جاکارد ترسیم شدند (Rohlf, 2005).

نتایج و بحث

تعداد ۱۸ جدایه زنگ زرد که اطلاعات آن‌ها در جدول ۱ ارائه شده است، از نظر تنوع ژنتیکی با استفاده از نشانگرهای IGS1 و SSR مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج تکثیر قطعات توسط آغازگرهای نشانگر IGS1، چندشکلی بین جدایه‌ها را آشکار

شرایط الکتروفورز برای تولیدات حاصل از PCR

برای بررسی محصولات PCR، نمونه‌ها با حجم مساوی از رنگ فرم‌آمید ۹۸٪ مخلوط شده و ۷ تا ۱۰ میکرولیتر از مخلوط حاصل روی ژل آگارز بارگذاری شدند. در مرحله مقدماتی، کارایی آغازگرها با استفاده از ژل آگارز معمولی ۰/۸ تا ۱ درصد بررسی شد. در مرحله نهایی، جهت مستندسازی با دستگاه Gel Doc، از ژل آگارز متافور ۱٪ برای نشانگر IGS1 و ۳٪ برای SSR استفاده گردید. الکتروفورز محصولات IGS1 به مدت ۱ ساعت و محصولات SSR به مدت ۲.۵ ساعت با ولتاژ ثابت ۹۰ ولت انجام شد. برای تعیین اندازه باندها از مارکرهای ۱۰۰bp برای SSR و ۲۵۰bp برای IGS1 استفاده شد. ژل‌ها با محلول اتیدیوم بروماید ۰/۵٪ رنگ‌آمیزی شدند.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌های مولکولی

به منظور ارزیابی قدرت تفکیک‌پذیری نشانگرها، شاخص محتوای اطلاعات چندشکلی (Polymorphism Information Content = PIC) برای هر نشانگر محاسبه گردید. این شاخص بیانگر سطح بالای چندشکلی و وجود آلل‌های نادر در یک جایگاه ژنی است که در تمایز دقیق ژنوتیپ‌ها نقش تعیین‌کننده‌ای دارد (Bux et al., 2012). بر این اساس، نشانگرهای دارای مقادیر بالای PIC برای تفکیک ژنوتیپ‌های با قرابت ژنتیکی نزدیک، ابزارهای مناسبی محسوب می‌شوند. به منظور ارزیابی قدرت تفکیک‌پذیری نشانگرها، شاخص محتوای اطلاعات چندشکلی (Polymorphism Information Content = PIC) بر اساس فراوانی باندهای مشاهده‌شده (به جای آلل‌های واقعی) برای هر نشانگر محاسبه گردید. اگرچه فرمول استاندارد PIC برای داده‌های آللی تعریف شده است، در این پژوهش با توجه به ماهیت داده‌های باینری، این شاخص به عنوان معیاری نسبی برای سنجش تنوع الگوی باندی به کار گرفته شد و نتایج آن نمی‌تواند معادل PIC محاسبه‌شده از آلل‌های هم‌بارز باشد. میزان محتوای اطلاعات چندشکلی با

باندی کاملاً متفاوتی نسبت به جدایه‌های زنگ زرد جو و جو موشی دارند. هولتز و همکاران (Holtz et al., 2014) نیز از آغازگرهای Q و Y مربوط به نشانگر IGS1 برای تفکیک جدایه‌های زنگ زرد گندم و جو استفاده کردند و توانستند به‌خوبی تمایز بین جدایه‌های دو فرم اختصاصی را مشاهده کنند. حتی تفکیک بین جدایه‌ها با این آغازگرها بسیار مشابه تفکیک نشانگرهای ریزوماهواره‌ای در بررسی هولتز و همکاران (Holtz et al., 2014) بود. در بررسی‌های اسپاکمن و همکاران (Spackman et al., 2010) نیز جدایه‌های زنگ زرد گندم و جو با بررسی ناحیه IGS الگوهای باندی متفاوتی داشتند. یافته‌های ما در زمینه کارایی نشانگر IGS1 برای تفکیک فرم‌های اختصاصی، با نتایج مطالعات جدیدتر در سطح جهانی مانند پژوهش‌های تاخ و همکاران (Thach et al., 2016) و عوایس و همکاران (Awais et al., 2025) که این ناحیه را به‌عنوان نشانگری کارآمد برای تفکیک نژادها و ارزیابی ساختار جمعیت *P. striiformis* پیشنهاد کرده‌اند، همخوانی کامل دارد. مطالعه کیم و همکاران (Kim et al., 1992) نیز نشان داد که چندشکلی در ناحیه IGS1 در ۱۴ جدایه متعلق به ۹ نژاد از *P. graminis* f. sp. *tritici* به‌خوبی قابل تفکیک است. نتایج مشابهی برای گونه‌های دیگر مانند *Puccinia hordei* نیز گزارش شده است (Jennings et al., 1997). همچنین کماجاتی و همکاران (Komajati et al., 2004) با استفاده از توالی‌های IGS، SSR، و SRAP تفاوت میان فرم‌های اختصاصی بین *P. striiformis* f. sp. *tritici* و *P. striiformis* f. sp. *hordei* را شناسایی کردند، اگرچه تنوع درون *P. striiformis* f. sp. *tritici* پایین‌تر بود.

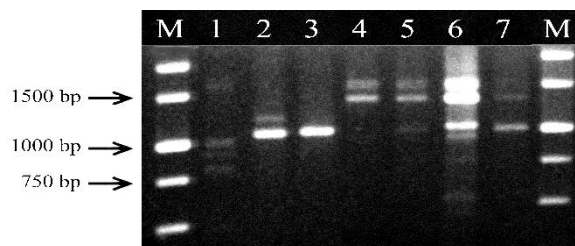
ساخت. طیف باندهای تشکیل‌شده توسط این نشانگر در محدوده بین ۹۰۰ تا ۱۵۵۰ جفت‌باز (bp) قرار داشت. نتایج حاصل از ۵ جفت آغازگر (RJ18, RJ21, RJ2N, RJ10N, RJ11N) مربوط به نشانگرهای SSR نیز چندشکلی بالایی را بین جدایه‌ها نشان داد.

تنوع ژنتیکی نژادها بر اساس نشانگر IGS1

بخش IGS سریع‌ترین منطقه در حال تکامل rDNA است و با تعداد و سازمان تکرارهای داخلی که اختصاصی گونه بوده و اغلب بین جمعیت‌ها، افراد و حتی یک سلول منفرد متنوع است، شناخته می‌شود (Paule and Lofqist, 1996). ناحیه IGS نسبت به ITS تنوع بین‌گونه‌ای و درون‌گونه‌ای بیشتری نشان داده است. در مطالعه حاضر، چندشکلی مربوط به ناحیه IGS1 در ۱۸ جدایه زنگ زرد با الگوهای بیماری‌زایی متفاوت، با استفاده از آغازگرهای Q و Y بررسی شد. این آغازگرها هفت الگوی باندی برای جدایه‌های زنگ زرد جو و گندم تولید کردند (شکل ۱). جدایه‌های ۳ و ۴ الگوهای باندی با وزن مولکولی تقریبی ۹۰۰، ۹۵۰، ۱۵۵۰ جفت‌باز تولید نمودند. جدایه‌های ۱، ۵ و ۷ هرکدام دو باند با وزن‌های مولکولی تقریبی ۱۰۵۰ و ۱۲۵۰ جفت‌باز ایجاد کردند. جدایه‌های ۲، ۶، ۸، ۹، ۱۰، ۱۱ و ۱۲ به همراه جدایه‌های جمع‌آوری‌شده از جو موشی (۱۳ و ۱۴)، هرکدام یک باند با وزن مولکولی ۱۰۵۰ جفت‌باز نشان دادند. جدایه‌های گندم چهار فنوتیپ متفاوت از الگوهای باندی با وزن‌های مولکولی ۹۸۰ تا ۱۵۵۰ جفت‌باز تولید کردند که در ستون‌های ۴ تا ۷ شکل ۱ نشان داده شده است. در این بررسی به‌وضوح مشخص شد که جدایه‌های زنگ زرد گندم الگوهای

شکل ۱- الگوی باندی حاصل از بررسی آغازگرهای Q و Y (مربوط به نشانگر IGS1) M: مارکر 250bp؛ ستون ۱: جدایه‌های ۳، ۴؛ ستون ۲: جدایه‌های ۱، ۵، ۷؛ ستون ۳: جدایه‌های ۲، ۶، ۸، ۹، ۱۰، ۱۱، ۱۲، ۱۳، ۱۴؛ ستون ۴: جدایه ۱۵؛ ستون ۵: جدایه ۱۶؛ ستون ۶: جدایه ۱۷؛ ستون ۷: جدایه ۱۸

Fig. 1. PCR banding pattern of *Puccinia striiformis* isolates generated using the IGS1 primers Q and Y (marker). M, 250-bp DNA Ladder; Lanes: 1) Isolates 3 and 4, 2) Isolates 1, 5, and 7, 3) Isolates 2, 6, 8, 9, 10, 11, 12, 13, and 14, 4) Isolate 15, 5) Isolate 16, 6) Isolate 17, 7) Isolate 18



تنوع ژنتیکی نژادها بر اساس نشانگر SSR

تعداد ۱۸ جدایه به منظور بررسی تنوع ژنتیکی با ۵ جفت آغازگر مربوط به نشانگرهای SSR (برای ۵ جایگاه ژنی) مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج این بررسی بیانگر تنوع ژنتیکی بالا بین جدایه‌های مورد مطالعه بود. در این بررسی، تعداد ۱۴ الگوی بانندی برای کل آغازگرهای مورد مطالعه مشخص گردید که به طور میانگین برای هر جایگاه ژنی ۲/۸ باند بود. بیشترین تعداد باند مربوط به جایگاه ژنی RJ2N با ۴ باند و کمترین تعداد مربوط به جایگاه‌های ژنی RJ10N و RJ21 بود. لازم به تأکید است که این اعداد بیانگر تعداد باندهای قابل تشخیص در ژل آگارز بوده و نمی‌توان آنها را معادل تعداد آل‌های واقعی در نظر گرفت؛ زیرا در این مطالعه امکان تعیین ژنوتیپ دقیق هر جدایه در هر جایگاه (با تفکیک هتروزیگوت و هموزیگوت) وجود نداشته است. برای همه آغازگرها چندشکلی مشاهده شد

(جدول ۴). مقادیر محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC) برای هر یک از جایگاه‌های ژنی محاسبه گردید که بیشترین مقدار آن به RJ2N (0/4) و کمترین مقدار به RJ10N (0/05) اختصاص داشت. اگرچه تعداد جدایه‌های مورد مطالعه در مقایسه با پژوهش‌های جهانی مانند مطالعه شارما-پودیال و همکاران (Sharma-Poudyal et al., 2020) که با ۲۴ نشانگر در ۲۸۳ جدایه به کشف ۲۶۵ ژنوتیپ چندلوکوسی نائل شدند، محدودتر است، اما تنوع مشاهده شده در جمعیت‌های ایرانی با توجه به تعداد اندک جدایه‌ها، قابل توجه بوده و نشان‌دهنده پتانسیل بالای تنوع ژنتیکی در جمعیت‌های زنگ زرد جو در ایران می‌باشد. این یافته با نتایج شارما-پودیال و همکاران (Sharma-Poudyal et al., 2020) که تنوع بالاتری را در جمعیت‌های آسیایی نسبت به سایر مناطق جهان گزارش کردند، همسو بوده و تأییدکننده مرکزیت تنوع این بیمارگر در آسیا می‌باشد.

جدول ۴- تحلیل محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC) و الگوی بانندی تولیدشده توسط آغازگرهای مورد استفاده در مطالعه تنوع ژنتیکی

زنگ زرد با نشانگر SSR

Table 4. Polymorphism information content (PIC) analysis and banding patterns generated by primers used in the study of genetic diversity of *Puccinia striiformis* using SSR markers

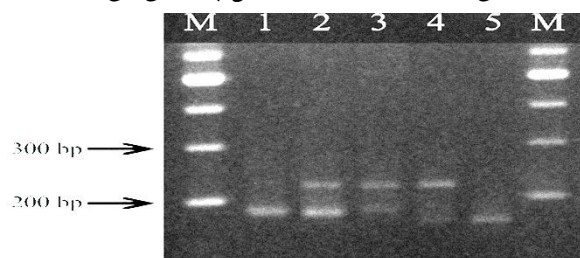
SSR Locus	Total Bands	Polymorphic Bands	Polymorphism (%)	Polymorphism information content (PIC)
RJ18	3	3	100	0.37
RJ21	2	1	50	0.2
RJ2N	4	4	100	0.4
RJ10N	2	1	50	0.05
RJ11N	3	3	100	0.29

تنوع ژنتیکی نژادها بر اساس آغازگر RJ2N

الگوی بانندی حاصل از آغازگر RJ2N (مربوط به نشانگر SSR) جدایه‌های زنگ زرد جو، جدایه‌های زنگ زرد جو موشی و جدایه‌های زنگ زرد گندم را از یکدیگر متمایز ساخت (شکل ۲). در امتیازدهی باندها، معیار اصلی اندازه قطعه DNA بود و تفاوت‌های جزئی در شدت باندها که ممکن است ناشی از اختلاف در غلظت DNA یا کارایی واکنش PCR باشد، در تحلیل ژنتیکی لحاظ نشد. جدایه‌های زنگ زرد جو سه الگوی بانندی تولید کردند؛ به طوری که جدایه‌های ۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۹ و ۱۲ تنها

یک باند با وزن مولکولی تقریبی ۱۸۶ جفت‌باز نشان دادند. جدایه‌های ۷، ۱۰ و ۱۱ دو باند با وزن‌های مولکولی ۱۸۶ و ۲۲۵ جفت‌باز تولید کردند و جدایه‌های ۶ و ۸ نیز دو باند با وزن‌های مولکولی ۱۹۳ و ۲۲۵ جفت‌باز داشتند. جدایه ۱۳ دو باند با وزن‌های مولکولی ۱۶۶ و ۲۲۵ جفت‌باز تولید نمود و سایر جدایه‌ها (۱۴ تا ۱۸) هرکدام تنها یک باند با وزن مولکولی ۱۶۶ جفت‌باز داشتند. وجود الگوهای دو بانندی در بسیاری از جدایه‌های زنگ زرد جو می‌تواند ناشی از حضور آل‌های مشترک هر دو فرم اختصاصی باشد. در پژوهش حاضر، تنوع

تنوع متصور است: نخست، جدایه‌های مورد مطالعه از مناطق جغرافیایی مختلف جمع‌آوری شده‌اند؛ دوم، جمعیت مورد بررسی (حتی درون یک منطقه مانند اردبیل که هر سه الگوی بانندی RJ2N در آن وجود دارد) دارای پتانسیل بالایی برای تغییرات ژنتیکی هستند. این پتانسیل بالا می‌تواند ناشی از مکانیسم‌هایی همچون جریان ژنی از طریق مهاجرت، هیبریداسیون، جهش، و نوترکیبی حاصل از تولیدمثل غیرجنسی و احتمالاً جنسی باشد. با توجه به وجود مدارک رسمی مبنی بر نقش زرشک در تولیدمثل جنسی زنگ زرد گندم (Zhao et al., 2013, 2016; Due et al., 2019; Mehmood et al., 2019; Li et al., 2021) و احتمال تشکیل هیبرید بین دو فرم اختصاصی، امکان وجود تولیدمثل جنسی در نژادهای هیبرید زنگ زرد جو نیز دور از انتظار نخواهد بود. این فرضیه توسط پژوهش‌های رودریگز-آلگابا و همکاران (Rodriguez-Algaba et al., 2017) که تنوع ژنتیکی بالایی را درون و بین اسیوم‌های (Aecia) روی *Berberis vulgaris* مشاهده کردند و اثبات نمودند که تولیدمثل جنسی منبع مهمی برای ایجاد نژادهای جدید با ترکیبات بیماری‌زایی جدید است، به‌طور کامل پشتیبانی می‌شود.



شکل 2 - شکل ۲- الگوی بانندی حاصل از آغازگر RJ2N در جدایه‌های زنگ زرد. M: مارکر 100bp؛ ستون 1: شامل جدایه‌های 1، 2، 3، 4، 5، 9، 12؛ ستون 2: شامل جدایه‌های 7، 10 و 11؛ ستون 3: شامل جدایه‌های 6 و 8؛ ستون 4: شامل جدایه 13؛ ستون 5: شامل جدایه‌های 14، 15، 16، 17، 18.

Fig. 2. PCR banding pattern of *Puccinia striiformis* isolates amplified with SSR primer RJ2N. M: 100 bp DNA ladder; Lane1: isolates 1, 2, 3, 4, 5, 9, 12; Lane 2: isolates 7, 10, 11; Lane 3: isolates 6, 8; Lane 4: isolate 13; Lane 5: isolates 14, 15, 16, 17, 18.

بین جدایه‌های زنگ زرد جو توسط جایگاه ژنی RJ2N بیشتر از تنوع بین جدایه‌های زنگ زرد گندم مشاهده شد. جدایه‌های زنگ زرد گندم (با یک فنوتیپ بانندی) با وجود منشاء جغرافیایی متفاوت، تنوعی نشان ندادند. اگرچه تعداد جدایه‌های زنگ زرد گندم نسبت به جدایه‌های زنگ زرد جو کمتر بود، اما هر دو گروه از مناطق جغرافیایی متنوعی جمع‌آوری شده بودند. تنوع بیشتر جدایه‌های زنگ زرد جو در برخی موارد می‌تواند ناشی از هیبرید بودن این جدایه‌ها باشد که آلل‌های مشترکی از هر دو فرم اختصاصی را حمل می‌کنند. در بسیاری از مطالعات انجام‌شده توسط چن و همکاران (Chen et al., 2009)، وان و چن (Wan and Chen 2012) و هولتز و همکاران (Holtz et al., 2014) نیز تنوع ژنتیکی زنگ زرد جو بیشتر از زنگ زرد گندم گزارش گردیده است. چنگ و چن (Cheng and Chen, 2009) با استفاده از شش نشانگر ریزماهواره‌ای، جدایه‌های زنگ زرد جو، گندم و جدایه‌های جمع‌آوری‌شده از گندمیان وحشی را در گروه‌های مجزا تفکیک کردند. در بررسی هولتز و همکاران (Holtz et al., 2014) آغازگر RJ2N در جدایه‌های زنگ زرد گندم دو باند نشان داد که یکی از آن‌ها مختص زنگ زرد گندم بود، درحالی‌که در جدایه‌های زنگ زرد جو سه الگوی بانندی مشاهده شد که دو باند اختصاصی به زنگ زرد جو و یک باند مشترک با زنگ زرد گندم بود. با توجه به بیماری‌زایی جدایه‌های زنگ زرد جو موشی روی ارقام افتراقی گندم و گروه‌بندی آن‌ها با جدایه‌های گندم (بر اساس دندروگرام بیماری‌زایی)، نتایج این پژوهش از نظر تعداد باندها با یافته‌های هولتز و همکاران (Holtz et al., 2014) مطابقت کامل دارد. هرچند در این مطالعه تعداد جدایه‌ها کمتر از پژوهش هولتز و همکاران بود، اما تطابق تنوع و توزیع الگوهای بانندی در جمعیت جدایه‌ها نشان‌دهنده تنوع بالای آن‌ها (با وجود تعداد اندک جدایه‌ها) است. دو دلیل برای این

تنوع ژنتیکی نژادها بر اساس آغازگر RJ11N

در بررسی الگوی بانندی حاصل از آغازگر RJ11N سه الگوی بانندی مشخص گردید. جدایه‌های زنگ زرد جو سه فنوتیپ و جدایه‌های زنگ زرد گندم تنها یک فنوتیپ بانندی نشان دادند. جدایه‌های 2 و 4 دارای یک باند با وزن مولکولی تقریبی 182bp بودند و جدایه‌های 1، 3، 5، 7، 9، 10، 11 و 12 دارای یک باند با وزن مولکولی تقریبی 192bp بودند. جدایه‌های 6 و 8 به همراه جدایه‌های زنگ زرد گندم هرکدام دو باند با وزن‌های مولکولی 192bp و 227bp داشتند که یکی از باندها با جدایه‌های دیگر زنگ زرد جو مشترک بود. در بررسی علی و همکاران (Ali et al., 2012) که جمعیت‌هایی از زنگ زرد گندم را از مناطق مختلف جهان شامل آمریکای شمالی، نواحی مدیترانه، آسیای مرکزی، خاورمیانه، نپال، پاکستان و چین مطالعه کردند، برای جایگاه ژنی RJ11N پنج آلل مشاهده شد. این تعداد با نتایج هولتز و همکاران (Holtz et al., 2014) که تعداد 6 آلل برای همین جایگاه گزارش کردند (5 آلل مشترک و یک آلل اختصاصی به زنگ زرد گندم) تفاوت داشت.

تنوع ژنتیکی نژادها بر اساس آغازگر RJ18

در بررسی الگوی بانندی حاصل از آغازگر RJ18N سه الگوی بانندی مشخص گردید. جدایه 1 سه باند با وزن‌های مولکولی 360bp، 383bp و 416bp نشان داد. جدایه‌های 2، 3، 4، 5 و 13 تنها یک باند با وزن مولکولی تقریبی 360bp تولید کردند. جدایه‌های 9، 10، 11 و 12 نیز یک باند با وزن مولکولی تقریبی 383bp داشتند. در این بررسی، جدایه‌های 6، 7، 8، 14، 15 و 16 هرکدام دو باند با وزن‌های مولکولی 360bp و 383bp تولید کردند. جدایه‌های 17 و 18 دو باند با وزن‌های مولکولی 360bp و 416bp نشان دادند. در بررسی باکس و همکاران (Bux et al., 2012)، جایگاه ژنی RJ18N سه آلل در جمعیت‌های حاصل از پاکستان و آمریکا نشان داد. در مطالعه هولتز و همکاران (Holtz et al., 2014) برای این جایگاه ژنی چهار آلل مشخص گردید که دو آلل منحصر به زنگ زرد گندم،

یک آلل مختص زنگ زرد جو و یک آلل مشترک بین دو فرم اختصاصی بود.

تنوع ژنتیکی نژادها بر اساس آغازگرهای RJ21 و RJ10N

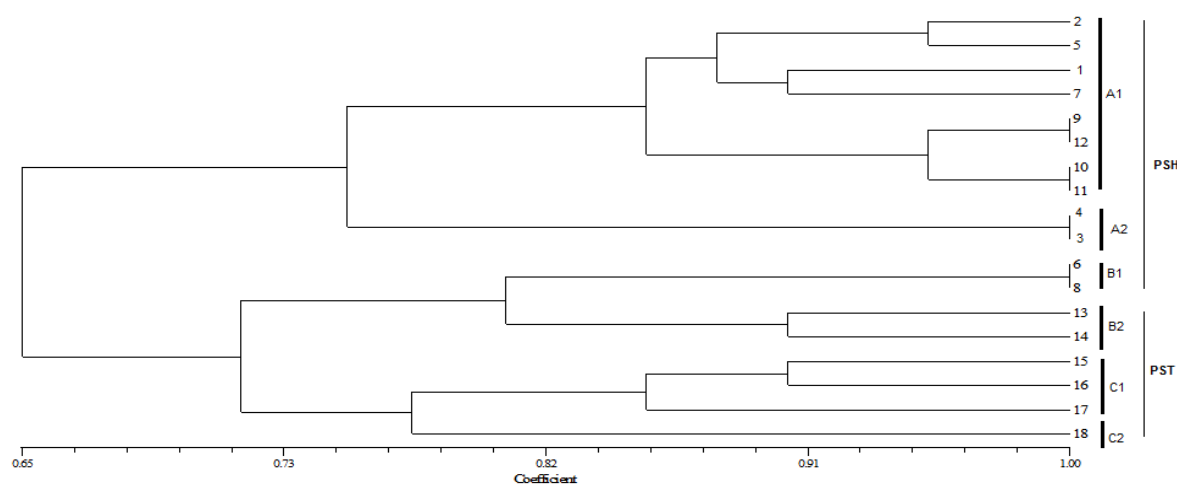
در بررسی الگوی بانندی حاصل از آغازگر RJ10N دو الگوی بانندی مشاهده گردید. جدایه‌های 1 تا 17 دارای الگویی با وزن مولکولی تقریبی 240 جفت‌باز بودند و تنها جدایه 18 الگویی با وزن مولکولی 220 جفت‌باز داشت. نتایج حاصل از تکثیر قطعات RJ21 نیز دو الگوی بانندی نشان داد. جدایه‌های 1، 2، 3، 4، 5، 7، 9، 10، 11، 12، 13، 14 و 18 الگویی با وزن مولکولی 183 جفت‌باز و جدایه‌های 6، 8، 15، 16 و 17 الگویی با وزن‌های مولکولی 183 و 200 جفت‌باز داشتند. در بررسی هولتز و همکاران (Holtz et al., 2014) برای جایگاه ژنی RJ10N چهار آلل در جمعیت جدایه‌های زنگ زرد گندم و جو مشخص گردید. از این چهار آلل، دو آلل مشترک بین دو فرم اختصاصی و دو آلل مختص زنگ زرد جو بودند. در مطالعه علی و همکاران (Ali et al., 2012) سه آلل برای RJ10N گزارش شد که در جمعیت‌های مختلف جهان توزیع شده بودند. برای جایگاه ژنی RJ21 در پژوهش هولتز و همکاران (Holtz et al., 2014) هشت آلل مشخص گردید که بیشترین آن به فرم اختصاصی زنگ زرد جو تعلق داشت. در مطالعه باکس و همکاران (Bux et al., 2012) سه آلل و در بررسی علی و همکاران (Ali et al., 2012) پنج آلل برای این جایگاه در جمعیت‌های مختلف از کشورهای گوناگون مشاهده شد. به منظور جلوگیری از افزایش حجم مقاله، تنها تصاویر مربوط به نشانگرهایی ارائه شدند که بیشترین میزان چندشکلی و قدرت تفکیک را نشان دادند. سایر نشانگرها الگوهای مشابهی ایجاد کردند و اطلاعات زیستی جدیدی نسبت به شکل‌های ارائه‌شده در اختیار قرار ندادند. اگرچه شرایط الکتروفورز به‌کاررفته در این پژوهش، الگوهای بانندی تکرارپذیر و قابل اعتمادی برای تفکیک جدایه‌ها فراهم نمود، افزایش مدت زمان الکتروفورز یا استفاده از روش‌های با قدرت تفکیک بالاتر می‌تواند در مطالعات آینده موجب جداسازی دقیق‌تر قطعات DNA با اندازه‌های بسیار نزدیک شود

سطح تشابه 73 درصد در سه گروه اصلی (A، B و C) قرار گرفتند (شکل 3). شایان ذکر است که این گروه‌بندی بر اساس ماتریس تشابه جاکارد و داده‌های باینری (حضور/عدم‌حضور باند) حاصل شده است و به دلیل محدودیت‌های روش الکتروفورز، امکان تفکیک آلل‌های هم‌بارز و محاسبه فاصله ژنتیکی مبتنی بر فراوانی آللی وجود نداشته است. بنابراین، تفسیر روابط خویشاوندی بر اساس این دندروگرام باید با احتیاط صورت گیرد.

و قدرت تفکیک نشانگرهای مولکولی را افزایش دهد. دندروگرام حاصل از تنوع ژنتیکی بر اساس نشانگرهای

IGS1 و SSR

داده‌های حاصل از شش جفت آغازگر مربوط به نشانگرهای مولکولی IGS1 و SSR، بر اساس روش UPGMA و با بهره‌گیری از نرم‌افزار NTSYS-pc 2.02 مورد تجزیه خوشه‌ای قرار گرفتند و جدایه‌ها گروه‌بندی شدند. دندروگرام ترسیم‌شده با ضریب همبستگی کویتیک 0/84 به عنوان بهترین روش معرفی گردید. بر این اساس، جدایه‌های زنگ زرد جو و زنگ زرد گندم در



شکل ۳- دندروگرام تجزیه و تحلیل باندهای به‌دست‌آمده از نشانگرهای IGS1 و SSR برای ۱۸ جدایه زنگ زرد گندم و جو با روش UPGMA اطلاعات جدایه‌ها در جدول ۱ آورده شده است.

Fig 3. UPGMA dendrogram illustrating the genetic relationships among 18 *Puccinia striiformis* isolates based on combined IGS1 and SSR marker data. Isolate information is provided in Table 1

جغرافیایی دور از هم (مانند جدایه‌های ۳ و ۴ از سیوند و نیشابور) با یافته‌های شارما-پودیال و همکاران (Sharma-Poudyal et al., 2020) مبنی بر مهاجرت گسترده و وجود ژنوتیپ‌های مشترک در مناطقی با فاصله‌های جغرافیایی دور، همخوانی کامل دارد. همچنین قرارگیری جدایه‌های ۶ و ۸ در کنار جدایه‌های ۱۳ و ۱۴ در کلاسترهای مجزا، احتمال هیبرید بودن آن‌ها را تقویت می‌کند که با پژوهش‌های دینگ و همکاران (Ding et al., 2021) در مورد پرش میزبانی و هیبریداسیون بین

هر یک از این گروه‌های اصلی در سطح تشابه 82 درصد به دو زیرگروه تقسیم شدند. از گروه اصلی A، زیرگروه A1 شامل جدایه‌های ۱، ۲، ۵، ۷، ۹، ۱۰، ۱۱ و ۱۲ و زیرگروه A2 شامل جدایه‌های ۳ و ۴ بودند. در گروه اصلی B، زیرگروه B1 شامل جدایه‌های ۶ و ۸ و زیرگروه B2 شامل جدایه‌های ۱۳ و ۱۴ قرار گرفتند. در گروه اصلی C نیز، زیرگروه C1 شامل جدایه‌های ۱۵، ۱۶ و ۱۷ و زیرگروه C2 شامل جدایه ۱۸ بود. نتایج دندروگرام نشان داد که شباهت ژنتیکی بالا بین جدایه‌های مناطق

فرم‌های اختصاصی همسو است. بای و همکاران (Bai et al., 2021) نیز در بررسی جدایه‌های بین‌المللی Pst از ۹ کشور، وجود ژنوتیپ‌های مشترک بین مناطق و نشانه‌هایی از جریان ژنی را گزارش کردند که با فرضیه وجود هیبرید در جدایه‌های ما همسو می‌باشد. الگوهای بانندی دوگانه در برخی جدایه‌های Psh شواهدی برای آلل‌های مشترک با Pst و هیبریداسیون احتمالی را آشکار ساخت. با این حال، با توجه به ماهیت فنوتیپی (بان‌دینگ‌محور) این داده‌ها، این تفسیر در سطح فرضیه باقی می‌ماند و برای تأیید قطعی هیبریداسیون احتمالی، نیاز به تحلیل‌های تکمیلی نظیر تعیین توالی ناحیه IGS1 یا استفاده از نشانگرهای هم‌بارز اختصاصی با پوشش ژنومی بهتر است. جدایه‌های 6 و 8 که در این گروه‌بندی در کلاستر جداگانه‌ای قرار گرفتند، با احتیاط به‌عنوان نامزدهای احتمالی هیبرید بین دو فرم اختصاصی معرفی می‌شوند. هرچند الگوهای بانندی آن‌ها شباهت بیشتری به جدایه‌های ۱۳ و ۱۴ نشان داد، اما اثبات قطعی هیبرید بودن مستلزم بررسی‌های تکمیلی از جمله تعیین توالی چندین جایگاه ژنی و آزمون بیماری‌زایی روی طیف وسیع‌تری از ارقام افتراقی هر دو میزبان می‌باشد. در بررسی هولتز و همکاران (Holtz et al., 2014) نیز کلاستر E، که در پژوهش دیگر همان گروه (Holtz et al., 2013) بر روی برخی ارقام افتراقی گندم و ترتیکاله بیماری‌زا معرفی شده و به‌عنوان هیبرید فرض گردیده بود، در گروه جداگانه‌ای قرار گرفت. در پژوهش حاضر نیز قرار گرفتن جدایه‌های 6 و 8 به همراه جدایه‌های 13 و 14 در یک کلاستر اصلی می‌تواند نشان‌دهنده شباهت بیشتر این جدایه‌ها باشد. به عبارت دیگر، به‌کارگیری نشانگرهای مولکولی بیانگر آن است که نواحی ژنومی تکثیر یافته در جدایه‌های 6 و 8 (نژادهای جو) با جدایه‌های 13 و 14 (جداشده از جو موشی) شباهت بیشتری دارد. این نتایج می‌تواند حاکی از آن باشد که جدایه‌های 6 و 8 در اثر هیبریداسیون از جدایه‌هایی مشابه 13 و 14 ژن‌هایی دریافت کرده‌اند و آلل‌های ریزماهواره‌ای مشترک بیشتری با این گروه دارند. در پژوهش هولتز و همکاران (Holtz et al., 2014)

نیز جدایه‌های هیبرید شباهت بیشتری به جدایه‌های Pst پیش از سال 2000 نشان دادند.

با توجه به شواهد موجود در این مطالعه مبنی بر وجود آلل‌های مشترک بین فرم‌های اختصاصی، می‌توان فرض کرد که تولیدمثل جنسی (احتمالاً روی میزبان‌های واسط مانند زرشک) در ایجاد این ترکیبات ژنی جدید نقش داشته است. رودریگز-آلگابا و همکاران (Rodriguez-Algaba et al., 2017) اثبات کردند که روی بوته‌های *Berberis vulgaris*، تنوع ژنتیکی درون و بین اسیوم‌ها بسیار بالا است و این تنوع مستقیماً به نژادهای جدید بیماری‌زا منجر می‌شود. از آنجایی که گونه‌های مختلف زرشک در ایران نیز پراکنده هستند، وجود چنین مکانیسمی برای جمعیت‌های زنگ زرد جو در ایران بسیار محتمل به نظر می‌رسد و نیاز به تحقیقات میدانی بیشتری دارد.

جدایه‌های 3 و 4 در زیرگروهی جداگانه و با وجود تفاوت در منشأ جغرافیایی قرار گرفتند که بیانگر شباهت ژنتیکی آن‌هاست. این هم‌گروهی علیرغم تفاوت جغرافیایی (سیوند و نیشابور) می‌تواند با پراکنش ژنوتیپ‌های مشابه میان مناطق جغرافیایی مختلف سازگار باشد. از سوی دیگر، هرچند جدایه‌های 5، 9 و 11 روی برخی ارقام افتراقی گندم بیماری‌زایی داشتند (Safavi et al., 2014)، اما در خوشه‌بندی مولکولی در زیرگروه‌های متفاوتی قرار گرفتند. این ناهمخوانی می‌تواند ناشی از شباهت بیشتر این جدایه‌ها با اعضای هم‌کلاستر در نواحی تکثیر یافته ژنومی و آغازگرهای به‌کاررفته باشد. شاید با استفاده از آغازگرهای SSR بیشتر، این جدایه‌ها در گروه‌های نزدیک‌تری قرار گیرند. جدایه‌های 6 و 8 از نظر بیماری‌زایی نیز شباهت بیشتری به یکدیگر داشته و در گروه جداگانه‌ای قرار گرفتند (Safavi et al., 2014). جدایه‌های 9، 10 و 11 (جداشده از اردبیل) هرچند از نظر جغرافیایی با جدایه 12 (جداشده از میاندوآب) متفاوت بودند، اما در یک کلاستر قرار گرفتند. این هم‌گروهی نیز احتمالاً بازتاب‌دهنده اشتراک الگوهای ژنتیکی در این مناطق است که می‌تواند ناشی از عوامل مختلف از جمله پراکنش ژنوتیپ‌ها باشد؛ هرچند با

بیماری‌زایی مشترک نشان نداد. تفاوت ژنتیکی بالای جدایه‌های زنگ زرد در اردبیل، علیرغم فواصل جغرافیایی نزدیک، بیانگر تنوع ژنتیکی بالای این بیمارگر در منطقه است. در بررسی ژان و همکاران (Zhan et al., 2012)، حتی در نمونه‌های جمع‌آوری‌شده از یک منطقه و یک گونه میزبان، تفاوت ژنتیکی مشاهده شد. تنوع ژنتیکی بالا در جدایه‌های جمع‌آوری‌شده از ارقام نیمه‌مقاوم ناشی از تنوع ژن‌های مقاومت در این میزبان‌ها بود. در واقع، نوع ژن مقاومت میزبان در انتخاب بیمارگر نقش دارد و این امر موجب تنوع بیشتر جدایه‌ها در میزبان‌های دارای ژن‌های مقاومت متعدد می‌شود. تنوع بالای ژنتیکی مشاهده‌شده در جدایه‌های اردبیل (با وجود فواصل نمونه‌برداری کم) نشان‌دهنده پتانسیل بالای تکامل سریع بیمارگر در این منطقه است. چو و همکاران (Chu et al., 2021) اخیراً نشان داده‌اند که ترکیب ارقام زراعی می‌تواند بر ساختار ژنتیکی جمعیت Pst تأثیر بگذارد و باعث افزایش یا کاهش تنوع شود. بنابراین، پایش مستمر تنوع ژنتیکی و بیماری‌زایی جمعیت‌های زنگ زرد جو با استفاده از نشانگرهای جدید (مانند نشانگرهای طراحی شده توسط ساوادی و همکاران (Savadi et al., 2020) برای مدیریت مؤثر بیماری در ایران امری ضروری است. در پژوهش حاضر مشخص شد که جدایه‌های 6 و 8 (از اردبیل) با احتمال قوی و برخی جدایه‌های دیگر با احتمال کمتر، نژادهای هیبرید احتمالی هستند. شواهد دال بر هیبریداسیون درون‌گونه‌ای *Puccinia striiformis* جدید نیست و پیش‌تر تصور می‌شد که تنها در درون یک فرم اختصاصی رخ می‌دهد (Little and Newton, 1986; Manners, 1969). نخستین شواهد از هیبریداسیون بین دو فرم اختصاصی توسط چنگ و چن (Cheng and Chen, 2009) با استفاده از نشانگرهای SSR ارائه شد. در ادامه، محققان دیگری (Lei et al., 2013, 2014; Holtz et al., 2017) نیز این موضوع را با روش‌های بیماری‌زایی و مولکولی تأیید کردند. جریان ژنی میان دو فرم اختصاصی می‌تواند تکامل بیمارگر را تغییر دهد. بررسی‌ها همچنین نشان

داده‌های موجود نمی‌توان جریان ژنی را به طور قطعی اثبات کرد. هافمولر و همکاران (Hovmoller et al., 2002) نیز با استفاده از 28 نشانگر چندشکلی، 42 جدایه زنگ زرد را در اروپا بررسی کرده و آن‌ها را در 20 گروه فنوتیپی قرار دادند که برخی از گروه‌ها شامل جدایه‌هایی از مناطق مختلف بودند؛ این پدیده را ناشی از جریان ژنی و مهاجرت اسپورها دانستند. گزارش‌های متعددی از وجود جریان ژنی در زنگ‌ها ارائه شده است (Holtz et al., 2014; Dadrezaei et al., 2013; Zhao et al., 2023; Awais et al., 2025). در این بررسی، از 12 جدایه زنگ زرد جو، هشت ژنوتیپ شناسایی گردید. تعداد ژنوتیپ‌ها تا حدودی با تعداد نژادهای تعیین‌شده همخوانی داشت، اما هر یک در گروه‌های متفاوتی جای گرفتند. در پژوهش هولتز و همکاران (Holtz et al., 2014) از میان 89 جدایه زنگ زرد جو، 15 ژنوتیپ بر اساس نشانگرهای IGS1 و SSR شناسایی شدند. تفاوت بیشتر ژنوتیپ‌ها در پژوهش حاضر نسبت به مطالعه آن‌ها را می‌توان ناشی از تنوع ژنتیکی بالاتر جمعیت‌های زنگ زرد جو در ایران دانست. علاوه بر این، جدایه‌های بررسی‌شده در مطالعه حاضر از مناطق جغرافیایی متنوع‌تری نسبت به پژوهش هولتز و همکاران (Holtz et al., 2014) جمع‌آوری شده‌اند. این تنوع بالای ژنتیکی در جمعیت‌های ایرانی با یافته‌های شارما-پودیال و همکاران (Sharma-Poudyal et al., 2020) که تنوع بالاتری را در جمعیت‌های آسیایی گزارش کردند، همخوانی داشته و نشان‌دهنده مرکزیت تنوع این بیمارگر در آسیا می‌باشد. در پژوهش باکس و همکاران (Bux et al., 2012)، مقایسه جدایه‌های زنگ زرد از پاکستان و آمریکا با استفاده از SSR نشان داد که جدایه‌ها در پاتوتیپ‌هایی با شباهت ژنتیکی گروه‌بندی می‌شوند. پاتوتیپ‌های مشابه از هر دو کشور نیای مشترکی داشتند. همچنین در پژوهش ژان و همکاران (Zhan et al., 2012) روی جدایه‌های آمریکا و چین، 137 جدایه بر اساس نشانگر SSR مطالعه شد و 102 ژنوتیپ شناسایی گردید که 71 ژنوتیپ مربوط به چین و 31 ژنوتیپ مربوط به آمریکا بود. در این بررسی هیچ جدایه‌ای از دو کشور فنوتیپ

داده‌اند که انتقال ژن‌های بیماری‌زایی بین فرم‌های اختصاصی از طریق هیبریداسیون، پتانسیل افزایش

پایش مداوم و استفاده از ابزارهای مولکولی دقیق‌تر را برای شناسایی به‌موقع نژادهای جدید و هیبریدهای بالقوه در جمعیت‌های زنگ زرد جو و گندم ایران بیش از پیش آشکار می‌سازد.

الگوهای بانندی مشاهده‌شده در برخی جدایه‌ها می‌تواند بیانگر وجود آل‌های مشترک یا وقوع احتمالی تبادل ژنتیکی بین دو فرم اختصاصی باشد؛ با این حال، این شواهد به تنهایی برای اثبات قطعی هیبریداسیون کافی نیست و برای تأیید این فرضیه انجام مطالعات تکمیلی مانند تعیین توالی DNA، استفاده از نشانگرهای هم‌بارز و یا روش‌های مبتنی بر ژنوم کامل ضروری است.

تفکیک و دقت تحلیل تنوع ژنتیکی را در مطالعات آینده افزایش دهد. بنابراین این موضوع به عنوان یکی از محدودیت‌های پژوهش حاضر در نظر گرفته می‌شود. نتایج این پژوهش وجود تنوع ژنتیکی قابل توجه در جمعیت‌های مورد مطالعه و همچنین وجود جدایه‌هایی با ویژگی‌های مولکولی سازگار با هیبریداسیون احتمالی را نشان داد؛ با این حال، تأیید قطعی این فرضیه نیازمند بررسی‌های مولکولی تکمیلی است.

تهاجم‌پذیری بیماری را دارد (Ali et al., 2014; Chen and Kang, 2017). به‌ویژه طی دهه‌های اخیر در کانادا شیوع و شدت *Pst* افزایش یافته و این امر به استرین‌های بسیار تهاجمی نسبت داده شده است (Holtz et al., 2014). اگر ژن‌های تهاجمی به فرم *Psh* منتقل شوند، بیماری زنگ زرد جو شدت بیشتری خواهد یافت. همچنین ظهور استرین‌های زنگ زرد گندم مقاوم به دماهای بالا در اروپا و آمریکا، در صورت هیبریداسیون با جدایه‌های زنگ زرد جو، تهدیدی جدی برای زراعت جو خواهد بود. نژادهای هیبرید احتمالی به دلیل توان بیماری‌زایی روی ارقام مختلف گندم و جو و حتی برخی ارقام گندم دارای ژن‌های مقاومت ویژه، بقاء بیشتری یافته و افزایش جمعیت آن‌ها تهدیدی برای کشاورزی به شمار می‌رود. این یافته‌ها اهمیت همچنین، به دلیل آنکه تحلیل‌های این پژوهش بر پایه الگوهای بانندی (و نه آل‌های تفکیک‌شده) انجام شده، نتایج مربوط به تشابه و هیبریداسیون احتمالی در سطح فرضیه باقی می‌ماند و برای تأیید قطعی نیازمند داده‌های مولکولی با قدرت تفکیک بالاتر (همانند توالی‌یابی) می‌باشیم. اگرچه نشانگرهای مورد استفاده توانستند جدایه‌ها را با موفقیت در گروه‌های ژنتیکی مختلف تفکیک کنند، استفاده از تعداد بیشتری نشانگر SSR یا سایر نشانگرهای با پوشش ژنومی گسترده‌تر می‌تواند قدرت

References

- ALI, S. 2012. Population biology and invasion history of *PUCCINIA STRIIFORMIS* f.sp. *TRITICI* at worldwide and local scale. PhD Thesis, Doctoral School of Plant Sciences, Universite Paris-SUD – UFR des Sciences – France.
- ALI, S., GLADIEUX, P., LECONTE, M., GAUTIER, A., JUSTESSEN, A. F., HOVMØLLER, M. S., and C. DE VALLAVIEILLE-POPE, 2014. Origin, migration routes and worldwide population genetic structure of the wheat yellow rust pathogen *PUCCINIA STRIIFORMIS* f. sp. *TRITICI*.

- PLoS Pathogens, 12(1), e1005133. DOI: 10.1371/journal.ppat.1003903.
- AWAIS, M., MA, J., CHEN, W. et al. 2025. Molecular genotyping revealed the gene flow of *PUCCINIA STRIIFORMIS* f. sp. *TRITICI* clonal lineage from Uzbekistan of Central Asia to Xinjiang of China. *Phytopathology Research*, 7: (2). 2-15. DOI: 10.1186/s42483-024-00290-5.
- BAHRI, B., LECONTE, M., OUFFROUKH, A., DE VALLAVIEILLE-POPE, C., and J. ENJALBERT, 2009. Geographic limits of a clonal population of wheat yellow rust in the Mediterranean region. *Molecular Ecology*, 18:

- 4165-79. DOI: 10.1111/j.1365-294X.2009.04267.x.
- BAI, Q., WAN, A., WANG, M., SEE, D. R., and X. CHEN, 2021. Molecular characterization of wheat stripe rust pathogen (*PUCCINIA STRIIFORMIS* f. sp. *TRITICI*) collections from nine countries. *International Journal of Molecular Sciences*, 22 (17), 9457. DOI: 10.3390/ijms22179457.
- BUX, H., RASHEED, A., MANGRIO, S. M., ABRO, S. A., SHAH, S. J. A., ASHRAF, M., and X. CHEN, 2012. Comparative virulence and molecular diversity of stripe rust (*PUCCINIA STRIIFORMIS* f. sp. *TRITICI*) collections from Pakistan and United States. *International Journal of Agriculture and Biology*, 14: 1560-8530.
- CELINE, R. A., DE VALLAVIEILLE-POPE, C., YVES, B., and L. CAROLINA, 2002. Characterisation of a length polymorphism in the two intergenic spacers of ribosomal RNA in *PUCCINIA STRIIFORMIS* f. sp. *TRITICI*, the causal agent of wheat yellow rust. *Mycological Research*, 106: 918-924. DOI: 10.1017/S0953756202006209.
- CHEN, W. Q., WU, L. R., LIU, T. G., XU, S. C., JIN, S. L., et al. 2009. Race dynamics, diversity, and virulence evolution in *PUCCINIA STRIIFORMIS* f. sp. *TRITICI*, the causal agent of wheat stripe rust in China from 2003 to 2007. *Plant Disease*, 93:1093-1101. DOI: 10.1094/PDIS-93-11-1093.
- CHEN, X. M., and KANG, Z. S. 2017. *Stripe Rust*. Dordrecht: Springer. 719 pp.
- CHEN, X. M., LINE, R. F. and H. LEUNG, 1995. Virulence and polymorphic DNA relationships of *PUCCINIA STRIIFORMIS* f. sp. *HORDEI* to other rusts. *Phytopathology*, 85 (11): 1335-1342. DOI: 10.1094/Phyto-85-1335.
- CHENG, P., and X. M. CHEN, 2009. Somatic hybridization in *PUCCINIA STRIIFORMIS* revealed by virulence patterns and microsatellite markers. *Phytopathology*, 99: S23.
- CHENG, P., CHEN, X. M., and D. SEE, 2016. Grass hosts harbor more diverse isolates of *PUCCINIA STRIIFORMIS* than cereal crops. *Phytopathology*, 106: 362-71. DOI: 10.1094/PHYTO-07-15-0180-R.
- CHU, B., YUAN, K., WANG, C., YANG, L., JIANG, B., GU, Y., and Z. MA, 2021. Effects of wheat cultivar mixtures on population genetic structure of *PUCCINIA STRIIFORMIS* f. sp. *TRITICI*. *PhytoFrontiers™* 2(1), 11-21. DOI: 10.1094/PHYTOFR-01-21-0006-R.
- DADREZAIE, S. T., LABABIDI, S., NAZARI, K., MOHAMMADI GOLTAPPEH, E., AFSHARI, F., ALO, F., and N. SAFAIE, 2013. Molecular genetic diversity in Iranian populations of *PUCCINIA TRITICINA*, the causal agent of wheat leaf rust. *American Journal of Plant Science*, 4: 1375-1386. DOI: 10.4236/ajps.2013.47168.
- DING, Y., CUDDY, W. S., WELLINGS, C. R., ZHANG, P., THACH, T., HOVMØLLER, M. S., QUTOB, D., BRAR, G. S., KUTCHER, H. R., and R. F. PARK, 2021. Incursions of divergent genotypes, evolution of virulence and host jumps shape a continental clonal population of the stripe rust pathogen *PUCCINIA STRIIFORMIS*. *Molecular Ecology*, 30 (24): 6566-6584. DOI: 10.1111/mec.16182.
- DUBIN, H. J., and R. W. STUBBS, 1986. Epidemic spread of barley stripe rust in South America. *Plant Disease*, 70 (2): 141-144. DOI: 10.1094/PD-70-141.

- DUE, Z. M., YAO, Q., HUANG, S. J., YAN, J. H., HOU, L., GUO, Q. Y., ZHAO, J., and Z. S. KANG, 2019. Investigation and identification of barberry as alternate hosts for *PUCCINIA STRIIFORMIS* f. sp. *TRITICI* in eastern Qinghai. *Acta Phytopathologica Sinica*, 49:370-378. DOI: 10.13926/j.cnki.apps.000407.
- ENJALBERT, J., DUAN, X., LECONTE, M., HOVMØLLER, M. S., and C. DE VALLAVIEILLE-POPE, 2002. Isolation of twelve microsatellite loci, using an enrichment protocol, in the phytopathogenic fungus *PUCCINIA STRIIFORMIS* f.sp. *TRITICI*. *Molecular Ecology Notes*, 2: 563-565. DOI: 10.1046/j.1471-8286.2002.00295.x.
- ESFANDIARI, E. 1947. Les rouilles de cereales en Iran. *Entomologie Phytopath. Appl.*, 4: 67-76.
- FOX, S. L., HARDER, D. E. and KIM, W. K. 1995. Use of virulence and length variability within the rDNA repeat unit to distinguish isolates of *PUCCINIA GRAMINIS* f. sp. *TRITICI* race QCC. *Canadian Journal of Plant Pathology* 17: 197-204. DOI: 10.1080/07060669509500712.
- GOLEGAONKAR, P. G., WELLINGS, C. R., SINGH, D., and R. F. PARK, 2013. Genetic and molecular analyses of resistance to a variant of *PUCCINIA STRIIFORMIS* in barley. *Journal of Applied Genetics*, 54: 1-9. DOI: 10.1007/s13353-012-0123-x.
- HOLTZ, M. D., KUMAR, K., and K. XI, 2014. Genetic diversity of *PUCCINIA STRIIFORMIS* from cereals in Alberta, Canada. *Plant Pathology*, 63: 415-424. DOI: 10.1111/ppa.12094.
- HOLTZ, M. D., KUMAR, K., ZANTINGE, L., and K. XI, 2013. Virulence phenotypes of *PUCCINIA STRIIFORMIS* in Alberta from 2009-2011. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 35(2): 241-250. DOI: 10.1080/07060661.2013.775184.
- HOVMØLLER, M. S., JUSTESEN, A. F., and J. K. M. BROWN, 2002. Clonality and long-distance migration of *PUCCINIA STRIIFORMIS* f. sp. *TRITICI* in north-west Europe. *Plant Pathology*, 51: 24-32. DOI: 10.1046/j.1365-3059.2002.00652.x.
- HOVMØLLER, M. S., SØRENSEN, C. K., WALTER, S., and A. F. JUSTESEN, 2011. Diversity of *PUCCINIA STRIIFORMIS* on cereals and grasses. *Annual Review of Phytopathology*, 49: 197-217. DOI: 10.1146/annurev-phyto-072910-095230.
- JENNINGS, J. M., NEWTON, A. C., and K. W. BUCK, 1997. Detection of polymorphism in *PUCCINIA HORDEI* using RFLP and RAPD markers, differential cultivars, and analysis of the intergenic spacer region of rDNA. *Journal of Phytopathology*, 145: 511-519. DOI: 10.1111/j.1439-0434.1997.tb00357.x.
- JIN, Y. 2011. Role of *BERBERIS* spp. as alternate hosts in generating new races of *PUCCINIA GRAMINIS* and *P. STRIIFORMIS*. *Euphytica*, 179: 105-108. DOI: 10.1007/s10681-011-0360-y.
- KOMAJATI, H., PSAQUALI, M., HUBBARD, A., LEE, D., and R. BAYLES, 2004. IGS, SSR and SRAP analysis of *PUCCINIA STRIIFORMIS* isolates. *Proceedings of the 11th International Cereal Rusts and Powdery Mildew Conference*. 22-27 August., John Innes Centre, Norwich, UK. European and Mediterranean Cereal Rust Foundation, Wageningen, Netherlands. *Cereal Rusts and Powdery Mildew Bulletin*, Abstr. A2.33.

- LEI, Y., WANG, M. N., WAN, A. M., XIA, C. J., SEE, D. R., ZHANG, M., and X. M. CHEN, 2017. Virulence and molecular characterization of experimental isolates of the stripe rust pathogen (*PUCCINIA STRIIFORMIS*) indicate somatic recombination. *Phytopathology*, 107: 329-344. DOI: 10.1094/PHYTO-07-16-0261-R.
- LI, S. N., CHEN, W., MA, X. Y., TIAN, X. X., LIU, Y., HUANG, L. L., KANG, Z. S., and J. ZHAO, 2021. Identification of eight *BERBERIS* species from the Yunnan-Guizhou plateau as aecial hosts for *PUCCINIA STRIIFORMIS* f. sp. *TRITICI*, the wheat stripe rust pathogen. *Journal of Integrative Agriculture*, 20:1563-1569. DOI: 10.1016/S2095-3119(20)63327-5.
- LITTLE, R., and J. G. MANNERS, 1969. Somatic recombination in yellow rust of wheat (*PUCCINIA STRIIFORMIS*). II. Germ tube fusions, nuclear number and nuclear size. *Transactions of the British Mycological Society*, 53:259-267. DOI: 10.1016/S0007-1536(69)80060-4.
- MEHMOOD, S., SAJID, M., ZHAO, J., KHAN, T., ZHAN, G. M., HUANG, L. L., and Z. S. KANG, 2019. Identification of *BERBERIS* species collected from the Himalayan region of Pakistan susceptible to *PUCCINIA STRIIFORMIS* f. sp. *TRITICI*. *Plant Disease*, 103:461-467. DOI: 10.1094/PDIS-01-18-0154-RE.
- MOLLER, E. M., BAHNWEG, G., and H. H. GEIGER, 1992. A simple and efficient protocol for isolation of high molecular weight DNA from filamentous fungi, fruit bodies, and infected plant tissues. *Nucleic Acid Research*, 20: 6115-6116. DOI: 10.1093/nar/20.22.6115.
- NEWTON, A. C. 1986. Somatic recombination in yellow rust of wheat (*PUCCINIA STRIIFORMIS*). III. The genetics of pathogenicity. *Transactions of the British Mycological Society*, 87: 123-128. DOI: 10.1016/S0007-1536(86)80012-1.
- NEWTON, A. C., CATEN, C. E., and R. JOHNSON, 1985. Variation for isozyme and double-stranded RNA among isolates of *PUCCINIA STRIIFORMIS* and two other cereal rusts. *Plant Pathology*, 34: 235-247. DOI: 10.1111/j.1365-3059.1985.tb01356.x.
- PAULE, M. R., and A. K. LOFQUIST, 1996. Organization and expression of eukaryotic ribosomal RNA genes. In: Zimmerman, R. A. and Dahlberg, A. E. (eds.). *Ribosomal RNA: Structure, Evolution, Processing, and Function in Protein biosynthesis*. New York: CRC Press, pp. 395-420.
- RABBANINASAB, H., OKHOVAT, M., TORABI, M., ABBASI, M., and J. MOZAFFARI, 2008. Virulence and molecular diversity in *PUCCINIA STRIIFORMIS* f. sp. *TRITICI* from Iran. *Journal of Plant Protection*, 22: 47-60.
- RODRIGUEZ-ALGABA, J., SØRENSEN, C. K., LABOURIAU, R., JUSTESEN, A. F., and M. S. HOVMØLLER, 2017. Genetic diversity within and among aecia of the wheat rust fungus *PUCCINIA STRIIFORMIS* on the alternate host *BERBERIS VULGARIS*. *Fungal Biology*, 121(6-7): 541-549. DOI: 10.1016/j.funbio.2017.03.003.
- ROHLF, F. J. 2005. *NTSYS-pc: Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System*, version 2.02. Exeter Publishing, Setauket, New York.
- SAFAVI, S. A., ATAHUSSAINI, S. M., and S. EBRAHIMNEJAD, 2012a. Effective and

- ineffective resistance genes and resistance reaction of promising barley lines to *PUCCINIA STRIIFORMIS* f. sp. *HORDEI* in Iran. *Asian Journal of Plant Sciences*, 11 (1): 52-57. DOI: 10.3923/ajps.2012.52.57.
- SAFAVI, S. A., BABAI AHARI, A., AFSHARI, F., and M. ARZANLOU, 2014. Virulence genes and pathotypes of *PUCCINIA STRIIFORMIS* f. sp. *HORDEI*, causing yellow rust on barley in some areas of Iran. *Seed and Plant Improvement Journal*, 30: 733-760.
- SAFAVI, S. A., BABAI-AHARI, A., AFSHARI, F., and M. ARZANLOU, 2012b. Effect of yellow rust on yield components of barley cultivars with race-specific and slow rusting resistance to yellow rust. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 45:1488-1498. DOI: 10.1080/03235408.2012.682715.
- SAVADI, S., PRASAD, P., BHARDWAJ, S. C., et al. 2020. Development and characterization of novel microsatellite markers in *PUCCINIA STRIIFORMIS* f. sp. *TRITICI* and their transferability in *PUCCINIA* species. *Journal of Phytopathology*, 168:120-128. DOI: 10.1111/jph.12876.
- SHARMA-POUDYAL, D., BAI, Q., WAN, A., WANG, M., SEE, D., and X. M. CHEN, 2020. Molecular characterization of international collections of the wheat stripe rust pathogen *PUCCINIA STRIIFORMIS* f. sp. *TRITICI* reveals high diversity and intercontinental migration. *Phytopathology*, 110 (4): 933-942. DOI: 10.1094/PHYTO-09-19-0355-R.
- SPACKMAN, M. E., OGBONNAYA, F. C., and J. S. BROWN, 2010. Hypervariable RAPD, ISSR and SSR markers generate robust taxonomic groups among *PUCCINIA STRIIFORMIS* formae speciales of importance to Australian agriculture. *Australasian Plant Pathology*, 39: 226-233. DOI: 10.1071/AP09094.
- TAKAMATSU, S. 1998. PCR applications in fungal phylogeny. In: P. D. Bridge, D. K. Arora, C. A. Reddy and R. P. Elander (eds.). *Application of PCR in Mycology*. CAB International, Wallingford. pp 125-152.
- THACH, T., ALI, S., DE VALLAVIEILLE-POPE, C., JUSTESEN, A. F., and M. S. HOVMØLLER, 2016. Worldwide population structure of the wheat rust fungus *PUCCINIA STRIIFORMIS* in the past. *Fungal Genetics and Biology*, 87:1-8. DOI: 10.1016/j.fgb.2015.12.014.
- WAN, A. M., and X. M. CHEN, 2012. Virulence, frequency, and distribution of races of *PUCCINIA STRIIFORMIS* f. sp. *TRITICI* and *PUCCINIA STRIIFORMIS* f. sp. *HORDEI* identified in the United States in 2008 and 2009. *Plant Disease*, 96 (1): 67-74. DOI: 10.1094/PDIS-06-11-0479.
- WANG, M. N., and X. M. CHEN, 2013. First report of *MAHONIA AQUIFOLIUM* as an alternate host for *PUCCINIA STRIIFORMIS* in the United States. *Plant Disease*, 97: 1254. DOI: 10.1094/PDIS-03-13-0249-PDN.
- WELLINGS, C. R., BURDON, G. G., MCINTOSH, R. A., WALLWORK, H., RAMAN, H., and G. M. MURRAY, 2000. A new variant of *PUCCINIA STRIIFORMIS* causing stripe rust on barley and wild *HORDEUM* species in Australia. *Plant Pathology*, 49: 803. DOI: 10.1046/j.1365-3059.2000.00506.x.
- ZAHRAVI, M., SAFAVI, S. A., and H. GHAZVINI, 2023. Identification of sources of resistance to stripe rust in barley landraces of the northwest

- regions of Iran. Iranian Journal of Genetics and Plant Breeding, 10 (2): 13-23.
- ZAKERI, A., AFSHARI, F., YASSAIE, M., GHAZVINI, H., HASSANI, F., SAFAVI, S. A., and M. J. MINOO, 2018. Race identification and responses of some barley genotypes to barley stripe rust in seedling and adult plant stages. Crop Breeding Journal, 8 (1 & 2): 31-47.
- ZAMBINO, P. J., ROELFS, A. P., and L. J. SZABO, 1992. Phylogenetic relatedness among species and formae speciales of cereal rust fungi by DNA sequence analysis of the rDNA internal transcribed spacer (ITS) region. Proceedings of the European and Mediterranean Cereal Rusts and Powdery Mildew Conference, 8: 60-62.
- ZHAN, G., CHEN, X., KANG, Z., HUANG, L., WANG, M., WAN, A., CHENG, P., CAO, S., and S. JIN, 2012. Comparative virulence phenotypes and molecular genotypes of PUCCINIA STRIIFORMIS f. sp. TRITICI, the wheat stripe rust pathogen in China and the United States. Fungal Biology, 116 (6): 643-653. DOI: 10.1016/j.funbio.2012.03.003.
- ZHAO, J., WANG, L., WANG, Z., CHEN, X., ZHANG, H., YAO, J., ZHAN, G., CHEN, W., HUANG, L., and Z. S. KANG, 2013. Identification of eighteen BERBERIS species as alternate hosts of PUCCINIA STRIIFORMIS f. sp. TRITICI and virulence variation in the pathogen isolates from natural infection of barberry plants in China. Phytopathology, 103: 927-934. DOI: 10.1094/PHYTO-09-12-0229-R.
- ZHAO, J., WANG, L., WANG, Z., et al. 2016. Virulence and genetic diversity of PUCCINIA STRIIFORMIS f. sp. TRITICI on barberry in China. Phytopathology, 106: 1152-1160. DOI: 10.1094/PHYTO-12-15-0329-R.
- ZHAO, Y., HUANG, X., LI, Q., HUANG, L., KANG, Z., and J. ZHAO, 2023. Virulence phenotyping and molecular genotyping reveal high diversity within and strong gene flow between the PUCCINIA STRIIFORMIS f. sp. TRITICI populations collected from barberry and wheat in Shaanxi province of China. Plant Disease, 107 (3): 701-712. DOI: 10.1094/PDIS-12-21-2713-RE.