

ارتباط اجزای میکرو-مرفولوژیکی سطح برگ با مقاومت ارقام سیب زمینی به بیماری لکه موجی

مهدی نصر اصفهانی^{۱*}، گیتی علیزاده مقدم^۲ و محمدعلی کریم خواه^۲

۱- *نویسنده مسوول: دانشیار بخش تحقیقات گیاهپزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان اصفهان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اصفهان، ایران (Mne2011@gmail.com)

۲- کارشناس ارشد بخش تحقیقات گیاهپزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان اصفهان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اصفهان، ایران

تاریخ پذیرش: ۹۵/۰۶/۱۴

تاریخ دریافت: ۹۴/۰۳/۲۳

چکیده

یکی از بیماری‌های مهم و همه گیر مناطق سیب زمینی کاری اغلب نقاط جهان از جمله ایران، بیماری لکه موجی می باشد که در اثر دو گونه‌ی *Alternaria solani* و *A. alternata* ایجاد شده و هر ساله خسارت قابل توجهی به این محصول وارد می سازد. در راستای کاهش مصرف سموم، جهت دستیابی به ارقام مقاوم و متحمل خصوصیات میکرو-مرفولوژیکی برگ ۲۴ رقم از ارقام تجاری رایج کشت در کشور، در شرایط آزمایشگاه و گلخانه مورد بررسی قرار گرفت. بررسی خصوصیات آناتومیکی برگ‌ها توانست رابطه مستقیمی بین ارقام مقاوم دیامونت، راموس، ساتینا و سوناته و ضخامت بیشتر کوتیکول، موم و لایه کلانشیم در پوست خارجی برگ، تعداد و اندازه زیاد کرک‌ها در سطح برگ و تعداد کمتر روزنه‌های هوایی در سطح برگ را نسبت به ارقام حساس به بیماری لکه موجی نشان دهد. در ارقام حساس و نیمه حساس، میلو، کوزیما، پر میر، سانه، آتلاتنیک، آریندا، شپدی، مارکیز و آگریا رابطه برعکس بود. تجزیه‌ی خوشه‌ای ۱۰ صفت مورد مطالعه‌ی برگ، ارقام را کماکان بر همان اساس، به گروه‌های متمایز آماری مقاوم تا حساس، در تایید نتایج تقسیم بندی نمود. این مطالعه افق‌های جدیدی را در شناسایی و دستیابی به واریته‌های مقاوم در آینده نزدیک باز می نماید.

کلید واژه‌ها: موم، کوتیکول، کلانشیم و کرک

مقدمه

بیماری بیش از ۲۰ درصد محصول را از بین می برد (Van der waals et al., 2003; Rotem, 1994).

یکی از روش‌های متداول در کنترل این بیماری، کنترل شیمیایی با استفاده از قارچ کش‌های معمول جهت کاهش انتشار بیماری است. این روش علاوه بر هزینه بودن، نگرانی‌های زیادی میان کارشناسان و علاقه‌مندان محیط زیست به وجود آورده است و لذا کاهش مصرف قارچ کش را اینجاب می کند (Pasche et al., 2004)؛ انتخاب ارقام مقاوم از دیگر

بیماری لکه موجی که در اثر *A. solani* و *A. alternata* ایجاد می شود، در اغلب مناطق کشت سیب زمینی و گوجه فرنگی رایج می باشد. بیماری لکه موجی در گستره‌ای از شرایط اقلیمی به صورت همه جا گیر بروز می کند و شدت آن بستگی به رطوبت برگ‌ها در اثر ریزش باران، مه، شبنم، آبیاری، وضعیت تغذیه‌ای گیاه و حساس بودن ارقام زراعی به این بیماری دارد. عدم کنترل بیماری می تواند بسیار مخرب باشد، گزارشاتی وجود دارد که این

ژنوتیپ‌های گیاه را می‌توان براساس سطوح مقاومت از هم تفکیک و مکانیسم‌های احتمالی درگیر در مقاومت را مشخص نمود (Dita Rodriguez et al., 2006). از اجزای مقاومت میکرو-مرفولوژیکی گیاه، کوتیکول با داشتن ترکیبات آب‌گریز، تنظیم‌کننده جذبی رسوبات شیمیایی غیرفرار اپیدرم بوده و می‌تواند حفاظت‌کننده گیاه در برابر آسیب‌های مکانیکی ناشی از علف‌خواران و بیمارگرهای مهاجم باشد (Kerstiens, 1996). مطالعه بر روی لایه‌ی موم کوتیکول انگورسیاه نشان داده است، که سد عمده‌ای در برابر نفوذ بیماری هنگام تراکنش گیاه با حشرات و آلودگی‌های قارچ‌ها از کوتیکول است (Commenil et al., 1997). Nawrath (2002) در گیاه آراییدوپسیس نشان داد که کوتیکول منطقه‌ی تماس گیاه با محیط است و مشخصات فیزیکی آن کاملاً با اعمال اپیدرم بستگی داشته و نقش عمده‌ای در ممانعت از تبادل آب و مواد محلول و هم‌چنین تنظیم‌کننده‌ی تبادل گاز هنگام بسته بودن روزنه‌ها دارد.

Muller and Riederer (2005)، نشان دادند که کوتیکول و ضخامت آن در سطوح هوایی گیاهان، دارای اثر مهمی در برهم کنش با عوامل بیماری‌زای گیاهی دارد و ترکیبات به شدت چربی دوست این لایه، به دلیل داشتن موم، باعث آب‌گریز شدن این سطح جهت ایجاد محیطی مرطوب برای رشد اسپورها می‌شود. نقش کوتیکول و موم موجود در گوجه‌فرنگی در مقابل نفوذ قارچ *Botrytis cinerea* (Curvers et al., 2010) و در توت سیاه در مقابل نفوذ قارچ سفیدک مورد مطالعه قرار گرفته است (Chattopadhyay et al., 2010).

Niks and Rubiales (2002) در گیاه جو نشان دادند که، نقش ضخامت کوتیکول و موم در سطح برگ، ممانعت از رشد هاستوریوم قارچ‌ها، نفوذ و جهت‌گیری آن برای یافتن روزنه جهت ورود به برگ می‌باشد. از طرف دیگر، برگ بسیاری از گونه‌های گیاهی با کرک‌های تک‌سلولی و چندسلولی پوشیده شده‌اند که عمل سم‌زدائی و محافظت در برابر هجوم

روش‌های جدید کنترل بیماری است که می‌تواند به مقدار قابل توجهی بیماری را کنترل نماید. در گیاهان مقاوم، دوره‌ی نهفتگی (کمون) عامل بیماری، طولانی و درصد آلودگی برگ‌ها کم بوده که این احتمالاً به دلیل مکانیسم‌های مقاومت در مراحل اولیه‌ی آلودگی است (Rodriguez et al., Ben-Noon et al., 2003).

مکانیسم‌های دفاعی گیاه در برابر عامل بیماری‌زا پیچیده و همراه با واکنش‌های موضعی و سیستمیک بسیاری است (Felle et al., 2004). اغلب اجزای آناتومیکی و سطحی برگ‌ها تعیین‌کننده مقاومت گیاه در مقابل عوامل بیماری‌زا است و در بین اجزای مقاومت، کوتیکول، موم، کرک، لایه کلانشیم و روزنه‌های هوایی، مقاومت گیاه در برابر بیماری را تحت تأثیر قرار می‌دهند (Niks and Rubiales, 2002). نفوذ قارچ *A. solani* و *A. alternata* به مزوفیل برگ از طریق روزنه‌ها انجام می‌شود (Dita Rodriguez et al., 2006). بنابراین روزنه‌ها نقش مهمی در آلوده شدن گیاه به عامل بیماری دارند. با این حال، نفوذ از طریق روزنه‌ها مستلزم عبور از سدهای فیزیکی اپیدرم برگ است (O'Connell and Pasturage, 2006). فراوانی کرک‌ها در گیاه به‌عنوان سدی فیزیکی، باعث جلوگیری از نفوذ ریشه‌های حاصل از رشد اسپور قارچ می‌شود (Martin and Glover, 2007). ضخامت اپیدرمی سطح برگ به دلیل وجود لایه‌های موم، کوتیکول و کلانشیم با مقاومت در برابر عوامل بیماری‌زا ارتباط دارد (Schreiber et al., 2000; Nawrath, 2002).

تاکنون مطالعات متعددی بر روی اجزای میکرو-مرفولوژیکی سطح برگ (کوتیکول، موم، کرک، لایه کلانشیم و روزنه‌های هوایی) به‌عنوان اجزای فیزیکی مقاومت، هنگام برهم کنش عامل بیماری‌زا-گیاه به ویژه در بیماری‌های قارچی روی گیاهان دیگر، به غیر از سیب‌زمینی انجام گرفته است (Sillero and Rubiales, 2002). مطالعات کمیته‌ی این اجزای مقاومت نشان داده است، که

آلودگی و دارای اندازه و شکل یکنواختی بودند، انتخاب و به طور جداگانه شستشو و با قارچ کش تجاری رورال تی اس به صورت سوسپانسیون ۱۰ درصد و به مدت سه دقیقه ضدعفونی گردیدند. غده‌ها در دمای ۲۵ درجه‌ی سانتی‌گراد و نور متناوب ۱۲ ساعته و رطوبت بالای ۸۰ درصد قرار داده و پس از حصول اطمینان از جوانه‌زنی غده‌ها، در شرایط گلخانه در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۴ تکرار (یک غده در هر گلدان) در اسفند ماه کشت و سپس، مجدداً آزمایش در اردیبهشت ماه تکرار گردید. خاک گلدان‌ها به نسبت ۱:۱:۱ از شن، ماسه و کود تهیه شد که پس از مخلوط نمودن و قبل از پر کردن گلدان‌ها، با دستگاه سترون گردیدند. پس از گذشت حدود ۳۰ روز از کاشت، ساقه و برگ‌های جوان نمایان شدند که از این پس مراقبت‌های لازم در حفظ و نگه‌داری گلدان‌ها، حفظ رطوبت و تغذیه‌ی بخش‌های گیاه در سه نوبت با محلول کودهای لازم شامل ماکرو و میکرو بر اساس توصیه‌ها انجام گرفت (Nasr-Esfahani and Ansariipoor, 2006).

مطالعه‌ی سطح مقاومت ارقام سیب‌زمینی به EB در گلخانه

گلدان‌های مورد کشت و نگهداری شده در شرایط یکسان در گلخانه، طی دو نوبت از مرحله رشد، شامل گیاهچه‌ای و پس از گلدهی، جهت اطمینان و با توجه به تنوع ارقام (زودرس، میان‌رس و دیررس) بر اساس منابع موجود، با سوسپانسیون رقیق *A. alternata* مایه‌زنی شدند (۱۰^۶ عدد هاگ در هر میلی‌لیتر مکعب آب) (Duarte et al., 2014). اولین ظهور علائم بیماری پس از ۵ روز در سطح برگ‌ها نمایان شد. برای تعیین ایجاد و روند بیماری در طول رشد رویشی ارقام مورد آزمون، فاکتورهای بیماری شامل درصد آلودگی، شدت و شاخص بیماری در ۴ مرحله رشد، شامل گیاهچه‌ای، ساقه‌دهی، گلدهی و بلوغ به ترتیب بر اساس شمارش تعداد برگ بیمار به کل برگ‌ها در هر گلدان و دیاگرام‌های توصیفی انستیتوی ملی گیاه‌شناسی کشاورزی انگلیس و شاخص

آفات و بیماری‌های گیاهی را دارند (Calo et al., 2006). مطالعات مذکور و بسیاری دیگر، ارتباط میان اجزای میکرو-مرفولوژیکی سطح برگ و مقاومت در برابر بیماری را مشخص کرده و می‌تواند روشی برای تشخیص و تعیین ارقام با سطح مقاومت بالا باشد. با توجه به منابع مورد مطالعه، تاکنون بر روی اجزای میکرو-مرفولوژیکی سیب‌زمینی در ارتباط با بیماری لکه‌موجی، مطالعاتی انجام نشده است. لذا، با توجه به اهمیت این بیماری در کشور، حساسیت ارقام مورد کشت به این بیماری و نیز تشخیص چگونگی اجزای میکرو-مرفولوژیکی ۲۴ رقم رایج زراعی سیب‌زمینی، براساس سطوح مقاومت بررسی شد.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی حساسیت و سطوح مختلف مقاومت ارقام مورد کشت سیب‌زمینی به بیماری لکه‌موجی سیب زمینی و هم‌چنین چگونگی آن، مطالعاتی در خصوص واکنش آن‌ها و نیز صفات آناتومیکی برگ شامل، ضخامت کوتیکول، لایه‌ی موم، کرک، پارانشیم و روزنه‌ها انجام گرفت. این بررسی‌ها در دو سطح آزمایشگاه و گلخانه در مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان اصفهان بخش گیاه‌پزشکی بر روی منابع ژنتیکی موجود صورت گرفت که به شرح ذیل اشاره می‌شود:

مواد ژنتیکی

در این مطالعه از ۲۴ رقم موجود در ذخایر بخش تحقیقات بذر و نهال اصفهان استفاده گردید. این ارقام همگی در ایستگاه تحقیقاتی رزوه از توابع شهرستان فریدن اصفهان در شرایط یکسان کشت، برداشت و در طول زمستان نیز انبار شده بودند. ژنوتیپ‌های موجود از گونه‌ی سیب‌زمینی مورد کشت با نام علمی *Solanum tuberosum* L. از ارقام رایج تجاری متعلق به کشورهای ایران و هلند بودند.

کشت غده‌ها در گلخانه

تعداد ۱۰ عدد غده از هر رقم از سیب‌زمینی مورد آزمون که از نظر ظاهری سالم و عاری از هر گونه

مقابل آن اهمیتی مضاعف داده شود. برای تعیین این شاخص ضرایب ۰، ۱، ۲، ۴، ۸، ۱۶ و ۳۲ متناظر با طیف‌های صفر، ۵، ۱۰، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ قرار داده شد. سپس نسبت مجموع حاصل ضرب تعداد گیاه شناسایی شده مربوط به هر طیف در ضرایب مربوطه به تعداد کل گیاه آلوده به بیماری به عنوان شاخص بیماری مشخص گردید. این روند شاخص بیماری را در بازه صفر تا ۳۲ توزیع می‌نماید. بر این اساس بوته‌های آلوده مورد آزمون بر حسب شاخص بیماری محاسبه شده در پنج گروه مقاوم، نسبتاً مقاوم، متحمل، نسبتاً حساس و حساس تفکیک شدند. به این ترتیب شاخص بیماری عبارت بود از:

$$\text{شاخص بیماری} = \frac{\sum_{i=1}^N R_i \cdot \alpha_i}{N}$$

α_i : ضرایب مربوطه می‌باشد که در این مطالعه ۳۲ و ۱۶، ۸، ۴، ۲، ۱، ۰ α_i بود.

مطالعه‌ی ساختمان آناتومیکی برگ ارقام سیب‌زمینی در آزمایشگاه

تعدادی برگ سالم یک اندازه در مرحله‌ی یکسان رشد شامل، برگ‌های میانی گیاه از هر ۲۴ رقم سیب‌زمینی مورد آزمون در گلخانه انتخاب و در شیشه‌های تیره‌ی مجزا، حاوی محلول آب و الکل به نسبت ۱:۱، جهت سخت شدن بافت‌ها، قرار داده شد. بر روی هر شیشه بر حسب نام آن رقم نصب و شیشه‌ها به مدت یک هفته در آزمایشگاه نگهداری شدند، تا بافت‌ها استحکام لازم را جهت مقطع‌گیری به دست آورند و به شرح ذیل مورد بررسی قرار گرفتند:

تهیه و رنگ‌آمیزی بافت بشره‌ای برگ

جهت جداسازی بشره‌ی برگ از بافت‌های زیرین، برگ‌های هر رقم در محلول اسیدنیتریک ۶۵ درصد که با آب مقطر به نسبت ۱:۱ رقیق شده بود، به مدت ۲ تا ۳ ساعت قرار داده شد (Widuri and Vanwelzen, 1998). سپس بشره به صورت لایه‌ای نازک و شفاف از بافت‌های زیرین مجزا گردید. هم‌چنین جهت رنگ‌آمیزی بشره، از محلول سافرانین ۱ درصد استفاده گردید، که

بیماری در هفت طیف صفر، ۱۰، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد مشخص گردید (Anonymous, 1985).

تعیین درصد آلودگی

برای تعیین درصد آلودگی، در هر مرحله پس از شمارش بوته، تعداد بوته‌های سالم و آلوده به تفکیک مشخص گردیدند. سپس درصد نسبت مجموع بوته‌های آلوده به تعداد کل نمونه به عنوان درصد آلودگی بوته‌ها به بیماری محاسبه گردید. بر این اساس درصد آلودگی عبارت بود از:

$$\text{درصد آلودگی} = \frac{\sum_{i=2}^N R_i}{N} \times 100$$

مجموع تعداد بوته‌های آلوده بوده و باید توجه داشت که R_1 تعداد بوته‌های سالم است که در این رابطه محاسبه نمی‌گردد. N = تعداد کل نمونه است که در این رابطه $N=20$ بود.

تعیین شدت بیماری

همان‌طور که ذکر شد این بررسی‌ها برای هر تکرار به طور جداگانه، و برای ۱۰ بوته از هر رقم در هر مرحله انجام گردید. سپس تعداد گیاه آلوده به بیماری در هر ضریب هر طیف به طور جداگانه ضرب و نتایج حاصله با یکدیگر جمع گردید. درصد نسبت این حاصل جمع به تعداد گیاه آلوده، مبین شدت آلودگی به بیماری لکه موجهی بود. بر این مبنا شدت آلودگی عبارت بود از:

$$\text{شدت آلودگی} = \frac{\sum_{i=2}^N R_i \cdot S_i}{N} \times 100$$

مجموع تعداد بوته‌ها و S_i = طیف بیماری می‌باشد که در این آزمایش ۰، ۵، ۱۰، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ است و N = تعداد کل نمونه است.

تعیین شاخص بیماری

شاخص بیماری در این مطالعه برای هفت طیف بیماری صفر، ۵، ۱۰، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ بر این اساس محاسبه گردید که به هر طیف بیماری نسبت به طیف

سلول و اندازه) و روزنه‌ها (تعداد، طول و قطر)، در آزمایشگاه صورت گرفت. بررسی‌های انجام شده در تعیین حساسیت ارقام مورد آزمون در شرایط گلخانه نشان داد که، ایجاد و توسعه‌ی بیماری روی برگ‌های ارقام سیب‌زمینی در سطح معنی‌دار متفاوت و متمایز هستند (جداول ۱ و ۲) ($P=0.01$).

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که، درصد آلودگی، شدت بیماری و شاخص بیماری از درجات مختلفی برخوردار بود و این تفاوت در بین ارقام مورد آزمون از اختلاف معنی‌داری برخوردار بود. این نتایج نشان داد که، واکنش ارقام نسبت به بیماری در مقایسه با یکدیگر اثر معنی‌دار و قابل توجه‌ای را داشته است. مقایسه میانگین درصد آلودگی، شدت و شاخص بیماری در بین ژنوتیپ‌های مورد آزمون نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین آن‌ها وجود داشت (جداول ۱ و ۲). هم‌چنین، این ژنوتیپ‌ها بر اساس فاکتور شدت بیماری (بر اساس تعرفه انستیتوی ملی گیاه‌شناسی کشاورزی انگلیس) در گروه‌های متفاوتی شامل طیف مقاوم (دیامونت، راموس و ساتینا)، نسبتاً مقاوم (دزیره، بورن، سوناته و پیکاسو)، طیف متحمل (گرانولا، مارفونا، مارادونا، کاسموس، سانتانا و کایزر) و طیف حساس (پریر، کوزیما، میلوا و سانته) و نسبتاً حساس (کنکورد، کنک، مارکیز، آریندا، پشندی، آگریا و آتلانتیک) قرار گرفتند (جداول ۱ و ۲).

نتایج حاصل از بررسی ضخامت کوتیکول در سطح فوقانی و نیز تحتانی، تفاوت معنی‌داری میان ارقام مورد آزمون نشان داد. بررسی میانگین‌ها نشان داد، در مجموع ضخامت‌های کوتیکول تحتانی و فوقانی، مارادونا در طیف متحمل با $3/6$ میکرون بیشترین و آگریا و مارفونا در طیف متحمل با $2/08$ و $2/04$ کمترین ضخامت را دارا بودند (جداول ۳ و ۴) ($P=0.01$).

نتایج حاصل از بررسی ضخامت موم نشان داد که، بیشترین میانگین کل ضخامت موم در برگ دزیره، کنکورد و بورن در طیف متحمل به ترتیب با $1/41$ و $1/29$ و $1/28$ میکرون و کم‌ترین میانگین ضخامت موم

کرک‌ها و روزنه‌ها را برای مطالعه و اندازه‌گیری رنگین می‌نمود. در این روش، بشره در یک قطره آب مقطر روی لام گسترانیده شده و بر روی آن لامل قرار داده شد، و از کنارهای لامل قطره‌ی سافرانین چکانیده شد (Noori, 2002).

صفات مورد مطالعه در این روش عبارت بودند از: روزنه‌ها (شامل: تعداد، اندازه‌ی طول و قطر روزنه)، کرک‌ها (شامل: تعداد، اندازه و تعداد سلول‌های کرک) و سایر صفات، که به تفکیک درج گردید. صفات مورد مطالعه در سه تکرار با عدسی شیئی 40 میکروسکوپ نوری مورد ارزیابی قرار گرفتند (Noori, 2002).

برش گیری و رنگ آمیزی مقاطع عرضی برگ

جهت تهیه‌ی مقطع عرضی برگ، قطعه‌ای به طول و عرض 7×3 میلی‌متر از پیرامون رگبرگ اصلی برگ برش داده شد. سپس قطعه‌ی جدا شده در میان مغز آقطی مسطح شده قرار داده شد و توسط تیغ برنده‌ای، برش‌های نازک عرضی تهیه گردید. برش‌های حاصله، درون شیشه ساعت حاوی آب مقطر قرار داده شد و نازک‌ترین و سالم‌ترین برش، جهت انجام مراحل رنگ‌آمیزی مضاعف انتخاب گردیدند (Sied Mozafari, 2005).

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و آریانس برای کلیه صفات بیماری و خصوصیات آناتومیکی به صورت آزمایش ساده و مرکب بررسی و انجام گردید. مقایسه میانگین اثرات ساده و متقابل صفات مورد مطالعه به وسیله آزمون دانکن (DMRT) و نیز ضرایب هم بستگی ساده با استفاده از روش پیرسون و آنالیز خوشه‌ای به روش وارد انجام گردید (SAS Institute, 2008).

نتایج

مطالعات انجام گرفته جهت بررسی سطح مقاومت ارقام سیب‌زمینی به بیماری لکه‌موجی در گلخانه و نیز تشخیص کمی اجزای میکرو-مرفولوژیکی برگ ارقام مورد آزمون شامل ضخامت کوتیکول، موم، کلانشیم، تعداد لایه‌های سلولی کلانشیم، کرک (تعداد، تعداد

با ۴۰/۹۳ و ۴۲/۲۶ بود و مابقی ارقام نیز، در طیف میانی و در گروه‌های آماری مربوطه واقع شده‌اند (جداول ۳ و ۴) ($P=0.01$). هم‌چنین میانگین تعداد لایه‌های سلولی کلانشیم در سطح فوقانی و تحتانی نیز نشان داد، ارقام راموس در طیف مقاوم با ۴/۸۳ و میلوا در طیف حساس با ۱/۶۶ لایه به ترتیب بیشترین و کم‌ترین تعداد لایه‌های سلولی را داشته و سایر ارقام نیز، در بین این دو طیف واقع گردیده‌اند (جداول ۳ و ۴) ($P=0.01$).

در برگ اتلانیتیک در طیف حساس با ۰/۳۴ میکرون می‌باشد و مابقی ارقام در طیف میانی واقع گردیده‌اند (جداول ۳ و ۴) ($P=0.01$).

نتایج حاصل از بررسی ضخامت کلانشیم در سطح فوقانی و نیز تحتانی ارقام مورد آزمون تفاوت معنی‌داری را نشان داد (جداول ۳ و ۴) ($P=0.01$). میانگین ضخامت کلانشیم نشان داد، که بیشترین میانگین در رقم مارکیز در طیف متحمل با ۸۸/۸ میکرون و کم‌ترین در مارفونا در طیف متحمل و پرمیر در طیف حساس به ترتیب

جدول ۱- مقایسه میانگین شاخص‌های بیماری لکه‌موجی ارقام سیب زمینی

Table 1. Mean comparison of early blight disease indexes on potato cultivars

Cultivars	Mean±SE		
	Infection Percentage	Disease Severity	Disease Index
Milova	60.76±01.49 ^a	81.52±01.01 ^{b-f}	07.96±00.22 ^a
Cosima	59.67±01.49 ^{ab}	83.23 ±01.01 ^{bc}	07.69±00.22 ^{ab}
Premiere	58.32±01.49 ^{bc}	81.20±01.0 ^{b-f}	07.65±00.22 ^{ab}
Sante	57.15±01.49 ^c	83.96 ±01.01 ^b	07.41±00.22 ^{bc}
Atlantic	54.64±01.49 ^d	87.71±01.01 ^a	06.93±00.22 ^{cd}
Arinda	53.93±01.49 ^{de}	82.49±01.01 ^{b-d}	06.95±00.22 ^{cd}
Pashandy	53.34±01.49 ^{d-f}	81.39 ±01.01 ^{b-f}	06.87±00.22 ^d
Markies	51.84±01.49 ^{ef}	79.85±01.01 ^{c-h}	06.86±00.22 ^d
Agria	51.98±01.49 ^{ef}	82.01±01.01 ^{b-e}	06.44±00.22 ^d
Concord	51.79±01.49 ^{ef}	80.37±01.01 ^{b-g}	06.56±00.22 ^d
Kennebeck	50.90±01.49 ^{fg}	80.40±01.01 ^{b-g}	06.50±00.22 ^d
Kayzar	48.97±01.49 ^g	82.49±01.01 ^{b-d}	05.90±00.22 ^e
Santana	46.62±01.49 ^h	80.79±01.01 ^{b-f}	05.61±00.22 ^{e-g}
Granula	46.46±01.49 ^h	78.30±01.01 ^{f-h}	05.73±00.22 ^{ef}
Marfona	45.77±01.49 ^h	76.60±01.01 ^{hi}	05.52±00.22 ^{e-g}
Maradona	45.20 ±01.49 ^h	78.88±01.01 ^{d-h}	05.34±00.22 ^{f-h}
Carmus	45.14 ±01.49 ^h	79.63±01.01 ^{c-h}	05.39±00.22 ^{fg}
Desiree	41.64±01.49 ⁱ	76.74±01.01 ^{hi}	04.89±00.22 ^{h-j}
Boren	42.03±01.49 ⁱ	77.16±01.01 ^{g-i}	05.17±00.22 ^{j-l}
Picasso	40.70±01.49 ^{ij}	74.43±01.01 ⁱ	04.69±00.22 ^{i-k}
Ramos	39.17±01.49 ^j	68.37±01.01 ^j	04.75±00.22 ^{i-k}
Sonate	38.69±01.49 ^{jk}	78.72±01.01 ^{e-h}	04.84±00.22 ^{i-k}
Satina	36.67±01.49 ^k	62.35±01.01 ^k	04.52±00.22 ^{jk}
Diamond	36.37±01.49 ^k	76.30±01.01 ^j	04.36±00.22 ^k

اعداد با حروف مشابه در هر ستون در سطح یک درصد فاقد اثر معنی‌دار می‌باشند.

The numbers with the same letters in each column are not significant at 1% level.

جدول ۲- واریانس مرکب نتایج گلخانه به بیماری لکه موجی

Table 2. Compound variance analysis of glass house results to early blight disease

Source	df	Type I SS	Mean Square	F	Pr >F
Disease Severity	1	35.22	35.22	18.58	0.00**
Infection Percentage	1	1037.01	1037.01	34.46	0.00**
Disease Index	1	11.55	11.55	20.88	0.00**

** The numbers are significant at 1% level.

** اعداد در سطح یک درصد معنی‌دار می‌باشند.

جدول ۳- مقایسه میانگین صفات آناتومیکی در اپیدرم برگ ارقام سیب زمینی

Table 3. Mean comparison of anatomical seals of the potato cultivars leaves epiderms

Cultivars	Mean±SE									
	Cuticle Thickness	Wax Thickness	Collanchym Thickness	Cell Layers Culenchyma	Trichome No	Cell No Trichome	Trichome Size	Stomata No	Stomata Height	Stomata Diameter
Maradon	03.60±0.08 ^a	00.52±00.06 ^j	70.80±02.84 ^{de}	02.50±00.15 ^{f-h}	02.80±00.18 ^{ef}	04.00±0.13 ^{b-f}	0.29±0.01 ^{b-d}	18.00±0.08 ^{kl}	32.66±0.05 ^{c-g}	26.00±0.72 ^{h-k}
Arinda	03.41±0.08 ^b	00.70±00.06 ⁱ	77.20±02.84 ^{de}	03.66±00.15 ^{bc}	03.50±00.18 ^{c-e}	04.16±0.13 ^{b-e}	0.27±0.01 ^{c-e}	21.66±0.08 ^{f-h}	37.00±0.05 ^a	33.00±0.72 ^b
Picasso	03.33±0.08 ^b	01.25±00.06 ^{bc}	58.80±02.84 ^g	02.00±00.15 ^{hi}	03.66±00.18 ^{cd}	03.66±0.13 ^{b-g}	0.23±0.01 ^{d-g}	22.00±0.08 ^{fg}	28.33±0.05 ^{i-k}	24.66±0.72 ^{j-l}
Satina	03.28±0.08 ^b	00.94±00.06 ^g	65.46±02.84 ^f	02.50±00.15 ^{f-h}	03.66±00.18 ^{cd}	04.33±0.13 ^{b-d}	0.36±0.01 ^a	20.33±0.08 ^{g-i}	31.33±0.05 ^{d-i}	30.00±0.72 ^{b-g}
Sonate	02.94±0.08 ^c	01.25±00.06 ^{bc}	73.60± 02.84 ^{cd}	02.66±00.15 ^{e-g}	04.16±00.18 ^{bc}	04.00±0.13 ^{b-f}	0.28±0.01 ^{c-e}	21.16±0.08 ^{f-i}	29.66±0.05 ^{g-j}	27.00±0.72 ^{f-j}
Santana	02.92±0.08 ^c	01.25±00.06 ^{bc}	59.60±02.84 ^g	02.33±00.15 ^{gh}	02.33±00.18 ^f	03.50±0.13 ^{c-h}	0.27±0.01 ^{c-e}	17.83±0.08 ^{k-m}	33.00±0.05 ^{b-f}	28.00±0.72 ^{e-j}
Kaiser	02.86±0.08 ^{cd}	01.08±00.06 ^f	81.73±02.84 ^b	03.66±00.15 ^{bc}	02.50±00.18 ^f	04.00±0.13 ^{b-f}	0.27±0.01 ^{c-e}	24.00±0.08 ^{de}	34.00±0.05 ^{b-d}	32.33±0.72 ^{bc}
Desiree	02.82±0.08 ^{c-e}	01.41±00.06 ^a	70.13±02.84 ^{ef}	03.00±00.15 ^{d-f}	02.66±00.18 ^{ef}	02.50±0.13 ^h	0.20±0.01 ^g	17.00±0.08 ^{lm}	31.00±0.05 ^{d-i}	37.00±0.72 ^a
Cosima	02.73±0.08 ^{d-f}	00.89±00.06 ^h	73.33±02.84 ^{cd}	03.16±00.15 ^{c-e}	02.00±00.18 ^f	04.16±0.13 ^{bc}	0.24±0.01 ^{d-g}	19.16±0.08 ^{jk}	35.33±0.05 ^b	29.00±0.72 ^{c-h}
Kennebec	02.70±0.08 ^{d-g}	00.93±00.06 ^{gh}	66.13±02.84 ^{ef}	03.16±00.15 ^{c-e}	05.33±00.18 ^a	03.83±0.13 ^{b-f}	0.30±0.01 ^{bc}	21.83±0.08 ^{f-h}	27.66±0.05 ^{jk}	21.33±0.72 ^m
Shepody	02.69±0.08 ^{e-g}	00.98±00.06 ^{e-g}	55.73±02.84 ^{hg}	02.16±00.15 ^{g-i}	02.50±00.18 ^f	02.66±0.13 ^{gh}	0.20±0.01 ^g	16.83±0.08 ^{lm}	36.26±0.05 ^a	29.33±0.72 ^{c-h}
Casmus	02.65±0.08 ^{f-h}	00.46±00.06 ^j	55.20±02.84 ^{g-i}	01.66±00.15 ⁱ	02.50±00.18 ^f	03.33±0.13 ^{d-h}	0.27±0.01 ^{c-e}	23.00±0.08 ^{ef}	34.66±0.05 ^{bc}	31.00±0.72 ^{b-e}
Burren	02.62±0.08 ^{f-i}	01.28±00.06 ^{ab}	56.26±02.84 ^{gh}	03.16±00.15 ^{c-e}	04.83±00.18 ^{ab}	03.83±0.13 ^{b-f}	0.24±0.01 ^{d-g}	16.60±0.08 ^m	30.66±0.05 ^{e-j}	30.00±0.72 ^{b-g}
Sante	02.58±0.08 ^{f-j}	01.06± 00.06 ^{de}	93.64±02.84 ^f	03.50±00.15 ^{b-d}	02.50±00.18 ^f	05.50±0.13 ^a	0.27±0.01 ^{c-e}	20.00±0.08 ^{h-j}	32.00±0.05 ^{d-h}	28.33±0.72 ^{d-i}
Diamant	02.58±0.08 ^{f-j}	00.73±00.06 ⁱ	50.13±02.84 ^{ij}	02.00±00.15 ^{hi}	04.16±00.18 ^{bc}	03.16±0.13 ^{e-h}	0.27±0.01 ^{c-e}	22.33±0.08 ^{ef}	30.33±0.05 ^{f-i}	22.33±0.72 ^{lm}
Ramose	02.54±0.08 ^{g-j}	01.21±00.06 ^{cd}	76.53±02.84 ^c	04.83±00.15 ^a	04.16±00.18 ^{bc}	03.66±0.13 ^{b-g}	0.30±0.01 ^{bc}	22.33±0.08 ^{ef}	31.00±0.05 ^{d-i}	27.66±0.72 ^{e-i}
Milova	02.53±0.08 ^{g-j}	01.26±00.06 ^{bc}	51.06±02.84 ^{h-j}	01.66±00.15 ⁱ	03.50±00.18 ^{c-e}	04.66±0.13 ^{ab}	0.21±0.01 ^{fg}	30.83±0.08 ^b	33.66±0.05 ^{b-e}	31.66±0.72 ^{b-d}
Markies	02.50±0.08 ^{h-j}	01.08±00.06 ^{ef}	88.80±02.84 ^a	03.33±00.15 ^{b-d}	02.16± 00.18 ^f	04.50±0.13 ^{bc}	0.34±0.01 ^{ab}	19.66±0.08 ^{j-k}	35.00±0.05 ^{bc}	28.00±0.72 ^{e-j}
Concord	02.46±0.08 ^{ij}	01.29±00.06 ^{a-c}	73.33±02.84 ^{cd}	03.83±00.15 ^b	02.16±00.18 ^f	03.50±0.13 ^{c-g}	0.26±0.01 ^{c-f}	25.00±0.08 ^{cd}	34.00±0.05 ^{b-d}	28.66±0.72 ^{d-i}
Premiere	02.46±0.08 ^{ij}	00.80±00.06 ^{hi}	42.26±02.84 ^k	02.00±00.15 ^{hi}	02.83±00.18 ^{d-f}	04.33±0.13 ^{b-d}	0.27±0.01 ^{c-e}	21.66±0.08 ^{f-h}	34.00±0.05 ^{b-d}	30.33±0.72 ^{b-f}
Granula	02.42±0.08 ^j	00.96±00.06 ^{fg}	57.73±02.84 ^g	02.66±00.15 ^{e-g}	03.83±00.18 ^c	04.16±0.13 ^{b-e}	0.30±0.01 ^{bc}	33.83±0.08 ^a	26.66±0.05 ^k	23.33±0.72 ^{k-m}
Atlantic	02.22±0.08 ^k	00.34±00.06 ^k	47.73±02.84 ^j	03.16±00.15 ^e	02.66±00.18 ^{ef}	03.83±0.13 ^{b-f}	0.23±0.01 ^{e-g}	19.33±0.08 ^{i-k}	29.00±0.05 ^{h-k}	29.00±0.72 ^{c-h}
Marfona	02.08±0.08 ^{kl}	00.48±00.06 ^j	40.93±02.84 ^k	02.66±00.15 ^{e-g}	02.66±00.18 ^{e-f}	04.00±0.13 ^{b-f}	0.36±0.01 ^a	16.00±0.08 ^m	33.00±0.05 ^{b-f}	25.33±0.72 ^{i-l}
Agria	02.04±0.08 ^l	00.57±00.06 ^j	57.20±02.84 ^g	03.66±00.15 ^{bc}	03.50±00.18 ^{c-e}	03.00±0.13 ^{f-h}	0.20±0.01 ^g	26.00±0.08 ^c	30.66±0.05 ^{e-j}	26.66±0.72 ^{g-j}

اعداد با حروف مشابه در سطح یک درصد فاقد اثر معنی دار می باشند. کلیه اندازه‌ها بر اساس میکرون به استثنای اندازه کرک که بر اساس میلی متر است.

The numbers with the same letters are not significant at 1% level. All measurements are based on micron with the exception of trichome size on the basis of millimeter.

جدول ۴- تجزیه واریانس صفات آناتومیکی در برگ ارقام سیب زمینی به بیماری لکه موی

Source	df	Type I SS	Mean Square	F
Cuticle	47	23.48**	0.49	26.77
Wax	47	18.02**	0.38	35.81
Collenchymas	47	86905.80**	1849.05	103.85
Collenchymas cell	47	33.08**	7.29	30.92
Trichome number	47	254.55**	5.41	10.40
Trichome cell number	47	82.63**	1.75	2.91
Trichome size	47	0.48**	0.01	5.99
Stomata number	47	14753.88**	313.91	150.68
Stomata height	47	1580.63**	33.63	6.05
Stomata diameter	47	23250.30**	49.47	7.61

** The numbers are significant at 1% level.

** اعداد در سطح یک درصد معنی دار می باشند.

روزنه در ارقام آریندا و سپس پشندی در طیف متحمل به ترتیب با ۳۷ و ۳۶/۲۶ میکرون و کمترین در ارقام گرانولا و کنبک در طیف متحمل به ترتیب با ۲۶/۶۶ و ۲۷/۶۶ میکرون بود (جداول ۳ و ۴) ($P=0.01$). هم چنین بررسی میانگین قطر روزنه‌ها نشان داد، که در مجموع بیشترین میانگین قطر روزنه در رقم دزیره در طیف متحمل و کمترین در رقم کنبک در طیف متحمل به ترتیب با ۳۷ و ۲۱/۳۳ میکرون بوده و سایر ارقام نیز، در طیف میانی قرار گرفته‌اند. با این تفاوت که، به جز دو رقم دیامانت در طیف مقاوم و گرانولا در طیف متحمل که کم تر از ۲۵ میکرون بودند، مابقی با روند صعودی و نزدیک به بیشترین مقدار یعنی بالاتر از ۲۵ میکرون واقع شده بودند، که البته از نظر آماری نیز معنی دار و در گروه‌های آماری مربوطه قرار گرفتند (جداول ۳ و ۴) ($P=0.01$).

تجزیه‌ی آماری خوشه‌ای ارقام بر اساس ۱۰ صفت مورد مطالعه‌ی برگ نیز، با قطع دندروگرام در فواصل اقلیدسی حدود ۵، ارقام را به شش گروه متمایز آماری تقسیم‌بندی نمود و به ترتیب در گروه (I)، کنکور، کایزر، کوزیما، مارکیز، سانت و راموس و در گروه (II)، سائینا، مارادونا، آریندا و در گروه (III)، بورن، سوناته، پیکاسو، کنبک و دیامانت و در گروه (IV)، گرانولا، میلو و در گروه (V)، اگریا، آتلاتیک، مارفونا و در نهایت در گروه (VI) کاسموس، پرمیر، سانتانا، پشندی و دزیره قرار گرفتند (شکل ۱) ($P=0.01$).

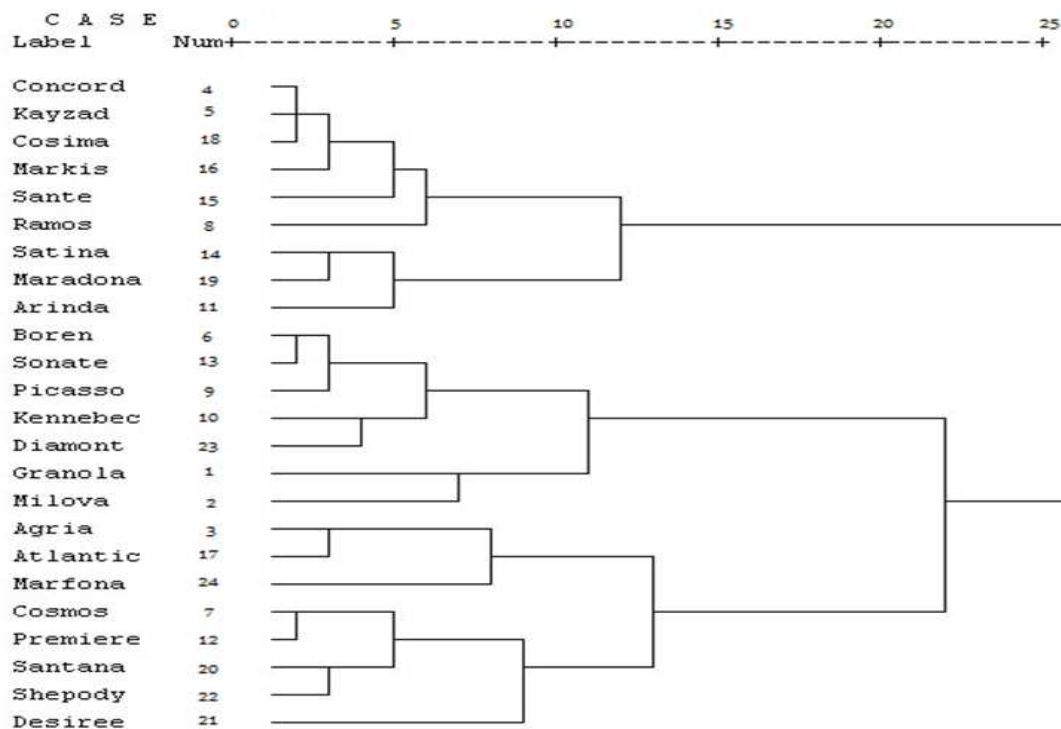
میانگین بررسی‌های تعداد کرک در واحد سطح تعیین شده در مجموع نشان داد، که ارقام کنبک و بورن در طیف متحمل به ترتیب با ۵/۳۳ و ۴/۸۳ عدد کرک در میلی‌متر مربع، بیشترین و رقم کوزیما در طیف حساس با میانگین ۲ عدد کمترین تعداد کرک را دارا بوده‌اند و سایر ارقام نیز، در طیف میانی قرار گرفتند (جداول ۳ و ۴) ($P=0.01$).

نتایج حاصل از میانگین تعداد سلول کرک نشان داد که، بیشترین میانگین تعداد سلول کرک در رقم سانت در طیف حساس با ۵/۵ سلول و کمترین در رقم دزیره در طیف متحمل با ۲/۵ سلول بود (جداول ۳ و ۴) ($P=0.01$).

هم چنین نتایج حاصل از بررسی‌های میانگین اندازه‌های کرک‌های ارقام مورد آزمون نشان داد که، بیشترین اندازه‌ی کرک در ارقام مارفونا و مارکیز در طیف متحمل به ترتیب با ۰/۳۶ و ۰/۳۴ میلی‌متر و کمترین در ارقام پشندی، اگریا و دزیره در طیف متحمل با ۰/۲ میلی‌متر بوده است (جداول ۳ و ۴) ($P=0.01$).

نتایج حاصل از میانگین تعداد روزنه‌های هوایی در ارقام مورد مطالعه نشان داد که بیشترین میانگین تعداد روزنه‌ی هوایی در رقم گرانولا در طیف متحمل با ۳۳/۸۳ عدد و کمترین در مارفونا در طیف متحمل و دیامونت در طیف مقاوم به ترتیب با ۱۶ و ۱۶/۱۶ عدد بوده است (جداول ۳ و ۴) ($P=0.01$).

میانگین طول روزنه‌های ارقام نشان داد، بیشترین طول



شکل ۱- دندروگرام میانگین های صفات برگي در ارقام سیب زمینی
Figure 1. Denderogram of the potato cultivar leaves indexes

دیگر نیز به کار رفته است (Christ et al, 2002)؛

(Nasr-Esfahani and Ansaripoor, 2006).

هم چنین داده های تعیین ضخامت کوتیکول در مجموع نشان دادند که ارتباط مستقیم و بعضاً معکوس بین ضخامت کوتیکول و حساسیت ارقام مورد آزمون سیب زمینی نسبت به بیماری لکه موجی وجود داشت. به عنوان مثال، در این جا رقم مارادونا، از ارقام نسبتاً مقاوم محسوب شد، که نسبت به رقم حساس آگریا و اتلانیتیک بیشترین ضخامت کوتیکول را دارا بود. در ارقام دیامونت و راموس که در این جا، از ارقام مقاوم محسوب شده اند، نسبت به ارقام حساس و نسبتاً حساس، بیشترین تعداد کرک و ضخامت در کوتیکول را دارا بودند. هم چنین در ارقام ساتینا و سوناته که در اینجا نیز مقاوم محسوب شده اند، نسبت به ارقام حساس و نسبتاً حساس دارای ضخامت زیاد کوتیکول، موم و از نظر تعداد و اندازه کرک، بیشتر و مرتفع تر بودند. هم چنین، این نتایج با نقش ضخامت کوتیکول به عنوان

بحث

بررسی های درصد آلودگی، شدت و شاخص بیماری نشان دادند که درصد آلودگی بیانگر آلودگی گیاه به بیماری و شدت و شاخص بیماری نشانه ی توسعه ی بیماری و روند آن در مراحل مختلف رشد گیاه و تراکنش بین ارقام و روند بیماری بوده است. ارتباط شدت و شاخص بیماری با سطوح مختلف حساسیت در ارقام مورد آزمون در این تحقیق مستقیم بوده است، به طوری که حداکثر شدت و شاخص بیماری به ترتیب در ارقام میلوا، کوزیما، پرمیر، سانه، اتلانیتیک، آریندا، پشنندی، مارکیز و آگریا بوده و این ارقام در گروه حساس و نسبتاً حساس طبقه بندی شدند. در این مطالعه ارقام مقاوم شامل دیامونت، راموس، ساتینا و سوناته و ارقام دزیره، بورن، مارادونا، پیکاسو، کارموس، مارفونا، کایزر از ارقام نسبتاً مقاوم بودند. مطالعه صفت شدت بیماری به عنوان یک صفت کاربردی برای تمایز و تفکیک ارقام با سطوح مختلف مقاومت در مطالعات

این موضوع (نسبتاً مقاوم بودن) را در صفات دیگر باید جستجو کرد. در هر حال، نتایج این تحقیق در رابطه با این موضوع که نقش این بافت نگه‌دارنده در سختی و افزایش ضخامت دیواره‌ی سلولی در سطوح برگ یا ساقه حایز اهمیت است، با گزارشات مربوطه مطابقت دارد (Skubisz et al., 2007؛ Maiti et al., 2014). این موضوع در بررسی برگ‌های ارقام مقاوم کرفس و حساس به بیماری سپتوریا در اثر *Septoria apiicola* ضخامت کلانشیم در ژنوتیپ‌های مقاوم بیشتر نیز مشاهده شده بود (Edwards et al., 1999).

وضعیت کرک‌ها از نظر اندازه و تعداد در ارقام مورد آزمون، همبستگی قابل توجهی را با سطوح مختلف مقاومت در ارقام نشان داد، به طوری که در ارقام مقاوم و نسبتاً مقاوم مانند کنیک، بون، دیامونت، راموس، سانتانا، مارکیز و مارفونا تعداد و اندازه کرک‌ها بیشتر از ارقام حساس شامل آگریا، پرمیر، سانتا، آتلانتیک و کوزیما بود. در این مورد می‌توان نقش احتمالی کرک را در ایجاد هیدرولازهای ضد قارچ آن دانست. به طور مثال، این مکانیسم در کرک‌های گیاه آراییدوپسیس تالیانا، در برابر قارچ *Botrytis cinerea* در خصوص تولید ترکیبات هیدرولازهای ضد قارچ مشاهده شده است (Calo et al., 2006).

وضعیت روزنه‌ها از نظر تعداد و اندازه‌ی آن‌ها، نقش قابل ملاحظه‌ای در بروز و شدت بیماری داشت و در مجموع نیز، ارتباط مستقیم با سطوح مختلف مقاومت ارقام مورد آزمون برقرار نموده بود. ارقام مقاوم و نسبتاً مقاوم مانند مارادونا، سانتانا، ذریه، دیامونت و مارفونا به ترتیب دارای کمترین تعداد روزنه و هم‌چنین روزنه‌هایی با اندازه‌های کوچک‌تر نسبت به ارقام حساس شامل آگریا، میلوا و سانتا بودند. رقم آریندا در مقایسه با دیگر ارقام حساس و نسبتاً حساس، بزرگ‌ترین اندازه روزنه را داشت. این نتایج با گزارشات Mahajan and Dhillon (2003)، در خصوص تعداد بیشتر و بزرگ‌تر بودن روزنه در ارقام حساس، نسبت به ارقام مقاوم مطابقت دارد.

اولین منطقه‌ی تماس با محیط و به‌عنوان اولین سد فیزیکی در برابر هجوم بیماری‌ها بالاخص قارچ‌ها مطابقت دارد (Chattopadhyay et al., 2010؛ Song-Jiang et al., 2014؛ Curvers et al., 2010).

در مطالعات دیگر به نقش مونومرهای کوتین اشاره شده است که در نتیجه فعالیت آنزیمی کوتینازی قارچ حاصل می‌گردد. این مونومرها، به عنوان بازدارنده شیمیایی بوده و موجب مهار رشد و تکثیر ریشه‌های حاصل از هاگ‌های قارچ شده‌اند (Nawrath, 2002؛ Wang et al., 2000؛ Serrano et al., 2014).

داده‌های حاصل از وجود ضخامت موم نیز، ارتباط تنگاتنگ این صفت را با تراکنش ارقام مورد آزمون در حساسیت به بیماری لکه‌موجی نشان داد. ارقام حساس مانند آتلانتیک و آگریا کم‌ترین ضخامت موم و رقم ذریه که از ارقام نسبتاً مقاوم تلقی می‌شود، بیشترین ضخامت موم را دارا بود. در مجموع و در غالب ارقام، رابطه‌ی مستقیم ضخامت موم و سطوح مختلف مقاومت نشان داده شد، که این می‌تواند نقش عمده‌ی موم از نظر آب‌گریز بودن و ممانعت از رویش اسپور و نفوذ ریشه باشد. این مکانیسم در تحقیقات متعددی گزارش شده است، که با نتایج این آزمایش مطابقت دارد (Song-Jiang et al., 2014؛ Muller and Riederer, 2005).

تفاوت ضخامت لایه‌ی کلانشیم به عنوان بافت نگهدارنده در زیر لایه‌ی اپیدرم، در بین ارقام مورد آزمون، ارتباط مستقیم در خصوص تراکنش ارقام و بیماری لکه‌موجی را نشان داد. در مجموع و به طور میانگین، ضخامت بافت کلانشیم و تعداد لایه‌های سلولی آن در ارقام مقاوم و نسبتاً مقاوم قابل ملاحظه‌تر از ارقام حساس بود. به طوری که، این صفات در ارقام مارکیز، کایزر، راموس و کنکورده نسبت به رقم نسبتاً حساس شامل آریندا و رقم حساس کوزیما دارای بیشترین مقدار بودند. ولی، در خصوص نسبتاً ناچیز بودن ضخامت کلانشیم در ارقام حساس پرمیر و میلوا کماکان مطابقت داشته و در رقم مارفونا کم‌ترین میزان وجود داشت، که

سلولی، مانند تولید انواع اکسیژن‌های واکنشی (ROS) و تغییر در سطح رونویسی، به راه می‌اندازد (Morris and Walker, 2003; Serrano et al., 2014). تراکشن میزبان و بیمارگر موجب پاسخ دفاعی حساسیت شدید و در نتیجه افزایش فنول اکسیدازها و ROS، هم‌چنین مرگ سلول‌های حاشیه‌ای آلودگی و سلول‌های بیمارگر در آن موضع می‌گردد (Laloi et al., 2004; Serrano et al., 2014).

با توجه به نتایج این تحقیق و یافته‌های گذشته به نظر می‌رسد که استفاده از ارقام مقاوم امری اجتناب‌ناپذیر است و به سهولت می‌توان به آن دستیابی نمود و حداقل می‌توان ارقام مقاوم، نسبتاً مقاوم و حتی متحمل را شناسایی نمود. هم‌چنین در این تحقیق نشان داده شد، که ارقام مقاوم دارای ویژگی‌های آناتومیکی بوده که بایستی بدان توجه خاصی مبذول داشت.

سپاس‌گزاری

لازم می‌داند از کمک‌های بخش تحقیقات گیاه پزشکی اصفهان که در اجرا و انجام این تحقیق همکاری نموده‌اند، بدین وسیله تشکر و قدردانی گردد.

REFERENCES

- Anonymous. 1985. Diseases assessment manuel for crop variety triales. National Institute of Agricultural Botany, Cambridge. CB3OLE.
- Ben- Noon, E., Shtienberg, D., Shlevin, E., and Dinooor, A. 2003. Joint action of disease control measures: A case study of *Alternaria* leaf of carrot. *Phytopathology*, 93(10): 1320-1328.
- Calo, L., Garcia, I., and Gotor, C. 2006. Leaf hair phytopathogenic fungus infection and confer an increased resistance when expressing a *Trichoderma* a-1, 3-glucanase. *Journal of Experimental Botany*, 57(14): 3911-3920.
- Chattopadhyay, S., Akhter, K., Gandhi Doss, S., Das, Nirvan, K., Aggarwal, Ramesh, K., Tapas, K., Sarkar, A., and Bajpai, A.K. 2010. Association of leaf micro-morphological characters with powdery mildew resistance in field-grown mulberry (*Morus* spp.) germplasm. *AoB Plants*, plr002.

نقش روزنه‌ها در نفوذ قارچ *A. alternata* در سیب‌زمینی (Dita Rodriguez et al., 2007)، *Hemileia vastatrix* در قهوه (Mendgen and Voegelé, 2005)، *Fusarium solani* در نخود (Rogers et al., 1994)، نیز گزارش شده است. نکته‌ی قابل ملاحظه در داده‌های حاصل از وضعیت روزنه‌ها این بود که مارفونا به‌عنوان رقمی نسبتاً مقاوم، کم‌ترین تعداد روزنه و نیز روزنه‌هایی با قطر کم داشت. نتایج این بررسی، با نتایج مطالعه تعداد روزنه‌های سطح برگ ارقام حساس و مقاوم سیب‌زمینی توسط Mahajan and Dhillon (2003) مطابقت دارد. تعداد کم روزنه‌ها در دیامونت که رقمی مقاوم محسوب می‌شود، نسبت به وجود بیشترین تعداد روزنه در رقم حساس میلوا مؤید گزارشات Mahajan and Dhillon (2003) است.

در بعضی گزارش‌ها، اجزای فیزیکی مقاومت به‌عنوان منبعی برای شناسایی بیمارگر و آغاز تغییرات سلولی در میزبان شناخته شده‌اند (Maiti et al., 2014; Staskawicz, 2001; Serrano et al., 2014). حضور پروتئین کینازهای مرتبط با دیواره‌ی سلول و پروتئین کینازهای داخل غشایی، موجب شناسایی ملکول‌های الیستور بیمارگر شده و موجی از تغییرات

- Christ, B.J., Haynes, K.G., and Vinyard, B.T. 2002. Inheritance of early blight resistance from open-pollinated 4x-2x potato hybrids. *American Journal of Potato Research*, 79: 403-410.
- Comménil, P., Brunet, L., and Audran, J.C. 1997. The development of the grape berry cuticle in relation to susceptibility to bunch rot disease. *Journal of Experimental Botany*, 48: 1599-1607.
- Curvers, K., Seifi, H., Mouille, G., De Rycke, R., Asselbergh, B., Van Hecke, A., Vanderschaeghe, D., Hofte, H., Callewaert, N., Van Breusegem, F., and Hofte, M. 2010. ABA-deficiency causes changes in cuticle permeability and pectin composition that influence tomato resistance to *Botrytis cinerea*. *Plant Physiology*, 154, 847-860. doi:10.1104/pp.110.158972.
- Dita Rodriguez, M.A., Brommonschenkel, S.H., Matsuoka, K., and Mizubuti, E.S.G. 2006. Components of resistance to early blight in four potato cultivars: Effect of leaf position. *Phytopathology*, 154: 230-235.
- Dita Rodriguez, M.A., Brommonschenkel, S.H., Matsuoka, K., and Mizubuti, E.S.G. 2007. Histopathological study of the *Alternaria solani* infection process in potato cultivars with different levels of early blight resistance. *Phytopathology*, 155: 462-469.
- Duarte, H.S.S., Zambolim, L., Rodrigues F.A., Paul, P.A., Padua, J.G., Junior, G.R., Júnior, A.F., and Rosado, A.W.C. 2014. Field resistance of potato cultivars to foliar early blight and its relationship with foliage maturity and tuber skin types. *Tropical Plant Pathology*, 39(4): 294-306.
- Edwards, S.J., Isaac, S., Collin, H., and Clipson, N.J. 1999. Stereological analysis of celery leaves infected by *Septoria apiicola*. *Mycological Research*, 103(6): 750-756.
- Felle, H.H., Herrmann, A., Hanstein, S., Huckelhoven, R., and Kogel, K.H. 2004. Apoplastic pH signaling in barley leaves attacked by powdery mildew fungus *Blumeria graminis f. sp. hordei*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 17: 118-123.
- Kerstiens, G. 1996. Signaling across the divide: A wider perspective of cuticular structure-function relationships. *Trends in Plant Science*, 1: 125-129.
- Laloi, C., Apel, K., and Danon, A. 2004. Reactive oxygen signaling: The latest news. *Current Opinion in Plant Biology*, 7: 323-328.
- Mahajan, M., and Dhillon, M. 2003. Relation of leaf epidermal characteristics with susceptibility and resistance of potato (*Solanum tuberosum*) to late blight disease (*Phytophthora infestans*). *Indian Journal of Agricultural Science*, 73(12): 656-660.
- Maiti, R., Rajkumar, D., Jagan and Vidyasagar, P. 2014. Morpho-anatomical study of 100 tomato lines. *International Journal of Bio-resource and Stress Management*, 5: 78-81.
- Martin, C., and Glover, B.J. 2007. Functional aspects of cell patterning in aerial epidermis. *Current Opinion in Plant Biology*, 10: 70-78.
- Mendgen, K., and Voegelé, R.T. 2005. Biology of rusts and mechanisms of infection. In Zambolim, L., Zambolim, E., Varzea, V.M.P. (eds). *Durable resistance to coffee leaves rust*, Universidad Federal de Vicosa, Vicosa. Brasil, pp. 233-248

- Morris, E., and Walker, J. 2003. Receptor-like protein kinases, the keys to response. *Current Opinion in Plant Biology*, 4: 339-342.
- Muller, C., and Riederer, M. 2005. Plant surface in chemical ecology. *Journal of Chemical Ecology*, 31: 2621-2651.
- Nasr Esfahani, M. and Ansari-pour, B. 2006. Studies on foliar diseases of potato in Feraydan. *Proceedings of 17 th Iranian Plant Protection Congress*, pp: 213. (in Farsi).
- Nawrath, C. 2002. The biopolymers cutin and suberin. *The Arabidopsis Book*.
- Niks, S.R.E., and Rubiales, D. 2002. Potentially durable resistance mechanisms in plants to specialized fungal pathogens. *Euphytica*, 124(2): 201-216.
- Noori, M. 2002. Characterization of the Iranian species of *Sothora* and *Ammodendron* (Leguminosae). Ph.D. Thesis, University of London and Royal Botanical gardens, Kew, UK.
- O'Connell, R.J., and Pasturage, R. 2006. Tete a tete inside a plant cell: establishing compatibility between plants and biographic fungi and Oomycetes. *New Phytologist*, 171: 699-713.
- Pasche, J.S., Wharam, C.M., and Gudmestad, N.C. 2004. Shift in sensitivity of *Alternaria solani* response to Q_oI fungicides. *Plant disease Journal*, 88: 181-187.
- Rodriguez, N.V., Kowalski, B., Rodriguez, L.G., Caraballosa, I.B., Suarez, M.A., Perez, P.O., Quintana, C.R., Gonzalez, N., and Ramos, R.Q. 2007. In vitro and ex vitro selection of potato plantlets for resistance to early blight. *Phytopathology*, 155: 582-586.
- Rogers, L.M., Flaishman, M.A., and Kolattukudy, P.E. 1994. Cutinase gene disruption in *Fusarium solani* f. sp. *pisa* decreases its virulence on pea. *The Plant Cell*, 6: 935-945.
- Rotem, J. 1994. The genus *Alternaria*, biology, epidemiology, and pathogenicity. American Phytopathological Society press, Minnesota, USA, 326 P.
- SAS Institute. 2008. SAS/STAT user's guide. Version 9.1.3. Cary: SAS Institute Inc.
- Schreiber, L., Skrabs, M., Hartmann, K., Becker, D., Cassagne, C., and Lessire, R. 2000. Biochemical and molecular characterization of corn (*Zea mays* L.) root elongates. *Biochemical Society Transactions*, 28: 647-649.
- Serrano, M., Coluccia, F., Torres, M., L'Haridon, F., and Metraux, J.P. 2014. The cuticle and plant defense to pathogens. *Frontiers in Plant Science*, 5: 1-8.
- Sied Mozafari, F.D. 2005. Plant morphology and anatomy lab (4th ed). Payam Noor University Press.
- Sillero, J.C., and Rubiales, D. 2002. Histopathological characterization of resistance to *Uromyces viciae-fabae* in faba bean. *Phytopathology*, 92: 294-299.
- Skubisz, G., Kravtsova, T.I., and Velikanov, L.P. 2007. Analysis of the strength properties of pea stems. *International Agrophysics*, 21: 189-197.
- Song-Jiang, C.H.E.N., Yong-Cai, L.I., Yang, B.I., Yan, Y.I.N., Yong-Hong, G.E., and Wang, Y.I. 2014. Solvent effects on the *ultrastructure* and chemical composition of

cuticular wax and its potential bioactive role against *Alternaria alternata* in pingguoli pear. *Journal of Intergrative Agriculture*, 13(5): 1137-1145.

Staskawicz, B. 2001. Genetics of plant-pathogen interactions specifying plant disease resistance. *Plant Physiology*, 125: 73-76.

Tek, A.L., Stevenson, W.R., Heleson, J.P., and Jiang, J. 2004. Transfer of tuber soft rot and early blight resistances from *Solanum brevidens* into cultivated potato. *Theoretical and Applied Genetics*, 109: 249-254.

Van der Waals, J.E., Denner, F.D.N., Van Rij, N., and Korsten, L. 2003. Evaluation of Plant-plus, a decision support system for control of early blight on potatoes in South Africa. *Crop Protection*, 22: 821-828.

Wang, C., Chin, C.k., and Gianfanga, T. 2000. Relationship between cutin monomers and tomato resistance to powdery mildew infection. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 57: 55-61.

Widuri, R., and Vanwelzen, P. 1998. A revision of the genus *Cephlomappa* (Euphorbiaceae) in Malesia. *Reinwardtia*, 11(3): 153-184.

The relation of leaf micro-morphological components with early blight resistant potatoes varieties

M. Nasr Esfahani^{1*}, G. Alizadeh Moghaddam² and M. A. Karimkhah²

1. ***Corresponding Author:** Associate Professor, Plant Protection Research Department, Isfahan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Isfahan, Iran (Mne2011@gmail.com)
2. Plant Protection Research Department, Isfahan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Isfahan, Iran

Received: 13 June 2015

Accepted: 4 September 2016

Abstract

One of the most important and epidemic diseases of potato in many parts of the world, especially in Iran is early blight (EB), *A. solani* and *A. alternata* causing considerable damages every year, imposing significant losses to this product. Given the importance of reducing the use of pesticides and achievement of resistant and or tolerant genotypes, the susceptibility and leaves morphological characteristics of the 24 commercial potato cultivars, commonly grown throughout the country, were studied in vitro and under greenhouse conditions. The trails to determine resistance scales and anatomical characteristics of the leaves indicated that, there are direct relations between resistant cultivars, Diamante, Ramos, Satina and Senate with the more thickness of their cuticle, wax, parenchyma and epidermal layers in the outer skin layer of the leaves. Also, there were higher number and height of leaf trichome and stomata of the leaf, comparing to susceptible ones to early blight disease, respectively. Whereas in the susceptible and moderately susceptible cultivars, Mileva, Cosima, Premier, Sante, Atlantic, Arinda, Shepody, Marquis and Agria the reverse was true. This study opens new horizons in the diagnosis and access to resistant varieties in the coming future.

Keywords: *Potatoes, Early blight, Leaf anatomy and resistance*