آفات و بیماری‌های گیاهی
جلد ۹۱، شماره ۱، شهریور ۱۴۰۲
Applied Entomology and Phytopathology
Vol. 91, No. 1, Sep. 2023
DOI: 10.22092/JAEP.2023.361088.1464

مقاله پژوهشی

ارزیابی مقاومت ارقام زراعی و برخی از کلون‌های پیشرفته سیب‌زمینی به نماتد سیستی طلایی سیب‌زمینی *Globodera rostochiensis* و ردیابی ژن مقاومت *H1* با استفاده از نشانگرهای مولکولی

مزدشت گیتی[۱]، ابراهیم پورجم✉[۱]، خسرو پرویزی[۲]، محمد رضا عتیقی[۱]، مجید پدرام[۱]
۱- دانشجوی دکتری، استاد، استادیار، دانشیار، گروه بیماری شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران؛
۲- دانشیار، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان همدان، همدان، ایران
(تاریخ دریافت: دی ۱۴۰۱؛ تاریخ پذیرش: تیر ۱۴۰۲)

چکیده

سیب‌زمینی به‌عنوان یکی از محصول‌های کشاورزی کلیدی، نقش مهمی در اقتصاد کشور دارد. نماتد سیستی طلایی سیب‌زمینی (*Globodera rostochiensis*) در سال ۱۳۸۷ از مزارع استان همدان گزارش شد. در این مطالعه، واکنش تعداد ۱۹ رقم زراعی و ۲۳ کلون سیب‌زمینی در دست معرفی موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر در کنار ارقام شاهد مقاوم و حساس نسبت به نماتد سیستی طلایی در گلخانه و مزرعه بررسی شد. بر اساس نتایج به‌دست آمده، ارقام ساوالان، جیلی، ساگیتا و پانامرا و کلون‌های 5/25، 870787، 1/27، 8707861، 13/75 و 1 در گروه حساس قرار گرفتند. ارقام آنوشا، بانبا، کلمبا، کایزر و فابولا و کلون‌های 24/24، 19/75، 8701125، 11 و KSG613 مقاوم به نماتد ارزیابی شدند و به‌طور بالقوه می‌توانند به‌عنوان ارقام جدید مقاوم معرفی شوند. ارقام خاوران و بورن و کلون 8708133 متحمل و ارقام چلنجر، جورجیا و تاروس (رایج در کشور) حساس به نماتد ارزیابی شدند. علاوه بر بررسی‌های فنوتیپی، آزمون‌های مولکولی برای ردیابی دو نشانگر TG689 و 57R وابسته به ژن مقاومت *H1* برای ارقام و کلون‌های نام برده انجام شد.

واژه‌های کلیدی: ارقام سیب‌زمینی، مارکر ملکولی 57R، مارکر ملکولی TG689، مقاومت به نماتد سیستی طلایی سیب‌زمینی

Evaluation of resistance of cultivars and some clones of potato against potato golden cyst nematode *Globodera rostochiensis*

M. GITI[1], E. POURJAM✉[1], K. PARVIZI[2], M.R. ATIGHI[1], M. PEDRAM[1]
1. PhD student, professor, assistant professor, associate professor, Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran; 2. Associate Professor, Horticulture Crops Research Department, Hamedan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Hamedan, Iran;

Abstract

Potato, as one of the strategic crops, plays an important role in the economy of the country. The potato golden cyst nematode (*Globodera rostochiensis*), was reported from Hamedan province in 2007. In present study, the reaction of 19 commercial potato cultivars and 23 advanced potato clones together with resistant and susceptible cultivars were evaluated against potato golden cyst nematode *Globodera rostochiensis* in greenhouse and field conditions. As the result, the cultivars Savalan, Jili, Sagita, Panamera and the clones 5/25, 870787, 1/27, 870861, 13/75, 1 were evaluated as susceptible. The cultivars Anosha, Banba, Kolomba, Kaiser, Fabula and clones 24/24, 19/75, 8701125, 11 and KSG613 were evaluated as resistant which could be introduced as the new resistant cultivars. The cultivars Khavaran, Boren and the clone 8708133 were evaluated as tolerant. The cultivars Challenger, Georgia and Taurus (commonly cultivated in Iran) were evaluated as susceptible. Besides the phenotypic evaluations, the molecular approches were also employed to amplify two TG689 and 57R markers linked to the *H1* resistance gene in studied cultivars and clones.

Keywords: Potato golden cyst nematode, potato cultivars, resistance against nematode, TG689 marker, 57R marker

✉ pourjame@modares.ac.ir

©2023, 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

سیب‌زمینی (*Solanum tuberosum*) یکی از محصولات مهم کشاورزی و یک ماده غذایی اصلی و با ارزش به‌شمار می‌رود. سطح زیر کشت این محصول در سال ۱۴۰۰ به ۱۰۹۰۷۵ هکتار در ایران رسیده است (Anonymous, 2022). از مهمترین استان‌های تولید کننده سیب‌زمینی می‌توان به استان‌های همدان، اردبیل، کرمان، اصفهان، کردستان، زنجان، لرستان، فارس، چهارمحال و بختیاری و گلستان اشاره کرد. میزان تولید سیب‌زمینی درکشور در سال ۱۴۰۰ معادل ۳۹۱۲۲۶۵ تن بوده است (Anonymous, 2022). عملکرد سیب‌زمینی در ایران به‌طور متوسط ۳۶ تن درهکتار است. استان همدان با داشتن ۱۶۵۰۱ هکتار مزرعه‌ی سیب‌زمینی و ۷۲۶۲۴۴ تن محصول، رتبه‌ی اول کشور را به‌خود اختصاص داده است (Anonymous, 2022).

نماتد سیستی طلایی سیب‌زمینی (*Globodera rostochiensis* (Wollenweber, 1923) Behrens, 1975)، یکی از انگل‌های مهم ریشه این محصول است که به نام‌های مختلفی از جمله نماتد سیست طلایی سیب‌زمینی، سیست زرد سیب‌زمینی و نماتد طلایی معروف است. این عامل به‌عنوان مخرب‌ترین و خسارت‌زاترین عامل بیماری‌زای محصول سیب‌زمینی در دنیا محسوب می‌شود که می‌تواند تا صد در صد باعث خسارت شود (Trudgill *et al*., 2013; Bird *et al*., 2018; EPPO, 2017; Evans and Brodie, 1980). در جمعیت‌هایی به‌میزان حدود ۴۰ تخم در گرم خاک، کاهش ۶ تن در هکتار به‌ازای افزایش ۲۰ تخم در گرم خاک پیش بینی می‌شود و بیشینه کاهش محصول حدود ۲۲ تن در هکتار می باشد (Brown and Sykes, 1983). نماتد سیست طلایی سیب‌زمینی در انگلستان و سایر کشورهای اروپایی به‌ویژه در نواحی معتدله، سالانه حدود ۵۰ میلیون دلار در سال خسارت وارد می‌کند (Haydock and Evans, 1998; Mburu *et al*., 2020). حد تحمل سیب زمینی به این نماتد معمولاً به‌طور متوسط بین دو تا پنج تخم در گرم خاک در نظر گرفته می‌شود وجمعیت‌های هشت و ۶۴ تخم در گرم خاک می‌تواند به‌ترتیب موجب ۲۰ و ۷۰ درصد کاهش محصول شود. آلودگی شدید ممکن است منجر به کاهش شدید محصول و کیفیت غده‌های سیب‌زمینی شده و محصول کمتری از مقدار کاشته شده برداشت گردد (Whitehead and Turner, 1998). تا قبل از سال ۱۳۸۷، نماتد سیست طلایی سیب زمینی، نماتد قرنطینه برای ایران بود. این نماتد در سال ۱۳۸۷، در تعدادی از مزارع شهرستان بهار استان همدان مشاهده و گزارش شد (Gitty and Tanha Maafi, 2010). اوانز و استون حد آستانه خسارت اقتصادی ناشی از نماتد سیستی طلایی سیب زمینی را کمتر از ۲۰ تخم در گرم خاک اعلام کرده‌اند (Evans and Stone, 1977). رهبری و همکاران (Rahbari *et al*., 2017) پاتوتیپ و خصوصیات ملکولی تعداد معدودی از جمعیت‌های نماتد سیستی طلایی سیب‌زمینی در ایران را بررسی و پاتوتیپ نماتد سیستی سیب‌زمینی شایع در منطقه بهار استان همدان را پاتوتیپ شماره یک (Ro1) تشخیص دادند.

استفاده از ارقام مقاوم یکی از کاربردی‌ترین و کاراترین روش‌های مدیریت نماتدهای انگل گیاهی است. ارقام مقاوم به پاتوتیپ‌های گونه *G. rostochiensis* وجود دارند، ولی ارقام بسیار محدودی با مقاومت قابل قبول علیه پاتوتیپ‌های *G. pallida* (Stone, 1973) Behrens, 1975 موجود هستند. از جمله ارقام مقاوم به *G. rostochiensis* (به‌خصوص پاتوتیپ Ro1) می‌توان به ارقام اگریا، سانته، آتلانتیک، آئولا، کاردینال، کنکورد، دیامانت، فیانا، فرسکو، هرتا، لیدی روزتا، موندیال، مورن و پیکاسو اشاره کرد (Zabeer, 1998).

ژن *H1* عامل مقاومت به نماتد سیستی طلایی سیب‌زمینی است (Karlov *et al*., 2013) و به‌دلیل ماهیت پیچیده آن (Dunnett 1957; Kort *et al*., 1972; Phillips *et al*., 1980; Rouppe van der Voort *et al*., 1997) ردیابی آن به‌طور غیر مستقیم توسط دو نشانگر 57R و TG689 انجام می‌شود. با توجه به مشکلات ارزیابی مقاومت ارقام و کلون‌های سیب‌زمینی نسبت به نماتد سیستی طلایی سیب‌زمینی و عدم امکان آلوده سازی مزارع با نماتد برای ارزیابی‌های مقاومت در مناطق غیر آلوده، ردیابی وجود ژن مقاومت *H1* از طریق استفاده از دو نشانگر مولکولی

57R و TG689 روشی قابل اعتماد برای این نوع مطالعات است (Milczarek *et al*., 2014; Park *et al*., 2018).

اگرچه از سال ۲۰۱۵ به‌بعد، شرکت‌های اروپایی شناسنامه‌ی رقم که دارای اطلاعاتی در مورد مقاومت یا حساسیت به نماتد سیستی طلایی می‌باشد را برای ارقام تجاری ارائه نموده‌اند، ولی با این حال، به‌جز تعداد معدودی از ارقام، واکنش اکثر ارقام نسبت به جمعیت ایرانی نماتد سیستی طلایی سیب‌زمینی مشخص نیست. در مورد بیشتر ارقام سیب‌زمینی رایج در کشور که قبل از سال ۲۰۱۵ وارد کشور شده‌اند، در قسمت شناسنامه‌ی رقم، حساسیت یا مقاومت آن‌ها به نماتد ذکر نشده است.

تا کنون بررسی جامعی در مورد مقاومت ارقام سیب‌زمینی به نماتد سیستی طلایی سیب‌زمینی در داخل کشور انجام نشده است. از طرف دیگر، طی سال‌های اخیر، موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر اقدام به اصلاح و معرفی ارقام سیب‌زمینی ایرانی نموده است که رقم‌های ساوالان و خاوران از اولین آن‌ها هستند (Hassanpanah and Hassanabadi, 2014) و متأسفانه اطلاعات دقیقی از وضعیت مقاومت یا حساسیت این ارقام و کلون‌های در دست اصلاح به نماتد سیب‌زمینی در دست نیست. کلون، جمعیتی از گیاهان است که از یک گیاه منفرد به‌وسیله تولیدمثل غیرجنسی به‌وجود آمده است. با توجه به این‌که تکثیر گیاه سیب‌زمینی به‌صورت غیر جنسی و از طریق کشت غده‌های رویشی (بذر کاذب) انجام می‌شود، در مراحل اصلاح سیب‌زمینی مجموعه یا توده‌ای از غده‌های سیب‌زمینی که محتوای ژنتیکی کاملاً یکسان دارند، از یک گیاه منفرد به‌وجود آمده و کلون‌های سیب‌زمینی نامیده می‌شوند.

در این پژوهش طی مطالعات گلخانه‌ای و مزرعه‌ای، واکنش (حساسیت، تحمل و یا مقاومت) ارقام تجاری درحال کشت سیب‌زمینی در کشور و تعداد ۲۳ کلون برتر موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه‌ی نهال و بذر به نماتد سیستی طلایی سیب‌زمینی ارزیابی شد و وجود یا عدم وجود ژن *H1* در آن‌ها با ردیابی دو مارکر مولکولی رایج بررسی شد.

مواد و روش‌ها

تهیه جمعیت نماتد

نژاد Ro1 گونه *Globodera rostochiensis* شناسایی شده توسط رهبری و همکاران (Rahbari *et al*., 2017) تکثیر و برای آزمون‌های مزرعه و گلخانه استفاده شد. برای این منظور، از مناطق آلوده خاک جمع‌آوری شد. سیست‌ها در آزمایشگاه جداسازی و با استفاده از سیست خردکن شکسته شدند. تعداد تخم‌ها و لاروهای موجود در هر سیست شمارش شده و میانگین محاسبه شد. سپس سیست‌ها در گروه‌های ۵۰ تایی دسته‌بندی و در دمای ٤ درجه سلسیوس نگهداری شدند (Rahbari *et al*., 2017).

آزمایش‌های گلخانه‌ای

تعداد ۱۹ رقم شامل اگریا، جیلی، بانبا، بورن، کایزر، اسپیریت، آریندا، فابولا، کلومبا، چلنجر، پانامرا، سیلوانا، جورجیا، ساگیتا، تاروس، ساوالان، آنوشا، آتوسا و خاوران و کلون‌های KSG613، 5/75، 19/24، 5/25، 13/27، 24/24، 11، 870/25، 19/75، 7/34، 1، 8707861، 8701125، 870/755، 12/34، 1/27، 8707112، 8701175، 870787، 8708133، 13/75، 51/75 و 24/14 به‌همراه رقم سانته به‌عنوان شاهد مقاوم و ارقام دزیره و مارفونا به‌عنوان شاهد حساس (Whitehead, 1991) در شرایط گلخانه کشت شدند. کشت‌های گلخانه‌ای طبق روش استاندارد European and Mediterranean Plant Protection Organization, 2006 (EPPO, 2009) انجام شد. به‌طور خلاصه، برای هر تیمار، ۷ گلدان (تکرار) با گنجایش ۲ کیلوگرم خاک انتخاب و با خاک با بافت شنی–لومی (خاک سترون شده مزرعه‌ی یکن آباد) پر شدند. در هر گلدان، یک قطعه از غده بذری به ابعاد ۳×۳ سانتی‌متر که دارای جوانه با قدرت رشد خوب بود و سه روز قبل بریده شده بود، قرار داده شد. زادمایه نماتد به تعداد پنج تخم و لارو در گرم خاک برای هر گلدان محاسبه و به‌صورت سیست در داخل پارچه توری در کنار جوانه‌ی سیب‌زمینی قرار داده شد. آبیاری و نگهداری گلدان‌ها بر اساس نیاز بوته‌ها و سه بار در هفته انجام شد. دمای

گلخانه در ۱۸–۲۱ درجه سلسیوس تنظیم شد. بعد از ۱۰۰ روز، بوته‌ها قطع شده و بعد از خارج کردن پارچه‌ی توری حاوی سیست‌های قدیمی از خاک، کل سیست‌های داخل هر گلدان استخراج و شمارش شدند. سایر ارزیابی‌ها به‌دلیل محدودیت‌های شناخته شده کشت سیب‌زمینی در گلخانه در آزمون‌های گلخانه‌ای انجام نشد.

آزمایش‌های مزرعه

برای این منظور، مزرعه آلوده‌ای در روستای یکن آباد دارای آلودگی اولیه به‌میزان (۹۹–٦٦) ۸۳ تخم و لارو نماتد سیستی طلایی سیب‌زمینی در گرم خاک انتخاب شد و بعد از ارزیابی همگن بودن آلودگی در مزرعه (مساحت زمین معادل ۱۵۰۰ متر مربع)، عملیات شخم و تسطیح در مهرماه سال ۱۳۹۸ انجام شد. کلون‌ها و ارقام مورد بررسی، در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی و در سه تکرار در اوایل اردیبهشت ماه ۱۳۹۹ در مزرعه منتخب کاشته شدند. هرتکرار شامل دو خط چهار متری بود و فاصله بین بلوک‌ها یک و نیم متر در نظر گرفته شد. فاصله بوته‌ها ۲۵ سانتی‌متر در روی خطوط و ۷۵ سانتی‌متر فاصله در بین خطوط کاشت در نظر گرفته شد. کودهای شیمیایی براساس توصیه بخش تحقیقات آب و خاک و مطابق آزمون تجزیه خاک به‌صورت ۱۵۰ کیلوگرم سولفات پتاسیم، ۲۰۰ کیلوگرم فسفات آمونیوم و ۳۰۰ کیلوگرم سولفات آمونیم در هکتار مصرف شد. کود ریز مغذی به‌نسبت دو و نیم در هزار در دو نوبت تا قبل از گل‌دهی استفاده شد. آزمایش در مزرعه به‌مدت دو فصل زراعی انجام شد.

بررسی تکثیر نماتد روی ریشه ارقام و کلون‌ها

به‌منظور بررسی وضعیت تکثیر نماتد روی ریشه تیمارهای مختلف، در هفته اول خرداد ماه و قبل از افتادن سیست‌ها در خاک (حدود ۷۰ روز بعد از کاشت)، از هر کرت سه بوته به‌صورت تصادفی انتخاب و به‌طور کامل با ریشه و خاک اطراف آن برداشت شده و به آزمایشگاه منتقل شدند. در آزمایشگاه، بوته همراه با ریشه به آرامی شستشو داده شد، به‌نحوی که خاک و بقایای گیاهی از اطراف ریشه، بدون جداسازی سیست‌ها از ریشه‌ها جدا شوند.

محاسبه‌ی شاخص مقاومت به نماتد

نمره‌دهی برای ارزیابی مقاومت طبق روش استاندارد (EPPO, 2006) انجام شد (جدول ۱). از رقم دزیره به‌عنوان شاهد حساس در محاسبات استفاده شد. شاخص تکثیر بر اساس نسبت جمعیت نماتد از گیاه مورد آزمون به جمعیت نماتد در گیاه حساس محاسبه و مطابق فرمول زیر شاخص حساسیت نسبی ارقام نمره دهی شد:

RS = (Pf of test variety / Pf of standard susceptible variety) × 100.

RS= Realative susceptibility

Pf = Final nematode population

جدول ۱–روش نمره‌دهی استاندارد برای ارزیابی مقاومت بر اساس حساسیت نسبی ارقام سیب‌زمینی نسبت به *Globodera rostochiensis* (برگرفته از EPPO, 2006). عدد ۹ نشان از حداکثر مقاومت رقم است.

Table 1. Standard scoring method for evaluating resistance based on the relative susceptibility of potato cultivars to *Globodera rostochiensis*. The value 9 indicates the highest resistance of the cultivar.

Relative susceptibility	Resistance score
< 1	9
1.1 - 3	8
3.1-5	7
5.1- 10	6
10.1-15	5
15.1-25	4
25.1-50	3
50.1-100	2
> 100	1

محاسبه تعداد سیست‌ها و میانگین تخم و لارو در هر سیست

جدا سازی و شمارش نماتدها از خاک گلدان‌های کشت شده در گلخانه و قطعه آزمایشی در مزرعه و ریشه جهت ارزیابی جمعیت به‌روش زیر انجام شد. نمونه‌های خاک در ابتدا و انتهای کشت گلخانه و مزرعه، پس از انتقال به آزمایشگاه، در داخل طشت‌های چهار لیتری و درون دستگاه آون با دمای ۳۵ درجه سلسیوس کاملاً خشک شدند. سپس هر نمونه خاک کاملاً

بهم زده شد و مقدار ۲۰۰ گرم از آن به طشت دیگری منتقل شده و با استفاده از قیف فنویک شستشو داده شد. سپس سیست‌های جمع شده روی الک ۲۵۰ میکرومتر در درون یک پتری جمع‌آوری و با بینوکولار شمارش گردیدند.

برای شمارش تعداد تخم ولارو موجود در هر سیست، از خاک هر تیمار، تعداد ۱۰ عدد سیست به‌طور تصادفی انتخاب و در داخل سیست خردکن شکسته و تخم‌ها و لاروهای موجود در آن‌ها در بشر ۲۰ میلی لیتری جمع آوری گردید. سپس تعداد تخم و لارو موجود در یک میلی لیتر از سوسپانسیون نماتد با استفاده از لام شمارش، شمرده و تعداد تخم‌ها و لاروهای موجود در یک سیست محاسبه شد (Karelov *et al*., 2013; EPPO, 2006).

شاخص‌های اندازه‌گیری شده گیاه

به‌منظور اندازه‌گیری شاخص‌های عملکردی در زمان برداشت، غده‌ها از هر کرت آزمایشی از سطح یک متر مربع برداشت شده و در کیسه جداگانه با برچسب به آزمایشگاه منتقل شدند. در آزمایشگاه، نمونه‌ی هر کرت توزین شده و غده‌های تولیدی در سه اندازه ریز (با قطر کوچک‌تر از ۳۵ میلی‌متر)، بذری (قطر ۳۵–۵۵ میلی‌متر)، درشت (قطر بالاتر از ۵۵ میلی متر) تفکیک شدند (Parvizi and Fazeli, 2019). تعداد ساقه (متوسط تعداد ساقه در سه بوته) از هر کرت به‌صورت تصادفی شمارش شد. شاخص پتانسیل تولید ساقه به‌صورت تقسیم میانگین تعداد ساقه هر تیمار بر میانگین تعداد ساقه رقم شاهد مقاوم به‌دست آمد. میانگین تعداد ساقه اصلی (ساقه‌هایی که دارای ریشه بوده و به‌عنوان یک گیاه مستقل عمل می‌کند) تیمارها با شاهد مقایسه شد (Parvizi and Fazeli, 2019). ارتفاع از محل خروج بوته‌ها از خاک در دوران گل‌دهی گیاهان اندازه گیری و ثبت شد (Khayatnezhad *et al*., 2011). به‌منظور ارزیابی کیفیت غده‌ها، عملکرد قابل فروش به‌صورت زیر محاسبه شد:

عملکرد قابل فروش = عملکرد کل – عملکرد غیر قابل فروش

عملکرد غیر قابل فروش = غده‌های بد شکل، غده‌های سبز، غده‌های پوسیده و غده‌های کوچک‌تر از ۳۵ میلی‌متر برای تعیین درصد ماده خشک غده‌ها، سه عدد غده از تکرار مربوطه هر رقم/کلون انتخاب شده و به‌صورت جداگانه به‌صورت ورقه‌های نازک برش داده شدند. برش‌ها در آون در دمای ۸۵ درجه سلسیوس به‌مدت ٤٨ ساعت قرارداده شدند. درصد ماده خشک غده از تقسیم وزن خشک غده بر وزن اولیه و ضرب عدد حاصل در ۱۰۰، محاسبه شد (Parvizi and Fazeli, 2019؛ Pereira *et al*., 2017).

آنالیز داده‌های کمی

داده‌های حاصل از صفات اندازه گیری شده در مراحل قبل (مراحل داشت و برداشت در تیمارهای مختلف) توسط نرم افزار کامپیوتری SAS تجزیه واریانس مرکب شده و میانگین‌های تیمارهای آزمایش با آزمون دانکن مورد مقایسه قرار گرفتند.

ردیابی مارکر مرتبط با ژن مقاومت به‌روش ملکولی

به‌منظور استخراج DNA و ردیابی مارکرهای مرتبط با ژن مقاومت در ارقام و کلون‌های مورد بررسی، یک هفته قبل از گل‌دهی از هر کلون یا رقم موجود در گلخانه یک گلدان انتخاب و تعداد پنج برگ بالایی بوته از ساقه‌های مختلف جدا شده و در داخل کیسه و دارای برچسب به یخچال آزمایشگاه منتقل گردیدند. در آزمایشگاه ابتدا استخراج DNA کل از گیاه (ارقام و کلون‌ها) به‌روش CTAB با تغییراتی به‌شرح زیر انجام شد. برای این منظور، مقدار ۰/۲ گرم بافت گیاهی در ازت مایع پودر و در لوله اپندرف ریخته شد. سپس مقدار ٦۰۰ مایکرولیتر بافر استخراج (500 mM) NaCl، (50 mM) EDTA، (100 mM) Tris-HCl و 2-β- mercaptoethanol (۱٪)) به‌هر نمونه اضافه گردید. لوله‌ها به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای ٦۵ درجه سلسیوس قرار داده شدند. در این مدت، لوله‌ها چند بار به آرامی تکان داده شدند تا بافر به‌طور کامل با بافت مخلوط شود. بعد از خارج کردن لوله‌ها از حمام بن ماری، سانتریفیوژ به‌مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه با سانتریفیوژ مدل Eppendorf 5415D انجام شد. سپس بخش رویی به لوله جدید منتقل و مقدار٤۰۰ مایکرولیتر مخلوط کلروفرم–ایزوآمیل الکل به‌نسبت یک به ٢٤ به آن اضافه و به‌مدت پنج دقیقه در دمای

اتاق به آرامی مخلوط شدند. سپس نمونه‌ها به‌مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس بخش رویی به لوله جدید منتقل و به‌مقدار یک ششم حجم آن، بافر استات سدیم ۵ مولار (pH =5.2) اضافه شد. در این مرحله، هر نمونه به آرامی یک‌بار تکان داده شد و سپس هم حجم آن، ایزوپروپانول به‌هر لوله اضافه شده و به‌مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شدند. بعد از آن، نمونه‌ها به‌مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیو شدند. بخش رویی هر نمونه به آرامی حذف و رسوب با اتانول ۷۰ درصد شستشو و دور نهایی سانتریفیوژ به‌مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه انجام شد. اتانول حذف و رسوب در دمای اتاق خشک شد. رسوب حاصل در ۳۰ مایکرولیتر آب مقطر سترون حل شد (Karlov *et al*., 2013; Hoseini *et al*., 2016).

برای ردیابی مارکرهای مرتبط با ژن مقاومت *H1*، از آغازگرهای اختصاصی هر مارکر به‌شرح جدول ۲ استفاده شد (Park *et al*., 2018).

جدول ۲- آغازگرهای مورد استفاده برای ردیابی مارکرهای ژن *H1*

Table 2. Primers used to detect markers linked to the *H1* gene

Primer	Seq. (5'-3')	TM	GC %	Reference
57R-F	TGCCTGCCTCTCCGATTTCT	95.35	55	Finkers-Tomczak *et al.* (2011)
57R-R	GGTTCAGAAAAGCAAGGACGTG	62.43	52.2	Finkers-Tomczak *et al.* (2011)
TG689-F	TAAAACTCTTGGTTATAGCCTAT	53.52	30.4	Milczarek *et al.* (2011)
TG689-R	CAATAGAATGTGTTGTTTCACCAA	55.88	33.3	Milczarek *et al.* (2011)
BCH-F	CATGACATAGTTTGAATTTTGAGTC	56.42	32	Brown *et al.* (2006)
BCH-R	CGTTTGGCGCTGCCGTAAGTT	61.78	57.1	Brown *et al.* (2006)

تکثیر و یا عدم تکثیر دو مارکر مولکولی انتخاب شده در ارقام مطابق جدول ۳ بررسی شد. واکنش PCR در حجم نهایی ۲۰ میکرو لیتر (۱۰ میکرولیتر مخلوط آماده 2X PCR شامل 1.5 Mm MgCl2، نیم میکرولیتر از هر آغازگر اختصاصی با غلظت ۱۰ میلی مولار بر مایکرولیتر، یک میکرولیتر از محلول DNA تهیه شده در مرحله قبل و ۸ میکرولیتر آب) انجام شد. مرحله واسرشته سازی اولیه در ۹۴ درجه سلسیوس به‌مدت چهار دقیقه و سپس ۳۵ سیکل تکثیر شامل یک دقیقه در ۹۴ درجه سلسیوس، ۹۰ ثانیه در ۵۵ درجه سلسیوس و دو دقیقه در ۷۲ درجه سلسیوس و مرحله گسترش نهایی در ۷۲ درجه سلسیوس به‌مدت ۱۰ دقیقه انجام شد. الکتروفورز محصول PCR با استفاده از ژل یک و نیم درصد آگارز انجام و نتیجه تکثیر نواحی مورد انتظار با استفاده از نور UV بررسی و تصویر ژل مربوطه توسط دستگاه ژل داک (UVtec Ltd, Cambridge, UK) ثبت شد (Karlov *et al*., 2013; Tanha Maafi *et al*., 2003; Hoseini *et al*., 2016).

جدول ۳- نتایج ردیابی ملکولی ژن *H1* با استفاده از آغازگرهای 57R و TG689 در ارقام و کلون‌های سیب زمینی، وجود سیست و علایم روی ریشه ارقام/ کلون‌های مربوطه در مزرعه آلوده و نمره حساسیت نسبی آنها در گلخانه

Table 3. Results of molecular tracing of *H1* gene using 57R and TG689 markers in different poatato cultivars /clones, the presence of cysts and symptoms on their roots in the infested field and resistance scores in greenhouse

No.	Cultivar/clone	Cysts on hairy roots	Cyst on roots	TG689	57R	Relative susceptibility
1	**1/27**	+	+	-	-	2
2	**24/24**	-	-	+	-	6
3	**19/75**	-	-	+	+	8
4	**8707112**	-	-	+	+	3
5	**13/75**	+	-	+	-	2
6	**8708133**	+	+	-	-	1
7	**8701175**	+	+	-	-	1
8	**19/24**	+	+	+	+	2
9	**7/34**	+	+	-	-	1
10	**12/34**	+	+	-	-	2
11	**24/14**	+	-	+	+	2
12	**8701125**	-	-	+	+	7
13	**5/75**	-	-	+	+	3
14	**870787**	+	+	-	-	1
15	**5/25**	+	+	-	-	1
16	**13/27**	+	-	+	+	2
17	**51/75**	+	-	+	+	2
18	**870/755**	-	-	+	+	3
19	**870/25**	-	-	+	+	3
20	**KSG613**	-	-	+	+	4
21	**8707861**	+	+	-	-	2
22	**11**	-	-	+	+	5
23	**1**	+	+	-	-	2
24	**Panamera**	-	+	-	-	2
25	**Jili**	+	+	-	+	1
26	**Sante**	-	-	+	-	9
27	**Atusa**	+	+	-	-	2
28	**Fabula**	-	-	+	-	5
29	**Desiree**	+	+	-	-	1
30	**Kolomba**	-	-	+	+	6
31	**Arinda**	-	-	+	+	3
32	**Borene**	+	+	-	-	2
33	**Anusha**	-	-	+	+	7
34	**Khavaran**	+	+	-	-	2
35	**Agria**	+	+	-	+	2
36	**Kaiser**	-	-	+	+	6
37	**Marfona**	+	+	-	-	1
38	**Savalan**	+	+	-	-	2
39	**Spirit**	-	-	+	+	3
40	**Banba**	-	-	+	+	6
41	**Georgia**	-	-	+	+	3
42	**Sagita**	+	+	-	+	2
43	**Taurus**	-	-	+	+	3
44	**Silvana**	-	-	+	+	3
45	**Challenger**	-	-	+	+	3

نتایج

شاخص‌های مرتبط با نماتد

نماتد مورد استفاده در این آزمایش (شکل ۱) گونه *Globodera rostochiensis* و پاتوتیپ Ro1 بود (Gitty *et al*., 2011; Rahbari *et al*., 2017). میانگین تعداد تخم و لارو در سیست‌های استخراج شده از نمونه خاک جهت استفاده در این مطالعه ۱۸۵ تخم و لارو در هر سیست بود.

شکل ۱– a: علایم ریشه ریشکی در اثر آلودگی ریشه سیب‌زمینی به نماتد سیستی طلایی، b: سیست‌های طلایی رنگ نماتد سیستی طلایی سیب‌زمینی روی ریشه رقم حساس مارفونا، c: تخم درون سیست بالغ نماتد طلایی سیب‌زمینی، d: آزمایش حساسیت و مقاومت ارقام و کلون‌های سیب‌زمینی نسبت به نماتد در شرایط گلخانه

Fig. 1. a: The hairy root symptom due to the infection by the potato golden cyst nematode, b: Cysts of the potato golden cyst nematode on the root surface of the susceptible cultivar Marfona, c: Eggs inside the adult cyst of the potato golden cyst nematode; d: Susceptibility and resistance experiment of potato cultivars and clones to the nematode in greenhouse conditions

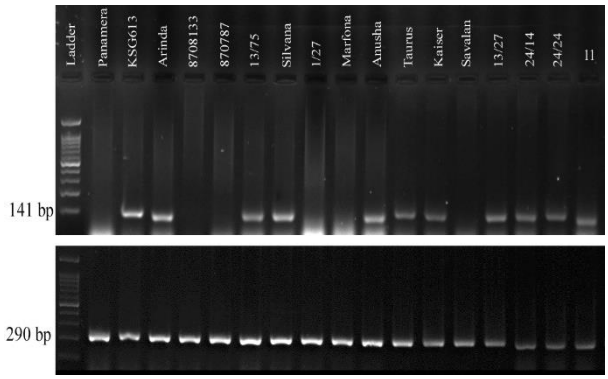
نتایج کشت ارقام و کلون‌های مختلف در گلخانه و مزرعه

نتایج نمره‌دهی برای مقاومت ارقام و کلون‌ها پس از شمارش سیست‌های تشکیل شده روی ریشه در گلخانه در جدول شماره ۳ خلاصه شده است. تجزیه واریانس تعداد نماتد موجود روی ریشه ارقام و کلون‌های مختلف تفاوت معنی‌داری با هم داشتند. ارقام شاهد حساس مارفونا و دزیره و ارقام ساوالان، جیلی، ساگیتا و پانامرا و کلون‌های 5/25 و 870787 ، 1/27 ، 8707861، 13/75 و کلون 1 با بیشترین تعداد سیست روی ریشه در مزرعه و کمترین نمره مقاومت در گلخانه، در گروه حساس قرار گرفتند. رقم سانته به‌عنوان شاهد آزمایش در کشت دوساله مزرعه و گلخانه، بدون تشکیل هیچ سیستی روی ریشه، همراه با ارقام آنوشا، بانبا، کلمبا، کایزر و فابولا با نمره مقاومت به‌ترتیب ۹، ۷ ، ٦ ، ٦ ،٦ و ٥ جزو ارقام مقاوم به نماتد ارزیابی شدند. کلون‌های 24/24، 19/75، 8701125، 11 و KSG613 با داشتن غده‌های خوب و قابل قبول و عملکردهای به‌ترتیب ٦١، ٣٣، ٤١، ٣٤ و ٣٧ تن در هکتار و بدون وجود سیست روی ریشه آن‌ها و با نمره مقاومت به‌ترتیب ٦، ٨، ٧، ٥ و ٤ جزو ارقام امید بخش و دارای مقاومت بسیار خوب به نماتد ارزیابی گردیدند. ارقام خاوران و بورن و کلون 8708133 با نمره مقاومت ۲، ۲ و ۱ و علیرغم داشتن تعداد زیاد سیست روی ریشه، هم در مزرعه و هم در گلخانه، عملکرد مناسب و حتی بیشتر از شاهد مقاوم سانته و معادل ۳۷، ٤٢ و٤٤ تن در هکتار داشتند و متحمل ارزیابی شدند. بین ارقام رایج درحال کشت در کشور، ارقام چلنجر، جورجیا و تاروس به‌ترتیب با نمره مقاومت ۳ موجب تکثیر نماتد گشته و عملکرد غده مناسبی نداشتند. سایر ارقام و کلون‌های مورد بررسی در مزرعه شامل ارقام آتوسا، اسپیریت، اگریا، سیلوانا و آریندا و کلون‌های 8707112 ، 13/27، 19/24، 7/34، 51/75، 870/755، 12/34، 24/14، 870/25، 5/75 و 8701175 طی دوسال دارای سیست‌های قابل مشاهده روی ریشه بودند و علایم ریشه ریشکی شدیدی داشتند و در دوسال کشت در مزرعه ی آلوده به نماتد و همچنین در گلخانه نمره حساسیت بالا برای آن‌ها محاسبه گردید.

ردیابی مارکر مرتبط با ژن مقاومت در ارقام و کلون‌های مورد بررسی

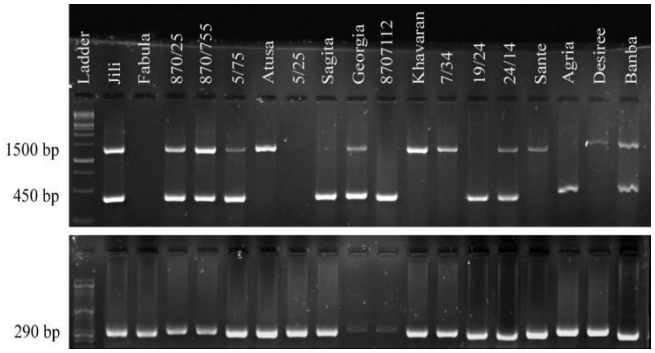
نتایج ردیابی مارکر مرتبط با ژن *H1* در ارقام و کلون‌های مورد بررسی با استفاده از دو مارکر 57R و TG689 (با دو تکرار و حصول نتایج مشابه) در جدول ۳ ارائه شده است. تصاویر باندهای تکثیر شده در شکل‌های ۲ و ۳ نمایش داده شده است

(تمام تصاویر مربوط به تکثیر باندهای مورد انتظار نشان داده نشده است). نتیجه تکثیر مارکر TG689 به‌صورت باندی به اندازه ۱۴۱ جفت باز مورد انتظار بود که در خصوص تعدادی از ارقام و کلون‌ها تشکیل شد (شکل ۲). نتیجه تکثیر تخصصی مارکر 57R به‌صورت باندی به اندازه ۴۵۰ جفت باز بود. در برخی موارد، باندی به اندازه ۱۵۰۰ جفت باز در ارقام و کلون‌های حساس و مقاوم نیز تکثیر شد (شکل ۳). از تعداد ۴۵ رقم و کلون مورد بررسی، ۵۸ درصد از جهت تکثیر باند مورد نظر نشانگر TG689 و ۵۵ درصد از جهت تکثیر نشانگر 57R مثبت بودند، ضمن اینکه در همه‌ی موارد یک باند مربوط به ژن BCH (β-carotene hydroxylase) به‌عنوان کنترل داخلی تکثیر شد. نیمی (۵۰ درصد) از نمونه‌های مورد بررسی نسبت به‌هر دو نشانگر واکنش مثبت داشتند. تعدادی از کلون‌ها مانند کلون 19/24 علیرغم اینکه برای هر دو نشانگر دارای باند مشخص بودند، ولی روی ریشه‌های آن‌ها در مزرعه و گلخانه سیست‌های تازه تشکیل شد (جدول ۳).



شکل ۲- نتیجه ردیابی مارکر TG689 برای تعدادی از ارقام و کلون‌های مورد بررسی در این مطالعه. باند به اندازه ۱۴۱ جفت باز مرتبط با ژن مقاومت *H1* در تعدادی از ارقام و کلون‌ها تشکیل شد. باند ۲۹۰ جفت بازی مربوط به تکثیر ژن *BCH* به‌عنوان کنترل داخلی است. نام ارقام و کلون‌ها در تصویر نشان داده شده است.

Fig. 2. The result of amplification of the TG689 marker for some cultivares and clones assessed in this study. A band of 141 bp size linked with the resistance gene *H1* was amplified for some cultivars and clones. The band of 290 bp size shows amplification of the gene *BCH* as the internal control. The name of cultivars and clones are indicated.



شکل ۳- نتیجه ردیابی مارکر 57R برای تعدادی از ارقام و کلون‌های مورد بررسی در این مطالعه. باند به اندازه تقریبی 450 جفت باز مرتبط با ژن مقاومت *H1* در تعدادی از ارقام و کلون‌ها تشکیل شد. باند به اندازه ۱۵۰۰ جفت باز در ارقام و کلون‌های دارای مارکر 57R و یا فاقد آن تکثیر شد. باند ۲۹۰ جفت بازی نشان از تکثیر ژن *BCH* به‌عنوان کنترل داخلی است. نام ارقام و کلون‌ها در تصویر نشان داده شده است.

Fig. 3. The result of amplification of the 57R marker for some cultivares and clones assessed in present study. A band of 450 bp size linked with the resistance gene *H1* was amplified for some cultivars and clones. A band with 1500 bp size was amplified for some cultivars and clones having or lacking the 57R marker. The band with 290 bp size shows amplification of the gene *BCH* as internal control. The name of cultivars and clones are indicated.

شاخص‌های مرتبط با عملکرد در مزرعه

متوسط تعداد ساقه در بوته

در مقایسه میانگین داده‌های حاصل از تعداد ساقه در بوته، کلون 19/24 با متوسط تعداد ۶/۸۸ عدد ساقه اصلی بیشترین تعداد ساقه را در بوته تولید کرد و از نظر آماری با ۴۵ کلون و رقم دیگر تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد آزمون دانکن نشان داد. دو رقم شاهد سانته و مارفونا با متوسط تعداد ۴/۲۹ عدد ساقه در بوته در موقعیت متوسط به بالا قرار گرفتند (جدول ۴).

تجزیه واریانس مرکب داده‌های حاصل از اندازه‌گیری این صفت مشخص کرد که اثر سال و نوع کلون/رقم در سطح ۱ درصد معنی‌دار شدند. اما اثر متقابل سال × کلون/رقم تفاوت معنی‌دار نداشت. علاوه بر این که تعداد ساقه در ارقام و کلون‌های مورد بررسی متفاوت بود، در عین حال این شاخص در دو سال اجرای آزمایش هم وضعیت یکنواختی نداشته و پاسخ ارقام و کلون‌ها به تغییر شرایط محیط در تعداد ساقه تولیدی متفاوت بود (جدول ۵).

ارتفاع گیاهان در گل‌دهی در مزرعه

با مقایسه میانگین‌ها معلوم شد که هشت رقم/کلون ساوالان، پانامرا، چلنجر، اگریا، 8707112، 7/34، 8707861 و 11 با متوسط ارتفاع ٦۹/۰۲ سانتی‌متر بیشترین ارتفاع بوته را داشتند و با سایر کلون‌ها و دو رقم شاهد مارفونا و سانته تفاوت‌ها معنی‌دار داشتند (جدول ٤).

تجزیه واریانس مرکب داده‌ها مشخص کرد که کلون‌ها و ارقام مورد بررسی در آزمایش، تفاوت معنی‌داری برای این ویژگی نشان دادند و اثر سال‌های آزمایش و نیز اثر متقابل سال × کلون/رقم معنی‌دار نشد. بدین ترتیب هرچند کلون‌های مورد بررسی تفاوت معنی‌دار داشتند، اما ارتفاع آن‌ها تحت تأثیر شرایط متفاوت محیطی در سال‌های آزمایش قرار نگرفتند (جدول ۵).

زمان رسیدن

در اندازه‌گیری طول دوره رشد یا زمان رسیدگی، تعداد نه کلون 1، 5/25، 7/34، 8707112، 870787، 5/75، 8707861، 87025 و 13/75 با طول دوره رشد متوسط بیشتر از ۱۳۲ روز از بالاترین زمان رسیدگی برخوردار شدند و اختلاف معنی‌داری با سایر کلون‌ها و ارقام و همچنین رقم شاهد سانته در سطح ۵ درصد آزمون دانکن داشتند. دو رقم آریندا و مارفونا با متوسط ۹٤/۰۸ روز، کوتاه‌ترین زمان رسیدگی را به خود اختصاص دادند که از این نظر، تفاوت معنی‌داری با تمامی کلون‌ها و ارقام مورد بررسی در سطح ۵ درصد آزمون دانکن نشان دادند (جدول ٤).

در تجزیه واریانس مرکب این صفت، اثر اصلی کلون و نیز اثر متقابل کلون × سال، در سطح ۱ درصد معنی‌دار شد (جدول ۵).

وزن خشک غده‌ها

کلون‌های مورد بررسی ضمن تفاوت در درصد ماده خشک غده در طی دو سال، روند یکنواختی نیز نداشتند. با مقایسه میانگین‌ها معلوم شد که اغلب کلون‌های مورد بررسی با درصد ماده خشک بالاتر از ۱۹ درصد وضعیتی هم‌سطح رقم شاهد سانته و یا بیشتر از آن داشتند. سه کلون ۵/۷۵، ۷/۳٤ و ۵/۲۵ با برخورداری از بیش از ۲۱/۸ درصد در بالاترین سطح قرار گرفتند. منحصرا دو کلون 13/75 و 870/755 و رقم مارفونا درصد ماده خشکی پائین‌تر از ۱۸ درصد داشتند (جدول ٤).

با تجزیه واریانس مرکب داده‌ها در مقدار وزن خشک غده مشخص شد که اثر کلون و اثر متقابل سال × کلون بر درصد ماده خشک غده به‌ترتیب در سطح ۱ درصد و ۵ درصد معنی‌دار شد (جدول ۵).

متوسط تعداد و وزن غده ریز و غیر قابل فروش

مقایسه میانگین‌ها نشان داد که رقم دزیره با متوسط وزن ۰/۳۳۵ کیلوگرم غده ریز در متر مربع بیشترین تعداد را داشت که از نظر آماری با دو کلون 24/24 ، 8707133 و رقم فابولا تفاوت معنی‌داری نشان نداد، اما با سایر کلون‌ها و ارقام مورد بررسی تفاوت‌ها معنی‌دار دارد. اغلب کلون‌ها با متوسط وزن کمتر از ۲۰۰ گرم غده ریز در متر مربع وضعیتی هم‌سطح رقم شاهد مارفونا داشتند (جدول ۵).

با تجزیه واریانس مرکب داده‌ها در متوسط تعداد و وزن غده ریز مشخص شد که صرفا اثر کلون/رقم معنی‌دار است. بنابراین کلون‌ها و ارقام مختلف از نظر تعداد غده ریز و بدشکل با هم متفاوت بوده و در دو سال هم روند یکنواختی داشته‌اند (جدول ٦).

تعداد و وزن متوسط اندازه غده بذری

در تجزیه واریانس مرکب داده‌ها در وزن متوسط غده بذری، اثر سال در تعداد غده بذری معنی‌دار نشد اما اثر کلون معنی‌دار شد. ضمن این‌که اثر متقابل کلون در سال در تعداد غده بذری و همچنین وزن متوسط آن‌ها معنی‌دار نشد (جدول ٦). بدین‌ترتیب تعداد غده بذری تحت تأثیر تفاوت محیط در سال‌های آزمایش قرار نگرفت. همچنین کلون‌های مورد بررسی از نظر تعداد و وزن متوسط غده بذری در دو سال آزمایش وضعیت یکنواختی نداشتند. دو کلون 8708133 و 24/24 با وزن متوسط ۳/۳۲ کیلوگرم غده بذری در مترمربع بالاترین میزان غده بذری را داشتند و تفاوت معنی‌دار با سایر کلون‌ها و ارقام شاهد مارفونا و سانته نشان دادند. قریب به ۲۱ کلون/رقم از ٤۵ کلون و رقم مورد بررسی با متوسط وزن غده بذری بیشتر از دو کیلوگرم در متر مربع از نظر تعداد و وزن متوسط غده بذری تولیدی، هم‌سطح رقم شاهد سانته یا بالاتر از آن قرار گرفتند.

از ٤٥ کلون مورد بررسی ۱۸ کلون و یا رقم با تولید غده بذری در محدوده یک و نیم تا دو کیلوگرم وزن متوسط غده بذری هم سطح رقم شاهد مارفونا داشتند و یا با اختلافی جزیی از این رقم شاهد قرار گرفتند (جدول ۵).

جدول ٤- مقایسه میانگین صفات رشد (متوسط تعداد ساقه و ارتفاع)، زمان رسیدگی و درصد ماده خشک غده در ارقام و کلون‌های سیب‌زمینی

Table 4. Comparison of average growth characteristics (number and height of stems), ripening time and percentage of tuber dry matter of potato cultivars and clones

No.	Cultivar/clone	Height at flowering phase (cm)	Average number of stem	Tuber dry matter content (%)	Growing season (day)
1	**8707861**	69.40 a	4.25 bcde	18.52 hijk	133.70 a
2	**87025**	63.70 cde	2.60 h	19.52 efgh	133.17 a
3	**KSG613**	64.48 bcde	3.52 d-h	19.52 efg	124.18 cd
4	**1/27**	58.70 fghijk	4.08 b-g	18.38 ijklm	124.18 c
5	**24/24**	64.50 bcde	3.50 d-h	19.48 efg	124.16 cd
6	**19/75**	57.66 ijk	3.53 d-h	18.27 jklm	123.50 cde
7	**11**	69.68 a	4.43 bcde	20.40 bcde	130.80 b
8	**1**	62.86 cdef	4.42 bcde	21.09 b	132.66 a
9	**8708133**	66.60 efghi	2.87 hg	19.22 fghi	121.00 fg
10	**870/755**	53.17 ml	3.12 e-h	17.14 no	120.62 fg
11	**19/24**	59.06 fghij	6.88 a	19.75 efg	124.50 c
12	**7/34**	68.39 ab	5.08 b	21.93 a	134.16 a
13	**12/34**	58.22 ghijk	2.20 d-h	20.64 bcd	124.50 c
14	**24/14**	60.22 efghij	4.03 b-g	19.96 cdef	121.00 fg
15	**13/75**	62.83 cdef	3.38 defgh	17.65 lmn	132.83 a
16	**5/25**	61.80 defghi	3.09 efgh	21.90 a	134.50 a
17	**870787**	62.39 defg	4.42 b-e	20.03 cdef	133.50 a
18	**8707112**	69.40 a	4.33 bcde	18.58 hijk	133.71 a
19	**8701125**	65.06 bcd	2.83 gh	20.63 bcd	130.33 b
20	**5/75**	64.53 bcde	3.16 defgh	22.59 a	133.50 a
21	**8701175**	62.78 cdef	3.23 defgh	18.29 ijklm	120.51 fg
22	**51/75**	64.39 bcde	3.72 cdefgh	18.62 hijk	120.83 fg
23	**13/27**	54.70 klm	3.84 bcdefgh	20.45 bcde	119.66 gh
24	**Chlenger**	68.81 ab	3.45 defgh	20.28 bcde	94.36 l
25	**Banba**	62.93 cdef	5.11 bc	18.83 ghij	119.33 gh
26	**Boren**	61.72 defghi	5.25 bcde	18.43 ijklm	117.00 ij
27	**Anusha**	65.11 bcd	4.41 bcde	20.77 bc	119.66 gh
28	**KHavaran**	62.89 cdef	5.04 bc	19.97 cdef	122.33 def
29	**Agria**	68.66 ab	3.38 defgh	20.39 bcde	121.00 fg
30	**Silvana**	52.72 lm	3.26 defgh	19.10 fghij	121.00 fg
31	**Kaiser**	55.06 jklm	3.46 defgh	21.07 b	121.00 fg
32	**Georgia**	55.58 jkl	3.95 bcdefg	20.31 bcde	94.53 l
33	**Fabula**	57.94 hijk	3.97 b-g	18.57 ijkl	125.00 c
34	**Desiree**	62.00 defgh	4.07 b-g	19.85 cdefg	121.00 fg
35	**Marfona**	58.28 ghijk	4.37 bcde	17.65 lmn	94.50 l
36	**Savalan**	69.65 a	3.54 defgh	20.33 bcde	122.00 ef
37	**Spirit**	58.94 fghij	3.92 bcdefg	19.49 efgh	113.66 k
38	**Jili**	62.81 cdef	3.5 d-h	18.98 ghij	118.16 hi
39	**Sante**	58.72 ghijk	4.22 b-f	20.30 bcde	130.83 b
40	**Atusa**	55.60 jkl	2.87 fgh	20.41 bcd	125.00 c
41	**Panamera**	68.06 ab	3.75 b-h	19.58 efg	130.83 b
42	**Arinda**	59.06 fghij	4.50 bcd	19.83 defg	93.66 l
43	**Sagita**	65.21 bcd	5.21 bcde	20.27 bcde	117.08 ij
44	**Taurus**	52.70 lm	4.39 bcde	20.37 bcde	119.65 gh
45	**Kolomba**	52.69 lm	4.24 b-f	19.79 cdefg	94.08 l

تعداد و وزن متوسط غده درشت

با تجزیه واریانس مرکب داده‌ها در تولید غده خوراکی و یا درشت مشخص شد که اثرات سال و کلون/رقم در سطح ۱ درصد معنی‌دار است. اما اثرات متقابل سال × رقم در میزان تولید غده درشت معنی‌دار نشد (جدول۵). از طرفی کلون‌های مختلف در طی دو سال آزمایش روند یکنواختی در تولید غده درشت داشتند. با مقایسه میانگین‌ها نیز مشخص شد که کلون 24/24 و رقم خاوران از نظر تعداد و متوسط وزن غده درشت بیشترین میزان را داشته است و نسبت به‌سایر کلون‌ها و ارقام شاهد تفاوت معنی‌دار نشان دادند. رقم آگریا با متوسط ۱/۵۳ کیلوگرم غده درشت در مترمربع همراه با دو کلون 8701125 و 5/25 در موقعیت دوم قرار گرفتند و سایر کلون‌ها با وزن متوسطی کمتر از این دو در موقعیت‌های بعدی قرار گرفتند. وضعیت کلون‌ها از نظر وزن و تعداد غده درشت بسیار پراکنده بوده و از این نظر اختلافات بیشتری با هم داشته به‌طوری‌که حداقل می‌توانند در ۵ و یا ٦ گروه متفاوت از هم قرار بگیرند. بنابراین هم‌سویی کمتری در وزن و تعداد غده درشت نسبت‌به اندازه‌های بذری و ریز بین آن‌ها مشاهده شد (جدول٦).

وزن متوسط کل غده تولیدی (عملکرد کل)

در عملکرد کل غده تولیدی، اثر کلون/رقم معنی‌دار شد. در مقابل اثر سال و اثر متقابل سال × کلون معنی‌دار نشد (جدول ۵). بنابراین اگرچه کلون‌های مختلف عملکردی متفاوت از هم داشته‌اند اما در طی دو سال روند یکنواختی داشتند و اثرات تغییر آب و هوا در طی دو سال آزمایش در منطقه همدان در عملکرد کل قابل توجه نبوده است. بیشترین عملکرد کل غده در مورد کلون 24/24 (متوسط ٦١/٤ تن در هکتار) و رقم بانبا (۵۸ تن در هکتار) به‌دست آمد که با سایر کلون‌ها و ارقام دیگر تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد آزمون دانکن نشان دادند. سه کلون 8708133، 8701125 و 11 به‌همراه ارقام خاوران و کلمبا با متوسط عملکرد ٤٢/٤ تن در هکتار در موقعیت دوم و بالاتر از ۳۹ کلون و رقم دیگر قرار گرفتند. عموماً هم‌سویی و هماهنگی در تعداد کل غده با عملکرد کل (وزن متوسط غده تولیدی) در کلون‌ها و ارقام مشاهده نشد و لزوما کلون‌هایی با تعداد غده بیشتر، از عملکرد بالاتری برخوردار نبودند (جدول ٦).

جدول ۵- تجزیه واریانس مرکب صفات اندازه گیری شده در ارقام و کلون های مورد بررسی (صفات رشدی، اندازه غده و عملکرد)

Table 5. Combined variance analysis of the traits measured in the studied cultivars and clones (growth traits, tuber size and yield)

Total performance	Average wieght of big tubers	Average wieght of seed tubers	Average weight of small tubers	Tuber dry mater content (%)	Growing season (day)	Height of plants at flowering	Average number of stems	Degrees of freedom (df)	Sources of variation
0.31ns	0.139**	0.0033ns	0.015ns	0.18ns	5.33ns	40.43ns	9.07**	1	**year**
0.028*	0.012ns	0.142ns	0.011ns	0.48ns	15.54**	10.90ns	1.54ns	4	**year × replication**
3.55**	2.50**	1.54**	0.037*	12.18**	528.52**	137.49**	3.97**	44	**cultivar/clone**
0.005ns	0.0015ns	0.0034ns	0.0032ns	1.14ns	8.04**	1.52ns	0.23ns	44	**cultivar/clone × year**
0.094	0.019	0.061	0.053	0.48	2.39	9.87	0.926	176	**error**

**، * و ns: به‌ترتیب معنی‌دار در سطح ۵ درصد، ۱ درصد و بدون اختلاف معنی‌دار

**, ** and ns: respectively significant at 5%, 1% level and without significant difference

جدول ٦- مقایسه میانگین غده تولیدی در اندازه‌های ریز، بذری و خوراکی و عملکرد کل در ارقام و کلون‌های مورد بررسی سیب‌زمینی

Table 6. Comparison of average tuber production in small, seed and edible sizes and total yield in potato cultivars and clones

No.	Cultivar/clone	Total yield (t/h)	Average weight of small tubers (Kg/m^2)	Average weight of big tubers (Kg/m^2)	Average weight of seed tubers (Kg/m^2)
1	**8707861**	30.92 efghi	0.076 jklm	0.830 jklm	1.48 lmn
2	**87025**	24.51 mn	0.229 bcde	0.226 q	1.88 fghij
3	**KSG613**	36.80 c	0.055 lm	2.203 c	1.71 lmn
4	**1/27**	27.75 ijklm	0.103 hijklm	0.788 jklm	1.87 ghijk
5	**24/24**	61.43 a	0.300 ab	2.558 a	3.28 a
6	**19/75**	33.45 cdef	0.100 hijklm	1.316 gh	1.93 ghijk
7	**11**	41.50 b	0.270 abc	0.911 j	2.20 defg
8	**1**	31.80 efghi	0.311 ab	0.890 j	1.92 ghijk
9	**8708133**	44.31 b	0.245 abcd	0.785 jklm	3.40 a
10	**870/755**	35.91 cd	0.069 jklm	2.275 b	1.23 n
11	**19/24**	26.50 klmn	0.14 defghijklm	0.825 jklm	1.68 jklm
12	**7/34**	29.78 fghijk	0.153 efghijk	0.681 klmno	2.14 defgh
13	**12/34**	26.18 klmn	0.060 klm	1.141 i	1.41 mn
14	**24/14**	25.40 lmn	0.120 ghijklm	0.123 q	2.29 cdef
15	**13/75**	24.46 mn	0.144 d-m	0.832 jkl	2.21 defg
16	**5/25**	35.85 cd	0.23 bcde	0.565 nop	2.42 cd
17	**870787**	31.31 efghi	0.063 klm	0.668 lmno	2.40 cd
18	**8707112**	24.88 mn	0.109 hijklm	0.859 jk	1.58 lmn
19	**8701125**	41.53 b	0.116 ghijklm	1.678 de	2.35 cde
20	**5/75**	33.10 cdefg	0.215 bcdefg	0.508 op	2.58 bc
21	**8701175**	33.91 cde	0.186 cdefgh	0.809 jklm	2.39 cd
22	**51/75**	23.25 n	0.080 jklm	0.639 mno	1.71 klm
23	**13/27**	24.31 mn	0.045 m	1.779 d	1.78 hijk
24	**Taurus**	23.28 n	0.074 jklm	0.639 mno	1.63 klm
25	**KHavaran**	42.31 b	0.170 defghij	2.553 a	1.50 lmn
26	**Agria**	31.38 efghi	0.090 hijklm	1.535 ef	1.51 lmn
27	**Banba**	58.53 a	0.235 bcde	2.561 a	3.23 a
28	**Kaiser**	26.95 jklmn	0.136 ghijklm	1.183 hi	1.37 mn
29	**Atusa**	36.43 c	0.048 lm	2.108 c	1.48 lmn
30	**Marfona**	29.20 ghijkl	0.081 ijklm	1.131 i	1.70 jklm
31	**Savalan**	30.78 efghij	0.223 bcde	0.503 op	2.35 cde
32	**Spirit**	27.45 ijklm	0.181 cdefghi	0.406 p	2.15 defgh
33	**Georgia**	19.58 o	0.143 e-m	0.151 q	1.67 jklm
34	**Jili**	31.70 efgh	0.145 d-m	0.833 jkl	2.19 defg
35	**Sante**	32.01 defg	0.233 bcde	0.566 nop	2.40 cd
36	**Fabula**	34.16 cde	0.278 abc	0.923 j	2.21 defg
37	**Boren**	36.85 c	0.041 m	1.785 d	1.85 hijk
38	**Anusha**	31.51 efghi	0.056 klm	0.893 j	2.20 defg
39	**Desiree**	31.55 efghi	0.335 a	0.885 j	1.93 ghijk
40	**Panamera**	24.93 mn	0.113 hijklm	0.861 jk	1.51 lmn
41	**Arinda**	34.00 cde	0.185 cdefgh	0.811 jklm	2.40 cd
42	**Silvana**	35.95 cd	0.070 jklm	2.281 b	1.24 n
43	**Challenger**	34.52 cde	0.281 abc	0.679 klmno	2.38 cd
44	**Sagita**	27.41 klmn	0.15 d-m	0.819 jklm	1.69 jklm
45	**Kolomba**	40.11 bc	0.229 bcde	0.678 klmno	3.11 ab

بحث

در این مطالعه، مقاومت ۱۹ رقم و ۲۳ کلون سیب‌زمینی به نماتد سیستی طلایی سیب‌زمینی ابتدا در شرایط گلخانه و سپس در شرایط مزرعه مورد آزمون قرار گرفت. برای این منظور، پاتوتیپ Ro1 نماتد سیستی طلایی سیب‌زمینی، به‌عنوان تنها نژاد شایع در ایران (Rahbari *et al*., 2017) استفاده شد. با توجه به نیازهای ویژه گیاه سیب‌زمینی برای تکمیل مراحل رشد، شاخص‌های مورد بررسی در آزمون گلخانه ای به‌تعیین تعداد سیست‌های تشکیل شده نماتد در گیاه محدود شد. بر اساس این آزمون، رقم‌های سانته، آنوشا، بانبا، کلمبا، کایزر و فابولا به‌عنوان مقاوم و رقم‌های خاوران و بورن به‌عنوان متحمل و رقم‌های مارفونا، دزیره، ساوالان، جیلی، ساگیتا، چلنجر، جورجیا، تاروس و پانامرا به‌عنوان رقم‌های حساس شناخته شدند. همچنین، کلون‌های 24/24، 19/75، 8701125 و KSG613 به‌عنوان مقاوم، کلون 8708133 به‌عنوان متحمل و کلون‌های 5/25، 870787، 1/27، 8707861، 13/75 و 1 بر اساس جمعیت نماتد تکثیر یافته روی گیاهان به‌عنوان حساس شناخته شدند. در مطالعات دیگر (Karlov *et al*., 2013; Anaya *et al*., 2005)، مقاومت ارقام و کلون‌های سیب‌زمینی به نماتد سیستی طلایی در شرایط گلخانه ای به‌نحو مشابه مورد آزمون قرار گرفته است.

در کشت مزرعه، رقم‌های سانته، کلمبا، بانبا، فابولا، آنوشا، اسپیریت، کایزر، تاروس، سیلوانا و چلنجر به‌عنوان مقاوم، رقم‌های آتوسا، خاوران، بورن و ساوالان به‌عنوان متحمل و رقم‌های مارفونا، پانامرا، جیلی، دزیره، اگریا وساگیتا به‌عنوان حساس شناخته شدند. همچنین، کلون‌های 24/24، 19/75، 8701125، 13/27، 870/755، KSG613 و 11 به‌عنوان مقاوم، کلون 8708133 به‌عنوان متحمل و کلون‌های 1/27، 19/24، 7/34، 13/75، 12/34، 870787، 5/25، 8707861 و 1 به‌عنوان حساس شناخته شدند. آزمون‌های ارزیابی مزرعه‌ای مقاومت سیب‌زمینی به نماتد سیستی طلایی از جمله روش‌ها رایج برای ارزیابی مقاومت ارقام و کلون‌ها نسبت به نماتد سیستی طلایی است. در تحقیقات مشابه، ارقام Bars، Vladikavkazsky و Shcherbininsky و کلون‌های 04.573/1، 03.560/4، 07.600/1 و 07.600/3 به‌عنوان مقاوم به نماتد طلایی برای مناطق آلانیا و اوسنتیا معرفی شدند (Likhnenko, 2021). در پژوهش حاضر، بین نتایج آزمون‌های گلخانه و مزرعه، هم‌خوانی وجود دارد و ارقام آنوشا، بانبا، کلمبا، کایزر و فابولا و کلون‌های 24/24، 19/75، 8701125 و KSG613 در هر دو آزمون به‌عنوان مقاوم شناخته شده‌اند. به‌نحو مشابه، در مطالعات پیشین (Karlov *et al*., 2013; Likhnenko, 2021) نتایج هم‌خوان بین آزمون‌های گلخانه‌ای و آزمون‌های مزرعه‌ای به‌دست آمده است.

در سال‌های اخیر، با انتقال ژن مقاومت از ارقام وحشی سیب‌زمینی به ارقام تجاری، ارقام مقاوم متعددی نسبت به پاتوتیپ Ro1 نماتد سیستی طلایی تولید شده است. ژن مقاوم *H1* مقاومت به پاتوتیپ‌های یک و چهار (Ro1 و Ro4) *G. rostochiensis* را باعث می‌شود (Bakker *et al*., 2004; Genhardt *et al*., 1993) که از نوع واکنش فوق حساسیت (hypersensitive response) است و دوام طولانی دارد. بر اساس اطلاعات موجود، منشا این ژن از زیر گونه‌ی وحشی *Solanum tuberosum* subsp. *andigena* CPC 1673 است (Karelov *et al*., 2013). ژن مقاومت *H1* در سال ۱۹۵۲ کشف شد، و از آن زمان تاکنون، به چندین رقم تجاری به‌طور موفق منتقل شده است. این ژن، تنها ژن مقاومت است که تعامل ژن درمقابل ژن در مورد آن در پاتوسیستم سیب‌زمینی– نماتد ثابت شده است (Karelov *et al*., 2013).

استفاده از مارکرهای مولکولی در مقایسه باروش‌های کشت در مزرعه و گلخانه، ارزان و سریع هستند و به‌طور عمومی، ارقام و کلون‌هایی که حامل مارکرهای TG689 و 57R هستند مقاومت قابل قبول به نژاد Ro1 نماتد سیستی طلایی از خود نشان می‌دهند و توافق عمومی بر کاراتر بودن 57R است، با این حال، استثناهایی در خصوص ارتباط مارکر اخیر و مقاومت گزارش شده است (Milczarek *et al*., 2014; Park *et al*., 2018). از طرف دیگر، مقاومت می‌تواند منابع دیگری به‌جز ژن *H1* در مقابل نماتد سیستی طلایی داشته باشد و وجود مارکری مانند TG689 در یک رقم لزوما به مفهوم مقاومت و عدم وجود آن

لزوما به مفهوم حساس بودن آن رقم نیست (Karelov *et al*., 2013). این حالات استثنا در مطالعات دیگر برای هردو مارکر TG689 و 57R مشاهده و گزارش شده است (Park *et al*., 2018). در مطالعه کنونی نیز ناهم‌خوانی هایی در نتایج مولکولی و مشاهده فنوتیپ حساسیت مشاهده شد. در حالاتی که مارکر متصل به لوکوس *H1* تکثیر، اما نتیجه فنوتیپی حساسیت مشاهده می‌شود، احتمال تلاقی برگشتی (crossing over) مارکر مورد نظر و لوکوس *H1* وجود دارد (Karelov *et al*., 2013). لذا در توافق با مطالعات قبل (Karelov *et al*., 2013) پیشنهاد می‌شود ارقامی که حامل ماکرهای همراه ژن مقاومت *H1* هستند و همچنین در مزرعه نیز مقاومت قابل قبول نشان می‌دهند، در برنامه‌های اصلاحی سیب‌زمینی مورد استفاده قرار گیرند.

تکثیر و یا عدم تکثیر باندی به اندازه ۱۵۰۰ جفت باز در ارقام مقاوم و حساس، مشابه آنچه در این مطالعه مشاهده شد، قبلاً (Milczarek *et al*., 2014) گزارش شده است. در مطالعه اخیر، از ۲۵۲ کلون مقاوم، تعداد ۲۴۳ کلون در واکنش فنوتیپی مقاوم و دارای مارکر 57R بودند ولی ۹ کلون از ۲۵۲ کلون مقاوم، واکنش منفی به این مارکر داشتند. همچنین از ۹۵ کلون حساس، ۸۲ کلون از نظر فنوتیپی حساس بودند و واکنش منفی به مارکر 57R داشتند، ولی ۱۳ کلون از این ۹۵ کلون حساس، واکنش مثبت به مارکر 57R نشان دادند.

رقم مارفونا، رایج‌ترین رقمی است که طی سال‌های قبل از ۱۳۸۸ در شهرستان بهار استان همدان کشت می‌شده و دارای حساسیت بسیار بالایی به نماتد سیستی طلایی سیب‌زمینی است (Gitty *et al*., 2011) و پیشنهاد می‌شود از ارقام مقاوم دارای سازگاری مناسب و محصول قابل قبول به‌منظور کشت در این منطقه استفاده شود.

بنا بر نتایج کلی، استفاده از ارقام مقاوم از کاربردی‌ترین و آسان‌ترین روش‌های مبارزه با نماتدهاست و از چند نظر مفید می‌باشد. کشت رقم مقاوم: ۱) از تکثیر نماتد جلوگیری می‌کنند ۲) به‌دلیل عدم استفاده وسیع از سموم، سازگار با محیط زیست است و ۳) نیاز به تکنیک، هزینه یا وسایل اضافی (از جمله ماشین آلات ویژه) جهت کاربرد ندارد. استفاده پی در پی از ارقام مقاوم می‌تواند خطر شکستن مقاومت را طی مکانیزم فشار انتخابی بر پاتوتیپ‌های کمتر غالب افزایش دهد. بنابراین، کاربرد ارقام مقاوم با توجه به‌شرایط زارع، منطقه و پاتوتیپ نماتد باید به‌صورت مدیریت شده استفاده شود و نیاز است در تلفیق با تناوب زراعی و کاربرد نماتدکش‌ها باشد (Trudgill *et al*., 2013).

سپاسگزاری

از حمایت مالی انجام شده توسط دانشگاه تربیت مدرس سپاسگزاری می‌شود. همچنین از مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان همدان بخاطر در اختیار قرار دادن بذر کلون‌های سیب‌زمینی سپاسگزاری می‌شود.

References

ANAYA, G. B., N. JIMENEZ-PEREZ, D. RODRIGUEZ, R. Crozzoli and N. GRECO. 2005. Response of genetically improved potato clones to the cyst nematode, *Globodera rostochiensis*, and response of a resistant clone to the nematode in microplots. Nematropica, 35:145-154.

ANONYMOUS. 2022. Agricultural Statistics of Crops, Volume I. Ministry of Jihad Agriculture, Planning and Economic Deputy, Information and Communication Technology Center.

BAKKER, E., U. ACHENBACH, J. BAKKER, J. VLIET, J. VAN PELMAN, B. SEGERES, S. HEIJDEN, P. LINDE, R. GRAVELAND and R. HUTTEN. 2004. A high-resolution map of the H1 locus harbouring resistance to the potato cyst nematode *Globodera rostochiensis*. Theoretical and Applied Genetics, 109: 146-152.

BEHRENS, E. 1975. *Globodera* Skarbilovich, 1959, eine selbständige Gattung in der Unterfamilie Heteroderinae Skarbilovich, 1947 (Nematoda: Heteroderidae). Vorträgstagung zu Aktuellen Problemen der Phytonematologie am 29.5.1975 in Rostock. Manuskriptdruck der Vortrage. Biologische Gesellschaft der DDR, Sektion Phytopathologie und Universität, Rostock, pp. 12-26.

BIRD G.W., G.S. ABAWI and J.A. LAMONDIA. 2018. Plant Parasitic Nematodes of New York, New Jersey and Pennsylvania. In: Subbotin S., Chitambar J. (eds) Plant Parasitic Nematodes in Sustainable Agriculture of North America. Sustainability in Plant and Crop Protection. Dordrecht, The Netherlands, Springer, pp. 27-55.

BROWN, E.B. and G.B. SYKES. 1983. Assessment of the damage caused to potatoes by potato *cyst nematodes*, *Globodera rostochiensis* and *G. pallida*. Annals of Applied Biology, 103: 271-276.

Brown, C.R., T.S. Kim, Z. Ganga, K. Haynes, D. De Jong, M. Jahn, I. Paran, W. De Jong. 2006. Segregation of total carotenoid in high level potato germplasm and its relationship to beta-carotene hydroxylase polymorphism. American Journal of Potato Research, 83: 365-372.

EPPO. 2009. Standard in 2006-09. Testing of potato varieties to assess resistance to *Globodera rostochiensis* and *G. pallida.* PM 3/68 (1)

EPPO, 2017. Commodity-specific phytosanitary measures, PM 8/1 (2) Potato. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin, 47: 487-503.

EVANS, K. and A.R. STONE, 1977. A review of the distribution and biology of the potato cyst-nematodes *Globodera rostochiensis* and *G. pallida*. Pans, 22: 178-189.

EVANS, K. and B.B. BRODIE. 1980.The origin and distribution of the golden nematode and its potential in the USA. American Potato Journal, 57: 79-89.

FINKERS-TOMCZAK, A., E. BAKKER and J. DE BOER,. 2011. Comparative sequence analysis of the potato cyst nematode resistance locus H1 reveals a major lack of co-linearity between three haplotypes in potato (*Solanum tuberosum* ssp.). Theoretical and Applied Genetics, 122: 595-608.

GEBHARDT, C., D. MUGNIERY, E. RITTER, F. SALAMINI and E. BONNEL. 1993. Identification of RFLP markers closely linked to the *H1* gene conferring resistance to *Globodera rostochiensis* in potato. Theoretical and Applied Genetics, 85: 541-544.

GITTY, M. and Z. TANHA MAAFI. 2010. First report of a potato cyst nematode, *Globodera rostochiensis*, on potato, in Iran. Plant Pathology 59, pp. 412.

GITTY, M., Z. TANHA MAAFI, A. ARJMANDIAN and S. PISHEVAR. 2011. Occurrence of potato golden cyst nematode in Iran and its distribution in Hamadan Province. Agricultural Biotechnology, 10: 53-61. (In Persian with English abstract 13-14)

HASSANPANAH, D. and HASSANABADI, H. 2014. Technical guideline of planting, harvesting and storage of potato Savalan and Khavaran cultivars (first and second national cultivars). Ministry of Agriculture Jihad of Iran, Agricultural Research, Education and Extension Organization. Extension Manual. 24 pp. (in Persian).

HAYDOCK, P.P.J. and K. EVANS. 1998. Managment of potato cyst nematodes in UK: an integrated approach. Outlook Agric. 27: 253-260.

HOSEINI, S.A., M. SHAMS BAKHS, KH. ALAMI, Z. HEDAYAT MANESH and A. HEIDARI. 2016. A Quantitative and qualitative comparison of CTAB and SDS method for DNA extraction from the Herb Milk Thistle (*Silybum marianum* L.). Jundishapur Scientific Medical Journal, 15: 293-301.

KARELOV, A.V., L.A. PYLYPENKO, N.O. KOZUB, R.O. BONDUS, O.I. BORYZYKH, I.A. SOZINOV, Y.B. BLUME and A.A. SOZINOV. 2013. Allelic state of the molecular marker for golden nematode (*Globodera rostochiensis*) resistance gene *H1* among Ukrainian and world potato (*Solanum tuberosum* ssp. *tuberosum)* cultivars. Cytology and Genetics, 47: 294-297.

KHAYATNEZHAD, M.R., B.R. SHAHRIARI and R.G. GHOLAMI, R.G. 2011. Correlation and path analysis between yield and yield components in potato

(*Solanum tuberosum* L.). Middle-East Journal of Scientific Research, 7: 17-21.

LIKHNENKO, S.V. 2021. Potato breeding for resistance to *Globodera rostochiensis* in the Republic of North Ossetia-Alania. Earth and Environmental Science, 720: 012061.

MBURU H., L. CORTADA, S. HAUKLAND, W. RONNO, M. NYONGESA, Z. KINYUA, J.L. BARGUL and D. COYNE. 2020. Potato Cyst Nematodes: A new threat to potato production in east Africa. Frontiers in Plant Science, 11: 670.

Milczarek, D., B. Flis and A. Przetakiewicz. 2011. Suitability of molecular markers for selection of potatoes resistant to *Globodera* spp. American Journal of Potato Research, 88: 245-255.

Milczarek, D., A. Przetakiewicz, P. Kamiński and B. Flis 2014. Early selection of potato clones with the *H1* resistance gene - the relation of nematode resistance to quality characteristics. Czech Journal of Genetics and Plant Breeding, 50: 278-284.

PARK J., H. YANG, W.D. JUNG and X. WANG. 2018. An evaluation of two *H1*-linked markers and their suitability for selecting *Globodera rostochiensis* resistant potatoes in the New York Breeding Program. American Journal of Potato Research, 95: 170-175.

PARVIZI, K.H. and S.H. FAZLI. 2019. The Effect of Paclobutrazol (PBZ) Concentration and Date of Application on Yield and its Component in Potato. Iranian Journal of Plant Production Technology, 10: 56-59.

RAHBARI, S.H., Z. TANHA MAAFI, A. ESKANDARI and M. GITTY. 2017. Pathotype and molecular characteristics of some Iranian potato cyst nematode populations, Globodera rostochiensis and impact of the resistant and susceptible potato cultivars on egg hatching. Iranian Journal of Plant Disease, 52: 2; 231-247.

Stone, A.R. 1973. *Heterodera pallida* n. sp. (Nematoda: Heteroderidae), a second species of potato cyst nematode. Nematologica, 18 (1972): 591-606.

TANHA MAAFI, Z., S. SUBOTIN and M. MOENS. 2003. Molecular identification of cyst-forming nematodes (Heteroderidae) from Iran and a phylogeny based on ITS-rDNA sequences. Nematology, 5: 99-111.

TRUDGILL, D.L., M.S. PHILIPS and M.J. ELLIOTT. 2013. Dynamics and management of the white potato cyst nematode *Globodera pallida* in commercial potato crops. Annales of Appled Biology, 164: 18-34.

Whitehead, A.G. 1991. The resistance of six potato cultivars to English populations of potato cyst-nematodes, *Globodera pallida* and *G. rostochi*ensis. Annals of Applied Biology, 118: 357-369.

WHITEHEAD, A. and S.J. TURNER. 1998. Management and regulatory control strategies for potato cyst nematodes (*Globodera rostochiensis* and *Globodera pallida*). In: Potato cyst nematodes, biology, distribution and control. Marks, R.J. and Brodie, B.B. (Eds.). CAB Int., UK, 135-152.

ZABEER, K. 1998. Potato cyct nematode (*Globodera* species) in Asia. pp. 333-347.In: Marks, R.J. and Brodie, B.B. (Ed.). Potato Cyst Nematode, Biology, Distribiution and Control. CAB International. London. 408 pp.