نشریه پژوهش‌های علوم و فناوری چوب و جنگل
جلد بیست و پنجم، شماره اول، ۱۳۹۷
http://jwfst.gau.ac.ir

برهمکنش تنش کمبود آب و عامل بیماری‌زا بر صفات مورفولوژیک برگ و روزنه نتاج درختان سالم و خشکیده برودار

[*]رقیه ذوالفقاری[۱]، زانکو کریمی[۲]، فروغ دالوند[۲]، محمد عبداللهی[۳] و پیام فیاض[۱]

[۱]دانشیار گروه جنگلداری، دانشکده کشاورزی و پژوهشکده منابع طبیعی و زیست محیطی، دانشگاه یاسوج،
[۲]دانشجوی کارشناسی ارشد جنگلداری، دانشگاه یاسوج،
[۳]استاد گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۱/۲۹؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۲/۲۱

چکیده

سابقه و هدف: یکی از راهکارهای درختان برای مقابله با خشکی و بیماری‌ها، تغییرات فنوتیپی مناسب در برگ و روزنه می‌باشد. همچنین یک درخت مادری می‌تواند فنوتیپ نتاجش را تا حدودی کنترل نماید و در نتیجه مقاومت‌شان را نسبت به تنش‌های محیطی تحت تأثیر قرار دهد. بنابراین در این تحقیق اثرات کمبود آب و عامل بیماری‌زای باکتریایی که سبب خشکیدگی درختان بلوط ایرانی در جنگل‌های استان کهگیلویه و بویراحمد گردیده است، بر صفات برگ و روزنه نتاج حاصل از درختان سالم و خشکیده مورد مقایسه قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: به‌منظور تاثیر درختان مادری، بذر ٤ درخت سالم و ٤ درخت خشکیده از منطقه حفاظت‌شده خاییز جمع‌آوری گردید و در داخل گلدان کاشته شدند. پس از رشد نهال‌ها، ابتدا باکتری *Brenneria quercina* به نیمی از نهال‌ها یا نتاج حاصل از درختان سالم وخشکیده تلقیح شد. پس از گذشت ٤٠ روز نیمی از نهال‌های تلقیح شده و نیمی از نهال‌های تلقیح نشده تحت تنش کمبود آب قرار گرفتند، به‌طوری‌که به‌مدت سه هفته آبیاری نشدند اما بقیه نهال‌ها به‌طور کامل آبیاری نشدند. سپس برگ نهال‌ها برداشت گردید و صفات مورفولوژیک برگ و روزنه آن‌ها به وسیله نرم‌افزار Image j 1.43 اندازه‌گیری شدند. سپس داده‌ها به‌صورت آزمایش فاکتوریل ۲×۲×۲ (۲ سطح باکتری، ۲ سطح آبیاری و ۲ سطح درخت مادری یا ژنوتیپ) در قالب طرح کاملا تصادفی با بررسی اثرات ساده و متقابل مورد تجزیه‌وتحلیل قرار گرفتند و مقایسات میانگین انجام گرفت.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که اثر باکتری بر هیچ یک از پارامترهای روزنه معنی‌دار نمی‌باشد اما عرض روزنه و عرض دهانه روزنه در نهال‌های تحت تنش کمبود آب کوچک‌تر از نهال‌های به‌طور کامل آبیاری شده بود. همچنین نتاج حاصل از درختان خشکیده هم عرض روزنه کوچکتری داشتند. نتایج برهمکنش خشکی در درخت مادری نیز نشان داد که تنش کمبود آب باعث کاهش معنی‌دار محیط روزنه و پهنای برگ در نتاج سالم می‌گردد اما در نتاج درختان خشکیده، تعداد دندانه و رگبرگ پس از تنش کمبود کاهش معنی‌دار یافت که در نتاج درختان سالم تغییر معنی‌دار نداشت. همچنین تأثیر باکتری بر نتاج حاصل از درختان سالم و خشکیده یکسان نبود، به‌طوری‌که محیط، مساحت،

[*]مسئول مکاتبه: zolfaghari@yu.ac.ir

طول روزنه و محیط و زاویه قاعده برگ در نهال‌های تلقیح نشده حاصل از درختان سالم بزرگ‌تر بود اما پس از تلقیح باکتری مساحت روزنه در نتاج درختان سالم کاهش و طول روزنه در نتاج درختان خشکیده افزایش معنی‌دار یافت. همچنین تلقیح باکتری باعث کاهش معنی‌دار مساحت برگ در نتاج درختان خشکیده شد اما بر نتاج درختان سالم تأثیری نداشت. برهمکنش سه‌گانه باکتری، آبیاری و درخت مادری بر عرض دهانه روزنه نیز معنی‌دار بود و خشکی باعث کوچک‌شدن عرض دهانه روزنه در نتاج درختان سالم شد اما باکتری تأثیر منفی نداشت. در مورد نتاج درختان خشکیده هر چند تفاوت معنی‌دار نبود اما اندازه آن کوچک‌تر از نتاج درختان سالم بود.

نتیجه‌گیری: نتایج این تحقیق نشان داد که در نتاج درختان سالم برگ و روزنه بزرگ‌تر می‌باشد که توانایی آن‌ها در تولید و فتوسنتز بیشتر نشان می‌دهد. همچنین تأثیر منفی تنش کمبود آب بر روزنه و برگ بیشتر از اثر باکتری بود که می‌تواند تأثیر بیشتر تنش خشکی را نسبت به عامل بیماری‌زا در خشکیدگی بلوط را نشان دهد. همچنین نتاج حاصل از ژنوتیپ‌های درختان سالم توانستند با کوچک نمودن اندازه برگ و روزنه از تبخیر و تعرق در زمان تنش کمبود آب بکاهند و این کوچک‌شدن ابعاد روزنه در زمان تلقیح باکتری هم مشاهده شد. اما نتاج درختان خشکیده برعکس طول روزنه افزایش یافت و باعث حساسیت بیشتر آنها نسبت به تنش کمبود آب و عامل بیماری‌زا گردید. همچنین این مطالعه نشان داد که مطالعه صفات روزنه و برگ می‌تواند در شناسایی ژنوتیپ‌های بردبار به خشکی و باکتری کمک نماید.

واژه‌های کلیدی: باکتری *Brenneria quercina*، خشکیدگی، زاگرس، نهال

مقدمه

تغییرات اساسی مشاهده‌شده در ساختارهای عمودی و افقی جنگل‌های گستره زاگرس از قبیل کاهش، اختلال و تهدید تنوع زیستی اعم از گیاهی و جانوری این زیست‌بوم ارزشمند کشور، گواه این حقیقت تلخ است که افزایش جمعیت و اقتصاد معیشتی وابسته جوامع محلی به جنگل‌ها و ظرفیت تولید محدود این منابع، در کنار عدم توسعه‌یافتگی متناسب با توانمندی‌های اکولوژیکی منطقه زاگرس، سرنوشتی ناخوشایند را برای این اندوخته ارزشمند ایرانیان رقم‌زده است (۱۳). گونه بلوط ایرانی دارای برگ‌های یکنواخت و تخم‌مرغی شکل با حاشیه دندانه‌دار می‌باشد، کرک‌های ستاره‌ای و انبوه روی برگ و کرک‌های نرم و خزی زردرنگ پشت آن را فرا گرفته است (۱۳)، که در پاسخ به خشک‌سالی‌های اخیر خود را به‌عنوان یکی از حساس‌ترین گونه‌ی درختی نشان داده است (۱۱) و خشکیدگی درختان بلوط ایرانی در سطح وسیعی از جنگل‌های زاگرس رخ داده است که یکی از عوامل بیماری‌زای مؤثر بر خشکیدگی درختان بلوط ایرانی در جنگل‌های استان کهگیلویه و بویراحمد، باکتری *Brenneria quercina* گزارش شد (۷).

درختان بلوط در مقابله با تنش‌های محیطی غیرزنده (خشکی، سرما و ...) و زنده (عامل بیماری‌زا، آفات و ...) پاسخ‌های متفاوتی ازنظر ریخت‌شناسی و فیزیولوژیکی از خود نشان می‌دهند (۱٤). اثرات خشکی بر روی درخت به‌صورت پژمردگی و زرد شدن برگ، برگ‌ریزی زودتر از موعد، کاهش سطح برگ‌ها و کاهش تعداد برگ می‌باشد (۱۷). همچنین دیگر تغییرات فنوتیپی مناسب درختان برای مقابله با خشکی و حمله آفات و بیماری‌ها کاهش اندازه برگ، افزایش ضخامت برگ، افزایش ضخامت کوتیکول،

افزایش تراکم روزنه‌ای، کاهش اندازه روزنه‌ها و کاهش سطح مخصوص برگ است. از طرف دیگر برگ گونه‌ها یا زیرگونه‌های مختلف بلوط به‌دلیل ویژگی‌های ریخت‌شناسی و آناتومی مختلف، توانایی تحمل متفاوتی در برابر تنش خشکی دارند (۱۰).

روزنه نیز اندام اصلی در گیاهان آوندی برای تبادل گاز بین سلول‌های مزوفیل برگ و محیط است. در واقع، گیاهان سبز برای تولید انرژی نیاز به ورود دی‌اکسید کربن از طریق روزنه دارند که این عمل خود سبب از دست رفتن آب از این طریق می‌شود. بنابراین، گیاهان برای برقراری توازن بین ورود دی‌اکسید کربن و خروج آب، در شرایط رویشگاهی متفاوت، تعداد (تراکم) روزنه در واحد سطح خود را تنظیم می‌کنند (۱۵). رابطه آب و بیوماس گیاه توسط باز و بسته‌شدن روزنه تحت تأثیر قرار می‌گیرد (۲). تراکم روزنه می‌تواند در برگ‌ها، گیاهان و افراد یک‌گونه متفاوت باشد و همچنین می‌تواند با توجه به عوامل محیطی مانند نور، رطوبت هوا، در دسترس بودن آب و غلظت دی‌اکسید کربن در اتمسفر تفاوت داشته باشد (۲۷).

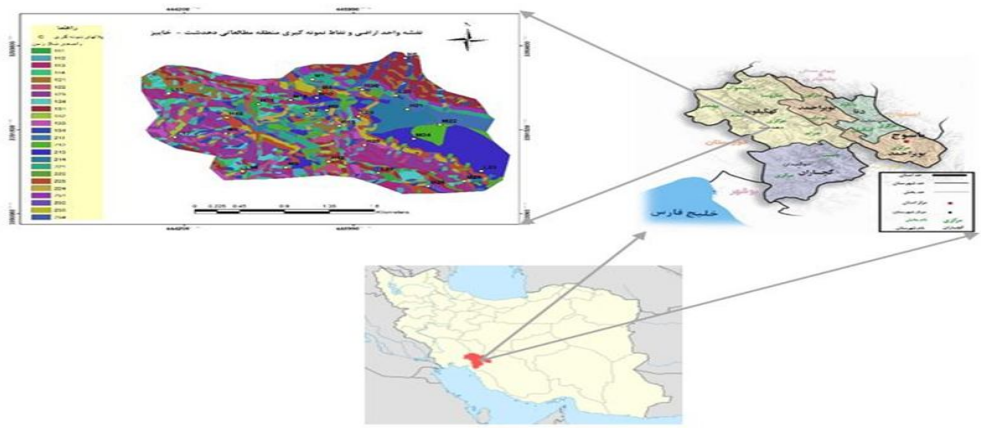
بوسابالیدیس و کوفیدیس (۲۰۰۲) در بررسی اثرات تنش خشکی بر آناتومی برگ دو گونه زیتون بیان نمودند که تنش خشکی در هر دو رقم منجر به کاهش در اندازه سلول‌های اپیدرمی و مزوفیل همراه با افزایش مشابه در تراکم سلول می‌شود. همچنین بیان نمودند که تعداد روزنه‌ها بیشتر و اندازه آن‌ها کوچک‌تر می‌شود (۵). گیانولی و گونزالز (۲۰۰۵) پاسخ فنوتیپی نسبت به کاهش رطوبت خاک در سه جمعیت طبیعی از گیاهان *Convolvulus chilensis* کاشته‌شده در گلخانه را ارزیابی کردند. پاسخ جمعیت‌های مختلف از لحاظ سطح برگ، شکل برگ، نسبت سطح برگ نسبت به کاهش رطوبت خاک متفاوت بود (۹). حسینی (۱۳۹٤) پاسخ‌های مورفولوژیک و فیزیولوژیک برگ درختان در توده‌های دچار زوال بلوط ایرانی را اندازه‌گیری کرد. نتایج نشان داد که وزن خشک برگ درختان سرخشکیده بیشتر از درختان سالم بود و نتیجه‌گیری نمود که خشک‌سالی تأثیر شدیدتری بر وضعیت مورفولوژیک و فیزیولوژیک برگ درختان سرخشکیده بلوط ایرانی داشته و پاسخ‌های برخی صفات در درختان سر خشکیده در جهت تحمل یا مقاومت به شرایط خشکی و انجام فعالیت‌های حیاتی در حد ممکن است (۱۲). در پژوهشی سوسیلوتو و برنینگر (۲۰۰۷) به بررسی اثرات متقابل بین پاسخ‌های ریخت‌شناسی و فیزیولوژیکی درختان اکالیپتوس (*Eucalyptus micritheca*) به خشکی پرداختند. نتایج نشان داد که با افزایش میزان تنش خشکی، میزان سطح ویژه برگ (SLA) کاهش می‌یابد (۲٤).

هدف از این مطالعه بررسی پارامترهای مورفولوژیکی درختان سالم و خشکیده بلوط ایرانی است که با توجه به گستردگی مرگ‌ومیرهای درختی در جنگل‌های زاگرس و ارزش اکولوژیکی گونه بلوط در این جنگل‌ها ضرورت انجام این پژوهش مشخص می‌شود. همچنین از آنجا که علت خشکیدگی به‌طور کامل مشخص نیست و اینکه عوامل زنده بیماری‌زا همراه با خشکسالی‌های اخیر سبب گسترش این فاجعه زیست محیطی گردیده است و از طرف دیگر عکس‌العمل درختان یک منطقه یکسان نمی‌باشد و ژنوتیپ تأثیر به‌سزایی در مقاومت به این بیماری دارد. در واقع درخت مادری می‌تواند فنوتیپ نتاج حاصل از خود را کنترل نماید و باعث تغییرات فنوتیپی در طی زمان شود (۳). بنابراین پژوهش حاضر، تأثیر این عوامل بر خصوصیات مورفولوژیک برگ درختان مادری و نهال‌های سالم و خشکیده بلوط ایرانی تحت تیمارهای درخت مادری، خشکی و باکتری مورد بررسی قرار داد تا بتوان به درک بهتری از تأثیر

برهمکنش تنش خشکی، باکتری و درخت مادری پی ببریم و از نتایج آن برای پیش‌بینی پاسخ نهال‌های بلوط ایرانی به شرایط تنش‌زا و نیز افزایش مقاومت به عوامل بیماری‌زا از جمله مقاومت به باکتری *Brenneria quercina* در برنامه‌های احیا استفاده نمود.

مواد و روش‌ها

منطقه موردمطالعه: منطقه حفاظت‌شده خاییز ناحیه تپه‌ماهور، کوهستانی و صخره‌ای با مساحت ۱۶۵۴۰ هکتار در عرض جغرافیایی "۱۹'۳۶°۵۰ تا "۳۰'۳۸°۵۰ (شرقی) و طول جغرافیایی "۱۹'۲۴°۳۰ تا "۵۴'۴۳°۳۰ (شمالی) در حوزه استحفاظی شهرستان‌های کهگیلویه و شهرستان بهبهان قرار دارد. وسعت رویشگاه مورد مطالعه حدود ۶۴۰۰ هکتار است. این منطقه در ناحیه گرمسیری استان قرارگرفته است (شکل ۱).



شکل ۱- موقعیت جغرافیایی منطقه موردمطالعه در ایران، استان کهگیلویه و بویراحمد و شهرستان دهدشت.

Figure 1. Location of study area in Iran, Kohgilouyeh and BoyerAhmad province and Dehdasht city.

آزمایشات گلخانه‌ای و اعمال تیمارهای مختلف: برای مطالعه صفات ریخت‌شناسی برگ نهال‌های حاصل از درختان مادری، ۸ پایه درخت در دو کلاسه سالم (خشکیدگی ۱۵-۰ درصد) و خشکیده (خشکیدگی بیشتر از ۱۵ درصد) انتخاب شدند. انتخاب درختان بر اساس مشخصات ظاهری تاج و درصد خشک‌شدن تاج درخت انجام پذیرفت. سپس بذر آن درختان جمع‌آوری شد و در محیط گلخانه کاشته شدند. سپس به منظور تلقیح عامل بیماری‌زای بلوط ایرانی که در آزمایشات قبلی باکتری *Brenneria quercina* تشخیص داده شده بود (۷)، عامل بیماری‌زا از نمونه‌های شاخه درختان مادری آلوده که به آزمایشگاه منتقل شده بودند، جداسازی گردید و سوسپانسیون آن تهیه و به نهال‌ها تلقیح گردید، بدین صورت که خراش‌های کوچکی با استفاده از سوزن روی برگ نهال‌ها ایجاد شد و سپس سوسپانسیون روی آن‌ها اسپری شد (۱۶). برای نهال‌های شاهد نیز (عدم تلقیح عامل بیماری‌زا) نیز از آب مقطر سترون استفاده گردید. نهال‌های تلقیح‌یافته یا مایه‌زنی‌شده حدود چهل روز به‌صورت روزانه مورد بازبینی قرار گرفتند. پس از آن تنش کمبود آب به نهال‌ها اعمال شد. بدین منظور کلیه نهال‌های تلقیح شده و شاهد به دو دسته تقسیم گردیدند. یک دسته از آنها آبیاری کامل شدند و دسته دیگر به‌مدت سه هفته

آبیاری نشدند (تنش کمبود آب). سپس برگ نهال‌ها برداشت گردیدند و خصوصیات مورفولوژیک برگ و روزنه در نهال‌های حاصل از درختان مادری مختلف که تحت تیمارهای مختلف باکتری و خشکی بودند، اندازه‌گیری شدند.

به‌منظور اندازه‌گیری صفات کمی و کیفی برگ نهال‌ها، توسعه‌یافته‌ترین برگ انتخاب و اسکن شدند و با استفاده از نرم‌افزار Image j 1.43 ویژگی‌های مختلف برگ اندازه‌گیری شدند. در مجموع ۱۱ صفت مورفولوژیک برگ با دقت سانتی‌متر اندازه‌گیری شد. همچنین شکل پهنک‌برگ از تقسیم طول پهنک به حداکثر عرض پهنک محاسبه گردید.

سپس برای اندازه‌گیری صفات مختلف روزنه، برگ‌ها به‌مدت ۵ دقیقه در آب جوش قرار گرفتند و با استفاده از تیغ اسکالپل از سطح پشت و روی برگ‌ها، برش‌های نازکی تهیه گردید. پس از آن روی لام و لامل قرار گرفتند و با میکروسکوپ نوری (Olympus) مدل (CX۳۱) با عدسی شی (٤X و ۱۰X و ٤۰X) و چشمی (۱۰X) عکس‌برداری شدند تا به‌وسیله نرم‌افزار image j صفات زیر اندازه‌گیری شوند. این صفات شامل: ۱- طول کل روزنه، ۲- عرض کل روزنه، ۳- مساحت کل روزنه، ٤- محیط کل روزنه و ۵- عرض دهانه روزنه بودند.

تجزیه و تحلیل آماری

برای انجام تجزیه‌وتحلیل آماری از نرم‌افزار آماری SPSS ver. 23 استفاده شد. توزیع نرمال داده‌ها به‌وسیله آزمون کولموگروف- اسمیرنوف بررسی گردید. سپس برای تجزیه و تحلیل داده‌های نهال‌های حاصل از درختان مادری حاصل، به‌صورت آزمایش فاکتوریل ۲×۲×۲ (۲ سطح باکتری، ۲ سطح آبیاری و ۲ سطح درخت مادری یا ژنوتیپ) در قالب طرح کاملا تصادفی با بررسی اثرات ساده و متقابل مورد تجزیه‌وتحلیل قرار گرفتند. سپس مقایسات چندگانه میانگین‌ها با آزمون دانکن و مقایسات دوگانه با آزمون تی‌استیودنت با حدود اطمینان ۹۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج جدول تجزیه واریانس پارامترهای روزنه نشان داد که برای اثر ساده تنش خشکی صفات عرض روزنه و عرض دهانه روزنه معنی‌دار شدند (جدول ۱). جدول مقایسه میانگین نیز نشان داد که صفات عرض روزنه و عرض دهانه روزنه در حالت تنش کمبود آب نسبت به حالت کنترل کاهش معنی‌داری داشتند (جدول ۲). تنش خشکی باعث بسته شدن روزنه‌ها می‌شود (۳۰). از دلایل بسته شدن روزنه‌ها تجمع اسیدآبسزیک در سلول‌های محافظ روزنه در اثر انتقال پیام تنش از ریشه به برگ است (۱۹). نتایج جدول تجزیه واریانس پارامترهای مورفولوژیک برگ نیز نشان داد که برای اثر ساده تنش خشکی صفات زاویه قاعده، تعداد دندانه و رگبرگ سمت چپ و راست و حداکثر پهنای برگ معنی‌دار شدند (جدول ٤). جدول مقایسه میانگین نیز نشان داد که صفات زاویه قاعده، تعداد دندانه و رگبرگ سمت چپ و راست و حداکثر پهنای برگ در حالت تنش کمبود آب نسبت به حالت کنترل کاهش معنی‌داری داشتند (جدول ۵). با افزایش خشکیدگی شکل قاعده و پهنای برگ کوچک‌تر می‌شود و این احتمال وجود دارد که با افزایش دما و افزایش فعالیت‌های فتوسنتز و دریافت نور بیشتر در مقابل کوچک‌تر بودن برگ برای کمتر شدن تبخیر و تعرق در محیط خشک این مهم را توجیه می‌کند، راپر و همکاران (۲۰۰۵) بیان نمودند برگ‌ها در شرایط خشکی کوچک‌تر می‌شوند (۲۰). مطالعه بر روی گونه *Quercus Acutissima* نیز نشان داد که برگ‌ها در شرایط خشکی باریک‌تر می‌گردند (۲۸). همچنین مطالعات نشان داده است که

هر چه تعداد دندانه بیشتر باشد، میزان تبخیر و تعرق از برگ بیشتر خواهد بود و در واقع کاهش تعداد دندانه می‌تواند راهکاری برای مقابله با تنش خشکی باشد، اما کمتر بودن تعداد دندانه می‌تواند به‌دلیل کوچک شدن اندازه برگ باشد که رابطه مستقیم با تعداد رگبرگ دارد (۲۱).

همچنین نتایج جدول تجزیه واریانس پارامترهای روزنه نشان داد که تأثیر باکتری بر هیچ‌کدام از صفات روزنه معنی‌دار نمی‌باشد (جدول ۱). اما تأثیر باکتری بر صفات برگ همانند اثر تنش کمبود آب بود و باعث کمتر شدن تعداد دندانه و رگبرگ در نهال‌های تلقیح یافته با باکتری نسبت به کنترل شد (جدول ٦) که نشان‌دهنده اثرات مشابه باکتری و خشکی است و دلیل آن می‌تواند انسداد آوندها توسط باکتری و ایجاد شرایط خشکی در گیاه باشد. مطالعات بر روی گونه کاج قرمز نیز نشان داد که باکتری می‌تواند باعث کاهش پتانسیل آب و هدایت روزنه‌ای و در نتیجه ایجاد شرایط خشکی گردد (٤).

اثر درخت نیز تنها بر صفت عرض روزنه معنی‌دار بود (جدول ۱). جدول مقایسه میانگین نیز نشان داد که صفت عرض روزنه در نهال‌های حاصل از درختان خشکیده به‌طور معنی‌داری کمتر از نهال‌های حاصل از درختان سالم است (جدول ۳).

همچنین اثر ساده درخت نیز بر روی صفات مساحت و زاویه قاعده معنی‌دار بود و مساحت و زاویه قاعده برگ در نهال‌های حاصل از درختان خشکیده به‌طور معنی‌داری کمتر از نهال‌های حاصل از درختان سالم بود (جدول ۷) که این می‌تواند به‌دلیل ژنوتیپ ضعیف تر درختان مادری خشکیده نسبت به سالم باشد که باعث می‌گردد نهال‌های کوچک‌تر با اندازه برگ کوچک‌تر تولید نمایند.

جدول ۱- میانگین مربعات حاصل از تجزیه واریانس پارامترهای روزنه.

Table 1. Mean of squares of variance analysis of stomatal parameters.

منابع تغییر Sources of variation	مساحت روزنه Stomata area (µm2)	محیط روزنه Stomata perimeter (µm)	طول روزنه Stomata length (µm)	عرض روزنه Stomata width (µm)	عرض دهانه روزنه Stomata pore width (µm)
آبیاری (Irrigation)	^{ns} 7230	^{ns} 52	^{ns} 0.954	* 9	* 1.54
باکتری (Bacterium)	^{ns} 381	^{ns} 0.68	^{ns} 1	^{ns} 2.40	^{ns} 1
درخت مادری (Mother tree)	^{ns} 6310	93 ^{ns}	^{ns} 8	** 17	^{ns} 0.296
آبیاری × باکتری Irrigation × Bacterium	^{ns} 16	^{ns} 1.23	^{ns} 0.239	^{ns} 0.707	^{ns} 0.573
آبیاری × درخت Irrigation × Mother tree	^{ns} 7064	* 147	^{ns} 20	^{ns} 3	^{ns} 0.770
باکتری × درخت مادری Bacterium × Mother tree	* 15910	** 289	* 27	^{ns} 2	^{ns} 0.026
آبیاری × باکتری × درخت مادری Irri. × Bact. × Mother	^{ns} 945	^{ns} 0.390	^{ns} 0.987	^{ns} 18.13	^{ns} 0.316
خطای باقیمانده Residual error	2088	3117	481	183	27
درجه آزادی Degree of freedom	104	104	104	104	104

** در سطح ۰/۰۱ معنی‌دار، * در سطح ۰/۰۵ معنی‌دار، ^{ns} معنی‌دار نمی‌باشد.

*, ** and ^{ns}: significant at 0.01 and 0.05 level, and not significant, respectively.

جدول ۲- مقایسه میانگین پارامترهای روزنه در تیمارهای آبیاری مختلف.

Table 2. Mean comparison of stomatal parameters under different irrigation treatment.

عرض‌دهانه روزنه Pore width (µm)	عرض روزنه Stomata width (µm)	طول روزنه Stomata length (µm)	محیط روزنه Stomata perimeter (µm)	مساحت روزنه Stomata area (μm^2)	Irrigation
3.94±0.08 a	14.09±0.19 a	19.90±0.29 a	58.05±0.51 a	248±6.73 a	کنترل Control
3.73±0.05 b	13.50±0.19 b	19.83±0.29 a	57.04±0.72 a	235±5.91 a	کمبود آب Water deficit

حروف یکسان در هر ستون نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار بین گونه‌های مختلف می‌باشد. اعداد پس از ± اشتباه معیار می‌باشند.

Same letters in each column represent non-significant difference between different species. Numbers after ± are standard error.

جدول ۳- مقایسه میانگین پارامترهای روزنه برای درختان مادری مختلف.

Table 3. Mean comparison of stomatal parameters under different mother trees.

عرض‌دهانه روزنه Pore width (µm)	عرض روزنه Stomata width (µm)	طول روزنه Stomata length (µm)	محیط روزنه Stomata perimeter (µm)	مساحت روزنه Stomata area (μm^2)	درخت مادری Mother tree
3.88±0.08 a	14.18±0.19 a	20.14±0.29 a	58.45±0.76 a	249±6.68 a	سالم Healthy
3.79±0.06 a	13.42±0.18 b	19.64±0.29 a	56.80±0.75 a	236±6.01 a	خشکیده Declined

حروف یکسان در هر ستون نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار بین گونه‌های مختلف می‌باشد. اعداد پس از ± اشتباه معیار می‌باشند.

Same letters in each column represent non-significant difference between different species. Numbers after ± are standard error.

جدول ٤- میانگین مربعات حاصل از تجزیه واریانس پارامترهای برگ.

Table 4. Mean of squares of variance analysis of leaf parameters.

شکل پهنک	ارتفاع از نوک تا پهن‌ترین قسمت برگ	حداکثر پهنای برگ	تعداد رگبرگ سمت چپ	تعداد رگبرگ سمت راست	تعداد دندانه سمت چپ	تعداد دندانه سمت راست	طول پهنک	زاویه قاعده	محیط	مساحت	منابع تغییر
0.90^{ns}	0.01^{ns}	1.22^{*}	11.96^{*}	12.96^{*}	12.22^{*}	12.96^{*}	0.17^{ns}	11.65^{*}	1.42^{ns}	40.49^{ns}	خشکی
0.001^{ns}	0.23^{ns}	0.60^{ns}	5.10^{*}	5.22^{*}	5.27^{*}	5.22^{*}	0.69^{ns}	0.003^{ns}	0.23^{ns}	0.04^{ns}	باکتری
0.005^{ns}	0.005^{ns}	0.009^{ns}	0.008^{ns}	0.03^{ns}	0.01^{ns}	0.03^{ns}	0.54^{ns}	23.32^{*}	1.58^{ns}	109.28^{*}	درخت
0.90^{ns}	0.50^{ns}	1.91^{ns}	5.27^{ns}	3.51^{ns}	5.45^{ns}	3.51^{ns}	1.07^{ns}	1.29^{ns}	0.19^{ns}	0.36^{ns}	خشکی*باکتری
4.16^{ns}	1.39^{ns}	1.46^{*}	4.69^{*}	2.55^{ns}	4.85^{*}	2.55^{ns}	1.90^{ns}	1.02^{ns}	1.29^{ns}	55.03^{ns}	خشکی*درخت
0.002^{ns}	0.001^{ns}	0.001^{ns}	0.75^{ns}	0.18^{ns}	0.68^{ns}	0.18^{ns}	0.25^{ns}	16.83^{*}	3.23^{*}	184.52^{*}	باکتری*درخت
0.04^{ns}	0.008^{ns}	0.03^{ns}	1.10^{ns}	0.00^{ns}	1.05^{ns}	0.001^{ns}	0.004^{ns}	6.43^{ns}	0.58^{ns}	38.74^{ns}	خشکی *باکتری*درخت
0.58	0.49	0.27	0.88	1.21	0.89	1.21	1.30	2.01	0.49	20.78	خطا

جدول ۵- مقایسه میانگین پارامترهای برگ در تیمارهای مختلف آبیاری.

Table 5. Mean comparison of leaf parameters under different irrigation treatment.

کمبود آب Water deficit	کنترل Control	آبیاری Irrigation
20.31±0.57 a	21.55±0.68 a	مساحت Area (cm^2)
10.69±0.06 a	10.91±0.11 a	محیط Perimeter (cm)
77.07±0.20 b	78.34±0.19 a	زاویه قاعده Blade base angle
6.22±0.14 a	6.13±0.15 a	طول پهنک Leaf length (cm)
3.91±0.11 b	4.56±0.17 a	تعداد دندانه سمت راست Number of leaf right dentation
3.94±0.09 b	4.56±0.16 a	تعداد دندانه سمت چپ Number of leaf left dentation
3.91±0.11 b	4.56±0.17 a	تعداد رگبرگ سمت راست Number of leaf right vein
3.94±0.09 b	4.56±0.16 a	تعداد رگبرگ سمت چپ Number of leaf left vein
2.43±0.06 b	2.61±0.08 a	حداکثر پهنا برگ Maximum leaf width (cm)
2.41±0.07 a	2.42±0.1 a	ارتفاع از نوک تا پهن-ترین قسمت برگ Height from tip to widest part of leaf
2.76±0.09 a	2.61±0.11 a	شکل پهنک Leaf blade shape

حروف یکسان در هر ستون نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار بین گونه‌های مختلف می‌باشد. اعداد پس از ± اشتباه معیار می‌باشند.

جدول ٦- مقایسه میانگین پارامترهای برگ برای گروه‌های مایه‌زنی شده مختلف.

Table 6. Mean comparison of leaf parameters for different inoculated groups.

مایه‌زنی شده Inoculated	مایه‌زنی نشده Non- inoculated	باکتری Bacterium
20.90±0.62 a	20.86±0.63 a	مساحت Area (cm^2)
10.76±0.07 a	10.83±0.11 a	محیط Perimeter (cm)
78.03±0.14 a	78.96±0.25 a	زاویه قاعده Blade base angle
6.11±0.14 a	6.25±0.15 a	طول پهنک Leaf length (cm)
4.04±0.12 b	4.41±0.18 a	تعداد دندانه سمت راست Number of leaf right dentation
4.06±0.1 b	4.42±0.16 a	تعداد دندانه سمت چپ Number of leaf left dentation
4.41±0.1 b	4.41±0.18 a	تعداد رگبرگ سمت راست Number of leaf right vein
4.06±0.1 b	4.41±0.16 a	تعداد رگبرگ سمت چپ Number of leaf left vein
2.45±0.05 a	2.58±0.08 a	حداکثر پهنا برگ Maximum leaf width (cm)
2.38±0.07 a	2.45±0.1 a	ارتفاع از نوک تا پهن‌ترین قسمت برگ Height from tip to widest part of leaf
2.69±0.08 a	2.70±0.11 a	شکل پهنک Leaf blade shape

حروف یکسان در هر ستون نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار بین گونه‌های مختلف می‌باشد. اعداد پس از ± اشتباه معیار می‌باشند.

Same letters in each column represent non-significant difference between different species. Numbers after ± are standard error.

جدول ۷- مقایسه میانگین پارامترهای برگ برای فاکتور درخت.

Table 7. Mean comparison of leaf parameters under different mother trees.

خشکیده	سالم	درخت مادری
Declined	Healthy	Mother tree
20.10±0.62 b	21.73±0.60 a	مساحت
		Area (cm^2)
10.69±0.09 a	10.89±0.09 a	محیط
		Perimeter (cm)
		زاویه قاعده
77.60±0.20 a	78.42±0.18 a	Blade base angle
6.10±0.14 a	6.27±0.15 a	طول پهنک
		Leaf length (cm)
4.22±0.15 a	4.21±0.14 a	تعداد دندانه سمت راست
		Number of leaf right dentation
4.22±0.13 a	4.24±0.13 a	تعداد دندانه سمت چپ
		Number of leaf left dentation
4.22±0.15 a	4.21±0.14 a	تعداد رگبرگ سمت راست
		Number of leaf right vein
4.22±0.13 a	4.24±0.13 a	تعداد رگبرگ سمت چپ
		Number of leaf left vein
2.51±0.07 a	2.52±0.06 a	حداکثر پهنا برگ
		Maximum leaf width (cm)
2.40±0.09 a	2.43±0.08 a	ارتفاع از نوک تا پهن‌ترین قسمت برگ
		Height from tip to widest part of leaf
2.67±0.09 a	2.67±0.10 a	شکل پهنک
		Leaf blade shape

حروف یکسان در هر ستون نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار بین گونه‌های مختلف می‌باشد. اعداد پس از ± اشتباه معیار می‌باشند.

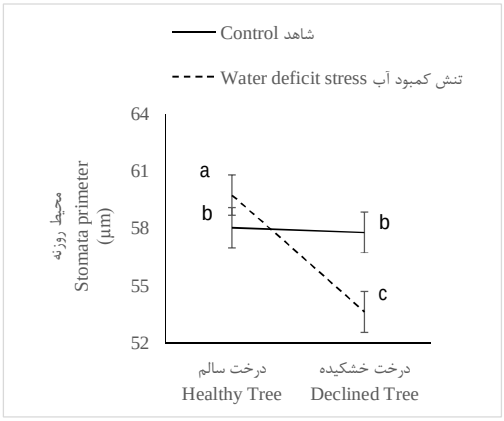
Same letters in each column represent non-significant difference between different species. Numbers after ± are standard error.

اما بررسی اثرات متقابل فاکتورهای مورد اندازه‌گیری حاکی از تفاوت معنی‌دار اثرات متقابل آبیاری در درخت برای پارامتر محیط روزنه بود، به طوری‌که محیط روزنه در نهال‌های سالم تحت تنش کمبود آب کاهش معنی‌داری نسبت به کنترل نشان داد. اما نهال‌های حاصل از درختان خشکیده در دو حالت کنترل و تحت تنش کمبود آب باهم تفاوت معنی‌داری نداشتند و در واقع محیط روزنه آنها حتی در زمان آبیاری کامل هم کم بود و به‌طور معنی‌داری محیط روزنه کوچک‌تری نسبت به درختان سالم داشتند (شکل ۲). تنش کمبود آب روی نهال‌های حاصل از درختان سالم تأثیر گذاشت و باعث کاهش محیط روزنه نسبت به کنترل شد ولی روی نهال‌های خشکیده تأثیری نداشت چون از همان ابتدا محیط روزنه در نهال‌های حاصل از درختان خشکیده کم بود (شکل ۳). کوچک شدن اندازه روزنه تحت تنش کمبود آب در نتاج حاصل از درختان سالم می‌تواند باعث کاهش تبخیر و تعرق گردد که یک سازگاری مناسب در این نهال‌ها برای مقابله با خشکی می‌باشد (۲۶).

بررسی اثرات متقابل فاکتورهای مورفولوژیک برگ نیز نشان داد که اثرات متقابل آبیاری در درخت برای پارامترهای تعداد دندانه و رگبرگ سمت چپ و حداکثر پهنای برگ معنی‌دار می‌باشد. پهنای برگ

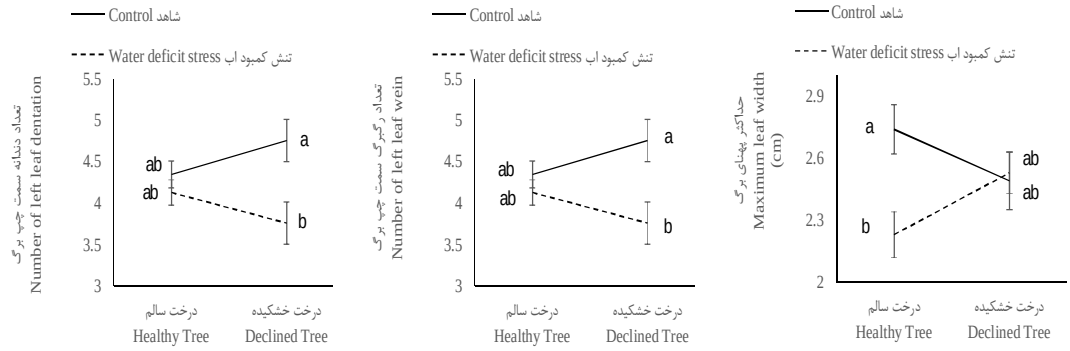
نهال‌های حاصل از درختان سالم در حالت تنش کمبود آب کاهش یافت اما در نهال‌های درختان خشکیده تفاوت بین دو حالت آبیاری کامل و تنش کمبود آب معنی‌دار نبود (شکل ۳). در واقع درختان سالم توانستند در زمان تنش کمبود آب، برگ خود را باریکتر نمایند و در نتیجه باعث سازگاری آن‌ها به این شرایط گردد. از نظر تئوری کاهش سطح برگ یک سازگاری مهم به شمار می‌رود، زیرا کاهش سطح برگ اولین راهبردی است که گیاه در مواجه با محدودیت آب انتخاب می‌کند (۲۸).

اما در مورد تعداد دندانه و رگبرگ این وضعیت برعکس بود و در نهال‌های حاصل از درختان خشکیده تعداد دندانه و رگبرگ در زمان تنش کمبود آب نسبت به حالت آبیاری کامل (شاهد) کاهش یافت (شکل ۳). کاهش تعداد دندانه می‌تواند یک راهکار مثبت در جهت کاهش تبخیر و تعرق باشد اما کاهش تعداد رگبرگ می‌تواند باعث کاهش پتانسیل آب برگ گردد که یک صفت مطلوب در زمان تنش کمبود آب نیست (۲۱)، در نتیجه نتاج حاصل از ژنوتیپ‌های درختان سالم با عدم کاهش تعداد رگبرگ توانستند پتانسیل آب برگ را حفظ نموده و مقاومت بهتری داشته باشند.



شکل ۲- اثر متقابل آبیاری در درخت مادری برای محیط روزنه.

Figuer 2. Interaction of irrigation and mother trees for stomata perimeter.

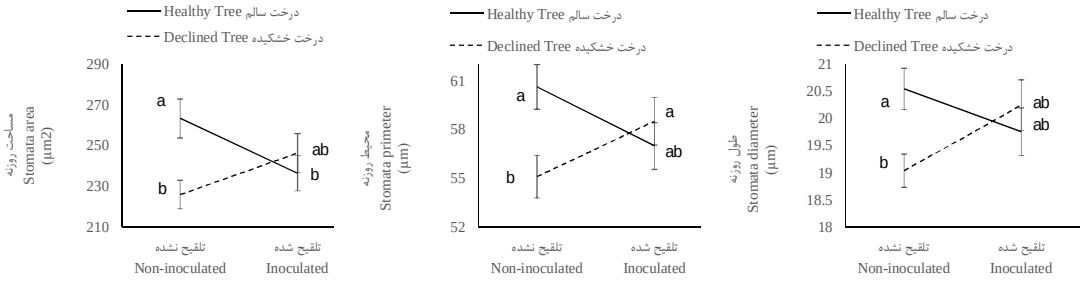


شکل ۳- اثر متقابل آبیاری در درخت مادری برای حداکثر پهنای برگ، تعداد رگبرگ و دندانه سمت راست.

Figure 3. Interaction of irrigation and mother trees for Maximum leaf width, Number of left leaf dentation and left leaf vein.

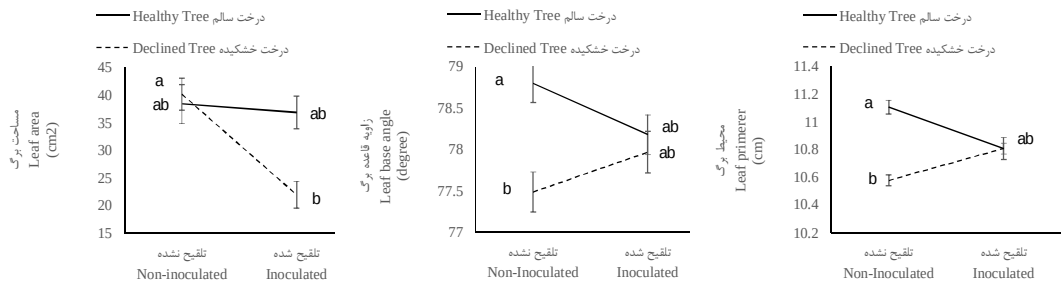
همچنین اثرات متقابل فاکتورهای مورد اندازه‌گیری حاکی از تفاوت معنی‌دار اثرات متقابل باکتری در درخت برای صفت مساحت، محیط و طول روزنه بود. به‌طوری که نهال‌های حاصل از درختان سالم در حالت کنترل (مایه‌زنی‌نشده) مساحت، محیط و طول روزنه بزرگ‌تری نسبت به نهال‌های حاصل از درختان خشکیده داشتند اما در شرایط تلقیح باکتری تفاوت معنی‌دار نداشتند. همچنین در نتاج حاصل از درختان سالم کلیه این صفات با تلقیح باکتری کاهش پیدا کرد و به عبارت دیگر اندازه روزنه کوچک‌تر شد اما در نهال‌های حاصل از درختان خشکیده این صفات افزایش یافتند (شکل ٤). درختان که تحت تأثیر استرس‌های محیطی قرار می‌گیرند به مرور زمان بافت آن‌ها تغییر پیدا می‌کند و به درختان ضعیف تبدیل می‌گردند (٨)، در نتیجه زمانی که بذر این درختان کشت می‌شود نهال‌هایی که از بذر این درختان به‌وجود می‌آید، دارای ژنوتیپ ضعیف‌تری نسبت به نهال‌های حاصل از درختان سالم هستند. مطالعه بر روی درخت توت نیز نشان داد که ژنوتیپ‌های مقاوم‌تر به بیماری دارای ابعاد روزنه بزرگتری می‌باشند اما تراکم و اندازه روزنه بعد از تلقیح قارچ کمتر بود (٦). در این تحقیق نیز کاهش مساحت روزنه در درختان سالم مشاهده گردید. همچنین مطالعه بر روی برنج نشان داد که طول روزنه با مقاومت به بیماری باکتریایی همبستگی ندارد (٢٢).

همچنین نتایج نشان داد که اثرات متقابل باکتری در درخت برای صفات مساحت، محیط و زاویه قاعده برگ معنی‌دار است. به‌طوری که نهال‌های حاصل از درختان خشکیده و سالم تنها در زمان عدم تلقیح باکتری باهم تفاوت معنی‌داری نشان دادند. بیشترین مقدار مساحت و محیط و زاویه قاعده برگ مربوط به نهال‌های سالم تلقیح نشده و کمترین نیز مربوط به نهال‌های خشکیده تلقیح نشده بود (شکل ٥) که این نتیجه باز هم دلیل بر برتر بودن نهال‌های حاصل از ژنوتیپ مقاوم‌تر است که ابعاد برگ بزرگ‌تری دارند و هر چه برگ بزرگ‌تر باشد، میزان فتوسنتز بیشتر و در نتیجه نهال‌های قوی‌تر و بزرگ‌تری تولید می‌گردد (٢٩).



شکل ٤- اثر متقابل باکتری در درخت مادری برای مساحت، محیط و طول روزنه.

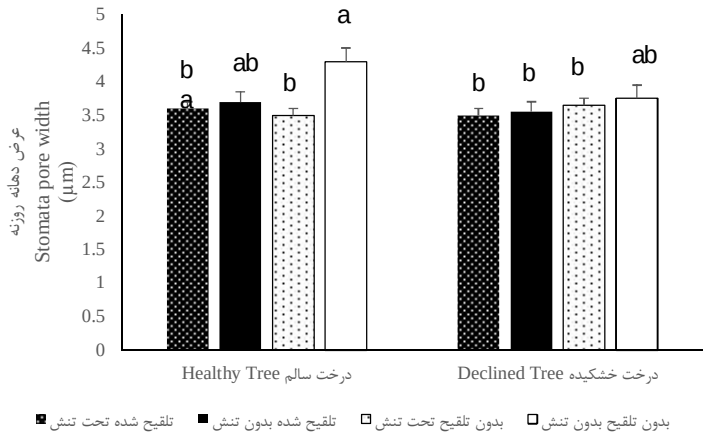
Figure 4. Interaction of bacterium and mother trees for stomata area, stomata perimeter and stomata length.



شکل ٥- اثر متقابل باکتری در درخت مادری برای مساحت، محیط و زاویه قاعده برگ.

Figure 5. Interaction of bacterium and mother trees for leaf area, leaf perimeter and leaf base angle.

اثرات متقابل خشکی در درخت در باکتری برای عرض دهانه روزنه نیز معنی‌دار بود. بین نهال‌های حاصل از درختان سالم و خشکیده تفاوت معنی‌داری وجود دارد. همان‌طور که در شکل (٦) مشاهده می‌شود در درختان سالم زمانی که تلقیح باکتری انجام گرفت اما زمانی که تنش کمبود آب وجود نداشت، عرض دهانه روزنه کاهش نیافت و تنها در صورت تنش کمبود آب عرض دهانه روزنه کاهش یافت. در نتاج درختان خشکیده، تنش کمبود آب و تلقیح باکتری هر دو باعث کاهش عرض دهانه روزنه گردید. در واقع بسته به ژنوتیپ تأثیر تلقیح باکتری بر عرض دهانه روزنه متفاوت بود و در ژنوتیپ‌های حاصل از درختان سالم تنها زمانی باکتری توانست باعث کوچک شدن عرض دهانه روزنه گردد که کمبود آب وجود دارد. مطالعه بر روی گونه آرابیدوپسس نیز نشان داد که تلقیح باکتری باعث کوچک شدن عرض دهانه روزنه می‌گردد (۱۸) که با نتیجه این تحقیق همخوانی دارد.



شکل ٦- اثر متقابل آبیاری در درخت مادری در باکتری برای عرض دهانه.

Figure 6. Interaction of bacterium, irrigation and mother trees for stomatal pore width.

نتیجه‌گیری کلی

برگ‌ها اندام‌های حساسی هستند و نسبت به شرایط محیطی پلاستیستی از خود نشان می‌دهند. فیزیونومی برگ می‌تواند به‌عنوان یک ابزار مناسب در مطالعات اکولوژیک مورد استفاده قرار گیرد (۲۹). از طرف دیگر روزنه‌ها علاوه بر نقش شان در تبخیر وتعرق، جذب نور و دی اکسید کربن محل نوذ عوامل بیماری زا مانند باکتری‌ها هستند و بعد از نفوذ می‌توانند رفتار روزنه را به طرق مختلف تغییر دهند و به‌دلیل تشکیل آمبولیسم و در نتیجه کاهش عملکرد آونده (۲۵) باعث ایجاد شرایط خشکی در گیاه و بسته شدن روزنه گردند (۲۳) و ترکیب دوعامل خشکی و بیماریزایی با هم باعث شدت بیماری می‌گردد. در واقع گیاهانی که در معرض تنش خشکی ضعیف‌اند قادر هستند برای دفاع در برابر عامل بیماری‌زا خود را آماده کنند اما گیاهانی که در معرض تنش شدید هستند، خشکی باعث نشت مواد مغذی سلولی به آپوپلاست می‌شود در نتیجه عامل بیماری‌زا به سهولت نفوذ می‌کنند (۱). از طرف دیگر تنوع ژنتیکی نیز یک منبع مهم در تفاوت پاسخ پایه‌های مختلف به بیماری یا خشکی می‌باشد. نتلایج این تحقیق نیز نشان داد که خشکی و عامل بیماری‌زای باکتریایی هر دو باعث تغییر در خصوصیات ماکرو و میکرومورفولوژیک برگ می‌گردند اما پاسخ نتاج

حاصل از درختان سالم (بردبار) و خشکیده (حساس) با هم متفاوت است، به‌طور که کاهش عرض روزنه در تنش کمبود آب در جهت سازگاری به خشکی مشاهده شد که در ژنوتیپ‌های بردبار علاوه‌بر آن محیط نیز کاهش یافت. امادر ژنوتیپ حساس تعداد رگبرگ که یک صفت مناسب برای آب‌رسانی بهتر در زمان تنش کمبود آب است، کاهش معنی‌دار یافت و نیز افزایش معنی‌دار طول روزنه در زمان تلقیح باکتری مشاهده شد که در ژنوتیپ‌های بردبار این‌گونه نبود. به‌طور کلی نتاج درختان سالم یا ژنوتیپ‌های بردبار دارای ابعاد برگ و روزنه بزرگ‌تر بودند که توانایی آنها در تولید و فتوسنتز بیشتر نشان می‌دهد. همچنین تأثیر منفی تنش کمبود آب بر روزنه و برگ بیشتر از اثر باکتری بود که می‌تواند تأثیر بیشتر تنش خشکی را نسبت به عامل بیماری‌زا در خشکیدگی بلوط را نشان دهد. همچنین نتاج حاصل از ژنوتیپ‌های برتر یا درختان سالم توانستند با کوچک نمودن اندازه برگ و روزنه از تبخیر و تعرق در زمان تنش کمبود آب بکاهند و این کوچک شدن ابعاد روزنه در زمان تلقیح باکتری هم مشاهده شد اما نتاج درختان خشکیده برعکس روزنه خود را بزرگ نمودند که به‌نظر می‌رسد یک راهکار مناسب در برابر تنش نمی‌باشد و باعث حساسیت بیشتر آن‌ها نسبت به تنش کمبود آب و عامل بیماری‌زا گردید. بنابراین مطالعه صفات مورفولوژیک برگ و روزنه می‌تواند به ما در انتخاب ژنوتیپ‌های برتر از نظر مقاومت به بیماری و خشکی برای جمع‌آوری بذر درختان کمک نماید.

تشکر و قدردانی

این مطالعه در قالب طرح تحقیقاتی مصوب با شماره ۹۳/۱۹۵ طرح حفاظت از تنوع زیستی در سیمای حفاظتی زاگرس مرکزی با حمایت سازمان محیط زیست ایران انجام شد.

منابع

1. Achuo, E.A., Prinsen, E., and Höfte, M. 2006. Influence of drought, salt stress and abscisic acid on the resistance of tomato to *Botrytis cinerea* and *Oidium neolycopersici*. Plant Pathology, 55: 178–86.
2. Al Afas, N., Marron, N., and Ceulemans, R. 2006. Clonal variation in stomatal characteristics related to biomass production of 12 poplar (*Populus)* clones in a short rotation coppice culture. Enviromental and Experimental Botany, 58: 279-286.
3. Appiah, M. 2013. Growth Responses of *Milicia excelsa* (Iroko) Seedlings to Water Deficit: Implications for Provenance Selection in Ghana. Journal of Basic and Applied Scientific Research, 3(11): 222-229.
4. Blodgett, J.T., Kruger, E.L., and Stanosz, G.R. 1997. *Sphaeropsis sapinea* and water stress in a red pine plantation in central Wisconsin. Phytopathology, 87: 429–34.
5. Bosabalidis, A.M., and Kofidis, G. 2002. Comparative effects of drought stress on leaf anatomy of two olive cultivars. Plant Science, 163(2): 375-379.
6. Chattopadhyay, S., Ali, K.A., Doss, S.G., Das, N.K., Aggarwal, R.K., Bandopadhyay, T.K., and Bajpai, A.K. 2011. Association of leaf micro-morphological characters with powdery mildew resistance in field-grown mulberry (*Morus spp*.) germplasm. AoB Plants, plr002.
7. Dalvand, F. 2014. Effects of drought and the biological pathogens on yield of Persian oak seedlings (*Q. brantii* Lind). Master Thesis of Forestry, Yasouj University, 117p.
8. Fan, Z., Fan, X., Crosby, M.K., Keith, W., Martin, M.H., Spetich, A., and Shifley, S.R. 2012. Spatio-Temporal Trends of Oak Decline and Mortality under Periodic Regional Drought in the Ozark Highlands of Arkansas and Missouri. Forests, 3: 614-631.

9. Gianoli, E., and González-Teuber, M., 2005. Environmental heterogeneity and population differentiation in plasticity to drought in *Convolvulus chilensis* (*Convolvulaceae*). Evolutionary Ecology, 19(6): 603-613.
10. Gordon, D.R., Menke, J.M., and Rice, K.J. 1989. Competition for soil water between annual plants and blue oak (*Quercus douglasii*) seedlings. Oecologia, 79(4): 533-541.
11. Hosseini, A., Hosseini, S.M., Rahmani, A., and Azadfar, D. 2012. Effect of tree mortality on structure of Brant's oak (*Quercus brantii*) forests of Ilam, province of Iran. Iranian Journal of Forest and Poplar Research, 20(4): 565-577.
12. Hosseini, H. 2015. Leaf morphological and physiological responses of Persian oak trees in oak decline affected stands. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research, 23(2): 288-298.
13. Jazireie, M.H., and Ebrahimi rastaghi, M. 2003. Zagros silviculture. Published Tehran University, Tehran. 560p.
14. Karimi Hajipomagh, Kh., Zolfaghari, R., Alvaninejad, S., and Fayyaz, P. 2013. Effect of Seed Provenance and Mother Tree of *Quercus brantii* Base on Primary Establishment in Yasuj. Journal of Forest and Wood Product (Iranian Journal of Natural Resources), 66(4): 427-439.
15. Körner, C.H., Bannister, P., and Mark, A.F. 1986. Altitudinal variation in stomatal conductance, nitrogen content and leaf anatomy in different plant life forms in New Zealand. Oecologia, 69: 557-588.
16. Loreti, E., Poggi, A., Novi, G., Alpi, A., and Perata, P. 2005. A genome-wide analysis of the effects of sucrose on gene expression in Arabidopsis seedlings under anoxia. Plant Physiology, 137: 1130–1138.
17. McDowell, N.G., Pockman, W.T., and Allen, C.D. 2008. Tansley Review: mechanisms of plant survival and mortality during drought: Why do some plants survive while others succumb to drought? New Phytologist, 178: 719-739.
18. Melotto, M., Underwood, W., Koczan, J., Nomura, K., and He, Sh.Y. 2006. Plant Stomata Function in Innate Immunity against Bacterial Invasion. Cell, 126(8): 969–980.
19. Rosales-Serna, R.J., Kohashi-Shibata, J.A., Acosta-Gallegos, C., Trejo-Lopez, J., and Kelly, J.D. 2004. Biomass distribution, maturity acceleration and yield in drought-stressed common bean cultivars. Field Crops Research, 85: 203-211.
20. Royer, D.L., Wilf, P., Janesko, D.A., Kowalski, E.A., and Dilcher, D.L. 2005. Correlations of climate and plant ecology to leaf size and shape: potential proxies for the fossil record. American Journal of Botany, 92(7): 1141-1151.
21. Royer, D.L., and Wilf, P. 2006. Why do toothed leaves correlate with cold climates? Gas exchange at leaf margins provides new insights into a classic paleotemperature proxy. International Journal of Plant Science, 167: 11–8.
22. Shukla, S.N., and Gangopadhyaya, S. 1981. Stomatal index and size of stomatal opening of rice cultivars varying in reaction to bacterial leaf blight. Proceedings of the Indian National Science Academy, 47(4): 557-559.
23. Solla, A., and Gil, L. 2002. Influence of water stress on Dutch elm disease symptoms in *Ulmus minor*. Canadian Journal of Botany, 80: 810–817.
24. Susiluoto, S., and Berninger, F. 2007. Interactions between morphological and physiological drought responses in *Eucalyptus microtheca*. Silva Fennica: 41(2): 221.
25. Tyree, M.T., and Sperry, J.S. 1989. Vulnerability of xylem to cavitation and embolism. Annual Review of Plant Physiology and Molecular. Biology, 40: 19-38.
26. Uzunova, K. 1999. A comparative study of leaf epidermis in European *Corylaceae*. Feddes Repertorium, 110(3-4): 209-218.
27. Woodward, F.I., and Kelly, C.K. 1995. The influence of CO2 concentration on stomatal density. New Phytologist, 131: 311-327.

28. Xu, F., Guo, W., Xu, W., and Wang, R. 2008. Habitat effects on leaf morphological plasticity in *Quercus Acutissima*. Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica, 50(2): 19–26.
29. Xu, F., Guo, W., Xu, W., Wei, Y., and Wang, R. 2009. Leaf morphology correlates with water and light availability: What consequences for simple and compound leaves? Progress in Natural Science, 19: 1789–1798.
30. Yu, G.R., Wang, Q.F., and Zhuang, J. 2004. Modeling the water use efficiency of soybean and maize plants under environmental stresses: application of a synthetic model of photosynthesis-transpiration based on stomatal behavior. Journal of Plant Physiology, 161(3): 303-318.

Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources
J. of Wood & Forest Science and Technology, Vol. 25 (1), 2018
http://jwfst.gau.ac.ir

Interactive effect of water deficit and pathogen on leaf and stomata morphology in offspring of healthy and declined trees of *Quercus brantii* Lindl.

[*]R. Zolfaghari[1], Z. Karimi[2], F. Dalvand[2], M. Abdollahi[3] and P. Fayyaz[1]
[1]Associate Prof., Dept., of Forestry, Faculty of Agriculture, University of Yasouj, [2]M.Sc. Student of Forestry, Yasouj University, [3]Professor, Dept., of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Yasouj
Received: 04/18/2017; Accepted: 05/11/2018

Abstract

Background and objectives: One of the defense response strategies of trees against drought and pathogens is phenotypic variations of leaf and stomata. Furthermore, a certain mother tree can partly control phenotype of its offspring, and consequently, affect their tolerance to environmental stress. Therefore, in this study the effects of water deficit and bacterial pathogen on leaf and stomatal traits of healthy and dried trees, causing the decline of brant's oak in Kohgilouye and Boyer-Ahmad province, has been investigated.

Materials and methods: Seeds of 4 healthy and 4 infected trees were collected from Khaeiz conserved area and planted into pots to assess the effect of the mother tree. After growing of seedlings, bacteria of *Brenneria quercinia* was inoculated to half of seedlings originated from both healthy and infected mother trees. After 40 days, half of the inoculated and non-inoculated seedlings, treated under water deficit for three weeks and the rest of them received full irrigation. Then, leafs of seedlings were harvested and measured by Image j 1.43 software. After that, the experiment was performed in a completely random design analyzed, and the treatments were laid out in 2*2*2 (2 levels bacteria, 2 levels irrigation, 2 levels mother trees or genotype) and also the mean comparisons tests were done.

Results: Results showed that the effect of bacteria is not significant on any stomata traits, but stomata width and stomata pore width were smaller in seedlings of water deficit treatment than fully irrigate seedlings. Also seedlings of dried trees had smaller stomata width. Water deficit caused to significant decrease of stomata perimeter and leaf width of half-sibling healthy trees, but the number of leaf teeth and vein of half-sibling dried trees were decreased under water deficit treatment that they were not significant for half-sibling healthy trees. The effect of bacteria was not similar on half-sibling of healthy and dried trees, so that perimeter, area and length of stomata and perimeter and base angle of leaf in non-inoculated seedlings of healthy trees were larger but after inoculation stomata area of half-sibling healthy trees were decrease and stomata length increased significantly. Inoculation of bacteria also leads to significant decrease of leaf area in half-sibling dried trees, but it did not have any effect on half-sibling healthy trees. Triple interaction of irrigation, bacteria and mother trees was significant for stomata pore width, as so, seedlings of healthy trees showed smaller stomata pore width under water deficit treatment, but bacteria has not negative effect on it. For seedlings of dried mother trees, these differences were not significant at any treatments, but the size of it was smaller than seedlings of healthy mother trees.

Conclusion: Results of this study showed that half-sibling healthy trees have larger leaf and stomata traits. It demonstrated that these seedlings have more abilities to production and photosynthetic capacity. Furthermore, the water deficit had a more negative effect than bacteria on the decline of oak. Also half-sibling of healthy trees under water deficit condition could reduce evaporation with decreasing size of leaf and stomata traits. This decreasing size of stomata was observed under inoculation of bacteria, in contrary the offsprings of drought affected trees exhibited longer stomata than controls that made them more susceptible to water deficit stress and pathogen agent. Also it has been demonstrated that stomata and leaf characteristics can be conducted to identification of drought and bacterial disease resistance genotypes.

***Keywords*:** Bacteria of *Brenneria quercina*, Decline, Seedling, Zagros

[*]Corresponding author: zolfaghari@yu.ac.ir