پژوهشنامه گیاهان دانه روغنی ایران
جلد چهارم، شماره اول، ۱۳۹۴
http://ijop.areo.ir

# مطالعه سبزشدن و بقای گیاهچه ژنوتیپ‌های گلرنگ در خاک آلوده به بیمارگر *Pythium ultimum*

**الهام پالوج[۱]، محمدهادی پهلوانی*[۲] و سیداسماعیل رضوی[۲]**
[۱و ۲] به‌ترتیب دانش‌آموخته و عضو هیأت‌علمی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع‌طبیعی گرگان

## چکیده

این مطالعه باهدف پاسخ‌گویی به سؤالاتی در زمینه امکان وجود مقاومت ژنتیکی نسبت به بیماری مرگ گیاهچه در گلرنگ زراعی صورت گرفت. بدین‌منظور واکنش ۱۵ ژنوتیپ گلرنگ زراعی نسبت به *P.ultimum* طی سال‌های ۱۳۸۶ و ۱۳۸۷ در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان مورد ارزیابی قرار گرفت. آزمایش به صورت طرح کرت‌های خرد شده با دو سطح استریل و غیراستریل به عنوان فاکتور اصلی و ۱۵ ژنوتیپ گلرنگ به عنوان فاکتور فرعی اجرا شد. به‌منظور ایجاد آلودگی مذکور از کشت پراگنه‌های بیمارگر در ماسه استریل شده همراه با سوسپانسیون بیمارگر با غلظت ۱۰۵ زئوسپور در میلی‌لیتر استفاده گردید. نتایج نشان داد که ۱۰ ژنوتیپ، مقاومتی بیش از ۹۰ درصد از خود نشان داده‌اند، که در بین آنها مقاومت بالای ۹۸ درصد در دو ژنوتیپ LRV-55-255 و 34040 مشاهده شد. نتایج بدست آمده نشان داد که آلودگی ناشی از *P.ultimum* بر سرعت سبزشدن در مزرعه مؤثر بود. گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها، نشان داد که ژنوتیپ‌های گروه سوم (زرقان- ۲۵۹ و 34040) نسبتاً مقاوم بودند.

***واژه‌های کلیدی***: سوسپانسیون، مقاومت، تحمل، *Pythium ultimum*.

## مقدمه

گیاه گلرنگ با نام علمی *Cartamus tinctorius* L. یکی از گیاهان پر سابقه در دنیای قدیم از جمله ایران است. وجود انواع گوناگون گلرنگ زراعی و همچنین گونه‌های خویشاوند و نزدیک آن موجب گردیده است تا ایران به‌عنوان یکی از غنی‌ترین مناطق جهان از نظر ذخایر ژنتیکی این گیاه مورد توجه

*مسئول مکاتبه: hpahlavani@yahoo.com

قرار گیرد. اگرچه گلرنگ دارای مصارف فراوان در صنایع رنگرزی، مواد آرایشی، سوخت اتومبیل، مصارف دارویی و سابقه‌ای اندک در تولید روغن است اما کشت آن همواره با مشکلاتی مواجه بوده است (Foruzan, 1999; Zeinali, 1999). از مهم‌ترین این معضلات می‌توان به شیوع آفات و بیماری‌های مهم اشاره نمود. در این بین بیماری‌های ناشی از بیمارگر خاکزادی چون پوسیدگی بذر، مرگ گیاهچه قبل و پس از سبزشدن، آلودگی ریشه و محور زیرلپه از مهم ترین محدودیت‌ها در کشت گلرنگ می‌باشد (Pahlavani *et al.,* 2006). اهمیت این بیماری عمدتاً از لحاظ نظر تاثیر بر بقای بذر در خاک، جوانه‌زنی و سبز شدن گیاهچه به عنوان حساس‌ترین مراحل رشد و استقرار گیاه در مزرعه است.

در ایران آل‌آقا برای نخستین بار در دانشکده کشاورزی کرج موفق به مشاهده این بیماری از روی واریته فریو شد (Alagha, 1970). بیماری بوته‌میری حاصل از بیمارگر *P.ultimum* Trow. در استان فارس توسط عبدالهی (Abdollahi, 1995) و در استان اصفهان توسط شریف‌نبی و سعیدی (Sharifnabi and Saedi, 2004) گزارش گردید. آگریوس در مطالعه‌ای در سال ۱۹۹۷ با ذکر علائم بیماری ناشی از *P.ultimum* روند گسترش آن را سریع توصیف کرده و ذکر می‌کند که سلولهای گیاهی پس از حمله بیمارگر، مقاومت خود را از دست داده، می‌شکنند و پوسیدگی به تدریج سرتاسر گیاهچه را قبل از اینکه در سطح خاک ظاهر شوند فرا گرفته در نهایت باعث مرگ آن می‌شود. به این حالت مرگ گیاهچه قبل از سبزشدن می‌گویند. در برخی موارد بیمارگر پس از نفوذ به درون گیاهچه، بافت‌های ترد گیاه را نابود می‌کند و گیاهچه به علت عدم تحمل وزن خود بر سطح خاک می‌افتد، این حالت را مرگ پس از سبزشدن می‌گویند (Agrios, 1997). با توجه به هزینه‌های زیاد و مخاطرات زیست‌محیطی استفاده از قارچ‌کش‌ها، به نظر می‌رسد بهترین راه کنترل این بیماری استفاده از ارقام مقاوم باشد (Mundel *et al.*, 1995). فوربس و همکاران در سال ۱۹۸۷ ضمن کمی دانستن مقاومت به بیمارگر *P.ultimum* ، واکنش‌های متفاوت ناشی از *P. arrhenomanes* در سورگوم را ناشی از میزبان، عامل بیماری‌زا و شرایط محیطی معرفی نمودند (Forbes *et al.*, 1987). بررسی لاین‌ها و ژنوتیپ‌های متنوع گلرنگ حاکی از وجود منابع مقاومت در بین ژنوتیپ‌های با منشأ ایران بوده است (Davia *et al.*, 1981). هدف اصلی این مطالعه ارزیابی برخی از ژنوتیپ‌های گلرنگ زراعی در شرایط بستر آلوده به عامل بوته‌میری به منظور تعیین پتانسیل و یافتن منابع ژنتیکی مقاومت به بیماری بود.

## مواد و روش‌ها

این آزمایش در طی سال‌های ۱۳۸۶ و ۱۳۸۷ در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان صورت گرفت. آزمایش به‌صورت اسپلیت پلات با طرح پایه بلوک و در چهار تکرار انجام شد. فاکتور اصلی شامل بستر خاک با ۲ سطح استریل و آلوده به *P. ultimum* و فاکتور فرعی شامل ۱۵

سطح ژنوتیپ گلرنگ بود (جدول ۱). این ژنوتیپ‌ها مجموعه‌ای از لاین‌ها و ارقام بودند که حداقل به مدت چهار نسل در شرایط آب و هوایی گرگان همراه با کنترل دگرگشنی تکثیر شده بودند.

**آماده‌سازی بستر کشت:** هر واحد آزمایشی شامل یک بلوک به ابعاد ۶۰ ×۶۰ سانتی‌متر بود. ابتدا کلیه واحدهای آزمایشی بلوک‌ها با خاک استریل پر شدند و سپس طبق نقشه خاک پلات‌های آلوده با مایه تلقیح به خوبی مخلوط شد. برای تهیه خاک استریل از اتوکلاو با دمای ۱۲۱ درجه سانتیگراد و فشار ۱/۲ کیلوگرم بر سانتی متر مربع ( اتمسفر) استفاده گردید. به‌مدت یک هفته شرایط رطوبتی بالا توسط آبیاری بارانی در مزرعه برقرار شد، آنگاه چندین نمونه به‌صورت تصادفی از خاک کرت‌های آلوده و استریل تهیه، به آزمایشگاه منتقل شد. با کشت نمونه‌های خاک در آزمایشگاه وجود *P.ultimum* در بستر آلوده مزرعه و فقدان آن در بستر استریل مورد تأیید قرار گرفت.

**تهیه مایه تلقیح:** بدین‌منظور ۶۵ کیسه پلاستیکی حاوی یک کیلوگرم ماسه فراهم شد. سپس به هر بسته محتوی ماسه مقدار کافی عصاره شاهدانه افزوده شد. پس از استریل‌شدن این مواد در اتوکلاو قطعاتی از محیط کشت CMA به همراه پراگنه‌های *P.ultimum* به ماسه استریل افزوده شده، بسته‌ها به منظور رشد بیمارگر به محیط مطلوب (از نظر دما و رطوبت) منتقل و به مدت یک ماه در این شرایط نگهداری شدند. پس از طی زمان مورد نیاز، نمونه‌هایی از بسته‌ها به شکل تصادفی انتخاب، در محیط آزمایشگاه کشت داده شد. پس از اطمینان از رشد مناسب بیمارگر بسته‌های ماسه (مایه تلقیح) به منظور تلقیح در خاک به مزرعه انتقال یافت (Zamaninoor, 2004).

**کشت بذور در مزرعه:** جهت کشت بذر در بستر استریل ابتدا بذور با محلول پنج درصد هیپوکلریدسدیم به منظور جلوگیری از رشد عوامل بیماری‌زای احتمالی ضد عفونی و سپس با آب مقطر به خوبی شستشو داده شدند. پس از این عمل بذرها در بخش استریل درعمق ۳ سانتیمتری کشت شدند. به منظور کشت در بخش آلوده، پس از ضد عفونی و شستشو با آب مقطر، بذرها به مدت ۱۰ دقیقه در محلول سوسپانسیون زئوسپور بیمارگر *P.ultimum* قرار گرفتند، نحوه تهیه سوسپانسیون به شرح زیر بود.

دو لیتر آب مقطر درون ارلنی به حجم ۳۰۰۰ سی سی ریخته شد و به‌مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۱۲۰ درجه سلسیوس در اتوکلاو قرار گرفت. در شرایط استریل قطعات کوچک مربعی محیط کشت حاوی پراگنه‌های خالص چهار روزه *P.ultimum* با ابعاد مساوی، درون آب دو بار استریل ریخته شد. ارلن حاوی مخلوط مزبور به‌مدت چهار روز در زیر نور فلورسنس قرار گرفت. تعداد زئوسپور آزادشده یافته در محلول به کمک لام هموسیتومتر شمارش و میزان آن ۱۰۵ زئوسپور در هر میلی‌لیتر برآورد شد. به منظور حفظ رطوبت در سطح خاک از هنگام کاشت تا زمان سبزشدن از آبیاری بارانی به‌طور روزانه استفاده شد.

**ارزیابی علائم:** پس از سبزشدن، شمارش روزانه گیاهچه‌های سبزشده انجام گردید. پس از اتمام مرحله گیاهچه‌ای، تعداد گیاهچه‌های به جای مانده در محیط آلوده شمارش شد و به عنوان درصد گیاهچه‌های مقاوم ثبت گردید. با کشت مجدد نمونه‌هایی از خاک مربوط به پلات‌هایی که از درصد بالای گیاهچه مقاوم برخوردار بودند وجود *P.ultimum* تأیید شد. پس از شمارش روزانه گیاهچه سبزشده و گیاهچه‌های دارای علائم بوته‌میری از شاخص زیر جهت بررسی میزان مقاومت ژنوتیپ استفاده گردید.

شاخص مقاومت (RI)[1]: این شاخص به منظور ارزیابی مقاومت ژنوتیپ‌های مختلف نسبت به بیماری استفاده گردید (Fisher and Maurer, 1978).

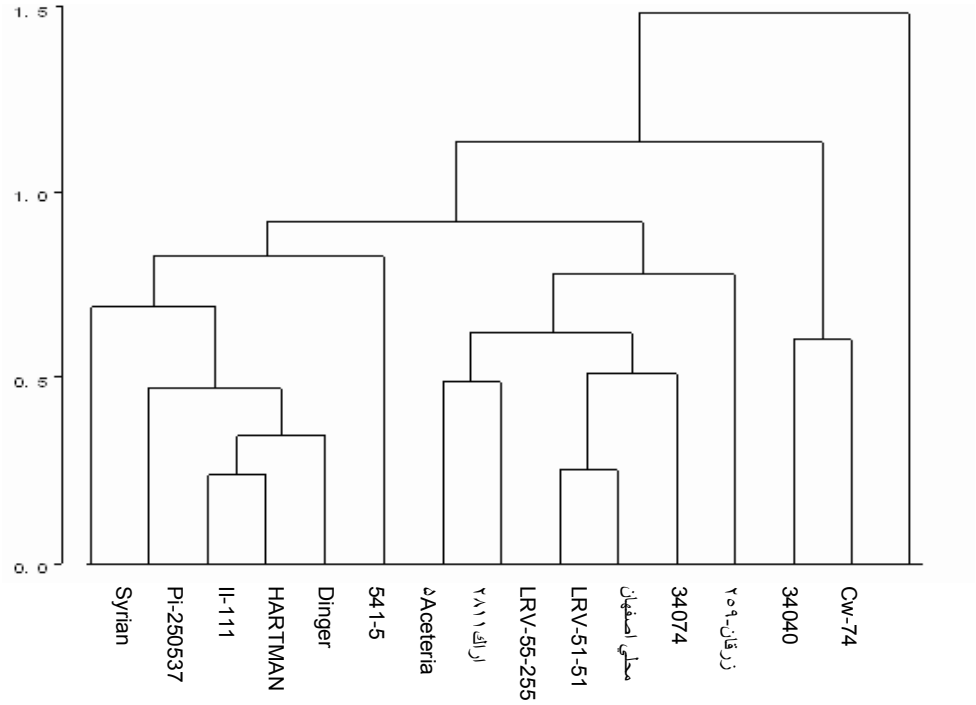
$$RI = [1 - ((EHS - EHI)/EHS)] \times 100$$

در رابطه فوق EHS تعداد گیاهچه سبزشده در بستر استریل و EHI تعداد گیاهچه سبزشده در بستر آلوده است. براساس این شاخص،ژنوتیپی که RI بیشتری داشته باشد مقاومت بیشتری نسبت به بیمارگر *P.ultimum* دارد. کلیه تجزیه و تحلیل در نرم‌افزار آماری SAS صورت گرفت. قبل از تجزیه واریانس بررسی نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون K-S صورت گرفت. برای مقایسه میانگین از آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال پنج درصد استفاده شد. گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها نیز به کمک صفات و شاخص‌های به‌دست آمده با روش UPGMA و در نرم‌افزار SPSS 12 انجام شد.

## نتایج و بحث

نام، منشأ و وزن ۱۰۰ دانه ژنوتیپ‌های گلرنگ مورد استفاده در این آزمایش در جدول ۱ نشان داده شده است. ژنوتیپ ۵۴۱- ۵ با ۶/۲۷ گرم بیشترین و ژنوتیپ اراک ۲۸۱۱ با منشأ ایران و وزن ۳/۶۵ گرم کمترین وزن ۱۰۰ دانه را دارا بودند. نتایج تجزیه واریانس درصد سبزشدن نشان داد که اختلاف بین دو بستر استریل و آلوده به بیمارگر معنی‌دار نبود (جدول ۲). وجود اختلاف آماری از نظر سرعت سبزشدن بین دو محیط استریل و آلوده به بیمارگر نشانگر این بود که بیمارگر *P. ultimum* بیش از آن که توانسته باشد از درصد سبزشدن در محیط آلوده بکاهد صفات دیگری چون سرعت سبزشدن را تحت تأثیر قرار داده بود. این نتیجه با نتایج احمدی و همکاران (Ahmadi *et al*., 2008) روی گلرنگ زراعی و نتایج آلتر و تیز (Altier and Thies, 1995) روی یونجه مغایرت داشت.

1. Resistance Index




**شکل ۱- دندروگرام ۱۵ ژنوتیپ گلرنگ با استفاده از ۱۰ متغیر در شرایط مزرعه.**

معنی‌دار بودن اختلاف بین ژنوتیپ‌ها از نظر درصد سبز شدن، درصد افراد از دست رفته و سرعت (درسطح یک درصد) حاکی از پاسخ متفاوت ژنوتیپ‌ها به بستر آلوده این بیمارگر بوده است. وجود تنوع در بین ژنوتیپ‌ها که نشانگر واکنش متفاوت آنها می‌باشد امکان استفاده از شیوه‌های اصلاح گیاهان از جمله انتخاب را میسر می‌سازد. ژنوتیپ‌های LRV-51-51 با داشتن میانگین ۹۰/۷۵ از بیشترین میزان سبزشدن برخوردار بود. ژنوتیپ Cw-74 نیز با میانگین ۶۹/۸۷ کمترین میزان سبزشدن را داشت (جدول ۴). وجود تنوع ژنتیکی در ژرم پلاسم گلرنگ نسبت به *P.ultimum* توسط احمدی (Ahmadi, 2008)، شریف‌نبی و سعیدی (Sharifnabi and Saedi, 2004)، جمشید مقدم و پورداد (Jamshidmoghadam and Pordad , 2006)، دیوی و همکاران (Davia *et al.*, 1981) و پهلوانی و همکاران (Pahlavani *et al.*, 2006) قبلاً گزارش شده است. مندل و همکاران (Mundel *et al.*, 1995) نیز در مطالعات خود وجود اختلاف بین ژنوتیپ‌های مختلف گلرنگ در دو محیط استریل و آلوده به بیمارگر را بیان کرده‌اند. مندل درصد سبزشدن بذر در محیط آلوده را وابسته به منبع بذر و خصوصیات پوسته بذر دانسته است. رفیعی و سعیدی (Rapheii and saedi, 2005) با بیان وجود اختلاف معنی‌دار

بین ژنوتیپ‌های گلرنگ از نظر درصد سبزشدن در محیط آلوده به عامل بیماری سفیدک پودری، اراک ۲۸۱۱ را ژنوتیپ با واکنش نیمه حساس ذکر نموده‌اند. طبق نتایج جدول تجزیه واریانس اثرمتقابل ژنوتیپ × بستر معنی‌دار نبود. این یافته بیان کرد که تفاوت درصد سبزشدن ژنوتیپ‌ها با یکدیگر تحت تأثیر شرایط آلودگی قرار نگرفته است و ارقام واکنش یکسانی به آلودگی داشته‌اند، بنابراین بهترین رقم دربستر استریل احتمالاً بهترین رقم در بستر آلوده نیز می‌باشد (جدول ۲).

**جدول ۱- مشخصات و وزن ۱۰۰ دانه ژنونیپ‌های گلرنگ.**

| ژنوتیپ | منشأ | وزن ۱۰۰ دانه (گرم) |
|---|---|---|
| اراک ۲۸۱۱ | ایران | ۳/۶۵ |
| زرقان-۲۵۹ | ایران | ۳/۸۳ |
| II.111 | ایران | ۴/۸۶ |
| LRW-55-255 | ایران | ۵/۰۳ |
| محلی اصفهان | ایران | ۵/۷۶ |
| LRV-51-51 | ایران | ۴/۴۷ |
| Aceteria | مصر | ۴/۵۶ |
| Syrian | سوریه | ۵/۲۵ |
| pI-250537 | مصر | ۶/۰۳ |
| cw-74 | ایالات متحده آمریکا | ۶/۲۳ |
| HARTHMAN | ایالات متحده آمریکا | ۵/۱۶ |
| Dinger | کانادا | ۴/۳۷ |
| 34074 | نامشخص | ۴/۲۶ |
| 34040 | نامشخص | ۴/۷۲ |
| 541-5 | نامشخص | ۶/۲۷ |

عدم وجود اثر متقابل ژنوتیپ × بستر در این مطالعه با نتایج احمدی (Ahmadi, 2008) در شرایط آزمایشگاه تطابق نداشت. این مسئله را می‌توان به‌دلیل شرایط کنترل شده محیط آزمایشگاهی و تأثیر بالاتر آن بر واکنش ژنوتیپ‌ها دانست.

تجزیه واریانس افراد از دست رفته نشان داد که بین دو بستر کشت از نظر آماری اختلاف معنی‌دار نبود. اما بین ژنوتیپ‌های مورد بررسی اختلاف آماری معنی‌داری در سطح یک درصد وجود داشت. شریف‌نبی و سعیدی (Sharifnabi and saedi, 2004) در ارزیابی ژنوتیپ‌های گلرنگ نسبت به بوته‌میری فوزاریومی تفاوت معنی‌داری بین ژنوتیپ‌ها از لحاظ درصد مرگ و میر گیاهچه‌ها گزارش کردند. این نتیجه مشابه نتایج احمدی و همکاران (Ahmadi *et al.,* 2008) در بررسی واکنش ۱۷ ژنوتیپ گلرنگ نسبت به بوته‌میری در شرایط گلخانه بوده است. در این صفت اثر متقابل ژنوتیپ ×

بلوک که از خطای ژنوتیپ جدا شده در هیچ یک از سطوح آمـاری معنـی‌دار نبـوده اسـت. ایـن مسـئله نشان می‌دهد که بین بلوک‌ها هیچ تمایزی بین ژنوتیپ‌ها از نظر درصد مرگ و میر وجود نداشته اسـت. ژنوتیپ CW-74 با میانگین ۳۰/۱۲ بیشترین درصد و ژنوتیپ LRV-51-51 با میانگین ۹/۲۵ از کمترین درصد افراد از دست‌رفته برخوردار بودند. در این مورد ژنوتیپ LRV-55-255 با بیشترین درصد بوته بـر جای مانده مقاوم از درصد کمی از افراد از دست‌رفته برخوردار بود.

**جدول ۲- تجزیه واریانس خصوصیات سبز شدن ۱۵ ژنوتیپ گلرنگ در دو بستر استریل و آلوده به *P.ultimum*.**

| منابع تغییر | درجه آزادی | میانگین مربعات | | |
|---|---|---|---|---|
| | | درصد سبزشدن | درصد افراد از دست رفته | سرعت |
| بلوک | ۳ | ۱۲۶/۶۰ns | ۱/۶۳ns | ۰/۰۲ns |
| بستر | ۱ | ۴/۸۰ns | ۰/۰۹ns | ۰/۱۰** |
| خطای بستر | ۳ | ۷۰/۸۲ | ۱۳/۶۴ | ۰/۰۳ |
| ژنوتیپ | ۱۴ | ۲۴۳/۱۸** | ۴/۰۰** | ۰/۰۳** |
| ژنوتیپ×بستر | ۱۴ | ۷۰/۶۳ns | ۰/۶۳ns | ۰/۰۱ns |
| ژنوتیپ×بلوک | ۴۲ | - | ۱۳/۲۳ns | - |
| خطای ژنوتیپ+ | ۴۲ | ۶۰/۷۱ | ۰/۳۰ | ۰/۰۱ |
| CV خطا (درصد) | - | ۹/۴ | ۲۰/۰۰ | ۱۴/۷ |

* و **: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد.

*: این مقدار در دو صفت درصد سبزشدن و سرعت برابر ۸۴ است.

**جدول ۳- تجزیه واریانس بوته‌های گلرنگ برجای مانده (مقاوم) در بستر آلوده به *P.ultimum*.**

| منابع تغییر | درجه آزادی | میانگین مربعات درصد بوته مقاوم |
|---|---|---|
| بلوک | ۳ | ۱۹۴/۲۴* |
| ژنوتیپ | ۱۴ | ۷۶/۷۱ns |
| CV خطا (درصد) | - | ۸/۳ |

ns و *: عدم معنی‌داری و معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد.

نتایج تجزیه واریانس درصد مقاومت گیاهچه‌ها در بستر آلوده، نشان داد که اختلاف بین ژنوتیپ‌هـا معنی‌دار نیست (جدول ۳). این مطلب حاکی از یکسان بودن واکنش ژنوتیپ‌ها از نظر مقاومت در برابـر بوته‌میری پیتیومی در شرایط مزرعه است. تجزیه واریانس سرعت سبزشدن اختلاف معنـی‌داری را بـین ۲ محیط آلوده به بیمارگر و استریل نشان داد (جدول ۲). ژنوتیپ‌های LRV-51-51 با داشتن میـانگین ۰/۷۸ از بیشترین مقدار سرعت سبزشدن و ژنوتیپ‌های Cw-74 بـا میـانگین ۰/۵۱ از کمتـرین سـرعت

سبزشدن در شرایط مزرعه برخوردار بودند (جدول ۴). بر طبق این نتایج می‌توان عنوان کرد که تأثیر عامل بوته‌میری بر سرعت سبزشدن بیش از سایر صفات بوده (جدول ۲).

بر اساس فرمول ارائه شده فیشر و مور در شاخص مقاومت با کمک تعداد گیاهچه سبزشده در محیط استریل و آلوده به بیمارگر در مورد هر ژنوتیپ محاسبه شد که در نتیجه آن سه ژنوتیپ ۵-۵۴۱، زرقان-۲۵۹ و ۳۴۰۳۴۰ به‌ترتیب با مقادیر ۱۱۴/۴۲، ۱۱۰/۷۶ و ۱۰۸/۹۱ بیشترین میزان RI و ژنوتیپ‌های Syrian، 34074 و HARTHMAN با مقادیر ۸۸/۵۸، ۹۳/۱۶ و ۹۰/۹۳ کمترین میزان در شاخص مقاومت را داشته‌اند. پالوج و همکاران (Palooj *et al*, 2009) در بررسی هفت ژنوتیپ گلرنگ زراعی به بیمارگر *P. ultimum* در شرایط مزرعه ژنوتیپ LRW-55-255 را مقاوم‌ترین ژنوتیپ و ژنوتیپ Aceteria حساس‌ترین ژنوتیپ مورد بررسی دانسته‌اند.

**جدول ۴- مقایسه میانگین ژنوتیپ‌های گلرنگ در دو بستر استریل و آلوده به بیمارگر با آزمون LSD در سطح پنج درصد.**

| ژنوتیپ | درصد سبز شدن | میانگین مربعات | | درصد مقاومت |
|---|---|---|---|---|
| | | درصد افراد از دست رفته | سرعت | |
| اراک ۲۸۱۱ | ۸۹/۳۷ab | ۱۰/۶۲ ef | ۰/۷۰abc | ۸۴/۹۵ |
| زرقان-۲۵۹ | ۷۵/۸۷ef | ۲۴/۱۲ab | ۰/۶۲cd | ۹۶/۶۱ |
| II.111 | ۸۲/۸۷bcde | ۱۷/۱۲bcde | ۰/۶۷bcd | ۹۲/۴۰ |
| LRW-55-255 | ۸۹/۱۲ab | ۱۰/۸۷ ef | ۰/۷۴ab | ۹۸/۳۶ |
| محلی اصفهان | ۸۷/۲۵abc | ۱۲/۷۵ def | ۰/۶۹abcd | ۹۵/۴۲ |
| Aceteria | ۸۶/۰۰abcde | ۱۴/۰۰Cdef | ۰/۶۷bcd | ۸۶/۱۳ |
| Syrian | ۷۸/۵۰de | ۲۱/۵۰bc | ۰/۶۰ed | ۹۱/۷۳ |
| pI-250537 | ۸۳/۲۵abcde | ۱۶/۷۵bcdef | ۰/۶۶bcd | ۹۴/۴۳ |
| cw-74 | ۶۹/۸۷f | ۳۰/۱۲a | ۰/۵۱e | ۹۱/۴۵ |
| HARTHMAN | ۸۴/۲۵abcde | ۱۵/۷۵ cdef | ۰/۷۲ab | ۹۱/۶۶ |
| Dinger | ۸۱/۷۵bcde | ۱۸/۲۵bcde | ۰/۶۶bcd | ۹۳/۸۴ |
| LRV-51-51 | ۹۰/۷۵a | ۹/۲۵ f | ۰/۷۸a | ۹۴/۵۰ |
| 34074 | ۸۴/۷۵abcde | ۱۵/۲۵ cdef | ۰/۶۹abcd | ۸۴/۴۲ |
| 34040 | ۸۲/۰۰bcde | ۱۸/۰۰bcde | ۰/۶۲cd | ۹۸/۲۷ |
| 541-5 | ۷۹/۸۷cde | ۲۰/۱۲ bcd | ۰/۶۰de | ۹۱/۶۳ |
| LSD 5% | ۴/۸۸۹ | ۰/۵۳ | ۰/۹۰ | ۱۱/۰۱ |

**ضرایب همبستگی صفات و شاخص‌های به‌دست آمده در شرایط مزرعه:** نتایج حاصل از تجزیه ضرایب همبستگی نشان می‌دهد که رابطه‌ای منفی و معنی‌دار در سطح پنج درصد بین وزن ۱۰۰ دانه

و شاخص مقاومت وجود داشت (r=-۰/۶۰*). این رابطه نشان دهنده این است کـه هـر چـه بـذر ریزتـر باشد، مقاومت نسبت به بیماری بیشتر خواهد بود.

**جدول ۵- شاخص مقاومت حاصل از ارزیابی ژنوتیپ‌های گلرنگ در مزرعه.**

| ژنوتیپ | شاخص مقاومت |
|---|---|
| Syrian | ۸۸/۵۸ |
| pI-250537 | ۹۹/۴۰ |
| 541-5 | ۱۱۴/۴۲ |
| cw-74 | ۹۷/۵۲ |
| II.111 | ۹۵/۰۰ |
| Aceteria | ۱۰۰/۵۸ |
| LRW-55-255 | ۱۰۰/۸۴ |
| HARTHMAN | ۹۰/۹۳ |
| Dinger | ۹۸/۷۸ |
| LRV-51-51 | ۹۵/۴۵ |
| اراک ۲۸۱۱ | ۱۰۵/۴۵ |
| محلی اصفهان | ۱۰۷/۱۲ |
| 34074 | ۹۳/۱۶ |
| زرقان- ۲۵۹ | ۱۱۰/۷۶ |
| 34040 | ۱۰۸/۹۱ |

وزن ۱۰۰ دانه به عنوان تنها صفتی که دارای رابطـه معنـی‌دار بـا شـاخص مقاومـت بـوده اسـت در انتخاب شیوه اصلاحی مناسب اهمیت یافته است. پاسبان اسلام (Pasban Slam, 2004) وزن هزار دانـه را از ویژگی‌های مطلوب ژنوتیپ‌های گلرنگ دانسته است که می‌تواند در انتخاب ژنوتیپ در امـر اصـلاح آنها اثرگذار باشد. احمدی و همکاران (Ahmadi *et al.*, 2008) نیـز بـا بررسـی صـفات مرفولوژیـک ۱۷ ژنوتیپ گلرنگ در شرایط گلخانه نشان دادند که رابطه بین شاخص مقاومت با اندازه دانه منفی است. بـا توجه به اهمیت افزایش اندازه دانه در پروژه‌های اصلاحی مربوط به افزایش عملکرد ایـن نگرانـی وجـود خواهد داشت که مقاومت به *P. ultimum* موجب کاهش عملکـرد شـود (Dajue and Mundel, 1996).

مثبت بودن ضرایب همبستگی بین بذور سبزشـده در بسـتر اسـتریل بـا سـرعت سبزشـدن در شـرایط استریل (r=۰/۹۲**) و همچنین رابطه مثبت و متوسط آن با سرعت سبزشدن در بستر آلوده به بیمارگر در سطح پنج درصد (r=۰/۵۸*) نشان دهنده این مطلب است که سرعت بالای بذر ژنوتیپ‌های گلرنـگ

فاکتور مهمی در افزایش سبزشدن آن است. همبستگی بین درصد سبزشدن بذور در شرایط استریل با درصد بذور سبزشده در شرایط آلوده مثبت و معنی دار بود (r=۰/۵۴*)، رابطه بین این دو صفت در مطالعه احمدی و همکاران (Ahmadi *et al.*, 2008) نیز علی رغم مثبت بودن در هیچ یک از سطوح آماری معنی‌دار نبوده است.

رابطه درصد سبزشده در شرایط استریل با تعداد بذور سبزنشده در بستر استریل در سطح یک درصد (r=-۱**) و درصد افراد از دست‌رفته در بستر آلوده به بیمارگر در سطح پنج درصد (r=-۰/۵۴*) معنی‌دار و هم‌چنین منفی بوده است. با توجه به این رابطه می‌توان گفت که با انتخاب روش‌های اصلاحی مناسب در جهت افزایش درصد سبزشدن می‌توان از از دست دادن گیاهچه‌ها در شرایط آلوده به عامل بیماریزا جلوگیری نمود. هم‌چنین تمام روش‌های اصلاحی که موجب افزایش درصد سبزشدن گیاهچه در بستر استریل شود بر افزایش این مقدار در بستر آلوده به بیمارگر نیز مؤثر خواهد بود. این رابطه نتایج احمدی و همکاران (Ahmadi *et al.*, 2008) را در مورد وجود همبستگی منفی بین بذور سبزشده در بستر استریل با درصد افراد از دست‌رفته در بستر آلوده در شرایط گلخانه تأیید کرده است.

ضریب همبستگی بین بذور سبز نشده در بستر استریل با سرعت سبزشدن در بستر آلوده به بیمارگر در سطح پنج درصد (r=-۰/۵۸*)، سرعت سبزشدن در بستر استریل در سطح یک درصد (r=-۰/۹۲**) و بذور سبزشده در آلوده در سطح پنج درصد (r=-۰/۵۴*) منفی و معنی‌دار بوده است، میزان بالای این رابطه منفی با سرعت سبزشدن گواه دیگری بر اهمیت سرعت به‌عنوان فاکتور اثرگذار در این آزمایش بوده است. طبق نتایج جدول (۶) رابطه بین بذور سبزنشده در بستر استریل با افراد از دست‌رفته در بستر آلوده به بیمارگر در سطح پنج درصد معنی‌دار نشان داده شده است (r=۰/۵۴*). می‌توان گفت که این رابطه اهمیت پتانسیل سبزشدن ژنوتیپ‌ها را نشان داده است. ضریب همبستگی بین سرعت سبزشدن در بستر استریل با سرعت سبزشدن در بستر آلوده به بیمارگر در سطح پنج درصد مثبت و معنی‌دار بوده است (r=۰/۵۸*). نتایج نشان داد که بین بذور سبزشده در بستر آلوده به بیمارگر با افراد از دست‌رفته در بستر آلوده به بیمارگر رابطه منفی و معنی‌داری در سطح یک درصد وجود داشت (r=-۱**)، در حقیقت هم پتانسیل سبزشدن و هم کاهش غلظت مایه تلقیح با گذشت زمان در این مورد مؤثر بوده است. ضریب همبستگی بین این صفت و سرعت سبزشدن در بستر آلوده به بیمارگر در سطح یک درصد مثبت و معنی‌دار بوده است (r=۰/۹۰**) که نشان دهنده اهمیت در سرعت سبزشدن بذور ژنوتیپ‌ها در شرایط مزرعه بوده است. احمدی و همکاران (Ahmadi *et al.*, 2008) در مطالعه خود وجود رابطه مثبت بین درصد سبزشدن در بستر آلوده به بیمارگر با درصد گیاهچه مرده در این بستر را بیان کرده است.

**جدول۶- ضرایب همبستگی بین صفات و شاخص مورد بررسی در شرایط مزرعه.**

| | کد | صفت | بستر استریل | | | | بستر آلوده به بیمارگر | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | ۱ | ۲ | ۳ | ۴ | ۵ | ۶ | ۷ | ۸ |
| بستر استریل | ۱ | وزن ۱۰۰ دانه | ۱ | | | | | | | |
| | ۲ | میانگین‌بذورهای سبزشده | -۰/۳۲ | ۱ | | | | | | |
| | ۳ | میانگین‌بذورهای سبزنشده | ۰/۳۲ | -۱** | ۱ | | | | | |
| | ۴ | میانگین سرعت سبزشدن | -۰/۳۴ | ۰/۹۲** | -۰/۹۲** | ۱ | | | | |
| بسترآلوده به بیمارگر | ۵ | میانگین‌بذورهای سبزشده | -۰/۳۱ | ۰/۵۴* | -۰/۵۴* | ۰/۴۷ | ۱ | | | |
| | ۶ | میانگین افراد از دست‌رفته | ۰/۳۱ | -۰/۵۴* | ۰/۵۴* | -۰/۴۷ | -۱** | ۱ | | |
| | ۷ | میانگین سرعت سبزشدن | -۰/۲۶ | ۰/۵۸* | -۰/۵۸* | ۰/۵۸* | ۰/۹۰** | -۰/۹۰** | ۱ | |
| | ۸ | شاخص مقاومت | -۰/۶۰* | -۰/۰۰۷ | ۰/۰۰۷ | ۰/۰۷ | ۰/۳۸ | -۰/۳۸ | ۰/۳۱ | ۱ |

*، ** و †: معنی‌دار در سطح پنج و یک درصد.

**گروه بندی ژنوتیپ‌ها بر اساس صفات و شاخص مقاومت به دست آمده در شرایط مزرعه:** دندروگرام ژنوتیپ‌های گلرنگ زراعی به کمک نه متغیر بررسی شده در شرایط مزرعه در تصویر (۱) آمده است. براساس این دندروگرام، ژنوتیپ‌های مورد بررسی در چهار گروه قرار گرفته‌اند. گروه اول شامل ژنوتیپ‌های Syrian، II.111، Dinger، HARTHMAN، PI-250537 و 541-5 بود. به جز ژنوتیپ 541-5 سایر ژنوتیپ‌های این گروه از نظر شاخص مقاومت و جزء ژنوتیپ‌های حساس و نامطلوب بوده‌اند. ژنوتیپ 541-5 نیز در صفات دیگر مورد بررسی نظیر درصد سبزشدن و سرعت سبزشدن وضعیت نامطلوبی داشته است. بنابراین این خوشه را می‌توان گروه ژنوتیپ‌های بسیار حساس نامید. در گروه دوم ژنوتیپ‌های Aceteria، LRV-51-51، اراک ۲۸۱۱، LRV-55-255، محلی اصفهان و 34074 قرار گرفتند. از نظر شاخص مقاومت به جز ژنوتیپ 34074 سایر اعضای این گروه وضعیت مطلوبی داشته‌اند، ژنوتیپ 34074 نیز از نظر درصد سبزشدن و سرعت سبزشدن نسبتاً مطلوب بوده است. در نتیجه می‌توان این گروه را نسبتاً حساس نامید.

گروه سوم دندروگرام شامل دو ژنوتیپ زرقان-۲۵۹ و 34040 بود. ژنوتیپ‌های این گروه از نظر شاخص مقاومت وضع مطلوبتری نسبت به دو گروه قبلی داشتند. ژنوتیپ‌های 34040 و زرقان ۲۵۹ به‌ترتیب رتبه‌های سه و دو را از نظر شاخص مقاومت دارا بودند (جدول ۵). بدین‌ترتیب ژنوتیپ‌های این گروه را می‌توان جزء ژنوتیپ‌های نسبتاً مقاوم و این خوشه را گروه نسبتاً مقاوم نامید.گروه چهارم دندروگرام تنها

شامل ژنوتیپ CW-74 بود، که با توجه به شاخص محاسبه شده در گروه حساس‌ها قرار داشت. این ژنوتیپ از نظر سایر صفات ارزیابی‌شده، نیز بسیار متفاوت با سایر ژنوتیپ‌ها بود. نتایج تجزیه خوشه‌ای پهلوانی و همکاران (Pahlavani *et al*, 2006) بر روی ژنوتیپ‌های گلرنگ نشان داد که ژنوتیپ‌های خارجی جزء ژنوتیپ‌های مقاوم به *Pythium* بوده‌اند. احمدی و همکاران (Ahmadi *et al*, 2008) در مطالعات بررسی واکنش ژنوتیپ‌های گلرنگ به *P. ultimum* در شرایط گلخانه چهار گروه مقاوم (ژنوتیپ 34040)، نیمه مقاوم (Syrian، HARTHMAN، Dinger، محلی اصفهان، اراک ۲۸۱۱، زرقان-۲۵۹ و 34074)، نیمه حساس (II.111، ۳۴۰۶۲ و IUTM12) و حساس (PI-250537، Aceteria، LRV-55295، CW-74، 541-5، LRV-51-51) را معرفی نمودند که در مطالعه آنها نیز ژنوتیپ‌هایی با منشأ ایران در دامنه ارقام حساس تا مقاوم قرار داشتند. این نتیجه با نتیجه حاصل شده در این مطالعه تطابق بیشتری داشته است. شصت درصد از ژنوتیپ‌های ایرانی به کاررفته در این مطالعه در گروه حساس قرار گرفتند. دلیل اختلاف در دامنه واکنش ژنوتیپ‌های گلرنگ را می توان به نحوه خسارت‌زنی بیمارگر *P. ultimum* دانست، خسارت این بیمارگر بر روی بذور بیشتر مؤثر است. وجود طیف گوناگونی از ژنوتیپ‌های مقاوم و حساس و واکنش‌های متفاوت به عامل بیماری بیانگر امکان انتخاب و اصلاح ارقام جدید گلرنگ به بیمارگر *P. ultimum* می‌باشد.

## منابع


Abdollahi, M. 1995. Studying of damping off diseases on Fars province. M.Sc Thesis Tarbiat Modarres university, Tehran, Iran. 87p.

Agrios, G.N. 1997. Plant Pathology. 4th. ed. Academic Press. Press. p: 266- 270.

Ahmadi, A. 2008. The study of response safflower genotypes to pathogen caused seedling damping off P.ultimum Trow. M.Sc. Thesis of plant breeding Gorgan University, Iran.

Ahmadi, A., Pahlavani, M.H., Razavi, S.A. and Maghsoodloo, R. 2008. Estimation of safflower genotypes for finding for finding genetic sources of resistance to Pythium. Ultimum. electronical Journals of crop plant production. 1: 1-15.

Alagha, N. 1970. Damping off of safflower. Abstracts of 3th congress Phytopathologycal of Iran. Shiraz.

Altier, N.A., and Thies, J.A. 1995. Identification of Resistance to Pythium Seedling Diseases in Alfalfa Using a Culture Plate Method. Plant Disease. 79:341-346.

Dajue, L. mundel, H. H. 1996. 'Safflower, (*Carthamus tinctorius* L.) 'IPGRI, Italy.

Davia, D.J., Knoweles P.F. and Klisiewisz, J.M. 1981. Evalutation of the World Safflower Collection for Resistance to Phytophthora. Crop Sci. 21: 226-229.

Fisher, R.A. and Maurer, R. 1978. Drought resistance. In spring wheat cultivars. I. grain yield responses Tour. Agric. Res. 29: 897-912.

Forbes, G.A., Ziv, O. and Frederiksen, R.A. 1987. Resistance in Sorghum to seedling disease caused by *Pythium arrhenomanes*. Plant Dis. 71(2):145-148.

Foruzan, K. 1999. Safflower. Oil crops publishment. 150p.

Jamshidmoghadam, M., and pordad, S. 2006. Evaluation of safflower genotypes under humidity stress on controlled conditions and field. Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources. 2:155-168.

Mundel, H.H., Huang, H.C., Kozub G.C. and Barr, D.J.S. 1995. Effect of Soil Moisture and Temperature on Seedling Emergence and Incidence of Pythium Damping_off in Safflower (*Carthamus tinctorius* L.). Can. J. Plant Sci. 75: 505-509.

Pahlavani. M.H., Razavi, S.E. Mirizadeh, I. and vakili, S. 2006. Field Screening of Safflower Genotypes for Resistance to Chacoal Rot Disease. International Journal of Plant Production. 1:45-52.

Palooj, E., Pahlavani, M.H. and razavi, S.A. 2009. Safflower genotypes resistance to Pythium seedling damping off at field conditions. Abstracts of 2th national conference on oilseed Crops. 32p.

Pasban Slam, B. 2004. Yield evaluation and yield component at safflower genotypes without thorn. Iranian Agriculture Science. J. 35:86-874.

Rapheii, F. and Saedi, Gh. 2005. The genetical variety for different agricultural traits on selective lain from native safflower of Iran and foreign genotypes. Iranian Agriculture science J. 2: 91-107.

Sharifnabi, B., and saedi, GH. 2004. Preliminary Evaluation of safflower genotypes proportion to *Fusarium* damping off crop science and nature resource of university. Agricultural Sciences and Natural Resources J. 3: 219-226.

Zeinali, A. 1999. Safflower. Publishment of crop science and nature resource of university. 144p.

Zamaninoor, N., Banihashemi, Z., and mostufizadeh ghalamrasa, R. 2004. Identification and Plant pathology pythium species as root rot of sugar bit in Khuzestan province. Plant diseases J. 40:179-200.