پژوهشنامه گیاهان دانه روغنی ایران
جلد پنجم، شماره اول، ۱۳۹۵
http://ijop.areo.ir

بررسی بیماری‌زایی چهار جدایه قارچ *Macrophomina phaseolina* بر روی چهار ژنوتیپ گلرنگ

محبوبه شیخی[1*]، سیداسماعیل رضوی[2]، محمدهادی پهلوانی[3] و سیدجواد صانعی[4]

[1]دانشجوی سابق کارشناسی‌ارشد بیماری‌شناسی گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان،
[2]استادیار گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، [3]دانشیار گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، [4]مربی گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.

چکیده

قارچ *Macrophomina phaseolina* به بسیاری از گونه‌های زراعی از جمله گلرنگ حمله می‌کند و باعث بیماری پوسیدگی ذغالی می‌شود. این پژوهش با هدف بررسی بیماری‌زایی چهار جدایه قارچ *M. phaseolina* (M_0, M_2, M_5 و M_6) بر روی چهار ژنوتیپ گلرنگ (Acetria، LRV5151، اراک ۲۸۱۱ و ۳۴۰۷۴) در مزرعه دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شد. به همین منظور طول لکه‌ی حاصل از جدایه‌های قارچ مایه‌زنی شده در قسمت پایین ساقه‌ی بوته‌ها اندازه‌گیری شد. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی نامتعادل و در شرایط مزرعه صورت گرفت. براساس نتایج تجزیه واریانس اختلاف معنی‌داری در سطح یک درصد بین جدایه‌ها وجود داشت. هم‌چنین اثر متقابل جدایه در ژنوتیپ در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. در این تحقیق، جدایه‌ی M_2 با داشتن بیشترین طول لکه بر روی هر چهار ژنوتیپ گلرنگ، بالاترین قدرت بیماری‌زایی و جدایه‌ی M_0 با کمترین طول لکه، پایین‌ترین قدرت بیماریزایی را داشتند. در بین ژنوتیپ‌ها ژنوتیپ Acetria نسبت به دو جدایه‌ی M_0 و M_6، ژنوتیپ LRV5151 نسبت به دو جدایه‌ی M_0 و M_5 و ژنوتیپ ۳۴۰۷۴ نسبت به دو جدایه‌ی M_5 و M_6 مقاومت بیشتری نشان دادند. هیچ ژنوتیپ مقاومی نسبت به جدایه‌ی M_2 یافت نشد و تمام ژنوتیپ‌ها در برابر این جدایه حساسیت نشان دادند.

واژه‌های کلیدی: گلرنگ، ژنوتیپ، ارقام مقاوم، *Macrophomina phaseolina*.

*مسئول مکاتبه: mahboobeh.sheikhi@yahoo.com

مقدمه

گلرنگ (*Carthamus tinctorius* L.) گیاهی یک‌ساله و متعلق بـه تیـره‌ی Asteracea اسـت. ایـران یکی از مراکز اصلی تنوع ژنتیکی گلرنگ می‌باشد و این گیاه در آن به‌طور گسترده بـه‌صـورت وحشـی و بومی می‌روید. حضور تنوع ژنتیکی در جمعیت‌های گلرنگ ایرانی در مطالعات مختلف اثبات شده اسـت (Maali-Amiri *et al*., 2001). تنوع ژنتیکی یا به علت تمایز جغرافیـایی و یـا بـه علـت موانـع ژنتیکـی تلقیح‌پذیری است (Bagheri *et al*., 2001). در تولید گلرنگ بیمارگرها همـواره از تهدیـدات جـدی بـه شمار می‌روند. قارچ عامل بیماری پوسیدگی ذغـالی *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid یـک بیمارگر خاک‌زی و بذرزی است با دامنه‌ی میزبانی وسیع در سراسر جهان، ممکن است تـا ۲۵ درصـد از گیاهـان را در مـزارع از بـین ببـرد (Purkayastha *et al*., 2004; Govindappa *et al*., 2005). علایـم بیماری در مراحل اولیه‌ی آلودگی معمولاً مشاهده نمی‌شود. ولی به تدریج باعـث کـاهش رشـد، کلـروز، پژمرده شدن و مرگ گیاه می‌شود (Shaner *et al*., 1999). بیماری پوسیدگی ذغالی گلرنگ، اولین‌بار در سال ۱۹۷۰ از صافی‌آباد خوزستان گزارش شده است (Ershad, 1995). این بیمـاری یکـی از مهم‌تـرین عوامل محدودکننده زراعت گلرنگ در اسـتان گلسـتان محسـوب می‌گـردد (Pahlavani and Razavi, 2007). جدایه‌های مختلـف قـارچ *M. phaseolina* تنـوع ریخت‌شـناختی، بیمـاری‌زایی، فیزیولوژیـک و ژنتیکی بالایی را نشان می‌دهند، به همین خاطر می‌توانند شرایط مختلف محیطـی را تحمـل و دامنـه‌ی وسیعی از گیاهان را آلوده کنند. مطالعات نشان داده است که جدایـه‌های منـاطق مختلـف و هم‌چنـین جدایه‌های قسمت‌های مختلف یک گیاه از نظر قدرت بیماری‌زایی متفاوت هسـتند (Raeyat panah *et al*., 2002). از طرف دیگر اثبات شده است که جدایه‌های قـارچ *M. phaseolina* از نظـر حساسـیت بـه کلرات نیز با هم تفاوت دارند که برای گروه‌بندی جدایه‌های متنوع قارچ که فاقد فـرم جنسـی هسـتند، مفید می‌باشد (Sharbatkhari *et al*., 2000). هم‌چنین توانایی جدایه‌هـای مختلـف از نظـر اسـتفاده از منابع نیتروژنی نیز متفاوت می‌باشد.

این تفاوت ممکن است ناشی از واکنش‌های متابولیکی باشد که منجر به ایجاد اختصاصی شدن میزبان در بین جدایه‌های مختلف می‌شود (Taliey *et al*., 2007). در مطالعه‌ی ادراکی و بنی‌هاشمی (Edraki and Banihashemi, 2010) تنوع در ریخت‌شناختی، خصوصیات کشتی و بیماری‌زایی در میان جدایه‌های *M. phaseolina* جمع‌آوری شده از میزبان‌ها و مناطق جغرافیایی مختلف مشاهده شد. آن‌ها در مطالعه‌ی خود به وجود رابطه‌ای میان میزان رشد، تولید اسکلروت و بیماری‌زایی جدایه‌ها پی بردند که بر اساس آن، جدایه‌هایی که دارای رشد کند و تعداد اسکلروت کم بودند، روی گیاهان بسیار حساس به *M. phaseolina* غیربیماری‌زا شناخته شدند. پورکایاستا و همکاران (Purkayastha *et al*., 2004) گزارش کردند که جدایه‌هایی از *M. phaseolina* که کمتر میکرواسکلروت تولید می‌کنند، بیماری‌زایی کمتری

روی خوشه لوبیا دارند. ارزیابی ژنوتیپ‌های گلرنگ برای یافتن مقاومت به بیماری‌های مختلف همواره مورد توجه محققین بوده است، به‌طوری‌که بعضی از ژنوتیپ‌های ایرانی به عنوان لاین‌های مقاوم به بیماری پوسیدگی ریشه جهت تولید ارقام مقاوم مورد استفاده قرار گرفته‌اند (Pahlavani *et al*., 2007). وجود تنوع بیماری‌زایی بالا در بین جدایه‌های مختلف قارچ *M. phaseolina* امکان شناسایی ژنوتیپ‌های مقاوم به بیماری پوسیدگی ذغالی را با مشکل مواجه کرده است (Todd *et al*., 1987). همتی و همکاران (Hemmati *et al*., 2014) در مطالعه‌ی خود برای تعیین سطوح مقاومت ارقام سویا طول لکه‌ی ایجاد شده توسط قارچ *M. phaseolina* را بر روی ساقه‌ی ژنوتیپ‌های سویا اندازه‌گیری کردند. ناصحی و همکاران (Nasehi *et al*., 2009) مقاومت نسبی ژنوتیپ‌های گلرنگ به بیماری بوته‌میری فوزاریومی را با اندازه‌گیری طول زخم بر روی ریشه مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج آن‌ها نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین ژنوتیپ‌ها از نظر واکنش به بیماری در شرایط آزمایشگاه و گلخانه وجود داشت. پهلوانی و همکاران (Pahlavani *et al*., 2007) در ارزیابی مزرعه‌ای ۱۹ ژنوتیپ گلرنگ به *M. phaseolina* قطر پائین ساقه را به عنوان شاخصی برای انتخاب مستقیم ژنوتیپ‌های مقاوم در گلرنگ معرفی کردند و براین اساس ژنوتیپ‌ها به نیمه مقاوم و حساس گروه‌بندی شدند. اینگل و همکاران (Ingle *et al*., 2004) ثبت کردند که ارقام گلرنگ یعنی AKS-152 و AKS-68 در برابر پوسیدگی ذغالی تحت مایه‌زنی مصنوعی مقاومت نشان دادند، در حالی که هیچ یک از ارقام مقاوم نبودند. با توجه به این که بیماری پوسیدگی ذغالی گلرنگ عملکرد و کیفیت محصول را تحت تأثیر قرار می‌دهد، شناسایی قارچ عامل بیماری و بررسی بیماری‌زایی آن‌ها روی ژنوتیپ‌های گلرنگ و هم‌چنین شناسایی نحوه‌ی واکنش ژنوتیپ‌های مختلف این گیاه نسبت به این بیماری می‌تواند در شناسایی روش‌های مناسب کنترل از جمله ایجاد ارقام مقاوم و یا متحمل و در نهایت رواج کشت گلرنگ مفید باشد.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش تعداد چهار جدایه از قارچ *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid استفاده گردید. سه جدایه‌ی جهش‌یافته‌ی (واکنش به کلرات) M_2، M_5 و M_6 از مجموعه‌ی قارچ‌های موجود در آزمایشگاه گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان استفاده شد و یک جدایه وحشی M_0 از گیاه کنجد مزارع ایستگاه تحقیقاتی هاشم‌آباد گرگان جداسازی گردید. مشخصات چهار ژنوتیپ گیاه گلرنگ مورد استفاده در این تحقیق عبارت بودند از Acetria با منشاء کانادا، LRV5151 با منشاء ایران، اراک ۲۸۱۱ با منشاء ایران و ۳۴۰۷۴ با منشاء نامشخص.

به‌منظور بررسی بیماری‌زایی جدایه‌های قارچ بر روی ژنوتیپ‌های گلرنگ، ابتدا بذور چهار ژنوتیپ

گلرنگ با محلول هیپوکلریت سدیم[1] ۰/۵ درصد به‌مدت ۳ دقیقه ضدعفونی و به‌صورت ردیفی در بخشی از مزرعه‌ی شماره‌ی یک آموزشی و پژوهشی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان در اردیبهشت سال ۱۳۹۴ کشت گردیدند. مایه‌زنی چهار جدایه‌ی بیمارگر در محل طوقه‌ی بوته‌های دارای ۲۰ تا ۳۰ سانتی‌متر ارتفاع صورت گرفت. جهت مایه‌زنی از پرگنه‌ی ده روزه قارچ مورد نظر (رشد یافته روی محیط کشت سیب‌زمینی- دکستروز- آگار[2]) استفاده گردید. ابتدا با چوب‌پنبه سوراخ‌کن قطعاتی به قطر ۵ میلی‌متر از پرگنه دارای ریسه و میکرواسکلروت قارچ تهیه و سپس مایه‌زنی صورت گرفت. برای مایه‌زنی ابتدا در قسمت پایین ساقه‌ی بوته‌ها خراش کوچکی ایجاد گردید و پس از قرار دادن ماده‌ی آلودگی سطح آن با پارافیلم پوشانیده شد. در تیمار شاهد ماده‌ی آلودگی شامل محیط کشت فاقد قارچ بود. ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ روز بعد از آلوده‌سازی، طول لکه ایجاد شده در نتیجه‌ی آلودگی توسط بیمارگر، با خط‌کش اندازه‌گیری شد (Purkayastha *et al*., 2006). با توجه به این‌که جدایه‌های بیماری‌زا باعث ایجاد تغییر رنگ و لکه روی طوقه‌ی گیاه می‌شوند و طول لکه‌های ایجاد شده با حساسیت گیاه رابطه‌ی مستقیم دارد (Sharifnabi and Saeidi 2004)، میزان مقاومت و یا حساسیت ژنوتیپ‌های مورد بررسی با مقایسه‌ی بوته‌های مایه‌زنی شده با بوته‌های شاهد از نظر میزان تغییر رنگ سطح پوست (میزان سیاه‌شدگی) و طول لکه مورد ارزیابی و نمره‌دهی قرار گرفتند (Pahlavani and Razavi, 2007). این نمره‌دهی شامل: صفر (بدون علائم)، یک (۱ تا ۳ درصد تغییر رنگ سطح پوست طوقه)، ۲ (۱۰ درصد)، ۳ (۲۵ درصد)، ۴ (۵۰ درصد) و ۵ (بیش از ۷۵ درصد) بود. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی نامتعادل در قالب اسپلیت پلات در زمان با هشت تیمار انجام گردید. در ضمن هر بوته به عنوان یک تکرار و تعداد تکرارها بین ۱۰ تا ۱۷ عدد متغیر بود. برای شناسایی قوی‌ترین و ضعیف‌ترین جدایه از نظر قدرت بیماری‌زایی و هم‌چنین مقاوم‌ترین ژنوتیپ، مقایسه میانگین طول لکه در سطح هر فاکتور به طور جداگانه انجام گرفت. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS صورت گرفت و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح هر فاکتور به طور جداگانه در سطح اطمینان پنج درصد انجام شد. هم‌چنین به منظور رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده گردید.

نتایج و بحث

علایم بیماری: اولین علایم بیماری در مزرعه به‌صورت لکه‌های زرد کم‌رنگ در سطح ساقه و ضعف عمومی بوته‌ها ظاهر گردید. این علایم در مرحله گل‌دهی به حداکثر میزان خود رسیدند. بر روی ساقه

1. Sodium hypoclorite
2. Potato Dextrose Agar (PDA)

و طوقه‌ی بوته‌های مایه‌زنی شده لکه‌های کشیده به رنگ قهوه‌ای تا خاکستری نمایان شد. با افزایش شدت بیماری، لکه‌ها به رنگ خاکستری تیره درآمدند و اندام‌های هوایی بوته‌های آلوده دچار رنگ پریدگی شده و در نهایت خشک شدند (شکل ۱). با پیشرفت بیماری، قسمت چوب‌پنبه‌ای داخل ساقه به رنگ سیاه تغییر نمود و دانه‌های ریز میکرواسکلروت در سطح آن نمایان گردید (شکل ۲). با کشت مجدد از بوته‌های دارای علایم، همان بیمارگر مایه‌زنی شده جداسازی شد. علایم بیماری در اواسط تابستان در دمای ۳۵-۲۸ درجه سانتی‌گراد و رطوبت پایین خاک ظاهر می‌شود و در دماهای پایین مشهود نیست (Sinclair and Backman, 1989). در این مطالعه نیز در ماه‌های تیر و مرداد که تنش رطوبتی و حرارت نسبتاً بالا بود بیشترین میزان آلودگی مشاهده گردید. در مطالعه‌ی پهلوانی و رضوی (Pahlavani and Razavi, 2007) نیز بیشترین میزان آلودگی ژنوتیپ‌های گلرنگ در ماه‌های گرم تیر و مرداد بود.

شکل ۱- علایم بیماری پوسیدگی ذغالی بر روی گیاه گلرنگ در مزرعه.
راست: گیاه شاهد (بدون لکه روی ساقه)، چپ: گیاه آلوده (دارای لکه روی ساقه).

شکل ۲- علایم بیماری پوسیدگی ذغالی در قسمت داخلی ساقه‌ی گلرنگ. راست: بافت داخلی ساقه گیاه شاهد (بدون تغییر رنگ و میکرواسکلروت)، چپ: بافت داخلی ساقه‌ی گیاه آلوده (دارای تغییر رنگ و میکرواسکلروت)

بررسی اثر متقابل جدایه در ژنوتیپ و اثر متقابل ژنوتیپ در زمان: تجزیه واریانس لکه‌های ایجاد شده توسط چهار جدایه قارچ *M. phaseolina* بر روی چهار ژنوتیپ گیاه گلرنگ در جدول ۱ نشان داده شده است. با توجه به نتایج تجزیه واریانس اختلاف معنی‌داری در سطح یک درصد بین جدایه‌ها از نظر بیماری‌زایی وجود داشت. مطالعات نشان داده است که جدایه‌های مناطق مختلف و هم‌چنین جدایه‌های قسمت‌های مختلف یک گیاه از نظر قدرت بیماری‌زایی متفاوت هستند (Raeyat panah *et al*., 2002). هم‌چنین اثر متقابل جدایه × ژنوتیپ در سطح احتمال یک درصد و اثر متقابل ژنوتیپ × زمان در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود. اثر متقابل جدایه× ژنوتیپ و ژنوتیپ× زمان معنی‌دار بود (جدول ۱). این نتایج با مطالعه همتی و همکاران (Hemmati *et al*., 2014) مطابقت دارد.

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس لکه‌های ایجاد شده توسط چهار جدایه‌ی قارچ *M. phaseolina* بر روی چهار ژنوتیپ گلرنگ.

منبع تغییرات	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	F	Pr > F
زمان	۹۵/۳۶	۳	۳۱/۷۸	۳۵/۱۳**	<۰/۰۰۰۱
جدایه	۱۳۰/۴۳	۳	۴۳/۴۷	۴۸/۰۵**	<۰/۰۰۰۱
ژنوتیپ	۲/۱۴	۳	۰/۷۱	۰/۷۹ns	۰/۴۹۹۹
جدایه × ژنوتیپ	۴۲/۵۱	۹	۴/۷۲	۵/۲۲**	<۰/۰۰۰۱
جدایه × زمان	۶/۵۶	۹	۰/۷۲	۰/۸۱ns	۰/۶۱۱۰
ژنوتیپ × زمان	۱۵/۸۰	۹	۱/۷۵	۱/۹۴*	۰/۰۴۳۵
ژنوتیپ × زمان × جدایه	۳۴/۴۶	۲۷	۱/۲۷	۱/۴۱ns	۰/۰۸۱۷
خطا	۶۶۹/۵۴	۷۴۰	۰/۹۰		
کل	۱۰۰۴/۹۱	۸۰۳			

** و *: به‌ترتیب نشان‌دهنده اثر معنی‌دار منبع تغییر مربوطه در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد هستند. ns: نشان‌دهنده معنی‌دار نبودن اثر منبع تغییر مربوطه است.

نتایج مقایسه میانگین طول لکه‌ی ایجاد شده توسط جدایه‌های قارچ *M. phaseolina* بر روی ژنوتیپ‌های گلرنگ نشان داد که جدایه M_0 روی ژنوتیپ ۳۴۰۷۴ بیشترین و روی دو ژنوتیپ LRV5151 و Acetria کمترین طول لکه را دارا بودند. طول لکه حاصل از جدایه‌ی M_2 بر روی هر چهار ژنوتیپ گلرنگ با یکدیگر تفاوت معنی‌داری نداشتند. جدایه‌ی M_5 روی سه ژنوتیپ اراک ۲۸۱۱، Acetria و LRV5151 بیشترین طول لکه را داشتند. جدایه‌ی M_6 بر روی دو ژنوتیپ LRV5151 و اراک ۲۸۱۱ بیشترین و بر روی دو ژنوتیپ ۳۴۰۷۴ و Acetria کمترین طول لکه را ایجاد کردند (جدول ۲). با توجه به این که طول لکه‌ی حاصل از جدایه M_2 بر روی هر چهار ژنوتیپ گلرنگ با یکدیگر تفاوت

معنی‌داری نداشتند و بیشترین طول لکه نیز توسط جدایه‌ی M_2 بر روی هر چهار ژنوتیپ گلرنگ ایجاد شد، می‌توان نتیجه گرفت که این جدایه بالاترین قدرت بیماری‌زایی را نسبت به جدایه‌های دیگر بر روی ژنویپ‌های گلرنگ داشت و هر چهار ژنوتیپ در برابر این جدایه بیشترین حساسیت را نشان دادند. بر اساس نتایج به‌دست آمده، کمترین طول لکه توسط جدایه‌ی M_0 در ژنوتیپ LRV5151 ایجاد شد (جدول ۲). با توجه به این نتیجه و با در نظر گرفتن میانگین طول لکه‌های ژنوتیپ‌ها در هر جدایه، می‌توان نتیجه گرفت که جدایه‌ی M_0 پایین‌ترین قدرت بیماری‌زایی را نسبت به جدایه‌های دیگر داشت. در مطالعه‌ی همتی و همکاران (Hemmati *et al*., 2014) نیز بیماری‌زایی ۳۲ جدایه‌ی قارچ *M. phaseolina* در شرایط درون شیشه‌ای مورد بررسی قرار گرفت، در بین جدایه‌های مختلف از نظر شاخص بیماری‌زایی اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد وجود داشت و جدایه‌های $Se._{11}$، $Se._{17}$، $Su._{22}$، $Sb._{31}$ و $Sb._{32}$ بالاترین و جدایه‌ی $So._{2}$ پایین‌ترین شاخص بیماری‌زایی را نشان دادند. نتایج واصبی و صفایی (Vasebi and Safai, 2013) نشان داد که جدایه‌های M_{21} و M_{30} قارچ *M. phaseolina* با بیشترین درصد پوسیدگی ریشه، بالاترین قدرت بیماری‌زایی را داشتند. هم‌چنین در تحقیق فرناندز و همکاران (Fernandez *et al*., 2006) جدایه‌های *M. phaseolina* تنوع بالایی از بیماری‌زایی را در بین جدایه‌هایی از گونه‌های مختلف میزبان نشان دادند.

جدول ۲- نتایج مقایسه میانگین طول لکه‌های (سانتی‌متر) ایجاد شده توسط جدایه‌های قارچ *M. phaseolina* بر روی چهار ژنوتیپ گلرنگ در مزرعه.

ژنوتیپ / جدایه	Acetria	LRV5151	Arak 2811	۳۴۰۷۴
M_0	۲/۱۹bc(bc)	۱/۹۹c(c)	۲/۳۶b(b)	۲/۷۹a(b)
M_2	۳/۴۷a(a)	۳/۴۳a(a)	۳/۲۰a(a)	۳/۳۷a(a)
M_5	۲/۶۰a(b)	۲/۴۴ab(bc)	۲/۶۹a(b)	۲/۱۲b(c)
M_6	۲/۰۸c(c)	۲/۸۱a(b)	۲/۶۹ab(b)	۲/۳۷bc(c)

میانگین‌ها با حرف‌های مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار هستند. حروف خارج از پرانتز (در هر ردیف) مقایسه میانگین سطوح ژنوتیپ‌های گلرنگ در هر سطح از جدایه‌ی قارچ *M. phaseolina* و حروف داخل پرانتز (در هر ستون) مقایسه میانگین سطوح جدایه‌های قارچ *M. phaseolina* در هر سطح از ژنوتیپ گلرنگ را نشان می‌دهد.

مقایسه میانگین طول لکه ایجاد شده توسط جدایه‌های قارچ *M. phaseolina* بر روی قسمت‌های پایین ساقه‌ی ژنوتیپ‌های گلرنگ نشان داد که جدایه‌ی M_0 بر روی ژنوتیپ ۳۴۰۷۴ با میانگین ۲/۷۹ سانتی‌متر بیشترین (حساس‌ترین) و روی دو ژنوتیپ LRV5151 و Acetria به‌ترتیب با میانگین ۱/۹۹ و ۲/۱۹ سانتی‌متر کمترین (مقاوم‌ترین) طول لکه را بر روی ساقه دارا بودند. جدایه M_5 بر روی دو ژنوتیپ اراک ۲۸۱۱ و Acetria به ترتیب با میانگین ۲/۶۹ و ۲/۶۰ سانتی‌متر طول لکه، حساس‌ترین و

روی دو ژنوتیپ ۳۴۰۷۴ و LRV5151 با میانگین ۲/۱۲ و ۲/۴۴ سانتی‌متر طول لکه مقاوم‌ترین ژنوتیپ‌ها بودند. هم‌چنین دو ژنوتیپ LRV5151 و اراک ۲۸۱۱ با میانگین ۲/۸۱ و ۲/۶۹ سانتی‌متر طول لکه حساس‌ترین و دو ژنوتیپ ۳۴۰۷۴ و Acetria با میانگین ۲/۳۷ و ۲/۰۸ سانتی‌متر طول لکه مقاوم‌ترین ژنوتیپ‌ها در برابر جدایه‌ی M_6 بودند. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که ژنوتیپ Acetria نسبت به دو جدایه M_0 و M_6، ژنوتیپ LRV5151 نسبت به دو جدایه‌ی M_0 و M_5 و ژنوتیپ ۳۴۰۷۴ نسبت به دو جدایه‌ی M_5 و M_6 مقاوم بودند.

براساس نتایج به‌دست آمده، ژنوتیپ LRV5151 با کمترین طول لکه (۱/۹۹ سانتی‌متر) مقاوم‌ترین ژنوتیپ در برابر جدایه‌ی M_0 بود. در این پژوهش هیچ ژنوتیپ مقاومی نسبت به جدایه‌ی M_2 مشاهده نشد و تمام ژنوتیپ‌ها در برابر این جدایه حساسیت نشان دادند. در مطالعه‌ی حاضر طول لکه‌ی حاصل از جدایه‌ها بر روی ساقه‌ی ژنوتیپ‌های گلرنگ ملاک میزان بیماری‌زایی جدایه‌ها بر روی گیاه میزبان بود که با مطالعه‌ی همتی و همکاران (Hemmati *et al*., 2014) مطابقت دارد. در مطالعه‌ی همتی و همکاران (Hemmati *et al*., 2014) ژنوتیپ‌های هاچستون و L.17 به ترتیب با میانگین ۱۷ و ۴۹/۵ میلی‌متر در روش ساقه بریده و ۱۴/۵ و ۶۰/۷۵ میلی‌متر در روش خلال دندان، کمترین (مقاوم‌ترین) و بیشترین (حساس‌ترین) طول لکه را نشان دادند. هم‌چنین ناصحی و همکاران (Nasehi *et al*., 2009) در مطالعه خود گزارش کردند که رقم کوسه و لاین KW_{11} گلرنگ به‌ترتیب با میانگین ۱۳/۲۹ و ۹/۳۱ میلی‌متر بیشترین (حساس‌ترین) و کمترین (مقاوم‌ترین) طول زخم ایجاد شده توسط *F. solani* را روی ریشه داشتند. در مطالعه‌ی شریف‌نبی و سعیدی (Sharifnabi and Saeidi, 2004) مقاوم‌ترین و حساس‌ترین ژنوتیپ‌های گلرنگ به *F. solani* به‌ترتیب لاین‌های IUTE14310 و IUTE121 با میانگین نکروزه شدن ۹/۶۷ و ۲۸/۳۳ میلی‌متر و میزان مرگ و میر ۳۲ و ۷۰ درصد بودند. پهلوانی و همکاران (Pahlavani *et al*., 2007) نیز همانند این مطالعه در ارزیابی مزرعه‌ای ۱۹ ژنوتیپ گلرنگ به *M. phaseolina* قطر پائین ساقه را که با طول و عرض زخم در نقطه‌ی ورود اینوکلوم در گل‌دهی و مراحل بلوغ و عمق لکه در ساقه ارتباط معنی‌داری داشت به عنوان شاخصی برای انتخاب مستقیم ژنوتیپ‌های مقاوم در گلرنگ معرفی کردند و نشان دادند که در بین ارقام مورد مطالعه ارقام مقاوم وجود نداشت، بلکه ژنوتیپ‌ها به نیمه مقاوم و حساس گروه‌بندی شدند و ژنوتیپ‌های نیمه مقاوم IUT-K115، GUA-Va16، CW-74 و AC-Stirling را برای بهبود مقاومت ژنوتیپ‌های گلرنگ در برنامه‌های اصلاحی پیشنهاد نمودند. نتایج به‌دست آمده در این تحقیق نشان داد که در بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه ژنوتیپ کاملاً مقاومی وجود نداشت، نتایج این پژوهش با کارهای پهلوانی و همکاران (Pahlavani *et al*., 2007) و اینگل و همکاران (Ingle *et al*., 2004) مطابقت دارد. پهلوانی و رضوی (Pahlavani and Razavi, 2007) در پژوهش خود با استفاده از روش راف و احمد (Ravf and

(Ahmad, 1998) سه ژنوتیپ گلرنگ IUTC129، Saffire و AC-Stirling را از نظر نحوه‌ی واکنش به عامل بیماری‌زای پوسیدگی ذغالی به ترتیب مقاوم، نیمه حساس و حساس گروه‌بندی کردند.

مقایسه میانگین طول لکه ایجاد شده در چهار ژنوتیپ گلرنگ در زمان‌های ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ روز بعد از مایه‌زنی نشان داده است که هر چهار ژنوتیپ گلرنگ در زمان ۴۰ روز بعد از مایه‌زنی بیشترین طول لکه و در زمان ۱۰ روز بعد از مایه‌زنی کمترین طول لکه را داشتند (جدول ۳). ولی با این وجود در زمان ۱۰ روز بعد از مایه‌زنی، سه ژنوتیپ Acetria، ۳۴۰۷۴ و اراک ۲۸۱۱، در زمان ۲۰ روز، ژنوتیپ‌های LRV5151، اراک ۲۸۱۱ و Acetria، در زمان ۴۰ روز، ژنوتیپ‌های ۳۴۰۷۴، اراک ۲۸۱۱ و LRV5151 بیشترین طول لکه را نشان دادند. اما در زمان ۳۰ روز بعد از مایه‌زنی، بین ژنوتیپ‌ها از لحاظ طول لکه اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. علایم بیماری پوسیدگی ذغالی در بخش هوایی گیاه در مراحل اولیه‌ی آلودگی معمولاً مشاهده نمی‌شود. با این حال، در مراحل بعدی، از بین رفتن تدریجی سیستم ریشه باعث کاهش رشد، کلروز، پژمرده شدن و مرگ گیاه می‌شود (Shaner *et al*., 1999). دمای بالا در اواسط و اواخر فصل زراعی و تنش خشکی به دنبال آن، در طغیان بیماری نقش مهمی دارد (Daneshian and Rahmanpour, 1995). با توجه به روند ایجاد علایم، همه‌ی ژنوتیپ‌های گلرنگ در زمان ۴۰ روز بعد از مایه‌زنی بیشترین طول لکه و در زمان ۱۰ روز بعد از مایه‌زنی کمترین طول لکه را نشان دادند که مورد انتظار بود.

جدول ۳- مقایسه میانگین طول لکه‌های (سانتی‌متر) ژنوتیپ‌های مختلف گلرنگ در سطوح زمان.

زمان / ژنوتیپ	۱۰ روز بعد از مایه‌زنی	۲۰ روز بعد از مایه‌زنی	۳۰ روز بعد از مایه‌زنی	۴۰ روز بعد از مایه‌زنی
Acetria	۲/۲۸b(a)	۲/۴۷ab(ab)	۲/۸۵a(a)	۲/۸۷a(b)
LRV5151	۲/۰۰b(b)	۲/۸۴a(a)	۲/۸۷a(a)	۳/۱۳a(ab)
Arak 2811	۲/۱۱c(ab)	۲/۷۴b(ab)	۲/۷۵b(a)	۳/۲۸a(a)
۳۴۰۷۴	۲/۲۰c(ab)	۲/۳۷c(b)	۲/۷۳b(a)	۳/۳۰a(a)

میانگین‌ها با حرف‌های مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار هستند. حروف خارج از پرانتز (در هر ردیف) مقایسه میانگین سطوح زمان در هر سطح از ژنوتیپ گلرنگ و حروف داخل پرانتز (در هر ستون) مقایسه میانگین سطوح ژنوتیپ‌های گلرنگ در هر سطح از زمان را نشان می‌دهد.

منابع

Bagheri, A., Yazdi-Samadi, B., Taeb, M., and Ahmadi, M.R. 2001. A study of genetic diversity in landrace populations of safflower in Iran. (In Persian with English Abstract.) Iranian Journal of Agricultural Sciences. 32(2): 447-456.

Daneshian, J., and Rahmanpour, S. 1995. Effect of planting dates on *Macrophomina phaseolina* in commercial hybrids of sunflower. Proceedings of the 16th Iranian Plant Protection Conference. Tabriz. Iran. p: 185.

Edraki, V., and Banihashemi, Z. 2010. Phenotypic diversity among isolates of *Macrophomina phaseolina* and its relation to pathogenicity. (In Persian, with English Abstract.) Iranian Journl of Plant Pathology. 46(4): 93-100.

Ershad, J. 1995. Fungi of Iran. Tehran: Ministry of Agriculture, Agricultural Research, Education and Extension Organization. 888 p.

Fernandez, R.B., De Santiago, A., Delgado, S.H., and Perez, N.M. 2006. Characterization of Mexican and non-Mexican isolates of *Macrophomina phaseolina* based on morphological characteristics, pathogenicity on bean seeds and endoglucanase gene. Journal of Plant Pathology. 88: 1-12.

Govindappa, M., Lokesh, S., and Rai, V.R. 2005. A new stem splitting symptom in safflower caused by *Macrophomina phaseolina*. Phytopathology. 153: 560-561.

Hemmati, P., Zafari, D., Mahmudi, S.B., and Hashemi, M. 2014. Pathogenic variation of *Macrophomina phaseolina* isolates and resistance of soybean genotypes to the fungus in vitro and greenhouse conditions. (In Persian with English Abstract.) Journal of Seed and Plant Improvement. 1-30(1): 207-220.

Ingle, V.N., Deshmukh, V.V., Jiotode, D.J., Chore, N.S., and Dhawad, C.S. 2004. Screening of safflower varieties against root rot (*Rhizoctonia bataticola*). Research on Crops. 5(1): 113-114.

Maali-Amiri, R.M., Yazdi-Samadi, B., Ghannadha, M.R., and Abd-Mishani, C. 2001. Detection of DNA polymorphism in landrace populations of safflower in Iran using RAPD-PCR technique. (In Persian with English Abstract) Iranian Journal of Agricultural Sciences. 32(4): 737-745.

Nasehi, A., Shafizadeh, Sh., Rezai, S., and Shahsavari, M.R. 2009. Evaluation of relative resistance of safflower (*Carthamus tintorius* L.) genotypes to *Fusarium* root rot disease in isfahan province. (In Persian, with English Abstract) Journal of Seed and Plant Improvement. 1-25(4): 623-634.

Pahlavani, M.H., and Razavi, S.E. 2007. Isolation of *Macrophomina phaseolina*, the causal agent of charcoal rot disease and determination of reaction mode in some safflower genotypes. (In Persian, with English Abstract.) Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources. 14(2): 157-164.

Pahlavani, M.H., Razavi, S.E., Mirizadeh, I., and Vakili, S. 2007. Field screening of safflower genotypes for resistance to charcoal rot disease. International Journal of Plant Production. 1(1): 45-52.

Purkayastha, S., Kaur, B., Dilbaghi, N., and Chaudhury, A. 2004. Cultural and pathogenic variation in the charcoal rots pathogen from clusterbean. Annals Agricultural Biological Research. 9(2): 217-221.

Purkayastha, S., Kaur, B., Dilbaghi, N., and Chaudhury, A. 2006. Characterization of *Macrophomina phaseolina*, the charcoal rot pathogen of clusterbean, using conventional techniques and PCR-based molecular markers. Plant Pathology. 55(1): 106-116.

Raeyat panah, S., Foroutan, A., and Oladi, M. 2002. Evaluation of soybean cultivars to charchoal rot caused by *Macrophomina phaseoli* in mazandaran. Proceeding of the 15th Iranian Plant Protection Congress. Isfahan. Iran. p: 101.

Ravf, B.A., and Ahmad, I. 1998. Studies on correlation of seed infection to field incidence of *Alternaria alternata* and *Macrophomina phaseolina* in sunflower. Proceeding of the 13th Iranian Plant Protection Congress. Karaj. Iran. p: 113.

Shaner, G., Abney, S., and Scott, D. 1999. Charcoal rot of soybeans. Purdue University. Department of Botany and Plant Pathology. W. Lafayette. Available at http://www.lgseeds.com/LG_Tech2/resources/ charcoalrotPU.pdf (accessed June 2012).

Sharbatkhari, M., Taliey, F., Razavi, S.E., and Sanei, S.J. 2000. The Evidence for Spesific Morphological Chracteristics in some Isolates of *Macrophomina phaseolina*. Proceeding of the 15th Iranian Plant Protection Congress. Isfahan. Iran. p. 173.

Sharifnabi, B., and Saeidi, G. 2004. Preliminary evaluation of different genotypes of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) to *Fusarium* root rot disease. (In Persian, with English Abstract.) Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources. Water and Soil Science. 8(3): 219-227.

Sinclair, J.B., and Backman, P.A. 1989. Compendium of soybean diseases. The American Phytopathologyical Society. p: 30-33.

Taliey, F., Sanei, S.J., and Razavi, S.E. 2007. Study of various chlorate reactions in the isolates of *Macrophomina phaseolina.* (In Persian, with English Abstract.) Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources. 14(3): 140-147.

Todd, T., Pearson, C., and Schwenk, F. 1987. Effect of *Heterodera glycines* on charcoal rotseverity in soybean cultivars resistant and susceptible to soybean cyst nematode. Journal of Nematology. 19: 35-39.

Vasebi, Y., and Safai, N. 2013. Reaction to chlorate in different isolates *Macrophomina phaseolina* and its relationship with pathogenicity isolates. (In Persian with English Abstract.) Iranian Journal of Plant Pathology. 1(4): 69-79.