



اینجمن علمی و امداد و اصلاح بیانات ایران

مجله الکترونیک تولید گیاهان زراعی  
جلد اول، شماره اول، بهار ۱۳۸۷  
[www.ejep.info](http://www.ejep.info)



## ارزیابی ژنوتیپ‌های گلنگ به منظور یافتن منابع ژنتیکی مقاومت به بیماری مرگ گیاهچه (*Pythium ultimum*)

آزاد احمدی<sup>۱\*</sup>، محمدهدایی پهلوانی<sup>۲</sup>، سید اسماعیل رضوی<sup>۳</sup> و راحله مقصودلو<sup>۴</sup>

<sup>۱,۲,۳</sup>به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد رشته اصلاح نباتات، عضو هیأت علمی و دانش آموخته

رشته بیماری‌های گیاهی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

تاریخ دریافت: ۱۳۸۷/۱۲/۱۶؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۷/۲/۲۰

### چکیده

بیماری مرگ گیاهچه ناشی از قارچ *Pythium ultimum* یکی از بیماری‌های مهم گلنگ در ایران می‌باشد. نظر به اهمیت بیماری، در سال ۱۳۸۵ از گیاهان دارای علائم مشکوک در مزرعه تحقیقاتی دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان پرگنه‌های قارچی جدا گردید که پس از جداسازی و اثبات بیماری‌زایی، قارچ *Pythium ultimum* تشخیص داده شد. در سال ۱۳۸۶ ارزیابی واکنش ۱۷ ژنوتیپ گلنگ با نام‌های محلی اصفهان، زرقان-۲۵۹، اراک-۲۸۱۱، Syrian، Dinger-۵۱، LRV-۵۵-۲۹۵، Hartman-۱۱۱، Aceteria-۷۴، CW-۷۴، JL-۱۱۱، PI-۲۵۰۵۳۷، ۵۴۱-۵، LRV-۵۱، IUTM۱۲، ۳۴۰۶۲، ۳۴۰۷۴ و ۳۴۰۴۰ نسبت به این قارچ صورت گرفت. آزمایش بصورت کرت‌های خرد شده در قالب طرح پایه بلوك کامل تصادفی با دو محیط به عنوان فاکتور اصلی (آلوده و استریل)، ژنوتیپ (۱۷ ژنوتیپ) به عنوان فاکتور فرعی و ۴ تکرار در محیط حوله کاغذی انجام شد. مایه‌زنی مصنوعی با استفاده از سوسپانسیون آسپیور قارچ عامل بیماری با غلظت  $10^5$  انجام گردید. در محیط استریل درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی بذور و وزن خشک گیاهچه و در محیط آلوده درصد جوانه‌زنی، درصد جوانه زنی واقعی، تعداد گیاهچه بیمار و تعداد بذور جوانه نزد همه ژنوتیپ‌ها متفاوت بودند.

\* مسئول مکاتبه: [hpahlavani@yahoo.com](mailto:hpahlavani@yahoo.com)

تعیین گردید. نتایج آزمایش نشان داد که تفاوت معنی داری بین ژنوتیپ‌ها از لحاظ تمام صفات و عکس العمل به بیماری وجود داشت. مقایسه میانگین صفات مورد بررسی نشان داد که ژنوتیپ Dinger با ۷۹/۷ درصد بیشترین درصد جوانه‌زنی واقعی در محیط آلوده و ژنوتیپ‌های ۳۴۰/۶۲ و محلی اصفهان بهترتبه با ۲۴/۴ و ۱۴/۲ درصد در رتبه بعدی قرار داشتند. کمترین تعداد گیاهچه بیمار Dinger در محیط آلوده مربوط به ژنوتیپ‌های IL-111 (۶/۳ گیاهچه) و ۳۴۰/۶۲ (۶/۸ گیاهچه) و ۸/۳ (گیاهچه) بود. بطورکلی نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که مواد اصلاح شده غیر بومی منبع بسیار مناسبی برای ژن‌های مقاومت به بیماری مرگ گیاهچه می‌باشند. همچنین برخی از ژنوتیپ‌های ایرانی از نظر جوانه‌زنی و خصوصیات مربوط به آن ضعیف بوده ولی از لحاظ مقاومت به بیماری مرگ گیاهچه برتر از سایر ژنوتیپ‌های موجود در این مطالعه بودند. بنابراین می‌توان ژنوتیپ‌های Dinger محلی اصفهان و ۳۴۰/۶۲ را در برنامه‌های اصلاحی گلنگ برای تولید ارقام مقاوم به بیماری مرگ گیاهچه مورد استفاده قرار داد.

**واژه‌های کلیدی:** بذر، جوانه‌زنی، حساسیت، مقاومت، زئوسپور.

## مقدمه

گلنگ با نام علمی *Carthamus tinctorius* L. یکی از گیاهان دانه روغنی است که احتمالاً از هندوستان، ترکیه و ایران منشاء گرفته است؛ بطوریکه ایران از لحاظ ذخایر ژنتیکی گلنگ یکی از غنی‌ترین مناطق جهان بشمار می‌رود. دانه گلنگ دارای ۲۵ تا ۴۵ درصد روغن و ۱۲ تا ۲۴ درصد پروتئین می‌باشد (زینلی، ۱۹۹۹). علاوه بر تولید روغن، کنجاله آن نیز نقش مهمی در غذای دام‌ها و طیور دارد. یکی از مشکلات اصلی در تولید گلنگ بیماری‌های گوناگون این گیاه می‌باشد. بیماری‌های مختلف گیاهچه‌ای نظیر پوسیدگی بذر، مرگ گیاهچه قبل و یا پس از سبز شدن، آلوگی ریشه و محور زیر لپه از مهم‌ترین بیماری‌های این گیاه گزارش شده است (پهلوانی و همکاران، ۲۰۰۶). ارزیابی ژنوتیپ‌های گلنگ برای یافتن مقاومت به بیماری‌های مختلف همواره مورد توجه محققین بوده است، به طوری که بعضی از ژنوتیپ‌های ایرانی به عنوان لاین‌های مقاوم به بیماری پوسیدگی ریشه جهت تولید ارقام مقاوم مورد استفاده قرار گرفته است (داویا و همکاران، ۱۹۸۱).

مرگ گیاهچه یا بوته‌میری گلنگ اولین بار در نبراسکا توسط کلاسن (۱۹۴۹) گزارش شده است. تاکنون این بیماری از افغانستان، استرالیا، آرژانتین، هندوستان، مکزیک و ایران گزارش شده است (شریفنبی و سعیدی، ۲۰۰۴). مرگ گیاهچه گلنگ با عامل *Phytophthora drechsleri* برای نخستین بار توسط آل آقا (۱۹۷۰) در کرج از روی واریته فریو<sup>۱</sup> گزارش شده است. مُندل (۱۹۹۴) گزارش نمود که گونه‌های نامشخصی از پتیوم عامل این بیماری می‌باشد که گلنگ کشت شده تحت آبیاری را به شدت آلوده می‌کند. هر دو گونه قارچی پتیوم و فیتوفتورا ممکن است بذور، گیاهچه، گیاهان جوان یا گیاهان مسن را در طی گلدهی و تشکیل طبق مورد حمله قرار دهند. پتیوم قارچ بیماری‌زاibi است که باعث پوسیدگی و مرگ گیاهچه می‌شود. عدم سبزشدن بذور کاشت شده یکی از علایم آلودگی به این قارچ می‌باشد (ابرین‌نیا، ۲۰۰۱). کلیتون (۱۹۴۸) در ایالات متحده و جکس (۱۹۵۱) در انگلیس *P. ultimum* را عامل مرگ گیاهچه گیاهان زراعی قبل از رویش معرفی کردند (به نقل از علوی و آهون‌منش، ۱۹۹۹).

هیونگ و همکاران (۱۹۹۲) نشان دادند که عامل ایجاد بیماری بوته‌میری گلنگ *Pythium sp.* گیاهچه‌های گلنگ را مورد حمله قرار می‌دهد و با ایجاد پوسیدگی، بافت‌های آلوده را متلاشی کرده و گیاهچه را از بین می‌برد. احمدی‌نژاد و اخوت (۱۹۷۶) بیماری‌زاibi چند قارچ خاکری را بر روی گلنگ آزمایش کردند و گزارش نمودند که *Pythium aphanidermatum*, *Pythium ultimum*, *Rhizoctonia solani* و *Phytophthora drechsleri* در گلنگ بیماری‌زا استند (به نقل از عبدالهی، ۱۹۹۵). مُندل و همکاران (۱۹۹۴) اثر دما، رطوبت، خاک و قارچ عامل مرگ گیاهچه (*P. ultimum*) را بر روی جوانه‌زنی بذرها گلنگ مورد بررسی قرار دادند و گزارش نمودند که درصد جوانه‌زنی با افزایش دما از ۱۰ به ۲۵ درجه سانتی‌گراد در خاک آلوده به پتیوم بطور معنی‌داری کاهش می‌یابد و افزایش دما باعث افزایش مرگ گیاهچه می‌شود. آل سعید با تحقیق روی بذور گلنگ محلی در سودان بدین نتیجه رسید که وزنگی اندازه بذر مستقیماً با خروج گیاهچه ارتباط دارد و بیشترین درصد جوانه‌زنی به بزرگترین بذور مرتبط می‌شود. جوانه‌زنی از مهمترین مراحل رشد گیاه است بطوریکه در این مرحله دوام، استقرار و عملکرد نهایی گلنگ تضمین می‌شود (به نقل از داویا و

همکاران، ۱۹۸۱). بدین دلیل افزایش بینه بذر گلنگ در جهت جوانه‌زنی کامل، یکنواخت و خروج سریعتر تعداد کافی گیاهچه، همواره مورد توجه بوده است (جمشیدمقدم و پورداد، ۲۰۰۶). پهلوانی و رضوی (۲۰۰۷) در ارزیابی مزرعه‌ای ۱۹ ژنتیپ گلنگ به بوته‌میری با عامل *Macrophomina phaseolina*، قطر پائین ساقه را به عنوان شاخصی برای انتخاب مستقیم ژنتیپ‌های مقاوم در گلنگ معرفی کردند و نشان دادند که در بین ارقام مورد مطالعه ارقام مقاوم وجود نداشت بلکه ژنتیپ‌ها به نیمه‌ مقاوم و حساس گروه‌بندی شدند.

ارزیابی ژنتیپ‌های گلنگ برای دست‌یابی به منابع ژنتیکی متحمل تر به بیماری‌ها از جمله مرگ گیاهچه ناشی از قارچ *P. ultimum* مورد توجه محققین بوده است، به طوری که در بررسی‌های انجام شده بعضی از ژنتیپ‌های ایرانی به عنوان لاین‌های مقاوم به پوسیدگی ریشه گزارش شده‌اند. ژنهای مقاومت به بیماری مرگ گیاهچه پیتیومی در ذخایر ژنتیکی جهانی گلنگ موجود بوده و در تولید ارقام تجاری استفاده شده است (ویس، ۲۰۰۰). علی‌رغم اینکه در ایران قارچ‌های مختلف عامل مرگ گیاهچه و بوته‌میری گزارش شده است ولی بررسی و تحقیقات چندانی در زمینه این بیماری‌ها صورت نگرفته است (شریف‌نی و سعیدی، ۲۰۰۴). به این دلیل و با توجه به اهمیت و سازگاری این گیاه با شرایط گرم و خشک و وجود مرگ گیاهچه و خسارت ناشی از آن، انجام این مطالعه ضروری به نظر رسید. هدف اصلی از این مطالعه ارزیابی واکنش جوانه‌زنی و رشد گیاهچه ۱۷ ژنتیپ گلنگ نسبت به قارچ عامل بیماری مرگ گیاهچه، *P. ultimum*، به‌منظور یافتن مقاوم‌ترین ژنتیپ یا ژنتیپ‌هایی با واکنش مناسب بود. شناسایی این ژنتیپ‌ها می‌تواند به ایجاد ارقام مقاوم به بیماری مرگ گیاهچه در گلنگ کمک نماید.

## مواد و روش‌ها نمونه‌برداری

در تابستان ۱۳۸۵ از مزرعه گلنگ واقع در دانشکده کشاورزی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان بوته‌های مشکوک به بیماری انتخاب و به‌طور جداگانه در پاکت‌هایی قرار داده شد و پس از ثبت مشخصات به آزمایشگاه منتقل شدند. به‌منظور جداسازی عامل بیماری‌زا، ریشه و طوقه بوته‌های آلوده به قطعات کوچک ۳ تا ۵ میلی‌متری تغییک گردید و پس از ضدغوفونی با محلول هیپوکلریت سدیم نیم درصد به مدت یک دقیقه و سه بار شستشو با آب مقطر سترون روی محیط

## ارزیابی ژنوتیپ‌های گلرنگ به منظور یافتن منابع ژنتیکی ...

کشت سیب زمینی - دکستروز - آگار (PDA) و محیط کشت آرد ذرت آگار (CMA) کشت گردید. تستک‌های پتری به مدت ۴ روز در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. سپس جدایه‌ها برای شناسایی به محیط‌های کشت اختصاصی منتقل گردیدند. برای خالص‌سازی جدایه‌ها از روش نوک ریسه روی محیط کشت سیب زمینی - دکستروز - آگار استفاده شد (سینگلتون و همکاران، ۱۹۹۲).

### **شناسایی عامل بیماری و تهیه مایه تلقیح**

برای شناسایی جدایه‌های بیماری‌زای پیتیوم از محیط کشت اختصاصی آرد ذرت آگار استفاده شد و خصوصیات ماکروسکوپی مانند اندازه آنتریدی، آگونی، آسپور، قطر آپلاست، حضور یا عدم حضور تازک در زئوسپور، اسپورانژیوم و اسپورانژیوسپور مورد بررسی قرار گرفت. با استفاده از کلید شناسایی دیک (۱۹۹۰) قارچ عامل بیماری *Pythium ultimum* شناسایی شد. برای تهیه سوسپانسیون زئوسپور پرگنه‌های دایره‌ای از جدایه‌های خالص *Pythium ultimum* به تستک‌های حاوی محیط کشت CMA منتقل شدند و به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی قرار گرفتند. سپس تستک‌های پتری به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد و ۲ ساعت در دمای اتاق قرار داده تا زئوسپورها همزمان آزاد گردند. غلاظت زئوسپورها با اسلاید گلbulو شمار (هموسایتومنتر) اندازه‌گیری و سوسپانسیون تلقیح با غلاظت  $10^6$  زئوسپور در هر میلی‌لیتر تهیه شد.

### **مایه‌زنی و آزمون جوانه‌زنی**

این تحقیق در سال ۱۳۸۶ در آزمایشگاه تحقیقات بذر بصورت کرت‌های خرد شده در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با چهار تکرار صورت گرفت. فاکتور اصلی شامل محیط جوانه‌زنی با دو سطح (آلوده و استریل) و فاکتور فرعی شامل ۱۷ ژنوتیپ از ژنوتیپ‌های داخلی و خارجی (به اسمی محلی اصفهان، زرقان، ۲۵۹، ارک ۲۸۱۱، CW-۷۴، PI-۲۵۰۵۳۷، Dinger، Syrian، Aceteria IL-۱۱۱، LRV-۵۱-۵۱، IUTM۱۲، LRV-۵۵-۲۹۵، Hartman ۳۴۰۷۴ و ۳۴۰۴۰) بود (جدول ۱).

اجرای آزمایش در محیط استریل: برای اجرای این آزمایش ۵۰ عدد بذر از هر ژنوتیپ پس از ضد عفونی سطحی با هیپوکلریت سدیم ۰/۵ درصد به مدت یک دقیقه، در پنج خط طولی ۱۰ تایی با فواصل معین بر روی حوله‌های کاغذی مرطوب شده با آب مقطر قرار داده شدند، بطوری که از لبه

**جدول ۱-۱** میانگین خصوصیات جوانه‌زنی پدر و زنوبی گردنگ زراعی در شرایط محیط استریل و محیط آلوهه به فارج *Pythium ultimum*

بالایی ۱۰ سانتی‌متر فاصله داشتند. سپس حوله کاغذی دیگری با همان ابعاد روی بذور قرار داده شد. حوله‌های کاغذی محتوی بذرهای کشت شده پیچانیده شدند و جهت جلوگیری از تبخیر در داخل پاکت پلاستیکی نگهداری شدند. سپس حوله‌های محتوی بذر بطور عمودی در اتفاق رشد با دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. بعد از ۴۸ ساعت شمارش بذور جوانه‌زده بصورت روزانه یکبار با معیار خروج ریشه‌چه به اندازه ۲ میلی‌متر به مدت هفت روز متوالی آغاز شد (ایست، ۱۹۹۳). با استفاده از داده‌های مربوط به جوانه‌زنی روزانه و جوانه‌زنی روز آخر، درصد و سرعت جوانه‌زنی بذور محاسبه گردید. در پایان آزمایش وزن خشک ۵ گیاهچه از هر واحد آزمایشی پس از قرار دادن آنها به مدت ۲۴ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد با ترازوی ۱۰/۰۰ گرم تعیین گردید.

اجرای آزمایش در محیط آلوده: برای اجرای این آزمایش تعداد ۵۰ عدد بذر از هر ژنوتیپ به مدت یک دقیقه با هیپوکلریت سدیم ۰/۵ درصد ضدعفونی سطحی شده و سه بار با آب مقطر شستشو شد. سپس بمنظور ایجاد آلودگی مصنوعی بذور به مدت یک دقیقه در سوسپانسیون زئوسپور قارچ *Pythium ultimum* با غلظت ۱۰<sup>۰</sup> خیسانیده شدند. بذور آلوده شده در پنج خط طولی ۱۰ تایی با فواصل معین بر روی حوله‌های کاغذی مرطوب شده با آب مقطر کشت شدند. سپس حوله کاغذی مرطوب شده با آب مقطر دیگری با همان ابعاد روی بذر قرار داده شد. سپس حوله‌های کاغذی محتوی بذرهای کشت شده پیچانده شدند و جهت جلوگیری از تبخیر در داخل پاکت پلاستیکی نگهداری شدند. سپس حوله‌های کشت شده بطور عمودی در اتفاق رشد با دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. پس از ۷ روز تعداد گیاهچه‌های بیمار، تعداد گیاهچه‌های سالم و تعداد بذور جوانه‌زده شمارش شد. برای تعیین درصد واقعی جوانه‌زنی در محیط آلوده از فرمول  $G_r = \left( \frac{N_i}{N_s} \right) \times 100$  استفاده شد؛ که در آن  $G_r$ : درصد واقعی جوانه‌زنی در محیط آلوده،  $N_i$ : تعداد گیاهچه بیمار در محیط آلوده و  $N_s$ : تعداد کل بذور جوانه زده در محیط استریل است. از  $G_r$  به عنوان معیاری برای حساسیت ژنوتیپ‌ها استفاده شد زیرا  $G_r$  نسبت بذور جوانه‌زده در شرایط آلوده را به پتانسیل جوانه‌زنی در شرایط استریل نشان می‌دهد. پس هر چه مقدار  $G_r$  بیشتر باشد یعنی درصد جوانه‌زنی در محیط آلوده کمتر است یا به عبارت دیگر حساسیت ژنوتیپ به آلودگی بیشتر است.

برای اثبات وجود قارچ عامل بیماری بر روی گیاهچه‌های تحت تیمار آلودگی، از گیاهچه‌های بیمار نمونه‌برداری صورت گرفت و نمونه‌ها بر روی محیط کشت PDA در آزمایشگاه بیماری‌های

گیاهی منتقل شدند. با این عمل اثبات گردید که عامل آلوودگی در تمام نمونه‌ها قارچ *Pythium ultimum* بود. برای تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها از نرم‌افزار آماری SAS استفاده شد. برای داده‌های درصد و سرعت جوانه‌زنی در محیط استریل و همچنین درصد جوانه‌زنی واقعی، درصد جوانه‌زنی، تعداد گیاهچه بیمار و تعداد بذر جوانه‌زنده در محیط آلووده از تبدیل لگاریتمی استفاده گردید. ولی با توجه به عدم تأثیر تبدیل داده‌ها بر نتایج حاصله از تبدیل داده‌ها صرف‌نظر گردید و تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از اعداد خام صورت گرفت.

## نتایج و بحث

میانگین و خطای معیار برای خصوصیات مورد بررسی در جدول ۱ نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌گردد وزن هزار دانه ژنوتیپ‌های غیربومی بیشتر از ژنوتیپ‌های داخلی و وزن خشک گیاهچه متناسب با وزن هزار دانه بود. درصد جوانه‌زنی بذور ژنوتیپ‌ها در محیط استریل بین ۴۰ تا ۹۰ درصد متغیر بود که همراه با سرعت جوانه‌زنی بذور بیانگر قوه نامیه مناسب مواد گیاهی مورد استفاده در این مطالعه بود. در محیط آلووده ژنوتیپ Dinger دارای منشاء غیرایرانی با ۶۴/۰۰ درصد بیشترین مقدار جوانه‌زنی و پس از آن ژنوتیپ محلی اصفهان (۱۵/۱۲ درصد) و ژنوتیپ ۳۴۰۶۲ (۴۵/۱۱ درصد) هر دو با منشاء ایران بیشترین مقادیر جوانه‌زنی را داشتند. همچنین ژنوتیپ‌های Aceteria و ۳۴۰۶۲ به ترتیب با ۲۵/۳۷ و ۶/۳۷ دارای بیشترین و کمترین تعداد گیاهچه بیمار بودند و ژنوتیپ‌های ۷۴-۷۶-IL-۱۱۱ و CW نیز به ترتیب دارای کمترین و بیشترین تعداد بذور جوانه‌زنده در شرایط آلوودگی بودند (جدول ۲). در مطالعه ارزیابی ژنوتیپ‌های گلرنگ تحت تنش رطوبتی در شرایط کنترل شده و مزرعه توسط جمشید‌مقدم و پورداد (۲۰۰۶) ژنوتیپ CW-۷۴ در تمام سطوح رطوبتی کمترین سرعت جوانه‌زنی را داشت.

در محیط آلووده جوانه‌زنی برخی از ژنوتیپ‌ها به دلیل قوه نامیه پائین کاهش نشان داد؛ این بذور و گیاهچه‌های حاصل از آنها در هنگام جوانه‌زنی با زئوسپورهای عامل بیماری مواجه شده و دچار پوسیدگی و مرگ گردیدند. همچنین گیاهچه بعضی از ژنوتیپ‌ها عاری از آلوودگی و یا دارای آلوودگی کمی بودند که از مهمترین آنها می‌توان به ژنوتیپ‌های IL-۱۱۱، ۳۴۰۶۲ و Dinger اشاره نمود (جدول ۳). می‌توان چنین تصور کرد که سرعت بالای رشد و نمو چنین بذوری موجب شده است تا زئوسپورها زمان کافی برای فعالیت روی بافت‌های گیاهچه نداشته باشند. همچنین وجود گیاهچه‌های

## ارزیابی ژنوتیپ‌های گلنگ به منظور یافتن منابع ژنتیکی ...

آلوده و بذور جوانه‌زده نشان می‌دهد که مکانیسم وقوع بیماری در گلنگ با عامل *P. ultimum* هم به صورت قبل از سبز شدن و هم به صورت پس از سبز شدن می‌باشد (شکل ۱). این موضوع در اتخاذ سیستم اصلاح و بهبود ارقام گلنگ بسیار مهم می‌باشد. با توجه به نتایج درصد جوانه‌زنی واقعی ژنوتیپ‌های Dinger ۳۴۰۶۲ و محلی اصفهان دارای بیشترین مقاومت به بیماری مرگ گیاهچه با عامل *P. ultimum* بودند و بقیه ژنوتیپ‌های مورد بررسی در گروه ضعیف‌ترین‌ها قرار گرفتند. تجزیه واریانس درصد جوانه‌زنی بذور برای دو محیط به صورت طرح کرت‌های خرد شده با دو سطح فاکتور اصلی (محیط آلوده و استریل) و ۱۷ سطح فاکتور فرعی (ژنوتیپ‌ها) در ۴ بلوک صورت گرفت (جدول ۲). در مورد سایر صفات در هر یک از دو محیط استریل و آلوده تجزیه و تحلیل واریانس جداگانه‌ای در قالب طرح بلوک کامل تصادفی دارای ۱۷ تیمار (ژنوتیپ گلنگ) با ۴ تکرار صورت گرفت. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که ژنوتیپ‌های مورد مطالعه از نظر تمام صفات بررسی شده با یکدیگر اختلاف معنی‌داری داشتند. شریف‌نبی و سعیدی (۲۰۰۴)، جمشید‌مقدم و پورداد (۲۰۰۶)، دیوی و همکاران (۱۹۸۱) و پهلوانی و همکاران (۲۰۰۶) نیز در مطالعات خود روی گلنگ وجود تنوع ژنتیکی برای واکنش به بیماری‌های قارچی را گزارش نمودند.



شکل ۱- ایجاد خسارت قارچ *Pythium ultimum*، عامل بیماری مرگ گیاهچه گلنگ در محیط آلوده به سوسپانسیون زئوسپور با غلظت  $10^5$ : بذر بیمار و جوانه‌زده (راست)، گیاهچه سالم (وسط) و گیاهچه بیمار (چپ).



ارزیابی ژنوتیپ‌های گلرنگ به منظور یافتن منابع ژنتیکی ...

جدول ۳- مقایسه میانگین جمجمه محصوصات جوانه‌زنی بذر ۱۷ ژنوتیپ گلرنگ زراعی در شرایط محیط استریل و محیط آلوده با آزادن *Pythium ultimum*.

میزانه زنده	تعداد پذیر	میزانه آزاده	محیط آزاده		محیط استریل		سرعت جوانه‌زنی (در ساعت)	وزن خشک گاهچه (گرم)	درصد جوانه‌زنی (دو محیط)	زندگی
			تعداد گاهچه	درصد جوانه‌زنی	درصد جوانه‌زنی	وزن خشک گاهچه				
۲۰/۷۵bc	۱۷/۲۵cdc	۶/۹۰c	۰/۰۱bcd	۰/۰۱۳edf	۰/۰۰de	۰/۰۱۳cd	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰
۱۰/۵.igh	۱۰/۲۵def	۱۴/۲۲bc	۰/۰۱۵efgh	۰/۰۱۹bc	۰/۰۱۹bc	۰/۰۱۵abc	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰
۱۰/۷۵bcd	۱۰/۵.abc	۰/۰۱۵c	۰/۰۱۱cdef	۰/۰۱۲abc	۰/۰۱۲abc	۰/۰۱۱bcd	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰
۱۰/۵. h	۱۰/۵.ef	۱۰/۰۷c	۰/۰۱۸bcd	۰/۰۲۲ab	۰/۰۲۲ab	۰/۰۱۸bcd	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰
۹/۷۵igh	۹/۲۵g	۹/۷۵a	۰/۰۱۸bcd	۰/۰۱۹bc	۰/۰۱۹bc	۰/۰۱۸bcd	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰
۱۰/۰. cdefg	۱۰/۰. abc	۱۰/۰۳c	۰/۰۱۴a	۰/۰۱۱ab	۰/۰۱۱ab	۰/۰۱۴a	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰
۱۱/۵. efg	۱۱/۵. abc	۱۲/۷۶c	۰/۰۱۲abcd	۰/۰۱۲a	۰/۰۱۲a	۰/۰۱۲ab	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰
۱۰/۵. cdefg	۱۰/۵. cde	۱۲/۵۰c	۰/۰۱۸ab	۰/۰۱۸bc	۰/۰۱۸bc	۰/۰۱۸ab	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰
۱۰/۰. gh	۱۰/۰. abcd	۱۰/۰۵c	۰/۰۱۲abc	۰/۰۱۴abc	۰/۰۱۴abc	۰/۰۱۲abc	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰
۱۱/۳/۰. a	۱۱/۳/۰. g	۱۰/۹۳c	۰/۰۱۱ab	۰/۰۱۱f	۰/۰۱۱f	۰/۰۱۱ab	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰
۱۱/۰. defg	۱۱/۰. ab	۱۲/۶۷c	۰/۰۱۲abcd	۰/۰۱۱ab	۰/۰۱۱ab	۰/۰۱۲abcd	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰
۱۰/۰. cdefg	۱۰/۰. abc	۱۰/۱۵c	۰/۰۱۱defg	۰/۰۱۰abc	۰/۰۱۰abc	۰/۰۱۱defg	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰
۱۰/۵. bcde	۱۰/۵. abc	۱۰/۰۰c	۰/۰۱۴bcd	۰/۰۱۹bc	۰/۰۱۹bc	۰/۰۱۴bcd	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰
۱۲/۴/۲۵b	۱۲/۴/۲۵b	۱۲/۴/۲۵b	۰/۰۱۹bcd	۰/۰۱۱ef	۰/۰۱۱ef	۰/۰۱۹bcd	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰
۱۱/۰. bcde	۱۱/۰. abc	۱۲/۰۰c	۰/۰۱۲gh	۰/۰۱۰abc	۰/۰۱۰abc	۰/۰۱۲gh	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰
۱۳/۰. a	۱۳/۰. fg	۱۰/۰۰c	۰/۰۱۱h	۰/۰۱۰bcd	۰/۰۱۰bcd	۰/۰۱۱h	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰
۱۲/۱۲۵bc	۱۲/۱۲۵bc	۱۲/۱۲۵c	۰/۰۱۴igh	۰/۰۱۱cde	۰/۰۱۱cde	۰/۰۱۴igh	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰

\* - میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک می‌باشد از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری با هم ندارند..

نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها با آزمون LSD نشان داد که ژنوتیپ Dinger برای صفات درصد جوانهزنی در دو محیط (۷۲/۵ درصد) و درصد جوانهزنی واقعی در محیط آلوده (۷۹/۶۸ درصد) برترین ژنوتیپ بوده است و ژنوتیپ‌های ۳۴۰۶۲ با ۲۴/۴۴ و محلی اصفهان با ۱۴/۲۲ درصد جوانهزنی واقعی در شرایط آلودگی در رتبه‌های بعدی قرار داشتند (جدول ۳). به عبارت دیگر ژنوتیپ Dinger در شرایط آلودگی قارچی قادر بوده است حدود ۸۰ درصد پتانسیل جوانهزنی خود در شرایط بدون آلودگی را نشان دهد. تیمار آلودگی قارچی موجب گردید تا جوانهزنی دو ژنوتیپ ۳۴۰۶۲ و محلی اصفهان نسبت به شرایط بدون قارچ حدود ۷۵ و ۸۵ درصد کاهش یابد. از طرفی دیگر تیمار آلودگی قارچی موجب گردید تا جوانهزنی سه ژنوتیپ ۵۴۱-۵، ۳۴۰۷۴ و ۳۴۰۴۰ نیز نسبت به شرایط بدون قارچ ۱۰۰ درصد کاهش یابد. این نتایج را می‌توان به مقاومت ژنوتیپ Dinger و حساسیت ژنوتیپ‌های ۵۴۱-۵ و ۳۴۰۷۴ و ۳۴۰۴۰ نسبت داد. با توجه به این نتیجه‌گیری ژنوتیپ‌های ۳۴۰۶۲ و محلی اصفهان را می‌توان دارای مقاومت نسبی به قارچ *Pythium ultimum* معرفی نمود. همچنین با توجه نتایج جدول مقایسه میانگین‌ها صفات سرعت جوانهزنی در محیط استریل و تعداد گیاهچه بیمار در محیط آلوده برای ژنوتیپ Acetaria با منشاء کانادا بیشتر از سایر ژنوتیپ‌ها بوده است. در مقایسه میانگین صفات تعداد بذر جوانهزنده IL-۱۱۱ (با منشاء ایران) و ۳۴۰۴۰ به ترتیب با مقادیر ۴۳/۵۰ و ۳۶/۰ بیشترین و Hartman CW-۷۴ به ترتیب با ۴/۵ و ۸/۰ کمترین بودند (جدول ۳). وزن خشک گیاهچه ژنوتیپ‌ها بین ۰/۰۱۱ تا ۰/۰۲۴ گرم به ترتیب برای ۳۴۰۴۰ و Syrian متغیر بود. با توجه به نتایج جدول تجزیه واریانس و جدول مقایسه میانگین‌ها (جدول‌های ۲ و ۳) می‌توان چنین نتیجه گرفت که تنوع ژنتیکی برای مقاومت به بیماری در ژنوتیپ‌ها وجود دارد و بنابراین انتخاب برای تولید ارقام مقاوم به بیماری مرگ گیاهچه گلنگ با قارچ *Pythium ultimum* می‌تواند مؤثر باشد. ژنوتیپ Dinger که یک رقم اصلاح شده غیربومی می‌باشد منع بسیار بالرزشی برای ژن‌های مقاومت به این بیماری محیطی می‌گردد. از بین مواد بومی ژنوتیپ محلی اصفهان نیز دارای مقاومت قابل توجهی بود که در صورت برطرف نمودن مشکل پایین بودن جوانهزنی بذور آن می‌تواند به عنوان یک رقم مقاوم مورد استفاده قرار گیرد. از بین ژنوتیپ‌های مورد بررسی لاین ۳۴۰۶۲ با منشاء ناشناخته نیز از نظر مقاومت به قارچ *Pythium ultimum* حائز اهمیت می‌باشد. در بررسی‌های دیگر نیز تنوع ژنتیکی برای مقاومت به بیماری‌هایی از جمله پوسیدگی فیتوفراگی ریشه و بوته‌میری فوزاریومی گلنگ نیز وجود داشته است (عبداللهی، ۱۹۹۵)، به طوری که بعضی از ژنوتیپ‌های ایرانی در گروه ژنوتیپ‌های مقاوم طبقه‌بندی و در برنامه‌های اصلاحی گلنگ برای تولید ارقام تجاری مقاوم استفاده شده‌اند (شریف‌نی و سعیدی، ۲۰۰۴؛ پهلوانی و همکاران، ۲۰۰۶).

ارزیابی ژنوتیپ‌های گلرنگ به منظور یافتن منابع ژنتیکی ...

جدول ۴- جدول ضرائب همبستگی خصوصیات جوانانزی بذر ۱۷ ژنوتیپ گلرنگ رزاعی در شرایط محیط استریل و محیط آلوه به قارچ *Pythium ultimum*

صفات	سرعت جوانانزی (بذر در ساعت)					
	وزن خشک	تعادل	تعادل بذر	تعادل بذر	سرعت جوانانزی (بذر در ساعت)	وزن خشک کیاهچه (کرم)
درصد جوانانزی	۱	۰/۵۰	۰/۴۰	۰/۴۰	۰/۶۳**	وزن خشک کیاهچه (کرم)
جوانانزی در محیط	۱	۰/۴۰	۰/۴۰	۰/۴۰	۰/۷۱**	تعادل کیاهچه بیمار
دانه	۱	۰/۴۰	۰/۴۰	۰/۴۰	۰/۷۱**	تعادل بذر جوانانزد
آلوه	۱	۰/۴۰	۰/۴۰	۰/۴۰	۰/۷۱**	درصد جوانانزی واقعی در محیط آلوه
محیط استریل	۱	۰/۴۰	۰/۴۰	۰/۴۰	۰/۱۰*	جوانانزی در محیط استریل
آلوه	۱	۰/۴۰	۰/۴۰	۰/۴۰	۰/۱۲*	جوانانزی در محیط آلوه
وزن هزار دانه (کرم)	۱	۰/۸۲*	۰/۸۲*	۰/۸۲*	۰/۸۲*	وزن هزار دانه (کرم)
تعادل بذر	۱	۰/۴۰	۰/۴۰	۰/۴۰	۰/۴۰	تعادل بذر
واقعی در محیط	۱	۰/۴۰	۰/۴۰	۰/۴۰	۰/۴۰	واقعی در محیط
جوانانزی در	۱	۰/۴۰	۰/۴۰	۰/۴۰	۰/۴۰	جوانانزی در
وزن هزار دانه	۱	۰/۴۰	۰/۴۰	۰/۴۰	۰/۴۰	وزن هزار دانه
جوانانزی	۱	۰/۴۰	۰/۴۰	۰/۴۰	۰/۴۰	جوانانزی
درصد	۱	۰/۴۰	۰/۴۰	۰/۴۰	۰/۴۰	درصد
جوانانزی در	۱	۰/۴۰	۰/۴۰	۰/۴۰	۰/۴۰	جوانانزی در
محیط	۱	۰/۴۰	۰/۴۰	۰/۴۰	۰/۴۰	محیط
آلوه	۱	۰/۴۰	۰/۴۰	۰/۴۰	۰/۴۰	آلوه

\*: به ترتیب معنی دار سطح احتمال ۵ و درصد.

\*\*: به ترتیب معنی دار سطح احتمال ۵ و درصد.

جدول ضرایب همبستگی صفات نشان می‌دهد که ضریب همبستگی بین درصد جوانهزنی واقعی بذور در محیط آلوده با درصد جوانهزنی بذور محیط آلوده ( $\chi^2=99^{**}$ ، جوانهزنی در محیط استریل با تعداد بذر جوانه نزده در محیط آلوده ( $\chi^2=82^{**}$ ، وزن هزاردانه با وزن خشک گیاهچه ( $\chi^2=82^{**}$ ) جوانهزنی در محیط استریل با تعداد گیاهچه بیمار ( $\chi^2=72^{**}$ ، تعداد بذر جوانه نزده با سرعت جوانهزنی ( $\chi^2=71^{**}$ ، جوانهزنی در محیط استریل با سرعت جوانهزنی ( $\chi^2=76^{**}$ ) و تعداد گیاهچه بیمار با سرعت جوانهزنی ( $\chi^2=63^{**}$ ) در سطح یک درصد معنی‌دار بود. ضریب همبستگی بالا و منفی برای صفات جوانهزنی در محیط استریل و تعداد گیاهچه بیمار نشان می‌دهد که افزایش جوانهزنی در محیط‌های فاقد آلودگی می‌تواند به بهبود واکنش ژنتیک‌ها در شرایط آلودگی منجر گردد. این موضوع می‌تواند در انتخاب غیرمستقیم با هدف افزایش مقاومت به بیماری در گلنگ کمک مؤثری نماید.

اگر چه نتایج نشان داد که مرگ گیاهچه گلنگ قبل و پس از سبز شدن روی می‌دهد ولی خسارت ناشی از مرگ گیاهچه قبل از سبز شدن به دلیل ضعیف‌بودن گیاهچه‌ها در مراحل اولیه جوانهزنی بیشتر است. گاهی گیاهچه‌ها یا بذور در مقابل عامل بیماری‌زا از خود تحمل نشان می‌دهند که در این نوع واکنش عملکرد گیاه کاهش نمی‌باید و بیشتر در تولید عملکرد و بیومس مؤثر است. جوانهزنی بذر و استقرار گیاهچه مهمترین مرحله رشد محسوب می‌گردد و هر عامل بیماری‌زا بی که باعث کاهش جوانهزنی شود بر سایر پارامترهای رشد گیاه نیز خسارت قابل توجهی وارد می‌کند. استفاده از بذور عاری از بیماری و استفاده از ارقام مقاوم، می‌تواند گامی بسیار مؤثر در کاهش میزان خسارت ناشی از بیماری‌های مختلف از جمله مرگ گیاهچه گلنگ باشد. نتایج این مطالعه نشان داد که ژنتیک‌های  $\text{IL-11}$  و محلی اصفهان به عنوان مواد بومی و ژنتیک Dinger به عنوان مواد خارجی و همچنین لاین  $34062$  با منشاء ناشناخته منابع خوبی برای ژن‌های مقاومت و یا تحمل به بیماری مرگ گیاهچه با عامل *Pythium ultimum* هستند که می‌توانند در طرح‌های اصلاحی مورد استفاده قرار گیرند.

### سپاسگزاری

کلیه مراحل این مطالعه در آزمایشگاه‌های دانشکده علوم زراعی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شده است که بدین‌وسیله از زحمات مسئولین محترم آزمایشگاه‌های مربوطه آقایان مهندس سهیل سیرانی و مهندس علیرضا زاهدی تشکر و قدردانی می‌شود.

### فهرست منابع

- Abarin-Nia M. 2001. Evaluation of seedling resistance of different lines of beet to *Pythium ultimum* trow in greenhouse conditions, *M.sc. thesis for Plant Pathology, Tabriz University.*
- Abdolahi M. 1995. Evaluation of damping off disease of safflower in Fars Pronince, *M.sc. thesis for Plant Pathology. Tarbiat Modarres University.*
- Al-Agha N. 1970. Damping off disease in safflower, *Abstract of 3<sup>rd</sup> Iranian Congress of Plant Disease. Shiraz, Iran.* pp 171.
- Alavi A. and Ahoomanesh A. 1999. Seedborne diseases and their control, principles and practices, T. A. T. Press, 478p.
- Davia D.J., Knowles P.F. and Klisiewisz J.M. 1981. Evaluation of the world safflower collection for resistance to *phytophthora*. *Crop Sci.*, 21: 226-229.
- Dick M.W., ed. 1990. Keys to *Pythium*. Reading Press, England. pp 64.
- Jamshid-Moghaddam M. and Poordad S. 2006. Evaluation of safflower genotypes (*Carthamus tinctorius* L.) under moisture stress in controlled and field conditions. *J. Sci. & Technol. Agric. & Natur. Resour.*, 10(2): 155-168.
- Huang H.C., Morrison R.J., Mundel H.H., and Barr, D.J.S. 1992. *Pythium sp. "group G"*, a form of *Pythium ultimum* causing damping-off of safflower. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 14: 229-232.
- ISTA, 1993. Handbook, 5<sup>th</sup> Edition. International Seed Testing Association, Zurich, Switzerland, pp. 176-216.
- Mundel H.H., Huang H.C., Kozub G.C. and Barr D.J.S. 1994. Effect of soil moisture and temperature on seedling emergence and incidence of *Pythium* damping-off in safflower (*Carthamus tinctorius* L.). *Canadian Journal Plant Science*. 75: 505-509.
- Pahlavani M.H. and Razavi, S.E. 2007. Isolation of *Macrophomina phaseolina*, the causal agent of charcoal rots disease and determination of reaction mode in some safflower genotypes. *J. Agric. Sci. Natur. Resour.* 14(2): 154-167.
- Pahlavani M.H., Razavi S.E., Mirizadeh I. and Vakili, S. 2006. Field screening of safflower genotypes for resistance to charcoal rot disease. *International journal of plant production*. 1: 45-52.
- Sharif-Nabi B. and Saiedi G. 2004. Preliminary evaluation of different genotypes of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) to Fusarium root rot disease. *J. Sci. & Technol. Agric. & Natur. Resour.* 8(3): 219-226.
- Singelton L.L., Mihall J.D. and Rush C.M. 1992. Methods for research on soilborne Phytopathogenic Fungi, APS press. pp 265.
- Weiss, E.A. 2000. 'Oil seed crops.' Balckwell Science Ltd. Press, 765p.
- Zeinali, E. 1999. Safflower (characteristics, production & utilization), Gorgan University Press, 137 p.



## Evaluation of safflower genotypes to find genetic sources of resistance to damping-off (*Pythium ultimum*)

**A. Ahmadi<sup>1</sup>, \*M.H. Pahlavani<sup>2</sup>, S.E. Razavi<sup>2</sup> and R. Maghsoudlo<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>M.Sc. student of Agronomy and Plant Breeding, <sup>2</sup>Faculty of member and Dept. of Plant Protection, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran

### Abstract

Damping-off is an important disease of safflower in Iran, that caused by *Pythium ultimum*. Because of its importance, fungi isolates were sampled from infected plants grown in research farm of the College of Agriculture, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, in 2006. Also it has been proved that the disease caused by *Pythium ultimum*. Evaluation of seventeen safflower genotypes (Zarghan-259, Arak-2811, Isfahan, Syrian, Dinger, Hartman, Aceteria, CW-74, LRV-55-295, LRV-51-51, IUTM12, PI-250537, IL-111, 34062, 34074, 34040 and 541-5) for their response to causal agent were performed in 2007. The experiment was conducted in paper towel environment was done as split plot design in a complete randomized blocks in which two environments (sterile and infected) were included as main plot and also seventeen genotypes were as sub plot in four replicates. Artificial inoculation was conducted with  $10^5$  per mL oospore suspension of fungi agent. In sterile media percent and speed of seed germination and also dry weight of seedling and in infected media percent, real percent and speed of germination, number of infected seedlings and number of non-germinated seeds was recorded. Results showed that there was significant difference among the genotypes for all evaluated traits and also for reaction to disease. Comparison of means indicated that genotype Dinger with 79.7% had the highest real germination in infected media, and genotypes 34062 and Isfahan with 24.4 and 14.2 % were in the next rank in this regard, respectively. The lowest diseased seedling in infected media were belonged to IL-111 (6.3 seedlings), 34062 (6.8 seedlings) and Dinger (8.3 seedlings), respectively. Overall, the results of this study showed that some of non-Iranian genotypes were a good source for resistance to damping-off. Additionally, some of Iranian genotypes in respect to seed germination and related parameters were weak, however for resistance to the disease were superior to others. So, genotypes Dinger, Isfahan and 34062 could be used in breeding program of safflower to produce cultivars with resistance to damping-off.

**Keywords:** Seed; Germination; Susceptibility; Resistance; Zoospore

---

\* - Corresponding author. Email: hpahlavani@yahoo.com