



افزایش مقاومت گلرنگ به قارچ *Pythium ultimum* با روش انتخاب تحت شرایط مزرعه‌ای

*الهام نیک‌منش^۱ و هادی پهلوانی^۲

^۱ دانشجوی کارشناسی‌ارشد گروه اصلاح نباتات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان،

^۲ دانشیار گروه اصلاح نباتات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

تاریخ دریافت: ۸۹/۰۹/۰۷؛ تاریخ پذیرش: ۹۱/۰۵/۱۸

چکیده

خسارت‌های ناشی از عوامل بیماری‌زا یکی از نگرانی‌های اصلی در کشت و تولید گلرنگ به‌شمار می‌رود. در بین روش‌های مختلف کنترل و کاهش خسارت ناشی از این عوامل استفاده از ارقام مقاوم مطمئن‌ترین روش محسوب می‌گردد. این مطالعه به‌منظور کارایی روش اصلاحی انتخاب در افزایش مقاومت ژنوتیپ‌های گلرنگ به بیماری‌گر *Pythium ultimum* در شرایط مزرعه طی سال‌های ۱۳۸۸ و ۱۳۸۹ در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شد. این پژوهش شامل دو بخش ارزیابی ژنوتیپ‌ها و انتخاب نتایج مقاوم‌تر در سال اول و ارزیابی نتایج انتخاب شده در سال دوم بود. بذور مورد استفاده یک‌بار دیگر در سال قبل از این آزمایش مورد انتخاب قرار گرفته بودند. آزمایش سال اول به‌صورت طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با ۶ ژنوتیپ شامل بذور انتخاب شده (بذور بوته‌های مقاوم در خاک آلوده به بیمارگر) و انتخاب نشده (بذور به‌دست آمده از بوته‌های کشت شده در خاک استریل) در ۸ تکرار بود. آزمایش دوم در ۳ محیط انجام شد. این محیط‌ها به‌ترتیب کشت بذور در خاک آلوده در دو مرحله اسفند ۱۳۸۸ (محیط ۱)، اردیبهشت ۱۳۸۹ (محیط ۲) و خاک استریل (محیط ۳) بودند. به‌منظور آلوده‌سازی خاک از سوسپانسیون بیمارگر با غلظت 10^5 زئوسپور در میلی‌لیتر استفاده گردید. نتایج به‌دست آمده نشان داد که بوته‌میری ناشی از *P. ultimum* باعث کاهش سرعت سبز شدن بذور همه ژنوتیپ‌ها گردید. دو نسل انتخاب موجب شد تا درصد سبز شدن ژنوتیپ زرقان از ۲۹/۲ به ۴۰/۷، سیریان از ۳۷/۰ به ۴۶/۰ و ۳۴۰۷۴ از ۴۱/۷ به ۶۴/۲ افزایش یابد. در مورد سایر ژنوتیپ‌ها انتخاب تأثیری بر بهبود مقاومت به این بیمارگر نداشت. با توجه به تأثیر دو نسل انتخاب بر افزایش درصد و سرعت سبز شدن بذور در خاک آلوده به *P. ultimum*، انتخاب می‌تواند روش مؤثری در بهبود مقاومت به این بیماری در برخی از ژنوتیپ‌های گلرنگ باشد.

واژه‌های کلیدی: بذر، بیمارگر، حساسیت، سبز شدن، سوسپانسیون

*مسئول مکاتبه: elhamnikmanesh@yahoo.com

مقدمه

گلرنگ با نام علمی *Carthamus tinctorius* با $2x=2n=24$ به خانواده کاسنی^۱ تعلق دارد. علاوه بر گونه‌های زراعی گلرنگ، گونه‌های وحشی جنس کارتاموس نیز در بسیاری از مناطق ایران به وفور یافت می‌شوند. این گیاه از نظر ژنتیکی خودگشن است و بسته به فعالیت حشرات از درصدی دگرگشتی نیز برخوردار است (زینلی، ۱۹۹۹). در تولید گلرنگ، بیماری‌ها، همواره از تهدیدات جدی به‌شمار می‌روند. بیماری‌های مختلف گیاهچه‌ای مانند پوسیدگی بذر، مرگ گیاهچه قبل و یا پس از سبز شدن و آلودگی ریشه و محور زیرپله از این جمله محسوب می‌شوند (پهلوانی و همکاران، ۲۰۰۷). در بین بیماری‌های گلرنگ پوسیدگی ریشه و مرگ گیاهچه گلرنگ از مهم‌ترین بیماری‌های خسارت‌زا می‌باشد. گونه‌هایی از دو جنس بیمارگر *Pythium* و *Phytophthora* در ایجاد این بیماری نقش دارند (داویا و همکاران، ۱۹۸۱؛ هریتیژ و هاریگان، ۱۹۸۴). از علائم این بیماری می‌توان به پژمردگی و تیره شدن بافت‌های مورد تهاجم اشاره کرد که باعث رنگ‌پریدگی عمومی در برگ و در نهایت خشک شدن سریع کل بوته می‌گردد. در فصل‌هایی که بارندگی زیاد است یا هنگامی که در خاک‌هایی با زه‌کشی سطحی اقدام به کشت آبی این گیاه زراعی شود، افت عملکرد و خسارت ناشی از این بیماری زیاد می‌شود. به‌طور کلی شرایط محیطی و زراعی مانند درجه حرارت، شدت نور، تراکم عامل بیماری‌زا و بافت خاک در شدت آلودگی این قارچ در مزارع گلرنگ دخالت دارند (زینلی، ۱۹۹۹).

بیمارگر *Pythium ultimum* از مهم‌ترین قارچ‌هایی است که سبب پوسیدگی ریشه و مرگ گیاهچه در گلرنگ می‌شود (هیونگ و همکاران، ۱۹۹۲؛ احمدی و همکاران، ۲۰۰۸). بیمارگر *Pythium* از طریق پوسیدگی شدید ریشه، باعث از بین رفتن دامنه وسیعی از گیاهان می‌شود. بعضی اوقات *Pythium* باعث به تأخیر افتادن رشد گیاه و تغییر در ظاهر آن می‌شود (ندرهوف، ۲۰۰۰). گسترده بودن دامنه میزبانی، انتشار وسیع جغرافیایی، قدرت بیماری‌زایی بالا، انگل اختیاری بودن و توانایی زیاد در باقی ماندن به حالت ساپروفیتی در غیاب گیاه میزبان، قارچ *P. ultimum* را از نظر بیماری‌زایی با اهمیت نموده است (احمدزاده و همکاران، ۲۰۰۳). در مناطق بسیاری از دنیا چون کانادا (هیونگ و همکاران، ۱۹۹۲)، آمریکا (هیگنباوم و همکاران، ۲۰۰۴) و ایالت کلرادو (پیغامی، ۲۰۰۲) وجود بوته‌میری ناشی از *P. ultimum* گزارش شده است. گونه *P. ultimum* در بیش‌تر مناطق ایران سبب پوسیدگی بذر محصولات زراعی می‌شود. *P. ultimum* عامل مرگ گیاهچه گلرنگ در بیش‌تر خاک‌های استان گلستان

1- *Compositae (Asteraceae)*

وجود دارد (احمدی و همکاران، ۲۰۰۸). قسمت اعظم خسارت این بیماری در گلرنگ متوجه بذر و گیاهچه‌ها هنگام جوانه‌زدن و قبل از خروج از خاک یا بعد از آن می‌باشد (احمدی و همکاران، ۲۰۰۸). از بین روش‌های گوناگون کنترل بیماری مرگ گیاهچه و پوسیدگی ریشه ایجاد ارقام مقاوم از طریق اصلاح ژنتیکی، مناسب‌ترین و پایدارترین روش محسوب می‌گردد. در اصلاح نباتات برای ایجاد مقاومت، توانایی بیماری‌زایی بیمارگر توسط ژن مقاومت در میزبان دفع می‌شود یا کاهش می‌یابد (هان و همکاران، ۲۰۰۶). از این رو شناسایی منبع مقاومت و عمل ژن کنترل‌کننده مقاومت یکی از نیازهای اساسی برنامه‌های اصلاحی است (آنگراوی و همکاران، ۲۰۰۸). عوامل محیطی نیز بر میزان بروز ژن‌های کنترل‌کننده صفات کمی از جمله مقاومت به بیماری‌ها اثر می‌گذارند (کالکاری و باسکاران، ۲۰۰۳). وقتی ژنوتیپ‌ها در محیط‌های مختلف مطالعه می‌شوند، به دلیل وجود اثر متقابل ژنوتیپ در محیط باید سهم هر یک از عوامل محیطی و ژنوتیپی را مشخص نمود (کوزیک و همکاران، ۱۹۹۱). به این ترتیب اصلاح‌گران با تعیین سهم عوامل ژنتیکی نسبت به عوامل محیطی که همان توارث‌پذیری صفات می‌باشد، روش اصلاحی مناسب که از حداکثر کارایی در بهبود صفت برخوردار می‌باشد را تعریف می‌نمایند.

انتخاب افراد برتر یکی از اجزای جدایی‌ناپذیر همه برنامه‌های اصلاحی محسوب می‌گردد. جانسون و پالم (۱۹۸۵) در مطالعه اثر قارچ پیتیوم در پنبه نشان دادند که اختلاف بین والدین و نتاج، بعد از دو نسل متوالی انتخاب و خودگشن کردن گیاهان ظاهر شد و مقاومت برخی ژنوتیپ‌ها در مقایسه با نسل والدین بیش‌تر شده بود. شریف‌نبی و سعیدی (۲۰۰۴) نیز گزارش کردند که در گلرنگ انتخاب برای به‌دست آوردن ژنوتیپ‌های مقاوم به بیماری پوسیدگی ریشه فوزاریومی مؤثر است. روش‌های اصلاحی مانند شجره‌ای، بالک و تلاقی برگشتی نیز در اصلاح برای مقاومت به قارچ در گلرنگ استفاده می‌شود (نانکام و پاتاکی، ۱۹۹۶). روش بالک برای اولین بار در سال ۱۹۶۰ برای مقاومت مزرعه‌ای در گلرنگ، به بلایت برگگی که توسط *Alternaria carthami* و بلایت باکتریایی که به وسیله *Pseudomonas syringae* ایجاد می‌شود با تلاقی ارقام تجاری انجام شد. در اصلاح گلرنگ به وسیله روش شجره‌ای، صفات اصلی مانند مقاومت به بیماری‌ها در نسل F_2 یا نسل‌های بعدی انتخاب می‌شوند. با شناسایی نر عقیمی ژنتیکی در گلرنگ در سال ۱۹۸۲، استفاده از دورگ‌گیری برای تولید ارقامی با عملکرد بالا مطرح شد. با استفاده از سیستم نر عقیمی مربوط به ژن پوسته نازک (*th th*) لاین‌هایی با مقاومت بالا به پوسیدگی ریشه فیتوفترا ایجاد شد (داجو و ماندل، ۱۹۹۶). با توجه

به آلودگی بیش تر خاک‌های استان گلستان به بیمارگرهایی مانند پیتوم و فایتوفتورا که محدودکننده کشت گلرنگ در این منطقه می‌باشد، این مطالعه با هدف افزایش فراوانی ژن‌های مقاومت به بیماری مرگ گیاهچه ناشی از بیمارگر *P. ultimum* در ۶ جامعه گلرنگ صورت گرفت. همچنین نبود اطلاعات ژنتیکی در مورد مقاومت به این بیمارگر، موفقیت یا موفق نشدن روش انتخاب می‌تواند به یافتن روش اصلاحی مناسب این ویژگی در در بهبود این ویژگی کمک نماید.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی نحوه واکنش ژنوتیپ‌های گلرنگ در برابر اثرات به‌دست آمده از *P. ultimum* این مطالعه طی سال‌های ۱۳۸۸ و ۱۳۸۹ در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شد. این پژوهش شامل دو بخش ارزیابی ژنوتیپ‌ها و انتخاب نتاج مقاوم (سال ۱۳۸۸) و ارزیابی نتاج انتخاب شده (سال ۱۳۸۹) بود. بخش اول آزمایش به صورت طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۱۲ تیمار در ۸ تکرار اجرا شد. بخش دوم آزمایش در سال ۱۳۸۸ و ۱۳۸۹ در ۳ محیط انجام شد. طرح هر کدام از محیط‌ها به صورت طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۱۲ تیمار در ۴ تکرار بود. ۱۲ تیمار شامل بذر انتخاب شده برای دو نسل (نتاج) و انتخاب نشده (والدین) از ۶ ژنوتیپ سیریان^۱، هارتمن^۲، ۳۴۰۷۴، محلی اصفهان، ۳۴۰۴۰ و زرقان-۲۵۹ بودند. منظور از بذور انتخاب شده و انتخاب نشده، بذور نتاجی بودند که به ترتیب از بخش آلوده به بیمارگر و بخش خاک استریل در مزرعه در سال قبل به‌دست آمده بودند. توضیح این‌که بذور مورد استفاده در سال اول این مطالعه، یک نسل قبل مورد انتخاب برای مقاومت به همین بیمارگر قرار گرفته بودند.

سال اول آزمایش: در سال اول؛ شناسایی و انتخاب بوته‌های مقاوم و تهیه بذر از ۶ ژنوتیپ گلرنگ انجام گردید. خاک مورد نیاز به شکل تصادفی از سطح مزرعه تحقیقاتی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان به‌دست آمد. برای ضدعفونی خاک از دستگاه اتوکلاو در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱/۲ کیلوگرم بر سانتی‌متر مربع (اتم‌سفر) به مدت ۱ ساعت استفاده گردید. بلوک‌های سیمانی طبق نقشه طرح در مزرعه تحقیقاتی مستقر شدند. درون پلات‌ها با خاک ضدعفونی شده پر شد. برای تکثیر قارچ از محیط کشت آرد ذرت آگار استفاده شد. برای تهیه سوسپانسیون زئوسپور

1- Syrian

2- Harthman

پرگنه‌های دایره‌ای *Pythium ultimum* به پتری‌دیش‌های شامل محیط کشت آرد ذرت آگار منتقل و در انکوباتور قرار داده شد. پس از رشد قارچ از آن برای تهیه سوسپانسیون استفاده گردید. بذور ژنوتیپ‌ها پس از ضدعفونی در محلول هیپوکلریت سدیم ۵ درصد، در آب مقطر شستشو و به مدت ۱ دقیقه در سوسپانسیون تهیه شده از بیمارگر قرار گرفته و سپس در محیط حوله کاغذی کشت داده شدند. حوله‌های کاغذی محتوی ۱۰۰ بذر کشت شده پیچانده شدند و برای جلوگیری از تبخیر در داخل پاکت پلاستیکی نگهداری شدند. سپس حوله‌های محتوی بذر به منظور اطمینان از تلقیح با بیمارگر به مدت ۱۲ ساعت در دمای 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. سپس این بذور در عمق ۴-۵ سانتی‌متری خاک پلات‌های مورد آزمایش کشت شدند. خاک مزرعه یک هفته قبل از کشت آبیاری شده بود به طوری که کشت زمانی انجام شد که رطوبت خاک در حد ظرفیت زراعی بود. از زمان کاشت تا زمان سبز شدن بذرها شرایط رطوبتی مناسب با استفاده از آبیاری بارانی فراهم شد. پس از سبز شدن گیاهچه‌ها و ثبت داده‌ها عملیات داشت به صورت معمول رعایت گردید. قبل از باز شدن گل‌ها تمامی پلات‌ها به منظور تهیه بذر خودکشن و دفع عوامل دگرگرده‌افشانی (حشرات) توسط تور پوشانده شدند. بذور برداشت شده در پلات‌های آلوده به بیمارگر همان بذور بوته‌های باقی‌مانده بودند که به منزله بذور انتخاب شده می‌باشند.

در سال دوم، واکنش و میزان مقاومت جوامع انتخاب‌شده در سال قبل و بذور انتخاب‌نشده (جوامع پایه) مورد ارزیابی قرار گرفت. در این مرحله، آزمایش در دو محیط آلوده (محیط ۱ و ۲) و یک محیط استریل (محیط ۳) صورت گرفت. کشت در خاک آلوده در اسفند ۱۳۸۸ (محیط ۱) و اردیبهشت ۱۳۸۹ (محیط ۲) انجام شد. آماده‌سازی پلات و بستر کشت، تهیه محیط کشت، مایه تلقیح و آلوده‌سازی و کشت بذور در محیط آلوده همانند سال قبل انجام گردید. در محیط استریل، بذور نیز پس از ضدعفونی در هیپوکلریت سدیم ۵ درصد در پلات‌های شامل خاک استریل کشت شدند. بذور انتخاب نشده (شاهد) بذور کشت شده در خاک استریل در سال ۱۳۸۷ بودند.

ارزیابی صفات در مزرعه: با شروع سبز شدن بذور، شمارش گیاهچه‌ها از روز چهارم پس از کشت آغاز شد و تا ۱۵ روز بعد ادامه داشت. شمارش بذور در خاک استریل نیز با ظاهر شدن اولین گیاهچه‌ها تا ثابت ماندن تعداد گیاهچه‌ها انجام گردید. صفات مورد بررسی شامل درصد سبز شدن بذور و سرعت سبز شدن بذور بود.

درصد سبز شدن: تعداد تجمعی گیاهچه‌های سبز شده در هر روز در هر پلات نسبت به تعداد بذور

کشت شده هر پلات محاسبه و به صورت درصد بیان گردید.
سرعت سبز شدن: سرعت سبز شدن با شمارش روزانه بذور سبز شده و با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد.

$$\text{سرعت سبز شدن} = \frac{(a-b)}{N} * \frac{1}{D}$$

که در آن، a: تعداد بذور سبز شده در روز شمارش، b: جمع تعداد بذور سبز شده در روزهای قبلی شمارش، N: تعداد کل بذور در هر واحد آزمایشی و D: تعداد روزهای شمارش سبز شدن پس از کشت. تجزیه و تحلیل آماری صفات: در این مطالعه درصد سبز شدن و سرعت سبز شدن مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. محاسبه‌های آماری شامل تجزیه واریانس و آزمون حداقل اختلافات معنی‌دار^۱ توسط نرم‌افزار SAS انجام شد. پیش از تجزیه واریانس، با استفاده از آزمون بارتلت از متجانس بودن واریانس‌ها خطای آزمایش‌های اطمینان به دست آمد.

نتایج و بحث

مشاهده علائم ناشی از بیمارگر *Pythium ultimum* در کرت‌های آلوده علایم بیماری ناشی از بیمارگر *Pythium ultimum* به صورت پوسیدگی بذر و کاهش سبز شدن، پوسیدگی ریشه و مرگ گیاهچه ظاهر شد. مرگ گیاهچه پس از سبز شدن از مرحله دو برگگی قابل مشاهده بود ولی علایم مرگ قبل از سبز شدن تنها به صورت کاهش درصد سبز شدن نسبت به کرت‌های استریل قابل استنباط بود (شکل ۱).

1- LSD



شکل ۱- علائم ایجاد خسارت قارچ *Pythium ultimum*، عامل بیماری مرگ گیاهچه گلرنگ.

تجزیه واریانس و مقایسه میانگین صفات مورد ارزیابی: واریانس داده‌های درصد و سرعت سبز شدن بذور در محیط‌های آلوده ۱، ۲ و محیط استریل به صورت مرکب تجزیه شد (جدول ۱). مقایسه میانگین این خصوصیات در محیط‌های آلوده و استریل با استفاده از آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار LSD در سطح ۵ درصد انجام شد (جدول ۲ و ۳).

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که از نظر درصد سبز شدن بین محیط استریل با محیط‌های آلوده اختلاف معنی‌داری در سطح ۱ درصد وجود داشت (جدول ۱). این نشان داد تلقیح خاک با بیمارگر بر درصد سبز شدن ژنوتیپ‌های مورد بررسی تأثیر داشته است. تفاوت ژنوتیپ‌ها برای درصد سبز شدن در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود که نشان‌دهنده پاسخ مختلف ژنوتیپ‌ها به الودگی می‌باشد. تفاوت در میزان نبود جوانه‌زنی بذور در زیر خاک و یا از بین رفتن گیاهچه عامل اصلی اختلاف ژنوتیپ‌ها بود. با توجه به معنی‌دار شدن اثر متقابل ژنوتیپ در محیط، مقایسه میانگین ژنوتیپ‌ها در هر محیط به طور جداگانه انجام شد (جدول ۲). درصد سبز شدن ۶ ژنوتیپ مورد بررسی و بزرگی آن نسبت به یکدیگر در شرایط محیطی استریل و آلوده به قارچ *P. ultimum* تغییر نموده است. مقایسه میانگین ژنوتیپ‌ها از نظر این خصوصیات در محیط‌های مختلف در جدول ۲ آمده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود در محیط استریل بذور انتخاب‌شده ژنوتیپ‌های ۳۴۰۷۴ و محلی اصفهان به ترتیب با ۶۲/۲ و ۴۲/۷ درصد

بیشترین و کمترین جوانه‌زنی را دارا بودند در حالی که در محیط آلوده یک این رتبه‌ها به بذور انتخاب‌شده ژنوتیپ‌های ۳۴۰۴۰ (۷۶/۳ درصد) و محلی اصفهان (۳۹/۰ درصد) و در محیط آلوده دوم ژنوتیپ‌های انتخاب شده ۳۴۰۷۴ (۶۴/۲ درصد) و زرقان (۳۰/۷ درصد) اختصاص داشت. بیشترین درصد سبز شدن گیاهچه در بستر آلوده (محیط ۱ و ۲) متعلق به بذور انتخاب‌شده ژنوتیپ‌ها بود (جدول ۲). این یافته بیان‌گر تأثیر ۲ نسل انتخاب بر افزایش سبز شدن گیاهچه گلرنگ در محیط آلوده به بیمارگر *P. ultimum* است.

جدول ۱- تجزیه واریانس درصد و سرعت سبز شدن بذور انتخاب‌شده و انتخاب‌نشده ۶ ژنوتیپ گلرنگ در محیط استریل و آلوده به *Pythium ultimum*.

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	
		درصد سبز شدن	سرعت سبز شدن
محیط	۲	۲۸۲۹/۶۲۰**	۰/۰۰۹*
خطا	۹	۴۱/۵۲۰	۰/۰۰۱
ژنوتیپ	۵	۲۲۹۴/۱۹۰**	۰/۰۴۰**
انتخاب	۱	۱۰۷/۹۰۰*	۰/۰۱۰*
سیریان	۱	۴۹۰۲/۵۵۰**	۰/۰۵۰**
هارتمن	۱	۱۹۶۶/۵۴۰**	۰/۰۴۰**
مقایسه گروهی: بذور انتخاب‌شده در مقابل انتخاب‌نشده برای هر ژنوتیپ	۱	۲/۲۲۰ ^{ns}	۰/۰۰۰۳ ^{ns}
۳۴۰۷۴	۱	۵۸۰/۰۱۰*	۰/۰۳۰**
زرقان	۱	۲۳۸۳/۷۴۰**	۰/۰۳۰**
۳۴۰۴۰	۱	۶۴۳/۷۴۰*	۰/۰۱۰*
اثر متقابل ژنوتیپ در محیط	۱۰	۱۳۰/۷۷۰*	۰/۰۵۳ ^{ns}
اثر متقابل ژنوتیپ در انتخاب	۵	۲۱۲/۴۳۰**	۰/۰۰۰۴ ^{ns}
اثر متقابل محیط در انتخاب	۲	۹۴۷/۷۹۰**	۰/۰۴۰*
اثر متقابل محیط در ژنوتیپ در انتخاب	۱۰	۱۴۳/۲۹۰**	۰/۰۰۲ ^{ns}
خطا	۹۰	۵۲/۲۸۰	۰/۰۰۲
ضریب تغییرات (/.)		۱۴/۸۰۰	۲۴/۶۷۰

**، * و ^{ns} به ترتیب معنی‌داری در سطح ۱ درصد و ۵ درصد و عدم معنی‌داری می‌باشد.

الهام نیک‌منش و هادی پهلوانی

جدول ۲- مقایسه میانگین درصد سبزشدن ۶ ژنوتیپ گلرنگ در محیط استریل و آلوده به بیمارگر *P. ultimum*

محیط استریل (اردیبهشت ۱۳۸۹)		محیط آلوده ۲ (اردیبهشت ۱۳۸۹)		محیط آلوده ۱ (اسفند ۱۳۸۸)		ژنوتیپ
انتخاب‌نشده (دو نسل انتخاب)	انتخاب‌شده (دو نسل انتخاب)	انتخاب‌نشده (دو نسل انتخاب)	انتخاب‌شده (دو نسل انتخاب)	انتخاب‌نشده (دو نسل انتخاب)	انتخاب‌شده (دو نسل انتخاب)	
۵۸/۰ ^a	۶۴/۷ ^a	۴۶/۰ ^a	۳۷/۰ ^b	۵۳/۷ ^a	۵۲/۷ ^{a*}	سیریان
۵۲/۲ ^b	۶۹/۲ ^a	۴۰/۷ ^a	۴۰/۲ ^a	۵۵/۵ ^a	۵۴/۳ ^a	هارتمن
۴۲/۷ ^a	۳۷/۲ ^a	۳۱/۲ ^a	۲۸/۰ ^a	۳۹/۰ ^a	۳۳/۲ ^a	محلی اصفهان
۶۲/۳ ^a	۶۰/۷ ^a	۶۴/۲ ^a	۴۱/۷ ^b	۶۱/۰ ^a	۵۱/۰ ^a	۳۴۰۷۴
۴۳/۲ ^a	۴۱/۲ ^a	۳۰/۶ ^a	۲۹/۷ ^a	۴۰/۷ ^a	۲۹/۲ ^b	زرقان
۴۸/۷ ^b	۸۰/۲ ^a	۴۸/۲ ^a	۴۴/۵ ^a	۷۶/۳ ^a	۶۲/۷ ^a	۳۴۰۴۰

* میانگین‌های دارای حروف یکسان در هر ستون بدون تفاوت معنی‌داری در سطح ۵ درصد می‌باشند.

جدول ۳- مقایسه میانگین سرعت سبزشدن ۶ ژنوتیپ گلرنگ در محیط استریل و آلوده به بیمارگر *P. ultimum*

محیط استریل (اردیبهشت ۱۳۸۹)		محیط آلوده ۲ (اردیبهشت ۱۳۸۹)		محیط آلوده ۱ (اسفند ۱۳۸۸)		ژنوتیپ
انتخاب‌نشده (دو نسل انتخاب)	انتخاب‌شده (دو نسل انتخاب)	انتخاب‌نشده (دو نسل انتخاب)	انتخاب‌شده (دو نسل انتخاب)	انتخاب‌نشده (دو نسل انتخاب)	انتخاب‌شده (دو نسل انتخاب)	
۰/۲۳ ^a	۰/۲۴ ^a	۰/۲۰ ^a	۰/۱۸ ^a	۰/۲۲ ^a	۰/۲۱ ^{a*}	سیریان
۰/۲۰ ^b	۰/۲۸ ^a	۰/۱۷ ^a	۰/۱۷ ^a	۰/۳۰ ^a	۰/۲۲ ^a	هارتمن
۰/۱۲ ^b	۰/۱۷ ^a	۰/۱۴ ^a	۰/۱۵ ^a	۰/۲۱ ^a	۰/۱۴ ^a	محلی اصفهان
۰/۲۴ ^a	۰/۲۲ ^a	۰/۳۰ ^a	۰/۲۶ ^a	۰/۳۴ ^a	۰/۱۷ ^b	۳۴۰۷۴
۰/۱۵ ^a	۰/۱۸ ^a	۰/۱۶ ^a	۰/۱۵ ^a	۰/۲۱ ^a	۰/۱۱ ^b	زرقان
۰/۱۸ ^a	۰/۲۸ ^a	۰/۲۵ ^a	۰/۲۲ ^a	۰/۳۴ ^a	۰/۲۳ ^a	۳۴۰۴۰

* میانگین‌های دارای حروف یکسان در هر ستون بدون تفاوت معنی‌داری در سطح ۵ درصد می‌باشند.

با توجه به این که انتخاب در هر ژنوتیپ مستقل از ژنوتیپ‌های دیگر صورت گرفته بود، منبع تغییرات انتخاب به شش مقایسه مستقل هر یک مربوط به یک ژنوتیپ تفکیک گردید (جدول ۱). نتایج نشان داد که انتخاب تأثیر معنی‌داری بر درصد سبزشدن ژنوتیپ‌های سیریان، هارتمن، ۳۴۰۷۴، زرقان و ۳۴۰۴۰ داشته است. بیش‌ترین تأثیر انتخاب در خاک آلوده محیط اول مربوط به ژنوتیپ‌های زرقان و در خاک آلوده محیط دوم در مورد ژنوتیپ‌های سیریان و ۳۴۰۷۴ بود. تفاوت معنی‌دار در هر مقایسه که در آن‌ها گروه بذور انتخاب‌شده در مقابل گروه بذور انتخاب‌نشده قرار دارند را می‌توان به تأثیر انتخاب مرتبط دانست. با توجه به اثر انتخاب می‌توان بیان کرد که احتمالاً ژن‌هایی با اثرات افزایشی در کنترل سبزشدن بذور گلرنگ نقش دارند. معنی‌دار شدن اثر متقابل محیط در انتخاب در سطح ۱ درصد بیان‌گر این است که تأثیر انتخاب در شرایط محیطی مختلف، یکسان نبوده است. این یافته اگرچه امری بدیهی محسوب می‌گردد ولی بیان‌گر تأثیر انتخاب بر بهبود درصد سبزشدن ژنوتیپ‌ها تنها در محیط‌های آلوده به قارچ *Pythium* می‌باشد. زیرا اثر انتخاب در محیط استریل معنی‌دار نبود ولی در شرایط محیط‌های آلوده به قارچ بیمارگر معنی‌دار شده بود (جدول ۲). می‌توان استنباط نمود که انتخاب موجب تغییر فراوانی ژن(های) مؤثر بر افزایش سبزشدن بذر در شرایط آلودگی به قارچ گردیده ولی این تغییرات نقشی در میزان سبزشدن جامعه در شرایط استریل نداشته است.

اثر متقابل ژنوتیپ در انتخاب در محیط در سطح ۱ درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). این نشان می‌دهد که تفاوت بذور انتخاب‌شده و انتخاب‌نشده ژنوتیپ‌ها از نظر درصد سبزشدن در محیط‌های آلوده و استریل ثابت نبوده است. ماندل و همکاران (۱۹۹۷) در مطالعات خود وجود اختلاف بین ژنوتیپ‌های گلرنگ از نظر میزان سبزشدن در دو محیط استریل و آلوده به بیمارگر *Alternaria carthami* را نشان دادند.

در این مطالعه همچنین اثر محیط بر سرعت سبزشدن در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). به عبارتی سرعت سبزشدن بذر ژنوتیپ‌ها در محیط‌های استریل و آلوده متفاوت بود. همچنین تفاوت ژنوتیپ‌ها برای سرعت سبزشدن در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود. بین سطوح مختلف انتخاب در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌داری مشاهده گردید به طوری که انتخاب تأثیر معنی‌داری بر سرعت سبزشدن بذور داشت (جدول ۱). معنی‌دار شدن اثر متقابل محیط در انتخاب در سطح ۱ درصد بیان‌گر این است که اثر انتخاب در محیط‌های مختلف، متفاوت بوده است. با توجه به جدول مقایسه میانگین و مقایسه‌های گروهی از نظر سرعت سبزشدن برای ژنوتیپ‌های سیریان، هارتمن، زرقان و ۳۴۰۷۴ اثر

انتخاب در سطح ۱ درصد و در ژنوتیپ ۳۴۰۴۰ اثر انتخاب در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). تفکیک مجموع دو منبع تغییر انتخاب و ژنوتیپ به شش مقایسه مستقل هر یک مربوط به یک ژنوتیپ نشان داد که دو نسل انتخاب تأثیر معنی‌داری بر سرعت سبزشدن ژنوتیپ‌های سیریان، هارتمن، ۳۴۰۷۴، زرقان، ۳۴۰۴۰ داشت. ولی در مورد ژنوتیپ محلی اصفهان اثر انتخاب معنی‌دار نبود و تفاوت معنی‌داری بین بذور انتخاب‌شده و انتخاب‌نشده این ژنوتیپ از نظر سرعت سبزشدن مشاهده نگردید (جدول ۳). کوزیک و همکاران (۱۹۹۱) در بررسی اثر فیتوفتورا در گوجه‌فرنگی نشان دادند که بیش از ۹۵ درصد از واریانس ژنتیکی کل در بین نسل‌ها به علت اثرات افزایشی ژن‌ها می‌باشد. در مطالعه حساسیت محور زیر لپه پنبه به قارچ پیتیوم بعد از دو نسل متوالی انتخاب، بین والدین و نتاج تفاوت معنی‌داری مشاهده شد. به طوری که برخی از نتاج نسبت به والدین مقاومت بیش‌تری نشان دادند (جانسون و پالمر، ۱۹۸۵). هالینگ‌سورث و همکاران (۲۰۰۵) نیز در مطالعه اثر قارچ اسکلوروتینا در یونجه که باعث پوسیدگی ریشه می‌شود نشان دادند که بعد از دو نسل متوالی انتخاب، حساسیت به بیماری کاهش یافت. این پژوهش‌گران مقاومت به این قارچ در یونجه را صفتی وراثت‌پذیر بیان کردند. نتایج پژوهش‌گران دیگر نیز بیان‌گر کارایی روش انتخاب در بهبود مقاومت و یا کاهش حساسیت گیاهان زراعی به بیمارگرهای مختلف است. در مطالعه توارث مقاومت به فوزاریوم در گندم امکان‌پذیر شدن نتاج برای مقاومت به قارچ اثبات شده است (برنوسی و همکاران، ۲۰۰۴). ژانگ و گوسن (۲۰۰۷) در مطالعه اثر قارچ مایکوسفرلا بر روی نخود بیان کردند که با انتخاب نتاج مقاوم به بیماری می‌توان لاین‌های مقاوم را ایجاد کرد. در بررسی بوته‌میری فوزازیومی در گلرنگ، نشان داده شد که انتخاب برای ژنوتیپ‌های مقاوم به بیماری پوسیدگی ریشه فوزازیومی می‌تواند مؤثر باشد (شریف‌نبی و سعیدی، ۲۰۰۴).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این مطالعه نشان داد که تأثیر انتخاب (تفاوت بین والدین و نتاج) بعد از دو نسل قابل مشاهده بود و برخی از نتاج نسبت به والدین مقاومت بیش‌تری نشان دادند. با توجه به تأثیر انتخاب بر مقاومت به *Pythium ultimum* و اهمیت نقش اثر ژن‌های افزایشی، روش اصلاحی انتخاب برای افزایش مقاومت گلرنگ به این بیمارگر قابل توصیه می‌باشد. با توجه به تأثیر معنی‌دار انتخاب بر افزایش درصد و سرعت سبزشدن بذور ژنوتیپ‌های زرقان، سیریان و ۳۴۰۷۴، انتخاب روش مؤثری

در بهبود مقاومت به این بیماری در این ژنوتیپ‌ها می‌باشد. در برخی از ژنوتیپ‌های مورد استفاده در این مطالعه وجود ژن‌هایی با اثرات افزایشی در کنترل مقاومت و سبزشدن بذور در خاک آلوده محتمل به نظر می‌رسد. در مورد سایر ژنوتیپ‌ها، روش‌هایی که اثرات غیرافزایشی ژن‌ها به‌نحوه مؤثری استفاده می‌کنند مانند تولید واریته‌های هیبرید را می‌توان پیشنهاد نمود.

منابع

1. Ahmadi, A., Pahlavani, M.H., Razavi, S.E., and Maghsoudlo, R. 2008. Evaluation of safflower genotype to find genetic sources of resistance to damping-off (*Pythium ultimum*). EJCP. 1: 1-16.
2. Ahmadzadeh, M., Sharifi-Tehrani, A., Hejaroud, Gh., Zad, J., Okhovvat, M., and Mohammadi, M. 2003. Effects of fluorescent pseudomonads on *Pythium ultimum* casual agent of seed rot of common bean. Iranian, J. Agric. Sci. 34: 793-807.
3. Angarawai, I.I., Kadams, A.M., and Bello, D. 2008. Gene effects controlling heritability of downy mildew resistance in Nigerian elite pearl millet lines. World J. Agric. Sci. 4: 545-549.
4. Bernusi, I., Ghanada, M.R., Omidi, M., Yazdi, B., Hosseinzadeh, A., and Mardi, M. 2004. Inheritance of resistance to *Fusarium* within a spike of wheat. Pajouhsh & Sazandegi, 63: 57-62.
5. Dajue, L., and Mundel, H.H. 1996. Safflower. International Plant Genetic Resources Institute. 83p.
6. Davia, D.J., Knowles, P.F., and Klisiewicz, J.M. 1981. Evaluation of the world safflower collection for resistance to *Phytophthora*. Crop Sci. 21: 226-228.
7. Han, Y., Bonos, S., Clarke, B.B., and Meyer, W.A. 2006. Inheritance of resistance to gray leaf spot disease in perennial ryegrass. Crop Sci. 46: 1143-1148.
8. Heritage, A.D., and Harrigan, E.K.S. 1984. Environmental factors influencing safflower screening for resistance to *Phytophthora cryptogea*. Plant Dis. 68: 767-769.
9. Higginbotham, R.W., Paulitz, T.C., Campbell, K.G., and Kidwell, K.K. 2004. Evaluation of adapted wheat cultivars for tolerance to *Pythium* root rot. Plant Dis. 88: 1027-1032.
10. Hollingsworth, C.R., Gray, F.A., and Groose, R.W. 2005. Evidence for the heritability of resistance to brown root rot of Alfalfa, caused by *Phoma sclerotoides*. Can. J. Plant Pathol. 27: 64-70.
11. Huang, H.C., Morrison, R.J., Muendel, H.H., Barr, D.J.S., Klassen, G.R., and Buchko, J. 1992. *Pythium* sp. "group G", a form of *Pythium ultimum* causing damping-off of Safflower. Can. J. Plant Pathol. 14: 229-232.

12. Johnson, L.F., and Palmer, G.K. 1985. Symptom variability and selection for reduced severity of Cotton seedling disease caused by *Pythium ultimum*. Plant Dis. 69: 298-300.
13. Kozik, E., Foolad, M.R., and Jones, R.A. 1991. Genetic analysis of resistance to *Phytophthora* root rot in Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Plant Breed. 106: 27-32.
14. Kulkarni, R.N., and Baskaran, K. 2003. Inheritance of resistance to *Pythium dieback* in the medicinal plant periwinkle. Plant Breed. 122: 184-187.
15. Mundel, H.H., Hung, H.C., Kozub, G.C., and Daniels, C.R.G. 1997. Effect of soil moisture, soil temperature and seed-born *Alternaria carthami*, on emergence of Safflower (*Carthamus tinctorius* L.). Bot. Bull. Acad. Science, 38: 257-262.
16. Nankam, C., and Pataky, J.K. 1996. Resistance to kernel infection by *Fusarium moniliforme* in the sweet corn inbred IL125b. Plant Dis. 80: 593-598.
17. Nederhoff, E. 2000. *Pythium* only successful in stressed plants, Commercial Grower. 55: 41-42.
18. Pahlavani, M.H., Razavi, S.E., Mirzadeh, I., and Vakili, S. 2007. Field screening of Safflower genotypes for resistance to charcoal rot disease. EJCP. 1: 45-52.
19. Paygami, E. 2002. Increased growth of Wheat and biocontrol of *Pythium ultimum* trow with strains of *Trichoderma harzianum* Rifai. J.Agric. Sci. Natur. Resour. 9: 31-38.
20. 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: 219-226.
21. Zeinali, E. 1999. Safflower (characteristics, production & utilization), Gorgan University Press. 137p.
22. Zhang, R.X., and Gossen, B.D. 2007. Heritability estimates and response to selection for resistance to *Mycosphaerella* blight in Pea. Crop Sci. 47: 2303-2307.



(Short Technical Report)

Improvement of resistance to *Pythium ultimum* in safflower by selection under field conditions

*E. Nikmanesh¹ and H. Pahlevani²

¹M.Sc. Student, Dept. of Plant Breeding, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran, ²Associate Prof., Dept. of Plant Breeding, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

Received: 11/28/2010; Accepted: 08/08/2012

Abstract

Damage of the pathogens is one of the main limitations for cultivating and production of safflower. This study was performed to investigate reaction of safflower genotypes to *Pythium ultimum* during 2009 and 2010 under field conditions. The study was done in two parts, selection and evaluation of parents (part 1; 2009) and evaluation of the progenies (part2; 2010). In the first year, the experiment was performed as a randomized complete block design including selected seeds (seeds obtained on plants at infested soil) and unselected seeds (obtained seeds at sterilized soil) of 6 genotypes in 8 replications. In the second year, experiment was conducted in 3 different conditions. These conditions were included of two infested environments (environment 1 and 2) and one sterile environment. The suspension of 10^5 per ml zoospore was used for infection. Results showed that *P. ultimum* damping-off decreased speed of emergence. Selection increased percent of emergence of genotype Zargan from 29.25% to 40.75%, of Syrian from 37.0% to 46.0% and of 34074 from 41.7% to 64.2%. Improving of percent and speed of emergence in infested soil with *P. ultimum* showed that selection is an effective way for breeding resistance to this disease in some of safflower genotypes.

Keywords: Emergence, Pathogen, Seed, Susceptibility, Suspension.

* Corresponding author; Email: elhamnikmanesh@yahoo.com