DOI: 10.22034/ijpp.2024.2004968.414

بیماری‌های گیاهی / جلد ۵۹ / شماره ۳/ سال ۱۴۰۲: ۱۷۲-۱۵۵

CC BY

مقاله پژوهشی

واکنش منتخب ژرم پلاسم جهانی و لاین های نوترکیب حاصل از تلاقی بین گونه ای گلرنگ به بیماری بوته میری فوزاریومی

زهرا پورقاسم[۱]، بهرام شریف نبی[۲] و محمد مهدی مجیدی[۳] و زینب اسماعیلی[۴]

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۴/۰۶ ، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۵/۲۷)

چکیده

در بین گیاهان دانه روغنی، گلرنگ از جایگاه ویژه ای بویژه برای تولید در شرایط تغییر اقلیم برخوردار است. از مشکلات اساسی کشت گلرنگ، بوته میری بر اثر حمله قارچ ها می باشد، که تحمل به آن در گونه زراعی بومی محدود است. بررسی های انجام شده نشان داد که عامل بیماری ***Fusarium solani*** می‌باشد. تعداد۵۶ ژنوتیپ گلرنگ شامل لاین‌های حاصل از تلاقی بین گونه ای و نیز تعدادی از ارقام داخلی و خارجی به منظور بررسی واکنش آنها به بیماری در قالب طرح بلوکهای کامل تصادفی با سه تکرار در گلخانه ارزیابی شدند. واکنش بوته ها نسبت به بیماری با اندازه گیری صفاتی مانند: درصد مرگ و میر، طول منطقه نکروز در ریشه، تعداد بوته زنده، وزن خشک ریشه، وزن خشک هوایی، ارتفاع ساقه، قطر ساقه ارزیابی شد. نتایج نشان داد بین میانگین طول زخم روی ریشه و تعداد بوته های زنده در گلخانه همبستگی منفی بالایی وجود داشت. ژنوتیپ ها به پنج گروه (مقاوم، نسبتاً مقاوم، متحمل، نسبتاً حساس، حساس) تفکیک شدند. مقاومترین ژنوتیپ ها، **Padideh**، **Golmehr** و والد وحشی**P** بودند. ژنوتیپ **Kose**، حساس ارزیابی شد. از آنجایی که گونه والد وحشی **p** و برخی لاینهای حاصل از تلاقی بین گونه ای آن دارای بیشترین درصد زنده مانی و کمترین درصد مرگ و میر بودند و از طرفی این گونه شبیه ترین گونه از نظر صفات زراعی به گونه اهلی است، استفاده از این گونه و لاین‌های حاصل از تلاقی بین گونه ای آن برای ایجاد ارقام مقاوم به بیماری قابل توصیه می باشد.

کلمات کلیدی: بوته میری، گلرنگ، ارزیابی مقاومت، طول منطقه نکروز

---

* بخشی از پایان نامه کارشناسی ارشد نگارنده اول ارایه شده به دانشگاه صنعتی اصفهان

**مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: sharifna@iut.ac.ir

۱ دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان، ایران

۲ استاد گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان، ایران

۳ استاد گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان، ایران

۴ دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان، ایران

Iran. J. Plant Path., Vol. 59, No .3, 2023: 155-172

DOI: 10.22034/ijpp.2024.2004968.414

Research Article
Reaction of safflower selected world- wide germplasm and inter-specific derived lines to Fusarium root rot disease

Zahra Pourghasem[1], Bahram Sharifnabi[2*], Mohammad Mahdi Majidi[3] and Zaynab Esmaeli[4]

(Received: 27.06.2023; Accepted: 17.08.2024)

Abstract

Among the oilseed plants, safflower has a special place, for production under climate change conditions. One of the main problems of safflower cultivation is fungal attack, which ultimately reduces crop yield. Studies have shown that *Fusarium solani* is the cause of the disease. Fifty six safflower genotypes were evaluated for their response to Fusarium root rot in a completely randomized block design with three replications in greenhouse conditions. The response was assessed by measuring traits such as mortality rate, length of necrosis zone in roots, number of viable plants, dry root weight, and dry weight of aerial area, stem height and stem diameter. The results showed that there is a high negative correlation between the mean necrosis length on the root and the number of live plants in the greenhouse. Genotypes were divided into five groups (resistant, relatively resistant, tolerant, susceptible, and relatively susceptible). The most resistant genotypes were Padideh, Golmehr, and P. Kose was evaluated as susceptible genotype. The wild species of *C. palaestinus* (P) and some genotypes resulting from its interspecies had the highest survival rate and the lowest necrosis length and mortality rate, the use of *C. palaestinus* and the lines resulting from its interspecies to create disease-resistant cultivars could be recommended.

Key Words: root rot disease, safflower, resistant evaluation, length of necrosis zone

---

[*] A part of MSc. thesis of the first author submitted to Isfahan University of Technology

[**]Corresponding author's E-mail address: sharifna@iut.ac.ir

1 MSc. graduate of Plant Pathology, Department of Plant Protection, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan 8415683111, Iran

2 Professor of Plant Pathology, Department of Plant Protection, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan 8415683111, Iran

3 Professor of Plant Genetics, Department of Plant Production and Genetics, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan 8415683111, Iran

4 MSc. graduate of Plant Pathology, Department of Plant Protection, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan 8415683111, Iran

مقدمه

گلرنگ با نام علمی *Carthamus tinctorius* L. یکی از گیاهان سازگار با شرایط آب و هوایی کشور که در بین دانه‌های روغنی از جایگاه ویژه‌ای برخوردار است. ویژگی‌های مطلوب خاص این گیاه نظیر قدرت سازگاری بالا، تحمل به سرما، پایین بودن نیاز آبی و مقاومت نسبی به خشکی به دلیل داشتن ریشه‌های عمیق، تحمل نسبی به شوری، کیفیت بالای روغن آن را به عنوان گیاه روغنی با ارزش مطرح نموده است (Ahmadzadeh *et al.*2009, Mündel *et al.* 1994). گونه‌های وحشی گلرنگ به عنوان منبع مهم از ژن‌های مطلوب برای بهبود بسیاری از صفات مهم مانند مقاومت به آفات و بیماری‌ها، افزایش تحمل به خشکی و شوری، بهبود کیفیت روغن و حتی افزایش عملکرد محسوب می‌شوند (Golkar *et al.* 2011, Hajjar & Hodgkin 2007). شناسایی و تلفیق ژن‌ها از گونه‌های گیاهان وحشی ابزاری برای حفظ صفات و بهبود ژنتیکی گیاهان است، به طوری که گلرنگ وحشی منبع مناسبی برای انتقال ژن‌های مقاوم به خشکی به گونه‌های اهلی شناخته شده است (Majidi *et al.* 2011). اسپنانی و همکاران (۲۰۱۹) در بررسی لاین‌های خالص نوترکیب حاصل از سه تلاقی بین گونه‌ای گلرنگ تنوع بسیار زیادی از نظر صفات موفولوژیک، فیزیولوژیک، تولید، تحمل به خشکی و صفات مرتبط با روغن مشاهده کردند (Espanani *et al.* 2019a, Espanani *et al.* 2019b). انتظار می رود اجداد وحشی گلرنگ حاوی ژنهای مقاومت به بیماریها نیز باشند.

تاکنون بیماری‌های زیادی از گلرنگ گزارش شده است، از بیماری‌های قارچی گلرنگ می توان به زنگ گلرنگ، سفیدک پودری، لکه برگی آلترناریایی، لکه قهوه‌ای گلرنگ، پوسیدگی زغالی، سوختگی ریزوکتونیایی، پژمردگی ورتیسیلومی و بوته میری و فیلودی گلرنگ اشاره کرد (Votzi *et al.* , Salehi *et al. 2002* ,Sharifnabi 2016, 2020). بوته میری از جمله بیماری های قابل توجه گلرنگ می‌باشد که قارچ های متعددی عامل ایجاد بیماری هستند. قارچ ها و شبه قارچهای *Pythium ultimum*، *Phytophthora drechsleri*، *Fusarium solani*، *Verticillium albo-atrum*، *Rhizoctonia solani* و *Fusarium oxysporum* به عنوان عامل بوته‌میری گلرنگ گزارش شده‌اند (Abdollahi & Ale Agha 1970, Fassihiani 1995). دو گونه از جنس *Fusarium* به نامهای *F.oxysporum* و *F.solani* باعث ایجاد بیماری پوسیدگی و پژمردگی درگلرنگ می‌شوند (Sadravi 2003, Sharifnabi & Saeidi 2004). در این بیماری بوته‌های آلوده در ابتدا زرد و سپس خشک می‌شوند و شکاف طولی در روی ریشه و تغییر رنگ ریشه دیده می‌شود. بوته‌میری فوزاریومی به صورت پوسیدگی خشک ریشه است و بوته به راحتی از خاک خارج نمی‌شود. عامل بیماری در تمام مراحل رشد گیاه می‌تواند گلرنگ را مورد حمله قرار دهد، به طوری که بوته‌های مسن و مراحل انتهایی رشد بوته‌ها از جمله عوامل بیماری‌زا در امان نمی‌مانند. بیشترین خسارت ناشی از عوامل بیماری‌های خاکزاد گلرنگ وقتی اتفاق می‌افتد که شرایط رطوبتی خاک تغییر نموده و گیاهان در شرایط تنش رطوبتی نسبت به عامل بیماری‌زای خاکزاد حساس‌تر شوند (Sharifnabi 2016). استفاده از ارقام مقاوم به پوسیدگی فوزاریومی یکی از موثرترین روش‌های مدیریت بیماری و کاهش خسارت است (Chattopadhyay & Kalpana 2003). در ایران فرم اختصاصی *F. solani* fsp. *carthami*، *F. compactum* به عنوان عامل بوته‌میری گلرنگ در استان فارس گزارش شده است (Amiri Mazhar *et al.* 2013 , Abdollahi & Fassihiani 1995). در بررسی مقاومت ۲۱ ژنوتیپ گلرنگ نسبت به به بیماری پوسیدگی فوزاریومی در استان اصفهان، مقاوم ترین ژنوتیپ به بیماری، لاین اصلاحی *IUTE14310* وحساس ترین ژنوتیپ لاین *IUTC121* و توده Kose حساس، و واریته خارجی *Saffire* و

AC stirling متحمل و واریته *ACSunset* نسبتا مقاوم گزارش شده‌اند (Sharifnabi & Saeidi 2004).

کنترل این بیماری در مزرعه مشکل است، زیرا قارچ بیمارگر می تواند مدت زمان طولانی به صورت میسلیوم در بقایای گیاهی و یا به شکل کلامیدوسپور در خاک زنده بماند. استفاده از بذر سالم، روش های مناسب آبیاری و کاشت، استفاده از ارقام مقاوم، متحمل، تناوب زراعی و ضدعفونی بذر با قارچکش های مناسب در کنترل بیماری موثر است (Sharifnabi & Saeidi 2004). بر اساس گزارش محمودی و نادری در سال ۲۰۱۷، باکتری *Bacillus cereus* و یک جدایه از *Pantoea agglomerans* به طور قابل توجهی بیماری ناشی از *F. solani* را در گلرنگ کاهش داده است (Mahmoudi & Naderi 2017). در پژوهش ناگسوارا و همکاران(۲۰۱۴)، مشخص شد قرار دادن نخود در تناوب با گلرنگ، همچنین سورگوم به علت ترشح اسیدهیدروسیانیک از ریشه که به عنوان ضد قارچ عمل می‌کند، در کنترل بیماری موثر است (Nageswara Rao *et al*. 2014). ارزیابی و شناسایی ژنوتیپ‌های مقاوم گلرنگ به پوسیدگی فوزاریومی و تولید ارقام مقاوم تجاری همواره مورد توجه محققین بوده است. تحقیقات نشان داده که تنوع ژنتیکی در ژنوتیپ‌های گلرنگ برای مقاومت به بیماری‌ها از جمله پوسیدگی فوزاریومی وجود دارد. به همین دلیل برخی از لاین‌های مقاوم به بیماری پژمردگی فوزاریومی گلرنگ از خاورمیانه انتخاب و به عنوان منبع مقاومت در برنامه‌های به نژادی برای تولید ارقام مورد استفاده قرار گرفته‌اند (Klisiewicz 1980). با این وجود از پتانسیل بالای خویشاوندان وحشی گلرنگ برای بهبود گلرنگ زراعی در راستای ایجاد ارقام مقاوم به این بیماری استفاده نشده است.

با توجه به افزایش سطح کشت گلرنگ در استان اصفهان و وجود شرایط آب و هوایی خشک در این منطقه که باعث گسترش بیماری بوته‌میری می‌شود، در این تحقیق شناسایی و معرفی ارقام جهانی و لاین‌های خالص نوترکیب حاصل از تلاقی بین گونه‌ای گلرنگ به منظور یافتن ژرم پلاسم های مقاوم به بیماری پوسیدگی طوقه به عنوان بهترین و موثرترین روش برای کاهش خسارت ناشی از بیماری، مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها

این پژوهش از مرداد ماه ۱۳۹۹ تا آذر ماه ۱۴۰۰، به منظور شناسایی عوامل بوته میری گلرنگ و ارزیابی واکنش ارقام و لاین های نوترکیب حاصل از تلاقی بین گونه‌ای گلرنگ به بیماری بوته میری فوزاریومی در استان اصفهان صورت گرفت. از مزارع گلرنگ استان اصفهان شامل شهرستان‌های هرند، برخوار، اردستان، مبارکه و اصفهان، بوته‌های مشکوک به آلودگی قارچی همراه با ریشه در پاکت‌های پلاستیکی قرار گرفته و به آزمایشگاه منتقل شدند و در یخچال چهار درجه سلسیوس، جهت انجام مراحل بعدی نگهداری شدند. رقم‌های Kose و Soffe مورد استفاده در همه مناطق بود.

جداسازی وخالص کردن قارچ‌های بیماری‌زا

پس از شست و شو قطعات کوچکی (حدفاصل مرزسالم و آلوده) از ناحیه ریشه تهیه شد. قطعات برش داده شده، ابتدا در آب مقطر سترون به مدت۲۰ثانیه و سپس توسط اتانول ۷۰٪ به مدت ۲۰ ثانیه ضدعفونی سطحی گردیدند و مجددا درآب مقطرسترون به مدت۲۰ ثانیه، شستشو شد و سپس به مدت۳۰ ثانیه درمحلول هیپوکلریت سدیم ۱۰ درصد ضدعفونی سطحی گردید. سپس، نمونه‌ها روی کاغذ صافی سترون خشک و به محیط کشت PDA حاوی ۵۰ ppm آنتی بیوتیک کلرامفنیکل منتقل شدند. تشتک های پتری در انکوباتور ۲۵ درجه سلسیوس به مدت ۷ تا ۱۰ روز نگهداری و بعد از تشکیل پرگنه‌های قارچ، قطعات کوچکی به محیط‌های تازه

PDA انتقال داده شد.

آزمون بیماری‌زایی در شرایط آزمایشگاه

از هر جدایه یک قطعه پرگنه قارچ روی محیط کشت PDA قرارگرفت و تشتک های پتری دردمای ۲۵ درجه سلسیوس قرار گرفتند تا جدایه ها چهار سانتیمتر رشد نمایند. مقداری بذر گلرنگ رقم Kose ابتدا با هیپوکلریت سدیم ۰/۵ درصد به مدت پنج دقیقه ضدعفونی و پس از آب‌شویی با آب مقطرسترون در تشتک پتری حاوی کاغذ صافی مرطوب در دمای ۲۰ درجه سلسیوس به مدت شش روز نگهداری شدند تا جوانه زنی نمایند. پس ازجوانه زنی، شش بذر دراطراف پرگنه هر جدایه مورد آزمایش، درتشتک پتری قرار داده شد و تشتک‌های پتری در دمای ۲۰ درجه سلسیوس به مدت هفت روز نگهداری شدند. جدایه‌های بیماری‌زا پس از ۲۴ ساعت درناحیه طوقه و ریشه گیاهچه ایجاد تغییر رنگ نمودند و جدایه با بیماری‌زایی بیشتر انتخاب شد. از قسمت های تغییر رنگ داده مجدد تکه‌ای پس ازمراحل شست و شو و استریل کردن به محیط کشت PDA منتقل گردید. دراین آزمایش قارچ‌های *Penicillium* spp. و محیط کشت بدون جدایه قارچ به ترتیب به عنوان شاهد مثبت و منفی در نظر گرفته شدند(Sharifnabi & Saeidi 2004).

آزمون بیماری‌زایی در شرایط گلخانه

به منظور انجام این آزمون در گلخانه با دمای۲۰- ۲۵ درجه سلسیوس، در گلدان هایی به قطر ۱۰ سانتی‌متر، حاوی خاک استریل شده به تعداد ۱۰ عدد بذر ضدعفونی شده گلرنگ رقم Kose کاشته شد و در مرحله۶-۴ برگی در هر گلدان تعداد پنج گیاهچه نگهداری شد. برای هر جدایه قارچ سه گلدان (تکرار) در نظر گرفته شد. به منظور مایه زنی گیاهان با جدایه های قارچ از دانه‌های گندم استفاده شد، به این منظور مقدار ۲۰۰ گرم دانه گندم پس از شستشو، به مدت ۱۲ ساعت در آب خیسانده شدند، سپس در درون ارلن های جداگانه قرار داده شدند و با ورقه آلومینیوم درب آنها بسته و به مدت ۲۰ دقیقه در سه مرحله و در سه روز متوالی در اتوکلاو قرار گرفتند. گندم های سترون به همراه ۱۰ عدد دیسک میسلیومی جدایه‌های قارچی مربوط، پس از دو هفته رشد روی محیط PDA مایه زنی شدند و به مدت دوهفته دردمای ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شدند. به منظور اطمینان از کلنیزاسیون دانه‌های گندم با جدایه قارچی مربوطه، ارلن‌های حاوی دانه‌های گندم وجدایه قارچ هر روز تکان داده شدند و محیط داخل ارلن با آب مقطر سترون مرطوب نگه داشته شد. برای تیمار شاهد از۱۰ عدد دیسک PDA فاقد قارچ، درارلن حاوی گندم‌های سترون استفاده شد. برای اجرای آزمون برای هر جدایه قارچ سه تکرار در نظر گرفته شد و پس از خراش در محل طوقه هرگیاه پنج عدد بذر گندم، به عنوان مایه قارچ در نزدیکی طوقه قرار داده شد. در سه گلدان گندم‌های سترون شده فاقد مایه قارچ، به عنوان شاهد قرار گرفت. پس از یک ماه عکس العمل گیاهچه ها مورد بررسی قرار گرفت. جدایه‌های بیماری‌زا باعث ایجاد نکروز در طوقه و زردی برگ‌ها شده بودند. از هر تیمار، گیاهچه آلوده به آزمایشگاه منتقل و از حد فاصل بافت سالم و آلوده نمونه‌ها، قطعه‌ای پس از انجام مراحل استریل درون محیط کشت PDA قرار گرفت و قارچ‌های رشدیافته مجدداً شناسایی شدند (Sharifnabi & Saeidi 2004).

ارقام و لاین‌های نوترکیب مورد استفاده

در این مطالعه تعداد ۱۹رقم زراعی،۳ والد ژنوتیپ به عنوان والدین تلاقی ها (یک اهلی و دو وحشی) و ۳۴ لاین نوترکیب گلرنگ برای واکنش به بیماری پوسیدگی فوزاریومی گلرنگ مورد ارزیابی قرار گرفتند. مشخصات ژنوتیپ‌های والدین گلرنگ و مشخصات لاین‌های گزینش شده حاصل از تلاقی بین گونه‌ای گلرنگ به ترتیب در جدول ۱ و ۲ آمده است.

جدول ۱- مشخصات والدین گلرنگ مورد استفاده در این پژوهش (Shafiei 2019)

Table1. Safflower parental properties used in this research (Shafiei 2019)

Early maturity, the lowest mean value for the traits number of bolls per plant, seed yield and number of seeds per plant compared to *C. palaestinus* under moisture stress conditions	*Carthamus tinctorious* (T)
Late maturity, tolerant to moisture stress, the highest mean value for traits of number of bolls per plant, seed yield and number of seeds per plant in stress and non stress moisture conditions.	*C. palaestinus* (P)
Late maturity, the lowest percentage of yield reduction in moisture stress conditions compared to the previous two species, the lowest mean value for the characteristics of boll diameter, seed yield and the number of seeds per plant and the highest mean value for the trait of the number of bolls per plant	*C. oxyacanthus* (O)

جدول ۲- مشخصات لاین‌های گزینش شده حاصل از تلاقی بین گونه‌ای گلرنگ (Shafiei 2019)

Table 2. Information of selected safflower lines derived from ineterspecific hybridization

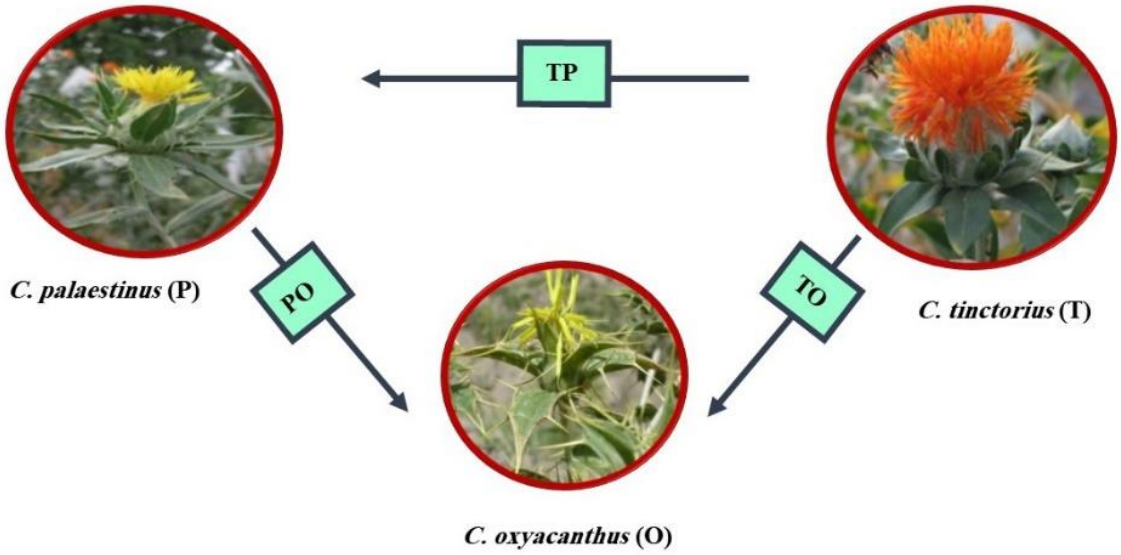
Table2. Selected line properties from inter- specific derived

Maternal	Parental	Offsprings	Lines number
Carthamus tinctorius	*C. palaestinus*	TP	12
C. tinctorius	*C. oxyacanthus*	TO	12
C. oxyacanthus	*C. palaestinus*	PO	10

جدول ۳- مشخصات ارقام زراعی گلرنگ مورد استفاده در این پژوهش

Table 3. Information of safflower cultivars used in this research

Selected from the local population - in 1995 introduced by the research institute for the Seed and Plant and Improvement Institute, spring, suitable for cold and temperate regions, can be cultivated in summer	Kose
Isolated by single plant selsction from the Urmia safflower local population using the method of pure line selection, introduced in 2005, by the Seed and Plant and Improvement Institute, autumn, suitable for cold and moderately cold regions, late maturity, cold tolerant	Padideh
The result of the selection from a single plant in the local population of safflower in East Azarbaijan using the method of selecting pure lines, the year of introduction 2008, by the Seed and Plant and Improvement Institute, spring, suitable for hot, warm, early maturity, cold-tolerant regions	Goldasht
The result of the selection of a single plant from the local Isfahan safflower population using the method of selecting pure lines, the year of introduction 2009, by the Seed and Plant and Improvement Institute, spring, suitable for cold temperate regions, can be cultivated in summer.	Soffe
The result of two crosses (Zarghan 279*I.L.111) and selection in the separating generations, year of introduction 2012, by the Seed and Plant and Improvement Institute, autumn, suitable for cold and moderately cold regions, late maturity, tolerant to the cold	Golmehr
The result of the selection of a single plant from the Isfahan safflower local population using the pure line selection method, the year of introduction 2016, by the Seed and Plant and Improvement Institute, basic growth type, suitable for hot and moderately hot, early maturity	Parnian



شکل ۱- ژنوتیپ‌های والدین استفاد شده برااى تلاقی‌های بین گونه‌ای درجنس *Carthamus* (Shafiei 2019)

Fig 1. Parent genotypes in genus *Carthamus* used for inter- specific hybridizatn

ارقام محلی اصفهان (Kose)، Goldasht ، Golmehr ، Padideh ، Parnian و Soffe تهیه شده از بخش دانه های روغنی موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج. برخی از مشخصات ارقام در جدول ۳ ذکر شده است.

ارزیابی مقاومت ارقام و لاین‌های نوترکیب حاصل از تلاقی بین گونه‌ای در گلخانه

ارزیابی ژنوتیپ‌ها در شرایط گلخانه با استفاده از طرح بلوکهای کامل تصادفی با سه تکرار انجام گردید. هر واحد آزمایشی شامل پنج گیاه در یک گلدان به قطر۱۰ سانتی‌متر بود، که در خاک سترون کشت شدند. آلودگی مصنوعی در مرحله ۶-۴ برگی با استفاده از قرار دادن بذر گندم، حاوی جدایه قارچ بیماری‌زا در کنار طوقه گیاه انجام گرفت. از واریته Kose به عنوان شاهد استفاده گردید. واکنش بوته-های هر ژنوتیپ نسبت به عامل بیماری، از طریق اندازه گیری طول منطقه نکروز شده طوقه، تعداد بوته زنده، درصد مرگ و میر، ارتفاع ساقه، قطر ساقه، وزن خشک ریشه و وزن خشک قسمت هوایی بررسی شد.

تجزیه و تحلیل های آماری

بمنظور تجزیه آماری، ابتدا نرمال بودن داده ها با روش Q-Q plot مورد آزمون قرار گرفت. سپس تجزیه واریانس صفات در قالب طرح بلوکهای کامل تصادفی انجام شد. آنگاه در مورد هر کدام از صفات که مقدار F مربوطه در جدول تجزیه واریانس معنی‌دار بود، مقایسه میانگین با استفاده از آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) انجام شد. تجزیه های آماری با نرم‌افزارSAS انجام شد.

جدول۴- مشخصات ارقام و لاین‌های نوترکیب حاصل از تلاقی بین گونه‌ای مورد بررسی در مطالعه

Table 4. Information of cultivars and recombinant lines derived from interspecific hybridization used in this study

Explanation	Cross (origin)	Code		Group	number
Cultivate Parent	Goldasht	*C. tinctorius*		T	1
Wild Parent	Palestine	*C. palaestinus*		P	2
Wild Parent	Shiraz	*C. oxyacanthus*		O	3
Drought tolerance	*C.tinctorius* ⁂ *C.palaestinus*	TP	16	TP	4
Drought tolerance	*C. tinctorius* * *C. palaestinus*	TP	6	TP	5
Drought tolerance	*C. tinctorius* * *C. palaestinus*	TP	8	TP	6
Drought tolerance	*C. tinctorius* * *C. palaestinus*	TP	48	TP	7
Drought tolerance	*C. tinctorius* * *C. palaestinus*	TP	51	TP	8
Drought sensitive	*C. tinctorius* * *C. palaestinus*	TP	26	TP	9
Drought sensitive	*C. tinctorius* * *C. palaestinus*	TP	60	TP	10
Drought sensitive	*C. tinctorius* * *C. palaestinus*	TP	56	TP	11
Drought sensitive	*C. tinctorius* * *C. palaestinus*	TP	30	TP	12
Drought sensitive	*C. tinctorius* * *C. palaestinus*	TP	36	TP	13
High linoleic acid (C18:2)	*C. tinctorius* * *C. palaestinus*	TP	1	TP	14
High linoleic acid (C18:2)	*C. tinctorius* * *C. palaestinus*	TP	61	TP	15
Drought tolerance	*C. tinctorius* ⁂ *C.oxyacanthus*	TO	179	TO	16
Drought tolerance	*C. tinctorius* * *C. oxyacanthus*	TO	158	TO	17
Drought tolerance	*C. tinctorius* * *C. oxyacanthus*	TO	146	TO	18
Drought tolerance	*C. tinctorius* * *C. oxyacanthus*	TO	139	TO	19
Drought tolerance	*C. tinctorius* * *C. oxyacanthus*	TO	142	TO	20
Drought sensitive	*C. tinctorius* * *C. oxyacanthus*	TO	184	TO	21
Drought sensitive	*C. tinctorius* * *C. oxyacanthus*	TO	149	TO	22
Drought sensitive	*C. tinctorius* * *C. oxyacanthus*	TO	167	TO	23
Drought sensitive	*C. tinctorius* * *C. oxyacanthus*	TO	171	TO	24
Drought sensitive	*C. tinctorius* * *C. oxyacanthus*	TO	187	TO	25
High linoleic acid (C18:2)	*C. tinctorius* * *C. oxyacanthus*	TO	156	TO	26
High linoleic acid (C18:2)	*C. tinctorius* * *C. oxyacanthus*	TO	143	TO	27
Drought tolerance	*C. palaestinus* * *C. oxyacanthus*	PO	114	PO	28
Drought tolerance	*C. palaestinus* * *C. oxyacanthus*	PO	81	PO	29
Drought tolerance	*C. palaestinus* * *C. oxyacanthus*	PO	72	PO	30
Drought tolerance	*C. palaestinus* * *C. oxyacanthus*	PO	69	PO	31
Drought tolerance	*C. palaestinus* * *C. oxyacanthus*	PO	112	PO	32
Drought sensitive	*C. palaestinus* * *C. oxyacanthus*	PO	94	PO	33
Drought sensitive	*C. palaestinus* * *C. oxyacanthus*	PO	84	PO	34
Drought sensitive	*C. palaestinus* * *C. oxyacanthus*	PO	121	PO	35
Drought sensitive	*C. palaestinus* * *C. oxyacanthus*	PO	107	PO	36
Drought sensitive	*C. palaestinus* * *C. oxyacanthus*	PO	105	PO	37
Drought tolerance	Egypt	G58		Stable variety	38
Drought tolerance	Canada	G84		Stable variety	39
Drought sensitive	Uzbekistan	G35		Stable variety	40
Drought sensitive	Poland	G14		Stable variety	41
High Oleic acid (C18:1) & Low linoleic acid (C18:2)	Bangladesh	G47		Stable variety	42
high oil content	Canada	G85		Stable variety	43
high palmitic acid (16:0)	Iran	Darab2		Stable variety	44
high palmitic acid (16:0)	Iraq	G19		Stable variety	45
Drought tolerance	Iran	Kose		Iranian cultivar	46
Drought tolerance	Iran	Shiraz		Iranian cultivar	47
Drought sensitive	Iran	Golsfid		Iranian cultivar	48
-	Palestine	Palast37		Iranian cultivar	49
-	Iran	Oxy190		Iranian cultivar	50
-	Iran	Oxys-r		Iranian cultivar	51
-	Iran	Soffe		Iranian cultivar	52
-	Iran	Goldasht		Iranian cultivar	53
-	Iran	Padideh		Iranian cultivar	54
-	Iran	Golmehr		Iranian cultivar	55
-	Iran	Parnian		Iranian cultivar	56

نتایج و بحث

تمامی جدایه ها، بر اساس بررسی های انجام گرفته و مقایسه با توصیفات لزلی و همکاران و مقالات معتبر به عنوان *F. solani* شناسایی گردید. قارچ روی محیط کشت PDA دارای رشد سریع بود. پرگنه‌های این قارچ‌ها معمولاً دارای میسلیوم هوایی پراکنده به رنگ سفید تا کرم هستند. رنگدانه‌های بنفش تا قهوه ای در برخی جدایه‌ها در محیط کشت تولید گردید. میکروکنیدیوم به فراوانی یافت شد. اسپوردوخیوم به رنگ کرم روی قطعات برگ میخک و سطح آگار مشاهده شد. ماکروکنیدیوم‌ها تقریباً کشیده، سه تا چهاربندی با دیواره ضخیم به اندازه (۵/۵-۱/۳)×۳/۴(۴۲-۴۷) ۵/۴۴ میکرومتر به فراوانی در اسپوردوخیوم‌ها تشکیل گردید. سلول پایه اغلب پاشنه ای شکل و اولین سلول راسی در انتهای دیگر ماکروکنیدیوم، گرد بود. کنیدیوفورها به صورت مونوفیالیدهای شاخه ای یا بدون شاخه تشکیل شدند که میکروکنیدیوم‌ها را تولید کردند و پلی فیالیدها تشکیل نشدند. میکروکنیدیوم‌ها به فراوانی در میسلیوم هوایی در منوفیالیدهای بلند به اشکال تخم مرغی و بیضوی تک یا دو حجره ای به اندازه (۳/۵-۱/۵)×۳/۴(۵/۸-۵/۵) ۷ میکرومتر مشاهده گردید. کلامیدوسپورها به فراوانی به اشکال منفرد، جفتی، زنجیری و خوشه‌ای در ریسه و ماکروکنیدیوم‌ها تشکیل گردید. بنابراین گونه فوزاریوم شناسایی شده در این پژوهش بر اساس مشخصات ماکروسکوپی و میکروسکوپی، *F. solani* تعیین شد. قبلا" نیز در استان اصفهان شریف نبی و سعیدی (۱۳۸۳) هم به این نتیجه دست یافته بودند (Sharifnabi & Saeidi 2004).

آزمون بیماری‌زایی جدایه‌های*Fusarium* در شرایط آزمایشگاه روی بذر گلرنگ Kose در دمای ۲۵ درجه سلسیوس انجام گرفت. پس از گذشت تقریبی هفت روز و انجام اصول کخ بیماری زایی جدایه‌های فوزاریوم اثبات شد. نتایج حاصل از آزمایش نشان داد که همه جدایه‌ها باعث آلودگی ریشه، طوقه و ساقه گلرنگ شدند و این آلودگی به صورت تغییر رنگ در این نواحی قابل مشاهده بود و جدایه Ar_2 به عنوان جدایه با بیماری‌زایی بیشتر انتخاب گردید. آزمون بیماری‌زایی در شرایط گلخانه در نظر گرفته شد. پس از یک ماه علائم بیماری از جمله بوته‌میری، تغییر رنگ و پوسیدگی طوقه و ریشه در گیاهچه ها، مورد بررسی قرار گرفت. برای اطمینان از آلودگی بوته‌ها به قارچ مورد نظر، قطعاتی از ریشه و طوقه آنها، به محیط کشت PDA برای جداسازی قارچ عامل بیماری منتقل شد. بیماریزایی همه‌ی جدایه‌های قارچی اثبات شد و جدایه‌ی Ar_2 با بیماریزایی بیشتر برای پژوهش اصلی مورد استفاده قرار گرفت. نتایج حاصل از بررسی ارقام و لاین های نوترکیب در گلخانه از ثبت مرگ و میر گیاهان، نشان داد، کمترین درصد مرگ و میر مربوط به رقم P ، Golmehr، Padideh و Palest37 با میانگین ۶/۶۷ درصد و بیشترین درصد مرگ و میر مربوط به To142 و To158 و Tp1 با میانگین ۶۶/۶۷ درصد که نشان دهنده تنوع بالا و واکنش متفاوت ژنوتیپ ها نسبت به بیماری است. بیشترین اندازه طول منطقه نکروز شده با میانگین ۱۳/۱ در رقم Kose مشاهده شد و کمترین آنها در رقم Padideh با میانگین ۱/۱۳ میلی‌متر مشاهده گردید. در ژنوتیپ های مایه زنی شده بیشترین گیاه زنده با میانگین ۶۰/۴ مربوط به رقم های Palast37، Padideh، Golmehr و P و کمترین گیاه زنده با میانگین ۷۰/۱ مربوط به رقم های To142 و To158 و Tp1 بوده است. وزن خشک ریشه با میانگین ۲ گرم، دامنه تغییراتی بین ۱۳ گرم در ژنوتیپ Tp48 تا ۰/۳۵ گرم در رقم Golmehr داشت .نتایج آمار توصیفی صفت وزن خشک اندام هوایی نشان داد که بیشترین میانگین این صفت ۸/۱ گرم و مربوط به رقم والد وحشی P و کمترین آن ۵۸ گرم به رقم Darab2 تعلق داشت. ارتفاع ساقه میانگینی برابر با ۹/۲۴ سانتی‌متر و دامنه‌ای بین ۳/۱۱ سانتی‌متر مربوط به رقم Golmehr و

۲۳/۳۲ سانتی‌متر مربوط به رقم Oxys-r بود. ژنوتیپ Po112 و رقم Padideh به ترتیب با میانگین ۱۱/۱ و ۲۱/۳ میلی‌متر کمترین و بیشترین قطر ساقه را داشتند. نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که ژنوتیپ های مورد ارزیابی از نظر صفت درصد مرگ و میر در سطح احتمال پنج درصد دارای تفاوت معنی‌داری بودند. جدول تجزیه واریانس (جدول۵) نشان داد ژنوتیپ های مورد بررسی از نظر واکنش به بیماری متفاوت بودند و با توجه به معنی‌دار بودن تفاوت بین ژنوتیپ های گلرنگ برای صفت مرگ و میر، می توان بیان نمود تنوع ژنتیکی برای این صفت وجود دارد. نتیجه ای مشابه توسط شریف نبی و سعیدی بدست آمده است(Sharifnabi & Saeidi 2004). این تنوع امکان انتخاب برای ژنوتیپ هایی که مرگ و میر کمتری داشته باشند جهت کشت در مزرعه را فراهم می نماید. جدول تجزیه واریانس (جدول ۵) نشان دهنده تفاوت معنی دار ژنوتیپ های گلرنگ در سطح احتمال پنج درصد است. بر اساس مقایسه میانگین ژنوتیپ هایی که دارای طول منطقه نکروز بیشتری بودند تعداد بوته های زنده کمتر و مرگ و میر بالاتری داشتند و علائم زردی و ضعف بیشتری در بوته نشان می دادند.

بر اساس نتایج جدول۶، مقایسه میانگین صفات نشان داد که ژنوتیپهای To142 و To158 و Tp1 بالاترین درصد مرگ و میر را دارا بود و پس از آن رقم Kose و To179 قرار داشتند. و این ارقام با میانگین درصد مرگ و میر ۶۷/۶۶ و ۰/۶۰ بالاترین حساسیت را نشان دادند. کمترین درصد مرگ و میر در ارقام P، Golmehr، Padideh و $Palast_{37}$ و بعد از آن رقم وحشی O و لاین Po114 و Po84 با میانگین ۳۳/۱۳ بود. این نتایج نشان می دهد که گونه وحشی والدp (*C. palaestinus*) که شبیه ترین گونه از نظر صفات زراعی به گونه اهلی است، دارای بیشترین درصد زنده مانی و کمترین طول نکروزه شدن و درصد مرگ و میر بودند. از طرفی دو رقم پاییزه شامل پدیده و گلمهر نیز مقاومت خوبی به این بیماری نشان دادند. لیکن وضعیت تحمل به دیگر تنشهای زیستی و غیرزیستی این ارقام بطور دقیق مشخص نیست در حالی که گونه *C. palaestinus* به تنشهای غیر زیستی مقاومت بالایی نشان داده است. رقم Kose دارای بیشترین اندازه زخم و بعد از آن لاین To179 و Tp1 و To142 با میانگین ۵/۱۲ ، ۴۳/۱۲ و ۸۳/۱۱ میلی‌متر قرار داشتند.کمترین این صفت مربوط به Padideh و بعد از آن مربوط به O و Golmehr و Po84 با میانگین ۵/۱ ، ۲ و ۱۳/۲ میلی‌متر قرار داشت.

جدول۵- تجزیه واریانس صفات در ارقام و لاین های خالص نوترکیب گلرنگ بعد از مایه زنی با قارچ *Fusarium solani*

Table 5. Analysis of variance of traits in cultivars and inter specific derived lines after inoculation by *Fusarium solani*,

Diameter (mm)	Length (cm)	Root dry weight (g)	Shoot dry weight (g)	Necrosis length (mm)	Alive shoot	Mortality	Degree of freedom	Source of variation
0.041^{ns}	12.33^{ns}	0.0004^{ns}	0.149^{ns}	0.31^{ns}	0.148^{ns}	59.52^{ns}	2	Replecation
0.224	74.06^{*}	0.011^{*}	0.138^{*}	25.8^{*}	1.93^{*}	774.2^{*}	55	Genotype
0.0146	11.88	0.0025	0.037	0.63	0.603	241.34	110	Error
8.65%	13.8%	25.8%	20.6%	12.50%	23.50%	25.6%		Coefficient variation

ns: Not significant, *: Significant at the 5% probability level.

نتایج مقایسه میانگین ژنوتیپ ها (جدول ۶) نشان داد کمترین تعداد بوته زنده مربوط به لاین های To142 و To158 و Tp1 بود که نشان می دهد علائم ظاهری بیماری در این ارقام بیشتر ظاهر شده است و بیشترین

تعداد بوته زنده مربوط به ارقام $Palast_{37}$ ، Padideh و Golmehr و P بود که کمترین مرگ و میر را داشتند. در ژنوتیپ های مورد بررسی از لحاظ صفات ارتفاع ساقه، قطر ساقه، وزن خشک ریشه و وزن خشک قسمت هوایی در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری مشاهده شد. ایزوفلاونوئیدها، فیتوآلکسین هایی هستند که گیاهان در مقابل عوامل بیماریزا تولید می کنند و مشخص شد این ماده در گیاهان سویا مقاوم به پوسیدگی فوزاریومی بیشتر است (Lozovaya *et al.* 2004). ژنوتیپ ها براساس میانگین درصد مرگ و میر و میانگین طول نکروز و نمره دهی، از مقیاس ۱ تا ۵ به گروه های ژنوتیپی مقاوم(مقیاس۱) با میانگین طول نکروز از ۱/۱۳ تا ۲/۳ میلی متر، گروه نسبتا مقاوم(مقیاس۲) با میانگین طول نکروز از ۳ تا ۵/۷۷ میلی متر، گروه متحمل(مقیاس۳) با میانگین طول نکروز از ۸/۵ تا ۷/۱۷ میلی متر، گروه نسبتا حساس (مقیاس۴) با میانگین طول نکروز از۸/۲ تا ۹/۷۰ میلی متر، گروه حساس (مقیاس ۵) میانگین طول نکروز از ۱۱/۸۳ تا۱۳/۱ میلی متر تفکیک شدند(Nasehi *et al.* 2009).

براساس نتایج حاصل از تجزیه کلاستر و تعیین تعداد گروه ها به روش CC-Plot برمبنای میانگین صفات اندازه گیری شده، ارقام و لاین های خالص نوترکیب در پنج گروه از جمله گروه های مقاوم، نسبتا مقاوم، متحمل، نسبتا حساس و حساس تفکیک شدند. در این طبقه بندی رقم Kose و لاین های To179 و Tp1 و To158 و To142 در یک کلاستر قرار گرفتند. این ارقام بیشترین حساسیت را به بیماری نشان دادند و با توجه به جدا شدن کامل این ارقام از بقیه ارقام در تجزیه کلاستر و بررسی میزان درصد مرگ و میر و همچنین طول منطقه نکروز ژنوتیپ های حساس به بیماری ارزیابی شدند. در کلاستر بعدی ۱۰ لاین به نام های Tp56، Tp30، Tp48، To146 ، To171، To149، G84 ، G35 و G19 قرار گرفتند که از نظر عکس العمل نسبت به آلودگی قارچی و بیماری نسبت به گروه اول، حساسیت کمتری داشتند و می توان آنها را لاین های نسبتاً حساس گزارش کرد. در کلاستر سوم ۱۷ ژنوتیپ از جمله ارقام Golsfid، Parniyan ، Goldasht، Soffe، Oxy_{190} و ارقام زراعی پایدار شامل *G*58 و *G*47 و لاین های نوترکیب شامل Tp6، Tp36، Tp60، Tp16، To139، To184، To187، To167، To143، Po105 قرار گرفتند. این ارقام و لاین ها را می توان به عنوان گروه متحمل به بیماری گزارش کرد در کلاستر بعدی ۱۷ ژنوتیپ از جمله ارقام Shiraz، $Darab_2$، Oxy_{s-r}، T و G14، G85 و لاین های Tp8، Tp_{51}، Tp61، Tp26، To156، Po72، Po94، Po112، Po69، Po121، Po107 قرار گرفتند. این گروه را می توان نسبتاً مقاوم گزارش کرد. در کلاستر آخر ارقام Padideh و Golmehr، Palast37، P ، O و لاین‌های Po84 و Po114 قرار گرفتند. این گروه را می توان مقاوم نسبت به بیماری فوزاریومی گزارش کرد. جدول ۷ و ۸ گروه‌بندی ژنوتیپ ها را در پنج گروه متفاوت نشان می دهد در این بین می توان به این مورد اشاره کرد که با توجه به این که ارقام وحشی و والدین وحشی گلرنگ نسبت به عوامل محیطی از جمله تنش خشکی و شوری مقاومت بالایی دارند نسبت به بیماری پوسیدگی ریشه و طوقه فوزاریومی نیز مقاومت خوبی نشان داده اند همچنین جمعیت های Po حاصل از تلاقی دو گونه وحشی *C. palaestinus* و *C. oxyacanthus* غالباً در گروه مقاوم، نسبتاً مقاوم و متحمل نسبت به بیماری بوته میری فوزاریومی قرار گرفتند. نتایج مطالعات نشان داده است، دوگونه وحشی *C. oxyacanthus* و *C. palaestinus* ظرفیت‌های زیادی برای مقاومت به تنش‌های محیطی دارند و حامل ژن‌های مفیدی هستند (Espanani *et al.* 2019a, Espanani *et al.* 2019b).

جدول۶- مقایسه میانگین صفات در ارقام و لاین های خالص نوترکیب گلرنگ تحت شرایط آلودگی با قارچ *Fusarium solani*

Table 6. Mean comparison of traits in cultivars and inter specific derived lines after inoculation by *Fusarium solani*

Diameter (mm)	Length (cm)	Root dry weight (g)	Shoot dry weight (g)	Necrosis length (mm)	Alive shoot	Mortality	Genotype
1.41^{d-l}	30.3^{a-e}	0.15^{klm}	0.67^{klm}	5.77^{k-n}	4^{abc}	20^{efg}	T
1.5^{c-f}	26^{b-k}	0.34^{ab}	1.8^{a}	2.13^{uv}	6.67^{a}	6.67^{g}	P
1.33^{e-p}	24.2^{g-m}	0.25^{c-h}	1.23^{bcd}	1.53^{v}	4.33^{ab}	13.33^{fg}	O
1.33^{e-p}	24.57^{f-l}	0.16^{i-m}	0.97^{d-k}	7.1^{hij}	3^{c-f}	40^{b-e}	TP16
1.37^{e-o}	17.37^{opg}	0.16^{i-m}	1.67^{b-e}	5.8^{k-n}	3.67^{a-d}	26.67^{d-g}	TP6
1.45^{c-k}	29.53^{a-g}	0.24^{d-i}	1.67^{b-e}	3.13^{r-u}	3.67^{a-d}	26.67^{d-g}	TP8
1.18^{opg}	28.9^{a-i}	0.13^{m}	0.97^{d-k}	9.07^{cd}	2.33^{efg}	53.33^{abc}	TP48
1.47^{c-i}	28.77^{a-i}	0.16^{i-m}	0.97^{d-k}	5.5^{l-o}	3.67^{a-d}	26.67^{d-g}	TP51
1.38^{e-n}	24.1^{g-m}	0.14^{klm}	0.7^{j-m}	3^{stu}	3.67^{a-d}	26.67^{d-g}	TP26
1.26^{k-g}	18.4^{nop}	0.17^{i-m}	0.97^{d-k}	7.63^{e-i}	3^{c-f}	40^{b-e}	TP60
1.48^{c-h}	19.2^{l-p}	0.29^{a-e}	0.83^{f-m}	8.2^{d-h}	2.33^{efg}	53.33^{abc}	TP56
1.58^{bcd}	14.93^{pqr}	0.14^{klm}	0.8^{g-m}	8.4^{d-g}	2.33^{efg}	53.33^{abc}	TP30
1.42^{d-l}	19.07^{l-p}	0.19^{f-m}	0.83^{f-m}	5.3^{m-p}	3^{c-f}	40^{b-e}	TP36
1.4^{d-m}	30.67^{a-d}	0.15^{klm}	0.93^{d-l}	12.43^{ab}	1.67^{g}	66.67^{a}	TP1
1.17^{pq}	21.27^{k-o}	0.22^{e-k}	0.83^{f-m}	4.83^{m-p}	3.67^{a-d}	26.67^{d-g}	TP61
1.3^{g-p}	29.87^{a-f}	0.14^{klm}	0.9^{e-l}	12.47^{ab}	2^{fg}	60^{ab}	TO179
1.28^{i-q}	27.13^{a-j}	0.21^{e-m}	1.07^{c-h}	11.73^{a}	1.67^{g}	66.67^{a}	TO158
1.21^{m-q}	29.47^{a-g}	0.16^{i-m}	0.93^{d-l}	8.63^{d-e}	2.33^{efg}	53.33^{abc}	TO146
1.28^{i-q}	21.63^{j-o}	0.33^{abc}	0.9^{e-l}	6.93^{h-k}	3.33^{b-e}	33.33^{c-f}	TO139
1.3^{h-q}	23.87^{m}	0.13^{m}	1.1^{c-g}	11.83^{ab}	1.67^{g}	66.67^{a}	TO142
1.31^{f-p}	24.3^{h-m}	0.17^{h-m}	0.83^{f-m}	7.23^{f-j}	3.33^{b-e}	33.33^{c-f}	TO184
1.45^{c-k}	23.77^{klm}	0.14^{klm}	0.63^{lm}	8.5^{def}	2.33^{efg}	53.33^{abc}	TO149
1.64^{bc}	26.53^{f-m}	0.2^{f-m}	1.07^{c-h}	6.77^{i-l}	3^{c-f}	40^{b-e}	TO167
1.2^{n-q}	25.2^{e-l}	0.21^{e-l}	0.9^{e-l}	1.3^{c}	2.33^{efg}	53.33^{abc}	TO171
1.72^{b}	24.5^{f-l}	0.24^{d-i}	0.83^{f-m}	7.53^{e-i}	3^{c-f}	40^{b-e}	TO187
1.35^{e-p}	28.97^{a-i}	0.24^{d-i}	0.73^{i-m}	5.8^{k-n}	3.67^{a-d}	26.67^{d-g}	TO156
1.35^{e-p}	25.63^{c-k}	0.16^{i-m}	0.77^{h-m}	7.17^{g-i}	3^{c-f}	40^{b-e}	TO143
1.46^{c-j}	25.93^{b-k}	0.13^{ml}	1.01^{c-j}	2.3^{tuv}	4.33^{ab}	13.33^{fg}	PO114
1.39^{d-n}	29.87^{a-f}	0.33^{abc}	0.9^{e-l}	8.47^{def}	2.67^{d-g}	46.67^{a-d}	PO81
1.41^{d-l}	29^{a-i}	0.27^{b-f}	1.17^{b-e}	3.13^{r-u}	4^{abc}	20^{efg}	PO72
1.38^{e-n}	26.87^{a-j}	0.17^{i-m}	0.83^{f-m}	4.57^{n-g}	3.67^{a-d}	26.67^{d-g}	PO69
1.11^{q}	31.3^{ab}	0.16^{i-m}	0.97^{d-k}	4.13^{p-s}	4^{abc}	20^{efg}	PO112
1.44^{c-k}	29.53^{a-g}	0.15^{klm}	0.77^{h-m}	4.3^{o-r}	4^{abc}	20^{efg}	PO94
1.23^{l-q}	29.57^{a-g}	0.22^{e-k}	0.9^{e-l}	2.13^{uv}	4.33^{ab}	13.33^{fg}	PO84
1.24^{l-q}	25.9^{b-k}	0.21^{e-l}	1^{c-j}	3.13^{r-u}	3.67^{a-d}	26.67^{d-g}	PO121
1.49^{c-h}	23.43^{i-n}	0.15^{klm}	0.67^{klm}	3.43^{q-t}	3.67^{a-d}	26.67^{d-g}	PO107
1.5^{c-f}	28.23^{a-i}	0.17^{i-m}	1.13^{b-e}	7.5^{e-i}	3.33^{b-e}	33.33^{c-f}	PO105
1.44^{d-k}	18.73^{m-p}	0.26^{c-g}	0.67^{klm}	7.5^{e-i}	3.33^{b-e}	33.33^{c-f}	G58
1.27^{j-g}	26.37^{b-k}	0.15^{j-m}	0.77^{h-m}	8.63^{de}	2.67^{d-g}	46.67^{a-d}	G84
1.39^{d-n}	24.87^{e-k}	0.14^{klm}	0.97^{d-k}	6.9^{ijk}	3.33^{b-e}	33.33^{c-f}	G47
1.38^{e-o}	26.9^{a-j}	0.17^{i-m}	0.64^{lm}	8.67^{de}	2.67^{d-g}	46.67^{a-d}	G35
1.24^{l-g}	25.03^{e-k}	0.14^{klm}	1^{c-j}	5.77^{k-n}	4^{abc}	20^{efg}	G14
1.37^{d-n}	21.83^{j-o}	0.16^{i-m}	1.31^{cb}	4.57^{n-q}	4^{abc}	20^{efg}	G85
1.35^{e-p}	29.27^{a-h}	0.17^{i-m}	1.03^{c-i}	10.23^{c}	2.67^{d-g}	46.67^{a-d}	G19
1.17^{pq}	29^{a-i}	0.18^{g-m}	0.58^{m}	4.6^{n-q}	4^{abc}	20^{efg}	Darab2
1.29^{i-q}	26.77^{a-k}	0.14^{klm}	0.9^{e-l}	13.1^{a}	2^{fg}	60^{ab}	Kose
1.3^{h-q}	31.17^{abc}	0.14^{klm}	1.12^{c-f}	5.5^{l-o}	4^{abc}	20^{efg}	Shiraz
1.52^{cde}	25.83^{bk}	0.21^{e-l}	1.43^{b}	6.77^{i-l}	3.33^{b-e}	33.33^{c-f}	Golsfid
1.27^{k-q}	28.47^{a-i}	0.21^{e-l}	0.73^{i-m}	2.93^{stu}	4.67^{a}	6.67^{g}	Pal37
1.41^{d-l}	17.17^{opg}	0.26^{c-g}	0.83^{f-m}	4.63^{n-q}	3.67^{a-d}	26.67^{d-g}	Oxy190
1.35^{e-p}	32.23^{a}	0.14^{klm}	1.06^{c-h}	4.73^{m-p}	3.67^{a-d}	26.67^{d-g}	Oxysr
1.32^{f-p}	35.87^{b-k}	0.16^{i-m}	1.07^{c-h}	6^{j-m}	3^{c-f}	40^{b-e}	Soffe
1.35^{e-p}	18.87^{m-p}	0.32^{a-d}	0.77^{h-m}	7.1^{hij}	3^{c-f}	40^{b-e}	Goldasht
3.22^{a}	12.6^{qr}	0.23^{e-j}	0.73^{i-m}	1.13^{v}	4.67^{a}	6.67^{g}	Padideh
1.49^{c-g}	11.3^{r}	0.36^{a}	0.87^{e-m}	2^{uv}	4.67^{a}	6.67^{g}	Golmehr
1.4^{d-m}	14.87^{pqr}	0.24^{d-i}	0.7^{j-m}	6.67^{i-l}	3^{c-f}	40^{b-e}	Parniyan

Means followed by at least one common letter are not significantly different at the 5% probabilitylevel, using LSD test.

جدول ۷- نتایج تجزیه کلاستر در ارقام و لاین های خالص نوترکیب تحت تنش بیماری

Table 7. Results of cluster analysis in cultivars and recombinant inbred lines under disease stress

Group	Genotype	Group	Genotype	Group	Genotype	Group	Genotype
SR	G85	SS	PO81	SR	TP61	SR	T
SS	G19	SR	PO72	S	TO179	**R**	**P**
SR	Darab2	SR	PO69	S	TO158	**R**	**O**
S	Kose	SR	PO112	SS	TO146	T	TP16
SR	Shiraz	SR	PO94	T	TO139	T	TP6
T	Golsfid	**R**	**PO84**	S	TO142	SR	TP8
R	**Palast37**	SR	PO121	T	TO184	SS	TP48
T	Oxy190	SR	PO107	SS	TO149	SR	TP51
SR	Oxys-r	T	PO105	T	TO167	SR	TP26
T	Soffe	T	G58	SS	TO171	T	TP60
T	Goldasht	SS	G84	T	TO187	SS	TP56
R	**Padideh**	T	G47	SR	TO156	SS	TP30
R	**Golmehr**	SS	G35	T	TO143	T	TP36
T	Parniyan	SR	G14	**R**	**PO114**	s	TP1

(R: Resistant SR: SemiResistant T: Tolerant SS: SemiSucceptible S: Succeptible)

جدول۸- میانگین های طول نکروز و درصد مرگ و میر در گروه های مختلف ژنوتیپی گلرنگ حاصل از تجزیه کلاستر

Table 8. Average of leangth of the necrotic zone and percentage of mortality in diferent groups resulted from cluster analysis

Mortality percent	Necrosis length	Genotype number	Reaction
9.53[e]	2.02[e]	7	R
23.53[d]	4.46[d]	17	SR
36.08[c]	6.74[c]	17	T
50.67[b]	8.01[b]	10	SS
64.01[a]	12.31[a]	5	S

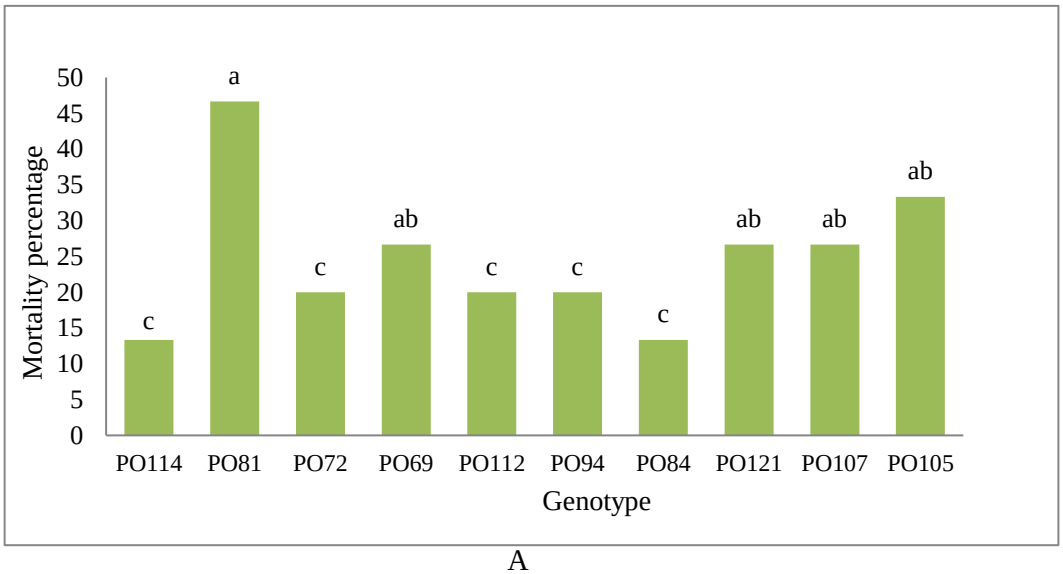
R: Resistant, SR: SemiResistant, T: Tolerant, SS: SemiSucceptible, S: Succeptible

مقایسه گروه ارقام و لاین های خالص نوترکیب حاصل از تلاقی بین گونه‌ای گلرنگ

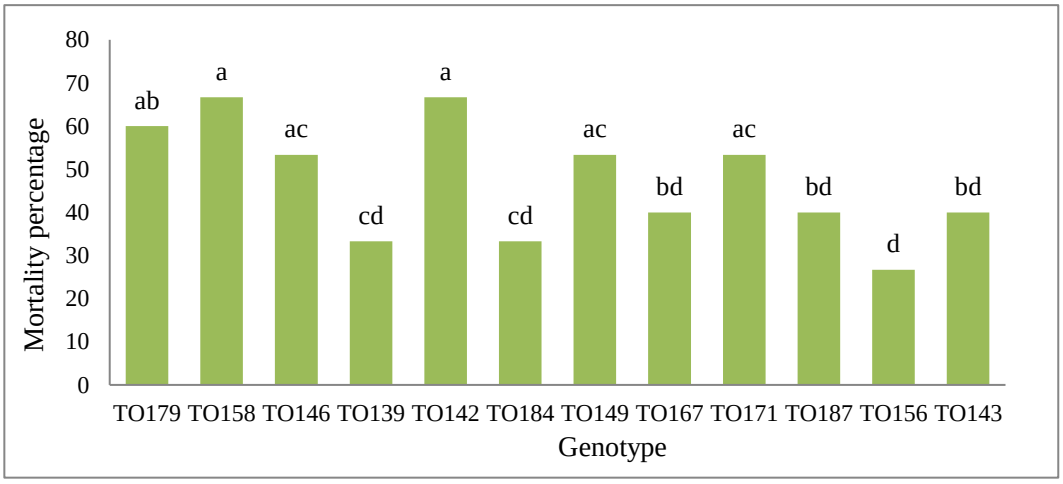
با توجه به نمودار (شکل۲. A) در مقایسه درصد مرگ و میر بین جمعیت PO، ژنوتیپ های PO84 و PO114 کمترین درصد مرگ و میر با میانگین ۳۳/۱۳ درصد و PO81 با میانگین ۶۷/۴۶ درصد بالاترین مرگ و میر را داشته‌اند. در بین این ژنوتیپ‌ها بعد از PO84 و PO114 که به عنوان ژنوتیپ‌های مقاوم معرفی شده‌اند، ژنوتیپ‌های PO72، PO69، PO112، PO94، PO121 در گروه نسبتاً مقاوم از اهمیت برخوردارند و از بین این ژنوتیپ‌ها PO72، PO69، PO112 متحمل نسبت به شرایط خشکی گزارش شده‌اند. در نمودار (شکل۲. B) بین جمعیت TO، ژنوتیپ TO156 کمترین درصد مرگ و میر با میانگین ۶۷/۲۶ درصد و TO158 و TO142 بیشترین درصد مرگ و میر با میانگین ۶۷/۶۶ درصد را دارا بوده اند. ژنوتیپ TO156 در گروه نسبتاً مقاوم قرار دارد که ژنوتیپی با اسید لینولئیک بالا معرفی شده است و به عنوان منبع ژنتیکی مناسب نسبت به بیماری می‌تواند مورد توجه قرار بگیرد. با توجه به نمودار (شکل ۲. C) در بین جمعیت TP، ژنوتیپ های Tp6، Tp8، Tp51، Tp26، Tp61 کمترین درصد مرگ و میر با میانگین ۶۷/۲۶ درصد و ژنوتیپ TP1 بیشترین درصد مرگ و میر با میانگین ۶۷/۶۶ درصد را دارا بوده است.

ژنوتیپ‌های TP6، TP8، TP51، TP26، TP61 در گروه نسبتاً مقاوم از اهمیت برخوردارند که ژنوتیپ‌های TP6، TP8، TP51، متحمل به شرایط خشکی و TP61 دارای اسید لینولئیک بالا گزارش شده‌اند. با توجه به نمودار (شکل۲. D) در بین ارقام زراعی رقم های Palast 37، Padideh، Golmehr، P دارای کمترین درصد مرگ و میر با میانگین ۶۷/۶ درصد و رقم Kose و بعد از آن ژنوتیپ های G84 ، G35 و G19 دارای بیشترین درصد مرگ و میر به ترتیب با میانگین ۶۰ درصد و ۶۷/۴۶ درصد بوده اند. در بین ارقام زراعی پایدار جمعیت‌های G، ژنوتیپ G14 و G85 در گروه نسبتاً مقاوم به بیماری قرار گرفتند که ژنوتیپ G85 به علت داشتن درصد روغن بالا از اهمیت ویژه ای برخوردار است. همچنین ارقام Shiraz و Darab در این گروه هستند که رقم Shiraz متحمل به خشکی گزارش شده است. به طور کلی ارقام Padideh و Golmehr که در گروه مقاوم به بیماری قرار گرفتند هر دو رقم مناسب مناطق سرد و معتدل و دیررس هستند.

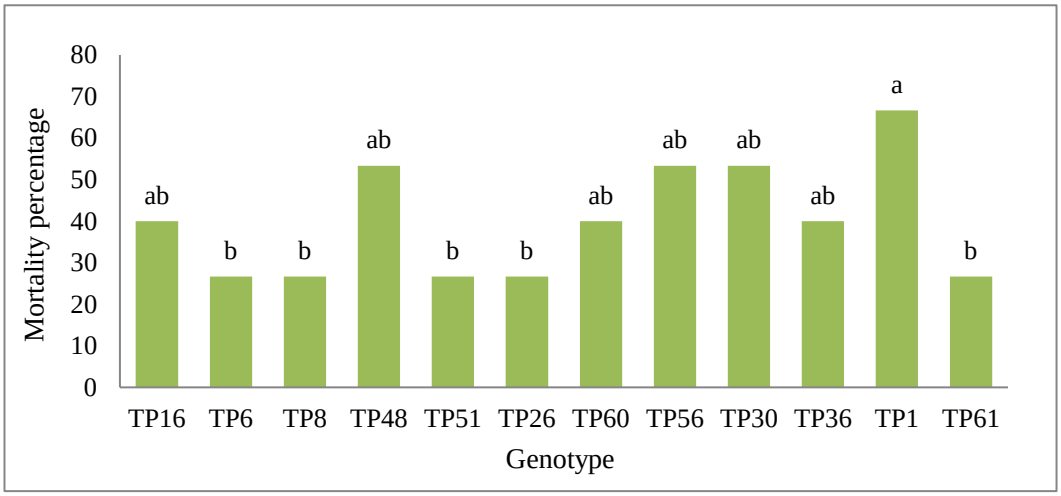
در رقم پدیده بر اساس گزارش های محققین موسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور (مذاکرات شفاهی)، در طول ۱۲ سال بررسی و تحقیق علائمی از بیماری های مهم نظیر لکه برگی، سفیدک سطحی، پوسیدگی ریشه در مزارع تحقیقاتی مشاهده و گزارش نشده است. این رقم مناسب شرایط آب و هوایی مناطق سرد و معتدل سرد کشور است و تا ۱۵- درجه سلسیوس را تحمل می کند (Omidi *et al.* 2008). بررسی های انجام شده توسط سایر محققین نشان داده که تنوع ژنتیکی در گلرنگ برای مقاومت به بیماری پوسیدگی فوزاریومی وجود دارد. در اصفهان پس از بررسی روی ۶۰ ژنوتیپ گلرنگ، نشان داده شد که مقاوم‌ترین و حساس‌ترین لاین های اصلاحی IUTE14310 و IUTC121 با میانگین نکروز شدن ۶۷/۹ و ۳۳/۲۸ میلی‌متر و میزان مرگ و میر ۳۲ و ۷۰٪ بودند. در این بررسی رقم Kose از ژنوتیپ های حساس به بیماری ارزیابی شد (Sharifnabi & Saeidi 2004). در سال ۱۳۸۶، ۲۱ ژنوتیپ گلرنگ به منظور بررسی واکنش آنها نسبت به شش جدایه از *F. solani*، در گلخانه و آزمایشگاه ارزیابی شده است، که لاین خالص KW11 مقاوم‌ترین ژنوتیپ به بیماری و Kose و لاین‌های خالص *Kw2* و *Kw3* حساس ارزیابی شدند (Nasehi *et al.* 2009). در کشور هند آزمایش روی ۵۱ لاین امیدوارکننده ژرم پلاسم گلرنگ، علیه پژمردگی فوزاریومی منجر به شناسایی لاین های مقاوم در برابر بیماری شد. به طوری که لاین A-1، Manjira و Tara حساس و Aw36-93-86 مقاوم در برابر بیماری معرفی شده است (Kalpana Sastry & Chattopadhyay 2003). ویس (۱۹۸۳) معتقد است که ژن های مسئول مقاومت به بیماری بوته‌میری فوزاریومی در ذخایر ژنتیکی گلرنگ وجود دارد و استفاده از آنها در تولید ارقام تجاری قابل انجام است (Weiss 1983). برای ارزیابی تحمل نسبی ارقام، کاشت آنها در مزارع آلوده مطمئن ترین روش است (Thomas & Zimmer 1971). اما وقت‌گیر بودن آزمایش ها، نیاز به فضای زیاد و هزینه سنگین باعث شده است که این پژوهش ها در گلخانه و آزمایشگاه انجام شود. با توجه به آب و هوای گرم و خشک استان اصفهان و با توجه به آنکه رقم رایج منطقه، Kose ، حساسیت بالایی نسبت به پوسیدگی فوزاریومی ریشه دارد، استفاده از ژنوتیپ های مقاوم یا متحمل و تولید ارقام مقاوم به این بیماری اهمیت دارد و باید مورد توجه قرار گیرد. بعضی از لاین های حساس به بیماری ممکن است به تنهایی از نظر میزان مقاومت در سطح قابل قبول نباشند، ولی با توجه به سایر خصوصیات زراعی از جمله میزان عملکرد، میزان روغن، دیر رسی، زود رسی، نیاز آبی و کودی و بویژه تحمل به تنشهای غیر زیستی پیامد تغییرات اقلیمی (نظیر خشکی، شوری و گرما) که کشاورزی را در بسیاری از مناطق کشور مختل کرده است،


Mortality percentage
50
45
40
35
30
25
20
15
10
5
0
c
a
c
ab
c
c
c
ab
ab
ab
PO114
PO81
PO72
PO69
PO112
PO94
PO84
PO121
PO107
PO105
Genotype

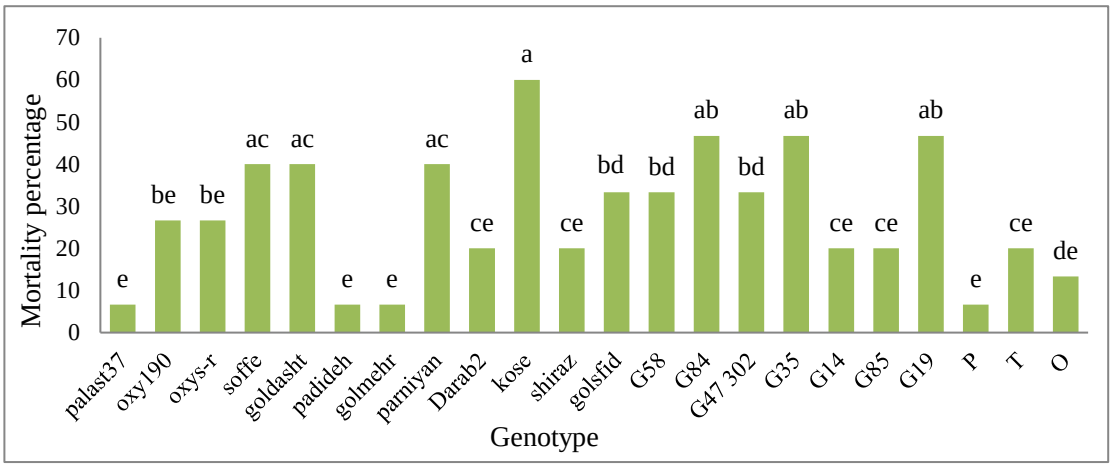
A


Mortality percentage
80
70
60
50
40
30
20
10
0
ab
a
ac
cd
a
cd
ac
bd
ac
bd
d
bd
TO179
TO158
TO146
TO139
TO142
TO184
TO149
TO167
TO171
TO187
TO156
TO143
Genotype

B


Mortality percentage
80
70
60
50
40
30
20
10
0
ab
b
b
ab
b
b
ab
ab
ab
ab
a
b
TP16
TP6
TP8
TP48
TP51
TP26
TP60
TP56
TP30
TP36
TP1
TP61
Genotype

C



D

شکل۲. A مقایسه ژنوتیپ های جمعیت PO براساس میانگین درصد مرگ و میر، B: مقایسه ژنوتیپ های جمعیت TO براساس میانگین درصد مرگ و میر، C: مقایسه ژنوتیپ های جمعیت TP براساس میانگین درصد مرگ و میر، D: مقایسه ارقام زراعی براساس میانگین درصد مرگ و میر دراثر بیماری فوزاریومی (میانگین هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند براساس آزمون LSD در سطح احتمال ۰۵.۰ فاقد تفاوت معنی دار هستند).

Fig 2. A: Comparison of PO population genotypes based on average mortality percentage, B: Comparison of TO population genotypes based on average mortality percentage, C: Comparison of TP population genotypes based on average mortality percentage, D: Comparison of cultivars based on average mortality percentage and death due to fusarium disease (in each column means followed by at Least one common letter are not significantly different at the 5% peobability level, using LSD test)

می توانند پایه ژنتیکی مناسبی برای ایجاد مقاومت‌های برنامه های اصلاحی باشند. ارقام Padideh، Golmehr، Palast37 و ارقام وحشی P و O و لاین های Po84 و Po114 می توانند به عنوان منابع ژنتیکی مقاوم به بیماری مورد توجه قرار گیرند. در بین لاین های Po لاین Po84 حساس به خشکی و لاین Po114 نسبت به خشکی مقاوم گزارش شده است و از اهمیت بیشتر برخوردار است (Espanani *et al.* 2019a) و یک خصوصیت مطلوب زراعی است که می توان آنها را برای کاشت در مناطق گرم و خشک توصیه کرد. جهت شناسایی دقیق تر ژنوتیپ های مقاوم یا متحمل به بیماری بوته‌میری فوزاریومی نیاز به انجام آزمایش های مزرعه ای و کشت این ژنوتیپ ها در مزارع مناطق آلوده است که باید در مطالعات آینده مدنظر قرار گیرد.

از آنجایی که گونه وحشی والد P (*C. palaestinus*) و برخی ژنوتیپهای حاصل از تلاقی بین گونه ای آن دارای بیشترین درصد زنده مانی و کمترین طول نکروزه شدن و درصد مرگ و میر بودند، استفاده از لاینهای حاصل از تلاقی بین گونه ای آن برای ایجاد ارقام مقاوم به بیماری توصیه می شود. این گونه شبیه ترین گونه از نظر صفات زراعی به گونه اهلی است و از آنجایی که تحمل به تنشهای غیر زیستی پیامد تغییرات اقلیمی (نظیر خشکی، شوری و گرما) در آن

بالاست، می تواند نوید بخش ایجـاد ارقـام متحمـل بـه سـایر نژادهای بیماری در گلرنگ در آینده نیز باشد.

References منابع

Abdollahi, M., Fassihiani, A., 1995. A new form of *Fusarium solani* from safflower. The Proceeding of the 12th Iranian Plant Protection Congress, Karaj, Iran.

Ahmadzadeh, S., Kadivar, M., & Saeedi, G. 2009. Investigation of oil properties and Seed composition in some safflower lines and cultivars. Iranian Food Science and Technology Research Journal, 5: 136-150.

Ale Agha, N. 1970. Safflower root rot (*Phytophthora drechsleri* Tuck.). The Proceeding of the3rd Iranian Plant Medicine Congress. Shiraz, Iran. 33-36 Pp.

Amiri Mazhar, M., Zhian Jahanger, A, Banihashemi, Z., and Izadpanah, K. 2013. First report of isolation and pathogenicity of *Fusarium compactum* on safflower. Iranian Journal of Plant Pathology, 49: 277-287.

Chattopadhyay, C. and Kalpana, R. 2003. Development of Fusarium wilt resistant genotypes in safflower (*Carthamus tinctorius* L.). European Journal of Plant Pathology 109: 147-151.

Espanani, S., Majidi, M. M., Saeidi, G. and Alaei, H. 2019a. Physiological aspects of inter-specific gene introgression to improve drought tolerance in safflower. Euphytica 215, 163 (2019). https:..doi.org.10.1007.s10681-019-2477-3.

Espanani, S., Majidi, M. M., Saeidi, G., Alaei, H. and Rezaei, V. 2019b. Wide hybridization and introgression breeding in safflower: Effectiveness of different selection methods. Plant Breeding 138: 846-861.

Golkar, P., Arzani, A., and Rezaei, A. 2011. Evaluation of Genetic Control of SeedQuality Traits in Safflower (*Carthamus tinctorious* L.). Iranian Journal of Field Crop Science, 42:833-844

Hajjar, R. and Hodgkin, T. 2007. The use of wild relatives in crop improvement: A survey of developments over the last 20 years. Euphytica 156: 1-13.

Kalpana Sastry, R. and Chattopadhyay, C. 2003. Development of Fusarium wilt-resistant genotypes in safflower (*Carthamus tinctorius*). European Journal of Plant Pathology 109: 147-151.

Klisiewicz, J. M. 1980. Safflower germplasm resistant to Fusarium wilt. Plant Disease 64: 876-887.

Lozovaya, V. V., Lygin, A. V., Zernova, O. V., Li, S., Hartman, G. L. and Widholm, J. M. 2004. Isoflavonoid accumulation in soybean hairy roots upon treatment with *Fusarium solani*. Plant Physiology and Biochemistry. 42: 671-679.

Mahmoudi, E. and Naderi, D. 2017. Anti-fungal and bio-control properties of chitinolytic bacteria against safflower Fusarium root rot. Journal of Crop Protection 6: 225-234.

Majidi, M. M., Tavakoli, V., Mirlohi, A. and Sabzalian, M. R. 2011. Wild safflower species ('*Carthamus oxyacanthus*' Bieb.): A possible source of drought tolerance for arid environments. Australian Journal of Crop Science 5: 1055-1063.

Mündel, H. H., Morrison, R. J., Blackshaw, R. E., Entz, T., Roth, B. T., Gaudiel, R. and Kiehn, F. 1994. Seeding-date effects on yield, quality and maturity of safflower. Canadian Journal of Plant Science 74: 261-266.

Nageswara Rao, V., Kalpana Sastry, R., Craufurd, P., Meinke, H., Parsons, D., Rego, T. J. and Rathore, A. 2014. Cropping systems strategy for effective management of Fusarium wilt in safflower. Field Crops Research 156: 191-198.

Nasehi, A., Shafizadeh, Sh., Rezaie, S., and Shahsavari. M.R. 2009. Evaluation ofrelative resistance of safflower (*Carthamus tintorius* L.) genotypes to Fusarium root rot disease inIsfahan province. Seed and Plant Journal, 25: 623-634.

Omidi, A. H., Shahsavari, M. R., Alhani, A., and Pasban Islam, B. 2008. Cultivar release,Padide, A new safflower cultivar. Seed and Plant Journal, 24: 215-219.

Sadravi, M. 2003. *Diseases of oil plants*. Jehade Daneshgahi Publication, Mashhad.

Salehi, M., Nejat, N. and Atsakhr, A. K. 2002. Etiology of phyllodes of oil plants in Iran.The Proceeding of the 15th Iranian Plant Protection Congress, Kermanshah, Iran.

Shafiei, F. 2019. Efficiency of selection methods in advanced generation ofsafflower interspecific crosses and phylogenetic analysis of species in terms of *fad2* gene. PhD. Thesis, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran.

Sharifnabi, B. 2016. *Diseases of field crops in Iran*. 2nd ed. Isfahan University of Technology Publication, 497 P.

Sharifnabi, B. and Saeidi, G. 2004. Preliminary evaluation of different genotypes of Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) to Fusarium root rot disease. Journal of Water and Soil Science 8: 219-227.

Thomas, C. A. and Zimmer, D. E. 1971. Registration of USB Safflower Germplasm 1 (Reg. No. GP 10). Crop Science 11: 606.

Votzi, J., Bedlan, G. and Braun, U. 2020. First report of *Ramularia cercosporelloides* on *Carthamus tinctorius* in Austria. Schlechtendalia 37: 1-4.

Weiss, E. A. 1983. *Oilseed Crops*. Longman Group Limited, London, UK. 389 p.