

بیماریهای گیاهی، جلد ۴۰، ۱۳۸۳

بقاء و تعیین دامنه میزبانی *Ascochyta rabiei* عامل بیماری برقزدگی

نخود در استان فارس*

Survival and host range of *Ascochyta rabiei* the cause of chickpea blight in Fars province

فرشید محمودی و ضیاءالدین بنی‌هاشمی**

بخش گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز

پذیرش ۸۳/۵/۱۴

دریافت ۸۲/۳/۱۸

چکیده

به منظور بررسی وضعیت بقاء و زمستان‌گذرانی قارچ *Ascochyta rabiei* (teleomorph: *Didymella rabiei*) مقداری از بافت‌های آلوده و خشک شده نخود با علائم شدید آلودگی به بیماری برقزدگی در کیسه‌های نایلونی سوراخدار، در ابتدای فصل پاییز در مزرعه و در اعماق مختلف خاک مزارع سه منطقه جغرافیایی مختلف قرار داده شد و اطراف آنها با یک شبکه توری محصور گردید. پس از طی فصل زمستان، در سال بعد این بقایا مورد بررسی قرار گرفته و وضعیت قارچ روی محیط کشت از لحاظ پایداری مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج حاصل از بررسی نشان داد که قارچ پس از گذشت فصل زمستان، دوام خود را فقط در سطح خاک (۰ سانتیمتری) حفظ می‌نماید و در اعماق دیگر (۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ سانتیمتری) دوام نمی‌آورد. همچنین به منظور بررسی و تعیین دامنه میزبانی قارچ عامل بیماری روی گیاهان زراعی و علف‌های هرز مزارع نخود، تعدادی از گیاهان زراعی منجمله لوبیا، سویا،

* بخشی از پایان‌نامه کارشناسی ارشد نگارنده اول ارائه شده به دانشگاه شیراز

** مسئول مکاتبه

باقلا، نخودفرنگی، لوبیا چشم‌بلبلی، ماش، ماشک، عدس، یونجه، شبدر، خیار، کدو، خربزه،

چغندر، جو، ذرت، برنج، سورگوم، توتون و یک سری علف‌های هرز مزارع نخود شامل سلمک، گل دکمه‌ای، تاج‌خروس، خرفه، بی‌تراخ، خردل وحشی، یولاف وحشی، علف‌هفت‌بند، تاج‌ریزی، پنیرک، جغجغک، قلیانک، پیچک، بارهنگ و شلمی با سوسپانسیون اسپور (1×10^6 spores/ml) عامل بیماری مایه‌زنی گردید. نتایج نشان داد که در شرایط گلخانه، *A. rabiei* گیاهان زراعی از قبیل لویسا، باقلا، نخودفرنگی و سویا و از علف‌های هرز تاج‌ریزی، پیچک و خرفه را آلوده می‌کند، بطوریکه از گیاهان مذکور جداسازی و بیماریزایی آنها روی میزبان اصلی (نخود) تأیید گردید.

واژه‌های کلیدی: *Didymella rabiei*، *Cicer arietinum* علف‌های هرز

مقدمه

گزارش‌های زیادی از اپیدمی بیماری برق‌زدگی نخود در اثر *Ascochyta rabiei* از مناطق مختلف دنیا بوضوح نشان دهنده وجود مکانیسم‌های موثر برای دوام قارچ از فصلی به فصل دیگر است. محققان زیادی این جنبه از بیماری را مطالعه کرده و گزارش کرده‌اند که قارچ عامل بیماری عمدتاً در بقایای آلوده و بذره‌های حاصل از گیاهان آلوده دوام می‌آورد (Nene 1984). قارچ *A. rabiei* می‌تواند بصورت پوده‌زی روی قطعات ساقه و غلاف‌های مورد تهاجم رشد نماید و تشکیل پیکنیدیوم و پسودوتسیوم کند. تحت شرایط طبیعی، قارچ بسرعت بقایای بجا مانده روی سطح خاک را کلنیزه نموده، و توانست در طی دو سال مورد مطالعه، زنده باقی بمانند. هنگامی که بقایای گیاهی که بطور مصنوعی آلوده شده بودند میان دو لایه خاک سترون دفن گردیدند، قارچ روی بقایای دفن شده رشد نکرده یا رشد خیلی محدودی را نشان دادند (Navas-Cortes et al. 1995).

اما اینکه قارچ *A. rabiei* بغیر از نخود، میزبانهای دیگری دارد و در صورت داشتن به چه میزان در بقاء و زمستان‌گذرانی قارچ موثرند نکاتی نامشخص و مبهم است. اگر چه در اکثر مطالعات انجام شده تحت شرایط طبیعی، گونه‌های جنس *Cicer* spp، بعنوان تنها میزبانان قارچ *A. rabiei* گزارش گردیده‌اند (Gorlenko and Bushkova 1958, Nene 1984, Abdou et al. 1991)، اما در مطالعات دیگری تحت شرایط مصنوعی، گیاهان دیگری منجمله گیاهان زراعی و

علفهای هرز خانواده بقولات (Fabaceae) توسط قارچ عامل بیماری آلوده شده‌اند. کایزر (Kaiser, 1973) گزارش کرده است که قارچ عامل بیماری می‌تواند، لوبیا چشم بلبلی و لوبیا را وقتی بطور مصنوعی مایه‌زنی شوند، آلوده نماید. او نقاط قهوه‌ای مایل به قرمز را در روی ساقه، دم‌برگ و دمگل‌های لوبیا مشاهده کرد ولی این نقاط از نظر اندازه بزرگ نشدند. نسن و ردی (Nene and Reddy 1987) در آزمایش‌های گلخانه‌ای در ایکاردا نشان داد که *A. rabiei*، نخود فرنگی، لوبیا و لوبیا چشم بلبلی را آلوده کرده و مجدداً عامل بیماری از آنها جدا گردید. *A. rabiei* از سطح بافتهای آلوده گونه‌های گیاهی، تاج‌خروس (*Amaranthus retroflexus* L.)، پیچک‌صحرایی (*Convolvulus arvensis* L.)، خاکشیر (*Descurainia sophia* L.)، شیر پنیر (*Galium afrine* L.)، غریبک (*Lamium amplexicaule* L.)، عدس، یونجه، نخودفرنگی، تاج‌ریزی سیاه (*Solanum nigrum* L.)، گندم جداسازی گردید. پیکنیدیوم‌های *A. rabiei* در بافتهای بافت مرده گیاهان یونجه، گندم مایه‌زنی شده، تشکیل گردید (Kaiser 1990).

روش بررسی

بقاء قارچ عامل بیماری در طبیعت

در این قسمت از بررسی، مقداری از بافتهای آلوده خشک شده با علائم شدید آلودگی (ساقه، برگ و غلاف‌های آلوده)، را داخل کیسه‌های نایلونی سوراخدار، در بین دو لایه توری مشبک قرار داده و در سه منطقه جغرافیایی مختلف (روستای موردی از توابع شهرستان فسا، روستای تره دان از توابع شهرستان قائمیه و باجگاه محل دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز)، در عمق‌های مختلف خاک (۰، ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ سانتی متر) در ابتدای فصل پاییز در مزرعه مدفون گردیدند، و پس از طی فصل زمستان، بافت‌ها از خاک خارج و از لحاظ پایداری قارچ مورد بررسی قرار گرفتند.

در آزمایشگاه

مقداری از بافتهای آلوده خشک شده با علائم شدید آلودگی (ساقه، برگ و غلاف‌های آلوده) همراه با بذره‌های آلوده را در پاکت‌های کاغذی در آزمایشگاه با دما رطوبت معمولی قرار داده تا وضعیت آنها پس از گذشت زمستان مورد بررسی قرار گیرد.

تعیین دامنه میزبانی *A. rabiei* روی گیاهان زراعی و علف‌های هرز مزارع نخود

این بخش از پژوهش در دو مرحله، یکی در شرایط مزرعه و دیگری در شرایط آزمایشگاهی به دو روش زیر انجام گرفت.

شرایط مزرعه

در این بررسی، هنگام بازدید از مزارع آلوده نخود مناطق مختلف استان فارس، سایر گیاهان زراعی و علف‌های هرز مزارع نخود و همچنین مزارع مجاور، از لحاظ علائم بیماری برق‌زدگی مورد بررسی قرار گرفت و از گیاهان مشکوک به علائم بیماری نمونه‌برداری بعمل آمد و بعد از جمع‌آوری، جهت کشت و جداسازی به آزمایشگاه انتقال یافتند.

شرایط آزمایشگاهی و گلخانه‌ای

در این بررسی گیاهان زراعی مختلف شامل لوبیا، ماش، ماشک، سویا، باقلا، لوبیا چشم بلبلی، یونجه، عدس، نخود فرنگی، خیار (جو، ذرت، برنج، خربزه، سورگوم، کدو، شبدر، چغندر قند و توتون و یکسری علف‌های هرز مزارع نخود (جدول ۳) هر کدام در سه تکرار همراه با یک شاهد در گلدان‌های پلاستیکی در گلخانه کشت گردید. گیاهان پس از رشد مناسب (وجود کافی شاخ و برگ جهت مایه‌زنی) و با سوسپانسیون اسپور (10^6 spores/ml) عامل بیماری تولید شده روی محیط کشت ارد نخود آگار به گیاهان مذکور با استفاده از آب‌فشان دستی تا قبل از مرحله run-off مایه‌زنی گردید. روی گیاهان شاهد نیز آب مقطر پاشیده شد. بلافاصله بعد از مایه‌زنی، گیاهان به مدت ۴ روز به محفظه مرطوب (میزان رطوبت در زیر محفظه مرطوب توسط دستگاه مرطوب مه‌پاش (mister) بالای ۸۰ درصد نگه داشته شد) و سپس به شرایط گلخانه منتقل گردیدند. میزان دما در محفظه مرطوب و گلخانه بین 15°C - 25°C متغیر بود. پس از یک هفته، گیاهان مذکور از لحاظ ایجاد علائم بیماری بطور مرتب مورد بررسی قرار گرفتند (Kaiser 1973) و در انتهای آزمایش از نمونه‌های مشکوک جهت مشاهده اندامهای غیر جنسی میکروسکوپی و یا اقدام به کشت گردید.

نتیجه و بحث

A. rabiei یک قارچ انگل نخود می‌باشد که می‌تواند بصورت ساپروفیتی نیز روی میزبان مرده رشد و توسعه نماید (Williams et al. 1968). قارچ *A. rabiei* توانست دوام خود را در روی بقایای آلوده نخود، پس از گذشت یک فصل زمستان در مزرعه فقط در سطح خاک مزارع سه منطقه جغرافیایی مختلف (جدول ۱) و شرایط آزمایشگاهی (دما و رطوبت معمولی) حفظ نماید. این امر نشان می‌دهد که قارچ دوام خود را از طریق بقاء ساپروفیتی روی بقایای آلوده گیاهی از سالی به سال دیگر حفظ می‌کند. بطوریکه قارچ عامل بیماری با تشکیل پیکنیدیوم‌های جدید روی بقایای بیمار می‌تواند تمام بافت‌ها را کلنیزه نماید. نکته جالب توجه در این مورد آلودگی و ظهور علائم بیماری بر قزدگی در روی قسمت‌های هوایی (ساقه، برگ، دمبرگ) گیاهچه‌های نخودی بود که در اثر جوانه‌زنی بذره‌های داخل غلاف‌های زمستان‌گذران در سال دوم رشد کرده بود. و این امر نشانگر این است که آلودگی یا از طریق پنخس و انتشار پیکنیدیوسپوره‌های قارچ عامل بیماری یا از بقایای آلوده به گیاهچه‌های سالم صورت گرفته است.

جدول ۱- جداسازی *Ascochyta rabiei* از بقایای آلوده نخود در اعماق مختلف خاک بعد از زمستان‌گذرانی در مناطق مختلف استان فارس

Table 1. Recovery of *Ascochyta rabiei* from overwintered infected chickpea residues buried at different soil depths in different areas in Fars province

جداسازی <i>A. rabiei</i> از بقایای آلوده نخود Recovery of <i>A. rabiei</i> from chickpea residues	اعماق مختلف خاک Soil depths (cm)
+	0
-	10
-	20
-	30
-	40

+ Recovery
- No recovery

نن (Nene 1984) عقیده دارد که بقایای گیاهی آلوده، یک منبع مهم آلودگی اولیه برای

فصل بعدی است زیرا قارچ می‌تواند بمدت ۲ سال در بافت‌های آلوده دوام بیاورد. *A. rabiei* بمدت ۲ سال در بافت‌های آلوده طبیعی، در دمای ۱۰ تا ۳۵°C و رطوبت نسبی ۳۰-۰ درصد در سطح خاک دوام می‌آورد (Kaiser 1973). این قارچ نتوانست در هیچ یک از عمق‌های مختلف خاک (۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ سانتی متر) دوام خود را پس از گذشت فصل زمستان در روی بافت‌های آلوده نخود حفظ نماید و در اغلب موارد بافت‌های آلوده توسط قارچ‌های پوده زی داخل خاک کلنیزه گردیدند. این امر نشان می‌دهد که قدرت ساپروفیتی این قارچ در مقایسه با سایر قارچ‌های پوده‌زی داخل خاک مانند *Chaetomium sp.* و *Stemphylium sp.* بسیار محدود می‌باشد و این قارچ‌ها بطور موثری رشد و گسترش *A. rabiei* را روی ساقه و بقایای آلوده نخود محدود نمودند.

اغلب محققان گزارش کرده اند که گونه‌های جنس *Cicer spp.* تنها میزبانان قارچ *A. rabiei* می‌باشند (Gorlenko and Bushkova 1958, Nene 1984, Abdou *et al.* 1991). با بررسی علف‌های هرز در مزارع نخود الوده و گیاهان زراعی مجاور در هیچ موردی از گیاهان مشکوک به آلودگی، قارچ *A. rabiei* جداسازی نگردید.

کایزر (Kaiser 1973) گزارش کرده است که قارچ عامل بیماری می‌تواند، لوبیا چشم بلبلی و لوبیا را وقتی بطور مصنوعی مایه‌زنی شوند، آلوده نماید. او نقاط قهوه‌ای مایل به قرمز را در روی ساقه، دم‌برگ و دمگل‌های لوبیا مشاهده کرد ولی این نقاط از نظر اندازه بزرگ نشدند. در این تحقیق در شرایط آزمایشگاهی و گلخانه‌ای، از میان گیاهان زراعی لوبیا، نخودفرنگی، سویا و باقلا از علف‌های هرز تاج‌ریزی، پیچک و خرفه بعد از مایه‌زنی با *A. rabiei* علائم بیماری را بصورت لکه‌های بافت مرده و قهوه‌ای رنگ روی برگ‌های خود نشان دادند. بطوری که بعد از آلودگی قارچ عامل بیماری از بافت‌های آلوده جداسازی و بیماری‌زایی آنها روی میزبان اصلی (نخود) به اثبات رسید (جداول ۲ و ۳). در ایران تاکنون گزارشی مبنی بر داشتن میزبان‌های دیگر بجز نخود برای *A. rabiei* گزارش نگردیده است و تعیین دامنه میزبانی قارچ عامل بیماری روی گیاهان زراعی و علف‌های هرز بالا یک گزارش جدید برای ایران می‌باشد. همچنین توانایی آلودگی این قارچ روی گیاه زراعی سویا و علف‌هرز خرفه یک گزارش جدید برای دنیا جدول ۲- عکس‌العمل گیاهان زراعی به *Ascochyta rabiei* در شرایط گلخانه

Table 2. Reaction of different field crops to *Ascochyta rabiei* under greenhouse conditions

عکس العمل به <i>A. rabiei</i> reaction to <i>A. rabiei</i>	گونه های گیاهی Plants speices
+	(<i>Vicia faba</i> L.) باقلا
+	(<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) لوبیا
-	(<i>Vigna unguiculata</i> (L)Walp.) لوبیا چشم بلبلی
+	(<i>Glycine max</i> (L) Merr. سویا
-	(<i>Lens culinaris</i> Medik.) عدس
+	(<i>Pisum sativum</i> L.) نخود فرنگی
-	(<i>Trifolium arvense</i> L.) شبدر
-	(<i>Medicago sativa</i> L.) یونجه
-	(<i>Triticum aestivum</i> L.) گندم
-	(<i>Hordeum vulgaris</i> L.) جو
-	(<i>Zea mays</i> L.) ذرت
-	(<i>Oryza sativa</i> L.) برنج
-	(<i>Sorghum bicolor</i> (L.)Moench.) سودان گرس
-	(<i>Cucumis sativus</i> L.) خیار
-	(<i>Cucumis melo</i> L.) خربزه
-	(<i>Cucurbita pepo</i> L..) کدو
-	(<i>Beta vulgaris</i> L.) چغندر
-	(<i>Nicotiana tabacum</i> L.) توتون

(+) قارچ *A. rabiei* در شرایط گلخانه روی گیاهان مذکور بیماریزا بوده و علائم بیماری ایجاد نمود و از گیاهان مذکور قارچ جداسازی گردیده است.

(-) قارچ *A. rabiei* در شرایط گلخانه روی گیاهان مذکور بیماریزا نبوده و قادر به ایجاد علائم بیماری نبود و از گیاهان مذکور قارچ جداسازی نگردیده است.

۱- سوسپانسیون اسپور *A. rabiei* (10^6 mol) روی گیاهان با افشانه دستی پاشیده باشد.

جدول ۳- عکس العمل علف های هرز مزارع نخود به *Ascochyta rabiei* در شرایط گلخانه
Table 3. Reaction of certain weeds from chickpea field to *Ascochyta rabiei* under greenhouse

condition		
عکس العمل به <i>A. rabiei</i>	گونه‌های گیاهی	
Reaction to <i>A. rabiei</i>	Plants species	
-	(<i>Amaranthus retroflexus</i> L.)	تاج خروس
-	(<i>Avena sativa</i> L.)	یولاف
-	(<i>Capsella bursa-pastoris</i> L.)	کیشه کشیش
-	(<i>Cardaria draba</i> L.)	ازمک
-	(<i>Cephalaria syriaca</i> L.)	سرشکافته
-	(<i>Chenopodium album</i> L.)	سلمه تره
+	(<i>Convolvulus arvensis</i> L.)	پیچک
-	(<i>Galium tricorne</i> L.)	بی تراخ
-	(<i>Gomphrena globosa</i>)	گل دکمه ای
-	(<i>Malva sylvestris</i> L.)	پنیرک
-	(<i>Plantago lanceolata</i> L.)	بارهنگ
-	(<i>Polygonum avicular</i> L.)	علف هفت بند
+	(<i>Portulaca oleracea</i> L.)	خرفه
-	(<i>Rapistrum rugosum</i> Au.)	شلمی
-	(<i>Sinapis arvensis</i> L.)	خردل وحشی
-	(<i>Silene conoidae</i> L.)	کوزه قلبانی
+	(<i>Solanum nigrum</i> L.)	تاج ریزی سیاه
-	(<i>Vacaria pyramidata</i> Medic.)	جغجغک
-	(<i>Vicia sativa</i> L.)	ماشک

+ قارچ *A. rabiei* در شرایط گلخانه روی گیاهان مذکور بیماریزا بوده و علائم بیماری ایجاد نمود و از گیاهان مذکور قارچ جداسازی گردیده است.

+ قارچ *A. rabiei* در شرایط گلخانه روی گیاهان مذکور بیماریزا نبوده و قادر به ایجاد علائم بیماری نبود و از گیاهان مذکور قارچ جداسازی نگردیده است.

۱- سوسپانسیون اسپور *A. rabiei* (10^7 mol) روی گیاهان با افشانه دستی پاشیده باشد.

می باشد.

کایزر (Kaiser 1990) قارچ *A. rabiei* را از سطح بافتهای آلوده گونه‌های گیاهی، تاج خروس، پیچک صحرایی، شیر پنیر، عدس، یونجه، نخودفرنگی، تاج‌ریزی سیاه و گندم جداسازی نمود و پیکنیدیوم‌های *A. rabiei* در بافت‌های بافت مرده گیاهان یونجه، گندم مایه‌زنی شده، تشکیل گردیدند که کوشش انجام شده در این تحقیق ناموفق بود. نتایج بدست آمده در این پژوهش و مقایسه آن با نتایج دیگر محققان نشان می‌دهد که در مواردی نتایج حاصله مشابه و در مواردی متفاوت می‌باشد. بنظر می‌رسد این اختلافات احتمالاً تاثیر از شرایط متفاوت محیطی و آزمایشگاهی در مکان‌های مختلف، تفاوت در روش‌های آزمایش، تفاوت در ارقام و واریته‌های مختلف گیاهی، و اختلاف در بیماریزایی جدایه‌ها مورد استفاده برای مطالعات دامنه میزبانی *A. rabiei* می‌باشد.

سپاسگزاری

نویسندگان از کمیته پژوهشی دانشکده کشاورزی و شورای پژوهشی دانشگاه به خاطر حمایت علمی و مالی در قالب پروژه مصوب ۶۶۷-۱۲۴-۷۸-AG تشکر می‌نمایند.

منابع

جهت ملاحظه به صفحات 67-68 متن انگلیسی مراجعه شود.

آدرس نویسندگان : فرشید محمودی موسسه تحقیقات کشاورزی دیم هرارود کرمانشاه و دکتر ضیاءالدین بنی هاشمی ، بخش گیاهپزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز.