Archive of SID

مجله علوم زراعی
سال دوم، شماره ۱و ۲، بهار و تابستان ۱۳۸۹

بررسی تنوع بیماری‌زایی جدایه‌های قارچ *Ascochyta rabiei* در ایران

سیمین غیائی[۱]، محمد رضوی[۲]، حمیدرضا زمانی‌زاده[۳] و داریوش شهریاری [۴]

چکیده

سیمین غیائی، محمد رضوی، حمیدرضا زمانی‌زاده و داریوش شهریاری. ۱۳۸۹. بررسی تنوع بیماری‌زایی جدایه‌های قارچ *Ascochyta rabiei* در ایران. **دو فصلنامه علوم زراعی (۱و۲) ۲: ۷۵-۶۵.**

چکیده

بیماری برق‌زدگی نخود، مهمترین بیماری نخود و دلیل اصلی کاهش بازده این محصول در دنیا و ایران می‌باشد. تنوع بیماری‌زایی ۳۰ جدایه *Ascochyta rabiei* جمع‌آوری شده از پنج استان کشور، شامل آذربایجان‌شرقی، ایلام، کرمانشاه، کهکیلویه و بویراحمد و لرستان مورد بررسی قرار گرفت. ۳۰ جدایه قارچ عامل بیماری برروی هفت رقم افتراقی نخود و یک رقم حساس محلی به عنوان شاهد، در شرایط گلخانه مایه‌زنی شدند و شدت بیماری‌زایی ۱۵ روز پس از مایه‌زنی مورد ارزیابی قرارگرفت. در نهایت بر اساس شدت بیماری‌زایی ۳۰ جدایه مورد بررسی، ۱۶ گروه بیماری‌زا شناسایی‌گردید. براساس دندروگرام حاصل از ماتریس Gower نیز جدایه‌های مورد بررسی به دو گروه عمده با شدت بیماری‌زایی بالا و پایین قابل تفکیک بود. در این بررسی جدایه‌های استان آذربایجان‌شرقی بیشترین شدت بیماری‌زایی را برروی ارقام افتراقی نشان دادند. رقم نخود ILC۷۲ بیشترین مقاومت را نسبت به اکثر جدایه‌ها نشان داد. با توجه به تنوع ژنتیکی زیاد این بیمارگر و مکانیزم های تغییرپذیری آن، استفاده از ارقام با مقاومتهای متفاوت و غیروابسته به نژاد برای مدیریت این بیماری ضروری است.

واژه‌های کلیدی: *Ascochyta rabiei*، ارقام افتراقی، تنوع بیماری‌زایی.

E-mail: simin_ghiai@yahoo.com

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۸/۳/۲۳ **تاریخ پذیرش: ۱۳۸۸/۹/۲۸**

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه بیماری شناسی گیاهی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران(مولف مسئول)
۲- استادیار مؤسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور
۳- دانشیار گروه بیماری شناسی گیاهی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران
۴- پژوهشگر مرکز تحقیقات کشاورزی ورامین

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

ایران جزء کشورهای تولیدکننده عمده گیاه نخود (*Cicer arietinum* L.) می‌باشد. باوجود توانمندی‌های بهینه برای توسعه این زراعت، متأسفانه میانگین عملکرد این محصول مطابق آمارنامه کشاورزی سال ۸۵-۱۳۸۴ وزارت جهادکشاورزی ایران kg/ha ۵۲۴ بوده است که نسبت به عملکرد متوسط جهانی به میزان kg/h ۷۶۷ فاصله زیادی دارد (Anonymous, 2009). یکی از عمده‌ترین دلایل نقصان عملکرد این محصول در واحد سطح، شیوع اپیدمی‌های خسارت‌زای بیماری برق‌زدگی نخود در اثر *Ascochyta rabiei* (Pass.) Lab.، می‌باشد که مهمترین بیماری نخود در دنیا و ایران محسوب می شود و در شرایط مساعد، خسارت زیادی را به مزارع نخود وارد می‌سازد. این قارچ به‌طور اختصاصی به نخود حمله می‌کند و در بقایای‌گیاهی و بذور آلوده بقا می‌یابد. هرچند ارقامی با مقاومت پایدار بسیار نادر می‌باشند، اما با این‌حال استفاده از ارقام مقاوم نخود، همچنان اقتصادی‌ترین و بهترین شیوه برای مقابله با این بیماری محسوب می‌گردد (Peever *et al.* 2004). به منظور معرفی ارقام مقاوم، آگاهی از شدت بیماری‌زایی و پاتوتیپ‌های موجود در هر منطقه ضروری می‌باشد. مطالعات انجام شده برروی *A. rabiei* در دنیا و ایران، همگی حاکی از تنوع زیاد بیماری‌زایی در این بیمارگر است. ردی و کبابه با مایه‌زنی ۲۶ جدایه از شمال سوریه و لبنان، برروی ۱۸ ژنوتیپ نخود، شش نژاد یا پاتوتیپ را برمبنای تفاوت در الگوی آلودگی و قدرت تهاجمی‌شان معرفی‌کردند(Reddy and Kebbabeh, 1985) . کورشی و عالم با مطالعه اثرمتقابل بین هشت رقم افتراقی و هشت جدایه از پاکستان، پنج گروه بیماری‌زا تعیین نمودند (Qureshi and Alam, 1984). Chen *et al.* (2004) با انجام آزمایش‌هایی بر روی ۴۴ جدایه *A. rabiei* و ۴۸ لاین نخود (شامل ۲۲ لاین‌افتراقی) اثبات کردند که نژادهای یک تا پنج می‌توانند متعلق به یک پاتوتیپ اصلی (پاتوتیپ‌یک) و نژاد شش به طور منفرد متعلق به پاتوتیپ دیگری (پاتوتیپ‌دو) بر مبنای شدت‌آلودگی و فاکتور درصد برگ آلوده باشند؛ بعلاوه آنها نشان‌دادند که مکانیسم مقاومت برای پاتوتیپیک به‌صورت ژن‌های اصلی و برای پاتوتیپ‌دو به صورت ژن‌های خرد با اثرافزایشی است. اخیراً در پاکستان نیز ۱۰ جدایه *A. rabiei* برروی ۱۹ رقم نخود آزمایش شد و بر اساس نتایج این تحقیق، رقم Venhar مقاومت بالایی نسبت به اکثر جدایه‌ها نشان داد (Rashad Ali *et al.* 2009). در ایران نیز جهت معرفی ارقام مقاوم، مطالعاتی روی بیماری‌زایی این قارچ در نقاط مختلف کشور صورت پذیرفته است. کایزر و اخوت گزارش کردند که ارقام نخود با بذر سیاه که برای تهیه لپه به‌کار می‌روند، مقاومت بیشتری نسبت به ارقام نخود با بذر سفید در مقابل بیماری برق زدگی نخود دارند (Kaiser and Okhovat, 1996). در سال ۱۹۷۲، رقم I-13 (از نوع دسی)، به عنوان رقم مقاوم در مقابل جدایه‌های جمع‌آوری شده از نقاط مختلف ایران معرفی شد (Kaiser 1972). Shahriari and Izadyar (1998)، اختلاف بیماری‌زایی جدایه‌های مختلف *A. rabiei* را برروی چهار رقم بیوه‌نیج، جم، هاشم و ILC-482 بررسی‌نمودند. آنها همچنین در سال ۱۳۷۹، شش نژادفیزیولوژیکی را به همراه ۱۳ فرم بیماری‌زا شناسایی‌نمودند (Shahriari and Izadyar (2000). گروهی دیگر از محققین، ۱۲ گروه بیماری‌زا را از استان کرمانشاه گزارش نمودند. همچنین در سال ۱۳۸۳، چهار گروه بیماری‌زا بر روی ۱۰ رقم افتراقی نخود از استان فارس گزارش‌گردید (Mahmudi and Banihashemi, 2004). در سال ۱۳۸۷ به‌منظور پی‌بردن به وقوع پاتوتیپ‌های مختلف قارچ مذکور، از دو سامانه ارقام افتراقی نخود رایج در جهان استفاده شد؛ نتایج بررسی مذکور نشان داد که پاتوتیپ بیماری‌زای یک در سرارود، گرگان، ایلام و گچساران، پاتوتیپ سه در کلیبر و پاتوتیپ شش در ایلام و گچساران به تناوب در سال‌های مختلف تظاهر می یابند (Pouralibaba *et al.* 2008). با توجه به وجود تنوع ژنتیکی در جمعیت‌های قارچ عامل بیماری و شکسته شدن مداوم مقاومت در میزبان‌های مقاوم، نیاز برای به‌روز کردن اطلاعات در مورد بیماری‌زایی پاتوتیپ های

www.SID.ir

Archive of SID

شایع در مناطق مختلف، به منظور دست‌یابی به ارقام نخود با مقاومت پایدارتر در برابر بیماری برق زدگی نخود امری ضروری است (Rashad Ali *et al.* 2009). لذا در بررسی حاضر، تلاش شد تا با شناسایی پاتوتیپ‌های موجود در پنج استان کشور، گامی در جهت دست‌یابی به ارقام مقاوم به بیماری برق‌زدگی نخود برداشته شود.

مواد و روش‌ها

-جمع‌آوری، کشت، خالص‌سازی و نگهداری نمونه‌ها

نمونه‌های ساقه، برگ و نیام آلوده گیاه نخود از پنج استان کشور شامل: آذربایجان‌شرقی، ایلام، کرمانشاه، کهکیلویه‌وبویراحمد و لرستان جمع‌آوری‌گردید. مشخصات مربوط به جدایه‌ها، در جدول ۱ آمده است. پس از ضدعفونی سطحی قطعات آلوده در محلول هیپوکلریت‌سدیم ۰/۵ درصد، به مدت یک الی دو دقیقه، تعداد چهار تا پنج قطعه از هر نمونه در ظروف پتری حاوی محیط‌کشت PDA (Potato Dextrose Agar) کشت و در دمای $^{\circ}C$۱±۲۳ و دوره تناوب ۱۲ ساعت تاریکی و روشنایی نگهداری‌گردید. پس از ۱۴ روز جدایه های رشدیافته، به روش تک‌اسپور خالص‌سازی گردیدند و به ظروف پتری حاوی محیط آب-آگار (WA) منتقل‌گردیدند. تعداد ۳۰ جدایه خالص شده جهت مطالعات بیشتر در محیط کشت مورب حاوی WA، در شرایط تاریکی و دمای $^{\circ}C$ ۸-۵ نگهداری‌شدند.

-آزمایش گلخانه‌ای

هفت رقم افتراقی نخود شامل: ILC-72، ILC-1929، ILC-202، ILC-5928، ILC-194، PCH15، ICC-3996 و یک رقم حساس محلی (بیوه‌نیج) به عنوان شاهد در این مطالعه مورد استفاده قرار گرفت. ارقام مذکور در سال ۱۳۸۵ از مرکز تحقیقات بین‌المللی کشاورزی دیم (ICARDA) واقع در سوریه تهیه گردید. از هر رقم نخود، بذوری با اندازه‌های مشابه انتخاب گردید و پس از ضدعفونی‌سطحی با محلول کاپتان ۵/ ۱ در هزار، در عمق ۵/ ۲ سانتیمتری و در گلدان‌های با قطر ۱۵ سانتیمتر کشت گردیدند. چند روز پس از کشت، از هر رقم چهار گیاهچه جوانه‌زده با اندازه یکسان، در گلدان‌هایی با قطر دهانه ۱۱ سانتیمتر، حاوی مخلوط پیت-خاک-ماسه به نسبت ۱:۱:۱ نشاءکاری شدند. همزمان با این عملیات سی جدایه تک‌اسپور شده *A. rabiei*، برروی محیط کشت PDA تکثیرگردیدند و ۱۴ روز بعد، سوسپانسیون اسپورقارچ با رقت ۲×۱۰^{۶} اسپور در میلی‌لیتر با شیوه خراش دهی اسپورهای سطح محیط کشت جامد و شمارش اسپورها با لام گلبول شمار (Hemacytometer) تهیه‌گردید. سوسپانسیون تهیه شده به شیوه اسپورپاشی بر روی همه قسمت‌های هوایی گیاهچه‌های ۱۰ روزه و به وسیله آب‌پاش دستی استریل انجام شد. پس از مایه‌زنی، هر گلدان توسط سرپوش‌های فایبرگلاس شفاف پوشیده شد و به مدت ۴۸ ساعت در شرایط تاریکی و سپس در شرایط نور طبیعی و دمای $^{\circ}C$ ۲۰-۱۸ و رطوبت‌نسبی ۱۰۰-۹۵ درصد قرار گرفت. شش روز پس از مایه‌زنی، سرپوش‌های فایبرگلاس از روی گلدان‌ها برداشته شد و گیاهچه‌ها در شرایط دمای $^{\circ}C$۱±۲۰ در روز و $^{\circ}C$۱±۱۵ و رطوبت ۷۰ تا ۸۵ درصد قرارگرفتند. آزمایش مذکور به‌صورت طرح کاملاً تصادفی و در سه تکرار انجام شد (Younessi *et al.* 2003). این آزمایش در سال ۱۳۸۷ و در محل گلخانه‌های غلات مؤسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور انجام شد.

-ارزیابی بیماری‌زایی جدایه‌ها

۱۵ روز پس از مایه‌زنی، عکس‌العمل هفت رقم افتراقی نخود در مقابل ۳۰ جدایه *A. rabiei*، براساس الگوی ۹-۱ تیپ آلودگی پیشنهادی Jan and Wiese (1991) به شرح زیر موردارزیابی قرارگرفت:

۱: گیاه سالم بوده و علائم بیماری مشاهده نمی‌شود.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱- مشخصات کامل نمونه‌های جمع‌آوری شده *Ascochyta rabiei* از استانهای مختلف کشور طی سالهای ۱۳۸٦-۱۳۸٤.

ردیف Row	تاریخ Date	جمع‌آوری کننده Collector	محل جمع‌آوری نمونه(Location)			کدنمونه (Code)
			استان	شهرستان	روستا	
1	2005	یونسی	کرمانشاه	سنقر	نازلیان	Ar.21
2	2005	یونسی	کرمانشاه	گیلانغرب	چشمه‌نظامی	Ar.22
3	2005	یونسی	کرمانشاه	کرمانشاه	حومه	Ar.23
4	2005	یونسی	کرمانشاه	کرمانشاه	حومه	Ar.24
5	2005	یونسی	کرمانشاه	اسلام آباد	ارکوازی	Ar.25
6	2005	یونسی	کرمانشاه	سر پل ذهاب	زرین‌چوب	Ar.26
7	2005	یونسی	کرمانشاه	کرمانشاه	کرانی	Ar.27
8	2005	شهریاری	آذربایجان شرقی	تبریز	-	Ar.17
9	2005	شهریاری	آذربایجان شرقی	تبریز	-	Ar.18
10	2005	شهریاری	آذربایجان شرقی	تبریز	-	Ar.19
11	2005	شهریاری	آذربایجان شرقی	تبریز	-	Ar.36
12	2005	باب‌الحوائجی	لرستان	بروجرد	-	Ar.1
13	2005	باب‌الحوائجی	لرستان	بروجرد	-	Ar.2
14	2005	باب‌الحوائجی	لرستان	بروجرد	-	Ar.3
15	2005	باب‌الحوائجی	لرستان	بروجرد	-	Ar.4
16	2005	باب‌الحوائجی	لرستان	بروجرد	-	Ar.5
17	2005	باب‌الحوائجی	لرستان	بروجرد	-	Ar.6
18	2005	باب‌الحوائجی	لرستان	بروجرد	-	Ar.7
19	2005	باب‌الحوائجی	لرستان	بروجرد	-	Ar.8
20	2005	باب‌الحوائجی	لرستان	بروجرد	-	Ar.9
21	2005	باب‌الحوائجی	لرستان	بروجرد	-	Ar.10
22	2006	نورالهی	ایلام	ایلام	-	Ar.20
23	2006	نورالهی	ایلام	ایلام	-	Ar.29
24	2006	نورالهی	ایلام	ایلام	-	Ar.31
25	2006	نورالهی	ایلام	ایلام	-	Ar.32
26	2007	کشاورز	کهکیلویه‌وبویراحمد	گچساران	-	Ar.11
27	2007	کشاورز	کهکیلویه‌وبویراحمد	گچساران	-	Ar.13
28	2007	کشاورز	کهکیلویه‌وبویراحمد	گچساران	-	Ar.14
29	2007	کشاورز	کهکیلویه‌وبویراحمد	گچساران	-	Ar.16
30	2007	کشاورز	کهکیلویه‌وبویراحمد	گچساران	-	Ar.34

www.SID.ir

Archive of SID

۲: لکه‌ها کم، کوچک، ناواضح، تا حدود دو میلیمتر و در برخی قسمت‌های بوته مشاهده می‌شود.
۳: لکه‌ها کم، پراکنده، بزرگتر، واضح‌تر و تا حدود پنج میلیمتر محدود شده‌اند.
۴: لکه‌ها روی قسمتی یا همه قسمت‌های گیاه مشاهده می‌گردد و اندازه آنها بیش از پنج میلیمتر بوده، خمیدگی نیز آغاز گردیده‌است و پیکنیدها ظهور یافته‌اند.
۵: لکه‌ها معمولی با اندازه نامحدود و برروی تمام قسمت‌های گیاهان دیده‌می‌شود، خمش و شکستگی ساقه‌ها کم تا متوسط بوده است و پیکنیدها قابل رؤیت می‌باشند.
۶: لکه‌ها مانند ۵، خمش و شکستگی ساقه‌های خشک به‌طور معمولی، برخی گیاهان از بین‌رفته‌اند.
۷: لکه ها مانند ۵، خمش و شکستگی شاخه‌های خشک به‌طور معمولی، ۲۵٪ گیاهان از بین‌رفته‌اند.
۸: علائم مانند ۷، حدود ۵۰٪ گیاهان از بین‌رفته‌اند.
۹: علائم مانند ۷، ۱۰۰٪ گیاهان از بین‌رفته‌اند.

پس از آماربرداری، تیپ‌های آلودگی یک تا سه به عنوان مقاوم (Low virulent) و ۳/۱ تا ۹ به عنوان حساس درنظر گرفته شدند و درنهایت جدایه‌ها در درون دسته‌های مجزا گروه‌بندی شدند. همچنین ماتریس تشابه بین میانگین بیماری‌زایی جفت جدایه‌ها با استفاده از فرمول پیشنهادی Gower محاسبه گردید (Gower 1971). سپس دندروگرام ماتریس تشابه بدست آمده، توسط نرم افزار NTSYS-pc و روش UPGMA ترسیم گردید.

نتایج

-مشخصات جدایه‌ها

جدایه‌های جمع‌آوری شده، پس از ۱۴ روز بر روی محیط کشت PDA تولید پیکنید و پیکنیدیوسپور نمودند. رنگ پرگنه جدایه‌های جمع‌آوری شده از خاکستری تیره و روشن تا خاکستری متمایل به سبز و خاکستری متمایل به قهوه‌ای متغیر بود. اندازه پیکنید ۱۴×۲۳ میکرومتر و پیکنیدیوسپورها اغلب دو سلولی و برخی تک سلولی و به ابعاد ۱۲۰ تا ۱۸۰ × ۱۵۰ تا ۲۰۰ میکرومتر متغیر بود. که مشخصات مذکور با گونه قارچ *A. rabiei* مطابقت داشت.

-بیماری‌زایی جدایه‌ها برروی ارقام افتراقی نخود

علائم بیماری برق‌زدگی نخود برروی هفت رقم افتراقی نخود، یک هفته پس از مایه‌زنی آشکار گردید و به تدریج لکه‌های نکروزه و کلروزه برروی ساقه‌ها و برگ‌ها گسترش‌یافتند و اندام های باردهی قارچ (پیکنیدیوم) به صورت دوایرمتحدالمرکز در داخل لکه‌های توسعه‌یافته تشکیل‌گردیدند. در ارقام حساس نظیر ILC-1929، لکه ها دور تا دور ساقه‌ها را احاطه کرده و سبب خشکیدکی و شکستگی ساقه و درنهایت مرگ کامل گیاهچه شدند.

-گروه‌بندی جدایه‌ها

نتایج حاصل از گروه‌بندی جدایه‌ها با احتساب درجات بیماری‌زایی ۳-۱ به‌عنوان جدایه های با قدرت بیماری‌زایی کم (Low virulent) و درجات بیماری‌زایی ۹-۳/۱ به‌عنوان جدایه‌های با قدرت بیماری‌زایی زیاد (High virulent) به شرح جدول ۲ می‌باشند. براساس جدول مذکور ۳۰ جدایه *A. rabiei* موردبررسی بر روی هفت رقم افتراقی نخود، به ۱۶ گروه بیماری‌زا دسته‌بندی شدند. گروه بیماری‌زای چهار شامل جدایه‌های Ar.4، Ar.5 و Ar.6 می‌باشد که همگی متعلق به استان لرستان می‌باشند و پس از آن، گروه بیماری زای ۱۲ که شامل جدایه Ar.23 و متعلق به استان کرمانشاه می‌باشد؛ که این جدایه‌ها روی تعداد کمتری از ارقام افتراقی

www.SID.ir

Archive of SID

بیماری‌زا بودند و درنتیجه ضعیف‌ترین جدایه‌ها از نظر بیماری‌زایی بودند. همچنین گروه بیماری‌زای نه بر روی همه ارقام افتراقی بیماری‌زا بود؛ که شامل جدایه‌های Ar.16، Ar.17، Ar.18، Ar.19 و Ar.34 می باشد. از پنج جدایه مذکور، سه جدایه متعلق به استان آذربایجان‌شرقی و دو جدایه دیگر متعلق به استان کهکیلویه و بویراحمد بودند. پس از گروه نه، گروه بیماری‌زای دو شامل جدایه Ar.2 (لرستان) و جدایه Ar.36 (آذربایجان‌شرقی) و گروه بیماری‌زای ۱۶ شامل جدایه Ar.27 (کرمانشاه) روی تعداد بیشتری از ارقام افتراقی بیماری‌زا بودند و درنتیجه قوی‌ترین جدایه‌ها از نظر بیماری‌زایی بودند. بنابراین با توجه به نتایج موجود، شاید بتوان استنباط کرد که جدایه‌های استان آذربایجان‌شرقی دارای بیشترین قدرت بیماری‌زایی و اکثر جدایه های استان لرستان دارای کمترین قدرت بیماری‌زایی بودند. گروه‌های بیماری‌زای پنج و نه، هر کدام با دارا بودن پنج جدایه، بیشترین فراوانی را دربین گروه‌های بیماری‌زا داشتند. گروه‌های چهار و هفت هر یک دارای سه جدایه، گروه‌های بیماری‌زای یک و دو هریک دارای دو جدایه و سایر گروه‌ها تنها دارای یک جدایه بودند. با مقایسه واکنش ارقام افتراقی به جدایه‌های مختلف *A. rabiei* به‌کاررفته در این بررسی، همه جدایه‌های مورد بررسی روی رقم ILC-1929 بیماریزا بودند در حالیکه اکثر جدایه‌ها روی رقم ILC-72 غیربیماری‌زا بودند.

- دندروگرام ماتریس‌تشابه بین جدایه‌ها

پس از بدست‌آمدن ماتریس‌تشابه میانگین بیماری‌زایی بین جفت جدایه‌های مورد بررسی، دندروگرام مربوطه بااستفاده از نرم افزار NTSYS-pc و برنامه UPGMA ترسیم گردید (شکل ۱). باتوجه به دندروگرام تشکیل‌شده، ۳۰ جدایه *A. rabiei* مورد بررسی را می‌توان به دو گروه با بیماری‌زایی کم (I) و بیماری‌زایی زیاد (II) طبقه‌بندی نمود. جدایه‌های مربوط به گروه نه (Ar.34، Ar.19، Ar.18، Ar.17 و Ar.16) به استثناء

جدول ۲- گروه‌بندی ۳۰ جدایه قارچ *A. rabiei* براساس بیماری‌زایی روی هفت رقم افتراقی نخود

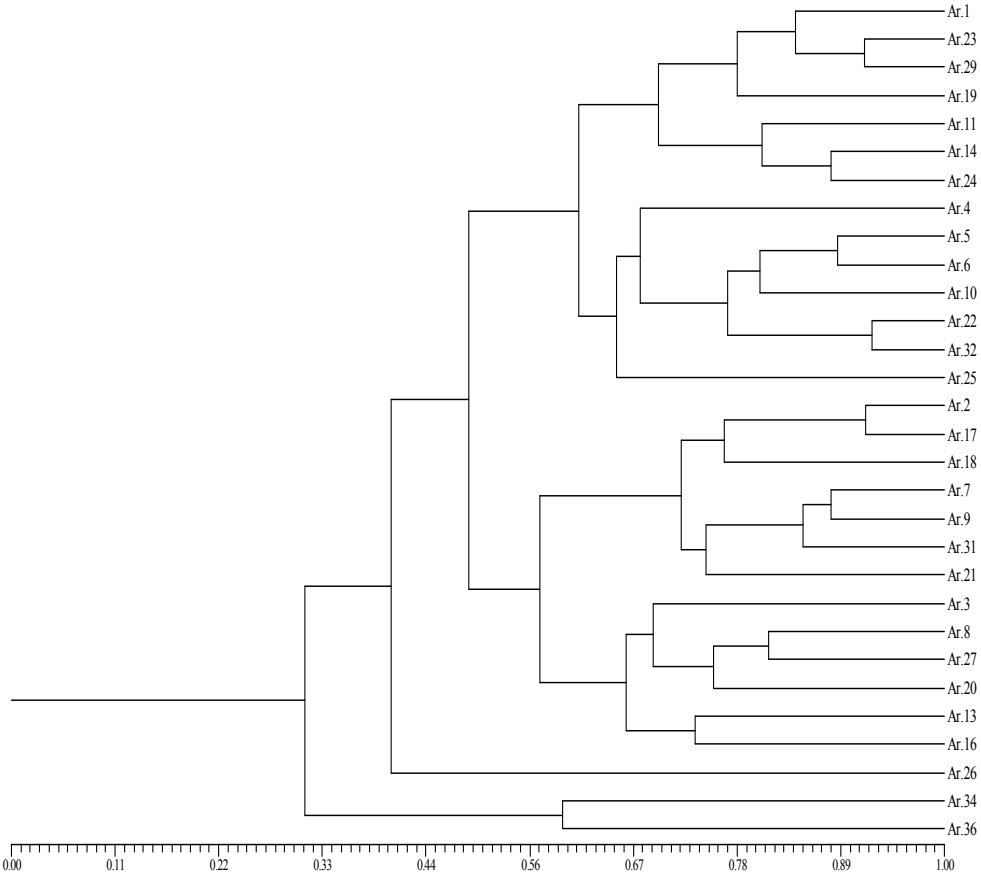
ارقام افتراقی نخود (Differential chickpea lines)							گروه‌بیماری‌زا	جدایه (Ar.)
ILC 194	ILC 5928	ILC 202	ILC 72	ILC 1929	ICC 3996	PCH 15	Pathotype group	Isolates
L	H	L	L	H	L	*H	1	1 ،29
H	H	H	L	H	H	H	2	2 ،36
L	L	H	L	H	H	H	3	3
L	L	L	L	H	L	*L	4	4 ،5 ،6
H	H	L	L	H	L	H	5	7 ،9 ،11 ،14 ،31
H	H	H	L	H	L	H	6	8
H	L	L	L	H	L	H	7	10 ،22 ،32
H	L	H	H	H	L	H	8	13
H	H	H	H	H	H	H	9	16 ،17 ،18 ،19 ،34
L	H	H	L	H	L	H	10	20
H	H	L	L	H	H	H	11	21
L	H	L	L	H	L	L	12	23
H	H	L	L	H	L	L	13	24
H	L	L	H	H	L	L	14	25
H	L	H	L	H	L	H	15	26
H	H	H	H	H	L	H	16	27

* L: بیماری‌زایی کم (Low virulence)، H: بیماری‌زایی زیاد (High virulence)

www.SID.ir

Archive of SID

A r.19، با بیماری‌زایی روی هفت رقم و جدایه‌های مربوط به گروه دو (Ar.2 و Ar.36) و گروه ۱۶ (Ar.27) با بیماری‌زایی روی شش رقم افتراقی و همچنین جدایه‌های گروه شش (Ar.8)، گروه هشت (Ar.13) و گروه۱۱ (Ar.21) با بیماری‌زایی روی پنج رقم، به‌ترتیب بیشترین توان بیماری‌زایی را داشتند و در گروه II قرار گرفتند. جدایه‌های مربوط به گروه یک (Ar.1، Ar.29)، گروه هفت (Ar.32، Ar.22، Ar.10)، گروه۱۳ (Ar.24) و گروه۱۴ (Ar.25) با بیماری‌زایی روی سه رقم، جدایه مربوط به گروه ۱۲ (Ar.23) با بیماری‌زایی روی دو رقم و جدایه‌های مربوط به گروه چهار (Ar.6، Ar.5، Ar.4) با بیماری‌زایی فقط روی یک رقم، به‌ترتیب کمترین توان بیماری‌زایی را داشتند و همگی در گروه I قرار گرفتند. جدایه های مربوط به گروه‌سه (Ar.3)، گروه۱۰ (Ar.20)، گروه ۱۵ (Ar.26) و گروه پنج (Ar.7، Ar.9 و Ar.31) با بیماری‌زایی روی چهار رقم، در گروه II قرار گرفتند اما جدایه‌های Ar.11 و Ar.14 مربوط به گروه بیماری‌زای پنج، در گروه I قرار گرفتند. همانطور که ملاحظه می‌شود، با استفاده از ضریب‌تشابه Gower جدایه‌هایی که توان بیماری‌زایی روی هفت رقم، شش رقم و پنج رقم را داشتند، در گروهII و جدایه‌هایی با توان بیماری‌زایی روی به‌ترتیب سه



شکل ۱- دندروگرام گروه‌بندی جدایه‌های *A. rabiei* براساس بیماری‌زایی آنها روی ارقام افتراقی با روش ضریب‌تشابه Gower

www.SID.ir

Archive of SID

رقم، دو رقم و یک رقم در گروه I گروه‌بندی شدند؛ اما تعداد زیادی ازجدایه‌هایی که توان بیماری زایی حدواسطی داشته و روی چهار رقم بیماری‌زا بودند، در گروه II و تعداد اندکی در گروه I قرار گرفتند. با توجه به حد واسط بودن توان بیماری‌زایی این جدایه‌ها، قرارگرفتن آنها در هر دو گروه دور از انتظار نمی‌باشد. بنابراین ضریب‌تشابه Gower توان تفکیک جدایه‌ها را بر اساس توان بیماری‌زایی آنها دارد و با گروه‌بندی قبلی بر اساس بیماری‌زایی آنها روی ارقام افتراقی مطابقت دارد.

بحث

بیماری برق‌زدگی نخود که توسط *A. rabiei* ایجادمی‌شود، یکی از عوامل خسارت‌زای این محصول به‌ویژه درشرایط مساعد محیطی (رطوبت بالا و دمای پایین) است و هر چند سال یک‌بار اپیدمی شده و خسارت قابل‌توجهی به مزارع نخود می‌زند. در حال حاضر ازبین تمامی راه‌های مختلفی که برای کنترل این بیماری به‌کار رفته‌است، استفاده از ارقام مقاوم یا متحمل یکی از مطمئن‌ترین و اقتصادی‌ترین روش‌های مبارزه با بیماری برق‌زدگی نخود می‌باشد.

هر چند از آغاز دهه ۶۰ میلادی برای مقابله با این بیماری از ارقام مقاوم مختلفی استفاده شده است، ولی نبود اطلاعات کامل از تنوع قارچ، همواره برنامه‌های اصلاحی را با مشکل مواجه کرده‌است؛ به‌گونه ای که مقاومت ارقام اصلاح شده، پس از مدتی شکسته شده و از سوی دیگر به‌دلیل تفاوت تنوع این بیمارگر در مناطق مختلف، واکنش ارقام مقاوم در تمام مناطق یکسان نبوده است (Porta-Puglia *et al.,* 1997). همچنین تابه‌حال رقم صددرصد مقاوم نسبت به این قارچ یافت نشده‌است، از سوی دیگر با افزایش سن، مقاومت در گیاه کاهش می‌یابد (Jayakumar *et al.*2005). در ایران به‌منظور کنترل خسارت ناشی از این بیماری، تلاش‌هایی جهت معرفی ارقام مقاوم صورت پذیرفته است. در تحقیقی در مراغه، ۸۶ لاین نخود تیپ‌کابلی (روشن) و دسی (تیره) در برابر بیماری برق‌زدگی نخود ارزیابی شدند. نتایج نشان داد که ۱۱ لاین از تیپ‌کابلی و سه لاین از تیپ‌دسی در برابر این بیماری به‌طور کامل مقاوم بودند و درنهایت باتوجه به عملکرد ارقام و شرایط زراعی، ارقام ICCV95003، ICCV92926 و ICCV92934 به عنوان ارقام مقاوم توصیه شدند (Fazlali, 2004). در بررسی دیگری، واکنش ۴۲۰ توده بومی و ۹۷ لاین و رقم خارجی نخود در شرایط مزرعه و گلخانه طی دو سال مورد بررسی قرارگرفت و در مجموع ارقام MCC528، MCC299، MCC133، MCC496 و MCC142 از تیپ‌کابلی و ارقام MCC54 و MCC523 از تیپ‌دسی، در هر دو شرایط مزرعه و گلخانه، با درجه خسارت دو و سه در برابر شش پاتوتیپ از بیماری برق‌زدگی مقاومت بالا نشان دادند (Shokuhifar *et al.,* 2006).

در این بررسی تلاش شد تا با استفاده از هفت رقم افتراقی و یک رقم حساس محلی به عنوان شاهد، جدایه‌های مربوط به پنج استان کشور از نظر بیماری‌زایی تفکیک و پاتوتیپ‌های موجود در مناطق مذکور جهت معرفی ارقام مقاوم شناسایی‌شوند. ۳۰ جدایه *A. rabiei* جمع‌آوری‌شده از پنج استان آذربایجان‌شرقی، ایلام، کرمانشاه، کهکیلویه و بویراحمد و لرستان براساس بیماری‌زایی آنها برروی هفت رقم افتراقی نخود و با احتساب تیپ‌های آلودگی ۱ تا ۳ و ۳/۱ تا ۹ به‌ترتیب به‌عنوان بیماری‌زایی کم (LV) و بیماری زایی زیاد (HV)، در نهایت به ۱۶ گروه بیماری‌زای مختلف تقسیم شدند. در این گروه‌بندی، گروه چهار با دارا بودن سه جدایه که همگی متعلق به استان لرستان بودند و پس از آن گروه ۱۲ با دارا بودن یک جدایه که متعلق به استان کرمانشاه بود، روی تعداد کمتری از ارقام افتراقی بیماری‌زا بودند. در حالیکه گروه بیماری‌زای نه با دارا بودن پنج جدایه (سه جدایه متعلق به استان آذربایجان‌شرقی و دو جدایه متعلق به استان کهکیلویه و بویراحمد) و

www.SID.ir

Archive of SID

پس از آن گروه بیماری‌زای دو با دارا بودن دو جدایه (یک جدایه از استان آذربایجان‌شرقی و یک جدایه از استان لرستان) و گروه بیماری‌زای ۱۶ با دارا بودن یک جدایه (از استان کهکیلویه و بویراحمد)، روی تعداد بیشتری از ارقام استاندارد بیماری‌زایی داشتند. با توجه به اینکه ارقام افتراقی نخود مورد استفاده در این تحقیق مطابق ارقام افتراقی معرفی‌شده توسط Singh (1990) می‌باشد که همچنان به عنوان ارقام افتراقی رایج در جهان به کار می‌روند، لذا طی مقایسه‌ای در این بررسی، گروه نه که متشکل از سه جدایه از استان آذربایجان‌شرقی (تبریز) و دو جدایه از استان کهکیلویه و بویراحمد (گچساران) بود، مطابق نژاد شش معرفی شده توسط سینگ می‌باشد؛ که در آن منابع نیز از این گروه به عنوان بیماری‌زاترین گروه یاد شده است. شهریاری و ایزدیار دامنه گسترش پاتوتیپ شش را از مناطق شمال غرب کشور گزارش کرده اند (Shahriari and Izadyar, 2000). از سوی دیگر وجود نژاد شش، اخیراً از گچساران گزارش شده است (Pouralibaba *et al.* (2008؛ که با نتایج تحقیق حاضر هم‌خوانی دارد. چون هنوز یک سیستم دقیق استاندارد برای تعیین نژاد فیزیولوزیک *A. rabiei* معرفی‌نشده و در هر مکان ارقام افتراقی نخود و شرایط و روش‌های آزمایشی مورد استفاده برای بررسی نژاد های فیزیولوژیک متفاوت می باشد (Mahmudi and Banihashemi (2004، لذا در این تحقیق از کاربرد واژه نژاد در مورد ۱۶ گروه بیماری‌زای شناسایی‌شده خودداری‌گردید. طی بررسی دیگری برروی پاتوتیپ شش (نژاد شش)، دلیل بالا بودن شدت بیماری‌زایی این پاتوتیپ را به وجود توکسین سولانوپیرونA نسبت داده‌اند (Shahbazi *et al.* 2004). در این بررسی، گروه بیماری‌زای چهار که شامل سه جدایه متعلق به استان لرستان می‌باشد، مطابق نژاد یک معرفی‌شده توسط سینگ می‌باشد که به‌عنوان کم بیماری‌زاترین نژاد معرفی شده است. گروه بیماری‌زای هفت با دارا بودن سه جدایه (از استان‌های لرستان، ایلام و کرمانشاه)، مطابق نژاد دو، گروه بیماری‌زای پنج با دارا بودن پنج جدایه مطابق نژاد سه و گروه بیماری‌زای ۱۱، مطابق نژاد چهار در گزارش سینگ می باشد (Singh, 1990). در این پژوهش نژاد پنج در هیچ‌یک از جدایه‌های موردبررسی یافت نشد. همچنین ۱۱ گروه بیماری‌زای دیگر موجود در این بررسی (شامل گروه‌های ۱، ۲، ۳، ۶، ۸، ۱۰، ۱۲، ۱۳، ۱۴، ۱۵ و ۱۶) که در مجموع شامل ۱۳ جدایه بودند، با هیچ‌کدام از شش نژاد معرفی‌شده توسط سینگ مطابقت نداشتند. در بین گروه‌هایی که بیشترین شدت بیماری‌زایی را داشتند، همه جدایه‌های استان آذربایجان‌شرقی، دو جدایه از استان کهکیلویه و بویراحمد، یک جدایه از استان کرمانشاه و یک جدایه از استان لرستان وجود داشت. با توجه به نتایج بدست‌آمده از این تحقیق، می‌توان جدایه‌های استان آذربایجان‌شرقی را به عنوان بیماری زاترین و جدایه‌های استان لرستان را به عنوان کم بیماری‌زاترین جدایه‌های مورد بررسی ذکرکرد. به نظر می‌رسد که به دلیل وجود شرایط مساعد در استان آذربایجان‌شرقی، قارچ عامل بیماری به طور مداوم در مزارع حضور داشته و در نتیجه فعالیت دائم آن، جمعیت آن بالارفته و احتمال بروز ژن های بیماریزای جدید بیشتر بوده است. تنوع ارقام محلی در این استان نیز می‌تواند در بروز تنوع ژنتیکی در جمعیت عامل بیماری مؤثر باشد. وجود تنوع ژنتیکی بالا احتمال تشکیل فرم جنسی این قارچ و وجود آسکوسپورهای هوازاد را که می‌توانند نقش مهمی در افزایش تنوع ژنتیکی عامل بیماری داشته باشند، قوت می‌بخشد. گرچه وجود تولید مثل جنسی تا به حال از برخی نقاط کشور مانند استان‌های مشهد و کرمانشاه (Kaiser and Okhovat, 1996) و همچنین از استان فارس (Mahmudi and Banihashemi, 2004) گزارش شده است، اما نقش فرم جنسی در انتشار و تنوع این بیمارگر در ایران هنوز مبهم می‌باشد و نیاز به بررسی دارد. از جدایه‌های با قدرت بیماری‌زایی بالا می‌توان در اصلاح ارقام مختلف نخود برای مقاومت به بیماری برق‌زدگی نخود استفاده نمود. همچنین در این بررسی دندروگرام ماتریس‌تشابه بین جدایه‌ها با ضریب‌تشابه Gower توانست به‌طور مؤثری جدایه‌های *A. rabiei* را

www.SID.ir

Archive of SID

از لحاظ بیماری‌زایی به دو گروه I (با بیماری‌زایی کم) و II (با بیماری‌زایی زیاد) تفکیک نماید که تا حدودی با گروه‌های پاتوتیپی بدست آمده مطابقت دارد. معمولا برای تجزیه و گروهبندی داده‌های کمی از فاصله اقلیدوسی یا ضریب تشابه Gower یا سایر روشها استفاده می گردد؛ اما ضریب تشابه مذکور، به دلیل گروه‌بندی جدایه‌ها به دو گروه اصلی (با بیماریزایی زیاد و بیماری‌زایی کم) و منطبق بودن با گروههای بیماری‌زایی، مناسب تشخیص داده شد.

در این مطالعه رقم افتراقی ILC-72 در مقابل اکثر جدایه‌های موردبررسی مقاومت نشان داده است که احتمالاً به‌دلیل وجود ژن یا ژن‌های مقاومت در ساختار ژنتیکی این رقم می‌باشد. لذا به‌نظر می‌رسد که بتوان از این رقم جهت تولید ارقام مقاوم در برنامه اصلاح نباتات استفاده شود (گرچه رقم مذکور در برابر جدایه های استان آذربایجان‌شرقی که مهاجم‌ترین جدایه‌های این بررسی بودند حساس بود). براساس نظر محققین به‌منظور دستیابی به بهترین نتیجه، لازم‌است که آزمایش برروی ارقام مقاوم نخود نسبت به بلایت‌آسکوکیتایی، توسط مخلوطی از جدایه‌های مختلف یا حداقل جدایه‌هایی با بالاترین قدرت تهاجمی که اخیراً در جمعیت بیمارگر یافت شده‌اند صورت‌پذیرد؛ این‌کار تضمینی برای ایجاد مقاومت مؤثر علیه جمعیت‌های قارچی موجود در منطقه می‌باشد (Vali, 2005). لذا استفاده از جدایه‌های استان آذربایجان‌شرقی که دارای بیشترین بیماری‌زایی بودند، می‌توانند جهت شناسایی و اصلاح ارقام مقاوم استفاده شود. در این بررسی تلاش شد تا با بررسی گلخانه‌ای جدایه‌های *A. rabiei* جدا شده از پنج استان کشور، الگویی از بیماری‌زایی و گروه های پاتوتیپی این قارچ بدست‌آید تا در آینده شرایط تولید و معرفی ارقام مقاوم فراهم‌آید. اما آنچه قابل استنباط می‌باشد، این‌است که برنامه‌های مدیریتی این بیماری نه تنها بایستی در جهت کاهش خسارت ازطریق ارقام مقاوم باشند، بلکه ممانعت یا تأخیر در شکسته شدن مقاومت ارقام مقاوم نیز بایستی در الگوی‌کار قرارگیرد؛ که این‌امر تنها با ایجاد تنوع در ارقام کاشته شده در هر منطقه و استفاده از ارقام با مقاومت های متفاوت و غیروابسته به نژاد محقق می‌گردد.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از دانشگاه آزاداسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران و مؤسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور که امکانات لازم جهت اجرای این پژوهش را فراهم نمودند تشکر می‌شود.

منابع و مآخذ:

Anonymous. 2009. Statistics of agriculture information of Iran. Ministry of I.C.T., pp 60.

Chen, W., C. J. Coyne, T. L. Peever, and F. J. Muehlbaur. 2004. Characterization of chickpea differentials for pathogenicity assay of ascochyta blight and identification of chickpea accessions resistant to *Didymella rabiei.* Plant Pathology 53: 759-76.

Fazlali, Y. 2004. Study on the reaction of different chickpea genotypes (kabuli and desi types) to fungi causing root rot in the dryland areas. 16th Iranian Plant Protection Congress, Tabriz, pp171.

Gower, J.C. 1971. A general coefficient of similarity and some of its properties. *Biometrics* 27: 857-874.

Jan, H. and M. W. Wiese. 1991. Virulence forms of *Ascochyta rabiei* affecting chickpea in the Palouse. Plant Disease 75: 904-906.

Jayakumar, P., B. D. Gossen, Y. T. Gan, T. D. Warkentin, and S. Banniza. 2005. Ascochyta blight of chickpea: infection and host resistance mechanism. Canadian Journal of Plant Pathology 27: 499-509.

Kaiser, W.J. 1972. Occurrence of three fungal diseases of chickpea in Iran. F.A.O. Plant

www.SID.ir

Archive of SID

Protection Bulletin 20: 73-78.
Kaiser, W. J. and M. Okhovat. 1996. Distribution of *Didymella rabiei,* the teleomorph of *Ascochyta rabiei,* in Iran. Iranian Journal of Plant Pathology 32: 158-162.
Mahmudi, F., and Z. Banihashemi. 2004. Distribution of mating type, Teleomorph formation and genetic diversity in *Didymella rabiei* the causal agent of chickpea blight in Fars province. Iranian Journal of Plant Pathology, 40: 15-30.
Peever, T.L., S.S. Salimath, G. Su, W.J. Kaiser, and J. Muehlbaur. 2004. Historical and contemporary multi locus population structure of *Ascochyta rabiei* (telemorph: *Didymella rabiei*) in the Pacific Northwest of the United States. Molecular Ecology 13: 291-309.
Porta-Puglia, A., A. Inantino, P. Crino, R. Angelini, and G. Venora. 1997. Ascochyta blight of chickpea: present status and prospects. Pakistan Journal of Phytopathology 9: 9-15.
Pouralibaba, H.R., F. Mahmudi, K. Keshavarz and KH. Nourollahi. 2008. Identification of Pathotypes of *Didymella rabiei* causing agent of chickpea blight disease, in different parts of Iran using trap nursery. Iranian Journal of Plant Pathology, 44: 170-175.
Qureshi, S. H. and S. S. Alam. 1984. Pathogenic behavior of *Ascochyta rabiei* isolates on different cultivars of chickpea in Pakistan. Int. Chickpea Newsl. 11: 29-30.
Rashad A., S., M. Iqbal, U. Iqbal, A. Ghafoor, and A. Akram. 2009. Pathogenic diversity in *Ascochyta rabiei* (Pass.) Lib., of chickpea. Pakistan Journal of Botany 41(1): 413-419.
Reddy, M.V. and S. Kabbabeh. 1985. Pathogenic variability in *Ascochyta rabiei* (Pass.) Lab. in Syria and Lebanon. Phytopathologia Mediterranea 24: 265-266.
Shahbazi, S., J. Mozafari, and A. Alizadeh. 2004. Extraction of Solanapyrone A, B, and C from Iranian isolates of *Ascochyta rabiei* by HPLC. 16th Iranian Plant Protection Congress, Tabriz, pp172.
Shahriari, D. and M. Izadyar. 1998. Study of the pathogenical variation of *Ascochyta rabiei* on some chickpea cultivar. 13th Iranian Plant Protection Congress, Karaj, pp148.
Shahriari, D. and M. Izadyar. 2000. Virulence groups of *Ascochyta rabiei* on chickpea in Iran. 14th Iranian Plant Protection Congress, Isfahan, pp81.
Shokuhifar, F., A. Bagheri, and M. Falahatirastgar, 2006. Recognition of resistant cultivar of chickpea against *Ascochyta rabiei* in Iran. Journal of Biology, 19: 29-42.
Singh, G., 1990. Identification and designation of physiological races of *Ascochyta rabiei* in India. Indian Phytopathology 43: 48-52.
Vali, S. L. 2005. Population studies of *Ascochyta rabiei* on chickpea in Saskatchewan. MSc thesis, Department of Plant Sciences, University of Saskatchewan, Saskatoon, Canada. 115pp.
Younessi, H., S.M. Okhovat, GH. A. Hedjaroude, S.J. Zad, A.R. Talei and M.R. Zamani. 2003. Virulence variability of *Ascochyta rabiei* isolates on chickpea cultivars in Kermanshah province. Iranian Journal of Plant Pathology, 39: 213-230.

www.SID.ir