



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

## بررسی تنوع بیماری‌زایی جدایه‌های قارچ *Ascochyta rabiei* در ایران

### Study on virulence variability in *Ascochyta rabiei* isolates in Iran

سیمین غیائی<sup>۱</sup>، محمد رضوی<sup>۲</sup>، حمیدرضا زمانی‌زاده<sup>۳</sup> و داریوش شهریاری<sup>۴</sup>

#### چکیده

سیمین غیائی، محمد رضوی، حمیدرضا زمانی‌زاده و داریوش شهریاری. ۱۳۸۹. بررسی تنوع بیماری‌زایی جدایه‌های قارچ *Ascochyta rabiei* در ایران. دو فصلنامه علوم زراعی (۲۰۱) 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 آذربایجان شرقی، ایلام، کرمانشاه، کهگیلویه و بویراحمد و لرستان مورد بررسی قرار گرفت. ۳۰ جدایه قارچ عامل بیماری بر روی 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 قرار گرفت. در نهایت بر اساس شدت بیماری‌زایی ۳۰ جدایه مورد بررسی، ۱۶ گروه بیماری‌زا شناسایی گردید. 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 آذربایجان شرقی بیشترین شدت بیماری‌زایی را بر روی 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 مکانیزم‌های 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 پذیرش: ۱۳۸۸/۹/۲۸

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۸/۳/۲۳

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه بیماری شناسی گیاهی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران (مؤلف 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

## 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 ۵۲۴ kg/ha بوده است که نسبت به عملکرد متوسط جهانی به میزان ۷۶۷ kg/h 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 می‌شود و در شرایط مساعد، خسارت زیادی را به مزارع نخود وارد می‌سازد. این قارچ به‌طور اختصاصی به نخود حمله می‌کند و در بقایای گیاهی و بذور آلوده بقا می‌یابد. هرچند ارقامی با مقاومت پایدار بسیار نادر می‌باشند، اما با این حال 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 بر روی *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، بر روی ۱۸ ژنوتیپ نخود، شش نژاد یا پاتوتیپ را بر مبنای تفاوت در الگوی آلودگی و قدرت تهاجمی‌شان معرفی کردند (Reddy and Kebbabeh, 1985). کورشی و عالم با مطالعه اثر متقابل 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 لاین افتراقی) اثبات کردند که نژادهای یک تا پنج می‌توانند متعلق به یک پاتوتیپ اصلی (پاتوتیپ یک) و نژاد شش به طور منفرد متعلق به پاتوتیپ دیگری (پاتوتیپ دو) بر مبنای شدت آلودگی و فاکتور درصد برگ آلوده باشند؛ بعلاوه آنها نشان دادند که مکانیسم مقاومت برای پاتوتیپیک به صورت ژن‌های اصلی و برای پاتوتیپ دو به صورت ژن‌های خرد با اثرافزایی است. اخیراً در پاکستان نیز ۱۰ جدایه *A. rabiei* بر روی 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 به کار می‌روند، مقاومت بیشتری نسبت به ارقام نخود با بذر سفید در مقابل بیماری برق‌زدگی 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 بر روی چهار رقم بیوه‌نیج، جم، هاشم و ILC-482 بررسی نمودند. آنها همچنین در سال ۱۳۷۹، شش نژاد فیزیولوژیکی را به همراه ۱۳ فرم بیماری‌زا شناسایی نمودند (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 گزارش گردید (Mahmudi and Banhashemi, 2004). در سال ۱۳۸۷ به منظور 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 کلپیر و پاتوتیپ شش در ایلام و گچساران به تناوب در سال‌های مختلف تظاهر می‌یابند (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 پاتوتیپ‌های

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: آذربایجان شرقی، ایلام، کرمانشاه، کهگیلویه و بویراحمد و لرستان جمع‌آوری گردید. مشخصات مربوط به جدایه‌ها، در جدول ۱ آمده است. پس از ضدعفونی سطحی قطعات آلوده در محلول هیپوکلریت سدیم ۰/۵ درصد، به مدت یک الی دو دقیقه، تعداد چهار تا پنج قطعه از هر نمونه در ظروف پتری حاوی محیط کشت PDA (Potato Dextrose Agar) کشت و در دمای  $23 \pm 1^{\circ}\text{C}$  و دوره تناوب ۱۲ ساعت تاریکی و روشنایی نگهداری گردید. پس از ۱۴ روز جدایه‌های رشدیافته، به روش تک‌اسپور خالص‌سازی گردیدند و به ظروف پتری حاوی محیط آب-آگار (WA) منتقل گردیدند. تعداد ۳۰ جدایه خالص شده جهت مطالعات بیشتر در محیط کشت مورب حاوی WA، در شرایط تاریکی و دمای  $8-5^{\circ}\text{C}$  نگهداری شدند.

### -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 ضدعفونی سطحی با محلول کاپتان ۱/۵ در هزار، در عمق ۲/۵ 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* بر روی محیط کشت PDA تکثیر گردیدند و ۱۴ روز بعد، سوسپانسیون اسپورقارچ با رقت  $2 \times 10^6$  اسپور در میلی‌لیتر با شیوه خراش دهی اسپورهای سطح محیط کشت جامد و شمارش اسپورها با لام گلبول شمار (Hemocytometer) تهیه گردید. 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  $20-18^{\circ}\text{C}$  و رطوبت نسبی ۹۵-۱۰۰ درصد قرار گرفت. شش روز پس از مایه‌زنی، سرپوش‌های فایبرگلاس از روی گلدان‌ها برداشته شد و گیاهچه‌ها در شرایط دمای  $20 \pm 1^{\circ}\text{C}$  در روز و  $15 \pm 1^{\circ}\text{C}$  و رطوبت ۷۰ تا ۸۵ درصد قرار گرفتند. آزمایش مذکور به صورت 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 مورد ارزیابی قرار گرفت:  
۱: گیاه سالم بوده و علائم بیماری مشاهده نمی‌شود.

جدول ۱- مشخصات کامل نمونه‌های جمع‌آوری شده *Ascochyta rabiei* از استانهای مختلف کشور طی سالهای ۱۳۸۶-۱۳۸۴.

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

- 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 بر روی تمام قسمت‌های گیاهان دیده می‌شود، 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 بین رفته‌اند.
- ۷: لکه‌ها مانند ۵، خمش و شکستگی شاخه‌های خشک به‌طور معمولی، ۲۵٪ گیاهان از بین رفته‌اند.
- ۸: علائم مانند ۷، حدود ۵۰٪ گیاهان از بین رفته‌اند.
- ۹: علائم مانند ۷، ۱۰۰٪ گیاهان از بین رفته‌اند.
- پس از آماربرداری، تیپ‌های آلودگی یک تا سه به عنوان مقاوم (Low virulent) و ۳/۱ تا ۹ به عنوان حساس در نظر گرفته شدند و در نهایت 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  $23 \times 14$  میکرومتر و پیکنیدیوسپورها اغلب دو سلولی و برخی تک سلولی و به ابعاد ۱۲۰ تا  $180 \times 150$  تا ۲۰۰ میکرومتر متغیر بود. که مشخصات مذکور با گونه قارچ *A. rabiei* مطابقت داشت.

### -بیماری‌زایی جدایه‌ها بر روی ارقام افتراقی نخود

علائم بیماری برق‌زدگی نخود بر روی هفت رقم افتراقی نخود، یک هفته پس از مایه‌زنی آشکار گردید و به تدریج لکه‌های نکروزه و کلروزه بر روی ساقه‌ها و برگ‌ها گسترش یافتند و اندام‌های باردهی قارچ (پیکنیدیوم) به صورت دوایر متحدالمرکز در داخل لکه‌های توسعه‌یافته تشکیل گردیدند. در ارقام حساس نظیر ILC-1929، لکه‌ها دور تا دور ساقه‌ها را احاطه کرده و سبب خشکیدگی و شکستگی ساقه و در نهایت مرگ کامل گیاهچه شدند.

### -گروه‌بندی جدایه‌ها

نتایج حاصل از گروه‌بندی جدایه‌ها با احتساب درجات بیماری‌زایی ۱-۳ به‌عنوان جدایه‌های 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* مورد بررسی 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 بیماری‌زای ۱۲ که شامل جدایه Ar.23 و متعلق به استان کرمانشاه می‌باشد؛ که این جدایه‌ها روی تعداد کمتری از ارقام افتراقی

بیماری‌زا بودند و در نتیجه 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 می‌باشد. از پنج جدایه مذکور، سه جدایه متعلق به استان آذربایجان شرقی و دو جدایه دیگر متعلق به استان کهگیلویه و بویراحمد بودند. پس از گروه نه، گروه بیماری‌زای دو شامل جدایه Ar.2 (لرستان) و جدایه Ar.36 (آذربایجان شرقی) و گروه بیماری‌زای ۱۶ شامل جدایه Ar.27 (کرمانشاه) روی تعداد بیشتری از ارقام افتراقی بیماری‌زا بودند و در نتیجه قوی‌ترین جدایه‌ها از نظر بیماری‌زایی بودند. بنابراین با توجه به نتایج موجود، شاید بتوان استنباط کرد که جدایه‌های استان آذربایجان شرقی دارای بیشترین قدرت بیماری‌زایی و اکثر جدایه‌های استان لرستان دارای کمترین قدرت بیماری‌زایی بودند. گروه‌های بیماری‌زای پنج و نه، هر کدام با دارا بودن پنج جدایه، بیشترین فراوانی را در بین گروه‌های بیماری‌زا داشتند. گروه‌های چهار و هفت هر یک دارای سه جدایه، گروه‌های بیماری‌زای یک و دو هر یک دارای دو جدایه و سایر گروه‌ها تنها دارای یک جدایه بودند. با مقایسه واکنش ارقام افتراقی به جدایه‌های مختلف *A. rabiei* به کاررفته در این بررسی، همه جدایه‌های مورد بررسی روی رقم ILC-1929 بیماری‌زا بودند در حالیکه اکثر جدایه‌ها روی رقم ILC-72 غیربیماری‌زا بودند.

#### - دندروگرام ماتریس تشابه بین جدایه‌ها

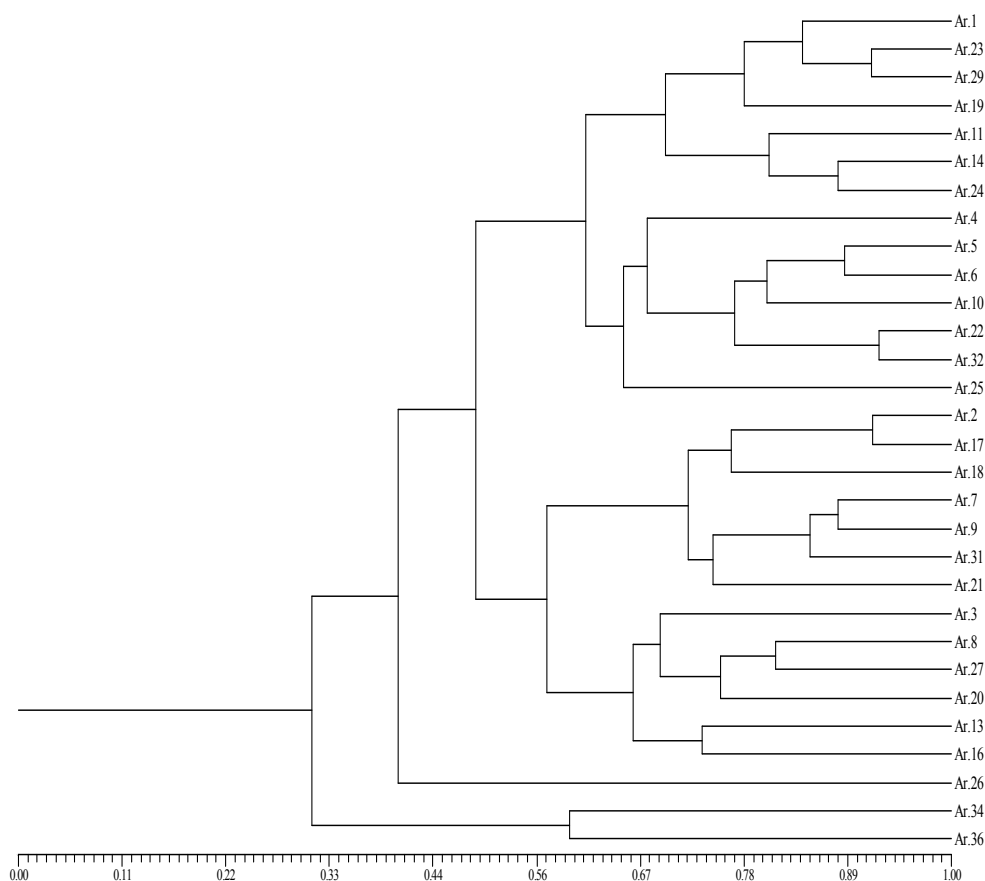
پس از بدست آمدن ماتریس تشابه میانگین بیماری‌زایی بین جفت جدایه‌های مورد بررسی، دندروگرام مربوطه با استفاده از نرم افزار NTSYS-pc و برنامه UPGMA ترسیم گردید (شکل ۱). با توجه به دندروگرام تشکیل شده، ۳۰ جدایه *A. rabiei* مورد بررسی را می‌توان به دو گروه با بیماری‌زایی کم (I) و بیماری‌زایی زیاد (II) طبقه‌بندی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

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

ILC 194	ارقام افتراقی نخود (Differential chickpea lines)					PCH 15	گروه بیماری‌زا Pathotype group	جدایه (Ar.) Isolates
	ILC 5928	ILC 202	ILC 72	ILC 1929	ICC 3996			
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)

Ar.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 گروه ۱۱ (Ar.21) با بیماری‌زایی روی پنج رقم، به ترتیب بیشترین توان بیماری‌زایی را داشتند و در گروه II قرار گرفتند. جدایه‌های مربوط به گروه یک (Ar.1، Ar.29)، گروه هفت (Ar.10، Ar.22، Ar.32)، گروه ۱۳ (Ar.24) و گروه ۱۴ (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.4، Ar.5، Ar.6) با بیماری‌زایی فقط روی یک رقم، به ترتیب کمترین توان بیماری‌زایی را داشتند و همگی در گروه I قرار گرفتند. جدایه‌های مربوط به گروه سه (Ar.3)، گروه ۱۰ (Ar.20)، گروه ۱۵ (Ar.26) و گروه پنج (Ar.7، Ar.9، Ar.31) با بیماری‌زایی روی چهار رقم، در گروه II قرار گرفتند اما جدایه‌های Ar.11 و Ar.14 مربوط به گروه بیماری‌زایی پنج، در گروه I قرار گرفتند. همانطور که ملاحظه می‌شود، با استفاده از ضریب تشابه Gower جدایه‌هایی که توان بیماری‌زایی روی هفت رقم، شش رقم و پنج رقم را داشتند، در گروه II و جدایه‌هایی با توان بیماری‌زایی روی به ترتیب سه



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

رقم، دو رقم و یک رقم در گروه I گروه‌بندی شدند؛ اما تعداد زیادی از جدایه‌هایی 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* ایجاد می‌شود، یکی از عوامل خسارت‌زای این محصول به‌ویژه در شرایط مساعد محیطی (رطوبت بالا و دمای پایین) است و هر چند سال یک‌بار اپیدمی شده و خسارت قابل توجهی به مزارع نخود می‌زند. در حال حاضر از بین تمامی راه‌های مختلفی که برای کنترل این بیماری به کار 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؛ به‌گونه‌ای که مقاومت ارقام اصلاح شده، پس از مدتی شکسته شده و از سوی دیگر به دلیل تفاوت تنوع این بیمارگر در مناطق مختلف، واکنش ارقام مقاوم در تمام مناطق یکسان نبوده است (Porta-Puglia et al., 1997). همچنین تا به حال 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 به منظور 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 در نهایت با توجه به عملکرد ارقام و شرایط زراعی، ارقام ICCV92926، ICCV92934 و ICCV95003 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 شناسایی شوند. ۳۰ جدایه *A. rabiei* جمع‌آوری شده از پنج استان آذربایجان شرقی، ایلام، کرمانشاه، کهگیلویه و بویراحمد و لرستان براساس بیماری‌زایی آنها بر روی هفت رقم افتراقی نخود و با احتساب تیپ‌های آلودگی ۱ تا ۳ و ۳/۱ تا ۹ به ترتیب به عنوان بیماری‌زایی کم (LV) و بیماری‌زایی زیاد (HV)، در نهایت به ۱۶ گروه بیماری‌زایی 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 بیماری‌زایی نه با دارا بودن پنج جدایه (سه جدایه متعلق به استان آذربایجان شرقی و دو جدایه متعلق به استان کهگیلویه و بویراحمد) و



پس از آن گروه بیماری‌زای دو با دارا بودن دو جدایه (یک جدایه از استان آذربایجان شرقی و یک جدایه از استان لرستان) و گروه بیماری‌زای ۱۶ با دارا بودن یک جدایه (از استان کهگیلویه 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 آذربایجان شرقی (تبریز) و دو جدایه از استان کهگیلویه 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. شهریار و ایزدیار دامنه گسترش پاتوتیپ شش را از مناطق شمال غرب کشور گزارش کرده‌اند (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 فیزیولوژیک *A. rabiei* معرفی نشده و در هر مکان ارقام افتراقی نخود و شرایط و روش‌های آزمایشی مورد استفاده برای بررسی نژاد‌های فیزیولوژیک متفاوت می‌باشد (Mahmudi and Banhashemi, 2004)، لذا در این تحقیق از کاربرد واژه نژاد در مورد ۱۶ گروه بیماری‌زای شناسایی شده خودداری گردید. طی بررسی دیگری بر روی پاتوتیپ شش (نژاد شش)، دلیل بالا بودن شدت بیماری‌زایی این پاتوتیپ را به وجود توکسین سولانوپیرون A نسبت داده‌اند (Shahbazi *et al.*, 2004). در این بررسی، گروه بیماری‌زای چهار که شامل سه جدایه متعلق به استان لرستان می‌باشد، مطابق نژاد یک معرفی شده توسط سینگ می‌باشد که به عنوان 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 می‌باشد (Singh, 1990). در این پژوهش نژاد پنج در هیچ‌یک از جدایه‌های مورد بررسی یافت نشد. همچنین ۱۱ گروه بیماری‌زای دیگر موجود در این بررسی (شامل گروه‌های ۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۶، ۷، ۸، ۹، ۱۰، ۱۱، ۱۲، ۱۳، ۱۴، ۱۵ و ۱۶) که در مجموع شامل ۱۳ جدایه بودند، با هیچ‌کدام از شش نژاد معرفی شده توسط سینگ مطابقت نداشتند. در بین گروه‌هایی که بیشترین شدت بیماری‌زایی را داشتند، همه جدایه‌های استان آذربایجان شرقی، دو جدایه از استان کهگیلویه و بویراحمد، یک جدایه از استان کرمانشاه و یک جدایه از استان لرستان وجود داشت. با توجه به نتایج بدست آمده از این تحقیق، می‌توان جدایه‌های استان آذربایجان شرقی را به عنوان بیماری‌زاترین و جدایه‌های استان لرستان را به عنوان کم بیماری‌زاترین جدایه‌های مورد بررسی ذکر کرد. به نظر می‌رسد که به دلیل وجود شرایط مساعد در استان آذربایجان شرقی، قارچ عامل بیماری به طور مداوم در مزارع حضور داشته و در نتیجه فعالیت دائم آن، جمعیت آن بالا رفته و احتمال بروز ژن‌های 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 Banhashemi, 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 ماتریس تشابه بین جدایه‌ها با ضریب تشابه Gower توانست به طور مؤثری جدایه‌های *A. rabiei* را

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. معمولاً برای تجزیه و گروه‌بندی داده‌های کمی از فاصله اقلیدوسی یا ضریب تشابه Gower یا سایر روشها استفاده می‌گردد؛ 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 به دلیل وجود ژن یا ژن‌های مقاومت در ساختار ژنتیکی این رقم می‌باشد. لذا به نظر می‌رسد که بتوان از این رقم جهت تولید ارقام مقاوم در برنامه اصلاح نباتات استفاده شود (گرچه رقم مذکور در برابر جدایه‌های استان آذربایجان شرقی که مهاجم‌ترین جدایه‌های این بررسی بودند حساس بود). براساس نظر محققین به منظور دستیابی به بهترین نتیجه، لازم است که آزمایش بر روی ارقام مقاوم نخود نسبت به بلایت آسکوکیتایی، توسط مخلوطی از جدایه‌های مختلف یا حداقل جدایه‌هایی با بالاترین قدرت تهاجمی که اخیراً در جمعیت بیمارگر یافت شده‌اند صورت پذیرد؛ این کار تضمینی برای ایجاد مقاومت مؤثر علیه جمعیت‌های قارچی موجود در منطقه می‌باشد (Vali, 2005). لذا استفاده از جدایه‌های استان آذربایجان شرقی 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 گروه‌های پاتوتیپی این قارچ بدست آید تا در آینده شرایط تولید و معرفی ارقام مقاوم فراهم‌آید. اما آنچه قابل استنباط می‌باشد، این است که برنامه‌های مدیریتی این بیماری نه تنها بایستی در جهت کاهش خسارت از طریق ارقام مقاوم باشند، بلکه ممانعت یا تأخیر در شکسته شدن مقاومت ارقام مقاوم نیز بایستی در الگوی کار قرارگیرد؛ که این امر تنها با ایجاد تنوع در ارقام کاشته شده در هر منطقه و استفاده از ارقام با مقاومت‌های متفاوت و غیروابسته به نژاد محقق می‌گردد.

## سپاسگزاری

بدین وسیله از دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران و مؤسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور که امکانات لازم جهت اجرای این پژوهش را فراهم نمودند تشکر می‌شود.

## منابع و مأخذ:

- 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. Muehlbauer. 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. 16<sup>th</sup> 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

- 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. Muehlbauer. 2004. Historical and contemporary multi locus population structure of *Ascochyta rabiei* (teleomorph: *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. Nouroollahi. 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. 16<sup>th</sup> Iranian Plant Protection Congress, Tabriz, pp172.
- Shahriari, D. and M. Izadyar. 1998. Study of the pathogenical variation of *Ascochyta rabiei* on some chickpea cultivar. 13<sup>th</sup> Iranian Plant Protection Congress, Karaj, pp148.
- Shahriari, D. and M. Izadyar. 2000. Virulence groups of *Ascochyta rabiei* on chickpea in Iran. 14<sup>th</sup> 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.