نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۲۳، شماره ۲، نیمسال دوم ۱۳۸۸، ص ۶۵-۵۶

Journal of Plant Protection
Vol. 23, No. 2, Fall-Winter 2009-10, p. 56-65

تنوع بیماریزایی در قارچ *Didymella rabiei*، عامل بیماری برق زدگی نخود در استان‌های ایلام و کرمانشاه

خشنود نوراللهی[۱] – محمد جوان نیکخواه[۲*] – محمدرضا نقوی[۳] – سید محمد اخوت[۴]

تاریخ دریافت: ۸۷/۵/۲۶
تاریخ پذیرش: ۸۸/۱۱/۵

چکیده

برق زدگی یکی از مهمترین بیماریهای نخود در استانهای ایلام و کرمانشاه است که توسط قارچ آسکومیستی *Didymella rabiei* ایجاد می‌شود. برای تعیین تنوع بیماریزایی در جمعیت قارچ از گیاهان آلوده در مزارع مختلف نمونه برداری صورت گرفت و در آزمایشگاه با استفاده از محیط کشت آرد نخود، دکستروز، آگار تعداد ۱۰۰ جدایه از نمونه‌های آلوده جداسازی گردید. جدایه‌ها بر اساس محل جمع آوری، به ۱۰ گروه تقسیم شدند. از هرکدام از این ۱۰ گروه یک جدایه به طور تصادفی به عنوان نماینده انتخاب و بیماریزایی آنها روی دوازده رقم افتراقی نخود در قالب طرح بلوک کاملاً تصادفی در شرایط گلخانه آزمایش شد. مایه زنی با غلظت ۲×۱۰^{۵} اسپور در میلی لیتر از قارچ رویش یافته بر روی محیط کشت (CSMDA) ده روزه، روی گیاهچه‌های دو هفته‌ای انجام شد. ۲۱ روز بعد از مایه زنی، شدت بیماریزایی این جدایه‌ها بر روی ارقام ارزیابی شد و براساس عکس العمل ارقام افتراقی، هشت گروه بیماریزایی بین ده جدایه تشخیص داده شد. نتایج نشان داد که گروه‌های بیماریزایی مختلف در مناطق مختلف این دو استان پراکنده هستند و جمعیت قارچ عامل بیماری برق زدگی نخود از چندین گروه بیماریزایی تشکیل شده است. این یافته می‌تواند برای استفاده در برنامه‌های به نژادی و تولید ارقام مقاوم مفید باشد.

واژه‌های کلیدی: بیماری، میزبان، *Didymella rabiei*، واکنش ارقام، گروه بیماریزایی

مقدمه

نخود (Chickpea) گیاهی خود گشن با نام علمی (*Cicer arietinum* L) است که به خانواده بقولات تعلق دارد. بذر رسیده آن از پروتئین قابل توجهی برخوردار بوده، همچنین ریشه گیاه نخود ازت هوا را در خاک تثبیت نموده، و موجب بهبود خاک و افزایش عملکرد محصولات بعدی می‌شود (۳ و ۹). برق زدگی (Ascochyta blight) یکی از مخربترین بیماری‌های نخود است که عامل آن قارچ آسکومیستی *Didymella rabiei* (Kovachevski) Von.Arx (با آنامورف *Ascochyta rabiei* (Pass.) Labrousse) می‌باشد و در ۳۵ کشور جهان گزارش شده است (۳، ۴ و ۹). خسارت این بیماری در ایران بالا بوده و به طور متوسط ۶۰۰۰ تن در سال می‌باشد، در سالهای اپیدمی، میزان خسارت این بیماری در بعضی مزارع تا ۱۰۰درصد نیز می‌رسد (۴). بیماری به تمام اندام‌های هوایی گیاه حمله نموده و معمولاً در زمان گلدهی و تولید غلاف در مزرعه دیده می‌شود. علائم در برگچه‌ها بصورت لکه‌های مدور با هالهٔ قهوه‌ای و مرکز خاکستری و در ساقه، لکه‌ها به اندازه‌های متفاوتی کشیده شده و ساقه را احاطه می‌کنند. همچنین لکه‌های کاملاً توسعه یافته‌ای بر روی غلاف‌های نخود ظاهر می‌گردند که پیکنیدیومها بصورت دوایر متحدالمرکزی در درون لکه‌ها تشکیل می‌شوند (۲۹). تکثیر غیر جنسی این قارچ بوسیله تولید پیکنیدیوم و پیکنیدیوسپورها صورت می‌گیرد، پیکنیدیوم‌ها کروی یا نیمه کروی هستند که اندازه قطر آنها از ۶۵ تا ۲۴۵ میکرومتر متفاوت است (۳،۹). درجه حرارت بهینه برای جوانه زدن اسپور، رشد مسیلیوم و تولید پیکنیدیوم ۲۰ °C می‌باشد و حرارت بالاتر از ۳۰ °C و پایین تر از ۱۰ °C برای رشد قارچ نامطلوب می‌باشد (۲۰، ۲۴ و ۲۵). دوره نهفتگی این بیماری بین ۷-۵ روز است که بسته به درجه حرارت محیط و ژنوتیپ گیاه فرق می‌کند (۲۴ و ۲۷). قارچ در مرحله جنسی هتروتال است و برای تشکیل سودوتسیوم به دو تیپ سازگار به نامهای MAT1-1 و MAT1-2 نیاز دارد (۲۴).

۱، ۲ و ۴ – به ترتیب دانشجوی دکتری، استاد و استاد گروه گیاهپزشکی دانشگاه تهران
(*– نویسنده مسئول: Email: jnikkhah@ut.ac.ir)
۳– استاد گروه، بیوتکنولوژی کشاورزی دانشگاه تهران

سودتسیوم‌ها در بقایای گیاهی نخود در طول پاییز و زمستان تشکیل می‌گردند (۲۴ و ۳۲). قارچ به صورت مسیلیوم، پیکنیدیوم و یا سودوتسیوم در بقایای گیاهی و بذر آلوده دوام می‌آورد (۳۴). با توجه به اینکه تولید ارقام مقاوم پلی ژن، مؤثرترین و اقتصادی ترین روش مبارزه با این بیماری می‌باشد، اولین قدم در این مورد بررسی تنوع بیماریزایی عامل بیماری است (۹). لوترا و همکاران شش فرم بیماریزایی از قارچ *A. rabiei* را به نام‌های A، B، C، D، E و F گزارش کردند (۹ و ۲۷). برای اولین بار وجود نژادهای بیماریزای قارچ، از پنجاب و هند گزارش شده است (۱۲). جدایه‌های *A. rabiei* از نقاط مختلف سوریه و لبنان را بر اساس خصوصیات مرفولوژیکی و شدت بیماریزایی برروی شش رقم افتراقی نخود، در شش نژاد فیزیولوژیکی قرار داده شد و همچنین با استفاده از ارقام IB، F8، V138 و EC26453 دو نژاد (نژادهای ۱ و ۲) و یک بیوتیپ از نژاد ۲ شناسایی‌گردید (۳۷). با مطالعه اثرات متقابل بین هشت رقم و هشت جدایه از پاکستان، پنج گروه بیماریزایی تعیین شد (۳۱). با مایه زنی ۲۶ جدایه از شمال سوریه و لبنان، برروی ۱۸ ژنوتیپ افتراقی، و با استفاده از مقیاس ۱ تا ۹ درجه ای، شش نژاد بصورت ۶، ۵،۴، ۳، ۲، ۱ بر مبنای تفاوت در الگوهای آلودگی و قدرت تهاجمی تحت شرایط گلخانه‌ای معرفی شده است (۳۱). گوون با مطالعه تنوع بیماریزایی جدایه هایی با منشأ جغرافیایی متفاوت متوجه تفاوت‌هایی در میزان بیماریزایی آنها شد ولی لاین‌های کابلی ILC 202، ILC 3279 ، ILC 182 ILC 191،ILC 144 و ILC 71 عکس‌العمل متفاوتی به جدایه‌ها نشان ندادند (۱۶و۱۷). جدایه‌های پاکستان و ترکیه در پنج گروه بیماریزایی و چند نژاد گروه بندی شده است (۲۹). در آمریکا با ۳۹ جدایه از کالیفرنیا و نژادهای ۶ و ۳ از سوریه بر روی ۱۵ رقم افتراقی، ۱۱ فرم بیماریزایی مختلف در بین جدایه‌ها شناسایی گردید که ۲۱ جدایه از آنها فقط به سه فرم تعلق داشتند (۲۲). همچنین الگوهایی از مقاومت و حساسیت به شش نژاد گزارش شده از لبنان و سوریه ارائه شده است (۳۵). با استفاده از سه رقم افتراقی جدایه‌های سوریه در سه گروه پاتوتیپی قرارگرفته اند (۳۶). در استرالیا با مایه زنی ۹ جدایه جمع‌آوری شده از جنوب این کشور برروی رقم Desavic بر مبنای تیپ آلودگی، جدایه‌ها به سه گروه بیماریزا ضعیف، متوسط و قوی تقسیم شدند (۲۶). در ایران مطالعاتی در زمینه تعیین عامل بیماری، بیماریزایی، مناطق انتشار، تأثیر عوامل محیطی در تشکیل و معدوم کردن اسپورهای قارچ، محیط غذایی مناسب برای کشت قارچ در آزمایشگاه، تعیین میزبان‌ها و درجه حساسیت ارقام مختلف نخود، طرق انتشار و زمستانگذرانی قارچ و راه‌های مبارزه با این بیماری انجام گرفته است (۱ و ۲). در بررسی ۳۰ جدایه *A. rabiei* در مناطق مختلف استان کرمانشاه، بر اساس شدت بیماریزایی بر روی ۱۰ رقم افتراقی نخود، سه پاتوتیپ مشخص گردیده است (۱۰). در بررسی ۱۱۸ جدایهٔ *A. rabiei* از مناطق مختلف کشور، بر اساس خصوصیات مرفولوژیکی و بیماریزایی بر روی ارقام افتراقی، جدایه‌ها در ۱۰ فرم بیماریزایی متفاوت گروهبندی شده اند (۷). هدف از انجام این تحقیق بررسی تنوع بیماریزایی قارچ عامل بیماری برق زدگی نخود، *D. rabiei* در استان‌های ایلام و کرمانشاه می‌باشد. با توجه به این که ارقام مقاوم به عنوان بهترین روش کنترل این بیماری شناخته شده است، لذا برای دستیابی به ارقام مقاوم و پایدار لازم است که مطالعاتی روی گسترش و توزیع تنوع بیماریزایی و تغییرپذیری آن در مناطق مختلف این دو استان انجام گیرد تا معرفی ارقام مقاوم و متحمل با اطمینان بیشتری صورت گیرد.

مواد و روش‌ها

نمونه برداری، جداسازی و نگهداری جدایه‌ها

نمونه برداری از اواخر فروردین تا اواسط تیرماه سال ۱۳۸۶ بسته به شرایط آب و هوایی منطقه در مزارع مناطق مختلف استان‌های ایلام و کرمانشاه انجام گردید. در هر منطقه، به ازای هر ۱ تا ۵ کیلومتر یک مزرعه انتخاب و از اندام‌های هوایی گیاهانی که علائم بیماری داشتند، نمونه برداری صورت گرفت. نمونه‌های آلوده در پاکت‌های کاغذی نگهداری و به آزمایشگاه منتقل شدند و به صورت قطعات ۲ تا ۳ سانتیمتری در ویال‌های شیشه‌ای برای انجام آزمایشات بعدی در یخچال در دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری گردیدند. برای جداسازی قارچ، ابتدا بافت‌های گیاهی به قطعات نیم تا یک سانتیمتری بریده شدند و پس از ضدعفونی سطحی با محلول هیپوکلریت سدیم رقیق شده (۱٪ کلر فعال) به مدت ۳- ۵ دقیقه و سه بار شستشو با آب مقطر سترون و خشک نمودن با کاغذ صافی سترون به محیط‌های غذایی PDA[1] و آرد نخود – دکستروز – آگار (CSMDA)[2] درون تشتک‌های پتری منتقل گردیدند. تشتک‌ها در انکوباتور با درجه حرارت ۲۳ °C و تناوب نوری ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی نگهداری شدند. پرگنه قارچ بعد از ۵ – ۳ روز ظاهر شد و بعد از تشکیل پیکنیدیوم‌ها تعداد ۱۰۰ جدایه به روش تک اسپور خالص گردید. این جدایه‌ها در درون لوله‌های آزمایش حاوی محیط غذایی CSMDA در درون یخچال در دمای ۵ °C ۳-۵ نگهداری شدند. چون تنوع زیادی در بین جدایه‌ها به لحاظ خصوصیات مورفولوژیکی در محیط کشتهای مختلف دیده نشد، جدایه‌ها بر اساس محل جمع آوری به ۱۰ گروه تقسیم شدند و از هرکدام از این گروه‌ها یک جدایه بطور تصادفی به عنوان نماینده برای بررسی تنوع بیماریزایی در گلخانه انتخاب گردید (جدول ۱).

1- Potato Dextrose Agar
2- Chickpea Seed Meal Dextrose Agar

(جدول ۱)- مشخصات جدایه‌های *D. rabiei* که برای بررسی تنوع بیماریزایی در این تحقیق بکار رفتند

نام جدایه	تاریخ نمونه برداری	محل نمونه برداری	استان
۱	اردیبهشت ۱۳۸۶	مهران- صالح آباد	ایلام
۴	اردیبهشت ۱۳۸۶	آبدانان	ایلام
۷	خرداد ۱۳۸۶	ایوان	ایلام
۳۶	خرداد ۱۳۸۶	سرمست	کرمانشاه
۵۷	خرداد ۱۳۸۶	قصر شیرین	کرمانشاه
۶۸	خرداد ۱۳۸۶	دره شهر	ایلام
۸۳	خرداد ۱۳۸۶	شیروان چرداول	ایلام
۹۴	اردیبهشت ۱۳۸۶	سرپل ذهاب	کرمانشاه
۹۶	خرداد ۱۳۸۶	سرارود	کرمانشاه
۹۷	خرداد ۱۳۸۶	صحنه	کرمانشاه

(جدول ۲)- مشخصات ارقام افتراقی نخود برای تعیین تنوع بیماریزایی قارچ *D. rabiei*

ردیف	نوع رقم	تیپ بذر	خاستگاه
۱	PCH- 5	-	-
۲	ILC-194	میانه	شوروی سابق
۳	ILC-3996	دسی	ایران
۴	ILC-72	میانه	اسپانیا
۵	ILC-202	کابلی	ترکیه
۶	ILC-5928	کابلی	ترکیه
۷	ILC-1929	کابلی	سوریه
۸	ICC-12004	دسی	-----
۹	ICC-1903	دسی	مراکش
۱۰	ILC-249	کابلی	شوروی سابق
۱۱	ILC-3279	میانه	شوروی سابق
۱۲	ILC-482	کابلی	ترکیه

بررسی تنوع بیماریزایی جدایه‌ها در گلخانه

به منظور تعیین تنوع بیماریزایی جدایه‌های *D. rabiei* تعداد ده رقم افتراقی نخود از موسسه تحقیقات دیم کشور تهیه گردید (جدول۲).

ارقام افتراقی نخود در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران در قالب طرح بلوک کاملاً تصادفی در ۳ تکرار و بطور جداگانه برای هر جدایه کشت گردیدند، ابتدا پنج عدد بذر در گلدان‌های حاوی خاک و ماسه به نسبت ۳:۱ کاشته شدند. بعد از تشکیل گیاهچه، گلدان‌ها در شرایط گلخانه، ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی در دمای ۲۵ – ۱۸ درجه سانتیگراد و رطوبت نسبی ۱۰۰-۸۰ درصد نگهداری شدند. همزمان با این عملیات ۱۰ جدایه نماینده تک اسپوری قارچ بر روی محیط کشت آرد نخود – دکستروز – آگار تکثیر گردیدند. بعد از اینکه گیاهچه‌ها به سن چهارده روزه گی رسیدند، گیاهان با سوسپانسیون اسپور با تراکم ۲×۱۰^{۵} پیکنیدیواسپور در میلی لیتر در آب مقطر سترون حاوی یک قطره حاوی Tween20 از محیط کشت ده روزهٔ قارچ با مه پاش دستی بطور یکنواخت تا ریزش اولین قطره از سطح برگ مایه زنی شدند. برای حفظ رطوبت بعد از مایه زنی، هریک از گلدان‌ها به مدت ۴۸ ساعت با کیسه‌های نایلونی پوشانده شدند، بعد از این مدت پوشش پلاستیکی برداشته شد. و هریک از گلدان‌ها بصورت یک روز درمیان آبیاری گردیدند و گیاهچه‌ها بمدت ۲۸ روز نگهداری شدند.

درجه بندی شدت بیماری بر روی ارقام افتراقی نخود

یادداشت برداری عکس العمل دوازده رقم افتراقی نخود در مقابل جدایه‌های قارچ *D. rabiei*، ۷، ۱۴و ۲۱ روز پس از مایه زنی گیاهچه‌ها در اردیبهشت ماه ۱۳۸۷ انجام گرفت. ولی شدت بیماری ۲۱ روز پس از مایه زنی مورد ارزیابی قرار گرفت. شدت بیماری با استفاده از شاخص ۹ درجه‌ای پیشنهاد شده توسط کونگو و همکاران (۱۴) ثبت گردید (جدول۳). در این مقیاس تیپ‌های آلودگی ۳-۰ شدت بیماریزایی کم (مقاوم) و ۹- ۴ شدت بیماریزایی بالا(حساسیت) را نشان داده و در نهایت جدایه‌ها گروهبندی شدند (جدول ۶).

(جدول ۳)- شاخص درجه بندی شدت آلودگی بیماری برق زدگی نخود بر روی ارقام نخود (کونگو و همکاران، ۲۰۰٤)

درجه بیماری	علائم مشاهده شده
۰	هیچگونه علائمی دیده نمی شود
۱	لکه‌ها به میزان کم و خیلی کوچک و کمتر از ۲ میلیمترمربع بر روی برگها و ساقه‌ها ظاهر می‌شوند کمتر از ۲ درصد از قسمتهای گیاه آلوده می‌گردد.
۲	لکه‌ها خیلی کوچک کمتر از ۲ میلیمترمربع بر روی برگها و ساقه‌ها ظاهر می‌شوند و ۵-۲ درصد از قسمتهای گیاه آلوده می‌گردد.
۳	لکه‌ها به تعداد زیاد و کوچک کمتر از ۵-۲ میلیمترمربع بر روی برگها و ساقه‌ها ظاهر می‌شوند و ۱۰- ۵ درصد از قسمتهای گیاه آلوده می‌گردد.
۴	لکه‌ها به تعداد زیاد و کوچک، تعداد کمتری ازلکه‌های بزرگتر از ۵ میلیمترمربع بر روی برگها و ساقه‌ها ظاهر می‌شوند و ۲۵- ۱۰ درصد از قسمتهای گیاه آلوده می‌گردد.
۵	لکه‌های بزرگ به تعداد زیاد و ۵۰-۲۵ درصد از قسمتهای گیاه آلوده می‌گردد.
۶	زخم‌ها به همدیگر متصل شده ۷۵-۵۰ درصد از قسمتهای گیاه آلوده می‌گردد.
۷	زخم‌ها به همدیگر متصل شده و دورتادور ساقه را فرا می‌گیرند۹۰-۷۵ درصد از قسمتهای گیاه آلوده می‌گردد.
۸	زخمها همراه با شکستگی و دورتا دورساقه را فرا می‌گیرند بیشتر از ۹۰درصد از قسمتهای گیاه آلوده می‌گردد.
۹	گیاهان می‌میرند

تجزیه و تحلیل داده ها

تجزیه واریانس و آزمون مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در مورد شدت بیماری توسط نرم افزار آماری MSTATC انجام شد. برای گروهبندی ارقام افتراقی بر اساس تیپ آلودگی جدایه‌های مختلف از روش تجزیه خوشه‌ای و همچنین از پلات دو بعدی تجزیه به مختصات اصلی [1] (PCA) استفاده گردید. همچنین با استفاده از تجزیه کلاستر،گروهبندی جدایه‌های مختلف با استفاده از نرم افزار SPSS انجام گردید.

نتایج

علائم بیماری در گلخانه

علائم بیماری برق زدگی در طول هفت روز بر روی دوازده رقم افتراقی نخود ظاهر گردید. همهٔ جدایه‌ها علائم مشخص برق زدگی بر روی ارقام حساس نشان دادند. علائم به صورت زخم‌های قهوه‌ای بر روی برگها، ساقه‌ها و همچنین شکستگی ساقه و لکه هایی که دور تا دور ساقه را فرا گرفته بودند بر روی ارقام حساس مشاهده گردید. اما در ارقام مقاوم ساقه بندرت توسط لکه‌ها احاطه گردیده بود. مقایسه شدت بیماریزایی جدایه‌ها برروی ارقام سه هفته پس از مایه زنی نشان داد که جدایه‌ها در دو گروه ، با شدت بیماریزایی کم (۳-۰) و با شدت بیماریزایی زیاد (۹-۴) قرار می‌گیرند (شکل۱).

جدایه‌های شماره ۱ ، ۴ ، ۷ ، ۳۶ ، ۵۷، ۶۸، ۸۳، ۹۴، ۹۶ و ۹۷ به ترتیب در ارقام زیر

ILC- 72), , ILC- 5928 , ILC- 1929, (ICC - 1200
(ILC-202, ILC-1929, ICC-12004, ICC-1903, ILC-249, ILC-3279, ILC-482,PCH-5, ILC-194, ILC-3996, ILC-72),
(ILC- 202 , ILC -1929 , ICC -12004 , ICC -1903 , ILC-482),
(ILC -5928 , ILC -1929 , ICC -12004 , ICC- 1903 , ILC- 482),
(ILC- 5928 , ILC -1929 , ICC -12004 , ILC-249, ILC -3279, ILC- 482),
(ILC-202, ILC-1929, ICC-12004, ICC-1903, ILC-249, ILC-3279, ILC-482, PCH-5, ILC-194, ILC-3996),
(ILC-202,ILC-1929, ICC-12004, ICC-1903, ILC-249, ILC-3279, ILC-482,PCH-5, ILC-194, ILC-3996, ILC-72)
(ILC-202, ICC-12004, ICC-1903, ILC-249, ILC-3279, ILC-482,,PCH-5, ILC-194, ILC-3996, ILC-72)
(ILC- 3996 , ILC- 1929 , ICC- 12004 , ICC- 1903 , ILC- 482),
(ILC- 5928 , ILC- 1929 , ICC- 12004 , ICC- 1903 , ILC- 482)

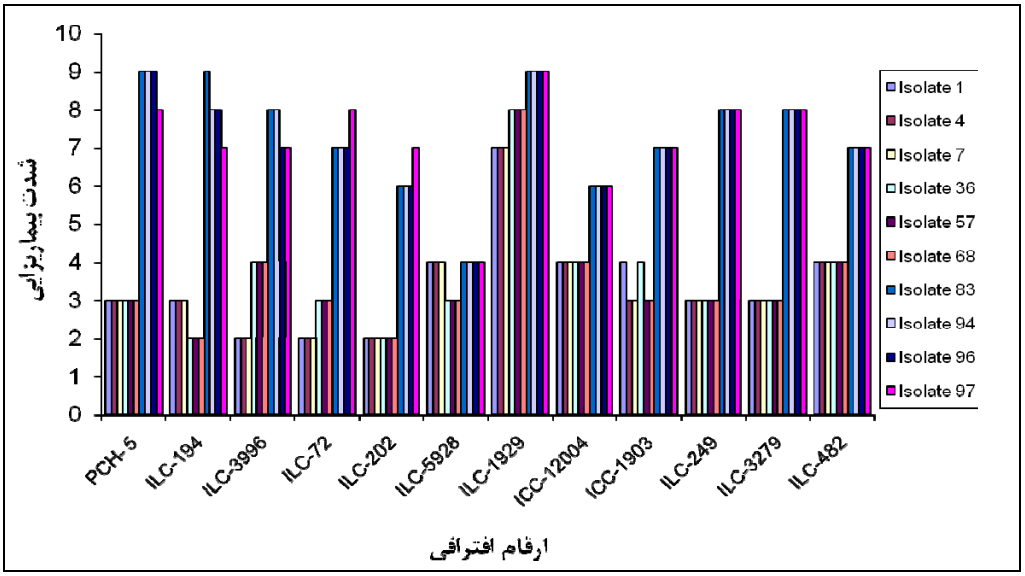
دارای قدرت بیماریزایی بالا و در دیگر ارقام قدرت بیماریزایی کم می‌باشند.

گروه بندی جدایه ها

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که جدایه‌ها از نظر شدت بیماریزایی بر روی مجموعه ارقام افتراقی در سطح احتمال ۱٪ دارای اختلاف معنی دار هستند و این نشان می‌دهد که جدایه‌ها در گروه‌های متفاوتی قرار می‌گیرند.

گروهبندی جدایه‌ها از نظر شدت بیماری با استفاده از آزمون مقایسه چند دامنه‌ای دانکن نشان داد که جدایه‌ها در گروه‌های بیماریزایی متفاوتی قرار می‌گیرند (جدول ۵).

1- Principal component analysis



(شکل ۱)- مقایسه شدت بیماری جدایه‌ها قارچ *D. rabiei* برروی ارقام افتراقی ۲۱ روز بعد از تلقیح

(جدول ٤)- تجزیه واریانس شدت بیماریزایی جدایه‌های عامل بیماری برق زدگی نخود در استان ایلام و کرمانشاه بر روی ارقام افتراقی در گلخانه

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	F
زمان	۲	۱۶/۱۵۸	۲.۲/۹۱۸۶**
جدایه	۹	۳۶۵/۵۱۲	۴۵۹۰/۱۵۶۳**
زمان × جدایه	۱۸	۰/۲۹۵	۳/۷۰۶۷**
رقم	۱۱	۸۹/۸۶۱	۱۱۲۸/۴۸۵۲**
زمان × رقم	۲۲	۰/۴۱۱	۵/۱۵۹۶**
جدایه × رقم	۹۹	۱۱/۲۶۱	۱۴۱/۴۱۲۱**
زمان × جدایه × رقم	۱۹۸	۰/۳۹۶	۴/۹۷۵۲**
خطا	۷۲۰	۰/۰۸۰	
کل	۱۰۷۹		
C.V%			۶/۱۲ ٪

*- فاکتور زمان نشان دهندهٔ زمانهای مختلف یادداشت برداری می‌باشد.

(جدول ۵)- آزمون مقایسه چند دامنه‌ای دانکن برای صفت شدت بیماریزایی جدایه‌های مختلف *D. rabiei* روی ارقام افتراقی در گلخانه

جدایه	میانگین(شدت بیماری)[1]	ارقام	میانگین(شدت بیماری)[2]
۱	۳/۰۰۹ h	PCH- 5	۴/۶۳۳ bc
۴	۷/۳۱۵ a	ILC-194	۴/۵۲۲ d
۷	۳/۲۷۸ fg	ILC-3996	۴/۲۵۶ f
۳۶	۳/۲۲۲ g	ILC-72	۴/۱۸۹ f
۵۷	۳/۳۷۰ e	ILC-202	۳/۸۳۳ g
۶۸	۵/۲۵۰ d	ILC-5928	۳/۴۷۸ h
۸۳	۶/۸۷۰ c	ILC-1929	۷/۵۶۷ a
۹۴	۷/۱۴۸ b	ICC-12004	۴/۵۶۷ cd
۹۶	۳/۳۵۲ ef	ICC-1903	۴/۵۵۶ cd
۹۷	۳/۲۶۹ g	ILC-249	۴/۶۰۰ bcd
		ILC-3279	۴/۴۲۲ e
		ILC-482	۴/۶۷۸ b

*- میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون از نظر آماری در سطح ۵٪ بر اساس آزمون دانکن اختلاف معنی دار ندارند.

۱ - میانگین شدت بیماری هر جدایه بر روی همه ارقام. ۲ میانگین شدت بیماری همهٔ جدایه‌ها بر روی رقم

بر اساس شدت بیماریزایی ایجاد شده از هر رقم نخود، جدایه‌هایی که موجب ایجاد بیماری با درجه ۳- ۰ گردیدند تحت عنوان: با قدرت بیماریزایی پایین (Weakly virulence) و جدایه هایی که باعث ایجاد بیماری با درجه ۹ – ۴ شدند تحت عنوان: با قدرت بیماریزایی بالا (Highly virulence) در روی آن رقم گروهبندی شدند، در این گروهبندی درجه آلودگی بعضی از جدایه‌های قارچ عامل بیماری بر روی ارقام یکسان بوده لذا بر این اساس جدایه‌های قارچ عامل بیماری نخود در استان ایلام و کرمانشاه به ۸ گروه بیماریزایی با شدت بیماریزایی مشخص برروی ارقام افتراقی تقسیم شدند (جدول۶).

تجزیه خوشه‌ای و پلات دو بعدی تجزیه به مختصات اصلی (PCA)

تجزیه خوشه‌ای گروهبندی جدایه‌ها از نظر درجات آلودگی بر روی ارقام افتراقی در شکل ۲ و همچنین تجزیه خوشه‌ای ارقام افتراقی بر اساس عکس العمل آنها در برابر جدایه‌های مختلف در شکل ۳ آمده است.

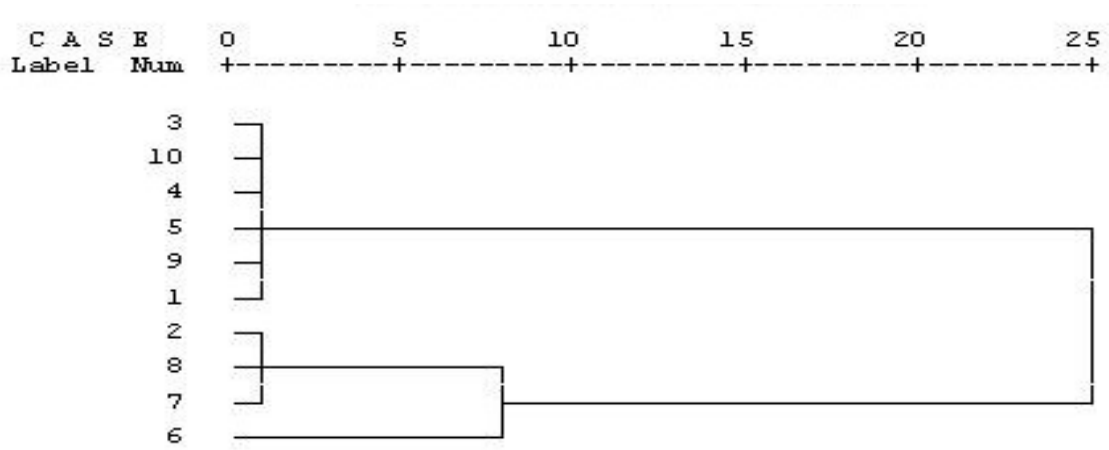
براساس شکل ۳ در فاصله حدود۸ ، سه گروه که در گروه اول ۶ جدایه از مناطق ایوان ، صحنه، سرمست، قصر شیرین، سرارود، و مهران، و در گروه دوم سه جدایه از مناطق آبدانان، سرپل ذهاب و شیروان چرداول و در گروه سوم یک جدایه از مناطق دره شهر قرار گرفته اند. اما در تجزیه خوشه‌ای ارقام افتراقی در فاصله ۵ ، سه گروه که در گروه اول ۱۰ رقم افتراقی و در گروه دوم یک رقم و در گروه سوم نیز یک رقم قرار گرفته است شکل ۴.

(جدول ٦)- شدت بیماریزایی جدایه‌های مختلف قارچ *D. rabiei* از استانهای ایلام و کرمانشاه بر روی ارقام افتراقی نخود (بر اساس شاخص کونگو و همکاران ،۲۰۰٤)

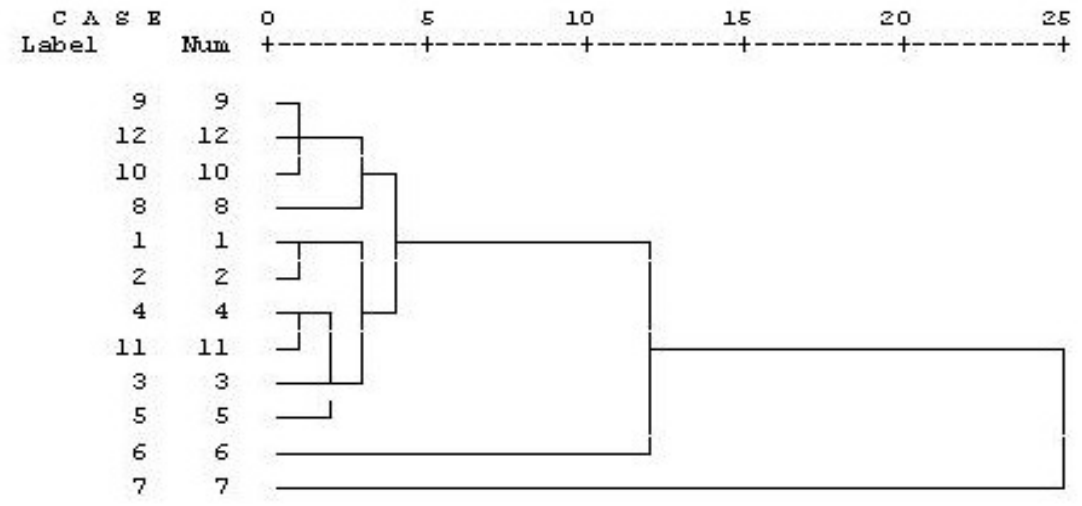
رقم	گروه‌های بیماریزایی(نام جدایه)									
Line	A(1)	B(4)	C(7)	D(36)	E(57)	F(68)	G(83)	H(94)	I(96)	J(97)
PCH- 5	W	H	W	W	W	H	H	H	W	W
ILC-194	W	H	W	W	W	H	H	H	W	W
ILC-3996	W	H	W	W	W	H	H	H	H	W
ILC-72	H	H	W	W	W	W	H	H	W	W
ILC-202	W	H	H	W	W	H	H	H	W	W
ILC-5928	H	W	W	H	H	W	W	H	W	H
ILC-1929	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
ICC-12004	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
ICC-1903	W	H	H	H	W	H	H	H	H	H
ILC-249	W	H	W	W	H	H	H	H	W	W
ILC-3279	W	H	W	W	H	H	H	H	W	W
ILC-482	W	H	H	H	H	H	H	H	H	H

*- درجه آلودگی ۳-۰ به عنوان شدت بیماریزایی پایین (Weakly virulence) و ۹-۴ به عنوان شدت بیماریزایی بالا (Highly virulence) محسوب شده اند

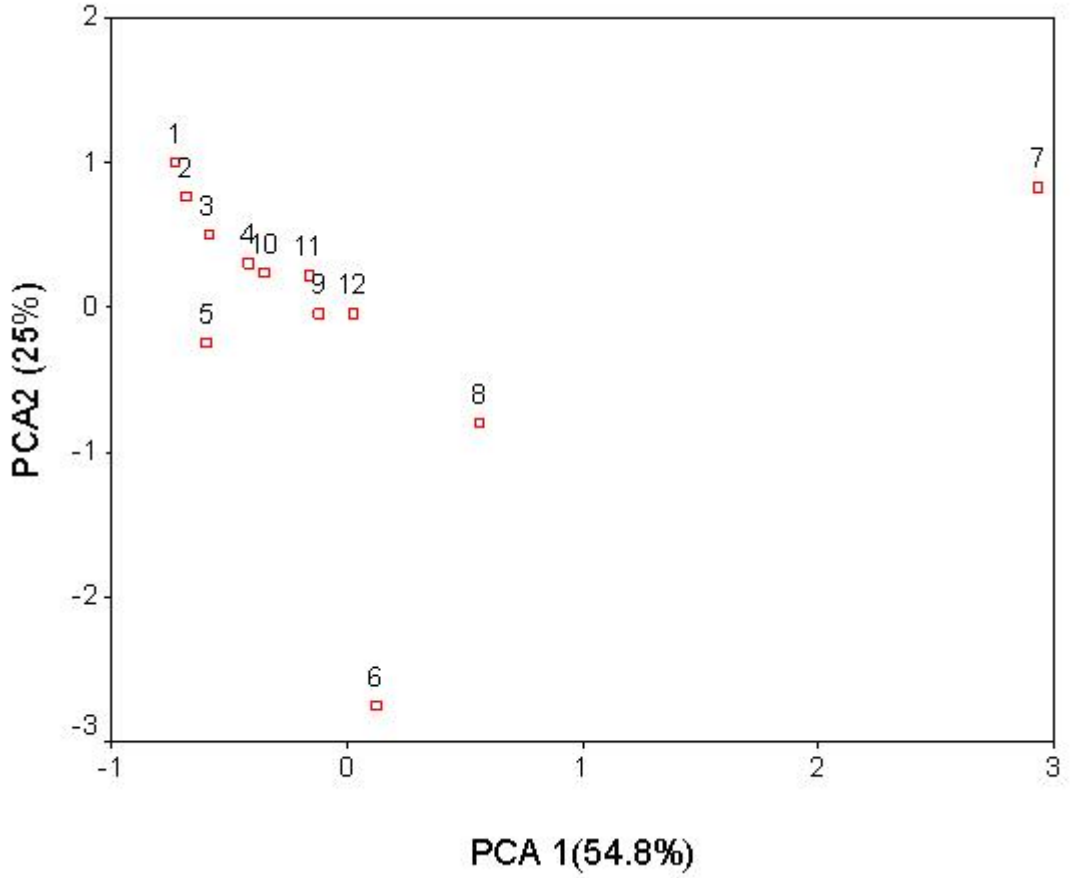
*- گروه‌های B و G و همچنین D و J عکس العمل مشابهی بر روی ارقام نشان داده اند



(شکل ۳)- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای برای گروهبندی جدایه‌های *D. rabiei*



(شکل ٤)- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای ارقام افتراقی بر اساس واکنش آنها در مقابل جدایه‌های *D. rabiei*



(شکل ٥)- پراکنش ارقام افتراقی در پلات دو بعدی تجزیه به مولفه‌های اصلی بر اساس شدت بیماریزایی در برابر جدایه‌های *D. rabiei*

همچنین پراکنش ارقام افتراقی در پلات دو بعدی با استفاده از تجزیه با مؤلفه‌های اصلی در شکل ۵ آمده است در مجموع در دو مؤلفه ۷۹/۸٪ تغییرات را توجیه می‌کند که ۵۴/۸٪ آن توسط مؤلفه اول (شدت بیماریزایی) و ۲۵٪ توسط مؤلفه دوم (ارقام افتراقی) توجیه می‌شود نتایج حاصل از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی در خصوص پراکنش ارقام افتراقی تاحد زیادی با نتایج حاصل از دندروگرام

همخوانی دارد چنانکه ارقام افتراقی شماره‌های ۶ و ۷ کاملاً در گروه جداگانه قرار گرفته اند.

بحث

قارچ *D. rabiei*، عامل بیماری برق زدگی نخود از لحاظ بیماریزایی بسیار متغییر است. برای کنترل این بیماری قارچ کش‌های مختلفی شناخته شده است و برای تأثیر آنها حداقل ۴ بار سم پاشی مورد نیاز است و عملاً استفاده از آنها در شرایط مزرعه غیر اقتصادی می‌باشد و بهترین راه کنترل آن استفاده از ارقام مقاوم است، بنابراین لازم است تنوع بیماریزایی قارچ برای رسیدن به منابع مقاومت به عنوان اقتصادی ترین و مؤثر ترین روش کنترل بیماری مورد مطالعه قرار گیرد. در این تحقیق بر اساس مقایسه شدت بیماریزایی بر روی ۱۲ رقم افتراقی، هشت گروه بیماریزایی تشخیص داده شد که با حروف انگلیسی A, B, C, D, E, F, H, I نامگذاری گردیدند، این نشان می‌دهد که دامنه وسیعی از تنوع بیماریزایی در میان جدایه‌های *D. rabiei* در کشور وجود دارد و تحقیقاتی که در ایران و دیگر مناطق جهان صورت گرفته است این موضوع را مورد تأیید قرار می‌دهند (۷، ۱۵، ۱۸، ۲۰ و ۲۷). در این مطالعه از ارقام افتراقی بیشتری برای تعیین تنوع بیماریزایی استفاده شده است و عکس العمل بیشتری از ارقام نسبت به بیماری برق زدگی مورد مقایسه قرار گرفته و این خود تنوع بیماریزایی را بیشتر و بهتر نشان می‌دهد، علاوه بر آن شاخص ثبت علائم نیز از دیگر تحقیقات که تاکنون در ایران صورت گرفته متفاوت می‌باشد و شاخص ثبت شدت بیماری بیشتر برای در نظر گرفتن جنبه‌های کمی وکیفی فنوتیپ واکنش بیماری در نظر گرفته شده است و به متخصصین اصلاح نباتات و بیماری شناسان گیاهی امکان تشخیص و شناسایی گروه‌های بیماریزای غالب را می‌دهد (۱۴).

در این تحقیق بعضی از ارقام افتراقی مورد استفاده نسبت به بیماری حساس هستند در حالیکه در بعضی از مناطق کشور همین ارقام در مقابل این بیماری از خود مقاومت نشان می‌دهند و این نشان می‌دهد که منابع مقاومت در مناطق مختلف محدود است و گروه‌های بیماریزایی متفاوتی در مناطق مختلف کشور وجود دارد و این تفاوت در مناطق مختلف بیشتر به علت تنوع در بیماریزایی جمعیت‌های بومی قارچ عامل بیماری است (۱۴).

در این تحقیق گروه بیماریزایی H بر روی همه ارقام موجود دارای قدرت بیماریزایی بالایی بوده و در صورت فراهم شدن شرایط محیطی مساعد، خسارت فراوانی به محصول نخود وارد می‌کند، گروه B تنها بر روی رقم ILC-5928 قدرت بیماریزایی ضعیفی داشته و بر روی ارقام دیگر خسارت ناچیزی وارد می‌کند و می‌تواند به عنوان رقم مقاوم در برنامه اصلاحی نخود در مقابل بیماری برق زدگی قرار بگیرد. بنابراین باید با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق مطالعات تکمیلی برای رسیدن به منابع مقاومت بخصوص در مقابل این دو گروه به عنوان روش مناسب برای کنترل این بیماری مورد توجه قرار بگیرد. در این مطالعه ارقام افتراقی نسبت به گروه‌های مختلف بیماریزایی حساسیت‌های متفاوتی نشان داده اند و این نشان می‌دهد که این گروه‌های بیماریزایی از نظر ژن‌های بیماریزایی چند ژنی بوده و این خود دلیلی بر حساس بودن ارقام زراعی مختلف می‌باشد.

نخود در سطح بسیار وسیعی در کشور کشت می‌گردد و ارقام مختلف به این بیماری آلوده می‌شوند و این حاکی از آن است که ارقام موجود از مقاومت پایداری برخوردار نمی باشند. و تشخیص گروه‌های بیماریزایی جهت اصلاح نخود به عنوان یکی از فاکتورهای افزایش عملکرد امری ضروری می‌باشد. برای تنوع بیماریزایی قارچ *D. rabiei* در جهان مطالعات مختلفی صورت گرفته است. از هند شش فرم بیماریزایی (۲۷)، در سوریه و لبنان شش نژاد فیزیولوژیکی (۹، ۱۹ و ۳۷)، در پاکستان پنج گروه بیماریزایی (۳۰)، در شمال سوریه و لبنان شش پاتوتیپ (۳۲)، در پاکستان و ترکیه پنج گروه بیماریزایی متفاوت (۲۹)، در آمریکا ۱۱ فرم بیماریزایی مختلف (۲۲). و در استرالیا سه گروه بیماریزا یی (۲۶) گزارش شده است. اما در ایران و در استان کرمانشاه، سه پاتوتیپ (۱۰) در مناطق مختلف کشور ۱۰ فرم بیماریزایی متفاوت (۷) و دو نژاد فیزیولوژیکی گزارش گردیده است(۹). همه این نتایج بر اساس شدت بیماریزایی جدایه‌های مختلف در هر منطقه و بر روی تعداد معدودی از ارقام افتراقی بوده است. این مطالعه نیز بر همین اساس صورت گرفته و با نتایج دیگر محققین ذکر شده در این راستا مطابقت دارد. از آنجائیکه در شناسایی گروه‌های بیماریزایی قارچ *D. rabiei* در جهان توسط محققین مختلف تفاوت‌هایی دیده می‌شود، لذا برای تشخیص بهتر گروه‌های بیماریزایی در میان جدایه‌های مختلف جهان یک روش استاندارد ثبت شدت بیماری و یگ گروه ارقام افتراقی با عکس العمل مشخص مورد نیاز است (۱۴).

در گذشته کارهای اصلاحی مختلف منجر به ارقام مقاوم صورت گرفته ولی بعد از مدتی این ارقام مقاومت آنها شکسته شده است لذا شناسایی تنوع بیماریزایی به عنوان یکی از راه‌های شکستن مقاومت باید مورد توجه خاص قرار بگیرد تا برنامه‌های به نژادی به صورت جهت دار در مدیریت کنترل این بیماری نقش داشته باشند . البته باید اینگونه مطالعات درسطوح وسیع و در تمام مناطق شیوع این بیماری صورت بگیرد تا به نژادگرها در کنار بیماری شناسان گیاهی با شناخت ژن‌های بیماریزا بتوانند ارقامی با مقاومت چند گانه و پایدار معرفی کنند.

سپاسگزاری

از گروه گیاهپزشکی دانشگاه تهران بخاطر فراهم نمودن امکانات لازم برای انجام این تحقیق و همچنین از آقایان مهندس فرشید محمودی، مهندس حمیدرضا پورعلی بابا و مهندس داریوش شهریاری بخاطر در اختیار قرار دادن ارقام افتراقی تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

۱- اخوت م. ۱۳۵۳. بیماری برق زدگی نخود و راههای مبارزه با آن. طرح اصلاح و توسعه کشت حبوبات دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران.

۲- اخوت م. ۱۳۵۳. مطالعه در مورد چند روش مبارزه علیه قارچ *Ascochyta rabiei* (Pass.) Lab. عامل برق زدگی نخود. مجله علوم کشاورزی ایران. شماره ۲: ۱۶-۷.

۳- باقری ع.، نظامی ا.، گنجعلی ع. و پارسا م. ۱۳۷۶. زراعت و اصلاح نخود. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد. ۴۴۳ صفحه.

۴- بهداد ا. ۱۳۵۹. بیماری های گیاهان زراعی ایران. چاپ نشاط اصفهان. ۴۲۵ صفحه.

۵- حسین‌زاده ا.، یونسی ح.، اخوت س م.، مطلبی م. و نانی م. ۱۳۷۹. ارزیابی شدت‌بیماریزایی قارچ *Ascochyta rabiei* در نخود براساس روش آزمایشگاهی و گلخانه‌ای . خلاصه مقالات چهاردهمین‌کنگره گیاهپزشکی ایران . شهریور ۱۳۷۹. صفحه ۸۰ .

۶- شکوهی فر ف.، .باقری ع.، فلاحتی رستگار م. و ملک زاده شفارودی س.۱۳۸۲. تعیین تنوع بیماریزایی در قارچ *Ascochyta rabiei* (Pass.) Lab. عامل بیماری برق زدگی نخود در کشور با استفاده از ارقام افتراقی، بر اساس روشهای مرسوم و آماری. دومین همایش ملی بیوتکنولوژی. صفحه ۱۰۷.

۷- شهریاری د. و ایزدیار م. ۱۳۷۹. گروه‌های ویرولانس فرم *Ascochyta rabiei* روی نخود در ایران. خلاصه مقالات چهاردهمین کنگره گیاهپزشکی ایران. شهریور ۱۳۷۹. صفحه ۸۱ .

۸- محمودی ف. و بنی هاشمی ض.۱۳۸۱. بقای قارچ *Ascochyta rabiei* عامل برق زدگی نخود در روی بقایای آلوده در استان فارس. خلاصه مقالات پانزدهمین کنگره گیاهپزشکی ایران. تبریز. صفحه ۱۶۲.

۹- نوراللهی خ.، فلاحتی رستگار م. و جعفرپور ب. ۱۳۷۹. تشخیص نژادهای فیزیولوژیک *Ascochyta rabiei* ، عامل بیماری برق زدگی نخود، در چند منطقه کشور. مجله علوم و فنون کشاورزی. جلد۴. شماره۱: ۱۳۶-۱۲۷ .

۱۰- یونسی ح.، اخوت س. م. حجارود ق. ع.، زاد ج. و طالعی ع. ۱۳۷۹. تعیین نژادهای قارچ *Ascochyta rabiei* در استان کرمانشاه. خلاصه مقالات چهاردهمین کنگره گیاهپزشکی ایران . شهریور ۱۳۷۹. صفحه۸۲.

۱۱- یونسی ح.، اخوت س. م.، حجارود ق. ع.، زاد ج. و طالعی ع. ۱۳۸۰. تعیین تنوع بیماریزایی جدایه‌های *Ascochyta rabiei* روی ارقام نخود در استان کرمانشاه. مجله بیماریهای گیاهی جلد ۳۹. شماره‌های ۳ و ۴ :۲۲۸-۲۱۳.

12- Bedi P.S., and Aujla S.S. 1970. Factors affecting the mycelia growth and the size of pycnidia produced by *Phyllosticta rabiei* (Pass) Trott. the incitant of gram blight. Journal of Research Punjab Agricultural University, 4: 606-609.

13- Chen W., Conye C.J., Peever T.L., and Muehlbauer F.J. 2004. Characterization of chickpea differentials for pathogenisity assay of Ascochyta blight and identification of chickpea accessions resistant to *Didymella rabiei*. Plant Pathology, 53:759-769.

14- Chongo G., Gossen B.D., Buchwaldt L., Adhikari T., and Rimmer S.R. 2004. Genetic diversity of *Ascochyta rabiei* in Canada. Plant Disease, 88: 4-10.

15- Gowen S.R. 1982. Pathogenisity of isolates of *Ascochyta rabiei*. International Chickpea Newsletter, 7:16-17.

16- Gowen S.R. 1985. Preliminary studies of variability in *Ascochyta rabiei*. In: M. C. Saxena and S. Varma (eds.) faba beans, Kabuli chickpeas and lentils in the 1980s: Proc. Int. workshop, May 1983.Aleppo, Syria: ICARDA.

17- Gowen S.R. 1986. Investigation into variability in *Ascochyta rabiei* and resistance to the disease in chickpea report of Project R3712 Funded by Overseas. Development Administration and done in collaboration with the International Center for Agriculture Research in Dry Areas. University of Reding, Uk .Gowen, 1987,200 pp.

18- Gowen S.R., Orton. M., Thurely B., and Winter A. 1989. Variation in Pathogenicity of *Ascochyta rabiei* on chickpea. Tropical Pest Management, 35:180-186.

19- Grewal J.S. (1984). Evidence of physiologic races in *Ascochyta rabiei* of chickpea. In: Saxena, M.C. and Singh, K.B. (eds.).Ascochyta blight and winter sowing of chickpea .Martinus Nijhoff / Dr W. Junk Publisher, Hague, The Netherlands, 55-65.

20- Haware M.P., Van Rheenen H.A. and Prasad. N.S.S. 1995. Screening for ascochyta blight resistance in chickpea under controlled environment and field conditions. Plant Diseases,79: 132-135.

21- Jamil F.F., Sarwar M., Haq I., and Bashir N. 1993. Pathogenic variability in *Ascochyta rabiei* causing blight of chickpea in Pakistan. International Chickpea Newsletter,29:14-15.
22- Jan H., and Weise M.V. 1991. Virulence forms of *Ascochyta rabiei* affecting chickpea in the Palouse. Plant Disease, 75:904-906.
23- Kaiser W.J. 1973. Factors affecting growth, sporulation, pathogenisity and survival of *Ascochyta rabiei*. Mycologia, 65:444-457.
24- Kaiser W.J., and Okhovat. S.M. 1996. Distribution of *Didymella rabiei* the teleomorph of *Ascochyta rabiei* in Iran. Iranian Journal of Plant Pathology, 32:138-163.
25- Kaiser W.J. 1989. Epidemiology of *Ascochyta rabiei*. In: proceedings of the Consultative Meeting on Breeding for Disease Research in Kabuli Chickpea Aleppo, Syria. 117-134.
26- Khan M.S.A., Ramsey M.D., Corbiere R., Infantino A., Porta-Puglia A., Bouzand Z., and Scott E.S. 1999. Ascochyta blight of chickpea in Australia: Identification, Pathogenisity and Mating Type. Plant Pathology,48:230-234.
27- Luthra J.C., Sattar A., and Bedi K.S. 1939. Variation in *Ascochyta rabiei* (Pass.) Lab. the causal fungus of blight of gram (*Cicer arietinum* L.) Indian J. Agric. Sci. 9: 979-806.
28- Navas-Cortes J.A., Trapero-Casas A., and Jimenez-Diaz R.M. 1995. Survival of *Didymella rabiei* in chickpea straw debris. Plant Pathology, 47:57-66.
29- Nene Y.L., Reddy M.V., Haware M.P., Chanekar A.M., and Amin K.S. 1991. Field diagnosis of chickpea diseases and their control. Information Bulletin, No. 28, ICRISAT, Patanchera, India.
30- Qureshi S.H., and Alam S.S. 1984. Pathogenic behavior of *Ascochyta rabiei* isolates on different cultivars of chickpea in Pakistan. International Chickpea Newsletter,11:29-31.
31- Reddy M.V., and Kabbabeh S. 1985. Pathogenic variability in *Ascochyta rabiei* (Pass) Lab. in Syria and Lebanon. Phytopathologia Mediterranea 29:32-38.
32- Singh G. 1990. Identification and designation on physiologic races of *Ascochyta rabiei* in India. Indian phytopath. 43(1): 48-52.
33- Singh R., and Mahedra P. 1992. Survival of *Ascochyta rabiei* in infected plant debris at different temperatures and soil depth. Indian phytopath. 65: 406-408.
34- Singh K.B., and Reddy M.W. 1993. Resistance to six races of *Ascochyta rabiei* in the world germplasm collection of chickpea. Crop Sci. 33:186-189.
35- Singh K.B., and Reddy M.W. 1990. Pattern of resistance and susceptibility to races of *Ascochyta rabiei* among germplasm accessions and breeding lines of chickpea. Plant Disease, 74:127-129.
36- Udupa S.M., Weigand F., Saxena M.C., and Kahl G. 1998. Genotyping with RAPD and microsatellite markers resolves pathotype diversity in the Ascochyta blight pathogen of chickpea. Theor. Appl. Genet. 97:299-307.
37- Vir S., and Grewal J.S. 1974. Physiologic specialization in *Ascochyta rabiei*, the causal organism of gram blight. Indian Phytopathology, 27:255-360.