نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۲۸، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۳، ص. ۲۴۹-۲۴۲

Journal of Plant Protection
Vol. 28, No. 2, Summer 2014, P. 242-249

واکنش ژنوتیپ‌های نخود دسی و کابلی در برابر نژادهای ۳ و ٦ قارچ عامل بیماری برق‌زدگی *Ascochyta rabiei*

حمیدرضا کاوسی[۱*]- جواد مظفری[۲]- سید حسن مرعشی[۳]- عبدالرضا باقری[٤]

تاریخ دریافت:۱۳۹۱/۹/۲۷
تاریخ پذیرش:۱۳۹۲/۱۲/۱۲

چکیده

بیماری برق‌زدگی که به وسیله قارچ *Ascochyta rabiei* ایجاد می‌شود، یکی از مهمترین عوامل محدود کننده کشت و تولید نخود در بیشتر مناطق دنیا و از جمله ایران بشمار می‌رود. شناسائی منابع ژنتیکی مقاومت در ژرم پلاسم نخود، در برابر نژادها و پاتوتیپ‌های عامل بیماری برق‌زدگی در طراحی برنامه‌های اصلاحی بسیار ضروری است. برای این منظور عکس‌العمل شش ژنوتیپ منتخب از کلکسیون نخود کشور در برابر نژادهای ۳ و ۶ قارچ عامل بیماری برق‌زدگی بررسی شد. ارزیابی فنوتیپی مقاومت این ژنوتیپ‌ها نشان داد که میزان مقاومت ژنوتیپ‌ها در برابر نژاد ۳ بطور معنی‌داری بیشتر از مقاومت آن‌ها در برابر نژاد ۶ بود به طوری که ژنوتیپ‌های Kc-218848 و Kc-218740 در مقایسه با ژنوتیپ‌های دیگر جزء گروه مقاوم تشخیص داده شدند در حالی که همه ژنوتیپ‌های مورد بررسی در مقابل نژاد ۶ قارچ همانند شاهد حساس، حساسیت نشان دادند. مقایسه روند توسعه بیماری در ژنوتیپ‌ها نیز نشانگر وجود تفاوت معنی‌داری بین آنها در واکنش به هردو نژاد قارچ بود. تجزیه خوشه‌ای روند توسعه بیماری در طی چهار هفته متوالی پس از آلودگی با نژاد ۳، ارقام مورد بررسی را به دو گروه متمایز تقسیم نمود. ژنوتیپ‌های بانک ژن گیاهی ملی ایران شامل Kc-218848 و Kc-218740 در یک گروه مقاوم و ژنوتیپ‌های مشهد شامل MCC-496، MCC-54، MCC-311 و MCC-133 در یک گروه جداگانه نسبتا حساس قرار گرفتند. بر اساس این نتایج امکان اصلاح ارقام نخود مقاوم برای استفاده در مناطق آلوده به نژاد ۳ قارچ وجود دارد.

واژه‌های کلیدی: نخود، ژرم پلاسم، بیماری برق زدگی، مقاومت به بیماری

مقدمه

نخود زراعی (*Cicer arietinum* L.) گیاهی خودگشن، دیپلوئید (2n=2x=16) و یکساله است که مهم‌ترین گیاه از رده حبوبات در حوزه مدیترانه، شبه قاره هند، غرب آسیا و شمال افریقا است. سطح زیر کشت نخود در ایران ۶۴۰ هزار هکتار و تولید سالیانه آن حدود ۴۰۰ تن است (۶).

دو تیپ عمده نخود زراعی، تیپ کابلی و تیپ دسی است که در خصوصیات بذر بسیار متمایزند. تیپ دسی کوچک، گوشه‌دار و دارای پوست زبر به رنگ قهوه‌ای تا زرد و گاهی سیاه می‌باشد. در حالی که تیپ کابلی نسبتاً بزرگ، درشت و با پوسته صاف و کرم رنگ می‌باشد. تیپ کابلی با مزیت درشتی دانه و کم بودن رنگدانه‌ها بیشتر مورد توجه بوده است. تیپ دسی اغلب بصورت لپه یا گاهی آرد مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱).

بیماری برق‌زدگی نخود که به وسیله قارچ نکروتروف *Ascochyta rabiei* [Pass] Labr. ایجاد می‌شود، یکی از مخرب‌ترین بیماری‌های این گیاه در دنیا و یکی از مهم‌ترین عوامل محدود کننده کشت و تولید نخود در بیشتر مناطق دنیا و از جمله ایران بشمار می‌رود. تلاش جهت شناسائی منابع ژنتیکی مقاومت در برابر عوامل بیماریزا یکی از اساسی‌ترین مراحل اجرای برنامه‌های اصلاحی نخود بشمار می‌رود. ژرم‌پلاسم غنی و متنوع نخود به عنوان مخزن ژن‌های مفید در مقابل عوامل بیماریزای مهم همواره مورد توجه بوده است (۱۲ و ۱۶).

تلاش جهت کنترل این بیماری از ابتدای قرن بیستم با شناسائی عامل بیماری آغاز شد. در ابتدا روش‌های مختلفی برای کنترل بیماری بکار گرفته شد ولی این روش‌ها علاوه بر کارائی پائین، غیراقتصادی نیز بودند. لذا اصلاح نژاد جهت دستیابی به ارقام مقاوم به عنوان یک راه عملی و اقتصادی برای کنترل این بیماری در برنامه‌های اصلاحی

۱- استادیار گروه بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان
(*- نویسنده مسئول: Email: hrkavousi@uk.ac.ir)
۲- دانشیار بانک ژن گیاهی ملی ایران، موسسه تحقیقات و اصلاح نهال و بذر- کرج، ایران
۳- دانشیار و استاد گروه بیوتکنولوژی و به‌نژادی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

نخود بطور جدی مورد توجه قرار گرفت. تا قبل از دهه هشتاد میلادی تلاش‌هایی جهت گزینش ارقام مقاوم در مقابل قارچ *A. rabiei* در گوشه و کنار دنیا انجام شده بود ولی شیوع این بیماری در اوایل دهه هشتاد میلادی و وارد شدن خسارت‌های شدید به مزارع نخود در کشورهای مختلف از جمله امریکا، تونس، اسپانیا و سوریه به تقویت مطالعات به‌نژادی جهت شناسائی ارقام مقاوم منجر شد (۱).

سینگ و ردی (۱۵) مجموعه ژرم‌پلاسم جهانی نخود شامل ۱۲۷۴۹ نمونه نخود دسی و ۶۵۹۴ نمونه نخود کابلی را در آزمایشات مزرعه‌ای و گلخانه‌ای طی سال‌های ۱۹۷۹ تا ۱۹۹۱ در برابر قارچ عامل بیماری برق‌زدگی مورد بررسی قرار دادند که از بین آن‌ها سه نمونه نخود دسی و دو نمونه نخود کابلی در آزمایشات مزرعه‌ای و گلخانه‌ای نسبت به بیماری مقاوم بودند. شش نمونه نخود دسی و سه نمونه نخود کابلی نیز در آزمایشات مزرعه‌ای مقاوم ولی در گلخانه متحمل بودند.

اقبال و همکاران (۱۳) در تحقیقی به منظور شناسائی منابع مقاومت ژنتیکی در برابر قارچ عامل بیماری برق‌زدگی، ۳۵۶ رقم نخود موجود در مرکز تحقیقات کشاورزی ملی اسلام آباد پاکستان را تحت شرایط گلخانه‌ای مورد ارزیابی قرار دادند. ۹ ژنوتیپ به عنوان بسیار مقاوم، ۸ ژنوتیپ مقاوم و ۷۵ ژنوتیپ نیز نسبتا مقاوم طبقه‌بندی شدند. مابقی ژنوتیپ‌ها نیز در برابر قارچ عامل بیماری حساس بودند.

در تحقیقی در آنتالیای ترکیه از میان ۴۱ ژنوتیپ نخود مورد بررسی در دو سال زراعی مختلف تنها دو ژنوتیپ که بعد از اعمال آلودگی همچنان عملکرد بیولوژیکی بالا و قابل قبولی از خود نشان داده و مقاوم به قارچ عامل بیماری بودند، شناسائی شدند (۱۷).

در غربالگری ژرم پلاسم نخود در برابر قارچ عامل بیماری برق‌زدگی در موسسه تحقیقات حبوبات فیصل آباد پاکستان نیز هیچکدام از ارقام مقاومت بالائی از خود نشان ندادند و تنها چند رقم با مقاومت نسبی انتخاب شد (۱۱).

با توجه به سابقه و اهمیت این بیماری در ایران، تلاش‌های زیادی جهت شناسایی پاتوتیپ‌های موجود این بیماری در کشور انجام شده است (۲ و ۷). در یک آزمایش بر اساس قدرت بیماریزایی شش گروه پاتوتیپی برای این قارچ در ایران گزارش شده است (۳). تاکنون تلاش‌های وسیعی نیز به منظور یافتن ارقام مقاوم نخود به پاتوتیپ‌های موجود در کشور صورت گرفته است (۸ و ۱۰) و ارقام مقاوم در برابر نژادهای با بیماریزایی کمتر معرفی شده‌اند ولی مقاومت در برابر نژادهای ۳ و ۶ بسیار کم بوده است. این در حالی است که مقاومت در برابر نژاد ۶ قارچ عامل بیماری در بعضی از گونه‌های وحشی گزارش شده است (۴، ۵ و ۹).

هدف این تحقیق مطالعه دقیق‌تر عکس‌العمل فنوتیپی برخی از ژنوتیپ‌های منتخب از ارزیابی‌های اولیه و مزرعه‌ای موجود در کلکسیون‌های نخود بانک ژن گیاهی ملی ایران و پژوهشکده علوم گیاهی مشهد در برابر نژادهای ۳ و ۶ قارچ عامل بیماری برق‌زدگی و تعیین میزان مقاومت آن‌ها در برابر آن نژادها بود.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی: در این تحقیق شش ژنوتیپ بومی نخود منتخب بررسی‌های غربالگری اولیه برای مقاومت به قارچ عامل بیماری (۴ و ۵) مورد بررسی قرار گرفتند. از ژنوتیپ Kc-217854 (رقم بومی بیوه‌نیج) نیز به عنوان شاهد حساس در آزمایشات استفاده شد (جدول ۱).

کاشت مواد گیاهی: بذور قبل از کاشت به مدت یک دقیقه در اتانول ۷۰ درصد ضدعفونی شده و سپس سه بار و هر بار به مدت دو دقیقه با آب مقطر استریل شستشو داده شدند. بذور ضدعفونی شده به پتری‌دیش منتقل و یک کاغذ صافی مرطوب بر روی آن‌ها قرار داده شد. پتری‌دیش‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد و دوره نوری ۱۲ ساعت داخل اتاقک رشد نگهداری و بذور جوانه‌زده هم‌شکل و هم اندازه برای کاشت انتخاب شدند. بذور جوانه‌زده در گلدان‌های چهارده سانتیمتری حاوی مخلوط خاک، ماسه و کود به نسبت های ۱ : ۱ : ۳ در عمق ۲/۵ سانتی‌متری کاشته شدند. آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار و یک شاهد اجرا گردید.

جدول۱- نام و محل اخذ مواد گیاهی مورد استفاده در آزمایشات

منشا	محل تهیه	تیپ بذر	نمونه ژنتیکی
ایران-اردبیل	بانک ژن گیاهی ملی ایران	دسی	Kc-218848
ایران-اردبیل	بانک ژن گیاهی ملی ایران	دسی	Kc-218740
ایران-کرمانشاه	بانک ژن گیاهی ملی ایران	کابلی	Kc-218754 (Bivanij)
ایران-کلات	پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی	کابلی	MCC-496
ایران-قائن	پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی	دسی	MCC-54
ایران-مشهد	پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی	کابلی	MCC-311
ایران-نامعلوم	پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی	کابلی	MCC-133

تکرار شاهد شامل گلدان‌هائی بود که توسط آب مقطر استریل آب‌پاشی شده بودند. توده حساس بیوه‌نیچ نیز به عنوان کنترل مثبت در هر تکرار قرار داده شد. قبل از تلقیح روی تمام گلدان‌ها با پوشش‌های پلاستیکی پوشانده شد و گلخانه در شرایط سایه با دمای ۲±۲۰ درجه سانتیگراد و رطوبت نسبی ۹۰ درصد تنظیم گردید

جدایه‌های قارچ، کشت و تهیه سوسپانسیون اسپور: جهت تلقیح ژنوتیپ‌ها از دو نژاد مهاجم و غالب قارچ *A. rabiei* در ایران شامل نژادهای ۳ و ۶ (۲) که از بانک ژن گیاهی ملی ایران دریافت شده بودند، استفاده گردید. سوسپانسیون اسپور قارچ از کشت چهارده روزه هر نژاد روی محیط CSMA (*chickpea seed meal agar*) تهیه شد. بدین منظور ابتدا ده میلی‌لیتر آب مقطر استریل به پتری‌دیش‌ها اضافه و با یک میله شیشه‌ای سطح محیط کشت کمی خراش داده شد. سپس مایع حاصل با استفاده از یک پارچه استریل دو لایه صاف گردید. جهت تعیین غلظت اسپور از لام نئوبار (هموسایتومتر) استفاده و برای هر نژاد غلظت ۲×۱۰^{۵} اسپور در هر میلی‌لیتر تهیه گردید. به ازای هر صد میلی‌لیتر سوسپانسیون اسپور قارچ یک قطره توئین۲۰ به آن اضافه شد.

آلوده‌سازی گیاهان: سوسپانسیون اسپور قارچ با غلظت ۲×۱۰^{۵} توسط آب‌پاش‌های پلاستیکی بطور یکنواخت بر روی گیاهچه‌های چهارده روزه اسپری شد. برای هر گلدان پنج میلی‌لیتر سوسپانسیون اسپور قارچ استفاده گردید. به منظور حفظ رطوبت ۹۰ درصد که برای ایجاد و گسترش بیماری در روزهای اول بعد از آلوده‌سازی ضروری است، گلدان‌ها به مدت پنج روز در زیر پوشش‌های پلاستیکی نگهداری شدند. در طی این مدت روزانه سه تا پنج بار آب‌پاشی به صورت مه‌پاش در زیر پوشش‌های پلاستیکی انجام شد. پس از آن پوشش‌های پلاستیکی بتدریج برداشته شدند و رطوبت گلخانه در حد ۷۰ درصد تنظیم گردید. این مراحل برای هر نژاد قارچ بطور جداگانه انجام گرفت.

ارزیابی واکنش گیاهان نخود در برابر قارچ: به منظور تعیین مقاوم‌ترین ژنوتیپ جهت انجام آزمایش‌های بعدی، چهارده روز پس از تلقیح هنگامی که بیماری به خوبی پیشرفت کرده و ژنوتیپ حساس تقریبا با مرگ کامل مواجه شده بود، عکس‌العمل ژنوتیپ‌ها در برابر هر نژاد قارچ مطابق با مقیاس ۹ درجه‌ای ردی و همکاران (۱۴) تعیین گردید که بر اساس آن ۱ بدون علامت و درجات ۲ تا ۹ به صورت لکه‌های گرد تا کشیده و همراه با ریزش برگ و شکستگی ساقه و نهایتا مرگ کامل گیاه است.

همچنین به منظور ارزیابی روند توسعه بیماری در بین ژنوتیپ‌ها، شدت آلودگی نمونه‌ها بر اساس همین مقیاس ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ روز پس از تلقیح یادداشت برداری و نمودارهای مربوطه توسط برنامه Excel 2003 رسم گردید.

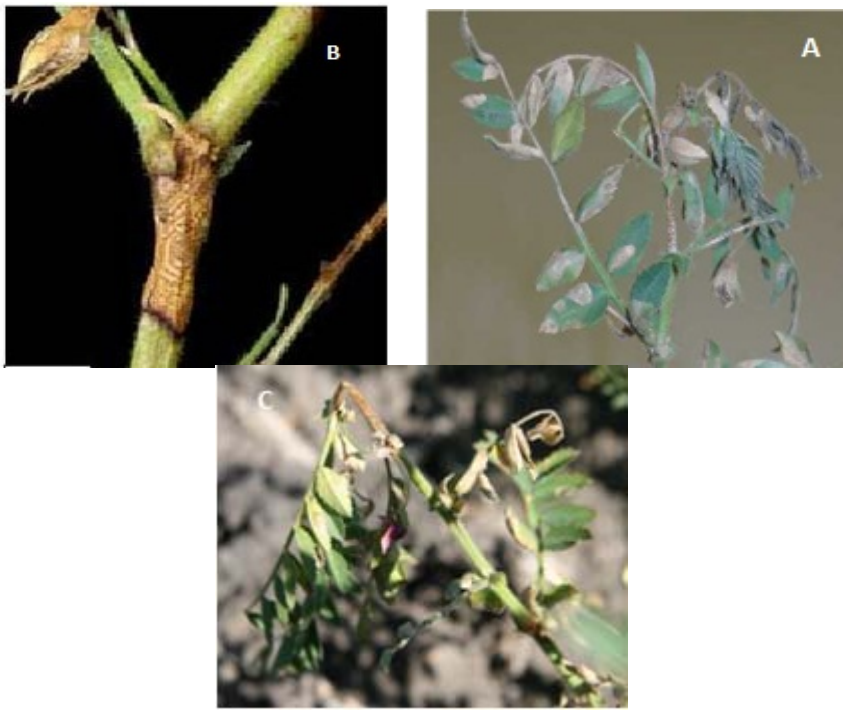
تجزیه داده‌ها: آزمایش به صورت فاکتوریل با دو فاکتور ژنوتیپ‌های گیاهی (شش ژنوتیپ) و نژادهای قارچ (دو نژاد) در قالب طرح کاملا تصادفی با استفاده از برنامه MSTAT انجام شد. درجات (اسکورهای) شدت بیماری روی نمونه‌های ژنتیکی مورد بررسی یادداشت برداری شد و میانگین شدت بیماریزائی نژادها و شدت خسارت بیماری در ژنوتیپ‌های نخود با استفاده از آزمون LSD مقایسه گردید. به منظور مطالعه روند توسعه بیماری برق‌زدگی، منحنی روند توسعه بیماری در طی چهار هفته متوالی برای هر یک از ژنوتیپ‌ها تهیه و مقایسه گردید. علاوه بر آن با استفاده از برنامه آماری Statistica v. 5. 5 و روش UPGMA تجزیه خوشه‌ای عکس‌العمل ژنوتیپ‌های نخود در برابر نژاد ۳ انجام شد و براساس درجه بیماری در طی چهار هفته متوالی، ژنوتیپ‌ها طبقه‌بندی شدند.

نتایج و بحث

مشاهدات علائم بیماری: علائم اولیه بیماری به صورت زردی در انتهای برگ‌ها و نقاط قهوه‌ای تیره کوچک روی برگ‌ها و ساقه‌ها، پنج روز پس از تلقیح با سوسپانسیون اسپور دو نژاد قارچ به خوبی روی ژنوتیپ حساس (رقم بیوه‌نیچ) قابل مشاهده بود. بر روی دیگر ژنوتیپ‌ها علائم بیماری ۶ تا ۷ روز پس از آلودگی ظاهر شد. ژنوتیپ‌های MCC-133 و MCC-311 بعد از ژنوتیپ حساس زودتر از دیگر ژنوتیپ‌ها علائم بیماری را نشان دادند. برگ‌های جوان نسبت به برگ‌های پیرتر حساسیت بیشتری داشتند و علائم بیماری ابتدا روی آن‌ها ظاهر گردید. با گذشت زمان علائم بیماری روی برگ و ساقه ژنوتیپ حساس و دیگر ژنوتیپ‌های مورد بررسی گسترش پیدا می‌کرد، هرچند این گسترش علائم روی ژنوتیپ‌های آلوده شده با نژاد ۶ سریع‌تر بود. دو هفته پس از آلودگی با نژاد ۶، ژنوتیپ حساس تقریبا با مرگ کامل مواجه شد. پژمردگی اکثر برگچه‌ها، زخم‌های کشیده روی ساقه و شکستگی ساقه از جمله علائمی بود که در این زمان در ژنوتیپ حساس قابل مشاهده بود (شکل ۱).

در این زمان شدت علائم ناشی از آلودگی با نژاد ۶ روی ژنوتیپ‌های دیگر نیز گسترده بود ولی هیچ کدام از آن‌ها با مرگ کامل مواجه نشده بودند. در این میان ژنوتیپ Kc-218740 نسبت به ژنوتیپ‌های دیگر و شاهد حساس دارای میانگین شدت بیماری کمتری بود و بنظر می‌رسید که دارای مقاومت بیشتری به نژاد ۶ باشد.

این در حالی بود که دو هفته پس از آلودگی با نژاد ۳ قارچ عامل بیماری، شدت خسارت بیماری روی ژنوتیپ حساس در مقایسه با آلودگی نژاد ۶ کمتر بود.



شکل ۱- پژمردگی برگچه ها (A)، زخم‌های کشیده بر روی ساقه (B) و شکستگی ساقه (C) چهارده روز پس از آلوده‌سازی با نژاد ٦ قارچ عامل بیماری برق‌زدگی روی ژنوتیپ حساس Kc-218754 (رقم بیوه‌نیچ)

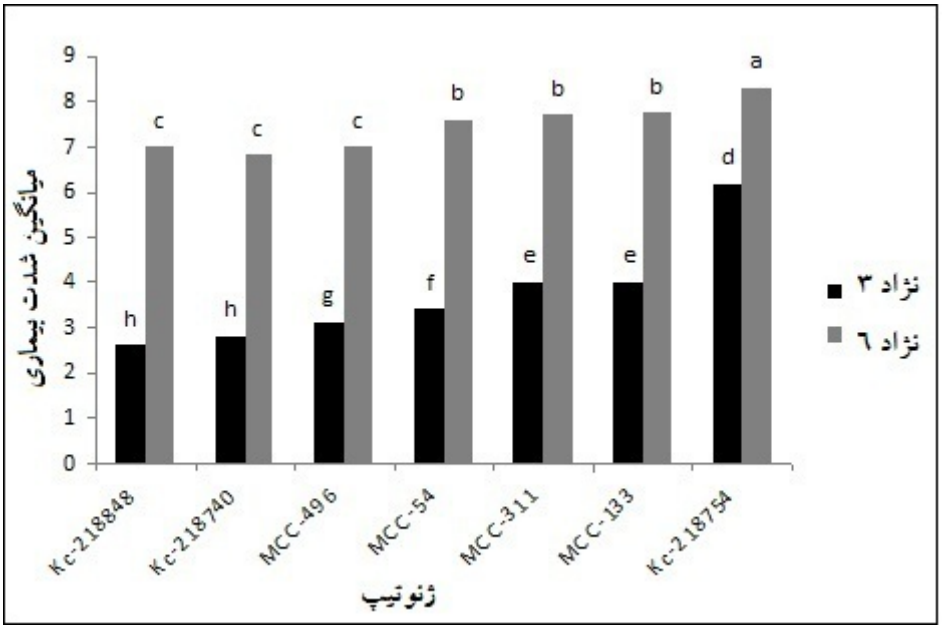
میانگین شدت بیماری روی این ژنوتیپ پس از طی این زمان از تلقیح، ۶/۲ بود. گسترش زخم‌ها روی برگچه‌ها و ساقه قابل مشاهده بود ولی شدت پژمردگی و مرگ گیاه در اثر آلودگی با این نژاد به مراتب کمتر بود. احاطه‌شدن ساقه توسط لکه‌ها در تعداد معدودی از گیاهان مشاهده شد. پس از گذشت این زمان، علائم بیماری روی ژنوتیپ‌های Kc-218848 و Kc-218740 تنها روی برگ‌ها و به صورت پراکنده و به شکل زخم‌های قهوه‌ای تیره با حاشیه خاکستری رنگ قابل مشاهده بود.

در ژنوتیپ‌های MCC-496، MCC-54، MCC-311 و MCC-133 علائم شدت بیشتری داشتند و علاوه بر برگچه‌ها روی ساقه نیز قابل مشاهده بودند ولی باز هم در مقایسه با ژنوتیپ حساس میزان گستردگی آن‌ها کمتر بود. بر این اساس ژنوتیپ‌های منتخب از غربال‌گری اولیه در بانک ژن گیاهی ملی ایران (ژنوتیپ‌های Kc-218848 و Kc-218740) به عنوان ژنوتیپ‌های دارای مقاومت نسبی در نظر گرفته شدند در حالی که شاهد حساس (رقم بیوه‌نیچ) کاملا بر اثر بیماری از بین رفته بود (شکل ۲). در اثر آلودگی با این نژاد نیز ژنوتیپ‌های MCC-133 و MCC-311 کمی بعد از رقم حساس دچار مرگ کامل گیاه شدند.

مقایسه واکنش ژنوتیپ‌ها در برابر دو نژاد ۳ و ٦: تجزیه داده‌های حاصل از شدت بیماری نشان داد که بین قدرت بیماریزائی دو نژاد اختلاف معنی‌داری ($P<۰/۰۱$) وجود دارد. شدت خسارت وارده به ژنوتیپ‌ها توسط نژاد ۶ قارچ بسیار بیشتر بود و این نژاد قدرت بیماری‌زایی بیشتری از خود نشان داد. نتایج تجزیه واریانس اثر ژنوتیپ را نیز معنی‌دار ($P<۰/۰۱$) نشان داد. این نتیجه بدان معنی است که سطوح مقاومت ژنوتیپ‌های مورد بررسی با یکدیگر متفاوت است. به علاوه اثر متقابل بین نژاد و ژنوتیپ نیز معنی‌دار بود که نشان‌دهنده وجود واکنش مختلف یک نمونه در برابر نژادهای مختلف قارچ *A. rabiei* بوده و حاکی از وجود مقاومت اختصاصی نژاد در نمونه‌های ژنتیکی مورد بررسی می‌باشد. در واقع یک نژاد که در یک گروه بیماریزایی قرار دارد، ممکن است در مقابل ژنوتیپ‌های مختلف شدت بیماریزایی متفاوتی از خود نشان دهد (شکل ۳).

به هر حال هیچ یک از ژنوتیپ‌های بررسی شده در این تحقیق در برابر نژاد ۶ قارچ عامل بیماری برق‌زدگی در شرایط گلخانه مقاومت کامل نداشتند و سطوح مختلفی از حساسیت را نشان دادند که این امر موید بیماریزایی شدید این نژاد می‌باشد (جدول ۲). شهریاری و ایزدیار (۲) نیز نژاد ۶ را یکی از قوی‌ترین نژادها از نظر شدت بیماریزایی معرفی کردند. آن‌ها گسترش این نژاد را در مناطق مختلف کشور از جمله کرمانشاه، آذربایجان شرقی و شمال شرق ایران گزارش کرده‌اند ولی این دلیلی بر عدم وجود این نژاد در دیگر مناطق کشور نمی‌باشد.

شکل۲- مقایسه ژنوتیپ حساس Kc-218754 (راست) و ژنوتیپ مقاوم Kc-218848 (چپ) چهارده روز پس از آلوده‌سازی با نژاد ۳ قارچ *A. rabiei*



شکل ۳-مقایسه میانگین شدت بیماری در ژنوتیپ‌های مورد بررسی در برابر نژادهای ۳ و ٦ قارچ *A. rabiei*

با این وجود درجه بیماری بین ژنوتیپ‌های آلوده شده با این نژاد در مقایسه با شاهد حساس بطور معنی‌دار متفاوت بود. در این میان ژنوتیپ Kc-218740 دارای میانگین کمتر از ۷ و بقیه ژنوتیپ‌ها دارای میانگین بیشتر از ۷ بودند. کاکوئی نژاد و مظفری (۵) نیز در بررسی خود به منظور ارزیابی مقاومت ژرم پلاسم نخود دسی بومی ایران در برابر نژادهای مختلف قارچ عامل بیماری برق‌زدگی، هیچ منبع مقاومتی در برابر نژاد ۶ گزارش نکردند. نتایج آن‌ها نشان داد میانگین شدت بیماری ایجاد شده در اثر آلودگی با نژاد ۶ در ژنوتیپ Kc-218740 نسبت به سایر ارقام کمتر بود، هرچند که این اختلاف معنی‌دار نبود.

جدول۲- حداقل، حداکثر و مقایسه میانگین شدت علائم بیماری دو نژاد قارچ بر روی ژنوتیپ‌های مورد بررسی دو هفته پس از آلوده‌سازی با نژادهای ۳ و ٦ قارچ *A. rabiei*

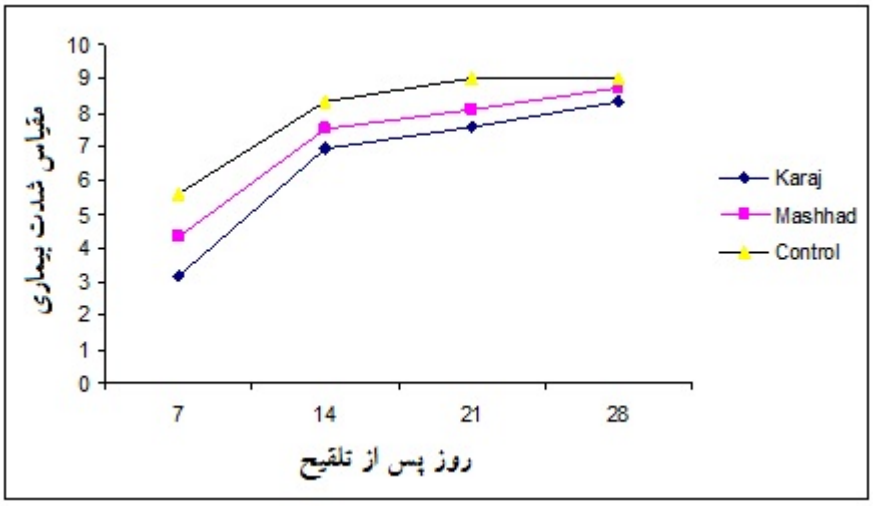
ژنوتیپ نخود	نژاد ۳ درجه بیماری			نژاد ٦ درجه بیماری		
	میانگین	حداقل	حداکثر	میانگین	حداقل	حداکثر
Kc-218848	۲/۶۳	۲	۳	۷	۷	۷
Kc-218740	۲/۸۳	۲	۳	۶/۸۵	۶	۷
MCC-496	۳/۱۳	۳	۴	۷	۷	۷
MCC-54	۳/۴۳	۳	۴	۷/۵۸	۷	۸
MCC-311	۴	۴	۴	۷/۷۲	۷	۸
MCC-133	۴	۴	۴	۷/۷۷	۷	۸
Kc-218754	۶/۲	۶	۷	۸/۳	۸	۹

Lsd (0.05) =0.2967

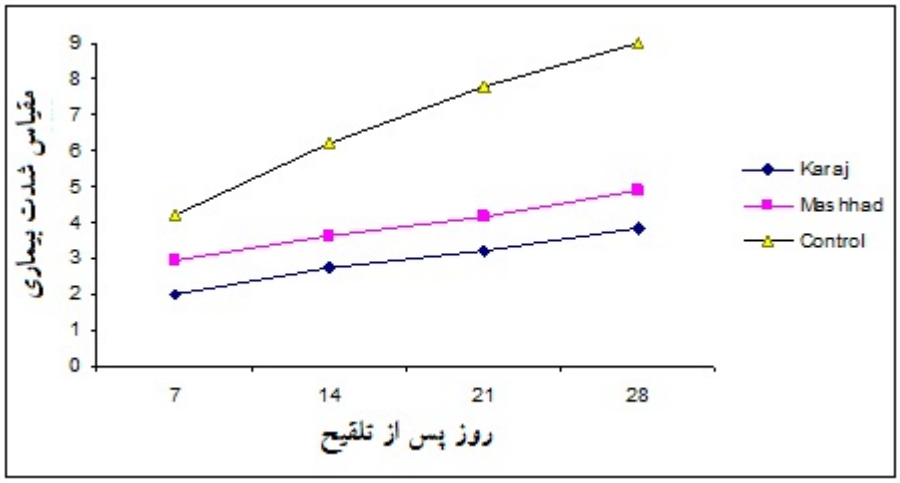
بررسی عکس‌العمل ژنوتیپ‌ها در مقابل نژاد ۳ قارچ عامل بیماری نشان داد که میانگین شدت بیماری در ژنوتیپ‌های مختلف بین ۲ تا ۴ متغیر می‌باشد. در این میان دو ژنوتیپ Kc-218848 و Kc-218740 به عنوان مقاوم و دیگر ژنوتیپ‌ها به عنوان نسبتا مقاوم یا نسبتا حساس در نظر گرفته شدند. در حالی که ژنوتیپ بیوه‌نیچ کاملا حساس بود (شکل ۱ و جدول ۲).

روند توسعه بیماری در طول فصل زراعی: روند توسعه بیماری در درجه شدت بیماری و در نتیجه میزان خسارت بیماری و طبقه‌بندی ژنوتیپ‌ها در گروه حساس یا مقاوم بسیار حائز اهمیت است به طوری که روند آهسته گسترش بیماری موجب تاخیر در خسارت‌زائی بیماری و در نتیجه بروز صفت مقاومت می‌گردد. به این ترتیب احتمال فرار از بیماری در مزرعه برای ارقام مقاوم بیشتر می‌شود و این ارقام می‌توانند بعد از رفع فشار بیماری و مساعد شدن شرایط برای رشد گیاه، بهبود یافته و تولید محصول بنمایند (۱۸). بررسی این روند در بین ژنوتیپ‌های بانک ژن گیاهی ملی ایران (کرج)، پژوهشکده علوم گیاهی مشهد و حساس آلوده شده با نژاد ۶ در طی یک ماه پس از آلودگی نشان داد که علیرغم وجود اختلاف در میانگین شدت بیماری بین ژنوتیپ‌ها در طول این آزمایش، هیچ کدام مقاومت کافی در مقابل این نژاد از قارچ نداشتند (شکل ۴).

در حالی که بررسی این روند در برابر نژاد ۳ نشان داد اگر چه با گذشت زمان شدت بیماری در تمام ژنوتیپ‌ها افزایش نشان می‌دهد ولی میزان مقاومت نسبی ژنوتیپ‌های بانک ژن گیاهی ملی ایران (کرج) بطور میانگین بیشتر از ژنوتیپ‌های مشهد و شاهد حساس است و به همین دلیل میزان مقاومت این نمونه‌ها به بیماری برق‌زدگی بیشتر می‌باشد (شکل ۵).



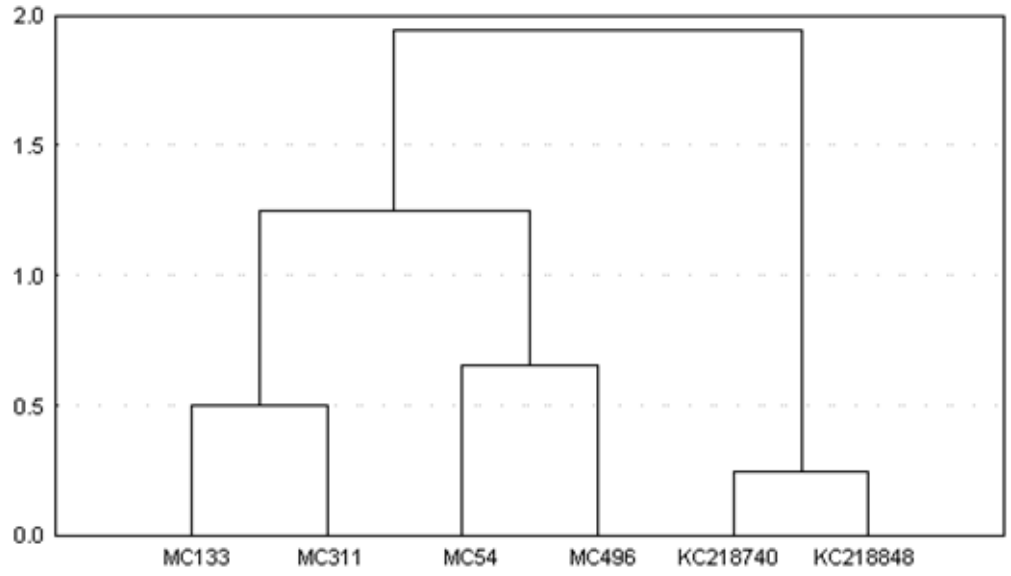
شکل ٤- روند توسعه بیماری در ژنوتیپ‌های مختلف آلوده شده با نژاد ٦ قارچ *A. rabiri*



شکل ۵- روند توسعه بیماری در ژنوتیپ‌های مختلف آلوده شده با نژاد ۳ قارچ *A. rabiri*

مقایسه روند توسعه بیماری در برابر دو نژاد نشان داد که بین عکس العمل ژنوتیپ‌ها به نژاد ۳ و ۶ تفاوت چشمگیری وجود دارد و افزایش درجه شدت بیماری در نژاد ۳ قارچ در مقایسه با نژاد ۶ شیب کمتری داشته و بطور قابل ملاحظه‌ای آهسته‌تر است. آدوپا و ویگانند (۱۸) نیز طی تحقیق خود روی روند توسعه بیماری ژنوتیپ‌های نخود در برابر نژادهای مختلف قارچ *A. rabiei* دریافتند که روند توسعه بیماری ژنوتیپ‌های مقاوم در برابر نژادهای با قدرت بیماریزایی کم دارای شیب ملایم و در برابر نژادهای با قدرت بیماریزایی زیاد دارای شیب تند می‌باشد.

تجزیه خوشه‌ای روند توسعه بیماری در طی چهار هفته متوالی پس از آلودگی با نژاد ۳، نمونه‌های ژنتیکی مورد بررسی را به دو گروه قابل تشخیص تقسیم نمود. ژنوتیپ‌های Kc-218848 و Kc-218740 در یک گروه و ژنوتیپ‌های اخذ شده از پژوهشکده علوم گیاهی مشهد نیز در یک گروه جداگانه قرار گرفتند که این امر نیز دلیل دیگر بر متفاوت بودن روند واکنش نمونه‌های ژنتیکی نخود بانک ژن گیاهی ملی ایران نسبت به نمونه‌های ژنتیکی نخود پژوهشکده علوم گیاهی مشهد در برابر این نژاد از قارچ می‌باشد (شکل ۶).



شکل ٦- تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌های مختلف براساس روند توسعه بیماری در طی یک ماه پس از آلوده‌سازی با نژاد ۳ قارچ برق‌زدگی با استفاده از فاصله اقلیدوسی و روش UPGMA

از مجموع این نتایج می‌توان این گونه استنباط کرد که هیچ کدام از ژنوتیپ‌های مورد آزمایش در برابر نژاد ۶ قارچ *A. rabiei* دارای مقاومت کافی نیستند در حالی که دو ژنوتیپ بانک ژن گیاهی ملی ایران یعنی نمونه‌های ژنتیکی Kc-218848 و Kc-218740 نسبت به ژنوتیپ‌های نخود موجود در پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد در برابر نژاد ۳ قارچ *A. rabiei* مقاومت بسیار بیشتری نشان می‌دهند. بنابراین با توجه به بومی بودن نمونه‌های مقاوم شناسایی شده در این مطالعه، جهت استفاده در اصلاح ارقام تجاری مقاوم برای مناطقی از کشور که نژاد ۳ قارچ در آن جا شایع است، مناسب تشخیص داده می‌شوند.

منابع

۱-پارسا م. و باقری ع. ۱۳۸۷. حبوبات. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد

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

۳-شکوهی فر ف.، باقری ع.، فلاحتی رستگار م. و ملک‌زاده س. ۱۳۸۲. تعیین گروه بیماریزایی جدایه‌های قارچ *Ascochyta rabiei* در ایران. مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی، سال دهم، شماره اول، صفحه ۲۳۱-۲۱۷.

۴-شکوهی‌فر ف. باقری ع. و فلاحتی رستگار م. ۱۳۸۵. شناسائی ارقام مقاوم نخود در مقابل پاتوتیپهای عامل بیماری برق‌زدگی نخود در ایران. مجله زیست شناسی ایران، جلد ۱۹، شماره ۱، صفحه ۴۲-۲۹.

۵-کاکوئی‌نژاد م. و مظفری ج. ۱۳۸۲. ارزیابی ژرم‌پلاسم نخود دسی بومی ایران برای مقاومت به بیماری برق‌زدگی. مجموعه خلاصه مقالات هشتمین کنگره ژنتیک ایران، صفحه ۳۷۳.

۶-کانونی ه.، طالعی ع.، پیغمبری ع.، اخوت م.، باوم م. و ابنگ م. ۱۳۸۸. تجزیه QTL برای مقاومت به بیماری برق‌زدگی در نخود زراعی (*Cicer arietinum* L.) با استفاده از نشانگرهای ریز ماهواره. مجله به‌نژادی نهال و بذر، جلد ۱-۲۵، شماره ۱، صفحه ۱۲۷-۱۰۹.

۷-نوراللهی خ.، جوان نیکخواه م.، نقوی م. و اخوت م. ۱۳۸۸. تنوع بیماریزایی در قارچ *Didymella rabiei* عامل بیماری برق‌زدگی نخود در استان‌های ایلام و کرمانشاه. نشریه حفاظت گیاهان، جلد ۲۳، شماره ۲، صفحه ۶۵-۵۶.

۸-صباغ پور ح. و حمداله زاده ا. ۱۳۸۱. عملکرد رقم نخود هاشم و مقاومت آن به بیماری برق‌زدگی. خلاصه مقالات چهاردهمین کنگره گیاهپزشکی ایران. صفحه ۱۶۰.

۹-مظفری ج.، کاکوئی نژاد م. و فلاحتی رستگار م. ۱۳۸۲. مقاومت ژنتیکی به قارچ *Ascochyta rabiei* در گونه‌های مختلف نخود وحشی. مجموعه خلاصه مقالات هشتمین کنگره ژنتیک ایران، صفحه ۳۷۵.

۱۰-یونسی ح.، اخوت م.، حجارود ق.، سزاد ج. و طالعی ع. ۱۳۷۹. ارزیابی مقاومت تعدادی از ارقام نخود معمولی بومی استان کرمانشاه در شرایط گلخانه و مزرعه در مقابل سه نژاد *Ascochyta rabiei*. خلاصه مقالات چهاردهمین کنگره گیاهپزشکی ایران، صفحه ۲۷.

11-Bokhari A.A., Ashraf M., Rehman A., Ahmad A., and Iqbal M. 2011. Screening of chickpea germplasm against Ascochyta blight. Pakistan Journal of Phytopathology, 23: 5-8.

12-Du W., Zhao X., Raju T., Davies P. and Trethowan R. 2011. Identification of *Ascochyta rabiei* disease resistance in chickpea genotypes. Euphytica, 186: 697-704.

13-Iqbal S.M., Hossain S., Bakhsh A. and Bashir M. 2002. Source of resistance in chickpea against Ascochyta Blight disease. International Journal of Agriculture and Biology, 4: 488-490.

14-Reddy M.V., Singh K.B. and Nene Y.L. 1984. Screening techniques for Ascochyta blight of chickpea. p. 45-53. In: M.C. saxena and K.B. Singh. (ed.) Proceeding of the workshop on Ascochyta blight and winter sowing of chickpea. 4-7 May 1981, ICARDA, Aleppo, Syria: Martinus Nijhoff / Dr. W. Junk Publisher for ICARDA.

15-Singh K.B. and Reddy M.V. 1993. Resistance to six races of *Ascochyta rabiei* in the world germplasm collection of chickpea. Crop Science, 33: 186-189.

16-Taleei A., Kanouni H. and Baum M. 2011. Genetical studies of Ascochyta Blight resistance in chickpea. International Journal of Bioscience and Biotechnology, 2: 19-28.

17-Toker C. and Canci H. 2003. Selection of chickpea (*Cicer arietinum* L.) genotypes for resistance Ascochyta Blight, yield and yield criteria. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 27: 277-283.

18-Udupa S.M. and Weigand F. 1997. Pathotyping of *Ascochyta rabiei* isolates of Syria. p. 39-48. In: S.M. Udupa and F. Wigand (ed.). DNA markers and breeding for resistance to Ascochyta Blight in chickpea. Proceedings of the symposium on application of DNA fingerprinting for crop improvement: marker assisted selection of chickpea for sustainable agriculture in the dry areas, 11-12 April 1994, Aleppo, Syria, ICARDA.