

شناسایی و الگوی پراکنش پاتوتیپ‌ها و نژادهای قارچ *Ascochyta rabiei* عامل بیماری برق‌زدگی نخود در مناطق معتدل کشور

فرشید محمودی^{۱*}، معصومه خیرگو^۲، جواد اشرفی^۳

- ۱- معاونت موسسه تحقیقات کشاورزی دیم کشور-سرارود، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرمانشاه، ایران.
- ۲- مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان گلستان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، گرگان، ایران.
- ۳- مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان ایلام، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ایلام، ایران.

چکیده مبسوط

مقدمه: نخود در بیش از ۵۰ کشور دنیا کشت می‌گردد. این محصول از لحاظ تولید و سطح زیر کشت در مقیاس جهانی، پس از لوبیا و نخودفرنگی مقام سوم را به خود اختصاص داده است. بیماری برق‌زدگی ناشی از قارچ *Ascochyta rabiei* یکی از علل کاهش شدید محصول نخود در نواحی کشت آن در کشور است. شناسایی نژادهای فیزیولوژیک در هر منطقه جهت شناسایی منابع مقاومت پایدار امری ضروری و اجتناب‌ناپذیر است. به این منظور تحقیق حاضر جهت تعیین ساختار جمعیتی، تنوع ژنتیکی، الگوی پراکنش پاتوتیپ‌ها و بررسی تغییرات پرازاری قارچ عامل بیماری برق‌زدگی در مناطق عمده کشت نخود شامل استان‌های کرمانشاه، ایلام و گلستان انجام گرفت. **روش شناسی پژوهش:** تنوع بیماری‌زایی جدایه‌های قارچ *A. rabiei* در مزارع آزمایشی مناطق مختلف کشت نخود با استفاده از سه مجموعه استاندارد و جهانی از مجموعه ژرم‌پلاس‌های نخود مراکز تحقیقات بین‌المللی ایکاردا و ایکریسات مورد مطالعه قرار گرفت. این مجموعه‌ها شامل ۳ ژرم‌پلاس افتراقی (ILC 1929, ILC 482, ILC 3279) برای تعیین گروه‌های پاتوتیپی، یک مجموعه شامل ۶ ژرم‌پلاس افتراقی (ILC 1929, F8, ICC 1903, ILC 249, ILC 3279, ICC 3996) و یک مجموعه شامل ۷ ژرم‌پلاس (ILC 1929, ILC 5928, ILC 202, ILC 72, ICC) برای توصیف جدایه‌ها و تعیین نژادهای فیزیولوژیک بود. آزمون‌های گلخانه‌ای به منظور حذف اثرات شرایط محیطی متفاوت و تأیید نتایج مزرعه‌ای انجام شد. واکنش ژنوتیپ‌ها در مزرعه و گلخانه بر اساس مقیاس نمره‌ای ۱-۹ تعیین شد.

یافته‌های پژوهش: جدایه‌های بیمارگر *A. rabiei* مناطق مختلف بر اساس درجه بیماری‌زایی و پرازاری روی گروه‌های ارقام افتراقی تعیین پاتوتیپ و تعیین نژاد گردیدند. نژادهای ۱ و ۳ از ایلام و نژاد ۱ از کرمانشاه در قالب پاتوتیپ I (حداقل بیماری‌زایی)، نژاد ۴ و ۵ از کرمانشاه و ایلام در فرم پاتوتیپ II (نسبتاً پراز)، و نژاد ۶ از گلستان و کرمانشاه در شکل پاتوتیپ ۳ (بسیار بیماری‌زا)، به‌تناوب و در سال‌های مختلف زراعی ظاهر شده و غالبیت داشتند. پاتوتیپ I با حداقل بیماری‌زایی باعث مرگ ILC 1929 شد؛ اما قادر به ایجاد بیماری در ILC 482 و ILC 3279



* نگارنده مسئول: f.m3162@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۲/۰۶ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۶/۲۰

نبود. پاتوتیپ II باعث مرگ ILC 1929 و ILC 482 گردید، اما روی ILC 3279 مقاوم بود. پاتوتیپ III با حداکثر بیماری‌زایی، باعث بیماری و حساسیت روی ارقام ILC 1929، ILC 482 و ILC 3279 شد. کلمات کلیدی: نخود، بیماری برق‌زدگی، *A. rabiei*، پاتوتیپ، نژاد فیزیولوژیک

مقدمه

از این‌رو، ابتدا باید شناخت دقیقی از تنوع ژنتیکی بیمارگر، پاتوتیپ‌ها و نژادهای آن در مناطق آلوده به‌دست آورد و سپس با شناسایی نژادهای غالب، منابع مقاومت به بیماری را تعیین و ارقام مناسب هر منطقه را معرفی کرد. بر اساس مطالعات صورت‌گرفته، بررسی تنوع جمعیت قارچ در هر منطقه لازمه انجام برنامه‌های اصلاحی و به‌گزینی برای دستیابی به ارقام مقاوم است.

باتوجه‌به تفاوت جمعیت این بیمارگر در مناطق مختلف، انجام مطالعات به‌گزینی برای هر منطقه ضرورت دارد. ارقام مقاومی مانند آرمان و آزاد هنگامی‌که به ترتیب در سال‌های ۱۳۸۳ و ۱۳۸۷ معرفی و آزاد شدند، در ابتدا توانایی واپایش مؤثر بیماری برق‌زدگی بودند، در صورتی‌که در سال‌های اخیر بروز نسبتاً شدید این بیماری روی این ارقام گزارش شده است و این موضوع احتمالاً ناشی از افزایش بیماری‌زایی جمعیت بیمارگر یا فشار بالای زادمایه (اینوکوم) است. تثبیت یک برنامه اصلاحی مقاوم‌سازی کارآمد و مؤثر ارقام، نیاز مبرم به درک و دانش تنوع بیماری‌زایی در جمعیت بیمارگر در نواحی تولید نخود و دسترسی به منابع مقاومت مطمئن و کارآمد از ارقام تجاری دارد (Singh and Reddy, 1993). تنوع ژنتیکی قارچ عامل بیماری برق‌زدگی از بسیاری از کشورهای تولیدکننده نخود گزارش شده است. تنوع بیماری‌زایی در میان جدایه‌های *A. rabiei* از هند (Vir and Grewal, 1974; Singh, 1990; Singh and Pal, 1993; Ambardar and Singh, 1996) سوریه و لبنان (Reddy and Kabbebeh, 1985; Singh and Reddy, 1993; Udupa and Weigand, 1997) ناحیه پالوس ایالات متحده آمریکا (Porta-Puglia et al., 1991) و (Jan and Wiese, 1991) ایتالیا

نخود از نظر اهمیت، سطح زیر کشت و میزان تولید سومین جایگاه را در میان حبوبات جهان به خود اختصاص داده است. سطح زیر کشت، میزان تولید و عملکرد جهانی نخود به ترتیب ۱۴/۸۴۲ میلیون هکتار، ۱۵/۰۸۴ میلیون تن و ۱۰۱۶ کیلوگرم در هکتار است. در ایران سطح زیر کشت، تولید سالیانه و میانگین عملکرد نخود به ترتیب ۵۱۴/۲۸۴ هکتار، ۲۲۶/۵۹۵ تن و ۴۴۰ کیلوگرم در هکتار است (FAO, 2020). بیماری برق‌زدگی مخرب‌ترین بیماری شاخه و برگ نخود در بسیاری از کشورها است که توسط یک عامل قارچی ایجاد می‌گردد که دارای هر دو مرحله جنسی (*Didymella rabiei*) و غیرجنسی (*A. rabiei*) است (Pande et al., 2005; Wilson and Kaiser, 1995). این بیماری در نقاط مختلف جهان باعث خسارت قابل‌توجهی در محدوده ۵ تا ۱۰۰٪ محصول می‌شود (Haware, 1998). استفاده از ارقام مقاوم نخود اقتصادی‌ترین و مطمئن‌ترین شیوه در استراتژی مدیریت و واپایش این بیماری محسوب می‌گردد (Peever et al., 2004; Turkkan and Dolar, 2009). لذا یکی از مهمترین رویکردهای محققان و اصلاح‌گران نخود در دنیا بر معرفی و توسعه ارقام مقاوم به این بیماری می‌باشد (Ilyas et al., 2007). هرچند که به‌نژادی مقاومت ارقام نخود به دلیل تنوع و تفاوت زیاد در بیماری‌زایی جدایه‌های *A. rabiei* بسیار دشوار بوده و ماهیت ژنتیکی این بیمارگر نیز به طور مداوم دستخوش تغییر است (Ali et al., 2013). تنوع ژنتیکی بالا *A. rabiei* و وقوع مکرر نوترکیبی زمینه را برای ظهور پاتوتیپ‌های جدید فراهم می‌کند و در نتیجه منابع مقاومت موجود را بی‌اثر می‌سازد (Chongo et al., 2004).

گروه‌بندی ۴۰ جدایه *A. rabiei* عمدتاً جمع‌آوری‌شده در سال ۱۹۹۸ از ارقام تجاری در ساسکاچوان کانادا، مورد استفاده قرار گرفت. این جدایه‌ها بر اساس واکنش مقاومت یا حساسیت در برابر ارقام افتراقی به ۱۴ پاتوتیپ گروه‌بندی گردیدند که هر گروه پاتوتیپی مشتمل بر ۱ تا ۸ جدایه بود. افتراق جدایه‌های *A. rabiei* به سه گروه شامل پاتوتیپ I, II و III در سوریه گزارش گردیده و به طور گسترده‌ای مورد پذیرش بوده است (Udupa et al., 1998)، این محققین پیشنهاد نمودند که تنها سه رقم افتراقی از هر گروه (حساس، متحمل و بسیار مقاوم) برای تعیین پاتوتیپ جدایه‌های *A. rabiei* داخل ۳ پاتوتیپ بر اساس افزایش سطح پرازاری کافی است. ارقام افتراقی استاندارد مورد استفاده در ایکاردا ICARDA شامل ILC 3279 به‌عنوان ژنوتیپ مقاوم، ILC 482 به‌عنوان متحمل و ILC 1929 به‌عنوان ژنوتیپ حساس در نظر گرفته شدند. به طور مشابهی در بخش کشاورزی ایالات متحده ارقام *Dwelley* و *Spanish White* برای تعیین پاتوتیپ جدایه‌ها به ترتیب داخل دو گروه پاتوتیپی I و II مورد استفاده قرار گرفتند. آنها با انجام آزمایش‌هایی روی ۴۴ جدایه *A. rabiei* و ۴۸ لاین نخود (شامل ۳۲ لاین افتراقی)، اثبات کردند که نژادهای یک تا پنج می‌توانند متعلق به یک پاتوتیپ اصلی (پاتوتیپ I) و نژاد شش به طور منفرد متعلق به پاتوتیپ دیگری (پاتوتیپ II) بر مبنای شدت آلودگی و فاکتور درصد برگ آلوده باشند. به‌علاوه آنها نشان دادند که سازوکار مقاومت برای پاتوتیپ I به‌صورت ژن اصلی و برای پاتوتیپ II به‌صورت ژن‌های خرد با اثرهای افزایشی است (Chen et al., 2004). استفاده از ارقام افتراقی به‌صورت کشت در مناطق آلوده که از آن به‌عنوان خزانه تله نام‌برده می‌شود برای تعیین نژاد و درصد تغییرات پرازاری اولین بار در خصوص بیماری سفیدک پودی غلات به کار رفت و سپس برای زنگ‌های غلات و دیگر بیماری‌ها توصیه گردید (Johnson, 1983). در پاکستان هم سه پاتوتیپ

Qureshi and Alam, 1984; (al., 1996)، پاکستان (al., 1993; Hussain and Malik, 1991; Jamil et al., 1995; Jamil et al., 1997; Jamil et al., 2000)، اسپانیا (NavasCortes et al., 1998)، استرالیا (Khan et al., 1999)، تونس (Hamza et al., 2000) و کانادا (Chongo et al., 2004) گزارش شده‌است.

ردی و کبابه (Reddy and Kabbabeh, 1985) شش نژاد از قارچ *A. rabiei* را از جدایه‌های جمع‌آوری‌شده از سوریه و لبنان با استفاده از ۱۸ رقم افتراقی شناسایی نمودند و بعداً اودوپا و ویگاند (Udupa and Weigand, 1997) ۴۷ جدایه را گروه‌بندی نمودند و شش نژاد را بر اساس پرازاری روی سه رقم افتراقی نخود داخل ۳ پاتوتیپ قرار دادند. هیچ‌کدام از پاتوتیپ‌های توصیف شده روی ژنوتیپ‌های ICC 12004 و ICC 3996 بیماری‌زا نبودند. بعداً جدایه‌های بیماری‌زاتر که قادر به حمله به دو ژنوتیپ مذکور بودند در یک جمعیت جمع‌آوری شده از سوریه شناسایی شد. ۱۳۰ جدایه قارچ *A. rabiei* با استفاده سه ژنوتیپ افتراقی با سطوح مختلف مقاومت، بر اساس پرازاری جدایه‌ها داخل ۳ پاتوتیپ گروه‌بندی شد (Jamil et al., 2000; Bayaa et al., 2004; Imtiaz et al., 2011; Atik et al., 2013) ناواس کورتس و همکاران (Navas-Cortes et al., 1998) با استفاده از ۵ جدایه از هند، ۱۴ جدایه از اسپانیا، ۱۱ جدایه از پاکستان، ۷ جدایه از آمریکا، ۲ جدایه از مراکش و یونان و یک جدایه از ترکیه، ایتالیا و فرانسه، ۱۱ پاتوتیپ را مشخص نمود. هفده نماینده از ژنوتیپ‌های قارچ *A. rabiei* از ناحیه بیجا در تونس روی ۸ ژنوتیپ افتراقی مورد آزمایش قرار گرفتند و در نهایت ۵ فنوتیپ بسیار بیماری‌زا با استفاده تجزیه کلاستر مشخص گردیدند (Hamza et al., 2000). در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۰۴ توسط چانگو و همکاران (Chongo et al., 2004) انجام شد یک مجموعه افتراقی نخود شامل ۵ رقم کابلی (ILC 4421, FLIP) و سه رقم (ILC 3856, Sanford, UC 27) و سه رقم دسی (ICC 4200, ICC 4475, ICC 6328) برای

توسط جمیل و همکاران (Jamil *et al.*, 2000) و علی و همکاران (Ali *et al.*, 2012) با استفاده از ژنوتیپ‌های افتراقی نخود (ILC1929, ILC482, Spanish white, Dwelley) و (ILC3279, ICC12004) به ترتیب گزارش شده است، و اخیراً یک پاتوتیپ بسیار پر آزار به نام پاتوتیپ IV توسط امتیاز و همکاران (Imtiaz *et al.*, 2013) گزارش گردیده است. هدف اصلی این پژوهش، تنوع ژنتیکی، بیماری‌زایی و الگوی پراکنش پاتوتیپ‌ها و نژادهای قارچ *A. rabiei* عامل بیماری برق‌زدگی نخود در مناطق معتدل کشور بود.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی: تنوع بیماری‌زایی جدایه‌های قارچ *A. rabiei* مناطق مختلف با استفاده از سه مجموعه استاندارد و جهانی از مجموعه ژرم‌پلاس‌های نخود در مراکز تحقیقات بین‌المللی ایکاردا (ICARDA) و ایکریسات (ICRISAT) مورد مطالعه قرار گرفت (جدول ۱). این مجموعه‌ها شامل ۳ ژرم پلاس‌م افتراقی (ILC 1929, ILC 482, ILC 3279) برای تعیین گروه‌های پاتوتیپی توصیه شده توسط اودوپا و ویگان (Udupa and Weigand, ۱۹۹۷) یک مجموعه شامل ۶ ژرم پلاس‌م افتراقی (ILC 1929, F8, ICC 1903, ILC 249, ILC 3279, ICC 3996) پیشنهاد شده توسط ردی و کبابه (Reddy and Kabbabeh, 1985) و یک مجموعه شامل ۷ ژرم‌پلاس‌م (ILC 1929, ILC 5928, ILC 202, ILC 72, ICC 3996, ILC 194, Pch15) پیشنهاد شده توسط سینگ (Singh, 2002) برای توصیف جدایه‌ها و تعیین نژادهای فیزیولوژیک بود (جدول ۲، ۳ و ۴). واکنش ژنوتیپ‌ها بر اساس مقیاس نمره‌ای ۱-۹ (resistant=1, plant death = 9) تعیین شد (Singh and Reddy 1993).

بذور ژنوتیپ‌های افتراقی نخود در خطوط دو متری بافاصله ۳۰ سانتیمتر از هم و فاصله بذور روی خطوط ۱۰ سانتیمتر در ۳ تکرار در مزارع آزمایشی

ایستگاه‌های تحقیقاتی سرارود (کرمانشاه)، شیراوان چرداول (ایلام) و گنبد (گلستان) در طول سه سال زراعی و در نیمه دوم آبان‌ماه هرسال کشت گردیدند. برای تأمین کود موردنیاز، بر اساس توصیه محققین بخش خاک از ۲۰ کیلوگرم ازت خالص در هکتار استفاده گردید. در لابه‌لای خطوط و اطراف خزانه ترپ‌نرسی رقم حساس به‌منظور استقرار و گسترش بیشتر بیماری کشت گردید. در طول ماه‌ها و روزهای خشک از دستگاه مه‌پاش (Mist Irrigation) به مدت سه ساعت در روز جهت تأمین رطوبت نسبی استفاده گردید. در طول آزمایش مبارزه با علف‌های هرز به‌صورت وجین دستی انجام گرفت. پس از مشاهده علائم بیماری و بررسی واکنش متقابل جدایه - ژنوتیپ و انطباق واکنش‌ها و تیپ آلودگی با جداول سه‌گانه (جدول ۲، ۳ و ۴)، جمعیت و ساختار پاتوتیپی قارچ عامل بیماری در مناطق مختلف تعیین گردید. به‌منظور تأیید نتایج مزرعه‌ای و الگوهای ویروالانس و حذف اثرات متفاوت شرایط محیطی از جدایه‌های حاصل از خزانه تله جهت مطالعات گلاخانه‌ای نمونه‌برداری به عمل آمد. ارزیابی واکنش متقابل جدایه - ژنوتیپ با استفاده از روش نمره‌ای (۱-۹) ارائه شده توسط سینگ و ردی (Singh and Reddy, 1993) و ثبت بیشینه شدت بیماری در سه مرحله یادداشت‌برداری انجام گرفت.

جدایه‌های قارچی و نگهداری: جدایه‌های قارچی از گیاهان نخود آلوده موجود در خزانه‌های تله مناطق مختلف (کرمانشاه، ایلام، گلستان) نمونه‌برداری و جداسازی گردیدند. برای جداسازی قارچ از گیاهان آلوده، ساقه، برگ، غلاف و اندام‌های دارای علائم تیپیک بیماری در قطعات ۵/۰ سانتیمتری برش داده شدند، سپس این قطعات در هیپوکلریت سدیم ۵٪ برای مدت ۳ دقیقه ضدعفونی سطحی گردیدند و برای مدت ۳ دقیقه در آب مقطر سترون آبکشی شده و روی حوله کاغذی سترون خشک گردیدند، این قطعات روی محیط کشت نخود - دکستروز - آگار (Chickpea Seed Meal Dextrose CSM DA

گروه‌بندی بیماری‌زایی جدایه‌ها: واکنش قابل‌مشاهده ژنوتیپ - بیمارگر بر اساس تیپ آلودگی پیشنهاد شده توسط ترکان و دولار (Turkkan and Dolar, 2009) انجام شد. در این شیوه تیپ‌های آلودگی ۱ تا ۴/۹ به‌عنوان مقاوم و تیپ‌های آلودگی ۵ تا ۹ به‌عنوان حساس در نظر گرفته شد و در نهایت با تطبیق نتایج با الگوی تعیین پاتوتیپ/ نژاد (جداول ۲، ۳ و ۴) نسبت به شناسایی پاتوتیپ و نژادهای فیزیولوژیک جدایه‌ها اقدام به عمل آمد.

Agar) ۴۰ گرم پودر نخود، ۲۰ گرم دکستروز، ۱۶ گرم آگار و یک لیتر آب مقطر) قرار داده شده و در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد و دوره نوری ۱۲ ساعت نور/۱۲ ساعت تاریکی برای مدت ۷-۱۴ روز کشت گردیدند. جدایه‌ها یا روی کاغذ صافی سلولزی یا به‌صورت اسپور در آب مقطر سترون در ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردیدند. تمام جدایه‌های مورد‌استفاده در این تحقیق خالص‌سازی گردیده و از تک‌کنیدی به دست آمدند.



شکل ۱- نمایی از مایه‌زنی ارقام افتراقی نخود در شرایط گلخانه‌ای

Figure 1. Inoculation of differential chickpea genotypes under greenhouse conditions

جدول ۱- ژنوتیپ‌های افتراقی مورد‌استفاده با منشأ آنها

Table 1. Differential chickpea genotypes with their origin.

ردیف	ژنوتیپ	منشأ ژنوتیپ
1	ILC 482	ICARDA ¹
2	PCH 15	ICARDA
3	ILC 3279	ICARDA
4	ILC 194	ICRISAT ²
5	ICC 3996	ICARDA
6	ILC 72	ICARDA
7	ILC 249	ICARDA
8	ILC 202	ICARDA
9	ILC 5928	ICARDA
10	ICC 1903	ICRISAT
11	ILC1929	ICARDA
12	F-8	ICARDA

¹International Center for Agricultural Research in the Dry Areas, Aleppo, Syria. ² International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics, Patanchero, India.

جدول ۲- ژنوتیپ‌های افتراقی استاندارد پیشنهادی توسط اودوپا و ویگاند (Udupa and Weigand, 1997) جهت شناسایی پاتوتیپ قارچ *A. rabei* عامل بیماری برق‌زدگی نخود

Table 2. Pathotyping groups of *Ascochyta rabiei* determined by using three differential chickpea genotypes (Udupa and Weigand, 1997)

ژنوتیپ Genotype	پاتوتیپ Patotype		
	I	II	III
ILC1929	S	S	S
ILC 482	R	S	S
ILC 3279	R	R	S

S: Susceptible, R: resistant.

جدول ۳ - واکنش ژنوتیپ‌های افتراقی مورد استفاده توسط ردی و کبابه (Reddy and Kabbabeh, 1985) جهت شناسایی نژادهای قارچ *A. rabiei* عامل بیماری برق‌زدگی نخود

Table 3. differential chickpea genotypes for identification of physiologic races of *Ascochyta rabiei* (Reddy and Kabbabeh, 1985)

ژنوتیپ Genotype	نژاد Race					
	1	2	3	4	5	6
ICC 3996	R	R	R	R	R	S
ILC 3279	R	R	R	R	S	S
ILC 249	R	R	R	S	S	S
ICC 1903	R	R	S	S	S	S
F-8	R	S	S	S	S	S
ILC1929	S	S	S	S	S	S

S: Susceptible, R: resistant.

جدول ۴ - واکنش ژنوتیپ‌های افتراقی مورد استفاده سینگ و ردی (Singh and Reddy 1993) جهت شناسایی نژادهای قارچ *A. rabiei* عامل بیماری برق‌زدگی نخود

Table 4. differential chickpea genotypes for identification of physiologic races of *Ascochyta rabiei* (Singh and Reddy 1993).

ژنوتیپ Genotype	نژاد Race					
	1	2	3	4	5	6
PCH 15	R	S	S	S	S	S
ILC 194	R	R	S	S	S	S
ICC 3996	R	R	R	S	S	S
ILC 72	R	R	R	R	S	S
ILC 202	R	R	R	R	R	S
ILC 5928	R	R	R	R	R	R
ILC1929	S	S	S	S	S	S

S: Susceptible, R: resistant.

استفاده از هموسیتومتر (گلبول شمار) در حد 2×10^5 اسپور در میلی‌لیتر تعیین و تنظیم گردید. گیاهچه‌های ۳ هفته‌ای نخود با سوسپانسیون اسپور در حد 2×10^5 میلی‌لیتر به‌ازای هر گیاهچه افشانه گردیدند. برای تولید رطوبت بالا و سهولت آلودگی، گلدان‌ها با یک پوشش نیمه شفاف وارونه (Mini-dome) به مدت ۲۴ ساعت پوشانیده شدند. گیاهان در یک اتاقک رشد با درجه‌حرارت 20°C درجه سانتیگراد در طول روز و درجه‌حرارت 16°C درجه سانتیگراد در طول شب و رطوبت نسبی بالا قرار داده

تنوع بیماری‌زایی در گلخانه: از فن Mini-dome ارائه شده توسط چن و همکاران (Chen et al., 2005) برای اندازه‌گیری تنوع بیماری‌زایی جدایه‌ها در ارزیابی‌های گلخانه‌ای استفاده شد. بذره‌های نخود در گلدان‌های پلاستیکی 25×20 سانتیمتر در اتاقک رشد یا گلخانه کشت گردیدند. سوسپانسیون اسپور از کشت دوهفته‌ای هر جدایه به طور مجزا با شناورسازی پرگنه‌های حاوی پیکنیدیوم قارچ درون آب مقطر سترون و صاف نمودن آن با عبور دادن از پارچه ملل دولایه‌ای تهیه گردید. غلظت اسپور با

مناطق مختلف به اثبات رسید. برخی ژنوتیپ‌ها واکنش‌های متغیری نشان دادند که این تفاوت‌ها ممکن است به دلیل سطوح متفاوت حساسیت و مقاومت در میان ژنوتیپ‌های مختلف انتخاب شده برای تحلیل‌های بیماری‌زایی باشد. با تحلیل واکنش بیماری‌زایی جدایه‌ها و مقایسه و انطباق واکنش افتراقی ژنوتیپ‌ها در تمام مناطق، یک تنوع بیماری‌زایی و واکنش متفاوتی از لحاظ درجه بیماری‌زایی روی ارقام افتراقی مشاهده گردید (جدول ۸ و ۹). هر چند که حضور، پراکنش و آرایش پاتوژنتیکی پاتوتیپ‌ها و نژادها به‌تناوب سال و مناطق مورد آزمایش متفاوت بود. بر اساس آزمایش‌ها بیماری‌زایی جدایه‌ها داخل ۳ پاتوتیپ گروه‌بندی گردیدند. پاتوتیپ I با حداقل بیماری‌زایی باعث مرگ ILC 1929 گردید، اما در مورد ILC 3279, ILC 482 این‌طور نبود. پاتوتیپ II بیماری‌زا بود و باعث مرگ ILC 1929 و ILC 482 گردید، ولی در خصوص ILC 3279 این اتفاق نیفتاد. پاتوتیپ III بیماری‌زایی بیشتری داشت و باعث مرگ ILC 482, ILC 1929 ILC 3279 گردید. در سال اول آزمایش‌ها، نژاد ۱ در قالب پاتوتیپ I در کرمانشاه و ایلام، و نژاد ۶ در فرم پاتوتیپ III در گلستان مشاهده گردید، در سال دوم نژاد ۱ در قالب پاتوتیپ I در ایلام و نژاد ۴ و ۵ در شکل پاتوتیپ II در کرمانشاه ظاهر گردیدند. در سال سوم نژاد ۶ در قالب پاتوتیپ III در کرمانشاه و گلستان و نژادهای ۳ و ۴ در ایلام در فرم پاتوتیپ II شناسایی گردیدند. در مجموع و به‌تناوب سال، پاتوتیپ یک در ایلام در قالب نژادهای ۱ و ۳، و در کرمانشاه در قالب نژاد ۱ ظاهر گردید. پاتوتیپ ۲ در کرمانشاه و ایلام در قالب نژادهای ۴ و ۵ خودنمایی نمودند و پاتوتیپ ۳ در کرمانشاه و گلستان در قالب نژاد ۶ خود را نشان داد. هر ۳ پاتوتیپ به‌تناوب سال در کرمانشاه شناسایی گردید. پاتوتیپ یک در ایلام و کرمانشاه، پاتوتیپ ۲ در کرمانشاه و ایلام، و پاتوتیپ ۳ در کرمانشاه و گلستان شناسایی گردید. در گلستان به علت عدم بذر کافی و از بین رفتن منابع بذری به

شدند. گیاهان شاهد با آب مقطر سترون افشانه گردیدند. دو هفته بعد از مایه‌زنی، شدت بیماری با استفاده از روش اصلاحی و ارائه شده توسط سینگ و ردی (Singh and Reddy, 1993) مورد ارزیابی قرار گرفت. ارزیابی‌ها در یک روز انجام گردیدند. آزمایش در ۳ تکرار و هر تکرار حاوی ۵ گیاه برای هر جدایه در اتاقک رشد با درجه‌حرارت ۱۶ سانتی‌گراد درجه شب/ ۲۲ درجه سانتی‌گراد در طول روز انجام شد.

نتایج و بحث

اولین علائم بیماری برق‌زدگی به‌صورت لکه‌های قهوه‌ای کم‌رنگ تا قهوه‌ای تیره روی برگ‌ها، دم‌برگ‌ها و ساقه‌های تعدادی از لاین‌ها، به‌ویژه لاین‌های حساس مشاهده شد. آلودگی غلاف به‌صورت لکه‌های گرد با حاشیه تیره حاوی نقاط سیاه‌رنگ (پیکنیدیوم) به‌صورت دواير متحدالمرکز روی اکثر لاین‌های حساس و نسبتاً حساس مشاهده گردید. روی ساقه‌ها و دم‌برگ‌ها لکه‌های قهوه‌ای کشیده (به طول ۲ تا ۳ سانتی‌متر) و حاوی نقاط ریز سیاه‌رنگ (پیکنیدیوم) ثبت شد. واکنش ژنوتیپ‌ها بر اساس مقیاس نمره‌ای ۱-۹ تعیین شد (جدول ۵، ۶ و ۷). آزمون‌های گلخانه‌ای نتایج آزمون‌های مزرعه‌ای را تأیید نمود. ژنوتیپ‌های افتراقی واکنش‌های متفاوتی در مقابل جدایه‌های مختلف بیمارگر نشان دادند که اساس و مبنا برای شناسایی پاتوتیپ‌ها و نژادهای قارچ *A. rabiei* بود.

ژنوتیپ ILC1929 حساس‌ترین ژنوتیپ در مقابل جدایه‌های مختلف بیمارگر بود و بعد از آن به ترتیب ژنوتیپ‌های ILC194>PCH-15>ILC1903>F8> ILC249> ILC482> ILC202> ILC72> ILC3279>ILC3996 قرار گرفتند.

۵ ژنوتیپ اول واکنش حساسیت ۶-۹ در برابر جدایه‌های مختلف نشان دادند، ژنوتیپ ILC482 واکنش بینابین و تحمل به جدایه‌ها داشت و ۵ ژنوتیپ آخری واکنش مقاومت ۱-۴ در برابر جدایه بروز دادند و مقاومت آنها در مقابل طیف گسترده‌ای از جدایه‌ها از

پاتوتیپ ۳ پرآزارترین جدایه‌ها که در گلستان و کرمانشاه غالبیت داشتند. واکنش متفاوت بعضی از لاین‌ها در مناطق مورد آزمایش، دلالت بر تنوع بیماری‌زایی جدایه‌های قارچ عامل بیماری برق‌زدگی نخود را دارد. نژادهای ۱ و ۳ از ایلام و نژاد ۱ از کرمانشاه در قالب پاتوتیپ I (حداقل بیماری‌زایی)، نژاد ۴ و ۵ از ایلام و کرمانشاه در قالب پاتوتیپ II (نسبتاً پر آزار)، و نژاد ۶ از گلستان و کرمانشاه در قالب پاتوتیپ ۳ (بسیار بیماری‌زا)، به‌تنوب و در سال‌های مختلف زراعی ظاهر گردیدند.

دلیل بیماری، آزمایش در سال دوم اجرا نگردید. آزمایش‌های گلخانه‌ای نتایج مزرعه‌ای را تأیید نمود و مشخص گردید که نژادهای ۱، ۴، ۵ و ۶ به‌تنوب سال در کرمانشاه خودنمایی دارند و جدایه‌های مربوط به پاتوتیپ ۱ در اکثر مناطق از تنوع بیماری‌زای بیشتری برخوردارند بطوریکه پاتوتیپ ۱ از طیف نژادی بیشتری شامل نژادهای ۱، ۲ و ۳ برخوردار بود. از طرف دیگر مشخص گردید که در سیستم نژادی تمایز مشخصی در تنوع بیماری‌زایی وجود ندارد، بطوریکه نژاد ۳ متعلق به پاتوتیپ ۱ و ۲ یا نژاد ۵ در گروه پاتوتیپی ۲ و ۳ قرار دارد. نژاد ۶ متعلق به



شکل ۲- علائم بیماری برق‌زدگی روی ارقام افتراقی نخود تحت شرایط مزرعه‌ای و زیر سیستم مه‌پاش

Figure 2. Disease symptoms of Ascochyta blight on differential chickpea genotypes in field under Mist irrigation.

جدول ۵- ارزیابی واکنش لاین‌های افتراقی استاندارد نخود نسبت به بیماری برق‌زدگی در مزارع آزمایشی ایستگاه سرارود (کرمانشاه) در طول سال‌های زراعی ۱۳۹۵-۹۸ با استفاده از مقیاس نمره ای سینگ و ردی

Table 5. The response of differential variety of chickpea to *A. rabiei* isolates under controlled greenhouse and filed conditions in Sararood station using Singh and Reddy (1993) method

No.	Name	AB1	AB2	AB3	Reaction	AB1	AB2	AB3	Reaction	AB1	AB2	AB3	Reaction
		95-96				96-97				97-98			
1	ILC 202	1	3	3	R	3	5	5	T	3	5	6	MS

2	PCH 15	3	4	4	MR	3	5	6	MS	3	5	6	MS
3	ILC 5928	3	3	3	R	3	3	4	MR	3	5	5	T
4	ILC 194	1	3	4	MR	3	5	7	S	3	5	7	S
5	ILC 482	1	3	4	MR	5	5	6	MS	3	5	6	MS
6	ILC 3996	1	3	4	MR	1	3	5	T	5	5	5	T
7	ILC 3279	3	3	3	R	3	4	4	MR	3	5	5	T
8	ILC 249	3	4	4	MR	3	5	7	S	5	5	7	S
9	ILC 72	3	4	4	MR	3	5	5	T	3	5	7	S
10	F-8	3	4	4	MR	3	5	6	MS	3	5	6	MS
11	ILC 1903	3	4	4	MR	3	5	6	MS	3	5	7	S
12	ILC 1929	7	7	9	HS	7	7	9	HS	7	9	9	HS

R: Resistant, MR: Moderately Resistant, T: Tolerant S: Susceptible MS: Moderately Susceptible HS: Highly Susceptible

جدول ۶- ارزیابی واکنش ارقام افتراقی استاندارد نخود نسبت به بیماری برق‌زدگی در مزارع آزمایشی ایستگاه شیروان چرداول (ایلام) در طول سال‌های زراعی ۱۳۹۵-۹۸ با استفاده از مقیاس نمره‌ای سینگ و ردی (Singh and Reddy 1993).

Table 6. The response of differential variety of chickpea to *A. rabiei* isolates under filed conditions in Shirvan-Chardavol station (Illam)

For station (main)													
No.	Name	AB1	AB2	AB3	Reaction	AB1	AB2	AB3	Reaction	AB1	AB2	AB3	Reaction
95-96					96-97					97-98			
1	ILC 202	1	3	3	R	3	5	5	T	1	1	3	T
2	PCH 15	1	1	1	R	1	1	1	R	1	3	6	MS
3	ILC 5928	1	1	3	R	1	1	1	R	1	3	4	MR
4	ILC 194	1	3	3	R	1	1	1	R	1	3	6	MS
5	ILC 482	1	1	3	R	1	1	1	R	1	3	4	MR
6	ILC 3996	1	1	1	R	1	3	3	R	1	3	4	MR
7	ILC 3279	1	3	3	R	1	1	1	R	1	1	1	R
8	ILC 249	1	1	1	R	1	1	1	R	3	5	5	T
9	ILC 72	1	1	1	R	1	1	1	R	3	4	4	MR
10	F-8	1	1	1	R	1	1	1	R	1	5	7	S
11	ILC 1903	1	3	3	R	1	3	5	T	3	5	6	MS
12	ILC 1929	7	7	9	HS	7	7	9	HS	7	7	9	HS

R: Resistant, MR: Moderately Resistant, T: Tolerant S: Susceptible MS: Moderately Susceptible HS: Highly Susceptible

جدول ۷- ارزیابی واکنش ارقام افتراقی استاندارد نخود نسبت به بیماری برق‌زدگی در ایستگاه گنبد (گلستان) در طول سال‌های زراعی ۱۳۹۵-۹۸ با استفاده از مقیاس نمره‌ای (Singh and Reddy 1993).

Table 7. The response of differential variety of chickpea to *A. rabiei* isolates under filed conditions in Gonbad Station (Golestan)

No.	Name	AB1	AB2	AB3	Reaction	AB1	AB2	AB3	Reaction	AB1	AB2	AB3	Reaction
		95-96				96-97				97-98			
1	ILC 202	5	5	7	S	-	-	-	-	7	7	7	S
2	PCH 15	5	5	7	S	-	-	-	-	5	7	7	S
3	ILC 5928	4	4	4	MR	-	-	-	-	5	5	7	S
4	ILC 194	7	7	7	S	-	-	-	-	7	7	7	S
5	ILC 482	5	7	7	S	-	-	-	-	5	7	7	S
6	ILC 3996	5	5	5	T	-	-	-	-	5	5	5	T
7	ILC 3279	7	7	7	S	-	-	-	-	7	7	7	S
8	ILC 249	7	7	7	S	-	-	-	-	7	7	7	S
9	ILC 72	5	5	7	S	-	-	-	-	5	7	7	S
10	F-8	5	5	7	S	-	-	-	-	5	7	7	S
11	ILC 1903	7	7	7	S	-	-	-	-	7	7	7	S
12	ILC 1929	7	9	9	HS	-	-	-	-	7	9	9	HS

R: Resistant, MR: Moderately Resistant, T: Tolerant, S: Susceptible, MS: Moderately Susceptible, HS: Highly Susceptible

جدول ۸- واکنش ژنوتیپ‌های افتراقی استاندارد برای تعیین گروه‌های پاتوتیپی اودوپا و ویگانده، و یک مجموعه شامل ۶ ژنوتیپ پیشنهاد شده جهت شناسایی نژادهای قارچ *Ascochyta rabiei*

Table 8. The response of differential variety of chickpea to *A. rabiei* isolates suggested by Udupa and Weigand (1997) and Reddy and Kabbabeh (1985) for identification of physiologic races

Genotype	(1395-1396)			(1396-1397)			(1397-1398)		
	Kermanshah	Illam	Golestan	Kermanshah	Illam	Golestan	Kermanshah	Illam	Golestan
ILC1929*	HS	S	S	S	S	-	S	S	S

F-8	R	R	S	MS	R	-	MS	S	S
ILC 1903	R	R	S	MS	R	-	S	MS	S
ILC 249	MR	R	S	S	R	-	S	T	S
ILC 482*	MR	R	S	MS	R	-	MS	MR	S
ILC 3279*	MR	R	S	MR	R	-	MS	R	S
ILC 3996	MR	R	T	MR	R	-	T	R	T
Pathotype	I	I	III	II	I	-	III	II	III
Race	1	1	6	4	1	-	6	4	6

The chickpea lines rated 1.0 to 4.9 were considered resistant and those rated 5.0 to 9.0 were considered susceptible (Türkkan and Dolar, 2009).

جدول ۹- واکنش ژنوتیپ‌های افتراقی استاندارد پیشنهاد شده توسط سینگ و ردی جهت شناسایی نژادهای قارچ *Ascochyta rabiei*

Table 9. The response of differential variety of chickpea to *A. rabiei* isolates suggested by Singh and Reddy (1993) for identification of physiologic races

Genotype	(1395-1396)			(1396-1397)			(1397-1398)		
	Kermanshah	Illam	Golestan	Kermanshah	Illam	Golestan	Kermanshah	Illam	Golestan
PCH 15	MR	R	S	MS	R	-	MS	MS	S
ILC 194	MR	R	S	S	R	-	S	MS	S
ILC 3996	MR	R	T	T	R	-	T	MR	T
ILC 72	MR	R	S	T	R	-	S	MR	S
ILC 202	R	R	S	MR	R	-	MS	R	S
ILC 5928	R	R	MR	MR	R	-	T	MR	S
ILC1929	S	S	S	S	S	-	S	S	S
Race	1	1	6	5	1	-	6	3	6

The chickpea lines rated 1.0 to 4.9 were considered resistant and those rated 5.0 to 9.0 were considered susceptible (Türkkan and Dolar, 2009).

تنوع بیماری‌زایی زیادی در میان جدایه‌ها از بسیاری از کشورها شامل هند، آمریکا، سوریه، پاکستان، ترکیه و کانادا گزارش شده است. جدایه‌های مورد استفاده در این کشورها بر اساس واکنش بیماری‌زایی روی ۳-۱۶ ژنوتیپ افتراقی داخل ۳-۱۷ گروه پاتوتیپی گروه‌بندی گردیده‌اند (Vir and Grewal, 1974; Jan and Wiese, 1991; Udupa and Weigand, 1997; Jamil et al., 2000; Maden et al., 2004; Chongo et al., 2004). مقایسه نتایج حاصل از این مطالعات اغلب به دلیل استفاده از روش‌ها و ژنوتیپ‌های افتراقی متفاوت مشکل است (NavasCortes et al., 1998; Chen et al., 2004). بنابراین اودوپا و ویگاند (Udupa and Weigand, 1997) پیشنهاد نمودند که استفاده از سه ژنوتیپ افتراقی شامل ILC 1929 (حساس)، ILC 482 (متحمل) و ILC 3279 (مقاوم) برای تعیین تنوع جدایه‌ها داخل ۳ پاتوتیپ بر اساس افزایش سطح پرآزاری کفایت می‌کند. در این مطالعه، جدایه‌های مناطق مختلف داخل ۳ پاتوتیپ قرار گرفتند. پر آزاری در داخل و میان جدایه‌های مناطق مختلف

عدم اطلاعات کافی از تنوع ژنتیکی و بیماری‌زایی قارچ *A. rabiei* همواره برنامه‌های اصلاحی و به‌نژادی را با مشکل مواجه کرده است، به‌گونه‌ای که مقاومت ارقام اصلاح شده پس از مدتی شکسته شده و از طرف دیگر به دلیل تفاوت در تنوع قارچ در مناطق مختلف، واکنش ارقام مقاوم یکسان نمی‌باشد؛ لذا فهم و درک از تنوع بیماری‌زایی جدایه‌های *A. rabiei* برای اصلاح و توسعه ارقام مقاوم امری مهم و ضروری است. در این تحقیق با استفاده از سه مجموعه استاندارد و جهانی از مجموعه ژرم‌پلاسم‌های نخود از مراکز تحقیقات بین‌المللی (ICARDA) و (ICRISAT) مبادرت به شناسایی پاتوتیپ‌ها و نژادهای فیزیولوژیک قارچ در مناطق مختلف کشت نخود (کرمانشاه، ایلام و گلستان) گردید. دلیل انتخاب مناطق فوق، شیوع مداوم و مکرر بیماری و اپیدمی آن تحت شرایط مساعد آب‌وهوایی است. قارچ عامل بیماری برق‌زدگی نخود به دلیل داشتن مرحله جنسی *D. rabiei* دارای تنوع ژنتیکی بالایی است.

(3996) شناسایی گردیدند. با استفاده از همین مجموعه نژادهای ۱،۴ و ۶ را از ترکیه گزارش نمودند (Dolar and Gurcan, 1992). بر اساس بررسی‌های انجام شده روی ۳۰ جدایه از پنج استان غرب کشور از جمله کرمانشاه، شانزده گروه بیماری‌زا در قالب شش نژاد فیزیولوژیک شناسایی و معرفی شدند (Giai et al., 2012). وجود نژاد ۶ از گچساران گزارش شده است (Pouralibaba et al., 2008). گروهی دیگر از محققین، دوازده گروه بیماری‌زا از استان کرمانشاه گزارش نمودند (Younessi et al., 2003). نوراللهی و همکاران (Nourollahi et al., 2009) در مطالعه تنوع بیماری‌زایی جدایه‌های عامل برق‌زدگی در استان‌های کرمانشاه و ایلام، با استفاده از ۱۲ ژنوتیپ افتراقی و براساس واکنش آن‌ها، هشت گروه بیماری‌زا را شناسایی کردند که در مناطق مختلف این دو استان پراکنده بودند. ارقام افتراقی، ۸ گروه بیماری‌زا شناسایی نمودند که این گروه‌ها در مناطق مختلف دو استان پراکنده بودند. در این مطالعه پاتوتیپ I در قالب نژادهای ۲،۱ و ۳ به‌عنوان ضعیف‌ترین و پاتوتیپ III در قالب نژاد ۶ بیماری‌زاترین جدایه‌ها بودند که این نتایج با مطالعات انجام شده قبلی مطابقت دارد (Reddy and Kabbabeh, 1985; Singh and Reddy, 1990; Udupa and Weigand, 1997). نتیجه قابل تامل در این تحقیق بیماری‌زایی جدایه‌های کرمانشاه و ایلام روی ژنوتیپ ICC 3996 است، باتوجه‌به اینکه در مطالعات قبلی هیچ‌کدام از پاتوتیپ‌های توصیف شده توسط اودوپا و ویگاند (Udupa and Weigand, 1997) روی ژنوتیپ ICC 3996 بیماری‌زا نبودند. به نظر می‌رسد که این جدایه‌ها می‌بایستی در یک گروه بسیار بیماری‌زا و مجزا از پاتوتیپ‌های قبلاً توصیف شده قرار گیرد، و به‌عنوان پاتوتیپ یا نژاد جدید در ایران بررسی شود. در تحقیقات انجام گرفته توسط امتیاز و همکاران (Imtiaz et al., 2011) وجود یک پاتوتیپ جدید و بسیار بیماری‌زا به‌عنوان پاتوتیپ IV بر اساس بیماری‌زایی روی ۴ ژنوتیپ ILC 1929، ILC 482، ILC 3279، ICC 12004 گزارش شده

متفاوت بود، بطوریکه پرآزارترین جدایه‌ها در گلستان و کرمانشاه و کم‌آزارترین در ایلام غالبیت داشتند. ارقام افتراقی نخود مورد استفاده در این تحقیق همان ارقام افتراقی معرفی شده توسط اودوپا و ویگاند (Udupa and Weigand, 1997) بودند که به‌عنوان ارقام افتراقی رایج در جهان توسط محققان به کار می‌روند (Benzohra et al., 2011; Jamil et al., 2009; Turkkan and Dolar, 2000). نتایج این تحقیق با ۳ پاتوتیپ معرفی شده توسط اودوپا و ویگاند (Udupa and Weigand, 1997) مطابقت داشت. در مطالعات مشابهی در پاکستان، ۱۳۰ جدایه با استفاده از یک مجموعه استاندارد از ژنوتیپ‌های افتراقی داخل ۳ پاتوتیپ گروه‌بندی گردیدند (Jamil et al., 2000). در سال ۱۳۸۷ به‌منظور پی‌بردن به وقوع پاتوتیپ‌های مختلف از دو سری ارقام افتراقی نخود رایج در جهان استفاده شد، نتایج بررسی مذکور نشان داد پاتوتیپ I در سرارود، گرگان، ایلام و گچساران، پاتوتیپ III در کلیبر و پاتوتیپ II در ایلام و گچساران به‌تناوب در سال‌های مختلف تظاهر می‌یابند (Pouralibaba et al., 2008). در این تحقیق هر چند که حضور، پراکنش و آرایش پاتوژنتیکی پاتوتیپ‌ها و نژادها به‌تناوب سال و مناطق مورد آزمایش متفاوت بود، جدایه‌های مناطق مختلف (کرمانشاه، ایلام و گلستان) داخل ۳ پاتوتیپ (گروه‌بندی گردیدند. همچنین بر اساس واکنش جدایه‌های قارچ *A. rabiei* روی مجموعه ژنوتیپ‌های افتراقی پیشنهاد شده توسط Reddy and Kabbabeh, 1985; Singh and Reddy, 1990) پاتوتیپ یک در ایلام در قالب نژادهای ۱ و ۳، و در کرمانشاه در قالب نژادهای ۱ و ۲ ظاهر گردید. پاتوتیپ ۲ در کرمانشاه در قالب نژادهای ۴ و ۵ خودنمایی نمود و پاتوتیپ ۳ در کرمانشاه و گلستان در قالب نژاد ۶ خود را نشان داد. نژادهای قارچ *D. rabiei* عامل بیماری برق‌زدگی بر اساس واکنش روی یک مجموعه ۶ تایی از ژنوتیپ‌های افتراقی (ILC 1929, F8, ICC 1903, ILC 249, ILC 3279, ICC

نژادی ارائه شده توسط ردی کبابه (Reddy and Kabbabeh, 1985 و سینگ و ردی (Singh and Reddy, 1993) باشد. همچنین نتایج این تحقیق کم و بیش در انطباق با نتایج به دست آمده توسط چن و همکاران (Chen et al. 2004) بود، اگرچه آنها گزارش نمودند که نژاد ۶ در پاتوتیپ II و دیگر نژادها در پاتوتیپ I قرار دارند. به عبارتی آنها تمام نژادها را در دو گروه پاتوتیپی گروه بندی نمودند. در تعارض با تحقیق کنونی وفایی و همکاران (Vafaei et al., 2015) نتوانستند جدایه های *A. rabiei* از استان های غربی ایران را داخل پاتوتیپ ها/نژادها گروه بندی نمایند. یافته های موجود با گزارش های قبلی در خصوص تعداد نژادها و ژنوتیپ های افتراقی در انطباق کامل نیست که این امر ممکن است به دلیل تفاوت ارقام و بیماری زایی جدایه ها باشد. علی رغم این مطالعات با ارزش، مقایسه نتایج آنها روی تنوع ژنتیکی به دلیل تفاوت در روش ها، از قبیل سن گیاه در زمان مایه زنی، تفاوت در مقیاس درجه بندی، ارقام افتراقی مورد استفاده مشکل به نظر می رسد. شناسایی تنوع و تفاوت در ساختار جمعیتی جدایه ها داخل و میان نواحی کشت نخود به منظور تعیین ریسک پذیری برای اتخاذ راهبردهای مدیریتی و کنترلی ضرورت دارد. داده های حاصل از این تحقیق می تواند در برنامه های اصلاحی و به نژادی نخود مورد استفاده قرار گیرند.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مؤسسه تحقیقات کشاورزی دیم کشور و مؤسسه تحقیقات گیاه پزشکی کشور به خاطر حمایت مالی این تحقیق در قالب پروژه شماره مصوب ۹۳۱۴۰ - ۱۵-۱۵-۰ و شماره فروست ۵۵۶۵۲ تشکر می نمایند.

است. باوجود این، در سوریه نیز گزارشاتی از جدایه های بسیار بیماری زا که قادر به حمله به دو ژنوتیپ ICC 12004 و ICC 3996 بودند، ارائه شده است (Bayaa et al., 2004; Imtiaz et al., 2011; Atik et al., 2013). همچنین نتایج این تحقیق با تحقیقات انجام شده توسط پایمرد و همکاران (Paymard et al., 2013) در سال ۱۳۹۳ که ۲۸ جدایه قارچ عامل برق زدگی نخود از کرمانشاه را با استفاده از ۷ رقم افتراقی در ۶ نژاد فیزیولوژیک قرار داده بود و نژاد ۶ را به عنوان بیماری زاترین جدایه از سرارود معرفی نموده بود، مطابقت دارد. نو ترکیبی جنسی منجر به تنوع ژنتیکی و ایجاد پاتوتیپ های جدید بیمارگر می گردند. تولید مثل جنسی و وجود فرم های جنسی سازگار MAT 1-1 و MAT 1-2 از برخی نقاط کشور مانند استان های کرمانشاه، مشهد و استان فارس گزارش شده است که این امر دلیل وجود هر ۳ پاتوتیپ را در کرمانشاه توجیه می کند (Kaiser and Okhovat, 1996; Mahmodi and Banihashemi, 2004) در ۱۳۸۳ چهار گروه بیماری زا روی ده رقم افتراقی نخود از استان فارس گزارش گردید (Mahmodi and Banihashemi, 2004). با مقایسه این مطالعه و مطالعات قبلی چنین به نظر می رسد که تنوع بیماری زایی جدایه ها در کرمانشاه از یک سیر صعودی (کم آزاری به سوی پر آزاری) برخوردار است. پر آزاری یک تفاوت ذاتی و ژنتیکی در شدت بیماری ایجاد شده توسط جدایه های داخل جمعیت های بیمارگر روی ژنوتیپ های میزبان است. هنوز مشخص نیست که آیا تمام این گروه های پاتوتیپی مجزا هستند یا بخشی از بیماری زایی پیوسته در جمعیت به شمار می آیند (Taylor and Ford, 2007). نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که سیستم سه پاتوتیپی پیشنهاد شده توسط اودوپا و ویگاند (Udupa and Weigand 1997) می تواند بیانگر سیستم ۶

منابع

- Ali H, Alam SS, Iqbal N. 2013. Genetic and pathogenic variability of *Ascochyta rabiei* isolates from Pakistan and Syria as detected by universal rice primers. *Journal of Plant Pathology and Microbiology* 4: 212-225
- Ali H, Alam SS, Attanayake RN, Rahman M, Chen W. 2012. Population structure and mating type distribution of the chickpea blight pathogen *Ascochyta rabiei* from Pakistan and the United States. *Journal of Plant Pathology* 94: 99-108
- Ambardar VK, Singh SK. 1996. Identification and elucidation of *Ascochyta rabiei* isolates of chickpea in Jammu. *Indian Journal of Mycology and Plant Pathology* 26: 4-8
- Atik O, Ahmed S, Abang MM, Imtiaz M, Hamwieh A, Baum M, et al. 2013. Pathogenic and genetic diversity of *Didymella rabiei* affecting chickpea in Syria. *Crop Protection*. 46: 70–79 10.1016/j.cropro.2012.12.012
- Baaya B, Udupa SM, Baum M, Malhotra RS, Kabbabeh S. 2004. Pathogenic variability in Syrian isolates of *Ascochyta rabiei*. In 'Proceedings of the 5th European Conference on Grain Legumes. Legumes for the Benefit of Agriculture, Nutrition and the Environment'. Dijon, 7–11 June 2004
- Benzohra IE, Bendahmane BS, Mahiout D, Benkada MY, Labdi M. 2010. Pathogenic variability of *Ascochyta rabiei* (pass.) Labr. In chickpea (*Cicer arietium* L.) in the Western North of Algeria. *World Journal of Agricultural Science*. 6: 630-634
- Chen W, Conye CJ, Peever TL, Muehlbauer FJ. 2004. Characterization of chickpea differentials for pathogenicity assay of ascochyta blight and identification of chickpea accessions resistant to *Didymella rabiei*. *Plant Pathology* 53: 759-769
- Chen W, McPhee KE, Muehlbauer FJ. 2005. Use of a mini-dome bioassay and grafting to study resistance of chickpea to ascochyta blight. *Journal of Phytopathology*. 153: 579–587
- Chongo G, Gossen BD, Buchwaldt L, Adhikari T, Rimmer SR. 2004. Genetic diversity of *Ascochyta rabiei* in Canada. *Plant Disease*: 88: 4–10
- FAO. 2020. Production Statistics. Rome: Food and Agriculture Organization
- Giai S, Razavi M, Shahriari D. 2012. Study on pathogenic and molecular variability in some isolates of *Ascochyta rabiei* causal agent of ascochyta blight of chickpea in Iran. *Applied Entomology and Phytopathology* 79 (2): 199-218 (In Persian)
- Hamza S, Samir S, Rebai A, Salah R, Kahl G, Moncef H. 2000. Pathotype variation of the representative genotypes of *Ascochyta rabiei* in the Beja region. *Journal of Plant Pathology* 82: 23-28
- Haware MP. 1998. Diseases of chickpea. In 'The pathology of food and pasture legumes'. (Eds DJ, Allen and JM, Lenne) Pp. 473–516. (ICARDA, CAB International: Wallingford, UK)
- Hussain S, Malik BA. 1991. Pathogenic variability in *Ascochyta rebiei* in Pakistan. *Int. Chickpea Newsletter* 24: 36-37
- Ilyas MB, Chaudhary MA, Javed N, Ghazanfar MU, Khan MA. 2007. Source of resistance in chickpea against *Ascochyta* blight. *Pakistan Journal of Botany* 39: 1843-1847
- Imtiaz M, Abang M, Malhotra RS, Ahmed S, Bayaa B, Udupa SM, et al. 2011. Pathotype, IV a new and highly aggressive pathotype of *Didymella rabiei*, causing *Ascochyta* blight in chickpea in Syria. *Plant Disease* 95: 1192. 10.1094/PDIS-04-11-0333
- Jamil FF, Sarwar M, Haq I, Bashir N. 1993. Pathogenic variability in *Ascochyta rabiei* in Pakistan. *International Chickpea Newsletter* 29: 14-15
- Jamil FF, Sarwar M, Haq I, Bashir N. 1995. Identification of pathotypes in *Ascochyta rabiei* (Pass.) Lab., the cause of chickpea blight in Pakistan. *Pakistan Journal of Botany* 27: 193-199
- Jamil FF, Sarwar M, Haq I, Bashir N. 1997. Characterization of pathotype population in *Ascochyta rabiei* (Pass.) Lab., the cause of chickpea blight in Pakistan. In: *Proceedings of*

- the fourth international symposium workshop on the application of molecular biological research in agriculture, health and environment. Riazuddin S. (ed). Lahore: National Center of Excellence in Molecular Biology, pp. 145-148
- Johnson R. 1983. Pathogenic variability: strain survey methods, purpose and effectiveness. United Kingdom. Proceedings of national workshop. August 10-11, pp.36-57
- Jamil F, Sarwar N, Sarwar M, Khan J, Geistlinger J, Kahl G. 2000. Genetic and pathogenic diversity within *Ascochyta rabiei* (Pass.) Lab. populations in Pakistan causing blight of chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Physiological and Molecular Plant Pathology* 57: 243-254
- Jan H, Wiese MV. 1991. Virulence forms of *Ascochyta rabiei* affecting chickpea in the Palouse. *Plant Disease* 75: 904-916
- Kaiser WJ, Okhvat M. 1996. Distribution of *Didymella rabiei*, the teleomorph of *Ascochyta rabiei*, in Iran. *Iranian Journal of Plant Pathology* 32: 158-16
- Khan MSA, Ramsey MD, Corbiere R, Infantino A, Porta-Puglia A, Bouznad Z, Scott ES. 1999. *Ascochyta* blight of chickpea in Australia: identification, pathogenicity and mating type. *Plant Pathology* 48: 230-234
- Maden S, Dolar FS, Babaliogullu I, Bayraktar H, Demirci F. 2004. Determination of pathogenic variability of *Ascochyta rabiei* and reactions of chickpea cultivars against the pathotypes in Turkey. 5th European Conference on Grain Legumes Handbook, 307. 7-11 June, Dijon, France
- Mahmodi F, Banihashemi Z. 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 (In Persian)
- Navas-Corte S, Perez-Artes JA, Jimenez-Diaz E, Llobell RM, Bainbridge A, Heale BW. 1998. Mating type, pathotype and RAPD analysis in *Didymella rabiei*, the agent of *Ascochyta* blight of chickpea. *Phytoparasitica* 26: 199-212
- Nourollahi KH, Javan-Nikkhah M, Naghavi MR, Okhovvat SM. 2009. Virulence variability of *Didymella rabiei* causal agent of ascochyta blight of chickpea in Illam and Kermanshah provinces. *Journal of Plant Protection* 23(2): 56-65 (In Persian)
- Pande S, Siddique KHM, Kishore GK, Baaya B, Gaur PM, Gowda CLL, Bretag T, Crouch JH. 2005. *Ascochyta* blight of chickpea (*Cicer arietinum* L.): a review of biology, pathogenicity, and disease management. *Australian Journal of Agricultural Research* 56:317-332
- Paymard E, Torabi M, Shahriari D. 2013. Pathogenic variability of *Didymella rabiei* the agent of ascochyta blight of chickpea in Kermanshah province. *Applied Plant Protection* 3(2): 73-85 (In Persian)
- Peever TL, Salimath SS, Su G, Kaiser WJ, Muehlbauer FJ. 2004. Historical and Contemporary Multilocus Population Structure of *Ascochyta rabiei* (teleomorph: *Didymella rabiei*) in the Pacific Northwest of the United States. *Molecular Ecology* 13: 291-309
- Porta-Puglia A, Croni P, Mosconi C. 1996. Variability in virulence to chickpea of an Italian population of *Ascochyta rabiei*. *Plant Disease* 80: 39-41
- Pouralibaba HR, Mahmodi F, Keshavarz K, Nourollahi KH. 2008. Identification of pathotypes of *Didymella rabiei* causing agent of chickpea blight disease, in different of Iran using trap nursery. *Iranian journal of plant pathology* 44(2): 170-175 (In Persian)
- Qureshi SH, Alam SS. 1984. Pathogenic behavior of *Ascochyta rabiei* isolates on different cultivars of chickpea in Pakistan. *International Chickpea Newsletter* 11: 29-30
- Reddy MV, Kabbabeh S. 1985. Pathogenic variability and race establishment of *Ascochyta* blight in Syria and Lebanon. *Plant Disease* 69: 177
- Singh G. 2002. Identification and designation of physiologic races of *Ascochyta rabiei* in India. *Indian Phytopathology* 43: 48-52

- Singh R, Pal M. 1993. Pathogenic variability in *Ascochyta rabiei* causing chickpea blight. Indian Journal of Mycology and Plant Pathology 23: 51-57
- Singh KB, Reddy MV. 1993. Resistance to six races of *Ascochyta rabiei* in the world germ plasm collection of chickpea. Crop Science 33: 186-189
- Turkkan M, Dolar FS. 2009. Determination of pathogenic variability of *Didymella rabiei*, the agent of ascochyta blight of chickpea in Turkey. Proceedings of The Symposium on of ascochyta blight of chickpea in Turkey. Turkish Journal of Agriculture and Foresti 33: 585-591
- Udupa SM, Weigand F. 1997. Pathotyping of *Ascochyta rabiei* isolates of Syria. In: Udupa SM, Weigand F. (eds.). DNA Markers and Breeding for Resistance to Ascochyta Blight in Chickpea. Proceeding of the Symposium on 'Application of DNA Fingerprinting for Crop Improvement: Marker-Assisted Selection of Chickpea for Sustainable Agriculture in Dry Areas', Aleppo 39-48
- Udupa S, Weigand F, Saxena M, Kahl G. 1998. Genotyping with RAPD and microsatellite markers resolves pathotype diversity in the *Ascochyta* blight pathogen of chickpea. Theoretical and Applied Genetics 97: 299-307
- Vafaei SH, Rezaee S, Moghadam A, Zamanizadeh HR. 2015. Virulence diversity of *Ascochyta rabiei* the causal agent of Ascochyta blight of chickpea in the western provinces of Iran. Archives of Phytopathology and Plant Protection 48: 17-20
- Vir S, Grewal JS. 1974. Physiological specialization in *Ascochyta rabiei*, the causal organism of gram blight. Indian Phytopathology 27: 355- 360
- Wilson AD, Kaiser WJ. 1995. Cytology and Genetics of Sexual Compatibility in :*Didymella rabiei*. Mycologia 87: 795-804
- Younessi H, Okhovvat SM, Hedjaroude GHA, Zad SJ, Talei AR, Zamani MR. 2003. Virulence variability of *Ascochyta rabiei* isolates on chickpea cultivars in Kermanshah province. Iranian Journal of Plant Pathology 39(3): 213-228 (In Persian)



Determination of pathotypic and genetic diversity of *Ascochyta rabiei*, the agent of ascochyta blight of chickpea in moderate regions of Iran

Farshid Mahmodi^{1*}, Masumeh Kheirgoo², Javad Ashrafi³

1- Sararood Deputy, Dryland Agricultural Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Kermanshah, Iran.

2- Agricultural and Natural Resource Research and Education Center, Golestan, Agriculture Research, Education and Extension Organization, Gorgan, Iran.

3- Agricultural and Natural Resource Research and Education Center, Ilam, Agriculture Research, Education and Extension Organization, Ilam, Iran.

EXTENDED ABSTRACT

Introduction: The chickpea (*Cicer arietinum* L.) is grown in more than 50 countries and the crop is the third most important food legume in the world after beans (*Phaseolus vulgaris* L.) and peas (*Pisum sativum* L.) in terms of both cultivated area and total production. Ascochyta blight caused by *Ascochyta rabiei* is one of the major disease of chickpea worldwide. This study was conducted to investigate the genetic variability and identify the existing pathotype(s)/race(s) of *A. rabiei*, which will be helpful in improving and breeding resistant varieties of chickpea.

Methodology: Three set of standard differential chickpea genotypes from ICARDA and ICRISAT were used to identify the pathotypes and physiological races of *A. rabiei*. Three chickpea genotypes were used to determine the pathotypes of *A. rabiei* and the rest to identify the physiological races according to their aggressiveness and virulence, respectively. Plant samples were cut into small pieces and sterilized with 5% sodium hypochlorite for 3 minutes, rinsed in sterile distilled water, and then placed on filter papers. After that, pieces were placed on each petri dish containing potato dextrose agar media (PDA). All the plates were incubated at 25° C for 5-10 days. The field results were confirmed by growth chamber trial. The mini-dome virulence assay was used to determine pathotypes in the growth chamber under optimum condition.

Research findings: All isolates were classified into three pathotypes based on pathogenicity studies on the differential varieties. All three pathotypes were found in Kermanshah, pathotypes I and II in Ilam, and pathotype III in Golestan and Kermanshah. Five races of *A. rabiei* were determined in different parts (races 1, 3, 4, 5 and 6). Races 1, 2 and 3 were established in pathotype I, races 4 and 5 was represented by the pathotype II, and pathotype III included the race 6, which were highly virulent isolates. The genotype ILC 1929 showed susceptible reaction against all the isolates of the pathogen. Race 1 widely prevalent in Ilam and Kermanshah, races 3 and 4 in Ilam, race 4 and 5 in Kermanshah, and the most virulent is race 6 found in Kermanshah and Golestan. The information is entirely new in respect of differential genotypes and distribution pattern of pathotypes and races of *A. rabiei* in Iran.

Keywords: chickpea, ascochyta blight, pathotype, physiologic races.

* Corresponding author: f.m3162@yahoo.com

Submit date: 2025/04/26 Accept date: 2025/09/11

