

ارزیابی پرآزاری جدایه‌های *Ascochyta rabiei* روی ارقام مختلف نخود و تأثیر آن‌ها بر برخی صفات عملکردی

ثریا میرزاپور^۱، مصطفی درویش‌نیا^{۲*}، عیدی بازگیر^۳ و حسین میرزائی نجفقلی^۳

۱- دانشجوی دکتری بیماری شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران

۲- *نویسنده مسوول: دانشیار، گروه گیاه پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران (darvishnia.m@lu.ac.ir)

۳- استادیار، گروه گیاه پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران

تاریخ دریافت: ۹۸/۱۰/۱۷

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۱/۰۹

چکیده

این پژوهش به منظور بررسی پرآزاری جدایه‌های *Ascochyta rabiei* عامل بیماری برق‌زدگی نخود، در استان‌های غربی کشور روی سه رقم افتراقی نخود انجام شد. همچنین اثر جدایه‌های عامل بیماری روی برخی صفات عملکردی نخود در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار در گلخانه بررسی شد. نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر جدایه، رقم و اثر متقابل رقم و جدایه بر همه‌ی صفات اندازه‌گیری شده در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار می‌باشد. بین ارقام آزمایشی بر اساس تجزیه و تحلیل شاخص‌های رشدی گیاه شامل (وزن صد دانه، تعداد غلاف در هر بوته، تعداد شاخه‌های اصلی و فرعی در هر بوته، ارتفاع گیاه، وزن تر و خشک اندام‌های هوایی و وزن تر و خشک ریشه) در سطح احتمال پنج درصد اختلاف معنی‌داری مشاهده شد. رقم ILC482 با میانگین ۳۵ گرم وزن صد دانه، بیشترین عملکرد دانه را داشت. صفات تعداد غلاف در بوته و وزن صد دانه در مقایسه با شاهد بیشتر از سایر صفات عملکردی تحت تأثیر بیماری برق‌زدگی قرار گرفتند. ارزیابی شدت بیماری روی ارقام آزمایشی حاکی از اختلاف معنی‌دار ($P < 0.01$) بین جدایه‌های آزمایشی در بروز بیماری بود. در بررسی خصوصیات ریخت‌شناختی جدایه‌ها روی محیط کشت CSMDA، تفاوت‌های مشخصی در قطر و رنگ پرگنه، اندازه و شکل پیکنیدیوم‌ها و پیکنیدیوسپورها مشاهده شد. براساس نتایج بیماری‌زایی، جدایه‌ها در سه گروه پرآزار، نیمه پرآزار و کم آزار قرار گرفتند. جدایه‌های IL8، IL9 و IL10 بیشترین شدت بیماری‌زایی را روی همه ارقام و جدایه IL10 بیشترین تأثیر را روی صفات ریخت‌شناختی میزبان از خود نشان دادند.

کلیدواژه‌ها: نخود، بلایت آسکوکیتایی، بیماری‌زایی، استان‌های غربی

مقدمه

نقش بسیار مهمی در حفظ و بقای کشاورزی این مناطق ایفا می‌کند (Naderi et al., 2013). عوامل متعددی از جمله خشکسالی، شوری، سرما، آفات و بیماری‌ها باعث کاهش عملکرد نخود در جهان می‌شود (Mahiout et al., 2015). تولید نخود در سراسر دنیا توسط بیماری قارچی شایع و مخرب بلایت آسکوکیتایی که ناشی از

نخود (*Cicer arietinum* L.) یکی از حبوبات فصل سرد است که در شبه قاره هند، غرب آسیا، شمال آفریقا، استرالیا و آمریکای شمالی کشت می‌شود (Zhou et al., 2019). در مناطق دیم، به‌خصوص در نیمه غربی ایران، نخود به دلیل قرار گرفتن در تناوب با گندم و جو،

دبیر تخصصی: دکتر مهدی مهربانی کوشکی

قارچ *Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr. است، محدود می‌شود. این قارچ تمام قسمت‌های هوایی گیاه را در هر مرحله‌ای از رشد آلوده می‌کند (Zhou et al., 2019). زراعت نخود در پاییز مناسب‌تر می‌باشد، اما یکی از دلایل تغییر تاریخ کاشت نخود از پاییز به بهار توسط کشاورزان، فرار از بیماری برق‌زدگی نخود است (Pande et al., 2005). مساعد بودن شرایط محیطی برای بیمارگر، کاهش ۱۰۰ درصدی عملکرد را سبب می‌شود (Atik et al., 2013). یکی از مهم‌ترین راهکارهای کنترلی برای این بیماری، استفاده از ارقام مقاوم می‌باشد. از طرفی با توجه به تنوع پرآزاری داخل جمعیت *A. rabiei* در پژوهش‌های مختلف، معرفی ارقام مقاوم متناسب با هر منطقه ضروری می‌باشد و بر اساس آن واکنش جدایه‌های قارچی در برابر ژنوتیپ‌های مختلف میزبان متفاوت است (Imtiaz et al., 2011; Vafaei et al., 2016; Baite et al., 2018). کارایی ژنوتیپ‌های مقاوم با تغییرات قابل توجه جمعیت بیمارگر محدود می‌شود و نژادهای جدید بیمارگر، باعث شکسته شدن انواع مقاومت در برنامه‌های اصلاحی نخود می‌شوند (Kanouni et al., 2011). برای بررسی تنوع بیماری‌زایی *A. rabiei* در کشور مطالعات مختلفی انجام شده است. بر اساس نتایج حاصل از مقایسه میانگین شدت بیماری‌زایی جدایه‌های *A. rabiei* روی ارقام افتراقی نخود در بررسی‌های متعدد، پنج (Shokouhifar et al., 2003)، هشت (Nourollahi et al., 2011) و شش (Vafaei et al., 2016) گروه بیماری‌زایی گزارش شده است. بررسی‌های انجام شده روی توان بیماری‌زایی قارچ عامل برق‌زدگی در نخود و شکستن مقاومت در میزبان توسط نژادهای مختلف این قارچ ناکافی بوده و بررسی‌های هرچه بیشتر و مستمر در ارتباط با واکنش گیاه نخود در برابر این بیماری لازم و ضروری است (Shokouhifar et al., 2006). در ایران با توجه به محدود شدن کشت نخود به علت حضور بیمارگر، بررسی‌های چندی برای شناسایی پاتوتیپ‌های

موجود در کشور انجام شده است. ارزیابی این بیماری در استان‌های مختلف کشور نشان داد که در استان‌های فارس و آذربایجان شرقی میزان خسارت بیماری در مزارع بالا است و درصد بالایی از گیاهان به این بیماری مبتلا می‌شوند (Salimi et al., 2017). با توجه به هزینه‌های بالای استفاده از قارچکش‌ها، محدودیت استفاده از سمپاش‌های مکانیزه و اثر آلوده‌کنندگی سموم بر روی محیط زیست، کنترل بلایت آسکوکیتابی در بسیاری از کشورها وابسته به استفاده از ارقام مقاوم است و شناسایی منابع جدید مقاومت نیز به دانش ما از میزبان‌ها و تغییرات ژنتیکی بیمارگر وابسته است (Mahiout et al., 2015). در یک پژوهش (Salimi et al., 2017)، ارتباط برخی صفات مرتبط با عملکرد ۳۶ ژنوتیپ نخود کابلی و مقاومت نسبی به بیماری برق‌زدگی بررسی گردیده است. در این بررسی، بین ژنوتیپ‌ها برای صفات عملکرد دانه، ارتفاع بوته و وزن صددانه در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی‌دار مشاهده شد.

با توجه به اهمیت کشت نخود در اقتصاد خانوارها، تناوب با غلات و حضور بیمارگر عامل برق‌زدگی نخود در استان‌های غربی کشور، این مطالعه با هدف ارزیابی تنوع پرآزاری جدایه‌های *A. rabiei* جداسازی شده از مزارع نخود استان‌های ایلام، لرستان و کرمانشاه روی سه رقم افتراقی نخود و بررسی اثر بیماری روی برخی صفات عملکردی این ارقام انجام شده است.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری و جداسازی

در طی سال زراعی ۹۷-۹۶، از مزارع مختلف کشت نخود در سه استان لرستان، ایلام و کرمانشاه، نمونه‌هایی از برگ، ساقه و نیام مشکوک به بیماری برق‌زدگی نخود جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل گردید. بعد از ضدعفونی سطحی نمونه‌ها با محلول هیپوکلرید سدیم یک درصد، نمونه‌های گیاهی روی محیط کشت‌های سیب‌زمینی-دکستروز-آگار (PDA) و آرد نخود-

۵-۳ دقیقه با آب مقطر سترون شست و شو داده شدند. تعداد چهار بذر درون گلدان‌های حاوی مخلوط خاک و ماسه به نسبت ۱ به ۳ کشت و گلدان‌ها درون گلخانه با شرایط ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی در دمای 1 ± 19 درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۸۰ درصد نگهداری شدند (Nourollahi et al., 2009).

مایه‌زنی گیاهچه‌ها

چهارده روز بعد از کشت بذور نخود، گلدان‌های حاوی گیاهچه‌های هم اندازه و یکسان انتخاب گردید. ابتدا از کشت ۱۴ روزه جدایه‌های قارچی با استفاده از لام گلول شمار، سوسپانسیون اسپور با غلظت 2×10^5 اسپور در هر میلی‌لیتر از هر جدایه تهیه گردید. سوسپانسیون اسپور هر جدایه با مه‌پاش دستی به‌طور یکنواخت، تا مرحله ریزش اولین قطره سوسپانسیون تهیه شده روی ارقام افتراقی نخود مایه‌زنی شدند (Chongo et al., 2004; Nourollahi et al., 2009). گلدان‌های شاهد با آب مقطر سترون مایه‌زنی شدند. بعد از مایه‌زنی، گلدان‌ها در دمای 1 ± 20 درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۸۰ درصد و دوره روشنایی ۱۲ ساعته به مدت ۲۸ روز نگهداری شدند. این آزمایش در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد (Vafaei et al., 2016).

ارزیابی بیماری

به منظور تعیین میزان شدت بیماری‌زایی از شاخص نه درجه‌ای پیشنهاد شده توسط کونگو و همکاران (Chongo et al., 2004) استفاده گردید. ارزیابی شدت بیماری ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ روز بعد از مایه‌زنی انجام شد. در این مقیاس، درجه‌ی ۴-۰ به عنوان شدت بیماری‌زایی کم آزار (واکنش مقاومت رقم افتراقی به بیمارگر) و درجه‌ی ۹-۵ به عنوان شدت بیماری‌زایی پرآزار (واکنش حساسیت رقم افتراقی به بیمارگر) در نظر گرفته شده است. مقایسه میانگین و تجزیه واریانس داده‌های شدت بیماری بر اساس آزمون توکی انجام شد (جدول ۱).

دکستروز-آگار (CSMDA) کشت شده (Dolar et al., 1994) و تستک‌های پتری در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد، تناوب نوری ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی نگهداری شدند. پس از رشد قارچ و تشکیل پیکنیدیوم‌ها، ۱۰۰ جدایه به روش تک اسپور خالص گردید. بیماری‌زایی جدایه‌ها طبق اصول کخ روی توده محلی گریت انجام شد. گیاهچه‌ها با سوسپانسیون اسپور با غلظت 2×10^5 اسپور در هر میلی‌لیتر مایه‌زنی شدند (Nourollahi et al., 2009). با توجه به بیماری‌زا بودن همه جدایه‌ها، بر اساس محل جمع‌آوری، رنگ و نحوه رشد پرگنه به ۲۰ گروه تقسیم شدند سپس از هر گروه، بر اساس ویژگی‌های ریخت‌شناختی و شدت بیماری‌زایی، یک جدایه به عنوان نماینده جهت انجام آزمایش‌های گلخانه‌ای انتخاب گردید به طوری که انتخاب جدایه‌ها، تمام مناطق نمونه‌برداری را پوشش دهد. به دلیل بالا بودن تعداد و تنوع بیماری‌زایی جدایه‌های استان لرستان نسبت به دو استان دیگر، تعداد بیشتری از جدایه‌های این استان به عنوان نماینده انتخاب شدند.

بررسی تنوع ریخت‌شناختی جدایه‌ها

به منظور بررسی تنوع ریخت‌شناختی، جدایه‌ها در تستک‌های پتری نه سانتی‌متری حاوی دو محیط CSMDA و PDA کشت گردیدند سپس ۷، ۱۴ و ۲۱ روز پس از کشت، قطر پرگنه‌ها اندازه‌گیری شد. پس از تشکیل پیکنیدیوم‌ها، در هر جدایه منتخب، ابعاد ۳۰ عدد پیکنیدیوم و پیکنیدیوسپور با استفاده از لام مدرج اندازه‌گیری شد. مجموعه این داده‌ها در تجزیه خوشه‌ای جدایه‌ها استفاده شد.

آزمایش‌های گلخانه‌ای

کاشت مواد گیاهی

برای انجام این آزمایش از سه رقم افتراقی نخود ILC 1929، ILC 482 و ILC 3996 به ترتیب حساس، متحمل و مقاوم استفاده گردید (Mahiout et al., 2016; Vafaei et al., 2015). بذرها به مدت سه دقیقه با هیپوکلریت سدیم ۰/۵ درصد سترون و سه بار به مدت

جدول ۱- شاخص درجه‌بندی شدت آلودگی بیماری برق‌زدگی نخود روی ارقام افتراقی نخود بر اساس روش کونگو و همکاران (Chongo et al., 2004)

Table 1. Disease severity rating scales of *Ascochyta* blight on chickpea differential lines, based on Chongo et al. (2004)

Scale ratings	Observed symptoms
0	no symptoms
1	few, very small (<2 mm ²) lesions on leaves and stems, <2% plant area affected (PAA)
2	very small (<2 mm ²) lesions, 2–5% PAA
3	many small lesions (<2 to 5 mm ²), 5–10% PAA
4	many small lesions, few large (>5 mm ²) lesions, 10 to 25% PAA
5	many large lesions, 25–50% PAA
6	lesions coalescing, 50–75% PAA
7	lesions coalescing with stem girdling, 75–90% PAA
8	stem girdling or breakage, >90% PAA
9	plants dead

آمار SAS 9.2 و خوشه‌بندی جدایه‌ها نیز با استفاده از روش Ward انجام شد.

نتایج و بحث

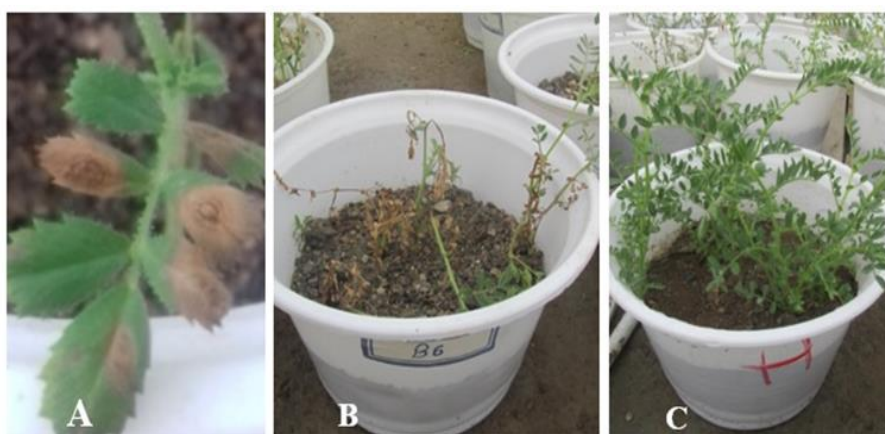
در پژوهش حاضر ۱۰۰ جدایه قارچی از سه استان لرستان، ایلام و کرمانشاه بدست آمد. آزمون بیماری‌زایی جدایه‌ها روی توده محلی گریت انجام شد. هفت روز بعد از مایه‌زنی علائم بیماری برق‌زدگی روی همه گیاهچه‌های مایه‌زنی شده به‌صورت ایجاد لکه‌های نکروزه قهوه‌ای‌رنگ روی برگ نخود مشاهده گردید، سپس قارچ عامل بیماری از همه بوته‌ها جداسازی شد (شکل ۱).

اندازه‌گیری صفات ریخت‌شناختی

به منظور اندازه‌گیری صفات ریخت‌شناختی ارقام نخود، در زمان زرد شدن ۷۰ درصد غلاف‌ها، شاخص‌های وزن صددانه، تعداد غلاف در هر بوته، تعداد شاخه‌های اصلی و فرعی، ارتفاع بوته، وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه اندازه‌گیری و ثبت شدند.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

تجزیه واریانس و آزمون مقایسه میانگین داده‌ها در مورد شدت بیماری بر اساس آزمون توکی، تجزیه واریانس و مقایسه میانگین صفات ریخت‌شناختی ارقام افتراقی نخود بر اساس آزمون LSD توسط نرم افزار



شکل ۱- A: تشکیل لکه‌های نکروزه قهوه‌ای رنگ روی برگ نخود، B: مرگ شاهد حساس ILC1929، ۱۴ روز بعد از مایه‌زنی، C: گیاه شاهد

Figure 1. A: Formation of the necrosis patches with a brown colour on the leaf of chickpea, B: Susceptible plants (control ILC1929) dead 14 days after inoculation, C: control plant

جدول ۲- خصوصیات ریخت‌شناختی و پرگنه‌ی ۲۰ جدایه‌ی *Ascochyta rabiei* در استان‌های غربی پس از ۲۱ روز رشد روی محیط کشت CSMDA

Table 2 . Morphological and cultural characteristics of 20 isolates of *Ascochyta rabiei* originated from western provinces 21 days after growing on CSMDA medium

Isolate	Location	Colony colour	Colony diameter (mm)	Conidia size (μm)	Pycnidia size (μm)
K1	Kermanshah	light green	75 ± 0.6	10.2 × 3.5	200 × 186.8
K2	Kermanshah	light green	70 ± 1.3	11.5 × 4.3	200 × 172
K3	Kermanshah	Olive green	73 ± 0.6	9.5 × 3.5	192.8 × 131
K4	Kermanshah	Olive green	75 ± 0.6	11 × 4.2	180 × 177
K5	Kermanshah	Olive green	72 ± 0.3	10.6 × 3.5	122 × 119
IL6	Ilam	Black	75 ± 0.5	11 × 3.5	103 × 100
IL7	Ilam	Blackish gray	70 ± 0.5	9.9 × 3.5	170 × 145
IL8	Ilam	Blackish gray	75 ± 0.3	10.6 × 3.7	168 × 132
IL9	Ilam	Blackish gray	75 ± 0.6	10.5 × 3.5	153.7 × 102
IL10	Ilam	Black	75 ± 0.5	11.2 × 3.5	158.5 × 139
L11	Lorestan	Black	67 ± 0.3	11 × 4.5	136 × 111.5
L12	Lorestan	Black	71 ± 0.5	11 × 4.5	169 × 139
L13	Lorestan	Dark brown	68 ± 0.6	10.4 × 4.4	207 × 175
L14	Lorestan	Blackish gray	75 ± 0.5	11 × 3.8	141 × 109.5
L15	Lorestan	Black	71 ± 0.5	10 × 3.6	167 × 131
L16	Lorestan	Dark brown	70 ± 0.3	10 × 3.3	148 × 115
L17	Lorestan	Blackish gray	65 ± 0.3	9.8 × 4.3	175 × 156.7
L18	Lorestan	Dark brown	63 ± 0.5	10.7 × 4.2	129.9 × 85.8
L19	Lorestan	Blackish gray	62 ± 0.5	10.2 × 3.5	164.5 × 129
L20	Lorestan	Dark brown	76 ± 0.6	10.7 × 3.8	207 × 175

همکاران (Paymard et al., 2014) در بررسی خصوصیات ریخت‌شناختی جدایه‌ها روی محیط CSA (Chickpea Sucrose Agar) تفاوت‌های مشخصی در قطر، رنگ و شکل پرگنه‌ها، و تراکم و اندازه پیکنیدیوم‌ها گزارش نمودند ولی از نظر اندازه پیکنیدیوسپور اختلافی دیده نشد. مشابه پژوهش حاضر، تنوع زیادی بین جدایه‌های شمال غربی الجزایر از نظر صفات ریخت‌شناختی از جمله بیماری‌زایی، رنگ و قطر پرگنه‌ها و اندازه پیکنیدیوم‌ها گزارش شده است (Mahiout et al., 2015).

ریخت‌شناختی جدایه‌ها روی محیط CSMDA نشان داد جدایه‌ها از نظر قطر کلنی، رنگ پرگنه، شکل و اندازه پیکنیدیوم و پیکنیدیوسپور متفاوت است. مشابه با نتایج حاضر، بشیر و همکاران (Bashir et al., 1986) تنوع جدایه‌های *A. rabiei* را از نظر قطر، رنگ پرگنه و تراکم پیکنیدیوم روی محیط کشت‌های مختلف گزارش کردند. در پژوهش باساندری و همکاران (Basandrai et al., 2005) در هند، جدایه‌ها از نظر رشد روی محیط کشت CDA، شکل، رنگ و تراکم پیکنیدیوم با هم متفاوت بودند. پایمرد و

واکنش ارقام افتراقی نخود در مقابل جدایه‌های

A. rabiei

بیماری‌زایی جدایه‌های *A. rabiei* روی سه رقم افتراقی ILC 1929، ILC3996 و ILC482 چهار هفته بعد از مایه‌زنی ارزیابی شد. اثرات متقابل ارقام افتراقی نخود و جدایه‌های قارچی در میزان شدت بیماری معنی‌گرای شکل و کروی بود. نتایج بررسی خصوصیات دار شد ($P < 0.01$). این نشان می‌دهد که ارقام از سطوح مقاومت متفاوتی برخوردارند. وجود این تنوع در ارقام افتراقی برای شناسایی و تفکیک سطوح بیماری‌زایی جدایه‌ها ضروری می‌باشد. نتایج مقایسه میانگین شدت بیماری‌زایی روی ارقام افتراقی در

جدول (۳) نشان داده شده است. هیچ کدام از ارقام مورد مطالعه نخود نسبت به جدایه‌های IL8، IL9 و IL10 از ایلام مقاومت نداشته و شدت بیماری‌زایی بالایی در آنها مشاهده گردید. بیشترین مقاومت نسبت به جدایه‌های قارچی مورد مطالعه، در رقم ILC3996 مشاهده شد. رقم ILC1929 بیشترین حساسیت را نسبت به تمامی جدایه‌های مورد بررسی از خود نشان داد. همچنین رقم ILC482 نسبت به جدایه‌های IL8، IL9 و IL10 واکنش حساسیت و در مقابل دیگر جدایه‌ها واکنش مقاومت نشان داد. در این پژوهش جدایه‌های کرمانشاه نسبت به جدایه‌های ایلام و لرستان قدرت بیماری‌زایی کمتری از خود نشان دادند (جدول ۳).

جدول ۳- مقایسه میانگین شدت بیماری ناشی از ۲۰ جدایه *Ascochyta rabiei* روی سه رقم افتراقی نخودTable 3. The comparison of mean of disease severity caused by 20 isolates of *Ascochyta rabiei* on three chickpea differential lines

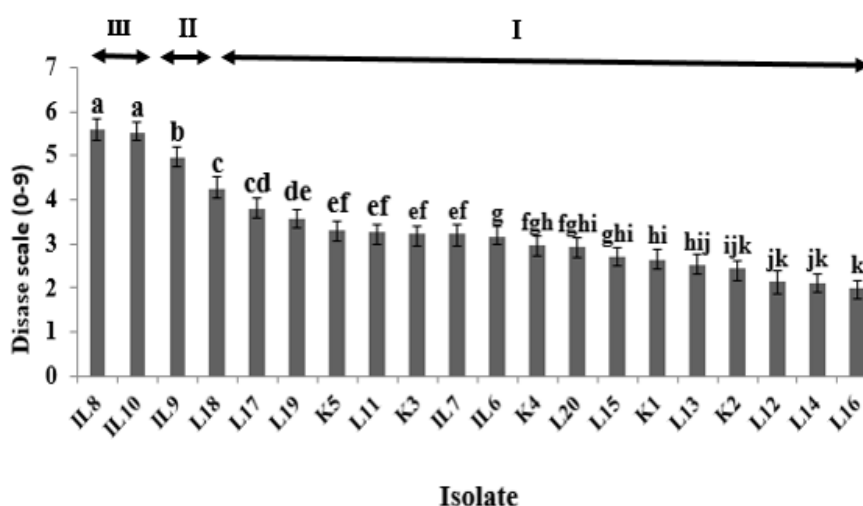
Isolate	Disease severity index in differential lines (Chongo <i>et al.</i> , 2004)		
	ILC3996	ILC1929	ILC482
K1	2.000 ± 0.301 ^{j-o}	6.750 ± 0.862 ^{a-e}	2.000 ± 0.326 ^{j-o}
K2	2.000 ± 0.301 ^{j-o}	4.000 ± 0.590 ^{g-s}	2.083 ± 0.336 ^{j-o}
K3	2.333 ± 0.376 ^{j-o}	4.583 ± 0.802 ^{f-r}	2.500 ± 0.379 ^{j-o}
K4	1.167 ± 0.297 ^{l-r}	6.333 ± 0.711 ^{a-f}	2.000 ± 0.408 ^{j-o}
K5	2.583 ± 0.257 ^{j-o}	6.083 ± 0.679 ^{a-i}	2.583 ± 0.468 ^{j-o}
IL6	1.833 ± 0.366 ^{k-p}	7.500 ± 0.645 ^a	2.500 ± 0.398 ^{j-o}
IL7	2.333 ± 0.395 ^{j-o}	7.167 ± 0.716 ^{ab}	2.083 ± 0.468 ^{j-o}
IL8	5.083 ± 0.773 ^{d-p}	6.167 ± 0.705 ^{a-h}	5.417 ± 0.773 ^{c-m}
IL9	3.833 ± 0.694 ^{i-t}	6.583 ± 0.820 ^{a-e}	4.083 ± 0.668 ^{h-s}
IL10	4.583 ± 0.690 ^{f-r}	6.917 ± 0.668 ^{a-c}	4.500 ± 0.723 ^{f-r}
L11	3.333 ± 0.607 ^{e-p}	4.333 ± 0.643 ^{f-r}	3.083 ± 0.529 ^{e-p}
L12	1.667 ± 0.284 ^{k-p}	6.000 ± 0.887 ^{a-k}	1.750 ± 0.371 ^{k-p}
L13	1.500 ± 0.379 ^{l-r}	5.917 ± 0.933 ^{a-k}	1.667 ± 0.466 ^{k-p}
L14	1.500 ± 0.358 ^{l-r}	5.333 ± 0.752 ^{c-m}	1.333 0.309 ^{l-r}
L15	1.417 ± 0.336 ^{l-r}	6.000 ± 0.590 ^{a-j}	1.917 ± 0.378 ^{k-p}
L16	1.667 ± 0.497 ^{k-p}	4.333 ± 0.791 ^{h-s}	1.333 ± 0.284 ^{l-r}
L17	1.917 ± 0.398 ^{k-p}	5.250 ± 0.719 ^{c-m}	3.667 ± 0.752 ^{i-t}
L18	2.000 ± 0.477 ^{j-o}	5.333 ± 0.837 ^{c-m}	3.750 ± 0.676 ^{h-t}
L19	2.667 ± 0.449 ^{j-o}	4.000 ± 0.564 ^{g-s}	3.667 ± 0.594 ^{i-t}
L20	1.167 ± 0.385 ^{o-s}	6.250 ± 0.719 ^{a-g}	1.750 ± 0.445 ^{k-p}

* میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر ستون از نظر آماری در سطح ۱٪ بر اساس آزمون توکی اختلاف معنی‌داری ندارند.

The means with similar letters in each column have not significant difference at the 1% level of probability.

در سال ۱۳۸۳، چهار گروه بیمارزا روی ۱۰ رقم افتراقی نخود از استان فارس گزارش گردید (Mahmoodi and Banihashemi, 2004). در بررسی‌های دیگری هشت گروه بیماری‌زایی در جدایه‌های استان‌های ایلام و کرمانشاه روی ارقام افتراقی نخود تشخیص داده شد (Nourollahi et al., 2009). همچنین مشابه تحقیق حاضر با بررسی بیماری‌زایی ۴۰ جدایه از استان‌های کرمانشاه، لرستان و ایلام روی هشت رقم افتراقی نخود، شش گروه بیماری‌زایی گزارش شد (Vafaei et al., 2016). در این بررسی جدایه‌های کرمانشاه نسبت به جدایه‌های ایلام و لرستان بیماری‌زایی کمتری نشان دادند. همه این نتایج بر اساس شدت بیماری‌زایی جدایه‌های مختلف در هر منطقه و بر روی تعداد محدودی از ارقام افتراقی بوده است و با نتایج ما مطابقت دارند. شدت بیماری‌زایی جدایه‌ها روی ارقام افتراقی نشان داد که دامنه‌ی وسیعی از تنوع بیماری‌زایی در میان جدایه‌های *A. rabiei* وجود دارد و تحقیقاتی که در ایران و دیگر مناطق جهان صورت گرفته است، این موضوع را تأیید می‌کند (Chen et al., 2004; Nourollahi et al., 2009; Ghiai et al., 2011; Vafaei et al., 2016; Baite et al., 2018).

در گروه‌بندی جدایه‌ها از نظر شدت بیماری‌زایی با استفاده از مقیاس نه درجه‌ای (Chongo et al., 2004)، جدایه‌ها در سه گروه پرازار، نیمه پرازار و کم‌آزار گروه‌بندی شدند (شکل ۳ و جدول ۳). گروه سه با دارا بودن دو جدایه IL8 و IL10 از ایلام، بیشترین میانگین شاخص شدت بیماری‌زایی را نسبت به دو گروه دیگر دارا بود. جدایه IL9 در گروه نیمه پرازار و دیگر جدایه‌ها در گروه کم‌آزار قرار گرفتند (جدول ۳). از بین جدایه‌های پرازار، IL10 بیشترین تأثیر را روی صفات عملکردی نخود نشان داد. کمترین بیماری‌زایی در جدایه‌های K2، L12، L14 و L16 مشاهده شد. مقایسه میانگین نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل بیماری‌زایی ۲۰ جدایه نماینده روی ارقام افتراقی نخود نشان داد که جدایه‌های ایلام با قرار گرفتن در گروه سه (گروه پرازار) بیشترین بیماری‌زایی را روی سه رقم افتراقی از خود نشان دادند. در بررسی Shokouhifar et al. (2003)، جدایه‌های عامل برق‌زدگی نخود دامنه وسیعی از شدت بیماری‌زایی را نشان دادند، به طوری که جدایه‌ی شماره ۱۴ از همدان بیشترین بیماری‌زایی و جدایه شماره ۱۷ از خراسان کمترین بیماری‌زایی را نشان داد. همچنین



شکل ۳- نتایج مقایسه میانگین بیماری‌زایی جدایه‌های *Ascochyta rabiei* روی ارقام افتراقی نخود، ۲۸ روز بعد از تلقیح بر اساس مقیاس درجه‌بندی بیماری (Chongo et al., 2004)

Figure 3. The comparison of mean of disease severity of *Ascochyta rabiei* isolates on chickpea differential lines 28 days after inoculation based on disease rating scales (Chongo et al., 2004)

دلیل این تنوع را می‌توان به بروز تولیدمثل جنسی و نوترکیبی در جمعیت *A. rabiei*، فشارهای میزبان مقاوم با افزایش مقاومت به توده‌ی جمعیتی بیمارگر یا فشار انتخابی سطوح مختلف مقاومت میزبان در کشت‌های زمستانه نسبت داد که زمینه‌ای برای ایجاد فنوتیپ‌های با قدرت بیماری‌زایی بالا هستند (Vafaei et al., 2016).

ارزیابی پرآزاری جدایه‌ها روی صفات عملکردی ارقام افتراقی نخود

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها بر اساس آزمون LSD نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین ارقام و جدایه‌های مختلف در برهمکنش بین بیمارگر و میزبان در سطح احتمال پنج درصد وجود دارد. بر اساس نتایج حاصل از مقایسه میانگین صفات مورد مطالعه، جدایه‌های پرآزار بیشترین اثر خود را بر روی اندام‌های هوایی (اجزاء عملکرد) شامل ارتفاع بوته، تعداد شاخه‌های اصلی و فرعی، تعداد غلاف و وزن صد دانه نشان دادند. با توجه به این که صفات عملکردی با هم همبستگی مثبت دارند، افزایش در مقدار کمی هر یک از صفات باعث افزایش صفت دیگر می‌شود. به عنوان مثال در رقم ILC482 با افزایش ارتفاع اندام هوایی، وزن تر و خشک اندام هوایی نیز بیشتر می‌شود. بیشترین تأثیر روی صفات عملکردی نخود نسبت به شاهد در جدایه IL10 مشاهده گردید (شکل‌های ۴-۶، جدول ۴). در پژوهشی اثر بیماری برقزدگی روی برخی از مهم‌ترین صفات مرتبط با

عملکرد نخود در شرایط دیم بررسی شد. نتایج این پژوهش نشان داد که بین ژنوتیپ‌ها برای صفات تعداد غلاف پوک و شاخه‌های اصلی و تعداد روز تا مرحله رسیدگی در سطح احتمال پنج درصد و عملکرد دانه، ارتفاع بوته و وزن صد دانه در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی‌دار مشاهده شد (Salimi et al., 2017). نتایج تحقیقات مشابه نشان داده که اجزای اصلی عملکرد در نخود شامل تعداد غلاف در بوته، تعداد دانه در غلاف و وزن صد دانه می‌باشد. هر گره گل دهنده دارای یک غلاف است و این گره‌ها غالباً روی شاخه‌های اولیه یا ثانویه هستند که سهم زیادی از عملکرد را به خود اختصاص می‌دهند (Cheghamirza et al., 2013). هرچه تعداد غلاف در بوته به واسطه‌ی صفات دیگری مانند شمار شاخه‌های اصلی و ارتفاع بوته، افزایش پیدا کند در نهایت منجر به افزایش عملکرد می‌شود. در مطالعات متعددی همبستگی معنی‌داری بین عملکرد دانه در گیاه با صفت ارتفاع گیاه، تعداد شاخه‌های ثانویه منشأ گرفته از ساقه اصلی و شاخه‌های اولیه و تعداد دانه در گیاه بدست آمد (Yucel et al., 2006). در این پژوهش دو رقم ILC3996 و ILC482 واکنش مقاومت به بیماری نشان دادند اما از نظر ارزیابی واکنش صفات عملکردی کمترین کاهش در صفات اندازه‌گیری شده متعلق به رقم ILC482 بود.

جدول ۴- مقایسه میانگین صفات اندازه‌گیری شده در ارقام افتراقی نخود در شرایط گلخانه‌ای

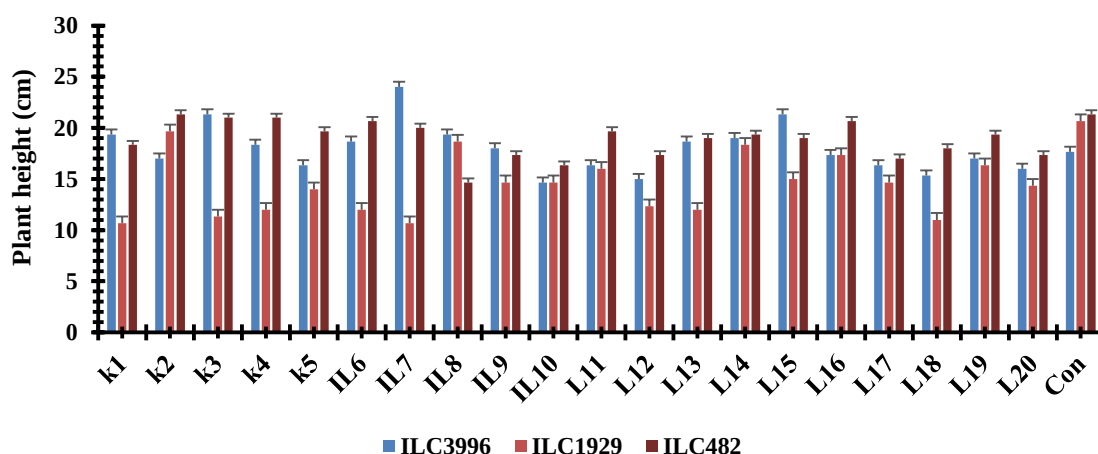
Differential lines	100 seed weight (gr)	Number of pod per plant	Plant height (cm)	No. of primary branches	No. of secondary branches	Shoot Dry weight(gr)	Root Fresh weight (gr)	Shoot Fresh weight (gr)	Root dry weight (gr)
ILC3996	32	20.6	17.95	2.6	10	0.39	1.51	1.52	0.19
ILC1929	14	5.4	14.59	1.6	6	0.28	0.99	0.9	0.37
ILC482	35	28.8	18.97	3.0	12	0.73	2.93	2.68	0.68
LSD	2.752	1.326	1.542	0.496	1.213	0.086	0.395	0.237	0.068

*اختلاف بین دو عدد بزرگتر از LSD مربوطه در سطح ۵٪ معنی‌دار است.

نتایج مقایسه میانگین اثرات ساده ارقام مختلف نشان داد که بیشترین وزن تر اندام هوایی ($2/68 \pm 0/1$ گرم)، وزن تر ریشه ($2/93 \pm 0/4$ گرم)، ارتفاع اندام هوایی ($0/68 \pm 0/4$ سانتی‌متر)، وزن خشک اندام هوایی ($0/73 \pm 0/2$ گرم)، وزن صد دانه (۳۵ گرم)، تعداد غلاف (۲۸/۸ عدد)، تعداد شاخه‌های اصلی ($0/58 \pm 3$) و فرعی

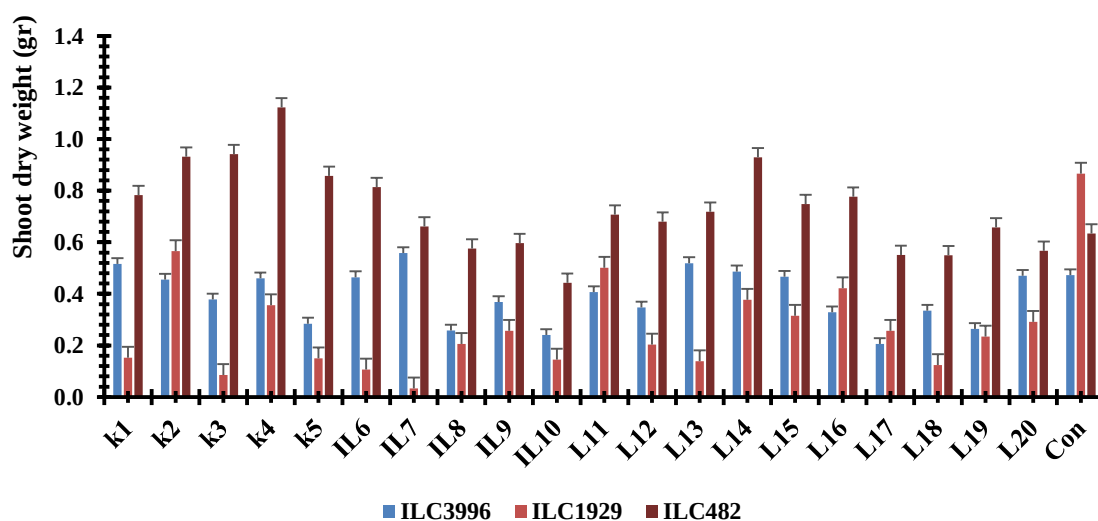
($12 \pm 0/58$) متعلق به رقم ILC482 می‌باشد. همچنین کمترین وزن تر اندام هوایی ($0/8 \pm 0/3$ گرم)، وزن تر ریشه ($0/99 \pm 0/1$ گرم)، طول اندام هوایی ($0/4 \pm 0/1$ سانتی‌متر) و وزن خشک اندام هوایی ($0/1 \pm 0/1$ گرم) و ریشه ($0/37 \pm 0/01$ گرم) به رقم ILC1929 تعلق داشت.

نتایج مقایسه میانگین اثرات ساده ارقام مختلف نشان داد که بیشترین وزن تر اندام هوایی ($2/68 \pm 0/1$ گرم)، وزن تر ریشه ($2/93 \pm 0/4$ گرم)، ارتفاع اندام هوایی ($0/68 \pm 0/4$ سانتی‌متر)، وزن خشک اندام هوایی ($0/73 \pm 0/2$ گرم)، وزن صد دانه (۳۵ گرم)، تعداد غلاف (۲۸/۸ عدد)، تعداد شاخه‌های اصلی ($0/58 \pm 3$) و فرعی



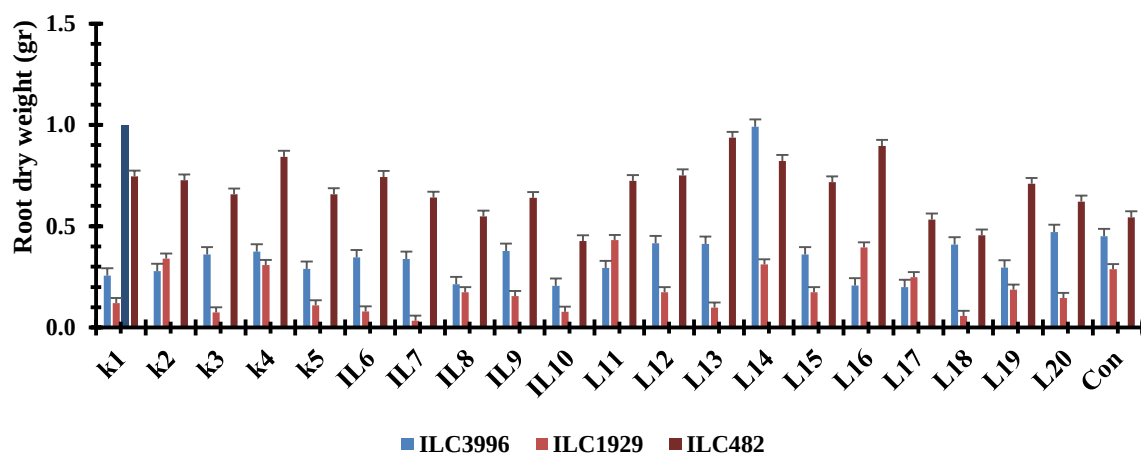
شکل ۴- نمودار مقایسه میانگین ارتفاع گیاه سه رقم افتراقی نخود در مقابل ۲۰ جدایه *Ascochyta rabiei*

Figure 4. The comparison of mean plant height among three chickpea differential lines against 20 isolates of *Ascochyta rabiei*



شکل ۵- نمودار مقایسه میانگین وزن خشک اندام هوایی سه رقم افتراقی نخود در مقابل ۲۰ جدایه *Ascochyta rabiei*

Figure 5. The comparison of mean of shoot dry weight among three differential lines against 20 isolates of *Ascochyta rabiei*



شکل ۶- نمودار مقایسه میانگین وزن خشک ریشه سه رقم افتراقی نخود در مقابل ۲۰ جدایه *Ascochyta rabiei*

Figure 6. The comparison of mean of root dry weight among three differential lines against 20 isolates of *Ascochyta rabiei*

نتیجه گیری

بیماری برقزدگی نخود از مهم ترین عوامل خسارتزای این محصول می باشد که هر چند سال یکبار اپیدمی شده و خسارت قابل توجهی به مزارع نخود وارد می کند. با توجه به میزان خسارت بالای بیمارگر و محدودیت روش های کنترلی، استفاده از ارقام مقاوم یا متحمل، مطمئن ترین و اقتصادی ترین روش مبارزه با بیماری برقزدگی نخود می باشد. در سال های گذشته، به علت نبود اطلاعات کامل از تنوع جدایه های مختلف بیمارگر در مناطق مختلف، همواره برنامه به نژادی با مشکل مواجه شده و مقاومت ارقام اصلاح شده، پس از مدتی شکسته شده است. با توجه به وجود تنوع زیاد جدایه های مورد بررسی و مشاهده تغییر در شدت بیماری زایی جدایه های لرستان نسبت به تحقیقات

پژوهش گران قبلی، ضرورت تحقیق حاضر بیش از پیش نمایان می گردد. دلیل این تغییر نمایانگر تکامل هم گرای میزبان - بیمارگر است که با گذشت زمان، گرایش به تک کشتی و عدم تنوع در ارقام مورد استفاده سبب ظهور جدایه هایی با شدت بیماری زایی بالاتر شده است. از نتایج این تحقیق می توان در برنامه های اصلاح بذر به منظور کاهش خسارت ناشی از بیمارگر، ماندگاری بیشتر مقاومت ارقام و انتخاب مناسب ترین رقم برای هر منطقه استفاده نمود.

سپاس گذاری

بدین وسیله از مسئولین کلینیک مزرعه سبز بخاطر استفاده از امکانات آزمایشگاهی مورد نیاز این پژوهش قدردانی می گردد.

REFERENCES

- Atik, O., Seid, A., Abang, M. M., Imtiaz, M., Hamwieh, A. et al. 2013. Pathogenic and genetic diversity of *Didymella rabiei* affecting chickpea in Syria. Crop Protection, 46: 70-79.
- Bashir, M., Hawar, M.P., Kebbabe, S., and Malhotra, R.S. 1986. An improved agar growth medium for *Ascochyta rabiei*. International Chickpea Newsletter, 14: 27-29.

Basandrai, A. K., Pande, S., Krishna Kishore, G., Crouch, J.H., and Basandrai, D. 2005. Cultural morphological and pathological variation in Indian isolates of *Ascochyta rabiei*, the chickpea blight pathogen. *Plant Pathology Journal*, 21(3): 207–213.

Baite, M.S., Dubey, S., and Singh, B. 2018. Morphological variability in the Indian isolates of *Ascochyta rabiei* causing blight in chickpea and evaluation of chickpea cultivars. *Indian Journal Plant Protection*, 44: 74–82.

Chen, W., Coyne, C. J., Peever, T. L., and Muehlbauer, F. J. 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.

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

Cheghamirza, S.H., Cheghamirza, K., and Mohammadi, R. 2013. Evaluation of accessions and native varieties of chickpea (*Cicer arietinum*) based on agro-physiological traits under dryland condition. *Iran Journal of Field Crops Research*, 11(3): 460–472 (In Farsi with English summary).

Dolar, F.S., Tenuta, A., and Higgins, V.J. 1994. Detached leaf assay for screening chickpea for resistance to *Ascochyta* blight. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 16 (3): 215–220.

Ghiai, S., Razavi, M., and Shahriyari, D. 2011. Study on pathogenic and molecular variability in some isolates of *Ascochyta rabiei* causal agent of *Ascochyta* blight of chickpea in Iran. *Journal of Applied Entomology and Phytopathology*, 79: 199–218 (In Farsi with English summary).

Imtiaz, M., Abang M.M., Malhotra, R.S., Ahmed, S., and Bayaa, B. et al. 2011. Pathotype IV, a new and highly virulent pathotype of *Didymella rabiei*, causing *Ascochyta* blight in chickpea in Syria. *Plant Disease*, 95: 1192–1192.

Kanouni, H., Taleei, A., and Okhovat, S.M. 2011. *Ascochyta* blight (*Ascochyta rabiei* (Pass.) Lab) of chickpea (*Cicer arietinum* L.): Breeding strategies for resistance. *International Journal of Plant Breeding and Genetics*, 5: 1–22.

Mahmoodi, F., and Banihashemi, Z. 2004. Distribution of mating type, teleomorph formation, and genetic diversity in *Didymella rabiei* the causal agent of chickpea blight in Fars province. *Iran Journal of Plant Pathology*, 40(2): 5–7 (In Farsi with English summary).

Mahiout, D., Bendahmane, B.S., Benkada, M.Y., and Rickauer, M. 2015. Physiological characterisation of *Ascochyta rabiei* (Pass.) Lab. isolated from diseased chickpea fields in six regions of northwestern Algeria. *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences*, 15: 1136–1146.

Nourollahi, K.H., Javannikkhah, M., Naghavi, M.R., and Okhovat, S. M. 2009. Pathogenic diversity in *Didymella rabiei* from the western Iranian Ilam and Kermanshah provinces. *Journal Plant Protection*, 23:56–65 (In Farsi with English summary).

Nourollahi, K.H., Javanikkhah, M., Naghavi, M.R., Lichtenzveig, J., and Okhovat, S.M. et al. 2011. Genetic diversity and population structure of *Ascochyta rabiei* from the western Iranian Ilam and Kermanshah provinces using MAT and SSR markers. *Mycological Progress*, 10: 1–7.

Naderi, H., Shokrpour, M., Asghari, A., Kanouni, H., and Esfandiari, A. 2013. Evaluation of cold tolerance in winter sowing of chickpea (*Cicer arietinum* L.) using morphological and phenological traits in Kurdistan region. *Iranian Journal of Pulses Research*, 4(1): 69–80 (In Farsi with English summary).

Pande, S., Siddique, K.H.M., Kishore, G.K., Bayaa, B., Gaur, P.M., et al. 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, A., Torabi, M., and Shahryari, D. 2014. Pathogenic variability of *Didymella rabiei* the agent of *Ascochyta* blight of chickpea in Kermanshah province. *Applied Plant Protection*, 3(2): 73–85 (In Farsi with English summary).

Shokouhifar, F., Bagheri, A., Falahati, R.M., and Malekzadeh, S. 2003. Pathotyping of *Ascochyta rabiei* isolate in Iran. *Journal of Agriculture Science and Natural Resources*, 1: 217–232 (In Farsi with English summary).

Shokouhifar, F., Bagheri, A., and Falahati, R.M. 2006. Identification of resistant chickpea lines against pathotypes causing *Ascochyta* blight disease in Iran. *Iranian Journal of Biology*, 19(1): 29–42 (In Farsi with English summary).

Salimi, A., Modarresi, M., Kanouni, H., and Jamali, F. 2017. Evaluation of the genetic diversity of resistance to *Ascochyta* blight and some of the most important traits related to chickpea yield under rained conditions. *Iranian Journal of Field Crop Science*, 48(2): 453–463 (In Farsi with English summary).

Vafaei, S.H., Rezaee, S., Abasi Moghadam, A., and Zamanizadeh, H.R. 2016. 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: 921–930.

Yucel, D.O., Anlarsal, A.E., and Yucel, C. 2006. Genetic variability, correlation and path analysis of yield, and yield components in chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 30: 183–188.

Zhou, Z., Bar, I., Sambasivam, P.T., and Ford, R. 2019. Determination of the key resistance gene analogs involved in *Ascochyta rabiei* recognition in chickpea. *Frontier Plant Science*, 10: 644.



© 2021 Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International. (CC BY-NC 4.0 license) (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>).

Assessing the pathogenicity of *Ascochyta rabiei* isolates on different chickpea lines and their effect on some yield-related traits

S. Mirzapour¹, M. Darvishnia^{2*}, E. Bazgir³ and H. Mirzaei Najafgholi³

1. Ph.D. Student, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorram abad, Iran
2. ***Corresponding Author:** Associate Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorram abad, Iran (darvishnia.m@lu.ac.ir)
3. Assistant Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorram abad, Iran

(DOI): 10.22055/PPR.2021.16710

Received: 7 January 2020

Accepted: 29 March 2021

Abstract

Background and Objectives

Chickpea is cultivated in the rotation with wheat and barley which plays an important role in the sustainable agriculture in the western provinces of Iran. The production of chickpea is strictly limited due to some devastating fungal diseases such as Aschochyta blight disease.

Materials and Methods

During 2017-2018, chickpea fields were monitored for the suspicious samples. Then, they were transferred to the laboratory. 100 samples were recovered from 20 local areas, and all isolates were categorized into 20 groups based on the geographical regions. From each group, one representative was selected for further studies. To investigate the pathogenicity and morphological diversity, three different chickpea varieties were selected for this study. This investigation was performed in the completely randomized block with three replications, and some resistant and production-related features were measured. To determine disease severity, a 0–9 rating scale was applied.

Results

In this investigation, 100 isolates from 20 local areas were selected. Subsequently, one representative from each group was selected. Based on the analytical results, the isolates were different in the pathogenicity and morphological at one percent probability level. Analytical approaches showed that interaction between isolates and varieties were different at all measured features at one percent probability. Among the varieties, for features such as the weight of 100 seeds, the number of sheet in each plant, number of shoots in each plant, plant height, wet and dry weight of root and upper parts were different at five percent similarity level. The variety of ILC482 was the most proficient with an average of 35 grams in 100 seed weight. 100 seed weight and the number of pods were affected by the disease more than other parameters. The evaluation of disease showed the variation among pathogenicity and morphological traits among isolates. In surveying the morphological parameters of isolates on CSMDA media, considerable

differences were observed in colony color, pycnidium shape, and pycnidiospore. The isolates were divided into three groups: highly aggressive, medium aggressive and least aggressive based on the pathogenicity results. The isolates IL8, IL9, and IL10 had the highest pathogenicity on all cultivars. The isolate IL10 had the highest effect on morphological characteristics.

Discussion

Resistant variety is the best method of control Ascochyta blight due to the high price of fungicides and their harms to the environment. Unfortunately, resistance is not durable for a long time because of the fungal population's diversity. The interaction of differential chickpea varieties and fungal isolates showed different virulence ($P<0.01$). It indicates that varieties are in different levels of resistance level. These variations are necessary for the identification and classification of virulence levels among the isolates. Differential varieties should contain different resistant genes. Analytical results showed that probable differences exist between varieties and isolates at one percent probability. Our results revealed that the functional features of chickpea are affected by Ascochyta blight.

Keywords: *Cicer arietinum L, Ascochyta blight, Virulence, Western Provinces*