

شناسائی ارقام مقاوم نخود در مقابل پاتوتیپهای عامل بیماری برقزدگی در ایران

فرهاد شکوهی^۱، عبدالرضا باقری^۲ و ماهرخ فلاحتی رستگار^۲

^۱مشهد، دانشگاه فردوسی، پژوهشکده علوم گیاهی

^۲مشهد، دانشگاه فردوسی، دانشکده کشاورزی

چکیده

شناسائی منابع ژنتیکی مقاومت در ژرم پلاسما نخود، مقابل پاتوتیپهای عامل بیماری برقزدگی در طراحی برنامه‌های اصلاحی بسیار ضروری است. ارزیابی ژرم پلاسما محصولات زراعی بعنوان مخزن ژنهای مفید جهت مقابله با تنشهای زیستی و غیر زیستی همواره مورد توجه اصلاحگران بوده است. قارچ عامل بیماری برقزدگی، *Ascochyta rabiei* Pass. Lab یکی از مهمترین عوامل زیستی محدود کننده کشت و تولید نخود در بیشتر مناطق دنیا و از جمله ایران بشمار می‌رود. در مطالعه حاضر بمنظور شناسائی منابع ژنتیکی مقاومت در مقابل شش پاتوتیپ گزارش شده از عامل بیماری برقزدگی در ایران، واکنش ۴۲۰ توده بومی و ۹۷ دودمان و رقم خارجی نخود در شرایط مزرعه و گلخانه طی دو سال ۸۲-۱۳۸۱ در محوطه پردیس دانشگاه فردوسی مشهد مورد بررسی قرار گرفت. در سال اول ژنوتیپها در مزرعه کشت و در مرحله پنج تا هفت برگی بوسیله مخلوطی از سوسپانسیون اسپور پاتوتیپها مایه زنی شد. رطوبت و دمای مناسب جهت شیوع بیماری با فعال نمودن سیستم مه‌پاش بمدت یک هفته فراهم شد. خسارت بیماری با استفاده از مقیاس ۹ درجه‌ای پس از مشاهده مرگ کامل در لاینهای شاهد حساس یادداشت شد. در این مرحله ۶۳ نمونه با درجه خسارت کمتر از پنج در مقابل کلیه پاتوتیپها مقاومت بالائی نشان دادند. بمنظور اطمینان از نتایج حاصل این ژنوتیپها در گلخانه کشت و در مراحل گیاهچه‌ای، گلدهی و غلاف‌دهی با مخلوط سوسپانسیون اسپور هر شش پاتوتیپ مجدد مایه‌زنی شدند. علائم بیماری دو هفته بعد از هر مرحله تلقیح بررسی شد. نتایج نشان داد در مرحله غلاف‌دهی ژنوتیپهای مقاوم و حساس با دقت و اطمینان بیشتری از یکدیگر متمایزند. متوسط خسارت بیماری در شرایط گلخانه نسبت به مزرعه افزایش نشان داد. در ارزیابی گلخانه‌ای ۹ نمونه با درجات ۲ و ۳ مقاوم شناسائی شدند. در مجموع ژنوتیپهای MCC496، MCC133، MCC3.11، MCC299، MCC528 و MCC142 از تیپ کابلی و ژنوتیپهای MCC54 و MCC523 از تیپ دسی در هر دو شرایط مزرعه و گلخانه با درجه خسارت ۲ و ۳ در برابر شش پاتوتیپ از بیماری برقزدگی مقاومت بالائی نشان دادند. از این ژنوتیپها بعنوان منابع مقاومت در برنامه‌های اصلاحی نخود استفاده خواهد شد.

واژه های کلیدی: نخود، برقزدگی، به‌نژادی، مقاومت

مقدمه

می‌رود (۲). قارچ عامل این بیماری *Ascochyta rabiei* در محدوده دمائی ۱۰ تا ۲۰ درجه سانتی گراد و رطوبت نسبی بیش از ۶۰ درصد بسرعت توسعه یافته و در سالهای پرباران و شرایط رطوبتی مناسب خسارت شدیدی به مزارع وارد می‌سازد (۱). در حال حاضر این بیماری بعنوان مهمترین عامل محدود کننده کشت زمستانه نخود مطرح است (۲). تلاش جهت کنترل این بیماری از ابتدای

تلاش جهت شناسائی منابع ژنتیکی مقاومت در برابر عوامل بیماریزا یکی از اساس‌ترین مراحل اجرای برنامه‌های اصلاحی نخود بشمار می‌رود. وجود ژرم‌پلاسما غنی و متنوع نخود بعنوان مخزن ژنهای مفید در مقابل عوامل بیماریزای مهم همواره مورد توجه بوده است. بیماری برقزدگی یکی از مهمترین عوامل محدود کننده کشت و تولید نخود در بیشتر مناطق دنیا و از جمله ایران بشمار

قرن بیستم با شناسائی عامل بیماری آغاز شد (۱۵). در ابتدا روشهای مختلفی از جمله تیمار بذر با قارچکشها، تغییر تاریخ کاشت و غیره، برای کنترل بیماری بکارگرفته شد ولی این روشها علاوه بر کارائی پائین، غیر اقتصادی بود (۲). لذا اصلاح جهت دستیابی به ارقام مقاوم بعنوان یک راه عملی و اقتصادی برای کنترل این بیماری در برنامه‌های اصلاحی نخود بطور جدی مورد توجه قرار گرفت (۲۲).

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 و وارد شدن خسارتهای شدید به مزارع نخود در کشورهای مختلف از جمله امریکا، تونس، اسپانیا و سوریه (۱۴) و (۲۶) به تقویت مطالعات به‌نژادی جهت شناسائی ارقام مقاوم منجر شد.

در مطالعات اولیه، ژرم پلاسما نخود در مناطق مختلف جهت گزینش منابع مقاومت مورد ارزیابی قرار گرفت و ژنوتیپهای مقاوم زیادی از هند (۲۷)، ایران، بلغارستان (۱۸) و یونان (۱۷) گزارش شد. در سوریه به‌مراه مطالعات اولیه انجام شده روی عامل بیماری، ژرم‌پلاسمهای نخود بارها مورد ارزیابی قرارگرفت و ارقام مقاوم متنوعی شناسائی شدند (۲۷، ۲۸، ۳۲ و ۳۳). در این میان ردی و سینگ (۲۷) با ارزیابی ۹۵۷۴ نمونه از تیپ دسی و ۳۸۳۶ نمونه از تیپ کابلی واکنش آنها را در برابر بیماری برق‌زدگی مورد مقایسه قرار داده و یازده دودمان از تیپ کابلی و شش دودمان از تیپ دسی را بعنوان منابع مقاوم تا نسبتاً مقاوم معرفی نمودند. در مطالعه دیگری سینگ و ردی (۳۲) واکنش ۱۹۳۴۳ نمونه موجود در ژرم پلاسما جهانی نخود را در مقابل ۶ نژاد رایج در سوریه مجدداً مورد ارزیابی قرار دادند. آنها در نهایت سه نمونه از تیپ دسی و دو نمونه از تیپ کابلی را بعنوان ارقام مقاوم معرفی کردند.

در هند نیز به موازات بررسی جمعیت بیمارگر و گروه بندی تنوع بیماریزایی آن مطالعات زیادی جهت گزینش

ارقام مقاوم انجام شده و تا کنون ارقام مقاوم زیادی از این مناطق گزارش شده است (۱۹، ۲۰، ۳۱ و ۳۴). کالیا (۱۹) در مطالعه‌ای ۶۰ لاین تهیه شده از مرکز بین‌المللی ایکریسات در هند را طی سه سال در مقابل جمعیت *A. rabiei* مورد ارزیابی قرار داد و سه لاین مقاوم معرفی کرد. در مطالعه دیگری محمد بشیر و همکاران (۲۳) تعداد ۳۳۶۰ دودمان تهیه شده از ایکریسات را طی سال‌های ۸۴-۱۹۸۳ تحت شرایط آلودگی مصنوعی بیماری برق‌زدگی در مزرعه مورد ارزیابی قرار دادند و بترتیب ۱۰، ۴۵ و ۸۵ لاین بترتیب به درجه خسارت ۲، ۳ و ۴ بعنوان دودمان‌های مقاوم انتخاب شدند. همچنین مطالعات زیادی نیز بمنظور شناسائی مقاومت ترکیبی در برابر چند بیماری انجام شده است (۲۵ و ۳۴). در مطالعه‌ای سینگ و چاند (۳۴) بیش از ۱۱۰۰ ژنوتیپ نخود را بمنظور شناسائی منابع مقاومت به بیماریهای پژمردگی ریشه، پوسیدگی ریشه و بیماری برق‌زدگی مورد ارزیابی قرار دادند و پنج رقم را در برابر هر سه بیماری مقاوم گزارش کردند.

مطالعات به‌نژادی در کشورهای پاکستان (۲۳)، ترکیه (۲۱)، استرالیا (۲۴)، ایتالیا (۳۵)، کانادا (۲۹ و ۳۰)، نیز انجام شده است. در ترکیه واکنش ۱۱۰۰ نمونه از ژرم پلاسما جهانی نخود در مزرعه مورد بررسی قرار گرفت و ۶ دودمان با مقاومت بالا گزینش شد (۲۱). در ایران با توجه به سابقه و اهمیت این بیماری مطالعات متعددی جهت شناسائی پاتوتیپهای موجود در کشور انجام شده است (۶، ۸ و ۱۲). ارزیابی این بیماری در استانهای مختلف کشور نشان داد که در استانهای فارس و آذربایجان شرقی درجه خسارت بیماری در مزارع بالا است و درصد بالائی از گیاهان به این بیماری مبتلا می‌باشند (۱۱). شکوهی‌فر و همکاران (۶) با مطالعه ۹۴ جدایه از استانهای مختلف ایران و توانستند شش سطح مقاومتی در ارقام افتراقی تعیین نمایند و بر اساس قدرت بیماریزایی لازم جهت شکستن این سطوح، شش گروه پاتوتیپی P1، P2، P3، P4، P5 و P6 را در ایران گزارش کردند. در مطالعه دیگری تنوع ژنتیکی جدایه‌های

الف- ارزیابی مزرعه‌ای: مزرعه ایزوله‌ای در محوطه پردیس دانشگاه فردوسی مشهد، جهت کشت ژنوتیپها و شیوع مصنوعی بیماری با انجام شخم پائیزه، دیسک و شیارسازی آماده‌گردید. از هر نمونه ۲۰ عدد بذر سالم و یکنواخت انتخاب و در اسفند ماه سال ۱۳۸۲ در ۱۰ بلوک حاوی ۶۷ ردیف یک متری با فواصل ۴۵ و ۵ سانتیمتر (بترتیب بین و روی ردیفها) کشت شد. در هر بلوک حداقل ۱۰ نمونه، دو رقم ILC263 و ILC1929 (ارقام حساس شاهد) بمنظور اطمینان از امکان توسعه بیماری کشت گردید. آبیاری مزرعه بطریقه سیفونی با دوره آبی چهارده روزه انجام شد. علفهای هرز بطور متناوب یکماه پس از کشت تا زمان گلدهی بوته‌ها وجین شد.

آماده سازی نمونه های قارچ و تهیه سوسپانسیون اسپور: ۲۲ جدایه از شش گروه پاتوتیپی و ۲۲ گروه ژنوتیپی شناسائی شده در مطالعات اولیه (۶ و ۷) انتخاب شد و در ۱۵ تکرار روی محیط کشت جامد عصاره نخود Chickpea Seed Meal Agar (CSMA) (۴ گرم پودر بذر نخود، ۳ گرم دکستروز و ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر) کشت و در شرایط دمایی ۱۸ درجه سانتی گراد و ۱۴ ساعت روشنایی نگهداری و پس از چهارده روز جهت تولید سوسپانسیون اسپور استفاده شد. مقدار اسپور مورد نیاز برای دستیابی به غلظت $10^6 \times 1/2$ اسپور در میلی لیتر با تخمین کل اسپورهای تولید شده در یک پتری دیش حاوی کشت چهارده روزه، محاسبه شد. حجم سوسپانسیون اسپور مورد نیاز، با توجه به مساحت مزرعه (۳۰۰ مترمربع) و میزان پاشش دستگاه سمپاش مورد استفاده، در حدود ۶۰ لیتر تخمین زده شد. سوسپانسیون اسپور با جداسازی اسپورها از کشتهای چهارده روزه، ۱۰ دقیقه بعد از افزودن مقدار ۱۰ میلی لیتر آب مقطر به پتری دیشها و تراشیدن سطح محیط کشت و یکنواخت کردن آن بمدت ۱۰ دقیقه با استفاده از دستگاه هموژنایزر تهیه شد.

ایران با استفاده از نشانگرهای مولکولی RAPD بررسی گردید و ۲۲ گروه ژنوتیپی شناسائی شد (۷). با توجه به قدرت بیماریزایی پاتوتیپهای پنج و شش و همچنین تنوع ژنتیکی بالای این بیمارگر در ایران طراحی برنامه‌های اصلاحی جهت گزینش ارقام مقاوم متناسب با گروه‌های پاتوتیپی شناسائی شده ضروری است. تلاشهای گسترده‌ای نیز بمنظور یافتن ارقام مقاوم به پاتوتیپهای ایران صورت گرفته است (۳، ۴، ۵، ۹، ۱۰، ۱۳) و ارقام مقاوم زیادی تا کنون معرفی شده اند ولی در بیشتر این مطالعات ارقام دودمانهای خارجی در مقابل پاتوتیپهای ایران مورد ارزیابی قرار گرفته‌اند و کمتر مطالعه‌ای روی ژنوتیپهای بومی ایران صورت گرفته است. همچنین در بیشتر این مطالعات معمولاً واکنش حدود ۵۰ نمونه داخلی یا ارقام خارجی در برابر بیماری مورد ارزیابی قرار گرفته‌اند، لذا بنظر می‌رسد با ارزیابی تعداد نمونه بیشتر شامل توده‌های بومی و ارقام خارجی بتوان شانس یافتن منابع مقاومت را افزایش داد. همچنین با حضور کلیه پاتوتیپهای کشور در ارزیابی ژنوتیپها، امکان دستیابی به مقاومت پایدارتری را می‌توان فراهم نمود.

در مطالعه حاضر ژرمپلاسم نخود با هدف دستیابی به منابع ژنتیکی مقاومت به پاتوتیپهای ایران مورد ارزیابی قرار گرفت. همچنین تفاوت شرایط مزرعه و گلخانه و دوره‌های رشدی مختلف در تمایز ارقام مقاوم و حساس نخود بررسی شد.

مواد و روشها

عکس العمل ۵۱۷ نمونه نخود شامل توده‌های بومی و ارقام خارجی موجود در بانک بذر دانشگاه فردوسی مشهد در برابر شش پاتوتیپ از بیماری برق‌زدگی (۶) طی دو سال زراعی (۸۲-۱۳۸۱ و ۸۳-۱۳۸۲) در شرایط مزرعه و گلخانه مورد بررسی قرار گرفت.

ب- ارزیابی گلخانه‌ای: بمنظور انطباق نتایج مزرعه‌ای با گلخانه عکس العمل ژنوتیپهای مقاوم شناسائی شده در شرایط گلخانه مورد ارزیابی قرار گرفتند.

کشت گیاهان: ژنوتیپهایی که در شرایط مزرعه در برابر شش پاتوتیپ از عامل بیماری برق‌زدگی مقاوم بودند، در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۶ تکرار درون گلدانهایی با دهانه ۱۵ سانتیمتر در گلخانه با دمای 22 ± 2 درجه سانتی گراد کشت شدند. ارقام ILC1929 و ILC263 بعنوان ارقام حساس استاندارد جهت اطمینان از بروز آلودگی در موقعیتهای مختلف گلخانه قرار گرفتند. در هر گلدان چهار عدد بذر کشت شد. گلدانها تا زمان سبز شدن بطور روزانه با استفاده از سیستم آبیاری بارانی بمدت ۲ دقیقه آبیاری شدند.

آماده سازی سوسپانسیون اسپور و مایه‌زنی عامل بیماری: همزمان با کشت نمونه‌ها در گلخانه، ۲۲ جدایه مربوط به شش گروه پاتوتیپی و ۲۲ گروه ژنوتیپی (۶ و ۷) در دو تکرار روی محیط کشت جامد عصاره نخود کشت گردید. با فواصل ۲۰ روز تکرارهای دیگری از هر جدایه کشت گردید. پس از گذشت چهارده روز کشتهای مناسب از هر جدایه جهت تهیه سوسپانسیون اسپور انتخاب و مطابق با روش اشاره شده در ارزیابی مزرعه‌ای آماده شدند. آماده‌سازی سوسپانسیون اسپور جدایه‌ها در فواصل زمانی بیست تا بیست و پنج روز تکرار شد و جهت مایه‌زنی بیماری در مراحل رشدی گلدهی و غلاف دهی مورد استفاده قرار گرفت. اولین مرحله مایه‌زنی بیماری با پاشش سوسپانسیون اسپور حاصل روی گیاهان در مرحله پنج تا هفت برگی انجام شد. پاشیدن سوسپانسیون اسپور با استفاده از آبخشان دستی و تا حد ریزش قطرات از روی برگ گیاه، پس از غروب خورشید و در زیر نور مصنوعی انجام گردید. شرایط دمائی گلخانه پس از مایه‌زنی بین ۱۸ تا ۲۰ درجه و رطوبت با استفاده از سیستم مه‌پاش در حد بالای ۶۰ درصد تنظیم شد. همچنین بمدت یک هفته

نصب سیستم مه‌پاش و مایه‌زنی عامل بیماری: با توجه به شرایط محیطی مورد نیاز جهت جوانه زنی و توسعه بیماری که تا حد زیادی به دما (۱۸ تا ۲۰ درجه سانتی گراد) و رطوبت (بالای ۶۰ درصد) وابسته است (۲۶)، تعداد ۱۵ عدد نازل مه‌پاش (قطر قطرات ۱ میلی متر و شعاع پاشش ۵ و ۹ متر) با آرایش مثلثی در مزرعه نصب گردید و بگونه‌ای برنامه ریزی شد تا مدت یک هفته پس از مایه‌زنی در طول روز با فواصل زمانی ۱۰ دقیقه بمدت ۲۰ دقیقه و در طول شب با فواصل زمانی هر ۵۰ دقیقه مدت ۱۰ دقیقه فعال باشد. گیاهچه‌ها در مرحله پنج برگی با مخلوط سوسپانسیون اسپور شش گروه پاتوتیپی پس از غروب خورشید با استفاده از یک دستگاه سمپاش دستی مایه‌زنی شدند. طی مراحل گلدهی و غلاف دهی مایه‌زنی مجدد بیماری با فعال کردن سیستم مه‌پاش طی دوره‌های سه روزه انجام شد.

بررسی علائم و درجه بندی آنها: پس از گذشت یک هفته، علائم اختصاصی بیماری کنترل و پس از مرگ کامل گیاهان حساس، خسارت بیماری براساس درجه بندی ۱ تا ۹ بشرح ذیل مشخص گردید (۳۶):

- ۱: عدم مشاهده زخم
- ۲: نقاط رنگ پریده کوچک و محدود روی برگ
- ۳: زخمهای محدود و بیضی شکل روی ساقه
- ۴: زخمهای طولیل شده و محاط در دور ساقه
- ۵: ترد شدن ساقه در محل زخم
- ۶: شکستگی ساقه در محل زخم
- ۷: گسترش زخمها به پائین ساقه
- ۸: مرگ نسبی گیاه
- ۹: مرگ کامل گیاه

بر اساس درجه خسارت، ژنوتیپها در گروههای مقاوم (درجه خسارت ۱ تا ۴)، متحمل (۵)، حساس (درجه خسارت ۶ تا ۹) تقسیم‌بندی شدند (۳۲). ژنوتیپهای مقاوم جهت انجام مطالعات تکمیلی انتخاب شدند.

دو هفته پس از مایه‌زنی علائم اولیه بیماری، یعنی زردی برگها، بخوبی در اندامهای مختلف گیاه در سطح مزرعه قابل رویت بود و نشان داد مایه‌زنی بخوبی انجام شده است. چهار هفته پس از مایه‌زنی و با فعالیت سیستم مه‌پاش بیماری در دمبرگ و ساقه در ژنوتیپهای حساس توسعه یافت و به مرگ کامل ژنوتیپهای شاهد حساس منتهی شد (شکل ۲). در حالیکه در این مرحله علائم بیماری روی گیاهان حاشیه طرح مشاهده نشد. این گیاهان از رویش مخلوطی از بذور ژنوتیپها بخصوص ژنوتیپهای شاهد حاصل شده بودند. بنظر می‌رسد این اختلاف به دلیل فراهم شدن رطوبت و دمای مناسب جهت توسعه قارچ روی گیاهان تحت پوشش سیستم مه‌پاش بوده است.



شکل ۲: شیوع کامل بیماری در مزرعه و متمایز شدن ژنوتیپهای مقاوم و حساس

روند توسعه بیماری: بررسی علائم بیماری نشان داد که خسارت بیماری در برگ و دمبرگ، ساقه، جوانه انتهایی، جوانه جانبی و طوقه در ژنوتیپهای مختلف با یکدیگر متفاوت است. در تعداد اندکی از ژنوتیپها خسارت بیماری تنها در نوک برگها قابل مشاهده بود و اندامهای دیگر از جمله ساقه و جوانه انتهایی نسبت به بیماری مقاوم بودند (شکل ۳). در گروه دوم برگهای میانی گیاه خسارت دیده بودند ولی برگهای مسن گیاه و برگهای اطراف جوانه

بوته‌ها سایه‌دهی شدند تا شرایط توسعه بیماری کاملاً مهیا گردد.

یادداشت برداری و تجزیه داده‌ها: دو هفته پس از مایه‌زنی، علائم بیماری و میزان خسارت آن روی گیاهان هر گلدان، با استفاده از مقیاس ۹ درجه‌ای (۳۶) تعیین شد. یادداشت برداری دو هفته پس از هر مرحله مایه‌زنی تکرار شد. داده‌های مربوط به درجه خسارت بیماری بصورت آزمایش فاکتوریل با دو فاکتور ژنوتیپهای گیاهی (در ۶۳ سطح) و مرحله رشدی (در سه مرحله: گیاهچه‌ای، گلدهی و غلاف‌دهی) در قالب طرح کاملاً تصادفی تجزیه و تحلیل شدند. بر اساس درجه خسارت در مرحله غلاف‌دهی، کلیه ژنوتیپها در ۳ گروه مقاوم، متحمل و حساس قرار گرفتند. درجه خسارت ژنوتیپها در شرایط مزرعه و گلخانه با استفاده از آزمون t داده‌های جفت شده، مورد مقایسه شد.

نتایج و بحث

الف- ارزیابی مزرعه‌ای: سرعت جوانه زنی و رشد در نمونه‌ها بسیار متنوع بود با این حال پس از گذشت ۳۰ روز نمونه‌ها تا مرحله پنج برگی رشد کرده و جهت مایه‌زنی آماده بودند (شکل ۱).



شکل ۱: مرحله رشدی گیاهان در زمان تلقیح بیماری پس از نصب سیستم مه‌پاش

شناسائی این عوامل اقدام نمود (۱۶). وجود این عوامل در بافت ساقه نمونه های گروه ۳ و عدم وجود آنها در بافتهای تشکیل دهنده برگ و دمبرگها قابل توجه است. همچنین تفاوت مشاهده شده در گروه ۵ و ۶ از جهت وجود چنین عواملی در بافت طوقه که منجر به حفظ و باززایی ساقه های جانبی شده اند نیز حائز اهمیت می باشد. بیشتر ژنوتیپهای مقاوم شناسائی شده در این مطالعه نمونه های بومی مربوط به ایران بود.



شکل ۴: مشاهده مقاومت در منطقه طوقه ژنوتیپهای حساس و رشد مجدد ساقه های جانبی و ورود گیاه به مرحله گلدهی و غلاف دهی

از ۵۱۷ نمونه ارزیابی شده در مزرعه تنها ۵ نمونه (کمتر از یک درصد) با درجه خسارت ۲ در برابر کلیه پاتوتیپها تا حد زیادی مقاوم بودند، همچنین تعداد ۹ و ۴۹ نمونه نیز با درجه خسارت ۳ و ۴ علائم محدودی نشان دادند. در مجموع حدود ۱۲ درصد از ژنوتیپها با درجه خسارت کمتر از ۵ بعنوان منابع مقاوم در برابر شش پاتوتیپ انتخاب شدند. نزدیک به ۱۸ درصد با درجه خسارت ۵ متحمل و در مقابل نزدیک به ۷۰ درصد از ژنوتیپها با درجه خسارت بیشتر از ۵ در برابر بیماری برقزدگی حساسیت نشان دادند (شکل ۵).

انتهایی مقاومت نشان دادند. در مقابل در گروه سوم تمام برگهای گیاه به استثنای برگهای اطراف جوانه انتهایی خسارت دیدند.



شکل ۳- واکنش ژنوتیپهای مقاوم و حساس در مقابل پاتوتیپهای قارچ *Ascochyta rabiei* در شرایط مزرعه، الف: از راست به چپ ژنوتیپهای MCC54 و MCC212 با درجه خسارت ۲ و ۹ ب: وضعیت رشدی دو نمونه متحمل (MCC468 راست- پائین تصویر و MCC525 چپ- بالای تصویر) با درجه خسارت ۵ در پایان فصل رشد، به دلیل سالم بودن جوانه انتهایی سرشاخه ها مجدد رشد کرده اند

در واقع ویژگی این گروه، سالم بودن ساقه و جوانه انتهایی بود. در گروه چهارم زخمهای توسعه یافته ای روی ساقه مشاهده شد که به شکستگی ساقه و حذف جوانه انتهایی منتهی گردید. در این گیاهان جوانه های جانبی سالم بودند و با حذف جوانه انتهایی فعال شدند. در تعداد محدودی از ژنوتیپها با اینکه به تمام اندامهای هوایی گیاه خسارت وارد شده بود ولی طوقه گیاه سالم بود و ساقه های جانبی از محل طوقه رشد کرده و حتی وارد مرحله گلدهی و غلاف دهی شدند (شکل ۴).

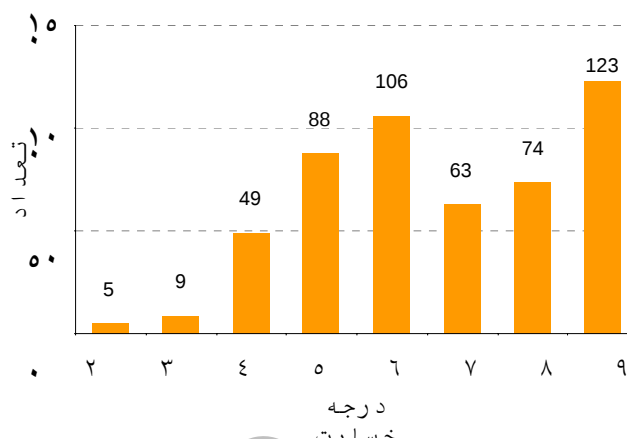
واکنش اندامهای مختلف گیاه از نظر شناسائی عوامل مؤثر در بیان ژنهای مقاومت مورد توجه می باشد. با بررسی محتوی پروتئینی این بافتها در شرایط تنش می توان به

نشان دادند. همچنین لاین ILC482 که علاوه بر منابع خارجی در ایران نیز مقاوم گزارش شده است (۱۱) در مطالعه حاضر با درجه خسارت ۵ در گروه ژنوتیپهای متحمل قرار گرفت.

براساس نتایج ارزیابی ژنوتیپها در شرایط مزرعه در مجموع تعداد ۶۳ نمونه (شامل ۲۴ رقم و دودمان خارجی و ۳۹ توده بومی جمع آوری شده از مناطق مختلف کشور) با درجه خسارت کمتر از ۵ بمنظور ارزیابی مجدد انتخاب شد (جدول ۱).

ب- ارزیابی گلخانه‌ای: در شرایط گلخانه اکثر ژنوتیپها یک هفته پس از کشت سبز شدند و ۴۵ روز پس از کشت گیاهان به مرحله رشدی ۵ تا ۷ برگگی رسیدند. تعدادی از ژنوتیپها بدلیل آلوده بودن خاک و بروز بیماری پژمردگی خسارت دیدند، ولی با توجه به تکرار بالای در نظر گرفته شده (شش تکرار از هر نمونه)، از هر نمونه حداقل دو گلدان جهت ارزیابی در برابر پاتوتیپهای بیماری برقزدگی باقی ماند. مراحل آماده سازی سوسپانسیون اسپور با استفاده از دستگاه هموژنایزر بخوبی انجام شد و سوسپانسیون حاصل به راحتی با استفاده از آب افشان دستی روی گیاهان قابل مایه‌زنی بود. علائم اولیه بیماری بصورت زردی در انتهای برگها یک هفته پس از مایه‌زنی بخوبی روی ارقام شاهد مشاهده شد و علائم بیماری در مراحل توسعه یافته بصورت زخمهای ساقه بروز کرد.

مرحله گیاهچه‌ای: خسارت بیماری یک ماه پس از اولین مرحله مایه‌زنی بین ۲ تا ۴ متغیر است (جدول ۱). در این مرحله اکثر ژنوتیپها (۹۴ درصد) با درجه خسارت ۲ و ۳ در مقابل بیماری مقاوم هستند. در حالیکه این ژنوتیپها در شرایط مزرعه با درجه خسارت ۴ حساسیت بیشتری نسبت به پاتوتیپها نشان داده بودند. از آنجا که بذور ژنوتیپهای مقاوم مزرعه برداشت و در ارزیابی گلخانه‌ای کشت شدند بنظر می‌رسد بین میزان مقاومت بذور یک رقم متحمل و شرایط رشدی والدش وجود داشته باشد. این فرضیه باید



شکل ۵- واکنش ژنوتیپهای مختلف نخود در مقابل شش پاتوتیپ از عامل بیماری برقزدگی در شرایط مزرعه

اکثر ژنوتیپهای مقاوم، متحمل و تعداد محدودی از ژنوتیپهای حساس به بیماری به مرحله غلاف‌دهی وارد شدند و در پایان دوره بذور آنها جمع آوری شد، ولی ژنوتیپهای MCC155، MCC166 و MCC468 اگرچه در مراحل اولیه رشد مقاومت خوبی نشان دادند ولی در مراحل گلدهی و غلاف‌دهی به بیماری حساس بودند و به مرحله بذردهی نرسیدند. در مقابل تعداد یازده، نه و یک نمونه بترتیب با درجه خسارت ۶، ۷ و ۸ توانستند به مرحله غلاف‌دهی و تولید بذر وارد شوند. بنظر می‌رسد همانگونه که در قسمت بررسی روند توسعه بیماری ذکر شد، جوانه انتهایی و جانبی در این ژنوتیپها نسبت به بیماری مقاوم است، بنحوی که با رشد مجدد می‌تواند به مرحله بذردهی وارد شوند.

در میان ارقام خارجی ارزیابی شده، رقم ILC72 که در مطالعات زیادی بعنوان یک رقم مقاوم به برقزدگی معرفی شده بود (۲۷ و ۳۱)، در این مطالعه نیز در شرایط مزرعه با درجه خسارت ۳ مقاومت خوبی در برابر پاتوتیپهای ایران نشان داد، ولی لاینهای ILC3279، ILC2506، ILC2956 و ILC200 که بعنوان منابع مقاومت به این بیماری گزارش شده بودند (۲۷ و ۳۲) در این مطالعه با درجه خسارت ۷ و ۶ در مقابل پاتوتیپهای ایران حساسیت

جدول ۱: میانگین درجه خسارت بیماری برق‌زدگی روی ژنوتیپهای مختلف نخود (انتخاب شده از مزرعه) در شرایط مزرعه و گلخانه

ردیف	نام رقم	مزرعه	گلخانه		
			گیاهچه‌ای	گلدهی	غلاف دهی
۳۲	MCC - ۲۵۷	۴	۳	۳	۴
۳۳	MCC - ۲۷۰	۴	۳	۳	۴
۳۴	MCC - ۲۹۳	۴	۳	۳	۴
۳۵	MCC - ۲۹۶	۴	۲	۳	۴
۳۶	MCC - ۳۰۰	۴	۳	۳	۴
۳۷	MCC - ۳۰۳	۴	۳	۳	۴
۳۸	MCC - ۳۰۶	۴	۳	۳	۴
۳۹	MCC - ۳۱۱	۴	۳	۳	۴
۴۰	MCC - ۳۱۴	۴	۳	۳	۴
۴۱	MCC - ۳۱۹	۴	۳	۳	۴
۴۲	MCC - ۳۳۱	۳	۳	۲	۴
۴۳	MCC - ۳۴۶	۴	۳	۳	۴
۴۴	MCC - ۳۵۲	۴	۳	۳	۴
۴۵	MCC - ۳۵۶	۴	۳	۳	۴
۴۶	MCC - ۳۶۷	۴	۳	۳	۴
۴۷	MCC - ۳۸۰	۴	۲	۳	۴
۴۸	MCC - ۴۶۸	۳	۳	۳	۴
۴۹	MCC - ۴۷۱	۴	۳	۳	۴
۵۰	MCC - ۴۷۷	۴	۲	۳	۴
۵۱	MCC - ۴۷۸	۴	۳	۳	۴
۵۲	MCC - ۴۸۱	۴	۳	۳	۴
۵۳	MCC - ۴۸۶	۴	۳	۳	۴
۵۴	MCC - ۵۳۱	۴	۳	۳	۴
۵۵	MCC - ۵۴۰	۴	۳	۳	۴
۵۶	MCC - ۵۶۸	۴	۳	۳	۴
۵۷	MCC - ۲۰	۴	۳	۳	۵
۵۸	MCC - ۲۷	۳	۳	۳	۵
۵۹	MCC - ۱۱۹	۴	۴	۳	۵
۶۰	MCC - ۱۵۰	۴	۴	۴	۵
۶۱	MCC - ۱۶۶	۳	۳	۳	۵
۶۲	MCC - ۱۸۷	۴	۳	۳	۵
۶۳	MCC - ۴۰۳	۴	۳	۳	۵

ردیف	نام رقم	مزرعه	گلخانه		
			گیاهچه‌ای	گلدهی	غلاف دهی
۱	MCC - ۴۹۶	۲	۲	۲	۲
۲	MCC - ۳,۱۱	۲	۳	۳	۳
۳	MCC - ۵۴	۲	۲	۳	۳
۴	MCC - ۱۳۳	۲	۳	۳	۳
۵	MCC - ۱۳۴	۴	۲	۳	۳
۶	MCC - ۱۴۴	۳	۳	۳	۳
۷	MCC - ۲۹۹	۳	۳	۳	۳
۸	MCC - ۵۲۳	۳	۳	۳	۳
۹	MCC - ۵۲۸	۳	۳	۳	۳
۱۰	MCC - ۱۰	۴	۳	۴	۴
۱۱	MCC - ۳۳	۴	۳	۴	۴
۱۲	MCC - ۴۷	۴	۳	۴	۴
۱۳	MCC - ۵۲	۴	۳	۴	۴
۱۴	MCC - ۶۵	۴	۳	۴	۴
۱۵	MCC - ۷۱	۴	۳	۴	۴
۱۶	MCC - ۷۲	۴	۳	۴	۴
۱۷	MCC - ۷۸	۲	۳	۴	۴
۱۸	MCC - ۷۹	۴	۳	۴	۴
۱۹	MCC - ۸۱	۴	۳	۴	۴
۲۰	MCC - ۱۰۶	۴	۳	۴	۴
۲۱	MCC - ۱۱۵	۴	۳	۴	۴
۲۲	MCC - ۱۱۷	۴	۳	۴	۴
۲۳	MCC - ۱۱۸	۴	۳	۴	۴
۲۴	MCC - ۱۲۰	۴	۳	۴	۴
۲۵	MCC - ۱۳۵	۴	۳	۴	۴
۲۶	MCC - ۱۶۴	۴	۳	۴	۴
۲۷	MCC - ۱۶۸	۳	۳	۴	۴
۲۸	MCC - ۱۹۷	۴	۳	۴	۴
۲۹	MCC - ۲۱۸	۴	۳	۴	۴
۳۰	MCC - ۲۴۴	۴	۳	۴	۴
۳۱	MCC - ۲۴۸	۴	۳	۴	۴

طی آزمایشاتی مورد بررسی قرار گیرد. شاید تولید بعضی مواد در گیاه متحمل در شرایط تنش بیماری و ذخیره آن در بذر یا تغییرات ژنتیکی در ژنوم آن در افزایش مقاومت یک رقم در نسلهای مختلف مؤثر باشد.

در این مرحله غلاف‌دهی خسارت بیماری در ارقام شاهد ILC1929 و ILC263 با بروز زخم و شکستگی و در نهایت مرگ کامل بخوبی بروز کرد. هرچند در این مرحله ژنوتیپهای حساس قابل تشخیص بودند، ولی علائم بیماری بحدی نبود تا سطوح دیگر مقاومت از یکدیگر تفکیک شوند. ژنوتیپهایی که در پایان فصل حساسیت آنها در برابر بیماری بخوبی مشخص شد، در این مرحله تفاوت عمده‌ای با ژنوتیپهای مقاوم نشان نداد.

مرحله گلدهی: اکثر گیاهان حدود یک ماه پس از مایه‌زنی عامل بیماری و حدوداً دو ماه پس از کشت، وارد مرحله گلدهی شدند. در این مرحله علائم بیماری تا حدی توسعه یافت و میانگین خسارت بیماری از ۲/۹۴ به ۲/۹۸ افزایش یافت، ولی بر اساس نتایج تجزیه واریانس این اختلاف معنی‌داری نبود (جدول ۱). در این مرحله ارقام شاهد حساس (ILC1929 و ILC263) با مرگ کامل مواجه

شدند. بالاترین درجه خسارت در ژنوتیپهای MCC119 و MCC150 با درجه خسارت ۴ مشاهده شد. در این مرحله نیز اکثریت نمونه‌ها با نشان دادن درجه خسارت ۲ و ۳ در برابر بیماری مقاومت بالایی نشان دادند.

مرحله غلاف‌دهی: در این مرحله خسارت بیماری افزایش قابل توجه‌ای نشان داد و تعداد ژنوتیپهای با درجه خسارت کمتر از چهار از ۶۱ به ۹ نمونه کاهش یافت. متوسط خسارت بیماری در حدود یک درجه نسبت به مراحل قبل بالاتر بود و به ۳/۹۵ رسید (جدول ۲). این افزایش می‌تواند تحت تأثیر عواملی مانند گذشت زمان و فراهم شدن زمان کافی جهت توسعه بیماری، مایه‌زنیهای دوم و سوم و حساسیت بیشتر گیاهان در این مرحله ایجاد شده باشد. این نتیجه نشان می‌دهد که مقاومت اولیه ژنوتیپها در مراحل آغازین تا حد زیادی قابل اطمینان نیست و بررسی علائم بیماری پس از مرحله غلاف‌دهی ضروری بنظر می‌رسد. این در حالی است که ادوپی و ویگانند (۳۶) در تحقیقات خود گذشت ۱۴ روز از زمان مایه‌زنی را جهت بروز علائم بیماری کافی می‌دانند.

جدول ۲: فراوانی، میانگین و انحراف معیار درجات خسارت بیماری در مراحل رشدی مختلف

مراحل رشدی	درجه خسارت بیماری				میانگین	انحراف معیار
	۲	۳	۴	۵		
گیاهچه‌ای	۶	۵۵	۲	۰	۰.۲۹۴ ^{ns}	۰.۳۵
گلدهی	۲	۵۹	۲	۰	۰.۳۰۰ ^{ns}	۰.۲۵
غلاف‌دهی	۱	۸	۴۷	۷	۳.۹۵ ^{**}	۰.۵۵
مزرعه	۵	۹	۴۹	۸۸	۳.۷۰	۰.۶۱

در این مرحله رقم MCC496 با درجه خسارت ۲ بالاترین میزان مقاومت را در مقابل پاتوتیپهای ایران نشان داد. این نمونه از منطقه کلات استان خراسان منشاء گرفته است. در مقابل ژنوتیپهای MCC27 و MCC166 که در مزرعه با درجه خسارت ۳ مقاومت خوبی در مقابل بیماری نشان

داده بودند در این مرحله با درجه خسارت ۵ در گروه متحمل قرار گرفتند. علاوه بر این ژنوتیپهای MCC20، MCC119، MCC150، MCC187 و MCC403 نیز نسبت به شرایط مزرعه حساسیت بالاتری نشان دادند و با درجه خسارت ۵ در گروه ژنوتیپهای متحمل قرار گرفتند.

تجزیه واریانس تأثیر مرحله رشدی گیاه را در سطح ۱ درصد معنی دار نشان داد (جدول ۳). مقایسه میانگین سه تاریخ بررسی نشان داد که تنها مرحله غلاف دهی داشت که در مقایسه با مرحله اول و دوم اختلاف معنی داری در خسارت وارد شده به نمونه ها دارد. بر این اساس بنظر

می رسد اختلاف بین ژنوتیپها در مرحله گیاهچه ای یا گلدهی قابل اطمینان نیست و بهتر است بر اساس اطلاعات بدست آمده از خسارت بیماری در مرحله غلاف دهی میزان مقاومت یا حساسیت نمونه ها مورد مقایسه قرار گیرد.

جدول ۳: نتایج تجزیه واریانس خسارت بیماری روی ۶۳ ژنوتیپها در مراحل گیاهچه ای، گلدهی و غلاف دهی در شرایط گلخانه

منبع تغییرات	درجه آزادی	SS	MS	F
نمونه	۶۲	۲۰,۷۹	۰,۳۴	۲,۹۲ **
مرحله رشدی	۲	۱۹,۶۴	۹,۸۲	۸۵,۶۴ **
خطا	۱۲۴	۱۴,۲۵	۰,۱۲	
کل	۱۸۸	۵۴,۶۸		

** معنی دار بودن اختلاف در سطح اطمینان ۹۹ درصد

نتایج حاصل از محاسبه انحراف معیار خسارت بیماری روی ژنوتیپهای مقاوم در مراحل رشدی مختلف، نشان داد که در مرحله گیاهچه ای انحراف معیار نسبت به مرحله گلدهی بیشتر است. در این مرحله ژنوتیپهای حساس از دیگر ژنوتیپها متمایز می شوند ولی اختلاف بین ژنوتیپهای مقاوم و نیمه مقاوم بخوبی قابل مشاهده نیست. در حالیکه این اختلاف در مرحله غلاف دهی با افزایش انحراف معیار ژنوتیپها، بخوبی قابل تشخیص است. در مرحله غلاف دهی انحراف معیار درجه خسارت بیماری ژنوتیپها به ۰/۵۵ رسید که نشان دهنده تنوع بالای درجه خسارت وارد شده به ژنوتیپها می باشد و از طرف دیگر بیان کننده تفاوت در میزان مقاومت آنها است. واریانس بالا در مرحله غلاف دهی در مقایسه با مرحله گیاهچه ای و گلدهی (بترتیب ۰/۳۵ و ۰/۲۵) مبین این مطلب است که مرحله غلاف دهی در تمایز سطوح مقاومت ارقام مرحله بسیار مناسبی است. در گزارشات زیادی مرحله غلاف دهی بعنوان حساس ترین مرحله ذکر شده است (۳۲)، ولی بنظر می رسد عوامل دیگری شامل سپری شدن زمان کافی جهت توسعه بیماری و تأثیر تجمع آلودگی بدلیل مایه زنیهای

مکرر نیز در بروز حداکثر خسارت بیماری در این مرحله تأثیر گذار است.

مقایسه خسارت بیماری ژنوتیپها در مزرعه و گلخانه تا حد زیادی با یکدیگر منطبق بود. هرچند میانگین خسارت بیماری در ژنوتیپهای مقاوم انتخاب شده در مزرعه (۳/۷۰) در شرایط گلخانه (۳/۹۵) تا حدی افزایش نشان داد، ولی این تفاوت در سطح ۵ درصد معنی دار نیست ولی بهر حال در شرایط گلخانه بدلیل تحت کنترل بودن شرایط دمائی و رطوبتی انتظار می رود خسارت بیماری بیشتر از شرایط مزرعه باشد.

در مجموع بر اساس نتایج حاصل از ارزیابی ژنوتیپها در مزرعه و گلخانه، ۵۶ نمونه در هر دو شرایط با درجه خسارت کمتر از پنج در برابر پاتوتیپهای مورد ارزیابی مقاوم بودند و می توان آنها را بعنوان منابع مقاومت مورد استفاده قرار داد. باید توجه داشت که این ژنوتیپها در برابر هر شش پاتوتیپ بیماری برق زدگی چنین سطح مقاومتی را نشان داده اند، لذا شانس حضور ژنهای مقاوم در هر یک از این ژنوتیپها بسیار بالا است. با این حال ژنوتیپهایی که در

بهتری در برابر بیماری نشان می دهند. منابع مقاومت شناسائی شده در بین توده های بومی می تواند بعنوان منابع مقاومت مناسب برای جمعیت این بیمارگر در ایران در طراحی پروژه های اصلاحی بکار گرفته شود.

سپاسگزاری: بدین وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد که منابع مالی و اجرایی این مطالعه را فراهم نموده اند صمیمانه تشکر و قدردانی می نمایم.

هر دو شرایط با درجه خسارت کمتر از ۴ از بقیه متمایز شدند، منابع مقاومتی مناسبی جهت انجام برنامه های اصلاحی خواهند بود (جدول ۴).

بیشتر نمونه های مقاوم شناسائی شده در این مطالعه نمونه های بومی مربوط به ایران است. بنظر می رسد بدلیل اختصاصی بودن ژنوتیپ های موجود در جمعیت قارچ *Ascochyta rabiei* در ایران، نمونه های بومی مقاومت

جدول ۴: درجه خسارت ژنوتیپ های مقاوم در مقابل شش پاتوتیپ بیماری برقرزدگی در شرایط مزرعه و گلخانه

شماره نمونه	مزرعه	گلخانه	تیپ بذر	منشاء
MCC54	۲	۳	دسی	قائن - خراسان
MCC523	۳	۳	دسی	ICARDA-ILC72
MCC496	۲	۲	کابلی	کلات - خراسان
MCC3.11	۲	۳	کابلی	مشهد - خراسان
MCC133	۲	۳	کابلی	نا معلوم
MCC142	۳	۳	کابلی	نا معلوم
MCC299	۳	۳	کابلی	ICARDA-FLIP85-19C
MCC528	۳	۳	کابلی	نا معلوم

منابع

۱. باقری، ع.، آ. نظامی و م. سلطانی. ۱۳۷۹. اصلاح حبوبات سرما دوست برای تحمل به تنشها. انتشارات سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی. ص ۱۱۱-۱۰۲.
۲. باقری، ع.، آ. نظامی، ع. گنجعلی و م. پارسا. ۱۳۷۶. زراعت و اصلاح نخود. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد.
۳. بلند اندام، ج.، ح. روحانی و ع. علیزاده. ۱۳۷۷. بررسی مقاومت ارقام نخود نسبت به بیماری برق زدگی. چکیده مقالات سیزدهمین کنگره گیاهپزشکی ایران. ص ۱۴۴.
۴. بهرامی، ن.، م. مهدیه و ی. فرایدی. ۱۳۷۹. ارزیابی مقاومت ارقام نخود نسبت به بیماری برق زدگی با عامل *Ascochyta rabiei*. وزارت جهاد کشاورزی، موسسه تحقیقات کشاورزی دیم.
۵. سرپرست، ر. و س. نصراله نژاد. ۱۳۷۷. بررسی ارقام نخود سفید در خزانه بین المللی نخود در مقابل بیماری برق زدگی. وزارت جهاد کشاورزی، موسسه تحقیقات کشاورزی دیم.
۶. شکوهی فر، ف.؛ ع. باقری؛ م. رستگار. ۱۳۸۲. تعیین گروه بیماریزایی جدایه های قارچ *Ascochyta rabiei* در ایران. مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی. سال دهم، شماره اول، صفحه ۲۱۷-۲۳۲.
۷. شکوهی فر، ف.؛ ع. باقری؛ م. رستگار. ۱۳۸۲. تعیین تنوع ژنتیکی قارچ عامل بیماری برق زدگی نخود [*Ascochyta rabiei*(Pass.) Lab.] مولکولی RAPD. مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی. سال هفتم، شماره دوم. صفحه ۱۹۳-۲۰۴.
۸. شهریاری، د. و م. ایزدیار. ۱۳۷۷. بررسی اختلاف بیماریزایی *Ascochyta rabiei* روی چند رقم نخود. چکیده مقالات سیزدهمین کنگره گیاهپزشکی ایران. ص ۱۴۸.
۹. عظیمی، ح. و ن. ا. یار. ۱۳۷۴. بررسی مقاومت ارقام نخود نسبت به بیماری برق زدگی. گزارش طرح پژوهشی سازمان تحقیقات - آموزش و ترویج کشاورزی، وزارت کشاورزی.

۱۲. نورالهی، خ.، م. فلاحتی رستگار و ب. جعفرپور. ۱۳۷۹. تشخیص نژادهای فیزیولوژیک *Ascochyta rabiei* عامل بیماری برق زدگی نخود، در چند منطقه کشور. مجله علوم و فنون کشاورزی. جلد ۴. شماره ۱: ۱۲۷-۱۳۶.
۱۳. یونسی، ح.، م. اخوت، ق. حجارود، ج. زاد، و ع. طالعی. ۱۳۷۹. ارزیابی مقاومت تعدادی از ارقام نخود معمولی در شرایط گلخانه و مزرعه در مقابل سه نژاد *Ascochyta rabiei* بومی استان کرمانشاه. چکیده مقالات چهاردهمین کنگره گیاهپزشکی ایران. ص ۲۷۹.
14. Ahmad, G.D., A. Hafiz and M. Ashraf..1952. Association of morphological characters with blight resistance. In Proceedings of the Fourth Pakistan Science Conference, Peshawar, Pakistan.
15. Butler, E.J.1911. Fungi and Disease in plants. Bishen Singh Mahendra Pal Singh, New Connaught Place, Dehradun Periodical Experts, 42-D, Vivek Vihar, Delhi 32, 547 pp. (reprinted 1973).
16. Dickinson, M. and J. Beynon. 2000. Molecular Plant Pathology. CRC Press, Annual Plant Reviews; 4. Pp: 306.
17. Ilides, K.G. and C.G. Ilidis. 1983. Evaluation of varieties and populations of chickpea for resistance to *Ascochyta rabiei* Pass. Under autumn sowing. Georgike Ereuna:220-229.
18. Kaiser, W.J. 1972. Occurrence of three fungal diseases of chickpea in Iran. FAO Plant Protection Bulletin 20: 74-78.
19. Kalia, N.R. 1984. Chickpea improvement in Himachal Pradesh. International Chickpea Newsletter, 11: 9.
20. Katiyar, R.P. and O.P. Sood. 1985. Screening chickpea for resistance to ascochyta blight. International Chickpea Newsletter, 13: 19-21.
21. Kinaci, E. and H. Dalkiran. 1987. Resistant source indication against ascochyta blight of chickpea in Central Anatolian region. Journal of Turkish Phytopathology, 16: 9-15.
22. Muehlbauer F.J., Singh K.B. 1987. Genetics of chickpea. In: Saxena M.C., Singh K.B., eds. The chickpea. Oxon, UK: CAB Int, Pp: 99-125.
23. Muhammad-Bashir, S., M.P. Haware, S. Kebbabe and R.S. Malhotra. 1986. Screening of chickpea genotypes for resistance to six races of blight. International Chickpea Newsletter, 14: 27-29.
۱۰. مهدیه، م.، ا. حقیقتی ملکی، ا. میدانی، ج. حسن پور، م. حسینی، ی. فرایدی و م. شهاب. ۱۳۷۴. آزمایش بین المللی بررسی مقاومت و حساسیت ارقام نخود سفید و سیاه نسبت به بیماری برق زدگی. گزارش طرح پژوهشی. سازمان تحقیقات-آموزش و ترویج کشاورزی، وزارت کشاورزی.
۱۱. مهدیه، م.، ر. هوشیار و س. نصراله نژاد. ۱۳۷۷. ارزیابی بیماری های برق زدگی و فوزاریومی در مزارع نخود دیم. وزارت جهاد کشاورزی، موسسه تحقیقات کشاورزی دیم.
24. Nasir, M., T.W. Bretag, W.J. Kaiser, K.A. Meredith and J.B. Brouwer. 2000. Screening chickpea germplasm for ascochyta blight resistance. Australasian Plant Pathology, 29: 102-107.
25. Navas-Cortes, J.A., J.D. Rodriguez and R.M. Jimenez-Diaz. 1998. Combined resistance against *Didymella rabiei* and races of *Fusarium oxysporum* f. sp. Ciceris in Kabuli chickpeas. 3rd European Conference on Grain Legumes. Opportunities for High Quality, Healthy and Added-Value Crops to Meet European Demands. Valladolid, Spain, 14-19 November 1998. pp. 124-125.
26. Porta-Puglia, A., A. Infantino, P. Crino, R. Angelini and G. Venora. 1997. Ascochyta blight of chickpea: present status and prospects. Pakistan Journal of Phytopathology, 9: 8-15.
27. Reddy, M.V. and K.B. Singh. 1984. Evaluation of a world collection of chickpea germplasm accessions for resistance to ascochyta blight. Plant Disease, 68: 900-901.
28. Reddy, MV. And K.B. Singh.1996. Improving chickpea yield by incorporating resistance to Ascochyta blight. Theoretical and Applied Genetics, 92:
29. Riahi, H., M.M. Harrabi, M.H. Halila and R.N. Strange. 1990. A quantitative scale for assessing chickpea reaction to *Ascochyta rabiei*. Canadian Journal of Botany, 68:2736-2738.
30. Santra, D.K., G. Singh, W.J. Kaiser and V.S. Gupta, 2001. Molecular analysis of *Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr., the pathogen of ascochyta blight in chickpea. Theoretical Applied Genetic, 102: 676-682.
31. Shukla, A., B.P. Pandya and Y.P.S. Rathi. 1984. Screening of chickpea germplasm against ascochyta blight. International Chickpea Newsletter, 11: 28-29.

32. Singh, K.B. and M.V. Reddy. 1993. Resistance to six races of *Aschochyta rabiei* in the world germplasm collection of chickpea. Crop Science. 33: 186-189.
33. Singh, K.B. and M.V. Reddy. 1993. Sources of resistance to ascochyta blight in wild Cicer species. Netherlands Journal of Plant Pathology, 99: 163-167.
34. Singh, R.P. and H. Chand. 1996. Identification of multiple disease resistance in chickpea at Hisar, Haryana, India. International Chickpea Newsletter, 3: 32-33.
35. Stamigna, C., R. Mancinelli, P. Crino, A. Infantino, A. Porta-Puglia and F. Saccardo. 1998. Multiple resistances to diseases in wild relatives of chickpea (*Cicer arietinum* L.). In proceeding of 3rd European Conference on Grain Legumes. Opportunities for High Quality, Healthy and Added-Value Crops to Meet European Demands. Valladolid, Spain, 14-19 November 1998. 221-222.
36. Udupa, S.M. and F. Weigand. 1997. Pathotyping of *Aschochyta rabiei* isolates of Syria. In DNA Markers and Breeding for Resistance to Ascochyta Blight in Chickpea. ICARDA, Aleppo, Syria. pp: 39-48

Archive of SID

Identification of resistant chickpea lines against pathotypes causing *Ascochyta* blight disease in Iran

Shokouhifar F.¹, Bagheri A.R.², and Fallahati Rastegar M.²

¹Research Center for Plant Science, Ferdowsi University of Mashhad, I.R. of Iran

²Agriculture Faculty, Ferdowsi University of Mashhad, I.R. of Iran

Abstract

Identification of resistance sources against *Ascochyta* blight pathotypes is necessary to use in chickpea breeding programs. Plant breeders accept screening of crop germplasm as useful gene pool against biotic and abiotic stress. *Ascochyta rabiei* is one of the most important constraints to chickpea production in the most area of world especially in Iran. In this study, reactions of 420 chickpea accessions and 97 lines and cultivars from Ferdowsi University of Mashhad were evaluated to find resistant sources against six pathotypes of *Ascochyta rabiei* by artificial infection using mix spore suspension in field and greenhouse conditions, during two years (2003 and 2004). In first step, the seeds were sown in field and inoculated using mix spore suspension of six pathotypes in five to seven leaf stages. The humidity and the temperature were regulated using mist irrigation system during a week after inoculation to distribute disease in field. The disease severity was scored on a scale of 1 to 9, when susceptible lines death. In this step 63 accessions with the scales 2 to 4 showed high resistant levels against the pathotypes. These accessions were inoculated again by the spore suspension in greenhouse in different developmental stages i.e., planting, flowering and podding. The diseases symptoms were scaled two weeks after each step of inoculation. Nine accession showed high resistant level in greenhouse. The average of disease severity was higher in greenhouse compared to that of the field. Differentiation of resistant and susceptible accessions was correctly done in podding stage. According to field and greenhouse evaluations two desi accessions (MCC54 and MCC523) and six Kabuli accessions (MCC496, MCC133, MCC299, MCC528, MCC3.11 and MCC142) were resistant against six pathotypes of *ascochyta* blight. These accessions can be used as resistant sources in chickpea breeding programs.

Keywords: *ascochyta* blight - chickpea - resistance - screening