آفات و بیماری‌های گیاهی
جلد ۸۵، شماره ۱، شهریور ۱۳۹۶

غربالگری ژرم پلاسم‌های نخود برای انتخاب ژنوتیپ‌های مقاوم به بیماری برق‌زدگی

سید حسین وفائی[۱]، سعید رضایی[۱]✉، احمد عباسی مقدم[۲] و حمیدرضا زمانی زاده[۱]

۱- به ترتیب دانشجوی دکتری؛ استادیار؛ استاد؛ گروه بیماری‌شناسی گیاهی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲- استادیار، مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

(تاریخ دریافت: اسفند ۱۳۹۵؛ تاریخ پذیرش: مرداد ۱۳۹۶)

چکیده

گیاه نخود سومین لگوم مهم جهان بعد از لوبیا و نخود فرنگی است. تنش‌های زیستی و غیر زیستی متعددی باعث کاهش عملکرد این محصول می‌شوند که در میان آنها، بیماری برق زدگی نخود یکی از مهم‌ترین عوامل محدودکننده تولید نخود در بیشتر مناطق دنیا است. توسعه و کاربرد ارقام مقاوم مؤثرترین و اقتصادی‌ترین راهبرد مدیریت این بیماری است. به منظورگزینش ژنوتیپ‌های مقاوم نخود، واکنش ۲۰۰ ژنوتیپ منتخب بانک ژن گیاهی طی دو فصل زراعی ۱۳۹۲-۱۳۹۱ و ۱۳۹۳-۱۳۹۲ در شرایط مزرعه در استان لرستان بررسی شد. ژنوتیپ‌ها پس از ظهور گیاهچه با پخش یکنواخت بقایای گیاهی نخود آلوده مایه زنی شدند. شدت بیماری با مقیاس ۹-۱ و پس از مرگ شاهد حساس (بیوه نیج) ارزیابی گردید. بیشترین میزان بیماری جهت طبقه‌بندی میزان مقاومت هر ژنوتیپ در نظر گرفته شد. همچنین واکنش ژنوتیپ‌های منتخب در شرایط اتاقک رشد ارزیابی شد. نتایج نشان داد که فراوانی ژنوتیپ‌های خیلی مقاوم و مقاوم، پایین بود. بر اساس ارزیابی‌های مزرعه‌ای و اتاقک رشد تعداد ۱۱ ژنوتیپ مقاومت نسبی نشان دادند که می‌توان از آنها به عنوان منابع مقاومت در برنامه‌های اصلاح نباتات نخود استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: بانک ژن، برق زدگی، مقاومت، نخود، *Didymella rabiei*.

Screening of Chickpea germ plasms for selection of resistant genotypes to Ascochyta blight

S. H. VAFAEI[1], S. REZAEE[1]✉, A. ABBASI MOGHADAM[2] and H. R. ZAMANIZADEH[1]

1- PhD. Student; Assistant Professor; Professor; Department of Plant Pathology, Science and Research branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran;

2- Assistant Professor, Seed and Plant Improvement Research Institute, AREEO, Karaj, Iran

Abstract

Chickpea is the third most important food legume of the world after common bean and pea. Ascochyta blight, caused by the fungus *Didymella rabiei* is one of the most important limiting factors in chickpea production. The use of resistant cultivars is the most effective and economical strategy for management of Ascochyta blight. Two hundred chickpea genotypes were screened to identify resistant sources against *D. rabiei* in Lorestan province during 2013 and 2014 cropping seasons in field conditions. Plants were inoculated by applying uniformly scattered infected chickpea debris after seedling emergence. The disease severity was scored on a scale of one to nine. The highest recorded reaction was used to categorize resistance of the genotypes. Also the reaction of chickpea genotypes was evaluated under growth chamber conditions. The results showed that none of the genotypes was highly resistant and the frequency of resistant genotypes was low. On the basis of field and growth chamber evaluations, 11 genotypes were moderately resistant and can be employed as resistant sources in chickpea breeding programs to develope resistant cultivars to Ascochyta blight.

Key words: Ascochyta blight, Chickpea, *Didymella rabiei*, Gene bank, Resistance.

✉ **Corresponding author: srezaee@srbiau.ac.ir**

مقدمه

گیاه نخود، محصول غذایی مهم در مرکز، غرب آسیا و شمال آفریقا است و حدود ۲۹٪ کل تولید حبوبات دنیا است (Kanouni *et al*., 2011). ایران از نظر سطح زیر کشت (۵۹٤٤۸۹ هکتار) در جهان پس از هندوستان و پاکستان در رتبه سوم و از نظر تولید (۲٦۱٦۱٦ تن) در رتبه هفتم قرار دارد (FAO, 2014). علیرغم سطح وسیع زیر کشت محصول نخود، شکاف بزرگی بین عملکرد بالقوه (۵ تن در هکتار) و عملکرد واقعی (۰/۸ تن در هکتار) وجود دارد(Pande *et al*., 2011). عوامل زنده و غیر زنده متعددی باعث تغییر در عملکرد و تولید محصول نخود می‌شوند، که شامل بیماری‌ها، آفات، خشکی، سرما، گرما و شوری خاک است (Pande *et al*. 2005). تاکنون بیش از ۵۰ بیمارگر از نخود گزارش شده است (Macleod and Galloway, 2002). در میان آنها، بیماری برق زدگی نخود[1] به دلیل پراکنش وسیع و قدرت تخریبی، یکی از مهم‌ترین عوامل محدود کننده تولید نخود در کشت‌های پائیزه در بیشتر مناطق دنیا از جمله غرب آسیا، شمال آفریقا، جنوب و غرب اروپا، شبه قاره‌ی هند و نواحی از آمریکا شمالی و جنوبی است. این بیماری توسط قارچ *Didymella rabiei* (Kovachevski) von Arx (anamorph: *Ascochyta rabiei* (Pass.) Lab.) ایجاد می‌شود و در نواحی با آب و هوای خنک، ابری و مرطوب در دمای ۲۵-۱۵ °C و بارندگی فصلی بیش از ۱۵۰ میلیمتر باعث تخریب ۱۰۰ درصد محصول می‌شود (Pande *et al*., 2005). بیماری برق زدگی نخود یک بیماری نکروتیک غلاف، برگ و ساقه گیاه نخود است و چندین همه‌گیری بیماری از هندوستان، پاکستان، کشورهای اروپایی و نواحی مدیترانه‌ای گزارش شده است (Pande *et al*., 2011). خسارت اقتصادی این بیماری در بسیاری از مناطق دنیا از جمله استرالیا، کانادا، آمریکای لاتین، اروپا، ایالات متحده، شمال آفریقا و غرب آسیا قابل توجه است (Gan *et al*., 2006; Pande *et al*., 2011). در ایران بیماری در بیشتر مناطق شمال غرب، غرب، جنوبی غربی و بخش‌هایی از مرکز کشور گزارش شده است. در برخی استان‌ها شامل گلستان، کرمانشاه، ایلام، لرستان و فارس خسارت بالایی به محصول نخود وارد می‌کند (Shokouhifar *et al*., 2006; Nourollahi *et al*., 2009; Pouralibaba *et al*., 2008; Ghiai *et al*., 2012). جهت مدیریت بیماری روش‌های سنتی و مرسومی از قبیل ضدعفونی بذر، تغییر تاریخ کاشت، تناوب زراعی، کاربرد قارچکش‌ها روی شاخ و برگ گیاه استفاده می‌شود و هنوز هم در برخی مناطق این روش‌ها تنها ابزار مدیریت بیماری هستند (Lobna ben *et al*., 2010; Kiersten *et al*., 2011). این روش‌ها علیرغم موفقیت نسبی نتوانسته‌اند چالش بیماری برق زدگی نخود را برطرف نمایند. ضدعفونی بذر در زمان کاشت فقط از سرایت بیماری به گیاهچه‌های آتی جلوگیری می‌کند و در صورتی که خاک یا مزرعه مورد کشت، آلودگی قبلی داشته باشد و شرایط محیطی برای بیماری مساعد باشد قادر به جلوگیری از بروز همه‌گیری در طول فصل رویشی نخواهد بود. سمپاشی با قارچکش‌های مناسب اگرچه مؤثر و کاربردی است ولی به دلیل نیاز به تکرار سمپاشی، افزون بر بالا رفتن هزینه‌های تولید محصول وآسیب به محیط زیست، خطر افزایش مقاومت قارچ نسبت به قارچکش‌ها به ویژه قارچکش‌های سیستمیک را افزایش خواهد داد (Wise *et al*., 2009; Pande *et al*., 2011). چالش اصلی در اجرای مدیریت بر اساس اثر عواملی مانند تغییر تاریخ کاشت، عمق کاشت و الگوی کاشت صرف نظر از اثرمطلوب آن بر مدیریت بیماری، اثر معکوس روی عملکرد محصول دارد (Akem *et al*., 2004; Gan *et al*., 2006). به کارگیری ژنوتیپ‌های مقاوم مؤثرترین و اقتصادی‌ترین روش جهت کاهش خسارت اقتصادی ناشی از برق زدگی نخود است. اولین گزارش از مقاومت به این بیماری در اوایل ۱۹۳۰ میلادی در هند بود که اولین رقم مقاوم معرفی شد (Singh and Reddy, 1990). اکنون مطالعات غربالگری ژنوتیپ‌های نخود جهت گزینش منابع مقاومت

۱- Ascochyta Blight

جزء اصلی برنامه مدیریت بیماری برق زدگی است. در ایکاردا تا کنون بیش از ۲۵۰۰۰ رقم نخود برای مقاومت به برق زدگی غربالگری شده اند و در مجموع ۱۵۸٤ رقم نخود با درجات مختلف مقاومت به برق زدگی معرفی شده است (Pande *et al*., 2005). غربالگری ژرم پلاسم نخود در مناطق مختلف جهان جهت گزینش نمونه‌های نخود مقاوم انجام شده است (Mahmoudi *et al*., 2002; Shokouhifar *et al*., 2006; Ilyas *et al*., 2007; Pande *et al*., 2011 Bokhari *et al*., 2011; Ahmad *et al*., 2013; Kimurto *et al*., 2013; Pande *et al*., 2013). چالش اصلی استفاده از ارقام مقاوم، ناپایداری مقاومت است. تا کنون هیچ رقم نخودی با سطح مقاومت کامل نسبت به بیماری برق زدگی گزارش نشده است و سطح مقاومت در نمونه‌های نخود که تا کنون ارزیابی شده‌اند ناقص یا جزئی گزارش شده است. همچنین بعضی ژنوتیپ‌ها با وجود مقاوم بودن به دلیل نامناسب بودن رنگ و اندازه دانه و بازارپسندی پایین مورد استقبال و انتخاب بهره برداران نیستند و این یک چالش اساسی در مدیریت بیماری است (Shtienberg *et al*., 2000; Labdi *et al*., 2013). بدلیل در دسترس نبودن منابع ژرم پلاسم با سطح بالای مقاومت و تکامل نژادهای جدید قارچ *D. rabiei* غربالگری پیوسته جهت گزینش و معرفی نمونه‌های مقاوم نخود یک سازوکار اجتناب ناپذیر است. این مطالعه به منظور ارزیابی واکنش ژنوتیپ های نخود منتخب بانک ژن ایران به بیماری برق زدگی نخود در شرایط مزرعه و اتاقک رشد اجرا گردید.

روش بررسی

ارزیابی واکنش ژنوتیپ‌های نخود در شرایط مزرعه:

کشت ارقام نخود: برای ارزیابی واکنش ۲۰۰ ژنوتیپ نخود (تهیه شده از بانک ژن گیاهی ایران، مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر و نهال کرج) در شرایط مزرعه، قطعه‌ی زمین زراعی در ایستگاه تحقیقات کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد خرم آباد جهت ارزیابی واکنش ژنوتیپ‌ها در فصل زراعی ۹۲-۱۳۹۱ پس از شخم عمیق، دیسک و تسطیح آماده گردید. از هر ژنوتیپ تعداد ۱۵ عدد بذر پس از ضد عفونی با قارچکش تبوکنازول (Teboconazol ،Dust 2%، شرکت گیاه، ایران) و مانکوزب (Mancozeb, Wetable Powder 80%, Modern Insecticides, India) در یک خط کشت شدند (۱۳۹۱/۱۱/۲۵). فاصله ۳۰ سانتی‌متر بین خطوط کاشت و ۱۰ سانتی‌متر بین بذرهای روی هر خط منظور شد. بعد از هر ۱۰ خط از ژنوتیپ‌های مورد بررسی، دو خط از توده محلی بیوه نیج بعنوان شاهد حساس و پخش کننده بیماری کشت گردید.

تامین زادمایه قارچ *Didymella rabiei* و مایه‌زنی ارقام نخود: مایه‌زنی ژنوتیپ‌ها پس از رویش کامل و در مرحله‌ی رشد رویشی (۷ برگی) گیاهان با استفاده از بقایای گیاهی آلوده نخود جمع آوری شده از فصل قبل انجام گرفت. بدین منظور تعداد ۵-٤ کیلوگرم بقایای گیاهی به ازای هر $100m^2$ سطح زیر کشت ژنوتیپ‌ها بطور یکنواخت بین خطوط کاشت پخش گردید (Pande *et al*., 2013). به منظور اطمینان از واکنش مقاومت یا حساسیت، ژنوتیپ‌های نخود در سال زراعی بعد (۹۳-۱۳۹۲) دوباره مورد بررسی قرار گرفتند. زمان یادداشت برداری و ثبت علائم بیماری روی ژنوتیپ‌ها، زمان آلودگی کامل و یا مرگ بوته های شاهد حساس در مرحله رویشی و دو مرتبه پس از آن در مراحل گلدهی و غلاف‌دهی بود. سطح زیرمنحنی پیشرفت بیماری (AUDPC[۲]) با استفاده از فرمول زیر برای هر ژنوتیپ محاسبه و جهت مقایسه ژنوتیپ‌ها مورد استفاده قرار گرفت.

$$AUDPC = \Sigma\, [(X_i + X_i{+}1)/2]\, (t_i{+}1 - t_i)$$

در این فرمول X_i، امتیاز بیماریزایی در i امین ارزیابی، $X_i{+}1$ امتیاز بیماریزایی i + یکمین ارزیابی و ($t_i{+}\ 1{-}t_i$) تعداد روزهای بین دو ارزیابی هستند (Elliott *et al*., 2013).

ارزیابی واکنش ژنوتیپ‌های نخود در شرایط اتاقک رشد:

کشت ارقام نخود: در شرایط اتاقک رشد در سال ۱۳۹٤

۲-Area Under Disease Progressive Curve

تعداد ۲۰۰ ژنوتیپ منتخب مورد غربال‌گری گرفتند. بدین منظور ظرف‌های پلاستیکی[۳] با ابعاد ۸×۲۵×۳۵ cm (طول ۳۵، عرض ۲۵ و عمق ۸ سانتی‌متر) تهیه و با مخلوطی از خاک و ماسه (۱:۳) سترون شده پر شد. در هر ظرف ۵ ژنوتیپ و از هر ژنوتیپ تعداد ۵ بذر به شکل خطی به همراه یک خط از ژنوتیپ شاهد (بیوه نیج) کشت شد. پس از گذشت ۱۰ روز، گیاهچه‌های آماده (۵ برگی) به مدت یک روز در شرایط کاملاً کنترل شده در یک اتاقک رشد (فیتوترون، شرکت نور صنعت فردوس، ایران) با دمای ۲۱±۱°C و تناوب نوری ۱۲ ساعته نگهداری شدند تا به شرایط موجود سازگار شوند.

مایه‌زنی ارقام تخود با اسپور قارچ *Didymella rabiei*: گیاهچه‌ها با سوسپانسیون 10^{5} ml^{-1} اسپور جدایه‌ای از قارچ *Didymella rabiei* حاصل از بقایای گیاهی آلوده نخود در استان لرستان که در مطالعه قبلی سطح پرآزاری آن تعیین شده بود (Vafaei *et al*., 2016)، با آبفشان دستی تا ریزش اولین قطرات از سطح گیاه مایه‌زنی گردیدند. سوسپانسیون اسپور با اضافه نمودن ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر سترون به کشت‌های ۱٤ روزه قارچ و خراش سطح محیط کشت تهیه گردید. سپس با دستگاه هموژنایزر یکنواخت و با استفاده از لام گلبول شمار غلظت آن تنظیم گردید. گیاهان به مدت ۳۰ دقیقه در هوای آزاد جهت جلوگیری از جمع شدن و ریزش قطرات سوسپانسیون نگهداری شدند (Pande *et al*., 2013). پس از آن به داخل فیتوترون با شرایط دمایی ۲۱±۱°C و رطوبت نسبی بالای ۹۵٪ بمدت ۹٦ ساعت منتقل و نگهداری شدند. پس از طی این مدت رطوبت فیتوترون تا پایان آزمایش بالای ۷۵٪ تنظیم شد. پس از مرگ کامل نمونه شاهد ثبت نمره بیماری و واکنش ژنوتیپ ها انجام گرفت. جهت اطمینان از نتایج بررسی، این آزمایش دو بار تکرار شد.

ارزیابی شدت بیماری: برای ثبت نمره بیماریزایی، ارزیابی شدت بیماری و واکنش ژنوتیپ‌ها به بیماری در هر دو شرایط مزرعه و اتاقک رشد، از مقیاس ۹ درجه‌ای پاندی و همکاران (Pande *et al*., 2013) به شرح زیر استفاده گردید:

۱: بدون علائم؛ **۲**:زخم‌های جزئی وفقط روی بخش انتهایی گیاه؛ **۳**: زخم‌ها به اندازه ۵ mm و شروع خمیدگی جوانه انتهایی؛ **٤**: زخم‌ها واضح و بیشتر از۵ mm، و خمیدگی واضح جوانه انتهایی؛ **۵**: زخم‌ها روی همه‌ی بخش‌های گیاه، شروع برگ ریزی، شکستگی و خشک شدن شاخه ها خفیف تا متوسط؛ **٦**: شبیه ۵ ولی شکستگی شاخه‌ها عمومی و برخی گیاهان می میرند؛ **۷**: زخم‌ها روی همه‌ی بخش‌های گیاه، برگ ریزی، شکستگی و خشک شدن عمومی شاخه ها، مرگ ۲۵ درصد گیاهان؛ **۸**: علائم شبیه ۷ و مرگ ۵۰ درصد گیاهان؛ **۹**: علائم شبیه ۷ و مرگ ۱۰۰ درصد گیاهان.

پس از اتمام یادداشت برداری و ثبت علائم بیماری، واکنش ژنوتیپ‌ها با کمی تغییر نسبت به روش ذکر شده، به صورت زیر دسته بندی گردید: امتیاز ۳-۱ بعنوان واکنش خیلی مقاوم، ٤ واکنش مقاوم، ۵ واکنش مقاومت نسبی(نسبتاً مقاوم)، ۷-٦ واکنش حساس و ۹-۸ واکنش خیلی حساس تعیین شد.

نتیجه و بحث

پس از کاشت ژنوتیپ‌های نخود در اواخر بهمن ماه در مزرعه، بیشتر ژنوتیپ‌ها جوانه زده و از رشد و توسعه مناسبی برخوردار بودند اگرچه سرعت رشد و توسعه در آنها متفاوت بود. بدلیل بارندگی‌های متناوب و مساعد بودن شرایط محیطی در سال اول بررسی، علائم بیماری در سطح مزرعه بسرعت گسترش یافت و نشان داد که مایه[٤] اولیه موجود در بقایای گیاهی بخوبی باعث وقوع بیماری و گسترش آن گردیده است. دو هفته پس از رؤیت اولین علائم بیماری، بیماری در ژنوتیپ‌های حساس باعث مرگ کامل آنها گردید. ژنوتیپ‌ها از نظر واکنش به بیماری به چهار گروه دسته بندی شدند. در گروه اول تمام گیاهان هر ژنوتیپ دچار مرگ کامل شدند و

۳- Tray

٤-Inoculum

گلدهی، غلاف دهی و بذردهی در این گیاهان وجود نداشت. این ژنوتیپ‌ها اغلب امتیاز بیماری ۹-۸ را نشان دادند. این گروه از ژنوتیپ‌ها بر اساس مقیاس امتیاز دهی (۹-۱) به عنوان خیلی حساس دسته بندی شدند. گروه دوم نمونه‌های نخود با درجه حساسیت (امتیاز ۷-٦) بودند که طیف وسیعی از علائم شامل شکستگی ساقه اصلی، مرگ شاخه های جانبی و نکروز روی برگ‌ها و شاخه‌ها را نشان دادند، برخی از گیاهان در این ژنوتیپ‌ها نیز دچار مرگ شدند اگرچه در برخی از آنها مرحله غلاف دهی و تولید بذر نیز وجود داشت. گروه سوم ژنوتیپ‌هایی با امتیاز پنج (نسبتاً مقاوم) بودند. در این گروه خمیدگی و شکستگی نسبی برخی شاخه‌های جانبی وجود داشت و حتی روی ساقه زخم‌های نکروزه توسعه یافت، اما مرگ گیاه و یا شکستگی کامل ساقه مشاهده نشد و بیشتر گیاهان مربوط به این ژنوتیپ‌ها وارد مرحله غلاف‌دهی و تولید بذر شدند. در گروه چهارم که تحت عنوان ژنوتیپ‌های مقاوم شناسایی شدند، خسارت‌های جزئی روی نوک برخی از برگ ها مشاهده شد و هیچ گونه علایمی روی ساقه و شاخه‌های جانبی گیاه مشاهده نشد. با افزایش سن گیاهان، حساسیت افزایش و مقاومت کاهش یافت به طوریکه در مرحله‌ی غلاف دهی تفکیک واکنش بین ژنوتیپ‌ها واضح‌تر از مراحل رویشی و گلدهی بود. همزمان با نزدیک شدن به مرحله‌ی بلوغ و تولید غلاف در ژنوتیپ‌ها، سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری در ژنوتیپ‌های حساس نیز بیشتر از ژنوتیپ‌های مقاوم افزایش یافت. نتایج بررسی‌ها نشان داد که فراوانی ژنوتیپ‌های مقاوم و نسبتاً مقاوم در شرایط مزرعه نسبت به شرایط اتاقک رشد بیشتر بود. بعد از دو سال بررسی، از ۲۰۰ ژنوتیپ منتخب، ٦۰ ژنوتیپ پس از غربالگری مزرعه‌ای و ٤۲ ژنوتیپ در مرحله‌ی گیاهچه‌ای در شرایط اتاقک رشد، امتیاز بیماری ۵ و کمتر از ۵ (نسبتاً مقاوم و مقاوم) نشان دادند (جدول ۱). در شرایط اتاقک رشد، علائم بیماری روی گیاهان بیشتر به صورت سوختگی عمومی بود در حالیکه در مزرعه علائمی از قبیل زخم‌های نکروزه، شانکر روی ساقه و به صورت موضعی رایج تر بود. در این مطالعه هیچ کدام از ژنوتیپ‌های منتخب دریافتی از بانک ژن گیاهی ایران خیلی مقاوم (امتیاز ۳-۱) نبودند. فراوانی نمونه‌های مقاوم (امتیاز ٤) نیز کم بود بطوریکه از حدود۲۰۰ ژنوتیپ انتخاب شده فقط ۱۱ نمونه مقاوم بودند (جدول ۲). در شرایط مزرعه، در سال دوم بررسی در مجموع وقوع بیماری و شدت آلودگی روی ژنوتیپ‌ها در مقایسه با سال اول کمتر بود.

جدول ۱- امتیاز بیماری ٦۰ ژنوتیپ نخود در واکنش به قارچ *Didymella rabiei* در شرایط مزرعه و اتاقک رشد در استان لرستان

Table1. Disease scores of 60 chickpea genotypes in reaction to *Didymella rabiei* in growth chamber and field conditions at Lorestan Province

No.	Genotype code	Vegetative stage		Flowering stage		Podding stage		AUPDC		Growth chamber	Genotype reaction[c]	
		2013	2014	2013	2014	2013	2014	2013	2014		Field	Growth chamber
1	KC-215008	4[a]	4	5	5	5	5	90	90	5	MR	MR
2	KC-215039	4	3	5	4	5	4	90	80	6	R	S
3	KC-215040	5	5	5	5	5	5	100	96.50	5	MR	MR
4	KC-215041	4	4	4	4	5	4	90	90	5	R	MR
5	KC-215081	4	4	4	4	5	4	90	90	5	R	MR
6	KC-215082	4	4	4	4	5	4	90	86.50	5	R	MR
7	KC-215088	4	4	5	4	5	4	96.50	90	5	R	MR
8	KC-215125	5	3	5	4	5	4	100	90	5	R	MR
9	KC-215126	5	4	5	5	5	5	100	100	4	MR	R
10	KC-215127	4	3	4	4	4	4	80	80	4	R	R
11	KC-215128	3	3	4	3	4	4	76.50	76.50	4	R	R
12	KC-215131	4	4	4	4	4	4	80	80	5	R	MR
13	KC-215143	4	4	4	4	5	5	90	90	4	MR	R

ادامه‌ی جدول ۱- امتیاز بیماری ٦٠ ژنوتیپ نخود در واکنش به قارچ *Didymella rabiei* در شرایط مزرعه و اتاقک رشد در استان لرستان

Table 1 continued. Disease scores of 60 chickpea genotypes in reaction to *Didymella rabiei* in growth chamber and field conditions at Lorestan Province

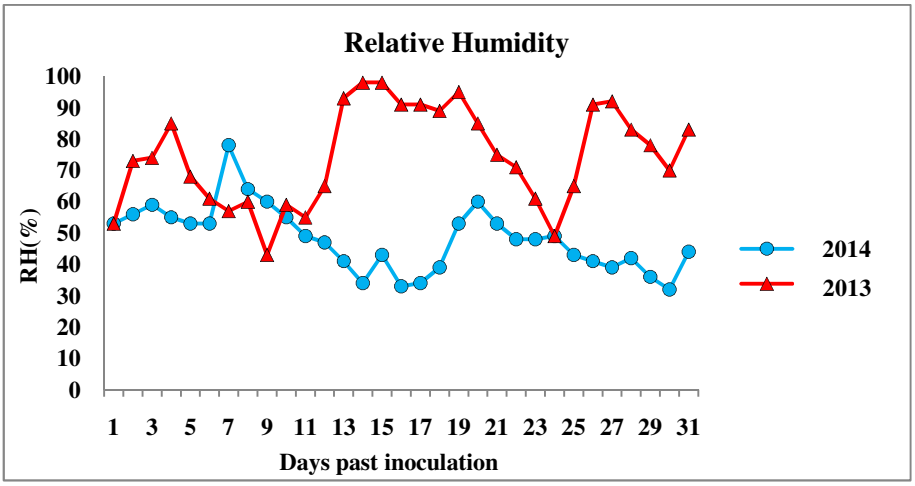
No.	Genotype code	Vegetative stage		Flowering stage		Podding stage		AUPDC		Growth chamber	Genotype reaction [c]	
		2013	2014	2013	2014	2013	2014	2013	2014		Field	Growth chamber
14	KC-215146	4	4	5	4	5	5	90	90	5	MR	MR
15	KC-215149	4	3	5	4	5	5	86.50	86.50	5	MR	MR
16	KC-215386	4	3	5	4	5	4	86.50	86.50	5	R	MR
17	KC-215387	4	3	5	4	5	5	86.50	86.50	6	MR	S
18	KC-215388	4	4	4	4	5	5	90	90	6	MR	S
19	KC-215389	4	4	5	4	5	5	90	90	6	MR	S
20	KC-215391	4	4	5	4	5	5	90	90	6	MR	S
21	KC-215392	3	3	4	4	5	5	86.50	86.50	6	MR	S
22	KC-215519	4	4	5	4	5	5	90	90	6	MR	S
23	KC-215520	4	4	5	5	5	5	96.50	96.50	5	MR	MR
24	KC-215544	5	5	5	5	5	5	100	100	5	MR	MR
25	KC-215548	3	2	3	3	4	4	40	40	5	R	MR
26	KC-215795	4	4	4	4	4	4	80	80	6	R	S
27	KC-215881	3	3	4	4	4	4	70	70	6	R	S
28	KC-215933	3	3	5	5	5	5	77	77	6	MR	S
29	KC-216074	4	4	5	5	5	5	96.50	96.50	6	MR	S
30	KC-216261	4	4	5	5	5	5	96.50	96.50	5	MR	MR
31	KC-216303	4	4	5	5	5	5	96.50	96.50	5	MR	MR
32	KC-216306	4	4	5	5	5	5	96.50	96.50	6	MR	S
33	KC-216310	4	4	5	5	5	5	96.50	96.50	6	MR	S
34	TN-41-4326	4	4	5	5	5	5	96.50	96.50	5	MR	MR
35	TN-41-4414	3	3	5	4	5	5	86.50	86.50	5	MR	MR
36	TN-41-4767	4	4	5	5	5	5	96.50	96.50	5	MR	MR
37	TN-41-4791	5	5	5	5	5	5	100	100	5	MR	MR
38	TN-41-4890	4	4	5	5	5	5	96.50	96.50	4	MR	R
39	TN-41-4891	3	3	5	5	5	5	76.50	76.50	4	MR	R
40	TN-41-4893	4	3	5	5	5	5	96.50	76.50	4	MR	R
41	TN-41-4896	4	3	5	5	5	5	96.50	76.50	5	MR	MR
42	TN-41-4897	3	3	4	4	4	4	66.50	66.50	5	R	MR
43	TN-41-4898	3	3	4	4	5	5	80	80	5	MR	MR
44	TN-41-4988	4	3	5	4	5	5	86.50	80	5	MR	MR
45	TN-41-4990	4	4	5	5	5	5	90	90	4	MR	R
46	TN-41-4991	3	3	4	4	4	4	70	70	4	R	R
47	TN-41-4992	4	4	5	5	5	5	86.50	86.50	5	MR	MR
48	TN-41-4994	4	4	5	5	5	5	86.50	86.50	6	MR	S
49	TN-41-4995	4	3	4	4	4	4	76.50	76.50	6	R	S
50	TN-41-5054	4	4	4	4	4	4	80	80	6	R	S
51	TN-41-5055	4	3	4	4	5	5	73.50	73.50	5	MR	MR
52	TN-41-5056	4	4	5	5	5	5	96.50	96.50	5	MR	MR
53	TN-41-5057	4	4	5	5	5	5	96.50	96.50	6	MR	S
54	TN-41-5220	4	4	5	5	5	5	96.50	96.50	5	MR	MR
55	TN-41-5221	4	4	4	4	4	4	80	80	5	R	MR
56	TN-41-5223	4	4	5	4	5	5	96.50	96.50	6	MR	S
57	TN-41-4360	4	4	5	5	5	5	96.50	96.50	5	MR	MR
58	TN-41-4730	4	3	4	4	4	4	76.50	76.50	4	R	R
59	TN-41-4759	4	3	4	4	4	4	76.50	76.50	4	R	R
60	KC215812	4	4	5	5	5	5	86.50	86.50	5	MR	MR
61	Bivenij[b]	6	6	9	8	9	8	146.50	136.5	8	HS	HS

a : واکنش ژنوتیپ های نخود بر اساس امتیاز بندی ۹-۱، **b** : شاهد حساس به برق زدگی، **c** : مقاوم، نسبتاً مقاوم، حساس، خیلی حساس به ترتیب

a:The disease reaction of chickpea genotypes based on a 1–9 rating scale (Disease score), **b:** Susceptible check to Ascochyta blight, **c:** R, MR, S, HS: Resistance, Moderately Resistance, Susceptible, Highly Susceptible, respectively

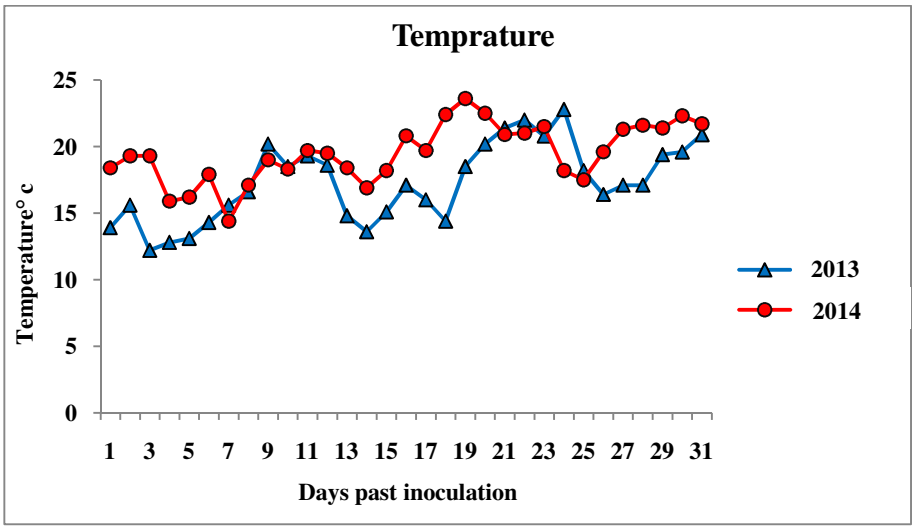
در این مطالعه پس از دو سال بررسی در شرایط مزرعه و اتاقک رشد، از ۲۰۰ ژنوتیپ مورد بررسی، ۱۱ ژنوتیپ هم در مرحله‌ی گیاهچه‌ای و هم در مرحله بلوغ سطح مناسبی از مقاومت را به بیماری برق زدگی نخود نشان دادند. در بیشتر مطالعاتی که تاکنون جهت غربالگری ژرم پلاسم نخود برای مقاومت به برق زدگی انجام شده است. فراوانی ژنوتیپ‌های خیلی مقاوم تا مقاوم کم بوده است. ردی و سینگ (Reddy and Singh, 1984) از میان بیش از ۱۳۰۰۰ نمونه ژرم پلاسم از دو تیپ کابلی و دسی تنها ۱۲ نمونه کابلی و ٦ نمونه دسی را مقاوم گزارش نمودند. آنها در مطالعه‌ای دیگر ۱۰٦۹ نمونه ژرم پلاسم و ارقام اصلاح شده نخود را در مقابل شش نژاد قارچ شناخته شده تا آن زمان ارزیابی کردند و کمتر از ۱۵٪ کل نمونه‌ها مقاوم بودند و هیچ نمونه‌ای با مقاومت کامل گزارش نشد (Singh and Reddy, 1990). در پاکستان از میان ۳٥٦ ژرم پلاسم نخود غربالگری شده، فقط ۷ نمونه مقاوم گزارش شد (Iqbal *et al*., 2002). شکوهی فر و همکاران (Shokouhifar *et al*., 2006) با ارزیابی بیش از ٥۰۰ توده بومی و دودمان خارجی در ایران فقط ٥٦ نمونه را در هر دو شرایط گلخانه و مزرعه مقاوم گزارش کردند. پاندی و همکاران (Pande *et al*., 2011) از میان ۱٥۰ نمونه نخود، ۲۹ رقم با مقاومت بالا و پایدار را معرفی کردند. همچنین پاندی و همکاران (Pande *et al*., 2013) در مطالعه دیگری از میان ٤۲٤ ژرم پلاسم و ارقام اصلاح شده، ۲۹ نمونه مقاوم گزارش کردند. در پاکستان از میان ٤۸ ژنوتیپ، فقط ۱۰ نمونه مقاوم گزارش شد (Ahmad *et al*., 2013). در کنیا از میان ۳٦ ژنوتیپ ارزیابی شده در شریط مزرعه فقط ۱۲ نمونه مقاوم بودند (Kimurto *et al*., 2013). این یافته‌ها نشان می‌دهند که فراوانی نمونه‌های مقاوم در ژرم پلاسم نخود در بیشتر کلکسیون های دنیا پایین است. فراوانی پایین مقاومت در ژنوتیپ‌های ژرم پلاسم نخود احتمالاً ناشی از سطح مشابه مقاومت و تنوع کم مقاومت در بین نمونه‌های نخود است (Rubiales and Fondevilla, 2012; Ahmad *et al*., 2013). اگرچه مشخص شده است که اساس ژنتیکی مقاومت در پاتوسیستم نخود آسکوکیتا کمی است و سطح مقاومت در نمونه‌های نخود جزئی است ولی در بیشتر ژرم پلاسم‌های غربالگری شده تعداد ژن‌ها و نحوه عمل آنها مشخص نشده است (Vail and Banniza, 2008; Bhardwaj *et al*., 2010; Peever *et al*., 2012). روش و شرایط غربالگری ژنوتیپ‌های نخود نیز در بیشتر مطالعات متفاوت است. در برخی مطالعات غربالگری در شرایط کنترل شده (گلخانه، با کنترل دما و رطوبت) انجام گرفته است. برخی در شرایط مزرعه و در برخی نیز در هر دو شرایط کنترل شده و مزرعه غربالگری شده است. در شرایط کنترل شده بدلیل نوسان ناچیز در دما و رطوبت در مقایسه با شرایط مزرعه انتظار می‌رود شدت و خسارت بیماری با دقت بیشتری اندازه‌گیری شود. درشرایط مزرعه مایه زنی در مقایسه با شرایط کنترل شده قابل کنترل نیست چرا که منبع مایه در شرایط مزرعه می‌تواند از آسکسپورها یا پیکنیدیوسپورهای هوازاد و از منابعی غیر از مزرعه مورد بررسی، انتشار یافته باشد (Pande *et al*., 2005; Younesi *et al*., 2011). در سطح مزرعه در صورت مساعد بودن شرایط محیطی تکرار چرخه بیماری، افزایش مایه بدلیل طولانی بودن زمان تماس گیاه میزبان و بیمارگر، توسعه بیماری و تخریب بخش بیشتری از بافت‌های غیرآلوده گیاه و در نتیجه افزایش مجدد مایه را به همراه خواهد داشت. بنابراین غربالگری نمونه‌های نخود بدلیل تأثیرپذیری از شرایط محیطی یا شرایط کنترل شده می‌تواند منجر به نتایج متفاوتی شود. در این مطالعه به منظور اطمینان از واکنش ژنوتیپ‌های نخود، دوبار در شرایط مزرعه واکنش آنها ارزیابی گردید. در سال دوم غربالگری، شدت و خسارت بیماری کمتر از سال اول بود. با وجود یکسان بودن ژنوتیپ‌های نخود و مایه قارچ و روش ارزیابی در هر دوسال، این تفاوت می‌تواند ناشی از تفاوت در شرایط محیطی از جمله دما و رطوبت مناسب و توزیع مناسب بارش در دوره کمون بیماری و پس از آن باشد (Kimurto *et al*., 2013; Pande *et al*., 2013). بررسی داده‌های هواشناسی در طی اردیبهشت

ماه دو سال بررسی (21 April-21 May 2013/2014) منطقه جغرافیایی (خرم آباد) که غربالگری مزرعه در آن انجام گرفت نشان داد که متوسط دماهای روزانه، رطوبت نسبی و مقدار بارش در دوره پیک برق زدگی در سال ۱۳۹۲ (۹ تا ۲۳ اردیبهشت ماه) در مقایسه با همان دوره‌ی سال ۱۳۹۳ به شرایط محیطی مناسب برای وقوع و توسعه بیماری برق زدگی نزدیک‌تر بود (شکل ۱، ۲ و ۳) . نتایج مشابهی در غربالگری چند فصلی ناشی از تغییرات شرایط محیطی در مطالعات متعددی گزارش شده است (Basandrai *et al*., 2007; Kimurto *et al*., 2013; Pande *et al*., 2013). وقوع و شدت زیاد برق زدگی در دمای ۲۵-۱۵ درجه سلسیوس و دمای بهینه‌ی ۲۰ درجه سلسیوس و بارندگی بیشتر از ۱۵۰ میلی متر در سال گزارش شده است (Pande *et al*., 2005). رطوبت بالای ۹۰٪، دماهای نزدیک به ۲۰ درجه سلسیوس باعث تشدید برق زدگی می‌شود (Du *et al*., 2012).



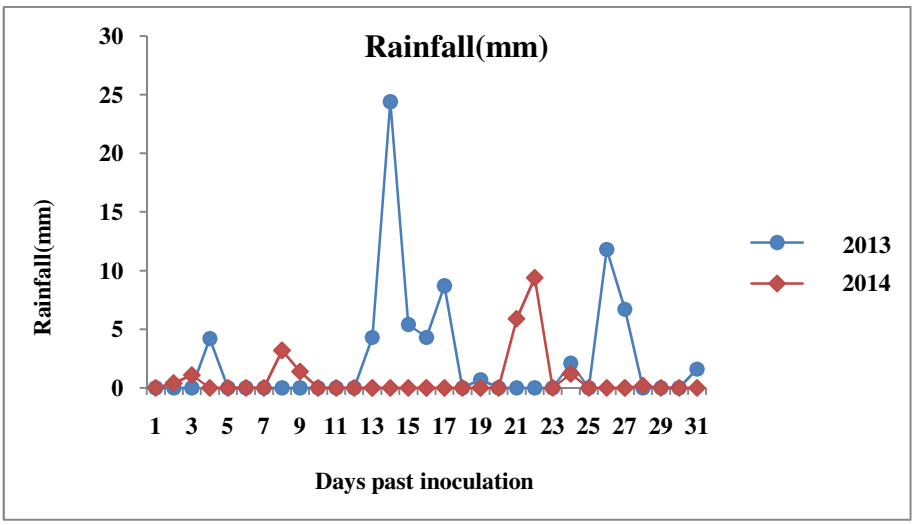
شکل ۱- متوسط رطوبت نسبی روزانه (٪) در طی اردیبهشت ماه سال ۱۳۹۲ و ۱۳۹۳

Fig. 1. The average of daily relative humidity (%) during 21 April to 21 May of 2013 and 2014



شکل ۲- متوسط دمای روزانه (°c) در طی اردیبهشت ماه سال ۱۳۹۲ و ۱۳۹۳

Fig. 2. The average daily temperature (°C) during 21 April to 21 May of 2013 and 2014



شکل ۳- پراکندگی بارش(mm) در طی اردیبهشت ماه سال ۱۳۹۲ و ۱۳۹۳

Fig. 3. Rainfall distribution (mm) during 21 April to 21 May of 2013 and 2014

در شرایط اتاقک رشد، علائم بیماری بیشتر به صورت سوختگی عمومی بود در حالیکه در مزرعه علائمی از قبیل زخم‌های نکروزه، شانکر روی ساقه، و به صورت زخم موضعی رایج تر بود. شکوهی فر و همکاران (Shokouhifar *et al.*, 2006) نیز گزارش نمودند که در شرایط کنترل شده میانگین خسارت بیماری در ژنوتیپ‌های مقاوم انتخاب شده پس از غربالگری مزرعه‌ای تا حدی افزایش نشان داد. در شرایط اتاقک رشد دوره کمون بیماری روی ژنوتیپ‌ها (۵ روز برای میزبان حساس و ۷ روز برای ژنوتیپ مقاوم) در مقایسه با شرایط مزرعه (۷ و ۱۰ روز به ترتیب) کاهش یافت. هر چقدر دما و رطوبت به شرایط بهینه برای برق زدگی نزدیک‌تر باشد، دوره‌ی کمون بیماری روی ارقام کمتر می‌شود. در صورتیکه افزایش یا کاهش دما و کاهش رطوبت کمتر از حد بهینه باشد، دوره‌ی کمون افزایش خواهد یافت (Trapero-Casas and Kaiser, 1992). فاکتور بعدی مؤثر در غربالگری ژرم پلاسم نخود نوع جدایه قارچ مورد استفاده در غربالگری است. اکنون ثابت شده است که جمعیت قارچ در اکثر مناطق بررسی شده از نظر بیماریزایی متنوع است (Vail and Banniza, 2008; Imtiaz *et al.*, 2011; Peever *et al.*, 2012). یکی از دلایل اصلی و مهم ناکارآمدی استراتژی استفاده از ارقام مقاوم در مدیریت بیماری تنوع بیماری‌زایی قارچ است. جمعیت قارچ بر اساس سطح پرآزاری در چهار سطح طبقه بندی شده است. سطح اول جدایه های با پرآزاری کم[۵]، سطح دوم با پرآزاری متوسط[۶]، سطح سوم با پرآزاری معمولی[۷] و سطح چهارم پرآزاری شدید[۸] است (Imtiaz *et al.*, 2011). بنابراین انتخاب سطح پرآزاری مناسب، بسیار مهم است. در این مطالعه در غربالگری مزرعه‌ای از بقایای گیاهی نخود آلوده جمع آوری شده در فصل زراعی قبل (۹۱-۱۳۹۰) از مناطق مختلف استان لرستان جهت مایه زنی استفاده شد. بررسی تفاوت پرآزاری جدایه‌های استخراج شده از این بقایا با استفاده از ارقام افتراقی شاخص در مطالعه‌ای قبل از شروع غربالگری ژنوتیپ‌ها، نشان داد که غالب آنها سطح پرآزاری متوسط و تعداد کمی سطح پرآزاری معمولی (بیشتر شبیه نژاد ۳ و کمتر شبیه نژاد ٤ از ٦ نژاد معرفی شده توسط محققین) نشان دادند (Vafaei *et al.*, 2016). غربالگری با جدایه‌های با پرآزاری شدید به دلیل فقدان مقاومت کامل در ژرم پلاسم نخود، باعث حذف نمونه‌های نخود در غربالگری می‌شود و

۵- Least virulent
٦- Moderately virulent
۷- Virulent
۸--Highly virulent

غربالگری با استفاده از جدایه‌های قارچ با پرآزاری پایین (سطح اول) نیز گمراه کننده خواهد بود و بسیاری از ژنوتیپ‌های انتخاب شده در غربالگری با جدایه‌های کم آزار، در صورت معرفی و ورود به مناطق کاشت و مواجهه با جدایه‌های با پرآزاری بیشتر ارزش خود را از دست می‌دهند. برخی محققین در غربالگری ژرم پلاسم نخود پیشنهاد دادند با توجه به کمی بودن مقاومت، از جدایه‌های با پرآزاری متوسط استفاده شود تا مقاومت‌های جزئی یا حتی تحمل ژنوتیپ‌ها دیده شود و این نمونه‌ها جهت توسعه و اصلاح مقاومت گزینش شوند (Vail and Banniza, 2008). با توجه به کمی بودن برهمکنش بین نخود و قارچ آسکوکیتا و مقاومت ناقص در ژنوتیپ‌های نخود، ژنوتیپ‌های نسبتاً مقاوم یک مزیت نسبی برای کاهش خسارت بیماری محسوب می‌شوند. از طرفی مطالعات گذشته بررسی تنوع بیماریزایی جمعیت قارچ عامل برق زدگی نخود نشان داده است که دامنه‌ی پراکنش جغرافیایی جدایه‌های با پرآزاری شدید محدود است (Pouralibaba *et al*., 2008; Ghiai *et al*., 2012; Vafaei *et al*., 2016). از دیگر فاکتورهای مهم و تأثیرگذار در غربالگری ژرم پلاسم نخود روش مایه زنی و غلظت مایه است. روش مایه زنی در اغلب مطالعات غربالگری مزرعه‌ای استفاده از پخش بقایای گیاهی نخود آلوده جمع‌آوری شده از فصول قبل در بین ردیف های کاشت نخود است (Pande *et al*., 2005). در صورت عدم وقوع بیماری یا توزیع غیر یکنواخت گسترش بیماری، اسپورپاشی تکمیلی روی گیاهان در پلات‌های آزمایشی توصیه شده است (Singh *et al*., 1981; Reddy and Singh, 1984). در این تحقیق از پخش بقایای گیاهی نخود آلوده جمع آوری شده از فصول قبل در بین ردیف‌های کاشت نخود استفاده شد و آلودگی اولیه در سطح پلات‌های آزمایش به اندازه کافی رخ داد بنابراین اسپورپاشی تکمیلی روی ژنوتیپ‌ها انجام نگرفت. فاکتور بعدی مؤثر در غربالگری ژرم پلاسم نخود، سن گیاه، یا مرحله رشد گیاه است. در این تحقیق در غربالگری مزرعه، همزمان با افزایش سن گیاه، حساسیت نیز افزایش یافت. بیشترین حساسیت در مرحله غلاف دهی بود بطوریکه تعداد ژنوتیپ‌های مقاوم در مرحله غلاف دهی نسبت به مراحل گلدهی و قبل از آن کاهش یافت. مطالعات متعددی نشان دادند که مقاومت با افزایش سن گیاه کاهش می‌یابد (Nene and Reddy, 1987; Chongo and Gossen, 2001; Malik *et al*., 2005; Basandrai *et al*., 2007; Sharma *et al*., 2010). منبع مایه در بیماری برق زدگی از بذرهای آلوده، بقایای گیاهی آلوده و آسکسپورها یا پیکنیدیوسپورهای انتشار یافته از مناطق دیگر بوسیله جریانات جوی است. بنابراین گیاهان در مراحل مختلف رشد خود در معرض مایه قرار می‌گیرند. از طرفی مطالعات متعددی نشان دادند که مقاومت بصورت کمی کنترل می‌شود (Vail and Banniza, 2008; Peever *et al*., 2012) و احتمال دارد بیان ژن‌ها بوسیله محرک‌های خارجی (بیمارگر/محیط) و داخلی (بیمارگر/سن گیاه) تحریک شوند و بیان هر کدام از آنها در زمان‌های مختلف متفاوت باشد (Trapero-Casas and Kaiser, 1992; Chongo and Gossen, 2001) به همین دلیل ژنوتیپ‌هایی که مقاومت گیاهچه‌ای خوبی نشان می‌دهند ممکن است همان سطح مقاومت را در مرحله گلدهی و غلاف‌دهی نداشته باشند. افزایش حساسیت در ژنوتیپ‌های نخود همزمان با افزایش سن گیاه ممکن است به دلیل تفاوت بیان ژن در سنین مختلف باشد. ژن‌های مقاومت در مرحله گیاهچه‌ای و رشد رویشی نسبت به مرحله بلوغ بیشتر بیان می‌شوند که ممکن است به دلیل افزایش تولید ترکیباتی مثل اسید مالیک، فعالیت آنزیم‌های کیتیناز و اگزوکیتیناز، فتیوالکسین‌های ماکیان و مدیکارپین و آنزیم‌های لیز کننده پروتئین باشد که باعث تأخیر در ظهور علایم و شدت پایین بیماری در مرحله رشد رویشی می‌شوند (Sharma *et al*., 2010; Elliott *et al*., 2011). بر اساس نتایج مطالعات مختلف، مرحله غلاف دهی در تمایز سطوح مقاومت ارقام مرحله‌ی مناسبی است (Shokouhifar *et al*., 2006; Sharma *et al*., 2010). محققین در هندوستان غربالگری برای مقاومت به برق زدگی را در مرحله گیاهچه‌ای در شرایط

کنترل شده و گیاهان بالغ در شرایط مزرعه پیشنهاد دادند (Pande *et al*., 2013). علاوه بر نقش بیان ژن، رشد و توسعه گیاه در مرحله ی بلوغ (گلدهی و غلاف‌دهی) و ایجاد یک میکروکلیمای محیطی مناسب توسعه بیماری، سپری شدن زمان کافی جهت توسعه بیماری و تأثیر آلودگی تجمعی بدلیل تکرار چرخه بیماری می تواند در مقاومت یا حساسیت ژنوتیپ‌ها در مراحل گلدهی و غلاف دهی مؤثر باشد (Labdi *et al*., 2013). عدم وجود توافق نظر بر این موضوع که تنوع بیماریزایی جمعیت قارچ عامل برق زدگی نخود ناشی از وجود پاتوتیپ‌ها یا نژادهای متفاوت است یا این که ناشی از وجود اختلاف در سطح پرآزاری یک پاتوتیپ منفرد است، تشخیص ژن‌های مختلف مقاومت را دشوار کرده‌است. کمی بودن مقاومت در گیاه میزبان، اطلاعات ناقص مربوط به ژنتیک، ژنومیکس و بیوتکنولوژی حبوبات و دانش محدود مربوط به زیست شناسی و برهمکنش‌های میزبان و عامل بیماری موجب شده است که ارتقاء مقاومت آن از پیشرفت کندی برخوردار باشد (Rubiales and Fondevilla, 2012). در این تحقیق به منظور ارزیابی بهتر و دستیابی به نتایج قابل اعتماد، غربالگری ژنوتیپ‌های منتخب هم در شرایط مزرعه و هم در شرایط کنترل شده و در دو مرحله رشد گیاهچه‌ای و بلوغ انجام گرفت. پس از غربالگری در شرایط مزرعه و کنترل شده، ۱۱ ژنوتیپ نخود از بین ۲۰۰ ژنوتیپ منتخب بانک ژن با واکنش مقاوم نسبی مشخص شدند که می توان از آنها در برنامه‌های اصلاح و توسعه ارقام مقاوم نخود در جهت کاهش خسارت و مدیریت بیماری برق زدگی استفاده نمود (جدول ۲).

جدول ۲- واکنش ژنوتیپ‌های مقاوم منتخب نخود پس از غربالگری در شرایط مزرعه و اتاقک رشد

Table 2. Reaction of chickpea selected resistant genotypes to Ascochyta blight in field and growth chamber conditions

No.	Genotype code	Field conditions			Growth chamber	Genotype reaction [b]	
		Vegetative stage	Flowering stage	Podding stage		Field	Growth chamber
1	KC215126	4[a]	5	5	4	MR	R
2	KC215127	3	4	4	4	R	R
3	KC215128	3	3	4	4	R	R
4	KC215143	4	4	5	4	MR	R
5	TN-41-4890	4	5	5	4	MR	R
6	TN-41-4891	3	5	5	4	MR	R
7	TN-41-4893	4	5	5	4	MR	R
8	TN-41-4730	4	5	5	4	MR	R
9	TN-41-4759	3	4	4	4	R	R
10	TN-41-9990	4	4	4	4	R	R
11	TN-41-9991	4	4	4	4	R	R

a: واکنش ژنوتیپ های نخود بر اساس امتیاز بندی ۹-۱، **b** : مقاوم، نسبتاً مقاوم، به ترتیب

a:The disease reaction of chickpea genotypes based on a 1–9 rating scale (Disease score), **b:** R, MR: Resistance, Moderately Resistance, respectively

References

AHMAD, S., M. A. KHAN, S. T. SAHI and R. AHMAD, 2013. Evaluation of Chickpea Germ plasm against *Ascochyta rabiei* (Pass) Lab. Journal of Animal and Plant Sciences, 23(2): 440-443.

AKEM, C. N., S. KABBABEH and S. AHMAD, 2004. Integrating Cultivar Resistance and Seed Treatment with Planting Dates to Manage Chickpea Ascochyta Blight. Plant Pathology Journal, 3(2):111-117.

BASANDRAI, A. K., D. BASANDRAI, S. PANDE, M. SHARMA, S. K. THAKUR and H. L. THAKUR, 2007. Development of Ascochyta blight (*Ascochyta rabiei*) in chickpea as affected by host resistance and plant age. European Journal of Plant Pathology, 119: 77–86.

BHARDWAJ, R., J. S. SANDHUL, L. KAUR, S. K. GUPTA, P. M. GAUR and R. VARSHNEY, 2010. Genetics of ascochyta blight resistance in chickpea. Euphytica 171:337–343.

BOKHARI, A. A., M. ASHRAF, A. REHMAN, A. AHMAD and M. IQBAL, 2011. Screening of chickpea germ plasm against Ascochyta blight. Pakistan Journal of Phytopathology, 23(1): 05-08.

CHONGO, G. and B. D. GOSSEN, 2001. Effect of plant age on resistance to *Ascochyta rabiei* in chickpea. Canadian Journal of Plant Pathology, 23: 358-363.

DU, W., X. I. ZHAO, T. RAJU, F. DAVIS and R. TRETHOWN, 2012. Identification of *Ascochyta rabiei* disease resistance in chickpea genotypes. Euphytica, 186:697–704.

ELLIOTT, V. L., P. W. J. TAYLOR and F. FORD, 2013. Changes in Foliar Host Reaction to *Ascochyta Rabiei* with plant maturity. Journal of Agricultural Science,5(7):29-35.

FAO, 2014. FAOSTAT database results from FAO website. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations.

GAN, Y. T., K. H. M. SIDDIQUE, W. J. MACLEOD and P. JAYAKUMAR, 2006. Management options for minimizing the damage by Ascochyta blight (*Ascochyta rabiei*) in chickpea. Field Crops Research, 97: 121-134.

GHIAI, S., M. RAZAVI and D. SHAHRIYARI, 2012. 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.

ILYAS, M. B., M. A. CHAUDHRY, N. JAVED, M. U. GHAZANFAR and M. AHSAN KHAN, 2007. Sources of Resistance in Chickpea Germ plasm against Ascochyta blight. Pakistan Journal of Botany, 39(5): 1843-1847.

IMTIAZ, M., M. M. ABANG, R. S. MALHOTRA, S. AHMED, B. BAYAA, S. M. UDUPA and M. BAUM, 2011. Pathotype IV a new and highly virulent Pathotype of *Didymella rabiei*, causing Ascochyta Blight in Chickpea in Syria. Plant Disease, 95: 1192-1192.

IQBAL, S. M., S. HUSSAIN, A. BAKHSH and M. BASHIR, 2002. Sources of Resistance in Chickpea against *Ascochyta* Blight Disease. International Journal of Agriculture and Biology, 04:488–490.

KANOUNI, H., A. TALEEI and S. M. OKHOVAT, Okhovat. 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): 1-22.

KIERSTEN, A. W., A. B. CARL, M. SAMUEL, P. JULIE, A. D. JAVIER, S. G. RUBELLA and C. G. NEIL, 2011. Sensitivity of Ascochyta rabiei populations to prothioconazole and thiabendazole. Crop Protection, 3: 1000-1005.

KIMURTO, P. K., B. K. TOWETTI, R. S. MULWA, N. NJOGUI, L. JEPTANUI, N. V. P. R. GANGARAO, S. SILIM, P. KALOKI, P. KORIR and J. K. MACHARIA, 2013. Evaluation of chickpea genotypes for resistance to Ascochyta blight (*Ascochyta rabiei*) disease in the dry highlands of Kenya. Phytopathologia Mediterranea, 52(1): 212–221.

LABDI, M., R. MALHOTRA, I. BENZOHRA and M. IMTIAZ, 2013. Inheritance of resistance to *Ascochyta*

42: 561–571.

PANDE, S., M. SHARMA, P. M. GAUR, S. TRIPATHI, L. KAUR, A. BASANDRAI, T. KHAN, C. L. L. GOWDA and K. H. M. SIDDIQUE, 2011. Development of screening techniques and identification of new sources of resistance to Ascochyta blight disease of chickpea. Australasian Plant Pathology, 40: 149-156.

PANDE, S., K. H. M. SIDDIQUE, G. K. KISHOR, B. BAYAA, P. M. GAUR, C. L. L. GOWDA, T. W. BRETAG and J. H. CROUCH, 2005. Ascichyta blight of chickpea (*Cicer arietinum* L.): a review of biology, pathogenicity, and disease management. Australian Journal of Agricultural Research, 56:317–332.

PEEVER, T. L., W. CHEN, Z. ABDO and W. J. KAISER, 2012. Genetics of virulence in *Ascochyta rabiei.* Plant Pathology, 61:754–760.

REDDY, M. V. and K. B. SINGH, 1984. Evaluation of a World Collection of Chickpea Germ Plasm Accessions for Resistance to Ascochyta Blight. Plant Disease, 68: 900-901.

RUBIALES, D. and S. FONDEVILLA, 2012. Future prospects for ascochyta blight resistance breeding in cool season food legumes. Plant Science, 3: 1-5.

SHARMA, M., S. PANDE and A. RATHORE, 2010. Effect of growth stages of chickpea on the genetic resistance of Ascochyta blight. European Journal of Plant Pathology, 128: 325–331.

SHOKOUHIFAR, F., A. R. BAGHERI and M. FALLAHATI RASTEGAR, 2006. Identification of resistant chickpea lines against pathotypes causing Ascochyta blight disease in Iran. Iranian journal of biology, 19: 29-42.

SHTIENBERG, D., H. VINTAL, S. BRENER and B. RETIG, 2000. Rational Management of *Didymella rabiei* in Chickpea by Integration of Genotype Resistance and Postinfection Application of Fungicides. Phytopathology, 90: 834-842.

SINGH, K. B., G. C. HAWTIN, Y. L. NENE and M. V. REDDY, 1981. Resistance in chickpeas to *Ascochyta rabiei*. Plant Disease, 65: 586-587.

SINGH, K. B. and M. V. REDDY, 1990. Patterns of Resistance and Susceptibility to Races of Ascochyta *rabiei* in 15 chickpea germ plasm accessions. Plant Breeding, 132, 197–199.

LOBNA BEN, M., M. CHERIF, M. HARRABI, R. F. GALBRAITH and R. N. STRANGE, 2010. Effects of sowing date on severity of blight caused by *Ascochyta rabiei* and yield components of five chickpea cultivars grown under two climatic conditions in Tunisia. European Journal of Plant Pathology, 126: 293–303.

MACLEOD, W.J. and GALLOWAY, J. 2002. Identification and Management of Foliar Disease of Chickpeas, Department of Agriculture and Food, Western Australia, Australia (arm note 79/2002).

MAHMOUDI, A., A. BAGHERI and E. MAHDIKHANI, 2002. Response of chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars to Ascochyta blight [*Ascochyta rabiei* (Pass.) Lab.] at Mashhad. Agriccultural Sciences Technology, 16: 83–90

MALIK, S. R., S. M. IQBAL, I. AHMAD and A. HAQQANI, 2005. Response of chickpea lines to *Ascochyta rabiei* at two growing stages. Caspian Journal of Environmental Sciences, 3(2): 173-177.

NENE, Y.L. and REDDY, M. V. 1987. Chickpea disease and their control in the Chickpea .C.A.B. International, Oxen, UK. Pp: 233-270.

NOUROLLAHI, K., M. JAVANNIKKHAH, M. R. NAGHAVI and S. M. OKHVAT, 2009. Pathogenic diversity in *Didymella rabiei* from the western Iranian Ilam and Kermanshah provinces. Journal of Plant Protection, 23:56-65.

POURALIBABA, H., F. MAHMOODI, K. KESHAVARZ, and K. NOUROLLAHI, 2008. Identification of pathotypes of *Didymella rabiei* causing agent of chickpea blight disease in different parts of Iran using trap nursery. Iranian Journal of Plant Pathology, 44: 170-175.

PANDE, S., M. SHARMA, P. M. GAUR, A. K. BASANDRAI, L. KAUR, K. S. HOODA, D. BASANDRAI, B. T. KIRAN, S. K. JAIN and A. RATHORE, 2013. Biplot analysis of genotype × environment interactions and identification of stable sources of resistance to Ascochyta blight in chickpea (*Cicer arietinum* L.). Australasian Plant Pathology,

rabiei Among Germ Plasm Accessions and Breeding Lines of Chickpea. Plant Disease, 74:127-129.

TRAPERO-CASAS, A. and W. J. KAISER, 1992. Influence of temperature, wetness period, plant age and inoculum concentration on infection and development of Ascochyta blight. Phytopathology, 82:589-596.

VAFAEI, S. H., S. REZAEE, A. ABBASIMOGHADAM, and H. R. ZAMANIZADEH, 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.

VAIL, S. and S. BANNIZA, 2008. Structure and pathogenic variability in *Ascochyta rabiei* populations on chickpea in the Canadian prairies. Plant Pathology, 57:665-673.

WISE, K. A., C. A. BRADLEY, J. S. PASCH and N. C. GUDMESTAD, 2009. Resistance to QoI Fungicides in *Ascochyta rabiei* from Chickpea in the Northern Great Plains. Plant Disease, 93: 528-536.

YOUNESI, H., D. SAFAEE and M. SHEIKHOLESLAMI, 2011. Phenology of *Didymella rabiei* on chickpea debris in Kermanshah province. Iranian Journal of Plant Pathology, 47: 455-462.