تعیین پاتوتیپ‌های *Ascochyta rabiei* Pass. (Labr.) عامل برق‌زدگی نخود در استان‌های کرمانشاه و ایلام و ارزیابی مقاومت ارقام و لاین‌های نخود نسبت به بیماری

Identification of Pathotypes in *Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr., the agent of Ascochyta blight in chickpea in provinces of Kermanshah and Ilam and resistance evaluation of chickpea cultivars and lines against disease

شهرزاد خلعتبری[۱]، داریوش شهریاری[۲*] و مژده ملکی[۳]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۲/۲۹ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۸/۲۸

چکیده

سوختگی آسکوکیتایی ناشی از قارچ *Ascochyta rabiei* Pass. (Labr.) مهم‌ترین بیماری نخود محسوب می‌شود که در صورت فراهم بودن شرایط محیطی مطلوب سبب کاهش بازده کلی محصول می‌گردد. استفاده از ارقام مقاوم مؤثرترین راهبرد مدیریتی برای مقابله با سوختگی آسکوکیتایی نخود می‌باشد. در این تحقیق ۲۴ جدایه مختلف قارچ *A. rabiei* از گیاهان آلوده به بیماری از استان‌های کرمانشاه و ایلام جمع‌آوری، خالص‌سازی و شناسایی گردید. به منظور بررسی خصوصیات مرفولوژیک، دیسک‌هایی از پرگنه جدایه‌های قارچ روی چهار نوع محیط کشت شامل PDA، CDA، CSA و WA کشت شدند. برای تعیین پاتوتیپ‌های قارچ، اسپورپاشی جدایه‌ها روی هفت رقم افتراقی نخود به غلظت 10^6 اسپور در میلی‌لیتر در گلخانه انجام گرفت. مایه‌زنی ۴۱ ژنوتیپ و ارقام نخود با سه پاتوتیپ قارچ *A. rabiei* همانند روش اثبات بیماری‌زایی صورت گرفت. یاداشت‌برداری از شاخص شدت بیماری ۱۲ روز بعد هنگامی‌که شدت آلودگی روی رقم حساس به ۹۰ درصد رسید با الگوی نه شماره‌ای ردی و سینگ انجام شد. نتایج نشان داد که قارچ عامل بیماری از تنوع زیاد ژنتیکی و مرفولوژیکی برخوردار بوده است. در این بررسی سه پاتوتیپ در مناطق مختلف استان کرمانشاه و ایلام شناسائی شد. پاتوتیپ I از کل ۱۳ جـدایه بیش‌ترین فراوانی را داشت، پاتوتیپ II با ۶ جدایه در مرتبه بعدی و پاتوتیپ III با ۵ جدایه کم‌ترین فراوانی را نشان داد. در بررسی واکنش ۴۱ رقم در شرایط گلخانه در برابر سه پاتوتیپ *A. rabiei*، ارقام عادل و آزاد که طی چند سال اخیر توسط مؤسسه تحقیقات کشاورزی دیم معرفی شده‌اند به همراه لاین پیشرفته Flip 03-109C در مقابل پاتوتیپ III واکنش نیمه مقاوم را نشان دادند ولی بقیه لاین‌ها و ارقام، حساس یا خیلی حساس بودند. در مجموع لاین‌های Flip51-87C، Flip03-119C، Flip04-13C و Flip04-10C نسبت به پاتوتیپ‌ها واکنش مقاوم یا نیمه مقاوم داشتند.

واژگان کلیدی: پاتوتیپ، *Ascochyta rabiei*، سوختگی اسکوکیتایی نخود، ارزیابی مقاومت ارقام

۱ و ۳- به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و استادیار گروه بیماری‌شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین-پیشوا، ورامین، ایران

۲- استادیار، بخش تحقیقات گیاهپزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیع استان تهران، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی ورامین، ایران

نویسنده مسئول مکاتبات: dshahriari37@gmail.com

مقدمه

نخود *Cicer arietinum* L. در منابع فارسی به نخود زراعی، نخود ایرانی یا نخود معمولی اطلاق می‌شود. توسعه زراعت نخود از جنبه‌های مختلف زراعی و اکولوژیکی و اقتصادی و تغذیه‌ای حائز اهمیت فراوانی است یکی از عمده‌ترین دلایل نقصان عملکرد در واحد سطح، شیوع اپیدمی‌های خسارت‌بار بر اثر حمله بیماری برق‌زدگی می‌باشد. سوختگی آسکوکیتایی، *Ascochyta* blight ناشی از قارچ *Ascochyta rabiei* Pass. (Labr.) (تلومورف، *Didymella rabiei* v. Arx. syn. *Mycosphaerella rabie*i Kovachevski) یکی از بالاترین تنش‌های زیستی کاهنده عملکرد این محصـول می‌باشد (Ahmed *et al.,* 2005). بیماری برق‌زدگی نخود اولین بار توسط باتلر (۱۹۱۱) در ایالات مرزی شمال غربی پاکستان امروزی گزارش و توصیف گردید (Butler, 1918). تاکنون این بیماری از ۳۱ کشور از جمله کشورهای الجزایر، استرالیا، بلغارستان، کانادا، قبرس، اتیوپی، فرانسه، یونان، هند، ایران، عراق، فلسطین اشغالی، ایتالیا، لبنان، مراکش، پاکستان، پرتغال، رومانی، اسپانیا، سوریه، تانزانیا، ترکیه، ایالات متحده آمریکا و شوروی سابق (Mmbaga, 1997) و همچنین لیبی، مصر، تونس، مجارستان و مکزیک گزارش شده است (Nene and Reddy, 1987). این بیماری در نواحی واقع در بین مدار ۳۱ و ۲۶ درجه عرض شمالی از اهمیت فراوانی برخوردار است (Dhingra and Sinclair, 1986). در ایران این بیماری ابتدا توسط زالپور (۱۳۴۲) از مزارع اطراف قزوین جمع‌آوری و شناسایی شد. شیوع این بیماری از مناطق آذربایجان، مازندران، استان مرکزی، خوزستان، فارس، زنجان و کرمانشاه گزارش شده است (اخوت، ۱۳۷۵، یونسی، ۱۳۷۵). ماهیت مخرب قارچ عامل بیماری آن را به عنوان فاکتور اصلی محدود کننده تولید نخود و به عنوان مهم‌ترین بیماری نخود معمولی در نواحی غرب آسیا و شمال آفریقا معرفی نموده است (Singh, 1997). اپیدمی‌های مکرر این بیماری از چندین کشور تولیدکننده عمده نخود گزارش شده است. کاهش محصول توسط این قارچ در کشور پاکستان حدود ۴۲٪ در طی سال ۱۹۸۱-۱۹۸۲ گزارش گردید. خسارت وارده به محصول در سوریه، طی سال‌های ۱۹۸۲،۱۹۸۱، و ۹۳-۱۹۹۲ به ترتیب در حدود ۳۰-۵ درصد، ۳۰ درصد و ۱۰۰-۶۰ درصد و در ایالات متحده آمریکا در سال‌های ۸۳-۱۹۸۲ و ۱۹۸۷ به ترتیب حدود ۴۲/۷ و ۱ میلیون دلار گزارش شده است (Mmbaga, 1997). در استان کرمانشاه، حالت فراگیر بیماری در سال زراعی ۷۴-۱۳۷۳ باعث از بین رفتن کل محصول کشاورزان در برخی مزراع شد (یونسی، ۱۳۷۵). مابسوته و همکاران (Mabsoute *et al.,* 1996) سوختگی آسکوکیتایی را به عنوان اصلی‌ترین عامل بازدارنده نخود در الجزایر و کشورهای غربی دیگر آفریقا، گزارش کردند. مطالعات انجام شده بر روی قارچ *A. rabiei* با استفاده از جدایه‌هائی از نقاط مختلف در شمال آفریقا، خاورمیانه، هند و آمریکا، همگی حکایت از تنوع زیاد بیماری‌زایی آن‌ها دارد. بررسی‌ها نشان داده شده است که جمعیت بیمارگر دارای تفاوت‌هایی در قدرت تهـاجمـی بـوده و پاتوتیپ‌های بسیـار مهاجـم تمـایل به حضـور در نقـاطـی با فشـار انتخـابی شـدیـد داشتـه‌انـد (Gowen *et al.,* 1989). به دلیـل عدم صرفه اقتصادی استفاده از قارچ‌کش‌ها، کاشت ارقام مقاوم نخود، مؤثرترین و اقتصادی‌ترین راهبرد مدیریتی برای مقابله با سوختگی آسکوکیتایی نخود در نظر گرفته می شود (Gan *et al.,* 2006). به دلیل تنـوع بیماری‌زایی قارچ *A. rabiei*، اصـلاح ارقام نخـود مقـاوم به سوختگی آسکوکیتـایی چنـدان سـاده نیست (Singh, 1990). بنابراین، شناسایی پاتوتیپ‌ها یا نژادهای فیزیولوژیکی به منظور به‌نژادی ارقام مقاوم نخود بر اساس واکنش به مجموعه‌ای از ژنوتیپ‌های افتراقی نخود، ضـروری می‌باشد (Türkkan and Dolar, 2009).

مواد وروش‌ها

جمع‌آوری، جداسازی و خالص‌سازی قارچ عامل بیماری

برای نمونه‌برداری از بوته نخود آلوده به بیماری برق‌زدگی نخود در فصل بهار سال‌های ۹۴-۱۳۹۳ به مزارع نخودکاری استان کرمانشاه و ایلام، مراجعه شد و از ساقه، برگ، غلاف آلوده نمونه‌برداری صورت گرفت و در پاکت‌هایی در بسته

همراه با مشخصات کامل محل و زمان جمع‌آوری، به آزمایشگاه منتقل و کدگذاری شدند. سپس از حد فاصل بافت سالم و آلوده ساقه، برگ و غلاف آلوده، قطعاتی به طول ۱-۰/۵ سانتی‌متر برش داده شد و در محلول هیپوکلریت سدیم ۰/۵ درصد (NaCl با نام تجاری وایتکس) به مدت ۲ دقیقه ضدعفونی سطحی گردیدند. نمونه‌ها، بر روی محیط کشت PDA (سیب‌زمینی دکستروز آگار ساخت شرکت مرک، آلمان) قرار داده شد. سپس پتری‌ها تحت درجه حرارت ۱±۲۲ درجه سلسیوس نگهداری شدند. جهت خالص‌سازی جدایه‌ها، قطعه کوچک از پرگنه دارای پیکنیدیوم در لوله‌های حاوی آب مقطر استریل منتقل و سری رقت تهیه گردید. بدین ترتیب تک اسپورهای قارچ برروی محیط کشت سیب‌زمینی، دکستروز ،آگار (PDA) به‌دست آمد.

اثبات بیماری‌زایی و شناسایی قارچ عامل بیماری

به منظور اثبات بیماری‌زایی جدایه‌های قارچ *A. rabiei*، هریک از جدایه خالص قارچ که تحت کد نام‌گذاری شدند، تکثیر و روی رقم بیونیج حساس به بیماری مایه‌زنی گردید. بدین ترتیب، گیاهچه تازه روئیده با اندازه یکسان در ماسه استریل انتخاب شد و درون گلدان‌های حاوی مخلوط خاک و ماسه در عمق ۲/۵ سانتی‌متری به تعداد ۳ گیاهچه کشت گردید. همزمان از پرگنه تک اسپور قارچ حاوی پکنیدیوم، قطعاتی به قطر ۰/۵ سانتی‌متر جدا و در لوله حاوی ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر ریخته و خوب به‌هم زده شد. سپس یک سی‌سی از سوسپانسیون حاصله در سطح تشتک‌های پتری حاوی محیط کشت CSA پخش گردید و به مدت ۱۲ روز در دما ۲۴ درجه سلسیوس قرار داده شدند. پس از ظهور پیکنیدهای قارچ، با اضافه نمودن آب مقطر سترون و مالش آرام سوزن سترون بر روی سطح محیط کشت سوسپانسیون اسپور قارچ به‌دست آمد و با استفاده از لام haemocytometer سوسپانسیون اسپور با رقت $۱-۲\times۱۰^{۶}$ اسپور در میلی-لیتر تهیه شد و روی گیاهچه‌های ۱۴ روزه نخود با سوسپانسیون هریک از جدایه‌های قارچ به طور یکنواخت تا مرحله ریزش اولین قطره از سطح برگ با استفاده از اسپری‌های دستی، اسپورپاشی شدند. گلدان‌ها در محفظه‌ای با پوشش پلاستیکی در دمای ۲۲-۱۸ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۱۰۰-۹۵ درصد قرار گرفتند. در روز سوم پوشش پلاستیکی برداشته شد. این آزمایش با سه تکرار و یک شاهد اجرا گردید. برای شناسایی جنس و گونه قارچ عامل بیماری از کلید توصیف قارچ‌ها و باکتری‌های پاتوژنیک (CMI NO.377) استفاده گردید (Punithalingam and Holliday, 1972)

بررسی خصوصیات مورفولوژیک جدایه‌های *A. rabiei* روی محیط‌های مختلف

به منظور بررسی ویژگی‌های مرفولوژیکی و مشخصات پرگنه جدایه‌های به‌دست آمده بر روی محیط‌های کشت مختلف شامل PDA (Potato Dextrose Agar) ساخت شرک Difco، CSA (Chikpea Saccharose Agar) پودر نخود ۴۰ گرم، ساکارز ۱۸ گرم وآگار و ۲۰ گرم در یک لیتر آب مقطر. CDA (Chickpea Dextrose Agar) همانند تهیه CSA است؛ فقط به جای ساکاروز از دکستروز به میزان ۲۰ گرم استفاده شد (Basandrai *et al.*, 2005) و محیط WA ۲٪ حاوی ۲۰ گرم آگار در یک لیتر آب مقطر در تشتک پتری ۹۰ سانتی‌متری تهیه شد. سپس از حاشیه پرگنه جدایه‌هایKM214 ، KM222، ELM219 و KM115 دیسک‌های ۵ میلی‌متری جدا و در وسط محیط‌های کشت و در دمای $۲۴^{\circ}C$ در تاریکی قرار داده شد. قطر رشد پرگنه قارچ بعد ازدو هفته با خط‌کش اندازه‌گیری و همچنین شکل و رنگ کلنی ثبت گردید. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد و نتایج حاصله با نرم‌افزار MSTAT-C، تجزیه واریانس گردید و میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح ۱٪ مقایسه شدند.

تعیین پاتوتیپ‌های جدایه‌های قارچ *A. rabiei*

جهت تعیین و تشخیص پاتوتیپ‌های عامل بیماری تعداد ۷ رقم افتراقی نخود شامل ILC-249، ILC-482 ، ILC-1929، ILC-3279، ICC-3996، ILC-1903 و F-8 مورد استفاده قرار گرفت. این ارقام عمدتاً دارای مقاومت اختصاصی در مقابل قارچ *A. rabiei* می‌باشند. در این مرحله مایه‌زنی گیاهچه‌های ارقام افتراقی نخود با سوسپانسیون جدایه‌های مختلف قارچ *A.rabiei* همانند روش اثبات بیماری‌زائی انجام شد. یادداشت‌برداری از تیپ آلودگی بر اساس عکس‌العمل ارقام نخود به جدایه‌های قارچ مطابق شاخص شدت بلایت ۹ درجه‌ای هنگامی که ۹۰ درصد گیاهچه‌های رقم حساس (ILC-1929) علایم بیماری را نشان دادند، (۱۲ روز بعد از آلودگی) صورت گرفت. شدت بیماری با استفاده از شاخص ۹ درجه‌ای ردی و سینگ (Reddy and Singh, 1990) ثبت گردید (جدول ۱). بر اساس درجه آلودگی، واکنش ارقام به صورت خیلی مقاوم، مقاوم، نیمه مقاوم، حساس و خیلی حساس تعیین شد. در این بررسی ارقامی که نمره ۱-۴/۹ گرفتند، به‌عنوان مقاوم (R) و ارقامی که نمره ۵-۹ را گرفتند، به‌عنوان حساس (S) تعیین شدند. نتایج حاصل از ارزیابی واکنش ارقام افتراقی نخود با منابع تعیین پاتوتیپ در مرکز تحقیقات کشاورزی و دانشگاه Mostaganem الجزایر مطابق جدول (۲) مقایسه گردید (Benzohra *et al.,* 2011).

جدول ۱- تیپ‌های آلودگی برای ارزیابی واکنش نخود در مقابل جدایه‌های مختلف قارچ *Ascochyta rabiei* (Reddy and Singh, 1984)

Table 1. Infection types used to assessment of Chickpea response against the isolates of Ascochyta blight (Reddy and Singh, 1984)

درجه آلودگی Infection degree	توصیف علائم بیماری بر روی هرگیاه	Symptoms description on each plant
1	هیچ‌گونه علائمی روی گیاه دیده نمی‌شود	No lesion is visible on whole plant.
3	لکه‌ها واضح یا در کمتر از ۱۰٪ گیاهان روی ساقه نیست	Visible lesions or less than 10% of the plants on the stems are not reached.
5	لکه ها در ۲۵٪ از گیاهان با تخریب تقریبا ۱۰٪ ساقه‌ها	Lesions on 25% of the plants, with damage approximately 10% of the stems.
7	لکه‌ها روی تمام گیاهان،تقریبا در ۵۰٪ ساقه ها است. در نتیجه مرگ گیاهان به‌واسطه تخریب جدی	Lesions on all the plants, approximately 50% of the stems are reached, which results in the death of certain plants because of serious damage.
9	لکه در تمام گیاه منتشر شده و به بیش از۵۰٪ از ساقه رسیده ومرگ اکثریت گیاهان	Lesion diffused on all the plants, the stems are reached in proportions higher than 50% with the death of the majority of the plants.

جدول ۲- مجموعه ارقام افتراقی نخود برای شناسائی پاتوتیپ‌های *Ascochyta rabiei*

Table 2. Differential varieties of Chickpea for pathotypes identification of *Ascochyta rabiei*

ژنوتیپ Genotype	*Response واکنش*					
	پاتوتیپ I Pathotype I	پاتوتیپ I Pathotype I	پاتوتیپ II Pathotype II	پاتوتیپ II Pathotype II	پاتوتیپ III Pathotype III	پاتوتیپ III Pathotype III
F- 8	R	S	S	S	S	S
ILC-249	R	R	R	S	S	S
ICC-482	R	R	R	S	S	S
ILC-3279	R	R	R	R	S	S
ILC-1903	R	R	S	S	S	S
ILC-3996	R	R	R	R	R	S
ILC-1929	S	S	S	S	S	S

* R= مقاوم (شاخص بیماری ۱-۹ در ۲، ۳ یا ۴ درجه)، S= حساس (۶،۷،۸یا ۹ درجه)

*R = Resistant (2, 3 or 4 degree in 1-9 scale of disease index), S= (6, 7, 8 and 9 degree)

ارزیابی واکنش ارقام مختلف نخود نسبت به پاتوتیپ‌های قارچ *A rabiei*

بدین منظور ۴۱رقم نخود شامل ارقام تحت کشت و لاین‌های پشرفته به همراه شاهد حساس در گلدان‌های یک کیلویی به تعداد ۳ بذر در هر گلدان کشت شدند. مایه‌زنی ارقام در مرحله شروع برگ چهارم یا ۱۴ روزه با اسپور قارچ مطابق روش اثبات بیماری‌زائی انجام شد. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار اجرا شد. ارزیابی‌ها هنگامی‌که میزان آلودگی در رقم حساس به ۹۰ درصد رسید، با استفاده از شاخص ۹ درجه‌ای ردی و سینگ (Reddy and singh, 1990) انجام شد. در این بررسی عکس العمل ارقام به پنج گروه خیلی مقاوم، مقاوم، مقاومت متوسط یا متحمل، حساس و خیلی حساس تقسیم شدند (Basandra *et al*., 2005).

نتایج

مشخصات مناطق نمونه‌برداری

طی دو بازدید از مزارع نخود کاری استان کرمانشاه و ایلام در ماه‌های اردیبهشت و خرداد از ۱۰ منطقه با فاصله حداقل ۱۵ کیلومتر، جمعاً از ۲۴ مزرعه آلوده نخود، از شاخه و ساقه‌های دارای علایم بیماری نمونه‌برداری به‌عمل آمد. محل جمع‌آوری و سال با کد KM برای استان کرمانشاه و کد EL برای استان ایلام ثبت گردید (جدول ۳).

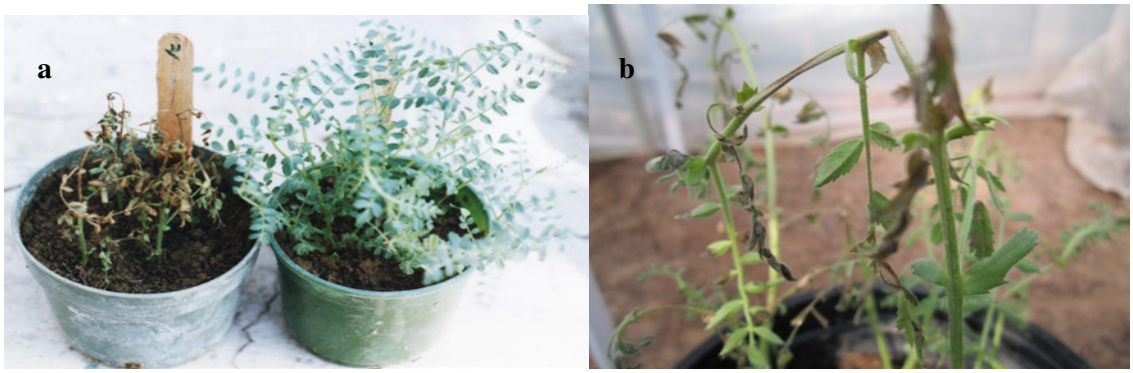
جداسازی و اثبات بیماری‌زائی جدایه‌ها

از نمونه‌های نخود آلوده به *A. rabiei* از مناطق مختلف کرمانشاه و ایلام جمعاً از ۲۴ جدایه به‌دست آمده، ابتدا خالص‌سازی به روش تک اسپور صورت گرفت، سپس اثبات بیماری‌زایی تمام جدایه‌ها روی رقم بیونیج حساس به بیماری برق‌زدگی تایید گردید. علایم بیماری هفت روز بعد از مایه‌زنی شامل تشکیل لکه‌های مدور تا بیضوی زرد متمایل به قهوه‌ای روشن با حاشیه قهوه‌ای تیره به همراه پیکنیدیوم‌های تیره در زمینه لکه‌های رویی برگ‌ها بود و همچنین لکه‌های کشیده قهوه‌ای رنگ روی ساقه یا شاخه‌ها با پیکنیدیوم‌های فراوان که در شدت آلودگی منجر به شکسته شدن شاخه‌ها وساقه می‌گردد، مشاهده شد و از شاخه‌های آلوده مجدداً قارچ عامل بیماری جدا گردید (شکل ۱).

جدول ۳- مشخصات کامل مناطق جمع‌آوری جدایه‌های قارچ *A. rabiei*

Table 2- Full details of collection areas of *A. rabiei* isolates

ردیف No.	کد نمونه Sample code	سال Year	Collection areas of samples Village	روستا	City	شهرستان	Province	محل جمع آوری نمونه استان
1	KM113	1393	Zarinchoob	زرین چوب	Sarpol zahab	سرپل ذهاب	Kermanshah	کرمانشاه
2	KM114	1394	The Country	حومه	Mian darband	میان دربند	Kermanshah	کرمانشاه
3	KM115	1394	Dizgeran	دیزگران	Kermanshah	کرمانشاه	Kermanshah	کرمانشاه
4	KM117	1394	The Country	حومه	Shademan	شادمان	Kermanshah	کرمانشاه
5	KM210	1393	Ilam Road	جاده ایلام	Islam abad	اسلام آباد	Kermanshah	کرمانشاه
6	KR211	1393	The Country	حومه	Sarab niloofar	سراب نیلوفر	Kermanshah	کرمانشاه
7	KM212	1393	The Country	حومه	Sarab niloofar	سراب نیلوفر	Kermanshah	کرمانشاه
8	KM214	1393	Sararood	سرارود	Kermanshah	کرمانشاه	Kermanshah	کرمانشاه
9	KM215	1393	KHodabandehl	خدابنده لو	Sahneh	صحنه	Kermanshah	کرمانشاه
10	KM218	1393	The Country	حومه	Kangavar	کنگاور	Kermanshah	کرمانشاه
11	KM220	1393	Sararood	سرارود	Kermanshah	کرمانشاه	Kermanshah	کرمانشاه
12	KM222	1391	Hamil	حمیل	Islam abad	اسلام آباد	Kermanshah	کرمانشاه
13	KM224	1393	Ali abad	علی آباد	Islam abad	اسلام آباد	Kermanshah	کرمانشاه
14	KM225	1393	The Country	حومه	Islam abad	اسلام آباد	Kermanshah	کرمانشاه
15	KM226	1393	Hamil	حمیل	Islam abad	اسلام آباد	Kermanshah	کرمانشاه
16	KM228	1393	The Country	حومه	Sarfirooz abad	سرفیروز آباد	Kermanshah	کرمانشاه
17	KM229	1393	Sararood	سرارود	Kermanshah	کرمانشاه	Kermanshah	کرمانشاه
18	KM232	1393	Ibrahim Nesbat	ابراهیم نسبت	Kerend	کرند	Kermanshah	کرمانشاه
19	KM233	1393	The Country	حومه	Ravansar	روانسر	Kermanshah	کرمانشاه
20	KM242	1393	Center Station	ایستگاه مرکز	Mahidasht	ماهیدشت	Kermanshah	کرمانشاه
21	EL211	1394	The Country	حومه	The Country	حومه	Ilam	ایلام
22	EL219	1394	The Country	حومه	The Country	حومه	Ilam	ایلام
23	EL223	1394	The Country	حومه	The Country	حومه	Ilam	ایلام
24	EL224	1394	The Country	حومه	The Country	حومه	Ilam	ایلام



شکل ۱- علائم بیماری برق‌زدگی نخود (a) در رقم حساس بیونیج و شاهد (b) شکستگی شاخه توسط *A. rabiei*

Fig. 1. Disease symptoms of Ascochyta blight in Chickpea (a) in susceptible cultivars, Bivenij and check (b) The branch broken by *A. rabiei*

مشخصات گونه قارچ *Ascochyta rabiei* (Pass.) Labrousse

پیکنیدهای قارچ در بافت ساقه، برگ، غلاف و بذر نخود معمولی تشکیل شده، پیکنیدها گلبولی شکل، شکوفا و به رنگ قهوه‌ای تیره به قطر۲۰۰-۱۴۰ میکرومتر، دیواره پیکنید از دو لایه سلول پسودوپارانشیمی طویل تشکیل شده و عرض دهانه پیکنید ۵۰×۳۰ میکرومتر بود. کنیدی‌های قارچ بی‌رنگ، صاف یا کمی خمیده، دارای یک دیواره عرضی و برخی تک سلولی بودند. در ناحیه دیواره کمی فرورفتگی مشاهده شد. دو انتهای کنیدی گرد و اندازه آنها ۴/۵ × ۱۲-۱۰ میکرومتر متغیر بود. این کنیدی‌ها روی فیالیدهای آمپولی شکل تشکیل شدند. بر اساس مشخصات فوق گونه قارچ *Ascochyta rabiei* (Pass.) Labrousse تعیین گردید (Punithalingam and Holliday, 1972).

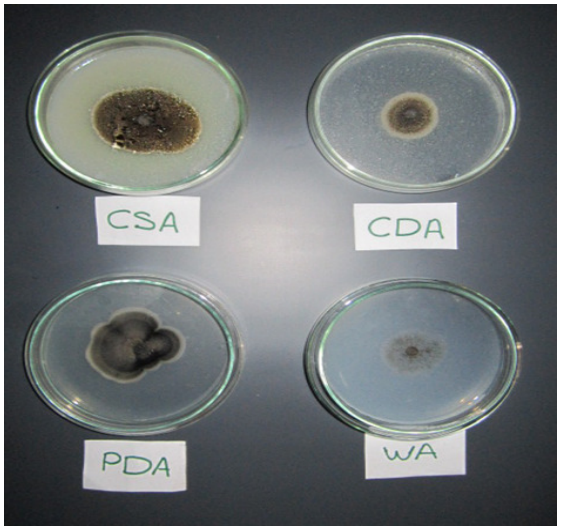
خصوصیات مورفولوژیک جدایه‌های شاخص *A. rabiei* روی محیط‌های مختلف

خصوصیات رشدی و مورفولوژیک چهار جدایه متعلق به سه پاتوتیپ روی محیط‌های کشت CSA، CDA، PDA و WA از نظر قطر رشد کلنی، شکل و رنگ روی چهار محیط متفاوت بودند. در این بررسی جدایه به‌ترتیب روی محیط CDA، CSA، PDA و WA بیش‌ترین رشد را نشان دادند و در بین جدایه نیز ELM219 و KM214 متعلق به پاتوتیپ‌های I و III بیش‌ترین رشد شعاعی روی محیط CDA وCSA داشتند (جدول ۴ و شکل ۲).

جدول ۴- مقایسه قطر کلنی (میلی‌متر) چهار جدایه قارچ *Ascochyta rabiei* روی محیط‌های مختلف

Table 4. The comparison of colony diameter (mm) in four isolates of *Ascochyta rabiei* on different media

جدایه ها Isolates	پاتوتیپ Pathotype	محیط‌های مختلف Different media			
		PDA	WA	CSA	CDA
ELM219	I	62.5 f	44.25 j	75.75 ab	76.75 a
KM115	I	59.5 g	47.5 i	54.5 h	69.5 d
KM222	II	55.5 h	43.5 jk	54.5 h	66.5 e
KM214	III	48.5 i	42.5 k	71.5 c	75 b



شکل ۲- اشکال کلنی قارچ *A.rabiei* پاتوتیپ III روی محیط‌های CDA ، CSA، PDA و WA

Fig. 2. The colony shapes of *A. rabiei* , Pathotype III on CSA, CDA, PDA and WA media

بررسی واکنش ارقام افتراقی نخود نسبت به جدایه‌های *A. rabiei*

علایم بیماری یک هفته بعد از مایه‌زنی در گیاهچه‌های ارقام حساس ILC-1929 ظاهر شد و یادداشت‌برداری از واکنش ارقام افتراقی نسبت به هر یک از جدایه‌ها ۱۲ روز بعد از مایه‌زنی ثبت گردید. نتایج حاصله در این مرحله نشان داد که سه پاتوتیپ *A.rabiei* در تمام مناطق نمونه‌برداری شده کرمانشاه و ایلام وجود دارد (جدول ۵). همچنین مشخص گردید که پاتوتیپ I با ۱۳ جدایه بیش‌ترین جمعیت و پراکنش را داشت و سپس پاتوتیپ II با ۶ جدایه و پاتوتیپ III با ۵ جدایه جمعیت و پراکنش کم‌تری در مناطق مختلف استان داشتند. در این بررسی مشخص گردید پاتوتیپ III که بیش‌ترین قدرت تهاجم یا شدت بیماری‌زائی بالا را دارد، عمدتاً در منطقه سرارود کرمانشاه، سرپل ذهاب و سراب تیلوفر در ناحیه محدودی وجود دارد و در دیگر نواحی استان کرمانـشاه یا ایلام دیده نشد. پاتوتیپ‌های I و II که از نظر بیماری‌زائی شدت کم‌تری نسبت به پاتوتیپ III دارند، فراوانی و پراکنش بیش‌تری داشتند. این پاتوتیپ‌ها با تعداد ۱۹ جدایه از کل ۲۴ جدایه‌ها پراکنش وسیعی در استان‌های فوق را داشتند (جدول ۶).

جدول ۵- واکنش جدایه‌های مختلف *A. rabiei* روی ارقام افتراقی نخود

Table 5. The response of *A. rabiei* isolates in differential chickpea cultivars

جدایه‌ها Isolate	ارقام استاندارد افتراقی نخود The differential standard varieties of chickpea							
	ILC-1929	F-8	ICC-1903	ILC-249	ILC-482	ILC-3279	ICC-3996	پاتوتیپ‌ها pathotypes
KM113	S	S	S	S	S	S	R	III
KM114	S	S	R	R	R	R	R	I
KM115	S	R	R	R	R	R	R	I
KM117	S	R	R	R	R	R	R	I
KM210	S	S	S	S	S	R	R	II
KM211	S	S	S	S	S	S	R	III
KM212	S	R	R	R	R	R	R	I1
KM214	S	S	S	S	S	S	S	III
KM215	S	S	R	R	R	R	R	I
KM218	S	S	S	R	R	R	R	I
KM220	S	S	S	S	S	S	S	III
KM222	S	S	S	S	S	R	R	1I
KM224	S	R	R	R	R	R	R	1
KM225	S	S	S	R	R	R	R	I
KM226	S	S	S	S	S	R	R	1I
KM228	S	S	R	R	R	R	R	I
KM229	S	S	S	S	S	S	S	III
KM232	S	S	S	R	R	R	R	I
KM233	S	R	R	R	R	R	R	1
KM242	S	S	S	R	R	R	R	I
EL211	S	S	S	S	S	R	R	1I
EL219	S	R	R	R	R	R	R	1
EL223	S	S	S	S	S	R	R	1I
EL224	S	R	R	R	R	R	R	I

R: Resistant مقاوم S: Susceptible حساس

جدول ۶- فراوانی و واکنش پاتوتیپ‌های *A. rabiei* در استان‌های کرمانشاه و ایلام

Table 6. The frequency and responses of *A. rabiei* pathotypes in provinces of Kermanshah and Ilam

تعداد جدایه‌ها Isolates numbers	نام پاتوتیپ Pathotype name	Differential cultivars					ارقام افتراقی	
		ILC-1929	F-8	ICC-1903	ILC-249	ILC-482	ILC3279	ICC-3996
6	I	S	R	R	R	R	R	R
3	I	S	S	R	R	R	R	R
4	II	S	S	S	R	R	R	R
6	II	S	S	S	S	S	R	R
2	III	S	S	S	S	S	S	R
3	III	S	S	S	S	S	S	S

ارزیابی واکنش ارقام نخود نسبت به نژادهای *A. rabiei*

نتایج ارزیابی عکس‌العمل ۴۱ رقم نخود در برابر سه پاتوتیپ *A.rabiei* بعد از ظهور علایم در ارقام حساس ILC-1929 و ILC-263، به‌شرح ذیل می‌باشد:

الف- در مقابل پاتوتیپ III، ارقام عادل، آزاد و Flip 03-109 دارای واکنش نیمه مقاوم (MR) بودند و بقیه ارقام حساس یا خیلی حساس بودند.

ب- در مقابل پاتوتیپ II، ارقام آزاد، عادل، Flip03-109، Flip04-10C و Flip51-87C واکنش مقاومت (R)، ارقام Flip03-119C، Flip04-13C و آرمان واکنش متحمل یا نیمه مقاوم (MR) و بقیه حساس یا خیلی حساس بودند.

ج- در مقابل پاتوتیپ I، تنوعی از واکنش‌ها مشاهده شد. ارقام یا ژنوتیپ‌های Flip 51-87 C ، Flip 04-10C، Flip 04-13C، Flip 06-152C آزاد واکنش خیلی مقاوم (HR) و ارقام یا ژنوتیپ‌های Flip 03-109، Flip 03-119c، Flip07-200C، Flip 07-222C، Flip 07-203C، Flip 07-198C، عادل، کاکاء و هاشم واکنش مقاوم (R) و. بقیه ارقام حساس یا خیلی حساس ارزیابی شدند.

بحث

تاکنون تلاش‌های زیادی جهت بررسی و گروه‌بندی بیماری‌زایی قارچ *A. rabiei* صورت گرفته است که همگی حاکی از تنوع زیاد این بیمارگر در مناطق مختلف بوده است. در این تحقیق بعد از جداسازی و اثبات بیماری‌زایی ۲۴جدایه به‌دست آمده از نواحی مختلف استان‌ها وبررسی خصوصیات مورفولوژیک و رشدی جدایه‌ها روی محیط‌های مختلف، نتایج نشان داد که جدایه‌ها از نظر قطر کلنی، شکل، رنگ متفاوت هستند. نتیجه این تحقیق با گزارش شهریاری و ایزدیار (۱۳۷۹) که خصوصیات مورفولوژیک ۱۱۷ جدایه جمع‌آوری شده از سراسر کشور را بررسی کردند و کارهای غیائی و همکاران (۱۳۹۰) و پایمرد وهمکاران (۱۳۹۳) که طی بررسی‌های آزمایشگاهی به تغییرات زیاد *A. rabiei* روی محیط‌های مختلف از جمله PDA اشاره می‌کند، شباهت دارد. باساندرا و همکاران (Basandrai *et al.,* 2005) در هند، تفاوت ۱۶ جدایه *A. rabiei* را از نظر رشد، شکل، رنگ و تراکم پیکنیدیوم بعد از ده روز بر روی محیط Chickpea Dextrose Agar گزارش کردند. بشیر و همکاران (Bashir *et al.,* 1986) نیز تفاوت جدایه‌های *A. rabiei* را از نظر قطر کلنی، رنگ کلنی و تراکم پیکنیدیوم روی محیط‌های کشت Meal Agar Medium, New Medium Chickpea Seed وRichards Medium گزارش کردند. در بررسی‌های این تحقیق، از ۲۴جدایه قارچ جمع‌آوری شده از استان‌های کرمانشاه و ایلام، سه پاتوتیپ فیزیولوژیک با جمعیت‌ها و پراکنش‌های مختلف از دو استان فوق تعیین شدند که با پاتوتیپ‌های شناسایی شده با استفاده از ارقام افتراقی در الجزایر (Benzohra *et al.,* 2011) و ترکیه (Turkkan and Dolar, 2009) مطابقت دارند.

جدول ۷- درجه آلودگی و واکنش ارقام و لاین‌های نخود نسبت به پاتوتیپ‌های *A. rabiei* بر اساس روش ردی و سینگ (Reddy and singh, 1990) و (Basandrai *et al*., 2005) در شرایط گلخانه‌ای

Table 7. Rating scale and responses of different cultivars and lines of chickpea against pathotypes of *A. rabiei* based Jan and wiese (1991) and Basandrai *et al.* (2005) method in greenhouse conditions

ارقام Cultivars	Pathotypes پاتوتیپ					
	I		1I		III	
	درجه آلودگی Rating scale	واکنش* Response*	درجه آلودگی Rating scale	واکنش Response	درجه آلودگی Rating scale	واکنش Response
Flip03-109	3	R	3	R	4	MR
Flip03-27c	7	S	9	HS	9	HS
Flip03-119c	3	R	5	MR	9	HS
Flip04-13c	5	HR	5	MR	9	HS
Flip04-10c	1	HR	3	R	8	HS
Flip2005-1c	9	HS	9	HS	9	HS
Flip2005-3c	9	HS	9	HS	9	HS
Flip2005-5c	9	HS	9	HS	9	HS
Flip2005-7c	9	HS	9	HS	9	HS
Flip51-87c	1	HR	3	R	9	HS
Flip06-152c	1	HR	3	HS	7	S
Flip07-197c	7	S	9	HS	9	HS
Flip05-182c	9	HS	9	HS	9	HS
Flip06-150c	9	HS	9	HS	5	HS
Flip07-222c	9	R	9	S	7	HS
Flip07-200c	3	R	7	S	9	HS
Flip06-1c	9	HS	9	HS	9	HS
Flip05-183c	5	MR	7	HS	7	HS
Flip07-212c	9	HS	8	HS	9	HS
Flip08-90c	3	HS	9	HS	9	HS
Flip07-77c	9	HS	9	HS	9	HS
Flip02-04c	9	HS	9	HS	9	HS
Flip07-198c	3	R	3	R	5	HS
Flip05-150c	7	S	7	S	7	S
Flip07-203c	3	R	3	R	7	S
LIC-588	8	HS	9	HS	9	HS
ICC-V2	9	HS	9	HS	9	HS
LIC-1799	9	HS	9	HS	9	HS
LIC-263	9	HS	9	HS	9	HS
LIC-533	9	HS	9	HS	9	HS
LIC-1929	9	HS	9	HS	9	HS
LIC-3397	9	HS	9	HS	9	HS
LIC-3279	9	HS	9	HS	9	HS
Hashem هاشم	3	R	6	S	9	HS
Kaka کاءکاء	4	MR	9	HS	9	HS
Jam جم	9	HS	9	HS	9	HS
Pirooz پیروز	9	HS	9	HS	9	HS
Azad آزاد	1	HR	3	R	5	MR
Arman آرمان	5	MR	5	MR	7	S
Adel عادل	3	R	3	R	4	MR
Bionij بیونیج	9	HS	9	HS	9	HS

*: HR:خیلی حساس ;R: مقاوم:MR; نیمه مقاوم :S ; حساس :HS; خیلی حساس

*: HR: Highly Resistant; R: Resistant; MR: Moderately Resistant; S: Susceptible; HS: Highly Susceptible

در تحقیقات انجام شده در ترکیه توسط تورکان و دولار (۲۰۰۹)، خصوصیات پاتوژنیک ۶۴ جدایه به‌دست آمده از پنج استان روی هفت رقم افتراقی نخود بررسی شد. در نتیجه شش نژاد فیزیولوژیک در سه پاتوتیپ گروه‌بندی شدند که به ترتیب ۳۸ جدایه معادل ۵۹/۴٪ به بیوتیپ I (نژادهای ۱، ۲ و۳) و۳ جدایه به بیوتیپII (نژاد ۴) وبقیه به بیوتیپ III (نژاد ۵ و ۶) تعلق داشت. بیوتیپ‌های ۱ و ۳ در تمام نواحی کشور دیده شد ولی بیوتیپ II فقط در نواحی دریای مدیترانه و سیاه مشاهده شد (Turkkan and Dolar, 2009). نتایج این تحقیق تا حدی با مطـالعات چن و همکاران (Chen *et al.,* 2004) مطابقت دارد. همچنین، همین محققین تخصیص نژاد ۶ به پاتوتیپ II و ۵ نژاد دیگر به پاتوتیپ I را گزارش کردند.

جدول ۸- فراوانی ژنوتیپ‌ها و ارقام نخود با واکنش‌های مختلف نسبت به پاتوتیپ‌های *A. rabiei*

Table 7. Genotypes frequency and chickpea cultivars along with responses to *A. rabiei* pathotypes races

واکنش به بیماری* Response to disease*	پاتوتیپ‌ها Pathotypes		
	I	II	III
Highly resistant	5	0	0
Resistant	8	7	0
Moderately resistant	4	3	3
Susceptible	3	4	4
Highly Susceptible	21	27	34

*: HR: خیلی مقاوم؛ R: مقاوم؛ MR: نیمه مقاوم؛ S: حساس؛ HS: خیلی حساس

*: HR: Highly Resistant; R: Resistant; MR: Moderately Resistant; S: Susceptible; HS: Highly Susceptible

آگاهی از تنوع ژنتیکی جمعیت بیمارگر می‌تواند منجر به درک نحوه سازگاری بیمارگر با تغییرات محیطی شده و همچنین بررسی تنوع ژنتیکی در جمعیت‌های بیمارگر گیاهی به منظور درک تکامل هم‌زمان میزبان بیمارگر در پاتوسیستم‌های گیاهی ضروری است (McDonald *et al.,* 1989).

در بررسی‌های گلخانه‌ای، لاین‌های پیشرفته Flip03-109 و ارقام عادل، آزاد و آرمان در مقابل پاتوتیپ III واکنش (MR) یا تحمل و در مقابل بقیه پاتوتیپ‌ها اغلب مقاوم یا واکنش خیلی مقاوم (HR) را نشان دادند. در صورتی‌که این ژنوتیپ‌ها از نظر عملکرد و سازگاری با مناطق کشت ایران مناسب باشند، می‌تواند به‌عنوان منابع مقاومت معرفی گردند. در این مطالعات حساسیت ارقام به پاتوتیپ‌ها بالغ بر ۷۵٪ و واکنش مقاومت و تحمل در مقابل پاتوتیپ‌ها ۲۵٪ درصد برآورد شده است. در حالی‌که مقاومت (HR) و (R) در ارقام مورد آزمایش مقابل پاتوتیپ III برابر با صفر بوده، به عبارتی هیچ رقم مقاومی در برابر این پاتوتیپ به‌دست نیامد. تنها ۷٪ ارقام در مقابل این نژاد واکنش (MR) را نشان دادند. نتایج این بررسی‌ها با تحقیقات ارزیابی مقاومت ارقام و ژنوتیپ‌های تخود مناطق دیم کشور در سال‌های ۱۳۸۲-۱۳۸۷ که سه رقم آرمان، آزاد و عادل به‌عنوان ارقام مقاوم یا متحمل به بیماری معرفی شدند تطبیق دارد. به‌طوری‌که سه رقم مذکور در تمام آزمایشات در برابر نژاد ۶ (معادل پاتوتیپ III)واکنش تحمل و درمقابل بقیه نژادها واکنش مقاومت نشان دادند (شهریاری و محمودی، ۱۳۹۰).

منابع Refrences

اخوت، م. ۱۳۷۵. مطالعه در مورد چند روش مبارزه علیه قارچ *Ascochyta rabiei* عامل برق‌زدگی نخود. مجله علوم کشاورزی ایران، ۴: ۱۲-۱.

پایمرد، ا.، شهریاری، د. و ترابی، م. ۱۳۹۳. تنوع بیماری‌زایی قارچ *Didymella rabiei* عامل بیماری برق‌زدگی نخود در استان کرمانشاه. گیاهپزشکی کاربردی ۲(۳): ۷۳-۸۵.

شهریاری، د. و ایزدیار، م. ۱۳۷۹. گروه‌های ویرولانس فرم *Ascochyta rabiei* روی نخود در ایران. خلاصه مقالات چهاردهمین کنگره گیاهپزشکی ایران. کرج. صفحه ۸۲.

شهریاری، د. و محمودی، ف.۱۳۹۰. ارزیابی مقاومت ارقام امیدبخش نخود نسبت به نژادهای *Ascochyta rabiei* گزارش نهایی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان تهران، ورامین. ۲۱صفحه.

غیائی، س.، رضوی، م. و شهریاری، د.۱۳۹۰، بررسی اختلافات بیماری‌زایی و مولکولی در تعدادی از جدایه‌های *Ascochyta rabiei* عامل بیماری برق‌زدگی نخود در ایران، آفات و بیماریهای گیاهی. ۷۹ (۲): ۲۱۸-۱۹۹.

یونسی، ح. ۱۳۷۵.بررسی آلودگی بذر نخود ایرانی(*Cicer arietinum* L.) به بیماری برق‌زدگی نخود در استان کرمانشاه. گزارش پژوهشی مرکز تحقیقات کشاورزی کرمانشاه، ۴۳ صفحه.

Ahmed, H., Chang, K., Hwang, S. and Howard, R. 2005. Surveillance of ascochyta blight of chickpea in southern Alberta in 2004. Canadian Journal of Plant Pathology 27: 4-8.

Basandrai, S. P., Kishore, G. K., 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.

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.

Benzohra, I. E., Bendahmane, B. S., Labdi, M. & Benkada, M. Y. 2011. Identification of Pathotypes and Physiological Races in *Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr., The Agent of Ascochyta Blight in Chickpea (*Cicer arietinum*) in Algeria. World Applied Sciences Journal 15: 978-984.

Butler, E. J. 1918. Fungi and Diseases in Plants. Thaker, Sprink and Co., Calcutta, India.

Chen, W., Coyne, C. J., Peever, T. L. and Muehlbaur, 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: 759-76.

Dhingra, O. D. and Sinclair, J. B. 1986. Basic plant pathology methods. Thirds Printing. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida, USA.

Gan, Y., Siddique, K., Macleod, W. and Jayakumar, P. 2006. Management options for minimizing the damage by ascochyta blight (*Ascochyta rabiei*) in chickpea (*Cicer arietinum* L.). Field Crops Research 97: 121-134.

Gowen, S. R., Orton, M., Thurely B. and White, A. 1989. Variation in pathogenicity of *Ascochyta rabiei* on chickpeas. Tropical Pest Management 35: 180-186.

Jan, H. and Wiese, M. W. 1991. Virulence forms of *Ascochyta rabiei* affecting chickpea in the Palouse. Plant Disease 75: 904-906.

Mabsoute, L., Meskine, M., Bouznad, Z. and Kharrat, M. 1996. Résultats des surveillances sur les maladies cryptogamiques des principales légumineuses alimentaires dans le Maghreb. Proceeding du symposium régional sur les maladies des céréales et des légumineuses alimentaires. pp. 43-50.

McDonald, B. A., McDermott, J. M., Goodwin, S. B. and Allard, R. W. 1989. The population biology of host-pathogen interactions. Annual Review of Phytopathology 27: 77-94.

Mmbaga, M. T. 1997.Pathogenic variability of *Ascochyta rabiei* and Ascochyta blight resistance in chickpea. Pp. 23-37. In: Udupa, S. M. and Weigand, F. (eds.) DNA Markers and Breeding for Resistance to Ascochyta blight in Chickpea. Proceedings of the Symposium on 'Application of DNA Fingerprinting for Crop Improvement: Marker Assisted Selection of Chickpea for Sustainable Agriculture in the Dry Areas. ICARDA, Aleppo, Syria.

Nene, Y. L. and Reddy, M. V. 1987. Chickpea diseases and their control. Pp. 233-270. In: Saxena, M. C. and K. B. Singh (eds.) The Chickpea. CAB International, Walligford, U.K.

Punithalingam, E. and Holliday, P. 1972. *Ascochyta rabiei.* Commonwealth Mycology Institute, Kew Surrey, England.

Reddy, M. and Singh, K. 1990. Management of *Ascochyta* blight of chickpea through integration of host plant tolerance and foliar spraying of chlorothalonil. Indian Journal of Plant Protection 18: 65-69.

Reddy, M. V. and Singh, K. B. 1984. Evaluation of a world collection of chickpea germ plasm accessions for resistance to Ascochyta blight. Plant Disease 68: 900-901.

Singh, G. 1990. Identification and designation of physiological races of *Ascochyta rabiei* in India. Indian Phytopathology 43: 48-52.

Singh, K. B. 1997. Experience with pyramiding of Ascochyta blight resistance genes in Kabuli chickpea. Pp. 121-126. In: Udupa, S. M. and Weigand, F. (eds.) Proceedings of the Symposium on Application of DNA Fingerprinting for Crop Improvement: Marker assisted selection of Chickpea for sustainable Agriculture in the Dry Areas. ICARDA, Aleppo, Syria.

Turkkan, M. and Dolar, F. S. 2009. Determination of pathogenic variability of *Didymella rabiei*, the agent of ascochyta blight of chickpea in Turkey. Turkish Journal Agriculture and Forestry. 33: 585-591.