------- مجلة علوم الرافدين، المجلد 17، العدد 11، خاص بعلوم الحياة، ص27-38، 2006 ------

تسجيل سلالة جديدة من الفطر *Ascochyta rabiei* على الحمص في محافظة نينوى

علي كريم الطائي

قسم وقاية النبات

كلية الزراعة والغابات

جامعة الموصل

(تاريخ الاستلام 2006/9/20 ، تاريخ القبول 2006/12/11)

الملخص

اظهرت نتائج المسح الحقلي في عدة مناطق من محافظة نينوى خلال شهري نيسان وايـــار 2002 الى انتشار مرض لفحة الاسكوكايتا على الحمص في جميع المناطق وتراوحـــت نســـبة الاصـــابة بـــين 10-75% بينما تراوحت درجة الاصابة 2-8 درجة على مقياس من 1-9 درجات. وان المرض يتسبب عن الفطر *Ascochyta rabiei* (Pass.)Labr. ومن خلال اختبار القدرة الامراضية ل 14 عزلـــة علـــى 13 صنفا من اصناف الحمص المفرقة اشارت النتائج الى ظهور خمس ســـلالات مـــن الفطـــر وهـــي أ و ب و جـــ ود وهـــ وكانت السلالة الاخيرة اشد ضراوة على اصناف الحمص المفرقة في حين كانت السلالة الاولى الاضعف. ويعد هذا تسجيل جديد للسلالة هـــ في العراق.

Record of New Race of *Ascochyta rabiei* on Chickpea in Ninevah Province

Ali K. Al-Taae

Department of Plant Protection

College of Agriculture and Forestry

Mosul University

ABSTRACT

Field survey carried out in certain regions of Ninevah province during April and May 2002, showed that the Ascochuta blight disease incidence ranged between 10-75%

while disease score range between 2-8 using 1-9 scale. Ascochyta blight of chickpea caused by *Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr., 14th isolates of *A. rabiei* collected in 2002 were inoculated onto 13th differential chickpea cultivars for pathogenicity testing, results indicated five races A, B, C, D and E. Race E was highly virulent while race A was the lowest, and this is first record of the E race in Iraq.

المقدمة

يصاب محصول الحمص *Cicer arietinum* L. بالعديد من الامراض الفطرية ويعد مرض لفحة الاسكوكايتا المتسبب عن الفطر *Ascochyta rabiei* (Pass.)Labr. احد اهم الامراض الخطرة جدا لهذا المحصول، وسجلت الاختلافات في القدرة الامراضية لعزلات الفطر *A. rabiei* في مناطق كثيرة من العالم، ففي الهند اشار Vir و Grewal (1974) الى وجود ستة سلالات من الفطر ،في حين اجرى Singh (1990) اختبارا على 13 عزلة من الفطر وعلى 12 صنفا مفرقا من الحمص وبين ان هذه العزلات تنتمي الى 12 سلالة مختلفة .بينما سجل Singh و Pal (1993) خمس سلالات من خلال اختبار 11 عزلة على سبعة اصناف مفرقة، ووجد Ambardar و Singh (1996) انه من خلال غربلة 76 عزلة من الفطر على 12 صنفا مفرقا من الحمص انها تنتمي الى عشرة سلالات مختلفة. وسجلت في سوريا ولبنان ستة سلالات من الفطر (Reddy and Kabbabeh, 1985). في حين اشار Udupa و Weigand (1997) الى وجود ثلاث سلالات من خلال اختبار 53 عزلة من الفطر باستخدام 9 اصناف مفرقة. وسجلت في ايطاليا ثلاث سلالات من خلال اختبار 41 عزلة على 13 صنف من اصناف الحمص المفرقة (Porta-Puglia et al., 1996) بينما سجل Navas-Cortes وآخرون (1998) احدى عشرة سلالة من خلال غربلة 41 عزلة من الفطر *A. rabiei* وحديثا اشار Chongo وآخرون (2004) الى وجود 14 سلالة من خلال اجراء العدوى الاصطناعية لـ40 عزلة من الفطر على 8 اصناف حمص مفرقة. ونظرا لانتشار مرض لفحة الاسكوكايتا في محافظة نينوى واصابة الصنف دجلة والذي يعد من الاصناف المقاومة لسلالات الفطر الاربعة المسجلة في العراق (الطائي، 1997) يهدف البحث القيام بمسح حقلي لغرض اجراء عزل الفطر من مناطق مختلفة واختبار قدرته الامراضية للتعرف فيما اذا كانت هناك سلالة تختلف عن السلالات المسجلة او ان الصنف دجلة فقد مقاومته للسلالات السابقة.

المواد وطرائق البحث

المسح الحقلي:

تم اجراء مسح حقلي لتقدير النسب المئوية للاصابة ودرجة الاصابة بمرض لفحة الاسكوكايتا في حقول الحمص بمحافظة نينوى خلال شهري نيسان وايار 2002 في كل من الحمدانية والرشيدية وربيعة وكرمليس والشيخان. تم تحديد خمسة حقول في كل منطقة لغرض المسح الحقلي وتم تاشير مائة نبات في كل حقل بشكل عشوائي وتم حساب عدد النباتات المصابة والسليمة الواقعة على قطرين متعامدين في كل حقل واستخرجت النسبة المئوية للاصابة وتقدير درجة الاصابة في كل حقل على النباتات المؤشرة حسب مقياس(Reddy et al.,1984) المؤلف من 9 درجات. وتم حساب متوسط النسبة المئوية للاصابة ودرجة الاصابة في كل منطقة.

العزل وتشخيص المسبب المرضي:

تم العزل من نباتات الحمص المصابة بمرض لفحة الاسكوكايتا والتي سبق جمعها من الحقول التي اجري فيها المسح الحقلي حيث اخذت قطع من الاجزاء المصابة بطول 0.5 سم وغمرت في محلول 1% هايبوكلورايت الصوديوم لمدة دقيقة واحدة، غسلت القطع بماء مقطر ومعقم وذلك لازالة الكمية الزائدة من محلول هايبوكلورايت الصوديوم وضعت كل قطعة معقمة سطحيا من الاجزاء المصابة والتي تظهر عليها البكنيدات في انبوبة اختبار معقمة حاوية على 5 مل ماء مقطر ومعقم لمدة ساعة لغرض انطلاق الابواغ من البكنيدات، وبعد الحصول على معلق ابواغ الفطر تم عمل تخطيط بوساطة قضيب زجاجي مستدق النهاية ومعقم على شرائح زجاجية معقمة عليها طبقة رقيقة من وسط الاجار والماء وباتجاه واحد لغرض الحصول على بوغ مفرد وكل شريحة داخل طبق بتري معقم فيه قطعة من القطن الطبي المعقم المبلل بالماء المقطر والمعقم لغرض توفير الرطوبة اللازمة لانبات الابواغ. حضنت الاطباق الحاوية على الشرائح على درجة 20 ±2 سيليزية لمدة 24 ساعة وفحصت الشرائح تحت المجهر وتم قطع جزء من الاجارالحاوي على البوغ المفرد مع انبوبة انبات الابواغ ونقل الى طبق بتري حاوي على وسط الاجاروالدكستروز ودقيق الحمص Chickpea Seed Meal Dextrose Agar (CSMDA) المتخصص لتنمية الفطر *A. rabiei* والمكون من 40 غم دقيق الحمص و20غم دكستروز و18غم اجار(10) والمضاف اليه المضاد الحيوي سلفات الستربتومايسين بتركيز 250 جزء بالمليون وذلك لمنع النمو البكتيري. حضنت الاطباق على درجة 20 ±2 سيليزية لمدة اسبوعين وبعدها تم فحص وتشخيص

الفطر حسب المفتاح التصنيفي المعد من قبل Punithalingam و Holliday (1972) تم استخدام هذه الطريقة لغرض تحديد العزلات لكل منطقة.

سلالات الفطر الفسيولوجية:

تم الحصول على عزلات الفطر من المناطق المختلفة التي اجري فيها المسح الحقلي اعتمادا على الصفات المظهرية للفطر وتكوين الكونيدات، اضافة الى اربعة سلالات مسجلة في القطر سابقا وهي أ ب ج د (الطائي، 1997) نميت العزلات على وسط دقيق الحمص والدكستروز في دوارق زجاجية معقمة سعة 250 مل تحتوي على 100مل من الوسط، حضر معلق بوغي من كل عزلة بتركيز 610 بوغ /مل وتم ضبط التركيز باستخدام شريحة العد Haemocytometer وتم اختبار قدرة كل عزلة على اصابة اصناف الحمص المفرقة (رافدين ودجلة وابـاء 505 و509 و510 وILC 202 و482 و2506 و3279 و3855 و3996 وPech15 والمحلي) المزروعة في احواض بلاستيكية (فطر 1م وبعمق 25سم) وبمعدل 10 بذور لكل صنف غطيت الاحواض باغطية من البولي اثيلين بارتفاع 1 م وتم احكام غلق الغطاء على الاحواض منعا من تداخل العزلات، وبعد عشرة ايام من الانبات تم رش البادرات بالمعلق البوغي لكل عزلة على انفراد وبتركيز 610 بوغ /مل باستخدام مرشة يدوية سعة 1 لتر وتم الرش حتى البلل التام، تم حساب درجة الاصابة بعد 21 يوما من اجراء العدوى الاصطناعية على مقياس (Porta-Puglia et al,1996) والمعدل من قبل الطائي (1997) وكما يلي صفر= لا توجد اصابة، 1= اصابة بسيطة على الاوراق والافرع، 2= بقع على الافرع والاوراق بطول 5 ملم مع عدم وجود تحليق في الافرع، 3= بقع على الافرع والاوراق بطول 5 ملم مع تحليق للافرع وكسر احد الافرع، 4= تحليق للافرع وكسر اكثر من فرع، 5= موت كامل للنبات وعدت النباتات المصابة بدرجة 1- 2.5 مقاومة ومن 2.6- 5 حساسة. وقد تم تحليل النتائج باعتبار قيم صفرقيما معبرة عن الصنف المقاوم وواحد للصنف الحساس لغرض ادخالها في الحاسوب وتم اتباع طريقة جاكارد في تحليل التشابه الوراثي بين العزلات باستخدام برنامج:

(Unweighted Pair Group Method with Arithmatic mean (UPGMA) Rohlf,1994)

النتائج والمناقشة

المسح الحقلي:

اظهرت نتائج المسح الحقلي الذي اجري في حقول الحمص بمحافظة نينوى خلال شهري نيسان وايار 2002 الى انتشار المرض في جميع المناطق الممسوحة وظهرت الاعراض على مجمل المجموع الخضري حيث ظهرت الاعراض على الوريقات بشكل بقع دائرية او متطاولة بنية اللون محاطة بهالة صفراء محمرة ثم لوحظت الاجسام الثمرية اللاجنسية (البكنيدات) للفطر المسبب بتقدم الاصابة. ثم ظهرت على الافرع بقع بنية متطاولة ابعادها 3-6 ملم لوحظت فيها البكنيدات وبتقدم الاصابة حصل تحليق كامل للفرع المصاب مما يؤدي الى موت الجزء الواقع فوقه واذا ظهرت هذه البقع على الساق الرئيسي للنبات تسبب لفحة للنبات باكمله ومن الجدول (1) يتضح ان اعلى نسبة ودرجة اصابة كانت في منطقة الحمدانية خلال شهري نيسان وايار 60% و5 و 80% و 8 على التوالي في حين كانت اقل نسبة ودرجة اصابة في الشيخان وهي 10% و 2 و 30% و 4 على التوالي ومن الجدول (1) يتضح ازدياد نسبة ودرجة الاصابة في جميع الحقول الممسوحة خلال شهر ايار ويرجع سبب انخفاض نسبة ودرجة الاصابة في الشيخان الى زراعة الحمص في وقت متاخر وهو بداية شهر اذار اما بقية المناطق فيرجع ارتفاع الاصابة الى الزراعة المبكرة للحمص حيث يزرع في شهر كانون الاول مما يتيح فرصة اكبر لتعرض النباتات للاصابة.

الجدول1: النسبة المئوية ودرجة الاصابة بمرض لفحة الاسكوكايتا على الحمص في خمسة مناطق بمحافظة نينوى خلال شهري نيسان وايار 2002.

المناطق	نيسان		ايار	
	%للاصابة	درجة الاصابة*	%للاصابة	درجة الاصابة
الحمدانية	60	5	80	8
الرشيدية	30	4	55	7
ربيعة	50	5	75	8
كرمليس	40	4	60	7
الشيخان	10	2	30	4

*تم تقدير درجة الاصابة على مقياس 1-9 درجات

العزل وتشخيص المسبب المرضي:

اظهر العزل من النباتات المصابة عن ظهور الفطر *A. rabiei* لوحده في العينات التي جمعت من مناطق العزل وكانت المستعمرات النامية بيضاء اللون في اول الامر سرعان ما تحولت الى اللون البني المسود وتكونت فيه البكنيدات وبدون انتظام بشكل اجسام سوداء. وظهرت البكنيدات الفحص المجهري كروية تقريبا وبلون بني لامع الى مصفر وذات فتحة واضحة (Ostiole) وتراوح متوسط قطري البكنيدات من 165–195 ميكرون وتم ملاحظة ظهور الابواغ البكنيدية بشكل محاليق من فتحات البكنيدات والابواغ البكنيدية شفافة مستطيلة الى بيضاوية منحنية قليلا في احدى نهايتيها او كلتاهما احيانا وكانت معظمها احادية الخلية ونادرا ما كانت ثنائية الخلية وتراوح طول البوغ البكنيدي بين 6.2–13.3 ميكرون وعرضه 3.6– 5.1 ميكرون وهذه المواصفات مطابقة لمواصفات الفطر *A. rabiei* الموضوعة من قبل Kovachevski (1936) و Punithalingam و Holliday (1972) وتم الحصول على عشر عزلات من المناطق المختلفة استنادا الى الشكل المظهري وتركيز البكنيدات على الوسط الغذائي ومدى تشابهها مع السلالات الاربعة المسجلة في العراق.

سلالات الفطر الفسيولوجية:

اظهرت النتائج المبينة في الجدول (2) الى اختلاف القدرة الامراضية للعزلات المختلفة وكانت العزلات 7، 9، 10، 11، 12، 13 و14 اشد العزلات اصابة لاصناف الحمص المفرقة وان العزلات الثلاثة 11، 13 و14 كانت اكثر العزلات امراضية لمعظم الاصناف المفرقة وان اكثر الاصناف المفرقة كانت حساسة لهذه العزلات باستثناء الاصناف اباء 505 و510 وILC202 في حين كانت العزلات 1، 5 و8 اضعفها وكانت معظم الاصناف المفرقة مقاومة لهذه العزلات ومن الجدول (2) يتضح ان الاصناف اباء 505، 510 و ILC202 من الاصناف المقاومة لجميع العزلات وجاءت بالمرتبة الثانية الصنفين دجلة و ILC3279 ويلاحظ ان الصنف دجلة لا يزال يحتفظ بمقاومته لمعظم العزلات وخاصة السلالات الاربعة المسجلة في العراق والمتمثلة بالعزلات 1، 2، 3 و4 في حين كان الصنف المحلي من اكثر الاصناف حساسية ولجميع العزلات.

الجدول 2 : استجابة اصناف الحمص المفرقة للاصابة بعزلات الفطر *Ascochyta rabiei*.

رقم العزلة	رافدين	دجلة	اباء 505	اباء 509	اباء 510	ILC 202	ILC 482	ILC 2506	ILC 3279	ILC 3855	ILC 3996	Pech 15	محلي
1	م	م	م	م	م	م	م	م	م	م	م	م	ح
2	م	م	م	م	م	م	م	م	م	ح	ح	ح	ح
3	ح	م	م	ح	م	م	ح	م	م	م	ح	ح	ح
4	ح	م	م	ح	م	م	ح	ح	م	م	م	ح	ح
5	م	م	م	م	م	م	م	م	م	م	م	م	ح
6	م	م	م	م	م	م	م	م	م	ح	ح	ح	ح
7	ح	م	م	ح	م	م	ح	ح	م	م	م	ح	ح
8	م	م	م	م	م	م	م	م	م	م	م	م	ح
9	ح	م	م	ح	م	م	ح	م	م	م	ح	ح	ح
10	ح	ح	م	ح	م	م	ح	ح	م	م	م	ح	ح
11	ح	ح	م	ح	م	م	ح	ح	ح	ح	ح	ح	ح
12	ح	م	م	ح	م	م	ح	م	م	م	ح	ح	ح
13	ح	ح	م	ح	م	م	ح	ح	ح	ح	ح	ح	ح
14	ح	ح	م	ح	م	م	ح	ح	ح	ح	ح	ح	ح

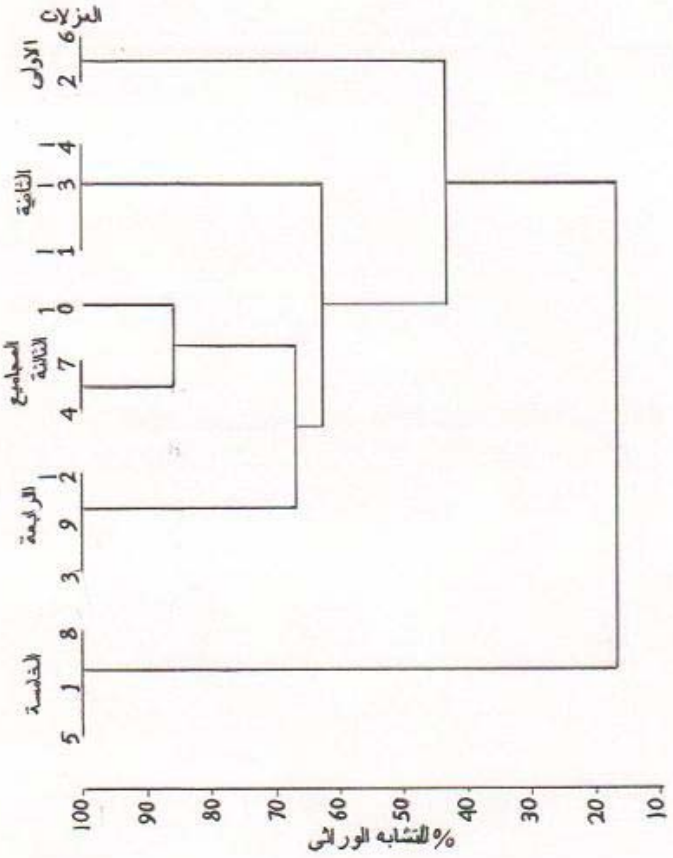
- درجة الاصابة من 1–2.5 مقاوم (م) ومن 2.6 –5 حساس (ح)

وبالاعتماد على القدرة الامراضية لهذه العزلات تم عمل شجرة التبـــاين الـــوراثي Dendrogram التي تقوم بتجميع العزلات الى مجاميع بناءا على مدى التباين الوراثي فيما بينها فقد اعطت نتائج التحليل الوراثي خمسة مجموعات (الشكل 1) المجموعة الاولى ضمت العزلتين 2 و 6 والمجموعة الثانية ضمت العزلات 11، 13 و14 اما المجموعة الثالثة فشملت العزلات 4، 7 و10 والمجموعة الرابعـــة ضـــمت العزلات 3، 9 و12 بينما شملت المجموعة الخامسة العزلات 1، 5 و8 ومن الشـــكل يلاحـــظ ان نســـبة التشابه الوراثي بلغت من 20% الى 100% وكانت 63% بين المجموعة الثانية وكل من المجمـــوعتين الثالثة والرابعة و 69% بين المجموعة الثالثة والرابعة ومن النتائج اعلاه يمكن القول عن وجود خمســـة سلالات للفطر والموضحة في الجدول (3) وهي أ ب ج د هـــ وان السلالة الاخيرة هي اشـــد الســـلالات ضراوة في اصابة الاصناف المفرقة وتعد هذه السلالة جديدة وتسجل لاول مرة في محافظة نينوى تضاف الى السلالات الاربعة المسجلة في العراق من قبل الطائي (1997) وقد توزعت السلالات الاربعـــة فـــي اربعة مجاميع مختلفة في الشجرة الوراثية مما يؤكد انها سلالات مختلفة وان السلالة الخامسة كانت فـــي مجموعة تختلف عن السلالات السابقة ومما سبق يتضح وجود اختلافات في القدرة الامراضية لعـــزلات الفطر للمناطق المختلفة نظرا لاختلاف استجابة.

الجدول 3 : السلالات الخمسة للفطر *Ascochyta rabiei* واستجابة اصناف الحمص المفرقة لها.

السلالة	رافدين اباء509 ILC482	اباء 505 اباء510 ILC 202	ILC 2506	دجلة ILC3279	ILC 3855	ILC 3996	Pech 15	محلي
أ	م	م	م	م	م	م	م	ح
ب	م	م	م	م	ح	ح	ح	ح
ج	ح	م	م	م	م	ح	ح	ح
د	ح	م	ح	م	م	م	ح	ح
هـ	ح	م	م	ح	ح	ح	ح	ح

درجة الاصابة من 1–2.5 مقاوم (م) ومن 2.6 –5 حساس (ح)



الشكل1: الشجرة الوراثية لعزلات الفطر *Ascochyta rabiei* في محافظة نينوى باستخدام برنامج UPGMA يبين فيها المجاميع المختلفة لهذه العزلات اعتمادا على التشابه الوراثي.

الاصناف المفرقة من الحمص لهذه العزلات فهذا يوكد وجود سلالات فسيولوجية ويتفق مع ما ذكره كل من Chongo وآخرون (2004)، Hamza وآخرون (2000)، Hussain وMalik (1991)، Porta-Puglia وآخرون (1996) و Vail (1996)، ويرجع سبب ظهور السلالات الجديدة الى زراعة اصناف عديدة من الحمص وخاصة في منطقتي الرشيدية وربيعة نظرا لزراعة العديد من الاصناف في هاتين المنطقتين والتي ترد اليها من مناطق مختلفة وربما تكون البذور حاملة للمسبب المرضي او ربما يرجع السبب الى التكاثر الجنسي للفطر وظهور السلالات الجديدة.

المصادر العربية

الطائي، علي كريم، 1997. لفحة الاسكوكايتا على الحمص في محافظة نينوى. اطروحة دكتوراة، كلية الزراعة والغابات، جامعة الموصل، العراق.

المصادر الاجنبية

Ambardar, V.K. and Singh, S.K., 1996. Identification and Elucidation of *Ascochyta rabiei* Isolates of Chickpea in Jammu. Indian J. Plant Pathology. Vol. 26, pp.4-8.

Chongo, G., Gossen, B.D., Buchwaldt, L., Adhikari, T. and Rimmer, S.R., 2004. Genetic Diversity of *Ascochyta rabiei* in Canada. Plant Disease. Vol. 8, No. 1, pp.4-10.

Hamza, S., Samir, S., Rebai, A., Salah, R., Kahl, G. and Moncef, H., 2000. Pathotype Variation of the Representative Genotypes of *Ascochyta rabiei* in the Beja Region. J. Plant Pathology. Vol. 82, pp.23-28.

Hussain, S. and Malik, B.A., 1991. Pathogenic Variability in *Ascochyta rabiei* in Pakistan. International Chickpea Newsletter. Vol. 24, pp.36-37.

Kovachevski, I.C., 1936. The Blight of Chick Pea, *Mycosphaerella rabiei*. Rev. Appl, Mycol., Vol. 15, pp.700-702.

Navas-Cortés, J.A., Pérez-Artés, E., Jiménez-Diaz, R.M., Llobell, A., Brainbridge, B.W., and Heale, J.B., 1998. Mating Type, Pathotype, and RAPDs Analysis in *Didymella rabiei*, the Agent of Ascochyta Blight of Chickpea. Phytoparasitica. Vol. 26, pp.199-212.

Porta-Puglia, A., Crino, P. and Mosconi, C., 1996. Variability in Virulence to Chickpea of An Italian Population of *Ascochyta rabiei*. Plant Disease. Vol. 80, pp.39-41.

Punithalingam, E. and Holliday, P., 1972. Descreption of Pathogenic Fungi and Bacteria, No337 *Ascochyta rabiei*. in Commonwealth Mycological Institute, Kew, UK.

Reddy, M.V., 1986. Laboratory Techniques for Isolation of *Ascochyta rabiei*. Pages: 103-104 in: Ascochyta Blight Resistance in Chickpea. (ICARDA). Proceeding of Training Course, PARC/ICARDA, 3-10 Mar. 1984, Islamabad, Pakistan, ICARDA, Aleppo, Syria.

Reddy, M.V., Singh, K.B. and Nene, Y.L., 1984. Screening Techniques for Ascochyta Blight of Chickpea .Pages: 45-54 in: Ascochyta Blight of Chickpea. (M.C.Saxena and K.B. Singh, eds.). Martinus Nijhoff/ Dr. W.Junk Publisher, The Hague, Netherland.

Reddy, M.V. and Kabbabeh, S., 1985. Pathogenic Variability in *Ascochyta rabiei* (Pass.) Lab. In Syria and Lebanon. Phytopath. Medit., Vol. 24, pp.265-266.

Rohlf, F.J., 1994. NTSYS-pc, Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System, v. 1.8. Exeter Software, New York.

Singh, G., 1990. Identification and Designation of Physiologic Races of *Ascochyta rabiei* in India. Indian Phytopathol., Vol. 43, pp.48-52.

Singh, R. and Pal, M., 1993. Pathogenic Variability in *Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr. Causing Chickpea Blight. Indian J. of Mycol. and Pl. Path., Vol. 23, pp.51-57.

Udupa, S.M. and Weigand, F., 1997. Pathotyping of *Ascochyta rabiei* Isolates of Syria. In: 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. Udupa, S.M. and Weigand, F (eds). Aleppo, Syria: ICARDA, 39-48.

Vail, S.L., 2005. Population Studies of *Ascochyta rabiei* on Chickpea in Saskatchewan .M.Sc. thesis. Department of Plant Sciences, Univ. of Saskatchewan. Canada.

Vir, S. and Grewal, J.S., 1974. Physiological Specialization in *Ascochyta rabiei*, the Causal Organism of Gram Blight. Indian Phytopathology, Vol. 27, pp.265-266.