

Investigating the Pathogenicity of *Pythium* spp. in Wheat, Corn and Sugar Beet

Kiyani Bahramabadi ^{1*}, T., Minassian², V., Mousavi Jorf³, S. A. and Dehghanpour Farashah⁴, S.

Received Date: 15 September 2023

Accepted Date: 31 December 2023

(Research Article)

Abstract

In order to investigate the effect of various *Pythium* sp. pseudo-fungi species in causing seed rot and seedling death, 20 isolates of 8 *Pythium* species including *Pythium* Group G, *P. aphanidermatum*, *P. deliense*, *P. ultimum*, *Pythium* Group F, *P. inflatum*, *P. ostracodes* and *P. diclinum*, collected from different regions of Iran, were studied on three plants including wheat, corn and sugar beet. Pathogenicity tests were conducted on various culture media including CMA, WA and vermiculite mixed with fungus at two ratios of 5 to 1 and 10 to 1. The highest amount of seed rot in sugar beet was caused by *P. aphanidermatum* (80%) (in vermiculite culture medium at the ratio of 5 to 1) and in corn and wheat in the WA culture medium at a rate of 30% by *P. ostracodes*. The highest amount of seed rot in corn was observed by *P. aphanidermatum* in the CMA culture medium (48%). The phenomenon of plant death due to *Pythium* was observed in wheat and sugar beet in vermiculite media containing inoculum. Thus, the highest severity of seedling death in wheat was caused by *P. deliense* in the vermiculite medium at the ratio of 5 to 1 and the highest rate of seedling death in sugar beet was observed in *P. deliense* and *P. ultimum* in the media containing vermiculite at ratios of 5 to 1 and 10 to 1, respectively, at a rate of 60%. Finally, no seedling death was observed in corn.

Keywords: *Pythium*, Seed rot, Collar and root rot, Seedling death

1. Master of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

2 and 3. Professor and Associate Professor, Respectively, Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

4. Assistant Professor, Department of Agriculture, Payame Noor University, Tehran, Iran

✉: Corresponding author Email: kiyani1386@yahoo.com

بررسی کارایی آفت کش زیستی چندجزئی به همراه نانوذرات کلسیم در کنترل آفت شب پره هندی

Investigating the Pathogenicity of *Pythium* spp. in Wheat, Corn and Sugar Beet

طیبه کیانی بهرام آبادی^{۱*}، واهه میناسیان^۲، سیدعلی موسوی جرف^۳ و سعیده دهقانپور فراشاه^۴

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۰/۱۰

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۶/۲۴

(مقاله پژوهشی)

چکیده

به منظور بررسی اثر گونه های مختلف شبه قارچ *Pythium* sp. در ایجاد پوسیدگی بذر و مرگ گیاهچه، ۲۰ جدایه از ۸ گونه پی تیوم شامل گونه های *P. inflatum* *Pythium* Group F *P. ultimum* *P. deliense* *P. aphanidermatum* *Pythium* Group G *P. diclinum* و *ostracodes* که از نواحی مختلف ایران جمع آوری شده بودند، بر روی سه گیاه زراعی گندم، ذرت و چغندر قند مورد بررسی قرار گرفتند. بدین منظور آزمون های بیماری زایی در محیط کشت های مختلفی از جمله WA، CMA و ورمی کولیت آمیخته با قارچ با دو نسبت ۱/۵ انجام شد. بیش ترین میزان پوسیدگی در بذر چغندر قند توسط *P. aphanidermatum* (۸۰ درصد) (در محیط کشت دارای ورمی کولایت ۱/۵) و در ذرت و گندم در محیط کشت WA به میزان ۳۰ درصد توسط *P. ostracodes* و بیش ترین پوسیدگی بذر در ذرت توسط *P. aphanidermatum* در محیط کشت CMA (۴۸ درصد) مشاهده گردید. پدیده مرگ گیاهچه توسط پی تیوم در گندم و چغندر قند در محیط های ورمی کولایت حاوی اینوکولوم مشاهده شد. بدین ترتیب که بیش ترین شدت مرگ گیاهچه در گندم توسط گونه *P. deliense* در محیط دارای ورمی کولایت ۱/۵ و بیش ترین میزان مرگ گیاهچه در چغندر قند در گونه های *P. deliense* و *P. ultimum* به ترتیب در محیط حاوی ورمی کولایت ۱/۵ و ۱/۱۰ به میزان ۶۰ درصد مشاهده گردید. و در نهایت در گیاه ذرت مرگ گیاهچه ای مشاهده نشد.

واژه های کلیدی: ایران، شبه قارچ، پی تیوم، گیاهان زراعی، شدت بیماری زایی

۱. کارشناس ارشد بیماری شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
 ۲ و ۳. به ترتیب استاد و دانشیار، گروه بیماری شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
 ۴. استادیار گروه کشاورزی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران
 *: نویسنده مسؤول
 Email: kiyani1386@yahoo.com

مقدمه

چغندر قند (*Beta vulgaris* L.) دومین محصول مهم قندی پس از نیشکر به‌شمار می‌آید. این محصول سالیانه در حدود ۴۸ درصد از تولید کل شکر را در سراسر جهان تأمین می‌کند (Kumar & Brooks, 2018). بیشتر ارقام چغندر قند با شرایط آب‌وهوایی مختلف سازگاری دارند (Thiruvengadam *et al.*, 2024). سطح زیر کشت این محصول در کشور، در حدود ۱۰۹۴۴۸ هکتار است. در این میان استان‌های خراسان رضوی، فارس، آذربایجان غربی و خوزستان در تولید این محصول پیش‌تاز هستند (Mirmiran *et al.*, 2020). افزایش مقرون به‌صرفه سطح زیر کشت چغندر قند و تولید شکر، هدف مهم ملی برای به حداقل رساندن خلاء بین تولید، واردات و مصرف شکر در کشور است. چغندر قند قابلیت کاشت در خاک‌های شور، قلیایی و آهکی را داشته و توانایی تولید ریشه و عملکرد بالا در شرایط کم‌آبی از مزیت‌های مهم این محصول نسبت به نیشکر است (Hamedi & Honarvar, 2019).

ذرت نیز یکی از غلات مهم صنعتی در ایران و یکی از پرکشت‌ترین غلات در دنیا به‌خصوص در کشورهای اروپایی و آمریکایی به‌شمار می‌آید. این محصول کلیدی در تغذیه بسیاری از مردمان جهان، علوفه دام و تغذیه ماکیان نقش مهمی دارد. با توجه به آمار و ارقام منتشر شده در سال‌های اخیر، نیاز به واردات ذرت در کشور حدود ۲/۵ میلیون تن در سال است. به این لحاظ لزوم برنامه‌ریزی بلندمدت و منسجم با هدف تولید و خودکفایی در تولید این محصول غیرقابل انکار خواهد بود (Sadeghi *et al.*, 2018).

سومین محصول مهم و راهبردی مورد مطالعه در این پژوهش گندم می‌باشد. حدود ۶۰ درصد سطح مزارع جهان را غلات تشکیل می‌دهد که از این مقدار ۳۳ درصد به کشت گندم اختصاص دارد. گندم اصلی‌ترین منبع کالری و پروتئین برای انسان به‌شمار می‌آید. از ویژگی مهم این گیاه، قابلیت کشت آن در شرایط متنوع آب و هوایی است. در دنیای امروز، گندم نه تنها یک ماده غذایی اساسی و مهم محسوب می‌گردد، بلکه از بعد سیاسی نیز اهمیتی هم‌پایه نفت و حتی بالاتر از آن دارد. پیش‌بینی می‌گردد که با آهنگ رشد صعودی فعلی جمعیت، جمعیت کشور در سال ۱۴۲۰ به ۱۵۰ میلیون نفر برسد. همچنین، مصرف سرانه گندم در ایران ۱۹۵ کیلوگرم در سال و مصرف سرانه انسانی گندم در جهان ۶۸ کیلوگرم گزارش شده است. بنابراین سرانه انسانی گندم در ایران، در حدود ۳/۵ برابر مصارف جهانی می‌باشد (Golfam *et al.*, 2021).

عوامل بیماری‌زای قارچی متعددی در رابطه با پوسیدگی ریشه گندم، ذرت و چغندر قند جداسازی و شناسایی شده‌اند. یکی از عوامل بیمارگر مهم شبه‌قارچ‌های جنس پی‌تیوم (*Pythium* spp.) می‌باشند. این گروه از عوامل بیمارگر گیاهی جزء کپک‌های آبی طبقه‌بندی می‌شوند. گونه‌های این جنس دارای پراکنش وسیعی بوده و در اغلب آشیانه‌های بوم‌شناختی مختلف شامل آب‌های شیرین خشکی و مناطق مرطوب که بیشتر شامل گونه‌های بیمارگر گیاهی محسوب می‌شوند. به‌عنوان مثال *P. aphanidermatum* و برخی گونه‌ها در آب‌های دریاها حضور دارند و برخی مانند جنس *P. insidiosum* از بیمارگرهای مهم حیوانی می‌باشند (Martin & Loper, 1999). اغلب گونه‌های بیمارگر این شبه‌قارچ گیاهی دارای دامنه میزبانی وسیع هستند. به‌عنوان مثال *P. ultimum* دارای حدود ۷۵۰ میزبان از گونه‌های متنوع گیاهی است (Bickel & Koehler, 2021). هرچند برخی گونه‌ها نیز دامنه‌ی میزبانی محدودی دارند. برای مثال *P. graminicola* که روی خانواده گندمیان فعالیت می‌کند (Legrifi *et al.*, 2024). گونه‌های پی‌تیوم به‌عنوان کلونیزه‌کننده‌های نیمه‌انگل نیز مطرح هستند که به ریشه‌های جوان گیاهان و بذرها در حال جوانه‌زنی حمله کرده و سبب گیاهچه‌میری پیش و پس رویشی از طریق حمله به جنین هیپوکوتیل و ریشه می‌گردند. گونه‌های پی‌تیوم می‌توانند سبب کاهش در پایایی گیاه در مزرعه و آسیب‌های اصلی و عمده در صنعت تولید نشاء گلخانه‌ای گردند. در گیاهان بالغ کاهش در زیست‌توده‌ی ریشه‌های اصلی و مؤثرین منجر به کوتولگی و نشانه‌هایی مشابه با کمبود مواد غذایی در بخش‌های فوقانی گیاه ایجاد کرده و در نهایت منجر به افت تولید اقتصادی محصول می‌گردند. در درختان میوه گونه‌های پی‌تیوم در زوال تدریجی درختان به‌خصوص نهال‌ها در خاک‌های آلوده نقش دارند (Bickel & Koehler, 2021).

تاکنون برخی گزارشات از ردیابی و جداسازی گونه‌های متنوع پی‌تیوم از ایران روی برخی از محصولات مورد بررسی در این پژوهش صورت پذیرفته است. *P. aphanidermatum* به‌عنوان عامل پوسیدگی ریشه چغندر قند از اصفهان تهران، خراسان، فارس و کرمان گزارش شده است (Baradaran & Aminae, 2011). افضلی و بنی‌هاشمی *P. deliense* را به‌عنوان عامل پوسیدگی ریشه چغندر قند برای اولین بار از ایران گزارش کردند (Afzali & Banihashemi, 2000). زمانی نور در سال ۱۳۸۳، ۸ گونه پی‌تیوم را از مزارع چغندرکاری استان خوزستان جداسازی و شناسایی نمود که شامل: *P. aphanidermatum*، *P. P. oligandrum*، *P. okanogannese*، *P. deliense*

در چغندر قند، پوسیدگی ریشه، سوختگی گیاهچه، پوسیدگی بذر، مرگ گیاهچه و پوسیدگی طوقه در ذرت و گندم می‌باشد. علی‌رغم سطح زیرکشت وسیع این سه محصول در استان خوزستان اطلاعات دقیقی در مورد اهمیت این بیمارگرها و نقش آن در ایجاد خسارت در گیاهانی که در تناوب با هم کشت می‌گردند در دسترس نیست (Mostowfzadeh-Ghalamfarsa & Banihashemi, 2005). این تحقیق به منظور بررسی اثر گونه‌های مختلف شبه‌قارچ‌های پی‌تیوم مذکور بر روی مرگ گیاهچه و پوسیدگی بذر بر روی سه گیاه گندم، ذرت و چغندر قند صورت پذیرفت.

مواد و روش‌ها جدایه‌ها و گونه‌ها

به‌منظور بررسی اهمیت بیماری‌زایی گونه‌های متعدد پی‌تیوم بر روی گندم، ذرت و چغندر قند، ۸ گونه پی‌تیوم که از مناطق مختلف ایران جداسازی شده بودند (Mostowfzadeh-Ghalamfarsa & Banihashemi 2005; Mostowfzadeh-Ghalamfarsa, 2015) مورد بررسی قرار گرفتند. ایزوله‌های *P. inflatum* (K117)، *P. diclinum* (N143)، *delinense* (A5)، *P. ostracodes* (B11) از *P. ultimum* و *Pythium Group F*، *aphanidermatum* و *Pythium Group* برای بررسی بیشتر پی.سی.آر و سپس توالی‌یابی شدند.

خالص‌سازی و نگهداری از نمونه‌ها

برای اطمینان از خالص بودن جدایه‌های پی‌تیوم، این جدایه‌ها ابتدا روی محیط PARP (Pimaricin + Ampicillin + Rifampicin + Pentachloronitrobenzene [PCNB] Agar) کشت داده شدند. جدایه‌های خالص شده در پتری‌دیش‌ها و لوله‌های حاوی محیط کشت CMA (Corn Meal Glucose Agar) و (Water Agar) WA و شیشه‌های کوچک حاوی آب مقطر استریل در دمای ۲۰ درجه‌ی سلسیوس نگهداری شدند (Singleton, 2002).

محیط‌کشت‌های مورد نیاز

محیط‌کشت WA

۲۰ گرم آگار را با ۱ لیتر آب مقطر کاملاً مخلوط شده و تحت فشار ۱ اتمسفر و به مدت ۲۰ دقیقه اتوکلاو گردید.

محیط‌کشت CMA

۴۰ گرم دانه ذرت خرد شده به مدت ۱ ساعت در آب مقطر جوشانده و پس از عبور از پارچه ملل ۲ لایه، حجم محلول با

P. trachiphilum salinum، *P.G. F* و *P.G.G* بودند. در بین این ۸ گونه، بیماری‌زایی *P. deliense*، *P. aphanidermatum* به اثبات رسید (Zamani-Noor et al., 2004).

همچنین گونه‌های مختلفی از پی‌تیوم به‌عنوان عامل بیماری از گیاه ذرت نیز در سراسر جهان جداسازی و گزارش شده است. گونه‌های *P. arrhenomanses*، *P. irregular*، *P. aphanidermatum* و *P. graminicola* از مهم‌ترین گونه‌های جداسازی شده از روی ریشه‌ی ذرت می‌باشند که سه گونه‌ی اول قدرت بیماری‌زایی متوسط و گونه‌ی چهارم به‌عنوان یکی از مهم‌ترین عوامل پوسیدگی ساقه ذرت به‌شمار می‌رود. از مهم‌ترین گونه‌های عامل پوسیدگی ساقه‌ی ذرت نیز می‌توان گونه‌های *P. inflatum* و *P. graminicola* را نام برد. گونه‌ی *Myriothilum* نیز به‌عنوان عامل پوسیدگی هم طوقه و ریشه در ذرت معرفی شده است (Bickel & Koehler, 2021). تاکنون گزارشی از آلودگی ذرت به پی‌تیوم در کشور در دسترس نیست. و درنهایت، گونه‌های زیادی به‌عنوان عامل پوسیدگی پی‌تیومی طوقه و ریشه بر روی گندم گزارش شده‌اند. عمده‌ترین گونه‌هایی که موجب این پوسیدگی بر روی گندم می‌شوند عبارتند از *P. myriothylum*، *P. arrhenomonas*، *P. aphanidermatum*، *P. graminicola*، *P. volutum*، *P. ultimum* var. *etimum*، *P. aristosporum*، *alrrigulare*، *P. sylvaticum*، *altlmuhm* var. *sporangiferum*، *P. echinulatum*، *P. heterotalicum*، *torulosum*، *P. aristosporum*، *P. volutm*، *periplocum* و *P. irregulare*، گونه‌های *P. G.F* و *P. sylvaticum altimum* دارای قدرت بیماری‌زایی بیشتری نسبت به بقیه‌ی گونه‌ها هستند (Reeves et al., 2021). بر اساس بررسی‌های انجام شده تاکنون هیچ گزارش و تحقیقی در مورد جداسازی این قارچ از گیاه گندم در ایران یافت نشده است. یک گزارش از پی‌تیوم آلوده‌کننده گندم هم از مرودشت استان فارس جداسازی و گزارش شده است (Ravanlou & Banihashemi, 2002).

آنچه اهمیت بررسی اثر پی‌تیوم روی این سه محصول مورد مطالعه را بیشتر می‌کند، توجه به این نکته است که در اکثر مزارع این محصولات به‌صورت متناوب و به‌دنبال هم کشت می‌گردند. از طرف دیگر با توجه تحقیقاتی که قبلاً صورت گرفته، و جمعیت بالایی از جدایه‌های پی‌تیوم در خاک‌های خوزستان گزارش شده است (Mostowfzadeh-Ghalamfarsa, 2015). گونه‌های پی‌تیوم مولد پوسیدگی مرگ ریشه و گیاهچه

اضافه کردن آب مقطر به ۱ لیتر رسانده شد. پس از افزودن ۱۶ گرم آگار به مدت ۲۰ دقیقه تحت فشار ۱ اتمسفر اتوکلاو گردید.

محیط کشت شاهدانه-آگار (HSA, Hibiscus Seedling Agar)

۶۰ گرم دانه شاهدانه خرد شده به مدت ۰/۵ ساعت در آب مقطر جوشانده پس از عبور از پارچه ملل ۲ لایه، حجم محلول با آب مقطر به ۱ لیتر رسانیده شد. پس از افزودن ۱۶ گرم آگار، تحت فشار ۱ اتمسفر و به مدت ۲۰ دقیقه اتوکلاو گردید (Raftoyannis & Dick, 2006).

محیط کشت CMA-PARP

عصاره ۴۰ گرم دانه ذرت خرد شده و ۱۶ گرم آگار پودر شده و پودر CMA آماده به اضافه ۲۰ میلی گرم دلواسید (Delvacid) حاوی ۵۰ درصد پیمارسین (Pimaricin)، ۲۵۰ میلی گرم آمپی سیلین (Ampicillin)، ۱۰ میلی گرم ریفامپیسین (Rifampicin)، ۱۰۰ میلی گرم PCNB و ۱ لیتر آب مقطر که به آن ۵۰ میلی گرم در لیتر بنومیل اضافه شده را به مدت ۲۰ دقیقه در فشار ۱ اتمسفر در اتوکلاو ضد عفونی شد.

تشکیل اندام غیرجنسی و جنسی

برای تشکیل اندام غیرجنسی پی تیوم گونه های متعدد این جنس بر روی محیط CMA کشت داده شد. از حاشیه پرگنه ۲ تا ۳ روزه پی تیوم بلوک های نازکی با چوب پنبه برداشته و به پتری دیش منتقل گردید و حدود ۲۰ میلی لیتر آب مقطر به آن اضافه شد. پتری دیش ها در مقابل نور مداوم فلورسنت (۲ لامپ ۴۰ وات) در فاصله ۳۰ سانتی متری و دمای اتاق قرار گرفتند و به صورت روزانه بررسی شدند (Ribeiro & Butler, 1995). پس از تشکیل اسپورانژیوم، جهت مشاهده و اندازه گیری دقیق رنگ آمیزی با لاکتوفنل پنبه آبی انجام گرفت و خصوصیت و اندازه اندام غیرجنسی تعیین گردید (Singleton, 2002). جدایه های پی تیوم اغلب هموتالیک یا هم ریشه هستند و برای تشکیل اندام های جنسی و بررسی آن ها به تنهایی بر روی محیط کشت عصاره شاهدانه کشت و در دمای اتاق و تاریکی نگهداری و به صورت هفتگی مورد بررسی قرار گرفتند.

شناسایی مولکولی جدایه های پی تیوم مورد بررسی با آغازگرهای عمومی این جنس

استخراج DNA، تکثیر و توالی یابی براساس مطالعات و داده های ریخت شناسختی تعدادی از جدایه ها که از هر گونه به عنوان جدایه نماینده انتخاب شده بودند انجام شد. استخراج DNA ژنومی از پرگنه رشد یافته در محیط کشت (Potato Dextrose Broth, PDB) و مطابق روش لی و همکاران (Lee et al.,)

(1985) با اندکی تغییرات، تهیه و مخلوط واکنش PCR مطابق روش عبداله زاده و همکاران (Abrinbana et al., 2016) انجام گرفت.

از آغازگرهای ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCT) و ITS2 (5'-GCTGCGTTCTTCATCGA) که ناحیه ی ITS (ITS1-5.8S, ITS2) را تکثیر می کند، استفاده گردید. با استفاده از این آغازگرها انتظار می رفت قطعه ای به طول ۲۹۰ جفت باز تکثیر گردد (White et al., 1990). جدایه های منتخب طی واکنش زنجیره ای پلی مرز با برنامه ی دمایی شامل: ۵ دقیقه: واسرشت سازی اولیه در دمای ۹۴ درجه سلسیوس و ۳۵ چرخه که در هر کدام ۳۰ ثانیه دمای ۹۴ درجه سلسیوس، ۱ دقیقه دمای ۵۴ درجه سلسیوس و ۱ دقیقه دمای ۷۲ درجه سلسیوس انجام گردید. در نهایت یک چرخه بسط نهایی در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۱۰ دقیقه صورت گرفت. خلص سازی و تعیین توالی محصولات PCR توسط شرکت MacroGene کره جنوبی انجام گرفت.

مطالعات بیماری زایی روی گندم، ذرت و چغندر قند از مرحله بذر تا یک ماهگی

تهیه مایه پی تیوم و شرایط مایه زنی در محیط WA و CMA برای مشخص شدن بیماری زایی گونه ها و جدایه های پی تیوم از محیط کشت WA و CMA استفاده گردید. به این منظور بلوک های ۵ میلی متری از جدایه ها و گونه های ذکر شده پی تیوم به پتری دیش های حاوی محیط کشت CMA و بار دیگر به پتری دیش های حاوی WA منتقل شدند. پتری دیش ها به مدت ۳ روز در انکوباتور با دمای اتاق و نور دائم لامپ های فلوئورسنت نگهداری شدند. بعد از ۳ روز لایه WA و CMA حاوی جدایه های پی تیوم به گلدان های کوچک منتقل شدند (Weiland, 2011). تهیه مایه قارچ با ۳ تکرار از هر جدایه انجام شد. در آزمایش بیماری زایی، گلدان ها در انکوباتور (با دمای ۲۵ درجه سلسیوس) نگهداری شدند. نوردهی توسط لامپ های فلوئورسنت که به فاصله ۵۰ سانتی متری بالای گلدان ها به صورت نور متناوب ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی انجام گرفت. برای اطمینان از زنده مانگی پی تیوم، گلدان ها در شرایط اشباع آبی به مدت ۱۵-۱۲ ساعت قرار داده شد و آب خارج شده از انتهای گلدان با طعمه گذاری به وسیله ی برگ مرکبات مورد بررسی قرار گرفت تا حضور قارچ در خاک ردیابی شود (Schroeder et al., 2013). برای مایه زنی از لیوان های پلاستیکی یک بار مصرف به قطر ۸ سانتی متر استفاده شد. برای

برای هر کدام از جدایه‌های پی‌تیوم مورد بررسی قرار گرفت و برای تیمار شاهد از محیط‌کشت بدون پی‌تیوم استفاده شد. گیاهان پس از مایه‌زنی و کاشت بعد از ۱ هفته و به مدت ۱ ماه به‌طور مرتب برای تشخیص و بررسی علائم بیماری از خاک بیرون آورده شدند و گیاهانی که علائم بیماری را داشتند از حد فاصل بافت سالم و آلوده آن‌ها قطعاتی جداسازی گردید و پس از شستشو با آب مقطر استریل در محیط PARP کشت داده شدند (Heydari et al., 2010) (شکل ۱).

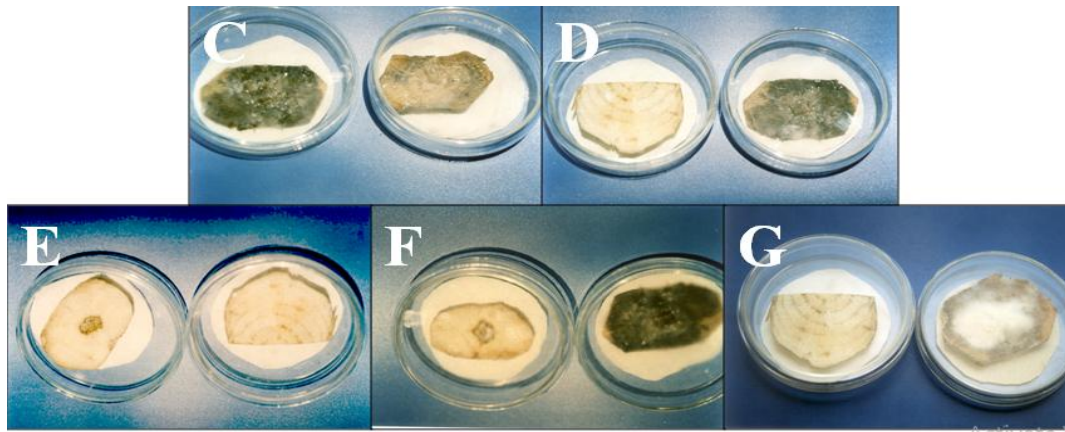
مایه‌زنی جدایه‌های پی‌تیوم به برش‌های غده‌ی چغندرقد

برای اثبات بیماری‌زایی جدایه‌های پی‌تیوم بلوک‌هایی به قطر ۵ میلی‌متر از هر ایزوله روی محیط CMA کشت داده شد. از حاشیه کشت ۳ روزه قارچ‌ها بلوک‌هایی به قطر ۵ میلی‌متر جدا شد. غده‌های سالم چغندرقد با اتانول ۹۵ درصد به مدت ۳ دقیقه ضدعفونی شده و سپس روی شعله به مدت چند ثانیه قرار گرفتند تا سطح آن‌ها کاملاً عاری از آلودگی باشد. قطعاتی از غده‌ها به قطر ۷ سانتی‌متر و ضخامت ۱/۵ سانتی‌متر جداسازی و به درون پتری‌دیش‌های استریل حاوی کاغذ صافی استریل منتقل شدند. مقدار کمی آب مقطر استریل به هر پتری‌دیش اضافه شد. پتری‌دیش‌ها به مدت ۴ روز در شرایط اتاق نگهداری شدند و هر روز مورد بازدید قرار گرفتند. روی هر غده یک بلوک قارچ قرار داده شد و قطر لکه ایجاد شده به‌صورت روزانه اندازه‌گیری شد. این آزمون در طرح کاملاً تصادفی و با ۳ تکرار انجام شد (Heydari et al., 2010) (شکل ۱).

تهیه خاک از مخلوط خاک مزرعه، خاک برگ و ماسه به‌صورت مساوی مخلوط شدند و ۲ روز متوالی هر روز به مدت ۱ ساعت در اتوکلاو تحت فشار ۱ اتمسفر و دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس سترون شدند. یک لایه کاغذ صافی استریل در ته هر گلدان قرار داده شد و روی آن با کمی شن و سنگ ریزه سترون پوشانده شد. ۲۰۰ سانتی‌متر مکعب از خاک موردنظر در هر گلدان ریخته شد و در نیمی از گلدان‌ها از یک لایه CMA حاوی جدایه موردنظر و در نیمی دیگر از گلدان‌ها از لایه WA حاوی پی‌تیوم روی خاک قرار داده شد و روی آن با ۵۰ سانتی‌متر مکعب خاک پوشانده شد. تعداد ۵ بذر از گیاه موردنظر (گندم، ذرت و چغندرقد) استریل روی سطح خاک کشت و با ۵۰ سانتی‌متر مکعب پوشانده شدند. پس از گذشت یک ماه گیاهان برای بررسی علائم ایجاد شده از خاک خارج شدند. این آزمون در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۳ تکرار انجام گرفت. در گیاهان شاهد از لایه CMA و WA بدون پی‌تیوم استفاده گردید. گیاهانی که علائم بیماری داشتند از حد فاصل بافت سالم و آلوده قطعاتی بریده شد و بعد از شستشو با آب مقطر استریل به محیط‌کشت PAPP منتقل شدند.

تهیه مایه پی‌تیوم و شرایط مایه‌زنی در محیط ورمی‌کولیت تلقیح‌شده با جدایه‌های پی‌تیوم

برای بررسی بیماری‌زایی جدایه‌های موردنظر از ورمی‌کولیت استفاده شد. در هر فلاسک با حجم ۲۵۰ سی‌سی، ۱۰۰ گرم ورمی‌کولیت به همراه ۶۰ میلی‌لیتر عصاره شاهدانه (عصاره ۶۰ گرم دانه شاهدانه در ۱ لیتر آب) ریخته شد و به مدت ۵/۰ ساعت در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس و فشار ۱ اتمسفر اتوکلاو گردید، ۵ بلوک به قطر ۵ میلی‌متر از حاشیه کشت ۳ روزه جدایه‌ها روی محیط CMA به درون هر ارلن منتقل گردید و در پوش فلاسک‌ها کاملاً پوشیده شد و به مدت ۱ ماه در دمای اتاق در انکوباتور نگهداری شد. سپس مایه پی‌تیوم به نسبت حجمی ۱ به ۵ و ۱ به ۱۰ با خاک سترون مخلوط گردید و در بررسی‌های گلدانی مورد استفاده قرار گرفت. مایه‌زنی بذرهای گندم در لیوان‌های پلاستیکی یک‌بار مصرف به قطر ۸ سانتی‌متر انجام گرفت. انتهای گلدان‌ها را با خاک سترون مایه قارچ پر گردید و یک سوم بالایی گلدان‌ها فقط از خاک سترون پر گردید و در آن‌ها بذرهای ضدعفونی شده با هیپوکلریت سدیم ۱ درصد کاشته شدند. در یک سری از گلدان‌ها خاک و مایه پی‌تیوم به نسبت ۵ به ۱ با هم مخلوط شدند و در یک‌سری دیگر خاک و مایه پی‌تیوم به نسبت ۱۰ به ۱ با هم مخلوط شدند. هر ۲ آزمون در طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار



شکل ۱: پوسیدگی برش‌های غده چغندر قند: *P.G.G* سمت راست و *P. aphanidermatum* (پتری دیش سمت چپ) (C)، *P. aphanidermatum* (پتری دیش سمت راست) و شاهد (پتری دیش سمت چپ) (D)، شاهد (پتری دیش سمت چپ) و *P.G.F* (پتری دیش سمت راست) (E)، *P. aphanidermatum* (پتری دیش سمت راست) و *P.G.F* (پتری دیش سمت چپ) (F)، *P. ultimum* (پتری دیش سمت راست) و شاهد (پتری دیش سمت چپ) (G)

Fig. 1: Decay of sugar beet tuber slices inoculated with *Pythium* spp.: *P.G.G* right side and *P. aphanidermatum* (left Petri) (C), *P. aphanidermatum* (right Petri) and control (left Petri) (D), control (left Petri) and *P.G.F* (right Petri) (E), *P. aphanidermatum* (right Petri) and *P.G.F* (left Petri) (F), *P. ultimum* right Petri and (G) control (left Petri)

نتایج

شناسایی ریخت‌شناختی جدایه‌های پی‌تیوم

P. aphanidermatum جدایه‌های این گونه با توصیف وانلاپلاتس (۱۹۸۱) تطابق داشت، این گونه دارای اسپورانژیوم‌های انگشتی متورم با ابعاد مختلف، آنتریدیوم‌های بین‌سلولی و آسپورهایی که فضای داخل آگونیوم را پر نمی‌کردند. آگونیوم‌ها کروی با دیواره صاف دارند و هیچ‌گونه تزئیناتی ندارند. پرگنه‌های این گونه روی محیط CMA تولید ریشه‌های هوایی پنبه‌ای شکل می‌کند (شکل ۲-۱).

P. deliense این گونه با خصوصیات یک جدایه *P. deliense* که از استان فارس جمع‌آوری شده بود و با توصیفات و اندرپلاتس (۱۹۸۱) مطابقت داشت. پرگنه‌ها روی محیط CMA رشد هوایی پنبه‌ای دارند. اسپورانژیوم‌ها انگشتی و متعدد، آنتریدیوم‌ها انتهایی و ۱ عدد مشاهده شدند. آگونیوم‌ها کروی با دیواره صاف و به‌صورت انتهایی یا بین ریشه‌ای تشکیل شدند. آسپور کروی با دیواره صاف و فاقد تزئینات بوده و فضای آگونیوم را پر نمی‌کند (Plaats-Niterink, 1981) (شکل ۲-۲) (F)

P. ostracodes این گونه بر روی محیط کشت CMA تولید ریشه‌های هوایی نمود. اسپورانژیوم‌ها انتهایی و کروی و آگونیوم بینابینی یا انتهایی تشکیل شدند که دیواره صاف داشتند. آنتریدی‌ها به تعداد ۲ عدد در هر آگونیوم مشاهده گردید. آسپورها همگی فضای آگونیوم را پر کرده است (پلوروتیک)

خصوصیات آن با توصیفات پلاتس نیتیرینک (۱۹۸۱) تطابق دارد (شکل ۲-۳).

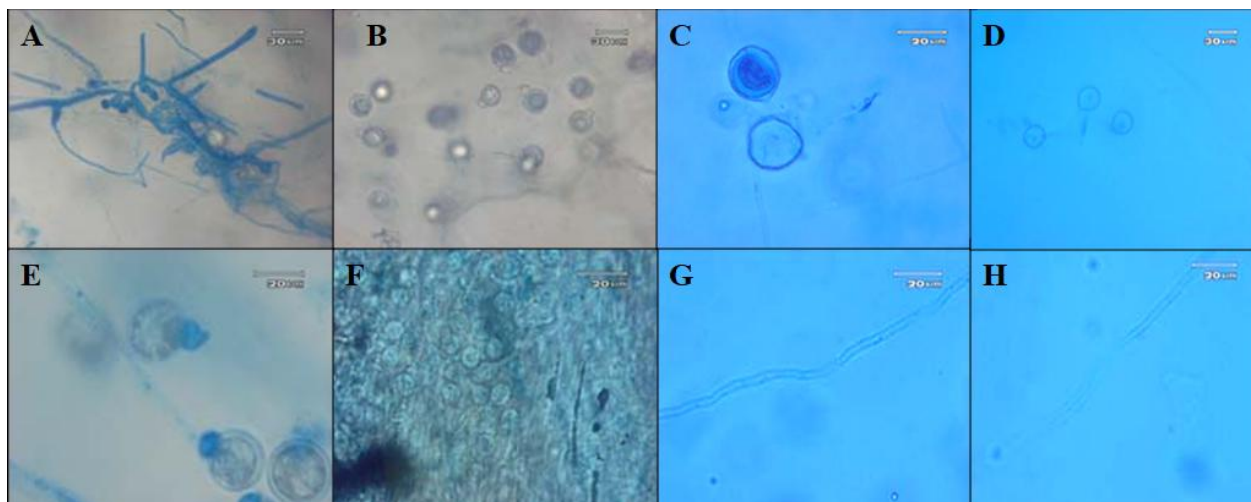
P. ultimum یک جدایه از این قارچ که از همدان جمع‌آوری شده بود دارای ریشه‌های هوایی کم و خوابیده روی محیط CMA است. دارای اسپورانژیوم‌های میانی یا انتهایی و گرد یا بشکله‌ای شکل هستند. آگونیوم‌ها کروی و با دیواره صاف و انتهایی هستند و یک آنتریدی به آن متصل است. آسپور کروی و حجم آگونیوم را پر نمی‌کند و دیواره صاف و بدون تزئینات دارد و با توصیفات و پلاتس نیتیرینک (۱۹۸۱) مطابقت دارد (شکل ۲-۴).

P.G.F ۱۳ جدایه این گروه از پی‌تیوم که از خوزستان جمع‌آوری شده بود دارای اسپورانژیوم‌های غیرقابل تمایز با ریشه هستند. ریشه‌ها تخت و بی‌شکل بودند. جدایه‌ها هتروآل و تال منفرد در محیط‌های کشت مختلف تولید آسپور نمی‌کنند. توصیفات آن مطابق با پلاتس نیتیرینک (۱۹۸۱) است (شکل ۲-۵).

P.G.G ۱۲ جدایه از این گروه پی‌تیوم که از خوزستان جداسازی شده بود دارای ریشه‌های تخت و بی‌شکل و اسپورانژیوم‌های گرد و کروی بودند. این جدایه‌ها تولید آسپور در محیط‌های کشت مختلف نکردند و هتروآل هستند و با توصیفات پلاتس نیتیرینک (۱۹۸۱) مطابقت دارند (شکل ۲-۶). *P. diclinum* این گونه الگوی رشدی منشعب روی محیط CMA دارد. اسپورانژیوم‌ها رشته‌ای و متورم به‌صورت منشعب یا غیرمنشعب هستند. آگونیوم‌ها کروی یا تخم‌مرغی با دیواره

منشعب دارد. اسپورانژیوم‌های رشته‌ای متورم دارند. آگونیوم‌ها با دیواره صاف و به‌صورت بینابینی یا انتهایی است. آسپورها فضایی داخل آگونیوم‌ها را پر می‌کنند (پلوروتیک) خصوصیات آن باتوضیحات پلاتس نیتزینک (۱۹۸۱) مطابقت دارد (شکل ۲-۵).

صاف و اغلب انتهایی هستند و دارای یک آسپور هستند که فضای آگونیوم را پر نمی‌کند. خصوصیات این قارچ با توصیفات پلاتس نیتزینک (۱۹۸۱) مطابقت داد (شکل ۲-۴). *P. inflatum* این گونه بر روی محیط‌کشت CMA رشد

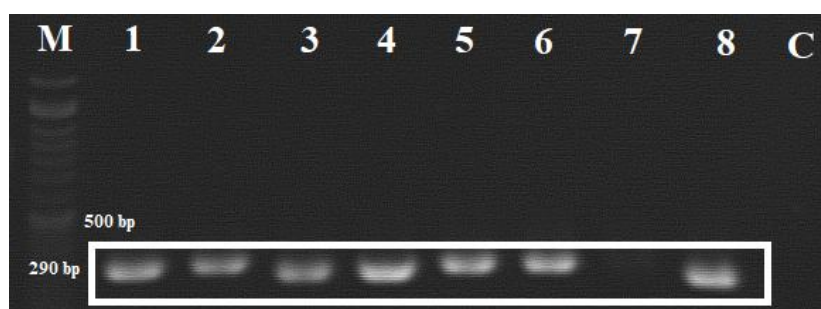


شکل ۲: A: اسپورانژیوم در *P. aphanidermatum*، شکل B: آگونیوم و آنترییدیوم در *P. aphanidermatum*، شکل C: سیست‌های *P. oostrocodes*، شکل D: آنترییدیوم و آگونیوم در *P. ultimum*، شکل E: سیست در *P. inflatum*، شکل F: سیست در *P. diclinum*، شکل G: ریشه در *P. group G*، شکل H: ریشه در *P. group F*

Fig. 2: A: sporangium in *P. aphanidermatum*, B: Oogonium and antheridium in *P. aphanidermatum*, C: Cysts of *P. oostrocodes*, D: antheridium and oogonium in *P. ultimum*, E: Cyst in *P. inflatum*, F: Cyst in *P. diclinum*, G: Spine in *P.G.G*, H: thread in *P.G.F*

ITS4 و ITS1-5.8S را تکثیر می‌کنند. مطابق انتظار قطعه‌ای به اندازه‌ی ۲۹۰ جفت‌باز تکثیر شد و در چاهک کنترل منفی (C) هیچ‌گونه قطعه‌ای تکثیر نشد (شکل ۳).

نتایج حاصل از الکتروفورز قطعات تکثیر شده در واکنش پی.سی.آر در واکنش PCR با آغازگرهای ITS1، ITS2 که ناحیه بین



شکل ۳: قطعات تکثیر شده حاصل از PCR ناحیه ITS1-5.8S، ITS4 با آغازگرهای عمومی جنس پی‌تیوم (ITS1،2) که قطعه‌ای به اندازه‌ی ۲۹۰ جفت‌باز تکثیر شد. چاهک ۱ تا ۸ به‌ترتیب متعلق به قارچ *P. aphanidermatum*، *P. ultimum*، *P. oostrocodes*، *P. inflatum*، *P. diclinum*، *P. deliense*، *P.G.G* و *P.G.F*

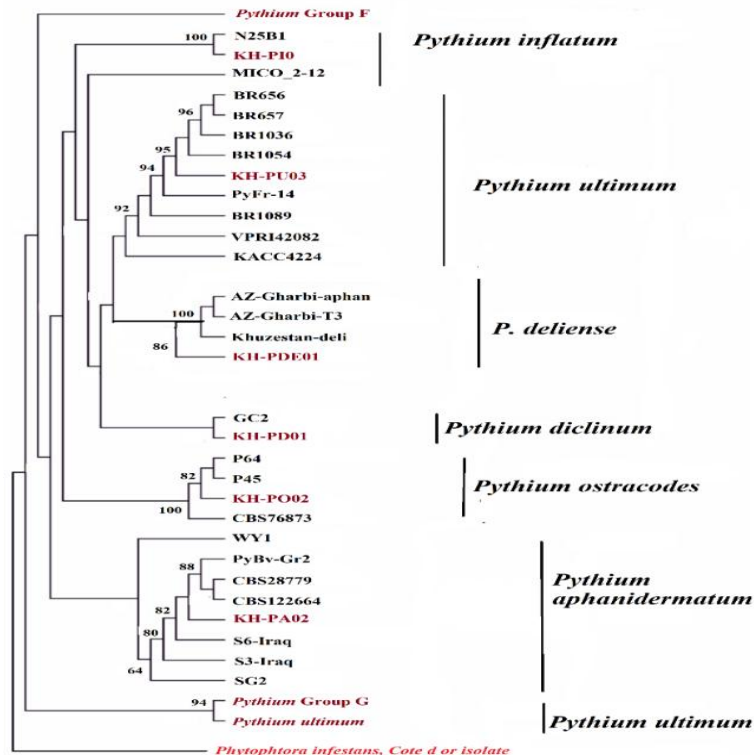
Fig. 3: PCR amplified fragments of ITS1-5.8S, ITS4 region with general primers of Pythium genus (ITS1,2) and a fragment of 290 base pairs was amplified. Wells 1 to 8 belong to *P. aphanidermatum*, *P. ultimum*, *P. oostrocodes*, *P. inflatum*, *P. diclinum*, *P. deliense*, *P.G.G* and *P.G.F*

ITS1،2 و ۲۵ جدایه موجود در بانک ژن می‌باشد که دارای تشابه توالی در قطعه‌ی تکثیر شده موردنظر می‌باشند. درخت تبارنما به روش بیشترین تشابه (ML, maximum likelihood)

ترسیم درخت تبارنما برای جدایه‌های نماینده توالی‌یابی شده درخت تبارزایی ترسیم شده براساس بخشی از توالی بین ITS1-5.8S، ITS2 (۲۹۰ نوکلئوتیدی) مربوط به آغازگرهای

مختلف قرار گرفتند. گره‌هایی که فشردگی کمتر از ۶۴ درصد مقادیر بوت‌استرپ را پشتیبانی می‌کردند، گزارش نشدند. رس‌شمار و خاستگاه جغرافیایی جدایه‌های مربوطه در درخت تبارنا نشان داده شده است (شکل ۴).

و توسط نرم‌افزار مگا-۸ (MEGA: 8.0) ترسیم شده است. یک گونه نزدیک به جنس پی‌تیوم یعنی شبه‌قارچ عامل بادزدگی سیب‌زمینی (*Phytophthora infestans*) با رس‌شمار AB_448694.1 نیز به‌عنوان Out group انتخاب شد. جدایه‌های ایرانی به همراه جدایه‌های اروپایی در گروه‌های



شکل ۴: درخت تبارنمای حاصل از توالی‌یابی جدایه‌های مورد پژوهش در این تحقیق و تعیین جایگاه آن‌ها بین سایر جدایه‌های پی‌تیوم گزارش شده از سراسر جهان. جدایه‌هایی که مقادیر بوت‌استرپ کمتر از ۶۴ درصد را پشتیبانی نمی‌کردند حذف شدند و یک جدایه از شبه‌قارچ عامل بادزدگی سیب‌زمینی (*Ph. infestans*) به‌عنوان گروه خارجی در درخت قرار گرفت

Fig. 4: Family tree resulting from the sequencing of isolates studied in this research and determining their position among other *Pythium* isolates reported from around the world. The isolates that did not support the bootstrap values lower than 64% were removed and one isolate of potato blight pseudofungus (*Ph. infestans*) was placed as an outgroup in the tree

P. ostracodes در گروه (C) و جدایه‌های *P.G.F* و *P. inflatum* در گروه (D) و ایزوله‌های *P.G.G* در گروه E قرار گرفتند. ۷۲ ساعت بعد از مایه‌زنی همه جدایه‌های *P. aphanidermatum* در گروه A و *P. deliense* و *P. ostracodes* در گروه (B)، جدایه‌های *P. inflatum* و *P.G.F* و *P.G.G* در گروه (C) قرار گرفتند. در تیمار شاهد از محیط‌کشت فاقد جدایه‌های پی‌تیوم استفاده شد و هیچ‌گونه علائم پوسیدگی مشاهده نگردید. نتایج حاصل از آزمون مقایسه قطر لکه بر روی برش‌های غده‌های چغندر قند که به‌وسیله بلوک‌های ۵ میلی‌متری از جدایه موردنظر مایه‌زنی شده بودند در جدول ۱ و ۲ آمده است.

نتایج حاصل از آزمون مقایسه قطر لکه‌های پوسیده بر روی چغندر قند

تجزیه و تحلیل داده‌ها با نرم‌افزار SAS و آزمون توکی ایزوله‌ها را به چند دسته تقسیم‌بندی کرد و نشان داد که در سطح احتمال ۵ درصد بین جدایه‌ها، ۲۴ ساعت بعد از مایه‌زنی اختلاف معنی‌دار وجود دارد. جدایه‌های *P. aphanidermatum* همگی در یک دسته (A) قرار گرفتند و ایزوله‌های *P.G.F* و *P. inflatum* نیز در یک گروه (D) قرار گرفتند. همچنین جدایه‌های *P. deliense* و *P. ostracodes* نیز در یک گروه (C) قرار گرفتند. ۴۸ ساعت بعد از مایه‌زنی تمامی جدایه‌های *P. aphanidermatum* در گروه A و جدایه‌های *P. deliense* و *P. ostracodes* در گروه (B) و ایزوله‌های *P. inflatum* و *P. deliense* در گروه (C) قرار گرفتند.

جدول ۱: مقایسه قطر پوسیدگی‌های پی‌تیوم روی برش‌های چغندر قند

Table 1: Comparison of the diameter of *Pythium* rots on sugar beet slices

نام ایزوله	قطر لکه ۲۴ ساعت بعد از مایه‌زنی	قطر لکه ۴۸ ساعت بعد از مایه‌زنی	قطر لکه ۷۲ ساعت بعد از مایه‌زنی
GSt5	1	1.800	2.2500
GDL4	1.5500	1.8750	2
GDL5	1.0250	1.200	1.900
FSA ₁	1.5000	2.500	2.500
FSt5	1.5000	2.350	2.42
FDL5	1.5000	2.000	2.000
A5	2.1250	3.000	3.000
P.ult	3.000	4.000	4.000
Bil	2.2500	3.300	3.3000
Kil7	1.5750	2.3750	2.375
N143	3.275	4.2500	4.25
ASA ₁	4.000	5.000	5.000
ASD ₂	4.1250	5.000	5.000
ASR ₁	4.3750	5.3750	5.375
ASB5	3.8750	5.125	5.125
ADL4	4.2500	5.5000	5.5000
AAZ2	4.000	5.1250	5.7500
AK11	4.000	5.000	5.000
ASR10	4.000	6.000	6.000
ADL14	4.200	6.000	6.000
شاهد	0	0	0

جدول ۲: مقایسه پوسیدگی بذر گیاهان ذرت، گندم و چغندر قند در محیط‌های مختلف

Table 2: Comparison of seed decay of corn, wheat and sugar beet plants in different environments

پوسیدگی بذر در محیط Verm1/10			پوسیدگی بذر در محیط Verm1/5			پوسیدگی بذر در محیط CMA			پوسیدگی بذر در محیط WA			جدایه‌ها
ذرت	گندم	چغندر قند	ذرت	گندم	چغندر قند	ذرت	گندم	چغندر قند	ذرت	گندم	چغندر قند	
0	0	20	10	10	30	10	10	10	10	10	20	<i>P.G.G</i> (KH-G1)
0	0	20	10	10	30	10	10	10	10	10	20	<i>P.G.G</i> (KH-G2)
0	0	20	10	10	30	10	10	10	10	10	20	<i>P.G.G</i> (KH-G3)
0	10	20	10	10	30	10	10	10	10	10	20	<i>P.G.F</i> (KH-F1)
0	10	20	10	10	30	10	10	10	10	10	20	<i>P.G.F</i> (KH-F2)
0	10	20	10	10	30	10	10	10	10	10	20	<i>P.G.F</i> (KH-F3)
10	10	20	20	20	30	10	10	40	20	20	40	<i>P. deliense</i> (A5)
10	0	40	20	0	40	10	10	40	20	20	50	<i>P. ultimum</i> (KH-PU03)
10	10	40	20	20	50	20	20	30	30	30	50	<i>P. ostracodes</i> (B 11)
10	0	20	10	10	30	10	0	30	10	10	30	<i>P. inflatum</i> (K117)
10	10	50	10	20	70	10	10	50	10	10	60	<i>P. diclinum</i> (N143)
10	0	50	20	20	70	20	20	50	20	20	60	<i>P. aphanidermatum</i> (PA-01)
10	10	60	20	20	80	30	20	50	20	20	60	<i>P. aphanidermatum</i> (PA-02)
10	10	50	20	20	70	20	20	50	20	20	60	<i>P. aphanidermatum</i> (PA-03)
10	10	50	20	20	60	30	20	50	20	20	60	<i>P. aphanidermatum</i> (PA-04)
10	10	50	20	20	40	10	20	50	20	20	60	<i>P. aphanidermatum</i> (PA-05)
10	10	40	20	20	50	20	10	50	20	20	60	<i>P. aphanidermatum</i> (PA-06)
10	10	40	20	20	40	20	20	50	20	20	60	<i>P. aphanidermatum</i> (PA-07)
10	0	40	20	20	50	30	20	50	20	20	50	<i>P. aphanidermatum</i> (PA-08)
10	10	40	20	20	50	30	20	50	20	20	60	<i>P. aphanidermatum</i> (PA-09)
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	شاهد

ostracodes نیز باعث پوسیدگی بذر ذرت به میزان ۳۰ درصد شد. میزان پوسیدگی بذر چغندر قند نیز به وسیله‌ی جدایه‌های *P. aphanidermatum* و *P. ostracides* بیش از سایر ایزوله‌ها و ۸۰ درصد بود. در تیمار شاهد در همه گیاهان بیماری‌ها و علائم ذکر شده آن‌ها مشاهده نشد (جدول ۳).

نتایج آزمون بیماری‌زایی جدایه‌های پی‌تیوم در محیط CMA روی گندم ذرت و چغندر قند از مرحله بذر تا ۱ ماهگی نتایج حاصل از این آزمون در گیاه گندم بیانگر آن است که جدایه‌های *P. aphanidermatum* بیش از جدایه‌های دیگر

نتایج آزمون بیماری‌زایی جدایه‌های پی‌تیوم در محیط آب- آگار روی گندم، ذرت و چغندر قند از مرحله بذر تا ۱ ماهگی گیاه بر اساس نتایج به دست آمده در جدول ۲ درصد پوسیدگی بذر گندم در جدایه‌های *P.G.G*، *P.G.F* و *P. ultimum* و جدایه‌های *P. deliense* و *P. diclinum* یکسان و ۱۰ درصد، در جدایه‌های *P. aphanidermatum* و *P. ostracodes* ۲۰ درصد و در جدایه *P. inflatum* هیچ‌گونه پوسیدگی مشاهده نشد. در گیاه ذرت درصد پوسیدگی بذر در جدایه‌های *P. aphanidermatum*، *P. inflatum* و *P. diclinum* مشابه و به میزان ۱۰ درصد بود. پوسیدگی بذر در ایزوله‌های *P. aphanidermatum* نیز با یکدیگر مشابه و به میزان ۲۰ درصد بود. ایزوله *P.*

باعث پوسیدگی بذر می‌شوند و *P. diclinum*, *P. inflatum*, *P. ultimum* نیز مشابه *P.G.F* و *P.G.G* پوسیدگی ایجاد کردند. در ذرت درصد پوسیدگی بذر ایجاد شده به‌وسیله ایزوله‌های *P. aphnidermatum*, *P. ostracodes* و *P. ultimum* بیش از سایر ایزوله‌ها بوده است.

در چغندرقد درصد بذرهای پوسیده توسط تلقیح جدایه‌های *P. aphnidermatum* و *P. diclinum* بیش از سایر جدایه‌ها بود. به‌طور کلی حساسیت چغندرقد به پی‌تیوم بیش از ذرت و گندم است و آلودگی بیشتر و در نتیجه خسارت بیشتری به این محصول استراتژیک وارد می‌آورد.

نتایج مایه‌زنی خاک گلدان‌های مربوط به چغندرقد با ورمی‌کولایت تلقیح شده با گونه‌های مختلف پی‌تیوم

بررسی‌ها نشان می‌دهد که در آزمون تلقیح خاک گلدان‌ها با ورمی‌کولایت آغشته با پی‌تیوم که به نسبت ۱ به ۵ با خاک مخلوط شده بود، در گیاه چغندرقد باعث ایجاد پوسیدگی بذر، مرگ گیاهچه و بافت‌مردگی ریشه و طوقه شد. درصد پوسیدگی بذر در تیمارهای *P. aphnidermatum*, *P. ultimum* و *P. diclinum* و *P. ostracodes* از بقیه جدایه‌ها بیشتر بود. درصد پوسیدگی بذر توسط گونه‌های *P.G.F* و *P.G.G* پایین (در ۱ ماه ۱۵-۱۰ درصد) و بعد از ۱ هفته در ایزوله‌های *P.G.G* هیچ مرگ گیاهچه‌ای مشاهده نشد اما در *P.G.F* شدت مرگ گیاهچه کمتر از بقیه تیمارها بود. در مورد تیمار خاک با *P. deliense* و *P. inflatum* درصد مرگ گیاهچه چغندرقد نسبت به *P.G.G* و *P.G.F* بالاتر (۲۵-۲۰ درصد) بود. در بین ایزوله‌های *P. aphnidermatum* تقریباً گیاهچه‌ها بعد از ۱ هفته دچار مرگ گیاهچه شدند. در بین تیمارهای *P. ultimum*, *P. ostracodes*، *P. deliense* و *P. inflatum* نیز درصد مرگ گیاهچه ۳۰-۲۰ درصد بود. بعد از ۱ ماه نیز تیمارهای *P. aphnidermatum*, *P. ostracodes*، *P. ultimum* و *P. diclinum* تمامی گیاهچه‌ها باقیمانده دچار مرگ گیاهچه شدند و تنها در ۲ ایزوله آن ۱۰ درصد گیاهان سالم ماند. در *P.G.G* ولی هیچ‌گونه مرگ گیاهچه‌ای مشاهده نشد و ۱۰ درصد از گیاهچه‌ها در تیمارهای *P.G.F* دچار مرگ گیاهچه شدند. درصد بافت‌مردگی ریشه در همه گیاهچه‌های تلقیح شده با *P.G.F* مشاهده شد و بیش از *P. deliense*، *P.G.G* و *P. inflatum* بود. شدت بافت‌مردگی نیز در این تیمارها ۳۰ درصد بود. در همه گیاهچه‌های باقیمانده از همه جدایه‌ها بافت‌مردگی طوقه مشاهده شد و شدت آن نیز در همه بالا و ۷۰ درصد بود. در آزمونی که هم‌زمان بر روی چغندرقد انجام شده بود

پوسیدگی بذر مرگ گیاهچه و بافت‌مردگی طوقه و ریشه مشاهده شد. لیکن درصد وقوع هر کدام از بیماری‌های ذکر شده در تمامی تیمارهای نسبت ۱ به ۱۰ کمتر از تیمار ۱ به ۵ بود. چنانچه درصد پوسیدگی بذر در این آزمون نیز در ایزوله‌های *P. aphnidermatum*، *P. diclinum* و *P. ostracodes* و *P. ultimum* بیش از سایر جدایه‌ها بود و در *P. inflatum* پوسیدگی بذر مشاهده نشد. ۱ هفته بعد از رشد گیاهچه‌ها در جدایه‌های *P. aphnidermatum*، *P. diclinum*، *P. delinse*، *P. inflatum*، *P. ultimum* و *P.G.F* ۳۰-۲۰ درصد گیاهچه باقیمانده دچار مرگ گیاهچه شدند ولی در *P.G.G* و *P. ostracodes* هیچ مرگ گیاهچه‌ای مشاهده نشد. ۱ ماه بعد از مایه‌زنی فقط تیمارهای *P. deliense*، *P. ultimum* و *P. ostracodes* و ۲ ایزوله از *P. aphnidermatum* دچار مرگ گیاهچه شدند. درصد بافت‌مردگی ریشه در ایزوله‌های *P. deliense*، *P. ostracodes*، *P.G.F* کمتر از *P. deliense* و *P.G.G* بود و همه ایزوله‌های *P. aphnidermatum* دچار بافت‌مردگی ریشه با شدت ۷۰ درصد یا ۵۰ درصد بودند و درحالی‌که شدت بافت‌مردگی ریشه سایر ایزوله‌ها ۳۰ درصد بود. تمامی گیاهچه‌های زنده از هر کدام از تیمارها دچار بافت‌مردگی طوقه با شدت ۷۰ درصد شده بودند (جدول ۳).

نتایج مایه‌زنی خاک گلدان‌های حاوی گندم با ورمی‌کولایت آغشته با قارچ

در آزمون مایه‌زنی خاک گلدان‌ها با ورمی‌کولایت تلقیح شده با پی‌تیوم که به نسبت ۱ به ۵ باهم مخلوط شده بودند درصد پوسیدگی بذر در جدایه‌های *P. ostracodes*، *P. aphnidermatum* و *P. diclinum* بیشتر از سایر جدایه‌هاست و در *P. deliense* و *P. ultimum* پوسیدگی بذر مشاهده نشد. مرگ گیاهچه ۱ هفته بعد از مایه‌زنی به میزان ۱۰ درصد در جدایه‌های *P. deliense*، *P.G.F* و ۳۰ درصد در *P. aphnidermatum* مشاهده شد. درصد بافت‌مردگی ریشه نیز در جدایه‌های *P. ostracodes* و *P. aphnidermatum* بیشتر از سایر جدایه‌ها بود. شدت بافت‌مردگی ریشه نیز در جدایه‌های *P. aphnidermatum* بیش از سایر جدایه‌ها بود. سایر جدایه‌ها در تمامی گیاهچه‌های باقی‌مانده ایجاد بافت‌مردگی طوقه کردند که شدت بافت‌مردگی در جدایه‌های *P. aphnidermatum* و *P. diclinum* از بقیه جدایه‌ها بیشتر بود. در آزمونی که به‌صورت هم‌زمان بر روی گندم انجام شده و در آن ورمی‌کولایت تلقیح شده با جدایه‌های پی‌تیوم به نسبت ۱ به ۱۰ خاک مخلوط شد درصد پوسیدگی بذر گندم در تیمارهای شدت بیماری‌های ذکر شده در بالا در همه تیمارها کمتر از نسبت اختلاط ۱ به ۵ بود.

ایزوله‌های *P. aphanidermatum* مشاهده شد و در سایر تیمارها نیز درصد بافت‌مردگی ریشه بالا بود. شدت بافت‌مردگی ریشه در ایزوله‌های *P. aphanidermatum*, *P. diclinum* و *P. ultimum* از بقیه جدایه‌ها بیشتر بود. شدت درصد بافت‌مردگی طوقه در جدایه‌های *P. aphanidermatum* بالاتر از سایر ایزوله‌ها و قابل‌توجه بود. در آزمون‌هایی که به‌صورت همزمان با آزمون بالا بر روی ذرت انجام شد، ورمی‌کولایت تلقیح شده با قارچ به نسبت ۱ به ۱۰ با خاک مخلوط شد که در آن درصد پوسیدگی بذر ذرت در تیمارهای *P. aphanidermatum*, *P. deliense* و *P. ostracodes* از سایر جدایه‌ها بیشتر بود. در تلقیح جدایه‌های *P.G.G* پوسیدگی بذر مشاهده نشد. همچنین، هیچ‌گونه مرگ گیاهچه‌ای در هیچ کدام از تیمارها دیده نشد. درصد بافت‌مردگی ریشه در جدایه‌های *P. aphanidermatum*, *P. ultimum* و *P. deliense* از همه بالاتر بود. شدت بافت‌مردگی ریشه نیز در تیمارهای *P. aphanidermatum* از همه بالاتر بود. درصد بافت‌مردگی طوقه در جدایه‌های *P. aphanidermatum* از بقیه بیشتر بود. اما شدت بافت‌مردگی طوقه در همه جدایه‌ها یکسان و ۳۰ درصد بود. در مجموع بیماری‌های پوسیدگی بذر و بافت‌مردگی طوقه و ریشه در آزمون دوم کمتر از اولی بود و در تیمار شاهد هر دو آزمون هیچ‌گونه علائم بیماری دیده نشد (جدول ۳).

درصد پوسیدگی بذر گندم در تیمارهای *P. aphanidermatum* بیش از سایر تیمارها بود و در *P. inflatum* و *P. ultimum* هیچ پوسیدگی بذری مشاهده نشد و هیچ‌گونه مرگ گیاهچه‌ای نیز یک هفته بعد یا ۱ ماه بعد از تلقیح دیده نشد. درصد گیاهچه‌هایی که علائم بافت‌مردگی ریشه را بروز دادند در تیمارهای *P. ostracodes*, *P. aphanidermatum* و *P. ultimum* از سایر تیمارها بیشتر بود. ولی شدت بافت‌مردگی ریشه در همه یکسان و ۳۰ درصد بود. درصد بافت‌مردگی طوقه در همه تیمارها به جز *P. deliense*, *P. ostracodes* و *P. inflatum* بالا بود. اما در *P. aphanidermatum* از همه بیشتر بود. شدت بافت‌مردگی طوقه در جدایه‌های *P. aphanidermatum* و *P. diclinum* از همه بیشتر بود. در تیمارهای شاهد هیچ‌کدام از بیماری‌های ذکر شده دیده نشد (جدول ۳).

نتایج مایه‌زنی خاک گلدان‌های حاوی ذرت با ورمی‌کولایت آغشته با قارچ با گونه‌های پی‌تیوم و تأثیر آن‌ها بر بیماری‌زایی روی ذرت

در آزمون تلقیح خاک گلدان‌ها با ورمی‌کولایت آغشته با پی‌تیوم که به نسبت ۱ به ۵ با خاک گلدان‌ها مخلوط شده بود، درصد پوسیدگی بذر ذرت در تیمارهای *P. ultimum*, *P. ostracodes*, *P. deliense* و *P. aphanidermatum* از بقیه بیشتر بود و هیچ‌گونه مرگ گیاهچه ۱ هفته بعد و ۱ ماه بعد از تلقیح مشاهده نشد. بافت‌مردگی ریشه در تمامی گیاهان باقی‌مانده در

جدول ۳: مقایسه مرگ گیاهچه گیاهان ذرت، گندم و چغندر قند ناشی از آلودگی به جدایه‌های پی‌تیوم در محیط‌های مختلف
Table 3: Comparison of seedling death of corn, wheat and sugar beet plants due to infection with *Pythium* spp. in different environments

مرگ گیاهچه در محیط Verm 1/10			مرگ گیاهچه در محیط Verm 1/5			مرگ گیاهچه در محیط CMA			مرگ گیاهچه در محیط WA			جدایه‌ها
چغندر قند	گندم	ذرت	چغندر قند	گندم	ذرت	چغندر قند	گندم	ذرت	چغندر قند	گندم	ذرت	
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<i>P.G.G</i> (KH-G2)
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<i>P.G.G</i> (KH-G3)
0	0	10	0	0	30	0	0	0	0	0	0	<i>P.G.F</i> (KH-F1)
0	0	20	0	0	30	0	0	0	0	0	0	<i>P.G.F</i> (KH-F2)
0	0	20	0	10	30	0	0	0	0	0	0	<i>P.G.F</i> (KH-F3)
0	0	40	0	30	60	0	0	0	0	0	0	<i>P. deliense</i> (A5)
0	0	60	0	0	40	0	0	0	0	0	0	<i>P. ultimum</i> (KH-PU03)
0	0	0	0	0	50	0	0	0	0	0	0	<i>P. ostracodes</i> (B 11)
0	0	20	0	0	20	0	0	0	0	0	0	<i>P. inflatum</i> (K117)
0	0	50	0	0	20	0	0	0	0	0	0	<i>P. diclinum</i> (N143)
0	0	30	0	10	20	0	0	0	0	0	0	<i>P. aphanidermatum</i> (PA-01)
0	0	30	0	10	10	0	0	0	0	0	0	<i>P. aphanidermatum</i> (PA-02)
0	0	20	0	10	30	0	0	0	0	0	0	<i>P. aphanidermatum</i> (PA-03)
0	0	30	0	10	40	0	0	0	0	0	0	<i>P. aphanidermatum</i> (PA-04)
0	0	30	0	0	50	0	0	0	0	0	0	<i>P. aphanidermatum</i> (PA-05)
0	0	40	0	10	50	0	0	0	0	0	0	<i>P. aphanidermatum</i> (PA-06)
0	0	30	0	10	40	0	0	0	0	0	0	<i>P. aphanidermatum</i> (PA-07)
0	0	30	0	0	50	0	0	0	0	0	0	<i>P. aphanidermatum</i> (PA-08)
0	0	30	0	0	40	0	0	0	0	0	0	<i>P. aphanidermatum</i> (PA-09)
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	شاهد

بحث

در بررسی‌های انجام گرفته بر روی جدایه‌های *P. aphanidermatum* که از خوزستان جمع‌آوری شده بود مشاهده شد، که خصوصیات جدایه‌های مورد بررسی با توصیفات هو (Ho, 2018) تطابق دارد. جدایه‌های این گونه دارای اسپورانژیوم‌های انگشتی متورم با ابعاد مختلف، آنتریدیوم‌های بین‌سلولی و آسپورهایی که فضای داخل آگونیوم را پر نمی‌کنند. آگونیوم‌ها کروی با دیواره صاف و هیچ‌گونه تزئیناتی ندارند و پرگنه‌های قارچ روی محیط CMA تولید ریشه‌های هوایی پنبه‌ای شکل می‌کند. خصوصیات یک جدایه از *P. deliense* که از استان فارس جمع‌آوری شده بود با توصیفات گرباوی و همکاران (Gherbawy et al., 2005) مطابقت دارد. پرگنه‌ها روی محیط CMA رشد هوایی پنبه‌ای دارند. اسپورانژیوم‌ها انگشتی و متعدد، آنتریدیوم‌ها انتهایی و ۱ عدد است. آگونیوم‌ها کروی با دیواره صاف و به‌صورت انتهایی یا بین ریشه‌ای تشکیل می‌شوند. آسپور کروی با دیواره صاف و فاقد تزئینات بوده و فضای آگونیوم را پر نمی‌کند. در مورد *P. ostracodes* یک جدایه از این گونه که از استان فارس جمع‌آوری شده بود بر روی محیط‌کشت CMA تولید ریشه‌های هوایی نمود. اسپورانژیوم‌ها انتهایی و کروی است. آگونیوم بینابینی یا انتهایی است و دیواره صاف دارد. آنتریدی‌ها به تعداد ۲ عدد در هر آگونیوم وجود دارند. آسپورها همه فضای آگونیوم را پر کرده است (پلوروتیک) و خصوصیات آن با توصیفات رودریگز و رویز تطابق دارد (Rodriguez-Lazaro & Ruiz-Muñoz, 2012). جدایه *P. ultimum* که از همدان جمع‌آوری شده بود دارای ریشه‌های هوایی کم و خوابیده روی محیط CMA است. دارای اسپورانژیوم‌های میانی یا انتهایی و گرد یا بشک‌ای شکل هستند. آگونیوم‌ها کروی و با دیواره صاف و انتهایی هستند و یک آنتریدی به آن متصل است. آسپور کروی و حجم آگونیوم را پر نمی‌کند و دیواره صاف و بدون تزئینات دارد و با توصیفات کاگیاما (۲۰۱۴) مطابقت دارد (Kageyama, 2014). از ۱۳ جدایه این گروه *P.G.F* که از خوزستان جمع‌آوری شده بود دارای اسپورانژیوم‌های غیرقابل تمایز با ریشه هستند. ریشه‌ها تخت و بی‌شکل بودند. جدایه‌ها هتروتال و تال منفرد در محیط‌های کشت مختلف تولید آوسپور نمی‌کنند. توصیفات این گونه نیز مطابق با لوسکیو و همکاران (Levesque et al., 2004) است. ۱۲ جدایه *P.G.G* که از خوزستان جداسازی شده بود دارای ریشه‌های تخت و بی‌شکل و اسپورانژیوم‌های گرد و کروی بودند. این جدایه‌ها تولید آسپور

در محیط‌های کشت مختلف نکرده و هتروتال هستند که با توصیفات لوسکیو و همکاران (Levesque et al., 2004) مطابقت دارند. یک جدایه از *P. diclinum* که از استان فارس جمع‌آوری شده بود الگوی رشدی منشعب روی محیط CMA دارد. اسپورانژیوم‌ها رشته‌ای و متورم به‌صورت منشعب یا غیرمنشعب هستند. آگونیوم‌ها کروی یا تخم‌مرغی با دیواره صاف و اغلب انتهایی هستند و دارای یک آسپور هستند که فضای آگونیوم را پر نمی‌کند. خصوصیات این گونه با لوسکیو و همکاران (Levesque et al., 2004) مطابقت دارد. در آخر یک جدایه از *P. inflatum* که از استان فارس جمع‌آوری شده بود، بر روی محیط‌کشت CMA رشد منشعب نشان داد. اسپورانژیوم‌های رشته‌ای متورم و آگونیوم‌ها با دیواره صاف و به‌صورت بینابینی یا انتهایی بودند. آسپورها فضای داخل آگونیوم‌ها را پر کرده (پلوروتیک) و خصوصیات آن باتوضیحات لوسکیو و همکاران (Levesque et al., 2004) مطابقت دارد. نتایج مولکولی در این پژوهش داده‌های ریخت‌شناختی مربوط به جداسازی و شناسایی جدایه‌های پی‌تیوم را ثابت نمود.

نتایج حاصل از آزمون بررسی قطر لکه‌های پوسیدگی آبکی ایجاد شده بر روی برش‌های غده چغندرقد، بیماری‌زایی تمامی ایزوله‌های موردنظر را در شرایط آزمایشگاهی نشان داد. قطر پوسیدگی ایجاد شده به‌وسیله *P. aphanidermatum* بیش از سایر جدایه‌ها بود و *P. ultimum*، *P. diclinum* در مرتبه دوم قرار داشتند که با کارهای زمانی نور مطابقت دارد (زمانی‌نور، ۱۳۸۳). جدایه‌های *P. ostracodes* و *P. delinens* نیز بیماری‌زایی متوسطی در روش برش‌های چغندرقد ایجاد کردند و اثر *P.G.F*، *P.G.G* و *P. inflatum* از همه جدایه‌ها کمتر بود. پوسیدگی ریشه و غده چغندرقد که به‌صورت پوسیدگی آبکی و شرایط مرطوب در آزمایشگاه و مزارع رخ می‌دهد در مورد گونه‌های متعددی از پی‌تیوم به اثبات رسیده است و نتایج حاصل از این پژوهش به نتایج مطالعات رابرتسون نزدیک است (Robertson, 1973).

چغندرقد به بیمارگرهایی مانند پی‌تیوم که باعث پوسیدگی بذر، مرگ گیاهچه و پوسیدگی ریشه می‌شوند حساس است. این بیمارگرها باعث پوسیدگی بذر و از پا افتادگی گیاهچه قبل و بعد از جوانه‌زنی می‌شوند. شدت و شیوع بیماری‌های گیاهچه در بین نواحی مختلف مزارع مختلف و درون یک مزرعه به‌خصوص در طی یک فصل رشد متفاوت است و حتی ممکن است درون مزارع مشابه در یک فصل رشد متنوع باشد. شدت بیماری‌های گیاهچه با مقدار بیمارگر در خاک، حساسیت وارسته و فاکتورهای محیطی مانند

درصد از گیاهان چغندرقد در مزرعه در اثر پوسیدگی بذر از بین می‌روند (Jacobsen, 2006).

نتایج تحقیقات زیادی نشان داده است که *P. aphanidermatum* و *P. ultimum* به‌خصوص باعث پوسیدگی بذر می‌شوند، چنانچه در خاک آلوده *P. aphanidermatum* درصد پوسیدگی بذر در بذره‌های ضدعفونی شده با قارچ کش ۹ و ۱۷ درصد و در بذره‌های ضدعفونی نشده ۹۳ درصد بود در خاک آلوده با *P. ultimum* نیز درصد پوسیدگی بذر در بذره‌های ضدعفونی شده ۲۳ درصد و ۲ درصد و در بذره‌های ضدعفونی نشده ۷۸ درصد بود (Jacobsen, 2006). ویتنی (۱۹۷۴) نیز پوسیدگی بذر چغندرقد را به میزان بالا در اثر آلودگی با *P. aphanidermatum* و به نسبت متوسط در *P. deliense* گزارش داد. او همچنین بوتهمیری گیاهچه‌های چغندرقد را در اثر *P. salinum*، *P. oligandrum* و *P. G.F* گزارش کرد (Whitney, 1974). پی‌تیوم در شرایطی چون عمق زیاد کاشت و آب‌وهوای مرطوب می‌تواند باعث پوسیدگی بذر و حتی بذره‌های ضدعفونی شده شود (Gurnani et al., 2022).

گونه‌های متعددی از پی‌تیوم می‌توانند باعث پوسیدگی بذر، پوسیدگی گیاهچه و پوسیدگی ریشه، طوقه و ساقه در گیاه ذرت شوند. از پا افتادگی گیاهچه به‌وسیله پی‌تیوم یکی از مخرب‌ترین بیماری‌هایی است که تحمل گیاه و بازده محصول را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Levesque et al., 2004). بذره‌های ذرت که در خاک‌های آلوده با پی‌تیوم کاشته شده بودند در آن‌ها روش‌های تلقیح پی‌تیوم به روش‌های مختلفی انجام شده بودند. پوسیدگی بذر ذرت در آزمون‌ها بیش از هم در خاک‌های آلوده با ورمی‌کولایت آغشته به پی‌تیوم در نسبت ۱ به ۱۰ در گونه‌های *P. aphanidermatum*، *P. ostracodes* و *P. ultimum* مشاهده شد و در سایر گونه‌ها درصد پوسیدگی بذر کمتر بود. در گیاهچه‌ها هیچ‌گونه مرگ گیاهچه‌ای مشاهده نشد. این نتایج به کارهای لوسک و همکاران شباهت زیادی دارد (Levesque et al., 2004).

در شرایط آزمایشگاهی در رطوبت بالا در دمای مناسب برای رشد و فعالیت قارچ مشاهده شد که گونه‌های یاد شده دارای قدرت بیماری‌زایی بر روی گیاه ذرت می‌باشند و پوسیدگی بذر و بافت‌مردگی و پوسیدگی طوقه و ریشه در ذرت ایجاد می‌کنند. علت این‌که در شرایط مزرعه خسارات ایجاد شده به‌وسیله این قارچ چشمگیر نیست شاید به دلیل این است که شرایط برای رشد گیاه نسبت به بیمارگرهای یاد شده مساعدتر است و گیاه در برابر آن‌ها مقاومت می‌کند

دما و رطوبت خاک تعیین می‌شود (Hamedi et al., 2019). در آزمایش‌های مربوط به پوسیدگی بذره‌های چغندرقد توسط گونه‌ها و جدایه‌های مختلف پی‌تیوم نیز نتایج قابل‌توجهی حاصل گردید. بذره‌های کاشته شده در خاک‌های آلوده به پی‌تیوم که با روش‌های مختلف مایه‌زنی شده بودند به مقدار زیادی دچار پوسیدگی بذر شدند که درصد پوسیدگی بذر به‌خصوص در جدایه‌های *P. aphanidermatum*، *P. ultimum*، *P. ostracodes* و *P. diclinum* بسیار بالاتر از بقیه گونه بودند. درصد گیاهچه‌هایی که بعد از یک هفته دچار مرگ گیاهچه شدند تنها در آزمونی که مایه‌زنی با ورمی‌کولایت آغشته با خاک انجام شد مشاهده گردید و درصد وقوع آن در نسبت اختلاط ۱ به ۵ مایه مزبور با خاک بیشتر از نسبت اختلاط ۱ به ۱۰ مایه پی‌تیوم با خاک بود. نتایج این پژوهش با نتایج کارهای لوسک و همکاران مطابقت بالایی دارد (Levesque et al., 2004).

گیاهچه‌های چغندرقد یک هفته بعد از مایه‌زنی خاک با *P. aphanidermatum*، *P. ostracodes*، *P. ultimum* و *P. diclinum* درصد گیاهچه‌های مبتلا به مرگ گیاهچه در نسبت ۱ به ۵ اختلاط مایه قارچ با خاک بیشتر از سایر گونه‌ها بود و در *P.G.G* هیچ گونه مرگ گیاهچه‌ای مشاهده نشد. در نسبت اختلاط ۱ به ۱۰ نیز گونه‌های *P. ultimum* و *P. aphanidermatum* بیش از سایر گونه‌ها باعث مرگ گیاهچه شدند. ۱ ماه بعد از مایه‌زنی خاک در نسبت ۱ به ۵ تقریباً تمامی گیاهچه‌های باقی‌مانده در گونه‌های *P. ostracodes*، *P. aphanidermatum* و *P. ultimum* از بین رفتند اما در نسبت ۱ به ۱۰ مرگ گیاهچه یک ماه بعد از مایه‌زنی تنها در بعضی ایزوله‌های *P. deliense*، *P. ultimum* و *P. diclinum* و *P. aphanidermatum* دیده شد. نتایج این مطالعات مطالعات با تحقیقات بوئیان و همکاران مطابقت بیشتری دارد (Bhuiyan et al., 2023).

در تحقیقات انجام شده توسط کرر و همکاران نیز درصد ظهور گیاهچه ۲ هفته بعد از کاشت در خاک آلوده با پی‌تیوم در بذره‌های چغندرقد ۸ درصد و در خاک‌های عاری از آلودگی تا ۷۷ درصد بود (Kerr et al., 2001). به‌طور کلی کاهش محصول در نتیجه از پا افتادگی محصول می‌تواند تا حدود ۱۰۰ درصد باشد و در بیشتر مراحل نابالغ مانند مرحله بذری و گیاهچه جوان قارچ قادر است که راحت‌تر به درون بافت گیاه نفوذ کند. ریشه‌های جوان می‌توانند در هر مرحله‌ای از زندگی و رشد گیاه مورد حمله پی‌تیوم قرار گیرند و گاه تا ۶۰

مختلف قارچ پی تیوم دارد که به خواص بیوشیمیایی سلول ها و بافت های این گیاه بستگی دارد (Gichuru *et al.*, 2013). مطالعات پارکینسون و پیرون نیز مؤید پژوهش فوق است (Parkinson *et al.*, 1963). در ذرت، درحالی که پاتوزن با موفقیت به سطح ریشه متصل است، هیف دچار برخی از تغییرات بیوشیمیایی می شود که منجر به بافت مردگی هیف و مانع از پخش بیشتر بیمارگر می گردد و از آلودگی ذرت به گونه های پی تیوم می کاهد (Rai *et al.*, 2020).

گندم نیز نسبت به چغندر قند مقاومت بیشتری در برابر آلودگی با گونه های مختلف پی تیوم دارد و آلودگی در گندم بیشتر به صورت مرگ گیاهچه و پوسیدگی بذر و در مراحل اولیه بروز می کند. مطالعات هایگن بوتام و همکاران نیز نشان می دهد که ظهور گندم معمولاً یک مشکل جدی در خاک های آلوده به گونه های مختلف پی تیوم نیست. بنابراین تعجب آور نیست که تفاوت چندانی در ظهور گیاهچه تشخیص داده نمی شود. احتمالاً کاهش طول برگ اول و کاهش گسترش سیستم ریشه یک شاخص مناسب تر برای بررسی آلودگی گندم به جدایه های مختلف پی تیوم باشد (Higginbotham *et al.*, 2004).

(Mostowfizadeh-Ghalamfarsa & Banihashemi, 2005). تحقیقات انجام شده در سایر نقاط نیز بیانگر پوسیدگی بذر ذرت به میزان ۴۰ درصد و بافت مردگی ریشه به میزان ۱۵ درصد در خاک های حاوی پی تیوم است (Parveen & Sharma, 2015). نتایج نشان داده است در خاک هایی که با عوامل بیولوژیکی چون *Burkholderia cepacia* تیمار شده بودند پوسیدگی بذر ۲۵ درصد و بافت مردگی ریشه به میزان ۱۵ درصد مشاهده شد (Hebbar *et al.*, 1998). بررسی ها همچنین نشان داد که درصد مرگ گیاهچه در خاک آلوده به پی تیوم ۷۵ درصد و خاک غیر آلوده ۲۵ درصد بود است و شدت پوسیدگی ریشه نیز ۴۵ درصد در خاک آلوده و ۱۵ درصد در خاک غیر آلوده بوده است (Raftoyannis & Dick, 2006). همچنین در بین گونه های پی تیوم که بر روی ذرت بهاره تیمار شده بودند *P. aphanidermatum* از همه گونه ها بیماری زاتر معرفی شده بود (Avan *et al.*, 2020). در خاک های حاوی *P. ultimum* نیز درصد مرگ گیاهچه ذرت ۵۲ درصد بوده است (Callan *et al.*, 1990). نتایج این تحقیق حاکی از این مطلب است که ذرت نسبت به گندم و چغندر قند مقاومت بیشتری در برابر گونه های

References

- Alföldi, J. and Lindblad-Toh, K. 2013. Comparative genomics as a tool to understand evolution and disease. *Genome Research*, 23: 1063-1068. DOI: [10.1101/gr.157503.113](https://doi.org/10.1101/gr.157503.113)
- Alm, R., Ling, L. S., Moir, D. King, B. L., Brown, E. D., Doig, P. C., Smith, D. R., Noonan, B., Guild, B. C., DeJonge, B. L., Carmel, G., Tummino, P. J., Caruso, A., Uria-Nickelsen, M., Mills, D. M., Ives, C., Gibson, R., Merberg, D., Mills, S. D., Jiang, Q., Taylor, D. E., Voivis, G. F. and Trust, T. J. S. 1999. Genomic sequence comparison of two unrelated isolates of the human gastric pathogen *Helicobacter pylori*, *Nature*, 397: 176-180. DOI: [10.1038/16495](https://doi.org/10.1038/16495)
- Anderson, L., Georges, M. 2004. Domestic-animal genomics: deciphering the genetics of complex traits, *Nature Reviews Genetics*, 5: 202-212. DOI: [10.1038/nrg1294](https://doi.org/10.1038/nrg1294)
- Argos, P., Kamer, G., Nicklin, M. J. and Wimmer, E. 1984. Similarity in gene organization and homology between proteins of animal picornaviruses and a plant comovirus suggest common ancestry of these virus families. *Nucleic Acids Research*, 1 (18): 7251-7267. DOI: [10.1093/nar/12.18.7251](https://doi.org/10.1093/nar/12.18.7251)
- Avsec, Ž., Agarwal, V., Visentin, D., Ledsam, J. R., Grabska-Barwinska, A., Taylor, K. R., ... and Kelley, D. R. 2021. Effective gene expression prediction from sequence by integrating long-range interactions. *Nature Methods*, 18(10): 1196-1203.
- Barcia-cruz, R., Balboa, S., Lema, A. and Romalde, J. 2024. Comparative genomics of *Vibrio toranzoniae* strains. *Research Square*, pp. 1-17. DOI: [10.1007/s10123-024-00557-z](https://doi.org/10.1007/s10123-024-00557-z)
- Chain, P., Kurtz, S., Ohlebusch, E. and Slezak, T. 2003. An applications-focused review of comparative genomics tools: capabilities, limitations and future challenges. *Briefing in bioinformatics*, 4: 105-123. DOI: [10.1093/bib/4.2.105](https://doi.org/10.1093/bib/4.2.105)
- Darling, A.E., Miklós, I., Ragan, M. A. 2008. Dynamics of Genome Rearrangement in Bacterial Populations, *PLOS Genetics*, pp. 4-7. DOI: [10.1371/journal.pgen.1000128](https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1000128)
- Dumas, J. and Ninio, J. 1982. efficient algorithms for folding and comparing nucleic acid sequences, *Nucleic Acids Research*, 10: 197-206. DOI: [10.1093/nar/10.1.197](https://doi.org/10.1093/nar/10.1.197)
- Ellegren, H. 2008. Comparative genomics and the study of evolution by natural selection, *Molecular Ecology*, 17(21): 4586-4596. DOI: [10.1111/j.1365-294X.2008.03954.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2008.03954.x)
- Flores, R., Huneau, C., Burlot, L., Lainé, M., Kimmel, E., Pommier, C., Alaux, M., Adam-Blondon, A. F., Pont, C., Quesneville, H. and Salse, J. 2023. SyntenyViewer: a comparative genomics-driven translational research tool. *Database: The Journal of Biological Databases and Curation*, 2023: baad027. DOI: [10.1093/database/baad027](https://doi.org/10.1093/database/baad027)
- Goffeau, A., Barrell, B., Bussey, G. H., Davis, R., Dujon, W. B., Feldmann, H., Galibert, F. J., Hoheisel, D., Jacq, C., Johnston, M., Louis, E. J., Mewes, H. W., Murakami, Y., Philippsen, P., Tettelin, H. and Oliver, S. G. 1996. Life with 6000 genes, *Science*, 274(5287), 546: 563-567.

- Golicz, A. A., Bayer, P. E., Barker, G. C., Edger, P. P., Kim, H., Martinez, P. A., ... and Edwards, D. 2016. The pangenome of an agronomically important crop plant *Brassica oleracea*. *Nature Communications*, 7(1): 13390. DOI: [10.1038/ncomms13390](https://doi.org/10.1038/ncomms13390)
- Gottgens, B., Barton, L. M., Gilbert, J. G. Bench, A. J., Sanchez, M. J., Bahn, S., Mistry, S., Grafham, D., McMurray, A., Vaudin, M., Amaya, E., Bentley, D. R., Green, A. R. and Sinclair, A. M. 2000. Analysis of vertebrate SCL loci identifies conserved enhancers, *Nat, Biotechnology*, 18: 777-787. DOI: [10.1038/72635](https://doi.org/10.1038/72635)
- Gottgens, B., Gilbert, J., Barton, L. M., Grafham, L., Rogers, J. Bentley, D. R. and Green, A. R. 2001. Long-range comparison of human and mouse SCL loci: localized regions of sensitivity to restriction endonucleases correspond precisely with peaks of conserved noncoding sequences, *Genome Research*, 11: 87-97. DOI: [10.1101/gr.153001](https://doi.org/10.1101/gr.153001)
- Haft, D. H. 2015. Using comparative genomics to drive new discoveries in microbiology. *Current Opinion in Microbiology*, 23: 189-196. DOI: [10.1016/j.mib.2014.11.017](https://doi.org/10.1016/j.mib.2014.11.017)
- Hardison, R., Oeltjen, J. and Miller, W. 1997. Long human-mouse sequence alignments reveal novel regulatory elements: a reason to sequence the mouse genome, *Genome Research*, 7: 959-996. DOI: [10.1101/gr.7.10.959](https://doi.org/10.1101/gr.7.10.959)
- Hardison, R. C. 2003. Comparative genomics, *PLoS Biology*, 2: 52-58.
- Lund, J., Chen, F., Hua, Roe, B., Budarf, M., Emanuel, B. S. and Reeves, R. H. 2000. Comparative sequence analysis of 634kb of the mouse chromosome 16 region of conserved synteny with the human velocardiofacial syndrome region on chromosome 22q11.2, *Genomics*, 63: 374-383.
- Paulsen, I. T., Seshadri, R., Nelson, K. E., Eisen, J. A., Heidelberg, J. F., Read, T. D., Dodson, R. J., Umayam, L., Brinkac, L. M., Beanan, M. J., Daugherty, S. C., Deboy, R. T., Durkin, A. S., Kolonay, J. F., Madupu, R., Nelson, W. C., Ayodegi, B., Kraul, M., Shetty, J., Malek, J., Van Aken, S. E., Riedmuller, S., Tettelin, H., Gill, S. R. and White, O. 2000. The *Brucella suis* genome reveals fundamental similarities between animal and plant pathogens and symbionts, *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 20: 13148-13153. DOI: [10.1073/pnas.192319099](https://doi.org/10.1073/pnas.192319099)
- Read, T. D., Salzberg, S. L. and Pop, M. 2000. Comparative genome sequencing for discovery of novel polymorphisms in *Bacillus anthracis*, *Science*, 296: 2028-2033. DOI: [10.1126/science.1071837](https://doi.org/10.1126/science.1071837)
- Sengupta, S. and Azad, R. K. 2023. Leveraging comparative genomics to uncover alien genes in bacterial genomes. *Microbial Genomics*, 9(1): mgen000939. DOI: [10.1099/mgen.0.000939](https://doi.org/10.1099/mgen.0.000939)
- Safari, S. and Mehrabi, A. A. 2020. Association of microsatellite markers with root architecture and agromorphologic traits in diverse germplasm of bread wheat. *Plant Genetic Resources*, 18(6): 437-444.
- Tahmasebi, Z., Safari, S., Arminian, A., & Fatehi, F. 2022. Marker-trait association of Russian wheat aphid (*Diuraphis noxia*) resistance in the global diversity set of wild barely. *Journal of Plant Molecular Breeding*, 10(2): 46-60.
- Touchman, J. 2010. Comparative Genomics, *Nature Education Knowledge*, 3: 10-13.
- Varshney, R. K., Sinha, P., Singh, V. K., Kumar, A., Zhang, Q. and Bennetzen, J. L. 2020. 5Gs for crop genetic improvement. *Current Opinion in Plant Biology*, 56: 190-196.
- Wang, J., Chen, Y. and Zou, Q. 2023. Comparative Genomics and Functional Genomics Analysis in Plants *International Journal of Molecular Sciences*, 24: 6539. DOI: [10.3390/ijms24076539](https://doi.org/10.3390/ijms24076539)
- Wienberg, J., and Stanyon, R. 1998. Comparative chromosome painting of primate genomes, *ILAR*, J39: 77-91. DOI: [10.1093/ilar.39.2-3.77](https://doi.org/10.1093/ilar.39.2-3.77)
- Yang, X., Liu, D., Tschaplinski, T. J. and Tuskan, G. A. 2019. Comparative genomics can provide new insights into the evolutionary mechanisms and gene function in CAM plants. *Journal of Experimental Botany*, 70(22), 6539-6547. DOI: [10.1093/jxb/erz408](https://doi.org/10.1093/jxb/erz408)
- Yugi, K., Kubota, H., Hatano, A., and Kuroda, S. 2016. Trans-omics: how to reconstruct biochemical networks across multiple 'omic' layers. *Trends in Biotechnology*, 34(4): 276-290.
- Zhou, H., Clark, E., Guan, D., Lagarrigue, S., Fang, L., Cheng, H., Tuggle, C. K., Kapoor, M., Wang, Y., Giuffra, E., and Egidy, G. 2025. Comparative Genomics and Epigenomics of Transcriptional Regulation. *Annual Review of Animal Biosciences*, 13(1): 73-98. DOI: [10.1146/annurev-animal-111523-102217](https://doi.org/10.1146/annurev-animal-111523-102217)