

تفاوت‌های تأثیر قارچ مایکوریزا و عناصر تغذیه‌ای بر بعضی از صفات دانه‌ها پسته در برهمکنش با *Phytophthora drechleri* بیمارگر

الهام باب‌زن^۱، مژده ملکی^{۲*}، جلال غلام‌نژاد^۲، فاطمه ناصری‌نسب^۴

چکیده

پسته یکی از مهم‌ترین اقلام صادراتی ایران است. این بیماری در بیشتر مناطق پسته کاری به درخت پسته خسارت وارد می‌کند بیماری گموز با عامل *Phytophthora drechleri* است. قارچ‌های مایکوریزا از جمله میکروارگانیسم‌های موفق در زمینه‌ی کنترل بیولوژیک و از عوامل تأثیرگذار بر کاهش شدت بروز بیماری‌های پوسیدگی ریشه هستند. عناصر غذایی قادر به افزایش سطح تحمل یا مقاومت گیاهان به بعضی بیماری‌ها نیز هستند. در این پژوهش با استفاده از قارچ‌های مایکوریزا و عناصر غذایی مختلف به مبارزه با بیماری گموز پرداخته شد. در این مطالعه ابتدا ترکیبات سولفات آمونیوم، سولفات پتاسیم و سوپرفسفات تریپل علیه این بیماری به کار گرفته شد. نتایج نشان داد که بیشترین میزان کاهش رشد قارچ بیمارگر مربوط به غلظت ۲۵۰۰ پی‌پی‌ام ترکیب سولفات آمونیوم با میزان ۶۷/۱۶ درصد نسبت به شاهد بود. در بخش دوم این مطالعه تأثیر تیمارهای مختلف شامل استفاده از قارچ مایکوریزا و سولفات آمونیوم هر کدام به تنهایی و همچنین ترکیب این دو در کاهش بیماری ناشی از بیمارگر *P. drechleri* بر روی صفاتی مانند وزن تر و خشک ریشه و اندام‌های هوایی و همچنین میزان عناصر فسفر، نیتروژن و پتاسیم مورد ارزیابی قرار گرفت. در نهایت میزان بیان دو ژن پراکسیداز و کاتالاز در این مطالعه ارزیابی شد. نتایج نشان داد زمانی که از تیمار قارچ مایکوریزا و سولفات آمونیوم به صورت هم‌زمان استفاده شد، بیشترین وزن خشک و تر اندام هوایی و ریشه، در مورد هر دو رقم سرخس و بادامی زرد در عدم حضور بیمارگر، مشاهده شد. لازم به ذکر است در مورد بیان ژن نیز تیمار کاربرد هم‌زمان سولفات آمونیوم و قارچ مایکوریزا بیشترین میزان بیان را نشان داد.

واژه‌های کلیدی: بیان ژن، عناصر غذایی، گموز، مایکوریزا

- ۱- دانشجوی کارشناسی ارشد بیماری‌شناسی گیاهی، گروه بیماری‌شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، واحد ورامین-پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، تهران، ایران
- ۲- استادیار گروه بیماری‌شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، واحد ورامین-پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، تهران، ایران
- *نویسنده مسئول: mojdehmaleki@gmail.com
- ۳- استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه اردکان، اردکان، ایران
- ۴- دکتری بیماری‌شناسی گیاهی

مقدمه

درخت پسته اهلی (*Pistacia Vera*) متعلق به تیره‌ی Anacardiaceae است. جنس *Pistacia* دارای ۱۱ گونه است که همگی آن‌ها از خود تراننتین یا سقز ترشح می‌کنند. ایران یکی از بزرگ‌ترین تولیدکنندگان محصول پسته در دنیا با سطح زیر کشت حدود ۴۰۰ هزار هکتار است (شیبانی، ۱۹۹۴).

آفات و بیماری‌ها در باغات پسته سبب کاهش رشد رویشی و محصول درخت می‌شوند. پوسیدگی ریشه و طوقه یکی از مهم‌ترین بیماری‌های درختان پسته است که باغداران اغلب آن را به نام گموز^۱ یا شیرهی سیاه می‌شناسند. این بیماری توسط گونه‌های مختلف قارچ *Phytophthora* در درختان پسته ایجاد می‌شود. درختان پسته در تمام مراحل رشد به این بیماری مبتلا می‌شوند. در اندام هوایی درختان بیمار نشان‌هایی مانند ضعف، کم‌رشدی، زردی، پژمردگی و در نهایت علایم سبز خشکی مشاهده می‌شود. در درختان دارای پوسیدگی، طوقه پوست درخت در محل اتصال تنه به ریشه قهوه‌ای تا سیاه‌رنگ، و شکاف‌هایی در آن دیده می‌شود. در ریشه‌های مسن‌آلوده ناحیه پوست و استوانه‌ی مرکزی ریشه و طوقه به رنگ قهوه‌ای تیره تا سیاه در می‌آید و دچار پوسیدگی می‌شود و ریشه‌های کوچک‌تر نیز در نهایت از بین می‌روند (Morandi, 1996). در حال حاضر از میزان خسارت این بیماری در درختان پسته اطلاع کاملی در دست نیست، اما با توجه به مرگ و میر شدید درختان بیمار و خسارت زیاد به باغداران، اهمیت استفاده از روش‌های نوین در مدیریت این بیماری نمایان‌تر می‌شود. کنترل این بیماری مبتنی بر روش‌های کنترل زراعی و شیمیایی می‌باشد. استفاده از قارچ‌کش‌های شیمیایی باعث معضل باقیمانده‌های سموم در محصول پسته، آلودگی خاک و آب مناطق پسته‌کاری می‌گردد. بنابراین پژوهشگران به دنبال روش‌های جایگزین به جای استفاده از سموم شیمیایی بوده‌اند (Banihashemi, 1984). روش‌های مختلفی برای مدیریت بیماری‌های ناشی از قارچ *Phytophthora* در مناطق یا باغ‌های آلوده پیشنهاد شده است ولی بیشترین تأکید بر روی استفاده از ارقام مقاوم و پیشگیری می‌باشد. یکی از مهم‌ترین موارد در خصوص بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه، بافت و ساختمان خاک و چگونگی قرار گرفتن لایه‌های خاک در یک باغ آلوده می‌باشد که شدت و خسارت بیماری را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Teviotdale et al., 2002).

از روش‌های دیگری که برای مبارزه با بیماری می‌توان به آن اشاره نمود معالجه‌ی قسمت‌های آلوده طوقه و ریشه درختان با استفاده از قارچ‌کش‌های مختلف همچون مخلوط بردو، اکسی کلراید مس و یا قارچکش‌های موثر دیگر می‌باشد که به‌طور معمول توسط باغداران استفاده می‌شود (Morandi, 1996). در سال‌های اخیر کنترل‌زیستی بیماری‌های گیاهی با استفاده از میکروارگانیسم‌های آنتاگونیست مطرح و مورد توجه واقع شده است. این میکروارگانیسم‌ها که در ناحیه‌ی ریزوسفر زندگی می‌کنند، به عنوان سدی دفاعی علیه بیمارگرهای خاکزی و گزینه‌ی مناسبی برای استفاده در روش‌های کنترل بیولوژیک هستند

¹ Gummosis

(Weller, 1988). قارچ‌های مایکوریزا از جمله میکروارگانیسم‌های موفق در زمینه‌ی کنترل بیولوژیک و از عوامل تأثیرگذار بر کاهش شدت بروز بیماری‌های پوسیدگی ریشه هستند که به دلیل رقابت با عامل بیماری برای اشغال ریشه و افزایش شاخص‌های رشدی، اثرات مخرب ناشی از بیماری را کاهش می‌دهند. گزارش شده است رقابت برای تلقیح ریشه در گیاهان، آنتی‌بیوز مستقیم، فعال شدن مسیرهای دفاعی گیاهی، تولید ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی و همچنین بالا رفتن فعالیت بعضی از آنزیم‌های پاداکساینده در گیاه میزبان قارچ مایکوریزا مورد مشاهده قرار گرفته است (Fillion *et al.*, 2003).

کلونیزاسیون ریشه توسط قارچ مایکوریزا و انتقال بهتر عناصر مذکور به نهال‌های پسته باعث جذب بیشتر عناصر به وسیله‌ی گیاه می‌شود. قارچ‌های مایکوریزا روی غلظت عناصر پتاسیم، نیتروژن و فسفر در ریشه و اندام‌های هوایی تأثیر می‌گذارد و باعث افزایش جذب عناصر توسط ریشه‌ها و انتقال آن‌ها به اندام‌های هوایی نسبت به نهال‌های شاهد می‌شود. این موضوع توسط محققین مختلف روی سایر محصولات کشاورزی نیز گزارش شده است (Turnau *et al.*, 2001).

درخت پسته با توجه به قابلیت رشد در اکوسیستم‌های گرم و خشک، خاک‌های نسبتاً شور و تحمل به آبیاری شور قابلیت همزیستی بالایی با قارچ‌های مایکوریزا دارد. بنابراین با استفاده از پتانسیل این قارچ‌ها در افزایش رشد، تحمل به شوری و تحمل به تنش‌های آبی می‌توان شرایط مناسب‌تری برای کشت محصولات کشاورزی از جمله پسته فراهم نمود (Bagheri *et al.*, 2012).

تغذیه‌ی صحیح گیاه یکی از عوامل مهم در بهبود کمی و کیفی محصول به‌شمار می‌رود. تمامی عناصر غذایی، سلامتی گیاهان را تحت تأثیر قرار داده و حساسیت آن‌ها را به بیماری‌های گیاهی نیز تحت الشعاع قرار می‌دهند (Mengel *et al.*, 2001). گیاهان تحت تأثیر یک تنش تغذیه‌ای به بیماری‌های گیاهی بسیار حساس می‌باشند و این در حالی است که میزان تغذیه‌ی کافی برای گیاهان آن‌ها را به بیماری‌ها مقاوم‌تر می‌نماید (Barker & Pilbeam, 2006). عناصر غذایی می‌توانند اثر مهمی بر تمام جنبه‌های چرخه بیماری داشته باشند. عناصر غذایی قادرند محیط‌زیست را تحت تأثیر قرار دهند، چرا که این عناصر سیستم خاکی و توانایی گیاهان برای مقاومت به شرایط متنوع آب و هوایی را تغییر می‌دهند.

همزیستی قارچ مایکوریزا با درختان مختلف در مطالعات زیادی به اثبات رسیده است. نتایج مطالعات محققان دیگر نشان داد که پس از بررسی ارقام مختلف نهال‌های پسته پنج ساله در باغ‌های ایالت کالیفرنیا، بیش از ۵۰٪ سیستم ریشه‌ای آن‌ها همزیستی مایکوریزایی دارند (Shamshiri and Fattahi, 2016). تحقیقی با عنوان کارایی سویه‌های بومی *Trichoderma harzianum* در بیوکنترل گموز پسته در استان‌های کرمان، یزد، خراسان رضوی و سمنان انجام شد. پس از تعیین میزان کارایی‌های تریکودرما در آزمایشگاه به روش کشت متقابل با *Phytophthora melonis*، برهمکنش آن‌ها با قارچ بیمارگر در آزمایشگاه با ارزیابی تداخل فیزیکی هیف، ترشحات فرار و غیرفرار و آزمایش‌های گلخانه‌ای انجام گرفت. در برهمکنش با

تری‌کودرما رشد رویشی قارچ *P. melnis* در سطوح مختلف تحت تاثیر قرار گرفت و در سطح معناداری کاهش یافت (Fani et al., 2015).

اثرات متقابل بین گیاهان، عناصر غذایی و عوامل بیماری‌زای گیاهی پیچیده و تا حدودی ناشناخته است. با وجود ناشناخته بودن این نوع اثرات، مباحث مربوط به نقش عناصر غذایی در بروز بیماری‌های گیاهی، در اولویت برنامه‌های کنترل قرار دارد. در بسیاری از خاک‌ها و محیط‌کشت گیاهان، عوامل بیماری‌زای زیادی یافت می‌شوند. در چنین شرایطی، گیاهانی که از کمبود عناصر غذایی رنج می‌برند مقاومت کمتری دارند و به انواع مختلف عوامل بیماری‌زا حساس‌تر هستند. از این رو تمام عناصر غذایی قادرند بروز بیماری در گیاهان را تحت تأثیر قرار دهند. برخی از عناصر غذایی اثر بیشتر و مستقیمی بر بروز بیماری‌های گیاهی دارند. بنابراین توانایی گیاه برای بیان این پتانسیل ژنتیکی یعنی مقاومت به بیماری می‌تواند تحت تأثیر عناصر غذایی قرار گیرد (Reise et al., 1982). گونه‌ها یا ارقامی که مقاومت ژنتیکی بالایی به بیماری دارند، ممکن است نسبت به گیاهان مقاوم به بیماری با تغییر عناصر غذایی، کمتر تحت تأثیر قرار گیرند (Cherif et al., 1992). همچنین گیاهانی که از نظر ژنتیکی بسیار حساس هستند ممکن است حساس باقی بمانند لیکن با تغذیه مناسب قادرند اثرات ناشی از عامل بیماری‌زا را کم و در برابر بیماری مقاومت کنند. محققان خاطر نشان نمودند که شدت بسیاری از بیماری‌ها می‌تواند کم شود و کنترل شیمیایی، بیولوژیکی یا ژنتیکی بسیاری از عوامل بیماری‌زای گیاهی با تغذیه مناسب تقویت می‌شود. از این رو توصیه‌های کودی بدین سبب انجام می‌گیرد که جذب عناصر غذایی بهینه و محصولی بالاترین عملکرد تولید شود. در بسیاری از موارد، توصیه‌های کودی مناسب، محصول را در برابر بیماری‌ها مقاوم می‌کند (Menzies and Belanger, 1996). با توجه به اینکه بیماری گموز همواره به گیاه پسته خسارت فراوان وارد می‌کند، و از جهت دیگر استفاده از سموم قارچکش باعث ایجاد آلودگی‌های زیست محیطی و همچنین بیماری‌های خطرناک در انسان و دام می‌شود، لذا در این مطالعه با استفاده از ترکیبات غذایی و استفاده از قارچ میکوریز به مدیریت این بیماری پرداخته شده است. در این مطالعه ابتدا تأثیر ترکیبات غذایی در محیط کشت بر روی بیماری بررسی شد و سپس تأثیر قارچ میکوریز و ترکیبات غذایی بر روی صفات مختلف از جمله وزن تر و خشک ساقه و ریشه، میزان عناصر نیتروژن، پتاسیم و فسفر بررسی شد. در نهایت میزان بیان نسبی دو ژن کاتالاز و پراکسیداز مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

ایزوله‌ی بیمارگر

عامل بیمارگر *Phytophthora drechsleri* از درختان آلوده در منطقه‌ی ورامین (ایزوله‌ی V6) جداسازی شد و در آزمایشات مورد استفاده قرار گرفت. که گونه‌ی فوق بر اساس مشخصات مورفولوژیکی اندام‌های تولیدمثل جنسی و غیرجنسی تشخیص داده شد.

برای تهیه‌ی مایه‌ی تلقیح بیمارگر *P. drechsleri* از فلاسک‌های حاوی برنج استفاده شد. ۲۵ گرم برنج در فلاسک‌های ۲۵۰ میلی‌لیتری محتوی ۱۵ میلی‌لیتر آب ریخته شد. فلاسک‌ها طی دو روز متوالی هر بار به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه‌ی سلسیوس و فشار یک اتمسفر استریل شدند، سپس شش قرص میسلیمیوم از پرگنه‌های جوان (سه روزه) کشت داده شده بر روی محیط CMA^۱ برداشته و به هر فلاسک اضافه شد. فلاسک‌ها به مدت سه هفته در ۲۵ درجه‌ی سلسیوس و تاریکی نگهداری شدند (Holmes & Benson, 1994).

تهیه خاک

خاک مورد استفاده به نسبت ۲:۱ به ترتیب خاک بکر از مناطق پسته کاری ورامین و ماسه شسته شده از مزرعه کشاورزی تهیه شد. نمونه‌های خاک به مدت یک ساعت در دمای ۱۲۱ درجه‌ی سلسیوس و فشار ۱/۵ اتمسفر قرار گرفتند و پس از سرد شدن گلدان‌های یک کیلوگرمی به اندازه‌ی سه چهارم حجم گلدان با آن پر شدند.

آزمون بیماری‌زایی

به منظور اثبات بیماری‌زایی از گیاهچه‌های دو ماهه پسته رقم سرخس استفاده شد. مایه‌زنی با اضافه کردن پنج گرم مایه‌ی تلقیح عامل بیماری به ازای یک کیلوگرم خاک در هر گلدان انجام شد. برای تیمار شاهد از برنج سترون شده بدون عامل بیماری استفاده شد. نتایج یک تا پنج هفته با ارزیابی پیشرفت بیماری و کشت بافت آلوده بر محیط‌های کشت نیمه انتخابی بررسی شدند. آزمون‌های این تحقیق در دو قسمت آزمون‌های گلخانه‌ای و آزمایشگاهی انجام شد.

^۱ Corn Meal Agar

آزمون آزمایشگاهی

عناصر غذایی

عناصر غذایی که در این تحقیق مورد استفاده قرار گرفت شامل ترکیبات سولفات آمونیوم، سولفات پتاسیم و سوپرفسفات تریپل بودند که هر کدام از آن‌ها در سه غلظت ۵۰۰، ۱۵۰۰ و ۲۵۰۰ پی‌پی‌ام در محیط کشت مورد استفاده قرار گرفتند. بر اساس نتایج آزمون‌های آزمایشگاهی سولفات آمونیوم انتخاب شد و در غلظت ۱/۵٪ و همراه با قارچ میکوریزا در تیمارهای گلدانی مورد استفاده قرار گرفت.

در این آزمون پس از تهیه‌ی محیط کشت CMA، ترکیبات غذایی به محیط کشت در داخل ظرف پتری اضافه شدند، محیط کشت‌های مورد استفاده در این تحقیق شامل سولفات آمونیوم، سولفات پتاسیم و سوپرفسفات تریپل در غلظت‌های ۵۰۰، ۱۵۰۰ و ۲۵۰۰ پی‌پی‌ام بودند. محیط کشت پایه (CMA) پس از تهیه، در دستگاه اتوکلاو به مدت ۲۰ دقیقه تحت فشار یک اتمسفر و در دمای ۱۲۱ درجه‌ی سلسیوس قرار گرفت، و سترون شد. ظرف حاوی محیط کشت در دمای اتاق قرار داده شد و زمانی که دمای آن به حدود ۴۵ درجه‌ی سلسیوس رسید، ترکیبات غذایی در غلظت‌های مورد نظر به آن‌ها اضافه شدند. محیط‌های تهیه شده بلافاصله درون پتری‌های یکبار مصرف به قطر نه سانتی‌متر تقسیم شدند و اجازه داده شد تا محیط‌ها منعقد شوند. سپس دیسک‌های قارچ به قطر پنج میلی‌متر از کشت‌های یک هفته‌ای تهیه و در قسمت وسط پتری حاوی محیط کشت قرار داده شد. بعد از این مرحله ظروف پتری در انکوباتور ۲۵ درجه‌ی سلسیوس قرار داده شدند تا زمانی که سطح ظروف پتری شاهد توسط قارچ اشغال شود (هر ۲۴ ساعت یکبار اندازه‌گیری شد). قطر پرگنه‌ها پس از گذشت ۲۴، ۷۲، ۹۶ ساعت و تا پایان آزمایش اندازه‌گیری شد. این آزمایش با سه تکرار در مورد هر غلظت انجام شد. محاسبه درصد جلوگیری از رشد میسلیوم و تجزیه و تحلیل آماری بر اساس معادله ۱ (Gholamnejad *et al.*, 2010) صورت گرفت.

معادله (۱)

$$\text{درصد جلوگیری از رشد میسلیوم} = \frac{\text{میانگین قطر میسلیوم در تیمار} - \text{میانگین قطر میسلیوم در شاهد}}{\text{میانگین قطر میسلیوم در شاهد}} \times 100$$

آزمون گلخانه‌ای

گیاهان و قارچ‌های مورد استفاده در این تحقیق

در این تحقیق از دو پایه‌ی پسته سرخس و بادامی زرنده استفاده شد. بذر پایه‌های سرخس و بادامی زرنده از نهالستان‌های شهرستان رفسنجان تهیه شد.

قارچ میکوریزا (Myco Root) مخلوطی از سه گونه‌ی *Glomus mosea*، *G. etunicatum* و *G. intraradices* است و از موسسه‌ی آب و خاک کرج دریافت شدند.

آماده‌سازی گلدان‌ها و دانهال‌ها

در این تحقیق از گلدان‌های پلاستیکی به ارتفاع ۲۰ cm با قطر دهانه ۲۳ cm استفاده شد. وزن هر گلدان خالی ۱۹۴ گرم بود و به هر گلدان ۶ کیلوگرم خاک الک شده اضافه گردید.

بذر گیاه پسته از رفسنجان خریداری شد. در مرداد ماه ۱۳۹۶ در گلدان‌های مذکور این بذور کشت داده (در هر گلدان سه بذر پسته) شدند و در طی سه هفته در مرحله‌ی ۴-۳ برگی شدند و رطوبت گلدان‌ها ۸۰ درصد FC نگه داشته شد. میانگین دما در زمان نگهداری حدوداً 22 ± 2 و 18 ± 2 درجه‌ی سلسیوس در روز و شب بود. گلدان‌ها به طور متوسط ۱۶ ساعت در نور و هشت ساعت در تاریکی نگهداری شدند.

بذور پس از ضدعفونی سطحی با هیپوکلریت سدیم ۱۰ درصد، در پارچه مرطوب و در دمای مناسب برای جوانه زنی در انکوباتور با دمای ۲۵ درجه سلسیوس به مدت یک هفته قرار داده شد. در مرحله‌ی بعد بذور جوانه زده شده در گلدان‌هایی حاوی شش کیلوگرم خاک کشت و همزمان مایه‌کوبی گیاه با قارچ میکوریزا در دو سطح ۴۰ گرم به ازای هر گلدان انجام شد (برای هر دو سطح حداقل ۱۰۰۰ پروپاگول قارچ به محیط ریشه اضافه شد). در طول دوره رشد آبیاری در ظرفیت مزرعه FC به روش وزنی انجام شد (Shamsi et al., 2019).

دو ماه بعد از مایه‌زنی با قارچ میکوریزا و اطمینان از کلنیزاسیون ریشه‌ها، گیاهان موردنظر با عامل بیمار گر *P. drechsleri* تکثیر شد و بر روی برنج در گلدان‌ها مایه‌زنی شدند. برای مایه‌زنی مقداری از خاک سطحی گلدان‌ها برداشته و دور تا دور گلدان‌ها شیارها ایجاد شد تا ریشه نهال‌ها نمایان شود. برای هر گلدان ۲۰ گرم مایه‌ی قارچ به صورت یکنواخت داخل شیارها ریخته شد و سپس خاک برداشته شده از گلدان‌ها روی مایه قارچ ریخته شد. با افزودن آب مقطر، گلدان‌ها به صورت غرقاب در آمده و ۲۴ ساعت در این حالت قرار گرفتند. پس از این مدت سوراخ کوچکی در ته گلدان‌ها ایجاد شد تا آب اضافی از گلدان‌ها خارج شود. ۱۰۰ میلی لیتر از این زه‌آب (آب خروجی از ته گلدان) برداشته شد و برای ردیابی زئوسپوره‌های قارچ مورد استفاده قرار گرفت. آبیاری گلدان‌ها هر سه روز یکبار و بلافاصله با خشک شدن سطح خاک انجام گرفت.

اعمال تیمار کود سولفات آمونیوم

بر اساس نتایج آزمایشگاهی و تأثیر مثبت این کود بر جلوگیری از رشد قارچ این تیمار انتخاب شد و به صورت محلول پاشی بر روی برگ در غلظت‌های یک و نیم درصد مورد استفاده قرار گرفت. محلول پاشی بر روی گیاهان مورد تیمار هر دو هفته یکبار تا پایان آزمایش انجام گرفت. محلول پاشی گیاهان هم‌زمان با تلقیح ریشه‌های گیاهان با مایکوریزا انجام گرفت. پنج ماه بعد از کشت اولیه بذور پسته و هم‌زمان با از بین رفتن گیاهان آلوده به بیمارگر که هیچ‌گونه بیماری بر روی آن‌ها اعمال نشده بود، آزمایش پایان یافت و سپس نمونه‌گیری برای اندازه‌گیری بعضی از پارامترها از گیاهان صورت گرفت.

صفات مورد اندازه‌گیری

اندازه‌گیری فعالیت بیمارگر

برای تعیین درصد تشکیل کلونی *P. dreschleri* از هر تیمار چهار قطعه‌ی حداکثر یک سانتی‌متری از ریشه‌ها به صورت تصادفی جدا شدند و پس از شستشو با آب و خشک کردن لابه‌لای دستمال کاغذی استریل، بر روی محیط CMA-PARP کشت داده شدند.

وزن تر و خشک (اندام هوایی و ریشه)

بلافاصله بعد خارج کردن گیاهان از خاک، کل گیاهان به آزمایشگاه انتقال داده شدند و پس از شستشوی اندام هوایی و ریشه‌ها جدا گردید، بلافاصله وزن تر هر یک اندازه‌گیری شد. سپس نمونه‌ها داخل پاکت جداگانه گذاشته و داخل آون ۷۰ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد. در نهایت نمونه‌های خشک شده از آون بیرون آورده شد و وزن خشک اندام هوایی و ریشه نیز به‌طور جداگانه با ترازوی با دقت یک صدم اندازه‌گیری شد (Gholamnejad et al., 2010).

اندازه‌گیری عناصر غذایی

برای اندازه‌گیری یون پتاسیم قسمت‌های هوایی هر گیاه به‌طور جداگانه با آب مقطر شسته شد. بافت در دمای ۷۰ درجه سلسیوس آون خشک شد، پس از چهار روز آسیاب و پودر شدند. سپس برای اندازه‌گیری یون پتاسیم یک گرم از پودر خشک هر نمونه وزن و در کروزه چینی در دمای ۵۵۰ درجه سلسیوس پس از ۵ ساعت به خاکستر تبدیل شد. پس از عصاره‌گیری با کلریدریک اسید دو نرمال طبق روش چاپمن و پرت (Chapman and Pratt, 1961) مقدار پتاسیم با استفاده از دستگاه فلیم‌فتومتر (مدل Model PEP7, Jenway, Dunmow, UK) خوانده شد و اندازه‌گیری فسفر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل Jenus) انجام شد (Chapman & Pratt, P.F. 1961). برای اندازه‌گیری نیتروژن کل خاک از روش کج‌دال (Bakhshi- v40، ساخت ایران) استفاده شد (Mulvaney & Bremner, 1982).

اندازه‌گیری بیان ژن‌های دفاعی

بررسی میزان بیان بعضی از ژن‌های دفاعی در سطح نسخه‌برداری

دانهال‌های پسته مانند بند قبل تیمار شدند. بعد از اینکه دانهال‌ها با قارچ بیمارگر تیمار شدند و بعد از پایان یافتن آزمایش برای اندازه‌گیری بیان ژن‌ها، نمونه‌برداری از رقم بادامی زرد تحت تیماری مختلف، انجام گرفت. دانهال‌های پسته مانند آزمون اندازه‌گیری عناصر تیمار شدند، و نمونه‌برداری برای اندازه‌گیری بیان ژن‌ها در روزهای مذکور انجام گرفت. بعد از نمونه‌برداری، برگ‌های نمونه برداری شده تا زمان استفاده در نیتروژن مایع قرار داده و سپس به فریزر ۸۰- منتقل شد. برای استخراج RNA کل، نمونه‌ها از فریزر خارج شدند و استخراج RNA توسط کیت RNXplus (سیناژن، ایران) و بر اساس دستورالعمل شرکت انجام پذیرفت (Gholamnezhad *et al.*, 2016).

ساخت cDNA توسط آنزیم رونویسی معکوس

ساخت رشته‌ی cDNA از روی mRNAهای کل سلول با استفاده از آغازگر Oligo- (dt)18 تعبیه شده در کیت RevertAid Reverse Transcriptase (شرکت Thermo Scientific، آلمان) و بر اساس دستورالعمل ارائه شده در کیت انجام شد. به منظور اطمینان از عدم آلودگی RNA به DNA ژنومی، قبل از ساخت cDNA با استفاده از آغازگرهای اختصاصی واکنش PCR با rRNA استخراجی انجام شد و در مورد هیچ یک از rRNAهای استخراجی، باندی در واکنش PCR آنها مشاهده نشد.

بررسی الگوی بیان ژن‌های منتخب با روش Real time-PCR

الگوی بیان دو ژن شامل ژن‌های رمزکننده‌ی کاتالاز، پراکسیداز در سطح نسخه‌برداری با استفاده از آغازگرهای مناسب (جدول ۱) و روش PCR کمی از نوع کمیت‌سنجی نسبی بررسی شدند. ژن توپولین به عنوان ژن خانه‌دار انتخاب شد. تکثیر cDNA در واکنش کمی PCR از نوع کمیت‌سنجی نسبی، بر طبق دستورالعمل کیت YTA SYBR Green qPCR Master Mix (2x) (یکتاتجهیزآزما، ایران) و با استفاده از ترموسایکلر ویژه PCR کمی (Corbett RG-6000) انجام گرفت. برای تعیین میزان تغییرات بیان ژن‌ها در طی نقاط زمانی از روش Livak استفاده شد (Livak *et al.*, 2001). بلافاصله بعد از انجام واکنش Real time PCR، محصول واکنش روی ژل Run شد و از کارکرد اختصاصی واکنش اطمینان حاصل شد. الگوی بیان ژن‌ها با استفاده از دستگاه ترموسایکلر زمان واقعی (Corbett RG-6000) بررسی شد.

میزان بیان ژن‌های دفاعی منتخب بر اساس ژن توپولین (ژن خانه‌دار) با بیان ثابت نرمال شد و سپس میزان تغییرات

بیان ژن در همه‌ی تیمارها نسبت به شاهد سنجیده شد.

میانگین مربوط به هر ژن در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار (دو تکرار زیستی و دو تکرار روشی) تجزیه واریانس شد. نتایج به دست آمده از Real time RT-PCR با استفاده از آزمون چند دامنه‌ی دانکن در سطح خطای ۰/۰۵ و با استفاده از نرم‌افزار SAS ver.9 انجام گرفت. داده‌ها بر اساس آزمون Skewness و Kurtosis نرمال بودند.

جدول ۱: آغازگرهای مورد استفاده در آزمایش Real time PCR

Name of genes	Primers sequences	طول قطعه
Catalase	F: TTTCGCCGTCAAGACTTACA R: ATGAAGAAGACGGGGAAG TT	۱۵۶
Peroxidase	F: GATCTTCGTGCTCGTGGAGA R: TGTAATGTTTTGCTGTCAG	۱۷۶
Tubolin- α	F: GCTTCAACACCTTCTTCAG R: GGGGCATAGGAGGAAAGCA	۲۱۰

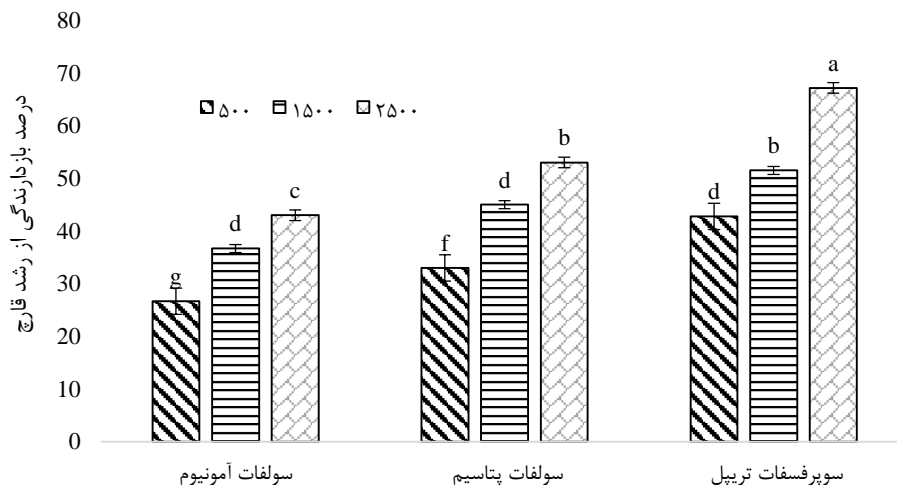
تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

تجزیه واریانس کلیه داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.1 صورت گرفت و مقایسه میانگین‌ها بر مبنای آزمون دانکن در سطح احتمال یک درصد انجام شد و در نهایت رسم نمودارها به کمک نرم‌افزار Excel صورت گرفت.

نتایج

تأثیر عناصر غذایی بر کاهش رشد بیمارگر در محیط کشت

بر اساس نتایج تجزیه واریانس (داده‌ها نشان داده نشده است) مشخص شد که بین تیمارهای مختلف (شامل عناصر غذایی مختلف و غلظت‌های آن‌ها) بر کاهش رشد قارچ از نظر آماری در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی‌دار وجود دارد. نتایج مقایسه میانگین نشان داد که با افزایش غلظت عناصر غذایی در ترکیبات مختلف میزان رشد قارچ در مورد هر سه ترکیب سولفات آمونیوم، سولفات پتاسیم و سوپرفسفات تریپل کاهش پیدا کرد (نمودار ۱). بیشترین میزان کاهش رشد قارچ بیمارگر مربوط به غلظت ۲۵۰۰ پی‌پی‌ام ترکیب سولفات آمونیوم با میزان ۶۷/۱۶ درصد نسبت به شاهد بود. غلظت‌های ۲۵۰۰ پی‌پی‌ام از سولفات پتاسیم، ۱۵۰۰ پی‌پی‌ام از سولفات آمونیوم و ۲۵۰۰ پی‌پی‌ام از سوپرفسفات تریپل به ترتیب با میزان کنترل ۵۳/۲، ۵۱/۱۲ و ۴۵/۴۲ درصد کاهش رشد قارچ بیمارگر نسبت به شاهد در رتبه‌های بعدی قرار داشتند، (نمودار ۱). کمترین درصد کاهش رشد بیمارگر نسبت به شاهد در مورد هر سه ترکیب سولفات آمونیوم، سولفات پتاسیم و سوپرفسفات تریپل مربوط به غلظت ۵۰۰ پی‌پی‌ام به ترتیب با میزان ۴۲/۸۶، ۳۳ و ۲۶/۶۶ درصد بود.



نمودار ۱: مقایسه‌ی میانگین اثر تیمارهای مختلف شامل غلظت‌های مختلف سولفات آمونیوم، سولفات پتاسیم و سوپرفسفات تریپل بر میزان رشد بیمارگر در محیط کشت، اعداد میانگین چهار تکرار و بر حسب درصد هستند که نسبت به شاهد سنجیده شده‌اند.

وزن تر و خشک (اندام هوایی و ریشه)

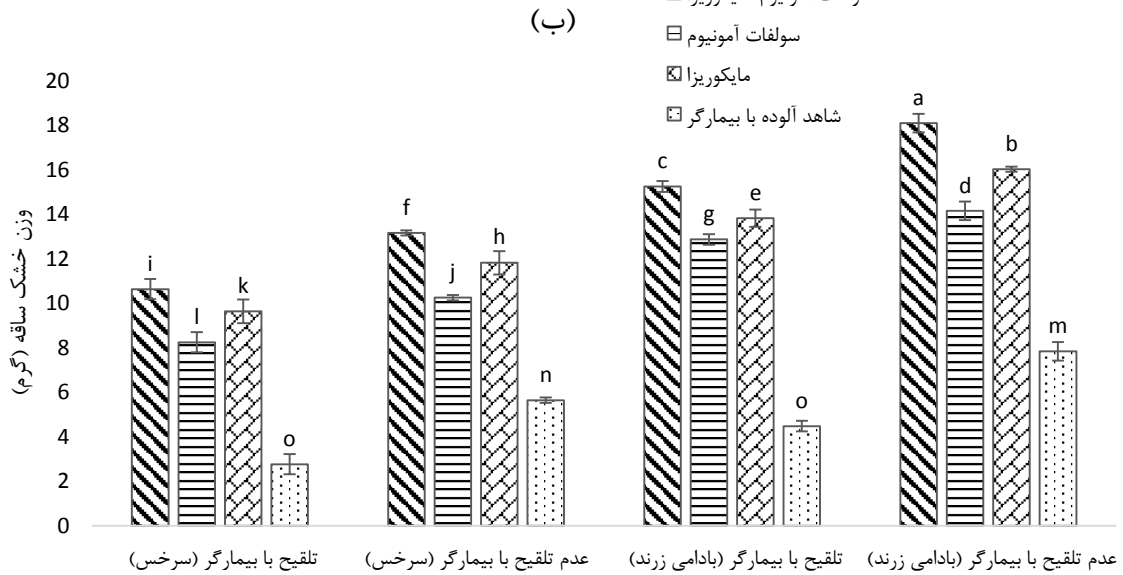
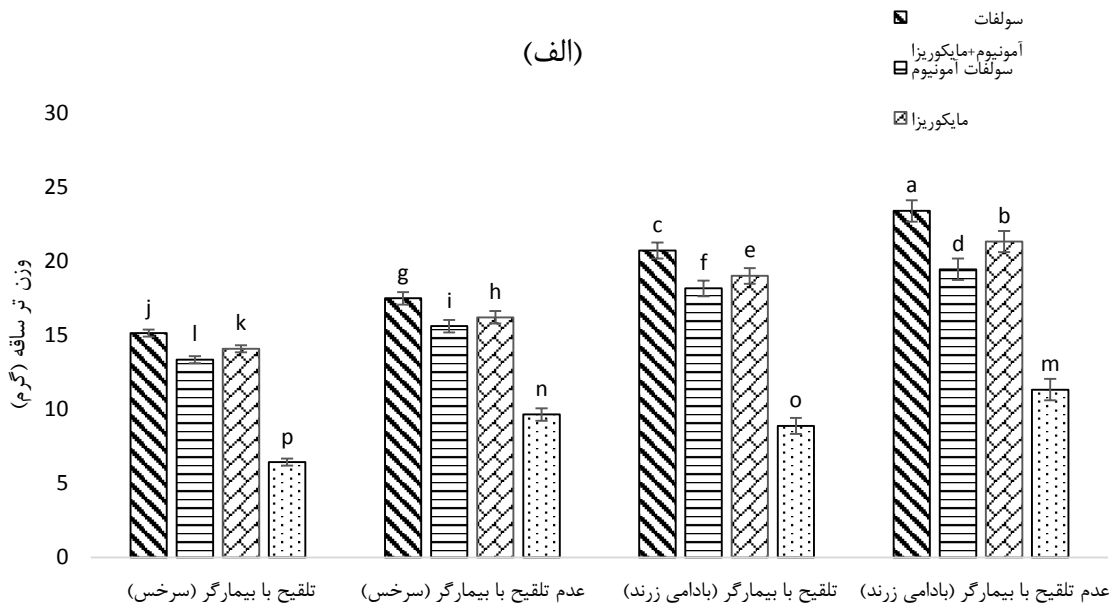
بر اساس نتایج تجزیه واریانس (داده‌ها نشان داده نشده است) مشخص شد که بین تیمارهای مختلف (استفاده جداگانه از قارچ میکوریزا و سولفات آمونیوم و همچنین کاربرد همزمان آن‌ها در حضور و عدم حضور بیمارگر و همچنین شاهد در مورد دو رقم سرخس و بادامی) از لحاظ تأثیر بر افزایش وزن تر و خشک ریشه و همچنین اندام هوایی از نظر آماری در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی‌دار وجود دارد.

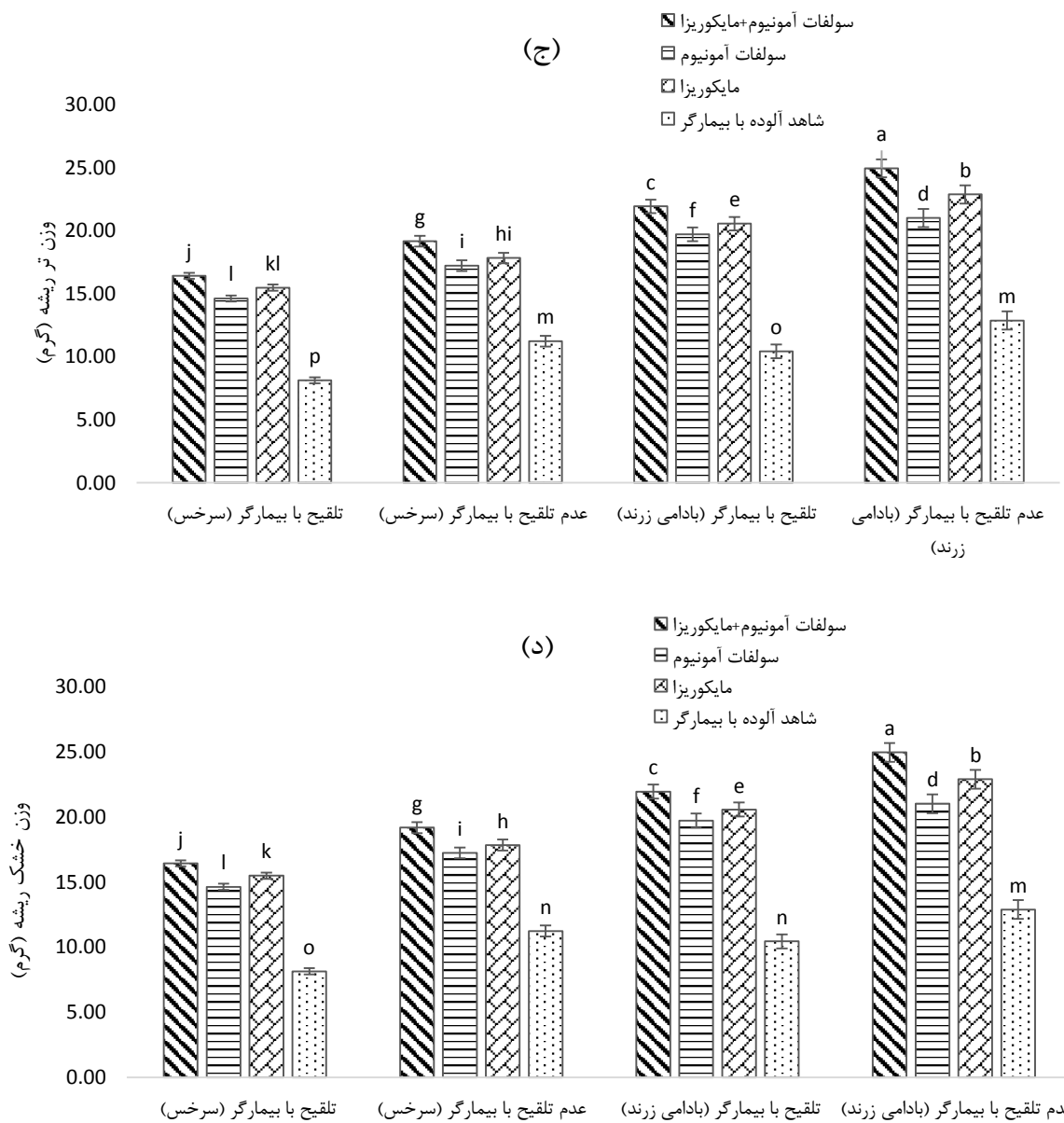
در مورد صفت وزن تر اندام هوایی، تیمار استفاده‌ی توأم قارچ میکوریزا و سولفات آمونیوم در عدم حضور بیمارگر و در مورد رقم بادامی زرد با مقدار ۲۳/۴۱ گرم بیشترین مقدار را در بین تیمارها نشان داد که این مقدار با سایر مقادیر دارای اختلاف معنی‌دار بود و در بالاترین سطح آماری قرار داشت و بعد از آن تیمار استفاده از قارچ میکوریزا به تنهایی روی رقم بادامی زرد در عدم حضور بیمارگر به میزان ۲۱/۳۴ گرم بود. (نمودار ۲ الف). تیمار استفاده‌ی توأم از قارچ میکوریزا و سولفات آمونیوم در حضور بیمارگر و روی بادامی زرد رتبه‌ی سوم را با میزان ۲۰/۷۳ گرم به خود اختصاص داد. کمترین میزان وزن تر در ارقام سرخس و بادامی زرد مربوط به شاهد‌های آلوده و سالم به ترتیب با میزان ۶/۴۵، ۹/۶۵ (رقم سرخس) ۸/۸۹، ۱۱/۳۴ (مربوط به رقم بادامی زرد) بود و بعد از آن تیمار سولفات آمونیوم به ترتیب در حضور بیمارگر و عدم حضور بیمارگر با مقادیر ۱۴/۰۹ و ۱۶/۲۲ (رقم سرخس)، ۱۸/۱۷ و ۱۹/۴۶ (رقم بادامی زرد) قرار داشتند.

تیمار استفاده‌ی توأم قارچ میکوریزا و سولفات آمونیوم در عدم حضور بیمارگر و در مورد رقم بادامی زرد با مقدار ۲۳/۴۱ گرم بیشترین مقدار وزن خشک اندام هوایی را نشان داد، که این مقدار با سایر مقادیر دارای اختلاف معنی‌دار بود و در

بالاترین سطح آماری قرار داشت و بعد از آن تیمار استفاده از قارچ میکوریزا به تنهایی روی رقم بادامی زرنند در عدم حضور بیمارگر به میزان ۱۶/۰۲ گرم بود (نمودار ۲ ب). تیمار استفاده‌ی توأم از قارچ میکوریزا و سولفات آمونیوم در حضور بیمارگر و روی بادامی زرنند رتبه‌ی سوم را با میزان ۹/۷۶۳ گرم به خود اختصاص داد. کمترین میزان وزن خشک در ارقام سرخس و بادامی‌زرنند مربوط به شاهد‌های آلوده و سالم به ترتیب با میزان گرم ۳/۷۶، ۵/۴۳ (رقم سرخس) ۴/۴۷، ۷/۸۳ (مربوط به رقم بادامی زرنند) بود و بعد از آن تیمار سولفات آمونیوم به ترتیب در حضور بیمارگر و عدم حضور بیمارگر با مقادیر ۸/۲۴ و ۱۰/۲۸ گرم (رقم سرخس)، ۱۲/۸۴ و ۱۶/۰۲ گرم (رقم بادامی زرنند) قرار داشتند.

در مورد وزن تر و خشک ریشه روند مانند وزن تر و خشک اندام‌هوایی بود. در مورد وزن تر ریشه، تیمار استفاده‌ی توأم از قارچ میکوریزا و سولفات آمونیوم در رقم بادامی در عدم حضور بیمارگر بیشترین مقدار را (۲۱/۹۳ گرم) نشان داد. بعد از این تیمار، به ترتیب تیمار استفاده از قارچ میکوریزا در عدم حضور بیمارگر و سپس تیمار استفاده‌ی توأم از قارچ میکوریزا و سولفات آمونیوم در حضور بیمارگر هر دو روی بادامی زرنند، به ترتیب با مقادیر ۲۲/۸۸ و ۲۱/۹۳ گرم، بیشترین مقادیر را نشان دادند. تیمار استفاده‌ی توأم قارچ میکوریزا و سولفات آمونیوم در عدم حضور بیمارگر در رقم بادامی زرنند (۱۸/۷۵ گرم) بیشترین مقدار وزن خشک را نشان داد، که این مقدار با سایر مقادیر دارای اختلاف معنی‌دار بود و در بالاترین سطح آماری قرار داشت و بعد از آن تیمار استفاده از قارچ میکوریزا به تنهایی روی رقم بادامی زرنند در عدم حضور بیمارگر به میزان ۱۶/۶۸ گرم بود (نمودار ۲). تیمار استفاده‌ی توأم از قارچ میکوریزا و سولفات آمونیوم در حضور بیمارگر در رقم بادامی زرنند رتبه‌ی سوم را با میزان ۱۵/۷۳ گرم به خود اختصاص داد. کمترین میزان وزن تر و خشک ریشه در ارقام سرخس و بادامی‌زرنند مربوط به شاهد آلوده و سپس شاهد سالم بود (نمودار ۲ ج و د).





نمودار ۲: مقایسه‌ی میانگین مربوط به آزمون تأثیر تیمارهای مختلف شامل ارقام (سرخس، بادامی زرد)، قارچ مایکوزینا و سولفات آمونیوم در حضور و عدم حضور بیمارگر بر وزن تر و خشک ریشه و ساقه‌ی پسته، اعداد نمودارها میانگین چهار تکرار، وزن (بر حسب گرم) است. تیمارهایی که با حروف مختلف در ستون‌ها نشان داده شده‌اند در آزمون دانکن دارای اختلاف معنی دار می‌باشند. ($P < 0.01$)

پتاسیم، فسفر و نیتروژن

نتایج تجزیه واریانس (داده‌ها نشان داده نشده است) نشان می‌دهد که بین تیمارهای مختلف از لحاظ تأثیر بر میزان

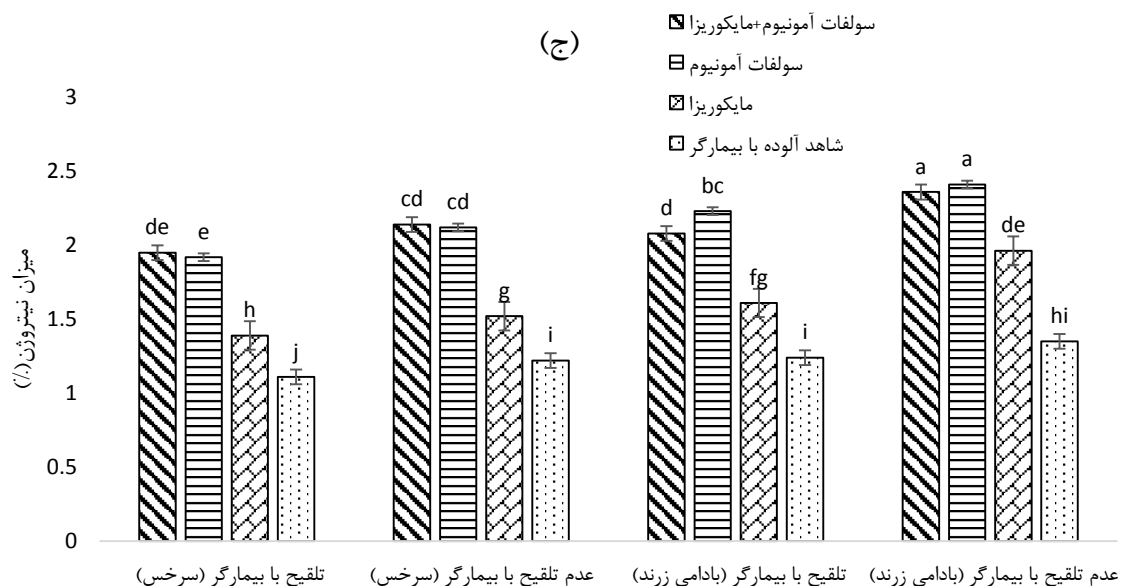
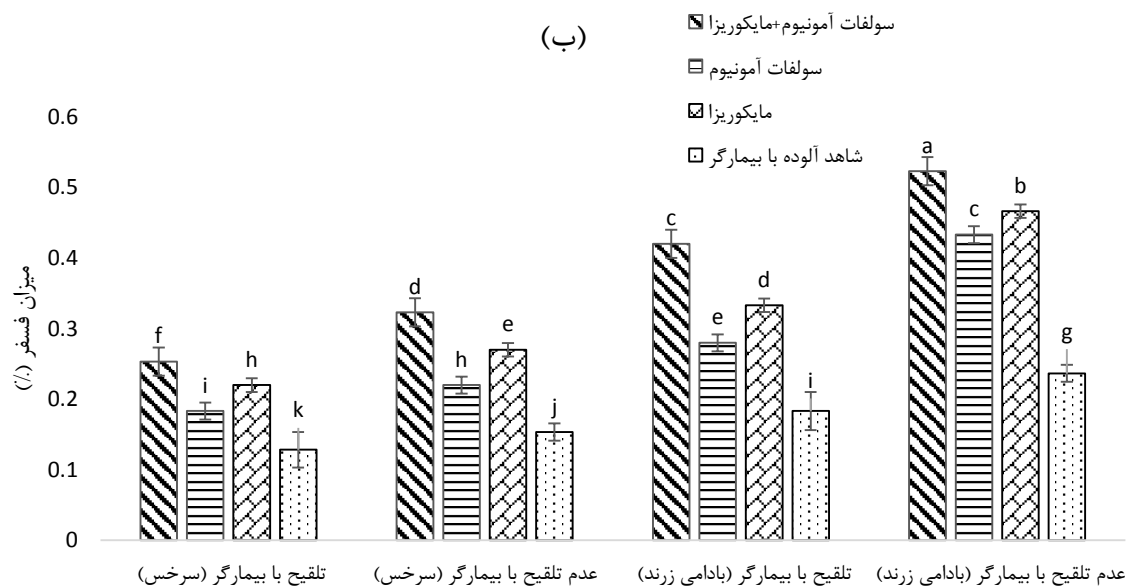
پتاسیم، فسفر و نیتروژن از نظر آماری در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی دار وجود دارد.

اعمال تیمارهای مختلف باعث ایجاد تغییراتی در میزان پتاسیم شد، به نحوی که تیمار استفاده‌ی توأم قارچ میکوریزا و سولفات آمونیوم در عدم حضور بیمارگر و در مورد رقم بادامی با میزان ۱/۵۳ درصد بیشترین مقدار پتاسیم را با اختلاف معنی‌دار نسبت به سایر تیمارهای استفاده شده در این تحقیق، نشان داد و بعد از آن تیمار استفاده از قارچ میکوریزا به تنهایی روی رقم بادامی در عدم حضور بیمارگر به میزان ۱/۴۲ درصد بود (نمودار ۳ الف). تیمار استفاده‌ی توأم از قارچ میکوریزا و سولفات آمونیوم در حضور بیمارگر و روی رقم بادامی میزان ۱/۲۹ درصد در جایگاه سوم از نظر میزان پتاسیم قرار گرفت. کمترین میزان پتاسیم در ارقام سرخس و بادامی‌زرنده مربوط به شاهد‌های آلوده و سالم به ترتیب با میزان ۰/۷۵، ۰/۸۵ (رقم سرخس) ۰/۹۲، ۰/۹۷ درصد (مربوط به رقم بادامی‌زرنده) بود و بعد از آن تیمار سولفات آمونیوم به ترتیب در حضور بیمارگر و عدم حضور بیمارگر با مقادیر ۰/۸۵ و ۱/۰۰ درصد (رقم سرخس)، ۱/۰۹ و ۱/۳۵ درصد (رقم بادامی‌زرنده) قرار داشتند.

میزان فسفر نیز مانند پتاسیم تحت تأثیر تیمارهای اعمال شده قرار گرفت، به نحوی که تیمار استفاده‌ی توأم قارچ میکوریزا و سولفات آمونیوم در عدم حضور بیمارگر و در مورد رقم بادامی با میزان ۰/۵۲ درصد بیشترین مقدار فسفر را با اختلاف معنی‌دار نسبت به سایر تیمارهای استفاده شده در این تحقیق نشان داد، و بعد از آن تیمار استفاده از قارچ میکوریزا به تنهایی روی رقم بادامی در عدم حضور بیمارگر به میزان ۰/۴۶ درصد بود (نمودار ۳ ب). تیمار استفاده از سولفات آمونیوم به تنهایی بر رقم بادامی در عدم حضور بیمارگر و همچنین تیمار استفاده‌ی توأم از قارچ میکوریزا و سولفات آمونیوم در حضور بیمارگر در رقم بادامی به ترتیب با مقادیر ۰/۴۳ و ۰/۴۲ درصد رتبه‌ی سوم را از آن خود کردند. کمترین میزان فسفر در ارقام سرخس و بادامی‌زرنده مربوط به شاهد‌های آلوده و سالم به ترتیب با میزان ۰/۱۲، ۰/۱۵ درصد رقم سرخس ۰/۱۸، ۰/۲۳ درصد (مربوط به رقم بادامی‌زرنده) بود و بعد از آن تیمار سولفات آمونیوم به ترتیب در حضور بیمارگر و عدم حضور بیمارگر با مقادیر ۰/۱۸ و ۰/۲۲ درصد (رقم سرخس)، ۰/۲۸ درصد (رقم بادامی‌زرنده) قرار داشتند (نمودار ۳ ب).

روند تغییرات میزان نیتروژن در پسته‌های تحت تیمار به علت کاربرد سولفات آمونیوم با روند تغییرات پتاسیم و فسفر اندازه‌گیری شده متفاوت بود. در بین تیمارهای مطالعه شده، گیاهانی که با استفاده از سولفات آمونیوم تیمار شده بودند، همواره از بقیه تیمارها مقدار نیتروژن بیشتری را نشان دادند و همچنین با گیاهان تیمار شده با میکوریزا و سولفات آمونیوم اختلاف معنی‌دار نشان ندادند. تیمار استفاده از سولفات آمونیوم در عدم حضور بیمارگر و در مورد رقم بادامی با میزان ۲/۴۱ درصد بیشترین مقدار نیتروژن را از نظر عددی نشان داد و در عین حال با تیمار استفاده‌ی توأم از قارچ میکوریزا و سولفات آمونیوم در رقم بادامی در عدم حضور بیمارگر هم اختلاف معنی‌داری نشان نداد ولی با سایر تیمارها اختلاف معنی‌دار نشان داد. تیمار استفاده از قارچ میکوریزا به تنهایی در مورد هر دو رقم بادامی و سرخس همواره کمتر از تیمار استفاده توأم از قارچ میکوریزا و سولفات آمونیوم و همچنین استفاده از سولفات آمونیوم به تنهایی بود و مقادیر آن برای دو رقم سرخس و بادامی در حضور و

همچنین عدم حضور بیمارگر به ترتیب ۱/۳۹، ۱/۵۲، ۱/۶۱ و ۱/۹۶ درصد مشاهده شد (نمودار ۳ ج). کمترین میزان نیتروژن در ارقام سرخس و بادامی‌زرد مربوط به شاهد‌های آلوده و سالم به ترتیب با میزان ۱/۱۱، ۱/۲۲ درصد (رقم سرخس) ۱/۳۵، ۱/۲۴ درصد (مربوط به رقم بادامی‌زرد) بود.

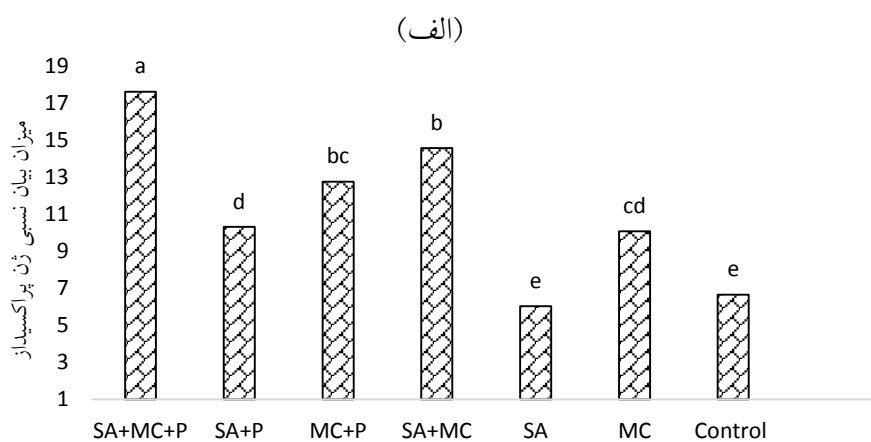


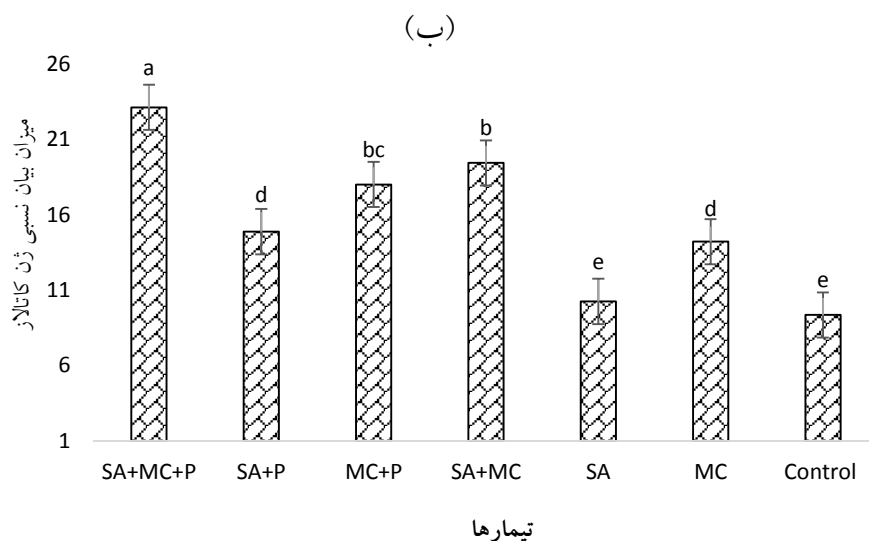
نمودار ۳: مقایسه‌ی میانگین اثرات متقابل تیمارهای مختلف (شامل قارچ مایکوریزا و سولفات آمونیم) و ارقام متفاوت پسته بر پتاسیم (نمودار الف)، فسفر (نمودار ب) و نیتروژن نمودار ج)، اعداد نمودار میانگین چهار تکرار، وزن (بر حسب گرم) است. تیمارهایی که با حروف مختلف در ستون‌ها نشان داده شده‌اند در آزمون دانکن ($P < 0.01$) دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند.

بررسی میزان بیان نسبی ژن‌های کاتالاز و پراکسیداز

منحنی‌های ذوب قطعات تکثیری تنها یک پیک برای هر ژن نشان دادند، که نشان‌دهنده‌ی اختصاصیت قطعات تکثیری در این آزمون است. برای اطمینان دوباره از تکثیر قطعات در واکنش محصول حاصل بر روی ژل الکتروفورز Run شد، و بعد از رنگ‌آمیزی باندهایی با اندازه‌ی مورد انتظار به دست آمد. بر اساس نتایج تجزیه واریانس بین تیمارهای مختلف از نظر میزان بیان نسبی ژن پراکسیداز اختلاف معنی‌دار وجود دارد. میزان بیان ژن پراکسیداز بعد از پایان آزمایش در بین تیمارهای مختلف اعمال شده بر روی دانهال‌های پسته متفاوت بود. کمترین میزان بیان ژن پراکسیداز در بین تیمارها مربوط به تیمار شاهد آلوده به میزان ۶/۶۵ برابر میزان بیان این ژن در شاهد سالم بود. بیشترین میزان بیان مربوط به استفاده‌ی توآمان قارچ میکوریزا و ترکیب سولفات آمونیوم در دانهال‌های آلوده به بیمارگر و بعد از آن همین تیمار بدون استفاده از بیمارگر به ترتیب به میزان ۱۷/۶۱ و ۱۴/۵۸ بود (نمودار ۴ الف).

بر اساس نتایج تجزیه واریانس (داده‌ها نشان داده نشده است) بین تیمارهای مختلف از نظر میزان بیان نسبی ژن کاتالاز اختلاف معنی‌دار وجود دارد. در مورد میزان نسبی بیان ژن کاتالاز نیز روندی مانند بیان ژن پراکسیداز طی شد. بیشترین میزان بیان این ژن مربوط به تیمار استفاده‌ی توآمان قارچ میکوریزا و ترکیب سولفات آمونیوم در دانهال‌های آلوده به بیمارگر به میزان ۲۳/۶۴ برابر میزان بیان این ژن در شاهد سالم بود. بعد از این تیمار به ترتیب تیمارهای استفاده توآمان قارچ میکوریزا و ترکیب سولفات آمونیوم در دانهال‌های سالم، استفاده از میکوریز در دانهالی آلوده به بیمارگر و استفاده از سولفات آمونیوم در گیاهان آلوده به بیمارگر به ترتیب با مقادیر عددی ۱۹/۴۵، ۱۸/۰۲ و ۱۴/۸۹ قرار داشتند (نمودار ۴ ب).





نمودار ۴: تأثیر تیمارهای مختلف سولفات آمونیوم و مایکوریزا بر میزان بیان نسبی ژن‌های پراکسیداز (الف) و کاتالاز (ب). گیاهان سالم به عنوان شاهد در نظر گرفته شدند. SA: سولفات آمونیوم، MC: قارچ مایکوریزا، P: بیمارگر، Control: شاهد آلوده با بیمارگر؛ داده‌ها (میزان بیان نسبی ژن) میانگین سه تکرار هستند.

بحث

بر اساس نتایج این تحقیق، ترکیبات غذایی اثرات بازداندگی بر رشد قارچ بیمارگر دارند و در این بین، سولفات آمونیوم بیشترین اثر قارچ‌کشی را نشان داد. اثر قارچ‌کشی در مورد سولفات آمونیوم و پتاسیم در ارتباط با عنصر گوگرد به کار رفته در ترکیب این عناصر و در مورد سوپرفسفات تریپل مربوط به عنصر فسفر به کار رفته در این ترکیبات می‌باشد. اثرات قارچ‌کشی این دو عنصر بارها در تحقیقات مختلف مورد اثبات قرار گرفته است، تا جایی که این دو عنصر پایه‌ی تعداد زیادی از قارچ‌کش‌ها می‌باشند. گوگرد برای کنترل سفیدک‌های پودری بهترین قارچ‌کش است (Gaikwad & Karkeli, 1994).

تحقیقات نشان داده است که گوگرد در سطح گیاه به صورت یون S^{2-} در آمده و پس از ورود به قارچ بیمارگر بر سیستم تنفسی قارچ اثر خواهد کرد و مانع انتقال الکترون به اکسیژن می‌شود (Rabie & Almadini, 2005). گوگرد در دماهای بیشتر از ۱۴ درجه سلسیوس به صورت بخار درآمده و در این حالت بر بیماری مؤثر است. یکی دیگر از مکانیسم‌هایی که گوگرد ممکن است باعث از بین رفتن میکروارگانیسم‌ها شود تغییر pH است. در مطالعات مختلف نشان داده شده است که اسیدیتته پایین اثر بازدارندگی بر بیمارگر *Fusarium oxysporum* f.sp *caelorum* دارد (Tivoli et al., 1990). نتایج این تحقیق نشان داد که هم افزایش و هم کاهش دادن اسیدیتته محیط کشت اصلی (شاهد)، منجر به کاهش رشد قارچ شد. در تحقیقی نشان داده شد که با کاهش اسیدیتته، کلونیزاسیون قارچ به طور معنی داری کاهش می‌یابد (Andrison, 1994).

کمبود پتاسیم باعث ایجاد نشت در دیواره‌ی سلولی و در نتیجه ورود قند و آمینواسید به فضای آپوپلاست برگ می‌شود (Prabhu *et al.*, 2007). نیتروژن به عنوان عنصر اصلی تشکیل دهنده‌ی اسیدآمینها در سلول، ارتباط مستقیمی با فراوانی اسیدهای آمینه دارد و لذا باعث ایجاد مقدار زیادی آمینواسید و دیگر ترکیبات نیتروژن دار در بافت گیاه می‌شود. تعادل عناصر غذایی باعث فراهم آمدن شرایط نامساعد برای بیمارگرهای قارچی و در نتیجه باعث کاهش مقاومت گیاه به بیمارگرهای گیاهی می‌شود (van Bruggen, 2016).

کمبود نیتروژن در گیاه باعث ایجاد علائم مشخصی مانند این که برگ‌های گیاه سبز کم‌رنگ یا متمایل به زرد می‌شود، شروع علائم از نوک برگ‌های پیر شروع می‌شود. ابتدا برگ‌های پیر گیاه، زرد رنگ و سپس قهوه‌ای کم‌رنگ می‌شود و ریزش می‌کنند، ساقه‌ها کوتاه و نازک شده، کاهش پنجه در غلات، افزایش نسبت ریشه به تاج و کاهش ریشه‌های ثانویه از علائم گیاهان با کمبود نیتروژن است که بروز پیدا می‌کند (Rabie & Almadini, 2005).

تحقیقات بیانگر آن است که فسفیت، رشد قارچ‌های *Phytophthora* در ریشه را بطور مستقیم محدود می‌نماید، علاوه بر آن سبب تحریک سیستم دفاعی گیاه در برابر عوامل بیماری‌زا می‌گردد (Forster *et al.*, 1999). با اینکه فسفیت برخی از قارچ‌های اومیسیت^۱ را به‌خوبی کنترل می‌کند اما بر اغلب قارچ‌های خاکزی تأثیر ناچیز دارد. فسفیت علاوه بر این که دارای خاصیت قارچکشی است، می‌تواند باعث ساخته شدن دامنه‌ی گسترده‌ای از متابولیت‌ها ثانویه در گیاهان شود. متابولیت‌های ثانویه علاوه بر این که دارای خاصیت قارچکشی هستند، گیاه را نیز در برابر تنش‌های زیستی و غیرزیستی مقاوم خواهند کرد. متابولیت‌های ثانویه در واقع ترکیباتی ضد قارچ هستند که هیچ‌گونه اثر تخریبی برای محیط‌زیست هم ندارند (Lovatt, 1999). نتایج تحقیقی نشان داد که مایه‌زنی گیاه پسته با قارچ میکوریز گلوموس موزا و یا مخلوط چند گونه با هم همراه با عناصر ریزمغذی باعث افزایش وزن خشک ریشه می‌شود. تأثیر مایه‌زنی گیاهان مختلف با گونه‌های قارچ میکوریزا در سطوح ترکیبات غذایی که توسط محققین مختلف مورد بررسی قرار گرفته‌است بیانگر اثرات مثبت این همزیستی بر افزایش وزن تر و خشک اندام‌های هوایی می‌باشد (Wu & Zou, 2009).

پژوهشگران مختلف افزایش وزن تر و خشک گیاهانی که در حضور قارچ میکوریزا بوده‌اند را گزارش کرده‌اند، و دلیل این امر را بیشتر بهبود شرایط جذب عناصر غذایی به وسیله‌ی این گیاهان ذکر نموده‌اند (Jeffries *et al.*, 2003). در این راستا، افزایش وزن خشک گیاهان تلقیح شده در محیط‌های تحت تنش مشاهده و اعلام شد که تلقیح میکوریزایی با افزایش توسعه ریشه سبب کاهش اثرات زیانبار تنش‌های زیستی و غیر زیستی می‌شود (Ruiz-Lozano *et al.*, 1996).

¹ Oomycetes

نتایج تحقیقی در سال ۲۰۰۰ نشان داد که تلقیح پیاز با قارچ‌های میکوریز موجب افزایش معنی‌دار وزن تر و خشک اندام هوایی، مقدار فسفر اندام هوایی و عملکرد غده‌ها نسبت به گیاهان تلقیح نشده می‌گردد (Mahaveer & Alok, 2000).

استفاده از قارچ میکوریزا در کنار عناصر مغذی باعث بهبود وضع رشدی گیاه می‌شود، که این پدیده را می‌توان به افزایش سطوح جاذب گیاه و همچنین رفع نیاز گیاه به عناصر مورد نیاز خود ریشه نسبت داد.

قارچ‌های میکوریزا از جمله میکروارگانیسم‌های موفق در زمینه‌ی کنترل بیولوژیک و از عوامل تأثیرگذار بر کاهش شدت بروز بیماری‌های پوسیدگی ریشه و افزایش شاخص‌های رشدی هستند. این قارچ‌ها به دلیل رابطه‌ی پیچیده‌ای که با گیاه میزبان خود برقرار می‌کنند اثرات مخرب ناشی از بیماری را کاهش می‌دهند. بر اساس نتایج یک تحقیق، رقابت برای کلینزاسیون ریشه در گیاهان، آنتی‌بیوز مستقیم و فعال شدن واکنش‌های دفاعی گیاه از جمله سازوکارهای موثر در کنترل بیولوژیک بیماری‌ها توسط قارچ‌های میکوریزا داخلی می‌باشند (Morandi, 1996). کلینزاسیون ریشه توسط قارچ‌های میکوریزا باعث ایجاد تغییرات بیوشیمیایی و مورفولوژیکی در بافت‌های میزبان می‌شود که تحریک و فعال شدن مسیر فنیل پروپانویید و تولید ترکیبات فنلی و ایزوفلاونوئیدها، تغییر در محتویات آمینواسیدهای آزاد، فعال شدن ژن‌های دفاعی و افزایش فعالیت هیدرولازها، افزایش استحکام دیواره‌ی سلول‌ها با رسوب کالوز و پروتئین‌های غیراستروئیدی و نیز لیگنینی و سوبرینی شدن دیواره‌ی سلول‌ها و تغییر جمعیت میکروبی خاک به خصوص در ناحیه‌ی میکوریزوسفر از مهم‌ترین آن‌ها می‌باشد. نتایج پژوهشی نشان داد که مایه‌زنی گیاه لوبیا با قارچ *G. intradices* باعث کاهش علائم پوسیدگی ریشه در اثر قارچ بیمارگر *F. solani* می‌شود (Fillion *et al.*, 2003).

عناصر غذایی بر روی ویژگی‌های ساختمانی و سلولی گیاه از جمله ضخامت کوتیکول و اپیدرم، سیلیسی شدن، لیگنینی شدن و بسیاری از اعمال حیاتی دیگر سلول تأثیر دارد. عوامل دیگر در میزبان مانند قدرت و سرعت رشد گیاه که سبب فرار از بیماری می‌شوند نیز تحت تأثیر تغذیه‌ی گیاه قرار دارند، لذا عناصر غذایی بر روی وقوع و توسعه‌ی بیماری‌های گیاهی تأثیر می‌گذارند (Gholamnezhad *et al.*, 2019).

به دنبال استفاده از قارچ میکوریزا و سولفات آمونیوم افزایش در ارتفاع گیاه و همچنین افزایش در سطح برگ مشاهده شد؛ که این افزایش در درجه‌ی اول احتمالاً ناشی از اثرات تامین عناصر معدنی برای گیاه بوده است (Marschner, 1995). کمبود عناصر معدنی سبب کوتاه ماندن فاصله میانگره و جلوگیری از رشد طولی ساقه می‌شود (Saravanan *et al.*, 2007). نتایج این تحقیق نشان داد که با اعمال تیمارهای قارچ میکوریزا و همچنین سولفات آمونیوم میزان عناصر نیتروژن پتاسیم و همچنین فسفر در اندام هوایی گیاه پسته افزایش پیدا می‌کند.

آزمایشی دیگری روی گیاه پیاز (*Allium cepa*) انجام گرفت نتایج نشان داد که همزیستی میکوریزی باعث افزایش

غلظت فسفر در بافت گیاهان می‌گردد (Mozzaffari & Malakouti, 2006).

بوته‌های گندم فقیر از لحاظ فسفر به طور فیزیولوژیکی تحت فشار و مستعد ابتلا به بیماری‌هایی مانند پوسیدگی ریشه‌ها هستند. تحقیقات نشان داده‌اند که مفیدترین عنصر غذایی در افزایش مقاومت در گیاهچه، فسفر است زیرا با تولید ریشه‌های قوی و متعدد در گیاهچه باعث فرار گیاه از بیماری‌های قارچی می‌شود (Dordas, 2008). به نظر می‌رسد که نقش فسفر در افزایش مقاومت گیاه به علت بهبود بخشیدن به فرایند رسیدن محصول است که باعث می‌شود بیمارگرهایی که بافت‌های جوان را ترجیح می‌دهند فرصت آلوده کردن گیاه را نداشته باشند (Agrios, 2005).

پتاسیم مهم‌ترین عنصر در محلول‌های غیرآلی گیاه است و نقش مهمی در کاهش پتانسیل اسمزی در مغز ریشه دارد که لازمه فشار تورگر برای سلول، انتقال شیره خام در آوند چوبی و متعادل ساختن آب گیاه است (Liang *et al.*, 2005). در شرایط شوری سدیمی نه تنها مقادیر زیاد سدیم در جذب پتاسیم به وسیله‌ی ریشه مزاحمت ایجاد می‌کند بلکه به غشا سلولی نیز آسیب می‌زند (Flowers & Dalmond, 1992).

نتایج تحقیقات محمودی و همکاران (۱۳۸۲) نشان داد که همزیستی میکوریزی، غلظت نیتروژن موجود در اندام هوایی گیاه پسته را افزایش داد. گیاهان پسته پرورش یافته در فسفر نسبتاً زیاد، نیتروژن بیشتری در ریشه و اندام هوایی خود داشتند در صورتی که غلظت نیتروژن در این بخش‌ها تحت شرایط فسفر کم، پایین‌تر بود. Oliver و همکاران (۱۹۸۳) دریافتند در شرایط کمبود فسفر گیاهان میکوریزی توانایی بیشتری برای احیای نیترات از طریق نیترات ردوکتاز نسبت به گیاهان بدون میکوریزی دارند. افزایش فعالیت نیترات ردوکتاز به بهبود تغذیه فسفوری ناشی از آغشتگی میکوریزا نیز نسبت داده شده است. بنابراین کمبود فسفر می‌تواند مانع از احیای نیترات شود. شیرانی راد و همکاران (۱۳۸۹) در تحقیقات خود بر روی گیاه ذرت به این نتیجه رسیدند که بین کاربرد و عدم کاربرد میکوریزا در کارایی جذب نیتروژن تفاوت معنی داری وجود ندارد. Robert در سال ۲۰۰۱ گزارش داد که همزیستی با میکوریزا در شرایط تنش‌های زیستی مانند عوامل بیماری‌زای قارچی بر میزان نیتروژن گیاهان تأثیر زیادی دارد و این یافته‌ها با نتایج ما مطابقت داشت.

گیاهان مرکباتی که با قارچ‌های میکوریزایی تلقیح شده بودند افزایش وزن خشک کل، غلظت نیتروژن، پتاسیم و منیزیم را نشان دادند (Youpensuk *et al.*, 2009).

اثر نیتروژن در تحقیقات صورت گرفته بسیار متغیر می‌باشد. این تفاوت‌ها به دلیل تفاوت در فرم کود نیتروژن مورد استفاده، نوع بیمارگر و مرحله‌ی رشدی گیاه است. در واقع اثر نیتروژن به دلیل تعامل بیماری و میزبان بستگی به عوامل متعددی از جمله پاسخ میزبان، کشت قبلی، نیتروژن باقی مانده در خاک، زمان استفاده از نیتروژن، میکروفلورخاک، نسبت آمونیوم به نیترات و نوع بیمارگر دارد. مطالعات نشان داده است اگر بیمارگر انگل اجباری باشد استفاده از نیتروژن سبب افزایش بیماری شده اما زمانی که بیمارگر انگل اختیاری باشد با افزایش نیتروژن بیماری کاهش پیدا می‌کند (Dordas, 2008).

در آزمون بررسی تغییرات بیان ژن‌های کاتالاز و پراکسیداز، میزان بیان نسبی این دو ژن دقیقاً روندی همانند داشتند. نتایج این مطالعه نشان داد که قارچ میکوریزا و سولفات آمونیوم هر دو قادر به افزایش بیان ژن این دو آنزیم هستند، به عبارت دیگر استفاده از این دو عامل باعث مقاوم‌تر شدن گیاه در برابر شرایط نامساعد و تنش‌های زیستی می‌گردد. همانطور که می‌دانیم قارچ‌های میکوریزا می‌توانند با گیاه ارتباط همزیستی برقرار کنند.

قارچ میکوریزا زندگی پارازیت اجباری با گیاه میزبان خود دارد و باید با گیاه میزبان خود سازگاری کامل داشته باشد تا بتواند با آن زندگی همزیستی برقرار کند و به عبارتی ساده‌تر بر گیاه میزبان خود سوار شود، این برقراری زندگی پارازیتی نیاز به فرایندهای علامت‌دهی (Signalling) و ارتباطات پیچیده‌ی مولکولی بین دو موجود است (Haddad *et al.*, 2004). در این رابطه ژن‌های زیادی از هر دو موجود فعال و باعث ایجاد این ارتباط می‌شوند، یک دسته از ژن‌هایی که در ارتباط با قارچ‌های پارازیت فعال می‌شوند ژن‌های دفاعی میزبان هستند که از آن جمله می‌توان به ژن‌های تولیدکننده و بالابرنده فعالیت آنزیم‌های پاداکساینده، مانند کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز، اشاره نمود (Haddad *et al.*, 2004; Gholamnezhad *et al.*, 2014).

جمع‌بندی

بیماری گموز باعث کاهش شاخص‌های رشدی و نامناسب‌شدن شرایط فیزیولوژیکی گیاه می‌شود. استفاده از سولفات آمونیوم و قارچ میکوریزا باعث بهتر شدن شاخص‌های رشدی و شرایط فیزیولوژیک گیاه می‌شود. استفاده از ترکیبات غذایی در محیط کشت باعث کاهش رشد بیمارگر بود و این کاهش نشان‌دهنده‌ی تأثیر مثبت ترکیبات غذایی در کاهش این بیماری می‌باشد. این ترکیب غذایی علاوه بر افزایش رشد در گیاه باعث افزایش میزان بیان دو ژن کاتالاز و پراکسیداز شد. سولفات آمونیوم دو عنصر مورد نیاز گیاه یعنی گوگرد و نیتروژن را تأمین می‌کند و از طرف دیگر بر اساس نتایج این پژوهش هم اثر قارچ‌کشی و هم اثر فعال‌کننده‌ی سیستم دفاعی گیاه را دارد که باعث افزایش بیان ژن‌های دفاعی می‌گردد. با اتکا به نتایج این تحقیق سولفات آمونیوم ترکیبی بسیار کاربردی در کشاورزی معرفی می‌شود و می‌توان آن را به کشاورزان برای افزایش عملکرد در واحد سطح و همچنین افزایش مقاومت به تنش‌های زیستی و غیر زیستی معرفی نمود، از طرفی استفاده از قارچ‌های میکوریزا در زمینه‌ی افزایش رشد و در نتیجه افزایش عملکرد گیاهی بسیار کاربردی و مفید، مورد مشاهده قرار گرفتند؛ لذا پیشنهاد می‌شود که بر روی فرمولاسیون‌هایی که ترکیبی از قارچ‌های میکوریزا و ترکیبات غذایی مانند سولفات آمونیوم است، تحقیقات بیشتری صورت بگیرد.

منابع

- Agrios, G.N. (2005). Plant Pathology. 5th ed. Academic Perss, San Diego, USA. 948pp.
- Bagheri, V., Shamshiri, M.H., Shirani, H., Roosta, H. (2012). Nutrient uptake and distribution in mycorrhizal pistachio seedlings under drought stress. Journal of Agricultural Science and Technology, 14 (Suppl.), 1591–1604.
- Banihashemi, Z. (1975) Phytophthora black stem rot of sunflower. Plant Disease, 59: 721-724.
- Banihashemi, Z. (1984) Phytophthora diseases of pistachio in southern Iran. PhytophthoraNewsletter, 12(3).
- Chapman, H.D. and Pratt, P.F. (1961) Methods of analysis for soils, plants and water. University of California, Berkely, CA, USA.
- Chaves, M.M. and Oliveira, M.M. (2004) Mechanisms underlying plant resilience to water deficits: prospects for water – saving agriculture. Journal of Experimental Botany, 55(407):2365 – 2384.
- Cherif, M., Menzies, J. G., Benhamou N. and Bélanger, R.R. (1992) Studies of silicon distribution in wounded and Pythium ultimuminfected cucumber plants. Physiol. Mol. Plant Pathol.41: 371-385.
- De Gara, L., de Pinto, M. C. and Tommasi, F. (2003) The antioxidant systems vis-a-vis reactive oxygen species during plant–pathogen interaction. Plant Physiology and Biochemistry, 41: 863–870.
- Dordas, C. (2008) Role of nutrients in controlling plant diseases. Review Sustainable Agriculture. 28: 33-46.
- Dumas-Gaudot, E., SLezack, S., Dassi, B., Pozo, M.J., Glianna, V. and Gianinazzi, S. (1996) Plant hydrolytic enzymes (chitinases and β -1,3 glucanases) in root reactions to pathogenic and symbiotic microorganisms. Plant and Soil 185: 211-221.
- Ercolin, F. and D. Reinhardt. (2011) Successful joint ventures of plant: Arbuscular mycorrhiza and beyond. Trends Plant Sci. 16: 356-362.
- Fani, S.R., Mirabolfathy, M. and Zamanizadeh H.R. (2015) Identification of Pistachio Root and Crown Rot Casual Agents in Sistan Province, Journal of Pistachio Science and Technology, 1(2): 74-92.
- Fillion, M., Starnaud, M. & Jabaji-hare, H. (2003) Quantification of *Fusarium solani* f.sp. *phaseoli* in mycorrhizal bean plants and surrounding mycorrhizosphere soil using real-time polymerase chain reaction and direct isolation on selective media. Phytopathology 93: 229-235.
- Flowers, T. J. and Dalmond, D. (1992) Protein synthesis in halophytes: the influence of potassium, sodium and magnesium in vitro. Plant and Soil 146: 153– 161.

- Forster, H.J.E. Adaskaveg, D.H. Kim, and Stanghellini. M.E. (1998) Effect of phosphite on tomato and pepper plants and on susceptibility of pepper to *Phytophthora* root and crown rot in hydroponic culture. *Plant Disease*, 82:1165-1170.
- Gaikwad, A. P. and Karkeli, M. S. (1994) Comparative efficacy of three fungicides for control of powdery mildew in grapes. *Journal of Maharashtra Agricultural Universities*. 1994, 19: 2, 214-215.
- Garcia, A., Rizzo, C.A., UD-Din, J., Bartos, S.L., Senadhira, D., Flowers, T.J. and Yeo. A.R. (1997) Sodium and Potassium transport to the xylem are inherited independently in rice, and the mechanisms of sodium: potassium selectivity differs between rice and wheat. *Plant Cell and Environ*. 20: 1167-1174.
- Ghazi.A.K., McMichael, B., and Zak.J. (2004) Field response of wheat to arbuscular mycorrhizal fungi and drought stress.14:263-269.
- Gholamnejad, J., Etebarian, H. R. & Sahebani, N. (2010) Biological control of apple blue mold with *Candida membranifaciens* and *Rhodotorula mucilaginosa*. *African Journal of Food Science*. 4: 001-007.
- Gholamnezhad, J. (2019) Effect of plant extracts on activity of some defense enzymes of apple fruit in interaction with *Botrytis cinerea*. *Journal of Integrative Agriculture*, 17(0): 1-10.
- Gholamnezhad, J., Sanjarian F., Mohammadi goltapeh E., Safaei N. and Razavi Kh. (2016) Study of defense genes expression profile pattern of wheat in response to infection by *Mycosphaerella graminicola*, *Iranian Journal of Science and Technology*. 8(30): 43-55.
- Gholamnezhad, J., Sanjarian, F., Mohammadi goltapeh, E., Safaei, N. and Razavi Kh. (2014) The evaluation of salicylic acid effect on septorios disease by *Mycosphaerella graminicola*, *Research in Plant Pathology*. 2(2):35-46.
- Haddad, R., Morris, K. and Buchanan-Wollaston, V. (2004) Expression analysis of genes related to oxidative protection during senescence in *Brassica napus*. *Iranian Journal of Biotechnology*, 2: 269-278.
- Jeffries, P., Gianinazzi, S., Perotto, S., Turnau, K. and Barea, J.M. (2003) The contribution of arbuscular mycorrhizal fungi in sustainable maintenance of plant health and soil fertility. *Boilogy and Fertility of Soil*. 37: 1-16.
- Kamble, S.R., Navale A.M. and Sonawane. R.B. (2009) Response of mango seedlings to VA-mycorrhizal inoculation. *International Journal of Plant Protection*, 2(2): 161-164.
- Krantev, A., Yordanova, R., Janda, T., Szalai, G. and Popova, L. (2008) Treatment with salicylic acid decreases the effect of cadmium on photosynthesis in maize plants. *Journal of Plant Physiology*, 165: 920-931.
- Liang, Y. C. Wong, J. W. C. and Long, W. (2005) Silicon-mediated enhancement of cadmium tolerance in maize (*Zea mays* L.) grown in cadmium contaminated soil. *Chemosphere*. 58: 475-483.

- Lovatt, C.J. (1999) Timing citrus and avocado foliar nutrient applications to increase fruit set and size. HortTechnology, 9:607-612.
- Mahaveer, P.S., and Alok, A. (2000) Enhanced growth and productivity following inoculation with indigenous AM fungi in four varieties of onion (*Allium cepa* L.) in an alfisol. Biological Agriculture and Horticulture, 18: 1-14.
- Marschner H., (1995) Mineral Nutrition of Plants, Ed 2. Academic Press, Boston.
- Menzies, J. G. and Belanger. R. R. (1996) Recent advances in cultural management of diseases of greenhouse crops. Plant Pathology, 18: 186-193.
- Morandi, D. (1996) Occurrence of phytoalexins and phenolic compounds in endomycorrhizal interactions and their potential role in biological control. Plant and Soil, 185: 241-251.
- Mostajeran, A., and Rahimi-Eichi, V. (2009) Effects of drought stress on growth and yield of rice (*Oryza sativa* L.) Cultivars and accumulation of proline and soluble sugars in sheath and blades of their different ages leaves. American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences, 5(2). 264-272.
- Mozzaffari, V. and M. J. Malakouti. (2006) An investigation of some causes of die-back disorder of pistachio trees and its control through balanced fertilization in Iran. Acta Horticulture, 22: 301-305.
- Oliver, A.J., Smith, S.E., Nicholas, D.J., D., Wallace, W., and Smith, F.A. (1983) Activity of nitrate reductase in *Trifolium subterraneum*: effects of mycorrhizal infection and phosphate nutrition, New phytologist. 94:63-79.
- Ortas, I. (2008). Field trials on mycorrhizal inoculation in the eastern Mediterranean Horticultural region. In: F. Feldman., Kapulnik and j. Barr (eds). Mycorrhiza works Hannover, Germany.
- Patil, A. O., Padule, D. N., Boramanikar, P. K. (1993) Chemical control of powdery mildew of grape with new fungicides. Maharashtra Journal of Horticulture. 7: 2, 13-16.
- Rabie, G.H., and Almadini, A.M. (2005) Role of bioinoculants in development of salt-tolerance of *Vicia faba* plants under salinity stress. African Journal of Biotechnology. 4(3): 210-219.
- Reise, E. M., R. J. Cook, and McNeal, B. L. (1983). Elevated pH and associated reduced trace-nutrient availability as factors contributing to take-all of wheat upon soil liming. Phytopathology. 73(3):411-413.
- Robert M.A. (2001) Water relation, drought and vesicular- arbuscular mycorrhizal symbiosis. Mycorrhiza. 11:3-42
- Ruiz-Lozano, J.M., Azcon, R. and Gomes, M. (1996). Alleviation of salt stress by arbuscular mycorrhizal *Glomus* species in *Lactuca sativa* plants. Physiologia Plantarum. 98(4): 767-772.

- Saravanan, V.S., Madhaiyan, M. and Thangaraju, M. (2007) Solubilization of zinc compounds by the diazotrophic, plant growth promoting bacterium (*Gluconacetobacter diazotrophicus*). *Chemosphere*, 66(9): 1794-1798.
- Shamshiri, M.H. and Fattahi, H. (2014) Effects of Arbuscular Mycorrhizal Fungi on Photosystem II Activity of Three Pistachio Rootstocks under Salt Stress as Probed. *Russian Journal of Plant Physiology*, 63(1): 101-110.
- Shamsi, H., Saberi Riseh, R., Alaei, H., Khodaygan, P., Akhgar, A. (2019). The effect of some plant probiotic bacteria isolated from salty and dry areas in control of pistachio gummosis caused by *Phytophthora drechsleri* under in vitro condition. *Biological control of pests and plant diseases*, 7(2): 65-82.
- Sheibani, A. (1994) Pistachio production in Iran. First International Symposium on Pistachio Nut, Adana, Turkey.
- Teviotdale, B., Michalides, T. and Pscheidt, J. (2002). Compendium of nut crop diseases in temperate zones. The American Phytopathological Society.
- Tommasi, S. (2008). Molecular and in silico analysis of BRCA1 and BRCA2 variants. *Mutation Research*, 644: 64-70.
- Turnau, K., Ryszka, P., Gianinazzi-Pearson V. and van Tuinen D. (2001) Identification of arbuscular mycorrhizal fungi in soils and roots of plants colonizing zinc wastes in southern Poland. *Mycorrhiza*, 10:169-174.
- Wang, J. W., Zheng, L. P., Wu, J. Y. and Tan, R. Y. (2006). Involvement of nitric oxide in oxidative burst, phenylalanine ammonia-lyase activation and Taxol production induced by low-energy ultrasound in *Taxus yunnanensis* cell suspension cultures. *Nitric Oxide*, 15: 351-358.
- Weller, D.M. (1998). Biological control of soil-borne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. *Annual Review of Phytopathology* 29: 379-407.
- Wu, Q.S. and Zou. Y.N. (2009). Arbuscular mycorrhizal symbiosis improves growth and root nutrient status of citrus subjected to salt stress. *Science Asia*, 35: 388-391.
- Youpensuk, S., Lordkaew, S. and Rerkasem. B. (2009). Genotypic variation in responses of Citrus spp. to arbuscular mycorrhizal fungi. *Journal of Agricultural Science*, 1(1) p59.
- Yuncaï, H. and Schmidhalter, U. (2005). Drought and salinity: A comparison of their effects on mineral nutrition of plants. *Plant Nutrition*. 168: 541-549.

The Effect of Mycorrhiza and Nutrients on Some Pistachio Seed characters in Interaction with *Phytophthora drescleri*

E. Babzan¹, M. Maleki^{2*}, J. Gholamnezhad³, F. Naserinasab⁴

Received:2019.12.12

Accepted:2021.2.13

Abstract

Pistachio is one of the most important export crops of Iran. One of the diseases that damages pistachio trees in most pistachio growing areas is Gummosis disease caused by *Phytophthora drescleri*. Mycorrhizal fungi are the most successful microorganisms in the field of biological control and one of the effective agents to reduce the root rot diseases incidence caused by *P. drescleri*. Nutrients are also able to increase the level of tolerance or resistance of plants against to some diseases. In this study, mycorrhizal fungi and various nutrients were used to control the root rot disease. In this study, ammonium sulfate, potassium sulfate and triple superphosphate compounds were used against the root rot disease *in vitro*. The results showed that the highest amount of growth inhibition of pathogen was related to 2500 ppm concentration of ammonium sulfate with 67.16%. In the second section of the study, the effect of different treatments including mycorrhiza and ammonium sulfate alone and their combination in the reducing *P. drescleri* disease on characters such as fresh and dry root and shoots and shoots. The levels of phosphorus, nitrogen and potassium were evaluated. Finally, the expression levels of the two peroxidase and catalase genes was measured. The results showed that the combination of fungal mycorrhiza and ammonium sulfate always had the highest dry and fresh weight of shoots and roots among the treatments applied in both cultivars in the absence of pathogen. The shoot fresh weight was 24.40 g (Badami zarand) and 17.51 g (Sarakhs), respectively.

Keywords: Gummosis, Gene Expression, Mycorrhiza, Nutrients.

1- M.Sc. Plant Pathology, Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Tehran, Iran

2- Assistant Professor Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Tehran, Iran

*(Corresponding author: mojdehmaleki@gmail.com)

3- Assistant Professor Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Ardakan University, Ardakan, Iran

4- Phd of Plant pathology