فصلنامه علمی زیست‌شناسی کاربردی دانشگاه الزهرا(س)
دوره ۳۴، شماره ۲، پیاپی ۶۸، تابستان ۱۴۰۰، ص ۲۴-۵۰
نوع مقاله: مقاله پژوهشی

The Quarterly Scientific Journal of Applied Biology
Vol.34, No.2, Ser. 68, Summer 2021, p. 24-50
Article type: Research paper

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۹/۲۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۱/۲۵

وب سایت نشریه: https://jab.alzahra.ac.ir
10.22051/JAB.2021.29444.1341

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

الهام بابزن[۱]، مژده ملکی*[۲]، جلال غلام‌نژاد[۳]، 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 drescleri 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 به‌کار گرفته‌شد. نتایج نشان‌داد 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 به‌تنهایی و همچنین ترکیب این دو در کاهش بیماری ناشی از بیمارگر P. drescleri 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 زمانی‌که 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 زرند در عدم حضور بیمارگر، مشاهده‌شد. لازم به ذکر است در مورد بیان ژن نیز تیمار کاربرد همزمان سولفات‌آمونیوم و قارچ مایکوریزا بیشترین میزان بیان را نشان‌داد.

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 تربانتین 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[1] یا شیره‌ی سیاه می‌شناسند. این بیماری توسط گونه‌های مختلف قارچ *Phaytophtora* در درختان پسته ایجاد می‌شود. درختان پسته در تمام مراحل رشد به این بیماری مبتلا می‌شوند. در اندام هوایی درختان بیمار نشان‌هایی مانند ضعف، کم رشدی، 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 سیاه رنگ، و شکاف‌هایی در آن دیده می‌شود. در ریشه‌های مسن آلوده ناحیه پوست و استوانه‌ی مرکزی ریشه و طوقه به رنگ قهوه ای 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 می باشد. استفاده از قارچ‌کش‌های شیمیایی باعث معضل باقیمانده‌های سموم در محصول پسته، آلودگی خاک و آب مناطق پسته‌کاری می گردد. بنابراین پژوهشگران به دنبال روش‌های جایگزین به جای استفاده از سموم شیمیایی بوده‌اند (Banihashemi, 1984). روش‌های مختلفی برای مدیریت بیماری‌های ناشی از قارچ *Phytophtora* 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 می باشد که شدت و خسارت بیماری را تحت تاثیر قرار می‌دهد (Teviotdale *et al*., 2002).

از روش های دیگری که برای مبارزه با بیماری می توان به آن اشاره نمود معالجه‌ی قسمت‌های آلوده طوقه و ریشه درختان با استفاده از قارچ‌کش‌های مختلف همچون مخلوط بردو، اکسی کلراید مس و یا قارچکش های موثر دیگر می باشد 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 میکروارگانیسم ها 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 تاثیر می گذارد و باعث افزایش جذب عناصر توسط ریشه‌ها و انتقال آن‌ها به اندام های 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 استان های 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 گلخانه ای انجام گرفت. در برهمکنش با

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

اثرات متقابل بین گیاهان، عناصر غـذایی و عوامـل بیمـاری زای گیـاهی پیچیده و تا حدودی ناشناخته است. با وجود ناشـناخته بـودن ایـن نـوع اثرات، مباحث مربوط به نقش عناصر غذایی در بروز بیماری‌های گیاهی، در اولویت برنامه های کنترل قرار دارد. در بسیاری از خاک‌هـا و محـیط‌کشت گیاهان، عوامل بیمـاری‌زای زیـادی یافـت مـی شـوند. در چنـین شرایطی، گیاهانی که از کمبود عناصـر غـذایی رنـج مـی برنـد مقاومـت کمتری دارند و به انواع مختلف عوامل بیماری زا حساس تـر هسـتند. از این رو تمام عناصر غذایی قادرند بروز بیماری در گیاهان را تحـت تـأثیر قرار دهند. برخی از عناصر غذایی اثر بیشتر و مستقیمی بر بروز بیمـاری‌های گیاهی دارند. بنابراین توانایی گیاه برای بیان این پتانسیل ژنتیکی یعنـی 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، کمتـر تحـت تـأثیر قرار گیرند (Cherif *et al*., 1992). همچنین گیاهانی که از نظر ژنتیکی بسـیار حساس هسـتند ممکن است حساس باقی بمانند لیکن بـا تغذیـه مناسـب قادرنـد اثـرات ناشی از عامل بیماری زا را کم و در برابر بیماری مقاومت کنند. محققان خاطر نشان نمودند که شدت بسیاری از بیماری‌ها می‌توانـد کم شود و کنترل شیمیایی، بیولوژیکی یا ژنتیکی بسـیاری از عوامل بیماری‌زای گیاهی با تغذیه مناسب تقویت می‌شود. از این رو توصیه هـای کـودی بدین سبب انجام می گیرد که جذب عناصر غذایی بهینه و محصولی با بالاترین عملکرد تولید شود. در بسیاری از موارد، توصیه‌های کودی مناسب، محصول را در برابر بیماری‌ها مقاوم می کند (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 مایکوریز 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 مایکوریزا 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 میسلیومی از پرگنه‌های جوان (سه روزه) کشت داده شده بر روی محیط CMA [1] برداشته و به هر فلاسک اضافه شد. فلاسک‌ها به مدت سه هفته در ۲۵ در جه‌ی 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 به‌مدت 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

به‌منظور 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 هرگلدان 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.

[1] 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 مایکوریزا در تیمارهای گلدانی مورد استفاده قرار گرفت.

در این آزمون پس از تهیه‌ی محیط کشت CMA، ترکیبات غذایی به محیط‌کشت در داخل ظرف پتری اضافه شدند، محیط‌کشت‌های مورد استفاده در این تحقیق شامل سولفات‌آمونیوم، سولفات پتاسیم و سوپرفسفات تریپل در غلظت‌های ۵۰۰، ۱۵۰۰ و۲۵۰۰ پی‌پی‌ام بودند. محیط‌کشت 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 زمانی‌که 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 اندازه گیری 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)

$$\text{درصد جلوگیری از رشد میسلیوم} = ۱۰۰ \times \frac{\text{میانگین قطر میسلیوم در تیمار} - \text{میانگین قطر میسلیوم در شاهد}}{\text{میانگین قطر میسلیوم در شاهد}}$$

آزمون گلخانه‌ای

گیاهان و قارچ‌های مورد استفاده در این تحقیق

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

قارچ مایکوریزا (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 بذورکشت 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 ۲±۲۲ و ۲±۱۸ 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 مایکوریزا 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 مایکوریزا 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. ۱۰۰میلی لیتر از این زه‌آب (آب خروجی از ته گلدان) برداشته شد و برای ردیابی زئوسپورهای قارچ مورد استفاده قرار گرفت. آبیاری گلدان 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. محلول‌پاشی 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 تیماری بر روی آن‌ها اعمال نشده بود، آزمایش پایان یافت و سپس نمونه‌گیری برای اندازه‌گیری بعضی از پارامترها از گیاهان صورت گرفت.

صفات مورد اندازه‌گیری

اندازه گیری 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 به طور 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 در جه 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 کجلدال (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 زرند تحت تیماری مختلف، انجام گرفت. دانهال‌های پسته مانند آزمون انداه‌گیری عناصر تیمار شدند، و نمونه‌برداری برای اندازه‌گیری بیان ژن‌ها در روزهای مذکور انجام گرفت. بعد از نمونه-برداری، برگ های 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 ارایه 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 RNAی استخراجی انجام شد و در مورد هیچ یک از RNAهای استخراجی، باندی در واکنش PCR آن‌ها مشاهده نشد.

بررسی الگوی بیان ژن‌های منتخب با روش Real time –PCR

الگوی بیان دو ژن شامل ژن‌های رمز کننده‌ی کاتالاز، پراکسیداز در سطح نسخه‌برداری با استفاده از آغازگرهای مناسب (جدول ۱) و روش PCR کمی از نوع کمیت‌سنجی نسبی بررسی شدند. ژن توبولین 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 اطمنیان 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 توبولین (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. داده ها بر اساس آزمون Kurtosis و Skewness نرمال بودند.

جدول ۱: آغازگرهای مورد استفاده در آزمایش Real time PCR

Name of genes	Primers seqences	طول قطعه
Catalase	F: TTTCGCCGTCAAGACTTACA R: ATGAAGAAGACGGGGAAG TT	۱۵۶
Peroxidase	F: GATCTTCGTGCTCGTGGAGA R: TGTAAATGTTTTGCTGTCAG	۱۷۶
Tubolin-α	F: GCTTTCAACACCTTCTTCAG R: GGGGCATAGGAGGAAAGCA	۲۱۰

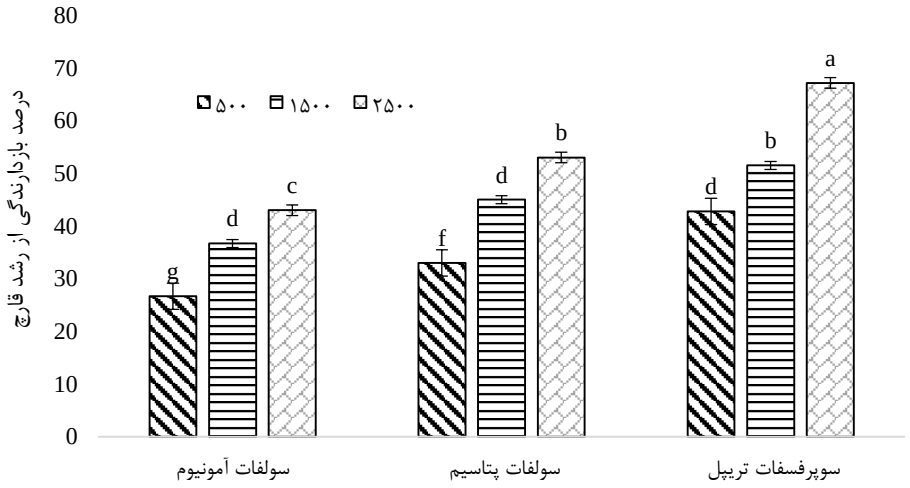
تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

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 برحسب درصد هستند که نسبت به شاهد سنجیده شده‌اند.

وزن تر و خشک (اندام هوایی و ریشه)

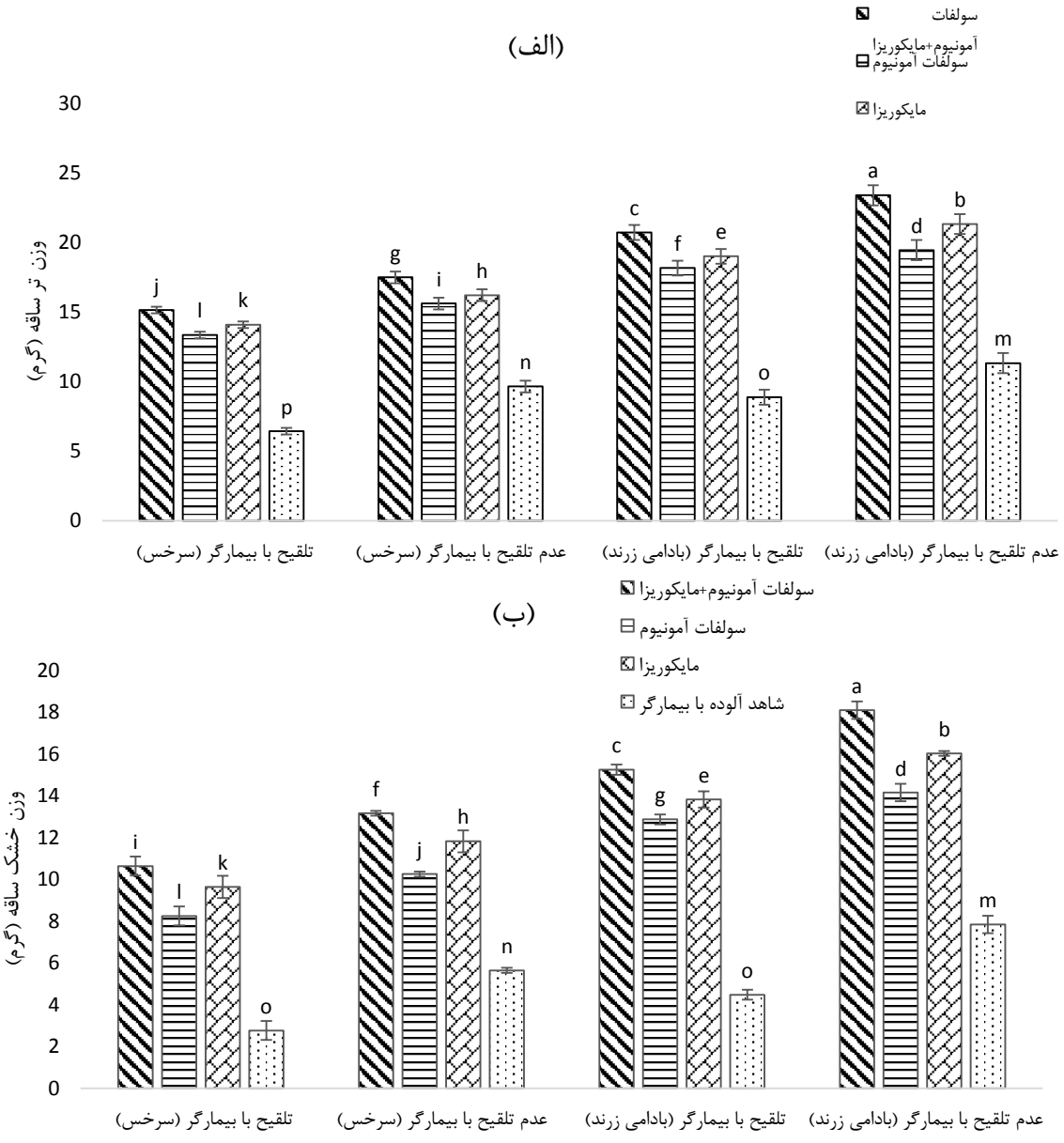
بر اساس نتایج تجزیه واریانس (داده‌ها نشان داده نشده است) مشخص شد که بین تیمارهای مختلف (استفاده جداگانه از قارچ مایکوریزا و سولفات آمونیوم و همچنین کاربرد همزمان آن‌ها در حضور و عدم حضور بیمارگر و همچنین شاهد در مورد دو رقم سرخس و بادامی) از لحاظ تأثیر بر افزایش وزن تر و خشک ریشه و همچنین اندام هوایی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

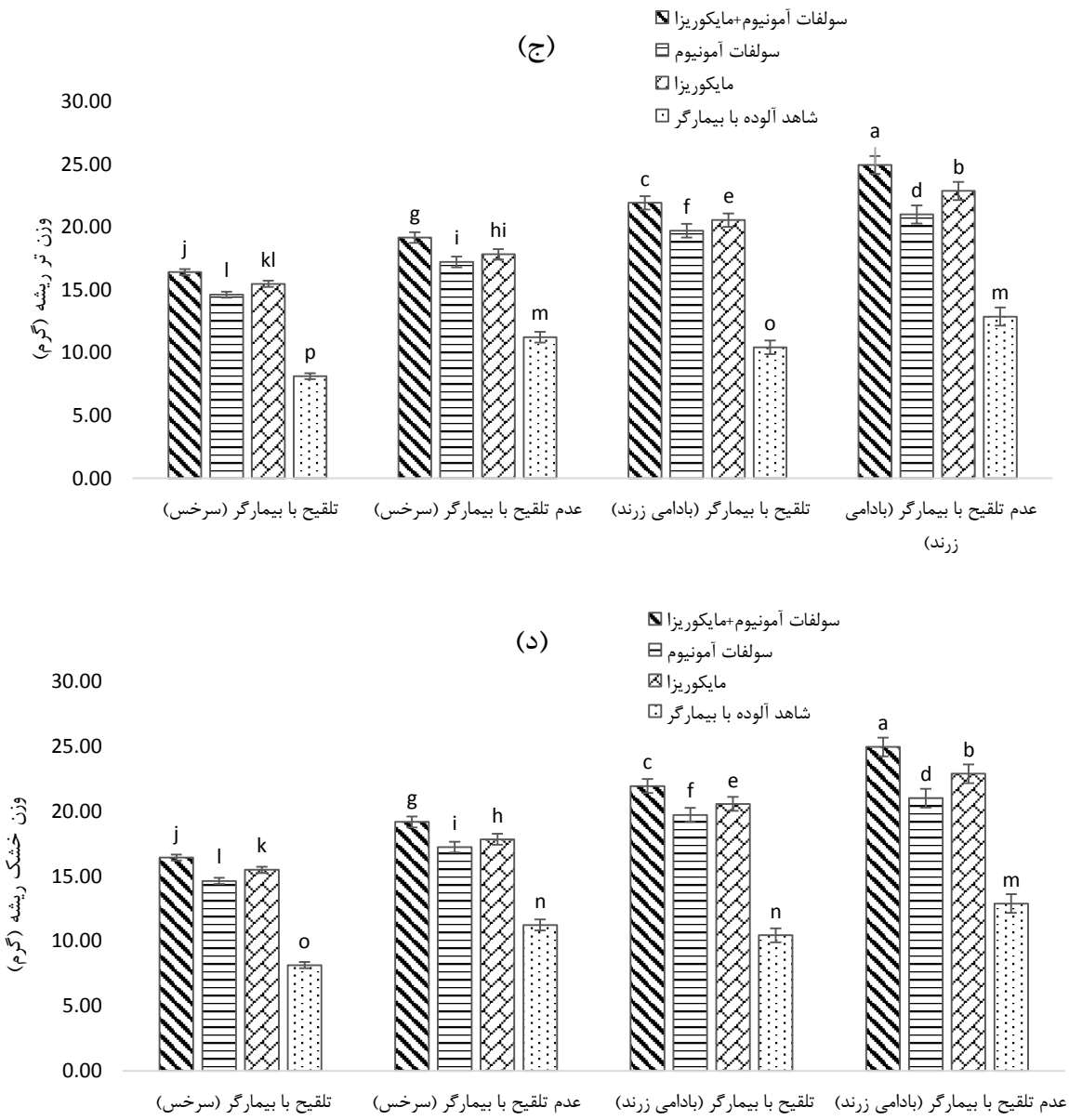
در مورد صفت وزن‌تر اندام هوایی، تیمار استفاده‌ی توأم قارچ مایکوریزا و سولفات آمونیوم در عدم حضور بیمارگر و در مورد رقم بادامی زرند با مقدار ۲۳/۴۱ گرم بیشترین مقدار را در بین تیمارها نشان داد که این مقدار با سایر مقادیر دارای اختلاف معنی‌دار بود و در بالاترین سطح آماری قرار داشت و بعد از آن تیمار استفاده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

تیمار استفاده‌ی توأم قارچ مایکوریزا و سولفات آمونیوم در عدم حضور بیمارگر و در مورد رقم بادامی زرند 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 مایکوریزا به تنهایی روی رقم بادامی زرند در عدم حضوربیمارگر به میزان ۱۶/۰۲ گرم بود (نمودار ۲ ب). تیمار استفاده‌ی توأم از قارچ مایکوریزا و سولفات آمونیوم در حضور بیمارگر و روی بادامی زرند رتبه‌ی سوم را با میزان ۹/۷۶۳ گرم به خود اختصاص داد. کمترین میزان وزن خشک در ارقام سرخس و بادامی‌زرند 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 زرند) 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 زرند) 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 مایکوریزا 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 مایکوریزا در عدم حضور بیمارگر و سپس تیمار استفاده‌ی توأم از قارچ مایکوریزا و سولفات آمونیوم در حضور بیمارگر هر دو روی بادامی زرند، به ترتیب با مقادیر ۲۲/۸۸ و۲۱/۹۳ گرم، بیشترین مقادیر را نشان دادند. تیمار استفاده‌ی توأم قارچ مایکوریزا و سولفات آمونیوم در عدم حضور بیمارگر در رقم بادامی زرند (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 مایکوریزا به تنهایی روی رقم بادامی زرند در عدم حضوربیمارگر به میزان ۱۶/۶۸ گرم بود (نمودار ۲). تیمار استفاده‌ی توأم از قارچ مایکوریزا و سولفات آمونیوم در حضور بیمارگر در رقم بادامی زرند رتبه‌ی سوم را با میزان ۱۵/۷۳ گرم به خود اختصاص داد. کمترین میزان وزن تر و خشک ریشه در ارقام سرخس و بادامی‌زرند مربوط به شاهد آلوده و سپس شاهد سالم بود (نمودار ۲ ج و د).


(الف)
سولفات
آمونیوم+مایکوریزا
سولفات آمونیوم
مایکوریزا
وزن تر ساقه (گرم)
30
25
20
15
10
5
0
j
l
k
p
g
i
h
n
c
f
e
o
a
d
b
m
تلقیح با بیمارگر (سرخس)
عدم تلقیح با بیمارگر (سرخس)
تلقیح با بیمارگر (بادامی زرند)
عدم تلقیح با بیمارگر (بادامی زرند)
(ب)
سولفات آمونیوم+مایکوریزا
سولفات آمونیوم
مایکوریزا
شاهد آلوده با بیمارگر
وزن خشک ساقه (گرم)
20
18
16
14
12
10
8
6
4
2
0
i
l
k
o
f
j
h
n
c
g
e
o
a
d
b
m
تلقیح با بیمارگر (سرخس)
عدم تلقیح با بیمارگر (سرخس)
تلقیح با بیمارگر (بادامی زرند)
عدم تلقیح با بیمارگر (بادامی زرند)



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

پتاسیم، فسفر و نیتروژن

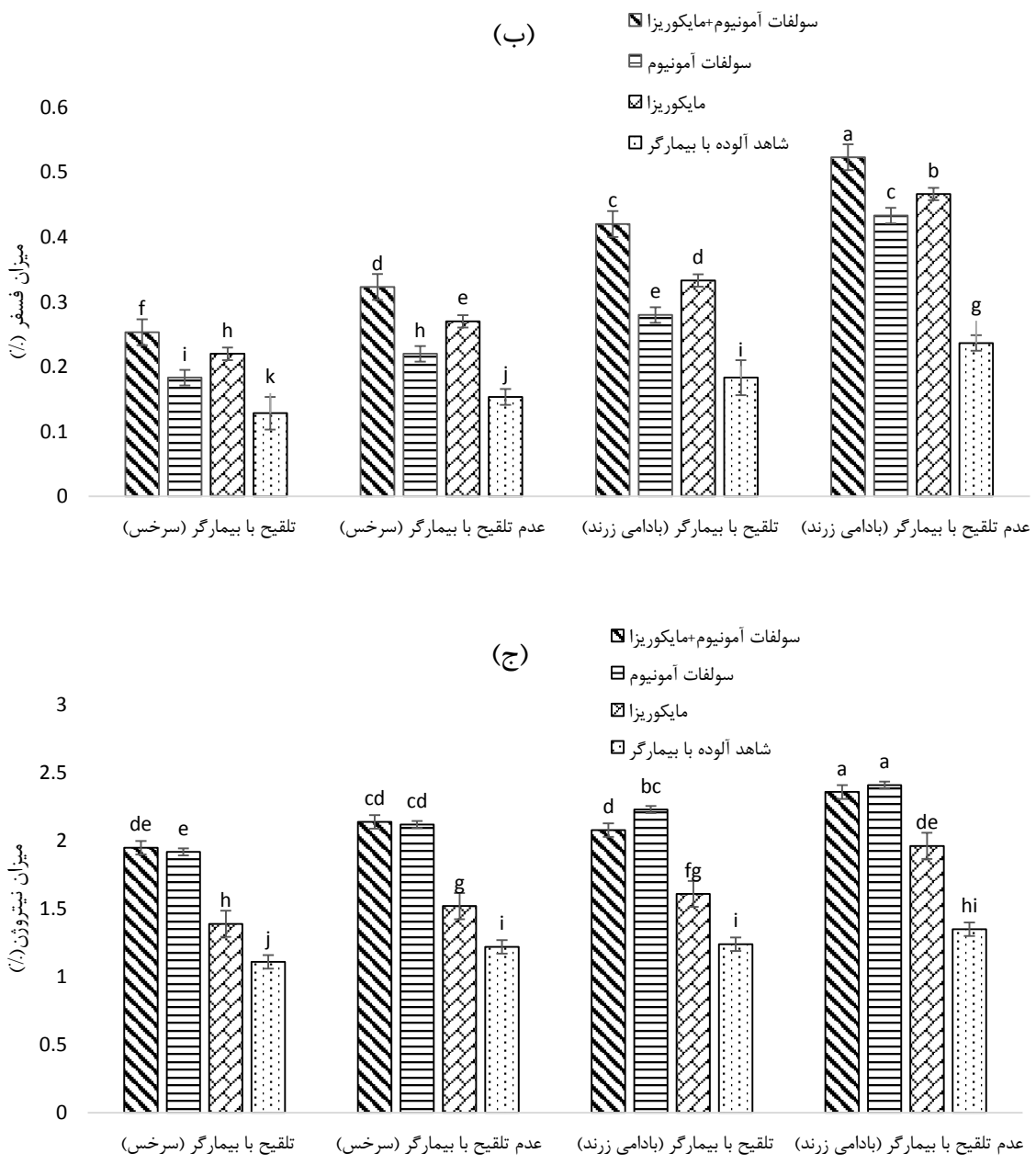
نتایج تجزیه واریانس (داده‌ها نشان داده نشده است) نشان می‌دهد که بین تیمارهای مختلف از لحاظ تأثیر بر میزان پتاسیم، فسفر و نیتروژن از نظر آماری در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی‌دار وجود دارد.

اعمال تیمارهای مختلف باعث ایجاد تغییراتی در میزان پتاسیم شد، به‌نحوی که تیمار استفاده‌ی توأم قارچ مایکوریزا و سولفات آمونیوم در عدم حضور بیمارگر و در مورد رقم بادامی با میزان ۱/۵۳درصد 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 مایکوریزا به‌تنهایی روی رقم بادامی در عدم حضور بیمارگر به میزان ۱/۴۲ درصد بود (نمودار ۳ الف). تیمار استفاده‌ی توأم از قارچ مایکوریزا 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 بادامی‌زرند مربوط به شاهدهای آلوده و سالم به ترتیب با میزان ۰/۷۵، ۰/۸۵ (رقم سرخس) ۰/۹۲، ۰/۹۷ درصد (مربوط به رقم بادامی زرند) 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 بادامی زرند) قرار داشتند.

میزان فسفر نیز مانند پتاسیم تحت تأثیر تیمارهای اعمال شده قرار گرفت، به نحوی که تیمار استفاده‌ی توأم قارچ مایکوریزا و سولفات آمونیوم در عدم حضور بیمارگر و در مورد رقم بادامی با میزان ۰/۵۲ درصد بیشترین مقدار فسفر را با اختلاف معنی دار نسبت به سایر تیمارهای استفاده شده در این تحقیق نشان داد، و بعد از آن تیمار استفاده از قارچ مایکوریزا 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 مایکوریزا 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 بادامی‌زرند 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 بادامی زرند) 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 بادامی زرند) قرار داشتند (نمودار ۳ ب).

روند تغییرات میزان نیتروژن در پسته‌های تحت تیمار به علت کاربرد سولفات آمونیوم با روند تغییرات پتاسیم و فسفر اندازه گیری شده متفاوت بود. در بین تیمارهای مطالعه شده، گیاهانی که با استفاده از سولفات آمونیوم تیمار شده‌بودند، همواره از بقیه تیمارها مقدار نیتروژن بیشتری را نشان‌دادند و همچنین با گیاهان تیمار شده با مایکوریزا 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 مایکوریزا و سولفات آمونیوم در رقم بادامی در عدم حضور بیمارگر هم اختلاف معنی‌داری نشان نداد ولی با سایر تیمارها اختلاف معنی دار نشان داد. تیمار استفاده از قارچ مایکوریزا به تنهایی در مورد هر دو رقم بادامی و سرخس همواره کمتر از تیمار استفاده توأم از قارچ مایکوریزا و سولفات آمونیوم و همچنین استفاده از سولفات آمونیوم به‌تنهایی بود و مقادیر آن برای دو رقم سرخس و بادامی در حضور و

همچنین عدم حضور بیمارگر به‌ترتیب ۱/۳۹، ۱/۵۲، ۱/۶۱ و ۱/۹۶ درصد مشاهده شد (نمودار۳ ج). کمترین میزان نیتروژن در ارقام سرخس و بادامی‌زرند مربوط به شاهدهای آلوده و سالم به ترتیب با میزان ۱/۱۱، ۱/۲۲ درصد (رقم سرخس) ۱/۲۴، ۱/۳۵ درصد (مربوط به رقم بادامی زرند) بود.

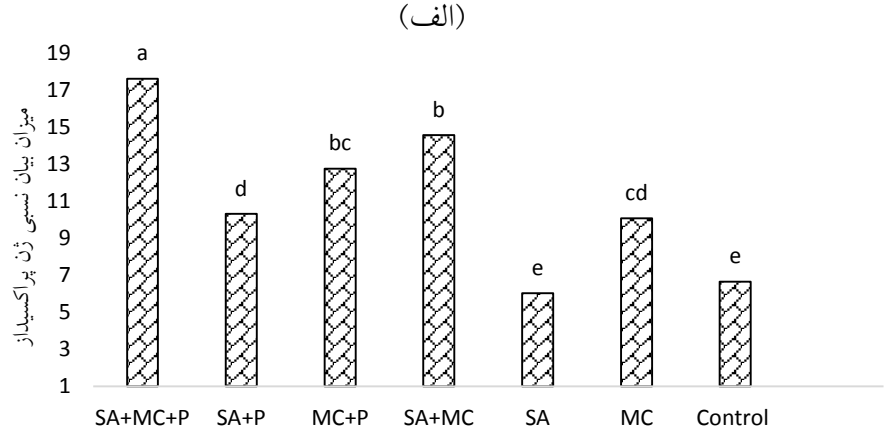


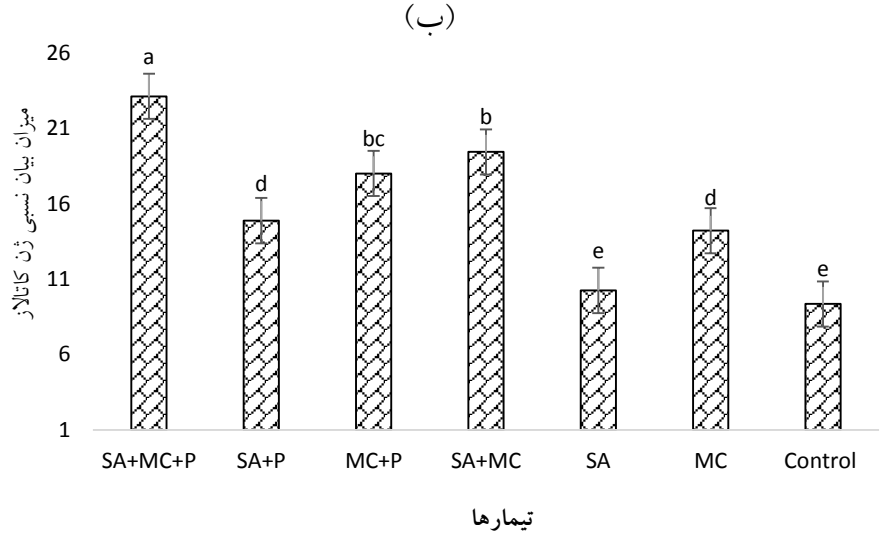
نمودار ۳: مقایسه‌ی میانگین اثرات متقابل تیمارهای مختلف (شامل قارچ مایکوریزا و سولفات آمونیوم) و ارقام متفاوت پسته بر پتاسیم (نمودار الف)، فسفر (نمودار ب) و نیتروژن نمودار ج)، اعداد نمودار میانگین چهار تکرار، وزن (بر حسب گرم) است. تیمارهایی که با حروف مختلف در ستون‌ها نشان داده شده‌اند در آزمون دانکن ($P<0.01$) دارای اختلاف معنی دار 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 به‌دست 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 مربوز به استفاده‌ی توأمان قارچ مایکوریزا 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 توأمان قارچ مایکوریزا 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 توأمان قارچ مایکوریزا و ترکیب سولفات آمونیوم در دانهال‌های سالم، استفاده از مایکوریز 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 بازدارندگی 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 سوپرفسفات‌تریپل مربوط به عنصر فسفر به کار رفته در این ترکیبات می باشد. 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 اسیدیته 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 اسیدیته محیط‌کشت اصلی (شاهد)، منجر به کاهش رشد قارچ شد. در تحقیقی نشان داده شد که با کاهش اسیدیته، کلونیزاسیون قارچ به طور معنی داری کاهش می‌یابد (Andrivon, 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 اسیدآمینه‌ها 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 علایم مشخصی مانند این‌که برگ‌های گیاه سبز کم‌رنگ یا متمایل به زرد می‌شود، شروع علایم 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 ریشه های ثانویه از علایم گیاهان با کمبود نیترژن است که بروز پیدا می‌کند (Rabie & Almadini, 2005).

تحقیقات بیانگر آن است که فسفیت، رشد قارچ های *Phytophthora* در ریشه را بطورمستقیم محدود می‌نماید، علاوه برآن سبب تحریک سیستم دفاعی گیاه در برابر عوامل بیماری زا می گردد (Forster *et al*., 1999). با اینکه فسفیت برخی از قارچ های اوومیست[1] را به‌خوبی کنترل می‌کند اما بر اغلب قارچ های خاکزی تأثیر ناچیز دارد. فسفیت علاوه بر این‌که دارای خاصیت قارچکشی است، می تواند باعث ساخته شدن دامنه‌ی گسترده‌ای از متابولیت‌ها ثانویه در گیاهان شود. متابولیت‌های ثانویه علاوه بر این‌که دارای خاصیت قارچکشی هستند، گیاه را نیزدر 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 مایکوریز گلوموس موزآ و یا مخلوط چند گونه با هم همراه با عناصر ریزمغذی باعث افزایش وزن خشک ریشه می‌شود. تأثیر مایه‌زنی گیاهان مختلف با گونه‌های قارچ مایکوریزا 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 مایکوریزا بوده‌اند را گزارش کرده اند، و دلیل این امر را بیشتر بهبود شرایط جذب عناصر غذایی به وسیله‌ی این گیاهان ذکر نموده اند (Jeffries *et al*., 2003). در این راستا، افزایش وزن خشک گیاهان تلقیح شده در محیط‌های تحت تنش مشاهده و اعلام شد که تلقیح مایکوریزایی با افزایش توسعه ریشه سبب کاهش اثرات زیانبار تنش‌های زیستی وغیر زیستی می‌شود (Ruiz- Lozano *et al*., 1996).

[1] Oomycetes

نتایج تحقیقی در سال۲۰۰۰ نشان داد که تلقیح پیاز با قارچ‌های مایکوریز 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 مایکوریزا در کنار عناصر مغذی باعث بهبود وضع رشدی گیاه می‌شود، که این پدیده را می توان به افزایش سطوح جاذب گیاه و همچنین رفع نیاز گیاه به عناصر مورد نیاز خود ریشه نسبت داد.

قارچ‌های مایکوریز 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 پیچیده ای که با گیاه میزبان خود برقرار می‌کنند اثرات مخرب ناشی از بیماری را کاهش می‌دهند. بر اساس نتایج یک تحقیق، رقابت برای کلنیزاسیون ریشه در گیاهان، آنتی‌بیوز مستقیم و فعال شدن واکنش‌های دفاعی گیاه از جمله سازوکارهای موثر در کنترل بیولوژیک بیماری‌ها توسط قارچ‌های مایکوریز داخلی می باشند (Morandi, 1996). کلنیزاسیون ریشه توسط قارچ های مایکوریز باعث ایجاد تغییرات بیوشیمیایی و مورفولوژیکی در بافت‌های میزبان می‌شود که تحریک و فعال شدن مسیر فنیل پروپانوئید 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 غیراستروی و نیز لیگنینی و سوبرینی شدن دیواره‌ی سلول‌ها و تغییر جمعیت میکروبی خاک به خصوص در ناحیه‌ی مایکوریزوسفر از مهم‌ترین آن‌ها می باشد. نتایج پژوهشی نشان داد که مایه‌زنی گیاه لوبیا با قارچ *G. intradices* باعث کاهش علایم 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 مایکوریزا 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 مایکوریزا 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 بیماری های 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 به‌وسیله‌ی ریشه مزاحمت ایجاد می‌کند بلکه به غشا سلولی نیز آسیب می‌زند (Flowers & Dalmond, 1992).

نتایج تحقیقات محمودی و همکاران (۱۳۸۲) نشان داد که همزیستی مایکوریزی، 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 بخش ها تحت شرایط فسفر کم، پایین‌تر بود. Oliver و همکاران (۱۹۸۳) دریافتند در شرایط کمبود فسفر گیاهان مایکوریزی توانایی بیشتری برای احیای نیترات از طریق نیترات ردوکتاز نسبت به گیاهان بدون میکوریزی دارند. افزایش فعالیت نیترات ردوکتاز به بهبود تغذیه فسفری ناشی از آغشتگی میکوریزا نیز نسبت داده شده است. بنابراین کمبود فسفر می تواند مانع از احیاء نیترات شود. شیرانی راد و همکاران (۱۳۸۹) در تحقیقات خود بر روی گیاه ذرت به این نتیجه رسیدند که بین کاربرد و عدم کاربرد مایکوریزا در کارایی جذب نیتروژن تفاوت معنی داری وجود ندارد. Robert در سال ۲۰۰۱ گزارش داد که همزیستی با میکوریزا در شرایط تنش های زیستی مانند عوامل بیماری زای قارچی بر میزان نیتروژن گیاهان تاثیر زیادی دارد و این یافته ها 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 به‌دلیل تفاوت در فرم کود نیتروژن مورد استفاده، نوع بیمارگر و مرحله‌ی رشدی گیاه است. در واقع اثر نیتروژن به‌دلیل 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 مایکوریزا 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 مایکوریزا می‌توانند با گیاه ارتباط همزیستی برقرار کنند.

قارچ مایکوریزا زندگی پارازیت اجباری با گیاه میزبان خود دارد و باید با گیاه میزبان خود سازگاری کامل داشته باشد تا بتواند با آن زندگی همزیستی بر قرار کند و به عبارتی ساده تر 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 ژن های زیادی از هر دو موجود فعال و باعث ایجاد این ارتباط می‌شوند، یک دسته از ژن‌هایی که در ارتباط با قارچ های پارازیت فعال می‌شوند ژن های دفاعی میزبان هستند که از آن جمله می توان به ژن‌های تولید کننده و بالابرنده فعالیت آنزیم‌های پاداکساینده، مانند کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنل‌اکسیداز، 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 مایکوریزا باعث بهتر شدن شاخص های رشدی و شرایط فیزیولوژیک گیاه می‌شود. استفاده از ترکیبات غذایی در محیط کشت باعث کاهش رشد بیمارگر بود و این کاهش نشان دهنده‌ی تأثیر مثبت ترکیبات غذایی در کاهش این بیماری می باشد. 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 فعال کننده‌ی 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 مایکوریزا 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 مایکوریزا 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., GIianna, 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 *Mycospharella 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 subterranum*: 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 Hannorer, 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 Biotecnology. 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 soilliming. Phytopathology. 73(3):411-413.

Robert M.A. (2001) Water relation, drough 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.

Yuncai, H. and Schmidhalter, U. (2005). Drought and salinity: A comparison of their effects on mineral nutrition of plants. Plant Nutrition. 168: 541–549.

The Quarterly Scientific Journal of Applied Biology, Volume 34, Issue 2, Ser. 68, ۵۰ Summer 2021

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

E. Babzan[1], M. Maleki[2*], J. Gholamnezhad[3], F. Naserinasab[4]

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 Gumosis 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