بهبود فاکتورهای رشدی و عناصر غذایی در نهال‌های پسته تیمار شده با برخی قارچ‌های همزیست در حضور نماتد *Meloidogyne javanica*

فاطمه مهدی‌نژاد[۱]، ابراهیم صداقتی[۲،۳*]، اعظم زین‌الدینی ریسه[۲]، حسین علایی[۲]، ماریه نادی[۳،۴]، محمد مرادی[۳،۴]

تاریخ ارسال: ۱۳۹۹/۱۱/۰۸ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۴/۱۰

چکیده

نماتد ریشه‌گرهی از مهمترین آفات باغات پسته می‌باشد که هر ساله خسارت زیادی می‌زند. این مطالعه جهت بررسی پتانسیل گونه‌های میکوریز آربوسکولار *Rhizophagus intraradices*، *Funneliformis mosseae*، *F. caledonius* و جدایه‌های *Trichoderma aureoviride* و *T. harzianum* روی شاخص‌های رشدی و عناصر غذایی در حضور نماتد صورت گرفت. این تحقیق در قالب طرح کاملاً تصادفی با دوازده تیمار در پنج تکرار در گلخانه بر روی نهال‌های پسته رقم بادامی زرند اجرا گردید. حداکثر مقادیر افزایش یافته وزن تر و خشک ساقه برای تیمار میکوریز-تریکودرما-نماتدکش در حضور نماتد برابر با ۱۸۴ و ۷۴/۷۶ درصد، در تیمار میکوریز-تریکودرما ۱۲۹/۲۶ و ۷۴ درصد نسبت به شاهد سالم، وزن تر و خشک برگ در تیمار میکوریز، میکوریز-تریکودرما برابر با ۱۲۹/۲۶، ۸۶/۵۸ و ۶۸/۷۵، ۵۳/۱۲ درصد نسبت به شاهد سالم، وزن تر و خشک ریشه در تیمارهای میکوریز و میکوریز-تریکودرما-نماتدکش نسبت به شاهد آلوده برابر با ۱۵۳/۶۷، ۱۶۸/۶۰ و ۷۱/۷۵، ۱۶۲/۷۹ درصد به‌دست آمد. جذب عناصر غذایی فسفر، روی و مس به‌طور معنی‌داری افزایش نشان داد. میزان فسفر و پتاسیم در تیمار میکوریز و میکوریز-تریکودرما به ترتیب ۱۰۱/۹۹ و ۱۰۳/۶۲ درصد در حضور نماتد در مقایسه با شاهد افزایش یافت. با توجه به بهبود شاخص‌های رشدی و عناصر غذایی، استقرار و توانایی بیوکنترلی این گونه‌ها، می‌توان استفاده از این قارچ‌ها را برای مدیریت نماتد ریشه‌گرهی پیشنهاد نمود.

واژه‌های کلیدی: قارچ‌های آنتاگونیست، کنترل بیولوژیک، مدیریت تلفیقی، همزیستی

مقدمه

پسته یکی از مهمترین محصولات باغبانی کشور است که از جنبه‌های مختلف اقتصادی، اجتماعی و

[۱] دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ولیعصر (عج) رفسنجان، ایران
[۲] هیأت علمی گروه گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ولیعصر (عج) رفسنجان، ایران
[*] نویسنده مسئول: sedaghati@vru.ac.ir
[۳] پژوهشگر مرکز سلامت پسته، دانشگاه علوم پزشکی، رفسنجان، ایران
[۴] هیأت علمی پژوهشی، پژوهشکده پسته، مؤسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رفسنجان، ایران

زیست‌محیطی اهمیت فراوانی دارد. این محصول مورد حمله آفات و بیماری‌های گوناگونی قرار می‌گیرد، حداقل ۳۰ بیماری مهم پسته در جهان گزارش شده است. از مهمترین بیماری‌های پسته پژمردگی ورتیسیلیومی، پوسیدگی رزلینیایی ریشه، پوسیدگی آرمیلاریایی ریشه و نماتد ریشه‌گرهی (*Meloidogyne* spp.) می‌باشند (Teviotdale *et al.*, 2002). از لحاظ میزان خسارت در سطح جهان مهمترین جنس در بین نماتدهای گیاهی گونه‌های مختلف جنس *Meloidogyn*e هستند و یکی از پنج عامل درجه اول بیماری‌زا در گیاهان به شمار می‌آیند (Barouti & Hossieni Nezhad, 2006). با توجه به سرعت بالای تکثیر و دامنه میزبانی گسترده و نوع خسارت در درختان پسته، نماتد ریشه‌گرهی از اهمیت بالای برخوردار است. نماتدهای ریشه‌گرهی بیش از ۲۰۰۰ گونه گیاهی را مورد حمله قرار می‌دهند. این نماتدها به عنوان یک عامل تنش، حتی در جمعیت پایین عمل کرده و مانع جذب و انتقال آب و مواد غذایی می‌شوند. علاوه بر این از طریق فراهم کردن محلی برای ورود قارچ‌ها و باکتری‌های بیماری‌زا باعث افزایش خسارت می‌گردند. اثرات نماتدها بر روی جذب و توزیع عناصر غذایی در گیاهان متفاوت است. در گیاهانی که آلوده به گونه‌های *Meloidogyne* هستند، توزیع عناصر غذایی در گیاه تغییر می‌کند. آلودگی یک گیاه، روابط آبی و غذایی را که برای رشد گیاه لازم است به طور مستقیم تحت تأثیر قرار می‌دهد (Fazeli Salmani *et al.*, 2012). استفاده از ارقام مقاوم، روش‌های زراعی و استفاده از سموم شیمیایی برای کنترل نماتد مطرح و شایع است.

علاوه بر این یکی از بخش‌های مهم در مدیریت تلفیقی نماتدهای انگل گیاهی کنترل بیولوژیک (مهار زیستی) است. از عوامل بیوکنترل قارچ‌ها می‌باشند که بعضی از آن‌ها پتانسیل بالایی در کنترل بیولوژیک نماتدها داشته‌اند. قارچ‌های میکوریز آربوسکولار از جمله میکروارگانیسم‌هایی هستند که سبب کاهش بیماری‌های مختلف گیاهی شده و به طور مستقیم و یا غیرمستقیم می‌توانند روی جمعیت نماتد ریشه‌گرهی اثر بگذارند و موجب کاهش جمعیت آن‌ها شوند (Sharon *et al.*, 2001). یکی از عوامل بیوکنترل دیگر، گونه‌های مختلف قارچ تریکودرما می‌باشد که به علت توانایی تکثیر و اسپورزایی بالا، بقا تحت شرایط نامساعد، تحمل شوری و عناصر سنگین، تغییر محیط ریزوسفر، توان بالای کلنیزاسیون ریزوسفر ریشه و همزیستی با آن، رقابت تغذیه‌ای قوی و قدرت تهاجمی بالا در تقابل با بیمارگرهای ریزوسفر به عنوان عامل کنترل بیولوژیک می‌باشد. در یک آزمایش گلخانه‌ای نتایج نشان داد که کاربرد قارچ‌های آنتاگونیست، *Penicillium chrysogenum*، *Aspergillus niger*، باکتری‌های محرک رشد، *Bacillus subtilis* 7612، *Burkholderia cepacia* 4684 و قارچ‌های میکوریز آربوسکولار، *Gigaspora margarita* و *G. intraradices* به‌صورت کاربرد انفرادی و یا در ترکیب با هم، سبب افزایش شاخص‌های رشدی گیاه گوجه‌فرنگی و همچنین کاهش شاخص‌های نماتد گردیده است (Siddiqui & Akhtar, 2009). بررسی اثرات حفاظت زیستی دو گونه *G. mosseae* و *G. intraradices* در مقابل *M. graminicola* در برنج نشان داد که *G. mosseae* نسبت به *G. intraradices*

درصد کلنیزاسیون بالاتری داشته و از تکثیر نماتد جلوگیری می‌کند (Manandhar, 2011). بررسی اثرات قارچ‌های میکوریز روی رشد گیاه گوجه‌فرنگی سبب افزایش رشد گیاه و کاهش خسارت نماتد *M. incognita* شدند (Liu *et al*., 2011). در بررسی اثر تیمار قارچ *G. mosseae* بر چهار واریته لوبیای چشم بلبلی (*Ving sinesis* L.) کاهش قابل توجهی در میزان گال و همچنین بهبود در رشد گیاه در شرایط گلخانه‌ای و مزرعه علیه نماتد *M. incognita* مشاهده شد (Odeyemi *et al*., 2010). با توجه به دامنه میزبانی وسیع نماتد ریشه‌گرهی و میزان خسارت آن در محصولات مختلف کشاورزی پسته به ویژه در باغات کاربرد عوامل کنترل بیولوژیک در برنامه مدیریت تلفیقی عوامل بیمارگر ضروری می‌باشد. هدف از این پژوهش، بررسی کاربرد گونه‌هایی از قارچ‌های همزیست در بهبود شاخص‌های رشد، میزان عناصر و کاهش خسارت نماتد ریشه‌گرهی در نهال‌های پسته می‌باشد.

مواد و روش‌ها

جهت انجام نمونه‌برداری، خالص‌سازی و تکثیر نماتد ابتدا نمونه خاک آلوده از باغات پسته واقع در باغ پژوهشکده پسته جمع‌آوری و در گلخانه برای تکثیر نماتد، بذر گوجه‌فرنگی رقم Early Urbana در خاک کشت گردید. تک کیسه‌های تخم نماتد از ریشه‌های آلوده جداسازی و به نشاءهای گوجه‌فرنگی در مرحله‌ی شش‌برگی مایه‌زنی شدند، پس از چند دوره تکثیر بر روی ریشه گوجه‌فرنگی جمعیت خالص کافی از زادمایه نماتد به دست آمد. استخراج تخم و لارو سن دوم نماتد با استفاده از روش (Hussey & Barker, 1973) انجام شد. برای بدست آوردن اینوکولوم نماتدی، لارو سن دوم *M. Javanica* به عنوان اینوکولوم نماتدی، تخم‌های جمع‌آوری شده نماتدی را بر روی یک کاغذ صافی که در سطح یک توری قرار دارد ریخته شد و این مجموعه داخل یک پتری قرار گرفت. جهت مایه‌زنی گلدان‌های پسته از تعداد ۵۰۰۰ لارو سن دوم نماتد برای هر گلدان استفاده گردید (Hussey & Barker, 1973).

جهت تهیه اینوکولوم قارچ میکوریز آربوسکولار این تحقیق، مخلوط سه گونه قارچ میکوریز آربوسکولار با نام‌های *F. mosseae*، *R. intraradices* و *F. caledonius* از آزمایشگاه قارچ‌شناسی گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه ولی‌عصر(عج) رفسنجان تهیه شد. تیمار میکوریزی سه ماه قبل از مایه‌زنی قارچ تریکودرما با میزان ۶۰ گرم به خاک هر گلدان اضافه گردید.

جهت تهیه اینوکولوم جدایه‌های قارچ تریکودرما مورد استفاده در این تحقیق از کلکسیون قارچ‌شناسی بخش بیماری‌شناسی گیاهی دانشگاه ولی‌عصر(عج) رفسنجان تهیه شد. به منظور تهیه اینوکولوم جدایه‌های مختلف تریکودرما از بذور گندم براساس روش (Wildermuth & McNamara, 1987) استفاده گردید و اینوکولوم تریکودرمایی سه هفته قبل از مایه‌زنی نماتد به خاک هر گلدان اضافه شد.

برای انجام آزمایشات گلخانه‌ای بذرهای پسته پس از ضدعفونی با محلول نیم درصد هیپوکلریت سدیم تا زمان جوانه‌زنی در پارچه مرطوب نگهداری شدند. گلدان‌های سه

کیلویی شامل خاک و ماسه استریل به نسبت ۱:۲ استفاده شدند (مرادی، ۱۳۷۶). بررسی‌های گلخانه‌ای در قالب طرح کاملاً تصادفی با پنج تکرار و تیمارهای این آزمایش شامل: قارچ میکوریز، قارچ تریکودرما، مخلوط توأم قارچ میکوریز- تریکودرما،کاربرد نماتدکش نماتورین (حاوی fosthiazate) مخلوط قارچ میکوریز-تریکودرما- نماتدکش، شاهد (بدون حضور نماتد، مایه‌زنی شده با نماتد) انجام شد. تجزیه و تحلیل آماری داده‌های بدست آمده به کمک نرم‌افزار 9.1 SAS انجام شد. مقایسهٔ میانگین تیمارها نیز با استفاده از روش آزمون دانکن و در سطح احتمال یک درصد صورت گرفت (Duncan & Ferris, 1983).

محاسبه و اندازه‌گیری فاکتورهای رویشی شامل وزن تر و خشک ساقه، برگ و ریشه با استفاده از ترازو انجام شد. برای اندازه‌گیری وزن خشک، نمونه‌ها را به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۷۲ درجه سلسیوس قرار داده و سپس وزن شدند.

برای اندازه‌گیری مقادیر عناصر غذایی، میزان فسفر با استفاده از طیف‌سنج نوری اسپکتروفتومتر (A. C. N 5472686) در طول موج ۴۷۰ نانومتر، سنجش پتاسیم به روش نشر شعله‌ای فلیم فتومتر (PFP7)، میزان روی و آهن با استفاده از دستگاه جذب اتمی (Germany 150 VA/50. 60 HZ) اندازه‌گیری گردید (Emami, 1996).

نتایج و بحث

الف- صفات رشدی نهال پسته

نتایج به‌دست آمده از تجزیه واریانس داده‌های مربوط به تاثیر تیمارهای میکوریز، تریکودرما تفاوت معنی‌داری بر صفات رشدی نهال‌های پسته در سطح احتمال آماری یک درصد داشت. این نتایج در جدول ۱ نشان داده شده است.

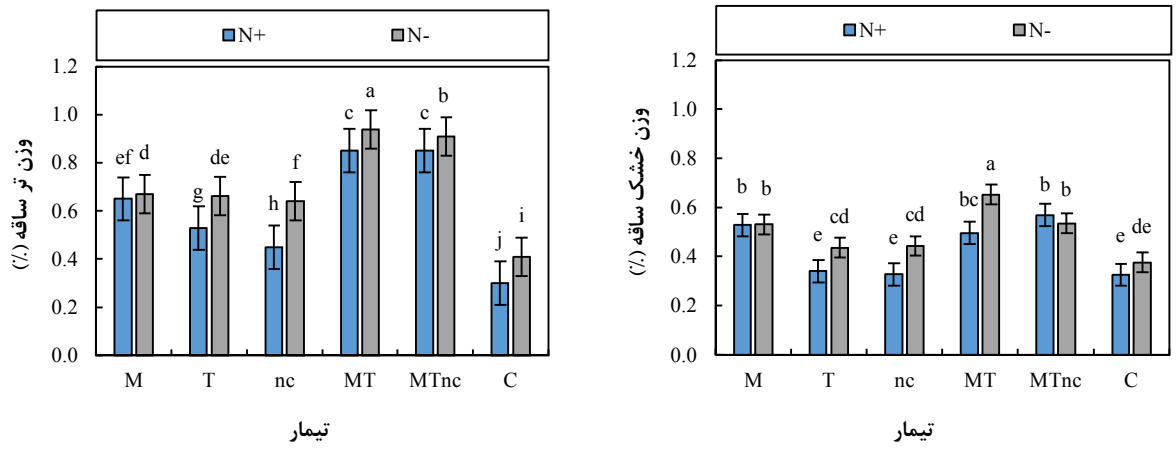
براساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های مربوط به وزن تر و خشک ساقه در نهال‌های پسته مشخص شد که بیشترین درصد وزن تر و خشک مربوط به تیمار MT برابر با ۱۲۹/۲۶ و ۷۴ نسبت به شاهد سالم، همچنین درصد وزن تر و خشک مربوط به تیمار MTnc در حضور نماتد برابر با ۱۸۴ و ۷۴/۷۶ درصد می‌باشد (شکل ۱).

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های مربوط به وزن تر و خشک برگ در نهال‌های پسته حاصل نشان داد

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس مربوط به تاثیر عوامل بیوکنترل بر شاخص‌های رشدی گیاه پسته بر علیه نماتد ریشه گرهی.

		میانگین مربعات					
منبع تغییرات	درجه آزادی	وزن تر برگ	وزن خشک برگ	وزن تر ساقه	وزن خشک ساقه	وزن تر ریشه	وزن خشک ریشه
تیمار	۱۱	۰/۰۳۲**	۰/۰۱۰**	۰/۱۷۱**	۰/۰۴۴**	۰/۳۳۳**	۰/۰۷۳**
خطا	۳۳	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	$۷/۸۴۳E^{-۵}$	۰/۰۰۳	۰/۰۰۴	۰/۰۰۳
کل	۴۹	-	-	-	-	-	-

** معنی دار در سطح ۱ درصد.

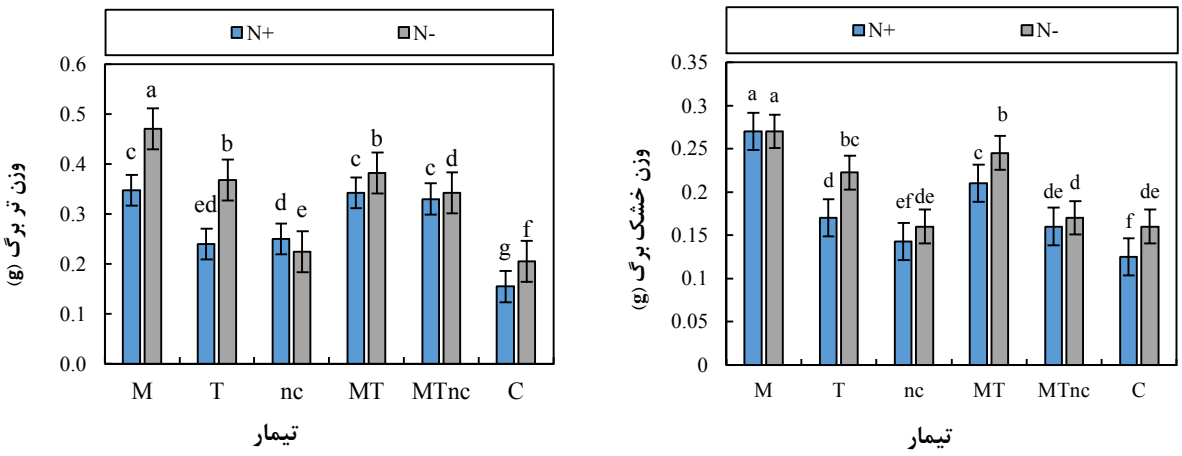


شکل ۱- تأثیر مایه‌زنی نهال‌های پسته با اینوکولوم قارچ‌های همزیست و نماتدکش بر وزن تر و خشک ساقه در حضور و عدم حضور نماتد (M= Mycorrhizae, T= *Trichoderma*, nc= nematicidae, C= Control, N= Nematode)

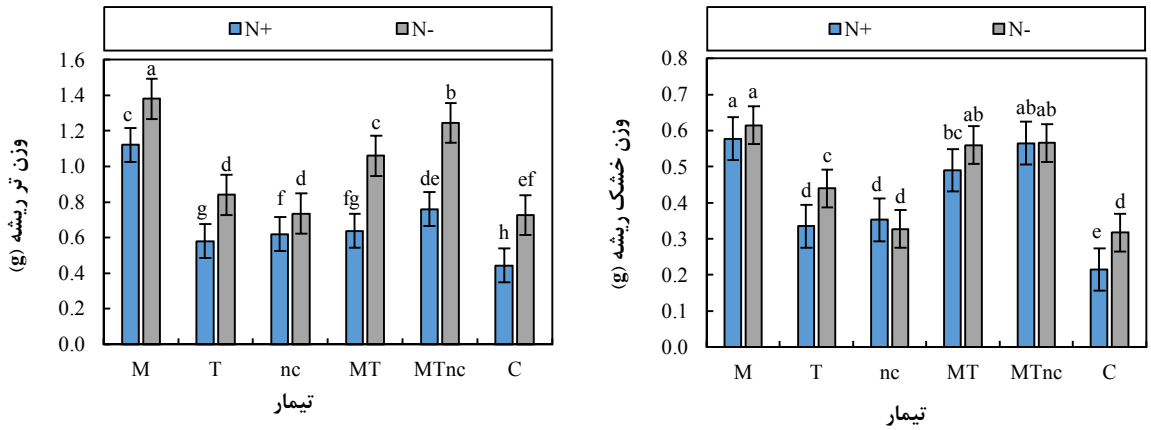
که وزن تر برگ در تیمار M، MT به ترتیب برابر با ۱۲۹/۲۶، ۸۶/۵۸ درصد و وزن خشک برگ برابر با ۶۸/۷۵، ۵۳/۱۲ درصد بیشتر نسبت به شاهد سالم می‌باشند (شکل ۲).

براساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های مربوط به وزن تر و خشک ریشه در نهال‌های پسته مشخص گردید که بیشترین درصد وزن تر و خشک ریشه مربوط به تیمارهای M و MTnc نسبت به شاهد آلوده برابر با ۱۵۳/۶۷، ۱۶۸/۶۰ و ۷۱/۷۵، ۱۶۲/۷۹ درصد می‌باشد (شکل ۳). براساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های مربوط به وزن تر و خشک ریشه در نهال‌های پسته مشخص گردید که بیشترین درصد وزن تر و خشک ریشه تیمارهای M به ترتیب برابر با ۱۵۳/۶۷، ۱۶۸/۶۰ و تیمار MTnc برابر با ۷۱/۷۵، ۱۶۲/۷۹ درصد نسبت به شاهد آلوده (در حضور نماتد) می‌باشد (شکل ۳).

نتایج نشان‌دهنده تاثیر معنی‌دار قارچ‌های میکوریز، بر فاکتورهای رشدی در عدم حضور نماتد می‌باشد. این افزایش در گیاهان میکوریز ممکن است از طریق بهبود جذب عناصر غذایی کم تحرک در محلول خاک نظیر فسفر، روی و مس یا تسریع در جذب و انتقال آب در گیاهان باشد. وزن تر و خشک اندام‌های هوایی و زیرزمینی در گیاهان آلوده به نماتد از میزان کمتری نسبت به گیاهان شاهد سالم برخوردار بود. پس از مایه‌زنی نماتد به گیاهان، لارو سن دوم در داخل خاک به بافت ریشه نفوذ می‌نماید، به دلیل ایجاد تغییرات مرفولوژیکی که در روی ریشه ایجاد می‌کند منجر به تشکیل سلول‌های غول‌آسا می‌گردد. حوضچه‌های تغذیه‌ای قسمت عمده‌ای از تولیدات فتوسنتز را به سمت خود جذب می‌نمایند و سبب کاهش انتقال مواد غذایی به سمت اندام‌های هوایی، مانع رشد ریشه و ضعیف شدن گیاه می‌گردد. قارچ میکوریز با افزایش جذب مواد غذایی در گیاه می‌تواند باعث جبران این خسارت گردد. بررسی آزمایشات گلخانه‌ای روی تأثیر قارچ میکوریز آربوسکولار *G. mosseae* و *G. margarita* در رشد و تکثیر نماتد *M. incognita* و



شکل ۲- تأثیر مایه‌زنی نهال‌های پسته با اینوکولوم قارچ‌های همزیست و نماتدکش بر وزن تر و خشک برگ در حضور و عدم حضور نماتد (M= Mycorrhizae, T= *Trichoderma*, nc= nematicidae, C= Control, N= Nematode).



شکل ۳- تأثیر مایه‌زنی نهال‌های پسته با اینوکولوم قارچ‌های همزیست و نماتدکش بر وزن تر و خشک ریشه در حضور و عدم حضور نماتد (M= Mycorrhizae, T= *Trichoderma*, nc= nematicidae, C= Control, N= Nematode).

رشد گیاه گوجه‌فرنگی نشان دهنده افزایش رشد گیاه در اثر مایه‌زنی با قارچ میکوریز، کاهش تعداد گال، رشد و تکثیر نماتد بود (Siddiqui & Akhtar, 2007). نتایج این بررسی نشان داد که قارچ‌های میکوریز باعث افزایش قابل توجهی در بهبود فاکتورهای رشدی، عناصر غذایی در نهال‌های پسته در بخش‌های مختلف گیاه گردید. بنابراین امکان موفقیت در استفاده از قارچ‌های میکوریز به عنوان عامل بیوکنترل نماتد ریشه‌گرهی در کنار فاکتورهای رشدی گیاه می‌باشد. قارچ تریکودرما سبب بهبود خصوصیات رویشی (وزن و طول اندام هوایی، وزن و طول ریشه) در نهال‌های پسته گردید. نتایج بررسی‌ها در ارتباط با تاثیر غلظت‌های مختلف سوسپانسیون قارچ *T. Harzianum* بر قطر گال، میانگین وزن تر ریشه و اندام‌های هوایی، تعداد توده تخم به ازای هر گیاه و تعداد تخم به ازاء هر توده تخم در

گوجه‌فرنگی (Ziarati *et al.*, 2009). نشان داد که مایه‌زنی توسط قارچ تریکودرما می‌تواند سیستم دفاعی گیاه را در مقابل نماتد *M. javanica* فعال نماید و از این طریق سبب بهبود خصوصیات رویشی گیاه گوجه‌فرنگی گردد. قدرت ساپروفیتی قارچ تریکودرما در منطقه‌ی ریزوسفر ریشه، در جلوگیری از رشد قارچ‌های بیماری‌زا بسیار مهم می‌باشد، چرا که یک آنتاگونیست زمانی سازگاری پیدا می‌کند که قادر باشد به عنوان رقیبی قوی و مؤثر در مقابل سایر ساپروفیت‌ها در منطقه‌ی ریزوسفر عمل نماید. گونه‌های تریکودرما مورد استفاده در این تحقیق قدرت کلنیزاسیون بالایی را داشتند.

ب- تاثیر عوامل بیوکنترل بر عناصر غذایی

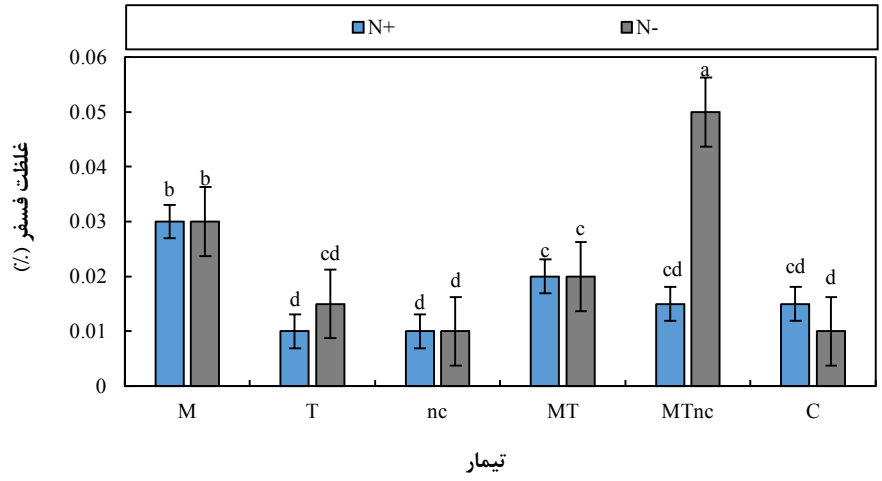
نتایج تجزیه واریانس مربوط به تأثیر عوامل بیوکنترل بر غلظت عناصرغذایی پر مصرف فسفر و پتاسیم در بخش هوایی گیاه پسته در تیمارها در جدول ۲ نشان داده شده است.

با توجه به تجزیه واریانس داده‌ها، بیشترین میزان عنصر فسفر در نهال‌های پسته بین تیمار میکوریز برابر با ۱۰۰ درصد در حضور نماتد و در تیمار میکوریز-تریکودرما-نماتدکش نسبت به تیمار شاهد بالاترین مقدار عنصر مشاهده گردید (شکل ۴). عنصر فسفر عنصری ضروری برای رشد و نمو گیاه می‌باشد که برای ذخیره‌سازی و انتقال انرژی حفاظت و انتقال کدهای ژنتیکی بکار می‌رود، فسفر جزء ترکیبات ساختمانی سلول‌ها و بسیاری از ترکیبات شیمیایی می‌باشد (Hopkins & Ellsworth, 2005). فسفر در خاک عنصری کم تحرک است. با توجه به اینکه نقش اصلی قارچ‌های میکوریز تامین فسفر می‌باشد و به سرعت به شکل فسفات کلسیم یا اشکال دیگر تثبیت شده و به صورت غیر متحرک در می‌آید. بنابراین با افزایش عنصر فسفر و تجمع زیست توده در گیاه تاثیر مثبت دارد (Erman *et al.*, 2011). میزان غلظت عنصر پتاسیم در نهال‌های پسته مایه‌زنی شده با نماتد در تیمارهای M با ۸۸/۱۸ درصد نسبت به بقیه تیمارها در حضور نماتد و تیمارهای M و MT برابر با ۱۰۱/۹۹ و ۱۰۳/۶۲ درصد نسبت به تیمار شاهد بیشترین میزان را نشان دادند (شکل ۵). تأثیر پتاسیم در رشد به دلیل نقش مؤثری این عنصر

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس مربوط به تأثیر عوامل بیوکنترل بر غلظت عناصر غذایی پرمصرف و کم‌مصرف در بخش هوایی گیاه پسته.

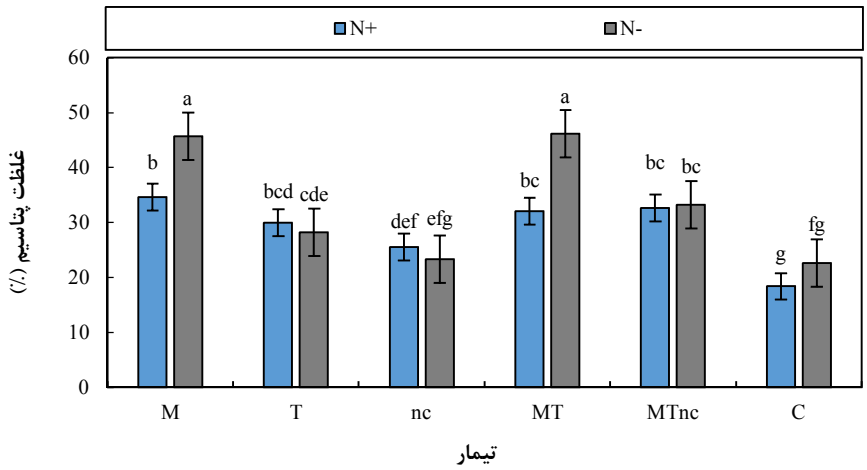
منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات					
		فسفر (٪)	پتاسیم (٪)	آهن (mg/kg)	روی (mg/kg)	مس (mg/kg)	منگنز (mg/kg)
تیمار	۱۱	۰/۰۰۱**	۲۸۸/۶۲۷**	۲۴۵۰/۸۰۹**	۴۴۴/۴۰۵**	۳۹/۲۷۶**	۱۴۴/۰۶۳**
خطا	۳۳	۱/۵۲۱	۱۱/۰۰۸	۹۴/۲۴۹	۱/۳۵۹	۰/۹۵۵	۰/۳۸۵
کل	۴۸	-	-	-	-	-	-

** معنی دار در سطح ۱ درصد.



شکل ۴- تأثیر مایه‌زنی نهال‌های پسته با اینوکولوم قارچ‌های همزیست و نماتدکش بر غلظت فسفر در حضور و عدم حضور نماتد

(M= Mycorrhizae, T= *Trichoderma*, nc= nematicidae, C= Control, N= Nematode).



شکل ۵- تأثیر مایه‌زنی نهال‌های پسته با اینوکولوم قارچ‌های همزیست و نماتدکش بر غلظت پتاسیم در حضور و عدم حضور نماتد

(M= Mycorrhizae, T= *Trichoderma*, nc= nematicidae, C= Control, N= Nematode).

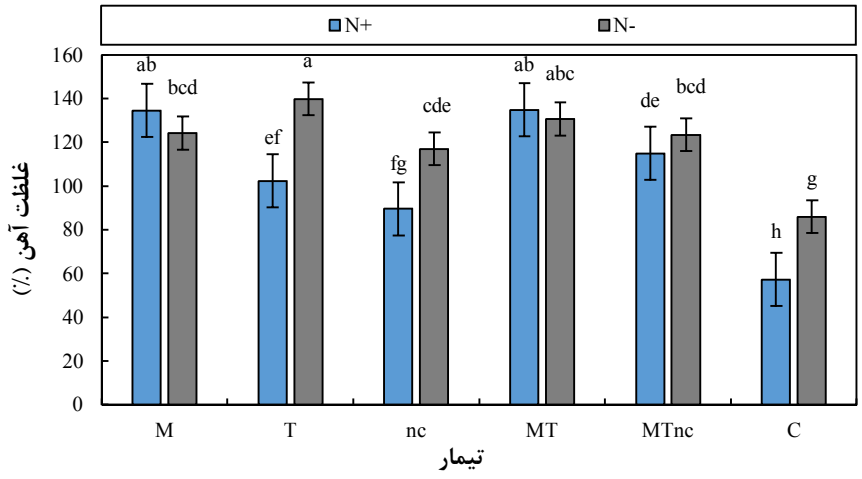
در ساخت مواد هیدروکربن و پروتئین می‌باشد (سالاردینی و مجتهدی، ۱۳۸۴). تغییرات در انتقال پتاسیم و سایر عناصر غذایی در اندام‌های هوایی می‌تواند به کاهش در تعداد و قطر آوندهای چوبی نسبت داده شود (Nedjimi & Daoud, 2009).

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های میزان غلظت عنصر آهن در نهال‌های پسته مایه‌زنی شده در حضور نماتد در تیمارهای M و مخلوط MT افزایش یافت و در عدم حضور نماتد به ترتیب با ۱۳۵/۲۲ و ۱۳۵/۶۶ درصد بیشترین میزان را نشان دادند (شکل ۶). میزان غلظت عنصر آهن در نهال‌های پسته مایه‌زنی شده در عدم حضور

نماتد در تیمارهای تریکودرما و مخلوط میکوریز- تریکودرما افزایش یافت. (شکل ۶). تأثیر گیاهان میکوریزای در جذب آهن به شدت تحت تأثیر عواملی از قبیل نوع گیاه میزبان، گونه قارچ میکوریزی، pH خاک و همچنین میزان فسفر اضافه شده به خاک و درجه حرارت قرار می‌گیرد، بنابراین تفاوت بین گیاهان میکوریزی و غیرمیکوریزی از لحاظ غلظت آهن و کل آهن جذب شده نتیجه تأثیر مستقیم هیف قارچ‌های میکوریزی در جذب بیشتر آهن و انتقال آن به گیاه میزبان نیست و عوامل دیگری از قبیل تغییر شکل ظاهری ریشه به صورت غیرمستقیم در جذب آهن مؤثر است (رجالی و همکاران، ۱۳۸۶). آهن یک عنصر کم تحرک که به‌عنوان یک عنصر اصلی در سوخت و ساز تمام موجودات زنده تقریباً در تمام طول زندگیشان می‌باشد که در بدن انسان نقش مهمی در ساختمان پروتئین‌ها و آنزیم‌ها دارد (Alam *et al*, 2014). کاربرد کودهای آهن و آمونیوم در درختان پسته می‌تواند سبب بهبود برخی از فاکتورهای کیفی محصول پسته در خاک‌های قلیایی شود (Roosta & Mohammadi, 2013). این مطلب نشان‌دهنده اهمیت کاربرد آنتاگونیست‌های میکوریزایی می‌باشد که در کنار افزایش عناصر سبب کنترل خسارت نماتد ریشه‌گرهی نیز می‌شود.

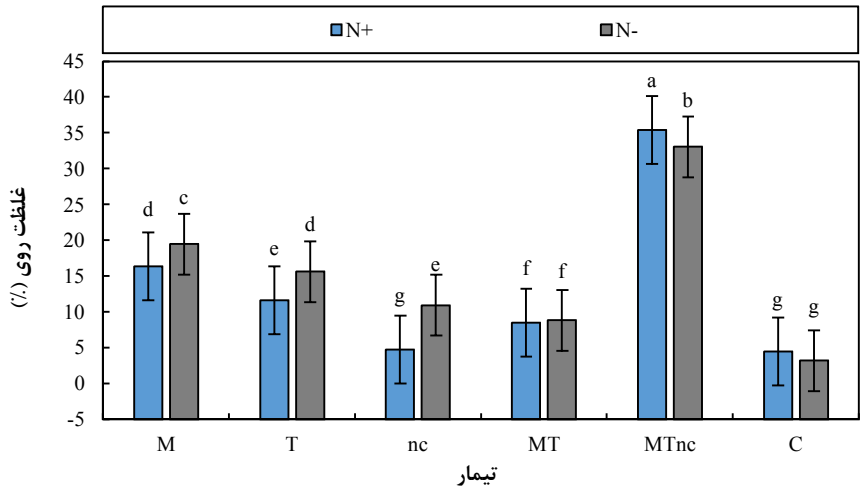
نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های مربوط به غلظت عنصر روی در نهال‌های پسته مایه‌زنی شده با نماتد در تیمارهای M و MTnc در حضور و عدم حضور نماتد بالاترین مقدار را نشان دادند (شکل ۷).

روی از عناصر ضروری برای رشد گیاه می‌باشد و در ترکیب آنزیم‌های مختلف تنظیم کننده فعالیت‌های متابولیکی، تولید اکسین و کلروپلاست و همچنین در متابولیسم کربوهیدرات نقش دارد. این عنصر موجب ثبات و آرایش ساختمانی پروتئین‌های غشاء نیز می‌گردد. عنصر



شکل ۶- تأثیر مایه‌زنی نهال‌های پسته با اینوکولوم قارچ‌های همزیست و نماتدکش بر غلظت عنصر آهن در حضور و عدم حضور نماتد

(M= Mycorrhizae, T= *Trichoderma*, nc= nematicidae, C= Control, N= Nematode).



شکل ۷- تأثیر مایه‌زنی نهال‌های پسته با اینوکولوم قارچ‌های همزیست و نماتدکش بر غلظت عنصر روی در حضور و عدم حضور نماتد

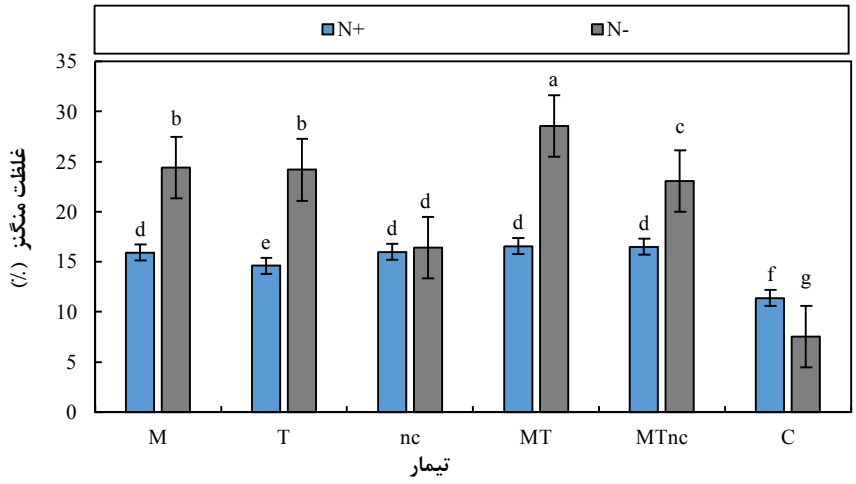
(M= Mycorrhizae, T= *Trichoderma*, nc= nematicidae, C= Control, N= Nematode).

روی در فعالیت‌های آنزیمی مختلف مانند متابولیسم اکسین، دی هیدروژناز، فسفو دی استراز و ساخت سیتوکروم c دخالت دارد (رجالی و همکاران، ۱۳۸۶). روی نیز مانند فسفر رشد برگ‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهد. نقش کلیدی در فتوسنتز گیاه را بر عهده دارد و غلظت کلروفیل و هدایت روزانه‌ای در برگ‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهد که باعث تأخیر فرایند پیری برگ‌ها و موجب افزایش دوام سطح برگ می‌گردد. در مورد جذب عنصر روی آنچه اهمیت دارد گسترده شدن هیف‌های خارج ریشه‌ای قارچ‌های میکوریز آربوسکولار و افزایش حجم خاک قابل دسترس گیاه است (Hopkins & Ellsworth, 2005).

نتایج حاصل از مقایسه‌ی میانگین داده‌ها نشان داد که غلظت عنصر منگنز بین تیمارهای مورد بررسی در حضور نماتد با یکدیگر اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد، در تیمارهای MT با ۲۷۸/۶۵ درصد بیشترین غلظت عنصر منگنز نسبت به تیمار سالم مشاهده شد (شکل ۸).

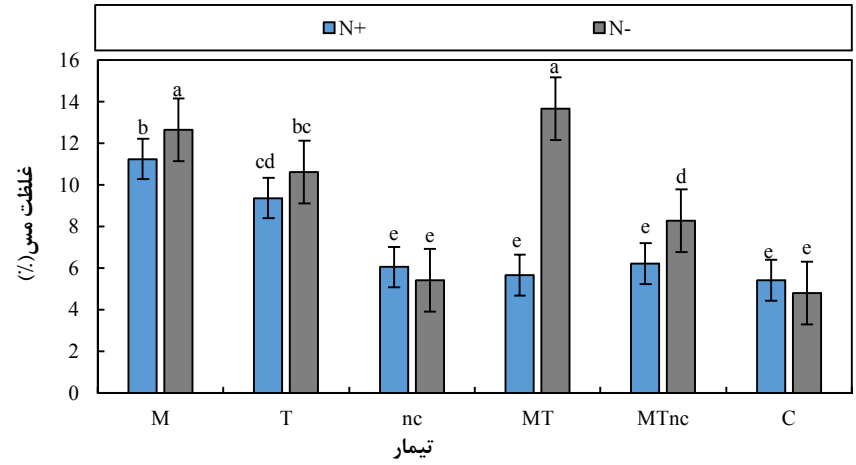
در گیاهان میکوریزی علاوه بر کاهش میزان منگنز در ریشه و اندام هوایی گیاه، جمعیت میکروارگانیسم‌های احیاء کننده منگنز نیز در ریزوسفر گیاهان میکوریزی به شدت کاهش یافته و سطح منگنز قابل تبادل در خاک نیز کاهش قابل ملاحظه‌ای را نشان می‌دهد (رجالی و همکاران، ۱۳۸۶).

نتایج حاصل از مقایسه‌ی میانگین داده‌ها نشان داد که تیمار M و سپس T به ترتیب با ۱۰۷/۹۳ و ۷۳/۱۹ درصد نسبت به تیمار مایه‌زنی شده با نماتد بالاترین میزان عنصر مس را نشان دادند. همچنین تیمار M و MT با ۱۶۳/۷۵ و ۱۸۴/۵۸ درصد بالاترین مقدار را نسبت به تیمار سالم داشتند (شکل ۹).



شکل ۸- تأثیر مایه‌زنی نهال‌های پسته با اینوکولوم قارچ‌های همزیست و نماتدکش بر غلظت عنصر منگنز در حضور و عدم حضور نماتد

(M= Mycorrhizae, T= *Trichoderma*, nc= nematicidae, C= Control, N= Nematode).



شکل ۹- تأثیر مایه‌زنی نهال‌های پسته با اینوکولوم قارچ‌های همزیست و نماتدکش بر غلظت عنصر مس در حضور و عدم حضور نماتد

(M= Mycorrhizae, T= *Trichoderma*, nc= nematicidae, C= Control, N= Nematode).

قارچ‌های میکوریز آربوسکولار از طریق تأثیر بر جمعیت میکروارگانیسم‌های موجود در ریزوسفر گیاهان میزبان خود به همراه شرایط شیمیایی حاکم بر خاک قابلیت دسترسی گیاه به منگنز موجود در خاک را تحت تأثیر خود قرار می‌دهند. اهمیت عناصری مانند روی و پتاسیم بر روی بازده و کیفیت مغز پسته و گیاه پسته در تحقیقات قبلی ثابت شده است (Norozi *et al.*, 2019). نتایج کاربرد اینوکولوم میکوریزایی در گیاهان بوته‌ای نشان دهنده افزایش معنی‌دار غلظت عناصر فسفر و روی در بخش‌های هوایی بود (Ortas, 2010).

نتایج بررسی آزمایشات نشان داد که تیمارهای تریکودرما و میکوریز-تریکودرما باعث کاهش شاخص تعداد کیسه تخم، تعداد گال به ترتیب برابر با ۷۴/۵۰ و ۵۵/۸۸ و تعداد گال ۶۴/۸۱ و ۴۰/۳۷ درصد در مقایسه با شاهد آلوده گردید. نتایج دیگر بررسی‌ها نیز نشان داد که تیمار *T. atroviride*، *T. virens* و *T. harzianum*-C قادر به کاهش شاخص‌های بیماری‌زایی نماتد در *Capsicum annuum* به طور معنی‌داری می باشد (Herrera-Parra *et al*., 2017) همچنین کاربرد جدایه UBSTH-501 از قارچ *T. harzianum* باعث کاهش معنی‌دار در نماتد و خسارت بیماری گردید (Singh *et al*., 2017). اثر تشدید کنندگی قارچ‌های همزیست ریشه و جدایه‌های *Trichoderma* در جهت افزایش رشد گیاهان مختلف به اثبات رسیده است، ترشح اسیدهای آلی همچون گلوکورونیک، سیتریک و فوماریک توسط گونه‌های تریکودرما باعث کاهش اسیدیته خاک و افزایش حلالیت و جذب ریزمغذی‌های مهم مورد نیاز برای رشد گیاه همچون منگنز، منیزیم، آهن، کاتیون‌های معدنی و فسفات‌ها می‌شوند (Benitez *et al*., 2004; Vinale *et al*., 2008). در بررسی فعالیت بیوکنترلی جدایه *T. harzianum* T-203 در خاک آلوده به *M. javanica* در گیاه گوجه‌فرنگی نتایج نشان داد که این جدایه، علاوه بر کاهش شدت بیماری و گال‌های ریشه در مقایسه با شاهد، رشد گیاه افزایش یافته است (Sharon *et al*., 2001).

نتیجه گیری کلی

با توجه به هزینه‌ی بالای سموم شیمیایی از جمله نماتدکش‌ها، آلودگی‌های زیست محیطی و خطرات زیان‌آور برای انسان سبب شده است تا اهمیت استفاده از نماتدکش‌ها و قارچکش‌ها در کنترل بیماری‌های گیاهی روز به روز کم‌تر شود. قارچ میکوریز با افزایش سطح جذب ریشه از طریق گسترش تشکیل هیف‌ها، موجب افزایش جذب آب و مواد غذایی به وسیله‌ی گیاهان می‌شوند. این قارچ می‌تواند ریشه حدود ۸۰ درصد از گیاهان را از طریق همزیستی کلنیزه نماید. غلظت عناصر غذایی شامل (Mn, Zn, Cu, Fe, K, P) در اندام‌های هوایی نهال‌های پسته مایه‌زنی شده با اینوکولوم قارچ‌های میکوریز- تریکودرما، مخلوط میکوریز-تریکودرما، میکوریز- تریکودرما-نماتدکش و نماتدکش در حضور و عدم حضور نماتد اندازه‌گیری شد. مایه‌زنی با قارچ‌های میکوریز موجب افزایش معنی‌داری در جذب برخی عناصر غذایی از جمله فسفر، پتاسیم و آهن، موجب کاهش عنصر روی و منگنز در نهال‌های پسته گردید. یکی از مهمترین کاتیون‌های مورد نیاز گیاه پتاسیم می‌باشد که تجمع آن در هنگام تنش اسمزی و کنترل روزنه‌های نقش ایفا می‌کند (Esmaielpour *et al*., 2013). قارچ‌های میکوریزی در همزیستی با گیاهان و از طریق فعالیت فسفاتازی خود می‌توانند ترکیبات آلی فسفره را هیدرولیز کرده و بدین صورت جذب هم زمان فسفر و مس را در گیاه افزایش دهند. توانایی تعامل مناسب نوع گونه‌های موجود یا مایه‌زنی شده به خاک، میزان جمعیت و توانایی آن‌ها در استقرار در اطراف ریشه، نوع گیاه، ترشحات ریشه‌ای آن، شرایط

فیزیکی- شیمیایی خاک و نوع ریزجانداران موجود در خاک، می‌تواند موجب افزایش رشد و محصول گیاهان شود. تأثیر استفاده از جدایه‌های قارچ‌های تریکودرما و میکوریز آربوسکولار گام موثری در کنترل پاتوژن‌های گیاهی و کاهش میزان سموم شیمیایی به ویژه نماتدکش‌ها در مزارع آلوده به نماتد ریشه‌گرهی می‌باشد. تهیه فرمولاسیون این قارچ‌ها و استقرار آن‌ها در شرایط طبیعی باغ‌ها به ویژه باغات پسته توصیه می‌شود.

منابع

۱- رجالی، ف، علیزاده، ع، ملکوتی، مج، و صالح راستین، ن. (۱۳۸۶). بررسی تأثیر رابطه همزیستی میکوریز آربوسکولار در رشد، عملکرد و جذب عناصر معدنی در گیاه گندم تحت تنش خشکی. *مجله علوم خاک و آب*. ۲۱(۲): ۲۵۹-۲۴۱.

۲- سالاردینی، ع‌ا، و مجتهدی، م. (۱۳۸۴). حاصلخیزی خاک. انتشارات دانشگاه تهران، تهران.

۳- مرادی، م. (۱۳۷۶). جداسازی و شناسایی گونه‌های *Phytophthora* از تاج و ریشه گیاه درختان پسته در استان‌های کرمان و فارس و تعیین مقاومت نسبی پایه‌های معمولی پسته به آن‌ها. پایان‌نامه کارشناسی ارشد. دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز.

4- Alam, MA, Juraimi, AS, Rafi, MY, Abdul Hamid, A, Aslani, F, & Mohsin, GM. (2014). A comparison of yield potential and cultivar performance of 20 collected purslane (*Portulaca oleracea* L.) accessions employing seeds vs. stem cuttings. *Journal of Agricultural Science and Technology*, *16*, 1633-1648.

5- Barouti, Sh, & Hossieni Nezhad, S. (2006). Identification of plant nematodes in some gardens of Kerman province. Proceedings of 16th Iranian congress of plant protection. pp. 377.

6- Benitez, E, Melgar, Rm, & Nogales, R. (2004). Estimating soil resilience to a toxic organic waste by measuring enzyme activities. *Soil Biology and Biochemistry, 36*(10), 1615-1623.

7- Duncan, LW, & Ferris, H. (1983). Validation of a model for prediction of host damage by two nematode species. *Journal of Nematology, 15,* 227-234.

8- Emami, A. (1996). Methods of plant analysis. Soil and Water Research Institute. 928.

9- Erman, M, Demir, S, Ocak, E, Tüfenkçi, Ş, Oğuz, F, & Akköprü, A. (2011). Effects of rhizobium, arbuscular mycorrhiza and whey applications on some properties in chickpea (*Cicer arietinum* L.) under irrigated and rainfed conditions 1-Yield, yield components, nodulation and AMF colonization. *Field Crops Research, 122*(1), 14-24.

10- Esmaielpour, B, Jalilvand, P, & Hadian. J. (2013). Effects of drought stress and arbuscular mycorrhizal fungi on some morphophysiological traits and yield of savory (*satureja hortensis* l.). *Journal of Agroecology, 5*(2), 169-177.

11- Fazeli Salmani, A, Tehranifar, A, Davarinezhad, GhH, MahdikhaniMoghadam, E, & Zabihi, HR. (2012). Effect of root-producing nematode (*Meloidogyne javanica*) on distribution of some nutrients in pistachio trees. *Journal of Plant Production, 19*(3), 59-71.

12- Herrera-Parra, E, Cristóbal-Alejo, J, & Ramos-Zapata, JA. (2017). *Trichoderma* strains as

growth promoters in *Capsicum annuum* and as biocontrol agents in *Meloidogyne incognita*. *Chilean Journal of Agricultural Research, 77*(4), 318-324.

13- Hopkins, B, & Ellsworth, J. (2005). Phosphorus availability with alkaline/calcareous soil. In Western Nutrient Management Conference, pp. 88-93.

14- Hussey, RS, & Barker, KR. (1973). A comparison of methods of collecting inocula for *Meloidogyne* spp., including a new technique. *Plant Disease Reporter, 57*(1), 1025-1028.

15- Liu, R, Dai, M, Wu, X, Li, M, & Liu, X. (2011). Suppression of the root-knot nematode [*Meloidogyne incognita* (Kofoid and White) Chitwood] on tomato by dual inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth promoting rhizobacteria. *Mycorrhiza, 22*(4), 289-296.

16- Manandhar, S. (2011). Study on the bioprotective effect of endomycorrhiza against *M. graminicola* in rice. *Journal of Biological Pest Control, 5*(1), 28-35.

17- Nedjimi, B, & Daoud, Y. (2009). Cadmium accumulation in *Atriplex halimus* subsp. schweinfurthii and its influence on growth, proline, root hydraulic conductivity and nutrient uptake. *Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants, 204*(4), 316-324.

18- Norozi, M, Valizadeh Kaji, B, Karimi, R, & Nikoogoftar Sedghi, M. (2019). Effects of foliar application of potassium and zinc on pistachio (*Pistacia vera* L.) fruit yield. *International Journal of Horticultural Science and Technology, 6*(1), 113-123.

19- Ortas, I. (2010). Effect of mycorrhiza application on plant growth and nutrient uptake in cucumber production under field conditions. *Spanish Journal of Agricultural Research, 8*(1), 116-122.

20- Odeyemi, I, Afolami, S, & Sosanya, O. (2010). Effect of *Glomus mosseae* (arbuscular mycorrhizal fungus) on host-parasite relationship of *Meloidogyne incognita* (southern root-knot nematode) on four improved cowpea varieties. *Journal of Plant Protection Research, 50*(3), 320-325.

21- Roosta, HR, & Mohammadi, Z. (2013). Improvement of some nut quality factors by manure, ammonium, and iron application in alkaline soil pistachio orchards. *Journal of Plant Nutrition*, *36*(5), 691-701.

22- Sharon, E, Bar-Eyal, M, Chet, I, Herrera-Esterella, A, Keleifeld, O, & Spiegel, Y. (2001). Biological control of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* by *Trichoderma harzianum*. Plant parasitic in subtropical and tropical agriculture. *CAB International, 91*(7), 687-693.

23- Siddiqui, ZA, & Akhtar, MS. (2009). Effects of antagonistic fungi, plant growth-promoting rhizobacteria, and arbuscular mycorrhizal fungi alone and in combination on the reproduction of *Meloidogyne incognita* and growth of tomato. *Journal of General Plant Pathology, 75*(2), 144.

24- Siddiqui, ZA, & Akhtar, MS. (2007). Effects of AM fungi and organic fertilizers on the reproduction of the nematode *Meloidogyne incognita* and on the growth and water loss of tomato. *Biology and Fertility of Soils, 43*(5), 603-609.

25- Singh, UB, Singh, S, Malviya, D, Chaurasiam, R, Imran, M, & Rai, J. (2017). Harnessing biocontrol potential of *Trichoderma harzianum* for control of *Meloidogyne incognita* in tomato. *Indian Phytopathology, 70*(3), 331-335.

26- Teviotdale, BL, Michaillides, TJ, & Pscheidt, JW. (2002). Compendium of nut crop diseases

in temperate zones. American Phytopathological Society. St. Paul. MN, USA.

27- Vinale, F, Sivasithamparam, K, Ghisalberti, EL, Marra, R, Woo, SL, & Lorito, M. (2008). *Trichoderma*–plant–pathogen interactions. *Soil Biology and Biochemistry, 40*(1), 1-10.

28- Wildermuth, GB, & McNamara, RB. (1987). Susceptibility of winter and summer crops to root and crown infection by *Bipolaris sorokiniana*. *Plant Pathology, 36*(4), 481-491.

29- Ziarati, HM, Roustaee, A, Sahebani, N, Etebarian, HR, & Aminian, H. (2009). Study of biological control of root-knot nematode, *Meloidogyne javanica* (Trube) Chitwood, in tomato by *Trichoderma harzianum* Rifai in greenhouse and quantitative changes of phenolic compounds in plant. *Seed and Plant Production Journal, 25,* 259-272.

Improvement of Growth Factor and Nutrients Elements in Treated Pistachio Seedlings by some Symbiotic Fungi in Presence of *Meloidogyne javanica*

Abstract

Root-knot nematode is one of the most important pistachio diseases which which causes huge damage to pistachio trees in recent years. The present study was undertaken to assess the efficacy of arbuscular mycorrhizal species including *Funneliformis mosseae, Rhizophagus intraradices, F. caledonius* and *Tricoderma aureoviride* and *T. harzianum* on growth factors and nutrients uptake in *Meliodogyne Javanica* inoculated seedling under greenhouse conditions. Overall, mixed inoculations of pistachio seedling with arbuscular mycorrhizal, *Tricoderma* species and nematorin resulted in the highest amount of shoot fresh and dry weight by 184 and 74.76%, followed by 129.3 and 74 % in mixture including arbuscular mycorrhizal and *Trichoderma* species, respectively, compared with no-inoculation control seedling. Fresh and dry weight of shoot in inoculations of seedling with mycorrhiza, mycorrhiza-*Trichoderma* and *Trichoderma* increased by 129.26, 86.58 and 68.75, 53.12 % compared to no-inoculated seedling, fresh and dry weight of roots in mycorrhiza and mycorrhizal *Trichoderma-Trichoderm*a-nematicide were 153.67, 168.60 and 71.75 and 162.79% higher than those inoculated with *M. javanica*. The uptake of P, Zn and Cu in inoculated seedling with arbuscular mycorrhizal and *Tricoderma* species was increased, significantly. Phosphorus and potassium levels in mycorrhiza and mycorrhiza-*Trichoderm*a treatments were increased 101.99% and 103.62%, respectively, in the presence of *M. javanica* compared to no-inoculated seedling. Based on the improvement of growth parameters, nutrients uptake, biocontrol capability, arbuscular mycorrhizal and *Trichoderma* species may be useful strategy to reduce the damage of root knot nematode, which required further research.

Keywords: Antagonistic fungi, Biological control, Integrated management, Symbiosis