

تأثیر برخی ترکیب‌های شیمیایی در تحریک آنزیم‌های دفاعی گیاه و کاهش بیماری گموز پسته ناشی از *Phytophthora drechsleri*

فریبا فتحی^۱، روح‌الله صابری ریشه^{۲*} و محمد مرادی^۳

۱ و ۲. دانشجوی کارشناسی ارشد و دانشیار، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ولی‌عصر (عج) رفسنجان
۳. استادیار پژوهشکده پسته، مؤسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی رفسنجان، ایران
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۰/۲ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۳/۶)

چکیده

به‌منظور تعیین مناسب‌ترین ترکیب شیمیایی مؤثر بر میزان تغییر سطح آنزیم‌های دفاعی و ایجاد مقاومت به شبه قارچ *Phytophthora drechsleri* در نهال‌های دو رقم پسته (سرخس و بادامی ریززند) آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با ترکیب‌های شیمیایی (فسفیت پتاسیم، فوزتیل آلومینیوم، سیلیکات پتاسیم، کمپلکس آمینواسید و آهن بر یا سیدروفور پایوجلین) انجام شد. ترکیب‌های مورد استفاده منجر به کاهش درصد مرگ‌ومیر نهال‌های پسته شدند، به‌طوری‌که فسفیت پتاسیم و کمپلکس آمینواسید با ۱۰۰ درصد بیشترین و فوزتیل آلومینیوم با ۲۵ درصد کمترین تأثیر را در کاهش رخداد بیماری داشتند. همچنین این ترکیب‌ها باعث افزایش ارتفاع، وزن تر و خشک اندام‌های هوایی و ریشه نسبت به نهال‌های شاهد و آلوده به بیماری شدند. همچنین نتایج نشان داد، ترکیب‌های مورد استفاده به‌ترتیب باعث افزایش ۶۰، ۵۵، ۷۱ و ۵۸ درصدی در سطوح آنزیمی پراکسیداز، پلی‌فنل‌اکسیداز، فنیل‌آلانیل‌آمونیاایز و فنل کل در رقم بادامی نسبت به رقم سرخس شدند. عامل بیماری‌زا به ترتیب سبب افزایش ۹-۱۴، ۲، ۳-۲ و ۱/۱-۱/۴۷ برابری سطوح آنزیمی نسبت به تیمار شاهد در دو رقم پسته شد. استفاده از این ترکیب‌ها باعث افزایش سطوح آنزیمی و ترکیب‌های فنلی شد که این موضوع در مایه‌زنی توأم با عامل بیماری سطح بیشتری را نشان داد.

واژه‌های کلیدی: پسته، پراکسیداز، پلی‌فنل‌اکسیداز، ترکیب‌های شیمیایی، ترکیب‌های فنلی.

The effect of some chemical compounds in eliciting of plant defense enzymes and reduction of *Pistachio gummosis (Phytophthora drechsleri)*

Fariba Fathi¹, Roohallah Saberi-Riseh^{2*} and Mohammad Moradi³

1, 2. M. Sc. Student and Associate Professor, Department of Plant Protection, Vali-e-Asr university of Rafsanjan, Iran
3. Assistant Professor, Pistachio Research Center, Horticultural Sciences Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Rafsanjan-Iran
(Received: Dec. 22, 2016 - Accepted: May 27, 2017)

ABSTRACT

In order to determine the most efficient chemical compound in fluctuation of plant defense enzymes level and causing resistance to *Phytophthora drechsleri* in two pistachio cultivars (Sarakhs and Badami-riz-Zarand), a factorial experiment was carried out based on complete randomized design (CRD) with chemical compounds (potassium phosphite, fosetyl-aluminium, potassium silicate, complex amino acid, and siderophore). The results indicated that chemicals used for this experiment were able to reduce the percentage of death in pistachio seedlings as plants treated with potassium phosphite and amino acid complex with 100% and fosetyl-aluminium with 25% had the most and the least effects in these reduction of disease incidence, respectively. These compounds increased plants height, roots, and shoot fresh and dry weights in comparison to the control and inoculated plants with *P. drechsleri*. The results indicated that chemical compounds used for this experiment were able to reduce the percentage of death in seedling. Plants treated with potassium phosphite Chemical compounds also enhanced enzymatic levels and phenolic compound content, which phenomenon was more obvious in simultaneous inoculation with disease agent and lead to enhancing the peroxidase, poly phenol oxidase, phenylalanin aminolyase enzymatic level, and total phenolic compound content.

Keywords: Chemical compounds, peroxidase, phenolic compounds, pistachio, polyphenol oxidase.

* Corresponding author E-mail: r.saberi@vru.ac.ir

مقدمه

پسته یکی از محصولات کشاورزی ایران است و ایران به‌عنوان مهم‌ترین صادرکننده پسته جهان شهرت دارد، از این‌رو پایداری این شهرت جهانی اهمیت داشته و در حفظ آن باید پیوسته تلاش شود. تاکنون در جهان بیش از سی بیماری از پسته گزارش شده است که در این میان بیماری‌های خاک‌زاد از مهم‌ترین عامل‌ها به شمار می‌آیند. در ایران بیماری‌های پوسیدگی فیتوفتورایی طوقه و ریشه، ریشه‌گرهی و پژمردگی ورتیسلیومی از جمله بیماری‌های مهم خاک‌زاد هستند که هر ساله آسیب زیادی به درختان پسته وارد می‌کنند.

پوسیدگی طوقه و ریشه ناشی از گونه‌های *Phytophthora* یکی از مهم‌ترین بیماری‌ها در پسته به شمار می‌آید و هر ساله باعث از بین رفتن شمار زیادی از درختان بارو و غیر بارور می‌شود (Banihashemi, 1994; Mirabolfathy et al., 2001; Mostowfizadeh-Ghalamfarsa et al., 2008). از نشانه‌های این بیماری، پوسیدگی لکه‌ای طوقه و ریشه درختان است که با تراوش قطره‌های شفاف، ریزودرشت صمغ همراه است، این بیماری باعث تخریب آوندهای آبکش و در نهایت زوال و مرگ درختان می‌شود (Mirablofathi, 1986). در ارتباط با مدیریت بیماری در شرایط باغی، تحقیقات جامع و گسترده‌ای تا به امروز صورت نگرفته است. تحقیقات انجام‌شده در مدیریت بیماری، مواردی مانند مبارزه زراعی، شیمیایی، مهار زیستی (بیولوژیک) و استفاده از پایه‌های مقاوم را توصیه می‌کنند (Saberi-Riseh et al., 2005; Moradi & Massomi, 2011; Fani et al., 2012; Moradi, 2015a; Moradi, 2015b; Mahmoodi et al., 2015). متداول‌ترین راه کنترل بیماری‌های خاک‌زاد استفاده از ترکیب‌های شیمیایی است، که به‌نوبه خود این ترکیب‌ها باعث ایجاد آسیب‌های غیرقابل جبران به محیط‌زیست، سلامت انسان و ایجاد مقاومت در بیمارگر می‌شوند. از این‌رو مهار زیستی به دلیل نداشتن تأثیر زیانبار زیست‌محیطی می‌تواند به‌عنوان یک نقطه عطف در روش‌های کنترل به شمار آید. پدیده مقاومت القایی می‌تواند به‌عنوان یکی از مهم‌ترین سازوکارهای کنترل

زیستی کاربرد کنترل شیمیایی را کاهش دهد (Edreva, 2004).

ترکیب‌های مصنوعی (سنتزی) و زیستی متنوعی هستند که می‌توانند بسیاری از بیماری‌های گیاهی را بدون تأثیر مستقیم، و از راه القای مقاومت در گیاهان کنترل کنند. هم ترکیب‌های زیستی و هم ترکیب‌های مصنوعی، مقاومت را در بسیاری از گونه‌های گیاهی در برابر حمله انواع بیمارگرها شامل قارچ‌ها، باکتری‌ها و ویروس‌ها القا می‌کنند (Sticher et al., 1997). همچنین بسیاری از ترکیب‌های غیر آلی مانند فسفات‌ها و سیلیکون‌ها (Gottstein & Kuć, 1989; Walters & Murray, 1992; Ch'arif et al., 1993; Reuveni et al., 1994; Schneider & Ullrich, 1994) و ترکیب‌های آلی مانند کیتوزان (Benhamou et al., 1994)، همچنین عصاره گیاهان (Daaf et al., 1995) و ریزجانداران (میکروارگانسیم) (Strobel et al., 1996) باعث القای مقاومت در گیاهان می‌شوند.

فسفونات‌ها، ترکیب‌های تولیدشده از نمک‌ها و استرهای اسید فسفرو هستند. قارچ‌کش‌های فسفونات مانند فسفیت پتاسیم و فوزتیل آلومینیوم، برای کنترل بیماری‌های ناشی از گروه Oomycetes مانند *Phytophthora*، *Plasmopara* و *Pythium* به‌طور گسترده استفاده می‌شوند (Guest & Grant, 1991). چگونگی عمل قارچ‌کش‌های فسفونات بر بیمارگر به‌صورت مستقیم در غلظت‌های بالا، با اختلال در سوخت‌وساز (متابولیسم) فسفر (Macdonald et al., 2001) و تأثیر غیرمستقیم این ترکیب‌ها در غلظت‌های پایین، از راه تحریک پاسخ‌های دفاعی گیاه مانند تجمع ترکیب‌های فنلی صورت می‌گیرد که بازدارنده رشد بیمارگر می‌شوند (Guest & Grant, 1991).

سیلیسکون (Si) دومین عنصر فراوان در سطح زمین است و میزان آن در گیاهان ۱۰-۱ درصد وزن خشکشان است (Liang et al., 2008). کاربرد سیلیس باعث افزایش حفاظت گیاه به تنش‌های زنده و غیرزنده از راه تحریک سازوکارهای دفاعی، افزایش فعالیت آنزیم‌های پاداکسنده یا آنتی‌اکسیدانت (کیتیناز، پلی‌فنل‌اکسیدازها و پراکسیدازها) و تولید فیتوآلکسین‌ها (فنل‌ها و فلاونول‌ها، فلاونوئیدها) در

تهیه مایه تلقیح *P. drechsleri*

در این تحقیق از شبه قارچ *Phytophthora drechsleri* (بخش تحقیقات گیاهپزشکی مؤسسه تحقیقات پسته کشور) استفاده شد. برای تهیه مایه تلقیح بیمارگر، ۲۵ گرم برنج در فلاسک‌های ۲۵۰ میلی‌لیتری محتوای ۱۸ میلی‌لیتر آب در دو روز متوالی هر بار سی دقیقه در دمای ۱۲۱°C و فشار ۱ اتمسفر سترون شد. شش قرص میسلیمیوم از میسلیمیوم‌های قارچ کشت داده شده روی محیط ذرت آگار (CMA) برداشته و به هر فلاسک اضافه شد. فلاسک‌ها به مدت دو هفته در دمای ۲۸°C نگهداری شدند (Holmes & Benson, 1994). برای مایه‌زنی نهال‌های دو ماهه با عامل بیماری، خاک سطحی گلدان‌ها برداشته ۵ گرم مایه (اینوکولوم) *P. drechsleri* به ازای هر کیلوگرم خاک گلدان در پیرامون ریشه نهال‌ها قرار گرفت و دوباره با همان خاک پوشانده شد.

تهیه ترکیب‌های محرک مقاومت

ترکیب‌های قارچ‌کشی فسفیت پتاسیم از مؤسسه تحقیقات پسته کشور و قارچ‌کش اِلیت (Elite) از شرکت خزر سم کود به نمایندگی از شرکت Shandong Dacheng چین تهیه شد. ترکیب‌های سیلیکات پتاسیم، کمپلکس آمینواسید و آهن بر پایوپلین از دانشگاه ولی‌عصر (عج) رفسنجان تهیه شدند و به صورتی که در جدول ۱ استفاده شدند.

همزمان با تلقیح عامل بیماری، ترکیب‌های القاگر به صورت محلول‌پاشی و خاک کاربرد بر نهال‌های دو ماهه پسته اعمال شدند. میزان آنزیم‌های پراکسیداز، پلی‌فنل‌اکسیداز، فنیل‌آلانین‌آمونیا لیا ز و سنجش فنل کل در روزهای صفر (پیش از مایه‌زنی تیمارها و تلقیح قارچ) و سه، شش، نه، دوازده روز پس از مایه‌زنی تیمارها و تلقیح عامل بیماری ارزیابی شد.

تأثیر ترکیب‌های محرک مقاومت در میزان رخداد

بیماری و شاخص‌های رشدی

برای تعیین تأثیر ترکیب‌های محرک بر میزان رخداد بیماری از رابطه Hokeberg *et al.* (1997) استفاده شد:

$$X = 100 - (100 \times A)/B$$

گیاه (Epstein, 2009) می‌شود. همچنین سیلیس با تغییر در ساختار دیواره یاخته‌ای (رسوب سیلیس روی بافت روپوست یا اپیدرم) می‌تواند بازدارنده‌ای برای نفوذ بیمارگر (پاتوژن) باشد (Bosse *et al.*, 2011). معمول‌ترین شکل مورد استفاده Si، پتاسیم سیلیکات است که از راه افزایش تولید ترکیب‌های ضدقارچی، آنزیم فنیل‌آلانین‌آمونیا لیا ز (PAL) و ترکیب‌های فنلی موجب کاهش بیماری می‌شود (Tarabih *et al.*, 2014).

اسیدهای آمینه پیش‌سازها و اجزای اصلی پروتئین‌ها هستند. بسیاری از اسیدهای آمینه نیز به‌عنوان پیش‌سازهای دیگر ترکیب‌های نیتروژن‌دار مانند نوکلئیک اسیدها فعالیت می‌کنند. در موارد زیادی تأثیر ترکیب‌های آمینواسیدی در القا مقاومت علیه بیماری‌های گیاهی گزارش شده است. بتا‌آمینوبوتریک اسید (BABA) یک آمینواسید غیرپروتئینی است که باعث القا مقاومت به طیف گسترده‌ای از بیمارگرها مانند ویروس‌ها، باکتری‌ها و قارچ‌ها می‌شود (Vogt & Buchenauer, 1997; Oka *et al.*, 2000; Zimmerli *et al.*, 1999; Cohen, 2000).

آهن بر (سیدروفور)ها به صورت ترکیب‌هایی با وزن مولکولی به نسبت کم تعریف می‌شوند. این عامل‌ها کلات‌کننده اختصاصی یون آهن بوده که توسط قارچ‌ها و باکتری‌ها در شرایط کمبود آهن تولید می‌شوند. آهن‌برها نه تنها باعث جذب آهن توسط باکتری‌ها شده بلکه مقاومت فراگیر (سیستمیک) را هم در گیاه القا می‌کنند (Van Loon *et al.*, 1998).

هدف از انجام این پژوهش، بررسی تأثیر برخی ترکیب‌های شیمیایی بر تغییر میزان سطح آنزیم در نهال‌های پسته رقم بادامی و سرخس در شرایط گلخانه بوده تا میزان کنترل بیماری ارزیابی شود.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی گیاهان

بذرهای دو رقم پسته سرخس و بادامی ریز زرد، از مؤسسه تحقیقات پسته کشور تهیه شد. کاشت بذرها بنا بر روش ارائه شده توسط Moradi (1998) در خاک سترون با بافت شنی رسی و اسیدیت ۷/۲ و شوری ۲/۳ دسی‌زیمنس بر متر صورت گرفت.

به دو قسمت ساقه و ریشه تقسیم شد و پس از شستشو و خشک کردن به‌طور جداگانه وزن شدند. برای اندازه‌گیری وزن خشک، نمونه‌ها را به مدت ۷۲ ساعت در آون با دمای 70°C قرار داده شد و وزن شدند.

X = درصد رخدادهای بیماری، A = شمار نهال بیمار در هر تیمار، B = شمار نهال بیمار در تیمار شاهد آلوده. ارتفاع نهال‌ها از محل سطح خاک تا جوانه انتهایی با خط‌کش در مقیاس سانتی‌متر اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری وزن تر در آغاز گیاه از ناحیه طوقه جدا و

جدول ۱. تیمارهای آزمایش

Table 1. Experiment treatments

| Treatment | Application (The commercial form) | | Inoculation |
|---------------------|-----------------------------------|------------------|-------------|
| | Spraying | Soil application | |
| Potassium phosphite | 500 ppm | - | + |
| | 500 ppm | - | - |
| Fosetyl-Al | 500 ppm | - | + |
| | 500 ppm | - | - |
| Potassium Silicate | 20000 ppm | - | + |
| | 20000 ppm | - | - |
| Amino acid complex | - | g/kg soil | + |
| | - | g/kg soil | - |
| Siderophore | - | g/kg soil | + |
| | - | g/kg soil | - |

میکرولیتر عصاره آنزیمی مخلوط و تغییرپذیری جذب در طول موج ۴۲۰ نانومتر و پس از سه دقیقه خوانده شد (Nicoli *et al.*, 1991).

اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لایز (PAL) در این روش ۱ میلی‌لیتر از بافر استخراج، ۰/۵ میلی‌لیتر فنیل آلانین ۱۰ میلی‌مولار، ۰/۴ میلی‌لیتر آب دو بار تقطیر و ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی مخلوط و به مدت یک ساعت در دمای 37°C نگهداری شدند. واکنش با اضافه کردن ۰/۵ میلی‌لیتر اسید کلریدریک ۶ مولار متوقف شد و جذب نمونه‌ها در طول موج ۲۶۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (D'cunha *et al.*, 1996).

ارزیابی میزان فنل کل

۰/۰۵ گرم از بافت در ۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد ساییده و مخلوط به‌دست‌آمده به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی نگهداری شد. پس از سانتریفیوژ در 4000g به مدت ۱۰ دقیقه، به ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول رویی ۰/۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد اضافه و حجم محلول با آب مقطر به ۲/۵ میلی‌لیتر رسانده شد. به محلول به‌دست‌آمده ۰/۲۵ میلی‌لیتر معرف فولین ۵۰ درصد و ۰/۵ میلی‌لیتر کربنات سدیم ۵ درصد افزوده و جذب نمونه‌ها پس از یک ساعت نگهداری در تاریکی با

بررسی‌های بیوشیمیایی

استخراج پروتئین از بافت گیاه

در آغاز ۰/۵ گرم از بافت برگ تازه گیاه در ۳-۵ میلی‌لیتر بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH ۷/۲) حاوی پلی‌ونیل پیرولیدین (PVP) ۱ درصد و EDTA ۱ میلی‌مولار در یک هاون چینی به‌کلی له شد. مخلوط به‌دست‌آمده به مدت ۲۰ دقیقه و توسط سانتریفیوژ در 4000°C دور در دمای سانتریفیوژ شد. دروایه (سوسپانسیون) رویی برای بررسی میزان تغییر آنزیمی جدا شد.

اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز (GPX)

در این روش ۳ میلی‌لیتر مخلوط واکنش حاوی ۲/۷۷ میلی‌لیتر بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH ۷)، ۱۰۰ میکرولیتر آب اکسیژنه ۱ درصد، ۱۰۰ میکرولیتر گایاکول ۴ درصد و ۳۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. افزایش جذب به دلیل اکسایش (اکسیداسیون) گایاکول در طول موج ۴۷۰ نانومتر به مدت سه دقیقه اندازه‌گیری شد (Plewa *et al.*, 1991).

اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز (PPO)

۲/۵ میلی‌لیتر بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH ۷)، ۲۰۰ میکرولیتر پیروگالل ۰/۰۲ مولار و ۱۰۰

تأثیر بیمارگر، ترکیب‌های القاکننده و اثر متقابل آن‌ها قرار گرفتند (جدول ۲).

به‌طور کلی مایه‌زنی نهال‌ها با ترکیب‌های القاکننده باعث افزایش معنی‌دار بر ارتفاع اندام‌های هوایی، وزن تر و خشک اندام‌های هوایی و ریشه نسبت به نهال‌های مایه‌زنی نشده و همچنین مایه‌زنی شده با عامل بیماری به‌تنهایی، شد. تأثیر مایه‌زنی با ترکیب‌های مورد استفاده بر صفات ارتفاع، وزن تر و خشک از نظر آماری در تیمار فسفیت پتاسیم نسبت به دیگر تیمارها آشکارتر بود به‌طوری‌که موجب افزایش ۲/۲، ۵، ۶/۵، ۵، ۶/۱۵ برابری به ترتیب در ارتفاع اندام‌های هوایی، وزن تر اندام‌های هوایی، وزن تر ریشه، وزن خشک اندام‌های هوایی و وزن خشک ریشه نسبت به شاهد سالم در رقم بادامی و ۲/۴، ۱۲، ۳، ۵/۴، ۶/۵ برابری به ترتیب در ارتفاع اندام‌های هوایی، وزن تر اندام‌های هوایی، وزن تر ریشه، وزن خشک اندام‌های هوایی و وزن خشک ریشه نسبت به شاهد سالم در رقم سرخس شد (جدول ۳).

نتایج بررسی تغییر دفاع بیوشیمیایی

نتایج به‌دست‌آمده از تجزیه واریانس تغییر دفاع بیوشیمیایی نشان داد، تغییرپذیری آنزیم پراکسیداز، پلی‌فنل‌اکسیداز، فنیل‌آلانین‌آمونیل‌یاز و ترکیب‌های فنلی در هر دو رقم تحت تأثیر عامل بیماری، ترکیب‌های القاکننده و اثر متقابل آن‌ها قرار گرفتند (جدول ۴).

طیف‌سنج نوری (اسپکتروفوتومتر) در طول موج ۷۲۵ نانومتر خوانده شد (Roland & Laima, 1999).

تجزیه و تحلیل آماری

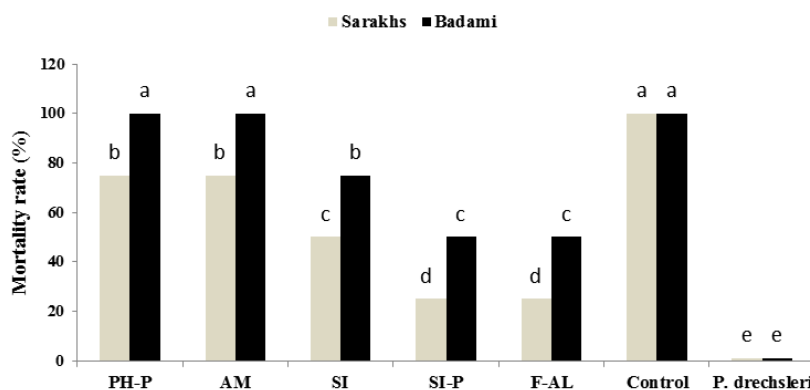
همه آزمایش‌ها در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار انجام گرفت. داده‌های به‌دست‌آمده با استفاده از نرم‌افزار SAS تجزیه و تحلیل آماری شدند و میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد مقایسه شدند (Duncan & Ferris, 1983).

نتایج

تأثیر ترکیب‌های القاکننده در کاهش بیماری گموز پسته ترکیب‌های القاکننده قادر به کاهش درصد مرگومیر در نهال‌های پسته بودند، به‌طوری‌که فسفیت پتاسیم و کمپلکس آمینواسید با ۱۰۰ درصد بیشترین و ترکیب فوزتیل آلومینیوم با ۲۵ درصد کمترین تأثیر را در کاهش رخداد بیماری داشتند. در نهال‌های تلقیح‌شده با *P. drechsleri* ۱۰۰ درصد نهال‌ها مشاهده شد (شکل ۱).

بررسی تأثیر ترکیب‌های القاکننده بر عامل‌های رشدی گیاه

نتایج به‌دست‌آمده از تجزیه واریانس عامل‌های رشدی نشان داد، صفات ارتفاع اندام‌های هوایی، وزن تر و خشک اندام‌های هوایی و ریشه در هر دو رقم تحت



شکل ۱. تأثیر مایه‌زنی نهال‌های پسته با ترکیب‌های القاکننده همزمان با مایه‌زنی *Phytophthora drechsleri* بر درصد کاهش رخداد بیماری تحت شرایط گلخانه‌ای. PH-P (Potassium phosphite)، AM (Amino acid complex)، SI (Siderophore)، SI-P (Silicate Potassium)، F-AL (Fosetyl-AL).

Figure 1. Effect inducers simultaneously on pistachio seedlings inoculated with *Phytophthora drechsleri* on the percent disease incidence under greenhouse. PH-P (Potassium phosphite), AM (Amino acid complex), SI (Siderophore), SI-P (Silicate Potassium), F-AL (Fosetyl-AL).

بررسی تغییرپذیری آنزیم پراکسیداز (GPX)

نتایج به‌دست‌آمده از تغییر آنزیم پراکسیداز نشان داد، نهال‌های آلوده تیمار شده با ترکیب‌های القاکننده از نظر میزان فعالیت آنزیم در مقایسه با نهال‌های سالم شاهد و همچنین نهال‌های سالم تیمار شده با ترکیب‌های القاکننده، افزایش شایان توجهی دارند. مقایسه بین دو رقم نشان داد، میزان آنزیم در رقم بادامی نسبت به رقم سرخس افزایش ۶۲ درصد داشته است. بیشترین افزایش در رقم سرخس مربوط به مایه‌زنی ترکیبی تیمار فسفیت پتاسیم و *P. drechsleri* با ۱۶ برابر نسبت به شاهد سالم و

کمترین میزان مربوط به مایه‌زنی ترکیبی تیمار فوزیتیل آلومینیوم و *P. drechsleri* با ۱۱ برابر نسبت به شاهد سالم است. همچنین سطوح آنزیمی در شاهد آلوده ۹ برابر نسبت به شاهد سالم افزایش داشته است. در رقم بادامی بیشترین و کمترین میزان سطوح آنزیمی با ۲۳ و ۱۴ برابر نسبت به شاهد سالم، به ترتیب در مایه‌زنی همزمان تیمارهای فسفیت پتاسیم و فوزیتیل آلومینیوم و *P. drechsleri* مشاهده شد. شاهد آلوده نیز افزایش ۱۴ برابری نسبت به شاهد سالم نشان داد. میزان آنزیم تا روز ششم به‌صورت افزایشی بود و پس از آن رو به کاهش گذاشت (شکل ۲).

جدول ۲. نتایج تجزیه واریانس مربوط به عامل‌های رشدی در نهال‌های پسته تلقیح‌شده با *Phytophthora drechsleri* و

ترکیب‌های القاکننده به‌تنهایی و در ترکیب باهم

Table 2. Analysis of variance for growth factors in pistachio seedlings in inoculation with *Phytophthora drechsleri* and inducers alone and their combinations

| Source of variations | df | Means square | | | | |
|----------------------|----|--------------------|--------------------|------------------|-------------------|-----------------|
| | | Plant height | Shoot fresh weight | Shoot dry weight | Root fresh weight | Root dry weight |
| Cultivars (C) | 1 | 555.5** | 23.21** | 61.31** | 4.48** | 2.98** |
| Treatment (T) | 5 | 72.53** | 4.65** | 7.28** | 0.74** | 0.52** |
| Inoculation (I) | 1 | 60.50** | 5.29** | 14.84** | 0.71** | 1.40** |
| C × T | 5 | 3.52** | 0.93** | 1.69** | 0.28** | 0.13** |
| C × I | 1 | 0.22 ^{ns} | 1.42** | 3.36** | 0.11** | 0.25** |
| T × I | 5 | 0.86 ^{ns} | 0.23** | 0.48** | 0.02** | 0.05** |
| C × T × I | 5 | 3.58** | 0.41** | 0.79** | 0.008* | 0.03** |
| Error | | 0.86 | 0.005 | 0.12 | 0.003 | 0.002 |
| CV% | | 7.55 | 5.32 | 14.86 | 9.46 | 9.81 |

*, **, ns: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد و عدم وجود تفاوت معنی‌دار.

*, **, ns: Significantly difference at 5 and 1% probability level, and non-significantly difference, respectively.

جدول ۳. نتایج مقایسه میانگین مربوط به عامل‌های رشدی در نهال‌های پسته تلقیح‌شده با *Phytophthora drechsleri* و

ترکیب‌های القاکننده به‌تنهایی و در ترکیب با هم

Table 3. The results of growth factors in pistachio seedlings in inoculation with *Phytophthora drechsleri* and inducers alone and their combination

| Cultivars | Treatments | Inoculation with <i>Phytophthora drechsleri</i> | | | | | Non inoculation | | | | |
|-----------|---------------------|---|------------------------|-----------------------|----------------------|---------------------|-------------------|------------------------|-----------------------|----------------------|---------------------|
| | | Plant height (cm) | Shoot fresh Weight (g) | Root fresh weight (g) | Shoot dry weight (g) | Root dry weight (g) | Plant height (cm) | Shoot fresh weight (g) | Root fresh weight (g) | Shoot dry weight (g) | Root dry weight (g) |
| Badami | Potassium phosphite | 17.00 ab | 2.83 b | 4.41 bc | 1.24 c | 1.10 b | 18.00 a | 3.20 a | 5.05 a | 1.55 a | 1.23 a |
| | Potassium Silicate | 10.66 ef | 1.07 gh | 1.72 ghi | 0.50 hi | 0.28 ijk | 13.66 cd | 1.67 d | 3.33 ef | 0.69 f | 0.75 d |
| | Fosetyl-Al | 10.66 ef | 0.69 jk | 1.52 hij | 0.34 klmn | 0.26 jk | 12.00 de | 1.40 e | 3.23 f | 0.65 fg | 0.70 de |
| | Amino acid | 17.00 ab | 2.38 c | 4.00 cde | 1.20 c | 0.81 cd | 17.33 ab | 3.13 a | 4.96 ab | 1.40 b | 1.10 b |
| | Siderophore | 14.33 c | 1.65 d | 3.25 f | 0.85 e | 0.43 fg | 16.33 b | 3.12 a | 3.88 def | 1.00 d | 0.85 c |
| | Control | 8.20 gh | 0.63 k | 0.78 k | 0.31 lmn | 0.20 kl | 10.66 ef | 1.16 fg | 3.00 f | 0.64 fg | 0.47 f |
| Sarakh | Potassium phosphite | 8.66 g | 1.13 fg | 1.88 gh | 0.47 hij | 0.35 ghi | 12.00 de | 1.46 e | 2.33 g | 0.54 gh | 0.65 e |
| | Potassium Silicate | 6.66 hi | 0.62 k | 0.86 jk | 0.25 no | 0.18 lm | 7.66 gh | 0.73 ij | 1.56 hij | 0.36 jklm | 0.31 hij |
| | Fosetyl-Al | 6.00 ij | 0.25 m | 0.76 k | 0.17 op | 0.16 lm | 7.33 h | 0.43 l | 0.94 jk | 0.35 klm | 0.21 kl |
| | Amino acid | 8.66 g | 1 h | 1.43 hij | 0.39 ijk | 0.26 jk | 11.00 e | 1.23 f | 2.29 g | 0.50 hi | 0.58 e |
| | Siderophore | 8.00 hg | 0.94 i | 1.16 ijk | 0.38 jkl | 0.25 jkl | 9.00 g | 1.15 fg | 1.56 hi | 0.44 ijk | 0.37 fgh |
| | Control | 5.00 j | 0.12 n | 0.76 k | 0.10 p | 0.10 m | 6.00 ig | 0.35 lm | 1.22 ijk | 0.27 mno | 0.16 lm |

* تیمارهایی که حرف‌های متفاوت دارند، در سطح ۵ درصد با یکدیگر اختلاف معنی‌دار دارند.

* Treatments with different letters show significant differences at P≤0.05 (LSD).

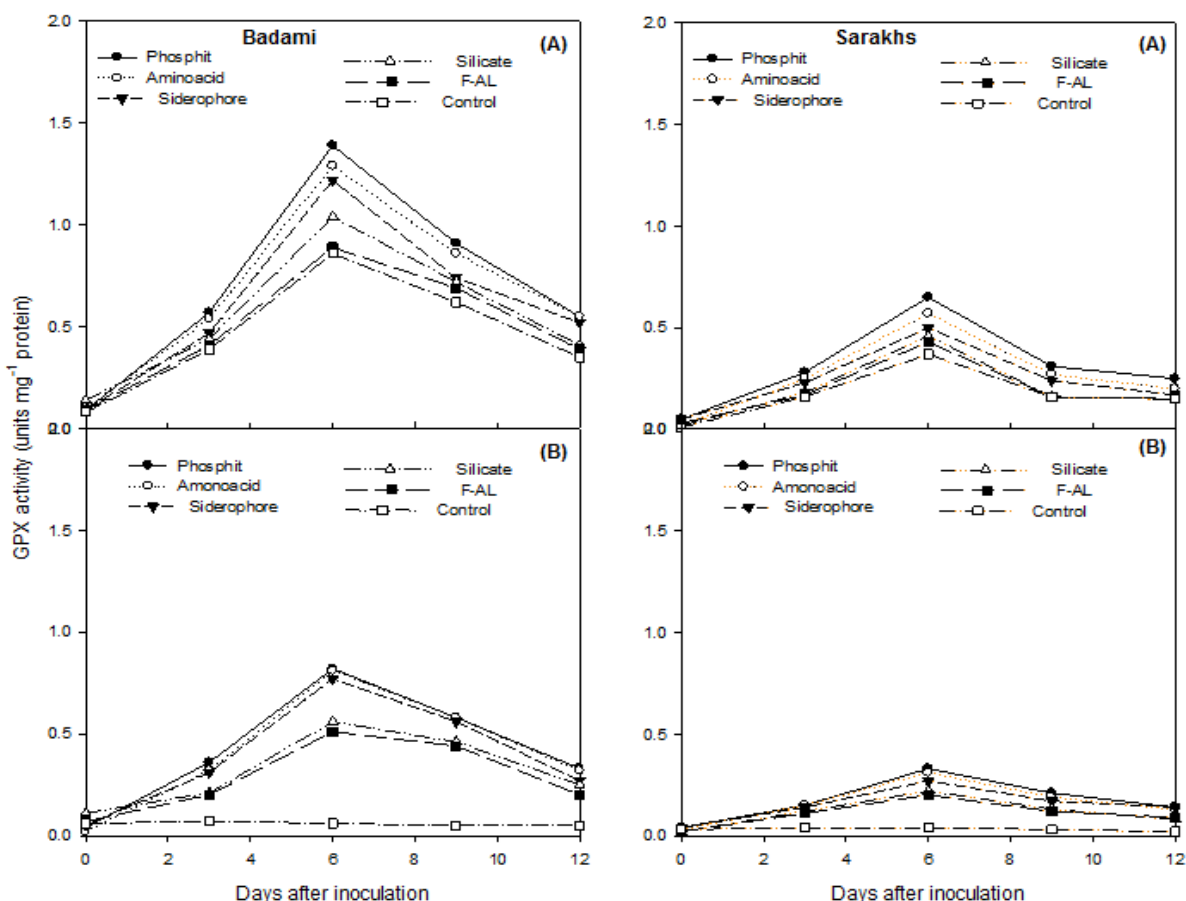
جدول ۴. نتایج تجزیه واریانس مربوط به تغییرپذیری دفاع بیوشیمیایی در نهال‌های پسته تلقیح‌شده با *Phytophthora drechsleri* و ترکیب‌های القاکننده به‌تنهایی و در ترکیب با هم

Table 4. Analysis of variance for biochemical defense in pistachio seedlings in inoculation with *Phytophthora drechsleri* and inducers alone and their combinations

| Source of variations | df | Mean squares | | | |
|----------------------|----|--------------|---------|-----------|--------------------|
| | | GPX | PPO | PAL | Total phenol |
| Cultivars (C) | 1 | 6.66** | 6.35** | 1492.15** | 1963.60** |
| Inoculation (I) | 1 | 3.16** | 1.03** | 62.08** | 58.56** |
| Treatment (T) | 7 | 0.40** | 0.11** | 7.86** | 9.02** |
| Time (Ti) | 4 | 2.95** | 0.48** | 138.85** | 56.26** |
| I × C | 1 | 0.65** | 0.05** | 23.40** | 8.31** |
| T × C | 7 | 0.06** | 0.01** | 2.81** | 1.15** |
| Ti × C | 4 | 0.57** | 0.02** | 74.49** | 35.83** |
| T × I | 7 | 0.03** | 0.008** | 0.89** | 1.22** |
| Ti × I | 4 | 0.32** | 0.11** | 4.88** | 3.63** |
| Ti × T | 28 | 0.04** | 0.01** | 0.89** | 0.70** |
| Ti × T × I × C | 95 | 0.008** | 0.001** | 0.41** | 0.15 ^{ns} |
| Error | | 0.001 | 0.003 | 0.13 | 0.15 |
| CV% | | 12.79 | 5.65 | 10 | 6.97 |

** و ns: به ترتیب، معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد و عدم وجود تفاوت معنی‌دار.

**، ns: Significantly difference at 1% probability level and non-significantly difference.

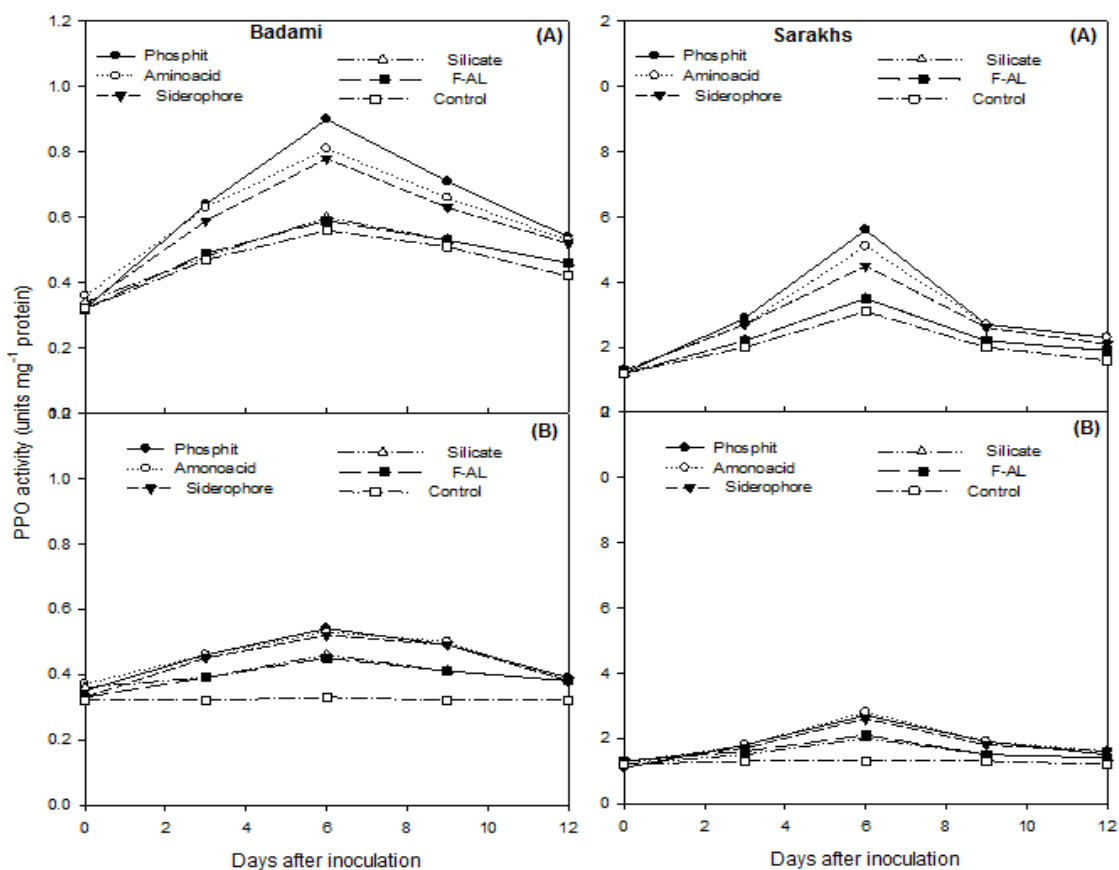


شکل ۲. تغییرپذیری آنزیم پراکسیداز در نهال‌های پسته دو رقم بادامی و سرخس در مایه‌زنی توأم *Phytophthora drechsleri* با ترکیب‌های القاکننده (A) و ترکیب‌های القاکننده به‌تنهایی (B).

Figure 2. GPX activity in Badami and Sarakhs pistachio cultivars after inoculation with *Phytophthora drechsleri* in combination with inducers (A) or inducers alone (B).

P. drechsleri با ۴ برابر افزایش نسبت به شاهد سالم و کمترین میزان نیز در مایه‌زنی ترکیبی تیمار فوزتیل آلومینیوم و سیلیکات پتاسیم با ۳ برابر افزایش نسبت به شاهد سالم مشاهده شد. شاهد آلوده نیز افزایش ۲ برابری نسبت به شاهد سالم نشان داد. در رقم بادامی بیشترین و کمترین مربوط به مایه‌زنی همزمان با *P. drechsleri* به ترتیب در تیمارهای فسفیت پتاسیم و فوزتیل آلومینیوم با افزایش ۳ و ۲ برابری نسبت به شاهد سالم مشاهده شد. شاهد آلوده نیز نسبت به شاهد سالم افزایش ۲ برابری نشان داد (شکل ۳).

بررسی تغییرپذیری آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز (PPO) تیمار ترکیبی ترکیب‌های القاکننده و *P. drechsleri* از نظر میزان فعالیت آنزیم در مقایسه با نهال‌های سالم شاهد و همچنین نهال‌های سالم تیمار شده با ترکیب‌های القاکننده افزایش قابل توجهی نشان دادند. میزان فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز در روز ششم به بیشترین حد خود رسید و دوباره رو به کاهش گذاشت. میزان آنزیم در رقم بادامی ۵۷ درصد نسبت به رقم سرخس افزایش نشان داد. در رقم سرخس، بیشترین میزان افزایش فعالیت آنزیم در مایه‌زنی مخلوط فسفیت پتاسیم و



شکل ۳. تغییرپذیری آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز در نهال‌های پسته دو رقم بادامی و سرخس در مایه‌زنی توأم

با *Phytophthora drechsleri* ترکیب‌های القاکننده (A) و ترکیب‌های القاکننده به‌تنهایی (B).

Figure 3. PPO activity in Badami and Sarakhs pistachio cultivars after inoculation with *Phytophthora drechsleri* in combination with inducers (A) or inducers alone (B).

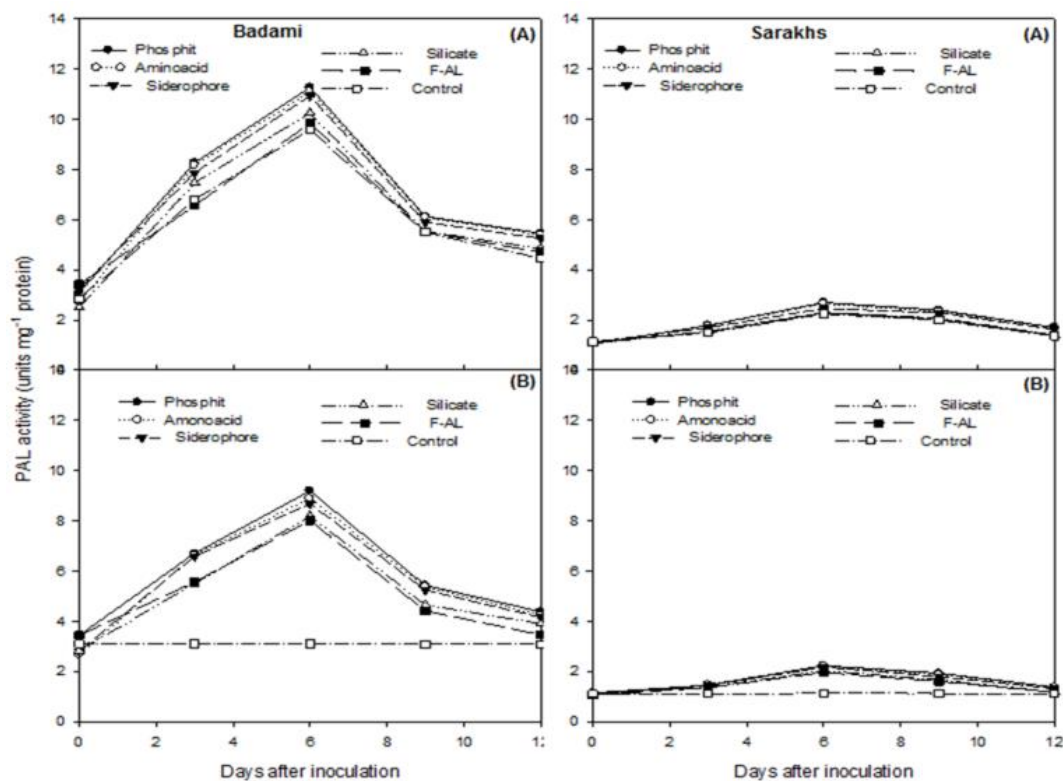
کاهش گذاشت. در مقایسه بین دو رقم، میزان سطح آنزیم در رقم بادامی ۷۲ درصد نسبت به سرخس بالاتر بود. به‌طور کلی میزان آنزیم، در نهال‌های آلوده تیمار شده با ترکیب‌های القاکننده در مقایسه با شاهد سالم افزایش

بررسی تغییرپذیری آنزیم فنیل‌آلانین‌آمونیاپاز (PAL)

میزان فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین‌آمونیاپاز نیز در روز ششم به بیشترین حد خود رسید، پس از آن دوباره رو به

نسبت به شاهد سالم نشان داد. در رقم بادامی بیشترین و کمترین مربوط به مایه‌زنی همزمان با *P. drechsleri* به ترتیب در تیمارهای فسفیت پتاسیم و فوزتیل آلومینیوم با افزایش ۴ و ۳ برابری نسبت به شاهد سالم مشاهده شد. شاهد آلوده نیز نسبت به شاهد سالم افزایش ۳ برابری نشان داد (شکل ۴).

نشان داد که بیشترین میزان افزایش در سطوح آنزیم در رقم سرخس مربوط به مایه‌زنی ترکیبی فسفیت پتاسیم و *P. drechsleri* با ۲/۳۸ برابر افزایش نسبت به شاهد سالم و کمترین میزان مربوط به مایه‌زنی ترکیبی فوزتیل آلومینیوم و *P. drechsleri* با ۲ برابر افزایش نسبت به شاهد سالم مشاهده شد. شاهد آلوده نیز افزایش ۲ برابری



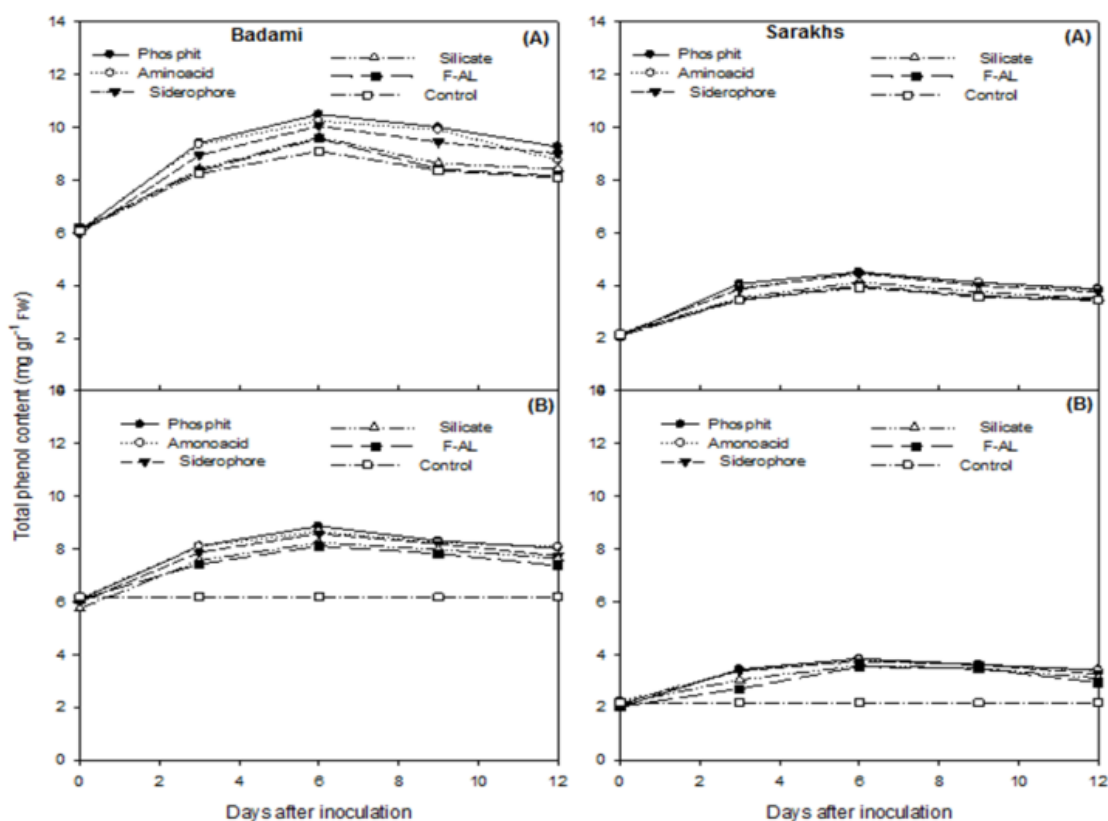
شکل ۴. تغییرپذیری آنزیم فنیل آلانین آمونیا لایز در نهال‌های پسته دو رقم بادامی و سرخس در مایه‌زنی توأم با ترکیب‌های القاکننده (A) و ترکیب‌های القاکننده به تنهایی (B).

Figure 4. PAL activity in Badami and Sarakhs pistachio cultivars after inoculation with *Phytophthora drechsleri* in combination with inducers (A) or inducers alone (B).

فوزتیل آلومینیوم و *P. drechsleri* با ۱/۸۴ برابر افزایش نسبت به شاهد سالم مشاهده شد. شاهد آلوده نیز افزایش ۱/۸۱ برابری نسبت به شاهد سالم نشان داد. در رقم بادامی بیشترین و کمترین میزان ترکیب‌های فنلی مربوط به مایه‌زنی همزمان با *Phytophthora* به ترتیب در تیمارهای فسفیت پتاسیم و فوزتیل آلومینیوم با افزایش ۱/۷۰ و ۱/۵۵ برابری نسبت به شاهد سالم مشاهده شد. شاهد آلوده نیز نسبت به شاهد سالم افزایش ۱/۴۷ برابری نشان داد (شکل ۵).

بررسی میزان تغییرپذیری فنل کل

بیشترین میزان ترکیب‌های فنلی نیز در روز ششم مشاهده شد. بیشترین میزان فنل کل مربوط به نهال‌های تیمار شده با القاکننده به همراه عامل بیماری بود. میزان ترکیب‌های فنلی در رقم بادامی نسبت به رقم سرخس ۵۹ درصد افزایش نشان داد. بیشترین میزان افزایش در میزان محتوای فنل کل در رقم سرخس مربوط به مایه‌زنی ترکیبی فسفیت پتاسیم و *P. drechsleri* با ۲ برابر افزایش نسبت به شاهد سالم و کمترین میزان مربوط به مایه‌زنی ترکیبی



شکل ۵. تغییرپذیری فنل کل در نهال‌های پسته دو رقم بادامی و سرخس در مایه‌زنی توأم با *Phytophthora drechsleri* با ترکیب‌های القاکننده (A) و ترکیب‌های القاکننده به‌تنهایی (B).

Figure 5. Total phenol content in Badami and Sarakhs pistachio cultivars after inoculation with *Phytophthora drechsleri* in combination inducers (A) or inducers alone (B).

بیماری‌های گیاهی، این روش می‌تواند افقی روشن در کنترل بیمارگرهای گیاهی داشته باشد. در این پژوهش هدف آن بود تا تأثیر چند ترکیب شیمیایی در ایجاد مقاومت در گیاهان پسته علیه بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه بررسی و ارزیابی شود. بدین منظور، این ترکیب‌ها در شرایط گلخانه روی نهال‌ها اعمال شدند و میزان تغییرپذیری سطوح آنزیمی، ترکیب‌های فنلی و میزان کاهش بیماری اندازه‌گیری شد. نتایج به‌دست‌آمده از این تحقیق نشان می‌دهد، ترکیب‌های القاکننده توانایی کنترل بیماری گموز پسته را داشتند. به‌طورکلی تیمار نهال‌های پسته با ترکیب‌های مورد استفاده در شرایط گلخانه‌ای، موجب کاهش آلودگی و میزان مرگ‌ومیر در نهال‌های مایه‌زنی‌شده با *P. drechsleri* شد. در تحقیقات مرادی نیز تیمار باغ‌های آلوده به بیماری گموز پسته با قارچ‌کش ایت (فوزتیل آلومینیوم) باعث کاهش شدت

بحث

امروزه با توجه به بحران آلودگی‌های زیست‌محیطی به دلیل استفاده بی‌رویه از سموم و ترکیب‌های شیمیایی برای کنترل بیماری‌ها، آفات گیاهی و علف‌های هرز که سلامت جامعه‌های انسانی را مورد تهدید قرار داده‌اند، تلاش‌های بسیاری برای یافتن راهکارهای مناسب برای جایگزینی این ترکیب‌ها و حذف آلاینده‌ها صورت گرفته است. یکی از راهکارهای مدیریتی در برابر بیماری‌های گیاهی، فعال‌سازی سامانه دفاعی گیاه است که از راه تجمع سالیسیلیک اسید (SA) و بیان ژن‌های مربوط به بیماری‌زایی (PR) مشخص می‌شود (Hammerschmidt *et al.*, 2001). القا مقاومت در گیاهان با استفاده از محرک‌های زنده یا غیرزنده از جمله راهکارهای مورد توجه محققان در مدیریت آفات و بیماری‌های گیاهی است. با توجه به تأثیر مطلوب ناشی از مقاومت القایی در مدیریت

و PAL در روزهای پس از تلقیح و مایه‌زنی نسبت به زمان صفر (پیش از تلقیح و مایه‌زنی) و شاهد سالم افزایش قابل توجهی داشته است. همچنین فعالیت این آنزیم‌ها در نهال‌های آلوده تیمار شده با ترکیب‌های محرک شیمیایی نسبت به نهال‌های شاهد سالم و شاهد آلوده، و همچنین نهال‌های سالم تیمار شده با ترکیب‌های محرک افزایش داشته است. علت این افزایش را می‌توان این‌گونه بیان کرد که گیاه برای از بین بردن اثر رادیکال‌های آزاد ناشی از تنش‌های زنده و غیرزنده، به سرعت سازوکارهای دفاعی خود را به کار می‌گیرد و در پاسخ به این تنش، چندین آنزیم از جمله پراکسیداز، پلی‌فنل‌اکسیداز و فنیل‌آلانین‌آمونیا لیاز در گیاه تجمع می‌یابد (Elad & Chet, 1987). در نهال‌های تلقیح‌شده با قارچ عامل بیماری نیز میزان آنزیم‌های دفاعی افزایش یافته بود که این خود نشان از این دارد که خود قارچ نیز به‌عنوان یک تنش زنده می‌تواند سامانه دفاعی گیاه را فعال کند، در نتیجه سطوح آنزیمی در نهال‌های آلوده و مخلوط با ترکیب‌های محرک شیمیایی نسبت به نهال‌های تیمار شده با ترکیب‌های شیمیایی به‌تنهایی بالاتر بوده است. در این آزمایش همه ترکیب‌های مورد استفاده باعث افزایش سطح آنزیم در گیاه شدند اما دو ترکیب فسفیت پتاسیم و کمپلکس آمینواسید تأثیر بیشتری نسبت به دیگر تیمارها داشتند. در واقع این ترکیب‌ها با تقلید از ارتباط محرک (الیستور)‌های طبیعی با پذیرنده‌های مربوطه در سطح گیاه، واکنش‌های دفاعی را راه‌اندازی می‌کنند و موجب افزایش سطح آنزیم در گیاه می‌شوند. به نظر می‌رسد که ترکیب‌های شیمیایی مورد استفاده با نفوذ به بافت گیاه باعث القا و تأثیر بر ساخت آنزیم‌ها شده است که این روند تا روز ششم به‌صورت افزایشی بوده است و پس از آن رو به کاهش می‌گذارد. نتایج این تحقیق با تحقیقات جکسون و همکاران همخوانی دارد، آنان نیز نشان دادند که تیمار گیاهان اکالیپتوس (*Eucalyptus marginata*) با فسفیت موجب افزایش سطح آنزیم‌های دفاعی و تجمع ترکیب‌های فنلی دو تا پنج روز پس از تلقیح در گیاهان و کاهش شدت بیماری شد (Jackson *et al.*, 2000). همچنین Hasabi *et al.* (2014) نشان دادند،

آلودگی و میزان مرگ‌ومیر درختان و بهبود وضعیت درختان آلوده شد (Moradi, 2015). با توجه به نتایج مقایسه تیمارهای آزمایش‌شده، فسفیت پتاسیم و کمپلکس آمینواسید به‌طور ۱۰۰ درصد موجب کاهش بیماری و افزایش شاخص‌های رشدی شدند. همچنین ترکیب آهن‌بر نیز به‌طور قابل توجهی موجب کاهش درصد مرگ‌ومیر نهال‌ها شد. کمترین تأثیر در نهال‌های تیمار شده با فوزتیل آلومینیوم و سیلیکات پتاسیم مشاهده شد. همچنین نهال‌های تیمار شده با این ترکیب‌ها، افزایش قابل توجهی در صفات رشدی همچون ارتفاع اندام‌های هوایی، وزن تر و خشک ریشه و اندام‌های هوایی نشان دادند. به نظر می‌رسد این ترکیب‌ها با تأثیر بر فیزیولوژی گیاه و همچنین کاهش اثرگذاری سوء ناشی از حمله بیمارگر از راه افزایش فعالیت سامانه پاداکسندگی و افزایش تولید ترکیب‌های فنلی موجب کاهش گونه‌های اکسیژن‌واکنشی (ROS) و در نتیجه حفاظت و رشد گیاه در برابر بیمارگر شده‌اند (Elad & Chet, 1987). این نتایج نیز در بررسی تیمار گیاهان لوبیا با فسفیت علیه قارچ *Saundersian et al.*,) *Phytophthora cryptogea* (1988) و تیمار گیاهان ارزن با آمینواسید متیونین علیه سفیدک کرکی *Sclerospora graminicola* (Sarosh *et al.*, 2005) مشاهده شده است.

یکی از جنبه‌های مهم دفاعی گیاه میزبان در برابر عامل‌های بیماریزا، جنبه دفاع بیوشیمیایی و واکنش‌های پیچیده آن است (Steiner & Schönbeck, 1995). القای مقاومت فرآیندی است که در ضمن آن سامانه دفاعی گیاه فعال می‌شود و گیاه را برای روبه‌رو شدن با تنش‌های زنده و غیرزنده آماده می‌کند. در مقاومت القایی تغییرپذیری‌هایی در سطح ساختاری یاخته‌ها مانند ایجاد نکرور، استحکام و تقویت دیواره یاخته‌ها، تشکیل سدهای دفاعی مانند رسوب کالوز و لیگنین و تغییر شیمیایی مانند افزایش تولید فیتوالکسین‌ها، آنزیم‌های دفاعی (مانند پراکسیداز، پلی‌فنل‌اکسیداز، فنیل‌آلانین‌آمونیا لیاز) و همچنین تولید PR پروتئین‌ها ایجاد می‌شود (Van Loon, 1997).

این نتایج نشان داد، فعالیت آنزیم‌های GPX، PPO

تیمار گیاهان لیمو (*Citrus aurantifolia*) با اسیدآمینه متیونین باعث افزایش سطح آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز، فنیل‌آلانین‌آمونیلایز و در نتیجه موجب افزایش مقاومت به *Xanthomonas citri* subsp. *citri* (Xcc) و کاهش شدت بیماری شد. آنزیم پراکسیداز و پلی‌فنل‌اکسیداز از جمله آنزیم‌هایی هستند که در اکسایش فنل به کینون و تشکیل لیگنین در یاخته‌های گیاهی در طول حمله بیمارگرها نقش مهمی دارند (Flott et al., 1989). آنزیم فنیل‌آلانین‌آمونیلایز نخستین آنزیم در مسیر فنیل پروپانوئید است. همچنین این آنزیم مسئول ساخت فیتوالکسین‌ها و لیگنین است که در سامانه دفاعی گیاه شرکت می‌کند (Dixon & paiva, 1995).

ترکیب‌های قارچ‌کش شیمیایی اغلب به‌عنوان القاگر مقاومت القایی فراگیر در برابر انواع بیمارگرها فعالیت می‌کنند (Anand PhD et al., 2007). نتایج این پژوهش نشان داد، ترکیب‌های قارچ‌کش فسفیت پتاسیم، سیلیکات پتاسیم و فوزتیل آلومینیوم موجب افزایش سطح آنزیم‌های پراکسیداز، پلی‌فنل‌اکسیداز، فنیل‌آلانین‌آمونیلایز و محتوای فنل کل شدند. این نتایج نیز در یافته‌های Sendhil Vel (2004) نشان داده شد، فعالیت PO، PPO، PAL، بتاگلوکاناز، کیتیناز و محتوای فنل کل در تیمار درختان انگور با قارچ‌کش azoxystrobin افزایش یافت. همچنین تجمع آنزیم PAL در تیمار برگ گیاهان گوجه‌فرنگی با قارچ‌کش فوزتیل آلومینیوم در برابر پژمردگی فوزاریومی گزارش شد (Bompeix et al., 1981). نتایج تحقیقات انجام‌شده روی دیگر گیاهان زراعی و باغی همچون عدس، توتون و خربزه درختی (پاپایا) نیز گویای تأثیر مستقیم و فعال شدن سازوکارهای دفاعی در برابر گونه‌های قارچ فیتوفتورا پس از محلول‌پاشی با فسفیت است (Smillie et al., 1989). تیمار گیاه زینتی (*Xanthorrhoea australis*) با پتاسیم فسفونات منجر به تحریک پاسخ‌های دفاعی در میزبان از راه افزایش ترکیب‌های فنلی در گیاه علیه *Phytophthora cinnamomi* شد (Daniel et al., 2005).

در نهایت نتایج به‌دست‌آمده از مقایسه دو رقم پسته نشان داد که رقم بادامی صفات رشدی بهتری نسبت به رقم سرخس داشته است، این تفاوت می‌تواند به دلیل تفاوت در ژنتیک گیاه از نظر اندازه و میزان وزن ماده خشک در دو رقم باشد، به طوری که رقم بادامی رشد رویشی و وزن ماده خشک بالاتری نسبت به رقم سرخس دارد. همچنین رقم بادامی به دلیل بالاتر بودن میزان سطوح آنزیمی و همچنین میزان ترکیب‌های فنلی و فیتوالکسینی حساسیت کمتری نسبت به این بیماری نشان داد.

نتیجه‌گیری کلی

در این تحقیق تأثیر چند ترکیب شیمیایی از جمله فسفیت پتاسیم، فوزتیل آلومینیوم، سیلیکات پتاسیم، کمپلکس آمینواسید، آهن بر روی عامل گموز پسته (*Phytophthora drechleri*) در شرایط گلخانه بررسی شد. نتایج به‌دست‌آمده نشان داد، این محرک‌ها توانایی کنترل بیماری را داشتند. به‌طور کلی ترکیب‌های فسفیت پتاسیم و کمپلکس آمینواسید بیشترین و ترکیب فوزتیل آلومینیوم و سیلیکات پتاسیم با کمترین تأثیر موجب کاهش میزان مرگ‌ومیر و افزایش صفات رشدی نهال‌های پسته شدند. نتایج به‌دست‌آمده از اندازه‌گیری آنزیم‌های GPX، PPO، PAL و محتوای فنل کل پس از مایه‌زنی نهال‌های پسته با ترکیب‌های مورد استفاده و *Phytophthora drechleri* نشان داد، این محرک‌ها موجب افزایش این فراسنجه‌ها در نهال‌ها شدند. این افزایش در روز ششم پس از مایه‌زنی به بیشینه میزان خود رسید و سپس رو به کاهش گذاشت. تیمار فسفیت پتاسیم بیشترین تأثیر و تیمار فوزتیل آلومینیوم کمترین تأثیر را در سطوح آنزیمی و محتوای فنل کل داشت. همچنین رقم بادامی با داشتن بیشترین میزان سطوح آنزیمی و ترکیب‌های فنلی مقاومت بیشتری نسبت به بیماری داشت.

همچنین کاربرد سیلیکون (Si) (۰/۱، ۰/۳ و ۰/۵ درصد) در برابر کپک آبی سیب (*Penicillium*

REFERENCES

1. Anand, T., Chandrasekaran, A., Kuttalam, S., Raguchander, T., Prakasam, V. & Samiyappan, R. (2007). Association of some plant defense enzyme activities with systemic resistance to early leaf blight and leaf spot induced in tomato plants by azoxystrobin and *Pseudomonas fluorescens*. *Journal of Plant Interactions*, 2(4), 233-244.
2. Banihashemi, Z. (1994). Identification of *Phytophthora* species associated with pistachio gummosis in southern Iran. *Acta Horticulturae (ISHS)*, 419, 349-352.
3. Benhamou, N., Lafontaine, P. J. & Nicole, M. (1994). Induction of systemic resistance of *Fusarium* crown and root rot in tomato plants by seed treatment with chitosan. *Phytopathology*, 84, 1432-1444.
4. Bompeix, G., Fettouche, F. & Saindrenan, Y. (1981). Mode d'action du Phoséthyl AI. *Phytiatr. Phytopharmacology*, 30, 257-272.
5. Bosse, R. J., Bower, J. P. & Bertling, I. (2011). Pre- and post-harvest treatments on fuerte avocados to control anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) during ripening. *South African Avocado Growers Association*, 34, 65-69.
6. Ch'érif, M., Asselin, A. & B'elanger, R.R. (1993). Defense responses induced by soluble silicon in cucumber roots infected by *Pythium* spp. *Phytopathology*, 82, 236-242.
7. Cohen, Y., Ovadia, A. & Oka, Y. (2000). Is induced-resistance reversible? The BABA case. In: *First International Symposium on Induced resistance to plant diseases*, Island of Corfu, Greece, pp. 22-27 (Abstract).
8. Daaf, F., Schmitt, A. & Belanger, R. R. (1995). The effects of plant extracts of *Reynoutria sachalinensis* on powdery mildew development and leaf physiology of long English cucumber. *Plant Disease*, 79, 577-580.
9. Daniel, R., Wilson, A. B. & Cahill, D. M. (2000). Potassium phosphonate alters the defence response of *Xanthorrhoea australis* following infection by *Phytophthora cinnamomi*. *Australasian Plant Pathology*, 34, 541-548.
10. D'cunha, G. B., Satyanarayan, V. & Nair, P. M. (1996). Purification of phenylalanine ammonialyase from *Rhodotorula glutinis*. *Phytochemistry*, 42, 17-20.
11. Dixon, R. A. & Paiva, N. L. (1995). Stress-induced phenylpropanoid metabolism. *Plant Cell*, 7, 1085-1097.
12. Duncan, L. W. & Ferris, H. (1983). Validation of a model for prediction of host damage by twonematode species. *Journal of Nematology*, 15, 227-234.
13. Edreva, A. (2004). A novel strategy for plant protection: Induced resistance. *Journal of Cell and Molecular Biology*, 3, 61-69.
14. Elad, Y. & Chet, I. (1987). Possible role of competition for nutrients in biocontrol of *Pythium* damping-off by bacteria. *Phytopathology*, 77, 190-195.
15. Epstein, E. (2009). Silicon: its manifold roles in plants. *Annals of Applied Biology*, 155, 155-160.
16. Fani, R., Moradi, M., Alipoor, M., Sherafati, A., Mohammadi, M., Sedaghati, E. & Khodaygan, P. (2013). Efficacy of native strains of *Trichoderma harzianum* in biocontrol of pistachio gummosis. *Iranian Journal of Plant Protection Science*, 44, 243-252. (in Farsi)
17. Farahani, L., Etebarian, H. R., Sahebani, N. & Aminian, H. (2012). Effect of two strains of antagonistic yeasts in combination with silicon against two isolates of *penicillium expansum* on apple fruit. *International Journal of Basic Sciences and Applied Research*, 3, 18-23.
18. Flott, B. E., Moerschbacher, B. M. & Resener, H. (1989). Peroxidase isoenzyme patterns of resistant and susceptible wheat leaves following stem rust infection. *New Phytologist*, 111, 413-421.
19. Gottstein, H. D. & Kuc, J. A. (1989). Induction of systemic resistance to anthracnose in cucumber by phosphates. *Phytopathology*, 79, 176-179.
20. Guest, D. & Grant, B. (1991). The complex action of phosphonates as antifungal agents. *Biological Reviews*, 66, 159-187.
21. Hammerschmidt, R., Métraux, J. P. & van Loon, L. C. (2001). Inducing resistance: a summary of papers presented at the first international symposium on induced resistance to plant diseases. *European Journal of Plant Pathology*, 107, 1-6.
22. Hasabi, V., Askari, H., Alavi, S. M. & Zamanizadeh, H. (2014). Effect of amino acid application on induced resistance against citrus canker disease in lime plants. *Journal of Plant Protection*, 54, 144-149.
23. Hokeberg, M., Gerhardson, B. & Johnsson, L. (1997). Biological control of cereal seed - borne diseases by seed bacterization with greenhouse- selected by bacteria. *European Journal of plant pathology*, 103, 25-33.
24. Holmes, K. A. & Benson, D. M. (1994). Evaluation of *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae* for biocontrol of *Phytophthora parasitica* on *Catharanthus roseus*. *Plant Disease*, 78, 193-199.
25. Jackson, T. J., Burgess, T., Colquhoun, I. & Hardy, G. E. S. (2000). Action of the fungicide phosphite on *Eucalyptus marginata* inoculated with *Phytophthora cinnamomi*. *Plant Pathology*, 49, 147-154.

26. Liang, Y., Zhu, J., Li, Z., Chu, G., Ding, YZhang, J. & Sun, V. (2008). Role of silicon in enhancing resistance to freezing stress in two contrasting winter wheat cultivars. *Environmental and Experimental Botany*, 64, 286-294.
27. MacDonald, A. E., Grant, B. & Plaxton, W. C. (2001). Phosphite (phosphorous acid): Its relevance in the environment and agriculture and influence on plant phosphate starvation response. *Journal Plant Nutrition*, 24, 1505-1519.
28. Mahmoodi meymand, B. (2015). *The study of practical control on pistachio crown and root rot using the formulation of some fluorescent Pseudomonads strains*. M. Sc. thesis, in Plant Pathology. (in Farsi)
29. Mirabolfathi, M. (1986). *Investigation of crown and root rot diseases of pistachio trees*. M.Sc. thesis, in plant protection testis. Tehran University. (in Farsi)
30. Mirabolfathy, M., Cooke, D. E., Duncan, J. M., Williams, N. A., Ershad, D. & Alizadeh, A. (2001). *Phytophthora pistaciae* sp. nov. and *P. melonis*: the principal causes of pistachio gummosis in Iran. *Mycological Research*, 105, 1166-1175.
31. Moradi, M. (1998). *Isolation and identification of Phytophthora species from root and crown of pistachio in Kerman and Fars provinces and resistance determination of root and crown among current pistachio cultivars*. M.Sc. thesis, Faculty of Agriculture, Shiraz University, Iran. (in Farsi)
32. Moradi, M. & Masoumi, H. (2011). Understanding the gummosis pistachios. *Iranian Pistachio Association*, 70, 28-30. (in Farsi)
33. Moradi, M. (2015a). Assessment of application of systemic and protective fungicides for long-term control of pistachio crown and root rot. *Final Report of Iranian Pistachio Research Institute 2-06-06-88008*. (in Farsi). ACIST Register Number, 47569.
34. Moradi, M. (2015b). Effect of Elliott fungicide on root and crown rot diseases Pistachio under greenhouse and field condition. *Pistachio Research Institute of Iran*. (in Farsi). ACIST Register Number, 42608.
35. Mostowfizadeh-Ghalamfarsa, R., Cooke, D. E. & Banihashemi, Z. (2008). *Phytophthora parsiensis* sp. nov., a new high-temperature tolerant species. *Mycological Research*, 112, 783-794.
36. Nicoli, M. C., Elizabe, B. E., Piotti, A. & Lericci, C. R. (1991). Effect of sugar and maillard reaction products on polyphenol oxidase and peroxidase activity in food. *Journal of Food Biochemistry*, 15, 169-184.
37. Oka, Y., Cohen, Y. & Spiegel, Y. (1999). Local and systemic induced resistance to the root-knot nematode in tomato by DL- γ -amino-n-butyric acid. *Phytopathology*, 89, 1138-1143.
38. Plewa, M. J., Smith, S. R. & Wanger, E. D. (1991). Diethylthiocarbamate suppresses the plant activation of aromatic amines into mutagens by inhibiting tobacco cell peroxidase. *Mutation Research*, 247, 57-64.
39. Reuveni, R., Agapov, V. & Reuveni, M. (1994). Foliar spray of phosphates induces growth increase and systemic resistance to *Puccinia sorghi* in maize. *Plant Pathology*, 43, 245-250.
40. Saberi-Riseh, R. & Sharifi-Tehrani, A. (2005). Antagonistic effects on several bacteria on *Fusarium oxysporum*, the causal agent of root and crown rot of onion under field conditions. *Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences*. Ghent University. 65/2, 657-661.
41. Saindrenan, P., Barchietto, J., Avelino, T. & Bompeix, G. (1988). Effects of phosphite on phytoalexin accumulation in leaves of cowpea infected with *Phytophthora cryptogea*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 32, 425-435.
42. Sarosh, B. R., Sivaramakrishnan, S. & Shetty, H. S. (2005). Elicitation of defense related enzymes and resistance by L-methionine in pearl millet against downy mildew disease caused by *Sclerosporagraminicola*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 43, 808-15.
43. Schneider, S. & Ullrich, W. R. (1994). Differential induction of resistance and enhanced enzyme activities in cucumber and tobacco caused by treatment with various abiotic and biotic inducers. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 45, 291-304.
44. Sendhil Vel, V., Marimuthu, T. & Raguchander, T. (2004). Compatibility of Azoxystrobin 25 SC with Biocontrol Agents. *Pestology*, 28, 61-64.
45. Smillie, R., Grant, B. R. & Guest, D. (1989). The mode of action of phosphite: Evidence for both direct and indirect modes of action on three *Phytophthora* spp. in plants. *Phytopathology*, 79, 921-926.
46. Steiner, U. & Schönbeck, F. (1995). Induced disease resistance in monocots. In: R., Hammerschmidt & J., Kuc (Eds.), *Induced Resistance to Disease in Plants*, 4, 86-110.
47. Sticher, L., MauchMani, B. & Metraux, J. P. (1997). Systemic acquired resistance. *Annual Review of Phytopathology*, 35, 235-270.
48. Strobel, N. E., Ji, C., Gopalan, S., Kuc, J. A. & He, S. Y. (1996). Induction of systemic acquired resistance in cucumber by *Pseudomonas syringae* pv *syringae* 61 HrpZ (Pss) protein. *Plant Journal*, 9, 431-439.

49. Tarabih, M. E., EL-eryan, E. E. & EL-metwally, M. A. (2014). Physiological and pathological impact of potassium silicate on storability of anna apple fruits. *American Journal of Plant Physiology*, 9, 52-67.
50. Van Loon, L. C. (1997). Induced resistance in plants and the role of pathogenesis-related proteins. *European Journal of Plant Pathology*, 103, 753-765.
51. Van Loon, L. C., Bakker, P. A. H. M. & Pieterse, C. M. J. (1998). Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. *Annuals Review of Phytopathology*, 36, 453-483.
52. Vogt, W. & Buchenauer, H. (1997). Enhancement of biological control by combination of antagonistic fluorescent *Pseudomonas* strains and resistance inducers against damping off and powdery mildew in cucumber. *Journal Plant Disease and Plant Protection*, 104, 272-280.
53. Walters, D. R. & Murray, D. C. (1992). Induction of systemic resistance to rust in *Vicia faba* by phosphate and EDTA: effects of calcium. *Plant Pathology*, 41, 444-448.
54. Zimmerli, L., Jakab, G., Métraux, J. P. & Mauch-Mani, B. (2000). Potentiation of pathogen-specific defense mechanisms in *Arabidopsis* by beta-aminobutyric acid. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97, 12920-12925.