تأثیر قارچ‌کش‌های سیستمیک و تماسی بر همزیستی قارچ میکوریزی *Rhizophagus irregularis* و صفات رویشی در دو گیاه گندم و ذرت

فرهاد رجالی[1]، حسین کاری دولت‌آباد، مرضیه صفری و فهیمه فضلی‌خانی

دانشیار، موسسه تحقیقات خاک وآب، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران؛ **frejali@yahoo.com**

استادیار، موسسه تحقیقات خاک وآب، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی،کرج، ایران؛ **h.kari@areeo.ac.ir**

دانش‌آموخته دوره دکتری رشته زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس؛ **m.safari@modares.ac.ir**

دانش‌آموخته دوره ارشد رشته بیولوژی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان؛ **fazlikhanifahimeh20@yahoo.com**

دریافت: **99/12/11** و پذیرش: **1400/10/29**

چکیده

امروزه قارچ‌کش‌ها به طور گسترده‌ای به منظور جلوگیری یا از بین بردن انواع قارچ‌های بیماری‌زا مورد استفاده قرار می گیرند. لیکن کاربرد آن‌ها در برخی موارد ممکن است تأثیرات مخربی بر ریزجانداران مفیدی نظیر قارچ‌های میکوریزی بر جای گذارد. قارچ‌های میکوریزی پس از برقراری رابطه همزیستی، توانایی گیاه در جذب آب و عناصر معدنی و همچنین مقاومت گیاه در برابر تنش‌های زنده و غیرزنده را بهبود می‌بخشند. در این پژوهش تأثیر مصرف همزمان قارچ‌کش‌هایی شامل بنومیل، رورال تی‌اس، مانکوزب و تیلت بر اثربخشی قارچ میکوریز آربسکولار گونه *Rhizophagus irregularis* در رشد دو گیاه گندم و ذرت در شرایط گلخانه‌ای مورد بررسی قرار گرفت. آزمایش‌های گلخانه‌ای در قالب طرح کاملاً تصادفی در پنج تیمار شامل چهار قارچ‌کش و شاهد با چهار تکرار و با کشت دو گیاه گندم و ذرت انجام پذیرفت. تأثیر قارچ‌کش‌ها بر خصوصیات رشدی گیاه گندم (رقم چمران) و گیاه ذرت (رقم سینگل کراس 704) و رابطه همزیستی این گیاهان با قارچ *R. irregularis* مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که در گیاه ذرت، رورال تی‌اس و تیلت به صورت معنی‌دار درصد کلنیزاسیون ریشه نسبت به شاهد را به ترتیب از 41 درصد به 35 و 30 درصد کاهش داد. لیکن تفاوت معنی‌داری نسبت به شاهد در وزن خشک ریشه و اندام هوایی گیاه ذرت مشاهده نگردید. همچنین استفاده از بنومیل و مانکوزب تفاوت معنی‌داری بر درصد کلنیزاسیون ریشه و وزن خشک اندام هوایی در گیاه ذرت نداشتند. در گیاه گندم استفاده از بنومیل باعث کاهش معنی‌دار درصد کلنیزاسیون ریشه از 16 به 12 درصد، وزن خشک ریشه از 0/86 به 0/59 گرم و اندام هوایی از 2/75 به 2/27 گرم گردید. در تیمار استفاده از قارچ‌کش تیلت، درصد کلنیزاسیون ریشه نسبت به شاهد به میزان سه درصد افزایش نشان داد هرچند که تأثیر معنی‌داری در وزن خشک ریشه و اندام هوایی و ارتفاع گیاه مشاهده نگردید.

واژه‌های کلیدی: همزیستی میکوریزی، قارچ‌کش، کلنیزاسیون ریشه، کودهای زیستی، *Rhizophagus irregularis*

[1]. نویسنده مسئول، آدرس: ایران، کرج، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، موسسه تحقیقات خاک وآب

مقدمه

امروزه استفاده از انواع کودهای زیستی با هدف به کارگیری قابلیت ریزجانداران مفید خاکزی در افزایش تولید، همگام با بهبود کیفیت خاک و ایمنی محیط زیست مورد توجه بسیاری از محققین قرار گرفته است (جهان و همکاران، 2009). از جمله مهم‌ترین ریزجانداران مورد استفاده در کودهای زیستی می‌توان به انواع قارچ‌های میکوریزی اشاره کرد که به طور بومی در اکثر خاک‌ها حضور دارند. اما جمعیت این ریزجانداران در اغلب موارد در حد کفایت نبوده و از این رو کاربرد آنها به صورت کودهای زیستی در بعضی موارد ضروری به نظر می‌رسد. یکی از سویه‌های پرکاربرد قارچ‌های میکوریز آربسکولار در ایران سویه *Rhizophagus irregularis* می‌باشد، که به طور گسترده‌ای در تولید کودهای زیستی مورد استفاده قرار می‌گیرد. از اوایل دهه 1970 میلادی، آثار مثبت رابطه همزیستی میکوریزی بر خصوصیات رشدی گیاه میزبان مطرح شده و تاکنون تحقیقات زیادی در این زمینه به انجام رسیده است (کاردوسو و کویپر، 2006؛ ساقری و همکاران، 2009؛ احتشامی، 2011؛ اسمیت و همکاران، 2011).

قارچ‌های میکوریزی تقریباً در همزیستی با بیش از 90 درصد گیاهان مشاهده می‌شوند و تنها تعداد اندکی از گیاهان قادر به برقراری رابطه همزیستی با قارچ‌های میکوریزی نیستند (کاردوسو و کویپر، 2006؛ کامرون و همکاران، 2017). شایع‌ترین نوع همزیستی میکوریزی، نوع میکوریز آربسکولار می‌باشد که در آن قارچ ریشه را کلنیزه و از ساختارهای ویژه‌ای به نام آربسکول جهت تبادل مواد غذایی و آب با گیاه میزبان استفاده می‌کند (موریلا و پدرسون، 2008). قارچ‌های میکوریزی طیف وسیعی از شرایط محیطی را تحمل می‌کنند و از پراکندگی جغرافیایی گسترده‌ای برخوردار هستند. افزایش جذب عناصر معدنی مانند فسفر و عناصر کم مصرف مورد نیاز گیاه، افزایش توانایی گیاه میزبان در جذب آب، تولید هورمون‌های گیاهی، کاهش اثر تنش‌های محیطی، افزایش مقاومت گیاه در مقابل عوامل بیماری‌زا و بهبود ویژگی‌های کمی و کیفی محصولات زراعی از جمله صفات مثبت این رابطه همزیستی برشمرده می‌شوند که توجه بسیاری از محققان را به خود معطوف داشته است (اسمیت و همکاران، 2011؛ قورچیانی و همکاران، 2011).

امروزه اهمیت غلات بر کسی پوشیده نیست، به جرأت می‌توان گفت که قسمت اعظم غذای انسان توسط غلات تأمین می‌شود. غلات حدود یک پنجم کل کشت دنیا را در بر می‌گیرد (فائو، 2019). طبق آمار FAO در سال 2017، حدودا 218 میلیون هکتار از اراضی کشاورزی در سطح جهان به کشت گندم اختصاص یافته که تولیدی بیش از 771 میلیون تن به همراه داشته است. سطح زیر کشت ذرت نیز در سال 2017 معادل 197 میلیون هکتار بوده که تولیدی معادل 1/13 میلیارد تن داشته است (فائو، 2019). ذرت پرمحصول‌ترین گیاه از خانواده غلات به‌شمار می‌آید که از قابلیت تولید ماده خشک زیادی برخوردار است (قورچیانی و همکاران، 2011).

با توجه به اهمیت و نقش گندم و ذرت در تأمین غذای مردم و همچنین با در نظر گرفتن کمبود غذا در سطح جهانی، بررسی تمامی راهکارهایی که سبب افزایش تولید، بهبود کیفیت و استفاده بهینه از گندم و ذرت تولید شده می‌گردد، بسیار مهم و قابل توجه خواهد بود. از این رو به منظور دستیابی به حداکثر عملکرد و در عین حال حفظ سلامت محصول، کاربرد برخی نهاده‌ها مانند انواع سموم و آفت‌کش‌ها در کشت محصولات امری اجتناب ناپذیر خواهد بود. حفظ کیفیت بذر نقش مهمی در افزایش محصول نهایی ایفا می‌کند و بی‌توجهی به سلامت بذر می‌تواند منجر به فرسودگی، کاهش قوه نامیه بذور، بروز بیماری در محصولات و در نتیجه کاهش عملکرد محصول گردد (رضوانی و همکاران، 2017). علی‌رغم

فواید کاربرد قارچ‌کش‌ها در محافظت از گیاه، مصرف این سموم می‌تواند تأثیرات مضری بر ریزجانداران خاک داشته باشد و تهدیدی جدی بر پایداری سیستم‌های اکولوژیکی محسوب شود.

کاربرد انواع کودهای زیستی به منظور کاهش میزان مصرف کودهای شیمیایی و افزایش کیفیت محصول رو به افزایش است. در دهه‌های اخیر آزمایش‌های بسیاری به منظور بررسی اثرات رابطه همزیستی میکوریزی بر خصوصیات رشدی گیاهان مختلفی از جمله گندم و ذرت، به عنوان دو محصول مهم و استراتژیک در بسیاری از مناطق جهان انجام شده است. اما این در حالی است که تأثیرات کاربرد همزمان انواع سموم و آفت‌کش‌ها بر این نوع همزیستی کمتر مورد توجه بوده است. طی تحقیقات صورت گرفته کاربرد همزمان سموم و کودهای زیستی می‌تواند مانع از اثرگذاری این ریزجاندارن بر خصوصیات رشدی گیاه میزبان گردد (جین و همکران، 2013؛ کامرون و همکاران، 2017). در این میان، نتایج برخی تحقیقات حاکی از آن است که کاربرد سموم در کنار ریزجانداران مفید نه تنها اثر بازدارنده نداشته است، بلکه موجب بهبود عملکرد ریزجاندار و در نتیجه گیاه میزبان نیز شده است (شالاموک و همکاران، 2014). مطالعات نشان می‌دهد که در بین قارچ‌کش‌های مصرفی، انواع تماسی سازگاری بیشتری با ریزجانداران مفید نظیر انواع قارچ‌های میکوریز آربسکولار دارند (جین و همکاران، 2013). در مجموع به نظر می‌رسد که اثرات قارچ‌کش‌ها بر قارچ‌های میکوریزی تحت تأثیر عوامل مختلفی از جمله نوع، نحوه عملکرد و روش کاربرد قارچ‌کش، نوع قارچ میکوریزی و نیز نوع گیاه میزبان قرار می‌گیرد و بر این اساس این اثرات می‌توانند خنثی، منفی و یا حتی مثبت طبقه‌بندی شوند (جین و همکاران، 2013؛ کامرون و همکاران، 2017؛ هیج و همکاران، 2018). مانکوزب، بنومیل، پروپیکونازول و ایپرودیون-کاربندازیم از انواع قارچ‌کش‌های پرکاربرد در ایران محسوب می‌شوند و انواع تجاری آن‌ها به طور گسترده‌ای مورد استفاده کشاورزان قرار دارد. با توجه به اثرات مثبت رابطه همزیستی میکوریزی بر گیاه میزبان و نیز لزوم استفاده از سموم مختلف در کشاورزی، یافتن سویه‌های مقاوم نسبت به این سموم ضروری به نظر می‌رسد. با انجام این پژوهش، سعی گردید در مقیاس گلخانه ای امکان استفاده از قارچ میکوریز آربسکولار (*R. irregularis*) به صورت همزمان با چهار نوع از قارچ‌کش‌های پرمصرف در ایران (بنومیل، روورال تی‌اس، مانکوزب و تیلت) که به طور معمول به منظور کاهش اثرات منفی بیمارگرهای گندم و ذرت استفاده می‌شوند، مورد بررسی قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

در پژوهش حاضر تأثیر قارچ میکوریز آربسکولار (*R. irregularis*) بر رشد گیاهان گندم و ذرت در استفاده همزمان با چهار نوع قارچ‌کش تماسی و سیستمیک در دو آزمایش جداگانه مورد بررسی قرار گرفت. آزمایش‌ها در قالب طرح کامل تصادفی با پنج تیمار و چهار تکرار (جمعاً 20 واحد آزمایشی برای هر گیاه مورد بررسی)، در گلخانه موسسه تحقیقات خاک و آب واقع در کرج به مرحله اجرا درآمد. خاک مورد استفاده در گلدان‌ها از عمق 30-0 سانتی‌متری از خاک مزرعه تحقیقاتی موسسه تحقیقات خاک و آب تهیه شد. خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاک شامل بافت، pH، EC، مقادیر قابل دسترس فسفر و پتاسیم، میزان کربن آلی و مقادیر عناصر کم مصرف مورد سنجش قرار گرفت (جدول 1).

جدول 1- خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاک (0-30 سانتی‌متر)

بافت خاک	pH	EC	SP	T.N.V	کربن آلی	فسفر	پتاسیم	آهن	روی	منگنز	مس
		$dS\ m^{-1}$		%		$mg\ kg^{-1}$					
لوم	7/7	1/01	32/5	8/2	0/72	7/9	233	2/16	0/46	7/88	1/02

EC: هدایت الکتریکی، SP: درصد اشباع، T.N.V: مقدار کل خنثی‌سازی

گلدان‌های چهار کیلویی تهیه شده با ترکیب خاک، پیت‌ماس و پرلیت به نسبت 4، 1 و 1 پر شدند. تیمارهای قارچ‌کش مورد استفاده شامل چهار نوع قارچ‌کش شامل قارچ‌کش‌های سیستمیک بنومیل (B) 50 WP درصد و پروپیکونازول (T) با نام تجاری تیلت 25 درصد، و قارچ کش تماسی مانکوزب (M) با نام تجاری مانکوزب اکسیر 80 WP درصد و قارچ‌کش تماسی - سیستمیک ایپرودیون کاربندازیم (R) با نام تجاری رورال تی‌اس بودند. بذور گندم (چمران *Triticum aestivum*,) و ذرت (سینگل-کراس 704 *Zea mays*,) پس از ضدعفونی به مدت 30 ثانیه در الکل 70 درصد و سپس سه دقیقه در محلول وایتکس30 درصد پنج مرتبه با آب مقطر استریل شسته شدند (امارا و الباگوری، 2018؛ جین و همکاران، 2020). سپس بذور به مدت 30 دقیقه در محلول‌های قارچ‌کش (بنومیل، رورال تی‌اس و مانکوزب به میزان دو گرم در لیتر و تیلت به میزان دو میلی‌لیتر در لیتر) همزده شدند. در تیمار شاهد نیز بذور در آب به مدت 30 دقیقه همراه تیمارهای قارچ‌کش همزده شدند (توسان و تارکوسای، 2004). بذور مورد استفاده از موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج تهیه گردید.

به منظور جوانه‌دار کردن، بذور به پلیت‌های استریل حاوی آب اگار منتقل و در انکوباتور به مدت دو روز با دمای 28 درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. تعداد پنج عدد بذر جوانه‌دار شده گندم یا ذرت در هر گلدان به همراه 25 گرم مایه تلقیح *R. irregularis* (تهیه شده در موسسه تحقیقات خاک و آب) با فرم پودری که حاوی 200 اندام قارچ در هر گرم شامل اسپور، هیف و وزیکو-لهای داخل ریشه که به روش MPN و در طی یک آزمون گلخانه‌ای 30 روزه بدست آمده بود، کشت و با لایه‌ای سه سانتی‌متری از خاک پوشانده شد. رطوبت خاک گلدان‌ها در طول دوره آزمایش به روش وزنی و به میزان 80 درصد ظرفیت مزرعه نگهداری شد. بر اساس نتایج آنالیز خاک، میزان 100 میلی‌گرم نیتروژن به فرم اوره به هر گلدان اضافه گردید. کاشت گلدان‌ها در اوایل مهرماه 1397 انجام شد. پس از سبز شدن، گیاهان درون گلدان‌ها تنک شده و در نهایت سه گیاهچه در هر گلدان باقی ماند. میزان نور، دما و رطوبت گلخانه در طول دوره رشد در شرایط بهینه نگهداری شد. پس از گذشت دو ماه، گیاهان در اوایل آذرماه 1397 برداشت شدند.

در پایان آزمایش، اندام هوایی و ریشه‌ها به‌طور جداگانه برداشت شدند و پس از شستشو، در آون با درجه حرارت 70 درجه سانتی‌گراد به مدت 72 ساعت قرار داده شدند. همچنین به منظور اندازه‌گیری درصد کلنیزاسیون ریشه، قبل از خشک کردن کل نمونه، از نقاط مختلف هر توده ریشه، حدود دو گرم نمونه تهیه گردید و درصد کلنیزاسیون ریشه با قارچ میکوریزی پس از رنگ‌آمیزی با محلول رنگی تریپان‌بلو با روش تقاطع قطعات یک سانتی‌متری ریشه با خطوط شبکه پلیت مدرج تعیین شد (فیلیپس و هیمن، 1970؛ جیووانتی و موسه، 1980؛ ساقری و همکاران، 2009). برای هر نمونه، 100 قطعه یک سانتی‌متری از ریشه‌ها با استفاده از اسکالپل برش داده شد و به طور تصادفی در پلیت‌های نه سانتی-متری با خطوط متقاطع قرار داده شدند. ریشه‌ها با استفاده از استریومیکروسکوپ (Leica ZOOM 2000, USA) به منظور مشاهده اندام قارچ شامل هیف، اسپور، وزیکول و آربوسکول مورد ارزیابی قرار گرفتند.

هر دو آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی به مرحله اجرا درآمدند. قبل از تجزیه واریانس، نرمال بودن

توزیع انحرافات مورد بررسی واقع شد. تجزیه تحلیل آماری با استفاده از نرم افزار SAS 9.4 انجام شد. مقایسه میانگین تیمارها نیز به روش دانکن ($p \leq 0.05$) صورت پذیرفت. نمودارها در نرم افزار اکسل رسم گردید.

نتایج و بحث

تأثیر قارچ‌کش‌های مصرفی بر صفات رشدی گندم و ذرت

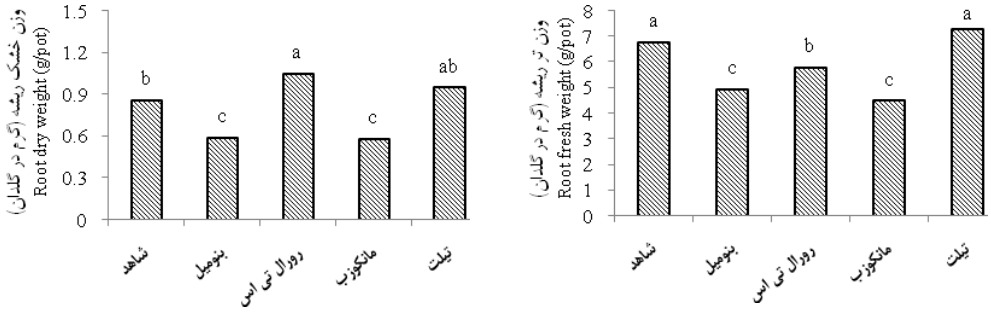
نتایج تجزیه واریانس نشان داد قارچ‌کش‌های مورد استفاده تأثیر معنی‌داری بر صفات رویشی و درصد کلنیزاسیون ریشه گندم ($p \leq 0.01$) داشتند (جدول 2). بنومیل وزن تر و خشک ریشه را به صورت معنی‌دار کاهش داد. این در حالی بود که قارچ‌کش تیلت بیشتر از سایر قارچ‌کش‌های استفاده شده این صفت را افزایش داد. اگرچه اختلاف با تیمار شاهد در سطوح آماری در نظر گرفته شده معنی‌دار نبود (شکل 1). وزن خشک ریشه درتیمار استفاده از رورال تی‌اس بالاترین میزان را به خود اختصاص داد. استفاده از قارچ‌کش‌ها کاهش وزن خشک اندام هوایی گندم را در پی داشت. تیمار بنومیل، وزن خشک اندام هوایی گندم را به 2/27 گرم در گلدان کاهش داد. درصورتیکه این شاخص در تیمار شاهد 2/75 گرم در گلدان اندازه‌گیری گردید. این در حالی بود که تیمارهای مانکوزب و تیلت اختلاف معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد نشان ندادند. ارتفاع گندم همچنین تحت تأثیر قارچ‌کش‌های استفاده شده قرار گرفت. در تیمار استفاده از بنومیل و تیلت اختلاف ارتفاع گیاه با تیمار شاهد معنی‌دار نبوده و بیشترین ارتفاع در گیاهان تیمار شده با مانکوزب و رورال تی‌اس مشاهده شد (شکل 1).

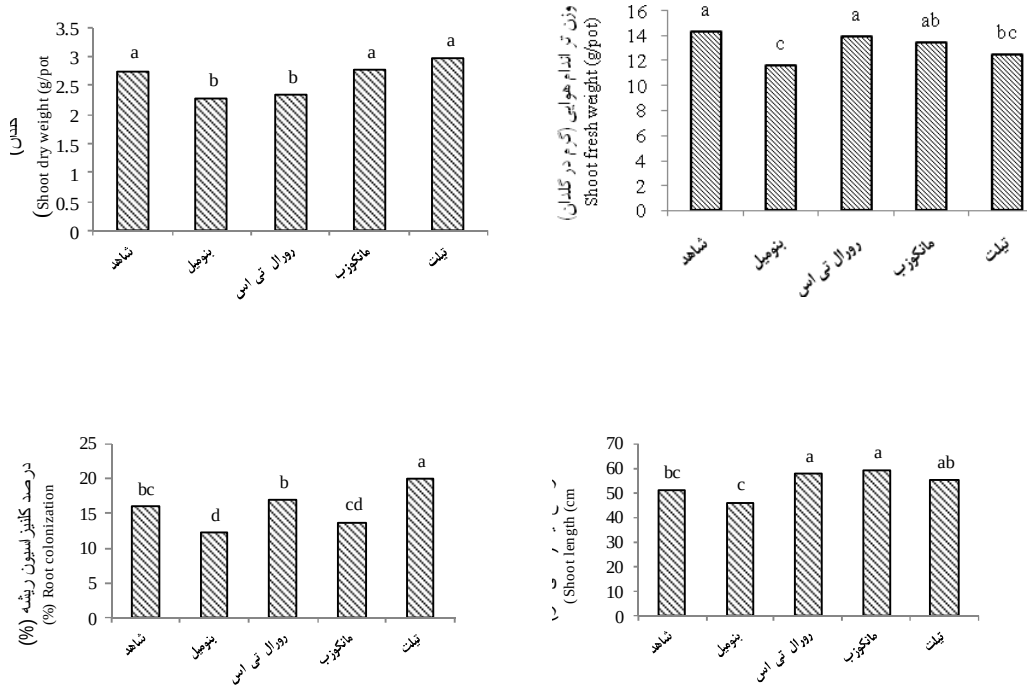
جدول 2- تجزیه واریانس اثر کاربرد تیمارهای مختلف قارچ‌کش بر خصوصیات مورفولوژی و درصد کلنیزاسیون ریشه در گیاه گندم

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات					
		SL	SF	SD	RF	RD	Root Colonization
تیمارهای قارچ‌کش	4	115/36**	4/91**	0/356**	5/55**	0/18**	35/50**
خطا	15	16/42	0/68	0/061	0/24	0/010	2/79
کل	19						
ضریب تغییرات		7/52	6/26	9/52	8/44	12/64	10/62

**معنی دار در سطح احتمال 1 درصد، ns غیر معنی دار

SL: ارتفاع اندام هوایی، RF: وزن تر ریشه، RD: وزن خشک ریشه، SF: وزن تر اندام هوایی، SD: وزن خشک اندام هوایی





شکل 1- صفات رشدی و درصد کلنیزاسیون ریشه گیاه گندم تحت تأثیر تیمارهای مختلف قارچ‌کش

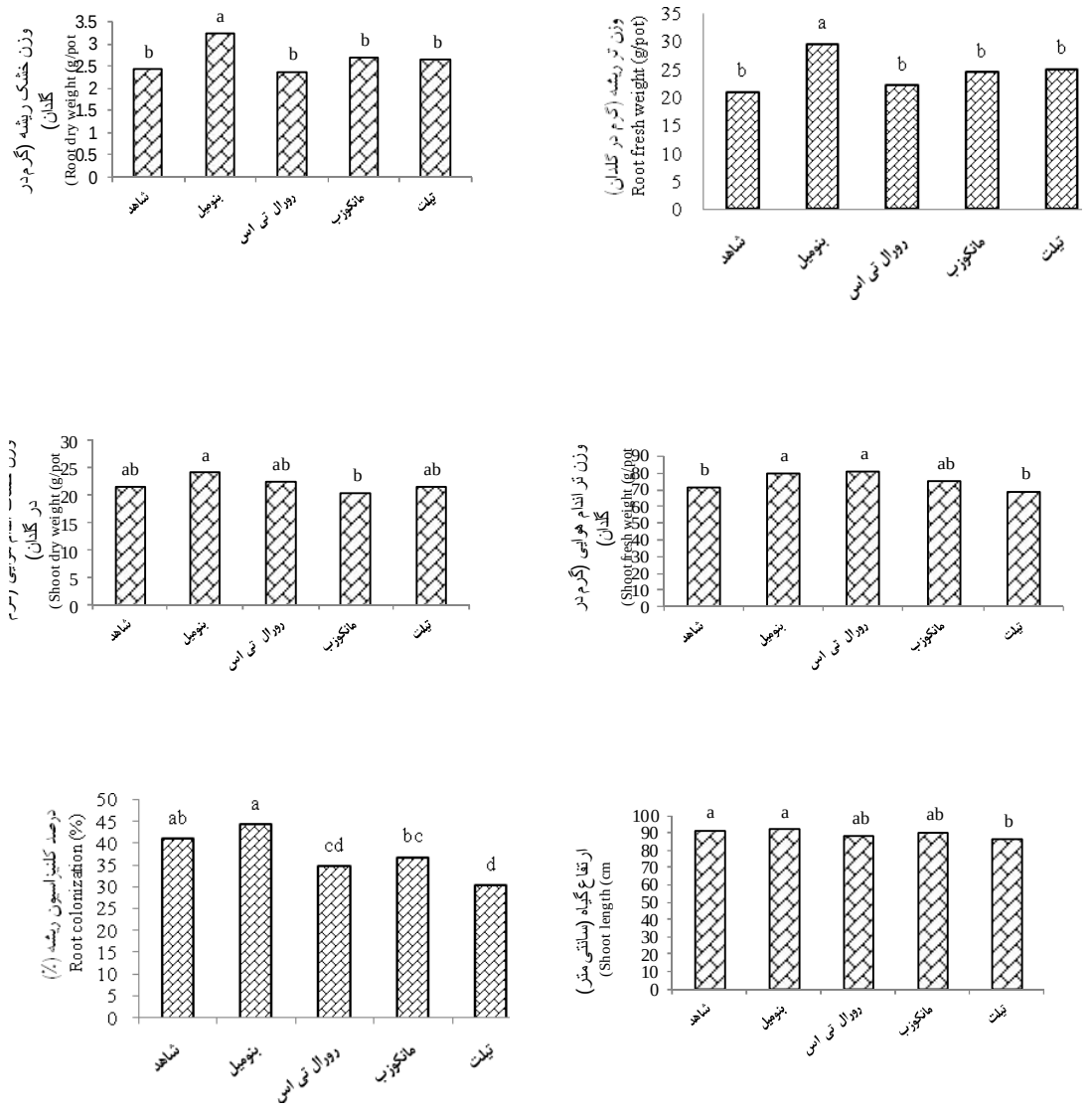
نتایج تجزیه واریانس صفات مورد بررسی در ذرت نشان داد که وزن خشک اندام هوایی تنها صفتی است که تحت تأثیر تیمارهای قارچ‌کش مصرفی قرار نگرفته است (جدول 3). از لحاظ شاخص وزن خشک ریشه، تیمارهای رورال تی‌اس، مانکوزب و تیلت تفاوت معنی‌داری با شاهد بدون استفاده از قارچ‌کش نداشتند. ارتفاع گیاه ذرت تحت تأثیر تیمار تیلت قرار گرفته بطوریکه ارتفاع گیاه در این تیمار به صورت معنی داری کاهش یافت. (شکل 2).

جدول 3- تجزیه واریانس اثر کاربرد تیمارهای مختلف قارچ‌کش بر خصوصیات مورفولوژی و درصد کلنیزاسیون ریشه در گیاه ذرت

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات					
		SL	SF	SD	RF	RD	Root Colonization
تیمارهای قارچ‌کش	4	19/79**	106/05**	7/36 ns	43/89**	0/488**	120/99**
خطا	15	8/19	7/15	4/51	6/95	0/076	13/48
کل	19						
ضریب تغییرات		3/19	5/48	9/65	10/80	10/32	9/83

**معنی دار در سطح احتمال 1 درصد، ns غیر معنی دار

SL: ارتفاع اندام هوایی، RF: وزن تر ریشه، RD: وزن خشک ریشه، SF: وزن تر اندام هوایی، SD: وزن خشک اندام هوایی



شکل 2- صفات رشدی و درصد کلنیزاسیون ریشه ذرت تحت تأثیر تیمارهای مختلف قارچ‌کش

تحریک رشد گیاه ناشی از کاربرد قارچ‌کش‌ها در تحقیق حاضر، بویژه بنومیل در ذرت، را می‌توان به چندین عامل از جمله میزان جذب بالاتر نیتروژن، از بین رفتن بیمارگرها درون خاک و یا تأثیرات مشابه سیتوکینینی است که قارچ‌کش بنومیل دارد، نسبت داد (وانگ و همکاران، 2018).

وانگ و همکاران (2018) نشان دادند که رشد بهتر گیاه ذرت به طور مستقیم و غیرمستقیم تحت تأثیر کاربرد بنومیل به دلیل جذب بالاتر نیتروژن قرار می‌گیرد. بنومیل حاوی شش درصد نیتروژن است که به طور مستقیم توسط فعالیت میکروبی خاک تجزیه و در دسترس گیاه قرار خواهد گرفت. تأثیرات غیرمستقیم محتوی نیتروژن بنومیل از طریق کاهش رقابت بین قارچ میکوریز آربوسکولار و گیاه در جهت جذب نیتروژن بویژه در خاک‌های با محتوی نیتروژن کم خواهد بود. بنومیل از طریق اعمال اثرات بازدارنده بر قارچ میکوریز آربوسکولار، باعث کاهش غیرمتحرک‌سازی نیتروژن در میسلیوم‌های قارچی می‌شود. همبستگی منفی بین

کلنیزاسیون میکوریز و غلظت نیتروژن بافت گیاهی بویژه در مقادیر کم نیتروژن به غیرمتحرک شدن نیتروژن در بافت قارچ میکوریز نسبت داده شده است. پوسچل و همکاران (2016) به کاهش مزایای رابطه همزیستی میکوریزی بر آندروپوگون (*Andropogon gerardii*) زمانی که گیاه و قارچ برای جذب نیتروژن در مناطق با محدودیت نیتروژن رقابت می‌کنند، اشاره داشته‌اند.

در برخی موارد کنترل بیماری توسط قارچ‌کش موجب گسترش همزیستی میان قارچ میکوریز و گیاه میزبان می‌شود. تأثیرات بازدارنده بنومیل بر بیمارگرهای درون خاک بویژه در خاک‌های استریل نشده می‌تواند دلیل احتمالی دیگر برای رشد بهتر گیاه پس از کاربرد بنومیل باشد، هرچه بنومیل تأثیر بیش‌تری در کاهش بیمارگرها داشته باشد، توان بیش‌تری در تحریک رشد گیاه خواهد داشت (وانگ و همکاران، 2018). در مطالعه حاضر نیز از خاک غیراستریل استفاده شده بود از این رو، این مورد می‌تواند دلیل قابل تصور برای رشد بهتر ذرت باشد همانگونه که درصد کلنیزاسیون پس از کاربرد بنومیل در ذرت کاهش پیدا نکرد. در حقیقت به دلیل اینکه بیماری‌های قارچی فیزیولوژی گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهند گیاه قادر نخواهد بود کربن مورد نیاز قارچ میکوریز (همزیست اجباری) را در اختیار آن قرار دهد. لذا در حضور قارچ‌های بیماری‌زا اغلب همزیستی با قارچ میکوریز محدود می‌شود (شالاموک و همکاران، 2014).

تأثیرات مشابه سیتوکینین همچنین برای بنومیل برشمرده شده که ممکن است در تحریک رشد گیاه، کاهش پیری برگ و در نتیجه بهبود بیوماس در برخی گونه‌ها موثر واقع شود (وانگ و همکاران، 2018). با این وجود کاربرد بنومیل در تحقیق حاضر، اثرات تحریک-کننده‌ای بر رشد گندم نداشته است. نتایج حاصل از پژوهش دیگری نیز نشان داده است که کاربرد توپسین ام (قارچ‌کشی با نحوه عمل مشابه بنومیل) بسته به گونه‌ی گیاهی تأثیرات مختلفی بر رشد گیاه داشته است (ویلسن و ویلیامسون، 2008).

تأثیر قارچ‌کش‌های مصرفی بر میزان کلنیزاسیون ریشه گندم و ذرت

بررسی میزان کلنیزاسیون ریشه در گندم نشان داد که تیمارهای مورد بررسی به استثنای بنومیل تأثیر منفی معنی‌داری بر میزان کلنیزاسیون ریشه نداشتند، این در حالی است که تیمار تیلت بالاترین درصد کلنیزاسیون را موجب شده است (شکل 1). درصد کلنیزاسیون ریشه ذرت نیز تحت تأثیر تیمارهای قارچ‌کش قرار گرفت. بیش‌ترین و کم‌ترین درصد کلنیزاسیون به ترتیب در تیمارهای بنومیل و تیلت مشاهده شد (شکل 2). مطالعه‌ای نشان داد که بنومیل کلنیزاسیون ریشه ذرت را کاهش داده است (وانگ و همکاران، 2018). این در حالی است که در تیمار کاربرد بنومیل کلنیزاسیون ریشه بیشتر از سایر تیمارهای قارچ‌کش و تقریبا همانند شاهد بدون استفاده از قارچ‌کش بوده است.

مطالعات چیوچیو و همکاران (2000) نیز در ارتباط با قارچ‌کش بنومیل نشان داد که جوانه‌زنی اسپورهای قارچ میکوریزی گلوموس موسه در غلظت‌های پایین از این قارچ‌کش، نسبت به غلظت‌های بالاتر آن بیشتر بوده و اسپورهای ریزتر مقاومت بیشتری نسبت به قارچ‌کش داشتند. از طرف دیگر، تیلت باعث کاهش درصد کلنیزاسیون شده است. نتایج مطالعه‌ای نشان داد که کاربرد قارچ‌هایی از جمله فورادن و ترمیکس در مقادیر توصیه شده باعث کاهش کلنی‌زایی و اسپورزایی قارچ میکوریز آربوسکولار در شرایط مزرعه‌ای در سه گونه ارزن (*Eleusine coracana*، *Panicum miliaceum* و *Paspalum scrobiculatum*) شده است، این در حالی است که دیگر قارچ‌کش‌ها شامل فرمالدهید، باویستین، کومان،کوپراکسی‌کلراید و سولفکس تأثیری بر کلنی‌زایی و اسپورزایی قارچ نداشتند و یا حتی در مواردی بسته به گونه‌ی کشت شده ارزن منجر به افزایش این صفات شده-اند (گوسلینگ و همکاران، 2006). برخلاف نتایج بدست آمده در تحقیق ما، اونیل و میتچل نشان دادند که بنومیل از

تولید اسپور قارچ میکوریز آربوسکولار و آلودگی گیاهچه جلوگیری می‌کند (اونیل و میچل، 2000).

همچنین در مطالعه دیگری مشخص شده که کلنی‌زایی ریشه‌های ارزن با قارچ *Rhizophagus fasciculatus* و تعداد اسپور آن با کاربرد بنومیل و مانکوزب به ترتیب به میزان 26، 28/5 درصد و 7/5 و 2/9 درصد کاهش یافته است. در حالی‌که کاربرد کاپتان این صفات را 13 و 12 درصد افزایش داده است (چاناباساوا و همکاران، 2015). بررسی منابع نشان داد که مشابه نتایج بدست آمده در تحقیق حاضر، کلنی‌زایی ریشه کاسنی به طور معنی‌داری در اثر استفاده از پروپیکونازول به میزان 59 و 40 درصد به ترتیب در مقادیر کاربردی 0/2 و 2 میلی‌گرم در لیتر کاهش یافته است (کالون و همکاران، 2010). نتایج تحقیقات نشان داده که تیمار تیلت مانع از سنتز برخی استرول‌های نرمال در سلول شده و رشد قارچ را کاهش داده یا متوقف می‌سازد و همچنین موجب اختلال در تنفس سلولی می‌شود (کامرون وهمکاران، 2017). لذا این قارچ‌کش می‌تواند به عنوان ممانعت کننده رشد عمل کرده و از این جهت ممکن است اثر منفی بر ارتفاع اندام هوایی گیاه نیز داشته باشد. اگرچه کاربرد تیلت در تحقیق حاضر در گندم به طور معنی‌داری باعث تحریک کلنی‌زایی ریشه شده است. مطالعات نشان داده که پروپیکونازول (تیلت 250 EC) در غلظت‌های کم 0/1 تا 1 میلی‌گرم در لیتر در تحریک رشد برخی از قارچ-های میکوریز بیرونی مؤثر بوده است (لاتیکینن و هینونن-تنسکی، 2002). نتایج این پژوهش نشان داد قارچ‌کش تماسی مانکوزب بدون تأثیر بر ویژگی‌های رویشی از قبیل وزن خشک اندام هوایی و درصد کلنیزاسیون ریشه در دو گیاه گندم و ذرت می‌باشد. بنظر می‌رسد سموم سیستمیک از آنجا که به داخل گیاه نفوذ می‌کنند و مدت بیشتری در گیاه پایدار هستند بیشتر همزیستی میکوریزی را تحت تأثیر قرار می‌دهند هر چند که نتایج تحت تأثیر میزبان متفاوت است. بطوریکه بنومیل در گیاه گندم باعث کاهش معنی‌دار وزن خشک ریشه، هوایی و درصد کلنیزاسیون ریشه شد و تیلت در گیاه ذرت باعث کاهش معنی‌دار ارتفاع گیاه و درصد کلنیزاسیون ریشه گردید. قارچ‌کش رورال تی‌اس که از ترکیب دو قارچ‌کش تماسی و سیستمیک است تأثیر متفاوتی در دو گیاه داشته است.

بطوریکه درصد کلنیزاسیون در گیاه ذرت نسبت به شاهد کاهش پیدا کرده است ولی در گندم مشابه با شاهد است. نتایج آزمایش‌های جین و همکاران نشان داد که تأثیر قارچ‌کش‌ها به میزان زیادی مرتبط با نوع قارچ‌کش به‌کار برده شده است، به طوری که قارچ‌کش‌های سیستمیک اثر منفی و قارچ‌کش‌های تماسی اثر مثبت بر همزیستی میکوریز داشته‌اند و یا اینکه بر این رابطه همزیستی بی‌تأثیر بوده‌اند (جین و همکاران، 2013).

نتیجه‌گیری

تأثیر پذیری قارچ‌های میکوریزی در برابر قارچ-کش‌ها متأثر از عوامل محیطی و گونه‌ی گیاهی؛ از بدون تأثیر تا از بین رفتن کامل قارچ همزیست، و یا کاهش یا افزایش در میزان کلنیزاسیون ریشه متغیر است. نتایج این پژوهش نشان داد که در گیاه ذرت، دو قارچ‌کش رورال تی‌اس و تیلت باعث کاهش معنی‌دار درصد کلنیزاسیون ریشه نسبت به شاهد شدند. هر چند که این کاهش منجر به تفاوت معنی‌داری نسبت به شاهد در وزن خشک ریشه و اندام هوایی گیاه نگردید. استفاده از دو قارچ‌کش بنومیل و مانکوزب تفاوت معنی‌داری را در درصد کلنیزاسیون ریشه و وزن خشک هوایی گیاه ذرت ایجاد نکردند. در گیاه گندم استفاده از قارچ‌کش بنومیل باعث کاهش معنی-دار درصد کلنیزاسیون ریشه، وزن خشک ریشه و اندام هوایی گردید. در تیمار استفاده از قارچ‌کش تیلت درصد کلنیزاسیون ریشه نسبت به شاهد به میزان سه درصد افزایش نشان داد هر چند که این افزایش تأثیر معنی‌داری در وزن خشک ریشه، وزن خشک اندام هوایی و ارتفاع گیاه نشان نداد.

بر اساس نتایج حاصل از این پژوهش در مقیاس گلخانه‌ای قارچ‌کش تیلت مناسب کاربرد همزمان با این گونه قارچ میکوریز آربسکولار در زمان کشت گندم بوده

و برای توصیه مزرعه‌ای می‌بایستی پژوهش‌های مربوطه در سطح مزرعه صورت گیرد. از آنجایی که این آزمایش در محیط گلخانه و درون گلدان‌هایی با حجم محدود انجام شده است و پارامترهای مورد ارزیابی مربوط به رشد رویشی گیاه بوده‌اند لذا به منظور ارائه تفسیر دقیق‌تری از نحوه اثر قارچ‌کش‌های مصرفی بر رابطه همزیستی میکوریزی و رشد گیاه میزان، بررسی‌های دقیق‌تر در سطح مزرعه‌ای و ارزیابی پارامترهای مربوط به رشد زایشی مورد نیاز خواهد بود.

فهرست منابع:

1. Calonne, M., Fontaine, J., Debiane, D., Laruelle, F., Grandmougin-Ferjani, A. and Lounès-Hadj Sahraoui, A. 2010. Propiconazole toxicity on the non-target organism, the arbuscular mycorrhizal fungus, *Glomus irregulare*. In: O. Carisse (ed.) Fungicides. InTech, Janeza Trdine 9, 51000 Rijeka, Croatia, pp. 325-346.
2. Cameron, J.C., Lehman, R.M., Sexton, P., Osborne, S.L. and Taheri, W.I. 2017. Fungicidal seed coatings exert minor effects on arbuscular mycorrhizal fungi and plant nutrient content. Agronomy Journal 109(3): 1005-1012.
3. Cardoso, I.M. and Kuyper, T.W. 2006. Mycorrhizas and tropical soil fertility. Agriculture, Ecosystems & Environment 116(1-2): 72-84.
4. Channabasava, A., Lakshman, H.C. and Jorquera, M.A. 2015. Effect of fungicides on association of arbuscular mycorrhiza fungus *Rhizophagus fasciculatus* and growth of Proso millet (*Panicum miliaceum* L.). Journal of Soil Science and Plant Nutrition 15 (1): 35-45.
5. Chiocchio, V., Venedikian, N., Martinez, A.E., Ana Menendez, A.M., Ocampo, J.A. and Godeas, A. 2000. Effect of the fungicide benomyl on spore germination and hyphal length of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae*. International Microbiology 3(3): 173-175.
6. Ehteshami, S.M. 2011. Phosphorus acquisition by two wheat cultivars supplied with rock phosphate and inoculated with *Glomus intraradices* in an alkaline soil. Technical Journal of Engineering and Applied Sciences 1: 20-25.
7. FAOSTAT. Available at http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC. (visited 29 July 2019).
8. Ghorchiani, M., Alikhani, H., Akbari, GH., Zarei, M. and Alah Dadi, I. 2011. Effect of phosphate solubilizing bacteria, arbuscular mycorrhizal fungi and phosphorus fertilizer on yield and yield components of maize under normal and deficit irrigation conditions in Karaj region. Iranian Journal of Agricultural Research 10(1): 214-224. (in Persian with English abstract)
9. Giovannetti, M. and Mosse, B. 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. New Phytologist 84(3): 489-500.
10. Gosling, P., Hodge, A., Goodlass, G. and Bending, G.D. 2006. Arbuscular mycorrhizal fungi and organic farming. Agriculture, Ecosystems & Environment 113(1-4):17-35.
11. Hage Ahmed, K., Rosner, K. and Steinkellner, S. 2018. Arbuscular mycorrhizal fungi and their response to pesticides. Pest Management Science 75(3): 583-590.
12. Jahan, M., Koocheki, A., Ghorbani, R., Rejali, F., Aryayi, M. and Ebrahimi, E. 2009. The effect of biological fertilizers application on some agroecological characteristics of corn under conventional and ecological cropping systems. Iranian Journal of Agricultural Research, 7(2): 375-390. (in Persian with English abstract)
13. Jain, D., Kour, R., Bhojiya, A.A., Meena, R.H., Singh, A., Mohanty, S.R., Rajpurohit, D. and Ameta, K.D. 2020. Zinc tolerant plant growth promoting bacteria alleviates phytotoxic effects of zinc on maize through zinc immobilization. Scientific reports 10(1): 1-13.

14. Jin, H., Germida, J.J. and Walley, F.L. 2013. Suppressive effects of seed-applied fungicides on arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) differ with fungicide mode of action and AMF species. Applied Soil Ecology 72: 22-30.
15. Laatikainen, T. and Heinonen-Tanski, H. 2002. Mycorrhizal growth in pure cultures in the presence of pesticides. Microbiological Research 157:127-137.
16. Murillo-Williams, A. and Pedersen, P. 2008. Arbuscular mycorrhizal colonization response to three seed-applied fungicides. Agronomy journal 100(3): 795-800.
17. Omara, A.E.D. and Elbagory, M. 2018. Enhancement of plant growth and yield of wheat (*Triticum aestivum* L.) under drought conditions using plant-growth-promoting bacteria. Annual Research & Review in Biology pp.1-18.
18. O'neill J.J.M. and Mitchell, D.T. 2000. Effects of benomyl and captan on growth and mycorrhizal colonization of Sitka-spruce (*Picea sitchensis*) and ash (*Fraxinus excelsior*) in Irish nursery soil. Forest Pathology 30(3):165-174.
19. Phillips, J.M. and Hayman, D.S. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Transactions of the British Mycological Society 55(1): 158-161.
20. Püschel, D., Janoušková, M., Hujslová, M., Slavíková, R., Gryndlerová, H. and Jansa, J. 2016. Plant-fungus competition for nitrogen erases mycorrhizal growth benefits of *Andropogon gerardii* under limited nitrogen supply. Ecology Evolution 6(13): 4332–4346.
21. Rezvani, E., Hassani, F. and Zare, L. 2017. Seed-born fungi infection of hybrid maize seed (*Zea mays* .L) in different climates and agronomic management. Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture) 40(1): 49-64. (in Persian with English abstract)
22. Saghari, M., Barani, H., Asghari, H.R., Mesdaghi, M. and Sadroie, M. 2009. Effect of inoculation of mycorrhizal arbuscular fungus and phosphorus fertilizer on growth and production of two alfalfa cultivars. Rangeland Scientific Journal 2: 291-301. (in Persian with English abstract)
23. Schalamuk, S., Velazquez, S., Simón, M.R. and Cabello, M. 2014. Effect of septoria leaf blotch and its control with commercial fungicides, on arbuscular-mycorrhizal-fungal colonization, spore numbers, and morphotype diversity. Journal of Plant Protection Research 54(1): 9-14.
24. Smith, S.E., Jakobsen, I., Grønlund, M. and Smith, F.A. 2011. Roles of arbuscular mycorrhizas in plant phosphorus (P) nutrition: interactions between pathways of P uptake in arbuscular mycorrhizal (AM) roots have important implications for understanding and manipulating plant P acquisition. Plant Physiology 156: 1050-1057.
25. Tosun, N. and Turkusay, H. 2004. Seed and soil treatments with a natural fungicide product against some fungal and bacterial diseases of vegetables. Nutritional Biotechnology in the Feed and Food Industries, p. 383.
26. Wang, X.X., Wang, X., Sun, Y., Cheng, Y., Liu, S., Chen, X., Feng, G. and Kuyper T.W. 2018. Arbuscular mycorrhizal fungi negatively affect nitrogen acquisition and grain yield of maize in a N deficient soil. Frontiers in Microbiology 9: 1-10.
27. Wilson, G. and Williamson, M. 2008. Topsin-M: the new benomyl for mycorrhizal-suppression experiments. Mycologia 100(4): 548-554.

Evaluation of systemic and contact fungicides effects on symbiosis of *Rhizophagus irregularis* and vegetative traits of wheat and corn plants

F. Rejali[1], H. KariDolatabad, M. Safari and F. Fazlikhani

Associate professor, Soil and Water Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran; E-mail: frejali@yahoo.com

Assistant professor, Soil and Water Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran; E-mail: h.kari@areeo.ac.ir

Agronomy Department of TarbiatModares University, Tehran, Iran; E-mail: m.safari@modares.ac.ir

Graduated M.Sc. student, Department of Soil Science, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran; E-mail:fazlikhanifahimeh20@yahoo.com

Received: March, 2022 & Accepted: January, 2022

Abstract

Today, fungicides are widely used to prevent or eradicate a variety of pathogenic fungi, but in some cases their use has destructive effects on beneficial microorganisms such as mycorrhizal fungi. Mycorrhizal fungi are among the beneficial microorganisms used in the production of biofertilizers. After mycorrhizal symbiosis, plant features included water and nutrient uptake as well as plant resistance to biotic and abiotic stresses improve. These microorganisms are also used to control soil pathogens. The present study was conducted to investigate the effect of concomitant use of fungicides including benomyl, roralthias, mancozeb and Tilt on the effectiveness of *R irregularis* in both wheat and corn plants under greenhouse conditions. The experiments were designed as a completely randomized design with five treatments and four replications. The effect of fungicides on the growth characteristics of wheat (Chamran cultivar) and corn (*Zeamays*, Single Cross 704) and their symbiosis relationship with *R. irregularis* were investigated. The results showed that the effectiveness of mycorrhizal fungus application was not affected by the concomitant use of fungicides. The application of fungicides also improved some growth characteristics in wheat and corn, although in most cases the differences with the control treatment were not significant. In general, two milliliters per liter of Tilt for wheat and two grams per liter of benomyl for corn can be recommended when using *R. irregularis* inoculum at the same time.

Keywords: Biofertilizer, Fungicide, Mycorrhizal symbiosis, Root colonization, *Rhizophagus irregularis*

[1]. Corresponding author: Soil and Water Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran