

فهرست مقالات

بررسی زیست پالایی کلوپیرالید توسط دو قارچ خاکزی *Trichoderma harzianum* و *Aspergillus niger*

فرزاد پیروزی، زیبا اورسجی، ابراهیم غلامعلی پور علمداری، فاختک طلایی..... ۱

شناسایی فوزاریوم‌های بیماریزای همراه با ریشه درختان گیلان و آلبالو در ایران

الهه حاجی‌محمدی، کامران رهنما، شیده موجرلو..... ۱۵

مروری بر کاربرد تکنولوژی نانوحسگرها در مدیریت آفات و بیماری‌های گیاهی

مه‌ری زرگانی، هوشنگ رفیعی دستجردی و وحید مهدوی ۳۰

مدیریت زراعی مهمترین بیماری‌های انباری سیب‌زمینی در استان خراسان رضوی

مجتبی مرادزاده اسکندری، محمدرضا حسینی ۵۵

-هیات تحریریه در رد و اصلاح مقاله‌ها آزاد است.

-نقل مطالب از این نشریه با ذکر منبع بلامانع است.

-مسئولیت مطالب نشریه با نویسندگان است و لزوماً بیانگر نظر مجله نمی باشد.

این نشریه طبق نامه شماره ۳/۸۲۴۰ مورخ ۱۳۹۱/۴/۱۴ دبیرخانه کمیسیون بررسی نشریات علمی کشور وزارت علوم، تحقیقات و فناوری با عنوان جدید نشریه ترویج گیاه پزشکی مورد موافقت و تایید قرار گرفت.



ترویج گیاهپزشکی

۱۴۰۲ سال پانزدهم

<http://www.ppext.ir>

تاریخ پذیرش مقاله ۱۴۰۲/۱۱/۲۳

بررسی زیست پالایی کلوپیرالید توسط دو قارچ خاکزی *Aspergillus niger* و *Trichoderma harzianum*

فرزاد پیروزی^۱، زیبا اورسجی^{۲*}، ابراهیم غلامعلی پور علمداری^۳، فاختک طلیعی^۲

^۱دانش آموخته علوم علف های هر، گروه تولیدات گیاهی، دانشگاه گنبد کاووس

^۲استادیار گروه تولیدات گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گنبد کاووس

^۳دانشیار گروه تولیدات گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گنبد کاووس

نویسنده مسوول: avarseji@gonbad.ac.ir

چکیده

این پژوهش با هدف بررسی پتانسیل زیست پالایی کلوپیرالید توسط قارچ های *Aspergillus niger* و *Trichoderma harzianum* اجرا شد؛ و اثر این جدایه ها در غلظت های مختلف کلوپیرالید شامل صفر، ۰/۱۶ و ۰/۳۲ میلی لیتر مورد بررسی قرار گرفت. با گذشت ۲۵ روز از مایه زنی، اکسیژن محلول محیط کشت، توسط این قارچ ها به طور معنی داری در طول زمان کاهش یافت. مقدار کدورت در تمام غلظت ها با افزایش زمان، زیاد شد و همواره در دزهای بالاتر بیشتر بود. با افزایش غلظت کلوپیرالید مقدار مجموع جامدات قابل حل افزایش یافت؛ به گونه ای که بیشترین مجموع جامدات قابل حل در غلظت ۰/۳۲ از قارچ *A. niger* با مقدار ۲۱۴۳ $mg.L^{-1}$ و در قارچ *T. harzianum* به میزان ۵۳۵ $mg.L^{-1}$ بدست آمد. بیشترین مقدار هدایت الکتریکی از غلظت ۰/۳۲ میلی لیتر بدست آمد که در قارچ *A. niger* با غلظت ۰/۱۶ اختلاف معنی داری نشان نداد اما در قارچ *T. harzianum* این اختلاف معنی دار نبود. هر دو قارچ توانستند در محیط کشت حاوی غلظت های مختلف علف کش رشد کنند. مقدار اکسیژن محلول در غلظت های مختلف کلوپیرالید، با گذشت زمان، روند کاهشی نشان داد. به نظر می رسد که صفات اکسیژن محلول، کدورت، مجموع جامدات محلول و هدایت الکتریکی به عنوان شاخصی غیر مستقیم، جهت پایش فعالیت زیست پالایی این قارچ ها کارا هستند.

واژه های کلیدی: اکسیژن محلول، تجزیه زیستی، کدورت، مایه زنی قارچ



مقدمه

در سال‌های اخیر مسایل اقتصادی و تأثیر منفی علف‌کش‌ها در محیط‌زیست و خطر آلودگی مواد غذایی منجر به کاهش استفاده از مواد شیمیایی و علف‌کش‌ها شده، به طوری که منجر به ممنوع شدن چندین علف‌کش در برخی کشورها و افزایش فشار به کشاورزان برای کاهش استفاده از آنها گردیده است. با این وجود، علف‌کش‌ها هنوز راهکار اصلی مدیریت علف‌های هرز در کشاورزی مدرن محسوب می‌شوند، به نحوی که توسعه و پیشرفت کشاورزی در نیم قرن گذشته بدون استفاده از علف‌کش‌ها امکان‌پذیر نبوده است (۳). در دهه ۴۰ قرن بیستم، با افزایش تصاعدی آفت‌کش‌ها و کودها بهره‌وری محصولات زراعی افزایش یافت که ازدیاد جمعیت جهان را در پی داشت (۲۶). از سوی دیگر، بخش مهمی از علف‌کش‌ها و آفت‌کش‌ها ممکن است به بسیاری از مکان‌های دیگر منتقل شوند و مشکلات زیست‌محیطی و بهداشتی زیادی ایجاد کنند یا استفاده از مخازن آب را برای تامین انسان یا حیوان محدود کنند (۱۵).

کلوپیرالید با نام تجاری لونتزل (۳،۶-دی کلرو-۲-پیریدین-کربوکسیلیک اسید) علف‌کشی شبه‌هورمونی متعلق به گروه شیمیایی پیریدین است؛ که برای کنترل پس‌رویشی بسیاری از پهن‌برگ‌های یک‌ساله و چندساله مورد استفاده قرار می‌گیرد. علف‌کش‌های این گروه از طریق اتصال به محل‌های پیوند ایندول استیک اسید طبیعی، سبب اختلال در رشد، پیچ‌خوردگی، ضخیم و طویل شدن برگ‌ها و ساقه‌ها می‌شوند و گیاه را در مدت ۳ تا ۵ هفته پس از سم‌پاشی از بین می‌برند. علف‌کش‌ها این خانواده دارای ریسک مقاومت کم هستند و با توجه به سیستمیک بودن آنها، می‌توان برای کنترل علف‌های هرز چندساله‌ای چون تلخه استفاده نمود (۱۶). بقایای این علف‌کش در خاک بی‌هوازی و با محتوای اندک میکروارگانسیم افزایش می‌یابد (۱۰). کلوپیرالید حلالیت بالایی در آب دارد و به همین دلیل در محیط و حتی در آب آشامیدنی مکرراً یافت می‌شود (۴). امروزه پالایش بیولوژیکی رایج‌ترین روش کاهش آلودگی است که مزایای مهمی به همراه دارد. زیرا روش‌های تجزیه بیولوژیکی مقرون به صرفه هستند، به خوبی مطالعه شده اند و به راحتی می‌توان ویژگی‌های آنها را بر اساس نیاز اصلاح کرد (۱۴). گزارش‌های موفقی در ارتباط با کارایی تجزیه علف‌کش‌های مختلفی مانند تریفلورالین توسط باکتری *Pseudomonas fluorescens* (۱۳)، علف‌کش پندی‌متالین بوسیله باکتری‌های *Bacillus subtilis*، *Escherichia coli* و *P. fluorescens* (۲) و علف‌کش تری‌بنورون متیل توسط باکتری‌های *E. coli*، *B. subtilis* (Zeinali et al., 2023) ارائه شده است.

قارچ‌های *Trichoderma* به‌عنوان گروهی از میکروارگانسیم‌های خاکزی هستند که در تبدیل بازمانده‌های آلی و تولید کمپوست نقش مهمی دارند (۶). وانگ و ژیو (۳۱) گزارش کردند که بعضی از گونه‌های *Trichoderma* توانایی پاک‌سازی

محیط آلوده را داشته و می‌توانند به‌عنوان یکی از منابع میکروارگانیسمی برای پاک‌سازی شیمیایی فلزات سنگین موجود در محیط به‌کار روند (۳۱). قارچ *Aspergillus* جنس بزرگی را با بیش از ۲۰۰ گونه تشکیل می‌دهد که انسان به‌طور دائم در مواجهه با آنها قرار دارد. در چهار جدایه قارچ *Aspergillus* که از خاک‌های مختلف ایران جدا شده بودند، میزان تجزیه سلولز در محیط کشت بررسی شد. نتایج نشان داد که جدایه‌های گونه‌ی *A. terreus* کمترین و جدایه‌های گونه *niger* *A.* بیشترین توانایی تجزیه سلولز را داشتند (۲۹). بررسی‌های تابنده و همکاران (۲۸) نشان داد که گونه‌های *A. niger*، *A. terreus* و *A. fumigatus* به ترتیب ۱۲/۵۴، ۹/۸۵ و ۳/۴۸ درصد لیگنین موجود در باگاس نیشکر را تجزیه می‌کنند (۲۸). در حال حاضر، آلودگی آب توسط ترکیبات آلی کلردار تولید شده از فعالیت‌های صنعتی و کشاورزی به موضوعی نگران‌کننده تبدیل شده است (۲۶) که این آلاینده‌ها به‌طور معمول بسیار سمی و غیر قابل تجزیه زیستی هستند (۲۵). بنابراین، یافتن راه‌های موثر برای حذف آنها جهت محافظت از محیط زیست ضروری است (۱۱). علف‌کش کلوپیرالید یک هیدروکربن ارگانیک کلردار است (۸) که اغلب در محیط شناسایی شده و مانند بسیاری دیگر از آلاینده‌های آلی پایدار، مقاومت آن در برابر تخریب زیستی باعث می‌شود که حذف این آلاینده توسط فناوری‌های مرسوم سخت شود (۲۱). به‌عنوان مثال، سیب‌زمینی‌هایی مزرعه‌ای که با آمینوپیرالید و کلوپیرالید تیمار شده اند تا چندین سال پس از مصرف، آسیب ناشی از مصرف این علف‌کش‌ها را نشان می‌دهند، که ناشی از ماندگاری این علف‌کش در خاک می‌باشد (۲۷).

مصرف روز افزون علف‌کش‌ها در سیستم‌های کشت رایج، سبب افزایش ورود به خاک و عبور آن‌ها از لایه‌های سطحی و نشستن به آب‌های زیرزمینی می‌شود. در این راستا میکروارگانیسم‌های موجود در خاک نقش مهمی در غیر سمی کردن آسان، رایگان و موثر علف‌کش‌ها بر عهده دارند. قارچ‌های *A. niger* و *T. harzianum* نیز از جمله قارچ‌های خاکزی هستند که بررسی پتانسیل زیست‌پالایی آن‌ها در کنار سایر میکروارگانیسم‌های حاضر در خاک می‌تواند جهت سالم‌سازی محیط زیست در نظر گرفته شود. به همین دلیل این پژوهش با هدف بررسی پتانسیل تجزیه زیستی علف‌کش کلوپیرالید توسط این دو قارچ اجرا شد.

مواد و روش

تهیه‌ی جدایه‌های قارچی

این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی و با سه تکرار در آزمایشگاه مرکزی دانشگاه گنبد کاووس در سال ۱۳۹۵ انجام شد. جهت بررسی تاثیر قارچ‌های *A. niger*، *T. harzianum* بر تجزیه زیستی علف‌کش کلوپیرالید (۳۰٪ SL) (جدول ۱) این جدایه‌ها از آزمایشگاه گیاهپزشکی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان دریافت شدند.



تکثیر جدایه‌ها بر روی محیط کشت PDA (۲۰۰ گرم سیب‌زمینی، ۲۰ گرم دکستروز و ۲۰ گرم آگار) در شرایط استریل (اتوکلاو در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱/۵ اتمسفر) انجام و نمونه‌ها در انکوباتور با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. برای تهیه سوسپانسیون اسپوری قارچ، ابتدا کشت خالص از هر یک از قارچ‌ها بر محیط کشت PDA تهیه شد. سپس سوسپانسیون اسپوری از هر قارچ با استفاده از آب مقطر استریل و توپین ۲۰ درصد تهیه گردید. غلظت سوسپانسیون اسپوری قارچ با استفاده از لام گلبول شمار به میزان 5×10^5 اسپور بر میلی‌لیتر تنظیم شد.

بررسی زیست‌تخریبی کلوپیرالید

بررسی میزان تخریب‌پذیری علف‌کش کلوپیرالید توسط هر یک از قارچ‌های *T. harzianum*، *A. niger* به روش اختلاط با محیط کشت انجام شد. به این منظور ابتدا کلوپیرالید از فیلتر میکروبیولوژی (۰/۲۲ میکرومتر) عبور داده شد تا کلیه مراحل آزمایش بدون حضور آلودگی انجام گردد. سپس مقادیر صفر، ۰/۱۶ و ۰/۳۲ میلی‌لیتر در لیتر از علف‌کش کلوپیرالید به محیط کشت مایع PDB تغییر یافته با ترکیب ۱۰۰ گرم سیب‌زمینی، ۱۰ گرم دکستروز بر لیتر محیط کشت، اضافه شد. آزمایش در حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر برای هر نمونه و با سه تکرار انجام شد و برای اختلاط کامل علف‌کش، ظروف حاوی محیط کشت به مدت ۲۴ ساعت روی شیکر قرار گرفتند. سپس سوسپانسیون اسپوری هر قارچ به میزان ۱۰۰۰ میکرولیتر به هر ظرف حاوی محیط کشت اضافه شد. ظروف حاوی مخلوط علف‌کش و محیط کشت به مدت ۳۰ روز در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. در فواصل زمانی ۵ روزه، میزان کدورت و مقدار اکسیژن محلول، مجموع جامدات محلول و هدایت الکتریکی با استفاده از الکتروود غشایی دستگاه مولتی پارامتر دو کاناله ($HQ40D$ کمپانی $HACH$ آمریکا) اندازه‌گیری شدند.

جدول ۱- فرمول شیمیایی و مشخصات فیزیکوشیمیایی علف‌کش کلوپیرالید

Table 1. Molecular Formula and physicochemical properties of clopyralid

Water solubility (ppm at 25 °C)	Vapor Pressure (mmHg)	Melting point (C)	Molecular Weight (g.mol ⁻¹)	Molecular Formula
1000	0.000012	151	192	C ₆ H ₃ Cl ₂ NO ₂

National Center for Biotechnology Information (2023)

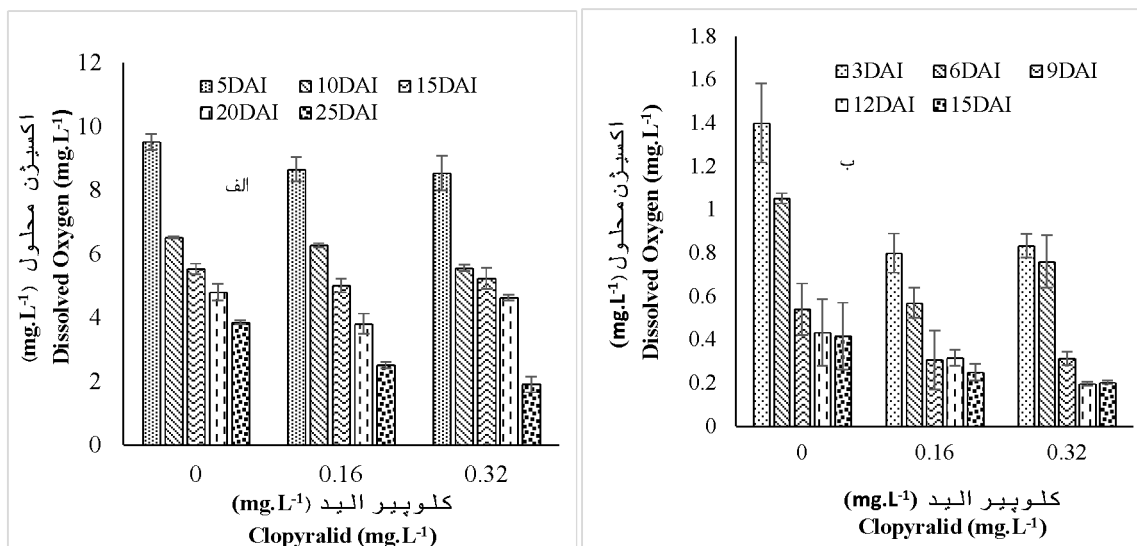
تجزیه و تحلیل داده‌ها

تجزیه داده‌ها در نرم‌افزار *SAS (9.1)* و رسم شکل‌ها در نرم‌افزار اکسل انجام شد. برای مقایسه داده‌ها از آزمون *LSD* در سطح احتمال ۰.۵ استفاده شد.

نتایج و بحث

اکسیژن محلول محیط کشت، توسط قارچ *A. niger* و *T. harzianum* در طول زمان کاهش یافت (شکل ۱-الف و ب) مقادیر اکسیژن محلول تقریباً در طول دوره پس از مایه‌زنی بین غلظت‌های متفاوت، اختلاف معنی‌داری نداشت اما کاهش آن در طول زمان در هر دز معنی‌دار بود. بیشترین میزان اکسیژن محلول محیط کشت حاوی قارچ *A. niger* در تمام غلظت‌ها، پنج روز پس از مایه‌زنی و کمترین مقدار آن در روز بیست و پنجم ثبت شد. روند مشابهی نیز در محیط کشت حاوی قارچ *T. harzianum* مشاهده شد و با افزایش زمان پس از مایه‌زنی، میزان اکسیژن محلول کاهش یافت. بیشترین اکسیژن محلول در محیط کشت حاوی قارچ *A. niger* به میزان $9/52 \text{ mg.L}^{-1}$ پنج روز پس از مایه‌زنی و از غلظت صفر و کمترین مقدار، بیست و پنج روز پس از مایه‌زنی با مقدار $1/9 \text{ mg.L}^{-1}$ از غلظت $0/32$ بدست آمد. بیشترین و کمترین میزان اکسیژن محلول در محیط کشت حاوی قارچ *T. harzianum* به ترتیب به مقدار $1/4 \text{ mg.L}^{-1}$ سه روز پس از مایه‌زنی و مقدار $0/2$ در دوازده و پانزده روز پس از مایه‌زنی حاصل شد.

بیشتر گیاهان و جانوران آبی برای زنده ماندن به اکسیژن نیاز دارند. به عنوان مثال، ماهی نمی‌تواند برای مدت طولانی در آب با اکسیژن محلول کمتر از ۵ میلی‌گرم در لیتر زنده بماند. سطح پایین اکسیژن محلول در آب نشانه آلودگی است و عامل مهمی در تعیین کیفیت آب، کنترل آلودگی و فرآیند تصفیه است. باکتری‌ها برای تجزیه آلودگی‌ها نیازمند اکسیژن هستند و بیشتر آلاینده‌های اکسیژن‌خواه، از نوع آلی هستند. به طوری که اکسیداسیون ۳ میلی‌گرم در لیتر کربن به 9 ppm اکسیژن محلول نیاز دارد (۵). سطح اکسیژن محلول در آب تا حدی به فعالیت‌های شیمیایی، فیزیکی و بیوشیمیایی که در آب رخ می‌دهد بستگی دارد. اکسیژن حلالیت محدودی در آب دارد که مستقیماً با فشار اتمسفر مرتبط است و رابطه معکوس با درجه حرارت و شوری آب دارد. سطوح کم اکسیژن محلول می‌تواند متابولیسم باکتریایی برخی ترکیبات آلی را محدود کند (۳۰). پریچ و داگلیس (۲۰۰۵) بیان کردند که مصرف اکسیژن در طول زمان، شاخص مناسبی برای شدت نیاز اکسیژن در دوره رشد نمایی جمعیت میکروارگانیسم‌ها می‌باشد (۲۴).

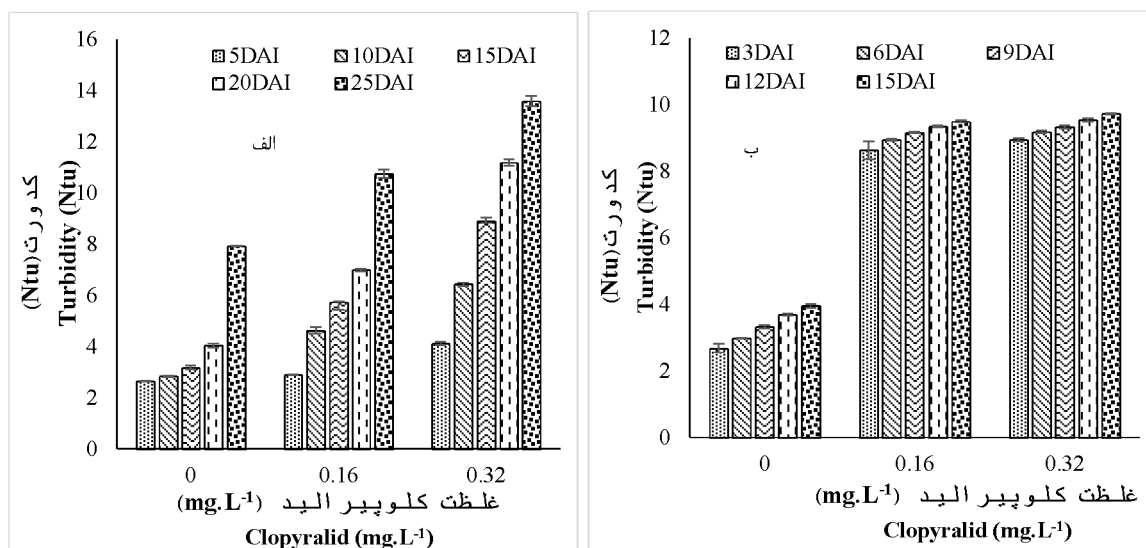


شکل ۱- اکسیژن محلول در روزهای پس از مایه‌زنی قارچ *A. niger* (الف) و قارچ *T. harzianum* (ب) در غلظت‌های مختلف کلوپیرالید. مقادیر LSD برای دزهای صفر، ۰/۱۶ و ۰/۳۲ mg.L⁻¹ در قارچ *A. niger* به ترتیب ۰/۵۷، ۰/۷۸، ۰/۹۶ و در قارچ *T. harzianum* به ترتیب ۰/۳۹، ۰/۲۶ و ۰/۲۰ می‌باشند.

Figure 1- Dissolved oxygen, days after inoculation of *A. niger* (a) and *T. harzianum* (b) in different concentrations of clopyralid. LSD values for *A. niger*, doses of 0, 0.16, 0.32 mg.L⁻¹ were 0.57, 0.78, 0.96 and for *T. harzianum* were 0.39, 0.26, 0.20 respectively.

بیشترین مقدار کدورت معادل ۱۳/۵۸ Ntu در قارچ *A. niger*، در بیست و پنج روز پس از مایه‌زنی و در قارچ *T. harzianum* معادل ۹/۷ Ntu از غلظت ۰/۳۲ میلی‌لیتر کلوپیرالید بدست آمد (شکل ۲- الف و ب). این مقادیر در قارچ *A. niger* اختلاف معنی‌داری با روزهای متناظر در دزهای دیگر داشت (شکل ۲- الف). در تمام غلظت‌ها با افزایش زمان پس از مایه‌زنی، کدورت افزایش یافت و در زمان‌های مختلف بعد از مایه‌زنی همواره میزان کدورت در دزهای بالاتر بیشتر بود اگرچه در بیشتر آن‌ها اختلاف زمان‌های متناظر معنی‌دار نبود. کمترین میزان کدورت از تیمار شاهد بدست آمد که تقریباً در تمام نمونه‌برداری‌های روز پس از مایه‌زنی به غیر از روز آخر افزایش نداشت؛ که به نظر می‌رسد رشد نمایی *A. niger* سبب افزایش کدورت در تیمار شاهد به خصوص در آخرین روز پس از مایه‌زنی شده باشد اگرچه این رشد نسبت به دزهای دیگر علف‌کش کمتر است (شکل ۲- الف). مقدار افزایش کدورت با افزایش زمان پس از مایه‌زنی قارچ *T. harzianum* در هر دز، افزایش چشمگیری نداشت اگرچه که اختلاف موجود در بیشتر موارد معنی‌دار است. احتمالاً قارچ مورد نظر از همان روزهای آغازین پس از مایه‌زنی با سازگاری و قدرت توانسته از منبع کلوپیرالید جهت تغذیه و افزایش رشد استفاده کند در حالی که در قارچ *A. niger* این فرایند، نیازمند زمان بیشتری بود و هر چه زمان گذشت توانایی سازگاری و استفاده از کلوپیرالید برایش فراهم‌تر گردید. کیلبانه و همکاران (۱۹۸۲) از روش سنجش کدورت در طول موج ۵۶۰ نانومتر برای تعیین تراکم سلول‌ها و سپس برای تعیین مقدار سلول‌های زنده کدورت عبارت است از کاهش

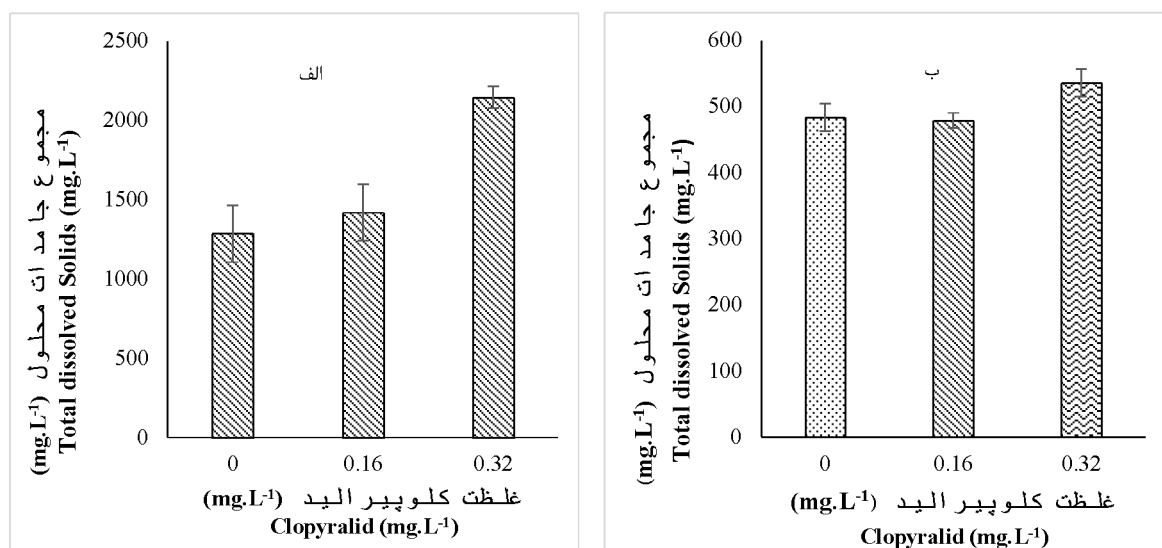
شفافیت آب به دلیل وجود مواد معلق جذب کننده یا پراکنده کننده نور رو به پایین، و زمانی که وجود ذرات معلق آشکار شود، آب کدر در نظر گرفته می‌شود. مواد معلق غیر آلی و تریپتون‌ها، نفوذ نور را کاهش می‌دهند، سطوح جذب و دفع را تشکیل می‌دهند و می‌توانند با مواد محلول، باکتری‌ها و جلبک‌ها جمع شوند. مواد جذب شده برای باکتری‌ها، جلبک‌ها و زئوپلانکتون‌ها در دسترس هستند (۱۸). در آب‌های با کدورت زیاد، حضور میکروارگانیسم‌ها نیز به احتمال زیاد بالا است به عنوان مثال فعالیت‌های انسانی مانند کشاورزی و همچنین رشد فیتوپلانکتون‌ها در آب‌های آزاد، سبب افزایش کدورت می‌شود (۲۳) که به نوعی نشان می‌دهد که افزایش کدورت در پژوهش حاضر می‌تواند ناشی از افزایش بیوماس قارچ باشد. نیتلی و قوالم (۲۰۱۷) بیان کردند که کاهش مقدار کدورت نشان از حضور ذرات کلوئیدی در آب دارد که به دلیل تغییرات ساختاری قوی مواد معلق و یا با واکنش‌های شیمیایی که اثرات قوی بعدی روی هیدرولیز پیلیمرها و اجزای ارگانیک و در نتیجه تحلیل مقدار باکتری در محیط دارند؛ اتفاق می‌افتد (۲۲). احتمالاً در این پژوهش، کدورت ایجاد شده ناشی از رشد قارچ‌ها می‌باشد. به نظر می‌رسد که رشد قارچ‌ها در محیط کشت واجد علف‌کش از شاهد بیشتر بوده به طوری که درصد کدورت در این غلظت‌ها نسبت به شاهد زیادتر می‌باشد.



شکل ۲- کدورت محلول در روزهای پس از مایه‌زنی قارچ *A. niger* (الف) و قارچ *T. harzianum* (ب) در غلظت‌های مختلف کلویرالید. مقادیر LSD برای دزهای صفر، ۰/۱۶ و ۰/۳۲ mg.L⁻¹ در قارچ *A. niger* به ترتیب ۰/۱۴، ۰/۴۹، ۰/۳۸ و در قارچ *T. harzianum* به ترتیب ۰/۲۰، ۰/۳۸ و ۰/۱۳ می‌باشند.

Figure 2- Solution turbidity days after inoculation of *A. niger* (a) and *T. harzianum* (b) in different concentrations of clopyralid. LSD values for *A. niger* doses of 0, 0.16, 0.32 mg.L⁻¹ were 0.14, 0.49, 0.38 and for *T. harzianum* were 0.20, 0.38, 0.13 respectively.

مجموع جامدات قابل حل در طول دوره مایه‌زنی هر دو قارچ افزایش نشان داد (شکل ۳- الف و ب). با افزایش غلظت علف‌کش کلوپیرالید مقدار مجموع جامدات قابل حل افزایش یافت؛ به گونه‌ای که بیشترین مجموع جامدات قابل حل در غلظت ۰/۳۲ از قارچ *A. niger* با مقدار 2143 mg.L^{-1} و در قارچ *T. harzianum* به میزان 535 mg.L^{-1} بدست آمد که با غلظت‌های ۰/۱۶ و صفر اختلاف معنی‌داری داشت. اگرچه میزان جامدات محلول در غلظت ۰/۱۶ بیشتر از شاهد بود اما این اختلاف در قارچ *A. niger* معنی‌دار نبود. مجموع جامدات محلول، به مواد آلی محلول و نمک‌های معدنی از جمله سدیم، پتاسیم، کلسیم، منیزیم، کلرید، بی‌کربنات‌ها و سولفات‌ها اشاره دارد (۳۴). فعالیت‌های انسانی مانند کشاورزی، استفاده از آب، فرآیندهای صنعتی و معدن می‌تواند سطح مجموع جامدات محلول را در بدنه آبی افزایش دهد (۷). از آنجایی که علف‌کش کلوپیرالید در ساختار شیمیایی خود دارای دو مولکول کلر می‌باشد به نظر می‌رسد که احتمالاً طی فرایند تجزیه بیولوژیک توسط قارچ‌های مورد نظر محصولات جدیدی تولید شده که سبب افزایش میزان مجموع جامدات محلول گردیده است. بستوی و همکاران (۲۰۱۴) نشان دادند که در نتیجه زیست‌پالایی ترکیبات پیچیده و تبدیل آن‌ها به مواد جامد محلول ساده، مقدار مجموع جامدات محلول افزایش یافت (۱۲).



شکل ۳- مجموع جامدات محلول در روزهای پس از مایه‌زنی قارچ *A. niger* (الف) و قارچ *T. harzianum* (ب) در غلظت‌های مختلف کلوپیرالید. مقادیر LSD برای قارچ *A. niger* و *T. harzianum* به ترتیب ۰/۷ و ۰/۲۸ می‌باشد.

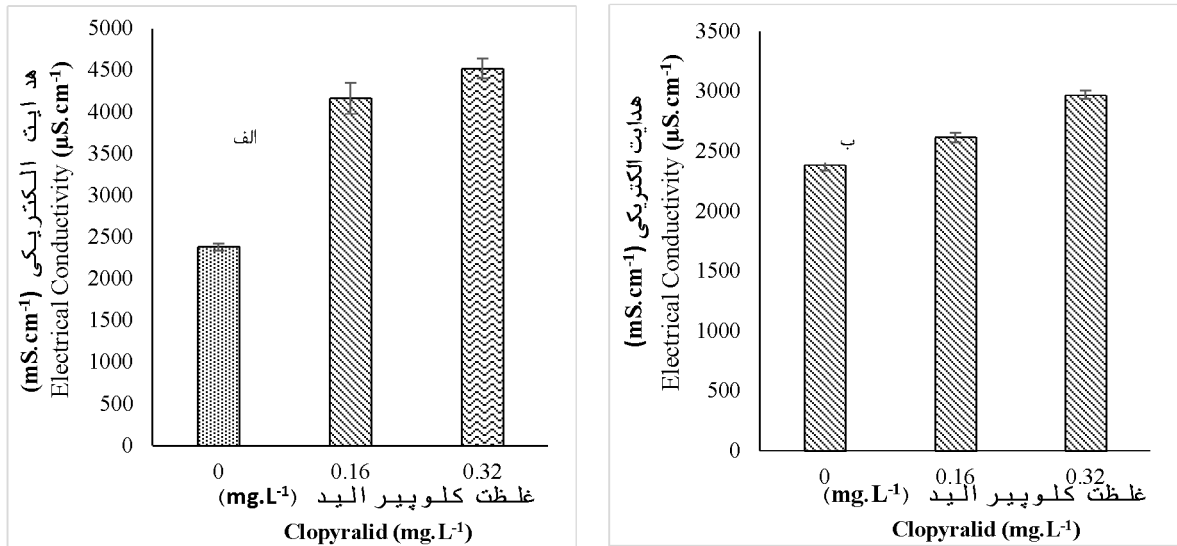
Figure 3- Total dissolved solids days after inoculation of *A. niger* (a) and *T. harzianum* (b) in different concentrations of clopyralid. LSD values for *A. niger* and *T. harzianum* were 0.7 and 0.28 respectively.

کلوپیرالید یک علف‌کش ارگانوکلره، پایدار است که به راحتی تجزیه زیستی نمی‌شود. متأسفانه، روش‌های یولوژیکی همیشه برای تصفیه مولکول‌های آلی پیچیده انسانی (مانند ترکیبات آلی کلردار) کارا نیستند (8) بنابراین، جستجوی پالایش‌گرهای کارآمدی که قادر به حذف این نوع آلاینده‌ها باشند، از اهمیت بالایی برخوردار است (۲۰).

بر اساس گزارش ینگ و همکاران (۳۲) مسیرهای اکسیداسیون اولیه علف‌کش کلوپیرالید، شامل هیدروکسیلاسیون دکلره، دکربوکسیلاسیون و تشکیل بخش‌هایی شبیه به کینون است (۳۲). پس از آن، محصولات جانبی میانی متعددی از انواع مولکول‌های بزرگ تا بسیار کوچک شناسایی شدند، که نشان می‌دهد حلقه پیریدین در طول فرآیند پرسولفات فعال شده حرارتی آسیب دیده است. محصولات شناسایی شده حاوی شش و پنج کربن نشان می‌دهند که برش حلقه پیریدین در ساختار کینون انجام می‌شود.

اکسیداسیون بیشتر می‌تواند با شکستن هر پیوند روی محصول حاصل از برش حلقه پیریدین ادامه یابد و یک سری مواد شیمیایی کربونیل با زنجیره کوتاه، اسیدهای کربوکسیلیک و یون‌های معدنی تولید کند. علاوه بر این، حضور اکسیژن محلول برای تخریب کلوپیرالید مطلوب بود، که نشان می‌دهد اکسیژن محلول نقش مهمی در استفاده از چنین فناوری ایفا می‌کند.

هدایت الکتریکی در دزهای مختلف علف‌کش کلوپیرالید متفاوت بود (شکل ۴-الف و ب). بیشترین مقدار هدایت الکتریکی از غلظت ۰/۳۲ میلی‌لیتر بدست آمد که در قارچ *A. niger* با غلظت ۰/۱۶ اختلاف معنی‌داری نشان نداشت اما در قارچ *T. harzianum* این اختلاف معنی‌دار بود. مقدار هدایت الکتریکی در دز صفر از بقیه دزها کمتر بدست آمد. هدایت الکتریکی اندازه‌گیری توانایی یک محلول آبی برای انتقال جریان الکتریکی است. جریان توسط یون‌ها حمل می‌شود و بنابراین رسانایی با غلظت یون‌های موجود در محلول و تحرک آنها افزایش می‌یابد (۳۵). کلوپیرالید احتمالاً در فرآیند تجزیه بیولوژیک بوسیله قارچ *A. niger* و *T. harzianum* به مولکول‌های ساده‌تری تبدیل شده است همان‌طور که ینگ و همکاران (۲۰۲۲) نشان دادند یکی از مسیرهای تجزیه این علف‌کش دکلریناسیون است؛ در این فرآیند دو مولکول کلر که در ساختار آن وجود دارند؛ جدا شده و در نتیجه سبب افزایش میزان یون در محیط و افزایش مقدار هدایت الکتریکی می‌شوند (۳۲). این امکان وجود دارد که افزایش مقدار هدایت الکتریکی ناشی از ترکیبات ارگانیک قطبی مانند اسیدهای ارگانیک و سورفکتانت‌های زیستی باشد (۹). آتکوانا و همکاران (۲۰۰۴) نیز گزارش کردند که افزایش تجزیه زیستی باعث افزایش هدایت الکتریکی می‌شود (۱).



شکل ۴- هدایت الکتریکی در پانزده روز پس از مایه‌زنی قارچ *A. niger* (الف) و بیست و پنج روز پس از مایه‌زنی قارچ *T. harzianum* (ب) در غلظت‌های مختلف کلوپیرالید. مقادیر LSD برای قارچ *A. niger* و *T. harzianum* به ترتیب ۴۵۳/۶۳ و ۱۵۳/۳ می‌باشد.

Figure 4- Electrical conductivity five days after inoculation of *A. niger* (a) and twenty-five days after inoculation of *T. harzianum* (b) in different concentrations of clopyralid. LSD values for *A. niger* and *T. harzianum* were 453.63 and 135.3 respectively.

نتیجه‌گیری کلی

با توجه به نتایج حاصل از این آزمایش به نظر می‌رسد که هر دو قارچ توانایی استفاده از علف‌کش کلوپیرالید به عنوان منبع ماده غذایی را دارا هستند. کاهش اکسیژن محلول، با افزایش زمان پس از مایه‌زنی توسط هر دو قارچ نشان دهنده رشد قارچ و همین‌طور افزایش فعالیت‌های متابولیکی جهت تجزیه علف‌کش می‌باشد. در همین راستا زیاد شدن کدورت محلول هم بیانگر رشد جمعیت قارچ‌های مورد نظر می‌باشد. از سوی دیگر چون در ساختار این علف‌کش عنصر کلر موجود است به نظر می‌رسد که فعالیت قارچ‌ها در جهت متابوله کردن علف‌کش منتهی به شکسته شدن پیوندهای آن شده و در نتیجه مجموع جامدات محلول را افزایش داده است. همچنین مقدار هدایت الکتریکی که وابسته به میزان یون‌های موجود می‌باشد هم بیانگر شکسته شدن پیوندهای علف‌کش و افزایش یون می‌باشد که با نتایج حاصل از مجموع جامدات محلول هم‌سو است. به عبارت دیگر افزایش میزان مجموع جامدات محلول، خود بیانگر تبدیل ساختارهای پیچیده علف‌کش به یون‌ها و به دنبال افزایش مقدار هدایت الکتریکی می‌باشد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از همکاری آقای مهندس اصغر حسینی مسئول آزمایشگاه مرکزی دانشگاه گنبد کاووس سپاسگزاری می‌کنند.



1. Atekwana, E. A., Werkema Jr, D. D., Duris, J. W., Rossbach, S., Atekwana, E. A., Sauck, W. A., ... and Legall, F. D. (2004). In-situ apparent conductivity measurements and microbial population distribution at a hydrocarbon-contaminated site. *Geophysics*, 69(1), 56-63.
2. Avarseji, Z., Talie, F., GholamaAlipour Alamdari, E., and Hoseini Tilan, M. S. (2021). Investigation of the biodegradability of pendimethalin by *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens*, and *Escherichia coli*. *Advances in Environmental Technology*, 7(4), 221-229.
3. Barros, J. F., Basch, G., and de Carvalho, M. (2005). Effect of reduced doses of a post-emergence graminicide mixture to control *Lolium rigidum* G. in winter wheat under direct drilling in Mediterranean environment. *Crop Protection*, 24(10), 880-887.
4. Berberidou, C., Kitsiou, V., Karahanidou, S., Lambropoulou, D. A., Kouras, A., Kosma, C. I., and Poullos, I. (2016). Photocatalytic degradation of the herbicide clopyralid: Kinetics, degradation pathways and ecotoxicity evaluation. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 91(9), 2510-2518.
5. Bozorg-Haddad, O., Delpasand, M., and Loáiciga, H.A. (2021). Water quality, hygiene, and health. In *Economical, Political, and Social Issues in Water Resources* (pp. 217-257). Elsevier.
6. Bulluck Iii, L. R., Brosius, M., Evanylo, G. K., and Ristaino, J. B. (2002). Organic and synthetic fertility amendments influence soil microbial, physical and chemical properties on organic and conventional farms. *Applied soil ecology*, 19(2), 147-160.
7. Cañedo-Argüelles, M., Kefford, B. J., Piscart, C., Prat, N., Schäfer, R. B., and Schulz, C. J. (2013). Salinisation of rivers: an urgent ecological issue. *Environmental pollution*, 173, 157-167.
8. Carboneras, M. B., Cañizares, P., Rodrigo, M. A., Villaseñor, J., and Fernandez-Morales, F. J. (2018). Improving biodegradability of soil washing effluents using anodic oxidation. *Bioresource technology*, 252, 1-6.
9. Cassidy, D. P., Werkema Jr, D. D., Sauck, W., Atekwana, E., Rossbach, S., and Duris, J. (2001). The effects of LNAPL biodegradation products on electrical conductivity measurements. *Journal of Environmental and Engineering Geophysics*, 6(1), 47-52.
10. Corredor, M. C., Mellado, J. R., and Montoya, M. R. (2006). EC (EE) process in the reduction of the herbicide clopyralid on mercury electrodes. *Electrochimica acta*, 51(20), 4302-4308.
11. Dewil, R., Mantzavinos, D., Poullos, I., and Rodrigo, M. A. (2017). New perspectives for advanced oxidation processes. *Journal of environmental management*, 195, 93-99.
12. El Bestawy, E., Ahmed, A.H., Amer, R., and Kashmeri, R.A. (2014). Decontamination of domestic wastewater using suspended individual and mixed bacteria in batch system. *Journal of Bioremediation and Biodegradation*, 5(5). p.1.<http://dx.doi.org/10.4172/2155-6199.1000231>.
13. Faramarzi, M., Avarseji, Z., Gholamalipour Alamdari, E., and Taliei, F. (2023). Biodegradation of the trifluralin herbicide by *Pseudomonas fluorescens*. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 1-8.

14. Ganzenko, O., Huguenot, D., Van Hullebusch, E. D., Esposito, G., and Oturan, M. A. (2014). Electrochemical advanced oxidation and biological processes for wastewater treatment: a review of the combined approaches. *Environmental Science and Pollution Research*, 21, 8493-8524.
15. Geed, S. R., Kureel, M. K., Giri, B. S., Singh, R. S., and Rai, B. N. (2017). Performance evaluation of Malathion biodegradation in batch and continuous packed bed bioreactor (PBBR). *Bioresource Technology*, 227, 56-65.
16. Gianessi, L. P., and Anderson, J. E. (2005). Pesticide use in U.S. Crop Prot. Washington, D.C: National Center for Food and Agricultural Policy, Feb.
17. Gómez, R., Arce, M. I., Baldwin, D. S., and Dahm, C. N. (2017). Water physicochemistry in intermittent rivers and ephemeral streams. In *Intermittent rivers and ephemeral streams* (pp. 109-134). Academic Press.
18. Grobbelaar, J.U. (2009). Encyclopedia of Inland Waters. Encyclopedia of Inland Waters, pp.699-704.
19. Kilbane, J. J., Chatterjee, D. K., Karns, J. S., Kellogg, S. T., and Chakrabarty, A. M. (1982). Biodegradation of 2, 4, 5-trichlorophenoxyacetic acid by a pure culture of *Pseudomonas cepacia*. *Applied and environmental microbiology*, 44(1), 72-78.
20. Martínez-Huitle, C. A., Rodrigo, M. A., Sirés, I., and Scialdone, O. (2015). Single and coupled electrochemical processes and reactors for the abatement of organic water pollutants: a critical review. *Chemical reviews*, 115(24), 13362-13407.
21. Muñoz-Morales, M., Sáez, C., Cañizares, P., and Rodrigo, M. A. (2019). Enhanced electrolytic treatment for the removal of clopyralid and lindane. *Chemosphere*, 234, 132-138.
22. Naitali, F., and Ghoualem, H. (2017). Biological degradation of Loratadine.
23. Nvs, B., and Saranya, P.L. (2020). Water pollutants monitoring based on Internet of Things. In *Inorganic Pollutants in Water*. Elsevier. pp 371-397
24. Prpich, G. P., and Daugulis, A. J. (2005). Enhanced biodegradation of phenol by a microbial consortium in a solid-liquid two phase partitioning bioreactor. *Biodegradation*, 16, 329-339.
25. Randazzo, S., Scialdone, O., Brillas, E., and Sirés, I. (2011). Comparative electrochemical treatments of two chlorinated aliphatic hydrocarbons. Time course of the main reaction by-products. *Journal of hazardous materials*, 192(3), 1555-1564.
26. Rodrigo, M. A., Oturan, N., and Oturan, M. A. (2014). Electrochemically assisted remediation of pesticides in soils and water: a review. *Chemical reviews*, 114(17), 8720-8745.
27. Seefeldt, S. S., Boydston, R. A., Kaspari, P. N., Zhang, M., Carr, E., Smeenk, J., and Barnes, D. L. (2013). Aminopyralid residue impacts on potatoes and weeds. *American journal of potato research*, 90, 239-244.
28. Tabandeh, F., Roaiaie, M., Bambai, B., Molaie, M. and Ghasemi, F. (2010). Isolation and identification of the bagasse degrading microorganisms. *Iranian Biology Science*, 22: 442-451.
29. Tajik, M. A., Asgharzadeh, A., Khavazi, K., Khanahmadi, A. and Asadi Rahmani, H. (2004). A study on in vitro cellulose degradation by *Aspergillus* spp. 16th Iranian Plant Protection Congress, 294p.
30. Trick, J. K., Stuart, M., and Reeder, S. (2008). Contaminated groundwater sampling and quality control of water analyses. In *Environmental geochemistry* (pp. 29-57). Elsevier.



31. Wang, M., and Zhou, Q. (2005). Single and joint toxicity of chlorimuron-ethyl, cadmium, and copper acting on wheat *Triticum aestivum*. *Ecotoxicology and environmental safety*, 60(2), 169-175.
 32. Yang, X., Ding, X., Zhou, L., Fan, H. H., Wang, X., Ferronato, C., ... and Xiu, G. (2020). New insights into clopyralid degradation by sulfate radical: pyridine ring cleavage pathways. *Water Research*, 171, 115378.
 33. Zeinali Dizaj, S., Avarseji, Z., Mollashahi, M., Alamdari, E.G. and Taliei, F., 2023. Tribenuron-methyl herbicide bacterial decontamination via *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*. *International Journal of Environmental Science and Technology*, pp.1-10.
 34. Zhang, T., Ban, X., Wang, X., Cai, X., Li, E., Wang, Z., ... and Lu, X. (2017). Analysis of nutrient transport and ecological response in Honghu Lake, China by using a mathematical model. *Science of The Total Environment*, 575, 418-428.
- Zhuyikov, S. (2018). Semiconductor nanocrystals in environmental sensors. *Nanostructured Semiconductors*, pp.475-538





Investigating the Bioremediation of Clopyralid by Two Soil-born Fungi *Aspergillus niger* and *Trichoderma harzianum*

Farzad Piroozi¹, Ziba Avarseji^{2*}, Ebrahim Gholam Alipour Alamdari³, Fakhtak Taliee²

¹Weed science Graduated Student

²Assistant Professor, Plant Production Department, Faculty of Agriculture

³Associate Professor, Plant Production Department, Faculty of Agriculture

Corresponding author: avarseji@gonbad.ac.ir

Abstract

Clopyralid is an organochlorine and pseudo-hormone herbicide belonging to the pyridine chemical group. This experiment aimed of investigate the bioremediation potential of clopyralid by *Aspergillus niger* and *Trichoderma harzianum* fungi. Results indicated that after 25 days of inoculation, dissolved oxygen in the medium was significantly reduced by these fungi over time was significant in each dose. The amount of turbidity in all concentrations increased with increasing time after inoculation. As the clopyralid concentration increased, the total dissolved solids values were increased; So the highest amount of dissolved solids in the concentration of 0.32 was obtained from *A. niger* with the amount of 2143 mg.L-1 and in *T. harzianum* with the amount of 535 mg.L-1. Although the amount of dissolved solids in the concentration of 0.16 was higher than the control, this difference was not significant in *A. niger*. Electrical conductivity was different in various doses of clopyralid. The highest value of electrical conductivity was obtained from the concentration of 0.32 ml, which did not show a significant difference in *A. niger* with a concentration of 0.16, but in *T. harzianum*, this difference was not significant. The value of electrical conductivity in zero dose was lower than other doses.

Keywords: biodegradation, dissolved oxygen, fungi inoculation, turbidity





ترویج گیاهپزشکی

۱۴۰۲ سال پانزدهم

<http://www.ppext.ir>

تاریخ دریافت مقاله ۱۴۰۲/۷/۲۴

شناسایی فوزاریوم‌های بیماریزای همراه با ریشه درختان گیلاس و آلبالو در ایران

الهه حاجی‌محمدی^۱، کامران رهنما^۲، شیده موجرلو^۳

^۱ دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

hajimohammadielahe1@gmail.com

^۲ استاد، گروه گیاهپزشکی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

^۳ استادیار، دانشگاه صنعتی شاهرود

چکیده

از جمله عوامل مهم کاهش خسارت به محصول و زوال درختان میوه هسته‌دار، بیمارگرهای قارچی ریشه می‌باشند. این بیمارگرها با حمله به درختان میوه هسته‌دار مانند گیلاس و آلبالو (بسته به جنس و گونه بیمارگر) باعث ظهور علایمی چون زردی، ریزش برگ، زوال، سرخشکیدگی شاخه‌ها، تغییر رنگ در آوندهای چوبی و پوسیدگی ریشه در این درختان می‌شوند. در این پژوهش تعداد ۲۰ جدایه قارچی از ریشه درختان گیلاس و آلبالو در حال زوال پس از شستشو و ضدعفونی اولیه روی محیط کشت سیب‌زمینی دکستروز آگار کشت، جداسازی و مورد شناسایی و بررسی تاکسونومیکی قرار گرفتند. به منظور تکمیل شناسایی سه جدایه بر اساس توالی‌یابی ناحیه ITS1-5.8s-ITS2 از DNA ریبوزومی مورد بررسی مولکولی قرار گرفتند. در آزمون بیماری‌زایی روی شاخه‌های بریده از نظر میزان شدت بیماری براساس توسعه زخم بین قارچ‌های مختلف اختلاف معنی‌داری در سطح آماری یک درصد دیده‌شد. در این آزمون بیشترین میزان توسعه بیماری توسط *Fusarium avenaceum* ایجاد شد. اما کمترین میزان بیماری توسط *F. equiseti* ایجاد گردید. بر اساس مطالعات منابع کلیدی قارچ‌های گزارش شده از ایران؛ این پژوهش اولین گزارش از بیماری‌زایی گونه *F. equiseti* روی آلبالو در ایران است.

واژگان کلیدی: درخت گیلاس، آلبالو، توالی‌یابی مولکولی، آزمون بیماری‌زایی.



مقدمه

گیلاس با نام علمی *Prunus avium* و نام انگلیسی Sweet cherry، از خانواده گلسرخیان جزو گیاهان گلدار و نهاندانه می‌باشد (۱۰). آلبالو با نام علمی *P. cerasus* همراه با گیلاس بومی نواحی بین دریای خزر و دریای سیاه می‌باشند. به احتمال زیاد بذر آن‌ها در زمان‌های قدیم، توسط پرندگان به نقاط مختلف اروپا - آسیا برده شده‌است. این دو درخت در مناطقی که به دلیل سرما برای زردآلو و هلو نامناسب است، به خوبی رشد می‌کنند و در مناطقی که تابستان‌های خشک و خنک دارند بهتر رشد می‌کنند. در ایران حدود ۵۰ رقم گیلاس شناخته شده‌است که مهمترین ارقام بومی، گیلاس‌های سیاه مشهد، صورتی لواسانات، سیاه شبستر و زرد دانشکده کرج می‌باشند. کشت رقم‌های خارجی بینگ و پروتیوا در ایران نیز رواج دارند (۴). زوال این درختان از اوایل قرن بیستم از زیستگاه‌های طبیعی کشورهای مختلف گزارش شده‌است و عوامل گوناگونی مانند عوامل قارچی، باکتریایی، ویروسی، حشرات، نماتدها و عوامل غیرزنده مانند پایه‌های کم کیفیت کاشته‌شده، کاهش مواد غذایی و فعالیت‌های ضعیف کشاورزی باعث زوال می‌شوند (۱۵، ۲۵).

از ۱۰۱ گونه گیاهی معرفی شده توسط انجمن بیماری‌شناسی آمریکا، حداقل ۸۱ گیاه میزبان یک گونه از شبه جنس فوزاریوم به عنوان عامل بیماری‌زا بوده‌است (۱۹). دامنه میزبانی وسیع، قدرت بیماری‌زایی زیاد در شرایط مساعد و پایداری بسیار زیاد آن در برابر شرایط نامساعد محیطی موجب گردیده که این بیمارگر در بسیاری از محصولات کشاورزی ایجاد بیماری کند (۹). در دهه ۱۹۸۰ برای اولین بار در یونان گونه قارچی *Phytophthora parasitica* به عنوان عامل زوال و خشکیدگی تعداد زیادی از درختان گیلاس شناسایی شد (۲۳). سجادی‌نژاد و همکاران (۷)، با مشاهده خشکیدگی‌های درختان گیلاس در استان تهران اقدام به نمونه‌برداری و بررسی آزمایشگاهی کردند که سه گونه‌ی *P. drechsleri*، *P. cactorum*، *P. cryptogea* را به عنوان عوامل پوسیدگی طوقه و ریشه پایه‌های گیلاس برای اولین بار از ایران و استان تهران گزارش کردند. طبق تحقیقات رضوی و همکاران (۶)، علل زوال درختان گیلاس در منطقه لاریجان امل قارچ‌های *Armillaria mellea*، *Rosellinia necatrix* و *Fusarium lateritium* می‌باشد. طبق پژوهش دیزجی و همکاران (۵)، بیماری پوسیدگی ریشه و طوقه بادام با عامل *A. mellea* یکی از بیماری‌های مهم استان‌های آذربایجان شرقی و چهارمحال و بختیاری می‌باشد اما در سمنان و یزد مشاهده نشده‌است. این بیماری بیشتر در باغ‌های رهاشده و باغ‌هایی که مدیریت صحیح نشده یا گهگاهی آبیاری شده اند دیده می‌شود. قارچ عسلی در استان اصفهان و خراسان رضوی روی گیلاس، آلبالو گزارش شده‌است (۲). در منطقه بسطام - شاهرود درختان میوه هسته‌دار از اهمیت ویژه‌ای برخوردار



هستند و سطح زیر کشت نسبتاً وسیعی را به خود اختصاص می‌دهند؛ بنابراین هدف از این پژوهش، شناسایی ریخت-شناسی و مولکولی عوامل پوسیدگی درختان گیلان و آلبالو در این منطقه می‌باشد.

مواد و روش

نمونه‌برداری و جداسازی

طی ماه‌های اسفند تا شهریور ماه سال‌های ۱۴۰۱-۱۴۰۰ از باغ‌های درختان میوه هسته‌دار منطقه بسطام-شاهرود بازدید و از قسمت‌های ریشه درختان گیلان و آلبالو رو به زوال نمونه‌برداری انجام شد. برای جداسازی بیمارگر، ۳-۴ سانتی‌متر بالا و پایین قسمت‌های بیمار را قطع کرده و قسمت میانی را پس از ضد عفونی سطحی به مدت یک دقیقه با محلول هیپوکلریت سدیم رقیق شده (یک درصد ماده فعال) به مدت ۴۵ ثانیه، با اتانول ۷۰ درصد ضد عفونی شده و سه بار با آب مقطر سترون شستشو شدند (۲۲). رطوبت آنها توسط کاغذ صافی سترون گرفته شده و توسط پنس استریل، تکه‌های ریزی در حد چند میلی‌متر برداشته و روی محیط کشت سیب‌زمینی دکستروز آگار، انتقال داده شدند. سپس تشتک‌های پتری به مدت ۵-۷ روز درون انکوباتور با دمای مناسب ± 25 درجه سلسیوس منتقل شدند (۲۱). برای نگهداری جدایه‌های خالص شده، محیط کشت PDA به صورت اسلانت استفاده شد (۱۷). خالص‌سازی به روش تک‌اسپور کردن انجام شد.

آزمون بیماری‌زایی

در آزمون بیماری‌زایی جدایه‌های قارچی از روش مایه‌زنی شاخه‌های بریده (Detached shoots) استفاده شد (۱۶). در این روش از شاخه‌های سالم یک‌ساله درختان میوه هسته‌دار به طول ۲۵-۲۰ سانتی‌متر و قطر حدود یک سانتی‌متر استفاده گردید. به این صورت که پس از حذف شاخه‌های فرعی و برگ‌های اضافی، ضد عفونی سطحی با اتانول ۹۶ درصد انجام شد و سپس شاخه‌ها روی کاغذ صافی استریل پهن کرده تا کاملاً خشک شدند و شکاف‌هایی به صورت اریب، با طول تقریبی سه سانتی‌متر توسط اسکالپل در پوست آنها ایجاد گردید. قرصی از حاشیه پرگنه‌ی در حال رشد قارچ به قطر ۸ میلی‌متر در زیر پوست قرار داده شد و پس از برگرداندن پوست روی آن توسط پارافیلیم پوشانده شد. شاخه‌های مایه‌زنی شده به صورت جداگانه درون ظروف پلاستیکی که شبیه به دسیکاتور طراحی و حاوی آب مقطر سترون و در دمای ۲۵ درجه سلسیوس در داخل انکوباتور قرار گرفت. جهت جلوگیری از تبخیر، انتهای شاخه‌ها با استفاده از پارافیلیم پوشانده شدند. در مورد شاهد از قطعات محیط کشت بدون قارچ استفاده گردید (۲۶). برای هر جدایه



قارچی از ۳ شاخه بریده استفاده گردید. وضعیت میزان پیشرفت بافت نکروزه در ناحیه پوست و چوب بررسی شد و بافت آلوده اندازه‌گیری گردید (۱۴، ۲۰). برای رعایت اصول کخ‌قطعانی از بافت که دارای علایم بیماری بودند جداسازی و بعد از ضدعفونی سطحی روی محیط کشت PDA قرار گرفت (۱۱).

شناسایی ریخت‌شناختی

جدایه‌ها با بررسی خصوصیات پرگنه (شکل و رنگ) و ویژگی‌های مورفولوژیک از جمله فیالیدها، ماکروکنیدی‌ها، میکروکنیدی‌ها و کلامیدوسپورها و استفاده از کلیدهای شناسایی مورد شناسایی جنس و گونه قرار گرفتند (۸، ۱۲). برای توصیف پرگنه و بررسی ویژگی‌های میکروسکوپی از میکروسکوپ نوری Olympus مدل BX 51 استفاده شد و به منظور بررسی خصوصیات مورفومتریکی از لامل مدرج و نرم افزار Mosaic2.2.1 استفاده شد.

شناسایی مولکولی

استخراج DNA ژنومی به روش CTAB انجام شد. برای این منظور، دیسک‌هایی از پرگنه‌های رشد کرده قارچ روی محیط PDA در محیط کشت مایع PDB کشت داده شد. بطری‌های حاوی محیط کشت مایع به شیکر (باسرعت ۱۲۰ دور در دقیقه) انتقال یافت و بعد از حدود یک هفته، میسلیم‌های قارچ به دست آمد. پس از آب‌گیری، میسلیم‌ها در هاون استریل پودر شده و ۶۰۰ میکرولیتر بافر CTAB به ویال‌های حاوی پودر میسلیم اضافه و کاملاً مخلوط شد. سپس به هر کدام از ویال‌ها ۲ میکرولیتر مرکاپتواتانول اضافه و سپس به بن‌ماری ۶۵ درجه سلسیوس منتقل شدند. پس از گذشت ۴۵ دقیقه، به منظور پروتئین‌زدایی، به هر ویال ۶۰۰ میکرولیتر مخلوط کلروفرم-ایزوامیل الکل به نسبت ۱:۲:۴ اضافه شده و به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۲۰۰۰ دور سانتیفریوژ گردید. پس از سانتیفریوژ سه فاز تشکیل شد فاز زیرین کلروفرم و فاز رویی محتوی DNA بود بین این دو فاز مایع، لایه‌ای متشکل از بقایای دیواره سلولی قرار گرفت. فاز رویی با دقت به ویال‌های جدید منتقل شد و هم‌حجم آن ایزوپروپانول خنک به محتویات ویال اضافه شده و بعد از ده بار وارونه کردن ویال‌ها، آنها را به مدت نیم‌ساعت در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری گردید. پس از این مدت تیوب‌ها، به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۳۰۰۰ دور سانتیفریوژ شده و در نهایت پس از رسوب DNA فاز مایع تخلیه و رسوب حاصله با اتانول ۷۰ درصد شستشو شد. بعد از خشک‌شدن رسوب DNA به هر ویال ۷۰ میکرولیتر آب مقطر تزریقی اضافه گردیده و پس از ۳۰ دقیقه نگهداری در یخچال به فریزر ۲۰- درجه سلسیوس انتقال یافت. کیفیت DNA به دست آمده با الکتروفورز روی ژل آگاروز ۰/۱ تعیین گردید. برای تکثیر در PCR از پرایمرهای ITS1 و ITS2 استفاده شد. به



میزان ۲ میکرولیتر پرایمر، ۲ میکرولیتر DNA ژنومی، ۱۲/۵ میکرولیتر مسترمیکس و ۸/۵ میکرولیتر آب دوبار تقطیر استفاده گردید. سپس برای توالی‌یابی به روش سانگر به شرکت زیست فناوری پیشگام ارسال گردید. توالی ژنوم بدست‌آمده از طریق نرم‌افزار بلاست در NCBI مورد بررسی قرار گرفت و شباهت آنها با سایر توالی موجود در بانک جهانی تعیین‌شد. ترسیم تبارنما با استفاده از نرم‌افزار MEGA 11 انجام‌شد (۱۸).

نتایج

در این تحقیق، ۲۰ جدایه قارچ از ریشه‌ی درختان گیلاس و آلبالو منطقه بسطام- شاهرود جمع‌آوری گردید که پس از انجام آزمون بیماری‌زایی ۶ جدایه فوزاریوم بیماری‌زا تشخیص داده‌شدند که در ادامه توصیف خصوصیات ریخت‌شناختی آنها آمده‌است.

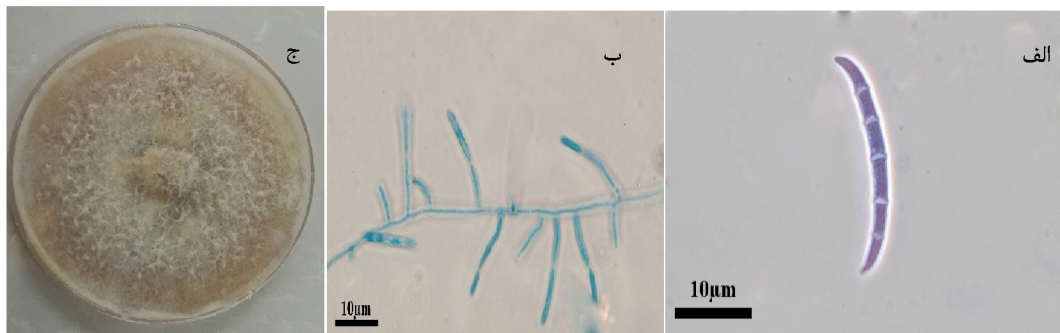
جدول ۱- لیست جدایه‌هایی که از ریشه درختان گیلاس و آلبالو در منطقه بسطام- شاهرود بدست آمد.

شماره جدایه	تاریخ نمونه‌برداری	میزبان	وضعیت بیماری‌زایی	گونه‌قارچی
2a	۱۴۰۰/۱۲/۱۵	گیلاس	-	<i>Mucor</i> spp.
2b	۱۴۰۰/۱۲/۱۵	گیلاس	-	<i>Mucor</i> spp.
2c	۱۴۰۰/۱۲/۱۵	گیلاس	+	<i>Fusarium solani</i>
2d	۱۴۰۰/۱۲/۱۵	گیلاس	-	<i>Fusarium</i> spp.
2e	۱۴۰۰/۱۲/۱۵	گیلاس	-	<i>Fusarium</i> spp.
2f	۱۴۰۰/۱۲/۱۵	گیلاس	-	<i>Mucor</i> spp.
2g	۱۴۰۰/۱۲/۱۵	گیلاس	-	<i>Mucor</i> spp.
4a	۱۴۰۰/۱۲/۱۵	آلبالو	-	<i>Fusarium</i> spp.
4b	۱۴۰۰/۱۲/۱۵	آلبالو	-	<i>Fusarium</i> spp.
4c	۱۴۰۰/۱۲/۱۵	آلبالو	+	<i>Fusarium avenaceum</i>
10b	۱۴۰۱/۳/۱۵	آلبالو	-	<i>Trichoderma</i> spp.
10c	۱۴۰۱/۳/۱۵	آلبالو	-	<i>Trichoderma</i> spp.
10e	۱۴۰۱/۳/۱۵	آلبالو	+	<i>Fusarium equiseti</i>
10f	۱۴۰۱/۳/۱۵	آلبالو	-	<i>Fusarium</i> spp.
12a	۱۴۰۱/۳/۱۵	آلبالو	+	<i>Fusarium acuminatum</i>
12b	۱۴۰۱/۳/۱۵	آلبالو	-	Fungus with arthrospores
12c	۱۴۰۱/۳/۱۵	آلبالو	-	Fungus with arthrospores
12d	۱۴۰۱/۳/۱۵	آلبالو	+	<i>Fusarium</i> spp.
12e	۱۴۰۱/۳/۱۵	آلبالو	+	<i>Fusarium oxysporum</i>
12baiting	۱۴۰۱/۳/۱۵	آلبالو	-	<i>Pythium</i> spp.

Fusarium oxysporum: Schldl., Fl. Berol. 2: 139. 1824.



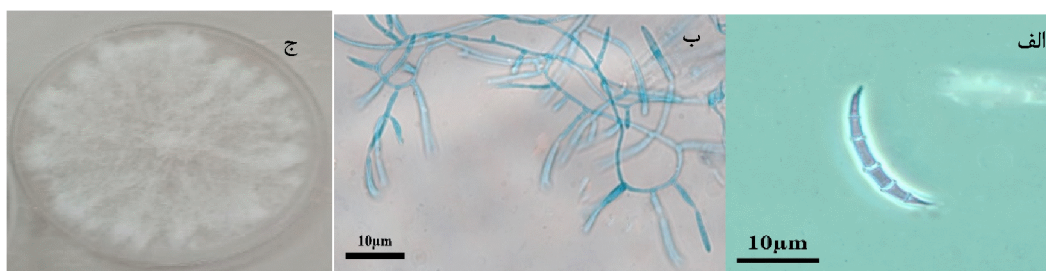
قطر پرگنه‌ی قارچ بعد از ۳ روز روی محیط سیب‌زمینی- دکستروز- آگار در دمای 1 ± 25 درجه سلسیوس، $3/25$ سانتی‌متر بود. دارای میسلیم‌های پنبه‌ای و پراکنده و متراکم سفیدرنگ که در بعضی جدایه‌ها تولید رنگدانه‌های نارنجی می‌کرد (شکل ۱- الف). ماکروکنیدی‌ها قایقی‌شکل بوده و در دو طرف به یک نقطه منتهی می‌شدند و روی فیالیدهای منفرد و یا کنیدیوفورهای منشعب در اسپورودوشیوم تولید شدند. همچنین دارای ۳ یا ۵ دیواره‌عرضی به ابعاد (۲/۱۵-۲/۹۵) \times ۲/۵۹ (۴۷/۳۲- ۱۶/۹۸) \times ۲۹/۴۴ میکرومتر بودند (شکل ۱- ج). میکروکنیدی‌ها معمولاً تک‌سلولی، تخم‌مرغی، بیضوی و یا قلوه‌ای‌شکل بوده که به ابعاد (۳/۹۰-۱/۹۵) \times ۳/۰۰۲ (۱۶/۷۰-۱۱/۶۸) \times ۱۳/۷۴ میکرومتر روی فیالیدهای منفرد کوتاه تشکیل شدند (شکل ۱- ب). همچنین کلامیدوسپورهای تک سلولی انتهایی و برخی دو سلولی روی محیط CLA تشکیل شدند.



شکل ۱- الف. سطح رویی پرگنه قارچ *Fusarium oxysporum* روی محیط PDA پس از ۷ روز؛ ب. میکروکنیدی در شرایط طبیعی روی CLA؛ ج. ماکروکنیدی.

***Fusarium acuminatum*: Ellis & Everh., Proc. Acad. Nat. Sci. Philadelphia 47: 441. 1895.**

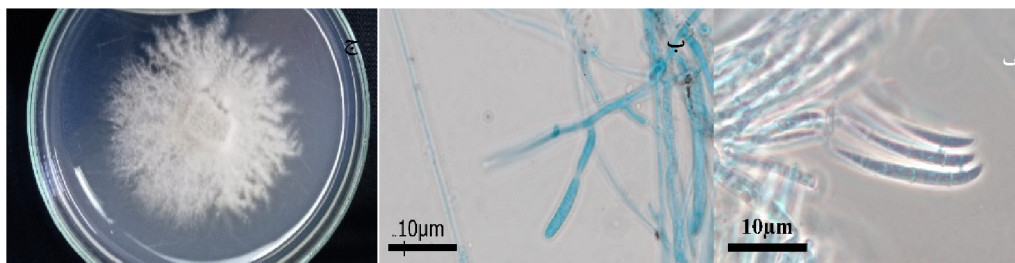
قطر پرگنه‌ی قارچ بعد از ۳ روز روی محیط سیب‌زمینی- دکستروز- آگار در دمای 1 ± 25 درجه سلسیوس، $3/5$ سانتی‌متر بود. سطحی رویی و زیرین پرگنه روی محیط CLA میخک- آگار سفیدرنگ بود (شکل ۲- الف). ماکروکنیدی‌ها با ۵ دیواره‌عرضی ضخیم به ابعاد (۳/۸۱-۲/۷۹) \times ۳/۴۰ (۳۷/۸۰-۲۶/۳۷) \times ۳۲/۰۳ میکرومتر تشکیل شد که خمیدگی آن در دیواره پشتی بیشتر بود. سلول انتهایی کشیده و سلول پایه به شکل پاشنه پا بود (شکل ۲- ب و ج). تولید کلامیدوسپورهای زنجیری یا خوشه‌ای مشاهده شد. میکروکنیدی در این گونه تشکیل نشد.



شکل ۲- الف. سطح رویی پرگنه قارچ *Fusarium acuminatum* روی محیط PDA پس از ۷ روز؛ ب. میکروکنیدی در شرایط طبیعی روی CLA؛ ج. میکروکنیدی در

***Fusarium avenaceum*: (Fr.) Sacc., Syll. Fung. 4: 713. 1886**

قطر پرگنه‌ی قارچ بعد از ۳ روز روی محیط سیب‌زمینی- دکستروز- آگار در دمای 25 ± 1 درجه سلسیوس، ۴/۲ سانتیمتر بود. سطح رویی پرگنه میسلیموم پنبه‌ای سفیدرنگ با رشد خورشیدی و پشت پرگنه ابتدا دارای رنگدانه‌های زردرنگ و به تدریج قهوه‌ای تیره بود (شکل ۳- الف). میکروکنیدی‌های داسی‌شکل و دیواره پستی و شکمی آنها در وسط به صورت موازی بوده و مجموعاً سوزنی‌شکل به نظر می‌رسید. میکروکنیدی‌ها روی فیالیدهای منفرد و بر روی کنیدیوفورهای منشعب در اسپورودوکیوم‌ها تشکیل می‌شوند که دارای ۳ یا ۴ دیواره عرضی و ابعاد آن به طور میانگین $(5/01-2/34) \times 3/86$ ($23/82-25/26$) $\times 31/73$ میکرومتر می‌باشد (شکل ۳- ب). میکروکنیدی‌های تخم‌مرغی‌شکل با ابعاد $(3/06-5/78) \times 3/67$ ($9/17-14/37$) $\times 1/46$ میکرومتر در محیط CLA تشکیل شدند (شکل ۳- ج). کلامیدوسپور در این گونه وجود ندارد. همچنین نتایج بررسی مولکولی نشان داد که جدایه 8a به این گونه تعلق دارد و با ترسیم درخت ژنی جدایه مورد نظر با گونه *F. avenaceum* در یک کلااد قرار گرفتند (شکل ۶).



شکل ۳- الف. سطح رویی پرگنه قارچ *Fusarium avenaceum* روی محیط PDA پس از ۷ روز؛ ب و ج. میکروکنیدی در شرایط طبیعی روی CLA.

***Neocosmospora cucurbitae*: Sand.Den. et al., Persoonia 43:125. 2019.**

Synonyms: *Fusarium solani* f. *cucurbitae* W.C. Snyder & H.N. Hansen, Amer. J. Bot. 28: 740. 1941.

قطر پرگنه‌ی قارچ بعد از ۳ روز روی محیط سیب‌زمینی- دکستروز- آگار در دمای 25 ± 1 درجه سلسیوس، $3/38$ سانتی متر بود. میسلیم‌های سفید تا کرم‌رنگ و به صورت پراکنده و پنبه‌ای تولید کرد (شکل ۴- الف). ماکروکنیدی‌های عموماً سوسیسی‌شکل بوده و قطر پهنای آنها زیاد بود که با ۳ یا ۴ دیواره‌عرضی به ابعاد $(4/30 - 4/69) \times (26/38 - 37/61)$ میکرومتر $32/11$ میکرومتر روی محیط کشت CLA تشکیل شدند (شکل ۴- ب). ماکروکنیدی‌ها از فیالیدهای منفرد کنیدیوفورهای منشعب روی اسپورودوکیم تشکیل شدند (شکل ۴- ج). میکروکنیدی‌های یک یا دوسلولی، تخم‌مرغی و بیضوی یا قلوهای شکل بوده و به ابعاد $(3/43 - 3/74)$ $3/29$ $(9/46 - 16/45)$ $13/36$ میکرومتر روی فیالیدهای منفرد مشاهده شدند. این گونه مرکب در سالهای اخیر به چند جنس تفکیک و پیشنهاد شده است. کلامیدوسپورهای یک یا دوسلولی انتهایی به ابعاد $(6/32 - 10/62)$ $8/74$ میکرومتر تشکیل شدند. همچنین نتایج بررسی مولکولی نشان داد که جدایه 2c به این گونه تعلق دارد و با ترسیم درخت ژنی جدایه مورد نظر با گونه *Fusarium solani* در یک کلاذ قرار گرفتند (شکل ۶).



شکل ۴- الف. سطح رویی پرگنه قارچ *Fusarium solani* روی محیط PDA پس از ۷ روز؛ ب. ماکروکنیدی؛ ج. اسپورودوکیم.

***Fusarium equiseti*: (Corda) Sacc., Syll. Fung. 4: 707. 1886.**

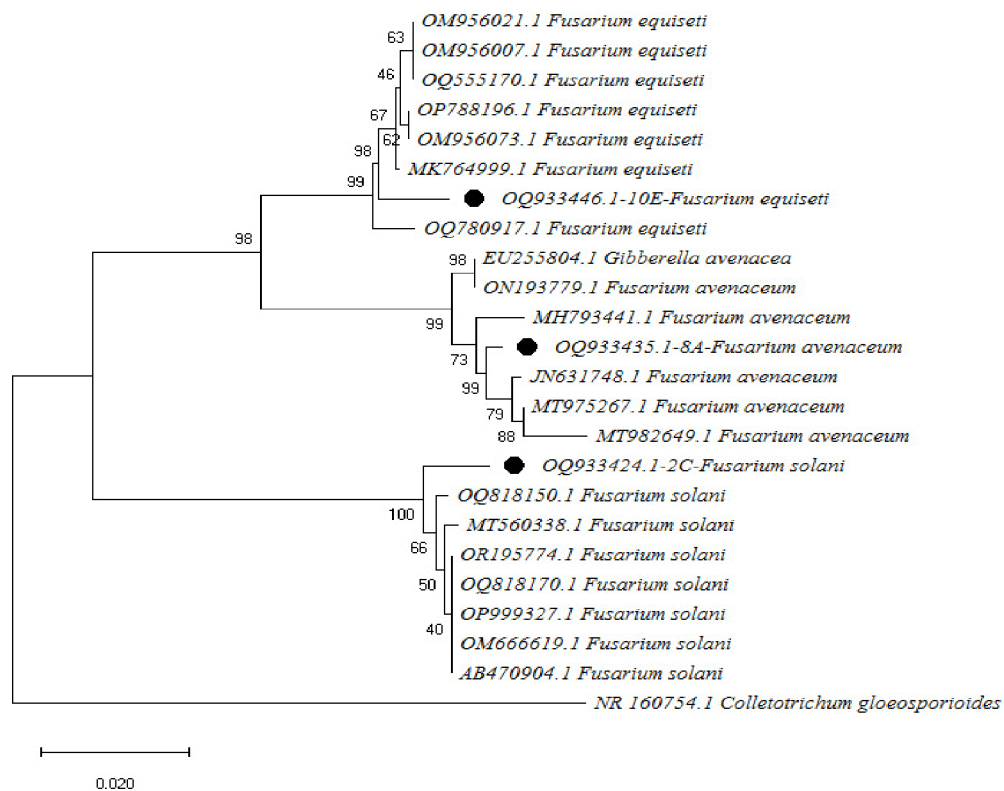
قطر پرگنه‌ی قارچ بعد از ۳ روز روی محیط سیب‌زمینی- دکستروز- آگار در دمای ۲۵ درجه سلسیوس، $3/3$ سانتیمتر بود. این گونه میسلیم‌های متراکم و یکنواخت به رنگ سفید تا قهوه‌ای روشن تولید کرد. رنگ کلنی در پشت پتری به صورت قهوه‌ای روشن بود (شکل ۵- الف) ماکروکنیدی‌ها دارای انحناى شدید و دارای ۵ تا ۷ دیواره عرضی به ابعاد $(4/85 - 4/150)$ $3/43$ $(28/64 - 44/28)$ $37/19$ روی محیط SNA می‌باشد. سلول انتهایی کشیده‌است و به نقطه‌ای ختم می‌شود و سلول پایه به شکل پاشنه پا مشاهده می‌گردد (شکل ۱- ب). میکروکنیدی در این گونه تشکیل نگردید ولی کلامیدوسپورهای زنجیری یا خوشه‌ای به ابعاد $16/46 \times 10/50$ میکرومتر تولید می‌کند (شکل ۵- ج). همچنین نتایج بررسی مولکولی نشان داد که جدایه 10c به این گونه تعلق دارد و با ترسیم درخت ژنی جدایه مورد نظر با گونه

Fusarium equiseti در یک کلاذ قرار گرفتند (شکل ۶). بر اساس مطالعات ریخت‌شناختی و توالی‌یابی ناحیه ITS1-ITS2 از 5.8s- DNA ریبوزومی، منابع کلیدی (۱) و تحقیقاتی که تا کنون گزارش شده؛ این پژوهش اولین گزارش از بیماریزایی گونه *F. equiseti* روی آلبالو در ایران است.



شکل ۵- الف. سطح رویی پرگنه قارچ *Fusarium equiseti* روی محیط کشت PDA پس از ۷ روز؛ ب. ماکروکنیدی؛ ج. کلامیدوسپور.

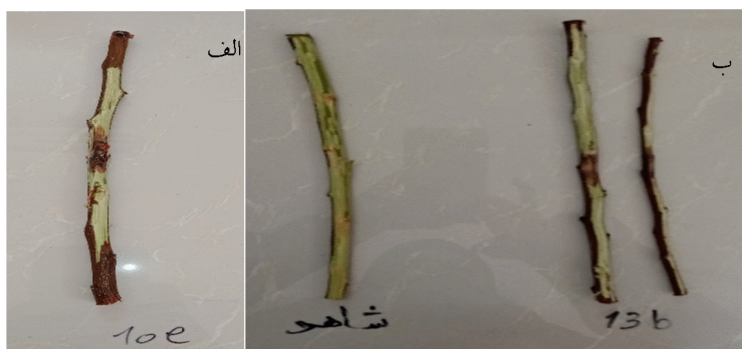
مشخصات ریخت‌شناسی همه جدایه‌ها با توصیف‌های ذکر شده توسط کلیدهای شناسایی (۸، ۱۲، ۱۹) تطبیق گردید.



شکل ۶. درخت ژنی گونه‌های *F. Solani*, *F. avenaceum*, *F. equiseti* حاصل از ناحیه ژنی ITS با استفاده از نرم‌افزار Mega11. گونه *Colletotrichum gloeosporioides* به عنوان آرایه خارجی در نظر گرفته شده است.

در برخی از باغ‌ها به دلیل جوان بودن درختان و مراقبت و رسیدگی مداوم، استفاده از اصول صحیح تغذیه و آبیاری و رعایت اصول باغبانی در کاشت نهال‌ها و تقویت درختان، شیوع عارضه زوال کمتر مشهود بود. در حالیکه نسبت به باغ‌هایی که غیراصولی و یا به صورت سنتی از جمله عمیق کاشته شدن درختان و قرار گرفتن طوقه و یا محل پیوندک در زیر خاک بیشتر درختان منجر به آسیب دیدگی توسط عوامل مختلفی از سوی خاک آلوده به قارچ‌ها شده‌اند. علاوه بر این گونه‌های فوزاریوم در ریشه و ساقه اکثر گیاهان به صورت ساپروفیت و یا بیمارگر ضعیف حضور دارند که قادر به بیماری‌زایی گیاهانی هستند که قبلاً توسط برخی عوامل استرس‌زا از قبیل خشکسالی، باد و حشرات ضعیف شده و بر میزان و بروز بیماری‌زایی تاثیر می‌گذارند (۱۳). توماس و همکاران (۲۴) بیان کردند که شناسایی فوزاریوم در سطح گونه با روش‌های فنوتیپی مشکل است و استفاده از روش‌های توالی‌یابی مولکولی ضروری به نظر می‌رسد. علایم بیماری در این منطقه بیشتر به صورت سرخشکیدگی و ضعف عمومی، زوال و زردشدن و خشکیدگی به مرور زمان و تنک و کوچک‌شدن میوه مشاهده گردید.

در این تحقیق برای آزمون بیماری‌زایی از روش مایه‌زنی روی شاخه‌های بریده استفاده گردید. در آزمون بیماری‌زایی روی شاخه‌های بریده از نظر میزان توسعه بیماری، بین تیمارهای مختلف اختلاف معنی داری در سطح آماری یک درصد دیده شد (جدول ۱ و ۲). در این آزمون بیشترین میزان توسعه بیماری توسط *F. avenaceum* ایجاد شد و در مرتبه بعدی *Fusarium compactum* و *F. oxysporum* قرار گرفت همچنین کمترین میزان بیماری توسط *F. equiseti* ایجاد گردید.



شکل ۶- علایم بیماری حاصل از مایه‌زنی قارچ *Fusarium equiseti* روی شاخه‌های بریده؛ الف. وجود لکه تیره (از سمت راست شاخه زردآلو و زردآلو) در مقایسه با شاهد فاقد قارچ (سمت چپ)؛ ب. وجود لکه تیره روی شاخه‌ی زردآلو.

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر جدایه‌های قارچی بیماریزا بر اندازه زخم بیماری

<i>p</i>	<i>F.value</i>	میانگین مربعات	مجموع مربعات	درجه آزادی	منبع تغییرات
۰٫۰۰۰۰۰۰	۱۹۲/۱۹	۵۷/۱۹۱**	۱۲۵۸/۲۲	۲۲	تیمار
		۰/۲۹۶	۱۲/۶۱۷	۴۶	خطا
			۱۲۷۱/۸۲۹	۶۸	کل

جدول ۲- مقایسه میانگین اندازه زخم تحت تاثیر جدایه های

تیمار	اندازه زخم	تیمار	اندازه زخم
شاهد	۱/۵۲۱	9d	۱۲/۵ c
7b	۵/۰۲ fg	10 e	۲/۴۲ jk
8b	۲/۵۶ ijk	3 d	۴/۷۲ fgh
2c	۸/۷۲ d	8 e	۴/۴۲ ghi
3c	۵/۴ f	15 d	۱۴/۲۲ b
8a	۲/۶۶ ijk	14 d	۴/۴۲ ghi
9c	۲/۹ hij	12 d	۵ fg
4c	۱۶/۵ a	14 c	۴/۱ hij
12a	۶/۶۳ e	13 c	۲/۴ jk
7a	۴/۲۶ ghi	13 b	۲/۹۳ k
1e	۱۵ b	15ph	۲/۷ f
12e	۱۲/۵۲ c		

مراجع

۱. ارشاد، جعفر. ۱۴۰۱. قارچ‌ها و شبه‌قارچ‌های ایران. چاپ اول. موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور.
۲. جعفر. ۱۴۰۱. قارچ‌ها و شبه‌قارچ‌های ایران. چاپ اول. موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور.
۳. افضل‌ی، ح.، اسکندری، م.، و بیات، د. ۱۳۹۰. "قارچ عسلی خطری جدی برای باغات انار استان خراسان رضوی". همایش ملی انار. ۹۲۳.
۴. بختیاری، م. ح.، خبازجلفایی، ح.، و زارع، ر. ۱۳۹۲. بررسی عوامل قارچی بیماری‌زای طوقه و ریشه درختان میوه هسته‌دار در استان‌های همدان و تهران. اولین همایش ملی توسعه پایدار کشاورزی با کاربرد الگوی زراعی، ۲۴ بهمن، همدان، صفحات ۲۳-۱.
۵. خوشخوی، م. ۱۳۹۱. اصول نوین باغبانی. انتشارات دانشگاه شیراز. شیراز، ۵۹۶ صفحه.
۶. دیزجی، ا.، ذاکر، م.، اسمعیل زاده حسینی، س. ع.، حیدریان، ا.، و ارشاد، ج. ۱۳۸۵. "عوامل قارچی همراه ریشه و طوقه درختان بادام رو به زوال در استان‌های آذربایجان شرقی، سمنان، یزد و چهارمحال و بختیاری"، پژوهش کشاورزی آب، خاک و گیاه در کشاورزی، جلد ۶، شماره ۱، صفحه ۱-۱۴.
۷. رضوی، س. م.، رهنما، ک.، محمود زاده عمرانی، ر.، و مقصدلو، ع. ن. ۱۳۸۱. "مطالعه علل زوال درختان گیلاس در منطقه لاریجان آمل"، مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی، دوره ۹، شماره ۱، صفحه ۱۴-۳.
۸. سجادی نژاد، س. م.، ارشاد، ج.، میرابوالفتحی، م.، و زمانی زاده، ح. ر.، ۱۳۸۹. "شناسایی گونه‌های *Phytophthora* عامل پوسیدگی طوقه و ریشه درختان گیلاس استان تهران"، فصلنامه بیماریهای گیاهی، جلد ۴۶، شماره ۱، صفحه ۸۸.
۹. صارمی، ح. ۱۳۴۸. "فوزاریوم بیولوژی اکولوژی و تاکسونومی". چاپ اول. مشهد: انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد.
۱۰. صفی‌خانی، ن.، مرید، ب.، زمانی‌زاده، ح.، و حاج‌منصور، ش. ۱۳۹۷. "شناسایی ارقام مقاوم بادنجان نسبت به بیماری پژمردگی فوزاریومی با عامل فوزاریوم آکسیسپوروم فرم اختصاصی ملونجینی با استفاده از نشانگرهای مولکولی در ایران". مجله دنیای میکروب‌ها، سال یازدهم، شماره چهارم، صفحات ۴۰۳-۳۹۲.
۱۱. عبدالهی‌اقدام، ش.، بردی‌فتوحی‌فر، خ. ۱۳۹۶. "شناسایی برخی قارچ‌های درون‌رست درختان گیلاس (*Prunus avium*) در ایران". دوره ۴۸، شماره ۱، ص ۵۷-۴۳.



۱۲. عزیززی، ز.، امینی، ج.، شیخ‌الاسلامی، م.، و عباسی، س. ۱۳۹۲. "بررسی بیماری‌زایی جدایه‌هایی از *Phytophthora* و *Pythium* روی شاخه‌های بریده و دانه‌های بادام". بیماری‌های گیاهی، جلد ۴۹، شماره ۱، صفحه ۳۳-۳۹.

۱۳. لزلی، جان. اف.، سامرل، برت. ۲۰۰۶. "راهنمای آزمایشگاهی فوزاریوم" (ارزنلو، م.، بخشی، م.، و نرمانی، ا. مترجمین). انتشارات عصر زندگی (۱۳۹۵).

14. Chehri, K. Salleh, B. Yli-Mattila, T. Reddy, K.R.N. Abbasi, S. (2011). "Molecular characterization of pathogenic Fusarium species in cucurbit plants from Kermanshah province, Iran ". Saudi Journal of Biological Sciences 18, 341-351.
15. Conn, K. K., Gubler, W. D., Mircetich, S. M. and Hasey, J. K. 1991. "Pathogenicity and relative virulence of nine Phytophthora from kiwi fruit". Phytopathology 81: 974-979.
16. Diogo, E. L., Santos, J. M., and Philips, A. J., 2010. "Phylogeny, morphology and pathogenicity of Diaporthe and Phomopsis species on almond in Portugal". Fungal Diversity 44, 107-115.
17. Dyk, M., Spies, C., Mostert, L., Van der Rjst, M., Plessis, I., Moyo, P. Van Jaarsveld, W., and Halleen, F. 2021. Pathogenicity testing of fungal isolates associated with olive trunk diseases in South Africa. Plant Disease. 105:4060-4073.
18. Fradkin, A., and Patrick, Z. A. 1985. "Properties of bacteria isolated from surfaces of conidia of *Cochliobolus sativus* incubated in soil". Canadian Journal of Microbiology. <https://doi.org/10.1139/m85-077>.
19. Guerra, v., Beule, L., Lehtsaar, E., Liao, H. L., & Karlovsky, P. (2020). "Improved protocol for DNA extraction from subsoils using phosphate lysis buffer". Microorganisms, 8(4), 532.
20. Trouillas, F., Lorber, J., Peduto, F., Grant, J., Coates, W., Anderson, K., Caprile, J., Gubler, W. 2010. "First report of *Calosphaeria pulchella* associated with branch dieback of sweet cherry trees in California". Plant Disease 94, 1167-7.
21. Leslie, J. F., and Summerella, B. A. 2006. "The Fusarium Laboratory Manual": Blackwell Publishing.
22. Mircetich, S. M. and Matheron, M. E. 1976. "Phytophthora root rot and crown of cherry trees". Phytopathology 66: 548-558.
23. Nelson, P. E., Toussoun, T. A., and Marasas, W. 1983. Fusarium species: an Illustrated Manual for Identification.
24. Nourollahi, K., Aliaran, A., and Yonessi, H. 2016. "Genetic diversity of *F. oxysporum* f.sp. *ciceris* isolates causal agent of wilt chickpea in essential for root penetration and pathogenesis". Molecular Microbiology, 39: 1140-1142.
25. Rumbos, I. 1986. "*Phialophora parasitica*, causal agent of cherry dieback". Journal of phytopathology 117, 283-287.
26. Thomas, B., Audouneau, N. C., Marie, M., Debourgogne, A. (2019). "Molecular identification of Fusarium species complexes: Which gene and which database to choose in clinical practice?". Journal de Mycologie Me' dicale. 29 56-58.

27. Trouillas, F., Lorber, J., Peduto, F., Grant, J., Coates, W., Anderson, K., Caprile, J., Gubler, W. 2010. "First report of *Calosphaeria pulchella* associated with branch dieback of sweet cherry trees in California". *Plant Disease* 94, 1167-7.
28. Wilcox, W. F., and Mircetich, S. M. 1985. "Pathogenicity and relative virulence of seven *Phytophthora* spp". On Mahaleb and Mazzard cherry. *Phytopathology* 75: 221-226.





Identification of *Fusarium* pathogens associated with the roots of cherry and sour cherry trees in Iran

Elaha Haji-Mohammadi 1, Kamran Rahnama 2, Shideh Mojerlou 3

1 Master's student, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources
hajimohammadielahe1@gmail.com

2 Professor, Department of Herbal Medicine, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

3 Assistant Professor, Shahrood University of Technology

Abstract

Among the important factors in reducing damage to the crop and deterioration of stone fruit trees are root fungal pathogens. By attacking stone fruit trees such as cherry and sour cherry (depending on the genus and species of the pathogen), these pathogens cause the appearance of symptoms such as yellowness, leaf fall, decay, branch rot, discoloration of the wood vessels, and root rot in these trees. In this research, 20 fungal isolates from the roots of decaying cherry and sour cherry trees after initial washing and disinfection were cultured, isolated, and taxonomically investigated on potato dextrose agar medium. In order to complete the identification of three isolates based on the sequencing of the ITS1-5.8s-ITS2 region of ribosomal DNA, they were subjected to molecular analysis. In the pathogenicity test on the cut branches, in terms of the severity of the disease based on the development of the wound, a significant difference was seen between different fungi at the statistical level of 1%. In this test, the highest rate of disease development was caused by *Fusarium avenaceum*. But the lowest amount of disease was caused by *F. equiseti*. Based on studies of key sources of mushrooms reported from Iran; This research is the first report of pathogenicity of *F. equiseti* species on cherry in Iran.

Keywords: cherry tree, sour cherry, molecular sequencing, pathogenicity test.





ترویج گیاهپزشکی

۱۴۰۲ سال پانزدهم

<http://www.ppext.ir>

تاریخ پذیرش مقاله ۱۴۰۲/۱۲/۲۳

مروری بر کاربرد تکنولوژی نانوحسگرها در مدیریت آفات و بیماری‌های گیاهی

مه‌ری زرگانی^۱، هوشنگ رفیعی دستجردی^{۲*} و وحید مهدوی^۳

^۱دانشجوی دکتری، گروه گیاه پزشکی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

^۲استاد، گروه گیاه پزشکی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

(نویسنده مسئول: hooshangraftee@gmail.com)

^۳استادیار، بخش تحقیقات گیاه پزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان اردبیل (مغان)، سازمان

تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اردبیل، ایران

چکیده

کنترل آفات و بیماری‌ها در کشاورزی یک حوزه بسیار حساس است زیرا مستقیماً بر سلامت انسان تأثیر می‌گذارد به عنوان مثال مصرف بی‌رویه آفت‌کش‌های شیمیایی باعث آلودگی محصولات کشاورزی، محیط زیست، خاک و آب می‌شود که خطراتی چون مقاومت آفات به آفت‌کش‌ها، آلودگی غذا و خطر سرطان را برای مصرف‌کنندگان در پی دارد. برای جلوگیری از این خطرات پایش بقایای آفت‌کش‌ها در محیط به یک نگرانی جدی تبدیل شده است. بنابراین طراحی و توسعه تکنیک‌های بسیار حساس، کارآمد، تکرارپذیر و مقرون به صرفه بسیار مهم است. ظهور نانوحسگرها در بخش‌های مختلف کشاورزی موجب نظارت به موقع بر باقیمانده آفت‌کش‌ها، دستیابی آسان‌تر بر شرایط زمین و محصولات کشاورزی، حمله آفات و بیماری‌ها، رشد محصول، تغییرات آب و هوایی و غیره شده است. نانوحسگرها راه‌حل‌های بالقوه‌ای برای مدیریت آفات و بیماری‌های گیاهی هستند که می‌توانند به تحقق راهکارهای نوآورانه در زمینه کشاورزی پایدار کمک کنند. بررسی فعلی بر استفاده از فناوری نانو برای تشخیص سریع، ارزان‌تر و دقیق‌تر در عرصه گیاهپزشکی تمرکز دارد. حفاظت از گیاه زمانی امکان‌پذیر است که هر یک از ابزارهای نانوتکنولوژی به عنوان یک ابزار بالقوه برای بهبود حساسیت، دقت و سرعت شناسایی بیماری‌های گیاهی و آفات استفاده شود. با توجه به مزایای زیست‌محیطی این فناوری پیشنهاد می‌شود در زمینه مدیریت آفات و بیماری‌های گیاهی کشور بیشتر مورد توجه محققین قرار گیرد.

کلمات کلیدی: بقایای آفت‌کش‌ها، کشاورزی پایدار، گیاهپزشکی، نانوحسگر.



مقدمه

گیاهان به عنوان منبع غذایی برای انسان و حیوانات به حساب می‌آیند. آن‌ها زیربنای سلامت انسان و اقتصاد جوامع هستند. با رشد جمعیت انسان‌ها، تقاضای بهره‌وری از گیاهان افزایش یافته است (۷۰). بنابراین آفت‌کش‌های شیمیایی به بخشی ضروری جهت استحصال عملکرد بالای کشاورزی در سراسر جهان تبدیل شده‌اند (۱۹). استفاده گسترده از آفت‌کش‌ها و کودهای شیمیایی منجر به از بین رفتن تنوع زیستی و همچنین ایجاد مقاومت در آفات گردید (۲۲). امروزه در بخش کشاورزی جهت برآوردن نیازهای غذایی، استفاده غیرمعمول از منابع و همچنین مصرف بی‌رویه مواد شیمیایی کشاورزی صورت می‌پذیرد. این اقدامات منجر به آلودگی چشمگیر منابع خاک، هوا و آب شده است، در نتیجه سطح آلودگی در محیط‌های کشاورزی را به طور آشکار افزایش داده است، که به نوبه خود به شدت بر سلامت انسان و حیوان تاثیر گذاشته است. بطوریکه طبق گزارشی مسمومیت با آفت‌کش‌ها در سطح جهانی سالانه ۲۶ میلیون نفر تخمین زده شده است که منجر به مرگ سالانه ۲۲۰۰۰۰ نفر می‌شود. بقایای آفت‌کش‌ها به دلیل ماهیت پایدار خود، برای مدت طولانی در محیط باقی می‌مانند و موجب آلودگی خاک، محیط زیست، آب و غیره می‌شود که خطراتی چون آلودگی غذا، خطر سرطان برای کشاورزان و مصرف کنندگان، از بین رفتن دشمنان طبیعی و تنوع زیستی را در پی دارد (۶۴). آفت‌کش‌های مختلفی که در خاک استفاده می‌شوند، می‌توانند به DNA میکروارگانیسم‌های ساکن در خاک مانند کرم خاکی که موجب بهبود جذب مواد مغذی توسط گیاهان، هوادهی خاک، حفظ حاصلخیزی و تجزیه مواد آلی خاک و منبع اصلی غذا برای بسیاری از موجودات مانند پرندگان می‌باشند، آسیب جدی وارد کنند. همچنین گزارش‌های متعدد حاکی از کاهش شدید جمعیت گرده‌افشان‌ها به دلیل استفاده گسترده از آفت‌کش‌ها در سراسر جهان داده شده است. کاهش جمعیت زنبورهای عسل یک تهدید بزرگ برای صنایع غذایی است، زیرا یک سوم تولید مواد غذایی به گرده‌افشانی توسط زنبورهای عسل وابسته است (۶۳). در حال حاضر استفاده از سموم دفع آفات امری اجتناب‌ناپذیر است ولی زمان آن فرا رسیده است که مسائل مختلف زیست‌محیطی و بهداشتی مرتبط با افزایش و استفاده مکرر از آفت‌کش‌ها را بررسی کنیم و راه‌حل‌های لازم برای به حداقل رساندن مصرف آفت‌کش‌ها را بیابیم (۶۰). بنابراین، پایش بقایای آفت‌کش‌ها در محیط و همچنین شناسایی به موقع عوامل خسارت‌زا به محصولات کشاورزی (آفات و بیماری‌ها) به یک نگرانی جدی تبدیل شده است (۲۸). ظهور نانوحسگرها در بخش کشاورزی، نظارت به موقع بر باقیمانده آفت‌کش‌ها، شرایط زمین و محصولات کشاورزی، حمله آفات و بیماری‌ها، رشد محصول، تغییرات آب و هوایی و غیره را تسهیل کرده است (۳). به عنوان مثال دستگاه‌های نانوحسگر الکتروشیمیایی قابل حمل و با کارکرد آسان برای تشخیص باقیمانده‌های آفت‌کش‌ها در حدمجاز ساخته شده است (۸۲).



با توجه به اینکه درصد بالایی از بهره‌وری کشاورزی جهان به دلیل حملات آفات، عوامل بیماری‌گر، حیوانات و علف‌های هرز از بین می‌رود. برای کاهش این تلفات، نظارت مستمر بر سلامت گیاه و خاک همراه با اقلیم مورد نیاز است. از زمان پیدایش اهلی‌سازی و کشاورزی، انسان به صورت دستی سلامت گیاه و خاک را زیر نظر گرفته است (۷۰). با پیشرفت‌های تکنولوژیکی و معرفی سیستم مدیریت خودکار، مداخله دستی همراه با محدودیت‌های آن در پایش سلامت گیاه کاهش یافته است. بسیاری از سیستم‌های خودکار و مبتنی بر حسگر اکنون جایگزین نظارت دستی شده‌اند. یکی از این سیستم‌ها شامل نظارت بر سلامت گیاه از طریق پردازش تصویر است که در آن تصاویر با استفاده از دستگاه‌های مختلف مانند دوربین‌ها و حسگرها به دست می‌آیند. این تصاویر از طریق الگوریتم‌های پردازش تصویر برای شناسایی بیماری‌ها و آفات در مراحل اولیه تقسیم‌بندی، تجزیه و تحلیل می‌شوند (۷). چندین محصول فعال شده توسط نانوفناوری در حال حاضر در بازار هستند. در همین راستا این تحقیق با مروری بر کاربرد نانوتکنولوژی و حسگرهای مبتنی بر نانومواد در حوزه گیاهپزشکی با هدف کاهش مصرف آفت‌کش‌ها در محیط صورت پذیرفته است.

نانوذرات به عنوان عناصر حسگر

فناوری نانو به یکی از امیدوارکننده‌ترین فناوری‌های جدید در دهه اخیر تبدیل شده است. پتانسیل نانوفناوری در کشاورزی بسیار زیاد است، نانوفرموله کردن اسانس‌ها با استفاده از نانوالیاف‌ها (۵۳ و ۶۶)، نانوذرات مشتق شده از بیوپلیمرهایی مانند پروتئین‌ها و کربوهیدرات‌ها با تأثیر کم بر سلامت انسان و محیط زیست، بسیار مفید هستند. نانومواد و نانوساختارهایی با خواص شیمیایی، فیزیکی و مکانیکی منحصربه‌فرد، به عنوان مثال، نانولوله‌های کربن فعال الکتروشیمیایی، نانوالیاف و حسگرهای مبتنی بر نانومواد (حساس و دقیق) توسعه یافته‌اند (۶۹). نانوذرات دارای خواص فیزیکی، بیولوژیکی و شیمیایی متمایز مرتبط با قدرت اتمی خود هستند (۴۷). ابعاد نانو ذرات در محدوده ۱ تا ۱۰۰ نانومتر می‌باشد. در این محدوده، هر ذره دارای خواص مکانیکی، الکتریکی و نوری خاصی در مقایسه با ماده حجیم خود است که به دلیل افزایش بسیار زیاد سطح در واحد وزن یا حجم در شکل نانو، امکان پذیر است. نانومواد در اشکال مختلفی از جمله ذرات کروی، مکعب‌ها، میله‌ها، سیم‌ها، صفحات، منشورها، ساختارهای هسته پوسته و ساختارهای سه بعدی دیگر موجود هستند. نانوذرات به دلیل تشدید پلاسما سطحی^۲، پراکندگی رایلی پیشرفته^۳ (نوعی پراکنش کشسان نور یا سایر امواج الکترومغناطیس) و پراکندگی رامان بهبود یافته سطحی^۴ مزیت بیشتری نسبت به مواد حجیم دارند و این ویژگی‌ها آن‌ها را به بلوک‌های سازنده اپتوالکترونیک، الکترونیک و حسگرهای شیمیایی و بیوشیمیایی نسل

² Surface Plasmon Resonance (SPR)

³ Rayleigh scattering

⁴ Surface-Enhanced Raman Spectroscopy (SERS)



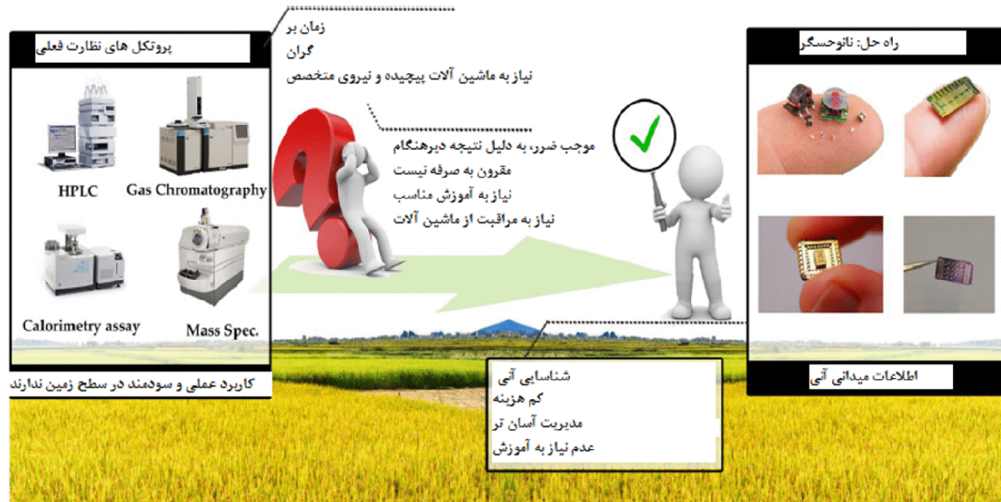
بعدی تبدیل می کند (۱۶). معمولاً از نانوذرات به تنهایی یا با ترکیب در ساخت ابزارهای تشخیصی استفاده می شود که یا مستقیماً پاتوژن را شناسایی می کنند یا ترکیبات شاخصی را که در پیشرفت بیماری نقش دارند، شناسایی می کنند. به طور مثال نانومیله های طلای عاملدار شده با آنتی بادی برای تشخیص سریع بیماری های ویروسی ناشی از ویروس لکه حلقه ای (*Odontoglossum* (ORSV) و ویروس موزاییک (*Cymbidium* (CymMV) در محصولات زینتی استفاده شده اند. مقادیر حد تشخیص (LOD) برای بیماری های ORSV و CymMV در برگ های ارکیده ۴۸ و ۴۲ پیکو گرم در میلی لیتر است (۳۶). نانوحسگرها را می توان بر اساس اهداف شناسایی، مواد تشکیل دهنده آن ها و سیگنال های استفاده شده توسط آن ها برای انتقال اطلاعات گروه بندی کرد (شکل ۱).



تصویر ۱. اجزای اصلی یک نانوحسگر (Kashyap *et al.*, 2019)

یکی از مهم ترین کاربردهای نانوحسگرها این است که به عنوان روش های سازگار با محیط زیست و کارآمدتر برای تبدیل شیوه های کشاورزی مرسوم به کشاورزی هوشمند و پایدار بحساب می آیند (تصویر ۲). نانوحسگرها حساسیت زیاد، پاسخ سریع و محدودیت های تشخیص پایین تر از خود نشان می دهند که آن ها را به بهترین روش تشخیص در مقایسه با روش های پایه اکوسیستم های کشاورزی کنونی شامل کروماتوگرافی معمولی، کروماتوگرافی گازی، کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا، طیف سنجی جرمی و غیره تبدیل می کند (۱۲ و ۷۶). نانوحسگرها همچنین کاربردهای متنوعی در بخش کشاورزی، به ویژه برای تجزیه و تحلیل خاک، سنجش و کنترل بیوشیمیایی آسان، مدیریت آبیاری، آفت کش ها و عناصر غذایی خاک دارند (۶۹).





تصویر ۲. نمایش شماتیکی که تفاوت‌های بین فناوری‌های نظارت سنتی و پیشرفته را نشان می‌دهد (Sharma *et al.*, 2021).

همکاری بین علم زیست‌شناسی و نانوفناوری در حوزه حسگرها منجر به ساخت دستگاه‌هایی در اندازه نانو برای دستیابی به پاسخ سریع و دقیق می‌شود. آن‌ها توانایی تشخیص سریع بیماری‌ها برای افزایش عملکرد و بازیابی زیان اقتصادی ناشی از حمله عوامل بیمارگر را دارند. از این رو، حرکت به سمت فناوری نانو برای یافتن راه‌حلی ساده، قابل حمل و دقیق برای بهبود شیوه‌های کشاورزی مرسوم، امری طبیعی می‌باشد. نانوحسگرها این امکان را برای ما فراهم می‌کنند که پدیده‌های شیمیایی و فیزیکی آن مکان‌هایی را که نمی‌توانیم با تجزیه و تحلیل مولکول‌های بیوشیمیایی در داخل بدن به آن‌ها دست یابیم، اندازه‌گیری کنیم و فرآیندهای محیط را نظارت کنیم. نانوحسگرها و حسگرهای زیستی بر پایه نانومواد را می‌توان به انواع مختلفی مانند الکتروشیمیایی، بیونی الکترونیکی، نوری، جریان جانی، مکانیکی/آکوستیک، نانوحسگرهای مبتنی بر گوشی هوشمند، چسب‌های میکروسوزنی، پلت فرم توالی یابی نانوحفره، نقاط کوانتومی و ... تقسیم‌بندی کرد (۴۹، ۵۷ و ۷۷). نانوذرات برای انتقال DNA و شیمیایی به بافت گیاه برای محافظت در برابر عوامل بیماری‌زا نیز استفاده می‌شوند که کاربرد امیدوارکننده‌ای از فناوری نانو در انتقال ژن واسطه نانوذرات را بوجود آورده است. شکل دیگری از ابزار نانو به عنوان نانوکپسوله‌سازی آفت‌کش به دلیل آزادسازی کنترل‌شده و آهسته ترکیب فعال با دستکاری پوسته بیرونی کپسول شناخته شده که باعث آزادسازی آفت‌کش با دز پایین در مدت طولانی می‌شود و از انباشت آفت‌کش‌ها در محیط زیست جلوگیری می‌کند (۳۸).

طراحی و اصل کلی زیست‌حسگرها و نانوحسگرها

حسگرهای زیستی بر اساس اصول تشخیص زیستی و مکانیسم انتقال سیگنال دسته‌بندی می‌شوند و اصولاً شامل حسگرهای حرارتی، نوری، الکتروشیمیایی و پیزوالکتریک می‌باشند. حسگرهای زیستی بر اساس اصول تشخیص زیستی

و مکانیسم انتقال سیگنال دسته‌بندی می‌شوند (جدول ۱). معمولاً زیست‌حسگرها با ردیابی تغییرات الکتریکی در مواد حسگر کار می‌کنند. آنالیت از محلول به سطح سنسور پخش می‌شود و به طور خاص و موثر واکنش نشان می‌دهد، این باعث تغییر خواص فیزیکوشیمیایی سطح مبدل می‌شود که منجر به تغییر در خواص نوری یا الکترونیکی سطح مبدل می‌شود، سپس سیگنال‌های الکتریکی تشخیص داده می‌شود (۴۳).

جدول ۱. مقایسه نانوحسگرهای توسعه یافته برای تشخیص پاتوژن های گیاهی (Kashyap *et al.*, 2019)

پارامترها	FRET	SERS	الکتروشیمیایی	پیزوالکتریک
مکانیسم	عامل تشخیص با یک عامل گزارشگر (جفت فلونورسازه دارای طیفهای نشری همپوشانی) ترکیب شد و منجر به تغییر ساختاری در انتقال انرژی بین فلونورسازه شد.	سیگنال های رامن آنالیت های جذب شده روی سطح نانوذرات فلزی را تا حد اکثر ۱۰ ^{۱۴} افزایش می دهد.	حالی یک الکتروود کار، الکتروود ضد و الکتروود مرجع. بر اساس پاسخ الکتروشیمیایی یا تغییر مقاومت الکتریکی مواد ناشی از واکنش با آنالیت ها	ارتعاش مکانیکی را به سیگنال الکتریکی تبدیل می کند
آنالیت	DNA، آنتی بادی	آدنین دی نوکلئوتید	DNA، آنتی بادی، تیول های گیاهی	مکانیکی نیروها
حساسیت	بالا	فوق العاده بالا (تشخیص تک مولکولی)	بالا (محدوده ppm-ppt)، به دما یا pH حساس است	نظارت بر زمان واقعی محیط مکانیکی (رشد گیاه)
تجزیه و تحلیل و تفسیر داده‌ها	خسته کننده و دشوار	خسته کننده	ساده و مستقیم	بدون نور بازخوانی
ابزار دقیق	خیر	بله	بله (منبع برق در محل برای سنسور)	بله
هزینه	بالا	بله	کم	بالا
سادگی	خیر	خیر	بله	بله

به طور کلی زیست‌حسگرها بر اساس دو اصل عمل می‌کنند. تشخیص و سنجش بیولوژیکی، مبدل به عنوان یک حسگر ساخته شده با نانومواد مانند نانوذرات طلائی فلزی و اکسید آهن، نقاط کوانتومی، اکسید گرافن و نانولوله‌های کربنی عمل می‌کند. محصور شدن نانو، مورفولوژی انعطاف‌پذیر، بهبود خواص نوری، مکانیکی، الکتریکی، حرارتی و سطح ویژه بالای نانومواد، قابلیت تبدیل را تا حدی افزایش می‌دهد. نانوحسگرها و زیست‌حسگرها بر اساس مکانیسم انتقال برای تولید خروجی دسته‌بندی می‌شوند. به عنوان مثال نانوحسگرهای الکتروشیمیایی به نانومواد یا الکتروود مبتنی بر فیلم‌های نانولوله-کربنی متکی هستند. نانوحسگرهای نوری با ویژگی نوری افزایش یافته نانوذرات فلزی، نانوذرات مبدل بالا و نقاط کوانتومی نسبت داده می‌شوند. دسته سوم نانوحسگرهای جرمی با کاربرد نسبتاً کمتری در حوزه کشاورزی هستند (تصویر ۳).





تصویر ۳. یک نانوحسگر زیستی معمولی شامل اجزای ضروری است که از آنالیت نمونه تا گیرنده زیستی، مبدل با نانوساختارهای یکپارچه، و در نهایت آشکارسازها (از چپ به راست) شروع می‌شود. آنالیت‌ها موجودیت‌های شیمیایی یا بیولوژیکی هستند که به عنوان نمونه‌ای برای کمی‌سازی یا تشخیص عمل می‌کنند که منحصر به گیرنده زیستی است. گیرنده زیستی مولکول شناسایی با منشا بیولوژیکی است که می‌تواند پروتئین عملکردی یا ساختاری، الیگونوکلئوتید شامل آپتامرها، میکروبی‌های کامل یا جزء آن، سلول‌ها، بافت خاص و هر اندامک درون سلولی باشد. پاسخ بیولوژیکی از طریق مبدل ادغام شده یا عامل‌دار با نانوساختارها به آشکارساز منتقل می‌شود، به عنوان مثال، نانوذرات فلزی، نانوذرات مغناطیسی، نانوذرات مبدل بالا، نقاط کوانتومی، مواد مبتنی بر کربن مانند اکسیدگرافن و نانولوله‌های کربنی برای تشخیص پیشرفته با سنسورهای الکتروشیمیایی، نوری و روش‌های تشخیص جرمی (Srivastava & Karmakar, 2018).

انواع نانوحسگرهای مورد استفاده در گیاه‌پزشکی

نانوحسگرهای الکتروشیمیایی^۵

نانوحسگرهای الکتروشیمیایی پرکاربردترین و سریع‌ترین روش نانوحسگر برای آنالیت‌های متعدد هستند که بر اساس اصل الکتروشیمی کار می‌کنند. در طی برهمکنش زیستی، سیگنال‌های الکتروشیمیایی تولید شده توسط این الکترون‌ها تولید یا مصرف می‌شوند. به منظور اندازه‌گیری جریان، ولتاژ و امپدانس^۶ (میزان مخالفت در برابر جریان متناوب)، حسگرهای الکتروشیمیایی اساساً به واکنش‌های شیمیایی بین نانو بستر ساخته شده و آنالیت مورد نیاز برای مصرف به

⁵ Electrochemical nanosensors

⁶ impedance



تولید الکترون وابسته هستند. نانوحسگرهای الکتروشیمیایی دارای چندین ویژگی مشخص مانند استحکام، حساسیت بالا، ویژگی و هزینه مقرون به صرفه برای کاربردهای سنجش هستند. مقدار آنالیت در یک نمونه را نیز می‌توان با استفاده از سیگنال‌های الکتروشیمیایی که به روش کمی تولید می‌شوند، اندازه‌گیری کرد. نانوحسگرهای الکتروشیمیایی بر اساس اصل کارشان به سه دسته آمپرومتری^۷، ولتامتری^۸ و پتانسیومتری^۹ طبقه‌بندی می‌شوند. نانوحسگر آمپرومتریک یک سیستم تحلیلی حساس است که به طور مداوم جریان یک گونه الکتریکی را در یک پتانسیل کاری ثابت اندازه‌گیری می‌کند. غلظت گونه‌های الکترواکتیو با جریان فارادایی با ثابت نگه داشتن پتانسیل اندازه‌گیری می‌شود (۱۴). تناسب با آنالیت‌های الکترواکتیو با مقدار پیک جریان مشاهده شده در محدوده ولتاژ خطی نشان داده می‌شود. نانوحسگرهای آمپرومتریک ارزان‌تر، بسیار حساس و قابل اعتماد هستند و برای مناطق تحقیقاتی بالینی تا کشاورزی توصیه می‌شوند. کاربردهای نانوحسگرهای آمپرومتریک در تشخیص ارگانوفسفرها (۸۸)، محتوای فروکتوز (۲)، سولفونامیدها (۸۷) و غیره به اثبات رسیده است. ولتامتری به یک روش اندازه‌گیری جریان الکتروشیمیایی با تغییر پتانسیل به شیوه‌ای کنترل شده اشاره دارد. واکنش الکتروشیمیایی و سرعت پتانسیل ردوکس^{۱۰} در طی واکنش الکتروشیمیایی با آنالیت هدف توسط ولتامتری چرخه‌ای اندازه‌گیری می‌شود. در اندازه‌گیری جریان بین الکترودهای شمارنده و کار، تغییر ولتاژ بین الکترودهای کار و مرجع وجود دارد. تشخیص آلودگی فلزات سنگین در نمونه‌های غذایی (۸۹)، کربوسولفان در برنج (۵۹) و *Salmonella typhi* (۷۴) نمونه‌هایی از نانوحسگرهای مبتنی بر ولتامتری چرخه‌ای در بخش کشاورزی هستند. سنسور پتانسیومتری نوعی حسگر شیمیایی است که برای اندازه‌گیری پتانسیل در الکتروود کار نسبت به الکتروود مرجع استفاده می‌شود.

بینی الکترونیکی^{۱۱}

بینی الکترونیکی دستگاهی متشکل از حسگرهای گاز و سیستم‌های کامپیوتری برای انجام تجزیه و تحلیل کیفی و همچنین کمی بخارات و گازها است. این دستگاه قابلیت تشخیص تفاوت در نمونه‌های گاز را با رویکردی قوی و کاربر پسند دارد. عمل بینی الکترونیکی بر اساس اصل تغییر در هدایت الکتریکی زمانی است که سطح سنسور با فاز گاز اطراف برهمکنش شیمیایی دارد. تنوع در حساسیت‌ها نسبت به مولکول‌های مختلف به دلیل کلاس‌های شیمیایی مختلف و گروه‌های عاملی متعدد وجود دارد. با کمک سیگنال‌های الکتریکی از سنسورها، یک طیف منحصر به فرد از ترکیب گاز خاص از نمونه هدف تولید می‌شود (۱۱). بینی الکترونیکی برای تشخیص عوامل بیمارگر گیاهی کاربردهای زیادی دارد.

⁷ amperometric

⁸ voltammetric

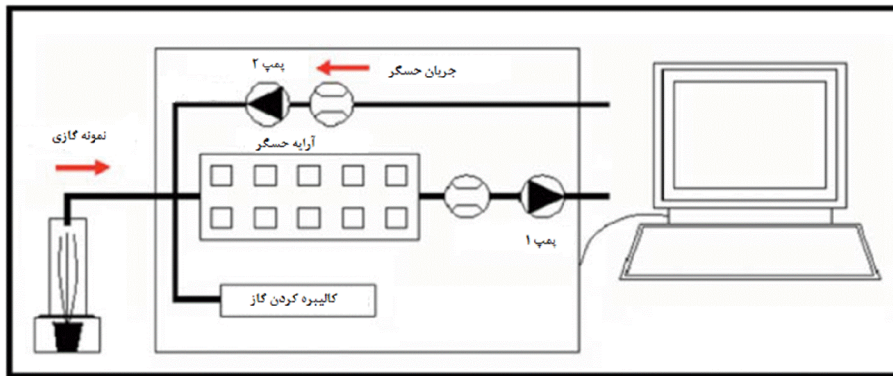
⁹ potentiometric

¹⁰ redox

¹¹ Electronic nose



(52) Markom *et al.* از بینی الکترونیکی و هوش مصنوعی برای تشخیص بیماری پوسیدگی ساقه در نخل روغنی^{۱۲} ناشی از قارچ *Ganoderma boninense* استفاده کرده‌اند. همچنین (15) Chang *et al.* از سیستم بینی الکترونیکی برای تشخیص انواع آسیب در نهال گوجه فرنگی استفاده کردند. در این مطالعه، یک بینی الکترونیکی (PEN2 (Airsense Analytics, Germany)، مجهز به ۱۰ سنسور مختلف نیمه هادی اکسید فلز^{۱۳} (MOS) استفاده شد. سیستم PEN2 شامل یک دستگاه نمونه‌برداری، یک واحد آشکارساز حاوی مجموعه‌ای از حسگرها و نرم‌افزار تشخیص الگو (WinMuster v.1.6) برای ضبط داده‌ها بود. آرایه حسگر از قرار گرفتن در یک محفظه کوچک تشکیل شده بود (تصویر ۴).



تصویر ۴. شماتیکی از فرآیند تمایز انواع مختلف آسیب در نهال‌های گوجه‌فرنگی توسط بینی الکترونیکی (Cheng *et al.*, 2017).

نانوحسگرهای گازی

از نانوحسگرهای گازی می‌توان برای تشخیص مولکول‌های فرار (آنالیت‌ها) با حساسیت فوق‌العاده استفاده کرد، زیرا توانایی تغییر فرکانس ارتعاش یا انحراف را به دلیل جذب مولکول‌ها در سطح دارند. از آنجایی که مولکول‌های سمیوکمیکال وزن‌های مولکولی متفاوتی دارند و از نظر بیولوژیکی در غلظت‌های بسیار کم فعال هستند، مزایای حسگرهای فیزیکی یا بیولوژیکی در این زمینه این است که می‌توانند لایه‌های بسیار حساس شناسایی کنند. این دستگاه‌ها دارای مزیت کوچک‌سازی، زمان پاسخ سریع و تشخیص آنالیت‌ها با حساسیت بالا جهت ردیابی می‌باشند (53). حسگرهای گاز برای تشخیص فرمون نیز مورد استفاده قرار گرفته‌اند و این یک تکنیک امیدوارکننده در مدیریت آفات می‌باشد زیرا دشواری اثبات فعالیت بیولوژیکی حشرات را از طریق سنجش زیستی می‌کاهد (۸، ۹ و ۷۹). دستگاه‌های مختلفی برای سنجش گاز استفاده می‌شوند که می‌توان به نیمه‌رسانای اکسید فلز (۸۴)، پلیمر رسانا (۷۹)، نانوکامپوزیت (۸)، اکسید گرافن (۶۸)، مواد هیبریدی (۵۴)، گیرنده‌های بویایی (۸۴) اشاره کرد.

¹²oil palm

¹³metal oxide semiconductor



نانوحسگرهای نوری

حسگرهای زیستی نوری متکی به تشخیص تغییر در سیگنال نوری هستند که آن را با اندازه‌گیری‌های طیف‌سنجی مختلف مانند جذب، فلورسانس، فسفرتابی (فسفرسانس)^{۱۴}، رامن بهبود یافته سطحی و شکست با تشخیص تغییرات در طول موج، فاز، زمان، سازگاری بالایی دارد. شدت و قطبیت نور به طور کلی، طیف گسترده‌ای از روش‌های نوری در حسگرهای زیستی استفاده شده است که بر اساس طیف‌سنجی فلورسانس، تشدید پلاسمون سطحی، تداخل سنجی^{۱۵} و طیف سنجی^{۱۶} است (۷۵). اساس کار این نانوحسگرها تشخیص سیگنال نوری با نظارت بر تغییر سیگنال‌های نوری است و سازگاری بالایی با تکنیک‌های طیف‌سنجی مختلف مانند طیف‌سنجی رامن، انتقال انرژی تشدید فلورسانس و پراکندگی رامن تقویت‌شده سطحی با اندازه‌گیری تغییرات در شدت، طول موج، زمان و فاز نور دارد. به طور کلی، تکنیک‌های نوری به کار رفته در نانوحسگرها اساساً بر تداخل سنجی، طیف سنجی فلورسانس و تشدید پلاسمون سطحی تکیه دارند. تکنیک نانوحسگر مبتنی بر فلورسانس دارای پاسخ قوی، وضوح بالا و حساسیت بالا است. به عنوان مثال، نانوذرات طلا و نقره و همچنین نقاط کوانتومی به دلیل قابلیت فلورسانس که اساساً به مورفولوژی، شکل و اندازه نانوذرات وابسته است، کاربرد بسیار زیادی در تشخیص باکتری (۸۱)، تشخیص نیتريت (۱۵) و تشخیص ارگانوفسفره‌ها (۲۰) دارند.

نانوحسگرهای مبتنی بر انتقال انرژی تشدید فلورسانس^{۱۷}

برای مطالعه دینامیک پروتئین و غلظت سلولی، یک نانوحسگر نوری به طور گسترده بر اساس نانوحسگرهای مبتنی بر انتقال انرژی تشدید فلورسانس وجود دارد (۵۸). این نانوحسگرها شامل دو فلوروفور^{۱۸} هستند که یکی اهدا کننده و دیگری گیرنده است. اگر فاصله معقولی بین دو فلوروفور در محدوده نانومتری وجود داشته باشد، تحریک نوری از اهداکننده به گیرنده منتقل می‌شود. این نانوحسگرها می‌توانند به صورت برون‌زا در سیستم گیاهی وارد شوند یا به صورت ژنتیکی رمزگذاری شوند. حساسیت بالا، وضوح مکانی و زمانی بالا، و محدودیت تشخیص کم، جنبه‌های مطلوب سنسورهای مبتنی بر انتقال انرژی تشدید فلورسانس را نشان می‌دهند (۹۷).

نانوحسگرهای زیستی جریان جانبی^{۱۹}

بسته به مولکول‌های شناسایی، فرمت‌های نانوحسگر جریان جانبی متفاوتی وجود دارد. بر اساس ویژگی‌های حساسیت و تمایل فوق‌العاده بالا سنجش جریان جانبی کاربرد بالقوه‌ای به عنوان توالی‌های اسید نوکلئیک مکمل، آنتی‌ژن-آنتی‌بادی

¹⁴ Phosphorescence

¹⁵ interferometry

¹⁶ spectroscopy

¹⁷ Fluorescence resonance energy transfer (FRET)

¹⁸ fluorophore

¹⁹ Lateral flow nanosensors



مانند ترکیبات فرار، مواد منفجره، گونه‌های یونی، سموم، آلاینده‌های غذا و محیط، آفت‌کش‌ها و مواد زیستی مانند آشکارسازی DNA، پروتئین، گلوکز و غیره به کار می‌روند) کار می‌کنند که جرم متصل به سازه را اندازه‌گیری می‌کند، در حالی که برخی از حسگرها به اثر پیزومقاومتی^{۲۳} وابسته هستند که تغییر در مقاومت یک سازه تحت کرنش را نشان می‌دهد (۹۰).

میکروبالانس کریستال کوآرتز^{۲۴}

نانوحسگر مبتنی بر میکروبالانس کریستال کوآرتز که جایگزینی برای روش‌های تحلیلی مرسوم است، مقدار ماده جذب شده روی سطح را در زمان واقعی اندازه‌گیری می‌کند. این حسگر پتانسیل شناسایی ویروس‌های CymMV^{۲۵} و ORSV^{۲۶} را تا یک نانوگرم دارد (۱۰ و ۷۸).

میکروسیال

میکروسیال به مهندسی اطلاق می‌شود که حجم‌های بسیار کوچک سیال را با کمک کانال‌هایی با ابعادی از ده‌ها تا صدها میکرومتر پردازش یا دستکاری می‌کند (۸۵). این یک علم بین رشته‌ای است که زمینه‌های طیف گسترده‌ای مانند زیست‌فناوری، مهندسی، علوم محیطی، شیمی و فیزیک را پوشش می‌دهد. بیماری‌های ویروسی، قارچی و باکتریایی در کشاورزی در حال افزایش است که منجر به کاهش عملکرد می‌شود. تجزیه و تحلیل نمونه شامل مراحل مختلف کار فشرده است که بسیار گران و زمان‌بر است و منجر به گسترش بیماری می‌شود. برای غلبه بر این مشکل، یک دستگاه میکروسیال همراه با حسگر نوری لایه نازک یکپارچه برای تشخیص نشانگر زیستی بیماری و عوامل بیمارگر می‌توان استفاده کرد (۶).

نانوحسگرها در حشرات

حشرات دارای رزونانس فرومغناطیسی^{۲۷} هستند که وابسته به دما است. مواد مغناطیسی در سر، قفسه سینه و شکم حشراتی مانند *Solenopsis substitute* (Fabricius) وجود دارد. این نانوذرات مغناطیسی در حشرات اجتماعی به عنوان حسگرهای ژئومغناطیسی عمل می‌کنند (۲۴). به عنوان مثال محتوای مواد مغناطیسی در سرهای دارای شاخک کمی بیشتر از شکم مورچه‌ها است. جانوران زیادی رفتارشان تحت تأثیر تغییرات میدان مغناطیسی محیط آنهاست. به طور

²³ piezoresistive

²⁴ Mechanical/acoustic nanosensors (QCM)

²⁵ *Odontoglossum ringspot virus*

²⁶ *Cymbidium mosaic virus*

²⁷ ferromagnetic



خاص، نشان داده شده است که زنبورهای عسل از اطلاعات میدان ژئومغناطیسی برای جهت‌گیری و جستجوی غذا استفاده می‌کنند (۶). با این حال، فرآیندی که حیوانات برای تشخیص میدان ژئومغناطیسی استفاده می‌کنند، هنوز مشخص نیست. همچنین، مواد فرومغناطیسی در شکم زنبورعسل *Apis mellifera* Linnaeus شناسایی شده و برای دریافت مغناطیسی مناسب تشخیص داده شده است (۲۱). اجزای نانوساختار در چشم مرکب حشرات نیز وجود دارد. همچنین بال‌های پروانه‌ها دارای اجزای رنگی روشن هستند و این اجزای رنگی چیزی جز نانوذرات نیستند (۳۲). به طور طبیعی، مواد شیمیایی گیاهی (فیتوکمیکال‌های)^{۲۸} فرار و نانوذرات حشرات تنها مسئول تعامل گیاه و حشره هستند (۳۱). علاوه بر این، در مورد کرم ابریشم، الیاف بر پایه فیبروئین^{۲۹} ابریشم الکتروریسی شده^{۳۰} با قطر متوسط ۷۰۰ نانومتر از محلول‌های آبی ابریشم بازسازی شده تهیه شده است (۴۱ و ۹۵). نانوکامپوزیت الکتروریسی ابریشم کرم ابریشم به تولید نانولوله‌های کربنی تک جداره^{۳۱} برای سیستم دارورسانی کمک می‌کند (۴).

نانوحسگرهای مبتنی بر گوشی‌های هوشمند

حسگرهای مبتنی بر فناوری نانو هوشمند با دستگاه‌های مختلف، مانند دوربین‌های تصویربرداری فراطیفی، ابزار فرکانس رادیویی و تلفن‌های هوشمند، این ظرفیت را دارند که با تکنیک‌های کشاورزی فعلی ترکیب شوند. ادغام دستگاه‌های کشاورزی با حسگرهای گیاهی هوشمند می‌تواند در پیشبرد اهداف کشاورزی پایداری مفید باشد (۹۳، ۴۶ و ۸۶). پیشرفت در زمینه توسعه نانوحسگرها هنوز مورد نیاز است، که می‌تواند با همکاری دانشگاه و صنعت امکان‌پذیر باشد. گزارش‌های اخیر به وضوح کاربرد میدانی نانوحسگرها را به‌عنوان ابزاری عالی برای پایدارتر و ایمن‌تر کردن کشت محصولات با به حداقل رساندن استفاده گران‌قیمت از مواد شیمیایی کشاورزی مورد استفاده برای حفظ رشد و سلامت محصول ذکر کرده‌اند (۳۶). جدول (۲) مروری مختصر از برخی از سنجش‌های مبتنی بر تکنولوژی نانومواد برای تشخیص پاتوژن‌های گیاهی و آفات ارائه می‌دهد.

²⁸ Phytochemicals

²⁹ fibroin

³⁰ electrospun

³¹ single wall carbon nanotubes (SWNT)





جدول 2. برخی از سنجش‌های مبتنی بر تکنولوژی نانومواد برای تشخیص پاتوزن‌های گیاهی و آفات

نانوحسگر گازی	پلتفرم تلفن هوشمند میکروسوزنی	پاتفرم نانوحفره	الکتروشیمیایی	SERS	SERS	SERS	نانوتاجها از هسته نانومواد نقره تشکیل شده است	نانوذرات طلا	نانوذرات نقره	نانوذرات طلا	پوشش نانوذرات طلا	SnO ₂ and TiO ₂ NPs	نانولوله کربنی با روکش طلا (CNT)	ایمونوگروماتوگرافا فی جریان جانی (نانوذرات طلا)	کریستال ها QCM	پیزوالکتریک	حسگر
نانوحسگر کسولوی، فیلم نانوحسگر PANI.A	پات فرم تقویت نوکلئیک اسید با نوکلئیک با میکروسوزن تلفن هوشمند	دستگاه توالی‌یابی نانوحفره مینی-یون	نانوذرات طلا کلونیدی	نانوذرات طلا	نانوذرات نقره	نانوتاجها از هسته نانومواد نقره تشکیل شده است	نانوذرات طلا	نانوذرات نقره	نانوذرات نقره	نانوذرات طلا	پوشش نانوذرات طلا	SnO ₂ and TiO ₂ NPs	نانولوله کربنی با روکش طلا (CNT)	ایمونوگروماتوگرافا فی جریان جانی (نانوذرات طلا)	کریستال ها QCM	پیزوالکتریک	نانوذرات
تشخیص فرمون حشره	DNA Phytophthora infestans و RNA	ویروس پیچیدی برگ زرد (TYLCD)	پروتوس	ویروس پیچیدی برگ زرد (TYLCD)	ویروس پیچیدی برگ زرد (TYLCD)	ویروس پیچیدی برگ زرد (TYLCD)	ویروس پیچیدی برگ زرد (TYLCD)	ویروس پیچیدی برگ زرد (TYLCD)	ویروس پیچیدی برگ زرد (TYLCD)	ویروس پیچیدی برگ زرد (TYLCD)	ویروس پیچیدی برگ زرد (TYLCD)	ویروس پیچیدی برگ زرد (TYLCD)	ویروس پیچیدی برگ زرد (TYLCD)	ویروس پیچیدی برگ زرد (TYLCD)	ویروس پیچیدی برگ زرد (TYLCD)	ویروس پیچیدی برگ زرد (TYLCD)	هدف
سین Dicercaeus furcatus	گوچیفورنگی	گوچیفورنگی	رشادی گوش موشی - Arabidopsis thaliana	رشادی گوش موشی - Arabidopsis thaliana	رشادی گوش موشی - Arabidopsis thaliana	رشادی گوش موشی - Arabidopsis thaliana	رشادی گوش موشی - Arabidopsis thaliana	رشادی گوش موشی - Arabidopsis thaliana	رشادی گوش موشی - Arabidopsis thaliana	رشادی گوش موشی - Arabidopsis thaliana	رشادی گوش موشی - Arabidopsis thaliana	رشادی گوش موشی - Arabidopsis thaliana	رشادی گوش موشی - Arabidopsis thaliana	رشادی گوش موشی - Arabidopsis thaliana	رشادی گوش موشی - Arabidopsis thaliana	رشادی گوش موشی - Arabidopsis thaliana	میزبان (S)
فرکانس رزونانس ۱۳ ± ۴	۱ پیکوگرم	اشاره نشده	اشاره نشده	اشاره نشده	اشاره نشده	اشاره نشده	اشاره نشده	اشاره نشده	اشاره نشده	اشاره نشده	اشاره نشده	اشاره نشده	اشاره نشده	اشاره نشده	اشاره نشده	اشاره نشده	حد تشخیص
حساسیت بالا	کاهش زمان تشخیص تا ۳۰ دقیقه	تشخیص سریع و قابل قیاس با ELISA	تر از PCR / زل / PCR حساس	تر از PCR حساس	تر از PCR حساس	تر از PCR حساس	تر از PCR حساس	تر از PCR حساس	تر از PCR حساس	تر از PCR حساس	تر از PCR حساس	تر از PCR حساس	تر از PCR حساس	تر از PCR حساس	تر از PCR حساس	تر از PCR حساس	حساسیت
Martin azzo et al. (2022)	Paul et al. (2021)	Chalupowicz et al., (2019)	Lau et al. (2017)	Lau et al. (2016)	Yuksel et al. (2015)	Huang et al. (2014)	Fang et al. (2014)	Li et al. (2012)	Guo et al. (2009)	Eun et al. (2002)	ELISA	حساسیت بالا و شناسایی سریع حسگر	بسیار حساس از حسگر ELISA	۱ نانوگرم	از کیده	مواد غذایی و محیط زیست	منبع

نانوتکنولوژی در شناسایی بیماری‌های گیاهی

برای شناسایی ارگانسیم‌های بیماری‌زای گیاهی با درجه بالایی از دقت و سرعت، تکنیک‌های تشخیصی مولکولی سنتی مانند واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR)، سنجش ایمونوسوربنت متصل به آنزیم^{۳۲} و سایر روش‌های کلاسیک مانند شمارش کلنی و هیبریداسیون فلورسانس درجا^{۳۳} اغلب در آزمایشگاه‌های سراسر جهان استفاده می‌شوند. با این حال، چندین معرف بیولوژی مولکولی مانند آنزیم‌ها و آغازگرها گران هستند و ماندگاری محدودی دارند. این تکنیک‌ها نیاز به ابزار و تنظیمات آزمایشگاهی خاصی دارند که استفاده از تکنیک‌های مولکولی کلاسیک را در کشورهای در حال توسعه محدود می‌کند. نانومواد پتانسیل زیادی برای شناسایی عوامل بیماری‌زا سریع‌تر و دقیق‌تر از سایر روش‌های تشخیص بیماری‌زای گیاهی موجود را در حال حاضر دارد. به طور کلی نانوتکنولوژی فرآیندی است که اتم‌ها، مولکول‌ها یا گروه‌های مولکولی مجزا را در ساختارها جمع می‌کنند تا موادی تولید کنند که می‌توانند وظایف منحصربه‌فرد یا فوق‌العاده متنوعی را انجام دهند. استفاده از فناوری نانو در کشاورزی می‌تواند تحقیقات کشاورزی را تغییر دهد و ابزارهای پیشرفته را برای شناسایی سریع بیماری‌های گیاهی در مراحل اولیه معرفی کند. به دلیل اندازه ابعاد نانومواد گزینه‌های عالی برای تشخیص بیماری‌زای گیاهی هستند که می‌توانند نسبت سطح به حجم بهبود یافته و ویژگی‌های شیمیایی، نوری و الکتریکی منحصربه‌فردی را ارائه دهد (۷۷). مقایسه روش‌های تشخیص بیماری‌های گیاهی قدیم و مبتنی بر نانومواد در جدول (۳) آورده شده است. در ادامه برخی از روش‌های جدید مبتنی بر نانومواد جهت شناسایی سریع و دقیق عوامل بیماری‌زای گیاهی معرفی می‌شوند.

³² Immunosorbent assay (ELISA)

³³ fluorescence in situ hybridization (FISH)

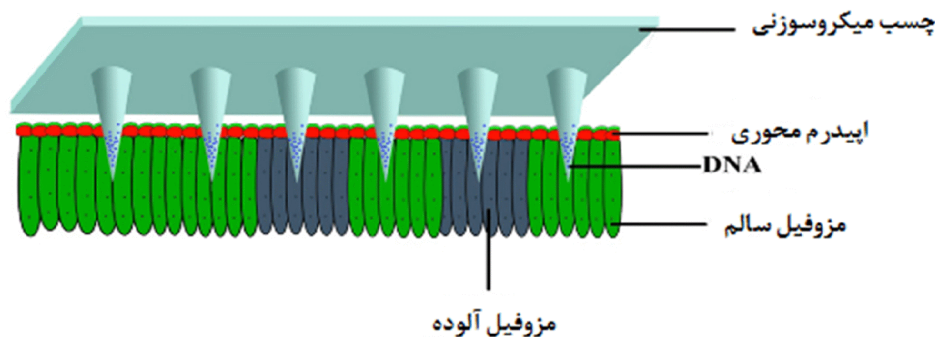


جدول ۳. مقایسه روش‌های تشخیص بیماری‌های گیاهی (Shivashakarappa *et al.*, 2022)

معایب	مزایا	زمان قبل از نتایج	زمان مورد نیاز برای سنجش	حد تشخیص	روش‌های موجود در حال حاضر
نیاز به کارگر ماهر، حساسیت ضعیف و وقت گیر اثربخشی روش به کیفیت DNA، وجود مهارکننده‌ها و هزینه بالای مورد نیاز بستگی دارد	هزینه کم سنجش و ویژگی بالا	۷۲ ساعت	۷۲ ساعت	10^1-10^8 cfuml ⁻¹	روش‌های مرسوم
عدم حساسیت و دقت، واکنش‌های متقابل	کم هزینه، قابل حمل، تعیین کمیت و تمایز پاتوژن‌ها از نظر طبقه بندی	۱۲-۶ ساعت	۳-۱ ساعت	10^5-10^6 cfuml ⁻¹	روش‌های ایمنی-شناسی
تاثیر زیست محیطی و سمیت نانومواد مهندسی شده	سریع، آسان برای رسیدگی، مقرون به صرفه، ویژگی و حساسیت بالا، قابلیت حمل عالی در میدان، تجزیه و تحلیل توان بالا	۳۰ دقیقه-۱ ساعت	۳۰ دقیقه-۱ ساعت	1 cfuml ⁻¹	روش‌های مبتنی بر فناوری نانو

چسب‌های میکروسوزنی^{۳۴}

روشی سریع برای استخراج DNA گیاهی است (تصویر ۶). این روش ابتکاری استخراج DNA، تنها به یک چسب میکروسوزن و یک محلول بافر آبی نیاز دارد و قابل استفاده مجدد می‌باشد. چسب از یک پلیمر مقرون به صرفه ساخته شده است که به اندازه یک تمبر کارت پستال است. بیماری‌های سوختگی دیررس در سیب‌زمینی و گوجه‌فرنگی را می‌توان به سرعت و با دقت و با استفاده از روش چسب میکروسوزنی مبتنی بر پلیمر شناسایی کرد (۶۲).



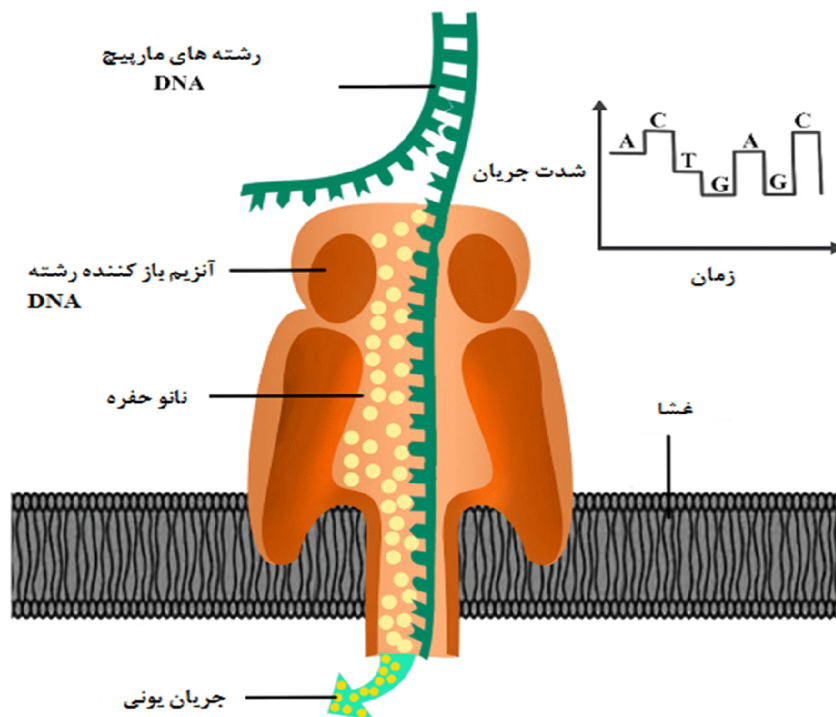
تصویر ۶. نمایش شماتیک استخراج DNA بیماری گیاهی با استفاده از تکه‌های میکروسوزن روی برگ‌های گیاه. بافت برگ را می‌توان توسط میکروسوزن سوراخ کرد، DNA در سطح نوک میکروسوزن‌ها جذب می‌شود (Shivashakarappa *et al.*, 2022).

³⁴ Microneedle patches



پلت فرم توالی‌یابی نانوحفره^{۳۵}

توالی‌یابی نانوحفره دو مشکل جدی را حل می‌کند: (الف) شناسایی نوکلئوتیدها در حین حرکت رشته از طریق نانوحفره و (ب) تنظیم سرعت رشته DNA. DNA در حین حرکت از طریق نانوحفره تحت یک بازرسی الکتریکی مستقیم قرار می‌گیرد. پروتئین نانوحفره در بالای یک ریز چاه در یک غشای دولایه پلیمری قرار می‌گیرد. یک تراشه حسگر در هر میکرو چاه، جریان یونی را هنگامی که یک مولکول واحد از نانوحفره عبور می‌کند، تشخیص می‌دهد. با این حال، رشته DNA برای تشخیص مناسب، خیلی سریع از طریق نانوحفره حرکت می‌کند (۱۷). توالی‌یابی و قرائت‌های طولانی DNA یا RNA با استفاده از دستگاه توالی‌یابی نانوحفره مینی‌یون^{۳۶} امکان‌پذیر شده است. هنگامی که اسیدهای نوکلئیک از طریق یک نانوحفره پروتئینی عبور داده می‌شوند، سیستم تغییرات جریان الکتریکی را کنترل می‌کند. یک توالی DNA یا RNA خاص با رمزگشایی سیگنال حاصل به دست می‌آید (تصویر ۷).



تصویر ۷. اصل توالی سنج نانوحفره مینی‌یون، آنزیمی که در مرکز توالی DNA را باز می‌کند، DNA تک رشته‌ای را از طریق منافذ به حالت جامد می‌فرستد. شکل منحصر به فرد هر پایه DNA باعث ایجاد اختلال در جریان الکتریکی می‌شود که تجزیه و تحلیل پلی‌نوکلئوتیدهای بیماری‌زا را تسهیل می‌کند.

³⁵ Nanopore sequencing platform

³⁶ MinION



نقاط کوانتومی^{۳۷}

طول موج نور ساطع شده توسط نقاط کوانتومی (یک نانوکریستال نیمه هادی درخشان)، به اندازه آن‌ها بستگی دارد (۲۳). در مقایسه با رنگ‌های آلی، به دلیل طیف تحریک گسترده‌ای که دارند، مزایای متعددی دارند. نقاط کوانتومی با ضریب خاموشی مولی ۱۰ تا ۱۰۰ برابر بیشتر، پیک فلورسانس قابل تنظیم متمایز و طول عمر فلورسانس طولانی‌تر و همچنین مقاومت در برابر نور سفید دارند. این ویژگی‌های نقاط کوانتومی امکان فعال‌سازی بسیاری از رنگ‌های نقاط کوانتومی را از یک منبع واحد بدون همپوشانی سیگنال‌های گسیلی فراهم می‌کند و نقاط کوانتومی را نسبت به فلوروفورهای استاندارد روشن‌تر می‌کند (۹۶). این مزایا منجر به پذیرش گسترده نانوحسگرهای مبتنی بر انتقال انرژی رزونانس فلورسانس^{۳۸} با استفاده از نقاط کوانتومی در کشاورزی و صنایع وابسته شد. رایج‌ترین استفاده از این حسگرها در زمینه تشخیص فعالیت آنزیم و اسید نوکلئیک است (۸۰).

بحث و نتیجه‌گیری

نانوفناوری در کشاورزی کاربردهای گسترده‌ای دارد که از جمله آن‌ها می‌توان به این موارد اشاره نمود: ۱) پایش خاک، مدیریت آب، و تجزیه و تحلیل توسط نانو دستگاه‌ها و حسگرها ۲) خروج آلاینده‌های خاک توسط نانوحسگرهای جدید ۳) بهبود ظرفیت نگهداری آب خاک با نانوزئولیت‌ها و نانورس‌ها و نانوزئولیت‌ها برای افزایش توانایی نگهداری آب در خاک در مناطق تحت تاثیر خشکسالی در طول فصل زراعی ۴) تبدیل مواد ژنتیکی در محصولات با استفاده از نانوذرات و ۵) برای تشخیص عوامل بیماری‌گر (۷۳). رویکردهای مختلف مبتنی بر فناوری نانو و نانوحسگرها شامل افزایش تولید مواد غذایی، تلفات کمتر عناصر غذایی خاک و تشخیص قوی عوامل بیماری‌گر و کاهش آلودگی محیط‌زیست با کاهش مصرف کودها وجود دارد (۲۹ و ۶۵). علاوه بر این، نانوحسگرهای مختلف دیگری نیز وجود دارند که برای تشخیص آلاینده‌ها در سبزیجات (بقایای آفت‌کش‌های ارگانوفسفره) و حتی غذاهای دریایی کاربرد دارند (۱). همچنین حسگرهای درون سلولی وجود دارند که در پیش‌سازهای متابولیک و لیگاندهای (سیگنالینگ) پیام‌رسان^{۳۹} برای توضیح مکانیسم مولکولی پیچیده در سیستم‌های گیاهی نقش دارند. حسگرهای منطقی طراحی و ساخته شده امکان درک بهتر زیست‌شناسی گیاه را فراهم می‌کنند (۵۷). در کل کاربردها و مزایای بالقوه نانوفناوری بسیار زیاد است که می‌توان به افزایش بهره‌وری کشاورزی (زئولیت‌های نانومتخلخل برای آزادسازی آهسته و دوز کارآمد آب و کود)، نانو کپسول‌ها برای تحویل علف‌کش و مدیریت ناقلین بیماری‌ها و نانوحسگرها برای تشخیص آفات اشاره کرد (۷۱، ۷۲، ۴۲ و ۵۰).

³⁷Quantum dots (QDs)³⁸Fluorescence resonance energy transfer (FRET)³⁹ Signaling ligands

می‌توان بیان کرد که حسگرهای مبتنی بر فناوری نانو به‌عنوان ابزاری برای تشخیص زودهنگام، دقیق، کارآمد، تکرارپذیر و مقرون به صرفه در تنش گیاهان ظاهر شده‌اند و نظارت بر سلامت گیاه را از طریق دستگاه‌های الکترونیکی امکان‌پذیر کرده‌اند. آن‌ها توانایی تشخیص پارامترهای بیولوژیکی از سلول‌های زنده را دارند. به آسانی می‌توان آن‌ها را بدون آسیب به قسمت‌های مختلف گیاه متصل کرد و اطلاعات به‌روز و دقیق را بدست آورد. همچنین قابلیت حمل، اطمینان و کاربرد عملی نانوحسگرها بالاست. پیشرفت‌های اخیر در این زمینه، پتانسیل آن‌ها را برای نظارت بر سلامت گیاه از نظر رشد و نمو، تشخیص تنش‌های گیاهی زنده و غیر زنده، سلامت بهتر خاک و افزایش بهره‌وری در جهان نشان داده است. چندوجهی بودن نانومواد و همچنین بهینه‌سازی سنجش‌ها برای افزایش گزینش‌پذیری و تشخیص سطح فوق‌العاده پاتوژن‌ها و سموم در محصولات زراعی و سایر کالاها، این طیف را بیشتر می‌کند. دستگاه‌های نانوتشخیصی دستی قابل حمل، چشم‌انداز بسیار زیادی برای کاربرد در شرایط میدانی دارند. ساخت نانوحسگرهای زیستی جدید برای کمک به نظارت مستمر بر فیتومتابولیت‌ها، هورمون‌ها و غیره در نظر گرفته شده است و در نتیجه راه را برای بینش بهتر در مسیرهای بیوسنتزی محصولات گیاهی مرتبط تجاری هموار می‌کند. درک وضعیت سلامت/متابولیک گیاهان از منظر تولید، غلظت، توزیع و اثرات آنالیت‌های خاص مختلف در مهندسی زیستی گیاهان برای عملکرد بالاتر و همچنین ایجاد گونه‌های مقاوم در برابر استرس و بیماری‌ها مفید خواهد بود و در نتیجه امنیت غذایی را تضمین می‌کند. حفاظت از گیاه زمانی امکان‌پذیر است که هر یک از ابزارهای نانوتکنولوژی به‌عنوان یک ابزار بالقوه برای بهبود حساسیت، دقت و سرعت شناسایی بیماری‌های گیاهی و آفات استفاده شود. در نتیجه با توجه به مزایای زیست محیطی این فناوری پیشنهاد می‌شود در مدیریت حفظ نباتات کشور بیشتر مورد توجه محققین قرار گیرد.



1. Amine, A., Mohammadi, H., Bourais, I., Palleschi, G., 2006. Enzyme inhibition-based biosensors for food safety and environmental monitoring. *Biosensors and Bioelectronics*. 21 (8); 1405-1423.
2. Antiochia, R., Vinci, G., Gorton, L., 2013. Rapid and direct determination of fructose in food: a new osmium polymer mediated biosensor. *Food Chemistry*. 140 (4); 742-747.
3. Anitha, K., Keerthiga, G., Hema Malini, A., 2019. Plant health monitoring system through image processing and defects overcoming through embedded system. *International Journal of Recent Technology and Engineering (IJRTE)*. 8 (1); 406-408.
4. Ayutsede, J., Gandhi, M., Sukigara, S., Ko, F., 2008. Carbon Nanotube Reinforced Bombyx mori Nanofibers by The Electrospinning Process. *Polymeric Materials Science and Engineering*. 91.
5. Binhi, V.N., 2004. Stochastic dynamics of magnetic nanoparticles and a mechanism of biological orientation in the geomagnetic field. arXiv preprint physics/0412158.
6. Brás, E.J., Fortes, A.M., Chu, V., Fernandes, P., Conde, J.P., 2019. Microfluidic device for the point of need detection of a pathogen infection biomarker in grapes. *Analyst*. 144 (16); 4871-4879.
7. Bhattacharyya, A., 2009. Nanoparticles-From Drug Delivery to Insect Pest Control. *Akshar*. 1(1): 1-7.
8. Brezolin, A.N. Martinazzo, J. Blassioli-Moraes, M.C. Manzoli, A. Steffens, J. Steffens, C., 2019. Highly sensitive sensor for trace level detection of Euschistus heros pheromone. *Industrial Biotechnology*, 15(6); 357-364.
9. Brezolin, A.N., Martinazzo, J. Steffens, J. Steffens, C., 2020. Nanostructured cantilever sensor using with Pani/MWCNT-COOH nanocomposites applied in the detection of pheromone. *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*. 31; 6008–6016.
10. Borisova, B., Sánchez, A., Jiménez-Falcao, S., Martín, M., Salazar, P., Parrado, C., Pingarrón, J.M., Villalonga, R., 2016. Reduced graphene oxide-carboxymethylcellulose layered with platinum nanoparticles/PAMAM dendrimer/magnetic nanoparticles hybrids. Application to the preparation of enzyme electrochemical biosensors. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 232; 84-90.
11. Cellini, A., Blasioli, S., Biondi, E., Bertaccini, A., Braschi, I., Spinelli, F., 2017. Potential applications and limitations of electronic nose devices for plant disease diagnosis. *Sensors*. 17 (11); 2596.
12. Chen, H., Yada, R., 2011. Nanotechnologies in agriculture: new tools for sustainable development. *Trends in Food Science & Technology*. 22 (11); 585-594.
13. Chen, C., Yuan, Z., Chang, H.T., Lu, F., Li, Z., Lu, C., 2016. Silver nanoclusters as fluorescent nanosensors for selective and sensitive nitrite detection. *Analytical Methods*. 8 (12); 2628_2633.
14. Chaubey, A., Malhotra, B., 2002. Mediated biosensors, *Biosensors and bioelectronics*. 17 (6-7); 441-456.
15. Cheng, S.M., Wang, J., Wang, Y.W., & Wei, Z.B., 2017. Discrimination of different types damage of tomato seedling by electronic nose. In ITM Web of conferences. 11; 01019.
16. Chhipa, H., & Joshi, P., 2016. Nanofertilisers, nanopesticides and nanosensors in agriculture. *Nanoscience in food and agriculture*. 1; 247-282.
17. Clarke, J., Wu, H.C., Jayasinghe, L., Patel, A., Reid, S., Bayley, H., 2009. Continuous base identification for single-molecule nanopore DNA sequencing. *Nature Nanotechnol*. 4 (4); 265–270.
18. Chalupowicz, L., Dombrovsky, A., Gaba, V., Luria, N., Reuven, M., Beerman, A., Manulis-Sasson, S., 2019. Diagnosis of plant diseases using the Nanopore sequencing platform. *Plant Pathol*. 68 (2); 229–238.
19. Dar, M.A., Kaushik, G., Villareal Chiu, J.F., 2020. Pollution status and biodegradation of organophosphate pesticides in the environment. In *Abatement of Environmental Pollutants*; Elsevier. 25-66 pp.
20. Dasary, S.S. Rai, U.S. Yu, H. Anjaneyulu, Y. Dubey, M. Ray, P.C., 2008. Gold nanoparticle based surface enhanced fluorescence for detection of organophosphorus agents. *Chemical physics letters*. 460 (1-3); 187-190.
21. Desoil, M., Gillis, P., Gossuin, Y., Pankhurst, Q.A., Hautot, D., 2005. Definitive identification of magnetite nanoparticles in the abdomen of the honeybee *Apis mellifera*. In *Journal of Physics: Conference Series*. 17: 45-49.
22. Duhan, J.S., Kumar, R., Kumar, N., Kaur, P., Nehra, K., Duhan, S., 2017. Nanotechnology: the new perspective in precision agriculture. *Biotechnology Reports*. 15; 11-23.
23. Edmundson, M.C., Capeness, M., Horsfall, L., 2014. Exploring the potential of metallic nanoparticles within synthetic biology. *New Biotechnol*. 31 (6); 572–578.

24. Esquivel, D.M.S., 2007. Magnetic nanoparticles in social insects: Are they the geomagnetic sensors? Entomological Society of America. Annual Meeting. 10; NO-0574.
25. Eun, A.J.C., Huang, L., Chew, F.T, Li, S.F.Y., Wong, S.M., 2002. Detection of two orchid viruses using quartz crystal microbalance (QCM) immunosensors. *J Virol Methods* 99:71–79.
26. Fang, Y., Umasankar, Y., Ramasamy, R.P., 2014. Electrochemical detection of p-ethylguaiaicol, a fungi infected fruit volatile using metal oxide nanoparticles. *Analyst*. 139; 3804–3810.
27. Galvagni, E., Fritzen, A.A., Graboski, A.M., Ballen, S.C., Steffens, J., Steffens, C., 2020. Detection of volatiles in dark chocolate flavored with orange essential oil by electronic nose. *Food Analytical Methods*. 13; 1421–1432.
28. Giannoulis, K.M., Giokas, D.L., Tsogas, G.Z., Vlessidis, A.G., 2014. Ligand-free gold nanoparticles as colorimetric probes for the non-destructive determination of total dithiocarbamate pesticides after solid phase extraction. *Talanta*. 119: 276–283.
29. Ghormade, V. Deshpande, M.V., Paknikar, K.M., 2011. Perspectives for nano-biotechnology enabled protection and nutrition of plants. *Biotechnology Advances*. 29 (6); 792_803.
30. Graboski, A.M., Zakrzewski, C.A., Shimizu, F.M., Paschoalin, R.T., Soares, A.C., Steffens, J., Paroul, N., Steffens, C., 2020. Electronic nose based on carbon nanocomposite sensors for clove essential oil detection. *ACS Sensors*. 5 (6); 1814-1821,
31. Gorb, E.V., Gorb, S.N., 2009. Contact mechanics at the insect-plant interface: how do insects stick and how do plants prevent this? In IUTAM Symposium on Scaling in Solid Mechanics: Proceedings of the IUTAM Symposium held in Cardiff, Springer Netherlands. 25–29.
32. Guan, H., Chi, D., Yu, J., Li, X., 2008. A novel photodegradable insecticide: Preparation, characterization and properties evaluation of nano-Imidacloprid. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 92(2); 83-91.
33. Guo, Y.R., Liu, S.Y., Gui, W.J., Zhu, G.N., 2009. Gold immunochromatographic assay for simultaneous detection of carbofuran and triazophos in water samples. *Anal Biochem*. 389(1):32–39.
34. Huang, X., Xu, J.M., Ji, H.F., Li, G.F., Chen, H.J., 2014. Quartz crystal microbalance-based biosensor for rapid and sensitive detection of maize chlorotic mottle virus. *Anal Methods*. 6:4530-4536.
35. Kashyap, P.L., Rai, P., Sharma, S., Chakdar, H., Kumar, S., Pandiyan, K., Srivastava, A.K., 2016. Nanotechnology for the detection and diagnosis of plant pathogens. In: Ranjan, S., *et al* (eds) *Nanoscience in food and agriculture 2, sustainable agriculture reviews 21*. Springer, Basel, pp 253-276.
36. Kashyap, P.L., Kumar, S., Jasrotia, P., Singh, D.P., and Singh, G.P., 2019. Nanosensors for plant disease diagnosis: Current understanding and future perspectives. *Nanoscience for Sustainable Agriculture*. 189-205.
37. Khater, M., Escosura-Muñiz, A., and Merkoçi, A., 2017. Biosensors for plant pathogen detection. *Biosens Bioelectron*. 93:72–86.
38. Konwarh, R., & Sharma, P.L., 2020. Nanosensor platforms for surveillance of plant pathogens and phytometabolites/analytes vis-à-vis plant health status. In *Nanomaterials for Agriculture and Forestry Applications*. pp. 357-385.
39. Kwak, S.Y., Wong, M.H., Lew, T.T.S., Bisker, G., Lee, M.A., Kaplan, A., Dong, J., Liu, A.T., Koman, V.B., Sinclair, R., Hamann, C., and Strano, M.S., 2017. Nanosensor technology applied to living plant systems. *Ann Rev Anal Chem* 10:113–140.
40. Jasrotia, P., Kashyap, P.L., Bhardwaj, A.K., Kumar, S., and Singh, G.P., 2018. Scope and applications of nanotechnology for wheat production: a review of recent advances. *Wheat Barley Res*. 10(1): 1–14.
41. Jin, H.J., Chen, J., Karageorgiou, V., Altman, G.H., and Kaplan, D.L., 2004. Human bone marrow stromal cell responses on electrospun silk fibroin mats. *Biomaterials*. 25(6): 1039-1047.
42. Joseph, T., Morrison, M., 2006. Nanotechnology in Agriculture and Food. A Nanoforum report. www.nanoforum.org.
43. John, S. A., Chattree, A., Ramteke, P. W., Shanthi, P., Nguyen, T.A., & Rajendran, S., 2022. Nanosensors for plant health monitoring. In *Nanosensors for Smart Agriculture*. 449-461 pp.
44. Lau, H.Y., Wang, Y., Wee, E.J.H., Botella, J.R., Trau, M., 2016. Field demonstration of a multiplexed point-of-care diagnostic platform for plant pathogens. *Analytical chemistry*. 88(16): 8074–8081.
45. Lau, H.Y., Wu, H., Wee, E.J.H., Trau, M., Wang, Y., Botellab, J.R. 2017. Specific and sensitive isothermal electrochemical biosensor for plant pathogen DNA detection with colloidal gold nanoparticles as probes. *Scientific reports*. 7(1): 38896.



46. Lee, K. Park, J. Lee, M.-S. Kim, J. Hyun, B.G. Kang, D.J. Na, k., Lee, C. Y., Bien, K., and Park, J.U., 2014. In-situ synthesis of carbon nanotube_graphite electronic devices and their integrations onto surfaces of live plants and insects. *Nano Lett.* 14 (5); 2647-2654.
47. Leiderer, P., Dekorsy, T., 2008. Interactions of nanoparticles and surfaces Tag der mÄundlichen PrÄufung: 25 April.
48. Li, H., Xie, C., Li, S., and Xu, K., 2012. Electropolymerized molecular imprinting on gold nanoparticlecarbon nanotube modifi ed electrode for electrochemical detection of triazophos. *Colloids and Surf B: Biointerfaces.* 89:175–181.
49. Lim, T.C., Ramakrishna, S., 2006. A conceptual review of nanosensors. *Zeitschrift für Naturforschung A.* 61(7-8); 402-412.
50. Liu, X.Y., Du, N., 2004. Zero-sized Effect of Nano-particles and Inverse Homogeneous Nucleation. *Journal of Biological Chemistry.* 279(7); 6124-6131.
51. Lou, C., Jing, T., Zhou, J., Tian, J., Zheng, Y., Wang, C., Zhao, Z., Lin, J., Liu, H., Zhao, C., & Guo, Z., 2020. Laccase immobilized polyaniline/magnetic graphene composite electrode for detecting hydroquinone. *Int. International Journal of Biological Macromolecules.* 149; 1130-1138.
52. Markom, M.A., Shakaff, A.M., Adom, A.H., Ahmad, M.N., Hidayat, W., Abdullah, A.H., & Fikri, N.A., 2009. Intelligent electronic nose system for basal stem rot disease detection. *Computers and Electronics in Agriculture.* 66 (2); 140-146.
53. Mahdavi, V., Rafiee-Dastjerdi, H., Asadi, A., Razmjou, J., Achachlouei, B.F., & Kamita, S.G., 2017. Effective management of the Phthorimaea operculella (Zeller) using PVA nanofibers loaded with Cinnamomum zeylanicum essential oil. *American Journal of Potato Research.* 94; 647-657.
54. Martinazzo, J., Brezolin, A.N., Paschoalin, R.T., Soares, A.C., Steffens, J., Steffens, C., 2021. Sexual pheromone detection using PANI•Ag nanohybrid and PANI/PSS nanocomposite nanosensors. *Analytical Methods.* 13 (35); 3900-3908.
55. Martinazzo, J., Ballen, S.C., Steffens, J., & Steffens, C., 2022. Sensing of pheromones from Euschistus heros (F.) stink bugs by nanosensors. *Sensors and Actuators Reports,* 4; 100071.
56. Martinelli, F., Scalenghe, R., Davino, S., Panno, S., Scuderi, G., Ruisi, P., Villa, P., Stroppiana, D., Boschetti, M., Goulart, L.R., Davis, C.E., Dandekar, A.M., 2015. Advanced methods of plant disease detection: a review. *Agron Sustain Dev* 35:1–25.
57. Medintz, I.L., 2006. Recent progress in developing FRET-based intracellular sensors for the detection of small molecule nutrients and ligands. *Trends Biotechnol.* 24 (12); 539-542.
58. Munawar, A. Ong, Y. Schirhagl, R. Tahir, M.A. Khan, W.S. Bajwa, S.Z., 2019. Nanosensors for diagnosis with optical, electric and mechanical transducers. *Royal Society of Chemistry Advances.* 9 (12); 6793-6803.
59. Nesakumar, N. Sethuraman, S. Krishnan, U.M. Rayappan, J.B.B., 2016. Electrochemical acetylcholinesterase biosensor based on ZnO nanocuboids modified platinum electrode for the detection of carbosulfan in rice. *Biosensors and Bioelectronics.* 77; 1070_1077.
60. Panoth, D., Manikoth, S.T., Jahan, F., Thulasi, K.M., Paravannoor, A., Vijayan, B.K., 2022. Nanosensors for pesticide detection in soil. In *Nanosensors for Smart Agriculture,* Elsevier. 237-258 pp.
61. Paul, R., Ostermann, E., Chen, Y., Saville, A.C., Yang, Y., Gu, Z., Wei, Q., 2021. Integrated microneedle-smartphone nucleic acid amplification platform for in-field diagnosis of plant diseases. *Biosens. Bioelectron.* 187; 113312.
62. Paul, R., Saville, A.C., Hansel, J.C., Ye, Y., Ball, C., Williams, A., Wei, Q., 2019. Extraction of plant DNA by microneedle patch for rapid detection of plant diseases. *ACS nano* 13(6); 6540–6549.
63. Pelosi, C. Barot, S. Capowiez, Y. Hedde, M. Vandenbulcke, F., 2014. Pesticides and earthworms. A review. *Agronomy for Sustainable Development.* 34; 199-228.
64. Prado, J.B., Mulay, P.R., Kasner, E.J., Bojes, H.K., 2017. Calvert, G.M., Acute pesticide-related illness among farmworkers: barriers to reporting to public health authorities. *Journal of Agromedicine.* 22; 395–405.
65. Rai, V., Acharya, S., Dey, N., 2012. Implications of nanobiosensors in agriculture. *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology.* 3 (2); 10.
66. Rafiee-Dastjerdi, H., Mahdavi, V., Asadi, A., Razmjou, J. & Fathi, B. 2017. The toxicity of nano-fiber loaded with essential oil of Coriandrum sativum L. on the potato tuber moth, Phthorimaea operculella Zeller. 6th International Conference on Nanotechnology, 9-10 February, Dubai, Emirate.
67. Ray, M., Ray, A., Dash, S., Mishra, A., Gopinath Achary, K., Nayak, S., Singh, S., 2017. Fungal disease detection in plants: traditional assays, novel diagnostic techniques and biosensors. *Biosens Bioelectron* 87:708–723



68. Rigo, A.A., de Cezaro, A.M., Muenchen, D.K., Martinazzo, J., Brezolin, A.N., Hoehne, L. Steffens, J. Steffens, C., 2019. Cantilever nanobiosensor based on the enzyme urease for detection of heavy metals. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*. 36; 1429-1437.
69. Saravanadevi, k., Renuga Devi, N., Dorothy, R., Joany, R.M., Rajendran, S., Nguyen, T.A., 2022. Nanotechnology for agriculture: an introduction. In *Nanosensors for Smart Agriculture*. Chapter 1; 3-23.
70. Savary, S., Ficke, A., Aubertot, J.N., Hollier, C., 2012. Crop losses due to diseases and their implications for global food production losses and food security. *Food Security*. 4(4); 519-537.
71. Scrinis, G., Lyons, K., 2007. The emerging nano-corporateparadigm nanotechnology and the transformation of nature, food and agri-food systems. *The International Journal of Sociology of Agriculture and Food*. 15(2): 22-44.
72. Scott, N.R., 2007. *Nanotechnology Opportunities in Agriculture and Food Systems*. Biological & Environmental Engineering, Cornell University NSF Nanoscale Science & Engineering Grantees Conference. Vol. 5.
73. Sekhon, B.S., 2014. Nanotechnology in agri-food production: an overview. *Nanotechnology, science and applications*. 7: 31–53.
74. Singh, A., Choudhary, M., Singh, M., Verma, H., Singh, S.P., Arora, K., 2015. DNA functionalized direct electro-deposited gold nanoaggregates for efficient detection of *Salmonella typhi*. *Bio Electrochemistry*. 105; 7-15.
75. Srivastava, A. K., Dev, A., & Karmakar, S., 2018. Nanosensors and nanobiosensors in food and agriculture. *Environmental Chemistry Letters*. 16; 161-182.
76. Sharma, P., Pandey, V., Sharma, M. M. M., Patra, A., Singh, B., Mehta, S., & Husen, A., 2021. A review on biosensors and nanosensors application in agroecosystems. *Nanoscale Research Letters*. 16; 1-24.
77. Shivashakarappa, K., Reddy, V., Tupakula, V.K., Farnian, A., Vuppula, A., & Gunnaiah, R., 2022. Nanotechnology for the detection of plant pathogens. *Plant Nano Biology*, 100018.
78. Sun, B., Gou, Y., Ma, Y., Zheng, X., Bai, R., Abdelmoaty, A.A.A., & Hu, F., 2017. Investigate electrochemical immunosensor of cortisol based on gold nanoparticles/magnetic functionalized reduced graphene oxide. *Biosensors and Bioelectronics*. 88: 55-62.
79. Steffens, C., Manzoli, A., Oliveira, J.E., Leite, F.L., Correa, D.S., Herrmann, P.S.P., 2014. Bioinspired sensor for insect pheromone analysis based on polyaniline functionalized AFM cantilever sensor. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 191; 643-649,
80. Stanisavljevic, M., Krizkova, S., Vaculovicova, M., Kizek, R., Adam, V., 2015. Quantum dots-fluorescence resonance energy transfer-based nanosensors and their application. *Biosens. Bioelectron*. 74; 562–574.
81. Tahir, M.A., Zhang, X., Cheng, H., Xu, D., Feng, Y., Sui, G., Chen, J., 2020. Klarite as a label-free SERS-based assay: a promising approach for atmospheric bioaerosol detection. *Analyst*. 145 (1); 277-285.
82. Umapathi, R., Ghoreishian, S. M., Sonwal, S., Rani, G. M., & Huh, Y.S., 2022. Portable electrochemical sensing methodologies for on-site detection of pesticide residues in fruits and vegetables. *Coordination Chemistry Reviews*. 453; 214305.
83. Wei, J., Liu, H., Liu, F., Zhu, M., Zhou, X., and Xing, D., 2014. Miniaturized paper-based gene sensor for rapid and sensitive identification of contagious plant virus. *ACS Applied Materials & Interfaces*. 6(24); 22577-22584.
84. Wehrenfennig, C. Schott, M. Gasch, T. Meixner, D. Düring, R.A. Vileckas, A. Kohl, C.D., 2013. An approach to sense pheromone concentration by pre-concentration and gas sensors. *Physica status solidi (a)*. 210 (5); 932–937.
85. Whitesides, G.M., 2006. The origins and the future of microfluidics. *Nature*. 442 (7101); 368-373.
86. Wolfert, S. Ge, L. Verdouw, C. Bogaardt, M.J. 2017. Big data in smart farming—a review. *Agricultural systems*. 153; 69-80.
87. Xu, Y., Ding, J., Chen, H., Zhao, Q., Hou, J., Yan, J., Wang, H., Ding, L., & Ren, N., 2013. Fast determination of sulfonamides from egg samples using magnetic multiwalled carbon nanotubes as adsorbents followed by liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Food Chem*. 140 (1-2); 83-90.
88. Yan, J., Guan, H., Yu, J., Chi, D., 2013. Acetylcholinesterase biosensor based on assembly of multiwall carbon nanotubes onto liposome bioreactors for detection of organophosphates pesticides. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 105 (3); 197-202.



89. Yavuz, S., Erkal, A., Kariper, I.A., Solak, A.O., Jeon, S., Mülazımođlu, I.E., Üstündađ, Z., 2016. Carbonaceous materials-12: a novel highly sensitive graphene oxide-based carbon electrode: preparation, characterization, and heavy metal analysis in food samples. *Food Analytical Methods*. 9 (2); 322-331.
90. Yu, L., Zhang, Q., Jin, D., Xu, Q., Hu, X., 2019. A promising voltammetric biosensor based on glutamate dehydrogenase/Fe₃O₄/graphene/chitosan nanobiocomposite for sensitive ammonium determination in PM_{2.5}. *Talanta*. 197; 622-630.
91. Yuksel, S., Schwenkbier, L., Pollok, S., Weber, K., Cialla-May, D., Popp, J., 2015. Label-free detection of *Phytophthora ramorum* using surface-enhanced Raman spectroscopy. *Analyst*. 140:7254–7262.
92. Zadran, S., Standley, S., Wong, K., Otiniano, E., Amighi, A., Baudry, M., 2012. Fluorescence resonance energy transfer (FRET)-based biosensors: visualizing cellular dynamics and bioenergetics. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 96 (4); 895-902.
93. Zarco-Tejada, P.J., González-Dugo, V., Berni, J.A., 2012. Fluorescence, temperature and narrow-band indices acquired from a UAV platform for water stress detection using a micro-hyperspectral imager and a thermal camera. *Remote Sensing of Environment*. 117; 322-337.
94. Zhan, F., Wang, T., Iradukunda, L., and Zhan, J., 2018. A gold nanoparticle-based lateral flow biosensor for sensitive visual detection of the potato late blight pathogen, *Phytophthora infestans*. *Analytica Chimica Acta*. 1036; 153-161.
95. Zhang, Y.Q., Shen, W.D., Xiang, R.L., Lan-Jian Zhuge, L.J., Gao, W.J., Wang, W.B., 2007. Formation of silk fibroin nanoparticles in water-miscible organic solvent and their characterization. *Journal of Nanoparticle Research*. 9 (5); 885-900
96. Zhao, M.X., Zeng, E.Z., 2015. Application of functional quantum dot nanoparticles as fluorescence probes in cell labeling and tumor diagnostic imaging. *Nanoscale research letters*. 10 (1); 1–9.
97. Zhu, Q., Wang, L., Dong, Q., Chang, S., Wen, K., Jia, S., Chu, Z., Wang, H., Gao, P., Zhao, H., Han, S., & Wang, Y., 2017. FRET-based glucose imaging identifies glucose signalling in response to biotic and abiotic stresses in rice roots. *Journal of plant physiology*. 215; 65-72.





A review: application of nanosensors technology in the management of pests and plant pathogens

Mehri Zargani¹, Hooshang Rafiee-Dastjerdi² and Vahid Mahdavi³

¹PhD candidate, Department of Plant Protection, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.

²Prof., Department of Plant Protection, Faculty of Agricultural and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.

(Corresponding author; hooshangrafiee@gmail.com).

³Assistant Prof., Plant Protection Research Department, Ardabil Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Ardabil (Moghan), Iran.

Abstract

The control of pests and plant diseases is a sensitive area in agriculture since it directly impacts on human health. For instance, the excessive use of pesticides causes contamination of agricultural products, environment, soil and water causing some risks such as pest resistance to pesticides, food contamination and cancer risk for consumers. In order to avoid these risks, monitoring pesticide residues in the environment has become a serious concern. Therefore, it is crucial to design and develop highly sensitive, efficient, reproducible and cost-effective techniques. The appearance of nanosensors in various agricultural sectors has led to real-time monitoring of pesticide residues, easier access to land conditions and agricultural products, pest attacks and plant pathogens, crop growth, climate changes and so on. Nanosensors are potential solutions for pest and plant pathogens management which can help to realize the innovative solutions in the field of sustainable agriculture. The current review focuses on the use of nanotechnology for more quick, inexpensive, and accurate in the field of plant protection. Plant protection is feasible when any of the nanotechnology tools are used as a potential tool to improve the sensitivity, accuracy, rapidness of identification of plant pathogen and pests. This research has introduced nanosensors in the field of plant protection. Hence, considering the environmental benefits of this technology, it is suggested that it gets more attention by researchers in the field of pest and plant pathogens management in the country.

Keywords: Pesticide residues, Sustainable agriculture, plant protection, Nanosensors





ترویج گیاهپزشکی

۱۴۰۲ سال پانزدهم

<http://www.ppect.ir>

تاریخ پذیرش مقاله ۱۴۰۲/۱۲/۲۰

مدیریت زراعی مهمترین بیماری‌های انباری سیب‌زمینی در استان خراسان رضوی

مجتبی مرادزاده اسکندری^{۱*}، محمدرضا حسینی^۲

^۱استادیار و عضو هیئت علمی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی، بخش تحقیقات گیاهپزشکی، مشهد، ایران.

پست الکترونیک نویسنده مسئول: mmeplantpathologist@gmail.com

^۲مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی بخش تحقیقات گیاهپزشکی، مشهد، ایران.

چکیده

بیماری‌های انباری غده سیب‌زمینی هر ساله خسارت زیادی به تولیدکنندگان این محصول وارد می‌کند. بررسی بیماری‌های انباری غده سیب‌زمینی در استان خراسان رضوی نشان داد که پوسیدگی خشک فوزاریومی غده، شوره سیاه ریزوکتونیایی و پوسیدگی نرم ناشی از پکتوباکتریوم به ترتیب رایج‌ترین بیماری‌های انباری هستند. با توجه به لزوم اقدامات زراعی برای کنترل این بیماری‌ها، تاثیر فاکتورهای رقم در دو سطح آگریا و دیامانت، زمان سرزنی اندام‌های هوایی در سه سطح پنج روز قبل، همزمان و پنج روز بعد از آخرین آبیاری و زمان برداشت در سه سطح نه، ۱۵ و ۲۱ روز پس از آخرین آبیاری روی بیماری‌های مهم انباری مورد بررسی قرار گرفت. آنالیزهای آماری نشان داد که رقم آگریا نسبت به رقم دیامانت از نظر میزان کاهش وزن و درصد پوسیدگی غده‌ها برتری داشته و به عبارت دیگر خاصیت انبارداری بهتری دارد. وقوع بیماری‌های انباری در تاریخ‌های سرزنی پنج روز و برداشت ۱۵ روز بعد از آخرین آبیاری در کمترین میزان خود بود.

واژه‌های کلیدی: برداشت، پوسیدگی خشک، رقم، سرزنی



در حال حاضر سیب‌زمینی در ۱۲۰ کشور جهان کشت می‌شود و کشت آن بویژه در کشورهای در حال توسعه روز به روز افزایش می‌یابد. در سال ۲۰۱۸ تولید جهانی سیب‌زمینی به ۲/۳۶۸ میلیون تن در ۵/۱۸ میلیون هکتار گزارش شد (۱۴). یکی از عوامل مهم در کاهش محصول سیب‌زمینی، وجود انواع بیماری‌های قارچی، باکتریایی، ویروسی، ویروئیدی، میکوپلاسمایی، نماتدی و بیماری‌های فیزیولوژیکی ناشی از شرایط نامناسب محیطی است (۱۴). که با شناخت صحیح این بیماری‌ها و بکارگیری روش‌های پیشگیری و کنترل می‌توان از خسارت آن‌ها تا حد زیادی جلوگیری بعمل آورد. مطابق گزارش فانو، میزان خسارت حاصل از بیماری‌های گیاهی در سیب‌زمینی تقریباً دو برابر بیشتر از حبوبات، سبزیجات و چغندر قند است (۱۳). در اثر حمله آفات و بیماری‌ها، عملکرد سیب‌زمینی بسته به میزان مقاومت و نوع آفت و بیماری تا ۱۰۰٪ کاهش می‌یابد. پوسیدگی غده‌های سیب‌زمینی یکی از مهم‌ترین بیماری‌های اقتصادی در زمان کاشت، پس از برداشت و انبار می‌باشد. به‌طور کلی این آلودگی‌ها که در زمان انتقال و انبارداری توسعه می‌یابند بیش از ۲۵٪ کل محصول را تحت تاثیر قرار می‌دهند (۱۰). هر ساله میزان قابل توجهی از سیب‌زمینی‌های انبار شده بدلیل ابتلا به بیماری‌های قارچی و سپس آلودگی به سایر عوامل ثانوی پوسیده و از بین می‌روند. در یک پژوهش، درصد از بین رفتن سیب‌زمینی در طول دوره انبارداری تقریباً ۴۰-۳۰٪ گزارش شد (۱۴). در تحقیقات انجام شده در ایران، عامل پوسیدگی و بوته‌میری سیب‌زمینی قارچهای *Fusarium oxysporum*، *Colletotrichum atramentarium*، *Rhizoctonia solani* و *Verticillium albo-atrum* معرفی شده است (۱).

در سایر مناطق دنیا نیز تحقیقات انجام شده در ارتباط با قارچ‌های بیماری‌زای غده سیب‌زمینی نشان می‌دهد که عوامل قارچی *Helminthosporium solani*، *C. atramentarium*، *Botrytis cinerea*، *Armillaria mellea*، *Alternaria* sp.، *Phytophthora*، *F. trichothecioides*، *F. solani*، *F. oxysporum*، *F. coeruleum*، *F. avenaceum*، *Phoma exigua*، *Sclerotinia*، *Spongospora subterranea*، *Rosellinia* sp.، *Rhizopus* sp.، *R. solani*، *Pythium* sp.، sp.، *Synchytium endobioticum*، *Sclerotium rolfsii*، *sclerotiorum* و *Verticillium* sp. موجب آلودگی غده سیب‌زمینی در انبار می‌شوند (۱۶، ۳، ۸، ۱۰). پوسیدگی خشک یکی از بیماری‌های مهم و محدودکننده سیب‌زمینی جهت نگهداری در انبار و در زمان حمل و نقل آن محسوب می‌شود. در این بیماری، غده‌های آلوده معمولاً خشک می‌شوند اما ممکن است گاهی پوسیدگی مرطوب نیز رخ دهد. پوسیدگی خشک را معمولاً گونه‌های فوزاریوم ایجاد می‌کند (۳).



این بیماری، غده‌ها را در انبار و غده‌های بذری را پس از کشت تحت تاثیر قرار می‌دهد. کاهش کارکرد مربوط به آن در انبار ۲۵-۶٪ است (۱۰). عامل بیماری، چند گونه از جنس فوزاریوم شامل *F. solani*, *F. trichothecioides* و *F. sambucinum*, *F. sulphureum*, *F. equiseti*, *oxysporum* و همچنین چندین گونه دیگر است (۳).

در مراحل اولیه وقوع این بیماری، روی سطح غده لکه‌هایی با ظاهر آفتاب سوخته و چروکیده ایجاد می‌شود. در شرایط مساعد این لکه‌ها توسعه یافته، بیماری به طرف داخل غده گسترش یافته و مطابق شکل یک، حفره‌های داخل غده تشکیل می‌شود که سطح آن را هیف قارچ به رنگ‌های مختلف سفید تا صورتی می‌پوشاند. در آلودگی‌های شدید، غده کاملا پوسیده و از بین می‌رود. کشت غده‌های مبتلا به این بیماری، منجر به عدم سبز شدن و یا ایجاد گیاهچه‌ها و بوته‌های ضعیفی می‌شود که محصول ناچیزی خواهند داشت (۱۷).

بیماری پوسیدگی نرم باکتریایی سیب‌زمینی یکی از بیماری‌های مهم در اکثر مناطق سیب‌زمینی‌کاری جهان می‌باشد. این بیماری در مزرعه و انبار سبب آلودگی بوته‌ها و غده‌های سیب‌زمینی می‌شود. خسارت ناشی از این بیماری زیاد و بسته به رقم و شرایط مزرعه و انبار متفاوت است. به عنوان مثال، تخمین زده می‌شود که ۸۰ درصد از پوسیدگی‌های نرم ساقه و غده در آمریکای شمالی ناشی از این باکتری است (۲). بیماری پوسیدگی نرم توسط سه باکتری *Pectobacterium carotovorum atrosepticum* و *Dickeya spp.* ایجاد می‌شود

علایم پوسیدگی نرم، با زخم‌های کوچک آسوخسته آغاز شده و به سرعت، قطر و عمق آنها افزایش می‌یابد. دو بخش مورد حمله، نرم و خمیری می‌شود و همزمان سطح آن تغییر رنگ داده و کمی فرو میرود. با اینکه بخش‌های درونی به مایعی کدر تبدیل می‌شود، سطح خارجی بافت ممکن است سالم به نظر برسد ولی در یک بازه سه تا پنج روزه به توده نرم و آبکی تبدیل شود (۱۰).

تراوش مایع کدر از غده‌های آلوده، دارای شمار فراوانی باکتری است که سبب انتشار و گسترش بیماری می‌شود (۱۰). بیماری شانکر ساقه زیر زمینی و شوره سیاه سیب‌زمینی توسط قارچ *Rhizoctonia solani* ایجاد و در اندام‌های زیرزمینی گیاه در اغلب مناطق کشت سیب‌زمینی در طول فصل زراعی رخ می‌دهد. خسارت ناشی از بیماری شانکر ریزوکتونیایی در مناطق مختلف کشت سیب‌زمینی حدود ۳۴-۵٪ برآورد شده است (۲).

علایم شوره سیاه غده که مربوط به سختینه‌های قارچ عامل بیماری است، به راحتی با چشم غیر مسلح روی غده‌ها دیده می‌شود. عامل بیماری در غده‌ها ایجاد پوسیدگی نمی‌کند ولی علایم آن بازار پسندی محصول را کاهش می‌دهد. شوره سیاه، روی غده‌های دخترتی در اواخر فصل و با از پای افتادن گیاه تشکیل می‌شود. این برجستگی‌های سیاه رنگ به راحتی از روی غده‌ها با ناخن کنده می‌شوند (۴).



منشاء بیماری، سختینه‌های موجود در خاک (خاکزاد) و روی غده‌های بذری (بذرزاد) است. سختینه‌ها در خاک و بقایای گیاهی باقی می‌مانند و یا با غده‌های بذری به انبار منتقل می‌شوند (۱۵و۶).

یکی از روش‌های به حداقل رساندن بیماری‌های انباری به غده‌های انباری، حذف اندام‌های هوایی بوته‌های سیب‌زمینی در مزارع قبل از برداشت به روش مکانیکی است. زمان حذف اندام‌های هوایی بسته به شرایط اقلیمی محل، وجود آفات ناقل و هدف (بذری یا خوراکی) متغیر می‌باشد. زمان برداشت، فاصله زمانی بین حذف اندام‌های هوایی تا برداشت نیز از دیگر فاکتورهای مهم در بحث کنترل بیماری‌های انباری می‌باشد (۱۰ و ۱۱).

با توجه به موارد فوق ضروری به‌نظر می‌رسید که ضمن شناسایی بیماری‌های مهم انباری، روش‌های کاهش خسارت بیماری‌های انباری سیب‌زمینی مورد مطالعه و بررسی قرار گیرد تا بدین ترتیب با مشخص شدن روش‌های موثر در کاهش خسارت آن‌ها گامی در جهت کمک به امر تولید سیب‌زمینی برداشته شود. هدف از این مقاله، در مرحله اول معرفی مهم‌ترین بیماری‌های انباری سیب‌زمینی در استان خراسان رضوی و در مرحله دوم مدیریت زراعی این دسته از بیماری‌ها در دو رقم آگریا و دیامانت می‌باشد.

مواد و روش‌ها

به منظور تعیین بررسی وضعیت بیماری‌های انباری غده سیب‌زمینی، سردخانه‌ها، انبارهای فنی و انبارهای سنتی استان خراسان رضوی مورد بازدید و بررسی قرار گرفت. نمونه‌برداری از هر انبار در طول یک فصل انبارداری، سه مرتبه (پاییز، زمستان و بهار قبل از فصل کشت) و در هر بازدید از غده‌های سیب‌زمینی، تعدادی از گونی‌های سیب‌زمینی بطور تصادفی انتخاب و تعداد کل غده شامل سالم و آلوده شمارش و ثبت شد. تعدادی از غده‌های دارای علائم آلودگی‌های قارچی بعنوان نمونه به آزمایشگاه منتقل شدند. پس از شست و شوی غده‌ها با آب معمولی و ضدعفونی با محلول هیپوکلریت سدیم یک درصد، قطعاتی از مرز بافت‌های سالم و آلوده جدا و روی محیط کشت‌های PDA و CMA کشت داده شدند. خالص‌سازی قارچ‌های جدا شده به روش نوک ریشه یا تک اسپور انجام گرفت. شناسایی جنس و گونه قارچ‌ها بر اساس مشخصات میکروسکوپی، ماکروسکوپی و با توجه به کلیدهای قارچ‌شناسی (۱۲) مربوطه انجام شد.

در بخش دوم پژوهش و به منظور بررسی تاثیر اقدامات زراعی در کاهش میزان بیماری‌های انباری، یک طرح اسپلیت پلات در ایستگاه تحقیقات کشاورزی مشهد پیاده‌سازی شد. در این پروژه، دو رقم آگریا و دیامانت به عنوان فاکتورهای

اصلی در نظر گرفته شدند. فاکتور فرعی این آزمایش، سه زمان برداشت شامل نه روز، ۱۵ روز و ۲۱ روز پس از آخرین آبیاری بود. فرعی‌ترین فاکتور، زمان سرزنی اندام‌های هوایی شامل پنج روز قبل از آخرین آبیاری، همزمان با آخرین آبیاری و پنج روز بعد از آخرین آبیاری در نظر گرفته شد. فرعی‌ترین تیمار در سه ردیف پنج متری کشت شد. فاصله بین ردیف‌ها ۷۵ سانتی‌متر و فاصله بین غده‌ها روی ردیف ۲۵ سانتی‌متر لحاظ شد. این آزمایش در چهار تکرار فاصله بین تیمارهای فرعی (زمان‌های برداشت) در هر بلوک، یک متر و فاصله بین بلوک‌ها (تکرارهای مختلف) سه متر در نظر گرفته شد. در ضمن برداشت هر تیمار، ده کیلو غده سیب‌زمینی بطور تصادفی برداشته و جهت نگهداری به داخل انبار انتقال یافتند. در بررسی غده‌های هر کیسه، درصد پوسیدگی، تعداد غده‌های سالم و غده‌های دارای علائم پوسیدگی مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج و بحث

در این بررسی، نتایج نشان داد که مهم‌ترین عامل قارچی فساد غده‌های سیب‌زمینی در انبارهای استان خراسان رضوی قارچ‌های *F. solani*، *F. oxysporum* می‌باشد (۱۲) در بررسی گونه‌های عامل پوسیدگی خشک در اکثر نقاط ایران نیز گزارش شده که بیشترین فراوانی عامل بیماری پوسیدگی خشک مربوط به گونه *F. oxysporum* و بیشترین خسارت مربوط به گونه *F. solani* بوده است (۱۳). لازم به ذکر است که بیماری‌های شوره سیاه ریزوکتونیایی و پوسیدگی نرم باکتریایی ناشی از پکتوباکتریوم در درجات بعدی اهمیت قرار داشتند (۱۲).

نتایج بررسی آزمایشگاهی غده‌ها نشان داد که ۵۲٪ از جدایه‌های بررسی شده متعلق به جنس فوزاریوم و بقیه مربوط به سایر قارچ‌ها می‌باشد. به غیر از جنس فوزاریوم، قارچ‌های *R. solani*، *A. solani*، *A. alternata*، *Colletotrichum* sp. شناسایی شد. در میان قارچ‌های فوق‌الذکر، بیشترین تعداد جدایه مربوط به قارچ *R. solani* و کمترین تعداد جدایه مربوط به قارچ *Geotrichum* sp. بود. با توجه به غالبیت بیماری پوسیدگی خشک در غده‌های سیب‌زمینی، فوزاریوم‌های جداسازی شده شناسایی و نتایج نشان داد که *F. oxysporum* و *F. solani* عوامل غالب این بیماری هستند.

در مورد تاثیر سه فاکتور رقم، تاریخ سرزنی و تاریخ برداشت روی بیماری‌های مهم انباری سیب‌زمینی نیز نتایج حاصل از آنالیز آماری نشان داد که بطور کلی رقم آگریا نسبت به رقم دیامانت از نظر میزان کاهش وزن و درصد پوسیدگی غده‌ها برتری داشته و به عبارت دیگر خاصیت انبارداری بهتری دارد (۱۲) در ارتباط با تاریخ‌های مختلف سرزنی که در این پژوهش مورد بررسی قرار گرفت، بهترین تاریخ سرزنی از نظر کمترین میزان وقوع بیماری‌های انباری، پنج روز بعد از



آخرین آبیاری و برداشت ۱۵ روز بعد از آخرین آبیاری گزارش شد (۱۲). مشاهدات میدانی نشان داد که بایستی بین تاریخ سرزنی و آخرین آبیاری یک فاصله پنج روزه وجود داشته باشد که ورود به مزرعه جهت اجرای عملیات امکان پذیر باشد. در مورد تاریخ‌های برداشت، پس از قطع آبیاری و انجام عملیات سرزنی، پوست غده‌ها ضخیم شده و مقاومت آن‌ها در برابر آسیب‌های مکانیکی همزمان با برداشت زیادتر می‌شود (۱۲). بهترین زمان برای ضخیم شدن پوست غده، حدود دو تا سه هفته پس از آخرین آبیاری می‌باشد. یافته‌های این پژوهش نیز بالاترین تاثیر تاریخ برداشت ۱۵ روز بعد از آخرین آبیاری در کنترل بیماری‌های انباری را تایید می‌کند (۵ و ۱۲). اگرچه تاریخ‌های برداشت دیرتر به بلوغ بیشتر غده کمک می‌کند ولی در مقابل، مدت زمان بیشتر ماندن غده‌ها در خاک، احتمال آلودگی به بیماری‌های خاکزاد را بیشتر می‌کند و به همین دلیل در بین سه تاریخ برداشت ارزیابی شده، تاریخ‌های نه و ۲۱ روز پس از آخرین آبیاری نسبت به تاریخ برداشت ۱۵ روز پس از آخرین آبیاری، از درصد وقوع بیشتر بیماری‌های انباری برخوردار بودند.

زخمی شدن و یا آفت‌زدگی غده‌ها در زمان برداشت، عدم رسیدگی فیزیولوژیکی غده‌ها، شرایط نامناسب انبار و عدم انبارداری صحیح به عنوان فاکتورهای تشدیدکننده پوسیدگی سیب‌زمینی در انبار و سردخانه معرفی شده‌اند (۱۴).

توصیه‌ها

به‌طور کلی، نتایج ارزیابی اقدامات زراعی جهت مدیریت بیماری‌های انباری نشان داد که تیمارها از نظر کاهش وزن، تفاوت معنی‌داری با هم ندارند. کمترین درصد پوسیدگی مربوط به تیمار رقم آگریا، سرزنی پنج روز بعد از آخرین آبیاری و برداشت ۱۵ روز پس از آخرین آبیاری بود. بیشترین درصد پوسیدگی از تیمار دیامانت، سرزنی پنج روز بعد از آخرین آبیاری و برداشت نه روز بعد از آخرین آبیاری گزارش شد.

منابع

۱. آزادور، م.، نجفی‌نیا، م. و ارشاد، ج. (۱۳۸۶). بررسی عوامل پوسیدگی غده سیب‌زمینی در انبارها و سردخانه‌های منطقه جیرفت. پژوهش و سازندگی در زراعت و باغبانی، سال بیستم، ۱ (۷۵). ص. ۹۷-۱۰۱.
۲. باقری، ع. (۱۳۹۸). مدیریت بیماری پوسیدگی نرم باکتریایی سیب‌زمینی. علوم کاربردی سیب‌زمینی، سال دوم، شماره ۲. ص. ۷-۱۴.
۳. خوشنویس، ل.، روحی‌بخش، ا. و موسی‌نژاد، ص. (۱۳۹۵). عوامل و شدت بیماری پوسیدگی خشک سیب‌زمینی در انبارهای اردبیل و ارزیابی مقاومت ارقام. زیست‌شناسی میکروارگانیسم‌ها، ۵ (۱۸). ص. ۲۰۲-۱۸۳.
۴. سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی. (۱۳۸۴). مطالعه روش‌های پیشگیری و کنترل عوامل بیماری‌زای سیب‌زمینی در شرایط انبار. گزارش نهایی پروژه تحقیقاتی با شماره فروست سامانه فیپاک ۸۵/۶۱۹.
۵. سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی. (۱۳۹۴). کاهش ضایعات غده بذری سیب‌زمینی از طریق کنترل پوسیدگی‌های فوزاریومی انبار. گزارش نهایی پروژه تحقیقاتی با شماره فروست سامانه فیپاک ۵۲۰۷۴.
۶. شریفی، ک. (۱۳۹۴). راهنمای شناسایی و مدیریت بیماری شانکر ساقه زیرزمینی و شوره سیاه سیب‌زمینی (*Rhizoctonia solani*). نشریه ترویجی موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور، ۲۳ صفحه.
۷. مرادزاده اسکندری، م. (۱۳۹۶). مدیریت بیماری پوسیدگی خشک فوزاریومی غده‌های بذری سیب‌زمینی. دستورالعمل اجرایی موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور، شماره فروست ۵۲۸۸۳. ۱۳ صفحه.
۸. مرادزاده اسکندری، م. (۱۳۹۸). کنترل بیماری انباری پوسیدگی خشک فوزاریومی از طریق ضدعفونی غده‌های بذری سیب‌زمینی. علوم کاربردی سیب‌زمینی، ۲ (۱). ص. ۱۵-۲۲.
۹. مرادزاده اسکندری، م. (۱۴۰۰). مدیریت بیماری ریزوکتونیایی سیب‌زمینی با تاکید بر ترکیبات ضدعفونی‌کننده غده بذری. علوم کاربردی سیب‌زمینی، ۴ (۱). ص. ۸-۱.
۱۰. مرادزاده اسکندری، م. و علیپور رشتخوار، س. (۱۴۰۰). شناسایی و مدیریت بیماری‌های غده سیب‌زمینی. دستنامه ترویجی نشر آموزش کشاورزی، ۸۲ صفحه.
۱۱. موسی‌پور گرجی، ا. و حسن‌پناه، د. (۱۳۹۷). عوامل مدیریتی و تاثیر آنها بر مراحل مختلف رشد سیب‌زمینی. دستورالعمل فنی موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، ۶۱ صفحه.



12. FAOSTAT (2018) World statistics Sept 2018. The United Nations selected series.
https://unstats.un.org/unsd/mbs/data_files/t51.pdf
13. Karpukhin M. Yu., Keita, F. (2020) Potato diseases and measures to control them in the conditions of the middle Urals. *E3S Web of conferences* 222. 6pp.
14. Kiptoo J.J, Abbas A, Bhatti A.M, Usman H.M, Shad M, Umer M, Atiq M.N, Alam S.M, Ateeq M, Khan M, Peris N.W, Razaq Z, Anwar N, Iqbal S. (2021). *Rhizoctonia solani* of potato and its management: a review. *Plant protection*, 5(3), 157-169.
15. Oyesola O.O, Aworunse O.S, Oniha M.I, Obiazikwor O.H, Bello O, Atolagbe O.M, Sobowale A.A, Popoola J.O, Obembe O.O. (2021) Impact and management of disease of *Solanum tuberosum*. DOI: 10.5772/intechopen.98899.
16. Pringle B, Clayton R (2009). *Potatoes Postharvest*. (ISBN 0851995020). United Kingdom: CABI.





The cultural management of the most important potato storage disease in Khorasan Razavi Province

Mojtabi Moradzadeh Eskandari ^{1*}, Mohammad Reza Hosseini²

^{1*}Assistant professor and faculty member of Khorasan Razavi Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Department of Plant Medicine Research, Mashhad, Iran.

Email: mmeplantpathologist@gmail.com

²Khorasan Razavi Agriculture and Natural Resources Research and Education Center, Department of Plant Medicine Research, Mashhad,

Abstract

Potato tuber storage diseases cause great damage to the producers every year. The study of this disease in Khorasan Razavi Province demonstrated that *Fusarium* tuber rot, *Rhizoctonia* black scurf and bacterial soft rot caused by *Pectobacterium* sp. are the most common storage diseases, respectively. Considering the necessity of cultural control of this disease, the effect of cultivar as Agria and Diamond, haulm destruction date on three interval contains three days before, at the same time and five days after the last irrigation and the harvesting time on irrigation three in nine, fifteen and twenty-one days after the last irrigation was investigated. Statistical analyses showed that Agria cultivar was superior to Diamond cultivar in terms of weight loss and tuber decay percentage. The incidence of storage diseases was at its lowest in the five days of planting and 15 days of harvesting after the last irrigation.

Keywords: Harvesting, Dry Rot, Cultivar, Haulm destruction

