پژوهش های کاربردی در خشک میوه ها
Journal Of Applied Researches In NUTS

Evaluation of the Efficacy of Nanoparticles and Commercial Fungicides in Inhibiting Collar and Root Rot Pathogens in Pistachio Trees

Jalal Shabani [1] , Fatemeh Hassanzadeh Davarani [2*] , Amir Hossein Mohammadi [3]

1. M.Sc. Graduate of Plant Pathology, Raf.C., Islamic Azad University, Rafsanjan, Iran

2. * Department of Plant Pathology, Raf.C., Islamic Azad University, Rafsanjan, Iran.

3. Pistachio Research Center, Horticultural Sciences Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Rafsanjan, Iran

*Corresponding author: Fatemeh Hassanzadeh Davarani, E-mail address: fa.hassanzadeh3535@iau.ac.ir

Recieved:2025/9/4 Accepted :2025/9/17

Abstract

Crown and root rot is one of the most prevalent diseases affecting pistachio trees in Iran, primarily caused by various species of the genus *Phytophthora*. This study investigated the effects of chitosan, copper nanoparticles, chitosan-copper nanoparticles, and registered fungicides including copper oxychloride, fosetyl-aluminum, and metalaxyl-mancozeb at concentrations of 0, 10, 50, 100, 500, 1000, and 2000 ppm on radial growth, sporangium production, and zoospore formation of two pathogenic species: *Phytophthora drechsleri* (Pd) and *Ph. citrophthora* (Pc) under in vitro conditions. Radial growth was assessed using V8 agar medium, while sporangium production was evaluated on LBA medium. The results revealed that increasing fungicide concentrations significantly reduced radial growth, sporangium production, and zoospore formation in both species. The lowest radial growth of Pd was observed with copper oxychloride treatment, whereas the highest was recorded with chitosan and chitosan-copper nanoparticle treatments. The minimum sporangium counts for Pd occurred at 1000 and 2000 ppm. For Pc, the lowest radial growth was found in fosetyl-aluminum treatment, while the highest was in copper and copper-chitosan nanoparticle treatments. Zoospore production was lowest in treatments with chitosan, copper nanoparticles, and copper-chitosan nanoparticles at concentrations ranging from 500 to 2000 ppm. Based on these findings, copper oxychloride demonstrated the most effective inhibition of vegetative growth, sporangium production, and zoospore formation in both Pd and Pc, suggesting its potential as a promising agent for managing pistachio crown and root rot disease.

Keywords: copper nanoparticle, chitosan, Fungicide, Management, *Phytophthora*

Published by Islamic Azad University, Rafsanjan .This is an open access article under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0) License
/http://creativecommons.org/licenses/by/4.0

Extended Abstract

Introduction

Crown and root rot is one of the most prevalent and economically damaging diseases affecting pistachio trees in Iran. The disease is primarily caused by various species of the genus *Phytophthora*, with *Phytophthora drechsleri* (Pd) and *Ph. citrophthora* (Pc) being the most aggressive and widespread pathogens in pistachio orchards. Traditional chemical fungicides have been widely used to manage this disease, but concerns regarding environmental safety, pathogen resistance, and sustainability have led researchers to explore alternative control strategies. Biocompatible compounds such as chitosan and nanomaterials like copper nanoparticles (CuNPs) have shown promising antimicrobial properties and potential for eco-friendly disease management. This study aimed to evaluate the effects of chitosan, CuNPs, chitosan–copper nanocomposites, and registered fungicides—including copper oxychloride, fosetyl-aluminum, and metalaxyl–mancozeb—on the radial growth, sporangium production, and zoospore formation of Pd and Pc under in vitro conditions.

Materials and Methods

The experiment was conducted under laboratory conditions using two pathogenic *Phytophthora* species: Pd and Pc. Treatments included chitosan, copper nanoparticles, chitosan–copper nanocomposites, and three registered fungicides: copper oxychloride, fosetyl-aluminum, and metalaxyl–mancozeb. Each compound was tested at concentrations of 0 (control), 10, 50, 100, 500, 1000, and 2000 ppm. Radial growth was assessed using V8 agar medium, while sporangium production was evaluated on LBA medium. Zoospore formation was quantified through microscopic examination after incubation in sterile distilled water. All treatments were applied to fungal cultures, and measurements were taken at defined intervals. Each experiment was performed in triplicate, and data were analyzed using ANOVA to determine significant differences among treatments and concentrations.

Results and Discussion

The results revealed that increasing concentrations of fungicides and nanoparticle-based treatments significantly reduced radial growth, sporangium production, and zoospore formation in both Pd and Pc. For Pd, the lowest radial growth was observed with copper oxychloride treatment, while the highest was recorded with chitosan and chitosan–copper nanoparticle treatments. Sporangium production in Pd was most effectively suppressed at 1000 and 2000 ppm, particularly with copper oxychloride. For Pc, the lowest radial growth was found in fosetyl-aluminum treatment, whereas the highest was observed in copper and copper–chitosan nanoparticle treatments. Zoospore production was lowest in treatments with chitosan, copper nanoparticles, and chitosan–copper nanocomposites at concentrations ranging from 500 to 2000 ppm. These findings suggest that while nanomaterials may have moderate effects on mycelial growth, they significantly interfere with reproductive structures, which are critical for disease dissemination. Overall, copper oxychloride emerged as the most effective treatment across both species, demonstrating strong antifungal activity in suppressing vegetative growth and reproductive capacity. Chitosan and nanoparticle-based treatments also showed promising results, particularly in reducing zoospore formation. These results support the potential integration of nanomaterials and biocompatible agents into pistachio disease management programs, offering sustainable alternatives to conventional fungicides.

Conclusion

This study demonstrated that copper oxychloride is the most effective agent in inhibiting the growth and sporulation of *Ph. drechsleri* and *Ph. citrophthora* under in vitro conditions. Chitosan, copper nanoparticles, and chitosan–copper nanocomposites also exhibited significant antifungal activity, especially in suppressing zoospore formation at higher concentrations. The integration of conventional fungicides with nanotechnology-based treatments could enhance disease control strategies in pistachio orchards. Such approaches may lead to more sustainable and efficient management of crown and root rot, minimizing environmental risks and improving crop health. Further research is recommended to evaluate field performance, formulation stability, and long-term safety of these treatments.

پژوهش های کاربردی در خشک میوه ها
Journal Of Applied Researches In NUTS

بررسی اثربخشی نانوذرات و قارچ‌کش‌های تجاری در مهار رشد عوامل پوسیدگی طوقه و ریشه درختان پسته

جلال شعبانی[۱]، فاطمه حسن زاده داورانی[۲*]، امیرحسین محمدی[۳]

۱. دانش آموخته کارشناسی ارشد بیماری شناسی گیاهی، واحد رفسنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، رفسنجان، ایران.

۲. *گروه بیماری شناسی گیاهی، واحد رفسنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، رفسنجان، ایران.

۳. پژوهشکده پسته، موسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رفسنجان، ایران.

*نویسنده مسئول: فاطمه حسن زاده داورانی. آدرس پست الکترونیک: fa.hassanzadeh3535@iau.ac.ir

دریافت : ۱۴۰۴/۶/۱۳ پذیرش : ۱۴۰۴/۶/۲۶

چکیده

پوسیدگی طوقه و ریشه یکی از بیماری‌های رایج درختان پسته در ایران است که عامل آن گونه‌های مختلف جنس *Phytophthora* می‌باشند. در این پژوهش، اثر کیتوزان، نانوذره مس، نانوذره کیتوزان-مس و قارچ‌کش‌های ثبت شده شامل اکسی‌کلرور مس، فوزتیل آلومینیوم و متالاکسیل-مانکوزب در غلظت‌های صفر، ۱۰، ۵۰، ۱۰۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام بر رشد شعاعی، تولید اسپورانژیوم و زئوسپور دو گونه بیمارگر Pd (*Ph. drechsleri*) و Pc (*Ph. cit-rophthora*) در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت. برای ارزیابی رشد شعاعی از محیط کشت V8 و برای بررسی تولید اسپورانژیوم از محیط LBA استفاده شد. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت قارچ‌کش‌ها، رشد شعاعی، تولید اسپورانژیوم و زئوسپور در هر دو گونه به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. کم ترین رشد شعاعی Pd در تیمار اکسی‌کلرور مس و بیش ترین آن در تیمارهای کیتوزان و نانوذره کیتوزان-مس مشاهده شد. همچنین کمترین تعداد اسپورانژیوم Pd در غلظت‌های ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام به‌دست آمد. در مورد Pc، کمترین رشد شعاعی در تیمار فوزتیل آلومینیوم و بیشترین آن در تیمارهای نانوذره مس و نانوذره مس-کیتوزان مشاهده گردید. در تیمارهای کیتوزان، نانوذره مس و نانوذره مس-کیتوزان، کمترین تعداد زئوسپور در غلظت‌های ۵۰۰ تا ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام ثبت شد. بر اساس یافته‌ها، تیمار اکسی‌کلرور مس بیشترین تأثیر را در کاهش رشد رویشی، تولید اسپورانژیوم و زئوسپور گونه‌های Pd و Pc نشان داد و می‌تواند به‌عنوان گزینه‌ای مؤثر در مدیریت بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه پسته مطرح گردد.

کلمات کلیدی: نانو ذره مس، کیتوزان ، قارچ کش، ،مدیریت، فیتوفتورا

انتشار این مقاله به صورت دسترسی آزاد با گواهی CC BY-NC ۴.۰ صورت گرفته است.

/http://creativecommons.org/licenses/by/4.0

مقدمه

گیاه پسته (*Pistacia vera* L.) به‌عنوان یکی از مهم‌ترین محصولات باغی و سومین کالای صادراتی غیرنفتی ایران، از جایگاه اقتصادی ویژه‌ای در میان محصولات کشاورزی برخوردار است. کیفیت ممتاز پسته ایرانی در میان کشورهای تولیدکننده، آن را به محصولی مرغوب و استراتژیک در صادرات تبدیل کرده است که حفظ جایگاه جهانی آن نیازمند تلاش‌های مستمر می‌باشد (Ghasemi and Soozani, 2008). با توجه به مشکلات ناشی از وابستگی اقتصاد ایران به صادرات نفت، اهمیت صادرات محصولات غیرنفتی روزافزون است. یکی از مهم‌ترین منابع تأمین ارز کشور، صادرات محصولات کشاورزی از جمله پسته می‌باشد. پسته نه تنها منبعی مهم برای ارزآوری محسوب می‌شود، بلکه به دلیل ویژگی‌های بالقوه‌ای مانند مقاومت نسبی به خشکی و شوری خاک و آب، محصولی مناسب برای مناطق کویری و خشک ایران به‌شمار می‌رود (Abrishami, 1994). بر اساس آمار سال ۱۳۹۶، سطح زیر کشت باغ‌های پسته در ایران ۴۷۹,۳۶۸ هکتار بوده که از این میزان، ۳۷۶,۷۲۶ هکتار باغ‌های بارور و ۱۰۲,۶۴۲ هکتار باغ‌های غیر بارور بوده‌اند. تولید پسته در این سال ۳۱۷,۴۸۵ تن گزارش شده و میانگین عملکرد آن ۸۴۳ کیلوگرم در هکتار بوده است. استان‌های کرمان، خراسان رضوی، یزد، فارس، سمنان، خراسان جنوبی، قم، مرکزی، سیستان و بلوچستان، تهران و اصفهان از جمله استان‌های عمده تولیدکننده پسته هستند (Ahmadi et al., 2018). از مهم‌ترین بیماری‌های درختان پسته در ایران می‌توان به پوسیدگی فیتوفتورایی طوقه و ریشه، نماتد مولد گره ریشه و پژمردگی ورتیسلیومی اشاره کرد. بیماری پوسیدگی فیتوفتورایی که در میان باغداران با نام «شیره سیاه» شناخته می‌شود، در شرایط مساعد موجب خسارت شدید به درختان بارور و غیر بارور می‌گردد. در برخی باغ‌های منطقه رفسنجان، میزان مرگ‌ومیر ناشی از این بیماری تا ۱۱ درصد و به‌طور متوسط ۲,۷ درصد گزارش شده است (Mirabolfathi et al., 1989). گونه‌های مختلفی از جنس *Phytophthora* از مناطق پسته‌کاری کشور از جمله: *P. drechsleri*, *P. citrophthora*, *P. cryptogea*, *P. nicotianae*, *P. parsiana*, *P. pistaciae*, *P. melonis* گزارش شده‌اند (Bani-Hashemi, 1989). در حال حاضر، برای مدیریت این بیماری، تلفیقی از روش‌های زراعی مانند مدیریت آبیاری و اصلاح بافت خاک جهت بهبود نفوذپذیری آب پیشنهاد شده است (Moradi, and Masoumi, 2011). با این حال، استفاده از قارچ‌کش‌هایی مانند فوزتیل آلومینیوم در زمان مناسب برای کنترل بیماری ضروری است (Moradi et al., 2017). استفاده از ترکیبات شیمیایی همواره با محدودیت‌هایی همراه بوده است؛ از جمله دوام پایین، عدم محافظت بلندمدت، و اختلال در تعادل میکروبی خاک که می‌تواند موجب افزایش فعالیت عوامل بیماری‌زا گردد (Zafari, 1991). کاهش تعداد قارچ‌کش‌های مؤثر و تأییدشده، نگرانی‌های زیست‌محیطی و بهداشتی، و توسعه مقاومت در پاتوژن‌های هدف (Kuck and Gisi, 2007)، در کنار سهم پایین آفت‌کش‌های با منشأ گیاهی و میکروبی در بازار (Greaves, 2011)، ضرورت تحقیق در روش‌های جایگزین را نمایان می‌سازد (Deliopoulos et al., 2010). در این راستا، استفاده از ترکیبات بیولوژیک فاقد اثرات زیان‌بار زیست‌محیطی که بتوانند پیش از مواجهه با عامل بیماری‌زا، مکانیسم‌های دفاعی گیاه را فعال کنند، اهمیت ویژه‌ای دارد. یکی از این ترکیبات، کیتوزان است؛ پلیمری طبیعی، غیرسمی و با منشأ حیوانی که از داستیله شدن کیتین حاصل می‌شود و دارای دو عملکرد هم‌زمان در توقف رشد میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا و فعال‌سازی پاسخ‌های دفاعی گیاه می‌باشد (Saharan et al., 2013). هم چنین فناوری نانو به عنوان رویکردی نوین در کنترل عوامل بیماری‌زا، با غلبه بر محدودیت‌های اندازه مواد، چشم‌انداز جدیدی در علم ایجاد کرده است. نسبت سطح به حجم بالا و خواص فیزیکی و شیمیایی منحصر به‌فرد نانوذرات، تماس آن‌ها با میکروب‌ها را افزایش می‌دهد. فعالیت ضد میکروبی نانوذراتی مانند نقره، مس ، دی‌اکسید تیتانیوم و اکسید روی به اثبات رسیده و تأثیر آن‌ها بر قارچ‌ها، باکتری‌ها و ویروس‌ها مورد توجه قرار گرفته است. توجه به اهمیت بیماری گموز در درختان پسته و میزان خسارت آن، استفاده از روش‌های تلفیقی شامل مدیریت آبیاری، ضدعفونی طوقه‌های آلوده با قارچ‌کش‌هایی مانند مخلوط بردو و اکسی‌کلراید مس، و سم‌پاشی اندام‌های هوایی با قارچ‌کش‌های سیستمیک مانند الیت توصیه می‌شود. با این حال، حذف کامل بیماری در باغ امکان‌پذیر نیست و باقی‌ماندن سموم در محصول می‌تواند منجر به برگشت محموله‌های صادراتی گردد. یکی از راهکارهای مؤثر، استفاده از ارقام مقاوم (Moradi et al., 2012) یا مقاوم‌سازی نهال ها است (Esmaeilpour et al., 2016). با توجه به زمان‌بر بودن تولید ارقام مقاوم، استفاده از محرک‌های شیمیایی مانند کیتوزان و نانوذرات

مس می‌تواند با هزینه‌ای کمتر، مقاومت نهال‌ها را افزایش داده و خسارت بیماری را کاهش دهد. از آنجا که فرموله‌سازی کیتوزان به‌صورت نانوذرات موجب افزایش فعالیت ضد میکروبی آن می‌شود، و با توجه به خاصیت ضد قارچی نانوذرات مس، هدف این تحقیق بررسی تأثیر ترکیب کیتوزان، نانوذره اکسید مس و نانوکامپوزیت کیتوزان–مس بر بازدارندگی دو گونه *Ph. drechsleri* و*P. citrophthora* عامل بیماری گموز پسته می‌باشد.

مواد و روش ها

تهیه جدایه های قارچی

در این تحقیق از دو گونه قارچ *Phytophthora drechsleri* (Pd) ، *P. citrophthora* (Pc) موجود در کلکسیون قارچ پژوهشکده پسته که قبلاً از درختان پسته جمع آوری و شناسایی شده بودند، استفاده گردید. برای کشت این قارچ ها از محیط کشت عصاره هشت سبزی-آگار (V8 juice agar) استفاده شد.

تهیه محیط کشت برای کشت و نگهداری گونه های فیتوفتورا

محیط کشت V8

برای تهیه محیط کشت V8 ابتدا آب سبزیجات شرکت سنیچ را تهیه کردیم.سپس به ازای هر لیتر از آب سبزیجات ۱۵ گرم اکسید کلسیم را اضافه کرده و جوشاندیم. و در ادامه پس از خنک شدن مایع آن را در ۳۵۰۰rpm سانتریفیوژ کرده تا اکسید کلسیم و ذرات اضافی را جدا کرده و محلول شفافی حاصل شد. ۲۰۰ میلی‌لیتر از محلول حاصل را به حجم یک لیتر رسانده و با اضافه کردن ۱۸ گرم آگار از شرکت Q-lab در اتوکلاو با دمای۱۲۱درجه سانتی گراد و فشار ۱۵ پوند بر اینچ مربع به مدت ۲۰ دقیقه استریل گردید.

نحوه ی نگهداری جدایه های قارچ *Phytophthora*

برای نگهداری ایزوله های قارچ ۳۰ میلی لیتر محیط کشت V8 را در فالکون تیوب های ۵۰ میلی لیتری ریخته و پس از بستن کامل محیط کشت به صورت شیب دار و پس از گذشت یک شبانه روز با استفاده از چوب پنبه سوراخ کن یک دیسک ۵ میلی متری را در میانه محیط کشت قرار داده و فالکون تیوب ها را پس از انکوبه کردن در یخچال نگهداری شد.

تهیه و انتخاب قارچ کش ها،کیتوزان و نانو ذرات

در این تحقیق از قارچ کش های الیت، اکسی کلرور مس و فاکومیل و کیتوزان از شرکت sigma و نانو ذره اکسید مس(Cuo) از شرکت sigma و نانو ذره مس-کیتوزان با غلظت های مختلف روی رشد رویشی و تعداد اسپورانژیوم قارچ *Phytophthora drechsleri* و *P. citrophthora* استفاده شد.

تهیه نانو ذره مس-کیتوزان

به منظور تهیه نانو ذره مس-کیتوزان از دو روش استفاده گردید. در روش jaiswal (2012) ۱ گرم کیتوزان را در ۱۰۰ میلی لیتر استیک اسید ۵٪ (v/v)بر روی مگنت استیرر به مدت دو ساعت حل کرده و سپس ۳ گرم سولفات مس را به محلول کیتوزان اضافه کردیم.به منظور حل شدن کامل سولفات مس با قطره چکان چند قطره از NaOH ۲ مولار را به محلول اضافه کرده تا کاملا سولفات مس واکنش دهد. و در ادامه پس از صاف کردن محصول بدست آمده با کاغذ صافی استریل و شست وشو نانو ذره با آب مقطر استریل، به مدت یک شب در آون با دمای ۶۰ درجه قرار داده شد تا نانو ذره به طور کامل خشک شود. (Jaiswal., et al., 2012). در روش Saharan (2013) ۰/۱ گرم کیتوزان را در ۱۰۰ میلی لیتر استیک اسید ۱٪ (v/v) بر روی مگنت استیرر به مدت ۲۴ ساعت حل کرده و سپس ۰/۱ گرم سولفات مس را به محلول کیتوزان اضافه شد. و در ادامه ۱ گرم از TPPرا در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر استریل حل کرده و با قطره چکان بر روی استیرر به محلول کیتوزان و

مس اضافه کرده تا محلول به شکل ابری در آید. و پس از ۱۰ دقیقه هم خوردن محلول به منظور رسیدن به یک محلول یک نواخت،نانو ذره را در ۱۰۰۰ rpm سانتریفیوژ کرده و پس از آب شویی در آون در دمای ۶۰ درجه خشک شد. به منظور حل شدن کامل سولفات مس با قطره چکان چند قطره از NaOH ۲ مولار را به محلول اضافه کرده تا کاملا سولفات مس واکنش دهد. و در ادامه پس از صاف کردن محصول بدست آمده با کاغذ صافی استریل و شست و شو نانو ذره با آب مقطر استریل، به مدت یک شب در آون با دمای ۶۰ درجه قرار داده شد تا نانو ذره به طور کامل خشک شد. (Saharan et al., 2015)

ررسی ساختار نانو ذره مس-کیتوزان با استفاده از میکروسکوپ الکترونی(SEM)

برای بررسی ساختار نانو ذره و اندازه گیری قطر نانو ذرات نمونه ها برای میکروسکوپ الکترونی نشر میدانی (FE-SEM) بنیاد علوم کاربردی رازی مدل MIRA3 ساخت شرکت TESCAN دارای قدرت تفکیک در حد ۱nm/۵ در ولتاژ ۱۵KV و۴nm/۵ در ولتاژ ۱KV ارسال شد.

تهیه غلظت های مختلف قارچ کش ها ،کیتوزان و نانو ذرات در آزمایشگاه

ی به منظور بررسی تاثیر قارچ کش ها، کیتوزان و نانو ذرات روی رشد رویشی و تعداد اسپورانژیوم در قارچ فیتوفتورا غلظت های ۱۰ ppm، ۵۰ ppm، ۱۰۰ ppm، ۵۰۰ ppm، ۱۰۰۰ ppm، ۲۰۰۰ ppm از هر یک از مواد در آزمایشگاه تهیه گردید. غلظت صفر به عنوان شاهد در نظر گرفته شد.

تهیه محیط کشت حاوی قارچ کش، کیتوزان و نانو ذرات جهت اندازه گیری رشد رویشی

به منظور مخلوط غلظت های مختلف قارچ کش، کیتوزان و نانو ذرات با محیط کشت V8 ابتدا محیط کشت آماده شده و پس از استریلیزاسیون با استفاده از اتوکلاو، محیط های کشت را در محیط آزمایشگاه (دمای تقریبی ۴۵ درجه سانتی گراد)خنک کرده و غلظت های مواد به محیط کشت موجود در ارلن ها اضافه گردید. به این ترتیب غلظت های مورد نیاز تهیه و مخلوط به دست آمده جهت یکنواخت شدن به آرامی تکان داده شد. درنهایت محتوی هر ارلن در۳ پتری دیش استریل ۸ سانتیمتری ریخته شد. دراین روش برای هرکدام از غلظت های مواد (تیمار)، سه پتری دیش (تکرار) درنظرگرفته شد

کشت جدایه فیتوفتورا روی محیط کشت

پس از بستن محیط های کشت و گذشت یک روز (۲۴ ساعت) از ریختن محیط کشت در پلیت های استریل به کمک نیدل (سوزن) و در کنار شعله و با رعایت شرایط استریل با استفاده از چوب پنبه سوراخ کن یک دیسک ۵ میلی متری را از روی پرگنه جوان (حداکثر ۴ روز) برداشته شد و به آرامی در مرکز پلیت های حاوی مقدار مشخص از قارچ کش ها،کیتوزان و نانو ذرات قرار داده شد.

اندازه گیری رشد رویشی قارچ فیتوفتورا روی محیط کشت

پس از کشت قارچ روی محیط کشت های دارای غلظت های مختلف قارچ کش ها،کیتوزان و نانو ذرات،پلیت ها درون انکوباتور در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد نگهداری شدند. رشد رویشی (قطر پرگنهها) قارچ پس از ۴ روز توسط خط کش اندازه گیری و بر حسب میلی متر محاسبه گردید.

شمارش تعداد اسپورانژیوم و زئوسپور

برای تولید اسپورانژیوم گونه های مختلف فیتوفتورا، قارچ ها در تشتک های پتری دیش حاوی محیط LBA(Lima Bean Agar) کشت داده شده و سپس ۱۰ عدد بلوک ۵ میلی متری از حاشیه پرگنه های جوان تهیه شده و پس از انتقال به تشتک های حاوی غلظت های مختلف از قارچ کش ها ، کیتوزان ، نانو ذره اکسید مس و نانو ذره مس

کیتوزان در آب مقطر، زیر نور فلورسنت قرار گرفتند.در فواصل زمانی مختلف تولید اسپورانژیوم در دیسک های محیط LBA مورد بررسی قرار گرفت.برای مشاهده و شمارش تعداد اسپورانژیوم تولید شده، هر یک از بلوک های کلنیزه شده محیط LBA برداشته شده و داخل یک قطره محلول اسید فوشین در لاکتوفنل و در مرکز لام قرار داده شدند. پس از گذاشتن یک عدد لام روی بلوک،لام چندین بار از روی شعله ملایم چراغ گازی عبور داده شد تا محیط کشت ذوب و به صورت یکنواخت پخش گردد.برای شمارش تعداد اسپورانژیوم های تولید شده در هر یک از غلظت ها ،از ۵ عدد دیسک محیط LBA و در هر لام نیز حداقل ۵ نقطه با بزرگ نمایی ۴۰۰x مورد بررسی قرار گرفت. به منظور بررسی تاثیر غلظت های قارچ کش ها ، کیتوزان ، نانو ذره اکسید مس و نانو ذره مس-کیتوزان بر آزاد سازی زئوسپورها، مانند روش تولید اسپورانژیوم عمل گردید. پس از تولید مقادیر کافی از اسپورانژیوم گونه های مختلف فیتوفتورا را روی دیسک های محیط LBA و به منظور آزاد شدن زئوسپور، تشتک های پتری به مدت ۳۰ دقیقه به یخچال با دمای ۵ درجه سانتی گراد منتقل شده و پس از آن در دمای اتاق نگهدار یگردیدند. تعدا زئوسپور های رها شده با استفاده از لام گلبول شمار شمارش گردید.

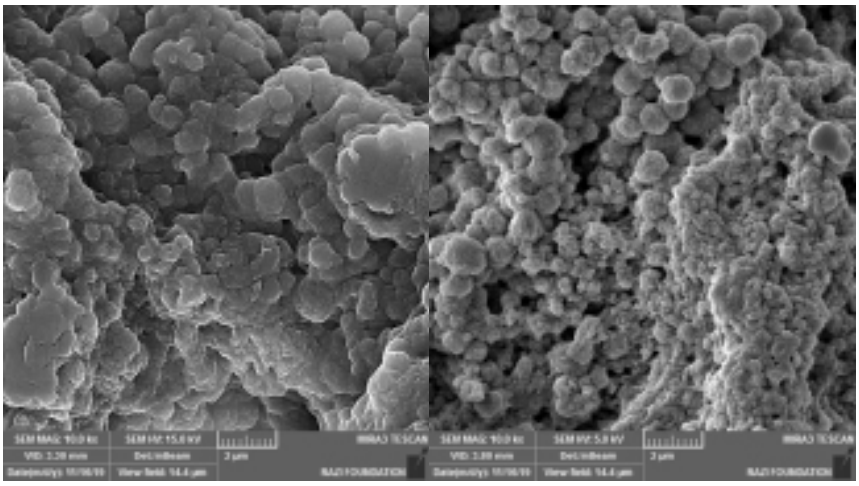
محاسبات آماری

این تحقیق به صورت یک طرح کاملاً تصادفی در قالب فاکتوریل با دو فاکتور نوع و غلظت قارچ کش و یا تیمار در پنج تکرار انجام شد. در این تحقیق اثر قارچ کش های الیت، اکسی کلرور مس و فاکومیل، کیتوزان ،نانوذره مس (CuO) و نانو ذره مس/ کیتوزان در هفت غلظت بر دو جدایه از قارچ فیتوفتورا عوامل پوسیدگی فیتوفتورایی طوقه و ریشه درختان پسته بررسی گردید. غلظت صفر به عنوان شاهد و مبین محیط کشت هایی است که در آن هیچ میزان از سم یا ترکیب شیمیایی به کار نرفته است و با استفاده از نرم افزار آماری SPSS داده ها مورد بررسی قرار گرفت و گروه بندی میانگین های داده ها با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح ۱٪ α=محاسبه گردید.

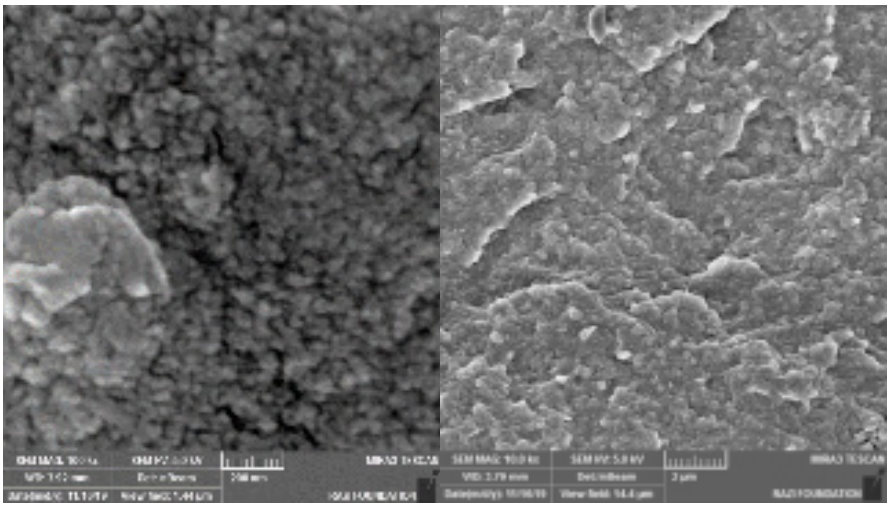
نتایج و بحث

نتایج بررسی ساختار نانو ذره مس-کیتوزان با میکروسکوپ الکترونی(SEM)

بررسی ساختار نانو ذره مس-کیتوزان نشان داد که قطر و اندازه نانو ذره در روش Jaiswal (2012) در بزرگ نمایی ۵۰۰۰ برابر طبق شکل ۱ نتیجه مطلوبی داشته و فرآیند نانو شدن نانو ذره مس-کیتوزان را تایید می کند و هم چنین طبق شکل ۲ نانو ذره مس-کیتوزان به روش Saharan (2013) نانو ذره تشکیل شده است. اما روش Jaiswal با مقایسه با تصویر نانو ذره در مرجع با کیفیت مطلوب تر مورد بررسی قرار گرفت.



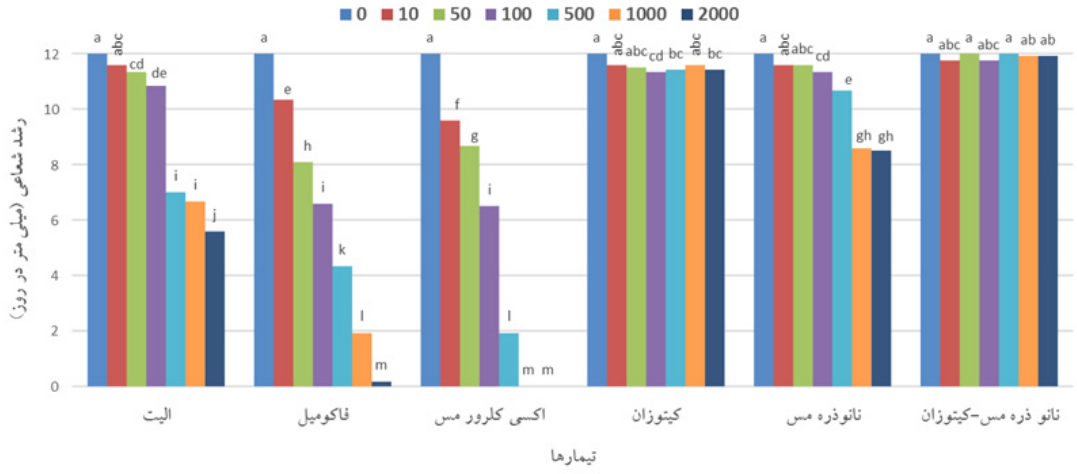
شکل۱- عکس میکروسکوپ الکترونی (SEM) نانو ذره مس کیتوزان به روش Jaiswal



شکل۲- عکس میکروسکوپ الکترونی (SEM) نانو ذره مس کیتوزان به روش Saharan

تاثیر غلظت های مختلف قارچکشی روی رشد رویشی ***Phytophthora drechsleri***

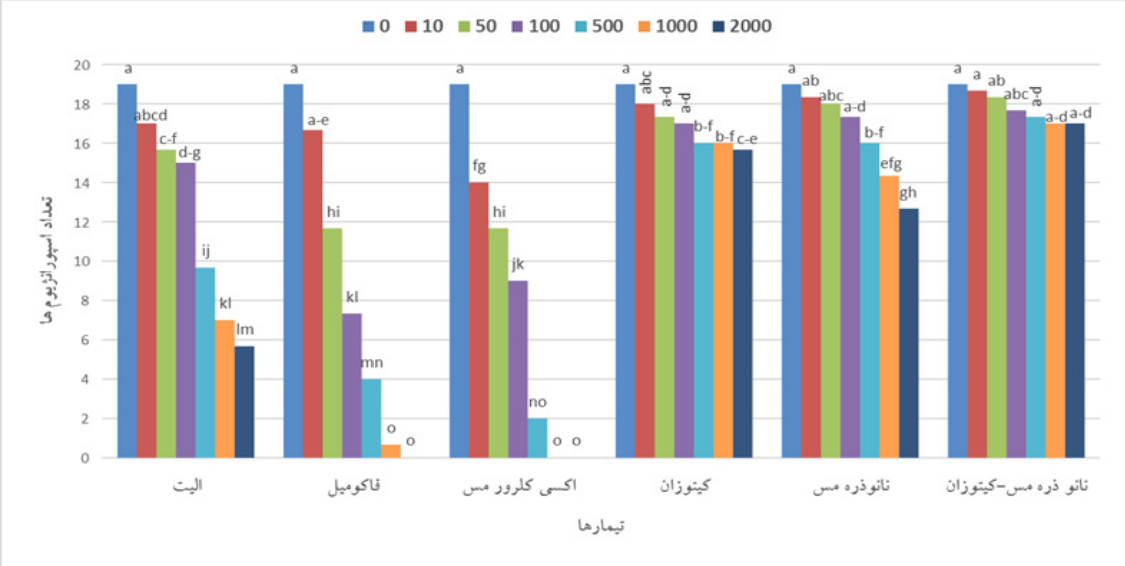
میـزان رشـد شـعاعی Pd در غلظت‌هـای مختلـف تیمارهـای قارچکشـی نشـان داده شـده اسـت. در تیمـار الیـت رشـد شـعاعی Pd در غلظـت ۱۰ پـی پـی ام تفـاوت معنـی‌داری را بـا شـاهد نشـان نـداد امـا از غلظـت ۵۰ پـی پـی ام بـه بعـد رشـد شـعاعی بـه طـور معنـی داری کاهـش یافـت.در دو تیمـار فاکومیـل و اکسـی کلـرور مـس بـا افزایـش غلظـت، میـزان رشـد شـعاعی Pd بـه طـور معنـی داری کاهـش یافتـه بـه طوریکـه در غلظـت ۲۰۰۰ پـی پـی ام تقریبـاً رشـد شـعاعی Pd متوقـف گردیـد. در تیمارهـای کیتـوزان و نانـوذره مـس نیـز کاهـش معنـی دار رشـد شـعاعی Pd در غلظـت ۵ و ۱۰ پـی پـی ام تفـاوت معنـی داری را در سـطح ۱ درصـد بـا شـاهد نشـان نـداد. در تیمـار کیتـوزان رشـد شـعاعی Pd در غلظـت هـای ۱۰۰، ۵۰۰ و ۲۰۰۰ پـی پـی ام بـه طـور معنـی داری کمتـر از شـاهد بـود امـا در غلظـت ۱۰۰۰ میلی‌گـرم در لیتـر تفاوتـی بـا شـاهد مشـاهده نگردیـد (نمـودار ۱). در تیمـار نانـوذره مـس از غلظـت ۱۰۰ پـی پـی ام بـه بعـد رشـد شـعاعی Pd بـه طـور معنـی داری در مقایسـه بـا شـاهد کاهـش یافـت. همچنیـن در کلیـه غلظت‌هـای تیمـار نانـوذره مس-کیتـوزان رشـد شـعاعی Pd هیچگونـه اخـتلاف معنـی‌داری را بـا شـاهد در سـطح ۱ درصـد نشـان نـداد.



نمـودار ۱-تاثیـر غلظـت هـای مختلـف الیـت، فاکومیـل، اکسـی کلرورمـس، کیتـوزان، نانـوذره مـس و نانـوذره مس-کیتـوزان بـر رشـد شـعاعی *Ph. drechsleri*. سـتون هـای دارای حـروف مشـترک طبـق آزمـون دانکـن در سـطح ۱ درصـد اخـتلاف معنـی‌داری ندارند.

تاثیر غلظت های مختلف قارچ کشی بر تولید اسپورانژیوم *Phytophthora drechsleri*

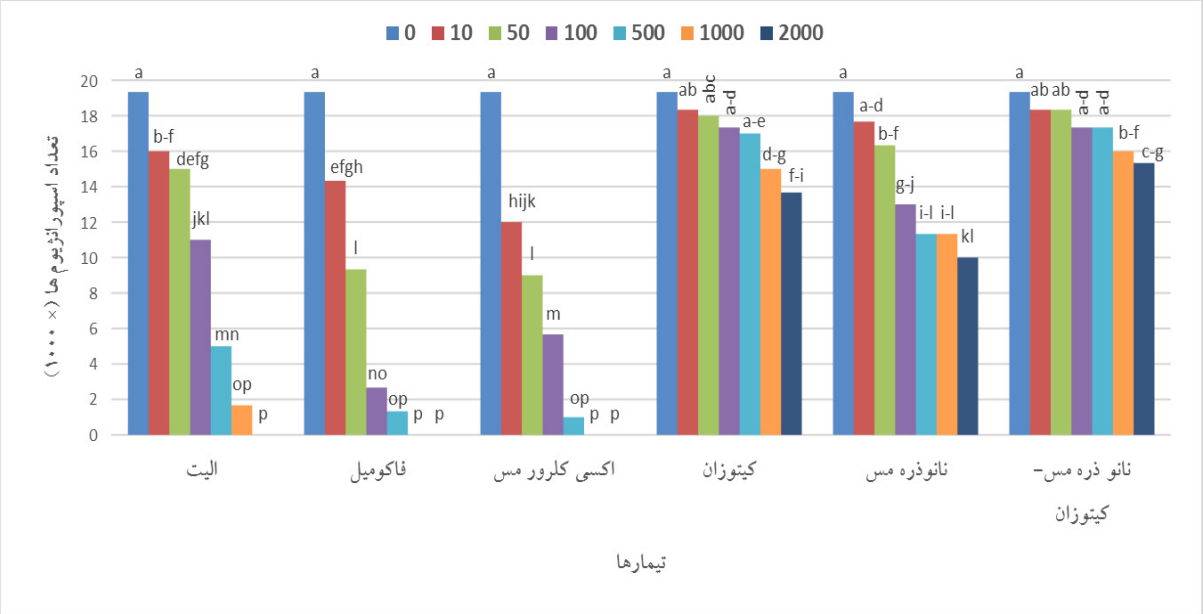
غلظت های مورد استفاده موجب کاهش معنی‌دار تعداد اسپورانژیوم های Pd شده و در دو غلظت ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ پی پی ام تولید اسپورانژیوم ها به طور کامل متوقف گردید (نمودار ۲). در دو تیمار کیتوزان و نانوذره مس تعداد اسپورانژیوم های Pd در غلظت های ۵، ۱۰ و ۱۰۰ پی پی ام با وجود نشان دادن روند کاهشی، اختلاف معنی داری را با شاهد نشان ندادند. در تیمار کیتوزان، تعداد اسپورانژیوم ها در غلظت های ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ پی پی ام، بدون اینکه اختلاف معنی داری با یکدیگر نشان دهند دارای تفاوت معنی‌دار با شاهد و سایر تیمارها بودند، اما در تیمار نانوذره مس روند کاهش تعداد اسپورانژیوم های Pd هم چنان کاهشی و دارای اختلاف معنی دار با سایر غلظت ها و شاهد بود (نمودار ۲). در تیمار نانوذره مس-کیتوزان روند کاهش تعداد اسپورانژیوم های Pd در مقایسه با شاهد در اثر افزایش غلظت مشاهده شده اما در هیچ یک از این غلظت‌ها، تعداد اسپورانژیوم ها اختلاف معنی‌داری را با شاهد نشان نداد.



نمودار ۲- تاثیر غلظت های مختلف الیت، فاکومیل، اکسی کلورمس، کیتوزان، نانوذره مس و نانوذره مس-کیتوزان بر تعداد اسپورانژیوم های *Ph. drechsleri*. ستون های دارای حروف مشترک طبق آزمون دانکن در سطح ۱ درصد اختلاف معنی داری ندارند.

تاثیر غلظت های مختلف قارچ کش ها بر تولید زئوسپور *Phytophthora drechsleri*

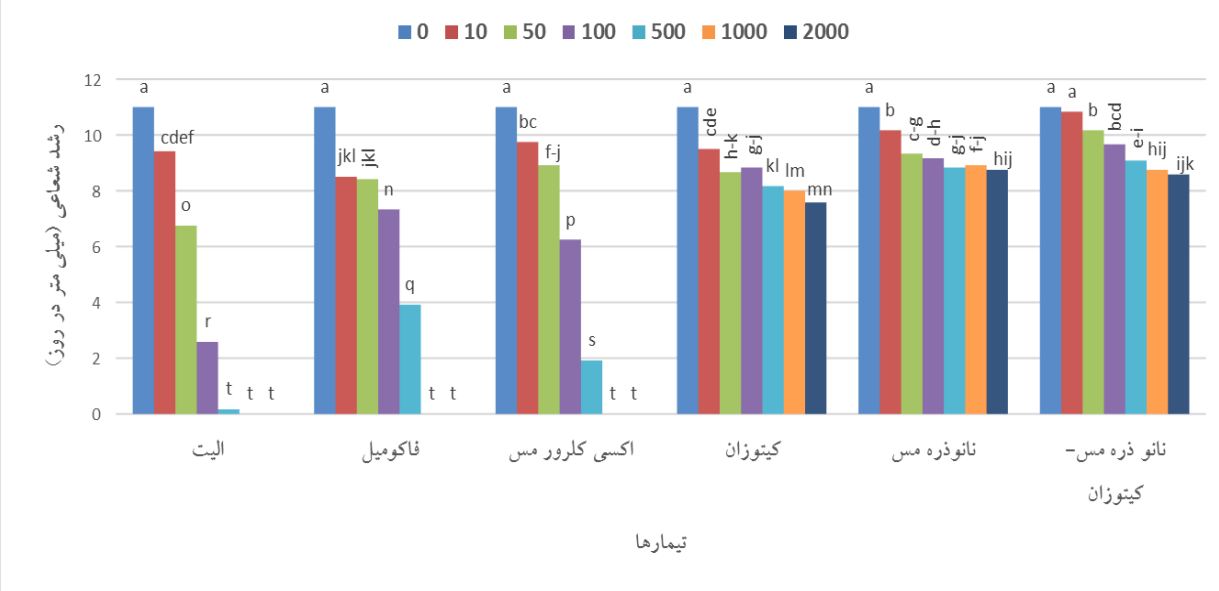
در سه تیمار الیت، فاکومیل و اکسی کلورمس، تعداد زئوسپورهای Pd در کلیه غلظت ها به طور معنی داری در مقایسه با شاهد کاهش یافته و در دو غلظت ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ پی پی ام به طور کامل متوقف گردید (نمودار ۳). در تیمارهای کیتوزان و نانوذره مس-کیتوزان تعداد زئوسپورهای Pd با افزایش غلظت روند کاهشی نشان داد اما این روند در غلظت های ۱۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۵۰۰ پی پی ام، اختلاف معنی داری را با شاهد در سطح ۱ درصد نشان نداد. در این دو تیمار، تنها در غلظت های ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ پی پی ام تعداد زئوسپورهای Pd به طور معنی داری در مقایسه با شاهد کاهش یافت. در تیمار نانوذره مس، به استثنای غلظت ۱۰ پی پی ام، سایر غلظت ها به طور معنی داری موجب کاهش تعداد زئوسپورهای Pd گردید. در مجموع در کلیه تیمارهای مورد استفاده کم ترین تعداد زئوسپورهای Pd در غلظت ۲۰۰۰ پی پی ام مشاهده گردید.



نمودار۳-تاثیر غلظت های مختلف الیت، فاکومیل، اکسی کلرورمس، کیتوزان، نانوذره مس و نانوذره مس-کیتوزان بر تعداد زئوسپورهای *Ph. drechsleri* ستون های دارای حروف مشترک طبق آزمون دانکن در سطح ۱ درصد اختلاف معنی داری ندارند.

تاثیر غلظت های مختلف قارچ کش ها بر رشد رویشی ***Phytophthora citrophthora***

در کلیه تیمارهای قارچ‌کش مورد استفاده، با افزایش غلظت رشد شعاعی Pc به طور معنی داری در مقایسه با شاهد کاهش یافت (نمودار ۴). تنها در غلظت ۱۰ پی پی ام تیمار نانوذره مس-کیتوزان این کاهش معنی دار نبود. در دو تیمار الیت و اکسی کلرور مس کلیه غلظت های مورد استفاده دارای اختلاف معنی دار با یکدیگر و شاهد بودند. در تیمار فاکومیل رشد شعاعی Pc در دو غلظت ۱۰ و ۵۰ پی پی ام اختلاف معنی داری را با یکدیگر نشان ندادند اما هم چنان دارای تفاوت معنی دار در سطح ۱ درصد با شاهد بودند. در سه تیمار الیت، فاکومیل و اکسی کلرور مس رشد شعاعی Pc در غلظت های ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ پی پی ام به طور کامل متوقف گردید. هم چنین در این سه تیمار میزان رشد شعاعی Pc در غلظت های ۱۰۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ پی پی ام به طور معنی داری کمتر از سایر تیمارهای مورد استفاده بود.



نمودار ۴-تاثیر غلظت های مختلف الیت، فاکومیل، اکسی کلرورمس، کیتوزان، نانوذره مس و نانوذره مس-کیتوزان بر رشد شعاعی *Ph. citrophthora*. ستون های دارای حروف مشترک طبق آزمون دانکن در سطح ۱ درصد اختلاف معنی داری ندارند.

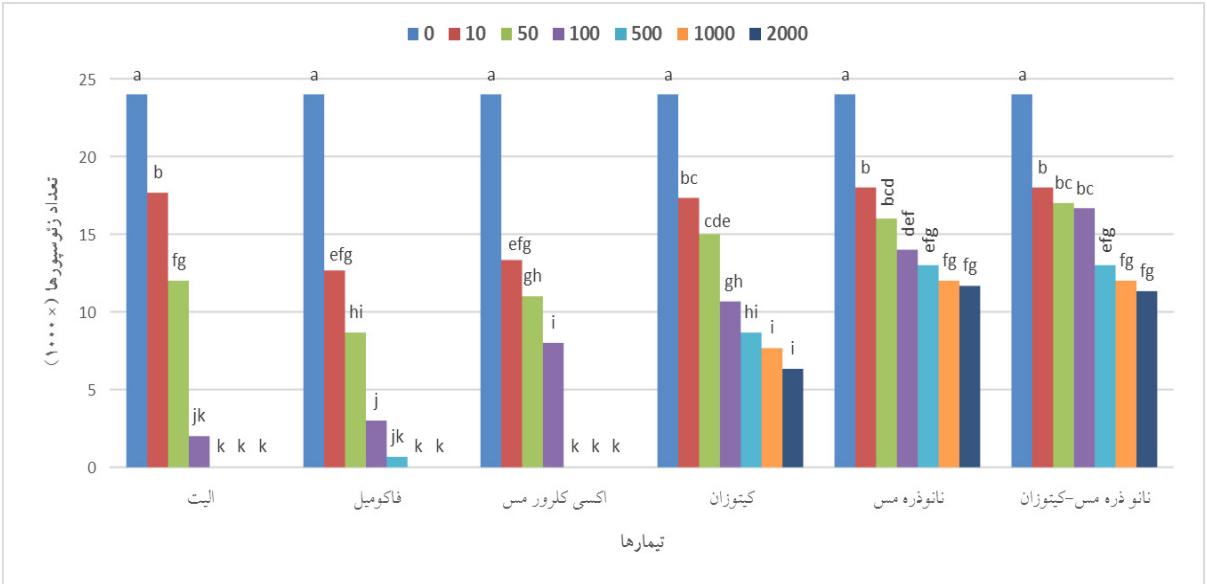
تاثیر غلظت های مختلف قارچ کش بر تولید اسپورانژیوم ***Phytophthora citrophthora***

در کلیه تیمارهای قارچ کش مورد استفاده، با افزایش غلظت تعداد اسپورانژیوم های Pc در مقایسه با شاهد کاهش یافت (نمودار ۵). در تیمارهای الیت، فاکومیل، اکسی کلرورمس و کیتوزان کاهش تعداد اسپورانژیوم در کلیه غلظت ها دارای اختلاف معنی دار در سطح ۱ درصد با شاهد بود در حالیکه در تیمار نانوذره مس و نانوذره مس-کیتوزان به ترتیب در غلظت های ۱۰ و ۱۰ تا ۱۰۰ پی پی ام اختلاف معنی داری میان تعداد اسپورانژیوم های Pc با شاهد مشاهده نگردید (نمودار ۵). هم چنین کمترین تعداد اسپورانژیوم Pc در غلظت های ۵۰۰ تا ۲۰۰۰ پی پی ام قارچکش الیت و غلظت های ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ پی پی ام قارچ کش های فاکومیل و اکسی کلرورمس مشاهده شد که در این غلظت ها تولید اسپورانژیوم ها به طور کامل متوقف گردید. هم چنین در سه قارچکش الیت، فاکومیل و اکسی کلرور مس، تعداد اسپورانژیوم های Pc در کلیه غلظت ها به استثنای غلظت های ۱۰ و ۵۰ پی پی ام اکسی کلرورمس دارای اختلاف معنی دار با یکدیگر بودند (نمودار ۵). در سایر تیمارها نیز کم ترین تعداد اسپورانژیوم های Pc در غلظت های ۵۰۰ تا ۲۰۰۰ پی پی ام مشاهده گردید.

نمودار ۵-تاثیر غلظت های مختلف الیت، فاکومیل، اکسی کلرورمس، کیتوزان، نانوذره مس و نانوذره مس-کیتوزان بر تعداد اسپورانژیوم های *Ph. citrophthora*. ستون های دارای حروف مشترک طبق آزمون دانکن در سطح ۱ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

تاثیرغلظت های مختلف قارچ کش ها بر تولید زئوسپورهای ***Phytophthora citrophthora***

در کلیه تیمارهای قارچ‌کشی، با افزایش غلظت تعداد زئوسپورهای Pc به طور معنی داری در مقایسه با شاهد کاهش یافت (نمودار ۶). در غلظت های ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ پی پی ام سه تیمار الیت، فاکومیل و اکسی کلرورمس، کمترین تعداد زئوسپورهای Pc مشاهده گردید. در این غلظت ها تولید زئوسپورها به طور کامل متوقف گردید. در تیمارهای کیتوزان، نانوذره مس و نانوذره مس-کیتوزان نیز کمترین تعداد زئوسپورها به ترتیب در غلظت های ۵۰۰ تا ۲۰۰۰ پی پی ام، ۱۰۰ تا ۲۰۰۰ پی پی ام و ۵۰۰ تا ۲۰۰۰ پی پی ام مشاهده گردید (نمودار ۶).



نمودار ۶- تاثیر غلظت های مختلف الیت، فاکومیل، اکسی کلرورمس، کیتوزان، نانوذره مس و نانوذره مس-کیتوزان بر تعداد زئوسپورهای *Ph. citrophthora*. ستون های دارای حروف مشترک طبق آزمون دانکن در سطح ۱ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

در ایـن پژوهـش، اثربخـشی قارچ‌کش‌هـای شیمیـایی و ترکیبـات نانـویی در کنتـرل بیمـاری پوسیـدگی طوقـه و ریشـه درختـان پسـته مـورد بـررسی قـرار گرفـت. نتایـج نشـان داد کـه قارچ‌کـش اکسی‌کلـرور مـس، به‌عنـوان یـک ترکیـب حفاظـتی از گـروه ترکیبـات مـسی، بیـش تریـن تأثیـر را در کاهـش رشـد شـعاعی و تولیـد اسـپورانژیوم و زئوسـپورهای *Ph. drechsleri* و *Ph. citrophthora* داشـت. ایـن یافتـه بـا مطالعـات Brassier (1992) و Babdoost (2004) هـم راسـتا اسـت کـه نقـش ترکیبـات مـسی را در کنتـرل بیماری‌هـای فیتوفتـورایی تأییـد کرده‌انـد. اکسی‌کلـرور مـس بـا ایجـاد اخـتلال در متابولیسـم سـلولی و تحریـک مکانیسـم‌های دفـاعی گیـاه، نه‌تنهـا اثـر مسـتقیم قارچ‌کـشی دارد، بلکـه مقاومـت میزبـان را نیـز افزایـش می‌دهـد (Droby et al., 2004). ایـن سـازوکار دوگانـه، آن را بـه گزینـه‌ای مؤثـر در مدیریـت تلفیـقی بیمـاری تبدیـل کـرده اسـت. هـم چنیـن، نتایـج تحقیـق حاضـر نشـان داد کـه در غلظت‌هـای ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ppm، تولیـد زئوسـپور به‌طـور کامـل متوقـف شـد، کـه نشـان‌دهنده قـدرت بازدارنـدگی بـالای ایـن ترکیـب اسـت. قارچ‌کش‌هـای سیسـتمیک ماننـد فوزتیـل آلومینیـوم و متالاکسیـل نیـز در کاهـش رشـد رویـشی و تولیـد زئوسـپور مؤثـر بودنـد. فوزتیـل آلومینیـوم بـا حرکـت دوطرفـه در گیـاه و تحریـک تولیـد فیتوالکسین‌هـا، مقاومـت سیسـتمیک اکتسـابی را فعـال می‌کنـد (Nene and Thapliyan, 1993). متالاکسیـل نیـز بـا مهـار سـنتز پروتئیـن در قـارچ، از طریـق ریشـه و بـرگ جـذب شـده و در بافـت گیـاه منتشـر می‌شـود (Ayub et al., 1998). ایـن ویژگی‌هـا باعـث شـده‌اند کـه ایـن قارچ‌کش‌هـا در شـرایط بـاغی نیـز عملکـرد قابـل قبـولی داشـته باشـند. در بخـش دوم تحقیـق، تأثیـر نانـوذرات فلـزی و کیتـوزان بـررسی شـد. نانـوذرات مـس بـا آزادسـازی یون‌هـای Cu^{2+} و تولیـد رادیکال‌هـای آزاد، سـاختار سـلولی قـارچ را تخریـب می‌کننـد (Bondarenko et al., 2012). هـم چنیـن، کیتـوزان بـا القـای پاسـخ‌های دفـاعی در گیـاه، نقـش مهـمی در کاهـش شـدت بیمـاری ایفـا می‌کنـد (Hernandez-Lauzardo et al., 2011). نتایـج نشـان داد کـه نانـوذرات کیتوزان–مـس در غلظت‌هـای بـالا، اثـر بازدارنـدگی قابـل توجـهی بـر رشـد قـارچ داشـتند. بـا وجـود اثربخـشی نانـوذرات در شـرایط آزمایشـگاهی، لازم اسـت مطالعـات گلخانـه‌ای و مزرعـه‌ای نیـز انجـام شـود، زیـرا عوامـل محیـطی ماننـد دمـا، رطوبـت، بافـت خـاک و تعـاملات میکـروبی می‌تواننـد بـر عملکـرد ایـن ترکیبـات تأثیرگـذار باشـند (Ingle et al., 2008). هـم چنیـن، بـررسی سرنوشـت نانـوذرات در بافـت گیـاه و اثـرات زیسـت‌محیطی آن‌هـا ضـروری اسـت. در مجمـوع، یافته‌هـای ایـن تحقیـق نشـان داد کـه ترکیبـات شیمیـایی ماننـد اکسی‌کلـرور مـس و قارچ‌کش‌هـای سیسـتمیک، در کنـار ترکیبـات نانـویی، می‌تواننـد به‌عنـوان راهکارهـای مکمـل در مدیریـت بیمـاری پوسیـدگی طوقـه و ریشـه درختـان پسـته مـورد اسـتفاده قـرار گیرنـد. تلفیـق ایـن ترکیبـات بـا محرک‌هـای طبیـعی ماننـد کیتـوزان، می‌توانـد اثربخـشی راهبردهـای مدیریـتی را افزایـش دهـد هـم چنیـن نتایـج ایـن پژوهـش نشـان داد کـه قارچ‌کـش اکسی‌کلـرور مـس، به‌عنـوان مؤثرتریـن ترکیـب در کاهـش رشـد قـارچ و تولیـد زئوسـپور، نقـش کلیـدی در کنتـرل بیمـاری پوسیـدگی طوقـه و ریشـه دارد. هـم چنیـن، قارچ‌کش‌هـای سیسـتمیک ماننـد فوزتیـل آلومینیـوم و متالاکسیـل، بـا ویژگی‌هـای جـذب و انتشـار در گیـاه، توانسـتند رشـد بیمارگـر را در شـرایط آزمایشـگاهی به‌طـور مؤثـری مهـار کننـد. ترکیبـات نانـویی، به‌ویـژه نانـوذرات مـس و کیتوزان–مـس، نیـز عملکـرد قابـل قبـولی در کاهـش شـدت بیمـاری داشـتند. بـا ایـن حـال، بـرای ارزیـابی دقیق‌تـر اثربخـشی آن‌هـا، انجـام مطالعـات گلخانـه‌ای و مزرعـه‌ای ضـروری اسـت. پیشـنهاد می‌شـود کـه در پژوهش‌هـای آینـده، تلفیـق قارچ‌کش‌هـای شیمیـایی بـا ترکیبـات نانـویی و محرک‌هـای طبیـعی ماننـد کیتـوزان مـورد بـررسی قـرار گیـرد. هـم چنیـن، تحلیـل سـازوکارهای مولکـولی اثـر ایـن ترکیبـات می‌توانـد بـه توسـعه راهبردهـای مدیریـتی پایـدار و کم‌خطـر بـرای کنتـرل بیماری‌هـای فیتوفتـورایی منجـر شـود.

منابع

1- Abrishami, H. 1994. Pistachio Cultivation and Production. Agricultural Press, Tehran, Iran: pp. 1–220 (in Persian).
2- Ahmadi, P., Babalar, M., Talaee, A. and Asgari Sarcheshmeh, M.A. 2018. Effect of different ammonium and nitrate ratios on quantitative and qualitative characteristics of apple varieties (Golabe-Kohanz and Granny Smith). Iranian Journal of Horticultural Science, 49(1): 93–103 (in Persian).
3- Ayub, N., Ahmad, I., and Khan, M.A. 1998. Evaluation of fungicides against Phytophthora root rot of tomato. Pakistan Journal of Phytopathology, 10(1): 45–48.
4- Babdoost, M. 2004. Management of Phytophthora diseases in pistachio orchards. Iranian Journal of Plant Pathology, 40(2): 123–130. (In Persian)
5- Bani-Hashemi, Z. 1989. Phytophthora species in pistachio orchards. In: Ershad, D. and Mirabolfathi, M. (eds.), Plant Pathology in Iran. Tehran: Iranian Society of Plant Protection, pp. 112–130. (in Persian)
6- Bondarenko, O., Juganson, K. and Ivask, A. 2012. Toxicity of nanosized and bulk ZnO, CuO and TiO_2 to bacteria Vibrio fischeri and Escherichia coli. Ecotoxicology and Environmental Safety, 78: 1–9.
7- Brassier, C.M. 1992. Phytophthora diseases of trees and shrubs. Arboricultural Journal, 16(2): 95–114.
8- Cioffi, N., Ditaranto, N. and Torsi, L. 2005. Copper nanoparticle/polymer composites with antifungal and bacteriostatic properties. Chemistry of Materials, 17(21): 5255–5261.
9- Deliopoulos, T., Kettlewell, P.S. and Hare, M.C. 2010. Fungal disease suppression by inorganic salts: A review. Crop Protection, 29(10): 1059–1075. https://doi.org/10.1016/j.cropro.2010.05.011
10- Droby, S., Cohen, L. and Weiss, B. 2004. Novel approaches for postharvest disease control in fresh produce. In: Naqvi, S.A.M.H., editor. Diseases of Fruits and Vegetables. Springer, Dordrecht: p. 321–339.
11- Esmaeilpour, A. and Van Damme, P. 2016. Evaluation of seed soaking times on germination percentage, germination rate and growth characteristics of pistachio seedlings. Acta Horticulturae, 1109: 107–112. https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2016.1109.17
12- Ghasemi, A. and Soozani, M. 2008. Economic importance of pistachio in Iran's agricultural exports. Iranian Journal of Agricultural Economics, 12(3): 45–52 (in Persian).
13- Greaves, J. 2011. The development, regulation and use of biopesticides for integrated pest management. Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences, 366(1573): 1987–1998. https://doi.org/10.1098/rstb.2010.0390
14- Hernandez-Lauzardo, A.N., Velazquez-del Valle, M.G. and Alvarado-Rodriguez, M. 2011. Chitosan as a potential natural compound to control pre and postharvest diseases of horticultural commodities. Crop Protection, 30(3): 227–234.

15- Ingle, A., Duran, N. and Rai, M. 2008. Nanotechnology for the control of phytopathogens. In: Rai, M., Ribeiro, C., Mattoso, L., editors. Nanotechnology in Agriculture and Food Science. Wiley-VCH, Weinheim: p. 199–214.
16- Jaiswal, M., Bayat, V., Thiffault, I., Tétreault, M., Donti, T., Sasarman, F. and Bellen, H.J. 2012. Mutations in the mitochondrial methionyl-tRNA synthetase cause a neurodegenerative phenotype in flies and a recessive ataxia (ARSAL) in humans. PLOS Biology, 10(3), e1001288. https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1001288
17- Kim, J.S., Kuk, E. and Yu, K.N., 2007. Antimicrobial effects of silver nanoparticles. Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine, 3(1): 95–101.
18- Kuck, K.H. and Gisi, U. 2007. FRAC mode of action classification and resistance risk of fungicides. Crop Protection, 26(3): 203–210.
19- Mirabolfathi, M., Banihashemi, A. and Ershad, D. 1989. [Title of the paper]. In: Proceedings of the 3rd National Pistachio Congress, 4–6 September 1989, Rafsanjan, Iran. Pistachio Research Center, p. 34. (in Persian)
20- Mohammadalayan, M., and Nazarian, M. 2017. Evaluation of copper oxychloride fungicide in controlling brown rot of citrus fruits. Iranian Journal of Horticultural Science, 48(2): 123–130. (In Persian)
21- Moradi, H. and Masoumi, A. 2011. Evaluation of soil physical and chemical properties under different irrigation regimes in pistachio orchards. Iranian Journal of Soil and Water Research, 17(2): 101–109. (in Persian)
22- Moradi, M., Fani, S.R., Dargahi, R., Farajpour Odrej, A., Alipour, H. and Salmani, H. 2012. Evaluation of systemic fungicides for the control of pistachio gummosis disease caused by *Phytophthora* spp. Journal of Applied Research in Plant Protection, 14(1): 23–32. (in Persian)
23- Moradi, M., Saberi-Riseh, R. and Fathi, F. 2017. The effect of chemical compounds on induction of plant defense enzymes and reduction of pistachio gummosis caused by *Phytophthora drechsleri*. Iranian Journal of Plant Protection, 48(1): 13–27. (in Persian)
24- Nene, Y.L., and Thapliyan, P.N. 1993. Fungicides in Plant Disease Control. Oxford & IBH Publishing Co., New Delhi, India: pp. 231–245.
25- Roudsari, M. 2016. Evaluation of several fungicides in controlling *Phytophthora* species causing damping-off of cucumber in greenhouses of Tehran Province. Iranian Journal of Plant Pathology Research, 31(1): 45–52. (In Persian)
26- Saharan, B.S., Nehra, V., Yadav, K.K. and Bishnoi, K. 2013. Induced systemic resistance (ISR) and plant growth promotion by *Bacillus* spp. Journal of Plant Interactions, 8(3): 211–222. https://doi.org/10.1080/17429145.2013.839099
27- Saharan, V., Sharma, G., Yadav, M., Choudhary, M. K., Sharma, S.S., Pal, A., Raliya, R. and Biswas, P. 2015. Synthesis and in vitro antifungal efficacy of Cu-chitosan nanoparticles against pathogenic fungi of tomato. International Journal of Biological Macromolecules, 75: 346–353. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.01.027
28- Stoimenov, P.K., Klinger, R.L., Marchin, G.L. and Klabunde, K.J. 2002. Metal oxide nanoparticles as bactericidal agents. Langmuir, 18(17): 6679–6686.
29- Zafari, D. 1991. Soil Microbiology and Plant Disease Management. Tehran: University of Tehran Press, pp. 85–102. (in Persian)