علوم گیاهان زراعی ایران
دورۀ ۴۷، شمارۀ ۱، بهار ۱۳۹۵ (ص ۸۵-۷۷)
DOI: 10.22059/ijfcs.2016.57852

تأثیر تیمارهای کودی بر عملکرد، اجزای عملکرد و القاء تحمل به بیماری اسکب گندم

سیدکاظم صباغ[1*]، بصیرا کرمانی‌زاده[2]، احمد غلامعلی‌زاده آهنگر[3] و علیرضا سیروس‌مهر[4]

۱. دانشیار، گروه زیست‌شناسی، پردیس علوم، دانشگاه یزد

۲ و ۳. دانشجوی کارشناسی ارشد و دانشیار، گروه خاکشناسی، دانشکدۀ آب و خاک، دانشگاه زابل

٤. استادیار، گروه زراعت دانشکدۀ کشاورزی، دانشگاه زابل

(تاریخ دریافت: ۱۳۹٤/۲/۱ - تاریخ تصویب: ۱۳۹٤/٦/۳۱)

چکیده

بیماری فوزاریوز سنبلۀ گندم که توسط قارچ *Fusarium graminearum* ایجاد می‌شود یکی از بیماری‌های بسیار زیانبار گندم است که افزون بر کاهش کمیت و کیفیت محصول، قادر به تولید زهرابه‌های خطرناک سرطان‌زا در انسان و دام می‌شود. در این تحقیق تأثیر تیمارهای کودی مختلف (ورمی‌کمپوست، کود شیمیایی و قارچ‌ریشه یا میکوریز) بر عملکرد و بیان چند ژن دخیل در ایجاد مقاومت به بیماری بررسی شد. بدین منظور از گندم رقم فلات در قالب طرح کامل تصادفی با چهار تکرار در گلخانه استفاده شد. تجزیۀ واریانس داده‌ها نشان داد که، تأثیر تیمارهای مختلف کودی بر صفات وزن صددانه، ارتفاع بوته، وزن تک بوته، عملکرد دانه، وزن زیست‌توده و شاخص برداشت در سطح احتمال ۱درصد معنی‌دار بود. تجزیۀ نتایج به‌دست‌آمده از بیان ژن‌های مؤثر در مقاومت نشان داد که ژن‌های بتا گلوکوناز و اکسالات اکسیداز در همۀ تیمارهای کودی نسبت به شاهد افزایش و بالاترین افزایش در تیمار مخلوط کود شیمیایی و ورمی‌کمپوست مشاهده شد. نتایج این تحقیق نشان داد که کاربرد مخلوط کودهای زیستی و شیمیایی می‌تواند باعث القاء مقاومت اکتسابی ساختارمند (سیستمیک) در گیاهان بیمار شود.

واژه‌های کلیدی: اجزاء عملکرد، تیمار کودی، فوزاریوز خوشۀ گندم، مقاومت القایی.

مقدمه

گندم با داشتن مواد غذایی باارزش مانند انواع پروتئین‌ها، ویتامین‌ها و مواد کانی، حدود ۲۵ درصد از کالری مردم جهان را تأمین می‌کند. تولید گندم هم به‌عنوان اساسی‌ترین محصول راهبردی و هم به لحاظ اهمیت سهم آن در تغذیۀ خانواده‌های ایرانی و تأمین بخش عظیم کالری و پروتئین جمعیت رو به افزایش کشور، همواره مورد توجه خاص دولتمردان بوده است. گندم همواره مورد هجوم آفات و بیماری‌های مختلفی است که در این میان عامل‌های قارچی یکی از بزرگ‌ترین و قدیمی‌ترین گروه بیمارگرهای عفونی بوده و هرساله خسارت شایان توجهی را به این گیاه و محصول آن وارد می‌کند (Shahcheraghi & Masoumi, 1997). از میان بیماری‌های ایجادشده روی گندم، بیماری فوزاریوز خوشۀ گندم که توسط قارچ *Fusarium graminearum* ایجاد می‌شود یکی از بیماری‌های زیانبار است که افزون بر کاهش کمیت و کیفیت محصول باعث ایجاد زهرابه‌های خطرناک

* تلفن: ۰۳۵۳۱۲۳۲۲۷۵
E-mail: sksabbagh@yazd.ac.ir

سرطان‌زا در انسان و دام می‌شود (Audenaert *et al.*, 2009; Bottalico & Perrone, 2002; Cook, 1981). این بیماری از سال‌ها پیش به‌طور پراکنده در ایران وجود داشته و یکی از بیماری‌های مهم گندم در استان‌های مازندران، گلستان، زنجان، فارس و اردبیل (دشت مغان) به شمار می‌رود (Safaie *et al.*, 2005). در چند سال اخیر به علت وجود منابع آلودگی، کشت رقم‌های حساس به بیماری و فراهم بودن شرایط جوی، آسیب و زیان ناشی از این بیماری بسیار چشمگیر بوده است. با توجه به اینکه استفاده از روش‌های شیمیایی و زراعی برای کنترل این بیماری کارایی چندانی ندارد، استفاده از روش‌های جدید کنترل در کشاورزی پایدار مانند استفاده از رقم‌های مقاوم و افزایش تحمل گیاه به بیماری به‌عنوان یکی از مهم‌ترین راه‌های کنترل بیماری همواره مورد توجه است (Dordas, 2009; Graham & Webb, 1991). تولید رقم‌های مقاوم گندم بلاست خوشه در برابر نفوذ بیماری در مراحل اولیهٔ پراکنش بیماری با روش‌های اصلاحی (Rudd *et al.*, 2001) و تعیین جایگاه‌های ژنی مرتبط با محل قرار گرفتن ژن‌های مقاوم روی کروموزوم‌های گندم (Kolb *et al.*, 2001) و تولید گیاهان تراریخته با استفاده از ژن‌های مقاوم (Mackintosh *et al.*, 2007) همگی در راستای ایجاد رقم‌های مقاوم به این بیماری بررسی شده است. ژن‌های چندی مانند بتا گلوکوناز و اکسیدازها و پروتئین توماتین در ارتباط با ایجاد مقاومت گندم به بیماری بلاست خوشه معرفی شده‌اند (Mackintosh *et al.*, 2007). مواد غذایی موجود در بستر کاشت گیاهان همواره یکی از منابع مهم در رشد و توسعهٔ گیاه و از عامل‌های مؤثر در کنترل عامل‌های بیمارگر است (Agrios, 2005)، بااین‌حال یک عامل غذایی ممکن است باعث کاهش یک بیماری شده ولی در همان گیاه باعث افزایش یک بیماری دیگر شود (Graham & Webb, 1991). نقش فیزیولوژیک مواد غذایی مورد استفاده در گیاهان مختلف به‌خوبی تعیین شده است ولی نوع رفتار مواد غذایی با عامل‌های بیمارگر به‌ویژه در ریشه‌گاه (ریزوسفر) و نحوهٔ تعامل آن‌ها با این عامل‌ها به‌خوبی مشخص نشده است (Huber, 1996). ایجاد شرایط محیطی مناسب برای رشد گیاه در جهت بهبود وضعیت رشدی بهتر منجر به بالا رفتن تحمل گیاه به عامل‌های بیماری‌زای مختلف و در مواردی ایجاد تحمل به بیماری در گیاه خواهد شد که در این راستا کاهش یا استفاده نشدن از سموم شیمیایی نیز حاصل خواهد شد (Dordas, 2009). در اغلب گزارش‌های مربوط به تأثیر کودهای آلی و شیمیایی نشان داده شده است که اجزای عملکرد رویشی و بعضی از صفات زراعی به میزان شایان پذیرشی تغییر کرده است (Arancon *et al.*, 2004; Atiyeh *et al.*, 2002; Atiyeh *et al.*, 2000; Hashemimajd *et al.*, 2004) ولی گزارش‌های کمی در ارتباط با نقش کودها به‌ویژه در سطح ریشه‌گاه در افزایش مقاومت به بیماری‌های گیاهی وجود دارد (Dordas, 2009; Noble & Coventry, 2005). کاربرد کودهای شیمیایی و زیستی (بیولوژیک) در گوجه‌فرنگی بیمار به بیماری مرگ گیاه‌چه ناشی از قارچ *Phythophtora infestance* نشان داد که کاربرد کود آلی باعث بالا رفتن تحمل گیاه و افزایش القاء تحمل به بیماری شد (Wang *et al.*, 2001). کاربرد کودهای آلی و غیرآلی در ایجاد مقاومت در گوجه‌فرنگی به لارو چند حشره نشان داد که میزان پروتئین کل و نیترات برگی در دو حالت تغییری نکرد ولی کود زیستی نسبت به کود شیمیایی باعث بالا رفتن تحمل گیاه به آفت شد (Barbour *et al.*, 1991). سازوکارهای ایجاد مقاومت در گیاهان در اثر تغییر شرایط مختلف محیطی و رشدی متنوع است. غالب این تغییرات ناشی از افزایش و یا کاهش میزان بیان ژن‌های دخیل در چرخه‌های ایجاد مقاومت است (Mackintosh *et al.*, 2007). کاربرد رقم‌های تراریخته با ژن کیتوزان نشان داده است که رقم تراریخته گندم نسبت به بیماری مقاوم شده و میزان زهرابهٔ کمتری در گیاه تیمارشده با قارچ نسبت به شاهد تولید شد (Shin *et al.*, 2008). بررسی میزان تغییرات بیان ژن در دو رقم فلات حساس و سامی متحمل به بیماری بلایت خوشهٔ گندم نشان داد که میزان بیان دو ژن اگسالات اکسیداز و بتا گلوکوناز در رقم متحمل پس از آلودگی با قارچ بیمارگر به میزان شایان پذیرشی افزایش یافت (Nemati & Navabpour, 2012). با توجه به لزوم کاربرد کودهای

مختلف در ایجاد شرایط محیطی مناسب گیاه و بالا بردن مقاومت اکتسابی به بیماری‌های گیاهی، در این تحقیق سعی شد تا اثر کودهای مختلف به‌صورت تنها و همراه درروند تغییر اجزاء عملکرد و بیان چند ژن دخیل در ایجاد مقاومت القایی به بیماری فوزاریوز گندم بررسی شد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و تیمارهای کودی

در این تحقیق از رقم نیمه‌حساس فلات استفاده شد. بذر این رقم از بخش تحقیقات غلات، مؤسسهٔ تحقیقات اصلاح و تهیهٔ نهال و بذر کرج تهیه شد. بذرهای موردنظر با محلول کلرامین‌تی ۳ درصد ضدعفونی سطحی و پس‌ازآن سه دفعه با آب مقطر سترون شستشو شدند. شمار ده عدد بذر در گلدان‌های پلاستیکی ۲ کیلویی (۱۹×۱۵cm) محتوای خاک زراعی سترون به همراه تیمارهای موردنظر کشت داده شدند. تیمارهای کودی شامل: ورمی‌کمپوست (۲۰درصد)، کود شیمیایی NPK (۱۰۰-۷۰-۷۰) (Khodabandeh, 2009)، قارچ‌ریشه (میکوریز) گونهٔ *Glumos intraradices* (۱۵درصد)، ورمی‌کمپوست+شیمیایی، قارچ‌ریشه+ شیمیایی و شاهد (گیاه آلوده بدون کاربرد کود) در نظر گرفته شد. گلدان‌ها (۷۲ عدد) در گلخانه در دمای ۲۵ درجهٔ سلسیوس با نور و رطوبت مناسب نگهداری و مرتب آبیاری شدند آبیاری گلدان‌های حاوی قارچ‌ریشه به‌صورت دوره‌ای با محلول غذایی لانگ اشتون انجام گرفت (Smith *et al.*, 1983).

تهیهٔ مایه

در این تحقیق از جدایهٔ استاندارد *Fusarium graminearum* برای انجام آزمون بیماری‌زایی استفاده شد. در آغاز یک قطعه (دیسک) از پرگنهٔ قدیمی قارچ به محیط کشت PDA (Potato Dextrose Agar, Sigma) منتقل و در محفظهٔ رشد (انکوباتور) در دمای ۲۵±۲ درجهٔ سلسیوس نگهداری شد. سپس مقداری از پرگنهٔ قارچ تازه رشدکرده برای اسپوردهی به محیط کشت مایع جوشاندهٔ ماش (Mange Been) (Yoshizawa, 1997) و همچنین CLA (Carnation Leaf Agar) منتقل شد و محیط‌های کشت به محفظهٔرشد در دمای ۲۵±۲ درجهٔ سلسیوس به مدت دو هفته نگهداری شدند. تهیهٔ اسپور و شمارش آن‌ها با استفاده از لام گلبول‌شمار انجام و دروایهٔ (سوسپانسیون) حاوی $۵×۱۰^{۸}$ در میلی‌لیتر تهیه و در دمای ۲۰- درجهٔ سلسیوس تا زمان انجام آزمون تلقیح نگهداری شد (Schweigkofler *et al.*, 2004).

تلقیح عامل بیماری فوزاریوز

به‌منظور آزمون بیماری‌زایی، همهٔ گیاهان در تیمارهای کودی (ورمی‌کمپوست، قارچ‌ریشه و کود شیمیایی) به همراه گیاه شاهد (آلوده بدون کود) با ۲۰ میلی‌لیتر دروایهٔ حاوی اسپورهای قارچ عامل بیماری اسپورپاشی و یا با ۱۰ میکرولیتر از دروایه با غلظت $۵×۱۰^{۸}$ در میلی‌لیتر با تزریق در زیر محل تشکیل خوشه، تلقیح شدند (Yoshizawa, 1997). عمل تلقیح در زمان گلدهی گندم انجام شد. گلدان‌ها با استفاده از مه‌پاش، مه‌پاشی و با پلاستیک برای حفظ رطوبت بالای گلدان‌ها دست‌کم به مدت ۷۲ ساعت پوشانده شدند.

تجزیهٔ آماری داده‌ها

این پژوهش در قالب طرح کامل تصادفی با چهار تکرار در شرایط گلخانه انجام شد. پس از ظهور علائم بیماری روی خوشه و زرد شدن کامل خوشهٔ بررسی، اجزاء عملکرد و اندازه‌گیری صفت‌های وزن صددانه، ارتفاع بوته، وزن تک بوته، عملکرد دانه، زیست‌توده و شاخص برداشت انجام گرفت. داده‌های به‌دست‌آمده از آزمایش ثبت و با استفاده از نرم‌افزار SPSS تجزیه و مقایسه‌های میانگین با روش دانکن انجام شد. داده‌های به‌دست‌آمده از بررسی میزان بیان ژن‌های مقاومت به بیماری تیمارهای کودی مختلف با استفاده از فرمول Pfaffl (2001) محاسبه شد.

استخراج RNA و qRT-PCR

برای ارزیابی میزان بیان ژن‌های در تیمارهای کودی مختلف، ۷۲ ساعت پس از تلقیح، ۵۰ گرم از برگ‌های هر گلدان جدا و برای استخراج RNA استفاده شد. استخراج RNA با استفاده از کیت کیاژن (Qiagene, Germany)

انجام شد. رشتهٔ اول از مولکول‌های mRNA با استفاده از کیت تجاری 2-Steps RT-PCR kit (Vivantis, Cinngene) ساخته شد. کمیت و کیفت مولکول‌های cDNA به ترتیب با استفاده از دستگاه اسکن دراپ (Analytika, Germany) و ژل آگارز ۱درصد ارزیابی شد. میزان ۵۰ نانوگرم از cDNA برای انجام تجزیهٔ بیان ژن استفاده شد. آغازگرهای مورد استفاده برای بیان ژن در زمان واقعی[1] (qRT-PCR) با نرم‌افزار آنلاین (Primer3 http://fokker.wi.mit.edu/primer3/input.htm)طراحی و توسط شرکت سیناژن ساخته شد (جدول۱). درجهٔ اختصاصی بودن آغازگرها با بلاست محصولات واکنش qRT-PCR ارزیابی شد. همهٔ قطعات تکثیر شده برای بررسی حضور ساختار ثانویه روی وب‌سایت http://mfold.bioinfo.rpi.edu/ بازبینی شدند. واکنش qRT-PCR در حجم ۲۰میکرولیتر شامل ۲میکرولیتر cDNA(50 ng/µl)، ۲ میکرولیتر از مخلوط دو آغازگر (20mM) ۴ میکرولیتر از Mastermix (Hot Tag EvaGreen, Cinnagene, France) و با استفاده از دستگاه کوربت (RG3000, Curbet, Australia) با برنامهٔ دمایی ۹۵ درجهٔ سلسیوس به مدت ۱۵ دقیقه برای واسرشت‌سازی اولیه و به دنبال آن ۴۰ چرخهٔ گرمایی شامل ۹۵درجهٔ سلسیوس برای ۱۵ ثانیه، ۶۰ درجهٔ سلسیوس برای ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجهٔ سلسیوس به مدت ۲۰ ثانیه انجام شد.

جدول ۱. آغازگرهای مورداستفاده در واکنش کیفیت‌سنجی

Table 1. Primers used in quantitative RT-PCR reaction

Gene	Forward primer 5'-3'	Reverse primer 5'-3'	Accession no.
β-1,3-glucanase	AACGACCAGCTCTCCAACAT	GTATGGCCGGACATTGTTCT	AY437443.1
Oxalat Oxidase	TGCAGTTCAACGTCGGTAAG	ATGGCACGAAGACGATACC	AJ556991
Chitinase	ACGGTGTGATCACCAACATC	CAGTCCAGGTTGTCACCGT	AY437443.1
β-Tubolin	GGACAGGATTGACAGATTGATA	CTCGTTCGTTATCGGAATTAA	

نتایج

تأثیر کودهای ورمی‌کمپوست و شیمیایی بر اجزای عملکرد

بنا بر نتایج به‌دست‌آمده از تجزیهٔ واریانس داده‌ها، تأثیر تیمارهای مختلف کودی بر وزن صددانه، ارتفاع بوته، وزن تک بوته، عملکرد دانه، زیست‌توده و شاخص برداشت در سطح احتمال ۱درصد معنی‌دار بود (جدول۲).

بررسی اجزاء عملکرد گندم نیمه‌حساس به بیماری فوزاریوز گندم با کاربرد تیمارهای کودی مختلف نشان داد که تأثیر مخلوط کود ورمی‌کمپوست به همراه کود شیمیایی بیشترین میزان تغییرپذیری را در صفات اندازه‌گیری‌شده به وجود آورد (جدول۳). در بین صفت‌های اندازه‌گیری‌شده، بیشترین اختلاف داده‌ها در ارتباط با وزن صددانه بود به‌طوری‌که مخلوط ورمی‌کمپوست + کود شیمیایی نسبت به کود شیمیایی و ورمی‌کمپوست به‌تنهایی به ترتیب نزدیک به ۴ و ۱/۵ برابر میزان این صفت را افزایش داد. بیشترین میزان عملکرد نیز مربوط به ترکیب دو کود ورمی‌کمپوست و کود شیمیایی بود. در شش صفت اندازه‌گیری شده چهار صفت شامل وزن صددانه، ارتفاع بوته، عملکرد دانه و عملکرد زیستی بیشترین میزان تغییرات را نسبت به شاهد نشان دادند. برای صفات وزن تک بوته و شاخص برداشت بیشترین میزان از بدون کاربرد کود (شاهد) مشاهده شد (جدول ۳).

جدول ۲. تجزیهٔ واریانس اجزاء عملکرد گندم آلودهٔ رقم فلات تحت تیمارهای کودی مختلف

Table 2. Analysis of variance of yield component in Falat wheat cultivar under different fertilizer treatments

Source of variance (S.O.V)	Mean squares							
	ftree down	100-Seed weight	Plant weight	Plant height	Spike length	Bio mass	Seed yield	Harvest index
Fertilizer	5	198.842**	0.359**	45.76**	0.806ns	29.25**	3.032**	0.027**
Error	18	10.042	0.072	5.460	0.931	1.433	0.139	0.004
Error Coefficient(% 0)		21.14	18.67	11.54	7.14	16.55	25.72	34.40

ns و **: به ترتیب بیانگر نبود تفاوت معنی‌دار و تفاوت معنی‌دار در سطح آماری ۱ درصد هستند

ns and ** respectively indicate non significant and Significant different at 1% level probability.

1. Quantitative Revers Transcription- Plolymerase Change Reaction

جدول ۳. مقایسهٔ میانگین‌های ویژگی‌های کمی گندم آلودهٔ رقم فلات تحت تیمارهای کودی مختلف

Table 3. Mean comparison of quantitative traits in infected Falat wheat cultivar under different fertilizer treatment

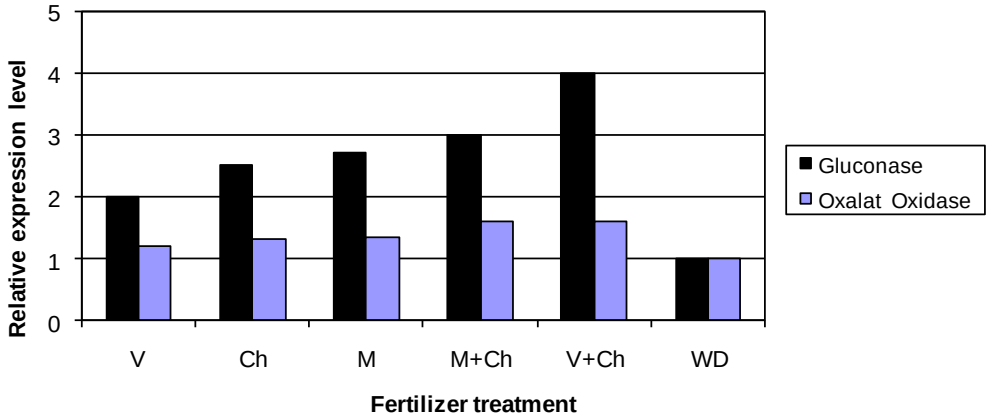
Treatment (fertilizer)	100-Seed weight	Plant weight (g)	Plant height (cm)	Biological yield (g/pot)	Seed yield (g/pot)	Harvest index
Chemical	8.500c	1.565ab	34.227ab	7.747bc	0.840c	0.143bc
Mycorriza	13.5b	1.365b	33.413ab	7.782bc	1.423b	0.177b
Vermicompost	15b	1.52ab	32.71ab	6.803c	1.50b	0.215ab
Mycorriza + Chemical	6.750c	0.972c	28.72b.	2.208d	0.163d	0.053c
Vermicompost + chemical	25a	1.345bc	37.82a	10.105a	2.465a	0.205a
Control	21a	1.88a	37.56a	8.752a	2.303a	0.300a

* در هر ستون تیمارهای دارای حروف مشترک بدون اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱درصد هستند.

* Means in each column and for each treatment followed by similar letter(s) have not significantly different at 1% probability level.

تأثیر کاربرد کود در بیان ژن‌های دخیل در مقاومت القایی

تجزیه و تحلیل بررسی میزان تغییرپذیری در بیان ژن‌های دخیل در مقاومت گندم به بیماری در تیمارهای کودی آلوده به عامل بیمارگر نشان داد که از میان سه ژن بررسی‌شده ژن‌های بتاگلوکوناز و اکسالات اکسیداز تغییر محسوسی در تیمارهای کودی از خود بروز دادند ولی میزان بیان ژن کیتیناز در تیمارهای موردبررسی نسبت به شاهد آلوده تغییری نکرد.



شکل ۱. میزان تغییرات بیان دو ژن گلوکوناز و اکسالات اکسیداز در گیاه گندم رقم فلات با کاربرد تیمارهای کودی مختلف.
V: ورمی‌کمپوست، M: قارچ‌ریشه، Ch: کود شیمیایی، DWF: بیماری بدون کود، NI: بدون بیماری و کود

Figure 1. Gene expression level of two Gluconase and Oxalat oxidase gene in Flat cultivar or wheat under different fertilizer treatments.V (vermicompost), M (mycorria), Ch (Chemical), DWF (Infected with fertilizer), NI (non infection and fertilizer)

بیان ژن بتا گلوکوناز در ترکیب کود شیمیایی با ورمی کمپوست ۴ برابر تعیین شد که این میزان افزایش تغییر صفات زراعی شامل ارتفاع بوته، توده زیستی، عملکرد دانه و شاخص برداشت در کاربرد این کود نسبت به شاهد را تأیید می‌کند (جدول ۲). در همهٔ تیمارهای کودی بیان ژن‌های موردنظر نسبت به شاهد تغییر داشت ولی این تغییرات نسبت به شاهد برای ژن گلوکوناز بیشتر از اگسالات اکسیداز بود (شکل۱). میزان تغییرات برای ژن اگسالات اکسیداز برای تیمارهای کودی قارچ‌ریشه + شیمیایی و ورمی کمپوست + شیمیایی نسبت به تیمارهای دیگر افزایش داشت ولی این افزایش شایان ملاحظه نبود. این در حالی بود که تیمار قارچ‌ریشه + شیمیایی روی بیشتر صفات اندازه‌گیری شده تغییر معنی‌داری ایجاد نکرد. با توجه به نتایج تجزیه‌وتحلیل بیان ژن چنین نتیجه‌گیری می‌شود که تیمار ورمی کمپوست+ شیمیایی می‌تواند به‌عنوان بهترین تیمار کودی هم ازنظر صفات زراعی و هم ازنظر تحریک بیان ژن مقاومت مؤثرتر باشد. بررسی میزان بیان ژن‌ها در گیاهان شاهد بدون آلودگی نشان داد که میزان بیان همهٔ ژن‌ها منفی است (شکل ۱).

بحث

بیماری فوزاریوز خوشهٔ گندم یکی از مهم‌ترین عامل‌های محدودکنندهٔ کشت گندم در نقاط مختلف جهان به‌ویژه مناطقی با رطوبت بالای محیط است. در این تحقیق سعی شد تا تأثیر کودهای مختلف زیستی و همچنین شیمیایی در افزایش اجزاء عملکرد و بعضی صفات فیزیولوژیک و همچنین ایجاد مقاومت اکتسابی به بیماری فوزاریوز گندم بررسی شود. نتایج به‌دست‌آمده نشان داد، کاربرد کودهای مصرفی در روند مقاومت اکتسابی گیاه به بیماری در شرایط گلخانه مؤثر است. با توجه به لزوم بروز بیماری و مشاهدهٔ نشانه‌ها در گیاه برای تعیین نقش و کارایی کودها درروند بهبود شرایط رشدی گیاه و مقاومت اکتسابی به بیماری از رقم گندم فلات نیمه‌حساس به این بیماری استفاده شد. امروزه تا آنجایی که نویسندگان اطلاع دارند چنین پژوهشی در ایران و دیگر کشورهای جهان در ارتباط با تأثیر انواع کودهای آلی و غیرآلی در افزایش مقاومت به بیماری‌های گیاهی در گندم انجام نشده است ولی بررسی‌هایی جسته و گریخته نشان داده‌اند که کاربرد کودهای مختلف به همراه فعالیت‌های زراعی شدت بیماری‌ها را کاهش داده و منجر به کنترل نسبی بیماری شده است (Atkinson & McKinlay, 1997; Öborn *et al.*, 2003). نتایج این تحقیق نشان داد که ترکیب کودهای مختلف، مقادیر شماری از صفات زراعی مورد بررسی را نسبت به شاهد افزایش داد درحالی‌که شماری از صفات اندازه‌گیری‌شده شامل وزن تک بوته و طول ساقه تغییر شایان ملاحظه‌ای نسبت به شاهد نداشتند. کاربرد کودها و مواد مغذی در گندم می‌تواند منجر به پر شدن سریع خوشه‌ها در شرایط مزرعه شده، باعث فرار گیاه از مراحل اولیهٔ نفوذ بیماری و توسعهٔ قارچ در گیاه شود (Abedi-Tizaki & Sabbagh, 2013) ولی در این تحقیق با وجود تغییر صفت‌های مربوط به وزن دانه، خوشه‌دهی و پر شدن خوشه‌ها در همهٔ تیمارها و شاهد هم‌زمان بود. بیماری بلایت خوشه در شرایط رطوبتی مناسب و رقم حساس یا نیمه‌مقاوم آسیب و زیان زیادی به گیاه و محصول وارد و از نظر بهداشتی نیز باعث تولید زهرابه‌های خطرناکی در آرد گندم می‌شود. در ایران گزارش‌های پرشماری از استان‌های مختلف مبنی بر معرفی عامل بیماری (Abedi-Tizaki & Sabbagh, 2012; Golzar *et al.*, 1998; Moosawi-Jorf *et al.*, 2007) و همچنین نوع و میزان زهرابه‌های تولیدی توسط این قارچ در گندم و محصولات مختلف ارائه شده است (Karami-Osboo *et al.*, 2010; Mirabolfathy & Karami-Osboo, 2013) ولی بررسی‌های جامعی در ارتباط با معرفی روش‌های شیمیایی مناسب، مبارزهٔ تلفیقی و کنترل زیستی انجام نشده است. در اثر رویارویی یک گیاه با یک عامل بیماری‌زای فیزیولوژی طبیعی گیاه دچار مشکل شده، جذب و انتقال مواد غذایی از خاک و تجمع آن‌ها در گیاه و به دنبال آن پخش در گیاه دستخوش تغییر و تحول می‌شود (Marschner & Marschner, 2011). بااین‌حال عامل‌های بیمارگر به‌ویژه در سطح ریشه‌گاه پاسخ‌های مختلفی به میزان یک عنصر قابل‌دسترس در خاک از خود نشان می‌دهند. به‌طور مثال در بعضی از بیماری‌های گیاهی مانند زنگ‌ها که جزء انگل (پارازیت)های اجباری هستند، در شرایط بیشینهٔ نیتروژن، میزان بیماری افزایش‌یافته درحالی‌که در بودن بیمارگرهای اختیاری مانند فوزاریوم و آلترناریا در میزان شدت بیماری کاهش یافته است (Dordas, 2009). استفاده از مواد مغذی می‌تواند شرایط رشدی گیاه را بهبود بخشیده و باعث افزایش مقاومت در ساختار فیزیکی گیاه مانند استحکام دیواره‌های یاخته‌ای شده و بیان ژن‌های دخیل در مقاومت را به‌محض روبه‌رو شدن با عامل بیمارگر فعال سازد. در این تحقیق مشاهده‌های ما نشان داد که ترکیب کودی حاوی کود شیمیایی (NPK) با کودهای زیستی قارچ‌ریشه و ورمی‌کمپوست باعث بهبود شماری از صفات زراعی و همچنین افزایش بیان ژن بتا گلوکوناز و اگسالات اکسیژن شد. درنتیجه می‌توان با افزایش میزان نیتروژن میزان بیماری را به میزان بیشتری کاهش داد. بررسی‌های مختلفی نقش عنصر پتاسیم را در افزایش و کاهش بیماری ارزیابی کرده، نشان داده شده که در مورد چند بیماری عفونی اجباری و اختیاری در گندم افزایش میزان پتاسیم خاک، کاهش بیماری را به دنبال داشته است (Dordas, 2009; Huber, 1996). ولی در مواردی هم افزایش فسفر باعث افزایش بیماری‌هایی مانند

سیاهک گندم شده است (Huber, 1980). نقش کودها در تغییر شرایط خاک و همچنین بر هم زدن موازنهٔ عناصر غذایی در دسترس گیاه و به دنبال آن تأثیر گذاشتن آن‌ها در روند کاهش و یا افزایش بیماری باید به‌دقت بررسی شود، به‌طوری‌که یک عنصر اگرچه باعث تقویت گیاه در جریان مراحل رشدی از کاشت تا برداشت می‌شود ولی ممکن است شرایط را برای افزایش قدرت بیماری‌زایی عامل بیمارگر در مراحل اولیهٔ رشد گیاه فراهم سازد و باعث بروز بیشینهٔ بیماری در اوایل فصل رشد شود. بنابراین برای کاربرد هر تیمار کودی باید ماهیت عامل بیمار و واکنش رشد بیمارگر به‌ویژه بیمارگرهای قارچی توجه شود. در بیشتر روش‌های مبارزه با بیماری‌های گیاهی که با روش‌های غیرشیمیایی صورت می‌گیرد نوعی مقاومت اکتسابی ساختارمند در گیاه ایجاد می‌شود که قادر خواهد بود گیاه را تا پایان مراحل رشدی در برابر بیماری متحمل کند (Graham & Webb, 1991) سازوکار این نوع مقاومت به‌خوبی در مورد بیماری‌ها و گیاهان مختلف تشریح شده است (Marschner, 1995). ژن‌های مختلفی که در تولید پروتئین‌های مرتبط با ایجاد مقاومت در گیاهان پس از مرحلهٔ نفوذ عامل بیماری نقش دارند گزارش شده است (Linthorst, 1991). بتا گلوکان و کیتین از جمله موادی هستند که تجمع آن‌ها در گیاهان مقاوم به بیماری پس از آلودگی زیاد می‌شود (Arlorio *et al.*, 1992). بررسی میزان تغییرات چند ژن دخیل در مقاومت گندم به بیماری بلایت خوشه در تیمارهای کودی مختلف نشان داد که ژن بتا گلوکوناز و اگسالات اکسیژن در تیمارهای کودی نسبت به شاهد تغییر ولی ژن کیتیناز تغییر قابل مشخصی نسبت به شاهد نداشت و با توجه به حساس بودن رقم گندم انتظار افزایش بیان ژن در حضور بیماری وجود نداشت که این میزان کم تغییرات در رقم حساس می‌تواند نشانهٔ خوبی از تأثیر کودها به‌ویژه مخلوط کود ورمی‌کمپوست و شیمیایی در القای مقاومت اکتسابی و تحمل گیاه به بیماری باشد. بررسی و ارزیابی میزان بیان این ژن‌ها در رقم حساس و مقاوم بدون حضور هیچ عامل تحریک‌کنندهٔ مقاومت، نشان داده است که میزان بیان این ژن‌ها در رقم حساس چند روز پس از آلودگی منفی بوده است (Nemati & Navabpour, 2012). در این بررسی بیان ژن‌های مسئول مقاومت در رقم نیمه‌حساس فلات پیش از آلودگی منفی و پس از تلقیح قارچ بیمارگر به گیاه میزان بیان ژن افزایش معنی‌داری نسبت به شاهد بدون بیمارگر مشاهده نشد که با نتایج تحقیق Nemati & Navabpour (2012) همخوانی دارد. بنابراین تغییر محسوس این ژن‌ها در تیمارهای کودی می‌تواند رابطهٔ مستقیمی با القاء مقاومت در گیاه داشته باشد. با توجه به نقش ثابت‌شدهٔ عناصر غذایی کم‌مصرف و پرمصرف در ایجاد مقاومت به بیماری‌های مختلف، توصیه می‌شود تا از کودهای زیستی به همراه کودهای شیمیایی و یا عناصر غذایی به‌ویژه برای بیماری‌های هوازاد استفاده شود تا افزون بر بالا بردن اجزاء عملکرد و تولید محصول مقاومت به بیماری را افزایش داد. بررسی‌های تکمیلی در جهت بررسی بیشتر ژن‌های مؤثر در مقاومت و بررسی تغییرات بیوشیمیایی و آنزیم‌های مختلف گیاه در تیمارهای مختلف کودی و همچنین در دوره‌های زمانی مختلف نیز توصیه می‌شود.

نتیجه‌گیری کلی

با توجه به اهمیت بیماری فوزاریوز گندم به‌عنوان یکی از مهم‌ترین عامل‌های محدودکنندهٔ گندم سالم برای تهیهٔ نان و در راستای رسیدن به کشاورزی پایدار، کاربرد کودهای زیستی در جهت مقاومت القایی ضروری به نظر می‌رسد. در این تحقیق مشخص شد که تیمارهای کودی باعث القاء مقاومت اکتسابی ساختارمند در گیاه شده و ژن‌های مسئول مقاومت افزایش بیان را نشان دادند، ولی با قاطعیت نمی‌توان اذعان داشت که این مقاومت به نسل بعدی و نتاج منتقل می‌شود و در سال‌های بعد باعث مقاومت ذاتی در گیاه می‌شود. در واقع توصیهٔ تیمارهای کودی به‌ویژه، کودهای زیستی افزون بر اثرات مثبت زیست‌محیطی، تأثیر آن‌ها در تقویت گیاه بیمار و فرار گیاه از بیماری به‌ویژه در مراحل اولیهٔ توسعهٔ بیماری است. کاربرد بهینهٔ کودهای شیمیایی در حد متعارف هم می‌تواند این تأثیر را در برداشته و چنانچه با فرمولی مناسب با کودهای زیستی مخلوط شود می‌توانند مؤثرتر واقع شود.

REFERENCES

1. Abedi-Tizaki, M. & Sabbagh, S. K. (2012). Morphological and molecular identification of Fusarium head blight isolates from wheat in North of Iran. *Australian Journal of Crop Science,* 6, 1356- 1366.
2. Abedi-Tizaki, M. & Sabbagh, S.K. (2013). Detection of 3-Acetyldeoxynivalenol, 15-Acetyldeoxynivalenol and Nivalenol-Chemotypes of *Fusarium graminearum* from Iran using specific PCR assays. *Plant Knowledge Journal,* 2, 38-45.
3. Agrios, N.G. (2005). Plant Pathology, 5th ed., Elsevier, Amsterdam, p. 635.
4. Arancon, N.Q., Edwards, C.A., Atiyeh, R. & Metzger, J.D. (2004). Effects of vermicomposts produced from food waste on the growth and yields of greenhouse peppers. *Bioresource Technology,* 93, 139-144.
5. Arlorio, M., Ludwig, A., Boller, T. & Bonfante, P. (1992). Inhibition of fungal growth by plant chitinases and 1,3-glucanases: a morphological study. *Protoplasma* 171, 34-43.
6. Atiyeh, R., Lee, S., Edwards, C., Arancon, N. & Metzger, J. (2002). The influence of humic acids derived from earthworm-processed organic wastes on plant growth .*Bioresource Technology*, 84, 7-14.
7. Atiyeh, R., Subler, S., Edwards, C., Bachman, G., Metzger, J. & Shuster, W. (2000). Effects of vermicomposts and composts on plant growth in horticultural container media and soil. *Pedobiologia,* 44, 579-590.
8. Atkinson, D. & McKinlay, R. (1997). Crop protection and its integration within sustainable farming systems. *Agriculture, Ecosystems & Environment,* 64, 87-93.
9. Audenaert, K., Van Broeck, R., Bekaert, B., De Witte, F., Heremans, B., Messens, K. & Höfte, M., Haesaert, G. (2009). Fusarium head blight (FHB) in Flanders: populationdiversity, inter-species associations and DON contamination in commercial winterwheat varieties *Europian Journal of Plant Patholog,* 125, 445-458.
10. Barbour, J. D., Farrar, R. R. & Kennedy, G. G. (1991). Interaction of fertilizer regime with host-plant resistance in tomato. *Entomologia Experimentalis et Applicata,* 60,289-300.
11. Bottalico, A. & Perrone, G. (2002). Toxigenic Fusarium species and mycotoxins associated with head blight in small-grain cereals in Europe. *European Journal of Plant Pathology,* 108, 611-624.
12. Cook, R.J. (1981). In Nelson P. E. & Toussoun, T. A. (eds), *Fusarium diseases, biology, and taxonomy*. (pp. 39-52) The Pennsylvania State University Press, University Park.
13. Dordas, C. (2009). In: Lichtfouse, E., Navarrete, M., Debaeke, P., Véronique, S. & Alberola, C. (Eds.), *Sustainable Agriculture.* (pp.443-460) Springer.
14. Golzar, H., Foroutan, A. & Ershad, D. (1998). Studies on Fusarium species causing head blight of wheat and sources of resistance of *F. graminearum* in Golestan and Mazandaran. *Iran. Journal of Plant Pathology,* 34,48-52.
15. Graham, D.R. & Webb, M.J. (1991). In: Mortvedt, J.J., Cox, F.R., Shuman, L.M. & Welch, R.M. (eds.), *Micronutrients in Agriculture,* (pp.329-370). America Inc., Madison, Wisconsin, USA.
16. Hashemimajd, K., Kalbasi, M., Golchin, A. & Shariatmadari, H. (2004). Comparison of vermicompost and composts as potting media for growth of tomatoes. *Journal of Plant Nutrition,* 27, 1107-1123.
17. Huber, D.M. (1980). In: Horsfall, J.G., Cowling, E.B. (Eds.). *Plant Disease, An Advanced Treatise, How Plants Defend Themselves*. (pp. 381–406), Academic press, New York.
18. Huber, M.D. (1996a). In: Engelhard, W.A. (Ed.), *Management of Diseases with Macro- and Microelements*. (217-240). APS, Minneapolis, USA.
19. Karami-Osboo, R., Mirabolfathy, M. & Aliakbari, F. (2010) Natural deoxynivalenol contamination of corn produced in Golestan and Moqan areas in Iran. *Journal of Agriculture and Science Technology (JAST),* 12, 233.
20. Kolb, F., Bai, G., Muehlbauer, G., Anderson, J., Smith, K. & Fedak, G. (2001) Host Plant Resistance Genes for Fusarium Head Blight. *Crop Science,* 41, 611-619.
21. Linthorst, H. (1991) Pathogenesis-related proteins of plants. *Critical Reviews in Plant Sciences,* 10, 123-150.
22. Mackintosh, C.A., Lewis, J., Radmer, L.E., Shin, S., Heinen, S.J., Smith, L.A., Wyckoff, M.N., Dill-Macky, R., Evans, C.K. & Kravchenko, S. (2007) Overexpression of defense response genes in transgenic wheat enhances resistance to Fusarium head blight. *Plant Cell Reports,* 26, 479-488.
23. Marschner, H. (1995) Mineral Nutrition of Higher Plants, 2nd ed.Academic, London, p. 889.
24. Marschner, H. & Marschner, P. (2011). Marschner's mineral nutrition of higher plants, Access Online via Elsevier.
25. Mirabolfathy, M. & Karami-Osboo, R. (2013) Deoxyivalenol and DON production *Fusarium graminearum* isolates in wheat and baerly crops in north and northwest area of Iran. *Iranian Journal of Plant Pathology,* 48, 197-210.

26. Moosawi-Jorf, S. A., Farrokhi-Nejad, R., Azimi, S. & Afarin, S. (2007) Study of Fusarium Head Blight of wheat in Khuzestan Province in Iran and reporting of *Fusarium xylaroides* as a new causal agents for disease. *Journal of Agronomy*, 6, 212-221.
27. Nemati, M. & Navabpour, S. (2012) Study on quantitative expression pattern of oxalate oxidase and β-1, 3 glucanase genes under Fusarium graminearum treatment in wheat by quantitative Real time PCR. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*, 4, 443-447.
28. Noble, R. & Coventry, E. (2005) Suppression of soil-borne plant diseases with composts: a review. *Biocontrol Science and Technology*, 15, 3-20.
29. Öborn, I., Edwards, A., Witter, E., Oenema, O., Ivarsson, K., Withers, P., Nilsson, S. & Richert Stinzing, A. (2003) Element balances as a tool for sustainable nutrient management: a critical appraisal of their merits and limitations within an agronomic and environmental context. *European Journal of Agronomy*, 20, 211-225.
30. Pfaffi, M. W. (2001) A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. N*ucleic Acid Research*, 29, 2002-2007.
31. Rudd, J., Horsley, R., McKendry, A. & Elias, E. (2001) Host plant resistance genes for Fusarium head blight. *Crop Science*, 41, 620-627.
32. Safaie, N., Alizadeh, A., Saidi, A. & Rahimian, H. (2005) Molecular characterization and genetic diversity among Iranian populations of *Fusarium graminearum* isolates, the causal agent of wheat scab. *Iranian Journal of Plant Pathology*, 41, 69-74.
33. Schweigkofler, W., O'Donnell, K. & Garbelotto, M. (2004). Detection and quantification of airborne conidia of Fusarium circinatum, the causal agent of pine pitch canker, from two California sites by using a real-time PCR approach combined with a simple spore trapping method. *Applied and Environmental Microbiology*, 70, 3512-3520.
34. Shahcheraghi, M. & Masoumi, M. (1997). *Guide of wheat diseases*. Publication center of Tehran University 11-36.
35. Shin, S., Mackintosh, C.A., Lewis, J., Heinen, S.J., Radmer, L., Dill-Macky, R., Baldridge, G.D., Zeyen, R.J. & Muehlbauer, G.J. (2008). Transgenic wheat expressing a barley class II chitinase gene has enhanced resistance against Fusarium graminearum. *Journal of Experimental Botany*, 59, 2371-2378.
36. Smith, G., Johnston, C. & Cornforth, I. (1983). Comparison of nutrient solutions for growth of plants in sand culture. *New Phytologist*, 94, 537-548.
37. Wang, R., Xu, H.-L. & Mridha, M. A. U. (2001). Phytophthora Resistance of Organically-Fertilized Tomato Plants. *Journal of Crop Production*, 3,77-84.
38. Yoshizawa, T. (1997). Geographic difference in trichothecene occurrence in Japanese wheat and barley. *Agrculture Science*, 5, 23-30.

Iranian Journal of Filed Crop Science, Vol. 47, No. 1, Spring 2016

Effects of fertilizer treatments on components, performance components and induce resistance to wheat scab disease

Seyed Kazem Sabbagh[1*], Basira Kermanizadeh[2], Ahmad Gholamalizadeh-Ahangar[3] and Alireza Sirousmehr[4]

1. Associate Professor, Department of Biology, Campus of Science, Yazd University, Yazd, Iran
2, 3. M.Sc. Student and Associate Professor, Department of Soil Science, Faculty of Water and Soil, University of Zabol, Iran
4. Assistant Professor, Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran, Iran

(Received: Apr. 21, 2015 - Accepted: Sep. 22, 2015)

ABSTRACT

Fusarium head blight (FHB) disease caused by *Fusarium graminearum* is one of the most destructive diseases of wheat that in addition to the loss of product quality and quantity is able to produce the dangerous carcinogenic toxins in human and animals. In this study, the effects of different fertilizer treatments (Vermicompost, Chemical fertilizer and Mycorrhiza) on performance components and expression of several genes involved in disease resistance pathway was investigated. For this reason, Falat wheat cultivar was used in a completely randomized design with four repetitions in greenhouse conditions. The analysis of variance showed that the effects of different fertilizer treatments on 100-seed weight, plant height, weight per plant, seed performance, biological performance and the harvest index were significant at 1% probability level. The analysis of gene expression data showed that *beta Glucanase* and *Oxalate Oxidase* genes had a significant increase in all treatments but the highest increase was observed in vermicompost and chemical fertilizers mixture. The results indicated that the mix application of biologic and non-biologic fertilizers could be induce systemic acquire resistance in infected plants.

Keywords: Acquired resistance, fertilizer treatments, fusarium head blight, performance components.

* Corresponding author E-mail: sksabbagh@yazd.ac.ir Tel: +98 35 31232275