Iranian Journal of Plant Protection Science
Vol 52, No 1, Spring and Summer 2021 (37-51)
DOI: 10.22059/ijpps.2021.311482.1006955

دانش گیاهپزشکی ایران
دورهٔ ۵۲، شمارهٔ ۱، بهار و تابستان ۱۴۰۰ (۵۱ص-۳۷) مقاله پژوهشی

مهار بیماری پاخورهٔ گندم (*Gaeumannomyces tritici*) با استفاده از تلفیق باکتری *Bacillus subtilis* GB03 و چند عنصر غذایی مهم در خاک

فرشته سعید سرو بابایی[1]، سعید عباسی[2*]، روح الله شریفی[3]، علی بهشتی آل‌آقا[4]
۱ و ۲ و ۳ دانش آموخته کارشناسی ارشد، دانشیار و استادیار گروه گیاه‌پزشکی، دانشگاه رازی، کرمانشاه
۴. دانشیار گروه علوم و مهندسی خاک، دانشگاه رازی، کرمانشاه
(تاریخ دریافت: ۹۹/۰۷/۱۹- تاریخ پذیرش:۱۴۰۰/۰۲/۲۵)

چکیده

پاخورهٔ گندم با عامل *Gaeumannomyces tritici* یکی از بیماری‌های مهم ریشهٔ گندم در تمام جهان است. در این پژوهش، اثر ترکیبی عناصر غذایی و سویه بیوکنترلی *Bacillus subtilis* GB03 روی رشد گندم و درصد آلودگی ریشه ارزیابی شد. ابتدا، تجزیه خاک انجام شد و بر اساس نتایج آن و بررسی منابع، عناصر نیتروژن، فسفر، آهن، روی و مس در غلظت‌های مختلف مورد استفاده قرار گرفتند. آزمایش اثر تلفیق باکتری و عناصر غذایی در شرایط گل‌خانه و به مدت ۳۵ روز انجام شد. تیمار باکتری به صورت آغشته-سازی بذر و خاک صورت گرفت. در این میان، فسفر بیش‌ترین اثر را در مهار بیماری ایفا نمود. افزایش کود سوپرفسفات تریپل، به صورت خطی درصد آلودگی ریشه را تا ۵۱/۱۴ درصد کاهش داد. باکتری این اثر را تا ۷۱/۵۰ درصد افزایش داد؛ به نحوی که حتی در کم‌ترین سطح کود (۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) سبب مهار کامل علائم روی طوقه شد. نیتروژن در اولین سطح به‌کار رفته (۵۰ میلی‌گرم اوره بر کیلوگرم خاک)، درصد آلودگی ریشه را ۳۵ درصد کاهش داد. آهن اثر قابل توجه‌ای در مهار بیماری داشت و در اولین سطح به‌کار رفته (۱/۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک)، بیماری را از ۶۰/۵ درصد شاهد به ۴۶ درصد کاهش داد. روی در سطح دوم و در تعامل با باکتری آنتاگونیست قادر بود علائم بیماری را به صورت معنی‌داری کاهش دهد. مس نیز قادر بود علائم بیماری را تا ۱۸/۴ درصد کاهش دهد و بیش‌ترین اثر از سطح پنج میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک به بالای این عنصر دیده شد. مس اثر متقابل مثبتی با باکتری در بهبود صفات رشدی گندم داشت. در مجموع می‌توان گفت میزان اثر عناصر با فراهمی آن‌ها در خاک مرتبط بود. افزودن باکتری به این مجموعه نیاز به مصرف عناصر را تعدیل کرد.

واژه‌های کلیدی: باسیلوس، پاخوره، کنترل بیولوژیک، کود.

Suppression of wheat take-all (*Gaeumannomyces tritici*) using a combination of Bacillus subtilis GB03 and several important nutrients in soil

Fereshteh Saeed sarvbabaei[1], Saeed Abbasi[2], Rouhallah Sharifi[3], Ali Beheshti al-agha[4]
1,2 and 3: MSc, Associate professor and Assistant professor of Plant Pathology, Department of Plant Protection, Razi University, Kermanshah
4: Associate professor of Soil Biology, Department of Soil science, Razi University, Kermanshah
(Received: October 10, 2020 - Accepted: May 15, 2021)

ABSTRACT

Take-all disease caused by *Gaeumannomyces tritici* is an important crown and root rot disease of wheat throughout the world. In this work, a combination of fertilizers and *Bacillus subtilis* GB03 were examined on wheat growth and percentage of the infected root. Soil physical and chemical properties have been analyzed in the first step. Different concentrations of nitrogen, phosphorous, Fe, Zn, and Cu have been selected based on soil analysis data and literature review. The effect of combining bacteria and fertilizers was tested in a greenhouse for 35 days. The bacteria was applied as seed bacterization and post-planting drench. Among fertilizers, Phosphorus showed the greatest effect on control of this disease. Triple superphosphate linearly reduced the percentage of root infection to 51.14%. Bacteria enhanced inhibition activity of phosphorus by 71.50%; so that the symptoms on crown have been eliminated even at the lowest levels of fertilizer (25 mg per kg of soil). The lowest level of Nitrogen (50 mg urea/Kg of soil) reduced root infection percent up to 35%. Iron fertilizer had an outstanding effect on disease inhibition and reduced the disease from 60.5 to 46% in its lowest level (1.3 mg/Kg of soil). A combination of bacteria and the second level of Zn concentration decreased disease symptoms, significantly. Cu fertilizer decreased disease symptoms to 18.4%. Its effect was significant in more than 5 mg/Kg of soil. This fertilizer improved growth factors in combination with bacteria. In conclusion, the effect of nutrients was dependent on their availability in tested soil. Bacteria addition to this system improved the plant nutrient efficiency.

Keywords: *Bacillus subtilis*, Biological control, Fertilizer, Take-all.

* Corresponding author E-mail: abbasikhs@yahoo.com

مقدمه

بیماری پاخوره با عامل *Gaeumannomyces tritici*(J.Walker) Hern. Restr, & Crous ، یکی از مهم‌ترین و مخرب‌ترین بیماری‌های ریشه و طوقه گندم در سطح جهان است (Freeman *et al.*, 2004; Mathre, 1992). این بیماری نخستین بار در سال ۱۳۶۷ در مزارع گندم استان‌های مازندران و گرگان گزارش گردید(Foroutan *et al.*, 1989) و بعدتر در بسیاری از مناطق کشور از جمله در استان کرمانشاه گزارش شده است (Rajabi *et al.*, 2003; Yousefvand *et al.*, 2015)پاخوره در نواحی پرباران و مزارع آبی و در خاک‌های با pH اندکی اسیدی تا قلیایی (حدود شش تا هشت و نیم) شیوع بیش‌تری دارد (Cook, 2003).

در زمینۀ مدیریت بیماری تاکنون رقم کاملاً مقاوم در برابر بیمارگر شناخته نشده و مهار شیمیایی هم با توجه به ماهیت خاکزاد بیمارگر و عدم وجود قارچ‌کش مناسب، امکان پذیر نیست (Colbach *et al.*, 1997; Freeman *et al.*, 2004; Mohammadi *et al.*, 2019). لذا روش‌هایی همچون تناوب کشت، شخم عمیق و مهار علف‌های هرز میزبان، مدیریت تغذیه گیاه به‌ویژه از طریق عناصر ازت آمونیومی، آهن، منگنز، فسفر و روی در مدیریت بیماری به کار رفته و تا حدودی موفق بوده‌اند (Colbach *et al.*, 1997; Datnoff *et al.*, 2007; Duffy *et al.*, 1997b; Huber *et al.*, 2007; Kwak *et al.*, 2013). مطالعات متعدد نشان داده است که شدت بیماری پاخوره در خاک‌هایی که از لحاظ یک یا چند عنصر غذایی ضعیف هستند بیشتر است (Datnoff *et al.*, 2007; Huber *et al.*, 2007). استفاده از کودهای فسفر (Brennan, 1992a)، مس (Brennan, 1991) و روی (Brennan, 1992b) در خاک‌هایی که دچار کمبود این عناصر بوده‌اند توانسته است شدت بیماری پاخوره را به صورت قابل توجهی کاهش دهد. اما اضافه کردن این عناصر غذایی بیش از نیاز گیاه تأثیر چندانی در کاهش پاخوره نداشته است (Brennan, 1991, 1992b). در حقیقت فراهمی مواد غذایی با کاهش حساسیت بافت‌های میزبان و همچنین بهبود سیستم ریشه باعث محدود شدن خسارت پاخوره غلات می‌شود(Huber *et al.*, 2007; Reis *et al.*, 1982). علاوه بر عنصر موجود در کود، فرم کودی استفاده شده نیز می‌تواند در کارایی آن در مهار پاخوره مؤثر باشد. مشخص شده است که با کاربرد نیتروژن آمونیومی در خاک، pH فراریشه کاهش می‌یابد و باعث کاهش بیماری پاخوره می‌شود. در حالی‌که استفاده از نیتروژن نیتراتی موجب افزایش pH فراریشه و در نتیجه گسترش بیماری می‌شود (Datnoff *et al.*, 2007; Smiley *et al.*, 1973). در حقیقت شدت بیماری پاخوره غلات در pH کم‌تر از هفت کاهش می‌یابد و در pH کم‌تر از پنج، رشد بیمارگر به صفر می‌رسد. کریستنسن و برت (Christensen *et al.*, 1985) اثر کلر و آهک روی شکل نیتروژن خاک و پاخورۀ گندم بررسی شده است و نتایج آن مطالعۀ نشان داد که آهک از بین رفتن شکل آمونیومی نیتروژن را در خاک تسریع می‌کند و ظهور نیترات را افزایش می‌دهد. در صورتی که کلر در خاک غیر آهکی (با pH ۵/۵) با کاهش نیترات‌سازی شدت پاخوره را کاهش و محصول را افزایش می‌دهد، اما در خاک آهک داده شده (با pH ۶/۶) اثری ندارد. در کنار روش‌های زراعی، استفاده از عوامل کنترل بیولوژیک از جمله سودوموناس‌های فلورسنت و باسیلوس‌ها نیز در مهار زیستی پاخورۀ گندم مؤثر بوده است (Kwak *et al.*, 2013; Liu *et al.*, 2009; Sari *et al.*, 2007; Yang *et al.*, 2017). این عوامل به‌طور معمول در فراریشه، حضور داشته و در طول کشت پیاپی گندم به مدت چهار تا شش سال و بعد از بروز شدید بیماری جمعیت آن‌ها افزایش می‌یابد و در نتیجه مهار طبیعی پاخوره اتفاق می‌افتد که به این پدیده زوال پاخوره گفته می‌شود (Kwak *et al.*, 2013). از بین باکتری‌های مرتبط با زوال پاخوره، سویه‌های باسیلوس با تولید لیپوپپتیدهای مثل ایتورین، سورفکتین و باسیلومایسین از توان بالایی در مهار بیماری برخوردار بوده‌اند (Yang *et al.*, 2017). برخی از اعضای این جنس توانایی کلونیزاسیون ریزوسفر داخلی را نیز برخوردارند و علاوه بر تغییر

فیزیولوژی گیاه میزبان قادر هستند باعث تغییر بیان ژن‌های مرتبط با بیماریزایی در عامل پاخوره نیز شوند(Kang *et al.*, 2019). سویه‌های باسیلوس به علت تشکیل اسپور و عمر بالا در فرمولاسیون در کاربرد تجاری مورد توجه ویژه‌ای قرار گرفته‌اند. از جمله این سویه‌ها می‌توان به *Bacillus subtilis* GB03 با نام تجاری کودیاک، *Bacillus pumilus* INR7 با نام تجاری ییلد شیلد و *Bacillus subtilis* QST713 با نام تجاری سرانادِ اشاره کرد(Borriss, 2011; Ongena *et al.*, 2008). مدیریت تغذیهٔ میزبان نقش مؤثری در فعالیت بیوکنترلی باکتری‌های فراریشه دارد. اونلی و همکاران (۲۰۰۳) ارتباط ۱۶ ویژگی خاک در ۱۰ خاک مختلف را روی فعالیت *P. fluorescens* در مقابل پاخوره را بررسی کرده و گزارش کردند که میزان نیتروژن آمونیومی، سدیم، روی، گوگرد، pH خاک و درصد ماسه در خاک همبستگی مثبتی با بیوکنترل پاخوره دارد و میزان بیماری کم می‌شود اما مقدار آهن، منگنز، کربن کل، نیتروژن کل، رس، سیلت، مواد آلی موجود در خاک و ظرفیت تبادل کاتیونی رابطه عکسی با فعالیت بیوکنترلی باکتری دارد و نرخ بیماری افزایش می‌یابد. در بررسی تأثیر شاخص‌های تغذیه‌ای روی میزان رشد باکتری *P. fluorescens* و تجمع آنتی‌بیوتیک فنازین مشخص شده که اسید بوریک، سولفات‌های آهن و منیزیم رشد باکتری و تولید آنتی‌بیوتیک را افزایش می‌دهند، اما اضافه کردن سولفات روی و مولیبدات آمونیوم فقط در افزایش تولید آنتی‌بیوتیک نقش دارند و ترکیب آهن و منیزیم میزان رشد باکتری را بهبود می‌بخشند (Slininger *et al.*, 1992). گزارش‌هایی وجود دارد که نشان می‌دهد عنصر روی قادر است به صورت مستقیم یا غیر مستقیم میزان تولید آنتی‌بیوتیک دی‌استیل فلوروگلوسینول را افزایش دهد(Slininger *et al.*, 1996). آهن نیز قادر است به صورت منفی تولید سیدروفورهای میکروبی را تنظیم کرده و باعث کاهش بیان آن شود (Sharifi *et al.*, 2010). باکتری‌ها نیز با تولید سیدروفور و فیتازها حلالیت و فراهمی عناصری مثل آهن، روی و فسفر را افزایش می‌دهند (Rudresh *et al.*, 2005; Sharifi *et al.*, 2010). افزایش فسفر نیز موجب بهبود کارایی سودوموناس‌های تولید کننده آنزیم آ.سی.سی-دآمیناز شده است (Najafi *et al.*, 2015). فرم ازت به کار رفته نیز با تغییر pH منطقهٔ ریزوسفر روی جمعیت باکتری‌های فراریشه مؤثر است. استفاده از فرم آمونیومی ازت در مقایسه با فرم نیتراته موجب افزایش جمعیت سودوموناس‌های فلورسنت شده است (Smiley, 1974). کاهش pH فراریشه همبستگی بیشتری با کاهش بیماری داشت و گاهی اختلاف pH بین دو فرم کودی به ۱/۵ واحد می‌رسد (Smiley, 1974).

پژوهش حاضر با این هدف به اجرا در آمد که دو روش مرسوم و توصیه شدهٔ مدیریت تغذیه و مهار زیستی به صورت تلفیقی به‌کار گرفته شوند و اثر و برهم‌کنش آن‌ها در مهار بیماری پاخوره مورد ارزیابی قرار گیرد. بدیهی است در طبیعت نیز این دو مؤلفه جدا از هم نبوده و روی هم تأثیرات کاهشی یا افزایشی دارند. فراهمی مواد غذایی نه تنها تولید متابولیت‌های دفاعی در گیاه را کنترل می‌کند، بلکه تکثیر و تولید زیست‌تودهٔ باکتری‌های خاک را افزایش یا کاهش داده و هم‌چنین میزان بیان متابولیت‌های آن‌ها را تنظیم می‌کند (Ardalan *et al.*, 2017; Slininger *et al.*, 1996). از طرف دیگر باکتری‌ها فراهمی عناصر غذایی و جذب آن‌ها توسط گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهند (Ownley *et al.*, 2003; Sharifi *et al.*, 2017a). در این پژوهش بر اساس منابع موجود و تجزیهٔ خاک، عناصر مناسب و غلظت‌های آن‌ها به منظور مهار مؤثر بیماری پاخورهٔ گندم انتخاب شد.

مواد و روش‌ها

تجزیهٔ خاک و تعیین غلظت عناصر غذایی

خاک مورد استفاده در آزمایش از لایهٔ سطحی پروفیل خاک (عمق صفر تا ۲۰ سانتی‌متر) مزرعهٔ گندم واقع در پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه رازی، کرمانشاه جمع‌آوری شد. برای اجرای آزمون گلخانه‌ای خاک‌ها در دو روز متوالی و در دمای ۱۲۱°C و فشار

psi ۱۵ به مدت ۲۰ دقیقه سترون شدند. قبل از اجرای آزمایش، به منظور تعیین خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده و در نتیجه اندازه‌گیری مقدار عناصر جهت آزمایش‌های گلخانه‌ای، نمونهٔ مرکبی از خاک تهیه شده و به آزمایشگاه خاک‌شناسی دانشگاه رازی تحویل داده شد تا بر اساس روش‌های استاندارد، ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی آن مشخص گردد. انتخاب عناصر و مقدار مصرفی آن‌ها بر اساس نتایج آزمون خاک و هم‌چنین حد بحرانی آن‌ها در خاک تعیین گردید. با توجه به نتایج به‌دست آمده از تجزیه خاک، خاک مورد مطالعه از نظر پتاسیم، کلسیم، منیزیم، کلر و منگنز کم‌بودی نداشت. در این آزمایش تأثیر عناصر نیتروژن و فسفر (از عناصر پر مصرف) و آهن، روی و مس (از عناصر کم مصرف) به طور مجزا روی میزان فعالیت بیوکنترلی سویهٔ *B. subtilis* GB03 در مهار پاخوره و هم‌چنین شاخص‌های رشدی گندم مورد بررسی قرار گرفت. عناصر مورد آزمایش، منبع کودی، تعداد سطوح و مقدار مورد استفاده از هر عنصر در هر سطح در جدول (۱) ارائه شده است.

جدول ۱. سطوح مورد استفاده عناصر غذایی.

Table 1.The Nutrient levels used in current study.

Nutrients	supply sources	The Nutrient levels in terms of pure element (mg/kg)
Nitrogen	urea	0, 50, 100, 200, 400
Phosphorus	Triple Super Phosphate	0, 25, 50, 100
Iron	Sequestrene® 138Fe 100 SG	0, 1.3, 2.6, 5.2
Zinc	Zn chelate (12%)	0, 2.6, 5.2, 10.4
Copper	Copper(II) sulfate pentahydrate	0, 2.5, 5, 10

تهیهٔ مایهٔ بیمارگر و جدایهٔ آنتاگونیست

برای تهیهٔ مایه قارچ، بذور یولاف به مدت ۲۴ ساعت در آب خیسانده شده و سپس طی دو نوبت با فاصلهٔ زمانی ۲۴ ساعت در اتوکلاو (دمای ۱۲۱°C به مدت ۲۰ دقیقه) سترون گردیدند. سپس در شرایط سترون، بذور سترون یولاف را در حاشیهٔ پرگنهٔ در حال رشد قارچ *G. tritici* روی محیط کشت PDA اضافه کرده و پس از نگهداری به مدت چهار هفته در دمای ۲۵°C زمانی که سطح آن‌ها با ریسه‌های قارچ پوشانده شد، جمع‌آوری گردیده و به عنوان مایهٔ بیمارگر در آزمایش‌های گلخانه‌ای مورد استفاده قرار گرفتند.در این پژوهش، از سویهٔ *B. subtilis* GB03 تهیه شده از پروفسور جوزف کلوپر از دانشگاه اوبورن ایالات متحده امریکا استفاده شد. این سویه در ساخت فراوردهٔ کنترل بیولوژیک کودیاک به کار رفته است و قادر به مهار بیمارگرهای متعددی است (Ryu, 2004; Sharifi *et al.*, 2016). توانایی این سویه در مهار بیماری پاخورهٔ گندم در پژوهش پیشین به اثبات رسیده است (Merikhi *et al.*, 2015). برای تهیهٔ مایهٔ باکتری، ابتدا یک لوپ پر از کشت ۴۸ ساعته باکتری روی محیط آگار مغذی به فلاسک‌های حاوی ۱۰۰ میلی لیتر محیط مایع آب‌گوشت غذایی (NB) اضافه شد و فلاسک‌ها در دمای ۲۸°C و به مدت ۴۸ ساعت روی دستگاه شیکر با سرعت۱۵۰ دور در دقیقه قرار گرفتند. سپس سلول‌های باکتری با سانتریفوژ به مدت ۷ دقیقه در ۶۰۰۰ دور رسوب داده شدند و بعد از حذف مایع رویی رسوب حاصل با محلول سرم فیزیولوژیک (۸ گرم در لیتر NaCl) شسته شد. سپس سلول‌های باکتری با استفاده از سانتریفوژ مجدد از این محلول جداسازی شده و از آن‌ها در سرم فیزیولوژیک سترون سوسپانسیون تهیه شد. از این سوسپانسیون برای آغشته‌سازی بذور گندم و خاک گلدان‌ها استفاده شد. جمعیت باکتری‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۰۰ نانومتر در حدود $۱۰^{۹}$ سلول باکتری در میلی‌لیتر تنظیم شد.

تیمار بذور گندم

بذور گندم رقم بهار از گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشگاه رازی تهیه شد. به منظور ضدعفونی سطحی، بذور به مدت پنج دقیقه با الکل ۷۰ درجه و پس از

شستشو با آب مقطر سترون، به مدت پنج دقیقه با هیپوکلریت سدیم دو درصد ضدعفونی شدند و پس از چند بار شستشو با آب مقطر سترون در یک بشر سترون حاوی مقداری آب مقطر سترون ریخته شدند و به مدت ۲۰ ساعت در دمای ۲۵ºC قرار داده شدند تا متورم شوند. برای آغشته‌سازی بذور به باکتری، آن‌ها را درون ظروف شیشه‌ای حاوی سوسپانسیون باکتری و کربوکسی متیل سلولز یک درصد به عنوان چسباننده ریخته و به مدت ۳۰ دقیقه روی دستگاه شیکر با دور آرام (۷۰ دور در دقیقه) قرار داده شدند. در تیمار شاهد (فاقد باکتری) بذور درون کربوکسی متیل سلولز یک درصد فاقد باکتری غوطه‌ور شدند. سپس بذرها از سوسپانسیون خارج و در تشتک‌های پتری سترون ریخته و تحت جریان هوای سترون هود خشک شدند.

آزمون مهار بیماری در گل‌خانه

به منظور بررسی میزان مهار بیماری پاخورهٔ گندم توسط سویهٔ باکتری در حضور عناصر غذایی اضافه شده، آزمایش در گل‌خانه و به روش گلدانی صورت گرفت. از گلدان‌های پلاستیکی به قطر دهانه ۱۴ سانتی‌متر و ارتفاع ۱۳ سانتی‌متر استفاده شد. عناصر به صورت خاک مصرف و قبل از کاشت استفاده شد. به منظور پخش یکنواخت کودها در خاک، سطوح مختلف کودی به صورت مه‌پاشی و به کمک افشانهٔ دستی به خاک سترون اضافه شدند. برای جلوگیری از کم‌بود احتمالی سایر عناصر غذایی و هم‌چنین فعالیت باکتری‌ها و نیاز آن‌ها به مواد آلی، ورمی‌کمپوست سترون به میزان ۱۰ گرم به ازای هر کیلوگرم خاک به صورت یکنواخت با خاک سترون مخلوط گردید. هرگلدان تا ارتفاع هشت سانتی‌متری با مخلوط خاک سترون با ورمی‌کمپوست سترون و هر یک از سطوح عناصر غذایی، به طور جداگانه پر شد و سپس مایهٔ بیمارگر (۲۵ عدد بذر یولاف کلونیزه شدهٔ توسط بیمارگر در هر گل‌دان) در سطح خاک قرار داده شد. مجدداً تا ارتفاع ۱۱ سانتی‌متری گلدان خاک سترون اضافه کرده و ۱۴ عدد بذر گندم در سطح آن کاشته شد. در نهایت بذور با یک سانتی‌متر خاک سترون پوشانده شدند. بعد از اتمام کاشت بذور، در تیمارهای باکتری، برای نخستین آبیاری، از سوسپانسیون تهیه شده باکتری با غلظت 10^9 سلول باکتری و با نسبت حجمی ۷/۵ درصد به گلدان‌ها اضافه شد و بقیه گلدان‌ها با آب معمولی آبیاری شدند. به منظور جلوگیری از شستشوی عناصر غذایی در خاک ،گلدان‌ها فاقد زهکش بودند.

بنابراین رطوبت خاک گلدان‌ها به طور روزانه در حد یک سوم ظرفیت زراعی مزرعه با استفاده از آب معمولی تأمین می‌شد. گلدان‌ها تا زمان ظهور نشانه‌های بیماری در گل‌خانه با ۱۸ ساعت روشنایی و دمای ۲۵±۳ ºC نگهداری شدند. دو هفته بعد از رشد گیاهچه‌ها، گیاهان تنک شدند و ۱۰ عدد گیاه یکنواخت در هر گل‌دان باقی گذاشته شد. پس از گذشت ۳۵ روز، گیاهچه‌ها به آرامی از درون گلدان‌ها خارج و ریشه آن‌ها مورد شستشو قرار گرفت. بعد از شستشوی ریشه‌ها و حذف گل‌ولای اضافی آن‌ها، ریشه‌ها از محل طوقه، قطع شدند و وزن خشک اندام هوایی محاسبه شد. تعداد ریشه‌های سالم و آلوده شمارش گردید و سپس از نسبت تعداد ریشه‌های آلوده به کل ریشه‌های گیاه درصد آلودگی به‌دست شد. این آزمون در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار صورت گرفت. هر عنصر غذایی به عنوان یک آزمایش جداگانه در نظر گرفته شد و تیمارها شامل سطوح مختلف هر عنصر بود.

نتایج

خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک

بررسی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک با توجه به میزان اسیدیتهٔ گل اشباع نشان داد که خاک با داشتن پ‌هاش ۷/۲۴ خنثی و تا حدودی قلیایی است. نتایج همچنین نشان داد که به دلیل بالا بودن میزان کربنات کلسیم، خاک آهکی است. بافت خاک مورد آزمایش سنگین بوده و به لحاظ بالا بودن میزان بقایای گیاهی سال قبل، درصد مادهٔ آلی آن بالا بود. میزان عناصر پتاسیم، منگنز و کلر در خاک بالاتر از

حد بحرانی و در مقابل میزان عناصر مس و آهن آن پایین‌تر از حد بحرانی بود (جدول ۲).

جدول ۲. خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در آزمون ارزیابی اثر تلفیق باکتری *Bacillus subtilis* GB03 و تغذیهٔ گیاه در مهار بیماری پاخورهٔ گندم.

Table 2. Physicochemical properties of the soil used to evaluate the integration of *Bacillus subtilis* GB03 and soil fertility management in the suppression of wheat take-all.

Properties	Quantity	Units
Clay	34	%
Silt	44	%
Sand	22	%
Equivalent calcium carbonate	43	%
saturated-paste pH	7.24	
Soil Organic Carbon	2.74	%
Electrical Conductivity (EC)	1.4	ds/m
Cation Exchange Capacity (CEC)	30.9	meq/L
Solution chlorine	139.6	meq/L
Available potassium ($K_{ava.}$)	697.8	mg/kg
Available Phosphorus ($P_{ava.}$)	15.6	mg/kg
Ammonium (NH_4)	26.88	mg/kg
Nitrate (NO_3)	9.94	mg/kg
Solution Calcium	3.35	mg/kg
Solution Magnesium	0.36	meq/L
Exchangeable Calcium	30.46	meq/L
Exchangeable Magnesium	8.4	meq/L
Available Ferrous (Fe)	4.28	mg/kg
Available Zinc (Zn)	1.68	mg/kg
Available copper (Cu)	1.45	mg/kg
Available Manganese	35.24	mg/kg

تأثیر تلفیق عناصر معدنی و سویهٔ باکتری در مهار بیماری پاخوره و تحریک رشد گندم

اوره

نتایج آزمون اثر سطوح کود نیتروژن از منبع اوره روی درصد آلودگی ریشه به بیماری نشان داد که در تیمارهایی که فقط حاوی بیمارگر بودند، با افزودن کود اوره، میزان بیماری به صورت معنی‌داری کاهش یافت. بیشترین مهار آلودگی در سطح سه نیتروژن (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) مشاهده شد که شدت بیماری را ۳۹ درصد کاهش داد (شکل ۲). به عبارتی آستانه پاسخ‌دهی به کود نیتروژن در سطح سه مشاهده شد و با افزایش مقدار نیتروژن به ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک، میزان بیماری افزایش یافت. با افزودن باکتری آنتاگونیست به این پاتوسیستم میزان بیماری در مجموع کاهش یافت، به صورتی که در عدم حضور اوره میزان بیماری نسبت به شاهد آلوده حدود ۳۴ درصد کاهش نشان داد که نشان‌دهندهٔ اثر خالص باکتری در کاهش بیماری بود. تلفیق باکتری همراه با ۵۰ میلی‌گرم نیتروژن به عنوان بهترین تیمار، شدت آلودگی ریشه را ۵۸ درصد کاهش داد. با افزودن نیتروژن بیش از ۵۰ میلی‌گرم، سطح مهار بیماری توسط باکتری کاهش پیدا کرد. با افزودن کود اوره به تیمارهایی که فقط حاوی بیمارگر بودند، وزن خشک اندام هوایی نیز افزایش یافت و بیش‌ترین افزایش وزن خشک (۲۲ درصد) با کاربرد ۱۰۰ میلی‌گرم نیتروژن (سطح سه) حاصل شد. با افزایش میزان نیتروژن از ۱۰۰ میلی‌گرم به ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم وزن خشک کاهش یافت (شکل ۳). با

مقایسه کردن این منحنی با منحنی بیماری‌زایی مشاهده می‌شود که علت این تغییر وزن خشک در سطوح بالای اوره می‌تواند تا حدودی نیز به علت افزایش خسارت بیماری در این سطوح باشد. در تیمار باکتری تنها بدون مصرف اوره، رشد گیاه در مقایسه با شاهدِ بدون باکتری و کود ۱/۹۲ برابر افزایش یافت؛ افزودن کود اوره تأثیری روی افزایش وزن خشک گیاه در حضور باکتری نداشت و بین سطوح به‌کار رفته اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد.

سوپر فسفات تریپل

نتایج آزمون اثر سطوح فسفر (از منبع سوپرفسفات تریپل) روی درصد آلودگی ریشه نشان داد که در تیمارهایی که فقط حاوی بیمارگر بودند، با افزودن فسفر میزان بیماری به طور معنی‌داری کاهش یافت و بیش‌ترین تأثیر کود روی کاهش آلودگی ریشه در سطح چهار (۱۰۰ میلی‌گرم فسفر بر کیلوگرم خاک) مشاهده شد که شدت بیماری را از ۶۰/۵ به ۲۹/۲ کاهش داد (شکل ۲). با افزودن باکتری آنتاگونیست به این پاتوسیستم، میزان بیماری کاهش یافت به صورتی که در تیمار بدون کود، باکتری به‌تنهایی شدت بیماری را ۳۴ درصد کاهش داد. حال با افزودن میزان کود سوپر فسفات تریپل در تیمارهای حاوی باکتری، میزان آلودگی ریشه کاهش یافت و بیش‌ترین مهار بیماری به میزان ۷۱/۵ درصد در تلفیق باکتری با ۱۰۰ میلی‌گرم فسفر دیده شد. در بررسی صفت وزن خشک اندام هوایی، در تیمارهایی که فقط حاوی بیمارگر بودند، با افزودن کود سوپر فسفات تریپل، وزن خشک اندام هوایی نیز به صورت معنی‌داری افزایش یافت و بیش‌ترین وزن خشک با کاربرد ۱۰۰ میلی‌گرم کود (سطح چهار) حاصل شد (شکل ۳). در تیمارهای حاوی باکتری و بیمارگر نیز، تیمار همزمان فسفر و باکتری موجب افزایش وزن خشک اندام‌های هوایی شد. در مجموع بیش‌ترین افزایش وزن خشک به مقدار ۲/۵۵ برابر از کاربرد ۱۰۰ میلی‌گرم فسفر (سطح چهار) و باکتری و کم‌ترین وزن خشک از عدم مصرف کود و باکتری به‌دست آمد.

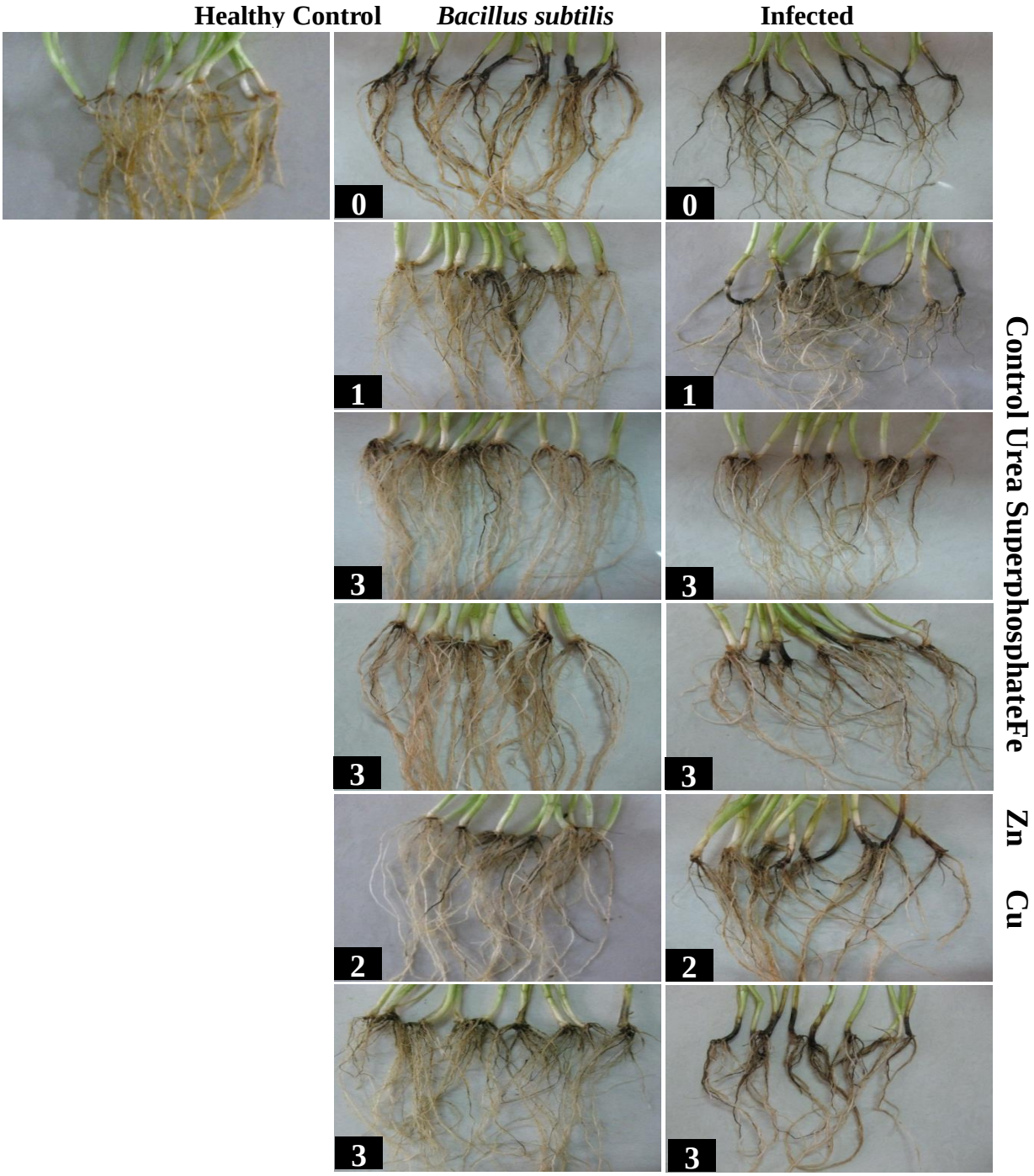
سکوسترین آهن

کود سکوسترین آهن به صورت قابل توجهی شدت بیماری را کاهش داد (۳۸ درصد) اما بین سطوح کاربردی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۲). با افزودن باکتری آنتاگونیست به این پاتوسیستم میزان بیماری کاهش یافت به صورتی که در تیمار بدون کود، باکتری به تنهایی بیماری را ۳۴ درصد کاهش داد. بیش‌ترین مهار بیماری به میزان ۳۹/۲ درصد در حضور باکتری و سطح دو آهن (۱/۳ میلی‌گرم برکیلوگرم خاک) مشاهده شد و با افزایش میزان آهن مهار بیماری کاهش پیدا کرد. در تیمارهایی که فقط حاوی بیمارگر بودند، با افزودن کود آهن وزن خشک اندام هوایی نیز افزایش یافت و بیش‌ترین افزایش وزن خشک (۱/۲ برابر) با کاربرد ۵/۲ میلی‌گرم آهن (سطح چهار) حاصل شد. در تیمارهای حاوی باکتری و بیمارگر نیز افزودن آهن موجب افزایش وزن خشک اندام هوایی شد. کاربرد ۱/۳ میلی‌گرم کود سکوسترین آهن (سطح دو) و باکتری وزن خشک را ۲/۸ برابر افزایش داد.

کلات روی

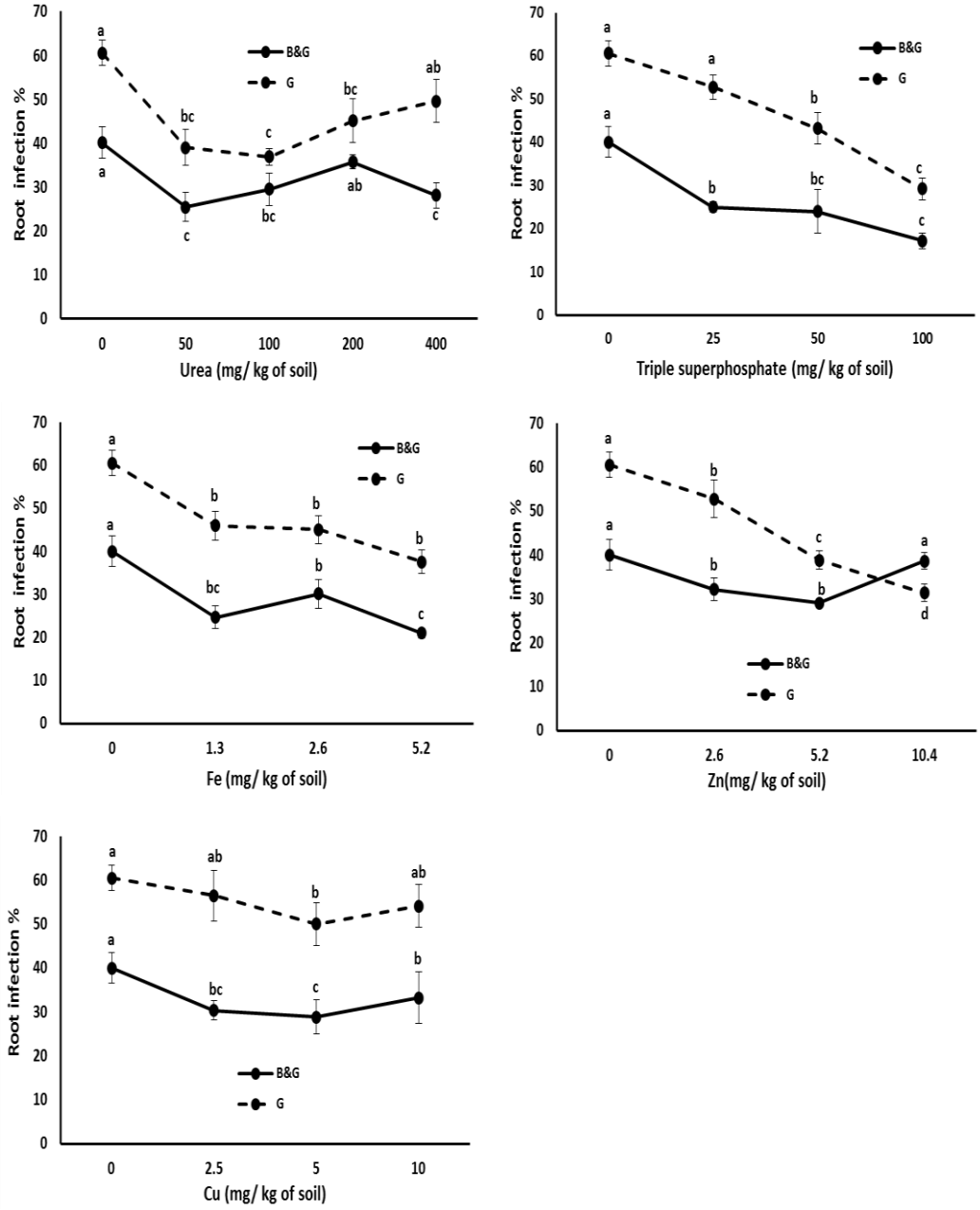
نتایج آزمون اثر سطوح مختلف کلات روی روی درصد آلودگی ریشه نشان داد که در تیمارهایی که فقط حاوی بیمارگر بودند، با افزودن روی، میزان بیماری به طور معنی‌داری کاهش یافت و بیش‌ترین تأثیر کود روی در کاهش آلودگی ریشه در سطح چهار (۱۰/۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) مشاهده شد که شدت بیماری را از ۶۰/۵ در شاهد آلوده به ۳۱/۴ درصد کاهش داد (شکل ۲). با افزودن باکتری آنتاگونیست به این پاتوسیستم، میزان بیماری کاهش یافت به صورتی که در تیمار بدون کود، باکتری به‌تنهایی بیماری را ۳۴ درصد کاهش داد. تلفیق باکتری به همراه ۵/۲ میلی‌گرم روی (سطح سه) میزان بیماری را ۵۲/۱ درصد کاهش داد. با افزودن کود کلات روی، وزن خشک اندام هوایی نیز به صورت معنی‌داری افزایش یافت و بیش‌ترین وزن خشک به ترتیب با میزان ۱/۴۱ و ۱/۴۵ درصد با کاربرد ۵/۲ و ۱۰/۴ کلات روی حاصل

شد (شکل ۳). در تیمارهای حاوی باکتری و بیمارگر، افزودن کود روی اثر معنی‌داری روی وزن خشک اندام هوایی نداشت و افزایش وزن خشک در این تیمارها، در نتیجه حضور باکتری بود.



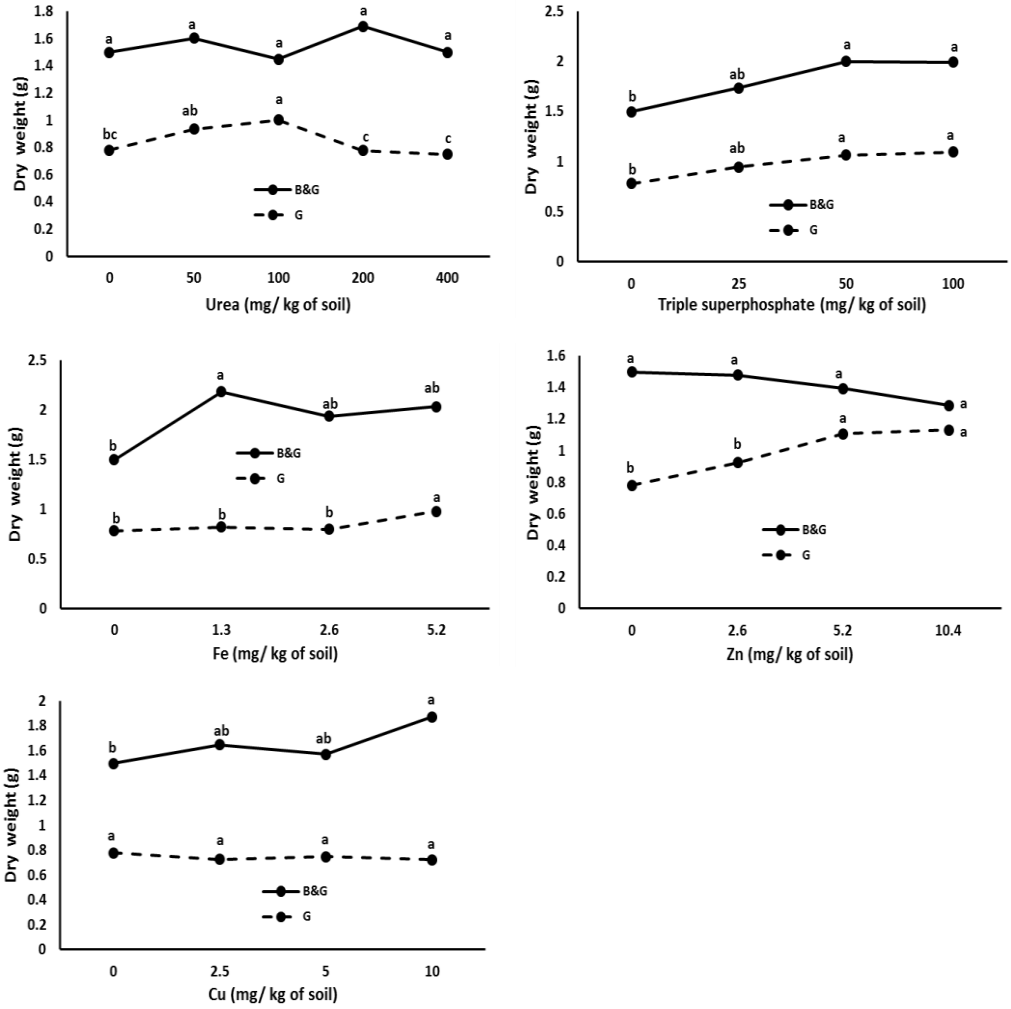
شکل ۱. نقش ترکیب عناصر غذایی و سویهٔ *Bacillus subtilis* GB03 در مهار بیماری پاخوره گندم در شرایط گلخانه. ستون سمت راست، گیاهان آلوده و ستون میانی تیمارهای متناظری هستند که با سویهٔ بیوکنترل تیمار شده‌اند. ردیف اول گیاهانی هستند که تیمار کودی دریافت نکرده‌اند. علایم بیماری به صورت سیاه شدن ریشه و طوقه قابل مشاهده است. اعداد زیر هر شکل سطح مورد استفاده از هر عنصر غذایی است.

Fig 1. The effect of combination of fertilizers and *Bacillus subtilis* GB03 in suppression of wheat take-all disease. Plants in right hand column represent infected plant and the middle column are corresponding treatments that received the biocontrol strain. Plants in first row are infected plants without fertilizer amendment. Disease symptoms can be seen as crown and root darkening. Numbers in bottom of figures represent the level of fertilizer.



شکل ۲. نقش ترکیب عناصر غذایی و سویهٔ *Bacillus subtilis* GB03 در کاهش خسارت بیماری پاخوره گندم در شرایط گلخانه. عناصر غذایی در چهار غلظت (بر اساس عنصر خالص) به خاک گلدان در حضور (B&G) یا عدم حضور (G) سویهٔ باکتری اضافه شدند. تیمارهای با حروف مشابه در سطح پنج درصد اختلاف معنی‌داری با هم ندارند. رسم نمودارها در نرم‌افزار Excel 2013 انجام شد.

Fig 2. Suppression of wheat take-all disease by combination of fertilizers and *Bacillus subtilis* GB03. Fertilizers were added to pots in four concentrations in presence (B&G) or absence (G) of bacterium strain. The means that have a common statistical letter do not differ significantly in 5% level. The graphs drawn in Excel 2013 software.



شکل ۳. نقش ترکیب عناصر غذایی و سویهٔ *Bacillus subtilis* GB03 بر وزن خشک بوته‌های گندم در شرایط گلخانه. عناصر غذایی در چهار غلظت به خاک گلدان در حضور (B&G) یا عدم حضور (G) سویهٔ باکتری اضافه شدند. تیمارهای با حروف مشابه در سطح پنج درصد اختلاف معنی‌داری با هم ندارند.

Fig 3. The effect of combination of fertilizers and *Bacillus subtilis* GB03 on wheat dry weight. Fertilizers were added to pots in four concentrations in presence (B&G) or absence (G) of bacterium strain. The means that have a common statistical letter do not differ significantly in 5% level.

سولفات مس

کود سولفات مس میزان بیماری را به صورت معنی‌داری کاهش داد و بیشترین مهار آلودگی ریشه به میزان ۱۸/۴ درصد در سطح سه (۵ میلی‌گرم مس بر کیلوگرم خاک) مشاهده شد. با افزایش مقدار مس به ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک، میزان بیماری تا حدودی افزایش پیدا کرد. با افزودن باکتری آنتاگونیست به این پاتوسیستم میزان بیماری در مجموع کاهش یافت. در عدم حضور مس، میزان بیماری نسبت به شاهد آلوده حدود ۳۴ درصد کاهش نشان داد که نشان‌دهندهٔ اثر خالص باکتری در کاهش بیماری بود؛ با افزودن مس، بیماری به صورت معنی‌داری کاهش پیدا کرد. در مجموع کم‌ترین شدت آلودگی ریشه زمانی دیده شد که باکتری همراه با ۵ میلی‌گرم مس (سطح سه) استفاده شد. افزودن کود سولفات مس در تیمارهای فاقد سویهٔ باکتری اثر قابل

توجهی روی وزن خشک اندام هوایی نداشت. حال این‌که در تیمارهای حاوی باکتری، افزودن مس اثر معنی‌داری روی افزایش وزن خشک اندام هوایی داشت و بیش‌ترین افزایش وزن خشک به میزان ۲/۴ برابر با کاربرد ۱۰ میلی‌گرم مس (سطح چهار) حاصل شد.

بحث

در یک سیستم سه جزئی که شامل گیاه، بیمارگر و عامل بیوکنترل است، مواد غذایی افزوده شده در اختیار هر سه آنها قرار می‌گیرد. در حقیقت نیاز هر کدام از آنها متفاوت است، لذا در عناصر غذایی مختلف و بر اساس نوع کود و سطح کودی مورد استفاده ممکن است پاسخ‌های متفاوتی در برونداد پاتوسیستم که همان شدت بیماری است دیده شود. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که اکثر کودهای مورد استفاده در سطوح پایین خود باعث کاهش خسارت بیماری شدند. پژوهش‌ها نشان می‌دهند که میان میزان فراهمی عناصر غذایی به‌ویژه عناصر ضروری و بیماری پاخوره نسبت عکس وجود دارد (Datnoff *et al.*, 2007; Huber *et al.*, 2007; Ownley *et al.*, 2003). به عبارتی گیاهانی که از وضعیت تغذیهٔ مناسبی برخوردار هستند، مقاومت بیش‌تری به این بیماری از خود نشان می‌دهند. البته بیش‌بود عناصر غذایی نیز به اندازه کم‌بود آن‌ها می‌تواند روی توسعهٔ بیماری پاخوره غلات اثرگذار باشد. در مورد دو عنصر روی و مس مشاهده شد که مقادیر کم آنها در حضور باکتری شدت بیماری را کاهش می‌دهد، ولی در مقادیر بالا مقدار بیماری افزایش پیدا می‌کرد. این دو عنصر دو ظرفیتی در غلظت بالا در جانشینی محل اتصال کلات کننده‌های شیمایی و زیستی با عنصر آهن سه ظرفیتی رقابت می‌کنند. لذا غلظت بالای آنها در جذب آهن گیاه، باکتری و حتی قارچ بیمارگر اختلال ایجاد می‌کند که باعث تغییر در شدت بیماری می‌شود (Duijff *et al.*, 1993; Sharifi *et al.*, 2010).

علاوه بر غلظت عناصر غذایی، محلول بودن آن‌ها و قابلیت جذب آن‌ها توسط میزبان گیاهی نیز در کنترل بیماری و فعالیت باکتری آنتاگونیست مؤثر است (Sharifi *et al.*, 2017b; Sharma *et al.*, 2017). به فرض مثال سیدروفورهای میکروبی باعث حلالیت کاتیون‌های فلزی مثل آهن، روی و مس می‌شوند. البته نوع سیدروفور و ثابت پایداری (گرایش آن برای اتصال به کاتیون) نقش مهمی در فراهمی آن کاتیون دارد (Sharifi *et al.*, 2017a). سیدروفور باسیلوباکتین سویهٔ مورد استفاده در این پژوهش از ثابت پایداری پایینی برخوردار است (Miethke *et al.*, 2006) و کاتیون جذب شده را به راحتی در اختیار گیاه قرار می‌دهد. باسیلوس‌ها همچنین با تولید فیتازها، فسفاتازها و تغییر pH محیط باعث حلالیت فسفر در خاک و جذب بهتر آن در گیاه می‌شوند (Rodríguez *et al.*, 1999). لذا باکتری‌های محرک رشد گیاه هم باعث افزایش کارایی مصرف کود می‌شوند و هم نیاز به مصرف کود را کمتر می‌کنند (Pii *et al.*, 2015; Sharifi *et al.*, 2018) که در نتایج پژوهش حاضر مشهود بود . در این پژوهش، استفاده از باکتری موجب شد که عناصر کودی مورد استفاده در غلظت کمتری باعث بهبود رشد و مهار بیماری پاخوره شوند. بیشینه اثر کودهای نیتروژن، فسفر، آهن، روی و مس در مهار بیماری به ترتیب در غلظت‌های ۱۰۰، ۱۰۰، ۵/۲، ۱۰/۴ و ۵ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک دیده شد ولی با افزودن باکتری غلظت بهینهٔ این عناصر به ترتیب ۵۰، ۱۰۰، ۵/۲، ۵/۲ و ۵ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک ثبت شد. در افزایش رشد گیاه نیز بیشینهٔ رشد به ترتیب در غلظت‌های ۱۰۰، ۱۰۰، ۵/۲، ۱۰/۴ و ۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک مشاهده شد و در حضور باکتری بیشینهٔ رشد در غلظت‌های ۰، ۵۰، ۱/۳، ۰ و ۱۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک این عناصر ثبت شد. حتی در مواردی که غلظت بهینه یکسان بود، در همان غلظت میزان افزایش رشد و مهار بیماری در حضور سویهٔ باکتری بیشتر بود.

در پژوهش حاضر نیتروژن از روند اثر گذاری ویژه‌ای در مهار بیماری پاخوره برخوردار بود. این عنصر در غلظت‌های کم قادر بود رشد گیاه را افزایش دهد و مهار بیماری را افزایش دهد و باکتری نیز در بهبود کارایی اوره مؤثر بود. اوره در خاک به واسطه آنزیم

اوره‌از میکروبی یا گیاهی به آمونیوم و سپس توسط باکتری‌های همچون نیتروزوموناس و نیتروباکتر به نیترات تبدیل می‌شود. گیاه قادر است با پمپ‌های پروتونی همچون AtDUR3 که وابسته به غلظت اوره عمل می‌کنند اوره را به صوت مستقیم جذب کنند و یا با پمپ پروتونی AtAMT1 آمونیوم را جذب کنند. بسته به فراوانی بیان این ژن‌ها در مناطق مختلف ریشه، میزان pH ریشه می‌تواند به صورت موضعی تغییر کند و باعث تغییر شدت بیماری پاخوره گردد (Mayer *et al.*, 2006; Mérigout *et al.*, 2008). البته غلظت‌های بالای اوره می‌تواند روی توانایی بیوکنترلی باکتری و مقاومت میزبان اثر منفی داشته باشد. این اثر می‌تواند به صورت مستقیم و یا از طریق تغییر pH بویژه در شرایط فراریشه اتفاق افتند.

به منظور مدیریت مناسب تغذیه گیاه نیاز است که حد بحرانی عناصر غذایی در خاک مورد مطالعه سنجیده شود و یا بر اساس منطقه جغرافیایی و نوع میزبان از منابع موجود استخراج شود. در پژوهش حاضر میزان آهن و مس در خاک مورد آزمایش به ترتیب ۴/۲۸ و ۱/۴۵ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک بود که کمتر از حد بحرانی آن‌ها (۸ و ۱/۸ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) برای گندم در منطقه کرمانشاه بود (Feiziasl, 2006; Feiziasl *et al.*, 2004). لذا افزودن این عناصر تأثیر قابل توجه در کاهش بیماری و افزایش رشد گندم داشت. گزارش‌های متعددی از تأثیر این عناصر در افزایش مقاومت گیاه و همچنین بهبود کارایی سویه‌های بیوکنترل منتشر شده است (Datnoff *et al.*, 2007; Huber *et al.*, 1999; Huber *et al.*, 2007). در مقابل میزان عنصر روی در خاک مورد استفاده ۱/۶۸ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک بود که بیشتر از حد بحرانی آن برای گندم در منطقه کرمانشاه (۰/۹ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) بود (Feiziasl, 2008)، لذا اثر گذاری آن همانند دو عنصر آهن و مس نبود. روی به عنوان یک کوفاکتور آنزیمی می‌تواند نقش‌های مهم و گاهاً متفاوتی را در بیوسنتز متابولیت‌های میکروبی داشته باشد. در یک پژوهش این عنصر توانسته است در غلظت مشابه باعث کاهش تولید فوزاریک اسید در قارچ *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* و افزایش آنتی‌بیوتیک ۲-۴ دی استیل فلوروگلوسینول در باکتری *Pseudomonas fluorescens* CHA0 شود. البته گفته شده است که افزایش تولید ۲-۴ دی استیل فلوروگلوسینول بیشتر از طریق رفع بازدارندگی فوزاریک اسید در بیوسنتز این آنتی‌بیوتیک بوده است تا اثر مستقیم بر آنزیم‌های موثر بر بیوسنتز آن(Duffy *et al.*, 1997a). اما در مورد آنتی‌بیوتیک فنازین، عنصر روی به صورت مستقیم تولید فنازین را افزایش داد و از این طریق باعث افزایش مهار پاخوره در شرایط گلخانه شد(Ownley *et al.*, 2003). در سیستم‌های پیچیده زیستی که همزمان چند عامل زیستی وجود دارند امکان رخ دادن چنین پدیده‌های وجود دارد که توضیح آنها نیازمند بررسی‌های دقیق‌تری است. در پژوهش حاضر نیز غلظت بالای روی شدت بیماری را کاهش می‌داد ولی افزودن باکتری به این مجموعه نه تنها بازدارندگی را افزایش نداد بلکه باعث مقداری افزیش بیماری نیز گردید.

از میان عناصر مورد استفاده در این مطالعه، فسفر بیشترین اثر را در کاهش بیماری نشان داد. با این‌که میزان فسفر در خاک مورد استفاده در حد نرمال بود ولی توانست نقش قابل توجهی در افزایش رشد و مهار بیماری داشته باشد. با افزایش سطح فسفر مصرفی، بیماری به صورت خطی کاهش پیدا کرد و در نهایت در سطح چهارم فسفر (۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) میزان بیماری از ۶۰ به ۲۹/۲ درصد رسید. نتایج حاصل از آن با تحقیقات برنان (Brennan, 1992b) و گراهام و منگ (Graham *et al.*, 1982) مطابقت دارد. با اضافه شدن باکتری به این مجموعه بیماری بیش از پیش مهار شده و میزان آن به ۱۷/۲ درصد کاهش یافت. اشاره شده است که بهترین زمان برای کاربرد فسفر مرحله رشد گیاهچه است زیرا با توسعهٔ ریشه به گیاه اجازه فرار از بیماری را می‌دهد (Huber *et al.*, 1999). علاوه بر این مشخص شده است که بر خلاف عناصر دیگر، کاربرد کود فسفره حتی بیش از نیاز گیاه تا زمانی‌که کمبود سایر عناصر

غذایی موجود نباشد در مهار بیماری پاخوره مؤثر است. هم‌چنین گزارش شده است کاربرد یک‌باره و زیاد فسفر در مقایسه با دفعات بیشتر و سطوح کمتر آن اثر بیشتری در کاهش بیماری پاخوره دارد (Datnoff *et al.*, 2007; Mattingly *et al.*, 1977). در بیشتر موارد نقش فسفر در کاهش بیماری را به اثر آن در توسعهٔ سیستم ریشه گیاه نسبت می‌دهند. هم‌چنین افزایش فسفر موجب افزایش فسفولیپید غشای سلولی و کاهش نفوذپذیری آن می‌شود، در نتیجه از ترشحات ریشه کاسته شده و میزان پاخوره کم می‌شود (Graham *et al.*, 1982). البته افزودن فسفر به خاک باعث کاهش کلونیزاسیون ریشه توسط قارچ‌های میکوریز می‌شود که این قارچ‌ها علاوه بر اثرات متعدد در بهبود رشد گیاه قادر هستند میزان خسارت پاخوره را نیز کاهش دهند (Graham *et al.*, 1981). بر این اساس در کاربرد فسفر باید حفظ کارایی رابطه مایکوریزی را مورد توجه قرار داد. علاوه بر این تعامل فسفر و باکتری هم‌ستیز به ویژه انواع حل کننده فسفات، می‌تواند رهیافتی امید بخش در زمینه مهار پاخوره غلات باشد.

REFERENCES

1. Ardalan, A., Abbasi, S., & Sharifi, R. (2017). Effect of some mineral elements on biocontrol efficiency of *Bacillus pumilus* INR7 against bean damping-off caused by *Rhizoctonia solani*. Biological Control of Pests and Plant Diseases, 6(2), 187-195 (In Persian with English Summary).
2. Borriss, R. (2011). Use of plant-associated Bacillus strains as biofertilizers and biocontrol agents in agriculture. In Bacteria in agrobiology: Plant growth responses (pp. 41-76): Springer.
3. Brennan, R. (1991). Effect of copper application on take-all severity and grain yield of wheat in field experiments near Esperance, Western Australia. Australian Journal of Experimental Agriculture, 31(2), 255-258.
4. Brennan, R. (1992a). Effect of superphosphate and nitrogen on yield and take-all of wheat. Fertilizer Research, 31(1), 43-49.
5. Brennan, R. (1992b). The effect of zinc fertilizer on take-all and the grain yield of wheat grown on zinc-deficient soils of the Esperance region, Western Australia. Fertilizer Research, 31(2), 215-219.
6. Christensen, N., & Brett, M. (1985). Chloride and liming effects on soil nitrogen form and take-all of wheat Agronomy Journal, 77(1), 157-163.
7. Colbach, N., Lucas, P., & Meynard, J.-M. (1997). Influence of crop management on take-all development and disease cycles on winter wheat. Phytopathology, 87(1), 26-32.
8. Cook, J. (2003). Take-all of wheat. Physiological and Molecular Plant Pathology, 62(2), 73-86.
9. Datnoff, L. E., Elmer, W. H., & Huber, D. M. (2007). Mineral nutrition and plant disease. USA: American Phytopathological Society (APS Press).
10. Duffy, B. K., & Défago, G. (1997a). Zinc improves biocontrol of Fusarium crown and root rot of tomato by Pseudomonas fluorescens and represses the production of pathogen metabolites inhibitory to bacterial antibiotic biosynthesis. Phytopathology, 87(12), 1250-1257.
11. Duffy, B. K., Ownley, B. H., & Weller, D. M. (1997b). Soil Chemical and Physical Properties Associated with Suppression of Take-all of Wheat by *Trichoderma koningii*. Phytopathology, 87(11), 1118-1124.
12. Duijff, B. J., Meijer, J. W., Bakker, P. A., & Schippers, B. (1993). Siderophore-mediated competition for iron and induced resistance in the suppression of Fusarium wilt of carnation by fluorescent Pseudomonas spp. Netherlands Journal of Plant Pathology, 99(5-6), 277-289.
13. Feiziasl, V. (2006). Determination of Fe, Mn, Zn and Cu critical levels and classification for dryland wheat (*T. aestivum*. L.) in north western of Iran. Iranian Journal of Agriculture Science, 37(2), 389-401 (In Persian with English Summary).
14. Feiziasl, V. (2008). Comparison of different methods for determining the Zn critical level of dryland wheat in the northwest of Iran. Journal of Water and Soil, 22(2), 133-149 (In Persian with English Summary).
15. Feiziasl, V., Valizade, G., Toshi, V., & Belson, V. (2004). Determination of critical levels of soil micronutrionts for dryland wheat in the North west of Iran. Iranian Journal of Crop Science, 5(4), 236-249 (In Persian with English Summary).
16. Foroutan, A., Bamdadian, A., Golzar, H., Daneshpazhou, B., & Ebrahimi, R. (1989). Occurrence of take-all disease of cereal on wheat in Mazandaran. Paper presented at the Proceeding of the 9th Iranian plant protection congress, Ferdowsi University of Mashhad, Iran :119.

17. Freeman, J., & Ward, E. (2004). *Gaeumannomyces graminis*, the take-all fungus and its relatives. Molecular Plant Pathology, 5(4), 235-252.
18. Graham, J., & Menge, J. (1982). Influence of vesicular-arbuscular mycorrhizae and soil phosphorus on take-all disease of wheat caused by *Gaeumannomyces graminis*, mycorrhizal fungus, *Glomus fasciulatus*. Phytopathology, 72, 95-98.
19. Graham, J. H., Leonard, R. T., & Menge, J. A. (1981). Membrane-mediated decrease in root exudation responsible for phorphorus inhibition of vesicular-arbuscular mycorrhiza formation. Plant physiology, 68(3), 548-552.
20. Huber, D. M., & Graham, R. D. (1999). The role of nutrition in crop resistance and tolerance to diseases. In Z. Rengel (Ed.), Mineral nutrition of crops: fundamental mechanisms and implications (pp. 169-206): CRC Press
21. Huber, D. M., & Haneklaus, S. (2007). Managing nutrition to control plant disease. Landbauforschung Volkenrode, 57(4), 313.
22. Kang, X., Guo, Y., Leng, S., Xiao, L., Wang, L., Xue, Y., & Liu, C. (2019). Comparative Transcriptome Profiling of Gaeumannomyces graminis var. tritici in Wheat Roots in the Absence and Presence of Biocontrol Bacillus velezensis CC09. Frontiers in microbiology, 10, 1474.
23. Kwak, Y.-S., & Weller, D. M. (2013). Take-all of wheat and natural disease suppression: A review. The Plant Pathology Journal, 29(2), 125-135.
24. Liu, B., Qiao, H., Huang, L., Buchenauer, H., Han, Q., Kang, Z., & Gong, Y. (2009). Biological control of take-all in wheat by endophytic *Bacillus subtilis* E1R-j and potential mode of action. Biological Control, 49(3), 277-285.
25. Mathre, D. M. (1992). *Gaeumannomyces* In L. Singleton, L. Millail, & C. M. Rush (Eds.), Methods for research on soilborne phytopathogenic fungi. (pp. 60-63): APS press.
26. Mattingly, G., & Slope, D. (1977). Phosphate fertilizer and take-all disease of wheat and barley. Journal of the Science of Food and Agriculture, 28(7), 658-659.
27. Mayer, M., & Ludewig, U. (2006). Role of AMT1; 1 in NH4+ acquisition in Arabidopsis thaliana. Plant biology, 8(4), 522-528.
28. Mérigout, P., Lelandais, M., Bitton, F., Renou, J.-P., Briand, X., Meyer, C., & Daniel-Vedele, F. (2008). Physiological and transcriptomic aspects of urea uptake and assimilation in Arabidopsis plants. Plant physiology, 147(3), 1225-1238.
29. Merikhi, P., Abbasi, S., & Sharifi, R. (2015). Biological control of wheat take-all, *Gaeumannomyces graminis* var *tritici* by *Bacillus* isolated from wheat rhizosphere. Paper presented at the First Symposium on Agriculture, Environment and Food Security, Jiroft, Iran.
30. Miethke, M., Klotz, O., Linne, U., May, J. J., Beckering, C. L., & Marahiel, M. A. (2006). Ferri-bacillibactin uptake and hydrolysis in *Bacillus subtilis*. Molecular Microbiology, 61(6), 1413-1427.
31. Mohammadi, K. S., Abbasi, S., Sheikholeslami, M., Bahraminejad, S., & Safaei, D. (2019). Evaluation of resistance of some wheat cultivars to the take-all disease. Iranian Journal of Plant Protection Science, 50(1), 75-85.
32. Najafi, R., Vafabakhsh, J., Taheri, G., & Zabihi, H. (2015). Effect of application of Pseudomonas fluorescent strains on yield and yield components of rapeseed cultivars. Iranian Journal of Field Crops Research, 13(2), 211-217 (In Persian with English Summary).
33. Ongena, M., & Jacques, P. (2008). Bacillus lipopeptides: versatile weapons for plant disease biocontrol. Trends in microbiology, 16(3), 115-125.
34. Ownley, B. H., Duffy, B. K., & Weller, D. M. (2003). Identification and manipulation of soil properties to improve the biological control performance of phenazine-producing *Pseudomonas fluorescens*. Applied and Environmental Microbiology, 69(6), 3333-3343.
35. Pii, Y., Mimmo, T., Tomasi, N., Terzano, R., Cesco, S., & Crecchio, C. (2015). Microbial interactions in the rhizosphere: beneficial influences of plant growth-promoting rhizobacteria on nutrient acquisition process. A review. Biology and Fertility of Soils, 51(4), 403-415.
36. Rajabi, G. H., & Behrozin, M. (2003). Pests and diseases of wheat in Iran: Agricultural Education Publications. 186 pp.
37. Reis, E. M., Cook, R., & McNeal, B. (1982). Effect of mineral nutrition on take-all of wheat caused by *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*. Phytopathology (USA).
38. Rodríguez, H., & Fraga, R. (1999). Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. Biotechnology Advances, 17(4-5), 319-339.

39. Rudresh, D. L., Shivaprakash, M. K., & Prasad, R. D. (2005). Effect of combined application of *Rhizobium*, phosphate solubilizing bacterium and *Trichoderma* spp. on growth, nutrient uptake and yield of chickpea (*Cicer aritenium* L.). Applied Soil Ecology, 28(2), 139-146.
40. Ryu, C. M. (2004). Bacterial Volatiles Induce Systemic Resistance in Arabidopsis. Plant physiology, 134(3), 1017-1026.
41. Sari, E., Etebarian, H., & Aminian, H. (2007). The effects of *Bacillus pumilus*, isolated from wheat rhizosphere, on resistance in wheat seedling roots against the take-all fungus, *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*. Journal of phytopathology, 155(11-12), 720-727.
42. Sharifi, R., Ahmadzadeh, M., Sharifi-Tehrani, A., & Talebi-Jahromi, K. (2010). Pyoverdine production in *Pseudomonas fluorescens* UTPF5 and its association with suppression of common bean damping off caused by *Rhizoctonia solani* (Kühn). Journal of Plant Protection Research, 50(1), 72-78.
43. Sharifi, R., Alizadeh, H., Ahmadzade, M., & Sadaghiani, M. R. (2017a). Investigation of different methods in siderophore measurement in indigenous Fluorescent Pseudomonads. Biological Journal of Microorganism, 6(21), 97-106.
44. Sharifi, R., & Ryu, C.-M. (2016). Are bacterial volatile compounds poisonous odors to a fungal pathogen *Botrytis cinerea*, alarm signals to *Arabidopsis* seedlings for eliciting induced resistance, or both? Frontiers in microbiology, 7, 1-10.
45. Sharifi, R., & Ryu, C.-M. (2017b). Chatting with a tiny belowground member of the holobiome: communication between plants and growth-promoting rhizobacteria. In Advances in Botanical Research (Vol. 82, pp. 135-160): Elsevier.
46. Sharifi, R., & Ryu, C.-M. (2018). Sniffing bacterial volatile compounds for healthier plants. Current Opinion in Plant Biology, 44, 88-97.
47. Sharma, S., Kumar, V., & Tripathi, R. B. (2017). Isolation of phosphate solubilizing microorganism (PSMs) from soil. Journal of Microbiology and Biotechnology Research, 1(2), 90-95.
48. Slininger, P., Van Cauwenberge, J., Bothast, R., Weller, D., Thomashow, L., & Cook, R. (1996). Effect of growth culture physiological state, metabolites, and formulation on the viability, phytotoxicity, and efficacy of the take-all biocontrol agent *Pseudomonas fluorescens* 2–79 stored encapsulated on wheat seeds. Applied Microbiology and Biotechnology, 45(3), 391-398.
49. Slininger, P. J., & Jackson, M. A. (1992). Nutritional factors regulating growth and accumulation of phenazine 1-carboxylic acid by *Pseudomonas fluorescens* 2-79. Applied Microbiology and Biotechnology, 37(3), 388-392.
50. Smiley, R. (1974). Rhizosphere pH as influenced by plants, soils, and nitrogen fertilizers. Soil Science Society of America Journal, 38(5), 795-799.
51. Smiley, R., & Cook, R. (1973). Relationship Between Take-all of Wheat and Rhizosphere pH. Phytopathology, 63, 882-890.
52. Yang, M., Mavrodi, D. V., Mavrodi, O. V., Thomashow, L. S., & Weller, D. M. (2017). Construction of a recombinant strain of *Pseudomonas fluorescens* producing both phenazine-1-carboxylic acid and cyclic lipopeptide for the biocontrol of take-all disease of wheat. European Journal of Plant Pathology, 149(3), 683-694.
53. Yousefvand, M., Abbasi, S., Cheghamirza, K., & Sohbat, B. (2015). Genetic diversity in population of Gaeumannomyces graminis var. tritici sampled from Kermanshah province. Agricultural Biotechnology, 6(1), 97-105.