نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۰، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۵، ص. ۳۸۷-۳۷۹

Journal of Plant Protection
Vol. 30, No. 3, Fall 2016, P. 379-387

# بررسی تأثیر مایکوریزا و آزوسپیریلوم بر مقاومت ارقام گندم به زنگ زرد

مجید جیریایی*[۱]- هادی اسلامی[۲]- علی رستمی[۳]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۲/۱۲
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱۲/۲۴

## چکیده

به منظور بررسی تأثیر مایکوریزا و آزوسپیریلوم در میزان مقاومت به بیماری زنگ زرد در ارقام گندم پژوهشی در سال زراعی ۱۳۹۲-۱۳۹۱ در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه شهید چمران اهواز اجرا شد. طرح آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب بلوک کامل تصادفی و در ۳ تکرار بود. عوامل آزمایش شامل قارچ مایکوریزا در سه سطح (عدم کاربرد، استفاده از گونه *Glomus intraradices* و *G. mosseae*)، باکتری *Azospirillum lipoferum* در دو سطح (عدم تلقیح و تلقیح بذور با قارچ) و ارقام گندم در سه سطح شامل رقم چمران، ارقام دوروم دنا و بهرنگ بود. در این آزمایش شدت آلودگی، میانگین ضریب آلودگی، تیپ آلودگی و سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری (AUDPC) زنگ مورد ارزیابی قرار گرفت. یادداشت‌برداری از شدت و تیپ آلودگی در مرحله برگ پرچم با مقیاس اصلاح شده کب صورت گرفت. اولین علائم ظهور زنگ زرد در محل اجرای آزمایش در نیمه بهمن ماه سال ۹۱ مشاهده شد. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تلقیح بذور با آزوسپیریلوم صفات اندازه‌گیری شده را بین ۱۰ تا ۱۳ درصد کاهش داد. استفاده از مایکوریزا شدت آلودگی را ۴۵-۵۱ درصد، میانگین ضریب آلودگی و (AUDPC) را ۷۴-۸۵ درصد به ترتیب برای گونه‌های *G. intraradices* و *G. mosseae* نسبت به تیمار کنترل کاهش داد. رقم چمران بین ۴۰-۷۰ درصد از ارقام دوروم حساسیت بیشتری به بیماری نشان داد. به طور کلی کمترین شدت آلودگی (۱۸/۳۳) از تیمار تلقیح بذور رقم دنا با آزوسپیریلوم و استفاده از گونه *G. mosseae* به دست آمد.

**واژه‌های کلیدی:** باکتری، برگ پرچم، رقم دنا، شدت آلودگی، قارچ

## مقدمه

بیماری زنگ زرد ناشی از قارچ *Puccinia striiformis* West. f.sp. *tritici* از بیماری‌های مهم گندم در ایران است که در تمام مناطق کشور به خصوص نواحی سرد و مرطوب وجود داشته و گاهی باعث کاهش شدید محصول می‌گردد. طی سال‌های ۱۳۷۳-۱۳۷۲ اپیدمی زنگ زرد خسارتی معادل ۳۰ درصد به محصول گندم در ایران وارد کرده و حدود ۱/۵ میلیون تن گندم را از بین برد (۲۹) بنا به اظهار نظر آگریوس (۲) هوای خنک و میزان رطوبت نسبی بالا زمینه مناسبی را برای شیوع بیماری زنگ زرد گندم فراهم می‌آورد. خسارت ناشی از این بیماری به واسطه دانه‌های چروکیده و آسیب به پنجه‌ها می‌تواند تا ۵۰ درصد باشد و در برخی موارد تا ۱۰۰ درصد باعث افت محصول می‌شود (۲۲). استفاده از ارقام و لاین‌های مقاوم جهت کاهش بیماری، بهترین و اصولی‌ترین روش می‌باشد ولی ورود و بروز نژادهای جدید بیمارگر، سبب شکسته شدن مقاومت این ارقام می‌شوند (۱ و ۲). در سال ۱۳۷۶ رقم چمران از سوی مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر معرفی شد که تا بهار ۱۳۸۲ مقاوم به زنگ زرد بود (۱).

میکروارگانیسم‌هایی مانند باکتری‌های *Rhodopseudomonas plastris* و *Rhodobacter sphacrode*، لاکتوباسیل (*Lactobacillus plantrum*, L.) و *Streptococcus lactis*)، مخمرها (*Saccharomyses* spp.) و اکتینومیست‌ها (*Streptomyses* spp.) از جمله میکروارگانیسم‌های مؤثر[۴] می‌باشد که علاوه بر کنترل بیماری‌ها و افزایش سلامتی محصول، میزان عملکرد را نیز با افزایش فتوسنتز، تولید ترکیبات فعال زیستی مانند هورمون‌ها و آنزیم‌ها، افزایش می‌دهند (۱۲). اسمیت و رید (۲۶) اعلام کردند گسترده‌ترین ارتباط همزیستی تشکیل شده بین گیاه و قارچ همزیستی میکوریزایی است. همزیستی مایکوریزایی علاوه بر آنکه منجر به بهبود رشد بوته می‌شود باعث بهبود مقاومت به پاتوژن ها نیز می‌شود (۱۹). استفاده از قارچ‌های میکوریزایی برای کنترل بیولوژیکی پاتوژن‌های گیاهی یک روش غیر شیمیایی نسبتاً جدید است و شواهدی وجود دارد که مایکوریزا به نحو مؤثری در جلوگیری از

۱- دانشگاه آزاد اسلامی واحد اراک، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، اراک، ایران
۲-کارشناس ارشد زراعت، دانشگاه آزاد اسلامی، گرگان
۳-کارشناس ارشد زراعت، دانشگاه آزاد اسلامی، اراک

4- Effective Microorganism

بیماری، به ویژه بیماری‌های ایجاد شده توسط قارچ‌ها و باکتری‌ها نقش دارد (۱۴). افزایش مقاومت به پاتوژن‌ها احتمالاً علاوه بر آنکه در نتیجه بهبود تغذیه گیاه است، به دلیل افزایش رقابت بین پاتوژن و میکروارگانیسم مفید، برای اشغال سایت‌های کلونیزاسیون و یا فتوسنتز، و نیز فعال شدن مکانیسم‌های دفاعی بوته باشد (۷). ون‌درانت و همکاران (۲۸) در بررسی خود اعلام داشتند کلونیزه شدن ریشه توسط میکروارگانیزم‌های غیر بیماری‌زا مثل گونه‌های باکتریایی و قارچی تنظیم کننده رشد گیاه، باعث افزایش مقاومت سیستمیک به بیماری‌ها می‌شود. بنا بر گزارشات متعدد مکانیزم‌های مختلفی در افزایش مقاومت گیاه آلوده به مایکوریزا نسبت به بیماری دخیل هستند که از آن جمله می‌توان به ایجاد مانع مکانیکی برای نفوذ پاتوژن، ضخیم شدن دیواره سلولی، تحریک ریشه میزبان به تولید و تجمع غلظت کافی متابولیت‌ها، تولید آنتی‌بیوتیک ضد قارچ و ضد باکتری، جبران کاهش جذب مواد مغذی به دلیل آسیب وارد شده به سیستم ریشه و افزایش غلظت فنول‌های ریشه اشاره کرد (۲۵) بنابراین این پژوهش با هدف بررسی تأثیر تغذیه سه رقم گندم با منابع بیولوژیک مایکوریزا و آزوسپیریلوم بر میزان مقاومت آن‌ها به زنگ زرد انجام شد.

## مواد و روش‌ها

به منظور بررسی تأثیر مایکوریزا و آزوسپیریلوم در میزان مقاومت به بیماری زنگ زرد در ارقام گندم، تحقیقی در سال زراعی ۱۳۹۱-۱۳۹۲ در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه شهید چمران اهواز به صورت آزمایش فاکتوریل سه عامله در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۳ تکرار اجرا شد. فاکتورهای آزمایش شامل قارچ مایکوریزا در سه سطح عدم استفاده، استفاده از گونه *Glomus intraradices* و استفاده از گونه *G. mosseae*، فاکتور دوم باکتری *Azospirillum lipoferum* در دو سطح به صورت استفاده و عدم استفاده از باکتری در تلقیح با بذر گندم و فاکتور سوم ارقام گندم، شامل گندم نان چمران و گندم دوروم دنا و بهرنگ بود. جهت آلوده نمودن بذور با باکتری ابتدا بذرهای ارقام گندم توسط محلول هیپوکلریت ۰/۵ درصد استریل شد. سپس بذرها را به مدت دو ساعت در آب مقطر استریل خیسانده و متعاقب آن بذور به محلول حاوی باکتری آزوسپیریلوم با جمعیت $10^6$ سلول در هر میلی‌لیتر مایه تلقیح[1]، منتقل گردیدند (۳). بعد از ۴ ساعت بذرهای گندم آلوده به باکتری جهت کشت آماده بودند (۱۶). همچنین جهت تکثیر و رساندن جمعیت فعال باکتری به حد مؤثر $10^6$ cfu/ml (۲۱) سویه خالص باکتری *A. lipoferum* تهیه شده از آزمایشگاه بیولوژی خاک دانشگاه ارومیه در محیط کشت نوترینت براث[2] تکثیر شده و به روش Plate count تعداد سلول زنده باکتریایی شمارش شد.

برای تلقیح گونه‌های قارچ مایکوریزا در کرت‌های آزمایش نیز از کود مایکوریزایی با تراکم اسپور ۱۲۰ عدد در هر گرم ماده حامل (کود دامی کاملاً پوسیده) با طول هیف قارچی ۶ متر در هر میلی‌گرم نمونه استفاده شد که بر طبق توصیه شرکت تولید کننده از این نوع کود به میزان ۸۰ کیلوگرم در هکتار استفاده شد. پس از محاسبه مقدار کود مایکوریزای مورد نیاز هر کرت، کود منظور قبل کاشت با خاک سطحی (۵ سانتی‌متر سطح خاک) مخلوط شده و بلافاصله اقدام به کشت بذور (در تاریخ ۱۲ آذر ماه) شد. هر کرت آزمایشی شامل ۵ خط کشت به طول ۵ متر و فاصله ۲۰ سانتی‌متر و فاصله بوته‌ها روی ردیف ۲-۳ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. همچنین لازم به ذکر است مزرعه در سال زراعی قبل تحت کشت گندم و ذرت بوده است همچنین شرایط آب و هوایی محل آزمایش از ابتدای ظهور بیماری تا آخرین یادداشت‌برداری نسبت به مدت مشابه سال قبل سردتر و مرطوب‌تر بود. جهت بررسی تأثیر تیمارهای اعمالی در این پژوهش بر بیماری زنگ، طی آزمایشی شدت آلودگی، میانگین ضریب آلودگی، تیپ آلودگی و سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری زنگ مورد ارزیابی قرار گرفت. برای تعیین درصد آلودگی از کادری مربعی شکل به ابعاد ۰/۵×۰/۵ متر استفاده شد. با استفاده از این کادر تعداد بوته‌های آلوده در هر کرت شمارش و در مقایسه با تعداد کل بوته‌ها، درصد آلودگی در هر کرت تعیین شد (۲۹). یادداشت‌برداری در مرحله برگ پرچم طبق مقیاس اصلاح شده کب پیشنهادی پترسون و همکاران (۱۷) صورت گرفت که بر اساس آن شدت آلودگی به زنگ از روی درصد پوشش سطح برگ‌ها در مقیاس ۰ تا ۱۰۰ درصد و واکنش گیاه به آلودگی (تیپ آلودگی) طبق مقیاس رولفز و همکاران (۲۲) با اختصاص علائمی به صورت: O، R، MR، MS، S و به شرح زیر مشخص شد.

O= مصون و بدون آلودگی، R= دارای لکه‌های کلروتیک تا نکروتیک بدون ظهور اسپور، MR= دارای لکه‌های کلروتیک و نکروتیک و حاوی اسپور ناچیز ،M= دارای لکه‌های کلروتیک و نکروتیک همراه با جوش‌های کوچک، MS= دارای لکه‌های کلروتیک و نکروتیک همراه با جوش‌های متوسط و S= بدون لکه‌های کلروتیک همراه با جوش‌های فراوان و درشت. سپس داده‌های مربوط به شدت بیماری و عکس‌العمل میزبان با هم ترکیب شده و از ترکیب آن‌ها ضریب آلودگی محاسبه گردید ضریب آلودگی از ضرب شدت بیماری در ثابت مربوط به عکس‌العمل میزبان (O=۰، R=۰/۲، MR=۰/۴، M =MS۰/۶=، ۰/۸ S، ۱=) به دست آمد همچنین جهت محاسبه سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری[3] از فرمول زیر استفاده شد (۶):

1- cfu/ml
2- Nutrient Broth
3- AUDPC

$$AUDPC=\frac{n1(x1+x2)}{2}+\frac{n2(x2+x3)}{2}$$

که AUDPC= سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری، n1= فاصله اولین یادداشت‌برداری با دومین یادداشت‌برداری به روز، n2= فاصله دومین یادداشت‌برداری با سومین یادداشت‌برداری به روز و x1,x2,x3 به ترتیب ضریب آلودگی اولین، دومین و سومین یادداشت‌برداری است.

نهایتاً برای آنالیز واریانس داده‌ها از نرم افزار آماری SAS (۲۴)، و برای مقایسه میانگین تیمارها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد استفاده شد.

## نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد مایکوریزا و رقم، صفات میانگین ضریب آلودگی، شدت آلودگی و سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری را در سطح احتمال ۱ درصد تحت تأثیر قرار دادند ولی در مورد تیمار آزوسپیریلوم، تأثیر معنی‌داری بر صفات مورد ارزیابی مشاهده نشد (جدول ۱) اما در بررسی برهم‌کنش تیمارهای آزمایش، برای صفت شدت آلودگی نتایج نشان داد که هیچ یک از برهمکنش‌ها معنی‌دار نشدند. همچنین اثر متقابل کودهای مایکوریزا و آزوسپیریلوم مصرفی نیز برای صفات مورد ارزیابی معنی‌دار نبود اما اثر متقابل کود مایکوریزا و رقم و نیز اثر متقابل آزوسپیریلوم و رقم تأثیر معنی‌داری بر صفات میانگین ضریب آلودگی و AUDCP نشان دادند. اثرات سه‌گانه تیمارهای آزمایش نیز همان طور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود صفات میانگین ضریب آلودگی و سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار شدند.

**جدول ۱- تجزیه واریانس صفات اندازه‌گیری شده تحت تیمارهای آزمایش**

**Table 1- Analysis of variance for different plant parameters as affected by experimental treatments**

| منابع تغییر S.O.V | درجه آزادی DF | AUDPC | شدت آلودگی Intensity of infection | میانگین ضریب آلودگی Average coefficient of infection |
|---|---|---|---|---|
| تکرار Replication | 2 | 46862.62$^{ns}$ | 117.05$^{ns}$ | 193.95* |
| آزوسپیریلوم Azospirillum | 1 | 3420.89$^{ns}$ | 0.90$^{ns}$ | 16.11$^{ns}$ |
| مایکوریزا Mycorrhiza | 2 | 893226.56** | 3981.72** | 4524.33** |
| رقم Cultivar | 2 | 276704.69** | 1973.16** | 1418.38** |
| آزوسپیریلوم × مایکوریزا A×M | 2 | 8152.79$^{ns}$ | 5.01$^{ns}$ | 42.02$^{ns}$ |
| آزوسپیریلوم × رقم C× A | 2 | 46780.85** | 1.35$^{ns}$ | 140.78* |
| مایکوریزا × رقم C×B | 4 | 50277.57** | 132.13$^{ns}$ | 248.82** |
| آزوسپیریلوم × مایکوریزا × رقم C×B ×A | 4 | 14960.88* | 0.87$^{ns}$ | 100.33* |
| خطا Error | 34 | 5044.19 | 83.03 | 24.09 |
| ضریب تغییرات (٪) CV (%) | | 20.91 | 13.80 | 22.92 |

* و ** به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱٪ و ns غیر معنی‌دار هستند

**, * and: significant at the 1%, 5% probability levels

### علائم بیماری

علائم بیماری روی برگ‌های آلوده به صورت جوش‌های زرد یا نارنجی رنگ در سطح بالایی یا پایینی برگ‌ها دیده شد که جوش‌ها به صورت ریز و منظم و نواری و پشت سر هم قرار گرفته بودند. در حالت شدید بودن بیماری، جوش‌ها، تمام سطح برگ‌ها به خصوص برگ پرچم را پوشانده و باعث جلوگیری از انجام عمل فتوسنتز می‌شوند (۲۹) در رقم حساس (چمران)، جوش‌ها درشت و بدون لکه‌های کلروز بودند. در مزرعه مورد آزمایش، ظهور مرحله تلیای زنگ زرد (که به صورت جوش‌های نواری و ردیفی کاملاً سیاه رنگ است) مشاهده نشد طبق اظهار نظر آگریوس (۲) نیز در مورد زنگ زرد گندم برای مرحله

تلیا نقش خاصی تعیین نشده و یا نقش آن نامعلوم می‌باشد به نظر می‌رسد خنکی هوا و میزان رطوبت نسبی بالا و احتمالاً ظهور نژادهای جدید زنگ زرد و یا داشتن قدرت بیماری‌زایی بالاتر در نژادهای موجود در منطقه، موجب بروز اپیدمی بیماری زنگ در منطقه شده است که این نتیجه با اظهارات افشاری و همکاران (۱) و آگریوس (۲) مطابقت دارد.

**شدت آلودگی در تیمارها و تیپ آلودگی**

مطابق جدول ۲ تلقیح بذور با آزوسپیریلوم اگرچه به شکل معنی‌داری باعث کاهش شدت آلودگی نشد ولی منجر به کاهش ۸ درصدی شدت آلودگی در گندم‌های تلقیح شده با باکتری شد. به نظر می‌رسد آزوسپیریلوم از طریق افزایش در جذب عناصر غذایی که خود در اثر تحریک رشد بیشتر ریشه است منجر به افزایش مقاومت دیواره سلولی شده باشد چرا که از جمله عناصری که در اثر کاربرد آزوسپریلوم بیشتر جذب می‌شود عنصر سلیس است که نقش مؤثری در افزایش مقاومت دیواره سلولی دارد (۱۰) اما استفاده از گونه‌های مایکوریزا شدت بیماری را به شکل بسیار مؤثری کاهش داد اگرچه بین گونه‌های مایکوریزا تفاوت معنی‌داری وجود نداشت ولی بیشترین کنترل بیماری از کاربرد گونه *G. mosseae* به دست آمد به نحوی که نسبت به تیمار عدم کاربرد مایکوریزا تا ۵۰ درصد از شدت بیماری کاسته شد (شکل ۱). پوزو و آزکون (۱۹) عنوان داشتند که مقاومت گیاهان میکوریزی به پاتوژن‌های با چرخه زندگی بیوتروفیک مانند سفیدک پودری و زنگ، بیشتر است. در مورد اثر متقابل مایکوریزا و رقم، کمترین شدت بیماری معادل ۱۹/۰۰ درصد از کاربرد گونه *G. mosseae* در رقم دنا و بیشترین شدت بیماری معادل ۶۸ درصد نیز در تیمار عدم تغذیه مایکوریزایی گندم رقم چمران دیده شد (شکل ۱). همچنین در ارتباط با اثر متقابل رقم و آزوسپیریلوم، همان‌طور که در شکل (۲) مشاهده می‌شود کمترین شدت بیماری معادل ۲۸/۳۳ درصد از تیمار تلقیح بذور گندم بهرنگ با آزوسپیریلوم به دست آمد و بیشترین شدت بیماری (۴۹/۴۴ درصد) نیز در تیمار عدم تلقیح باکتریایی بذور رقم چمران دیده شد. اگرچه مطالعه‌ای در ارتباط با افزایش مقاومت غلات تلقیح شده با آزوسپیریلوم در دسترس نبود اما باشان و د–باشان (۵) اعلام کردند مقاومت گیاه گوجه فرنگی به انگل‌های باکتریایی همچون سودوموناس سرینگا که با آزوسپیریلوم تلقیح شده بود افزایش یافت. همچنین در پژوهشی مشخص شد تلقیح گیاهان با آزوسپیریلوم باعث افزایش فعالیت‌های ضد قارچی به دلیل افزایش بیان ژن‌های کد کننده آنزیم کیتیناز می‌شود (۱۱).

**جدول ۲- مقایسه میانگین اثرات اصلی باکتری، مایکوریزا و ارقام گندم بر صفات اندازه‌گیری شده**

**Table 2- Mean comparisons of main effects of mycorrhiza, azospirillum and wheat cultivars on measured treats**

| | رقم Cultivar | | | مایکوریزا Mycorrhiza | | | آزوسپیریلوم Azospirillum | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | چمران Chamran | بهرنگ Behrang | دنا Dena | *G. mosseae* | *G. intraradices* | عدم کاربرد No use | *A. lipoferum* | عدم کاربرد No use |
| میانگین ضریب آلودگی Average coefficient of infection | 25.07a | 16.80b | 7.33c | 5.38c | 9.25b | 34.57a | 14.95a | 16.85a |
| شدت آلودگی Intensity of infection | 49.88a | 35.38b | 29.55b | 27.66b | 31.88b | 55.27a | 34.40a | 38.14a |
| AUDPC | 350.66a | 235.63b | 102.90c | 75.60c | 128.45b | 485.14a | 200.69a | 221.77a |

در هر ستون حروف مشابه نشان دهنده نبود اختلاف معنی‌دار بین میانگین هاست (بر اساس آزمون دانکن)

Means followed by the same letters in each column are not significantly different (Duncan's multiple range test).

برای برهمکنش سه‌گانه نیز (جدول ۳) درصد پوشش جوش‌های زنگ روی برگ‌های تیمار عدم استفاده از کودهای بیولوژیک در رقم چمران به میزان ۶۸/۳۳ درصد بود که بیشترین شدت بیماری مورد مشاهده بود و کمترین شدت بیماری نیز معادل ۱۸/۳۳ درصد از تیمار تلقیح آزوسپیریلوم و کاربرد گونه *G. mossaae* با رقم دنا به دست آمد. هانگ و همکاران (۱۳) در آزمایش خود اعلام داشتند پس از کلونیزه شدن ریشه توسط مایکوریزا، ترکیبات فنلی در گیاه تجمع می‌یابد، و واکنش دفاع موضعی یا سیستمیک رخ می‌دهد. از آنجایی که گیاهان در پاسخ به عفونت و یا مبارزه با تهاجم پاتوژن‌های میکروبی، با تجمیع فیتوآلکسین‌ها در بافت‌های خود، به مقابله می‌پردازند با توجه به تجمع فیتوآلکسین در گیاهان میکوریزی افزایش مقاومت به بیماری دور از انتظار نیست (۳۲). بررسی شیوع بیماری در مزرعه نشان داد که به‌تدریج و با رسیدن به مرحله برگ پرچم، علائم بیماری در کلیه کرت‌ها بروز یافته است اما همان‌طور که در جدول (۳) مشاهده می‌شود شدت شیوع بیماری و در نتیجه تیپ آلودگی متغیر بود به نحوی که تیمارهای عدم استفاده از کودهای بیولوژیکی در رقم نان (چمران) بیشترین آلودگی به بیماری زنگ یا به عبارتی تیپ آلودگی از نوع حساس (s) دیده شد و کمترین آلودگی به بیماری

(r) نیز در چهار تیمار مشاهده شد که وجه مشترک تمامی آن‌ها کاربرد یکی از گونه‌های مایکوریزا بود البته لازم به ذکر است تیمار آزوسپیریلوم نیز تأثیر به سزایی در تغییر تیپ آلودگی در جهت کاهش علائم بیماری داشته داشت به نحوی که از چهار تیماری که تیپ آلودگی (r) را نشان دادند سه تیمار با آزوسپیریلوم تلقیح شده بودند.

**جدول ۳- مقایسه میانگین اثر برهمکنش مایکوریزا، باکتری و ارقام گندم بر صفات اندازه‌گیری شده**

**Table 3- Mean comparisons of interaction effects of mycorrhiza, azospirillum and wheat cultivars on measured treats**

| تیمارها Treats | میانگین ضریب آلودگی Average coefficient of infection | شدت آلودگی Intensity of infection | AUDPC | تیپ آلودگی Type of infection |
|---|---|---|---|---|
| C×M × A | | | | |
| C1× M1×A1 | 25.24d | 48.00b | 355.13d | Mr |
| C2× M1×A1 | 41.29bc | 55.33ab | 578.67bc | S |
| C3× M1×A1 | 54.42a | 68.33a | 764.17a | S |
| C1× M2×A1 | 20.49d | 26.00def | 36.07gh | Mr |
| C2× M2×A1 | 12.37e | 31.33c-f | 174.07ef | M |
| C3× M2×A1 | 2.69efg | 38.66bcd | 283.03de | Ms |
| C1× M3×A1 | 2.11fg | 19.66f | 34.57gh | R |
| C2× M3×A1 | 4.84efg | 22.33ef | 67.43fgh | M |
| C3× M3×A1 | 11.42ef | 45.00bc | 159.37efg | M |
| C1× M1×A2 | 25.55efg | 43.00bc | 131.83fgh | R |
| C2× M1×A2 | 33.24c | 50.33ab | 475.30c | Mr |
| C3× M1×A2 | 43.09b | 57.33ab | 605.73c | Mr |
| C1× M2×A2 | 2.57fg | 21.33ef | 31.70gh | R |
| C2× M2×A2 | 7.75efg | 28.00def | 109.67fgh | Mr |
| C3× M2×A2 | 4.69efg | 36.00cd | 134.17gh | Mr |
| C1× M3 ×A2 | 2.04fg | 18.33f | 30.10gh | R |
| C2× M3 ×A2 | 0.69g | 20.00f | 8.63h | Mr |
| C3×M3 ×A2 | 9.55efg | 43.00bc | 131.83fgh | M |

در هر ستون حروف مشابه نشان دهنده نبود اختلاف معنی دار بین میانگین‌هاست (بر اساس آزمون دانکن)

A1: عدم تلقیح با آزوسپیریلوم ، A2: تلقیح شده با آزوسپریلیوم، M1: عدم استفاده از مایکوریزا، M2: استفاده از سویه *G. intraradices*، M3: استفاده از سویه *G. mosseae*، C1: چمران، C2: بهرنگ، C3: دنا

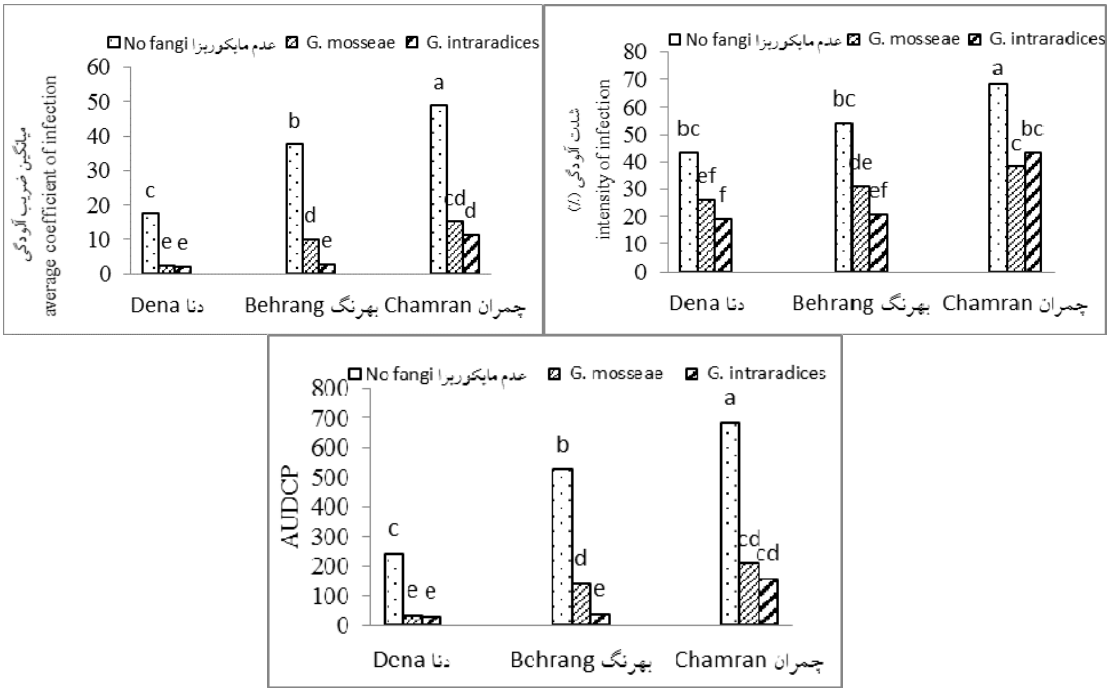
Means followed by the same letters in each column are not significantly different (Duncan's multiple range test).
A1: Non-Inoculated A2: Inoculated M1: Non-use M2: *G. intraradices* M3: *G. mosseae* C1: Chamran C2: Behrang C3: Dena

## میانگین ضریب آلودگی و سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری

در بررسی میانگین ضریب آلودگی و سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری (AUDPC) مشخص شد تلقیح بذور با آزوسپیریلوم منجر به افزایش مقاومت گیاه به بیماری شده است به نحوی که بیشترین ضریب آلودگی معادل ۱۶/۸۵ بود که تا ۱۱ درصد بیشتر از تیمار تلقیح باکتریایی میانگین ضریب آلودگی را بروز داد و بیشترین سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری نیز معادل ۲۲۱/۷۷ بود که در مورد این صفت نیز تلقیح باکتریایی تا ۷ درصد سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری را کاهش داد (جدول ۲). اما کاربرد گونه‌های مایکوریزا ضریب آلودگی و (AUDPC) را به شکل بسیار مؤثری کاهش داد همچنان که یافته‌ها نشان داد، کمترین ضریب آلودگی و (AUDPC) از کاربرد گونه *G. mosseae* به دست آمد که نسبت به تیمار عدم کاربرد مایکوریزا تا ۸۰ درصد ضریب آلودگی و پیشرفت بیماری کاهش داده بود پوزو و همکاران (۲۰) عنوان داشتند قارچ‌های مایکوریزا اگرچه به طور عمده جهت افزایش جذب مواد غذایی در گیاه به کار برده می‌شوند اما تحقیقات نشان داده این قارچ‌ها می‌توانند چندین وظیفه مفید دیگر را نیز برای گیاهان داشته باشند از جمله این وظایف می‌توان به افزایش مقاومت گیاهان کلونیزه شده توسط مایکوریزا، به بیماری‌ها اشاره کرد (۲۰). اما بین دو گونه مایکوریزای مورد استفاده در این آزمایش نیز تفاوت معنی‌داری وجود داشت به نحوی که گونه *G. mosseae* برای هر دو صفت بیش از ۴۰ درصد موفق‌تر عمل کرد (شکل ۱). لیو و همکاران (۱۵) افزایش مقاومت سیستمیک به پاتوژن‌های برگ ناشی از کلونیزاسیون ریشه توسط مایکوریزا را گزارش کرده و عنوان داشتند اثر همزیستی مایکوریزایی در خلال مراحل آلودگی بافت‌های هوایی گیاه به پاتوژن قابل مشاهده است اما همیشه هم همزیستی

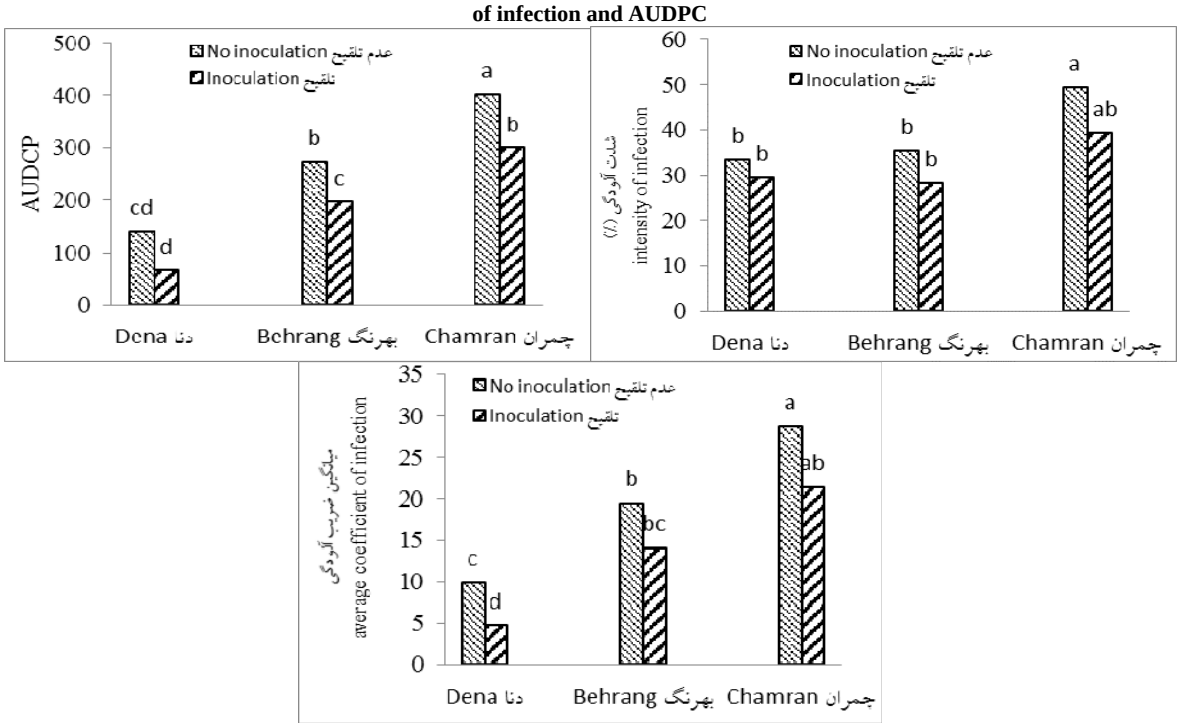
مایکوریزایی مقاومت به بیماری را در مقابل پاتوژن‌های برگی افزایش نمی‌دهد (۳۰). همچنین در برخی از تحقیقات دیده شده مقاومت گیاه در برابر حمله پاتوژن به نوع گونه مایکوریزا بستگی دارد (۹). در مورد ارقام نیز همچنان که در جدول (۲) مشاهده می‌شود رقم چمران بیشترین میانگین ضریب آلودگی و سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری را داشت و تا ۷۰ درصد مقادیر عددی بالاتری را نسبت به رقم دنا، در مورد هر دو صفت مورد بحث نشان داد که این امر نشان از حساسیت بالای رقم چمران نسبت به بیماری زنگ زرد است.

بررسی اثر متقابل مایکوریزا و رقم، مشخص کرد که کمترین میانگین ضریب آلودگی (۲/۰۷) و AUDPC (۳۰/۳۳) از کاربرد گونه *G. mosseae* در رقم دنا و بیشترین میانگین ضریب آلودگی (۴۸/۷۵) و AUDPC (۶۸۴/۹۵) در تیمار عدم تغذیه مایکوریزایی گندم رقم چمران دیده می‌شود (شکل ۱). به نظر می‌رسد مایکوریزا با تغییر در میزان تولید متابولیت‌هایی همچون فنول‌ها باعث افزایش مقاومت گندم در برابر زنگ زرد شده باشد کامپوس سوریانو و همکاران (۷) گزارش کردند تلقیح برنج با مایکوریزا، از طریق تغییر در بیان ژن‌های دفاعی گیاه باعث افزایش مقاومت به بیماری‌ها می‌شود. برهمکنش رقم و آزوسپیریلوم نیز نشان داد، کمترین میانگین ضریب آلودگی (۴/۷۲) و AUDPC (۶۵/۸۸) از تیمار تلقیح بذور گندم دنا با آزوسپیریلوم به دست آمد و بیشترین میانگین ضریب آلودگی (۲۸/۷۵) و AUDPC (۴۰۱/۵۷) نیز در تیمار عدم تلقیح باکتریایی بذور رقم چمران دیده شد (شکل ۲). یاسودا و همکاران (۳۱) گزارش کردند تلقیح برنج با آزوسپیریلوم منجر به مقاومت به بیماری‌ها در این گیاه می‌شود. احتمال می‌رود دلیل افزایش مقاومت گیاهان تلقیح شده با آزوسپیریلوم، علاوه بر توان بیشتر این گیاهان در جذب عناصر غذایی و در نتیجه رشد و توسعه موفق‌تر (همچون مایکوریزا)، به دلیل تولید برخی متابولیت‌ها نیز باشد. تورتورا و همکاران (۲۷) عنوان داشتند برخی استرین‌های آزوسپیریلوم قادر به تولید اسید سالیسیلیک در مواقع مواجهه با بیماری‌های قارچی هستند و اما در مورد برهمکنش تیمارها نیز همان‌طور که در جدول (۳) مشاهده می‌شود بیشترین میانگین ضریب آلودگی معادل ۵۴/۴۲ و بیشترین سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری ۷۶۴/۱۷ از تیمار عدم استفاده از کودهای بیولوژیکی در رقم چمران دیده شد. کمترین میانگین ضریب آلودگی معادل ۰/۶۹ و کمترین سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری معادل ۸/۶۳ از تیمار تلقیح آزوسپیریلوم و کاربرد گونه *G. mosseae* در رقم بهرنگ به دست آمد (جدول ۳). در عمده مطالعات مربوط به مقاومت‌های ناشی از میکروب‌های مفید، به نقش جاسمونیک اسید و اتیلن (۲۸) و سالیسیلیک اسید (۱۸ و ۱۴) در ایجاد مقاومت سیستمیک، اشاره شده است.




**شکل ۱- تأثیر سطوح مایکوریزا و ارقام گندم بر صفات شدت آلودگی، میانگین ضریب آلودگی و AUDPC**

**Figure 1- Effect of mycorrhiza levels and wheat cultivares on on intensity of infection, average coefficient of infection, type**




**شکل ۲- تأثیر سطوح آزوسپیریلوم و ارقام گندم بر شدت آلودگی، میانگین ضریب آلودگی و AUDPC**

**Figure 2- Effect of azosprillium levels and wheat cultivares on intensity of infection, average coefficient of infection, type of infection and AUDPC**

## نتیجه‌گیری کلی

با توجه به نتایج به دست آمده بیماری زنگ زرد در تمامی مزرعه مورد بررسی وجود داشت همچنین میزان وقوع بیماری نیز بین ۱۰-۷۰ درصد متغیر بود. به طور کلی نتایج این آزمایش نشان داد کاربرد مایکوریزا نقش به سزایی در ارتقای مقاومت گندم نسبت به زنگ زرد دارد همچنین تلقیح بذور با آزوسپیریلوم نیز اگرچه به شکل معنی‌داری در کنترل بیماری نقش نداشت ولی در حد قابل قبولی توان مقابله گندم با زنگ را افزایش داد اما نکته قابل توجه، مربوط به تأثیر کاربرد توأم قارچ و باکتری بود چرا که اثرات تشدیدکنندگی این دو ماده منجر به افزایش بیش از ۲۰ درصدی در مقاومت ارقام گندم به بیماری زنگ، (نسبت به کاربرد جداگانه شان)، در مورد کلیه صفات مورد ارزیابی شد. و اما بین دو گونه مایکوریزای به کار برده شده، گونه *G. mosseae* موفق‌تر عمل کرد و در مورد ارقام نیز مشاهدات نشان داد ارقام دوروم در هر دو شرایط کاربرد و عدم کاربرد کودهای مایکوریزا و آزوسپیریلوم، مقاومت بیشتری (نسبت به رقم چمران) به بیماری زنگ دارند، اما نکته قابل تأمل آنکه مشاهدات ما نشان داد پس از کاربرد مایکوریزا و آزوسپیریلوم تا ۳۰ درصد شدت و ضریب آلودگی به بیماری در ارقام دروم نسبت به عدم تغذیه کودی کاهش یافت.

## منابع


1- Afshari F. 2003. Studies on rust resistance in wheat with particular emphasis on stripe rust. Ph.D. Thesis, University of Sydney, Australia. 252 p.
2- Agrios G.N. 2004. Plant Pathology, 4th edition on Academic Press. 635 p.
3- Amooaghaie R., Mostajeran A., and Emtiazi G. 2003. The effect of Azospirillum strains bacteria concentration on the growth of wheat roots. Journal of Agricultural Science, 33 (2): 222-213. (In Persian)
4- Balol G.B., Shilpa Kumari M.V., Raaghavendra M., and Divya B. 2012. Role of Mycorrhizae in Plant Disease Management. Research Journal of Agricultural Sciences, (3): 1. 01-09.
5- Bashan Y., and de-Bashan LE. 2002. Reduction of bacterial speck (*Pseudomonas syringae* pv. tomato) of tomato

by combined treatments of plant growth-promoting bacterium, *Azospirillum brasilense*, streptomycin sulfate, and chemo-thermal seed treatment. European Journal Plant Pathology, 108:821‑829.
6- Bjarko M. E., and Line R.F. 1988; Heritability and number of genes controlling leaf rust resistance in four cultivars of wheat. Phytopathology, 78: 457-461.
7- Campos-Soriano L., A-Martinez J.G., and San Segundo B. 2011. The Arbuscular Mycorrhizal symbiosis promotes the systemic induction of regulatory defense-related genes in rice leaves and confers resistance to pathogen infection. Molecular Plant Pathology, 1-14.
8- Campos-Soriano L., and San Segundo B. 2009. Assessment of blast disease resistance in transgenic PRMS rice using a gfp-expressing *Magnaporthe oryzae* strain. Plant Pathology, 58: 677–689.
9- De la Noval B., Perez E., Martinez B., Leon O., Martinez-Gallardo N., and Frier J. 2007. Exogenous systemin has a contrasting effect on disease resistance in mycorrhizal tomato *Solanum lycopersicum* plants infected with necrotrophic or hemibiotrophic pathogens. Mycorrhiza, 17: 449–460.
10- Egamberdiyevaa D., and Hoflich G., 2003. Influence of growth-promoting bacteria on the growth of wheat in different soils and temperatures. Soil Biol. Biochem, 35: 973‑978.
11- El-Hamshary OIM., El-Gebally OG., Abou-El-Khier ZA., Arafa RA., and Mousa S.A. 2010. Enhancement of the chitinolytic properties of *Azospirillum* strain against plant pathogens via transformation. Journal American Science, 6:169‑176.
12- Higa T. 2000. What is EM Technology? EM World Journal, 1: 1-6.
13- Huang J., Luo S., and Zeng R. 2003. Mechanisms of plant disease resistance induced by arbuscular mycorrhizal fungi. Journal Public Medical, 14(5):819-22.
14- Leon-Reyes A., Spoel S.H., De Lange E.S., Abe H., Kobayashi M., Tsuda S., Millenaar F.F., Welschen R.A., Ritsema T., and Pieterse C.M. 2009. Ethylene modulates the role of Nonexpressor of Pathogenesis-Related genes1 in cross talk between salicylate and jasmonate signaling. Plant Physiology, 149: 1797–1809.
15- Liu J., Maldonado-Mendoza I., Lopez-Meyer M., Cheung F., Town C.D., and Harrison M.J. 2007. Arbuscular mycorrhizal symbiosis is accompanied by local and systemic alterations in gene expression and an increase in disease resistance in the shoots. Plant Journal, 50: 529–544.
16- Mostajeran A., Amooaghaie B., and Emtiazi G. 2005. The effect *Azospirillum* and pH irrigation water on yield and protein content of wheat cultivars. Journal of Biology, 18(3): 248-260. (In Persian)
17- Peterson R.F., Campbell A.B., and Hannah A.E. 1948. A diagrammatic scale for estimating rust intensity of leaves and stems of cereals. Canadian Journal Research, 26: 496-500.
18- Pieterse C.M., Leon-Reyes A., Van der Ent S., and Van Wees S.C.M. 2009. Networking by small-molecule hormones in plant immunity. Natural Chemical Biology, 5: 308–316.
19- Pozo M.J., and Azcón-Aguilar C. 2007. Unraveling Mycorrhiza-induced resistance. Plant Biology, 10, 393–398.
20- Pozo M.J., Jung S.C., López-Ráez J.A., and Azcón-Aguilar C. 2010. Impact of arbuscular mycorrhizal symbiosis on plant response to biotic stress: the role of plant defence mechanisms. In: Arbuscular Mycorrhizas: Physiology and Function (Koltai, H. and Kapulnik, Y., eds), pp. 193–207. Heidelberg: Springer.
21- Rejali F., Alizadeh A., Salehrastin N., Malakouti M.J., Khavazi K., and Asgharzadeh A. 2006. In vitro preparation and reproduction of inoculant of *Glomus intraradices*. Iranian Journal of Soil Research (Formerly soil and water science), 20(2): 273-283.
22- Roelfs A.P., Singh R.P., and Saari E.E. 1992. Rust Diseases of Wheat, Concepts and Methods of. Disease Management. CIMMYT, Mexico. 81 p.
23- Safavi P., and Turabi D. 2008. Evaluation of promising wheat lines resistance (C-81) climate green to yellow rust in Ardabil. Research and development in agriculture and horticulture, 187-179.
24- SAS 9.01.3 Copyright (c) 2004. By SAS Institute Inc., cary, nc, USA. SAS (r) Proprietary Software Version 9.00 (TS M0).
25- Singh G., and Mukerji K.G. 2006. Root exudates as determinant of rhizospheric microbial diversity. In, Microbial activity in the rhizosphere. K.G. Mukerji, C. Manoharachary J. Singh eds. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, 39-55.
26- Smith S., and Read D. 2008. Mycorrhizal Symbiosis. London: Academic Press.
27- Tortora ML., Díaz Ricci J.C., and Pedraza RO. 2011. *Azospirillum brasilense* siderophores with antifungal activity against *Colletotrichum acutatum*. Archive Microbiology 193:275‑286. doi:10.1007/s00203-010-0672-7
28- Van der Ent S., VanWees S.C.M., and Pieterse C.M. 2009. Jasmonate signaling in plant interactions with resistance-inducing beneficial microbes. Photochemistry, 70. 1581–1588.
29- Wayne AS. 2009. The incidence of yellow rust of wheat in irrigated fields in cold regions Kohgiluyeh and Boyer ahmad. Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources, 16 (2): 67-78.
30- Whipps J.M. 2004. Prospects and limitations for mycorrhizas in biocontrol of root pathogens. Canadian Journal Botany, 82: 1198–1227.
31- Yasuda M., Isawa T., Minamisawa K., Shinozaki S., and Nakashita H. 2009. Effects of colonization of a bacterial

endophyte, *Azospirillum* sp. B510 on disease resistance in rice. Bio Science Biotechnology Biochemical, 73:2595-2599. doi:10.1271/ bbb.90402.

32- Zegg R.S. 2006. Disease resistance in plants through Mycorrhiza fungi induced allelochemicals. Springer: Biological Control of Plant Pathogens and Diseases, 181-192.