نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۳، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۸، ص. ۳۸۶-۳۷۵

Journal of Plant Protection
Vol. 33, No.4, Winter 2019, P. 375-386

نقش تغذیهٔ گوگرد و مایه‌زنی با باکتری تیوباسیلوس در مهار بیماری پاخوره گندم ناشی از *Gaeumannomyces tritici*

مریم قدم خیر[۱]- سعید عباسی[۲*]- روح الله شریفی[۳]- اکرم فاطمی[٤]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۸/۰۱
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۰/۲۳

چکیده

بیماری پاخوره با عامل *Gaeumannomyces tritici*، یکی از مخرب‌ترین بیماری‌های ریشهٔ گندم در سراسر جهان است. از این رو ارائه راهکاری مدیریتی جهت کنترل این بیماری، بسیار ضروری به نظر می‌رسد. هدف از این پژوهش بررسی نقش تغذیه با گوگرد و اثر باکتری تیوباسیلوس بر وقوع بیماری پاخوره گندم بود. بدین منظور، ابتدا خصوصیات فیزیکی-شیمیایی خاک مورد آزمون ارزیابی شد. گوگرد در غلظت‌های صفر، دو، چهار و هشت گرم بر کیلوگرم با خاک مخلوط شد و به سه صورت مورد مصرف قرار گرفت. در یک تیمار، خاک غنی‌شده با غلظت‌های مختلف گوگرد بلافاصله با بیمارگر مایه‌زنی و مورد کشت گندم قرار گرفت، در تیمار دوم خاک غنی‌شده با غلظت‌های مختلف گوگرد به مدت دو ماه در گلخانه نگه‌داری شد و سپس مایه‌زنی و کشت شد. در تیمار سوم نیز خاک غنی‌شده با غلظت‌های مختلف گوگرد با باکتری تیوباسیلوس تیمار شد و بلافاصله مایه‌زنی و کشت انجام شد. تجزیهٔ خاک مورد آزمایش نشان داد این خاک آهکی بوده و pH آن ۷/۲۴ یعنی نسبتاً قلیایی است. میزان دسترسی نیتروژن و عنصر روی آن مناسب بود، ولی غلظت عناصر آهن، مس و تا حدودی فسفر خاک کم بود. نتایج نشان داد که غلظت‌های مختلف گوگرد به صورت کشت بلافاصله و نگه‌داری دو ماهه اثر معنی‌داری در کاهش بیماری پاخوره نداشتند، اما در تیمار همزمان گوگرد و باکتری تیوباسیلوس در غلظت هشت گرم بر کیلوگرم خاک شدت بیماری حدود ۴۵ درصد کاهش یافت. تیمار خاک با گوگرد در غلظت دو گرم بر کیلوگرم خاک با و بدون نگه‌داری دو ماهه وزن خشک گیاه را به ترتیب ۲۰ و ۲۵ درصد افزایش داد ولی افزایش بیشتر غلظت اثری بر افزایش رشد گیاه نداشت. در تیمار گوگرد و باکتری تیوباسیلوس با افزایش غلظت گوگرد، وزن خشک گیاه ۲۵ درصد افزایش داشت. در مجموع، ترکیب گوگرد و باکتری تیوباسیلوس می‌تواند به عنوان رهیافتی امیدبخش در مهار پاخوره و بهبود رشد گندم مدنظر قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: پاخوره غلات، تغذیه خاک، تیوباسیلوس، گوگرد

مقدمه

بیماری پاخوره با عامل (*Gaeumannomyces tritici* J. Walker (Hern.-Restr. & Crous)، یکی از مهم‌ترین و مخرب‌ترین بیماری‌های گندم محسوب می‌شود (۲۰). این قارچ در اغلب خاک‌های دنیا به وفور یافت شده و خسارت وارد می‌کند، ولی بیش‌تر در خاک‌های قلیایی و تا حدی خنثی، غیر حاصل‌خیز و فاقد زه‌کشی مناسب شدت دارد و در خاک‌های نواحی معتدل و مرطوب، در مزارعی که کشت گندم چند سال پیاپی و به طور مستمر صورت می‌گیرد، شدیدتر است (۱ و ۵). در شرایط مناسب، قارچ عامل بیماری ضمن تخریب نسوج ریشه و طوقه، سبب بروز نشانه‌های کمبود عناصر در قسمت‌های هوایی گیاه، سیاه شدن ناحیهٔ طوقه و ریشه، مرگ زود هنگام، خشکیدگی کل بوته، از بین رفتن دانه در خوشه و سفید شدن سنبله‌ها می‌شود (۲۰ و ۲۴). راهکارهای مختلفی از جمله شخم عمیق، از بین بردن بقایای گیاهی، کنترل علف‌های هرز، استفاده از ارقام متحمل و تناوب زراعی برای مهار بیماری پاخوره وجود دارد که به صورت نسبی سبب کاهش بیماری می‌شوند. با این حال، در میان روش‌های کنترل بیماری، روشی که بتواند بیماری را به صورت کامل مهار نماید، وجود ندارد (۵). لذا برای کاهش خسارت این بیماری، بیشتر بر مدیریت تلفیقی بیماری تأکید می‌شود.

یکی از روش‌های مؤثر در کاهش خسارت بیماری‌های گیاهی مدیریت تغذیه میزبان است. بررسی متاآنالیز نشان داده است که تغذیهٔ مناسب می‌تواند به عنوان رهیافتی امیدبخش و عملی در کاهش بیماری‌های قارچی گیاهان مورد استفاده قرار گیرد (۲۱). البته بیمارگرها بسته به بیوتروف یا نکروتروف بودن و نوع گیاه میزبان

۱، ۲ و ۳- به‌ترتیب دانش‌آموختهٔ کارشناسی ارشد، دانشیار و استادیار بیماری‌شناسی گیاهی، گروه گیاه‌پزشکی، دانشگاه رازی
۴- استادیار شیمی خاک، گروه علوم و مهندسی خاک، دانشگاه رازی
(*- نویسندهٔ مسئول: Email: abbasikhs@yahoo.com)
DOI: 10.22067/jpp.v33i4.67651

پاسخ‌های متفاوتی به مدیریت تغذیه می‌دهند که لازم است مورد توجه قرار گیرند. برخی عناصر غذایی با تقویت رشد و دفاع میزبان باعث مهار بیماری می‌شوند و برخی به‌صورت غیرمستقیم از طریق تغییر pH و اثرگذاری بر تنوع میکروبی خاک اثر خود را بر بیماری اعمال می‌کنند (۲۱، ۲۲ و ۲۶). به طور کلی، مطالعات نشان می‌دهد حفظ pH خاک در محدودهٔ قابل قبول (۵/۵ تا ۶/۵) بهترین روش کاهش حساسیت میزبان به بیماری پاخوره می‌باشد؛ در این دامنهٔ pH، عناصر ریزمغذی مورد نیاز گیاه تأمین شده و توان دفاعی گیاه افزایش می‌یابد (۲۲ و ۲۳). در واقع، شرایط قلیایی خاک سبب کاهش قابلیت جذب عناصر منگنز، آهن، روی، مس و برخی عناصر غذایی دیگر می‌شود و گیاه علی‌رغم وجود مواد غذایی کافی، قادر به جذب و استفاده از آن‌ها نخواهد بود. برخی از این عناصر نقش ویژه‌ای در کاهش بیماری پاخوره غلات دارند. مقدار کافی منیزیم مانند دیگر مواد مغذی در مقاومت گندم به بیماری پاخوره مؤثر است. استفاده از کلرید منیزیم همراه با کودهای آمونیومی موجب افزایش منیزیم قابل جذب برای گیاه، کاهش پاخوره و افزایش عملکرد محصول می‌شود. در مقابل، استفاده از کربنات منیزیم به همراه کربنات کلسیم به منظور افزایش pH فراریشه سبب کاهش میزان منگنز قابل جذب برای گیاه و افزایش بیماری می‌شود (۱۱).

در میان عناصر غذایی، از گوگرد بیشتر به منظور کاهش pH خاک‌های قلیایی استفاده می‌شود. گوگرد به دلیل ظرفیت اکسیده شدن و تولید اسید سولفوریک، پتانسیل لازم برای کاهش pH خاک را حداقل در مقیاس کوچک دارا می‌باشد. بنابراین می‌تواند در منطقهٔ فرایشه در انحلال ترکیبات غذایی نامحلول و آزاد شدن عناصر ضروری مؤثر واقع شود. لذا استفاده از گوگرد عنصری به عنوان یک مادهٔ اسیدزا به منظور افزایش قابلیت جذب عناصر غذایی در خاک‌های آهکی کاربرد دارد (۴). در آزمایشی مزرعه‌ای کاربرد گوگرد (۰، ۸، ۱۶ و ۳۶ تن گوگرد در هکتار) باعث کاهش تقریباً یک واحدی pH خاک مزرعه شده است (۲). در سال‌های اخیر، با کاهش مصرف فرم‌های سولفاته کودهای ازت و فسفر و برداشت سالانه گوگرد توسط محصولات زراعی، مقدار این عنصر در خاک‌های کشور کاهش پیدا کرده است (۲ و ۱۶). علاوه بر این، اکسید شدن گوگرد در خاک یک پدیدهٔ بیوشیمیایی است و باکتری‌های تیوباسیلوس مهم‌ترین اکسیدکنندگان گوگرد در خاک می‌باشند (۱۶). حضور این نوع باکتری‌ها، موجب افزایش سرعت اکسیداسیون گوگرد در خاک می‌شود. به طور معمول در خاک‌های آهکی به علت کمبود مواد آلی، فعالیت باکتری‌های مؤثر در اکسایش گوگرد کاهش می‌یابد و زمانی مصرف گوگرد در این نوع خاک‌ها مؤثر است که همراه با کودهای آلی و یا همراه با مایه‌زنی تیوباسیلوس مصرف شود (۴ و ۹). مطالعهٔ اثرات متقابل گوگرد و باکتری‌های تیوباسیلوس نشان داده است که در مجموع با افزایش مقادیر گوگرد و تیوباسیلوس، میزان عملکرد و جذب عناصر غذایی در گندم افزایش یافته است (۳). علاوه بر توانایی این عنصر در کاهش pH خاک، گوگرد از دیرباز به عنوان یک قارچ‌کش نیز مدنظر بوده است و می‌تواند طیف وسیعی از قارچ‌های بیمارگر گیاهی را مهار کند (۲۲). این عنصر همچنین توسط میکروب‌های خاک در ساختار متابولیت‌های ضد میکروبی مثل دی‌متیل دی سولفید و دی‌متیل تری سولفید قرار می‌گیرند که اثر قارچ‌کشی قوی دارند (۱۰). گوگرد قادر است از طریق افزایش تولید برخی متابولیت‌های گیاهی از جمله سیستئین، گلوتاتیون و گلوکوزینولات‌ها باعث افزایش مقاومت میزبان شود (۱۵). در این پژوهش سعی شده است اثر روش‌های متفاوت افزودن گوگرد و حضور تیوباسیلوس اکسید کنندهٔ گوگرد به خاک و غلظت‌های مختلف این عنصر بر کاهش خسارت پاخوره غلات مورد ارزیابی قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

جدایهٔ بیمارگر

برای اجرای این پژوهش، جدایهٔ *G. tritici* G64 از کلکسیون قارچ‌های آزمایشگاه قارچ شناسی، گروه گیاه‌پزشکی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه رازی تهیه گردید. جدایهٔ بیمارگر، در لوله‌های آزمایش در پیچ‌دار حاوی محیط کشت سیب‌زمینی- دکستروز- آگار (PDA) یا روی بذرهای یولاف که با قارچ عامل بیماری کلونیزه شده بودند در دمای ۴ °C نگه‌داری شد.

نمونه‌برداری خاک و تعیین خصوصیات فیزیکوشیمیایی آن

نمونهٔ خاک سطحی از عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متری از مزرعهٔ پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه رازی جمع‌آوری شد و از الک دومیلی‌متری عبور داده شد. سپس برخی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی خاک از جمله قابلیت pH خاک و هدایت الکتریکی[1] در عصارهٔ اشباع، بافت خاک به روش هیدرومتری، کربن آلی (OC) به روش اکسیداسیون تر، کربنات کلسیم معادل به روش تیتراسیون با اسید کلریدریک، ظرفیت تبادل کاتیونی به روش استات سدیم نرمال pH۸/۲، نیترات به روش کلدال، فسفر به روش اولسن با دستگاه اسپکتروفتومتر مدل Unicode 2150 و پتاسیم قابل جذب به روش عصاره‌گیری با استات آمونیوم نرمال و خنثی و قرائت با فلیم فتومتر، کلسیم و منیزیم تبادلی و محلول با روش تیتراسیون با ورسین و غلظت عناصر کم‌مصرف (منگنز، روی، مس، آهن) به روش عصاره گیری با DTPA و قرائت با دستگاه جذب اتمی مدل AA220 Varian ارزیابی شد. لازم به ذکر است برای آزمایش گلخانه‌ای خاک

1- Electric conductivity (EC)

در دمای $121^{o}C$ به مدت ۲۰ دقیقه در دستگاه اتوکلاو سترون گردید (۱۹).

اثر تیمارهای گوگرد در مهار بیماری در شرایط گلخانه‌ای

در این آزمون از گلدان‌های پلاستیکی به قطر ۱۶ و ارتفاع ۱۳ سانتی‌متر استفاده گردید. به منظور بررسی تأثیر عنصر گوگرد بر رشد و شدت بیماری، گوگرد عنصری در چهار سطح (صفر، دو، چهار و هشت گرم بر کیلوگرم خاک) به سه روش متفاوت مورد استفاده قرار گرفت. در روش اول، بلافاصله بعد از اضافه کردن چهار سطح گوگرد و مخلوط کردن یکنواخت آن با خاک سترون، کشت بذر و تیمار با بیمارگر انجام شد. در روش دوم گلدان‌های حاوی خاک، بعد از اضافه کردن گوگرد عنصری و مخلوط کردن یکنواخت آن با خاک سترون، به مدت ۶۰ روز با تأمین رطوبت مورد نیاز برای فعالیت ریز موجودات خاک در شرایط گلخانه نگه‌داری شده و پس از طی این مدت به منظور بررسی تأثیر آن بر رشد گیاه و شدت بیماری مایه‌زنی بیمارگر و کشت بذر انجام شد. در روش سوم گوگرد عنصری در چهار سطح صفر، دو، چهار و هشت گرم بر کیلوگرم خاک به همراه کود بیوسولفور (محصول شرکت فن‌آوری زیستی مهر آسیا، حاوی باکتری تیوباسیلوس)، معادل نصف مقادیر کاربرد گوگرد به خاک سترون اضافه شده و به طور یکنواخت مخلوط گردید، سپس به منظور بررسی تأثیر آن بر رشد گیاه و شدت بیماری مایه‌زنی بیمارگر و کشت بذر انجام شد. لازم به ذکر است که برای فعالیت باکتری‌های تیوباسیلوس ۶۰ گرم بر کیلوگرم ورمی‌کمپوست سترون شده به هر گلدان خاک اضافه شد.

پس از اعمال تیمارها، به منظور جلوگیری از بروز کمبود عناصر غذایی خاک، مقادیر متعادل کنندهٔ اوره (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک نیتروژن خالص)، سوپرفسفات تریپل (۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک فسفر خالص)، سولفات آهن (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک آهن خالص)، سولفات مس (۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک مس خالص) و سولفات روی (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک روی خالص) محلول‌سازی شده و به صورت مه‌پاشی به کمک افشانهٔ دستی به خاک اضافه شدند. سپس خاک مورد استفاده در هر تیمار در گلدان‌ها توزیع شد. گلدان‌های مذکور تا ارتفاع ۹ سانتی‌متری با خاک سترون پر شده و سپس ۲۰ عدد بذر یولاف کلونیزه شده با قارچ بیمارگر در سطح خاک قرار داده شد. سپس مجدداً تا ارتفاع ۱۲ سانتی‌متری، خاک سترون اضافه شده و ۱۵ عدد بذرگندم ضدعفونی شدهٔ رقم بهار در سطح آن قرار داده شد. نهایتاً بذرهای گندم با یک سانتی‌متر خاک سترون پوشانده شدند. پس از جوانه‌زنی، ده گیاه در هر گلدان نگه داشته شد. آبیاری گلدان‌ها با استفاده از استوانهٔ مدرج و به طور یکسان صورت گرفت. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار اجرا گردید. گلدان‌های مذکور تا زمان ظهور نشانه‌های بیماری در گیاهان شاهد، در گلخانه و در نور متناوب نگه‌داری شدند. گیاهچه‌ها ۵۰ روز پس از کاشت به آرامی از گلدان ها خارج شده و پس از شستشوی ریشه‌ها، درصد آلودگی ریشه تعیین گردید. بعد از شستشوی ریشه‌ها و حذف گل‌ولای اضافی، ریشه‌های سالم و آلوده شمارش گردید و در آخر از نسبت تعداد ریشه‌های آلوده به کل ریشه های گیاه، درصد گرفته شد. تعیین وزن خشک پس از ۴۸ ساعت خشک کردن در انکوباتور با دمای ۵۰ درجه سلسیوس صورت گرفت. نتایج حاصل با استفاده از نرم افزار SAS 9.1.3 تجزیه و تحلیل گردیده و مقایسه میانگین داده‌ها بر اساس آزمون حداقل تفاوت معنی دار (LSD^{1}) در سطح پنج درصد صورت گرفت.

نتایج

خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاک مورد آزمایش

بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاک با توجه به میزان اسیدیتهٔ گل اشباع نشان داد که خاک مورد آزمایش با داشتن ۷/۲۴ pH خنثی و تا حدودی قلیایی است (جدول ۱). بافت خاک سنگین بوده و به لحاظ بالا بودن میزان بقایای گیاهی سال قبل درصد ماده آلی آن بالا بود. نتایج نشان داد که میزان کربنات کلسیم خاک ۴۳ درصد بوده و جزء خاک‌های با آهک بالا طبقه‌بندی می‌شود. میزان عناصر پتاسیم، منگنز و کلر در خاک بالاتر از حد بحرانی بود، در مقابل میزان عناصر مس و آهن پایین‌تر از حد بحرانی بود.

نتایج آزمایش گلخانه‌ای

نتایج تجزیه واریانس داده‌های حاصل از محاسبهٔ اثر گوگرد عنصری بر بیماری پاخورهٔ گندم نشان داد که بر اساس شاخص وزن خشک اندام هوایی، بین تیمارهای گوگرد و شاهد تفاوت معنی‌داری ($P\leq ۰/۰۵$) وجود دارد؛ اما بر اساس شاخص درصد آلودگی ریشه بین تیمارهای آزمایش و شاهد تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف گوگرد عنصری بدون نگه‌داری دو ماهه بر میزان آلودگی به بیماری پاخورهٔ گندم در شرایط گلخانه بر اساس شاخص درصد آلودگی ریشه و وزن خشک اندام‌های هوایی به ترتیب در شکل‌های ۱ و ۲ ارائه شده است. نتایج نشان داد که اضافه کردن گوگرد در هیچ‌کدام از غلظت‌های مورد استفاده در این پژوهش اثری روی کاهش شدت بیماری پاخوره گندم نداشت. مطابق شکل ۲، با افزودن گوگرد به میزان دو گرم بر کیلوگرم خاک، وزن خشک اندام هوایی به صورت معنی‌داری افزایش پیدا کرد. این غلظت گوگرد در تیمارهای فاقد بیمارگر و آلوده به قارچ عامل پاخوره،

1- Least Significant Difference

وزن خشک را به ترتیب ۲۰ و ۲۵ درصد افزایش داد. افزودن مقادیر بیشتر گوگرد، افزایش بیشتر وزن خشک را به دنبال نداشت. در تیمار حاوی قارچ بیمارگر، با ادامهٔ افزایش غلظت گوگرد به میزان چهار و هشت گرم بر کیلوگرم خاک، وزن خشک در روندی خطی کاهش یافت و در غلظت حداکثری هشت گرم بر کیلوگرم خاک اختلاف معنی‌داری با شاهد نشان نداد.

جدول ۱- خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاک مورد استفاده در آزمون ارزیابی نقش تغذیه گوگرد و باکتری تیوباسیلوس در مهار پاخوره گندم

Table 1- Physico–chemical properties of the soil used in evaluation the effect of sulfur nutrition and *Thiobacillus* inoculation on suppression of wheat take-all

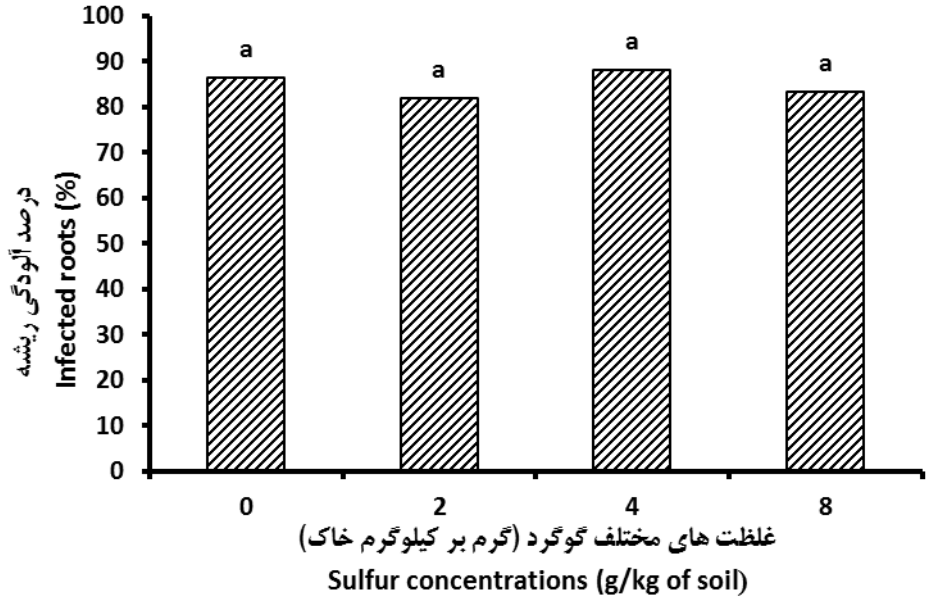
ویژگی Properties		مقدار Quantity	واحد Units
Clay	رس	34	%
Silt	لوم	44	%
Sand	شن	22	%
Equivalent Calcium Carbonate	کربنات کلسیم معادل	43	%
Saturated-Paste pH	pH گل اشباع	7.24	
Soil Organic Carbon	کربن آلی خاک	1.4	%
Electrical Conductivity (EC)	هدایت الکتریکی	2.74	dS m^{-1}
Cation Exchange Capacity (CEC)	ظرفیت تبادل کاتیونی	30.9	meq L^{-1}
Solution Chlorine	کلر محلول	139.6	meq L^{-1}
Available Potassium ($K_{ava.}$)	پتاسیم در دسترس	697.8	mg kg^{-1}
Available Phosphorus ($P_{ava.}$)	فسفر در دسترس	15.6	mg kg^{-1}
Ammonium (NH_4^+)	آمونیوم	26.88	mg kg^{-1}
Nitrate (NO_3^-)	نیترات	9.94	mg kg^{-1}
Solution Calcium	کلسیم محلول	3.35	mg kg^{-1}
Solution Magnesium	منیزیوم محلول	0.36	meq L^{-1}
Exchangeable Calcium	کلسیم تبادلی	30.46	meq L^{-1}
Exchangeable Magnesium	منیزیوم تبادلی	8.4	meq L^{-1}
Available Ferrous (Fe)	آهن در دسترس	4.28	mg kg^{-1}
Available Zinc (Zn)	روی در دسترس	1.68	mg kg^{-1}
Available Copper (Cu)	مس در دسترس	1.45	mg kg^{-1}
Available Manganese (Mn)	منگنز در دسترس	35.24	mg kg^{-1}

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر سطوح مختلف کاربرد گوگرد عنصری بر کاهش بیماری پاخوره غلات و وزن خشک اندام هوایی

Table 2- Analysis of variance of the effects of soil amendments with different rates of elemental sulfur on suppression of wheat take-all and plant shoot dry weight

Source of variation	منابع تغییرات	درجه آزادی Degree of freedom	درصد ریشه‌های آلوده Percentage of infected roots		وزن خشک اندام هوایی (خاک آلوده) Shoot dry weight (infested soil)		وزن خشک اندام هوایی (خاک غیر آلوده) Shoot dry weight (non-infested soil)	
			Mean of squares	Coefficient of variation (%)	Mean of squares	Coefficient of variation (%)	Mean of squares	Coefficient of variation (%)
			میانگین مربعات	ضریب تغییرات	میانگین مربعات	ضریب تغییرات	میانگین مربعات	ضریب تغییرات
Sulfur without incubation	گوگرد بدون نگه داری اولیه	3	32.06 ^{ns}	13.7	0.01*	10.31	0.01*	13.02
Sulfur with incubation	گوگرد با نگه‌داری اولیه	3	402 ^{ns}	24.86	0.32*	14.54	0.12*	14.61
Sulfur +*Thiobacillus*	گوگرد+تیوباسیلوس	3	728.91*	8.85	0.04*	8.24	0.17*	12.41

ns, *: Not significant and significant at 5% level of probability, respectively.

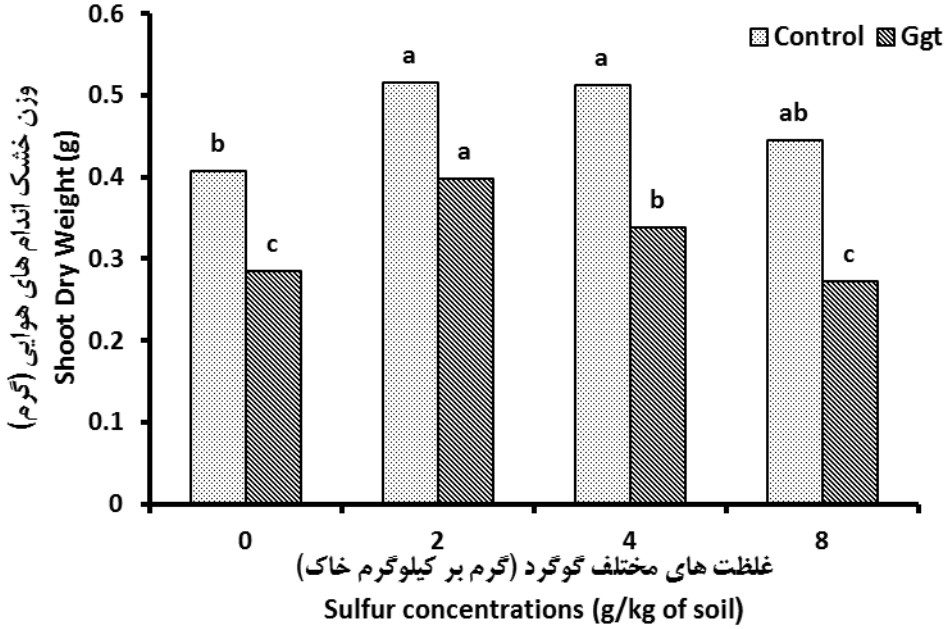


شکل ۱- اثر سطوح مختلف کاربرد عنصر گوگرد بدون انکوباسیون بر وقوع بیماری پاخورهٔ گندم

عنصر گوگرد به نسبت صفر (شاهد)، دو، چهار و هشت گرم بر کیلوگرم به خاک گلدان‌ها اضافه شد و همزمان بذر گندم در گلدان‌های مایه‌زنی شده با بیمارگر کاشته شد. حروف مشابه روی ستون‌ها به‌منزله عدم اختلاف معنی‌دار بین دو میانگین در سطح پنج درصد در نظر گرفته می‌شود.

Figure 1- The effects of soil amendments with different rates of elemental sulfur on suppression of wheat take-all

The elemental sulfur was added to the soil at zero (Control), two, four and eight g/kg and wheat seeds were sown in amended and pathogen inoculated soil. Means with the same letters are not significantly different at P≤0.05.



شکل ۲- اثر کاربرد غلظت‌های صفر (شاهد)، دو، چهار و هشت گرم بر کیلوگرم خاک عنصر گوگرد بدون انکوباسیون بر وزن خشک اندام هوایی گندم در خاک آلوده (Ggt) و غیرآلوده (Control)

حروف مشابه روی ستون‌ها به‌منزله عدم اختلاف معنی‌دار بین دو میانگین در سطح پنج درصد در نظر گرفته می‌شود.

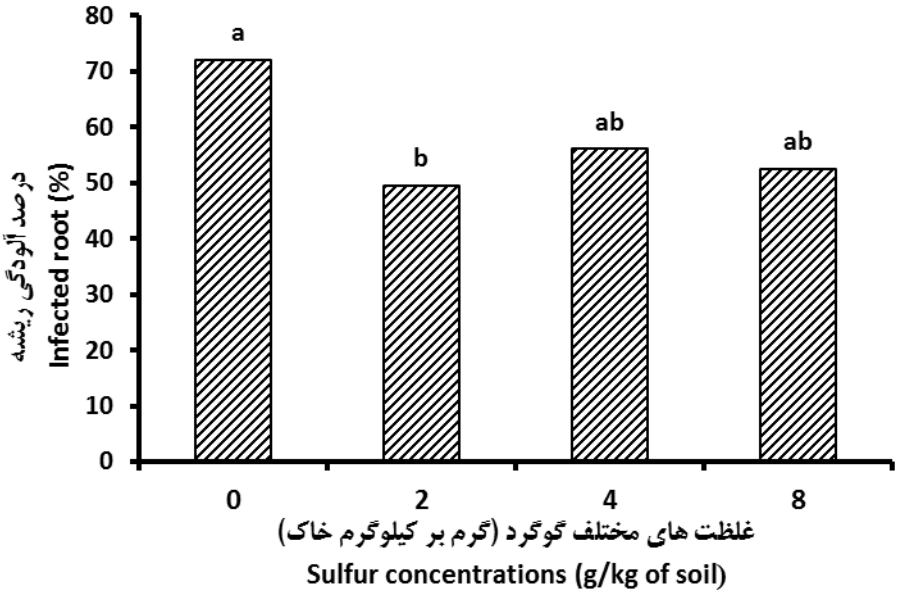
Figure 2- The effects of soil amendments with zero, two, four and eight g/kg of elemental sulfur on plant shoot dry weight in infested (Ggt) and non-infested (Control) soil

Means with the same letters are not significantly different at P≤0.05.

نتایج تجزیه واریانس داده‌های حاصل از محاسبهٔ اثر کود گوگرد عنصری پس از طی دورهٔ انکوباسیون دو ماهه بر بیماری پاخورهٔ گندم نشان داد که بر اساس شاخص درصد ریشه‌های آلوده، بین تیمارهای آزمایش و شاهد تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (جدول ۲). نتایج مقایسهٔ میانگین اثر سطوح مختلف کود گوگرد عنصری همراه با انکوباسیون دوماهه بر میزان آلودگی به بیماری پاخورهٔ گندم در شرایط گلخانه در شکل‌های ۳ و۴ ارائه شده است. مطابق شکل ۳، کاربرد کود گوگرد صرفاً در غلظت ۲ گرم در کیلوگرم خاک باعث کاهش معنی‌دار میزان بیماری شد و آن را بیش از ۲۰ ٪ کاهش داد.

ارزیابی وزن خشک اندام هوایی در تیمارهای دارای قارچ بیمارگر نشان داد که افزودن گوگرد باعث افزایش معنی‌دار این صفت در مقایسه با شاهد بدون گوگرد می‌شود ولی بین غلظت‌های دو تا هشت گرم گوگرد در کیلوگرم خاک تفاوت معنی‌داری دیده نشد. در تیمارهای فاقد بیمارگر، افزودن دو گرم گوگرد در کیلوگرم خاک باعث افزایش معنی‌دار وزن خشک گیاه شد ولی افزایش بیشتر مقدار گوگرد باعث افزایش بیشتر وزن خشک نشد (شکل ۴).

نتایج تجزیه واریانس داده‌های حاصل از محاسبهٔ اثر کود گوگرد عنصری به همراه باکتری‌های تیوباسیلوس بر بیماری پاخورهٔ گندم نشان داد که بر اساس درصد ریشه‌های آلوده و وزن خشک اندام هوایی بین تیمارهای آزمایش و شاهد تفاوت معنی‌داری در سطح ($P\leq$ ۰/۰۵) وجود دارد (جدول ۲). نتایج مقایسهٔ میانگین اثر سطوح مختلف گوگرد عنصری همراه با تیوباسیلوس بر میزان آلودگی به بیماری پاخورهٔ گندم در شرایط گلخانه در شکل ۵ ارائه شده است. نتایج حاصل بر اساس درصد آلودگی ریشه نشان داد که بیماری با افزایش سطوح کاربرد گوگرد عنصری به همراه تیوباسیلوس سیر کاهشی مداوم داشته و در بالاترین سطح گوگرد (سطح چهارم به میزان ۸ گرم بر کیلوگرم خاک) میزان کاهش بیماری به بیش از ۴۵ درصد رسید. در بررسی وزن خشک اندام‌های هوایی مشخص شد که اضافه کردن گوگرد به میزان دو ۲ گرم بر کیلوگرم خاک در حضور باکتری تیوباسیلوس اثر معنی‌داری در افزایش رشد گیاه نداشت (شکل ۶). با افزودن مقادیر بیشتر گوگرد تفاوت رشد گیاه در گلدان‌های دارا و فاقد بیمارگر نسبت به شاهد معنی‌دار شد. بیشترین افزایش رشد در تیمار با هشت ۸ گرم بر کیلوگرم خاک گوگرد و در عدم حضور بیمارگر مشاهده گردید که وزن خشک را نسبت به شاهد به میزان ۲۵ درصد افرایش داد.

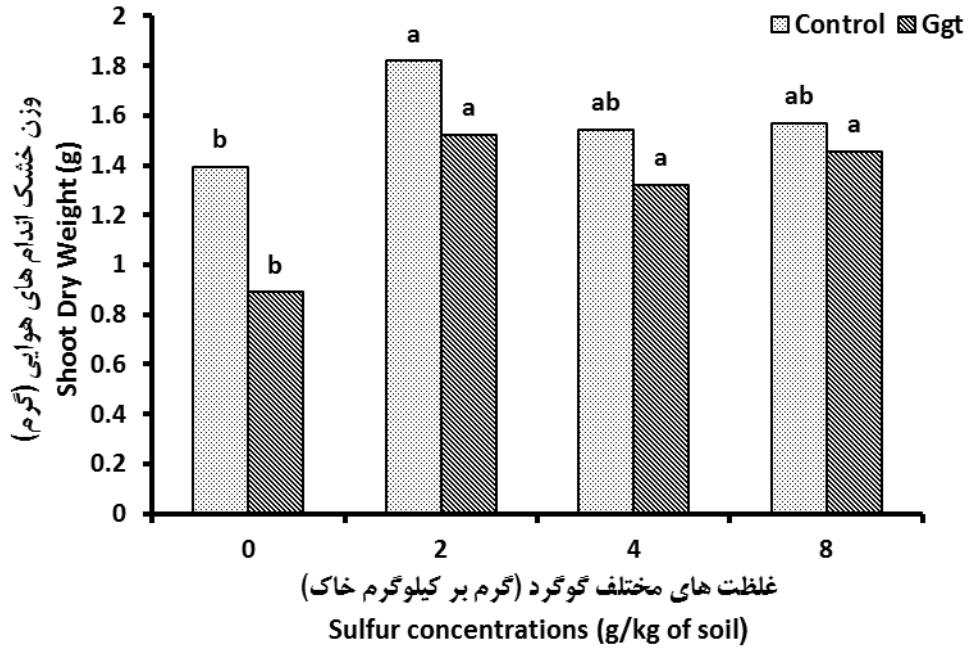


شکل ۳- اثر کاربرد غلظت‌های صفر (شاهد)، دو، چهار و هشت گرم بر کیلوگرم خاک عنصر گوگرد همراه با دو ماه انکوباسیون بر وقوع بیماری پاخوره گندم در شرایط گلخانه

حروف مشابه روی ستون‌ها به‌منزله عدم اختلاف معنی‌دار بین دو میانگین در سطح پنج درصد در نظر گرفته می‌شود.

Figure 3- The effects of soil amendments with zero (control), two, four and eight g/kg of elemental sulfur, followed by two months of incubation on suppression of wheat take-all

Means with the same letters are not significantly different at P≤0.05.

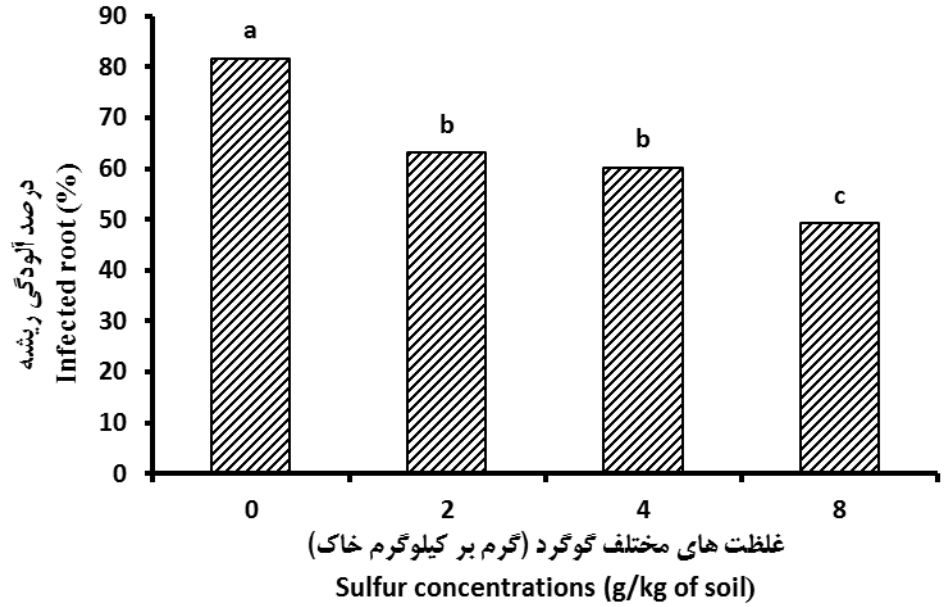


شکل ٤- اثر کاربرد غلظت‌های صفر (شاهد)، دو، چهار و هشت گرم بر کیلوگرم خاک عنصر گوگرد همراه با دو ماه انکوباسیون بر وزن خشک اندام هوایی گندم در خاک آلوده (Ggt) و غیرآلوده (Control)

حروف مشابه روی ستون‌ها به‌منزله عدم اختلاف معنی‌دار بین دو میانگین در سطح پنج درصد در نظر گرفته می‌شود.

Figure 4- The effects of soil amendments with zero, two, four and eight g/kg of elemental sulfur, followed by two months of incubation on plant shoot dry weight in infested (Ggt) and non-infested (Control) soil

Means with the same letters are not significantly different at P≤0.05.

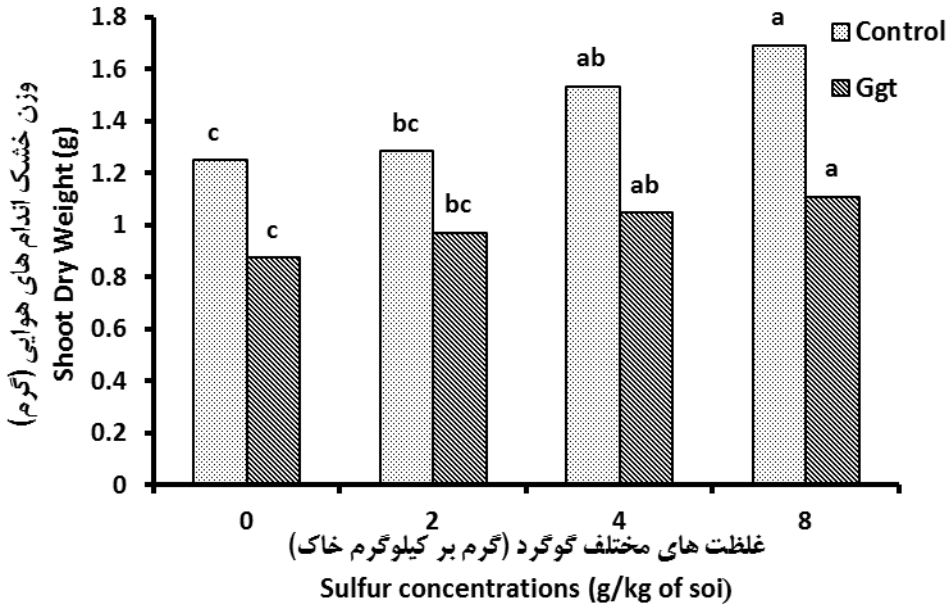


شکل ٥- اثر کاربرد غلظت‌های صفر (شاهد)، دو، چهار و هشت گرم بر کیلوگرم خاک عنصر گوگرد همراه با تیوباسیلوس بر وقوع بیماری پاخوره گندم در شرایط گلخانه

میانگین‌های با حروف مشابه در سطح پنج درصد اختلاف معنی‌دار با هم ندارند.

Figure 5- The effects of soil amendments with zero, two, four and eight g/kg of elemental sulfur, + *Thiobacillus* on suppression of wheat take-all

Means with the same letters are not significantly different at P≤0.0.



شکل ٦- اثر کاربرد غلظت‌های صفر (شاهد)، دو، چهار و هشت گرم بر کیلوگرم خاک عنصر گوگرد همراه با تیوباسیلوس بر وزن خشک اندام هوایی گندم در حضور (Ggt) یا عدم حضور بیمارگر (control)

میانگین‌های با حروف مشابه در سطح پنج درصد اختلاف معنی‌دار با هم ندارند.

Figure 6- The effects of soil amendments with zero, two, four and eight g/kg of elemental sulfur + *Thiobacillus* on on plant shoot dry weight

Means with the same letters are not significantly different at P≤0.0.

بحث

در این پژوهش، اثر کاربرد سطوح مختلف کود گوگرد عنصری به سه روش، گوگرد عنصری بدون انکوباسیون، گوگرد عنصری انکوبه شده به مدت ۶۰ روز و گوگرد عنصری به همراه باکتری‌های تیوباسیلوس در شرایط گلخانه بر وقوع بیماری پاخورهٔ گندم مورد بررسی قرار گرفت. به طور کلی در خاک‌های آهکی به دلیل وجود pH بالا و غلظت زیاد یون کلسیم، عناصر غذایی که قابلیت جذب آن‌ها وابسته به pH است (آهن، روی، مس) به صورت ترکیب‌های نامحلول و غیر قابل استفاده برای گیاهان در می‌آیند (۱۷). با توجه به مطالب مذکور کاهش pH خاک (حتی به طور موضعی) مؤثرترین راه برای مقابله با این مشکل در خاک‌های قلیایی و آهکی به نظر می‌رسد. با توجه به مطالعات انجام گرفته، در بین مواد اسیدزا، گوگرد بهترین و اقتصادی‌ترین آن‌ها می‌باشد. کاربرد گوگرد در خاک، به دلیل اکسایش آن، ضمن تأمین سولفات مورد نیاز گیاه باعث کاهش موضعی pH خاک در ناحیهٔ فریشهٔ گیاه، افزایش قابلیت جذب عناصر غذایی از جمله فسفر، آهن، روی، مس و منگنز و در نهایت بهبود وضعیت تغذیه گیاه می‌شود. سولفاته شدن گوگرد مستلزم حضور جمعیت کافی از باکتری‌های اکسید کنندهٔ گوگرد در خاک است، زیرا تنها در اثر اکسایش زیستی گوگرد است که با تولید اسید سولفوریک، سبب کاهش pH خاک شده و ضمن آزاد شدن عناصر غذایی برای گیاه، بهبود وضعیت تغذیهٔ گیاه محقق می‌شود. باکتری‌های تیوباسیلوس مهم‌ترین اکسیدکنندگان گوگرد در خاک هستند. حضور این نوع باکتری‌ها، موجب افزایش سرعت اکسیداسیون گوگرد در خاک می‌شود. به طور معمول در خاک‌های آهکی به علت کمبود مواد آلی، فعالیت باکتری‌های مؤثر در اکسایش گوگرد کاهش می‌یابد و زمانی مصرف گوگرد در این نوع خاک‌ها مؤثر است که همراه با کودهای آلی و یا همراه با مایه‌زنی تیوباسیلوس مصرف شود (۴ و ۹). گودرزی در سال ۱۳۸۹ با بررسی اثرات گوگرد و کمپوست بر افزایش قابلیت جذب عناصر توسط گندم و هم‌چنین افزایش عملکرد گندم در خاک‌های شدیداً آهکی منطقه گچساران نشان داد که مصرف گوگرد عملکرد دانهٔ گندم را به میزان ۱۹۰ کیلوگرم در هکتار و مصرف توأم گوگرد و کمپوست عملکرد دانه را به میزان ۳۳۰ کیلوگرم در هکتار نسبت به شاهد افزایش دادند. هم‌چنین مصرف گوگرد سبب افزایش غلظت عناصر غذایی شد. این در حالی بود که مصرف توأم گوگرد و کمپوست غلظت عناصر غذایی را به نحو چشمگیری افزایش داد (۸). جمعیت این باکتری‌ها در خاک‌های ایران به دلیل پایین بودن میزان مواد آلی، عدم استفاده قبلی از گوگرد و مایه‌زنی تیوباسیلوس بسیار ناچیز است (۹). به استناد نتایج به‌دست آمده از این پژوهش کود گوگرد عنصری با یا بدون انکوباسیون اثر معنی‌داری بر وقوع و شدت بیماری پاخوره نسبت به گروه شاهد نداشت. نتایج حاصل از این

آزمایش با مطالعات درنودن (۷) و ریس و همکاران (۱۴) مطابقت دارد. اما مشخص شد که گوگرد عنصری به همراه تیوباسیلوس قادر است شدت بیماری پاخوره گندم را به صورت معنی‌داری نسبت به گروه شاهد کاهش دهد. با توجه به نتایج به‌دست آمده از این پژوهش، کاربرد گوگرد عنصری در سطوح مختلف همراه با تیوباسیلوس توانسته است با کاهش pH فراریشه و بهتر نمودن وضعیت تغذیهٔ گیاه، موجب کاهش درصد آلودگی ریشه و افزایش وزن خشک اندام هوایی شود. خاک مورد مطالعه در این پژوهش دارای میزان بالای رس و آهک به ترتیب ۳۴ و ۴۳ درصد بود و به تبع آن خاصیت بافری بالایی داشت. بافری بودن خاک باعث می‌شود که pH خاک به سختی کاهش یابد. این کاهش جزیی pH می‌تواند به همان نسبت باعث افزایش حلالیت و جذب عناصر غذایی شود ولی برای نامناسب شدن شرایط رشد و بیماری‌زایی پاخوره (pH 5.5-6.5) مناسب نمی‌باشد. حال چیزی که می‌تواند باعث اثرگذاری گوگرد همراه با تیوباسیلوس شود، این است که این باکتری قادر است با کلنیزه کردن ریشه و ناحیهٔ فراریشه، جمعیت خود را در این منطقه افزایش دهد و قادر است pH این منطقه را کاهش دهد. گزارش اسمیلی و کوک (۱۸) هم نشان می‌دهد که تغییرات pH خاک خارج از ناحیهٔ فراریشه اثر چندانی روی مهار بیماری ندارد و صرفاً تغییرات pH ناحیهٔ فراریشه است که می‌تواند به شدت بر میزان پیشرفت و توسعهٔ بیماری اثر گذار باشد. بر این اساس، کاربرد هم‌زمان گوگرد و باکتری‌های تیوباسیلوس می‌تواند رهیافتی مناسب برای مهار بیماری پاخورهٔ گندم باشد.

منابع

1- Agrios G.N. 2005. Plant Pathology. Elsevier Academic Press, New York, USA.

2- Ardalan M.M., and Savaghebi G.R. 2002. Soil fertility managment for sustainable agriculture. Tehran University Press, Tehran, Iran.

3- Aria M.M., Lakzian A., Haghnia G.H., Berenji A.R., Besharati H., and Fotovat A. 2010. Effect of *Thiobacillus*, sulfur, and vermicompost on the water-soluble phosphorus of hard rock phosphate. Bioresource Technology 101(2): 551-554.

4- Besharati H., Sadat Noori S.A., Nikniaei A.B., Irannejad H., Akbari A., and Falah Nosratabadi A.R. 2010. Effect of sulfur and *Thiobacillus* inoculum on phosphorous uptake and yield of wheat in calcareous soils. Iranian Journal of Soil and Water Research 41(1): 121-129.

5- Cook R.J. 2003. Take-all of wheat. Physiological and Molecular Plant Pathology 62(2): 73-86.

6- Datnoff L.E., Elmer W.H., and Huber D.M. 2007. Mineral nutrition and plant disease. American Phytopathological Society Press, Minesota, USA.

7- Dernoeden P. 1987. Management of take-all patch of creeping bentgrass with nitrogen, sulfur, and phenyl mercury acetate. Plant Disease 71(3): 226-229.

8- Godarzi K. 2000. Enhancing effect of sulphor and compost on nutrient availability and wheat yield. Soil and Water Sciences 15(2): 154-166.

9- Gohargani J. 2015. Effect of sulfur, organic matter and *Thiobacillus* on availability of micronutrients in canola seeds in a calcareous soil. Journal of Soil Biology 3(1): 73-82.

10- Huber D.M., and Haneklaus S. 2007. Managing nutrition to control plant disease. Landbauforschung Volkenrode 57(4): 313.

11- Huber D.M., and Jones J.B. 2013. The role of magnesium in plant disease. Plant and Soil 368(1-2): 73-85.

12- Karimi F., Bahmanyar M.A., and Shahabi M. 2012. Improving the content of oil, protein and some yield components of canola in two calcareous soil, consequence the sulfur and cattle manure application. Sustainable Agriculture and Production Science 22(3): 71-85.

13- Manoza F.S., Mushongi A.A., Harvey J., Wainaina J., Wanjuki I., Ngeno R., Darnell R., Gnonlonfin B.G., and Massomo S.M. 2017. Potential of using host plant resistance, nitrogen and phosphorus fertilizers for reduction of *Aspergillus flavus* colonization and aflatoxin accumulation in maize in Tanzania. Crop Protection 93: 98-105.

14- Reis E.M., Cook R., and McNeal B. 1982. Effect of mineral nutrition on take-all of wheat caused by *Gaeumannomyces graminis* var. tritici. Phytopathology 72: 224-229.

15- Salac I., Haneklaus S., Gassner A., Bloem E., and Schnug E. 2004. Relation between spatial variability of plant physiological parameters in oilseed rape and infection with *Leptosphaeria maculans.* Phyton 44(2): 219-233.

16- Salardini A., 1995. Soil Fertility. Tehran University Press, Tehran, Iran.

17- Sameni A., and Kasraian A. 2004. Effect of agricultural sulfur on characteristics of different calcareous soils from dry regions of Iran. I. Disintegration rate of agricultural sulfur and its effects on chemical properties of the soils. Communications in Soil Science and Plant Analysis 35(9-10): 1219-1234.

18- Smiley R, and Cook R. 1973. Relationship between Take-all of wheat and rhizosphere pH. Phytopathology 63: 882-890.

19- Sparks D.L., Page A.L., Helmke P.A., Loeppert R.H., Soltanpour P.N., Tabatabai M.A., Johnston C.T., and Sumner

M.E. 1996. Methods of soil analysis. Part 3-Chemical methods. Soil Science Society of America Press, Madison, Wisconsin, USA.

20- Thomas S.L. 2004. The development and utilization of assays to characterize populations of *Gaeumannomyces graminis*, Ph.D thesis in Plant Pathology. The Ohio State University: Ohaio. p. 219.

21- Veresoglou S., Barto E., Menexes G., and Rillig M. 2013. Fertilization affects severity of disease caused by fungal plant pathogens. Plant Pathology 62(5): 961-969.

22- Walters D., and Bingham I. 2007. Influence of nutrition on disease development caused by fungal pathogens: implications for plant disease control. Annals of Applied Biology 151(3): 307-324.

23- Waltz C., Martinez A., Pearce M., and Martin B. 2003. Fungus family provides fodder for several diseases. Turfgrass Trends 3: 52-56.

24- Ward E., and Gray R. 1992. Generation of a ribosomal DNA probe by PCR and its use in identification of fungi within the *Gaeumannomyces-Phialophora* complex. Plant Pathology 41(6): 730-736.

25- Yousefvand M., Abbasi S., Cheghamirza K., and Sohbat B. 2015. Genetic diversity in population of *Gaeumannomyces graminis* var. tritici sampled from Kermanshah province. Agricultural Biotechnology 6(1): 97-105.

26- Zimerman-Lax N., Shenker M., Tamir-Ariel D., Perl-Treves R., and Burdman S. 2016. Effects of nitrogen nutrition on disease development caused by *Acidovorax citrulli* on melon foliage. European Journal of Plant Pathology 145(1): 125-137.

Journal of Plant Protection
Vol. 33, No.4, Winter 2019, P. 375-386

نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۳، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۸، ص. ۳۸۶-۳۷۵

Effect of Sulfur Nutrition and *Thiobacillus* Inoculation on Suppression of Take-all Disease Caused by *Gaeumannomyces tritici*

M. Ghadamkheir[1]- S. Abbasi[2*]- R. Sharifi[3]- A. Fatemi[4]

Received: 23-10-2017
Accepted: 13-01-2020

Introduction: Wheat take-all caused by *Gaeumannomyces tritici* fungus is one of the most destructive diseases in the world. The disease is common in alkaline to natural, non-fertile and low-drainage soils. Thereby, wheat take-all can be suppressed by reducing soil pH. In recent years, sulfate-containing fertilizers had been substituted with new sulfur-free fertilizers which decrease soil content of sulfur and sulfur-oxidizing bacteria, significantly. So, soil amendment with mineral sulfur or *Thiobacillus* spp. could be reconsidered to reduce soil pH. However, soil amendment with mineral sulfur seems to be more effective when the rhizosphere is colonized by sulfur-oxidizing bacteria. This study aimed was to investigate the effect of mineral sulfur and *Thiobacillus* sp. on take-all disease and wheat growth.

Materials and Methods: Physicochemical properties of soil were analyzed based on standard methods. Sulfur was mixed with soil in 0, 2, 4 and 8 g/kg of soil with three methods. In the first method, sulfur amended soil was inoculated with the pathogen and sown immediately. In the second method, amended soil was incubated for two months then inoculated and seeded with wheat. In the third method, sulfur amended soil was inoculated with *Thiobacillus* sp. bacteria and sown immediately. *G. tritici* inoculum was prepared on oat seeds and was placed in a layer under plant seeds. Disease severity was checked once plants seedling in control pots exhibited the disease symptoms. The experiments were carried out in a completely randomized design with four replicates. Analysis of variance was done by SAS 9.1.

Results and Discussion: Analysis of soil showed the examined soil was calcareous and moderately alkaline. It has appropriate nitrogen and zinc content but slightly Fe, Cu and P are deficient. Results exhibited that sulfur amended has no significant role on take-all disease neither with incubation nor without incubation. However, mixed treatment with sulfur and *Thiobacillus* sp. decreased disease severity in concentration depended on manner. The highest disease suppression achieved in 8 g /kg sulfur of soil which decreased disease severity up to 45%. Soil amendment with 2 g/kg sulfur of soil either incubated or not increased plant dry weight 20 and 25%, respectively. However, a further increase in sulfur concentration showed no more increase in plant growth. In a combination with sulfur and *Thiobacillus* sp., wheat aerial parts dry weight was increased paralleled with an increase in sulfur concentration and reach to 25% higher than control in 8 g /kg sulfur of soil. Calcareous soils are highly buffered and it is very difficult to change their pH. In our experiment, the Soil amendment with mineral sulfur was unable to reduce pH as much as necessary for Take-all suppression. However, sulfur had synergistic interaction with *Thiobacillus* sp.. Indeed, these bacteria can colonize the plant rhizosphere efficiently. Thereby, they can reduce the pH of the rhizosphere zone instead of whole balk soil. In this situation, *G. tritici* could not survive in an acidic condition of the rhizosphere. On the other hand, mineral sulfur improved plant growth in all concentrations. It should be considered that sulfur could be uptake by the plant as a nutrient element. However, sulfur-oxidizing bacteria will help the plant to uptake sulfur more efficiently. It should be considered that *Thiobacillus* is compatible with other biocontrol bacteria such as *Bacillus* and *Pseudomonas*. These bacteria are highly effective in Take-all disease but cannot survive well in calcareous soils. Co-inoculation of these bacteria with *Thiobacillus* sp. in the presence of sulfur seems to be a promising approach in biological control of Take-all disease.

Conclusion: Our results showed that a combination of sulfur with sulfur-oxidizing bacteria could be a promising approach in the suppression of Take-all in wheat. In recent years, integrated disease management and integrated crop management receive high attention in susceptible agriculture. In these strategies, agricultural practices such as plant nutrition are considered as multifaceted practice. This means that soil amended with specific fertilizer not only increases plant growth but it can increase or decrease specific plant disease. In the case of sulfur, this element not only decreases Take-all disease but also improves the availability of other nutrients such as Fe, Zn and Cu. Furthermore, it should be considered that soil amendment with a low amount of

1, 2 and 3- Former M.Sc. Student, Associate Professor and Assistant Professor of Plant Pathology, Department of Plant Protection, Razi University, Kermanshah, respectively.
(*- Corresponding Author Email: abbasikhs@yahoo.com)
4- Assistant Professor of Soil Chemistry, Department of Soil Science, Razi University, Kermanshah

sulfur is not effective to reduce soil pH in buffered calcareous soils and we need to add sulfur-oxidizing bacteria to improve fertilizer efficiency. This combination is effective against Take-all disease.

Keywords: Soil amendment, Sulfur, Take-all, *Thiobacillus*