# بررسی اثر سویه‌های *Rhizobium leguminosarum* بر بیماری پوسیدگی فوزاریومی ریشه لوبیا

مریم حاتم‌آبادی فراهانی[۱]، سعید رضائی[۲] و محمدرضا لک[۳]

## چکیده

بیماری پوسیدگی فوزاریومی ریشه ناشی از *Fusarium solani* f.sp. *phaseoli* از مهم‌ترین بیماری‌های لوبیا می‌باشد که با توجه به خاکزاد بودن عامل بیماری، کنترل آن مشکل است. در این مطالعه تأثیر چند سویه از باکتری *Rhizobium leguminosarum* بر بیماری پوسیدگی فوزاریومی ریشه لوبیا در شرایط گلخانه مورد بررسی قرار گرفت. به منظور آلوده کردن خاک با قارچ عامل بیماری، مایه تلقیح به صورت دانه‌های سورگوم کلنیزه شده با قارچ تهیه و به نسبت ۱ به ۱۰ با خاک سترون مخلوط شد. آزمایش با ۱۰ تیمار (تلقیح با ۵ سویه ریزوبیوم، ضدعفونی بذر با قارچ‌کش Rovral–TS ، شاهد سالم و آلوده با آب و آب قند) در ۴ تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی طی دو سال (۸۷ – ۱۳۸۶) انجام شد. نتایج نشان داد که از بین تیمارهای ریزوبیوم، سویه ریزوبیوم R-115 بیشترین تأثیر را در کاهش شدت بیماری داشته و نسبت به شاهد آلوده ۴۲٪ بیماری را کاهش داد. بین سایر سویه‌های ریزوبیوم و قارچ‌کش Rovral–TS در سطح ۵٪ اختلاف معنی-داری وجود نداشت. غلظت نیتروژن از ۰/۷۴درصد در شاهد آلوده به ۱/۵۹ درصد در تیمار ریزوبیوم R-115 رسید. افزایش غلظت نیتروژن در گیاه، باعث بهبود رشد گیاه و افزایش ارتفاع، وزن خشک ریشه و اندام هوایی شد.

---

***واژه‌های کلیدی***: لوبیا، پوسیدگی فوزاریومی، ریزوبیوم، قارچ‌کش Rovral–TS، کنترل بیولوژیک

---

**تاریخ دریافت مقاله: ۸۸/۲/۳۰ تاریخ پذیرش: ۸۸/۸/۳**

**۱- دانشجوی کارشناسی ارشد بیماری‌شناسی گیاهی، دانشگاه آزاد اسلامی تهران، واحد علوم و تحقیقات**

**۲- استادیار گروه بیماری‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی تهران، واحد علوم و تحقیقات**

**۳- عضو هیأت علمی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان مرکزی**

## مقدمه و بررسی منابع

حبوبات پس از غلات، مهم‌ترین منبع غذایی بشر و لوبیا از مهم‌ترین حبوبات جهان محسوب می‌شود. لوبیا یکی از منابع مهم پروتئین و تولید انرژی برای انسان می‌باشد (۲). بیماری پوسیدگی ریشه لوبیا ناشی از *Fusarium solani* f.sp. *phaseoli* است که در سال‌های اخیر خسارات قابل توجهی به محصول لوبیا در کشور وارد کرده است (۱). گیاهان آلوده از رشد بازمانده و کوتوله شده و رشدشان نسبت به گیاه سالم به دلیل عملکرد ضعیف ریشه در جذب آب و مواد غذایی کندتر می‌شود. نتایج تحقیقات نشان داده است که افت محصول در اثر وقوع بیماری در حدود ٦ تا ۵۳٪ است و به رقم لوبیا و دیگر عوامل تنش‌زا بستگی دارد (۵).

کنترل شیمیایی این بیماری به دلیل خاکزی بودن عامل ایجاد کننده بیماری، هزینه زیادی دربر داشته و سبب برهم خوردن تعادل میکروبی خاک می‌شود. از این رو استفاده از عوامل آنتاگونیست علاوه بر کاهش بیماری در افزایش محصول نیز مؤثر می‌باشند (٢٤). باکتری ریزوبیوم از جمله باکتری‌هایی است که با ریشه حبوبات رابطه هم‌زیستی برقرار کرده و موجب تثبیت نیتروژن می‌شود. تحقیقات نشان داده که برخی از استرین‌های ریزوبیوم هم‌زیست تثبیت کننده نیتروژن، علاوه بر تثبیت نیتروژن اتمسفر در گره‌ها و افزایش توسعه و رشد گیاه میزبان، از ریشه‌ها در برابر حمله بیمارگرهای خاکزاد محافظت می‌کنند (٤، ۱۳، ۲۳). در یک مطالعه کاک‌رابورتی و کاک‌رابورتی[1] (۱۹۸۹) نتیجه گرفتند که باکتریزاسیون بذور ۵ کولتیوار نخود با *Rhizobium leguminosarum* bv. *viceae* اثر بالایی در کاهش شدت پوسیدگی ریشه نخود با عامل *Fusarium solani* f.sp. *pisi* داشت در صورتی‌که در آزمایش‌های انجام شده روی محیط کشت هیچ اثر آنتاگونیستی بین قارچ و باکتری دیده نشد. فرزانا[2] و همکاران (۱۹۹۱) نشان دادند که تیمار بذر با *Rhizobium meliloti*، به طور مشخص در کاهش آلودگی ریشه گیاه سویا به قارچ فوزاریوم مؤثر بوده است. در تحقیقی حسن‌دار[3] و همکاران (۱۹۹۷) به این نتیجه رسیدند که تلقیح بذور لوبیا با *Rhizobium leguminosarum* و *Glomus mosseae* پوسیدگی فوزاریومی ریشه را کاهش داد، اما تلقیح هر دو باهم باعث شد که تراکم جمعیت *F. solani* و بیماری‌زایی آن به میزان بیشتری کاهش یابد (۱۱). ناتیال[1] (۱۹۹۷) گزارش کرد که *Rhizobium* spp. می‌تواند برای کنترل پاتوژن‌های خاکزاد لگوم‌ها از جمله *Fusarium* spp., *Pythium* spp. و *Rhizoctonia* spp. استفاده شود (۱۵). هم‌چنین اثر بازدارندگی ریزوبیوم بر رشد میسلیومی قارچ‌های بیمارگر گیاهی از جمله *Phoma medicaginis* و *Aphanomyces euteiches* توسط دیلیپ کومار[1] و همکاران (۲۰۰۱) و *Pythium ultimum* و *Fusarium* spp. توسط اوزکک و دلیولی[3] (۲۰۰۱) گزارش شده است (١٦).

شانموگام[4] و همکاران (۲۰۰۲) با بررسی اثر *Pseudomonas fluorecence* در ترکیب با ریزوبیوم در مدیریت پوسیدگی ریشه بادام زمینی دریافتند که گیاهان تیمار شده با سودوموناس یا ریزوبیوم به تنهایی یا در ترکیب با هم، کمترین وقوع بیماری و بیشترین رشد ریشه‌ها و اندام هوایی را داشتند (۲۰). نتایج تحقیقات سیدی‌کوای[5] و همکاران (۲۰۰۰) نشان داد که شدت بیماری‌های ناشی از *Rhizoctonia solani*، *Macrophomina phaseohina* و *F. solani* با کاربرد برخی استرین‌های ریزوبیوم در آزمایشات گلخانه‌ای که خاک به‌طور مصنوعی با پاتوژن آلوده شد، کاهش یافت. بردین[6] و همکاران (٢٠٠٤) در تحقیقی نتیجه گرفتند که سه استرین *Rhizobium leguminosarum* bv. *viceae* که به صورت تیمار بذر در مزارع چغندرقند و نخود آلوده به پیتیوم به کار برده شدند، بوته‌میری پیتیومی را در هر دو گیاه لگوم (نخود) و غیرلگوم (چغندرقند) به طور مؤثری کنترل کردند (٤).

سعید اختر و سیدی کوای[7] (۲۰۰۷) امکان بیوکنترل پوسیدگی ریشه نخودفرنگی ناشی از *Macrophomina phaseolina* را با استفاده از *Glomus fasciculatum* و *Rhizobium* sp. در شرایط گلخانه بررسی کردند و به این

1. Chakraborty and Chakraborty
2. Farzana
3. Hassan Dar

1. Nautiyal
2. Dileep Kumar
3. Ozkoc and Deliveli
4. Shanmugam
5. Siddiqui
6. Bardin
7. Sayeed Akhtar and Siddiqui

نتیجه رسیدند که تلقیح گیاه با هر یک از آن‌ها به تنهایی یا در ترکیب با هم در کاهش شدت بیماری مؤثر است.

در کشور ما استفاده از مایه تلقیح ریزوبیوم بیشتر در جهت کاهش استفاده از کودهای شیمیایی توصیه می‌گردد و در مورد اثر آن روی کاهش شدت بیماری‌های ناشی از قارچ‌های خاکزاد اطلاعات کمی وجود دارد. با توجه به تحقیقات انجام شده و توانایی باکتری ریزوبیوم در کاهش شدت بیماری‌های ناشی از قارچ‌های خاکزاد، این تحقیق با هدف بررسی اثر چند سویه ریزوبیوم روی شدت بیماری پوسیدگی فوزاریومی ریشه لوبیا در شرایط گلخانه انجام گرفت.

## مواد و روش‌ها

جهت انجام آزمایش، جدایه قارچ *Fusarium solani* f.sp. *phaseoli* از مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان مرکزی تهیه گردید. جهت اطمینان از بیماری‌زایی قارچ و تهیه کشت تازه از آن، مجدداً به گیاه تلقیح و جداسازی شد. در این آزمایش ۵ سویه باکتری ریزوبیوم که بر اساس آزمایش‌های بخش تحقیقات خاک و آب مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان مرکزی، سویه‌های مؤثر در مزارع لوبیای استان بوده و عملکرد و ماده خشک بالایی را در لوبیا ایجاد کرده بودند، انتخاب شدند (۳). سویه‌های انتخابی R–109، R–115، R–133، R–134 و R–156 بودند که به صورت مایه تلقیح از مؤسسه تحقیقات خاک و آب کشور تهیه شدند. به منظور مقایسه اثر قارچ‌کش و ریزوبیوم از قارچ‌کش Rovral–TS (ایپرودیون + کاربندازیم)، که یک قارچ‌کش سیستمیک و تماسی است به صورت ضدعفونی بذور به نسبت ۲ در هزار استفاده گردید.

مایه تلقیح قارچ به صورت دانه‌های سورگوم کلنیزه شده با قارچ عامل بیماری به روش کو[1] و همکاران (۲۰۰۱) تهیه شد (۷). برای این منظور ۱۲۵ گرم بذر سورگوم در یک ارلن ۵۰۰ سی‌سی ریخته شد و ۱۵۰ سی سی آب مقطر به آن اضافه گردید. سپس دو بار به فاصله ۲٤ ساعت و هر بار به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس اتوکلاو شدند. پس از سرد شدن، سه بلوک به قطر یک سانتی‌متر از حاشیه پرگنه جدایه قارچ عامل بیماری بر روی محیط کشت PDA، جدا کرده و در شرایط سترون به بذر سورگوم اضافه گردید. کشت‌ها در انکوباتور به مدت ۱۵ روز و در دمای ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شده و روزی یکبار تکان داده شدند تا بذرها به شکل مطلوبی با قارچ آغشته شوند. پس از این که قارچ کاملاً سطح مخلوط فوق را پوشاند، زیر هود پهن شده و خشک گردیدند. سپس سورگوم‌های آلوده به قارچ، آسیاب و با خاک سترون شده به نسبت یک به ده مخلوط شدند (۷).

بذور لوبیای چیتی محلی خمین با محلول هیپوکلریت سدیم یک درصد به مدت یک تا دو دقیقه ضدعفونی سطحی شده و سپس توسط آب مقطر استریل شستشو شدند. گلدان‌های پلاستیکی با قطر ۱۹ و ارتفاع ۱۳ سانتی‌متر با خاک تهیه شده تا ارتفاع دو سوم پر شدند. سپس روی آن ۵ عدد بذر ضدعفونی شده قرار داده و روی آن‌ها با خاک استریل پوشانده شد. قبل از کاشت بذور، به میزان ۱۲ قسمت در میلیون نیتروژن خالص از منبع اوره به عنوان شروع کننده[9] به خاک اضافه گردید.

در تیمارهای ریزوبیوم بذرها قبل از کاشت با مایه تلقیح ریزوبیوم پوشانده شدند. به این ترتیب که به ازای هر کیلوگرم بذر مصرفی، مقدار ۷ گرم مایه تلقیح و ۲۰ میلی‌لیتر محلول چسباننده (محلول شکر ۲۰ درصد در آب) استفاده شد (۲). بذور پس از ضدعفونی سطحی ابتدا با محلول چسباننده خیس شده و سپس پودر میکروبی به آن اضافه و به خوبی مخلوط گردید تا سطح تمام بذور به طور یکنواخت با پودر مذکور پوشانده شود. بذرهای آغشته به پودر میکروبی در سایه و روی یک سطح تمیز پهن و بلافاصله پس از خشک شدن کاشته شدند. آزمایش با ۱۰ تیمار، ٤ تکرار، در قالب طرح کاملاً تصادفی در شرایط یکنواخت در گلخانه مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان مرکزی در سال‌های ۱۳۸٦ و ۱۳۸۷ انجام شد. تیمارهای آزمایش عبارت بودند از : شاهد سالم (آب)، شاهد سالم (آب قند)، شاهد آلوده به *F. solani* + آب، شاهد آلوده به *F. solani* + آب قند، *F. solani* + قارچ‌کش Rovral-TS، *F. solani* + R-109، *F. solani* + R-115، *F. solani* + R-133، *F. solani* + R-134 و *F. solani* + R-156.

گلدان‌ها به گلخانه با دمای ۲۵ تا ۳۰ درجه سلسیوس منتقل شدند و یک روز در میان آبیاری گردیدند. گیاهچه‌های لوبیا ٤۵

1. Cho

1. Starter

روز پس از کاشت جهت اندازه‌گیری شدت بیماری از گلدان‌ها خارج شدند. قسمت ریشه و طوقه در زیر آب کاملاً شسته و تمیز گردید و شدت بیماری در هر بوته بر اساس سیستم تقسیم بندی اشپیگل و هال[1] (۱۹۸۲) روی هیپوکوتیل به شرح ذیل اندازه‌گیری شد:

۱ – هیپوکوتیل بدون لکه

۲ – لکه‌ها کوچک و جدا از هم، یا لکه‌ها کمتر از ۲۵ درصد ناحیه هیپوکوتیل را پوشانده است

۳ – لکه‌ها به هم پیوسته، یا لکه‌ها بین ۲۵ تا ۵۰ درصد ناحیه هیپوکوتیل را پوشانده است

٤ – لکه‌ها در ناحیه پوست عمیق، یا لکه‌ها بین ۵۰ تا ۷۵ درصد ناحیه هیپوکوتیل را پوشانده است

۵ – لکه‌ها از حالت قبلی عمیق‌تر بوده و گاهی تا نزدیکی استوانه مرکزی می‌رسد یا لکه‌ها بیش از ۷۵ درصد هیپوکوتیل را می‌پوشاند (۲۲).

قبل از خارج نمودن گیاهان از گلدان‌ها، میانگین ارتفاع ۵ بوته از هر گلدان از قسمت طوقه تا انتهای ساقه اصلی بر حسب سانتی‌متر اندازه‌گیری و ثبت گردید. قسمت هوایی و ریشه‌های هر تیمار به صورت جداگانه در دمای ۷۲ درجه سلسیوس، در آون به مدت ٤٨ ساعت قرار داده شده و سپس وزن خشک آن‌ها محاسبه گردید. نمونه‌های گیاهی خشک شده با آسیاب به صورت پودر درآمدند. اندازه‌گیری نیتروژن کل به روش تیتراسیون بعد از تقطیر یا هضم در لوله‌های مخصوص با اسید سولفوریک، اسید سالیسیلیک و آب اکسیژنه (روش کجلدال) انجام گرفت (۱۷). داده‌های آزمایش با استفاده از نرم‌افزار SAS تجزیه واریانس مرکب و میانگین‌ها بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ مقایسه شدند.

## نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس مرکب نشان داد که بین تیمارها در صفات مورد ارزیابی در سطح ۱٪ اختلاف معنی‌دار وجود داشت. اما در دو سال آزمایش اثر سال و اثر متقابل تیمار در سال معنی‌دار نبود (جدول۱).

از نظر شدت بیماری در ناحیه هیپوکوتیل بین تیمارهای ریزوبیوم و قارچ‌کش با تیمار شاهد آلوده در سطح ۵٪ اختلاف معنی‌داری وجود داشت (جدول۲). در بین سویه‌های مختلف ریزوبیوم به‌کار برده شده، سویه R-115 کمترین شدت آلودگی را در پی داشت و به میزان ٤٢٪ نسبت به شاهد آلوده بیماری را کاهش داد. سایر تیمارهای ریزوبیوم (R-133، R-109، R-156 و R-134) از نظر شدت بیماری با یکدیگر تفاوت معنی‌داری نداشتند و به ترتیب باعث کاهش بیماری به میزان ۳۵٪ ، ۳٤٪ ، ۳۱٪ و ۲۹/۷٪ نسبت به شاهد آلوده شدند. هم‌چنین بین این تیمارها با تیمار قارچ‌کش اختلاف معنی‌داری وجود نداشت و تیمار قارچ‌کش نیز باعث کاهش ۳۷٪ شدت بیماری نسبت به شاهد آلوده شد (جدول ۲). نتایج محققین دیگر نیز با این نتایج مطابقت دارد. حسن دار و همکاران (۱۹۹۷) شدت بیماری پوسیدگی فوزاریومی ریشه لوبیا را در تلقیح با *Rhizobium leguminosarum* ۳٤/۳٪ و در کنترل تیمار نشده ۷۷/٦٪ گزارش کردند (۱۱). حسین و همکاران (۲۰۰۰) مشاهده کردند که بیشترین کاهش پوسیدگی فوزاریومی ریشه و طوقه نخود به میزان ٦۹/٤۱٪ با تلقیح ریزوبیوم به میزان ۵۰ گرم در هر کیلو بذر نسبت به شاهد به‌دست آمد (۱۲). استیوز دجنسن و پرسیک[1] (۲۰۰۲) در آزمایش بررسی اثر تیمارهای شیمیایی و بیولوژیکی بذر در کنترل پوسیدگی فوزاریومی ریشه لوبیا در شرایط مزرعه بیان نمودند که شدت بیماری از ٤/۱ در تیمار شاهد به ۳/٦ در تیمار با *R. tropici* UMR1899 رسید و این تیمار با تیمار شیمیایی ترکیب کاپتان ٤۰۰ + استرپتومایسین + لورسبان تفاوت معنی‌داری نداشت (۹). خالکوزامان و حسین[2] (۲۰۰۷) در یک آزمایش گلخانه‌ای کاهش شدت بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه لوبیا ناشی از *Fusarium solani* را از ٤٨/٦۵٪ در تیمار کنترل به ۸/٤۹٪ در تلقیح با ریزوبیوم گزارش کردند.

از نظر وزن خشک ریشه، کلیه تیمارهای تلقیح شده با قارچ عامل بیماری نسبت به تیمار شاهد سالم در سطح ۵٪ تفاوت معنی‌داری نشان دادند و دارای وزن خشک ریشه کمتری بودند که این موضوع نشان‌دهنده ضعیف شدن گیاه در اثر حمله قارچ عامل بیماری می‌باشد. تیمارهای ریزوبیوم R-115 ، R-133 و R-109 به ترتیب با ۰/۵٤، ۰/۵ و ۰/٤۸ گرم دارای بیشترین وزن خشک ریشه بودند و با تیمار شاهد آلوده با وزن خشک ۰/٤ گرم، در سطح ۵٪ اختلاف معنی‌داری داشتند. اما بین این

1. Spiegel and Hall

1. Estevez de Jensen and Percich
2. Khalequzzaman and Hossain

تیمارها و تیمار قارچ‌کش تفاوت معنی‌دار وجود نداشت (جدول ۲). میزان وزن خشک اندام هوایی نیز در کلیه تیمارهای تلقیح شده با قارچ عامل بیماری، مانند وزن خشک ریشه پایین‌تر از تیمار شاهد سالم بود و در سطح ۵٪ بین آن‌ها اختلاف معنی‌دار وجود داشت. تیمار ریزوبیوم R-115 با ۲/۳ گرم، بیشترین میزان وزن خشک ریشه را بعد از تیمار شاهد سالم (۳/۸ گرم) به خود اختصاص داد و با دیگر تیمارهای ریزوبیوم و قارچ‌کش و تیمار شاهد آلوده در سطح ۵٪ تفاوت معنی‌داری نشان داد. سایر تیمارهای ریزوبیوم (R-133، R-109، R-156 و R-134) به ترتیب با وزن خشک اندام هوایی برابر با ۱/۸، ۱/۹، ۱/۷ و ۱/۸ گرم با تیمار قارچ‌کش (۱/۸ گرم) اختلاف معنی‌داری نداشتند. اما با تیمار شاهد آلوده در سطح ۵٪ تفاوت معنی‌داری مشاهده شد (جدول۲). این افزایش وزن خشک ریشه و اندام هوایی در تلقیح با ریزوبیوم توسط محققین دیگر نیز گزارش شده است، به طوری‌که خالکوزامان و حسین (۲۰۰۷) افزایش وزن خشک اندام هوایی لوبیای آلوده به *Fusarium solani* را از ٤/١ گرم در کنترل آلوده به ۷ گرم در تیمار ریزوبیوم گزارش کردند اما ریزوبیوم اثر معنی‌داری روی وزن خشک ریشه نداشت (١٤). بر اساس نتایج تحقیقات سعید اختر و سیدی کوای (۲۰۰۸) وزن خشک ریشه و اندام هوایی در نخودفرنگی آلوده به *Macrophomina phaseolina* و *Meloidogyne incognita* در تیمار تلقیحی با ریزوبیوم به ترتیب ١/٤٤ و ٤/٦٢ گرم و در تیمار کنترل آلوده ١/٠٤ و ۳/۵۲ گرم گزارش گردید.

از نظر ارتفاع گیاه نیز تیمار ریزوبیوم R-115 بالاترین ارتفاع را بعد از گیاه شاهد سالم داشت و با دیگر تیمارهای ریزوبیوم و شاهد آلوده و قارچ‌کش در سطح ۵٪ تفاوت معنی‌داری داشت و نسبت به تیمار شاهد آلوده ارتفاع گیاه را به میزان ٥٦/٦٪ افزایش داد. سایر تیمارهای ریزوبیوم با قارچ‌کش در سطح ۵٪ اختلاف معنی‌داری نداشتند اما با شاهد آلوده در سطح ۵٪ تفاوت معنی‌دار نشان دادند (جدول۲). نتایج به دست آمده با نتایج سایر محققین مطابقت دارد به طوری‌که خالکوزامان و حسین (۲۰۰۷) افزایش ۳۳ درصدی ارتفاع گیاه لوبیا را در تلقیح با ریزوبیوم در مقایسه با کنترل آلوده گزارش کردند (١٤). هم‌چنین بر اساس نتایج آزمایش سعیداختر و سیدی‌کوای (۲۰۰۸) ارتفاع گیاه نخودفرنگی در تیمار تلقیحی با ریزوبیوم ٤٨/٠٨ سانتی‌متر در مقایسه با ۳۸/۱ سانتی‌متر در کنترل تلقیح شده با *Macrophomina phaseolina* و *Meloidogyne incognita* بود (۱۹).

غلظت نیتروژن در ماده خشک گیاه، در تیمارهای تلقیح شده با سویه‌های ریزوبیوم بالاتر از تیمارهای بدون ریزوبیوم (تیمارهای شاهد سالم و آلوده و تیمار قارچ‌کش) بود و بین آن‌ها در سطح ۵٪ اختلاف معنی‌دار مشاهده شد. تیمار ریزوبیوم R-115 بالاترین درصد غلظت نیتروژن را به خود اختصاص داد (١/٦٦ ٪) و در صدر تیمارها قرار گرفت. بین این تیمار و تیمارهای ریزوبیوم R-109، R-133 و R-134 به ترتیب با غلظت نیتروژن برابر با ۱/۵۹ ، ۱/۵۸ و ۱/۵۸ درصد تفاوت معنی‌داری وجود نداشت، اما با تیمار ریزوبیوم R-156 (۱/۵۱ ٪) در سطح ۵٪ اختلاف معنی‌داری مشاهده شد (جدول۲). نتایج سایر تحقیقات نیز این نتایج را تأیید می‌کند. حسن دار و همکاران (۱۹۹۷) میزان جذب نیتروژن را در تلقیح با ریزوبیوم ٥٣/٦ میلی‌گرم در گیاه و در کنترل تلقیح شده با *Fusarium solani*، ۲۷/۸ میلی‌گرم در گیاه گزارش نمودند (۱۱). در آزمایش دیگری تلقیح با ریزوبیوم اثر معنی‌داری در افزایش میزان نیتروژن نخودفرنگی آلوده به *Macrophomina phaseolina* داشت، به طوری‌که میزان نیتروژن از ۳/۲۵ میلی‌گرم در گرم در برگ تازه گیاه در تیمار کنترل آلوده به عامل بیماری به ۳/۷ میلی‌گرم در گرم در تیمار تلقیح شده با ریزوبیوم افزایش یافت (۱۸).

مقایسه ضرایب همبستگی صفات مورد آزمون نشان داد که شدت بیماری با وزن خشک ریشه، وزن خشک اندام هوایی و ارتفاع گیاه همبستگی منفی و معنی‌دار در سطح آماری ۱٪ داشت. ارتفاع گیاه نیز با وزن خشک ریشه و اندام هوایی همبستگی مثبت و معنی‌دار در سطح آماری ۱٪ داشت که بیان‌کننده تأثیر رشد گیاه در افزایش وزن خشک اندام هوایی و ریشه بود (جدول۳).

نتایج مطالعه فوق نشان داد که در بین سویه‌های ریزوبیوم به کار رفته، سویه ریزوبیوم R-115 مؤثرترین سویه بوده و بیشترین میزان کاهش شدت بیماری را داشت و در بهبود عملکرد گیاه نیز از دیگر سویه‌ها مؤثرتر بود. تیمار بذر با سویه‌های مؤثر ریزوبیوم به اندازه تیمار با قارچ‌کش، در کاهش شدت بیماری پوسیدگی فوزاریومی ریشه لوبیا مؤثر بود و حتی تیمار ریزوبیوم R-115 بیشتر از تیمار قارچ‌کش شدت بیماری را کاهش داد. هم‌چنین تلقیح باکتری ریزوبیوم باعث افزایش

جذب نیتروژن و در نتیجه رشد بهتر گیاه با افزایش ارتفاع گیاه، وزن خشک ریشه و اندام هوایی شد (۱۱). هوآنگ و اریکسون[1] (۲۰۰۷) نیز بیان می‌کنند که تیمار بذور نخود و عدس با استرین‌های مؤثر ریزوبیوم ممکن است بهتر از کاربرد قارچ‌کش باشد. چون باکتری با تثبیت نیتروژن و کنترل بوته‌میری پیتیومی، مواد غذایی خاک را بهبود بخشیده، تولید محصول را افزایش داده و اثرات منفی زیست محیطی کاربرد مواد شیمیایی را کاهش می‌دهد.

به‌نظر می‌رسد که افزایش رشد گیاه، بهبود جذب مواد غذایی و شاید حضور عوامل بیوکنترل (هم‌چون *Rhizobium leguminosarum*) به عنوان یک مانع فیزیکی، مقاومت در گیاه را افزایش داده است به طوری‌که وقوع بیماری پوسیدگی فوزاریومی ریشه لوبیا در گیاهان تلقیح شده و تراکم جمعیت قارچ عامل بیماری در حضور این عوامل به‌طور مشخص کاهش یافت (۱۱). هم‌چنین گزارش شده است که ریزوبیوم تولید ریزوبیتوکسین می‌کند که ممکن است باعث محدودیت حمله قارچ‌های بیماری‌زا به بافت‌های گیاهی شود (٦).

## نتیجه‌گیری کلی

بر اساس نتایج این آزمایش، با استفاده از استرین‌های مؤثر باکتری ریزوبیوم می‌توان شدت بیماری پوسیدگی ریشه لوبیا ناشی از قارچ *Fusarium solani* f.sp. *phaseoli* را کاهش داد. کاربرد سویه‌های مؤثر باکتری ریزوبیوم علاوه بر کاهش شدت بیماری باعث بهبود رشد گیاه با افزایش غلظت نیتروژن، ارتفاع و ماده خشک گیاه شدند. بنابراین کاربرد این باکتری‌ها می‌تواند راه مناسبی برای کاهش مصرف سموم، کودهای شیمیایی، حفظ محیط زیست و سلامت غذایی انسان باشد. اما از آنجایی‌که در شرایط مزرعه، عوامل محیطی زنده و غیر زنده بسیاری بر عملکرد این میکروارگانیسم‌ها تأثیرگذار است، لذا نیاز به بررسی و تحقیقات بیشتر در زمینه تأثیر ریزوبیوم‌ها روی شدت بیماری در شرایط مزرعه می‌باشد. بنابراین پیشنهاد می‌گردد سویه‌های مؤثر باکتری ریزوبیوم در هر منطقه و برای محصولات لگوم مختلف تحت آزمایش و بررسی قرار گیرد. این سویه‌ها پس از شناسایی و سنجش میزان توانایی آن‌ها در کاهش شدت بیماری‌های ناشی از قارچ‌های خاکزاد تحت شرایط مناطق مختلف، به‌صورت مایه تلقیح تهیه و مصرف آن در کنار سایر روش‌های مدیریت بیماری به کشاورزان توصیه شود.

**جدول۱- تجزیه واریانس مرکب صفات اندازه‌گیری شده در لوبیا چیتی محلی خمین**

| منابع تغییرات | درجه آزادی | میانگین مربعات | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | شدت بیماری | وزن خشک ریشه (گرم) | وزن خشک اندام هوایی (گرم) | ارتفاع گیاه (سانتی‌متر) | غلظت نیتروژن (درصد) |
| سال | ۱ | ۰/٦۰۵$^{ns}$ | ۰/۰۰۰۰٦$^{ns}$ | ۰/۰۰۸۲$^{ns}$ | ۱۸/۰۵$^{ns}$ | ۰/۰۰۱۳$^{ns}$ |
| تیمار | ۹ | ۵/۵۷۲٦$^{**}$ | ۰/۰۵۲۵$^{**}$ | ۷/۲۲٤۱$^{**}$ | ۳۰۱۹/۲۵$^{**}$ | ۱/۷۳۳۵$^{**}$ |
| تیمار × سال | ۹ | ۰/۰٦۵۱$^{ns}$ | ۰/۰۰۰٤۸$^{ns}$ | ۰/۰۰۵۳$^{ns}$ | ۱۰/۸$^{ns}$ | ۰/۰۰٤۸$^{ns}$ |
| خطا | ٦۰ | ۰/۰۳٤۷ | ۰/۰۰۲۸ | ۰/۰۷٦۵ | ٦۹/٤۵ | ۰/۰۱۸ |
| ضریب تغییرات (درصد) | | ۸/۱۹٦ | ۱۰/۷۳۰۳ | ۱۳/۲۲۲٦ | ۷/۳۵۳۷ | ۱۱/۸۰٦۲ |

ns : غیر معنی دار $^{**}$ : معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد

1. Huang and Erickson

جدول ۲– مقایسه میانگین صفات اندازه‌گیری شده لوبیا چیتی در تیمارهای مختلف

| تیمارها | شدت بیماری | وزن خشک ریشه (گرم) | وزن خشک اندام هوایی (گرم) | ارتفاع گیاه (سانتی‌متر) | غلظت نیتروژن (درصد) |
|---|---|---|---|---|---|
| *F. solani* + R-109 | ۲/۳۱۹ bc | ۰/٤۸۱ bcd | ۱/۸٦۸ c | ۱۱٦/٦ c | ۱/۵۹۱ ab |
| *F. solani* + R-115 | ۲/۰۳۱ d | ۰/۵۳٦ b | ۲/۳۱۰ b | ۱۲٦/۹ b | ۱/٦٦۵ a |
| *F. solani* + R-133 | ۲/۲۸۱ bc | ۰/۵۰۲ bc | ۱/۸۳۲ c | ۱۱۵/٦ c | ۱/۵۷۸ ab |
| *F. solani* + R-134 | ۲/٤۸۱ b | ۰/٤٤٦ cde | ۱/۷٦۱ c | ۱۰۹/۲ c | ۱/۵۲٤ ab |
| *F. solani* + R-156 | ۲/٤۳۷ bc | ۰/٤٦۲ cd | ۱/٦٦۷ c | ۱۰۸/٦ c | ۱/۵۱۵ b |
| *F. solani* + Rovral TS | ۲/۲۳۷ c | ۰/٤۷۹ bcd | ۱/۸۵۵ c | ۱۱۳ c | ۰/۷۸۲ c |
| *F. solani* + آب قند | ۳/۵۳۱ a | ۰/٤۲۵ de | ۱/۰۵۱ d | ۸۱ d | ۰/۷٤ cd |
| *F. solani* + آب | ۳/٤۱۹ a | ۰/۳۹۷ e | ۱/۰۷۵d | ۸٤/۹ d | ۰/٦٤۹ cd |
| شاهد آب قند | ۱ e | ۰/٦۵۰ a | ۳/۷۷۵ a | ۱٤۱/٦ a | ۰/۷۰۱ cd |
| شاهد آب | ۱ e | ۰/٦۱۹ a | ۳/۷۲۵ a | ۱۳۵/۷ a | ۰/٦۲۱ d |

میانگین‌ها با حروف مشابه در هر ستون فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ هستند (آزمون چند دامنه دانکن).

جدول۳– ضرایب همبستگی صفات مورد آزمون

| | غلظت نیتروژن | ارتفاع گیاه | وزن خشک اندام هوایی | وزن خشک ریشه | شدت بیماری |
|---|---|---|---|---|---|
| شدت بیماری | ۰/۱۹۰۹٤ ns | -۰/۷۹۲۷٤** | -۰/۸٦۹۵۰** | -۰/٦۵۰۳۸** | ۱ |
| وزن خشک ریشه | -۰/۲۵۷۰۲ns | ۰/٦۱۹۱۱** | ۰/۸۳٦۱٤** | ۱ | |
| وزن خشک اندام هوایی | -۰/۳۰۲۰۵ns | ۰/۷٤٦۲۲** | ۱ | | |
| ارتفاع گیاه | ۰/۰۰٤۲۵ns | ۱ | | | |
| غلظت نیتروژن | ۱ | | | | |

ns : غیر معنی‌دار ** : معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد

## منابع


۱- اعتباریان، ح. ر. ۱۳۸۱. بیماری‌های سبزی و صیفی و روش‌های مبارزه با آن‌ها. انتشارات دانشگاه تهران، ٦۰۰ ص.

۲- پارسا، م. و باقری، ع. ۱۳۸۷. حبوبات. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد، ۵۲٤ ص.

۳– خودشناس، م.، دادیور، م.، اسدی، ه. و افشاری، م. ۱۳۸۵. ارزیابی استفاده از مایه تلقیح ریزوبیوم در مقایسه با مصرف کود نیتروژن در زراعت لوبیا. مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، سال دوم، ص. ۱۱۳-۱۰۵.

4. Bardin, S. D., Huang, H. C., Amundsen, E. J., and Erickson, R. S. 2004. Biological control of *Pythium* damping-off of pea and sugarbeet by *Rhizobium leguminosarum* bv. *viceae*. Canadian Journal of Botany 82: 291-296.
5. Burke, D. W., and Hall, R. 1991. Fusarium root rot. In: R. Hall (ed.): Compendium of bean diseases. The American Phytopathological Society, St. Paul, MN, pp. 9-10.
6. Chakraborty, U., and Chakraborty, B. N. 1989. Interaction of *Rhizobium leguminosarum* and *Fusarium solani* f.sp. *pisi* on pea affecting disease development and phytoalexin production. Canadian Journal of Botany 67(6): 1698-1701.
7. Cho, J. H., Rupe, J. C., Cummings, M. S., and Gbur, E. E. 2001. Isolation and identification of *Fusarium solani* f.sp. *glycines* from soil on modified Nash and Snyder' s medium. Plant Disease 85: 256-260.
8. Dileep Kumar, B. S., Berggren, I., and Martensson, A. M. 2001. Potential for improving pea production by co-inoculation with fluorescent *Pseudomonas* and *Rhizobium*. Plant and Soil 229: 25-34.
9. Estevez de Jensen, C., Percich, J. A., and Graham, P. H. 2002. Integrated management strategies of bean root rot with *Bacillus subtilis* and *Rhizobium* in Minnesota. Field Crops Research 74: 107-115.

10. Farzana, A., Gaffer, A., and Ali, F. 1991. Effect of seed treatment with fungi of soybean. Pakistan Journal of Botany 23(2): 183-188.
11. Hassan Dar, Gh., Zargar, M. Y., and Beigh, G. M. 1997. Biocontrol of *Fusarium* root rot in the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by using symbiotic *Glomus mosseae* and *Rhizobium leguminosarum*. Microbial Ecology 34: 74-80.
12. Hossain, I., Jalil, M. A., Khan, I., and Aminuzzaman, F. M. 2000. Seed treatment with *Rhizobium* and NPK nutrition on disease incidence and yield of chickpea. Bangladesh Journal of Seed Science Technology 4(1&2): 1-6.
13. Huang, H.C., and R.S. Erickson. 2007. Effect of seed treatment with *Rhizobium leguminosarum* on *Pythium* damping-off, seedling height, root nodulation, root biomass, shoot biomass and seed yield of pea and lentil. Phytopathology, 155: 31-37.
14. Khalequzzaman, K. M., and Hossain, I. 2007. Effect of seed treatment with *Rhizobium* strains and biofertilizers on foot/root rot and yield of Bushbean in *Fusarium solani* infested soil. Journal of Agricultural Research 45(2): 151-160.
15. Nautiyal, C. S. 1997. Rhizosphere competence of *Pseudomonas* sp. NBRI9926 and *Rhizobium* sp. NBRI9513 involved in the suppression of chickpea (*Cicer arietinum* L.) pathogenic fungi. FEMS Microbiol Ecology 23: 145-158.
16. Ozkoc, I., and Deliveli, M. H. 2001. In vitro inhibition of the mycelial growth of some root rot fungi by *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli* isolates. Turkey Journal of Biology 25: 435-445.
17. Parkinson, J. A., and Allen, S. E. 1975. A wet oxidation procedure for determination of nitrogen and mineral nutrients in biological material. Communication in Soil Science and Plant Analysis 6: 1-11.
18. Sayeed Akhtar, M., and Siddiqui, Z. A. 2007. Effects of *Glomus fasciculatum* and *Rhizobium* sp. on the growth and root rot disease complex of chickpea. Archives of Phytopathology and Plant Protection 40(1): 37-43.
19. Sayeed Akhtar, M., and Siddiqui, Z. A. 2008. Biocontrol of a root rot disease complex of chickpea by *Glomus intraradices*, *Rhizobium* sp. and *Pseudomonas straita*. Crop Protection 27: 410-417.
20. Shanmugam, V., Senthil, N., Raguchander, T., amanathan, A., and R. Samiyappan. 2002. Interaction of *Pseudomonas fluorescens* with Rhizobium for their effect on the management of peanut root rot. Phytoparasitica 30(2): 1-8.
21. Siddiqui, I. A., Haque, S. E., Zaki, M. J., and Ghaffar, A. 2000. Greenhouse evaluation of rhizobia as biocontrol agent of root infecting fungi in okra. Acta Agrobotanica 53: 13-22.
22. Spiegel, Y., and Hall, R. 1982. Effects of pathogen species, inoculum concentration, temperature and soil moisture on bean root rot and plant growth. Canadian Journal of Plant Pathology 4: 1-7.
23. Tilak, K. V. B. R., Ranganayaki, N., and Manoharachari, C. 2006. Synergistic effects of plant growth promoting rhizobacteria and *Rhizobium* on nodulation and nitrogen fixation by pigeonpea (*Cajanus cajan*). European Journal of Soil Science 57: 67-71.
24. Weller, D. M., Howi, W. J., and Cook, R. J. 1988. Relationship between in vitro inhibition of *Gaeumannomyces graminis* by fluorescent *pseudomonads*. Phytopathology 78: 1094 – 1100.