



دو فصلنامه علوم زراعی
سال دوم، شماره ۱ و ۲، بهار و تابستان ۱۳۸۹

بررسی تأثیرات متقابل قارچکش Rovral-TS و باکتری ریزوبیوم در کنترل بیماری پوسیدگی فوزاریومی ریشه لوبیا* Study on the interaction of Rovral-TS fungicide and Rhizobium Bacteria in controlling Fusarium Root Rot of Bean

مریم حاتم آبادی فراهانی^۱، سعید رضائی^۲، محمدرضا لک^۳

چکیده

مریم حاتم آبادی فراهانی، سعید رضائی، محمدرضا لک. ۱۳۸۹. بررسی تأثیرات متقابل قارچکش Rovral-TS و باکتری ریزوبیوم در کنترل بیماری پوسیدگی فوزاریومی ریشه لوبیا. دو فصلنامه علوم زراعی (۱ و ۲): ۶۳-۵۵.

به منظور مطالعه تأثیرات متقابل قارچکش Rovral-TS و باکتری ریزوبیوم در کنترل بیماری پوسیدگی فوزاریومی ریشه لوبیا چیتی، آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار در شرایط گلخانه طی دو سال (۸۷-۱۳۸۶) انجام شد. به منظور آلوده کردن خاک با قارچ عامل بیماری، مایه قارچ به صورت دانه‌های سورگوم کلنیزه شده با قارچ تهیه و به نسبت ۱ به ۱۰ با خاک استریل مخلوط شد. تیمارها شامل ۵ سویه باکتری ریزوبیوم، قارچکش Rovral-TS و ترکیب این دو با هم به همراه شاهد سالم و آلوده بودند. نتایج نشان داد که کلیه تیمارهای تلفیقی ریزوبیوم با قارچکش در کاهش شدت بیماری موثر بودند و با افزایش وزن خشک ریشه و اندام هوایی گیاه و افزایش غلظت نیتروژن باعث بهبود رشد گیاه شدند اما نسبت به تیمارهای ریزوبیوم تنها، اثر کمتری داشتند. تیمار ریزوبیوم Rb-115 + قارچکش Rovral-TS شدت بیماری را به میزان ۳۳/۵٪ نسبت به شاهد آلوده کاهش داد که در مقایسه با تیمار ریزوبیوم Rb-115 (۴۲٪ کاهش بیماری) اثر کمتری در کاهش بیماری داشت. همچنین سایر تیمارهای ریزوبیوم نیز در ترکیب با قارچکش نسبت به تیمار ریزوبیوم تنها، تأثیر کمتری در کاهش بیماری و افزایش رشد گیاه داشتند که این موضوع بیان کننده تأثیر منفی قارچکش روی فعالیت باکتری ریزوبیوم می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: لوبیا، ریزوبیوم، پوسیدگی فوزاریومی ریشه، قارچکش Rovral-TS

E- mail: Maryam_hatami2002@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۱۳۸۷/۱۱/۲۱

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۸/۵/۱۴

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد بیماری‌شناسی گیاهی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران (مؤلف مسئول)

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

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

* محل انجام پژوهش: مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان مرکزی

مقدمه

بیماری پوسیدگی فوزاریومی ریشه لوبیا یکی از بیماری‌های مهم لوبیا در جهان است. این بیماری اولین بار در سال ۱۹۱۶ در ایالت نیویورک آمریکا مشاهده شد (Hall, 1994). پس از آن بیماری پوسیدگی ریشه لوبیا از بیشتر نقاط لوبیا کاری جهان مثل انگلستان، استرالیا، اروپا و کشورهای آمریکای لاتین گزارش گردید. در ایران این بیماری در سال ۱۹۶۸ میلادی توسط کایزر و همکاران از روی لوبیا و لوبیا چشم بلبلی گزارش شد و سپس از استان‌های لرستان، مرکزی، چهارمحال و بختیاری، فارس، زنجان، اصفهان و آذربایجان شرقی گزارش گردید (Etebarian, 2002). قارچ عامل بیماری با نام *Fusarium solani* f.sp. *phaseoli* Burk. Snyd. & Han. باعث پوسیدگی طوقه و ریشه لوبیا شده و به دلیل عملکرد ضعیف ریشه در جذب آب و مواد غذایی، رشد گیاه کاهش یافته و در نتیجه باعث کاهش محصول تا حدود ۵۰٪ می‌گردد (Burke and Hall, 1991). یکی از راههای کنترل بیماری ضدعفونی بذور با سموم قارچکش می‌باشد اما کنترل شیمیایی بیماری‌هایی که توسط قارچ‌های خاکزی (از جمله پوسیدگی فوزاریومی ریشه) ایجاد می‌شود مشکل و گاهی بی‌تأثیر است و از سوی دیگر مستلزم هزینه‌های زیادی بوده و باعث برهم خوردن تنوع میکروبی خاک و تأثیر مخرب بر محیط زیست می‌گردد (Cook and Baker, 1983). در راستای کاهش استفاده از مواد شیمیایی و رسیدن به کشاورزی پایدار، استفاده از مایه ریزوبیوم در زراعت لوبیا جهت کاهش استفاده از کودهای شیمیایی توصیه می‌گردد. امروزه توانایی این باکتری‌ها در کنترل عوامل بیماریزای گیاهی مورد توجه قرار گرفته است (Antoun et al., 1978, Drapeau et al., 1973). مطالعات مزرع‌ای و گلخانه‌ای نشان داده است که مایه زنی با ریزوبیوم‌ها می‌تواند روش مؤثر و ارزان قیمت برای کنترل قارچ‌های خاکزاد در سیستم‌های کشت باشد. Hossain et al (2000) مشاهده کردند که بیشترین کاهش پوسیدگی فوزاریومی ریشه و طوقه نخود به میزان ۶۹/۴۱٪ با مایه زنی با ریزوبیوم به میزان ۵۰ گرم در هر کیلو بذر (که باشیره قند مرطوب شده) نسبت به کنترل تیمار نشده بدست آمد.

ریزوبیوم به سموم دفع آفات نباتی، آنتی بیوتیک‌ها و سایر مواد شیمیایی کشاورزی حساس است (Astarae and Koocheki, 1996). در هنگام استفاده از قارچکش‌ها و علفکش‌ها در برخی موارد ریزوبیوم‌ها زنده می‌مانند. اما قادر به تشکیل گره روی گیاه میزبان نیستند و یا توانایی آنها برای تثبیت نیتروژن کاهش می‌یابد (Fisher, 1976, Staphorst and Strijdom, 1976). بر اساس گزارش Graham et al (1980) کمتر از ۱۰ درصد استرین‌های *Rhizobium phaseoli* روی بذور لوبیای تیمار شده با تیرام زنده ماندند. Adeleye et al (2004) طی آزمایشی نشان دادند که علفکش 2,4D نسبت به علفکش‌های Agroxone و Atranex سمیت بیشتری روی ریزوبیوم داشت و درصد بقاء آن را کاهش داد. از آنجایی که در ایران توانایی تثبیت نیتروژن توسط باکتری *R. leguminosarum* bv. *phaseoli* و تأثیر حضور این باکتری در افزایش محصول گیاه لوبیا آزمایش و اثبات شده است (Ghasemi Pirbalout et al (2006)، استفاده از مایه ریزوبیوم، به دلیل افزایش راندمان مصرف نیتروژن در گیاهان مایه‌زنی شده و نیز افزایش توان مقابله گیاه در مقابل هجوم قارچ‌های خاکزاد و نداشتن اثر سوء محیطی به لحاظ آلودگی خاک و آب‌های زیر زمینی، توصیه شده است و استفاده از کود میکروبی را گامی در جهت کاهش هزینه‌ها و کمک به کشاورزی پایدار بیان می‌کنند (Khodshenas et al. 2003). با توجه به اینکه استفاده از سموم قارچکش جهت ضدعفونی بذور لوبیا برای مقابله با بیماری پوسیدگی فوزاریومی ریشه در بین زارعین متداول است و از سوی دیگر استفاده از مایه ریزوبیوم در زراعت لوبیا، جهت کاهش مصرف کودهای شیمیایی توصیه می‌گردد، هدف از این تحقیق بررسی اثر متقابل قارچکش Rovral-TS و چند سویه باکتری ریزوبیوم روی بیماری پوسیدگی فوزاریومی ریشه لوبیا می‌باشد.

مواد و روشها

جهت انجام آزمایش جدایه قارچ *Fusarium solani* f.sp. *phaseoli* از کلکسیون مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان مرکزی تهیه گردید. جهت اطمینان از بیماریزایی قارچ و تهیه کشت تازه از آن مجدداً به گیاه مایه زنی و جدا سازی شد. در این آزمایش ۵ سویه باکتری *Rhizobium leguminosarum* که بر اساس آزمایشات بخش تحقیقات خاک و آب مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان مرکزی سویه‌های مؤثر بوده و عملکرد و ماده خشک بالایی را در مزارع لوبیای استان ایجاد کرده بودند، انتخاب شدند (Khodshenas et al. 2006). سویه‌های انتخابی Rb-109، Rb-115، Rb-133، Rb-134 و Rb-156 بودند که به صورت پودر مایه باکتری از مؤسسه تحقیقات خاک و آب کشور تهیه شدند. به منظور بررسی اثر قارچکش روی بقاء و عملکرد ریزوبیوم از قارچکش Rovral-TS (ایپرودیون + کاربندازیم) که یک قارچکش سیستمیک و تماسی است به صورت ضد عفونی بذور به نسبت ۲ در هزار استفاده گردید.

مایه قارچ به صورت دانه‌های سورگوم کلنیزه شده با قارچ عامل بیماری به روش (Cho et al. 2001) تهیه شد. ۱۲۵ گرم بذر سورگوم در یک ارلن ۵۰۰ میلی لیتری ریخته و ۱۵۰ میلی لیتر آب مقطر به آن اضافه شد. سپس دو بار به فاصله ۲۴ ساعت و هر بار به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتیگراد 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 استریل به بذر سورگوم استریل شده اضافه شد. کشت ها در انکوباتور به مدت ۱۵ روز و در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد نگهداری و روزی یک بار تکان داده شدند تا بذرها خوب آلوده شوند. پس از این که قارچ کاملاً سطح مخلوط فوق را پوشاند آن را در زیر هود پهن کرده تا خشک شود. پس از خشک شدن، سورگوم‌های آلوده به قارچ آسیاب و با خاک استریل شده به نسبت یک به ده مخلوط شدند (Cho et al. 2001).

بذور لوبیای چیتی محلی خمین، با محلول هیپوکلریت سدیم ۱۰ درصد به مدت ۲-۱ دقیقه ضد عفونی سطحی شده و سپس توسط آب مقطر استریل شستشو شدند. گلدان‌های پلاستیکی با قطر ۱۹ و ارتفاع ۱۳ سانتیمتر با خاک مخلوط با مایه قارچ تا ارتفاع دو سوم پر شدند. سپس روی آن ۵ عدد بذر ضد عفونی شده قرار داده و روی آنها با خاک استریل پوشانده شد. قبل از کاشت بذور، به میزان ۱۲ ppm نیتروژن خالص از منبع اوره به عنوان شروع کننده^۱ به خاک اضافه گردید. در تیمارهایی که ریزوبیوم باید به کار برده می‌شد قبل از کاشت، بذرها با مایه باکتری ریزوبیوم پوشانده شدند. به این ترتیب که به ازاء هر کیلوگرم بذر مصرفی مقدار ۷ گرم مایه باکتری و ۲۰ میلی لیتر محلول چسباننده (محلول شکر ۲۰ درصد در آب) استفاده شد (Parsa and Bagheri, 2008). بذور پس از ضد عفونی سطحی، ابتدا با محلول چسباننده خیس شدند سپس پودر مایه باکتری به آن اضافه و خوب مخلوط شد تا سطح تمام بذور به طور یکنواخت با پودر مذکور پوشانده شد. در تیمارهای توأم بذور با قارچکش و ریزوبیوم بذور خیس شده با محلول چسباننده در مخلوط پودر مایه باکتری و قارچکش غلظانده شدند. بذرهاى آغشته به پودر مایه باکتری در سایه و روی یک سطح تمیز پهن و بلافاصله پس از خشک شدن کاشته شدند.

آزمایش با ۱۵ تیمار در ۴ تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی، در شرایط یکنواخت در گلخانه مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان مرکزی در سالهای ۱۳۸۶ و ۱۳۸۷ انجام شد. تیمارهای آزمایش عبارت بودند از

تیمار ۱ تا ۵: مایه زنی بذور با ۵ سویه ریزوبیوم (Rb-109، Rb-115، Rb-133، Rb-134، Rb-156) + *F. solani*

تیمار ۶ تا ۱۰ : مایه زنی بذور با ۵ سویه ریزوبیوم (Rb-109، Rb-115، Rb-133، Rb-134، Rb-،
F. solani + Rovral-TS + (156)

تیمار ۱۱ : *F. solani* + Rovral-TS

تیمار ۱۲ : *F. solani* + خیس کردن بذور با آب قند

تیمار ۱۳ : *F. solani* + خیس کردن بذور با آب

تیمار ۱۴ : شاهد سالم (آب قند)

تیمار ۱۵ : شاهد سالم (آب)

گلدان‌ها به گلخانه با دمای ۳۰ - ۲۵ درجه سانتیگراد منتقل شدند و یک روز در میان آبیاری گردیدند. گیاهچه‌های لوبیا ۴۵ روز پس از کاشت جهت اندازه‌گیری شدت بیماری از گلدان‌ها خارج شدند (Estevez de Jensen, 2000). قسمت ریشه و طوقه در زیر آب کاملاً شسته و تمیز شدند و شدت بیماری در هر بوته بر اساس سیستم تقسیم بندی به روش Spiegel and Hall, (1982) روی هیپوکوتیل به شرح ذیل نمره دهی 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

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

۵ - لکه‌ها از حالت قبلی عمیق تر بوده و گاهی تا نزدیکی استوانه مرکزی می‌رسد یا لکه‌ها بیش از ۷۵ درصد هیپوکوتیل را می‌پوشاند.

پس از جدا کردن قسمت هوایی و ریشه‌های هر تیمار بصورت جداگانه میانگین وزن خشک ریشه و اندام هوایی ۵ بوته از هر گلدان اندازه‌گیری گردید. اندام‌های هوایی خشک شده گیاه 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 (Parkinson and Allen, 1975). داده‌های آزمایش با استفاده از نرم افزار SAS تجزیه واریانس 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 (جدول ۱). از نظر شدت بیماری بین تیمار قارچ + ریزوبیوم Rb-115 + قارچکش و قارچ + ریزوبیوم Rb-115 در سطح ۵٪ اختلاف معنی‌داری وجود داشت. تیمار قارچ + ریزوبیوم Rb-115 + قارچکش به میزان ۳۳/۵٪ بیماری را نسبت به شاهد آلوده کاهش داد در صورتی که کاهش شدت بیماری برای تیمار قارچ + ریزوبیوم Rb-115 به میزان ۴۲/۵٪ بود (جدول ۳). همچنین هر یک از تیمارهای قارچ + ریزوبیوم Rb-109 و Rb-156 با تیمار مشابه + قارچکش در سطح ۵٪ تفاوت معنی‌داری نشان دادند و به ترتیب به میزان ۱۰٪ و ۱۱/۵٪ بیماری را بیشتر کاهش دادند. کمترین شدت بیماری در تیمار قارچ + ریزوبیوم Rb-115 مشاهده شد و از این نظر در صدر تیمارها قرار گرفت و با تیمار قارچ + قارچکش اختلاف معنی‌دار نداشت. بقیه تیمارهای قارچ + ریزوبیوم تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند (جدول ۲). شدت بیماری در تیمارهای قارچ + قارچکش

Rovral-TS، قارچ + ریزوبیوم Rb-۱۳۳، Rb-۱۰۹، Rb-۱۵۶ و Rb-۱۳۴ به ترتیب ۳۶/۶٪، ۳۵/۴٪، ۳۴/۳٪، ۳۰/۹٪ و ۲۹/۷٪ نسبت به شاهد آلوده کاهش نشان داد (جدول ۳).

از نظر وزن خشک ریشه کلیه تیمارهای قارچ + ریزوبیوم و تیمار قارچ + قارچکش Rovral-TS با تیمار شاهد آلوده (با آب) در سطح ۵٪ اختلاف معنی‌داری نشان دادند و وزن خشک بیشتری داشتند. بین تیمارهای تلفیقی ریزوبیوم و قارچکش اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. بیشترین وزن خشک ریشه را تیمار قارچ + ریزوبیوم Rb-۱۱۵ با ۵۳۶/۰ گرم به خود اختصاص داد که با تیمار قارچ + ریزوبیوم Rb-۱۱۵ + قارچکش (۴۴/۰ گرم) در سطح ۵٪ اختلاف معنی‌دار داشت اما با تیمار قارچ + قارچکش تفاوت معنی‌داری نشان نداد. بین تیمار قارچ + ریزوبیوم Rb-۱۳۳ + قارچکش با تیمار قارچ + Rb-۱۳۳، اختلاف معنی‌دار وجود داشت و وزن خشک ریشه در آنها به ترتیب ۴۵۴/۰ و ۵۰۲/۰ گرم بود. سایر تیمارهای قارچ + ریزوبیوم + قارچکش با تیمارهای قارچ + ریزوبیوم، اختلاف معنی‌داری نشان ندادند (جدول ۲). همچنین از نظر وزن خشک اندام هوایی نیز بین کلیه تیمارهای قارچ + ریزوبیوم (با قارچکش و بدون قارچکش) و تیمار قارچ + قارچکش Rovral-TS با تیمار شاهد آلوده (با آب و آب قند) در سطح ۵٪ اختلاف معنی‌داری وجود داشت. تیمار قارچ + ریزوبیوم Rb-۱۱۵ با ۳۱/۲ گرم بیشترین وزن خشک اندام هوایی را به خود اختصاص داد و نسبت به تیمار قارچ + ریزوبیوم Rb-۱۱۵ + قارچکش با وزن خشکی برابر با ۶۷/۱ گرم در سطح ۵٪ تفاوت معنی‌داری نشان داد. اما بین تیمار قارچ + ریزوبیوم Rb-۱۱۵ + قارچکش با قارچ + قارچکش (۸۵/۱ گرم) اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. سایر تیمارهای قارچ + ریزوبیوم + قارچکش با تیمارهای قارچ + ریزوبیوم، اختلاف معنی‌داری نشان ندادند (جدول ۲).

از نظر غلظت نیتروژن در گیاه بین تیمارهای دارای ریزوبیوم و تیمارهای فاقد ریزوبیوم (تیمارهای شاهد سالم و آلوده و تیمار قارچکش) در سطح ۵٪ تفاوت معنی‌دار وجود داشت. تیمار قارچ + ریزوبیوم Rb-۱۱۵ با ۶۶/۱ درصد بیشترین درصد غلظت نیتروژن را داشت اما تیمار قارچ + ریزوبیوم Rb-۱۱۵ + قارچکش (۴۴/۱٪) درصد غلظت نیتروژن پایین‌تری را نشان داد و بین این دو تیمار در سطح ۵٪ تفاوت معنی‌داری وجود داشت. تیمار قارچ + Rb-۱۰۹ با غلظت نیتروژنی برابر با ۵۹/۱٪ رتبه دوم را به خود اختصاص داد و با تیمار قارچ + Rb-۱۰۹ + قارچکش با ۴۴/۱٪ اختلاف معنی‌دار نداشت. در حالیکه بین سایر تیمارهای قارچ + ریزوبیوم + قارچکش و تیمارهای قارچ + ریزوبیوم تفاوت معنی‌دار وجود نداشت (جدول ۲).

کلیه تیمارهای قارچ + ریزوبیوم + قارچکش نسبت به تیمارهای قارچ + ریزوبیوم، دارای میانگین وزن خشک و غلظت نیتروژن پایین‌تر و شدت بیماری بیشتری بودند (جدول ۲). این نتایج بیانگر تأثیر منفی قارچکش بر روی عملکرد ریزوبیوم می‌باشد. بسیاری از محققین نیز از اثر سوء قارچکش‌ها بر فعالیت باکتری‌های همزیست ریشه یاد کرده‌اند. کاربرد قارچکش Apron روی بذور سویا قابلیت دوام (زیست‌پذیری) گزارش Rennie and Dubetz, (1984) کاربرد قارچکش‌هایی مثل Thiram، Evershield و- plus *Bradyrhizobium japonicum* را به میزان ۶۱ درصد کاهش داد (Rivellin et al., 1993). بر اساس Metalaxyl غده بندی را در کشت لوبیا کاهش داد. Estevez de Jensen and Percich, (2002) تأثیر باکتری *R. tropici* UMR ۱۸۹۹ به عنوان عامل کنترل بیولوژیک را با دو تیمار کنترل شیمیایی آپرون ماکس و کاپتان ۴۰۰ + استرپتومایسین + لورسبان به تنهایی و در ترکیب با باکتری *R. tropici* UMR 1899 روی شدت پوسیدگی ریشه لوبیا ناشی از *Fusarium solani* در آزمایشی مزرعه‌ای مورد مقایسه قرار دادند. نتایج بررسی نشان داد که شدت بیماری در نتیجه تأثیر عوامل نامبرده شده کاهش یافت ولی ترکیب باکتری و تیمارهای شیمیایی، بقاء ریزوبیوم را با کاهش وزن گره‌ها کاهش داد. در آزمایشی دیگر غلظت‌های مختلف

قارچکش تیرام در ضدعفونی بذر سویا به همراه مایه زنی با ریزوبیوم بررسی شد و مشخص گردید که غلظت بیش از $500 \mu\text{g/ml}$ تیرام برای ریزوبیوم خیلی سمی است و فاکتورهای رشد گیاه و گره زایی و تثبیت نیتروژن ریزوبیوم را کاهش داد (Bikrol et al., 2005).

استفاده از مایه باکتری ریزوبیوم باعث کاهش شدت بیماری در کلیه تیمارهای حاوی ریزوبیوم شد. نتایج تحقیقات سایر محققین نیز این موضوع را تأیید می کند. بر اساس نتایج تحقیقات Huang and Erickson (2007) روی چهار استرین *R. leguminosarum* bv. *viceae* و قارچکش تیرام در کاهش بوته میری پیتیومی نخود در شرایط مزرعه مشخص شد که ریزوبیوم استرین R21 بوته میری را در نخود به میزان ۳۸٪ نسبت به گیاه شاهد تیمار نشده کاهش داد و از این نظر بین تیمار ریزوبیوم استرین R21 و تیمار قارچکش تیرام تفاوت معنی داری وجود نداشت. بنابراین نتیجه گرفتند که باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن علاوه بر بهبود حاصلخیزی خاک و افزایش تولید محصول، بوته میری را نیز کاهش داده و اثرات منفی زیست محیطی مرتبط با کاربرد مواد شیمیایی را کاهش می دهند. همچنین نتایج مطالعات Bardin et al. (2004) نشان داد که تیمار بذر چغندر قند با استرین های مؤثر ریزوبیوم در کاهش بوته میری پیتیومی در شرایط مزرعه مؤثر بود. آنها بیان نمودند که باکتری ریزوبیوم علاوه بر اینکه به عنوان کود بیولوژیک به کار می رود پتانسیل کنترل بیماری بوته میری پیتیومی را در مزارع چغندر قند دارد. Haque and Ghaffar (1993) عقیده دارند که باکتری‌های مولد گره ریشه که نیتروژن اتمسفر را تثبیت می کنند تولید متابولیت‌های سمی می کنند که باز دارنده بسیاری از بیمارگرهای گیاهی است اما بر اساس گزارش Liu et al. (1995) ریزوبیوم ها پاسخ های دفاعی مختلفی را از مرگ سلول در پاسخ فوق حساسیت سلول های آلوده گرفته تا تجمع آنزیم های مسئول واکنش های دفاعی به خصوص پراکسیداز و PAL را فعال می کنند.

بر اساس نتایج بدست آمده از این تحقیق می توان نتیجه گرفت که باکتری ریزوبیوم علاوه بر اینکه مصرف آن به عنوان کود بیولوژیک توصیه می شود می تواند در کاهش شدت بیماری پوسیدگی ریشه لوبیا نیز تأثیر داشته باشد و از این نظر با کاربرد قارچکش به صورت ضدعفونی بذور تفاوتی ندارد اما کاربرد توأم قارچکش Rovral-TS و باکتری باعث کاهش عملکرد ریزوبیوم شده و قارچکش تأثیر منفی روی عملکرد ریزوبیوم دارد. از آنجایی که در مورد مکانیسم تأثیر باکتری ریزوبیوم در کاهش شدت بیماری‌های ناشی از قارچ‌های خاکزاد بررسی صورت نگرفته است لذا نیاز به تحقیقات بیشتری در این زمینه می باشد.

جدول ۱ - تجزیه واریانس مرکب صفات اندازه گیری شده در لوبیا چیتی محلی خمین

منابع تغییرات S. O. V.	درجه آزادی df	شدت بیماری Disease severity	میانگین مربعات MS		
			وزن خشک اندام وزن خشک ریشه (گرم) Root dry weight (g)	وزن خشک اندام هوایی (گرم) Aerial plant dry weight (g)	غلظت نیتروژن (درصد) Nitrogen concentration (%)
سال (Y) Year	1	0.014 ^{ns}	0.00085 ^{ns}	0.0806 ^{ns}	0.0032 ^{ns}
تیمار (T) Treat	14	3.753 ^{**}	0.0382 ^{**}	4.968 ^{**}	1.323 ^{**}
تیمار × سال Y × T	14	0.064 ^{ns}	0.00057 ^{ns}	0.01009 ^{ns}	0.0036 ^{ns}
خطا Error	90	0.044	0.0031	0.0671	0.0225
CV% ضریب تغییرات		8.902	11.559	13.236	12.068

ns: Not significant

ns: فاقد اختلاف معنی دار.

** : Significant at 1% level.

** : اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد.

جدول ۲ - مقایسه میانگین صفات اندازه گیری شده در لوبیا چیتی محلی خمین

تیمارها Treatments	شدت بیماری Disease severity	وزن خشک ریشه (گرم) Root dry weight (g)	وزن خشک اندام هوایی (گرم) Aerial plant dry weight (g)	غلظت نیتروژن (درصد) Nitrogen concentration (%)
<i>F. solani</i> + Rb. 109	2.319 de	0.481 bcd	1.87 c	1.59 ab
<i>F. solani</i> + Rb. 115	2.031 f	0.536 b	2.31 b	1.66 a
<i>F. solani</i> + Rb. 133	2.281 de	0.502 bc	1.83 c	1.58 ab
<i>F. solani</i> + Rb. 134	2.481 cd	0.467 cd	1.76 c	1.52 abc
<i>F. solani</i> + Rb. 156	2.437 cde	0.462 cd	1.67 c	1.56 abc
<i>F. solani</i> + Rovral-Ts+ Rb. 109	2.569 bc	0.445 cde	1.78 c	1.44 bc
<i>F. solani</i> + Rovral-Ts+ Rb. 115	2.35 cde	0.440 cde	1.67 c	1.44 bc
<i>F. solani</i> + Rovral-Ts+ Rb. 133	2.45 cde	0.454 cde	1.58 c	1.40 c
<i>F. solani</i> + Rovral-Ts+ Rb. 134	2.486 cd	0.446 cde	1.76 c	1.46 bc
<i>F. solani</i> + Rovral-Ts+ Rb. 156	2.756 b	0.457 cde	1.66 c	1.51 abc
<i>F. solani</i> + Rovral-Ts	2.237 ef	0.479 bcd	1.85 c	0.78 d
Suger water + <i>F. solani</i>	3.531 a	0.425 ed	1.05 d	0.74 d
Water + <i>F. solani</i>	3.419 a	0.397 e	1.07 d	0.65 d
Suger water control	1 g	0.650 a	3.77 a	0.70 d
Water control	1 g	0.619 a	3.72 a	0.62 d

میانگین‌ها با حروف مشابه در هر ستون فاقد اختلاف معنی دار در سطح ۵٪ بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن هستند.

جدول ۳ - کاهش شدت بیماری پوسیدگی فوزاریومی ریشه لوبیا در تیمارهای آزمایشی نسبت به شاهد آلوده

تیمارها treatments	کاهش شدت بیماری نسبت به شاهد آلوده (%) Reduction of disease severity toward infected control (%)
<i>F. solani</i> + Rb. 109	34.3
<i>F. solani</i> + Rb. 115	42.5
<i>F. solani</i> + Rb. 133	35.4
<i>F. solani</i> + Rb. 134	29.7
<i>F. solani</i> + Rb. 156	30.9
<i>F. solani</i> + Rovral-Ts+ Rb. 109	27.2
<i>F. solani</i> + Rovral-Ts+ Rb. 115	33.5
<i>F. solani</i> + Rovral-Ts+ Rb. 133	30.6
<i>F. solani</i> + Rovral-Ts+ Rb. 134	29.6
<i>F. solani</i> + Rovral-Ts+ Rb. 156	21.9
<i>F. solani</i> + Rovral-Ts	36.6

منابع و مأخذ:

- Adeleye, I.A., Okorodudu, E. and Lawal, O. 2004. Effect of some herbicides used in Nigeria on *Rhizobium phaseoli*, *Azotobacter vinelandii* and *Bacillus subtilis*. Journal of Environment Biology, 25(2): 151-156.
- Antoun, H., Bordeleau, L.M., and Gagnon, C. 1978. Antagonisme entre *Rhizobium meliloti* et *Fusarium oxysporum* en relation avec l'efficacite symbiotique. Canadian Journal of Plant Science, 58:75-78.
- Astaraee, A., and Koocheki, A. 1996. Biofertilizers in sustainable agriculture (translated). Jahad Daneshgahi Press Mashhad, Iran, 168p.(In Farsi)
- 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.
- Bikrol, A., Saxena, N., and Singh, K. 2005. Response of *Glycine max* in relation to nitrogen fixation as influenced by fungicide seed treatment. African Journal of Biotechnology, 4(7): 667-671.
- Burke, D.W. and Hall, R. 1991. Fusarium root rot. Pages 9-10 in: Compendium of Bean Diseases. R. Hall, ed. The American Phytopathological Society, St. Paul, MN, USA.
- 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.
- Cook, R.J., and Baker, K.F. 1983. The Nature and Practice of Biological Control of Plant Pathogens. American Phytopathological Society, St.Paul, M.N.,USA, 539pp.
- Drapeau, R., Fortin, J.A, and Gagnon, C. 1973. Antifungal activity of Rhizobium. Canadian Journal of Botany, 51(3): 681-682.
- Estevez de Jensen, C. 2000. Etiology and control of dry bean root rot in Minnesota.Ph.D. thesis, university of Minnesota, St. Paul, USA, 192pp.
- Estevez de Jensen, C., and Percich, J.A. 2002. Chemical and biological seed treatments for Fusarium root rot control. University of Minnesota, St. Paul, USA. B&C Tests, Vol 18:V030.
- Etebarian, H.R. 2002. Vegetable diseases and their control. Tehran university publications, 554p.(In Farsi)
- Fisher, D.J. 1976. Effect of some fungicides on *Rhizobium trifolii* and its symbiotic

- relationships with white clover. *Pest. Science*, 7: 10-18.
- Ghasemi Pirbalout, A., Allahdadi, I., and Akbari, G.A. 2006. Effects of different strains of *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli* on yield and N₂ fixation rate of common bean (*Phaseolus vulgaris*) Iranian cultivars. *Pakistan Journal of Biological Science*, 9(9): 1738-1743.
- Graham, P.H., Ocampo, G., Ruiz, L.D., and Duque, A. 1980. Survival of *Rhizobium phaseoli* in contact with chemical seed protectant. *Agronomy Journal*, 72: 625-627.
- Hall, R. 1994. *Compendium of Bean Diseases*. APS Press, St. Paul, Minnesota, USA, 73pp.
- Haque, S.E., and A. Ghaffar. 1993. Use of rhizobia in the control of root rot disease of sunflower, okra, soybean and mungbean. *Journal of phytopathology*, 138: 157-163.
- 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.
- Huang, H.C., and Erickson, R.S. 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.
- Khodshenas, M., Dadivar, M., Asadi Rahmani, H. and Afshari, M. 2006. Evaluation of using Rhizobium inoculation in comparison with nitrogen fertilizer under bean cultivation at Markazi province. *J. Agric. Sci. Natur. Resour.*, Vol 13(2):105-113.(In Farsi)
- Khodshenas, M., Dadivar, M., and Khavazi, K. 2003. Evaluation of Rhizobium strains efficiency on biological nitrogen fixation under soils bean cultivation. Abstract of 8th Iranian Congress of Soil Science, Gilan, pp: 6-8.(In Farsi)
- Liu, L., Kloepper, J.W., and S. Tuzun. 1995. Induction of systemic resistance in cucumber against Fusarium wilt by plant growth promoting rhizobacteria. *Phytopathology*, 85: 695-698.
- 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.
- Parsa, M. and Bagheri, A. 2008. *Pulses*. Jahad Daneshgahi Press Mashhad, Iran, 524p.(In Farsi)
- Rennie, R.O., and Dubetz, S. 1984. Effect of fungicides and herbicides on nodulation and N₂ fixation in soybean fields lacking indigenous *Rhizobium japonicum*. *Agronomy Journal*, 76: 451-454.
- Rivellin, C., Leterme, P., and Catroux, G. 1993. Effect of some fungicide seed treatments on the survival of *Bradyrhizobium japonicum* and on the nodulation and yield of soybean. *Biology and Fertility of Soils*, 16: 211-214.
- 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.
- Staphorst, J.L. and Strijdom, B.W. 1976. Effects of rhizobia on fungicides applied to legume seed. *Phyto-Phylactica*, 8: 47-54.