اثربخشی کاربرد هم‌زمان ریزوبیوم بومی و میکوریز بر پوسیدگی ریشه و عملکرد لوبیا قرمز (*Phaseolus vulgaris* L.) در استان لرستان

علی دهقانی[۱و۲]، ناصر پنجه‌که[۲]، هادی اسدی رحمانی [۳]، محمد سالاری[۲]، مصطفی درویش‌نیا [۴]

۱- مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی لرستان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، خرم‌آباد، ایران

۲- گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران

۳- مؤسسه تحقیقات خاک و آب کشور، سازمان تحقیقات،آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

۴. گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران

مسئول مکاتبات: علی دهقانی، پست الکترونیک: a_dehghanfarm@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۷/۰۹/۲۶ ۶(۱) ۴۳-۵۸ تاریخ پذیرش: ۹۷/۱۲/۲۲

چکیده

پوسیدگی ریشه لوبیا ناشی از قارچ *Fusarium solani* f.sp. *phaseoli*، بیماری مهم و اقتصادی محصول لوبیا در ایران است. امروزه بهره‌گیری از روش‌های منطبق با کشاورزی پایدار و حفظ محیط زیست در مدیریت بیمارگرهای گیاهی و نیز تا حدّ امکان به حداقل رساندن کاربرد سموم شیمیایی، ضرورت بسیاری دارد. این آزمایش جهت بررسی اثر کاربرد تیمارهای انفرادی و ترکیبی ریزوبیوم بومی، قارچ‌های میکوریز و مقایسه با تیمار شیمیایی در مزرعه در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار در سال زراعی ۱۳۹۶ در مزرعه آزمایشی ایستگاه تحقیقات سراب چنگایی با استفاده از لوبیا قرمز رقم افق اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل جدایه برتر ریزوبیوم بومی *Rhizobium etli* b.v. *phaseoli* با شناسه ملی CCSM_B011401 (R)، میکوریز *Rhizophagus irregularis* (M1)، میکوریزهای *Funneliformis mosseae* + *R. irregularis* (M1+M2)، میکوریزهای *F. mosseae* +*R. irregularis* به‌علاوه باکتری ریزوبیوم *R. etli* b.v. *phaseoli* (M1+M2+R)، باکتری ریزوبیوم *R. etli* b.v. *phaseoli* + میکوریز *R. irregularis* (R+M1)، تیمار شیمیایی کاربرد قارچکش (F) و کرت‌های شاهد که دارای آلودگی به بیمارگر، ولی بدون تلقیح ریزوبیوم و قارچ‌های میکوریزی بود. ریزوبیوم به شکل پودری با آغشته کردن بذور و قارچ‌های میکوریزی با افزودن به بستر بذر در زمان کاشت مایه‌زنی شد. نتایج نشان داد که بهترین تیمار آزمایش، تیمار ترکیبی تلقیح هم‌زمان ریزوبیوم بومی و قارچهای میکوریزی بود که تعداد دانه در غلاف، وزن صد دانه، عملکرد دانه و عملکرد بیولوژیک را به طور محسوس و معنی داری به ترتیب تا ۳۴، ۲۴/۹ ، ۵۱/۶ و ۳۸ درصد نسبت به شاهد افزایش و وقوع بیماری پوسیدگی ریشه لوبیا را به میزان ۸۹ درصد کاهش داد. یافته‌های این پژوهش نشان می‌دهد که هم‌افزایی ناشی از تلقیح هم‌زمان عوامل بیولوژیک ریزوبیوم بومی برتر و قارچ‌های میکوریزی می‌تواند به دلیل کاهش چشمگیر وقوع بیماری و بهبود عملکرد و اجزاء عملکرد لوبیا جایگزین مناسبی برای سموم و کودهای شیمیایی در این محصول باشد.

واژه‌های کلیدی: تلقیح هم‌زمان، هم افزایی، پوسیدگی ریشه، مهار زیستی، کنترل شیمیایی، کود زیستی

مقدمه

حبوبات از مهمترین منابع غذایی سرشار از پروتئین گیاهی (۱۸ تا ۳۲درصد) می‌باشند (Hoseini, 2008) و دارای عناصر کم‌مصرف مهمّ آهن، روی، منیزیم و مقادیر قابل توجهی اسید آمینه غیرقابل جبران لیزین هستند (Messina, 2014). در بین گروه‌های محصولات زراعی بعد از غلات بیشترین سطح برداشت محصولات زراعی در کشور متعلّق به حبوبات است (Ahmadi *et al*., 2016). کاهش مصرف حبوبات در مناطق خاصی از جهان می‌تواند عامل شیوع کمبود آهن باشد و این اهمیت حبوبات در رژیم غذایی را مشخص می‌کند (Blair *et al*., 2009) و حتی ارقامی از لوبیا با نقش دارویی در کنترل بیماری دیابت مؤثر

شناخته شده است (Gouveia *et al.*, 2014). لوبیا با میزان تولید ۱۱۶ میلیون تن دانه در سال، از محصولات مهم جهانی است و بیش از ۲۷ میلیون هکتار از اراضی دنیا زیر کشت این محصول می‌باشد (FAO, 2015).

لوبیا با سطح زیر کشت ۱۰۷۵۱۵ هکتار در ایران از محصولات مهم کشاورزی کشور است. بعد از استان فارس، بیشترین سطح کشت و تولید حبوبات به ترتیب با سهم ۱۶/۶ و ۱۷/۹ درصد متعلق به استان لرستان است (Ahmadi *et al.*, 2016) که بیانگر اهمیت این محصول در منطقه و ضرورت بررسی روش‌های بهبود و توسعه پایدار این کشت است. بیماری مهم و اقتصادی محصول لوبیا در مناطق لوبیاکاری کشور و جهان، پوسیدگی ریشه است که ناشی از عوامل قارچی خاکزاد و پایدار بوده و عامل اصلی و غالب در گزارشات مناطق مختلف جهان و ایران *Fusarium solani* f.sp. *phaseoli* معرفی شده است (Naseri, 2008؛ Naseri *et al.*, 2014؛ Safarloo & Hemmati, 2014؛ Saremi *et al.*, 2014؛ Estevez de Jensen *et al.*, 2002؛ Dehghani *et al.*, 2019). این بیماری در شرایط نامطلوب محیطی و دارای نوسانات حرارتی و رطوبتی بالا، باعث خسارت شدیدی به ویژه در مراحل اولیه رشدی و گل‌دهی می‌شود (Hall, 1996؛ Harveson *et al.*, 2005؛ Naseri & Mousavi, 2015) به‌طوری‌که تنش خشکی به تبع تغییرات اقلیمی، مزارع را تا حدودی دچار پیش‌آمودگی و مستعد این بیماری که وابسته به تنش است، می‌کند (Macedo *et al.*, 2017؛ Amanifar *et al.*, 2017). خسارت ناشی از پوسیدگی ریشه لوبیا بسته به شرایط بین ۱۰ تا ۱۰۰درصد می‌باشد (Schwartz *et al.*, 2005). در ایران نیز کاهش عملکرد ناشی از بیماری در استان مرکزی ۳۴ درصد (Lak, 2016) و زنجان تا ۶۵ درصد (Naseri, 2008) ارزیابی شده است، با شدت یافتن بیماری در اواسط فصل، کشاورزان اقدام به کاربرد قارچ‌کش‌های شیمیایی می‌کنند که علاوه بر هزینه‌ها، اثرات زیان‌بار بر محیط زیست و سلامت انسانی دارند. تدخین شیمیایی ، آفتاب‌دهی و تدخین زیستی خاک با استفاده از مواد آلی زیستی که دارای قابلیت دگرآسیبی هستند نیز مضرّات یا هزینه‌های بالایی تحمیل می‌نمایند (Smolinska & Kowalezyk, 2014).

گرایش بشر به کشت‌های متراکم محصولات، و به تبع آن مصرف بالای سموم و کودهای شیمیایی، نه تنها هزینه‌بر بوده، بلکه بواسطه بقایای خود، نگرانی‌های زیست محیطی و تهدید سلامت مصرف‌کنندگان را در پی داشته است (Lee & Song, 2007). حبوبات به واسطه توانایی تثبیت نیتروژن هوا نقش مهمی در توسعه پایدار کشاورزی دارند (Liu *et al.*, 2011). افزایش و گسترش مصرف کودهای زیستی از قبیل ریزوبیوم‌ها، قارچ‌های میکوریزی و سایر عوامل زیستی در راستای کاهش نیاز به کودهای شیمیایی به‌دلیل تأثیرات زیان‌آور محیطی از قبیل شوری، تجمع و سمیّت و نامتعادل شدن عناصر غذایی ناشی از مدیریت فشرده است که ریزاقلیم‌های غیر متعادلی را بوجود آورده است (Hu *et al.*, 2010). بنابراین برای گسترش و اجرای روش‌های کشاورزی پایدار استفاده از کودهای زیستی اهمیت زیادی در سلامت انسانی و محیط زیست دارد (Elkoca *et al.*, 2008).

پژوهش‌های متعددی نشان داده است که تغییرات در بهره‌برداری از مزارع، منجر به تغییرات میکروفلور خاک، کاهش جمعیّت میکروارگانیسم‌های مفید و افزایش میزان بیمارگرهای خاکزاد گیاهی نظیر فوزاریوم گردیده است (Hu *et al.*, 2010). نوعی از کنترل بیولوژیک که امیدبخش ترین روش زنده محسوب می‌شود، کاربرد عوامل میکروبی برای بازداری بیماری‌های گیاهی است (Heydari & Pasarakli, 2010). راهکارهای امیدبخشی با استفاده از عوامل بیولوژیک از جمله *Rhizobium leguminosarum* که خاصیت بازدارندگی از رشد بیمارگر دارند و باعث کاهش شدت بیماری شده، موجب افزایش جذب مواد غذایی و توسعه رشد گیاه می‌شوند توسط محققین مختلف گزارش شده است (Mazen *et al.*, 2008؛ Farfour and Al-saman, 2014). تحقیقات بیانگر تأثیر و کارایی میکروارگانیزم‌های ریزوسفر خاک نظیر ریزوبیوم‌های *Rhizobium leguminosarum* و *R. tropici* بوده که علاوه بر تثبیت بیولوژیکی نیتروژن، در مقابل

قارچ‌های بیمارگر خاک‌زی *Fusarium solani*، *Rhizoctonia solani* و *Macrophomina phaseolina* در محصولات سویا، لوبیا و حتی غیر لگوم‌ها نظیر بامیه و آفتابگردان نتایج مثبت و مؤثری بر کنترل بیماری داشته است (Pawar *et al*., 2014؛ Esteves de Jensen *et al*., 2002؛ Arfaoui *et al*., 2007).

قارچ‌های میکوریز همزیست ریشه علاوه برجذب عناصر به ویژه فسفر و بهبود روابط آبی گیاه، به عنوان محافظ بیولوژیکی در برابر بیمارگرها و تنش‌های مختلف عمل می‌کنند و اثرات مثبت و مؤثر بیوکنترلی را در فراگرد ریشه نشان می‌دهند (Bhale *et al*., 2018؛ Itelima *et al*., 2018؛ Hu *et al*., 2010) و از جمله به‌طور مشخص گونه *R. irregularis* بواسطه کلنیزاسیون ریشه قادرند واکنش‌های دفاعی گیاه را تحریک کنند (Strullu-Derrien *et al*, 2018). در حبوبات، اغلب قارچ‌های میکوریز آربوسکولار شامل *Funneliformis mosseae* و *Rhizophagus irregularis* یافت می‌شوند که سازگاری بیشتری با این محصولات از خود نشان داده‌اند (Shepherd *et al*., 2007؛ Wang *et al*., 2008).

دستیابی به باکتریهای بومی ویژه در ریزوسفر و افزودن به میزبان لگوم و غیرلگوم نشان داد که عوامل بالقوه‌ای برای امنیت غذایی هستند و به عنوان کود زیستی عمل کرده و نقش مهمی در کاهش تنش‌های زنده و غیرزنده و دستیابی به کشاورزی پایدار، ثبات و بهبود تولید دارند (Muleta, 2017؛ Babalola & Ekindolire, 2012).

مشکل عمده و فراگیر در کاربرد فراورده‌های تجاری میکروبی، ناتوانی نژاد تلقیح شونده در جایابی برای ایجاد گره‌هاست و از آنجایی که ریزوبیوم‌های تلقیحی بایستی با ریزوبیوم‌های بومی رقابت کنند، در ابتدا نیاز به سازگار شدن با شرایط محیطی دارند تا در خاک و ریزوسفر میزبان تکثیر شوند و رقابت کنند (Vlassak *et al*., 2010) لذا استفاده از ریزوبیوم‌های بومی و غربالگری آنها می‌تواند میزان موفقیت کاربرد این اجزاء اکوسیستم ریشه لگوم‌ها را تا حد زیادی افزایش دهد.

بسیاری از آزمایش‌های عوامل بیولوژیک و قارچ‌های میکوریزی در شرایط خاک سترون انجام شده است که با شرایط خاک‌های طبیعی متفاوت است، لذا برای تأکید جنبه‌های کاربردی عوامل زیستی بایستی خاک‌های غیر سترون در نظر گرفته شود (Wang *et al*., 2007). از آنجایی که نیازهای محیطی برای پرورش لوبیا و توسعه بیماری پوسیدگی ریشه در مناطق گرمسیری با یکدیگر همبستگی بالایی دارند (Macedo *et al*., 2017) زمینه حساسیّت لوبیا به تنش‌های زنده و غیرزنده را فراهم می‌سازد (Shekari *et al*., 2010 ؛ Sabbaghpour, 2014) بنابراین تقویت میزبان در برابر تنش‌های محیطی و پیشگیری از وقوع بیماری از اهمیّت بالایی برخوردار است. با توجه به اثرات واقعی عوامل محیطی بر میزبان و عوامل بیماری، برای پژوهش در زمینه مشاهده اثر تیمارها بر وقوع بیماری، آزمایش مزرعه‌ای ایده‌آل محسوب می‌شود (Macedo *et al*., 2017). مهمترین شکل مایه تلقیح فوزاریوم در خاک، شکل مقاوم یا استراحتی قارچ یعنی کلامیدوسپور است (Smolinska & Kowalczyk, 2014) و وضعیّت مایه تلقیح قارچ بیمارگر در خاک مزرعه آزمایشی با ارزیابی جمعیت کلامیدوسپور داخل خاک مشخص می‌شود (Nicoli *et al*., 2013).

پژوهش حاضر با توجه به مصرف سموم مختلف به ویژه قارچکش بنومیل در مزارع لوبیای کشور و منطقه، در راستای اتخاذ شیوه‌های پیشگیرانه مبتنی بر تقویت میزبان، به منظور مهار زیستی بیماری مهمّ و اقتصادی پوسیدگی ریشه و طوقه لوبیا انجام شد. به لحاظ مدیریت بیماری‌ها، با توجه به دو روش اصلی پیشگیری و معالجه (Maloy, 2005) بدیهی است که اولویّت روش‌های بازدارندگی یا پیشگیری به ویژه در بیماری‌های ناشی از عوامل خاک‌زاد، نسبت به روش‌های معالجه‌ای بیشتر است. در این تحقیق، تاثیر تیمارهای ریزوبیوم بومی و قارچ‌های میکوریزی مرتبط با لوبیا بر بیماری پوسیدگی ریشه فوزاریومی و عملکرد و اجزاء عملکرد لوبیا در مقایسه با شاهد و روش شیمیایی در شرایط مزرعه‌ای مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در یک مزرعه آزمایشی در ایستگاه تحقیقات کشاورزی سراب چنگایی خرم‌آباد با مختصات جغرافیایی ۳۳ درجه و ۲۹ دقیقه عرض شمالی و ۴۸ درجه و ۱۸ دقیقه طول شرقی و ارتفاع ۱۱۷۱ متر از سطح دریا و دارای رژیم رطوبتی مدیترانه‌ای در سال زراعی ۱۳۹۶ اجرا شد. آزمایش در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار با استفاده از لوبیا قرمز رقم افق با فرم بوته ایستاده، رشد محدود و کلاس تجاری Morado انجام شد.

مزرعه مورد آزمایش که دارای سابقه آلودگی بالا به قارچ *Fusarium solani*(Mart.) f.sp. *phaseoli* (Burk) Synd. and Hans. عامل بیماری پوسیدگی ریشه لوبیا (Dehghani *et al.*, 2019) بود، از نظر میزان مایه تلقیح، با روش ارزیابی جمعیت کلامیدوسپور قارچ عامل بیماری در خاک بررسی شد. جمعیت کلامیدوسپور موجود در خاک با نمونه‌برداری در اقطار مزرعه با پنج نمونه از هر قطر و از عمق ۳۰ سانتی‌متری در زمان آیش در سال ۱۳۹۵ و با استفاده از محیط کشت انتخابی Nash & Snyder، (Dhingra and Sinclair, 1995) به میزان ۱۰۴۵ کلامیدوسپور در هر گرم خاک تعیین شد.

زمین محل اجرای آزمایش دارای سابقه کاشت لوبیا و آلودگی و در زمان پیاده سازی و تلقیح عوامل بیولوژیک، دارای نور طبیعی و درجه حرارت ۱۲ تا ۲۲ درجه سلسیوس و در سال قبل از انجام آزمایش، آیش گذاشته شده بود. قبل از انجام آزمایش جهت تعیین خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک از عمق ۴۰ سانتی‌متری خاک نمونه‌برداری و بر اساس آن خاک محل آزمایش در طبقه Typic Calcic Xereptic و دارای بافت رسی سیلتی تعیین و خصوصیات شیمیایی خاک نیز درجدول ۱ آورده شده است. در طول فصل زراعی هیچگونه کود شیمیایی استفاده نشد. جدایه ریزوبیوم بومی Rb-167 که دارای کد کلکسیون میکروبیولوژی ملی CCSM_B011401 بخش تحقیقات بیولوژی خاک مؤسسه تحقیقات خاک و آب کشور است و در تحقیقات گذشته از بین ۲۹ جدایه بومی متعلق به مزارع لرستان برتری نشان داده بود، مورد استفاده قرار گرفت. کود زیستی میکوریز آربوسکولار با پتانسیل ۱۰۰ قطعه تکثیری (پروپاگول) در هر گرم، با نام تجاری مایکوروت از شرکت دانش‌بنیان زیست فنّاور پیشتاز واریان، قارچ‌کش‌های کاربندازیم و بنومیل، پودر وتابل ۵۰٪، و بذر رقم افق از واحد حبوبات پردیس تحقیقات و آموزش کشاورزی بروجرد تهیه گردید.

به منظور آماده‌سازی بستر کاشت و بهره‌گیری از مزایای شخم پائیزه، زمین مورد نظر توسط گاو آهن برگردان‌دار در پائیز سال ۱۳۹۵ یک‌بار و پس از مساعد شدن هوا و گاو رو شدن زمین در اواخر اردیبهشت۱۳۹۶ یک‌بار شخم زده شد. واحدهای آزمایشی با ابعاد ۲/۵×۵ متر و جوی پشته‌ها با عرض ۵۰ سانتی‌متر تهیه شد. فاصله بین واحدهای آزمایشی یک متر و بین بلوک‌ها دو متر در نظر گرفته شد. با توجه به شرایط حساس جوانه‌زنی لوبیا، آبیاری پیش از کاشت (ماخار) انجام شد و با گذشت پنج روز و گاو رو شدن زمین، بذور در تاریخ ۱۸ خردادماه به روش هیرم‌کاری (نم‌کاری)، به صورت دستی در خطوطی با طول ۵ متر با فاصله ردیف ۵۰ سانتی‌متر و با فاصله ۱۰ سانتی‌متر بین کپه‌های دو بذری روی ردیف، در عمق پنج سانتی‌متری خاک کشت شد.

هفت تیمار آزمایش شامل جدایه برتر ریزوبیوم بومی *Rhizobium etli* b.v. *phaseoli* (R)، میکوریز *Rhizophagus irregularis* (M1)، میکوریزهای *R. Funneliformis mosseae +irregularis* (M1+M2)، میکوریزهای *F. mosseae +R. irregularis* به‌علاوه باکتری ریزوبیوم *R. etli* b.v. *phaseoli* (M1+M2+R)، باکتری ریزوبیوم *R. etli* b.v. *phaseoli* + میکوریز *R. irregularis* (R+M1)، تیمار شیمیایی کاربرد قارچکش (F) و کرت‌های شاهد که دارای آلودگی طبیعی به بیمارگر، ولی بدون تلقیح ریزوبیوم و قارچ میکوریزی بود.

برای تهیه فرمولاسیون مایه تلقیح پودری ریزوبیوم بومی جهت کاربرد بذرمال یا آغشتگی بذر، به ازای یک کیلوگرم بذر، ۱۸ میلی‌لیتر از سوسپانسیون 10^8 واحد تشکیل دهنده پرگنه در میلی‌لیتر (CFU/ml) باکتری با ۳۰ گرم پرلیت سترون شده به عنوان ماده حامل مخلوط گردید. برای

ایجاد یک پوشش مناسب از باکتری و چسبندگی بیشتر به بذر ، ابتدا بذور با محلول ۲۰ درصد شکر آغشته شده و سپس مایه تلقیح پودری به آن افزوده شد و پس از مخلوط کردن در ظروف پلاستیکی در سایه خشک و سپس کاشته شدند.

مایه تلقیح قارچ میکوریز آربوسکولار به میزان ۳۰۰ کیلوگرم در هکتار استفاده شد. به این صورت که پس از ایجاد شیار مقدار مشخص شده از مایه تلقیح در طول خط کاشت و با عمق دو سانتی‌متری زیر بذور ریخته و روی آن با خاک پوشانده شد.

تیمار شیمیایی شامل ضدعفونی بذر با قارچ‌کش کاربندازیم به میزان ۲/۵ در هزار و کاربرد قارچ‌کش بنومیل به‌میزان دو کیلوگرم در هکتار در دو مرحله در طی فصل زراعی شامل آغاز گل‌دهی و آغاز غلاف‌دهی، در سطح خاک پای بوته و قبل از آبیاری استفاده شد.

عملیات آبیاری با روش بارانی از ۱۰ روز پس از تاریخ کاشت مزرعه شروع و در طی مراحل رشد و نمو، حسب شرایط منطقه و نیاز گیاه با میانگین فواصل شش روزه انجام شد. رژیم آبیاری با استفاده از نازل شماره ۱۰ و فشار چهار اتمسفر، به مدت چهار ساعت در هر دوره اجراء گردید. در راستای اهداف توسعه پایدار در کشاورزی مبارزه با علف‌های هرز به صورت وجین دستی در دو مرحله قبل از شروع و بعد از گل‌دهی کامل انجام شد و در طول مراحل رشد بوته‌ها از هیچ‌گونه نهاده یا آفتکش شیمیایی به استثنای تیمار مربوطه، استفاده نشد. به منظور ارزیابی میزان آلودگی بوته‌ها، بعد از مرحله گل‌دهی در تاریخ ۱۶ مردادماه با استفاده از کادر یک متر مربعی و رعایت اثرحاشیه‌ای، میزان وقوع بیماری (disease incidence) به صورت درصد تعداد بوته‌های آلوده نسبت به کل بوته‌های داخل کادر یادداشت‌برداری و در موارد مشکوک نمونه‌ها جهت بررسی به آزمایشگاه منتقل گردید. در پایان فصل رشد، برداشت محصول با در نظر گرفتن اثر حاشیه (صرف نظر از دو خط کناری و ۵۰ سانتی‌متر از بالا و پایین هر خط کاشت) بوته‌ها در سطح پنج متر مربع انجام و عملکرد بیولوژیک و عملکرد دانه اندازه‌گیری شد. اجزای عملکرد لوبیا شامل تعداد غلاف در بوته، تعداد دانه در غلاف، وزن صد دانه با انتخاب تصادفی تعداد ۱۰ بوته از هر واحد آزمایشی تعیین شدند. برای محاسبه شاخص برداشت از نسبت عملکرد دانه به عملکرد بیولوژیک، ضرب در عدد ۱۰۰ استفاده شد. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS version 9.1.3 تجزیه واریانس و مقایسه میانگین تیمارهای مورد بررسی نیز با آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد .

نتایج

وقوع بیماری

تجزیه واریانس داده‌های مربوط به وقوع بیماری (جدول ۲) نشان داد که اثر تیمارهای مورد بررسی در سطح احتمال یک درصد بر وقوع بیماری گیاه لوبیا معنی‌دار بود. نتایج مقایسه میانگین نشان داد که کمترین میانگین وقوع بیماری (۳/۳۳ درصد) در تیمار کاربرد توأم ریزوبیوم به همراه قارچ‌های میکوریز دوگانه حاصل شد. به طوری که به میزان ۸۹ درصد در مقایسه با شاهد بدون تلقیح باعث کاهش وقوع بیماری شد (جدول ۳). همان‌طورکه ملاحظه می‌شود با این که وقوع بیماری در تیمار روش شیمیایی کمتر از تیمار شاهد بدون تلقیح عوامل بیولوژیک بود اما از نظر آماری با شاهد و همچنین با ریزوبیوم تنها، اختلاف معنی‌داری نداشت و از نظر آماری در یک گروه قرار داشت.

تعداد غلاف در بوته

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان می‌دهد که عوامل مورد بررسی اثر معنی‌داری بر صفت تعداد غلاف در بوته گیاه لوبیا نداشت. نتایج مقایسه میانگین نشان داد که شاخص تعداد غلاف در بوته در تیمار قارچکش با میزان ۱۳/۹ کمترین مقدار و بیشترین آن با افزایش ۱۵/۸ درصدی نسبت به تیمار شاهد، با تعداد ۲۱/۲ غلاف در بوته مربوط به تیمار ترکیبی ریزوبیوم به‌علاوه میکوریز *R. irregularis* بود (جدول ۳).

تعداد دانه در غلاف

اثر تیمارهای مورد بررسی در سطح احتمال یک درصد بر تعداد دانه در غلاف گیاه لوبیا معنی‌دار بود (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین نشان داد که تعداد ۲/۱۶

دانه در غلاف در تیمار ریزوبیوم تنها، و بیشترین میانگین تعداد دانه در غلاف (۳/۵۷) مربوط به تیمار ترکیبی میکوریزهای دوگانه بعلاوه ریزوبیوم بومی بود که ۳۴ درصد نسبت به شاهد افزایش داشت و کمترین تعداد دانه در غلاف مربوط به تیمار ریزوبیوم به تنهایی بود (جدول ۳). با توجه به نتایج، اگرچه ریزوبیوم به تنهایی در صفت تعداد غلاف در بوته افزایش معنی‌داری نشان داد، امّا تعداد دانه در غلاف در آن کمترین بود، در صورتی که بیشترین تعداد دانه در غلاف در تیمار ترکیبی ریزوبیوم و میکوریز دوگانه مشاهده شد.

جدول ۱- خصوصیات شیمیایی خاک مزرعه مورد آزمایش.

Table 1. Soil chemical characteristics of experimental field.

Cu	Zn	Mn	Fe	K	P	N	O.C.	EC	pH
			(mg kg^{-1})			(%)	(%)	(ds.m^{-1})	
2.56	0.6	9	25	305	12	0.062	0.78	0.52	7.9

جدول ۲- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر ریزوبیوم (R)، میکوریز (M) و قارچ‌کش(F) بر عملکرد، اجزای عملکرد و وقوع بیماری پوسیدگی ریشه لوبیا قرمز رقم افق.

Table 2. Analysis of variance (mean square) of the effects of Rhizobium (R), Mycorrhiza (M) and Fungicide (F) on yield, yield components and root rot disease incidence in bean (cv. Ofogh)

Sources of Variation	Degree of freedom	Number of pod per plant	Number of seed per pod	100 seed weight	Seed yield	Biologial Yield	Harvest index	Disease incidence (%)
Block	2	56.6 ^{ns}	0.082 ^{ns}	8.94 ^{ns}	538917 ^{ns}	171786 ^{ns}	7.13 ^{ns}	3.88 ^{ns}
Treatment	6	17.9 ^{ns}	0.660 **	73.5 **	3019067 *	454636 *	10.6 ^{ns}	5.97 **
Error	12	6.90	0.100	9.46	676393	67599	19.9	0.402
C.V. (%)	–	14.7	12.0	9.99	12.2	13.0	15.0	16.4

^{**,*,ns} به ترتیب غیر معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد.

ns, nonsignificant; *, significant at P≤0.05; **, significant at P≤0.01.

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر ریزوبیوم (R)، میکوریز(M) و قارچ‌کش(F) بر عملکرد، اجزای عملکرد و وقوع بیماری پوسیدگی ریشه لوبیا قرمز رقم افق.

Table 3. Mean comparisons of the effects of (R) Rhizobium, (M) Mycorrhiza and (F) Fungicide on yield, yield components and root rot disease incidence in bean (cv. Ofogh)

Treatment	Number of Pod per plant	Number of seed per pod	100 Seed weight (g)	Seed yield (Kg ha^{-1})	Biological yield (Kg ha^{-1})	Harvest index (%)	Disease incidence (%)
R	18.8 ^{ab}	2.16 ^{c}	31.1 ^{b}	1873 ^{bc}	6278 ^{b}	29.8 ^{a}	21 ^{ab}
M_1	16.2 ^{ab}	2.42 ^{bc}	25.2 ^{c}	1720 ^{c}	5970 ^{b}	29.1 ^{a}	15.8 ^{bc}
M_1+M_2	19.6 ^{a}	2.43^{bc}	27.6 ^{bc}	2340 ^{ab}	7072 ^{ab}	33.24 ^{a}	10.8 ^{cd}
M_1+M_2+R	16.3 ^{ab}	3.57 ^{a}	40.1 ^{a}	2510 ^{a}	8186 ^{a}	30.6 ^{a}	3.33 ^{e}
R+M_1	21.2 ^{a}	2.31 ^{bc}	32.2 ^{b}	2332 ^{ab}	7889 ^{a}	29.9 ^{a}	7.5 ^{de}
F	13.9 ^{b}	2.80 ^{b}	26.9 ^{bc}	1541 ^{c}	5719 ^{b}	27.3 ^{a}	25.0 ^{ab}
Control	18.3 ^{ab}	2.66 ^{bc}	32.1 ^{b}	1655 ^{c}	5921 ^{b}	28.2 ^{a}	33.0 ^{a}

درهرستون و برای هرتیمار میانگین‌های دارای حروف مشترک از نظر آماری درسطح احتمال پنج درصد اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

Means in each column and for each treatment followed by similar letter have not significantly different at 5% probability level.
R= *Rhizobium etli* b.v. *phaseoli*, M1= *Rhizophagus irregularis*, M2= *Funneliformis mosseae* F=Fungicide

وزن صد دانه

تجزیه واریانس داده‌های مربوط به وزن صد دانه (جدول ۲) نشان داد که اثر تیمارهای مورد بررسی در سطح احتمال یک درصد بر وزن صد دانه گیاه لوبیا معنی‌دار بود. بر اساس نتایج به دست آمده بیشترین میانگین وزن صد دانه ۴۰/۱ گرم و مربوط به تیمار کاربرد ترکیبی ریزوبیوم به همراه قارچ‌های میکوریز دوگانه با ۲۴/۹ درصد افزایش نسبت به شاهد بدون تلقیح بود (جدول ۳). بعد از آن بیشترین وزن صد دانه مربوط به تیمار ترکیبی ریزوبیوم بومی و میکوریز *R. irregularis*، با ۳۲/۲ گرم بود که با شاهد و همچنین تیمار ریزوبیوم تنها در یک گروه آماری قرار داشت.

عملکرد دانه

تجزیه واریانس داده‌های مربوط به عملکرد دانه (جدول ۲) نشان داد که اثر تیمارهای مورد بررسی در سطح احتمال پنج درصد بر عملکرد دانه گیاه لوبیا معنی‌دار بود. نتایج مقایسه میانگین نشان داد که بیشترین عملکرد دانه با ۲۵۱۰ کیلوگرم در هکتار مربوط به تیمار کاربرد ترکیبی ریزوبیوم بومی به همراه کود زیستی قارچ‌های میکوریزی دوگانه (M1+M2+R) بود که نسبت به شاهد بدون تلقیح عوامل، با عملکرد ۱۶۵۵ کیلوگرم در هکتار، ۵۱/۶ درصد افزایش نشان داد. بعد از تیمار برتر، تیمار کود زیستی میکوریز دوگانه (M1+M2) با ۲۳۴۰ کیلوگرم دانه در هکتار قرار داشت که با تیمار ترکیبی ریزوبیوم و میکوریز (R+M1) تفاوت معنی‌داری نداشت. کمترین میانگین عملکرد دانه نیز با ۱۵۴۱ کیلوگرم در هکتار متعلق به تیمار شیمیایی کاربرد قارچکش است که با شاهد آزمایش تفاوت معنی دار نداشت و در یک گروه آماری قرار داشت (جدول ۳).

عملکرد بیولوژیک

تجزیه واریانس داده‌های مربوط به عملکرد بیولوژیک (جدول ۲) نشان داد که اثر تیمارهای مورد بررسی در سطح احتمال پنج درصد بر عملکرد بیولوژیک گیاه لوبیا معنی‌دار بود. نتایج مقایسه میانگین نشان داد که بیشترین عملکرد بیولوژیک ۸۱۸۶ کیلوگرم در هکتار در تیمار توأم ریزوبیوم به همراه قارچ‌های میکوریز مشاهده شد که نسبت به شاهد آزمایش ۳۸/۲ درصد افزایش نشان داد (جدول ۳). کمترین میانگین عملکرد بیولوژیک (۵۷۱۹ کیلوگرم در هکتار) متعلّق به تیمار کاربرد قارچکش بود که با شاهد آزمایش تفاوت معنی‌داری نداشت.

شاخص برداشت

براساس نتایج تجزیه واریانس جدول شماره ۲ عوامل مورد بررسی اثر معنی‌داری بر صفت شاخص برداشت گیاه لوبیا نداشت. نتایج مقایسه میانگین نشان داد که بیشترین میانگین شاخص برداشت با ۳۳/۲۴ درصد متعلق به تیمار قارچ میکوریز *R. irregularis* (M1) و کمترین میزان، ۲۷/۳ درصد و مربوط به تیمار کاربرد قارچکش بود (جدول ۳).

بحث

فراوانی فاکتورهای زنده و غیرزنده خاک، به ویژه شکل مقاوم و پایدار واحد تکثیری یعنی کلامیدوسپور قارچ در خاک و پرهزینه بودن و کارایی کم و پیامدهای مضر روش‌های فیزیکی، شیمیایی و حتّی تدخین زیستی خاک (Smolinska & Kowalczyk, 2014) مدیریت بیماری‌های ناشی از عوامل خاکزاد را پیچیده کرده است و لذا مناسب‌ترین روش مواجهه با این بیماری‌ها، استفاده از اجزاء این مجموعه متنوّع در جهت کاهش خسارت این بیماری مهم و اقتصادی است. انتخاب عوامل فراگرد ریشه در این پژوهش شامل ریزوبیوم بومی، که علاوه بر بومی‌بودن بر اساس شناسایی ملکولی در آزمایش‌های مقدّماتی برتری خود را نشان داده بود و قارچ‌های میکوریزی، بر اساس سازگاری با مزارع حبوبات انجام و استفاده شد. لازم به ذکر است که از بین میکروارگانیزم‌های ریزوسفر این دو نوع عامل بیولوژیک خاصیت همزیستی دارند که بواسطه آن قابلیت افزایش رشد گیاهی و با تشریک مساعی هم‌افزایانه قابلیت کنترل بیماری‌های قارچی را دارند و در کشاورزی پایدار به عنوان یک رویکرد امیدبخش محسوب می‌شوند (Akhtar *et al*., 2011). وارد کردن، تلقیح و کاربرد عوامل میکروبی مفید به ریزوسفر باعث تغییر جمعیّت عوامل ریزوسفری به نفع میزبان می‌شود و تعادل میکروبی را در

جهت تقویت جمعیت عوامل مفید و کاهش جمعیت و فعالیت عوامل بیمارگر قارچی و باکتریایی در ناحیه ریشه می‌شوند (Linderman, 1994).

از نظر مایه تلقیح خاک مزرعه آزمایشی، مهمترین شکل و ملاک ارزیابی مایه تلقیح عامل بیماری پوسیدگی ریشه لوبیا در خاک، شکل مقاوم یا استراحتی قارچ یعنی کلامیدوسپور (Smolinska & Kowalczyk, 2014) است که تعداد ۱۰۴۵ کلامیدوسپور در هر گرم خاک قطعه آزمایشی تعیین گردید. جمعیّت مایه تلقیح قارچ بیمارگر داخل خاک آزمایش در کشت‌های فشرده و گلخانه‌ای به منظور غربالگری ارقام، بین ۱۰۰۰ تا ۳۰۰۰ کلامیدوسپور در هر گرم خاک توصیه شده است (Nicoli *et al*., 2013).

نتایج به‌دست آمده از این آزمایش نشان داد که وقوع بیماری، عملکرد و اجزای عملکرد محصول لوبیا قرمز تحت تأثیر عوامل بیولوژیک مورد استفاده قرار گرفتند. همانطورکه در نتایج مشاهده شد تیمار برتر آزمایش که در اکثر صفات مختلف شامل وقوع بیماری، تعداد دانه در غلاف، وزن صد دانه، عملکرد دانه و عملکرد بیولوژیک تأثیر مثبت و معنی‌داری نشان داد تیمار تلقیح هم‌زمان ریزوبیوم بومی و میکوریزهای دوگانه بود که به ترتیب ۸۹، ۳۴، ۲۴/۹ ، ۵۱/۶ و ۳۸ درصد نسبت به شاهد اثر مثبت نشان داد.

همبستگی قوی بین نیازهای محیطی محصول لوبیا و توسعه بیماری در مناطق گرمسیری (Mecedo *et al*., 2017) زمینه حساسیّت لوبیا به تنش زنده و غیرزنده به ویژه در مرحله گل‌دهی را فراهم می‌آورد (Shekari *et al*., 2010؛ Sabbaghpour, 2014). لذا با توجه به وجود قارچ *F. solani* به عنوان یک بیمارگر مقیم خاک (Soil inhabitant) در اراضی کشت حبوبات در سراسر خاک فراگرد ریشه و امکان فعالیت و رخنه به ریشه، اثرات مثبت و معنی‌دار در روش کاربرد عوامل بیولوژیک همزیست در مدیریّت تلفیقی بیماری مهمّ پوسیدگی ریشه لوبیا می‌تواند ناشی از کارکرد مثبت و مؤثّر اصل پیشگیری و اشغال آشیان اکولوژیک در ناحیه فراگرد ریشه باشد.

مکانیزم‌های دخیل در خاصیت بیوکنترل عوامل میکروبی می‌تواند دارای اثرات چند وجهی شامل رقابت در اشغال آشیان اکولوژیک، پارازیتیسم، آنتی بیوز و مقاومت القایی در ریزوسفر میزبان باشند (Avis *et al*., 2008) و نتایج پژوهش‌های مختلف نشان داده است که تعدّد به کارگیری عوامل بیولوژیک باعث فعال شدن مکانیزم‌های بیوکنترل متنوّع شده و به تبع آن کارایی مهار زیستی افزایش یافته است.

بررسی اثر باکتری‌های بومی جداسازی شده بیانگر آن است که به دلیل سازگاری به ریزوسفر و ارتباط سودمندی مستقیم و غیرمستقیم، دامنه وسیعی برای کاربرد مزرعه ای دارند (Babalola & Akindolire, 2016). بر اساس نتایج کانونی و همکاران (۲۰۱۸) در خصوص کارایی ریزوبیوم های بومی جدا شده از گیاهان نخود، عدس و باقلا در کنترل وقوع بیماری ناشی از ریزوکتونیا، پیتیوم، ماکروفومینا و فوزاریوم سطح بالایی از محافظت میزبان در مقابل این قارچ‌های بیمارگر را نشان داد و این پژوهشگران نتیجه گرفتند که ریزوبیوم های بومی برتر جزء مطلوبی برای کاهش آلودگی به بیماری‌ها و کمک به کشاورزان است (Kanouni *et al*., 2018). بر اساس نتایج لک و خداشناس (۱۳۸۷) در مقایسه مزرعه‌ای، کمترین بیماری پوسیدگی ریشه لوبیا چیتی در تیمار ریزوبیوم سویه ۱۵۶ و حداکثر عملکرد دانه در تیمار کود نیترات آمونیوم به‌دست آمد (Lak & Khodashenas, 2008).

به‌نظر می‌رسد کاربرد عوامل بیولوژیک و بومی ریزوبیوم به همراه قارچ‌های میکوریزی بواسطه تقویت بنیه و بهبود رشد اندام‌های گیاهی با هم‌افزایی توانسته باعث ایجاد تعادل در ساختار رویشی و زایشی و بهبود فرایند گل‌دهی و افزایش توان تولید در گیاه لوبیا قرمز و به تبع آن بهبود صفات عملکرد، اجزاء عملکرد و کاهش چشمگیر وقوع بیماری شود. کاهش شدید وقوع بیماری در تیمار کاربرد همزمان ریزوبیوم و میکوریز دوگانه به نظر می‌رسد ناشی از عوامل مختلفی از قبیل ایجاد مانع بیولوژیکی که ماهیت قارچ‌های همزیست ریشه است و بهینه‌سازی وضعیت تعادل عناصر غذایی در قالب مکانیسم‌های بیوکنترل مانند آنتی بیوز، رقابت و پارازیتیسم باشد. به طوری که در تیمار

ترکیبی برتر، با تلقیح ریزوبیوم بومی و میکوریزی دوگانه زمینه جذب عناصر غذایی نیتروژن و به ویژه فسفر که عنصر مهم دخیل در مقاومت گیاهی است، به صورت متعادل‌تر فراهم و به‌علاوه خاصیت محافظت بیولوژیکی (bioprotection) ناشی از قارچ‌های میکوریزی همزیست ریشه که به صورت مضاعف و رقابتی با میزبان همیاری داشته‌اند و بر اساس گزارشات متعدد باعث کاهش آلودگی به قارچ عامل پوسیدگی ریشه شده‌اند. نتایج کلانتری (۱۳۹۰) نشان داد که تیمار کردن بذر با باکتری‌های آنتاگونیست، باکتری ریزوبیوم و تیمارهای ریزوبیوم همراه جدایه‌های آنتاگونیست اثر معنی داری در کاهش شدت بیماری و افزایش شاخص‌های رشدی لوبیا داشتند. نتایج حاصل از این تحقیق بیانگر پتانسیل بالای باکتری‌های ریزوسفر لوبیا در کنترل بیماری پوسیدگی ریشه و افزایش عملکرد این محصول در مزارع استان زنجان بود (Kalantari, 2011). ارزیابی پتانسیل آنتاگونیست های ریزوبیومی و میکوریزی، علیه قارچ های بیماریزای *Rhizoctonia solani*، *Fusarium* spp. و *F. solani* نشان داد که کاربرد توأم آن‌ها دارای نقش محافظ زیستی برای ریشه میزبان و خاصیت پیشگیری کننده عمل می‌کند (Mazen *et al*., 2008؛ Hu *et al*., 2010؛ Odoh, 2017؛ Muleta,2017) و می‌توانند به عنوان جایگزین حفاظت کننده‌های شیمیایی در برابر بیمارگرها رشد و توسعه گیاه را پیش ببرند (Maksimov *et al*., 2011).

با توجه به اهمیّت عملکرد دانه در حبوبات که برآیند کل فعالیت‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در محصولات لگوم است، به نظر می‌رسد نتیجه حاصل از تیمار شیمیایی قارچکش ناشی از ایجاد خلاء میکروبی در ریزوسفر و اختلال در تعادل میکروارگانیسم‌ها و تبادل عناصر غذایی شده به طوری که تا حدودی در نقش شاهد مثبت عمل کرده است و از طرفی به واسطه هم‌افزایی ناشی از کاربرد هم‌زمان ریزوبیوم بومی با قارچ‌های میکوریز سازگار با ریشه لوبیا، موجبات بیشترین بهبود سوخت و ساز و فرایند انتقال مواد به منبع (دانه) فراهم گردیده است. صفاپور و همکاران (۲۰۱۱) نتیجه گرفتند بیشترین عملکرد دانه مربوط به تیمار تلقیح ریبوزوم و دوگونه میکوریز و کم‌ترین عملکرد دانه متعلّق به تیمار قارچ میکوریز به تنهایی بود و در این آزمایش تیمار شیمیایی وجود نداشت (Safapour *et al*., 2011). اردکانی و همکاران (۲۰۰۹) تلقیح دوگانه میکوریز و ریزوبیوم را دلیل مهمّ افزایش وزن خشک محصول اعلام کردند (Ardakani *et al*., 2009). در خصوص کمبود عملکرد بیولوژیک در تیمار شیمیایی، می‌توان تغییر ریزوسفر به سمت کاهش فعالیت میکروارگانیسم‌های مفید مرتبط با ناحیه فراگرد ریشه را عامل مؤثّر دانست، به‌طوری که حتی از تیمار شاهد نیز کمتر بوده است. اردکانی و همکاران (۲۰۱۴) نیز در آزمایش مزرعه‌ای کشت عدس، برجسته‌ترین نتیجه را از نظر وزن خشک اندام هوایی در تیمار کلنیزاسیون ریشه توسط میکوریز توأم با باکتری آزوسپیریلیوم مشاهده کردند به طوری که با بهبود فرایندهای نقل و انتقال مواد وزن خشک و عملکرد بیولوژیک به طور معنی‌دار و چشمگیری افزایش یافت (Ardakani *et al*., 2014).

تلقیح ریزوبیوم در پژوهش توسط کورير و همکاران (۲۰۱۷) منجر به صفات رشدی برتر در مقایسه با شاهد گردید و از طرفی تلقیح ترکیبی با باکتریهای افزایش دهنده رشد منجر به افزایش صفات رشدی در مقایسه با تیمارهای ریزوبیوم جداگانه شد (Korir *et al*., 2017). مزیّت کاربرد هم‌زمان و پدیده هم افزایی عوامل بیولوژیک از نظر افزایش میزان تولید، اجرای بهینه همزیستی و سلامت محیط زیست در تحقیقات متعدد به اثبات رسیده (Tavassolee *et al*., 2011؛ Korir *et al*., 2017؛ Egamberdieva *et al*., 2017؛ Hu *et al*., 2010؛ Matloob & Juber, 2013) و در تحقیق حاضر نیز همیاری و هم افزایی ریزوبیوم و گونه های قارچ میکوریز در بهبود عملکرد محصول لوبیا و کاهش وقوع بیماری مهم پوسیدگی ریشه نتایج مثبت و مؤثّری نشان داد. برهم‌کنش عوامل متعدد و همزمان در مقابل بیماری پژمردگی فوزاریومی به صورت ایجاد القاء مقاومت سیستمیک نیز گزارش شده است (Dutta *et al*., 2008).

قاسم‌زاده گنجه‌ای و اصغرزاده (۱۳۹۲) در مطالعه‌ای، تلقیح سویه های مختلف ریزوبیومی و مصرف کود را بر

عملکرد و اجزای عملکرد نخود بومی نیشابور انجام دادند و دریافتند که تیمار تلقیحی SWRI12 بالاترین عملکرد دانه و عملکرد بیولوژیک را تولید نمود که نسبت به تیمار شاهد، ۱۳ و ۷۷ درصد و نسبت به تیمارهای فاقد تلقیح ۲۵ و ۴۰ درصد، افزایش نشان داد. در مجموع استفاده از مایه تلقیحی در تمامی موارد سبب افزایش وزن خشک، درصد نیتروژن و عملکرد محصول شد که این مقدار در بین سویه‌ها از ۷ درصد تا ۲۵ درصد متغیر بود (Ghasemzadeh-Gangei & Asgharzadeh, 2013).

در نتایج حاصل از تیمار شیمیایی قارچ‌کش شامل تیمار بذری کاربندازیم و کاربرد بنومیل در فصل زراعی مشاهده شد که این تیمار در جلوگیری از آلودگی تأثیر کافی نداشته است و حتّی در صفات وقوع بیماری، تعداد غلاف در بوته، عملکرد بیولوژیک و شاخص برداشت دارای پیامدهای منفی بوده است. این مسئله می‌تواند ناشی از عدم کارایی مناسب این قارچ‌کش در محیط بافری خاک و یا حتی با تداخل و حذف برخی میکروارگانیسم‌های محیط ریشه‌چه، ناشی از اختلال احتمالی در تعادل پایدار میکروبی روند رشدی عادی گیاه باشد. همان‌طورکه در جدول ۲ ملاحظه می‌شود صفت تعداد غلاف در بوته در تیمار ترکیبی ریزوبیوم بومی بعلاوه میکوریز دوگانه (M1+M2+R) جزو کمترین و با تیمار میکوریز تنها در یک گروه قرارداشت، امّا برعکس از نظر تعداد دانه در غلاف بیشترین مقدار را دارا بود. به طوری که تعداد غلاف در بوته و تعداد دانه در غلاف در تیمار برتر آزمایش (M1+M2+R) نسبت به شاهد به ترتیب ۱۰ درصد کاهش و ۳۴ دصد افزایش نشان داد.

بر اساس نتایج سرینیواس و همکاران (۲۰۰۸) و احمد و خان (۲۰۱۰) کاربرد آفتکش‌های شیمیایی در کشاورزی می‌تواند اثرات بسیار منفی بر موجودات ریزوسفری و مکانیسم زیستی آنها داشته باشد (Sirinivas *et al.*, 2008؛ Ahmed & Khan, 2010). اثرات سمّی کاربندازیم روی گره‌های همزیستی در حبوبات (Kaur *et al.*, 2007) و کاهش شدید عوامل باکتریایی ریزوسفری و ایجاد خلاء میکروبی در فراگرد ریشه در اثر کاربرد قارچکش ویتاواکس R-34 گزارش شده است (Soltani Tolarod *et al.*, 2014). بر اساس نتایج ناصری و موسوی (۲۰۱۵) نیز در خاک‌های مزارع تیمار شده با قارچ‌کش، بیماری پوسیدگی ریشه شدیدتری نسبت به اراضی بدون تیمار قارچ‌کش مشاهده گردید (Naseri & Mousavi, 2015). لذا می‌توان نتیجه گرفت مصرف سموم شیمیایی به طور ویژه‌ای برای حبوبات که دارای پدیده همزیستی تثبیت بیولوژیکی نیتروژن به عنوان عنصر مهم ساختاری گیاه در ریشه هستند، اثرات کاملاً منفی برای گیاه و اجزاء عملکرد آن و قاعدتاً پیامدهای زیان‌بار برای خاک‌های زراعی دارد.

در مجموع، بومی بودن عامل ریزوبیومی مورد استفاده و ترکیبی بودن کاربرد عوامل، دو ویژگی مهم در تیمارهای این پژوهش بودند که بر اساس پژوهشهای دنیا دو مزیت و شاخص اصلی در کاربرد عوامل بیولوژیک محسوب شده‌اند (Vlassak *et al.*, 2010؛ Babalola and Akindolire, 2012) و از دلایل مهمّ موفقیّت در این آزمایش می‌باشند. این نتایج پایه ای برای تولید کودهای زیستی مبتنی بر ریزوبیوم بومی در راستای کاهش مصرف نهاده های شیمیایی سموم و کودها و پایداری تولید در نظام های زراعی بوم سازگار است.

براساس دستاورد این پژوهش مبنی بر کاهش ۸۹ درصدی وقوع بیماری پوسیدگی ریشه و افزایش ۵۱/۶ درصدی عملکرد (۸۵۵ کیلوگرم در هکتار) با کاربرد هم‌زمان عوامل بیولوژیکی ریزوبیوم و میکوریز در جهت مدیریت تلفیقی و مهار زیستی بیماری پوسیدگی ریشه و بهبود عملکرد و اجزای عملکرد می‌تواند جایگزین مصرف سموم شیمیایی و کودهای شیمیایی گردد. استفاده از تلقیح هم‌زمان و هم‌افزایی عوامل ریزوسفری، علاوه بر کاهش مصرف سموم و کودهای شیمیایی که عامل مخرّب برای همزیستی است، پایداری تولید و بهینه‌سازی عملکرد محصول لوبیا، حفظ و بهبود خصوصیّات خاک و تقویت سیستم طبیعی جذب و تثبیت بیولوژیکی فسفر و نیتروژن در ریشه را ارتقاء می‌دهد. این تحقیق کارایی و ظرفیت کودهای زیستی ریزوبیوم بومی و مزیت کاربرد ترکیبی آن‌ها با عوامل قارچی همزیست ریشه حبوبات در نظام‌های بوم سازگار را روشن می‌سازد.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از مساعدت همه همکاران بخش تحقیقات بیولوژی خاک موسسه تحقیقات خاک و آب کشور وآقای دکتر فرهاد رجالی، که با راهنمائی‌های ارزنده و تهیه مواد لازم در انجام این پژوهش نقش مؤثّری داشته‌اند و همچنین مدیریت مرکز و مسئول وقت ایستگاه تحقیقات کشاورزی سراب چنگایی بخاطر همکاری‌های بی‌دریغ و صمیمانه سپاسگزاری می‌شود.

References

Abd-Alla, M.H., Elsadek El-Enany, A.W., Nafadi, N.A., Khalaf, D.M. & Morsym F.M. 2014. Synergistic interaction of *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* and arbuscular mycorrhizal fungi as a plant growth promoting biofertilizers for faba bean (*Vicia faba* L.) in alkaline soil. Microbiological Research, 169: 49–58.

Ahmadi, K., Gholizadeh, H., Ebadzadeh, H., Hoseinpour, R., Addeshah, H., Kazemian, A. & Rafiee, M. 2016. Agriculture Statistics. Ministry of Jihad e Agriculture of Iran. Tehran, Iran.Vol:1, 125p.

Ahmed, M. & Khan, M.S. 2010. Influence of selective herbicides on plant growth promoting traits of phosphate solubilizing *Entrobacter asburiae* Strain PS2. Research Journal of Microbiology, 5(9): 849–857.

Amanifar, N., Ghadirian, M. & Salehi, F. 2017. Common bean cultivars and genotypes reaction to *Fusarium solani* f.sp. *phaseolina* with and without wet stress in greenhouse condition Journal of Applied Entomology and Phytopathology, 85(1): 56–68.

Ardakani, M.R., Maleki, S., Aghayri, F., Rejali, F. & Faregh, A.H. 2014. Tripartit symbiosis of lentil (*Lens culinaris* L.) Mycorrhiza and *Azospirillium brosilense* under rainfed condition. In: proceeding of the 4th ISOFAR scientific conference Building Organic Bridges, Turkey, 691–693.

Ardakani, M.R., Pietsch, G., Wanek, W., Shweiger, P., Moghaddam, A. & Friedel, J.K. 2009. Nitrogen fixation and yield of lucerne (*Medicago sati*va L.), as affected by co-inoculation with *Synorrhizobium meliloti* and arbuscular mycorrhiza under dry organic farming condition. American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Science, 6(2): 173–183.

Arfaoui, A., El Hadrami, A., Mabrouk, Y., Sifi, B., Boudabous, A., El Hadrami, I., Daayf, F. & Che´rif, M. 2007. Treatment of chickpea with Rhizobium isolates enhances the expression of phenylpropanoid defense-related genes in response to infection by *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris*. Plant Physiology and Biochemistry, 45:470–479.

Avis T.J., Gravel, V., Antoun, H. & Tweddell, R.J. 2008. Multifaceted beneficial effects of rhizosphere microorganisms on plant health and productivity. Soil Biology and Biochemistry, 40: 1733–1740.

Babalola, O. O. & Ekindolire, A. M. 2012. Identification of native rhizobacteria peculiar to selected food crops in Mmabatho municipality of South Africa. Avialable in: http://www.tandfonline.com/loi/tbah20.

Bhale, U.N., Bansode, S.A. & Simranjeet, S. 2018. Multifactorial Role of Arbuscular Mycorrhizae in Agroecosystem. Avialable in: https://www.researchgate.net/publication/327720150

Blair, M.W., Astudillo, C., Grusak, M.A., Graham, R. & Beebe, S.E. 2009. Inheritance of seed iron and zinc concentrations in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Molecular Breeding, 23: 197–207.

Dehghani, A., Panjehkeh, N., Darvishnia, M., Salari, M. & Asadi Rahmani, H. 2019. Importance and climatic distribution of pathogenic fungi associated with bean root and crown in Lorestan Province. Journal of Applied Entomology and Phytopathology, 86(2): 219–234. (in Persian)

Dhingra, O.D. & Sinclair, J.B. 1995. Basic Plant Pathology Methods. CRC Lewis Publishers. 433p.

Dutta, S., Mishra, A.K. & Dileep-Kumar, B.S. 2008. Induction of systemic resistance against fusarial wilt in Pigeon pea through interaction of plant growth promoting rhizobacteria and rhizobia. Soil Biology and Biochemistry. 40: 452–461.

Egamberdieva, D., Wirth, S., Li, L., Abd-Allah, E.F. & Lindstrom, K. 2017. Microbial cooperation in the rhizosphere improves liquorice growth under salt stress. Avialable in: http://www.tandfonline.com/loi/kbie20.

Elkoca E., Kantar F. & Fiahin, F. 2008. Influence of nitrogen fixing and phosphorus solubilizing bacteria on the nodulation, plant growth, and yield of chickpea. Journal of Plant Nutrition. 31: 157–171.

Estevez De Jensen, C., Kurle, J.E. & Percich, J.A. 2004. Integrated management of edaphic and biotic factors limiting yield of irrigated soybean and dry bean in Minnesota. Field Crop Research. 86: 211–224.

Farfour, S. & Al-Saman, M.A. 2014. Root-rot and stem-canker control in faba bean plants by using some biofrtilizers agents. Plant Pathology and Microbiology, 5: 1–6.

Food & Agriculture Organization (FAO). 2015. FAO statistics. Available in: http//www.fao.org

Ghasemzadeh-Ganjehei, M. & Asgharzadeh, A. 2013. Effects of Rhizobiums sush inoculation and fertilizer on yield and yield components of chickpea (*Cicer arietinum*) in Khorasan-Razavi. Iranian Journal of Pulses Research, 4(1): 51–58.

Gouveia, C.S., Freitas, G., Debrito, J.H., Slaski, J.J. & de Cavalho, M.A.P. 2014. Nutritional and mineral variability in 52 accessions of common bean varieties (*Phaseolus vulgaris* L.) from Madeira Island. Agricultural Science, 5: 317–329.

Hall, R. 1996. Inoculum dynamics of *Fusarium solani* f.sp. *phaseoli* and management of Fusarium root rot. In: Hall, R.(Ed.), Principle and Practice of Managing Soilborn Plant Pathogens. The American Phytopathological Society, St. Paul, MN, pp. 279–320.

Harvenson, R.M., Smith, J.A. & Stroup, W.W. 2005. Improving root health and yield of dry bean in the Nebraska panhandle with a new technique for reducing soil compaction. Plant Disease, 89: 279–284.

Heydari, A., and Pasarakli, M. A. 2010. Review on biological control of fungal plant pathogens using microbial antagonists. Journal of Biological Science, 10:273–290

Hoseini, N. M. 2008. Legume Crop and Yield. Tehran University Publication. 284 p.

Hu, J.L., Lin, X.G., Wang, J.H., Shen, W.S., Wu, S., Peng, S. P. & Mao, T.T. 2010. Arbuscular mycorrhizal fungal inoculation enhances suppression of cucumber Fusarium wilt in Greenhouse soils. Pedosphere, 20(5): 586–593.

Itelima, J.U., Bang, W.J., Sila, M.D., Onyimba, I.A. & Egbere, O.J. 2018. Bio-fertilizer as key player in enhancing soil fertility and crop productivity: A review. Direct Research Journal of Agriculture and Food Science, 6(3): 73–83.

Kalantari, S. 2011. Biological control of common bean root rot using microbial agent in Zanjan. Master's thesis, Zanjan University, 100 p.

Kanouni, L., Larous, L. & Mezaache Aichour, S. 2018. Inhibitory effect of rhizobia isolated from several leguminous against phytopathogenic fungi. Annual Research & Review in Biology, 22(6): 1–16.

Kaur, C., Maini, P. & Shukla, N.P. 2007. Effect of captan and carbendazim fungicides on nodulation and biological nitrogen fixation in soybean. Asian Journal Experimental Science, 21(2): 385–388.

Korir, H., Mungai, N. W., Thuita, M. & Masso, C. 2017. Co-inoculation Effect of Rhizobia and Plant Growth Promoting Rhizobacteria on Common Bean Growth in a Low Phosphorus Soil. Available in: https://www.researchgate.net/publication/313422508

Lak, M.R. & Khodashenas, M. 2008. Effect of different sources of nitrogen on bean root rot disease. Final report, Markazi Agricultural and Natural Resources Center. 30p.

Lak, M.R. 2016. Determination of the main agents of bean root rot and evaluation of potential and damage in Khomein. Final report of project. Markazi Agricultural and Natural Resources Research and Education Center. 20 p.

Lee, J.Y. & Song, S.H. 2007. Evaluation of groundwater quality in coastal areas: implications for sustainable agriculture. Environmental Geology, 52: 1231–1242.

Linderman, R.G.1994. Role of VAM fugi in biocontrol. In: Mycorrhizae and plant health, eds, F.L. Pfleger & R.G. Linderman. APS Press, St. Paul. MN, pp. 1–26.

Liu, Y., Wu, L., Baddeley J.A. & Watson C.A. 2011. Models of biological nitrogen fixation of legumes. Agronomic Sustainability, 31, 155–172.

Macedo, R., Patricia Sales, L., Yoshida, F. Lemes Silva-Abud, L. & Junior, M. L.2017. Potential worldwide distruction of Fusarium dry root rot in common beans based on the optimal environment fir disease occurrence. Available in: http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.137/journal.pone.0187770

Maksimov I.V., Abizgil'dina, R.R. & Pusenkova, L.I. 2011. Plant growth promoting rhizobacteria as alternative to chemical crop protectors from pathogens. Applied Biochemistry and Microbiology, 47:333–345.

Maloy, O.C. 2005. Plant Disease Management. The Plant Health Instructor. Avalable in: https://www.apsnet .org/ edcenter/intropp/topics/Documents/PlantDiseaseManagement.aspx

Matloob, A.H. & Juber, K.S. 2013. Biological control of bean root rot disease caused by *Rhizoctonia solani* under greenhouse and field conditions. Agricultural and Biology Journal of North America, 4(5): 512–519.

Mazen, M.M., El-Batanony, N.H., Abd El-Monium, M.M. & Massoud, O.N. 2008. Cultural filtrate of *Rhizobium* spp. and arbuscular mycorrhiza are potential biological control agents against root rot fungal diseases of faba bean. Global Journal of Biotechnology and Biochemistry, 3(1):32–41.

Messina, V. 2014. Nutritional and health benefits of dried beans. American Society for Nutrition. American Journal of Clinical Nutrition, 437–442.

Muleta, D. 2017. Legume Response to Arbuscular Mycorrhizal Fungi Inoculation in Sustainable Agriculture. Microbes for Legume Improvement, Avalable in: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-319-59174-2_10

Naseri, B. 2008. Root rot of common bean in Zanjan, Iran: major pathogens and yield loss estimates. Australian Plant Pathology, 37: 548–551.

Naseri, B. 2014. Bean production and Fusarium root rot in diverse soil environments in Iran. Journal of Soil Science and Plant Nutrition, 14(1): 177–188.

Naseri, B. & Mousavi, S.S. 2015. Root rot pathogens in field soil, roots and seeds in relation to common bean (*Phaseolus vulgaris* L.), disease and seed production. International Journal of Pest Management. Published online:http://www.tandfonline.com

Nicoli, A., Zambolim, l., Paula Jonior, T.J., Viera, R.F., Teixeira, H. & Carneiro, J.E.S. 2013. Clamidospore concenteration for assessment of Fusarium root rot on common bean. Tropical Plant Pathology, 38(2): 149–151.

Odoh, C. K. 2017. Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR): A Bioprotectant bioinoculant for Sustainable Agrobiology. International Journal of Advanced Research in Biological Sciences, 4(5): 123–141.

Pawar, V.A., Pawar, P.R., Bhosale, A.M. & Chavan, V. 2014. Effect of Rhizobium on seed germination and growth of plants. Journal of Academia and Industrial Research, 3(2): 84–88.

Rezaee, A. M. 1995. Concepts of probability and statistics. Mashhad publishing co. 431p.

Sabbaghpour, S. H. 2014. National document of iranian research strategy. Publication of Agricultureal Research, Education and Extention Organization (AREEO), 417 p.

Safapour, M., Ardakani, M.R., Khaghani, Sh., Rejali, F., Zargari, K., Changizi, M. & Teimuri, M.2011. Response of yield and yield components of three red bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotyps to co-inoculation with Glomus intraradices and *Rhizobium phaseoli*. American-Eurasian Journal of Agriculture & Environmental Sciences, 11(3): 398–405.

Safarloo, Z. & Hemmati, R. 2014. Identification and pathogenesis study of *Fusarium* species related to commonbean root rot in Zanjan Province. Aplied Research in Plant Protection, 3(1): 77–92.

Saremi, H. & Saremi, H. 2014. Isolation of the most common *Fusarium* species and the effect of soil solarization on main pathogenic species in different climatic zones of Iran. Europian Journal of Plant Pathology, 137: 585–596.

Schwartz, H.F., Steadman, J. R., Hall, R. & Forster, R.L. 2005. Compendium of Bean Diseases. APS Press, St. Paul, Minnesota, USA. 109 p.

Shekari, F., Esmaeelpour, B. & Shekari, F. 2010. The physiology of vegetable crops. Vol 2. Danesh Publication, Zanjan. 336 p.

Shepherd M., Nguyen L., Jones ME., Nichols J.D. & Carpenter F.L. 2007. A method for assessing arbuscular mycorrhizal fungi group distribution in tree roots by intergenic transcribed sequence variation. Plant Soil, 290: 259–268.

Sirinivas, T., Sridevi, M. & Mallaiah, K.V. 2008. Effect of pesticides on Rhizobium and nodulation of green gram *Vigna radita* (L.) Wilczek. ICFAI Journal of Life Science, 2: 36–44.

Smolinska, U. & Kowalczyk, W. 2014. The impact of the Brassicaceae plant materials added to the soil on the population of *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. and *Fusarium oxysporum* Schlekht. Jounal of Horticultural Research, 22(1):123–129.

Soltani Tolarod, A.A., Abbaszadeh Dahaji, P., Khavazi, K., Asadi Rahmani, H. & Shahriari, M.H. 2014. Evaluation of Vitavax ®-34 fungicide biological effects on growth and survival of plant growth promoting rhizobacteria genus *Pseudomonas* and *Azospirilium*. Journal of Soil Management and Sustainable Production, 4(1): 235–247.

Strullu-Derrien, C., Selosse, M. A., Kenrick, P. & Martin, F. M. 2018. The origin and evolution of mycorrhizal symbioses: from palaeomycology to phylogenomics. New Phytologist Trust, Available in: https://doi.org/10.1111/nph.15076

Tavassolee, A., Aliasgharzad, N., Salehi, G.R., Mardi, M., Asgharzadeh, A. & Akbarivala, S. 2011. Effect of co-inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi and rhizobia on fungal occupancy in chickpea root and nodule determined byReal-Time PCR. Current Microbiology, 63:107–114.

Vlassak, K.M., Vanderleyden, J. & Graham, D.P.H. 2010. Factors influencing nodule occupancy by inoculant rhizobia. Critical Reviewer in Plant Science, Available in: http://www.tandfonline.com/loi/bpts 20.

Wang, Y.Y., Vestberg, M., Walker, C., Hurme, T., Zhang, X. & Lindström, K. 2008. Diversity and infectivity of arbuscular mycorrhizal fungi in agricultural soils of the Sichuan Province of mainland China. Mycorrhiza, 18: 59–68.

Effectiveness of simultaneous application of indigenous rhizobium and arbuscular mycorrhiza on root rot disease and yield of red bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in Lorestan Province

Ali Dehghani[1,2], Naser Panjehkeh[2], Hadi Asadi Rahmani[3], Mohammad Salari[2], Mostafa Darvishnia[4]

1. Lorestan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extention Organization (AREEO), Khorramabad, Iran
2. Plant Protection Department, Faculty of Agriculture, University of Zabol
3. Soil Biology Research Department, National Iranian Soil and Water Research Institute, Research, Education and Extention Organization (AREEO), Karaj, Iran
4. Plant Protection Department, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khoramabad, Iran

Corresponding author: Ali Dehghani, a_dehghanfarm@yahoo.com

Received: Dec., 17, 2018 6(1) 43-58 Accepted: Mar., 13, 2019

Abstract

Fusarium root rot of common beans is an important economic disease in Iran. It is broadly suggested that farmers use ecofriendly methods of plant disease management, compatible with the sustainable agriculture to minimize the application of pesticides in the fields. The current study was conducted to investigate the effectiveness of native rhizobium, mycorrhiza and chemical treatment. The experiment was carried out in a randomized complete block design in a field experiment at Sarab Changaie Research Station in 2017 with Ofogh red-bean cultivar. The trial treatments exerted as follow, superior native rhizobium isolate *Rhizobium etli* b.v. *phaseoli* (CCSM_B011401)(R), *Rhizophagus irregularis*(M2), *Rhizophagus irregularis* + *Funneliformis mosseae* (M1+M2), *R. irregularis* + *F. mosseae* + *R. etli* b.v. *phaseoli* (R+M1+M2), *R. irregularis* + *R. etli* b.v. *phaseoli* (R+M2), fungicide treatment and control. Rhizobium powder was applied as seed treatment and mycorrhiza was added directly in seedbed during the sowing of seeds. The best result was achieved from co-inoculation of arbuscular mycorrhiza fungi and indigenous rhizobium, which showed a significant increase of the number of seeds per pod, 100 seeds weight, grain yield and biomass yield as 34, 24.9, 51.6 and 38 percent compared to control. In addition, the co-inoculation treatment reduced the incidence of bean root rot disease up to 89%. Results indicated that the synergism of indigenous rhizobia and arbuscular mycorrhiza could be useful for managing of common bean root rot disease, reducing the use of pesticides and producing the crop in a sustainable and optimized manner.

Keywords: co-inoculation, synergism, root rot, biological control, chemical control, biofertilizer