

بررسی تاثیر قارچ های میکوریز آربوسکولار همراه با آلودگی فوزاریومی بر پارامترهای رویشی پیاز در شرایط گلخانه

Effect of Arbuscularmycorrhizal fungi with fusarium infection on onion Vegetative Parameters in Greenhouse Conditions

مرضیه گنجی پور^۱، امیررضا امیرمیجانی^۲، مهدی آزادوار^۳، موسی نجفی نیا^۴، نرگس حاتمی^۵،
ابراهیم صداقتی^{۶*}

۱. کارشناسی ارشد گروه گیاه پزشکی، دانشکده کشاورزی دانشگاه ولیعصر رفسنجان، ایران.
۲. استادیار گروه گیاه پزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه جیرفت.
۳. استادیار بخش تحقیقات گیاه پزشکی، مرکز تحقیقات آموزش کشاورزی و منابع طبیعی جنوب استان کرمان، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی.
۴. تحقیقات بیماریهای گیاهی، موسسه تحقیقات گیاه پزشکی، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران.
۵. موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران
۶. دانشیار گروه بیماری شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی دانشگاه ولیعصر رفسنجان، ایران، (نگارنده مسئول)

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۳/۰۹ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۴/۲۵ - شناسانه برنمود رقمی: 10.22092/aj.2025.362441.1649

چکیده

گنجی پور، م.، امیرمیجانی، ا.، آزادوار، م.، نجفی نیا، م.، حاتمی، ن.، صداقتی، ا.، بررسی تاثیر قارچ های میکوریز آربوسکولار همراه با آلودگی فوزاریومی
بر پارامترهای رویشی پیاز در شرایط گلخانه

نشریه پژوهش های کاربردی زراعی دوره ۳۶- شماره ۴- پایاند ۱۴۱ زمستان ۱۴۰۲ صفحه: ۹۹-۱۱۵

پوسیدگی فوزاریومی پیاز از مهمترین بیماری های پیاز بوده و ماهیت خاکزاد بیمارگر، توانایی تولید اندام های مقاوم و وسیع بودن دامنه میزبانی آن، کنترل این بیماری را مشکل کرده است. اخیراً استفاده از میکروارگانیسم های مفید زیستی به عنوان جایگزین سموم و قارچ کش های شیمیایی در کنترل این بیماری مورد توجه محققین قرار گرفته است. تحقیق حاضر با هدف بررسی تأثیر کاربرد قارچ های میکوریز آربوسکولار به دو شیوه خاک کاربرد و بذرمال، بر شاخص های رشدی و شدت بیماری پوسیدگی فوزاریومی پیاز در شرایط آزمایشگاهی و گلخانه ای انجام شد. پس از نمونه برداری از مزارع پیاز در نواحی مختلف شهرستان جیرفت جداسازی و خالص سازی جدایه ها انجام شد و طی دو مرحله آزمون بیماریزایی در دانهال و غده، جدایه با بالاترین درجه تهاجم تعیین و پس از بررسی های مورفولوژیکی و مولکولی این جدایه به عنوان *Fusarium oxysporum* شناسایی گردید در این تحقیق اثر چهارگونه میکوریز بر پوسیدگی فوزاریومی پیاز روی رقم مینروا بررسی شد. ارزیابی میزان کلنیزاسیون ریشه ها و درصد بالای کلنیزاسیون میکوریزی در آنها، حاکی از استقرار بسیار خوب این قارچ ها در ریشه گیاه پیاز بود بین روش های مختلف تلقیح نسبت به شاهد اختلاف معنی داری در سطح احتمال یک درصد وجود دارد ولی بین روش های بذرمال و خاک کاربرد هیچ اختلاف معنی داری مشاهده نشد و هر دو روش در یک گروه آماری مشابه قرار گرفتند و بیشترین درصد کلنیزاسیون میکوریزی مربوط به روش تلقیح میکوریز به صورت بذرمال بود. نتایج حاصل از بررسی پارامترهای رویشی پیاز نشان داد که پارامترهای رویشی گیاه در حضور قارچ های میکوریز نسبت به حضور آلودگی فوزاریومی افزایش قابل توجهی داشتند.

واژه های کلیدی: بذرمال، پوسیدگی فوزاریومی، خاک کاربرد، کنترل زیستی، میکوریز

آدرس پست الکترونیکی نگارنده مسئول: Sedaghati@vru.ac.ir

مقدمه

پیاز خوراکی با نام علمی *Allium cepa* L. از تیره *Alliaceae* می باشد و از نظر گیاهشناسی گیاهی تک لپه و دوساله با رشد بوته ای ضعیف، دارای ریشه ای افشان و سطحی است. بر اساس مطالعات صورت گرفته این گیاه دارای خواص دارویی بسیاری است و از این جهت ارزش بالایی دارد (Marrelli et al., 2019). گیاه پیاز از قدیمی ترین محصولات کشاورزی است که در جهان کشت و به عنوان یکی از سبزیجات و طعم دهنده های غذا مورد استفاده قرار می گیرد. این محصول در ایران بخصوص در استان های جنوبی مانند هرمزگان و کرمان سطح زیر کشت بالایی دارد. (Agricultural statistics, 2019) کشت پیاز همواره تحت تأثیر انواع تنش های زنده و غیر زنده بوده از جمله عوامل زنده می توان به آفات و عوامل بیماریزا نظیر نماتد ها، باکتری ها و قارچ ها اشاره کرد قارچ های مختلفی به خصوص گونه های متعدد جنس *Fusarium* سبب ایجاد انواع پوسیدگی های طوقه، ریشه و قاعده و مرگ گیاهچه پیاز می شوند. گونه های *F. solani*، *F. oxysporum*، *F. proliferatum* از پراکندگی گسترده ای در جنوب استان کرمان برخوردار بوده و همه ساله خسارت فراوانی به انواع محصولات سبزی، صیفی و جالیزی وارد می نمایند (Amirmijani & Azadvar, 2006) در ایران نیز پوسیدگی فوزاریومی از جمله بیماری های مهم قارچی پیاز است که در مناطق مختلف ایران مشاهده شده است و برای نخستین بار از مزارع پیاز در تبریز گزارش شد و عامل آن *F. solani* معرفی گردید (Asadi & Izadyar, 2016).

(1984). این قارچ علاوه بر خسارت در مزرعه در انبار نیز به محصول خسارت می زند. این خسارت گاهی تا ۸۶ درصد گزارش شده است و علاوه بر *F. solani* گونه های *F. oxysporum* و *F. acuminatum* از ریشه و طبق پیاز گزارش شده اند (Najafinia & Amiri, 2010).

با توجه به تولید اندام های مقاوم مانند کلامیدوسپور، مبارزه با بیماری های فوزاریومی همواره با مشکلات فراوانی همراه بوده است. خسارت ناشی از گونه های فوزاریوم نه تنها در مزرعه بلکه در انبار هم توسعه می یابد و گاهی تا ۸۶ درصد می رسد (Kintge et al., 2020). یکی از مهم ترین راهکارهای مدیریت بیماری های ناشی از فوزاریوم، مراقبت از گیاه و پیشگیری از وقوع بیماری است. عواملی چون استفاده نادرست و ناکارآمد از سموم و کودهایی شیمیایی منجر به کاهش عملکرد محصول، خسارات جبران ناپذیر در محیط زیست و ظهور نژادهای مقاوم بیماری خواهد شد بنابراین کنترل بیولوژیک مانند تلقیح گیاه پیاز با قارچها و یا باکتری های آنتاگونیست به عنوان روشی جایگزین بجای استفاده از مواد شیمیایی در نظر گرفته شده است از این رو نیاز به مطالعه ای راه های بهبود بازده و کنترل بیولوژیک عوامل بیمارگر گیاهی وجود دارد (Rout et al., 2016).

همزیستی بین گیاه و قارچ اولین بار در سال ۱۸۸۱ کشف شد و سپس توسط فرانک میکوریز نام گذاری شد. قارچ های میکوریز همزیست ۸۰ درصد از گیاهان زراعی و باغی هستند. به دلیل توانایی استقرار در بافت ریشه گیاه، تولید

آربوسکول درون سلول های گیاه و ایجاد شبکه ظریف میسلیومی خارج از ریشه گیاه نه تنها سبب افزایش جذب آب و مواد غذایی برای گیاه می شوند، بلکه در رقابت با بیمارگرها برای استقرار و مواد غذایی روی گیاه، کاهش تنش های محیطی و افزایش جمعیت باکتری های مفید خاک مؤثر هستند. افزایش جمعیت این قارچ ها در خاک یا مایه زنی مصنوعی گیاهان با آن ها می تواند ضمن مدیریت انواع بیماری ها، مصرف کودها و سموم شیمیایی را کاهش دهد و در گسترش کشاورزی پایدار نقش داشته باشد (Sadraei, 2012). با توجه به اینکه پیاز ریشه ای افشان، بدون انشعاب و سطحی دارد، عمق نفوذ ریشه ای این محصول کم بوده به نحوی که تقریباً ۹۰ درصد ریشه ها در عمق ۱۸ سانتیمتری خاک متمرکز هستند و لذا به آسانی توسط میکوریز کلونیزه می شوند. همزیستی ریشه پیاز خوراکی با قارچ های میکوریز آربوسکولار توسط محققان مختلف گزارش شده است. (Golubkina et al., 2020)

در این رابطه گزارشاتی نیز مبنی بر بهره گیری از عوامل بیولوژیکی همچون قارچ های میکوریز آربوسکولار به منظور القاء مقاومت در گیاه با هدف تقویت تحمل تنش، ارائه گردیده است، همچنین این قارچ ها موجب تغییراتی در مورفولوژی و فیزیولوژی ریشه گیاه می شوند و گیاهان میکوریزی جذب بیشتری از آب و مواد غذایی و فعالیت آنزیمی بالاتری نسبت به گیاهان غیر میکوریزی دارند (Ahanger et al., 2014). قارچ های میکوریز آربوسکولار به تنهایی یا در ترکیب با سایر میکروارگانیسم ها می توانند

آسیب ناشی از بیمارگرها به ویژه بیمارگرهای خاکزی را کاهش دهند (Goicoechea, 2018; Varma et al., 2020). تلقیح ریشه ها ی گیاهان با ترکیبی از *Glomus mosseae* و *G. fasciculatum* می تواند جایگزین ۵۰ تا ۱۰۰ درصد کود شیمیایی مورد نیاز گیاه شود و مقاومت در برابر عوامل بیماری زای خاکزاد ایجاد کند (Nepomuceno et al., 2019). طی یک پژوهشی دیگر که کنترل بیماری پژمردگی فوزاریومی پیاز با استفاده از PGPR و قارچ میکوریزا و تأثیر آن ها بر رشد و عملکرد مورد بررسی قرار گرفت، نتایج حاکی از آن بود که ترکیب قارچ میکوریز با PGPR منجر به تعویق دوره ی کمون بیماری (۱۹-۲۶ روز پس از تلقیح) شد و گیاهان تیمار شده با میکوریز در مقایسه با گیاهان بدون میکوریز، افزایش قابل توجهی در رشد و عملکرد محصول داشتند (Salamiah et al., 2019).

بنابراین با توجه به اهمیت بیماری های فوزاریومی و خسارت بالای آنها و لزوم انجام اقدامات مدیریتی در جهت کاهش خسارت با رویکرد توجه به محیط زیست و توانایی قارچ های میکوریز در افزایش مقاومت گیاهان در برابر میکروارگانیسم های مضر، این پژوهش به منظور بررسی اثر پیش تیمار دانهال پیاز با برخی قارچ های میکوریز در کاهش خسارت بیماری فوزاریومی و تأثیر بر پارامترهای رویشی پیاز در شرایط گلخانه انجام شد.

مواد و روش ها

نمونه برداری

نمونه برداری در طول دو فصل زمستان

جدول ۱- مناطق نمونه برداری از مزارع آلوده پیاز

Table 1. Sampling areas of infected onion fields

محل جمع آوری Sampling areas	تعداد مزارع نمونه برداری شده Number of farms sampled	محل جمع آوری Sampling areas	تعداد مزارع نمونه برداری شده Number of farms sampled
کریم آباد سفلی Karim Abad-e sofla	2	بند سراجی Band-e Saraji	3
کریم آباد علیا Karim Abad-e olya	3	جیرفت Jiroft	5
دوساری Dosari	2	کلرود Kalerood	2
تم گوان Tom Gavan	1	یاغی بیگی Yaghi beygi	2
طوهان Tohan	3	میشمیه Maysamie	3
دولت آباد Dolat Abad	2	ابراهیم آباد Ebrahim Abad	3
وکیل آباد Vakil Abad	2	خاتون آباد Khaton Abad	1
عباس آباد Abbas Abad	1	هوگرد Hukerd	3

زودرس و روزکوتاه، با رنگ پوست و بافت سفید و از نظر شکل ظاهری و عملکرد بالا جایگاه ویژه‌ای در میان سایر ارقام دارد، در جنوب کرمان بسیار مورد توجه است. بنابراین با توجه به استقبال کشاورزان منطقه از این رقم، حساسیت و خسارت بالای آن نسبت به پوسیدگی فوزاریومی، در این پژوهش از این رقم استفاده شد.

ابتدا بذرها در الکل ۷۰ درصد به مدت یک دقیقه قرار گرفته و پس از ۵-۶ بار آبکشی با آب مقطر سترون در محلول هیپوکلریت سدیم ۲ درصد به مدت ۵ دقیقه قرار داده شد و پس از آبکشی مجدد با آب مقطر سترون در گلدان‌های پنج کیلوگرمی پر شده از خاک، ماسه و پرلیت سترون به نسبت برابر کشت داده شدند و پس از رسیدن به مرحله ی دانه‌الی جهت آزمون بیماریزایی مورد استفاده قرار گرفتند. برای تهیه سوسپانسیون اسپور مورد نظر از روش Taylor *et*

و بهار از مزارع آلوده پیاز مناطق مختلف شهرستان جیرفت صورت گرفت (جدول ۱) و بوته های مشکوک به این بیماری در مراحل مختلف رویشی که دارای علائمی چون زردی، پژمردگی همراه با تغییر رنگ و پوسیدگی در ریشه ها بود به طور تصادفی جمع آوری و به آزمایشگاه قارچ شناسی مرکز تحقیقات جنوب کرمان و دانشگاه جیرفت جهت جداسازی و خالص سازی منتقل شدند.

جداسازی و خالص سازی قارچ

پس از انتقال بوته‌های آلوده به آزمایشگاه، پس از زدودن آلودگی های سطحی، جداسازی و خالص سازی قارچ ها با استفاده از روش Nelson *et al* (۱۹۸۳) و Burgess *et al* (۱۹۹۴) انجام شد.

آزمون بیماریزایی و انتخاب جدایه ی با

بالا ترین درجه تهاجم

از آنجایی که رقم مینروا که رقمی هیبرید،

Glantz (2013) و Rout *et al.* (2016) استفاده شد و غلظت اسپور در سوسپانسیون با لام هموسایتومتر محاسبه و در نهایت سوسپانسیون با غلظت ۱۱۷ اسپور در هر میلی لیتر برای تلقیح دانهاها مورد استفاده قرار گرفت (Al-Askar & Rashad, 2010).

آزمون بیماریزایی

این آزمون در قالب طرح کاملاً تصادفی با هدف شناسایی جدایه با بالاترین درجه تهاجم قارچی و موثرترین روش تلقیح صورت گرفت از میان جدایه های به دست آمده، هشت جدایه انتخاب و آزمون بیماریزایی برای هر جدایه ی فوزاریومی با سه روش تلقیح (پلاگ، غوطه وری ریشه ها در سوسپانسیون اسپور بیمارگر و اضافه کردن سوسپانسیون اسپور بیمارگر به خاک گلدان) با نه تیمار در سه تکرار انجام و تیمار نهم به عنوان شاهد در نظر گرفته شد.

در روش پلاگ به ازای هر جدایه در سه تکرار، ابتدا دوسوم گلدان های نیم کیلوگرمی از خاک و پرلیت به نسبت ۱:۱ پر شدند، سپس در هر گلدان چهار پلاگ از کشت پنج روزه بیمارگر به همراه سه دانهاها سالم پیاز قرار داده شد. برای تیمار شاهد از پلاگ محیط کشت سالم و بدون بیمارگر استفاده شد (Amirmijani & Azadvar, 2006).

برای انجام تلقیح به روش غوطه وری ریشه ها در سوسپانسیون اسپور بیمارگر ابتدا سوسپانسیونی با غلظت ۱۰^۶ اسپور در هر میلی لیتر تهیه، ریشه دانهاها های سالم را در این سوسپانسیون به مدت ۳۰ دقیقه غوطه ور و پس از آن در گلدانهای حاوی خاک و پرلیت سترون

به نسبت ۱:۱ کشت داده شد برای تیمار شاهد، دانهاها در آب مقطر در آب مقطر استریل غوطه ور شدند (Holz & Knox-davies, 1986). و نهایت برای تلقیح به روش اضافه کردن سوسپانسیون اسپور بیمارگر به خاک گلدان ابتدا سه دانهاها در هریک از گلدانهای پر شده با خاک و ماسه و پرلیت سترون کشت شد سپس برای هر تیمار به ازای هر دانهاها ۵ میلی لیتر از سوسپانسیون جدایه های فوزاریوم با غلظت ۱۰^۶ اسپور در هر میلی لیتر اسپور در هر میلی لیتر به خاک گلدان در محل بوته ها اضافه شد و برای تیمار شاهد آب مقطر سترون به خاک گلدان اضافه گردید (Holz & Knox-davies, 1986).

بررسی میزان تهاجم جدایه ها

پس از تلقیح دانهاها با روشهای ذکر شده، گلدانها در دمای ۵ ± ۲۵ درجه سلسیوس در تناوب نوری ۱۱ ساعت روشنایی نگهداری و به مقدار نیاز آبیاری شدند. بوته ها به صورت روزانه مورد بررسی قرار گرفتند و تعداد بوته های از بین رفته شمارش شد و جدایه ای که بیشترین تلفات را داشت به عنوان جدایه با بالاترین درجه تهاجم در نظر گرفته شد (Toit & Inglis, 2003).

آزمون بیماریزایی

ابتدا غده های پیاز سالم رقم مینروا انتخاب، و پس از ضدعفونی با الکل و هیپوکلریت سدیم ۲ درصد زیر هود بیولوژی به مدت یک ساعت گذاشته شدند سپس در قسمت قاعده پیازها هر کدام چهار سوراخ به عمق ۵ میلیمتر ایجاد شد و مجدد اجازه داده شد تا خشک شوند. مایه زنی غده ها با تزریق ۱۱ میکرولیتر

شناسایی مورفولوژیکی گونه با

درجه تهاجم بالاتر

شناسایی مورفولوژیکی گونه با درجه تهاجم بالاتر بر اساس ویژگی‌های ظاهری با استفاده از کلیدهای شناسایی (Nelson et al. 1983) (Gerlach & Nirenberg 1982، و (۲۰۰۸) Leslie & Summerell انجام شد.

شناسایی مولکولی

برای تایید گونه شناسایی شده به روش مورفولوژیکی، DNA این گونه به روش Cenis (1992) استخراج شده و سپس توسط دستگاه نانودراپ (اسپکتروفتومتری) کیفیت و غلظت DNA استخراج شده مورد بررسی قرار گرفت و میزان جذب نور در طول موج ۲۶۰ نانومتر به میزان جذب در طول موج ۲۸۰ نانومتر قرائت شد و در صورتی که نسبت مذکور در محدوده‌ی ۱/۸-۱/۹ بود از آن در مراحل بعد استفاده شد و پس از تکثیر DNA ژنومی در واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) در حجمی معادل ۲۵ میکرولیتر مطابق جدول (۲) و با برنامه حرارتی مطابق جدول (۳) صورت گرفت و نمونه‌ی DNA تکثیر شده برای تعیین توالی ناحیه‌ی ITS توسط جفت آغازگر TS4/ITS1 (جدول ۴) به شرکت توپازژن فرستاده شد و پس از ویرایش توالی به دست آمده با نرم افزار Bio edit به کمک نرم افزار بلاست در پایگاه NCBI تعیین گونه صورت گرفت (White et al., 1990).

تهیه دانهال برای بررسی اثر میکوریز

تهیه‌ی دانهال در گلدان‌های پنج کیلوگرمی پر شده از خاک، ماسه و پرلیت سترون به نسبت برابر، به سه حالت صورت گرفت:

از سوسپانسیون اسپور تهیه شده با روش ذکر شده در آزمون قبل، با غلظت 10^6 اسپور در هر میلی‌لیتر، به هریک از سوراخ‌های ایجاد شده در قسمت قاعده انجام شد، در تیمار شاهد آب مقطر سترون به غده‌ها تزریق شد غده‌های تیمار شده روی دستمال کاغذی استریل در محفظه‌های مرطوب در دمای 25 ± 1 درجه سلسیوس به مدت ۲۱ روز نگهداری شدند. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار برای هر جدایه انجام گرفت (Southwood, 2020; Toit et al., 2003).

بررسی میزان تهاجم جدایه‌ها

غده‌ها از محل تزریق به صورت طولی برش داده شدند و طول پوسیدگی در غده با کولیس اندازه‌گیری شد میزان پیشرفت پوسیدگی در طول غده بر اساس فرمول زیر محاسبه شد (Southwood, 2020; Toit et al., 2003).

$P =$ (درصد بیماریزایی)

[میلی متر) طول پوسیدگی غده / (میلی

متر) طول غده ی پیاز] $\times 100$

انتخاب و شناسایی جدایه با درجه

تهاجم بالاتر

نتایج به دست آمده از دو آزمون بیماریزایی دانهال و غده در قالب طرح کاملاً تصادفی به کمک نرم افزار SAS آنالیز و میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد مورد مقایسه قرار گرفتند و جدایه‌ی که درجه تهاجم بیشتری داشت را انتخاب و شناسایی شد و در آزمایشات گلخانه‌ای مورد استفاده قرار گرفت.

جدول ۲- مقادیر حجمی مواد مورد استفاده برای واکنش PCR
Table 2. Volumetric values of materials used for PCR reaction

مواد	حجم (میکرولیتر)
Materials	Volume(ml)
MASTER MIX	12/5
DNA الگو	10
Template DNA	
پرایمر	1/5
Primer	
آب دیونیزه	1
Dionized water	
حجم کل	25
Total volume	

جدول ۳- چرخه ی دمایی واکنش زنجیره ای پلیمرز (PCR)
Table 3. PCR thermal reaction cycle for DNA replication

مرحله	دما (°C)	زمان (دقیقه)
Cycle	Temperature	Time(minutes)
واسرشت مقدماتی		
Preliminary denaturation	95	5
واسرشت		
Denaturation	94	1
اتصال	45	1
Annealing		
گسترش	72	10
Extension		
گسترش نهایی	12	10
Final extension		

جدول ۴- مشخصات جفت آغازگرهای مورد استفاده در واکنش PCR در این پژوهش
Table 4. List of species-specific primers, sequences and sources of primers

نام آغازگر	ترادف نوکلئوتیدی آغازگر (۳-۵)
Primer name	Primer nucleotide sequence (3'-5')
ITS1	TCCGTAGGTGAACCTGCGG
ITS4	TCCTCCGCTTATTGATATTA
	TGC

شده پر و سپس به میزان ۱۵۰ گرم از اینوکوم میکوریزی به طوریکه هر گرم خاک حاوی ۷۰ اسپور شود روی سطح آن پاشیده و در نهایت بذور ضدعفونی شده در این بستر کشت شدند (De camargo et al., 2017).

گونه های میکوریزی مورد استفاده در این آزمایش *Rhizophagus iranicus*, *R. intraradices*, *Funneliformis mosseae*, *Glomus caledonium* بود که از کلکسیون کشت خالص میکوریزی دانشگاه ولی عصر (عج) رفسنجان تهیه و مورد استفاده قرار گرفت. دانهال ها پس از گذشت ۲ تا ۳ ماه، در آزمایش اصلی مورد استفاده قرار گرفتند.

رنگ آمیزی و تعیین درصد

کلنیزاسیون ریشه ها

به منظور اثبات رابطه همزیستی میکوریز آربوسکولار با ریشه گونه گیاهی منتخب،

شاهد (بدون میکوریز): ابتدا بذرها در الکل ۷۰ درصد به مدت یک دقیقه قرار گرفته و پس از ۶-۵ بار آبکشی با آب مقطر سترون در محلول هیپوکلریت سدیم ۲ درصد به مدت ۵ دقیقه قرار داده شد و پس از آبکشی مجدد با آب مقطر سترون، کشت داده شدند.

تیمار میکوریزی به صورت بذرمال: در این حالت ابتدا بذور به اینوکوم میکوریزی آغشته شده، به گونه ای که یک لایه از اینوکوم میکوریزی بذر را پوشش دهد، بدین منظور بذر پیاز را که با محلول ۲ درصد کربوکسی متیل سلولز (CMC) چسبناک شده در خاک حاوی اسپور و ریشه میکوریز تلقیح شده قرار داده سپس در گلدان های موردنظر کشت شد (De camargo et al., 2017).

تیمار میکوریزی به صورت خاک کاربرد: بدین منظور ابتدا گلدان ها با بستر کشت ذکر

رنگ آمیزی ریشه‌ها به روش Phillips و Hayman (1970) انجام شد. جهت تعیین درصد کلونیزاسیون ریشه، ۳۰ قطعه یک سانتی متری از ریشه‌های رنگ آمیزی شده هر نمونه، به صورت تصادفی انتخاب گردید. سپس اسلاید میکروسکوپی از قطعات ریشه در محلول لاکتوفنل تهیه و بررسی کلونیزاسیون بخش های مختلف ریشه ابتدا با استریومیکروسکوپ نیکون مدل SMZ1000 با بزرگنمایی ۱۲۵ برابر انجام و در نهایت زیر میکروسکوپ نوری کالیبره و مجهز به میکرومتر مدرج انجام شد. و کلونیزاسیون آربوسکولی، وزیکلی، ریشه ای، کلونیزاسیون کل و تعداد اسپور در واحد طول ریشه تعیین شد. (Biermann & Linderman, 1981).

انتقال دانهال و تلقیح بیمارگر

در این مرحله جهت زهکشی مناسب ابتدا کف گلدان‌ها مقداری چاله نخودی سترون ریخته و سپس گلدان‌ها با بستر کشت شامل خاک زراعی و ماسه و پرلیت سترون به نسبت برابر پر شد و در هر گلدان هشت دانهال سالم کشت و به خاک هر گلدان ۴۰ میلی لیتر از *Foxysporum* سوسپانسیون اسپور عامل بیمارگر با غلظت 10^7 اسپور در هر میلی لیتر اضافه شد و گلدان‌ها به طور مرتب آبیاری شدند (Al-Askar & Rashad, 2010).

ارزیابی شدت بیماری

برای ارزیابی شدت بیماری از مقیاس شش درجه ای استفاده شد (Naseri, 2008)

۰ سالم (بدون آسیب)، ۱- آسیب ضعیف (۱۰-۱٪)، ۲- آسیب متوسط (۱۱-۲۵٪)، ۳-

آسیب نسبتاً قوی (۲۶-۵۰٪)، ۴- آسیب قوی (۵۱-۷۵٪) و ۵- آسیب بسیار قوی که موجب تخریب کل گیاه می شود (۷۶-۱۰۰٪). درصد شدت بیماری در هر تکرار با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد.

$$DSI = \sum (ni \times vi) / N \times v \times 100$$

DSI: درصد شدت بیماری

ni: تعداد گیاه با نمره مشابه

Vi: نمره بیماری

N: تعداد بوته در هر تکرار

V: نمره حداکثر شدت بیماری

طرح آزمایش

این آزمایش با شش تیمار در پنج تکرار و به شرح زیر انجام شد:

۱- شاهد سالم: دانهال غیر میکوریزی و بدون بیمارگر

۲- شاهد آلوده: دانهال غیر میکوریزی همراه با بیمارگر

۳- دانهال های کشت شده میکوریزی به صورت بذرمال و بدون بیمارگر

۴- دانهال های کشت شده میکوریزی به صورت بذرمال و همراه با بیمارگر

۵- دانهال های کشت شده میکوریزی به صورت خاک کاربرد بدون بیمارگر

۶- دانهال های کشت شده میکوریزی به صورت خاک کاربرد همراه با بیمارگر

اندازه گیری پارامترهای رویشی

پس از گذشت سه هفته با مشاهده علائم زردی و پژمردگی در بوته‌ها نمونه برداری صورت گرفت. و پارامترهای رویشی نظیر ارتفاع بوته و طول ریشه را با استفاده از خط

جدول ۵- جدایه های *Fusarium* spp. به دست آمده و محل جمع آوری آنهاTable 5. The obtained isolates of *Fusarium* spp. and the areas of their collection

کد جدایه ها Isolate code	محل جمع آوری Sampling area	کد جدایه ها Isolate code	محل جمع آوری Sampling area
B ₁ و A ₁	کریم آباد سفلی Karim Abad-e sofla	Bc ₂ و Bc ₁	بند سراجی Band-e Saraji
K ₂ و K ₁	کریم آباد علیا Karim Abad-e olya	C ₂ و B ₂	جیرفت Jiroft
DS ₂ و DS ₁	دوساری Dosari	K ₂ و K ₁	کلرود Kalerood
Tk و T ₁	تم گاوان Tom Gavan	Yb ₂ و Yb ₁	یاغی بیگی Yaghi beygi
Th ₂ و Th ₁	طوهان Tohan	M ₂ و M ₁	میثمیه Maysamie
D ₂ و D ₁	دولت آباد Dolat Abad	E ₂ و E ₁	ابراهیم آباد Ebrahim Abad
V ₂ و V ₁	وکیل آباد Vakil Abad	Kh ₂ و Kh ₁	خاتون آباد Khaton Abad
Ab ₂ و Ab ₁	عباس آباد Abbas Abad	H ₂ و H ₁	هوگرد Hukerd

آزمون بیماریزایی روی دانهال

در این آزمون علائم به صورت زردی و پژمردگی و در نهایت مرگ دانهال های آلوده مشاهده شد. براساس نتایج تجزیه واریانس آزمون بیماریزایی روی دانهال نشان داد، بین جدایه های مورد بررسی اختلاف معنی داری در سطح احتمال یک درصد وجود دارد (جدول ۶) این در حالی است که بین روش های تلقیح و همچنین اثر متقابل جدایه و روش تلقیح جدایه ها اثر معنی داری بر مرگ و میر بوته ها مشاهده نشد. بر اساس نتایج مقایسه میانگین جدایه ها، مشخص شد جدایه A₁ به همراه جدایه های D₁ و G₁ در یک گروه آماری قرار گرفت و بیشترین مرگ و میر بوته ها به تنهایی در جدایه A₁ اتفاق افتاد (جدول ۷) نتایج این بررسی نشان داد، علیرغم عدم وجود اختلاف معنی دار بین روشهای تلقیح جدایه ها در میزان بوته های ازدست رفته، در حالتی که به خاک گلدانها سوسپانسیون قارچی افزوده شده بود، بیشترین تعداد بوته ازدست رفته، شمارش شد. بنابراین از

کش مدرج با دقت ۰/۱ سانتی متر، قطر غده با دستگاه کولیس دیجیتال با دقت ۰/۱ سانتی متر، حجم ریشه با اندازه گیری میزان تغییر حجم آب در استوانه مدرج با دقت ۰/۱ میلی لیتر و وزن تر و خشک بوته با ترازوی دیجیتال مورد ارزیابی قرار گرفتند. در این تحقیق تمام محاسبات آماری با استفاده از نرم افزار SAS انجام شد و رسم نمودارها و جداول نیز توسط نرم افزارهای Excel و Word صورت گرفت.

نتایج

نمونه برداری و جداسازی و

خالص سازی قارچ

در این پژوهش پس از جداسازی عامل بیماری از بخش های پوسیده ی داخلی قاعده، طبق، ریشه ها و ساقه ی پیاز از مناطق مختلف شهرستان جیرفت در مجموع ۳۲ جدایه به دست آمد که جدایه ها بر اساس خصوصیات ظاهری پرگنه به چهار گروه تقسیم و در نهایت ۸ جدایه انتخاب شد. (جدول ۵)

جدول ۶- تجزیه واریانس اثر جدایه های قارچ فوزاریوم به دست آمده از مناطق مختلف جبرفت و روش های مختلف تلقیح آن بر میزان مرگ و میر دانهال های پیاز
Table 6. Variance analysis for the effect of *Fusarium* fungus isolates obtained from different areas of Jiroft and different inoculation methods on the mortality rate of onion seedlings

منابع تغییرات Sources of variation	درجه آزادی DF	میانگین مربعات Mean squared
جدایه Isolate	8	2/83**
روش Method	2	ns0/01
جدایه × روش Isolate × Method	16	ns0/42
خطا Error	54	0/67
ضریب تغییرات (%) Coefficient of variation	-	18/71

ns، * و ** به ترتیب نشان دهنده معنی دار بودن در سطح احتمال ۵ درصد، ۱ درصد و غیر معنی دار بودن می باشند

ns, * and ** indicate significance at the probability level of 5%, 1% and non-significance, respectively.

جدول ۷- مقایسه اثر جدایه های قارچ فوزاریوم به دست آمده از مناطق مختلف جبرفت بر میزان مرگ و میر دانهال های پیاز

Table 7. Mean comparison of the effect of *Fusarium* fungus isolates obtained from different areas of Jiroft on the mortality rate of onion seedlings.

جدایه Isolate	تعداد بوته مرده Number of dead plants
A ₁	1/55 ^a
B ₁	0/67 ^c
B ₂	0/33 ^d
Tk	0/88 ^b
M ₁	1/00 ^b
G ₁	1/33 ^{ab}
D ₁	1/44 ^{ab}
T ₁	0/22 ^d
شاهد Control	0 ^e

میانگین های دارای حروف مشابه، تفاوت معنی داری از نظر آماری در سطح احتمال ۱ درصد ندارند

The means with the same letters are not statistically significantly different at the 1% probability level

مورد بررسی از نظر میزان خسارت اختلاف معنی داری در سطح احتمال یک درصد وجود دارد (جدول ۸) بر اساس نتایج مقایسه میانگین جدایه ها مشخص شد جدایه A₁ به همراه M₁ و B₁ در یک گروه آماری قرار گرفت و بیشترین خسارت در غده ها به تنهایی توسط جدایه A₁ وارد شده بود. به طوریکه جدایه A₁ وارد شده بود. به طوریکه جدایه A₁ با ۹۴/۸۸ درصد خسارت بیشترین میزان خسارت را به غده ها وارد کرده بود (جدول ۹)

انتخاب و شناسایی جدایه با بالاترین

درجه تهاجم

نتایج حاصل از هر دو آزمون نشان داد که

این روش تلقیح در ادامه ی مراحل آزمون های گلخانه ای استفاده شد. بر اساس نتایج به دست آمده از این آزمون جدایه ی A₁ به عنوان جدایه با بالاترین درجه تهاجم انتخاب شد و به منظور تأیید این نتایج، آزمون بیماری زایی روی غده نیز انجام شد.

آزمون بیماری زایی روی غده

علائم بیماری در آزمون غده به صورت تغییر رنگ و قهوه ای شدن بافت پیاز از محل تزریق سوسپانسیون بیمارگر و توسعه ی آن به فلس های میانی مشاهده شد. نتایج تجزیه واریانس آزمون بیماری زایی روی غده نشان داد، بین جدایه های

جدول ۸- تجزیه واریانس اثر جدایه های فوزاریوم بر درصد خسارت غده پیاز

Table 8. Variance analysis of the effect of *Fusarium* isolates on the percentage of onion tuber damage

منابع تغییرات Sources of variation	درجه آزادی DF	میانگین مربعات Mean squared
جدایه Isolate	8	28122/74**
خطا Error	18	542/86
ضریب تغییرات (%) Coefficient of variation	-	14/93

*, ** و ns به ترتیب نشان دهنده معنی دار بودن در سطح احتمال ۵ درصد، ۱ درصد و غیر معنی دار بودن می باشند

ns, * and ** indicate significance at the probability level of 5%, 1% and non-significance, respectively.

جدول ۹- نتیجه مقایسه میانگین اثر جدایه های فوزاریوم بر درصد خسارت غده پیاز

Table 9. Mean comparison of the effect of *Fusarium* isolates on the percentage of onion tuber damage

جدایه Isolate	درصد خسارت Damage percentage
A ₁	94/88 ^a
B ₁	80/49 ^b
B ₂	44/00 ^c
Tk	29/41 ^d
M ₁	90/18 ^{ab}
G ₁	43/63 ^c
D ₁	45/09 ^c
T ₁	49/72 ^c
شاهد Control	0 ^d

میانگین های دارای حروف مشابه، تفاوت معنی داری از نظر آماری در سطح احتمال ۱ درصد ندارند

The means with the same letters are not statistically significantly different at the 1% probability level

شناسایی مولکولی

آزمون مشابهت یابی توالی به دست آمده نشان داد، که جدایه ی منتخب بیشترین شباهت (۹۹/۸٪) را با توالی گونه ی *F. oxysporum* دارد که نتایج بررسی های مورفولوژیکی را تأیید می نماید

نتایج آزمایشات گلخانه

تعیین درصد همزیستی

بررسی میکروسکوپی ریشه های رنگ آمیزی شده دانهال های میکوریزی به صورت بذرمال و خاک کاربرد و دانهال های شاهد (غیرمیکوریزی) که در خاک سترون شده کشت شده بودند، نشان داد که در هر دو تیمار بذرمال و خاک کاربرد کلنیزاسیون میکوریزی به خوبی صورت گرفته است و وجود اندام های

جدایه A₁ بیشترین شدت بیماری زایی را داشت. در آزمون دانهال بیشترین تعداد بوته ازدست رفته و در آزمون غده بیشترین میزان پوسیدگی غده به ترتیب مربوط به بوته ها و غده های تیمار شده با جدایه ی A₁ لذا این جدایه به عنوان جدایه ی جدایه با بالاترین درجه تهاجم انتخاب شد و در آزمایشات گلخانه ای بعدی مورد استفاده قرار گرفت.

شناسایی مورفولوژیکی

پس از کشت جدایه با بالاترین درجه تهاجم بر روی محیط کشت PDA (سیب زمینی ، دکستروز ، آگار) و بررسی خصوصیات و اندام های آن بر اساس کلیدهای شناسایی ذکر شده این گونه *F. oxysporum* تشخیص داده شد.

جدول ۱۰- تجزیه واریانس اثر شیوه ی تلقیح میکوریزا بر درصد کلونیزاسیون ریشه های پیاز

Table 10. Variance analysis for the effect of the method of the mycorrhizal inoculation on the percentage of colonization of onion roots

منابع تغییرات Sources of variation	درجه آزادی DF	میانگین مربعات Mean squared درصد خسارت Damage percentage
روش تلقیح میکوریز Mycorrhizal inoculation method	2	15474/59**
خطا Error	15	20/77
ضریب تغییرات (%) Coefficient of variation	-	7/77

** در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار است

** Significant at the 1% probability level

جدول ۱۱- نتیجه میانگین اثر شیوه های مختلف تلقیح میکوریزا بر درصد کلونیزاسیون ریشه های پیاز

Table 11. Mean comparison for the effect of different methods of mycorrhizal inoculation on the percentage of colonization of onion roots

روش تلقیح میکوریز Mycorrhizal inoculation method	درصد کلونیزاسیون Colonization percentage
بذر مال Seed coating methods	88/42 ^a
خاک کاربرد Soil application	87/50 ^a
شاهد Control	0 ^b

میانگین های دارای حروف مشابه، تفاوت معنی داری از نظر آماری در سطح احتمال ۱ درصد ندارند

The means with the same letters are not statistically significantly different at the 1% probability level

تلقیح، بوته های تلقیح شده با میکوریز به صورت بذر مال بیشترین درصد کلنیزاسیون میکوریزی (۸۸/۴۲ درصد) را داشتند، هرچند بوته های تلقیح شده با میکوریز به صورت خاک کاربرد نیز به خوبی توسط اندام های میکوریزی کلونیزه شده بودند (جدول ۱۱).

پارامترهای رویشی

نتایج اثر تلقیح ریشه پیاز با قارچ میکوریز در حضور عامل پژمردگی فوزاریومی بر صفات رویشی گیاه شامل وزن تر و خشک بوته، ارتفاع بوته، قطر غده، حجم و طول ریشه در ادامه شرح داده می شود:

میکوریزی نظیر هیف ها و وزیکل های درون ریشه ای بیانگر برقراری رابطه ی همزیستی بود. در تیمار شاهد هیچ گونه کلنیزاسیون میکوریزی مشاهده نشد. نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱۰) اثر شیوه های مختلف تلقیح میکوریزا بر میزان کلنیزاسیون ریشه های پیاز نشان داد بین روش های مختلف تلقیح نسبت به شاهد اختلاف معنی داری در سطح احتمال یک درصد وجود دارد ولی بین روش های بذر مال و خاک کاربرد هیچ اختلاف معنی داری مشاهده نشد و هر دو روش در یک گروه آماری مشابه قرار گرفتند. باوجود عدم اختلاف معنی دار بین روش های

جدول ۱۲ - نتیجه تجزیه واریانس صفات رویشی بوته های پیاز تحت تأثیر قارچ های میکوریز و فوزاریوم

Table 12. Variance analysis for the vegetative traits of onion plants as affected by mycorrhizal and *Fusarium* fungi.

منابع تغییرات Sources of variation	درجه آزادی DF	میانگین مربعات Mean squared					
		طول ریشه Root length	حجم ریشه Root volume	قطر غده Tube diameter	ارتفاع بوته Plant height	وزن خشک Dry weight	وزن تر Fresh weight
میکوریز Mycorrhiza	2	2/54**	0/004 ^{ns}	0/50*	20/11*	0/02**	1/74**
بیمارگر Pathogen	1	6/77**	0/05**	1/81**	69/93**	0/01*	5/21**
میکوریز × میکوریز × بیمارگر Mycorrhiza x Pathogen	2	0/35 ^{ns}	0/003 ^{ns}	0/25 ^{ns}	12/84 ^{ns}	0/01*	0/10 ^{ns}
خطا Error	18	0/19	0/003	0/13	5/55	0/002	0/21
ضریب تغییرات (%)	-	27/54	10/33	7/84	12/34	8/80	14/931
Coefficient of variation							

، * و ^{ns} به ترتیب نشان دهنده معنی دار بودن در سطح احتمال ۱ درصد، ۵ درصد و غیر معنی دار بودن می باشند.،* and ^{ns} indicate significance at the probability level of 5%, 1% and non-significance, respectively

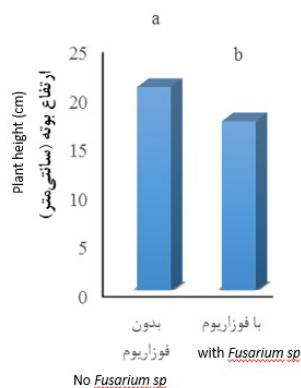
ارتفاع بوته

نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارهای مختلف بر ارتفاع بوته پیاز نشان داد که کاربرد میکوریز (به هر دو روش) در سطح احتمال ۵ درصد نسبت به عدم کاربرد مایکوریز اختلاف معنی داری بر ارتفاع بوته های پیاز دارد. همچنین این نتایج نشان داد، ارتفاع بوته ها در شرایط حضور بیمارگر نسبت به عدم حضور بیمارگر در سطح یک درصد معنی دار است. در صورتی که اثر متقابل این دو عامل بر ارتفاع بوته معنی دار نبود (جدول ۱۲). این نتایج نشان می دهد، تلقیح ریشه با قارچ های میکوریزی منجر به افزایش ارتفاع بوته ها شده است، بطوریکه ارتفاع بوته از ۱۶۶

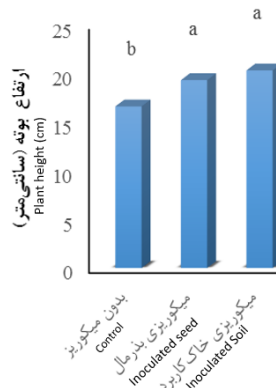
سانتی متر در بوته های غیر میکوریزی به ۱۹۳ و ۲۰۳ سانتی متر در سطح میکوریزایی بذرمال و خاک کاربرد افزایش معنی داری یافت که به این معنا است تلقیح میکوریز به جذب آب و مواد غذایی توسط گیاه کمک کرده است و به دنبال آن باعث بهبود رشد گیاه شده است (شکل ۱). همچنین وجود قارچ بیمارگر منجر به کاهش ارتفاع بوته نسبت به بوته های سالم گردیده است (شکل ۲)

قطر غده

نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارهای مختلف بر قطر غده پیاز نشان داد که کاربرد میکوریز (به هر دو روش) در سطح احتمال ۵ درصد نسبت به عدم کاربرد میکوریز اختلاف معنی داری بر قطر



شکل ۲- اثر بیمارگر بر ارتفاع بوته
Figure 2. Effect of pathogen on plant height



شکل ۱- اثر میکوریز بر ارتفاع بوته
Figure 1. Mycorrhizal effect on plant height

میانگین های دارای حروف مشابه، تفاوت معنی داری از نظر آماری در سطح احتمال

۵ درصد ندارند

The means with the same letters are not statistically significantly different at the 5% probability level

میکوریز در سطح احتمال یک درصد نسبت به عدم کاربرد میکوریز اختلاف معنی داری بر طول ریشه دارد. همچنین این نتایج نشان داد، طول ریشه ها در شرایط حضور بیمارگر نسبت به عدم حضور بیمارگر در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود (جدول ۱۲). این نتایج نشان می دهد که تلقیح میکوریز سبب افزایش طول ریشه در بوته های پیاز شده است بطوریکه طول ریشه از ۳/۱۹ سانتی متر در بوته های غیر میکوریزی به ۵/۲۲ سانتی متر در سطح میکوریزی بذر مال افزایش معنی داری داشته است (شکل ۵). همچنین وجود قارچ بیمارگر منجر به کاهش ۴۰/۳۹ درصدی طول ریشه نسبت به بوته های سالم شده است (شکل ۶).

حجم ریشه

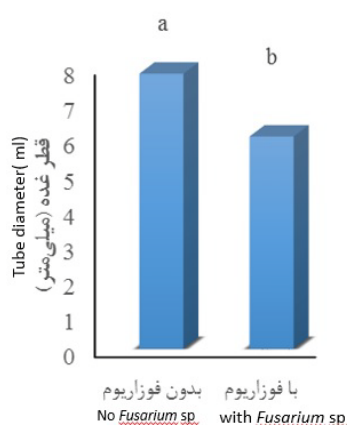
نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارهای مختلف

غده در بوته های پیاز دارد. همچنین این نتایج نشان داد، قطر غده ها در شرایط حضور بیمارگر نسبت به عدم حضور بیمارگر در سطح ۱ درصد معنی دار است. در صورتی که اثر متقابل این دو عامل بر قطر غده معنی دار نبود (جدول ۱۲). این نتایج نشان می دهد، تلقیح ریشه با قارچ های میکوریز منجر به افزایش قطر غده شده است، بطوریکه قطر غده از ۵/۰۷ میلی متر در بوته های غیر میکوریزی به ۷/۶۳ و ۷/۸۰ میلی متر در سطح میکوریزی بذر مال و خاک کاربرد افزایش معنی داری یافته است (شکل ۳). همچنین وجود قارچ بیمارگر منجر به کاهش قطر غده نسبت به بوته های سالم شده است (شکل ۴).

طول ریشه

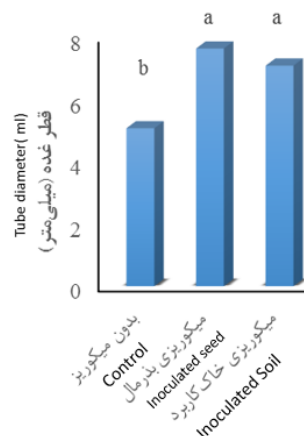
نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارهای مختلف

بر طول ریشه بوته های پیاز نشان داد که کاربرد



شکل ۴- اثر بیمارگر بر قطر غده

Figure 4. Pathogenic effect on tuber diameter

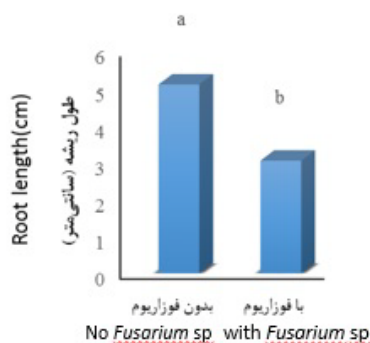


شکل ۳- اثر میکوریز بر قطر غده

Figure 3. Mycorrhizal effect on tuber diameter

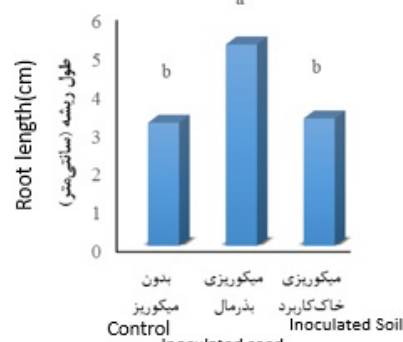
میانگین های دارای حروف مشابه، تفاوت معنی داری از نظر آماری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند

The means with the same letters are not statistically significantly different at the 5% probability level



شکل ۶- اثر بیمارگر بر طول ریشه

Figure 6. Pathogenic effect on root length



شکل ۵- اثر میکوریز بر طول ریشه

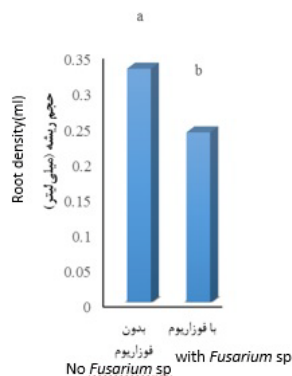
Figure 5. Mycorrhizal effect on root length

میانگین های دارای حروف مشابه، تفاوت معنی داری از نظر آماری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند

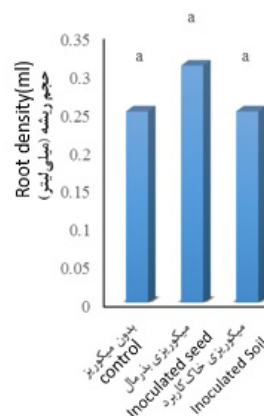
The means with the same letters are not statistically significantly different at the 5% probability level

است. در صورتی که اثر متقابل این دو عامل بر حجم ریشه معنی دار نبود (جدول ۱۲). این نتایج نشان داد که علی رغم عدم وجود اختلاف معنی دار بین تیمارهای مختلف در میزان حجم ریشه بوته های پیاز، در حالتی که میکوریز به صورت بذر مال به بوته ها تلقیح شده بود حجم

بر حجم ریشه بوته های پیاز نشان داد که کاربرد میکوریز از نظر آماری تأثیر معنی داری نسبت به عدم کاربرد میکوریز بر حجم ریشه بوته های پیاز نداشت. همچنین این نتایج نشان داد، حجم ریشه در شرایط حضور بیمارگر نسبت به عدم حضور بیمارگر در سطح یک درصد معنی دار



شکل ۸- اثر بیمارگر بر حجم ریشه
Figure 8. Pathogenic effect on root density



شکل ۷- اثر میکوریز بر حجم ریشه
Figure 7. The effect of mycorrhizae on root density

میانگین های دارای حروف مشابه، تفاوت معنی داری از نظر آماری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند

The means with the same letters are not statistically significantly different at the 5% probability level

است، بطوریکه وزن تر بوته از ۱۰/۵۷ گرم در بوته های غیرمیکوریزی به ۱۲/۰۴ و ۱۳/۵۱ گرم در سطح میکوریزایی خاک کاربرد و بذرمال افزایش معنی داری می یابد (شکل ۹). همچنین وجود قارچ بیمارگر منجر به کاهش ۲۱/۷۶ درصدی وزن تر بوته نسبت به بوته های سالم شده است (شکل ۱۰).

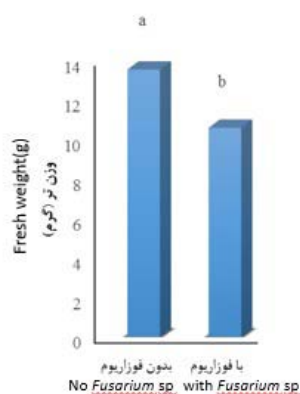
وزن خشک بوته

نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارهای مختلف بر وزن خشک بوته پیاز نشان داد که کاربرد میکوریز در سطح احتمال یک درصد نسبت به عدم کاربرد میکوریز اختلاف معنی داری بر وزن خشک بوته های پیاز دارد. همچنین نتایج نشان داد، وزن خشک بوته ها در شرایط حضور بیمارگر نسبت به عدم حضور بیمارگر ۵ درصد معنی دار است. همچنین اثر متقابل قارچ میکوریز و فوزاریوم از نظر

ریشه افزایش ۲۴ درصدی نسبت به بوته های غیرمیکوریزی داشت (شکل ۷). همچنین وجود قارچ بیمارگر سبب کاهش ۲۷/۲۷ درصدی حجم ریشه بوته ها نسبت به بوته های سالم شده است (شکل ۸).

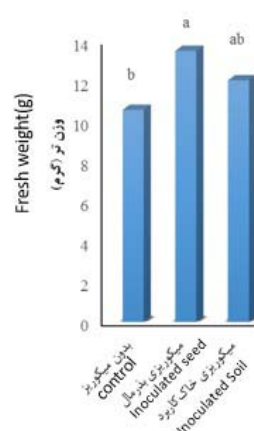
وزن تر بوته

نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارهای مختلف بر وزن تر بوته پیاز نشان داد که کاربرد میکوریز در سطح احتمال یک درصد نسبت به عدم کاربرد میکوریز اختلاف معنی داری بر وزن تر بوته های پیاز دارد. همچنین این نتایج نشان داد، وزن تر بوته ها در شرایط حضور بیمارگر نسبت به عدم حضور بیمارگر در سطح یک درصد معنی دار است. در صورتی که اثر متقابل این دو عامل بر وزن تر بوته معنی دار نبود (جدول ۱۲). این نتایج نشان می دهد، تلقیح ریشه با قارچ های میکوریزی منجر به افزایش وزن تر بوته ها شده



شکل ۱۰- اثر بیمارگر بر وزن تر بوته

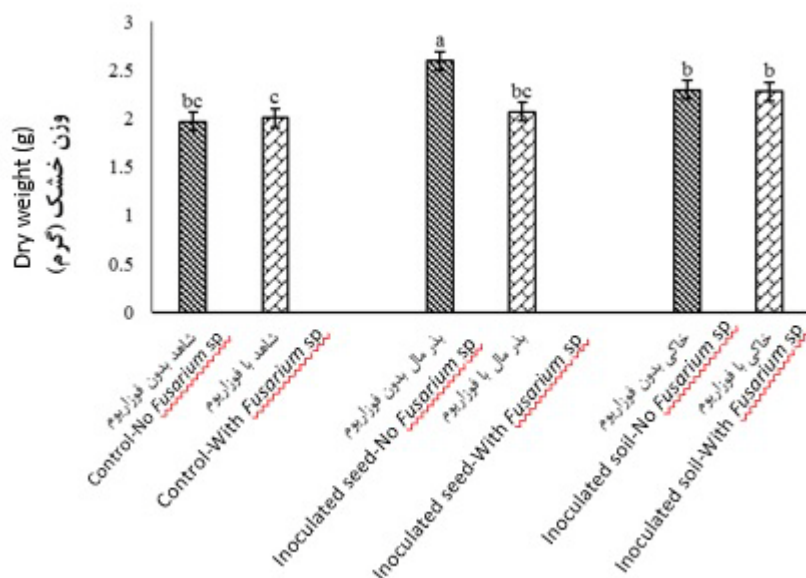
Figure 10. Disease effect on plant fresh weight



شکل ۹- اثر میکوریزا بر وزن تر بوته

Figure 9. The effect of mycorrhizae on plant fresh weight

میانگین های دارای حروف مشابه، تفاوت معنی داری از نظر آماری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند
The means with the same letters are not statistically significantly different at the 5% probability level



شکل ۱۱- اثرات متقابل میکوریزا و بیمارگر بر وزن خشک بوته پیاز

Figure 11. The mutual effects of mycorrhizae and pathogen on dry weight of onion plant

میانگین های دارای حروف مشابه، تفاوت معنی داری از نظر آماری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند
The means with the same letters are not statistically significantly different at the 5% probability level

مربوط به بوته های میکوریزی به صورت بذر مال بدون اعمال فوزاریوم بودند و به تنهایی در یک گروه آماری قرار گرفت. کمترین وزن خشک

آماري بر وزن خشک بوته در سطح پنج درصد معنی دار بود (جدول ۱۲). نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل نشان داد بیشترین وزن خشک بوته

بوته مربوط به بوته‌های غیرمیکوریزی بود. هرچند بوته‌های غیرمیکوریزی در گروه‌های آماری یکسان قرار گرفتند، وزن خشک بوته در بوته‌های غیرمیکوریزی بدون حضور فوزاریوم بیشتر از بوته‌های غیرمیکوریزی در حضور بیمارگر بود (شکل ۱۱). از این رو می‌توان گفت که کاربرد میکوریز و کلونیزه شدن ریشه‌ها، منجر به بهبود یافتن تغذیه‌ی گیاه و در نهایت افزایش وزن بوته‌ها شده است. همچنین تلقیح بوته‌ها با قارچ فوزاریوم منجر به بروز بیماری و به دنبال آن اختلال در جذب آب و مواد غذایی و در نهایت کاهش وزن بوته‌ها گردیده است.

بحث

یکی از بیماری‌های مهم در پیاز پوسیدگی فوزاریومی پایه ناشی از *Foxysporum* می‌باشد. بروز این بیماری در گیاه همراه با تأخیر در ظهور نهال، کاهش و یا توقف رشد و پوسیدگی پایه و نهایتاً مرگ بوته در گیاهان در حال رشد است (Marzu, 2015). کاهش رشد گیاه در اثر حمله‌ی فوزاریوم ممکن است به دلیل آسیب‌های ناشی از بیمارگر به ریشه‌ی گیاه و پوسیدگی و از بین رفتن بخش‌هایی از ریشه باشد (Holz & Knox-Davies; 1986, Mandal et al., 2020) که منجر به اختلال در جذب آب و مواد غذایی توسط شده ریشه و نهایتاً کاهش رشد گیاه را در پی دارد. همچنین با فعالیت این بیمارگر در بافت آوندهای چوبی و انسداد آنها موجب از بین رفتن قسمت‌های بالاتر از محل تهاجم آوندی بیمارگر می‌شود (Benhamou & Thériault, 1992; Mandal et al., 2020). گونه *Foxysporum* از شایع‌ترین گونه‌های جنس

فوزاریوم است که سبب بروز بیماری پوسیدگی فوزاریومی روی گیاه پیاز می‌گردد. در بسیاری از مطالعات صورت گرفته در این زمینه نیز این گونه به‌عنوان یکی از گونه‌های خسارت‌زا معرفی شده است (Yuvarani et al., 2020; Nasr Esfahani, 2018; Jahedi et al., 2018; Ghanbarzadeh et al., 2016). به دلیل خاک‌زاد بودن بیمارگر و دشواری کنترل این بیماری استفاده از ترکیبات شیمیایی به‌عنوان اصلی‌ترین روش کنترل این بیماری طی سال‌های اخیر متداول شده است. با توجه به محدودیت‌های روزافزون پیرامون استفاده از ترکیبات شیمیایی به دلیل اثرات نامطلوب این ترکیبات بر سلامت انسان و محیط‌زیست و همچنین ظهور جمعیت‌های مقاوم بیمارگرهای گیاهی، جایگزین کردن روش‌های سازگارتر با سلامت محیط و انسان ضروری است. توانمندی گونه‌های میکوریز در کاهش و کنترل بیماری‌های گیاهی به‌ویژه بیمارگرهای خاک‌زاد و همچنین تحریک رشد گیاه و اصلاح ساختمان خاک باعث شده است که به این قارچ‌ها به‌عنوان عوامل بیوکنترل مؤثر توجه ویژه‌ای شود. نتایج این پژوهش نشان داد که ریشه‌های گیاه پیاز خوراکی به‌خوبی توسط اندام‌های میکوریزی کلونیزه شدند. مطالعات در مورد گیاهان این خانواده و تعامل آنها با قارچ‌های میکوریز آربوسکولار سابقه‌ای طولانی دارد. محققین مختلف نشان دادند که گیاه پیاز به سبب داشتن سیستم ریشه‌ای ساده و سطحی و رشد کند آنها سطح بالایی از تعاملات با قارچ‌های میکوریز آربوسکولار را دارند. به‌طوری ریشه‌های پیاز درصد بالایی از

کلنیزاسیون میکوریزی (۹۱٪) را دارند (Galvan *et al.*, 2009; Lone *et al.*, 2015). بررسی میزان کلنیزاسیون میکوریزی ریشه های پیاز در تحقیق حاضر نیز نشان داد که گونه های میکوریز تلقیح شده به بوته ها توانسته اند به خوبی ریشه ها را کلونیزه کنند و رابطه ی همزیستی با گیاه برقرار کنند و نتایج حاصل از بررسی کلنیزاسیون میکوریزی ریشه های پیاز با نتایج تحقیقات پیشین مطابقت داشت. مقالات بسیاری در مورد اثرات مفید میکوریزا و انواع آن منتشر شده است، نظیر تحریک رشد گیاه، تغییر در مقاومت عمومی گیاهان در برابر عوامل بیماری زا و همچنین مقاومت و تحمل بیشتر گیاهان در برابر عوامل تنش زای محیطی، که به سرما، خشکی و یا شوری بالا می توان اشاره کرد (Schönbeck & Dehne, 1989; Pakarinen *et al.* 2021). همچنین از مکانیسم های میکوریزی در کنترل بیماری می توان به مواردی نظیر، رقابت برای محل های استقرار روی ریشه ی میزبان، بهبود تغذیه میزبان، جبران خسارت آسیب های ریشه، تغییر در مورفولوژی ریشه ی میزبان، تغییر در جامعه میکروبی ناحیه ی میکروریزوسفر، آنتی بیوز و فعال سازی مکانیسم های دفاعی گیاه اشاره کرد (Singh *et al.*, 2000). تحقیقات اخیر نشان داده است که استفاده از میکروارگانیسم های محرک رشد گیاه در برابر قارچ های بیماری زای خاکزی مانند فوزاریوم می تواند به صورت سازگار با محیط زیست باعث مهار بیمارگر شده و رشد میسیلیومی فوزاریوم ها را کنترل کرده در نتیجه مانع پوسیدگی های فوزاریومی شود (Sharkawy & Abdelrazik, 2022) و همچنین قارچ های

میکوریز آربوسکولار می توانند با تغییر در متابولیسم ثانویه گیاهان و تولید موادی مانند مواد فنلی و ذخیره آنها در گیاه باعث افزایش مقاومت گیاه در برابر عوامل بیماریزا شود (Hallasgo *et al.*, 2022). ترشحات ریشه گیاه در حالت معمولی می تواند باعث تحریک جوانه زنی اسپورهای فوزاریوم شود ولی زمانی که ریشه گیاه توسط قارچ های میکوریز آربوسکولار کلونیزه شود به علت تغییرات ایجاد شده در متابولیسم ثانویه گیاه، ترشحات ریشه گیاه مانع جوانه زنی اسپورهای فوزاریوم می شود (Steinkellner *et al.*, 2012) به طور کلی قارچ های میکوریز آربوسکولار ممکن است با تقویت صفات مورفولوژیکی، یا ایجاد تغییرات فیزیولوژیکی و تغییر در ترکیب شیمیایی بافت های گیاه و یا تغییر در جمعیت میکروبی موجود در ریزوسفر، بیماری های قارچی ریشه را محدود کنند (Akkopru & Demir, 2005) (و همچنین کاهش) پژمردگی فوزاریومی در گیاهان تلقیح شده با قارچ های میکوریز آربوسکولار ممکن است مربوط به افزایش تولید اسید فوزاریک باشد که می تواند به طور مسقیم پژمردگی داخل بافت آوندی را کاهش دهد و از سوی دیگر قارچ های میکوریز آربوسکولار سبب افزایش فعالیت آنزیم های متابولیزه کننده فسفات شده و در نهایت موجب کاهش پژمردگی فوزاریومی می گردد (Hashem *et al.*, 2021).
نتایج به دست آمده از تحقیق حاضر نشان داد که بیماری پوسیدگی فوزاریومی سبب کاهش معنی دار پارامترهای رویشی شامل وزن تر و خشک بوته، حجم و طول ریشه، ارتفاع بوته و

قطر غده در بوته‌های آلوده نسبت به بوته‌های شاهد شد. گزارشات متعددی مبنی بر اثر کاهنده‌ی فوزاریوم بر کاهش پارامترهای رویشی در پیاز (Salamiah *et al.*, 2019) و محصولات مختلف نظیر طالبی و عدس (Kari Dolatabadi *et al.*, 2012) گوجه‌فرنگی، فلفل، بادمجان و کدو حلواپی (Al-Hmoud & Al- Momany *et al.*, 2015) شده است. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که کاربرد میکوریز سبب افزایش معنی‌داری در صفات رویشی گیاه پیاز نسبت به تیمار شاهد در شرایط کنترل‌شده و آلوده به بیماری فوزاریوم شد. به‌طوری‌که بیشترین وزن خشک را بوته‌های میکوریزی به‌صورت بذرمال در شرایط بدون آلودگی فوزاریومی داشتند درحالی‌که کمترین وزن خشک مربوط به تیمار شاهد غیر میکوریزی بود. در تحقیق مشابه دانهال‌های گوجه‌فرنگی که با قارچ *G.mosseae* تلقیح شده بودند در خاک با فسفر پایین رشد بهتری نسبت به دانهال‌های فاقد میکوریز داشتند و گوجه‌فرنگی‌های میکوریزی وزن خشک بالاتری داشتند (Graham & Miller ۲۰۰۵). همچنین در پژوهشی دیگر نتایج نشان داد که بوته‌های غیر میکوریزی پیاز نسبت به بوته‌های میکوریزی کاهش رشد داشتند (Lone *et al.*, 2015). نتایج پژوهش حاضر با مطالعات پیشین مطابقت دارد. به‌طورمعمول ارتباط دوطرفه میان قارچ‌های میکوریز و گیاهان می‌تواند در افزایش سلامت گیاهان و همچنین غلبه بر تنش‌های زنده و غیرزنده‌ی محیطی مؤثر باشد. این تأثیر ممکن است از طریق کنترل عوامل بیمارگر خاکزاد و کاهش خسارات ناشی از آن‌ها باشد

(Singh *et al.*, 2000). مطالعات بسیاری مبنی بر اثربخشی کاربرد میکوریز در کنترل بیماری پوسیدگی فوزاریومی در محصولات مختلفی نظیر گوجه‌فرنگی و فلفل (Al-Raddad, 1988)، نخود (Siddiqui & Singh, 2004)، ذرت (Sharkawy & Olowe *et al.*, 2018) کدو (Abdelrazik 2022 EL wang *et al.*, 2020) بادمجان (Al-Hmoud & Al- Momany *et al.*, 2015) صورت گرفته است.

نتیجه‌گیری کلی

مهمترین هدف این پژوهش بررسی اثرات کنترلی قارچ‌های میکوریز آربوسکولار بر شدت بیماری و شاخص‌های رشدی گیاه پیاز در شرایط آلودگی به قارچ فوزاریوم بود. از نتایج حاصل از بررسی شدت بیماری در تیمارها چنین به نظر می‌رسد که گونه‌های میکوریزی قادرند به‌طور معنی‌داری کنترل مؤثری بر قارچ عامل این بیماری *F. oxysporum* داشته باشند. همچنین ارزیابی صفات رویشی در حضور قارچ‌های میکوریز نشان داد که این قارچ‌ها اثرات مطلوبی بر پارامترهای رویشی داشته‌اند و به‌طورکلی این همزیستی با بهبود تغذیه و تغییر در ترکیبات بیوشیمیایی گیاه می‌تواند سبب افزایش مقاومت در برابر تنش‌های محیطی گردد همچنین برای کاربرد قارچ‌های میکوریز روش‌های مختلفی وجود دارد که ارزیابی شیوه تلقیح میکوریز در خزانه‌ی دانهال به‌صورت خاک کاربرد و یا بذرمال کردن نشان داد هر دو شیوه‌ی کاربرد در میزان کلنیزاسیون ریشه‌ها و تأثیر بر صفات موردنظر مؤثر بوده و بسته به شرایط کار و میزان اینوکولوم میکوریزی در

دسترس، شکل و نوع بذر قابل استفاده هستند. ضمن اینکه شیوه ی بذر مال کردن از مزایای بیشتری از جمله «کارایی بالا، سهولت کلونیزه شدن ریشه ها، نیاز به میزان کمتر مایه تلقیح، حداقل تجهیزات و امکان استفاده برای طیف گستردهای از بذرها "برخوردار است. امید که این نتایج برای تحقیقات تکمیلی و کاربردی در آینده مورد استفاده قرار گیرد و بتوان از نتایج این آزمایشات به صورت عملی بهره برد.

References

- Agricultural statistics. 2019. Crops of the crop year 2017-2018. Ministry of Agricultural Jihad, Planning and Economic Deputy, Bureau of Statistics and Information Technology, first volume.
- Ahanger, M. A., Hashem, A., Abd-Allah, E. F., and Ahmad, P. 2014. Arbuscular mycorrhiza in crop improvement under environmental stress. In *Emerging technologies and management of crop stress tolerance* (pp. 69-95). Academic Press.
- Akkopru, A., and Demir, S. 2005. Biological control of *Fusarium* wilt in tomato caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* by AMF *Glomus intraradices* and some Rhizobacteria. *Journal of Phytopathology*, 153: 544-550.
- Al-Askar, A. A., and Rashad, Y. M. 2010. Arbuscular mycorrhizal fungi: a biocontrol agent against common bean *Fusarium* root rot disease. *Plant Pathology*, 9(1), 31-38.
- Al-Raddad, A. A. 1988. Effect of vesicular-arbuscular mycorrhiza on *Fusarium* wilt of tomato and pepper. *Alexandria Journal of Agricultural Research* (Egypt).
- Amirmijani, A., and Azadvar, M. 2006. Occurrence of anion set decay disease in Iran. 17th Iranian Plant Protection Congress. (In Persian with English Summary)
- Asadi, P., and Izadyar, M. 1983. onion root and basal rot. 5th Iranian Plant Protection Congress. (In Persian with English Summary)
- Benhamou, N., and Thériault, G. 1992. Treatment with chitosan enhances resistance of tomato plants to the crown and root rot pathogen *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 41(1), 33-52.
- Biermann, B., and Linderman, R. G. 1981. Quantifying vesicular-arbuscular mycorrhizae. a proposed method towards standardization. *New Phytologist*, 87(1), 63-67.
- Burgess, L. W., Liddell, C.M., and Summerell, B. A. 1994. Laboratory manual for *Fusarium* research. *Fusarium research laboratory department of crop sciences university of Sydney*. 133pp.

- Cenis, J.L. 1992, Rapid extraction of fungal DNA for PCR amplification. *Nucleic Acids Research*. 20(9), 2380.
- De Camargo, F. R. T., Silva, I. L., Barros, P. J. R., Ascheri, D. P. R., Rodovalho, R. S., Bellizzi, N. C., and de Campos, A. J. 2017. Physiological quality of soybean seeds treated with carboxymethyl cellulose and fungicide. *American Journal of Plant Sciences*, 8(11), 2748.
- El-Sharkawy, E. S., and Abdelrazik, E. 2022. Biocontrol of *Fusarium* root rot in squash using mycorrhizal fungi and antagonistic microorganisms. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 32:13.
- Galván, G. A., Parádi, I., Burger, K., Baar, J., Kuyper, T. W., Scholten, O. E., and Kik, C. 2009. Molecular diversity of Arbuscular mycorrhizal fungi in onion roots from organic and conventional farming systems in the Netherlands. *Mycorrhiza*, 19(5), 317-328.
- Gerlach, W., and Nirenberg. H. 1982. The genus *Fusarium* apictorial atlas. Milt. Bid. Bundesanst. Land Forstwirtschaft. *Berlin-Dahlem*, 209:1-409.
- Ghanbarzadeh, B., Safaie, N., Mohammadi Goltapeh, E., Rezaee Danesh, Y., and Khelghatibana, F. 2016. Biological control of *Fusarium* basal rot of onion using *Trichoderma harzianum* and *Glomus mosseae*. *Journal of Crop Protection*, 5(3): 359-368.
- Goicoechea, N. 2020. Mycorrhizal Fungi as Bioprotectors of Crops Against Verticillium Wilt—A Hypothetical Scenario Under Changing Environmental Conditions. *Plant*, 9(11), 1468.
- Golubkina, N., Krivenkov, L., Sekara, A. Vasileva, V., Tallarita, A., and Caruso, G. 2020. Prospects of Arbuscular Mycorrhizal Fungi utilization in production of Allium plants. *Plans*, 9(2), 279.
- Graham, J. H., and Miller, R. M. 2005. Mycorrhizas: gene to function. *Plant & Soil*, 274(1), 79-100.
- Holz, G., and Knox-Davies, P. S. 1986. Relation between endo-pectin-trans-eliminase and apoplast-symplast sugars in *Fusarium* bulb rot of onions. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 28(3), 411-421.
- Jahedi, A., Mohammadi Goltapeh, E., and Safaie, N. 2018. The first report of

- Fusarium culmorum* and *Fusarium subglutinans* in onion from West and East Azarbaijan provinces. *Iranian Journal of Plant Protection Science*, 49(1), 1-9.
- Kari, D. H., Mohammadi, G. E., Dalalpour, M. N., Rabiei, M., Rohani, N., and Varma, A. 2012. Biocontrol potential of root endophytic fungi and trichoderma species against *Fusarium* wilt of lentil under in vitro and greenhouse conditions. *Tarbiat Modares University Press*, 14(2), 407-420.
- Leslie, J. F., and Summerell, B. A., 2008. The *Fusarium* laboratory manual. John Wiley & Sons.
- Lone, R., Shuab, R., Wani, K. A., Ganaie, M. A., Tiwari, A. K., and Koul, K. K. 2015. Mycorrhizal influence on metabolites, indigestible oligosaccharides, mineral nutrition and phytochemical constituents in onion (*Allium cepa* L.) plant. *Scientia Horticulturae*, 193: 55-61.
- Mandal, S., Saxena, A., Cramer, C., and Steiner, L. 2020. Comparing efficiencies of two selection approaches for improving *Fusarium* basal rot resistance in short-day Onion after a Single cycle of selection. *Horticulturae*, 6(2), 26.
- Marrelli, M., Amodeo, V., Statti, G., and Conforti, F. 2019. Biological properties and bioactive components of *Allium cepa* L. Focus on potential benefits in the treatment of obesity and related comorbidities. *Molecules*, 24(1), 119.
- Marzu, J. C. 2015. Genetic analyses of resistances to *Fusarium* basal rot and pink root in onion. Doctoral dissertation, The University of Wisconsin-Madison.
- Najafinia, M., and Amiri, M. 2010. Identification of fungal agents of garlic and onion leaf spot and blight in Jiroft, Iran. *Journal of Plant Production*, 17: 91-101. (In Persian with English Summary)
- Naseri, B. 2008. Root rot of common bean in Zanjan, Iran: major pathogens and yield loss estimates. *Australasian Plant Pathology*, 37(6), 546-551.
- Nasr Esfahani, M. 2018. Genetic and virulence variation in *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae* causing root and basal rot of common onion in Iran. *Journal of Phytopathology*, 166(7-8), 572-580.
- Nelson, P. E., Toussoun, T. A., and Marasas, W. F. O. 1983. *Fusarium* species, An Illustrated Mannual for Identification. Pennsylvania StateUniversity Press,

- University Park. 193.
- Nepomuceno, R. A., Brown, C. M. B., Mojica, P. N., and Brown, M. B. 2019. Biological control potential of Vesicular Arbuscular Mycorrhizal Root Inoculant (VAMRI) and associated phosphate solubilizing bacteria, pseudochrobactrum asaccharolyticum against soilborne phytopathogens of Onion (*Allium cepa* L. Var. Red Creole). *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 52(7-8), 714–732.
- Olowe, O. M., Olawuyi, O. J., and Sobowale, A.A. 2018. Role of Arbuscular Mycorrhizal Fungi as biocontrol agents against *Fusarium verticillioides* causing Ear rot of *Zea mays* L. (Maize). *Current Plant Biology*, 15: 30-37.
- Pakarinen, A., Hannu, F., Sari, T., Pirjo, K. , and Sannakajsa, V. 2021. Boreal soil microbial diversity and seed onion mycorrhizal colonization is unaffected by preceding one season crop cultivation. *European Journal of Soil Biology*, 105:1-12.
- Phillips, J. M., and Hayman, D. S. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society*, 55(1), 158-161.
- Rout, E., Tripathy, P., Nanda, S., Nayak, S., and Joshi, R. K. 2016. Evaluation of cultivated and wild allium accessions for resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. cepae. *Proceedings of the National Academy of Sciences. India Section B: Biological Sciences*, 86(3), 643-649.
- Sadravi, M. 2012. Role of Arbuscular Mycorrhizal Fungi in plant diseases management. *Plant Pathology Science*, 1(1), 1-13.
- Salamiah, S., Ciptady, M. A., and Nisa, C. 2019. Control of *Fusarium* disease in Onion with plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) and Mycorrhizae and its effect on growth and yield of Onion. *Journal of Wetlands Environmental Management*, 7(1), 23-40.
- Schönbeck, F., and Dehne, H. W. 1989. VA-mycorrhiza and plant health. In *Developments in soil science*. Elsevier, Vol. 18: 83-91.
- Siddiqui, Z. A., and Futai, K. 2008. Mycorrhizae: sustainable agriculture and

- forestry. Dordrecht: Springer. P. 359.
- Singh, R., Adholeya, A., and Mukerji, K. G. 2000. Mycorrhiza in Control of Soil Borne Pathogens. *Mycorrhizal Biology*, 173–196.
- Southwood, M.J., 2020. Determination of *Fusarium* species associated with Onion plants (*Allium cepa*) in field in Burkina Faso Causing damping-Off and bulb rots. *American Journal of Plant Sciences*, 11(1), 64-79.
- Steinkellner, S., Hage-Ahmed, K., Garcia-Garrido, J.M., Illana, A., and Ocampo, J.A. 2012. A comparison of wild-type, old and modern tomato cultivars in the interaction with the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* and the tomato pathogen *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Mycorrhiza*, 22: 189- 194.
- Taylor, A., Vagany, V., Barbara, D. J., Thomas, B., Pink, D.A.C., Jones, J. E., and Clarkson, J. P. 2013. Identification of differential resistance to six *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae* isolates in commercial onion cultivars through the development of a rapid seedling assay. *Plant Pathology*, 62(1),103-111.
- Toit, L. du, J., and Inglis, D. A. 2003. *Fusarium proliferatum* pathogenic on onion bulbs in Washington. *Plant Disease*, 87(6), 750.
- Varma, A., Prasad, R., and Tuteja, N. 2018. Mycorrhiza-Nutrient Uptake, Biocontrol. *Ecorestoration* (4rd Ed.) Springer, Cham, Switzerland.
- Wang, X., Ding, T., Li, Y., Guo, Y., Li, Y., and Duan, T. 2015. Dual inoculation of alfalfa (*Medicago sativa* L.) with *Funnelliformis mosseae* and *Sinorhizobium medicae* can reduce *Fusarium* wilt. *Journal of Applied Microbiology*, 29(3), 665-679.
- White, T. J., Bruns, T., Lee, S. J. W. T., and Taylor, J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *PCR protocols: A Guide to Methods and Applications*, 18(1), 315-322.
- Yuvarani, R., Mohan, K. R., Balabaskar, P., and Kumar, K. S. 2020. Induction of defense-related enzymes in onion by using combined application of fungal and bacterial biocontrol agents with am Fungi against *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae*. *Plant Archives*, 20(1), 21-24.

Effect of Arbuscularmycorrhizal fungi with fusarium infection on onion Vegetative Parameters in Greenhouse Conditions

Marziye Ganjipur¹, Amir Reza Amirmijani², Mehdi Azadvar³, Mousa Najafiniya⁴,
Narges Hatami⁵, Ebrahim Sedaghati^{6*}

1. M.Sc. of Plant Pathology Faculty of Agriculture, Vali-e-Asr University, Rafsanjan, Iran.
2. Assistant Professor, Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Jiroft University, Jiroft Iran.
3. Assistant Professor, Plant Protection Department, South Kerman Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Jiroft, Iran
4. Plant Diseases Research Department, Iranian Research Institute of Plant Protection. AREEO, Tehran, Iran.
5. Research Institute of Forests and Rangeland, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran.
6. Associate Professor, Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Vali-e-Asr University, Rafsanjan, Iran (Corresponding author)

Received: May 2024 Accepted: July 2025- DOI: 10.22092/aj.2025.362441.1649

Extended Abstract

Ganjipur, M., Amirmijani, A., Azadvar, M., Najafiniya, M., Hatami, N., *, Effect of Arbuscularmycorrhizal fungi with fusarium infection on onion Vegetative Parameters in Greenhouse Conditions
Applied Research in Field Crops Vol 36, No. 4, 2024, 15-18: 99-115(in Persian)

Introduction:

Fusarium rot in onions caused by the fungus *Fusarium oxysporum* is one of the most important onion diseases, which represents a significant agricultural challenge, leading to decreased onion yields globally. In addition to affecting the crop on the farm, this pathogen also causes damage during storage. The responsible organism infects the basal stem plate of the onion bulb and eventually kills the entire plant through degradation of this vital structure. Infections by *F. oxysporum* in dormant bulbs during storage, paving the way for secondary infections. its Soilborne nature, coupled with a broad host range complicates its control. Biological control strategies, using antagonistic microorganisms, are considered as an alternative method for existing chemical treatments. These methods are integral to the development of sustainable agriculture, particularly in suppressing phytopathogenic fungi. Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) are beneficial soil microorganisms. They establish mutualistic symbioses with the roots of the most important food crops, playing essential roles in sustaining long-term soil fertility
Email address of the corresponding author: Sedaghati@vru.ac.ir

and health. This study investigated the efficacy of the arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) with two application methods of soil and seed coating in mitigating *Fusarium* onion rot and promoting plant growth factors under laboratory and pot conditions.

Materials&Methods

Sampling:

First, samples were collected from onion fields in different areas of Jiroft city, which is one of the main onion-growing areas in Iran.

Isolation and identification of pathogens from diseased onion plants:

After transferring the infected plants to the laboratory, isolation and purification of fungi was done.

Pathogenicity test and selection of the most aggressive isolates:

After the isolation and purification of the isolates, and pathogenicity tests on seedlings and tubers, the most aggressive isolate was determined. Then the morphological identification of the target species was conducted based on the visual characteristics using the identification keys of Leslie & Summerell (2008).

Investigating the effect of mycorrhizae on *fusarium* rot disease of onion:

We evaluated the synergistic effect of four mycorrhizal species, *Rhizophagus* *iranicus*, *R. intraradices*, *Funneliformis mosseae*, and *Glomus caledonium* on the control of *Fusarium* onion rot (the aggressive isolate) in a foreign hybrid cultivar (Minerva).

Staining and determination of root colonization percentage:

In order to prove the symbiotic relationship of arbuscular mycorrhizae with the roots of the selected plant species, the roots were stained according to the method of Phillips and Hayman (1970).

Pathogen inoculation and determination of disease severity percentage:

A six-point scale was used to evaluate the severity of the disease (Naseri, 2008).

Results & Discussion:

The most aggressive isolate was determined and subsequent morphological and molecular analyses confirmed it as *Fusarium oxysporum*. Root staining procedures revealed strong colonization by the mycorrhizal fungi within the onion roots. The

results showed that the growth parameters increased significantly in the presence of mycorrhizal fungi. Conversely, the vegetative traits showed a decrease in the presence of *Fusarium* contamination. The data showed that root inoculation with mycorrhizal fungi led to increases in plant height, tuber diameter, root length, root volume, and fresh and dry weight of the plants. Specifically, plant height increased from 16.6 cm in non-mycorrhizal plants to 19.3 and 20.3 cm in plants treated with the mycorrhizal fungi via seed and soil, respectively. Tuber diameter expanded from 5.07 mm in non-mycorrhizal plants to 7.63 and 7.80 mm following seed surface mycorrhization and soil application. Root length showed a significant rise from 19.3 cm in non-mycorrhizal plants to 22.5 cm in mycorrhization with seeds. Also, a 24% increase in the root mass was observed in the inoculated plants. The fresh and dry weights of the plants were considerably higher in the mycorrhizal-treated plants compared the non-mycorrhizal plants, while all the vegetative traits showed a decrease in the presence of *Fusarium* contamination.

Conclusion:

The primary objective of this research was to investigate the efficacy of arbuscular mycorrhizal fungi in mitigating disease severity and enhancing growth parameters of onion plants. The findings suggest that mycorrhizal species can significantly reduce the severity of the disease caused by *F. oxysporum*.

Acknowledgements:

Thanks to Vali Asr University of Rafsanjan for permission to use the mycorrhizal collection in this research.

Keywords: Biocontrol, *Fusarium* root, Mycorrhizae, Seed coating, Soil application

References:

- Leslie, J. F., and Summerell, B. A., 2008. The *Fusarium* laboratory manual. John Wiley & Sons.
- Naseri, B. 2008. Root rot of common bean in Zanzan, Iran: major pathogens and yield loss estimates. *Australasian Plant Pathology*, 37(6), 546-551.

Phillips, J. M., and Hayman, D. S. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society*, 55(1),158-161.