نشریه پژوهش های کاربردی زراعی
دوره۳۶- شماره ۴- پیاپند ۱۴۱ زمستان ۱۴۰۲

بررسی تاثیر قارچ‌های 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 گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی دانشگاه ولیعصر رفسنجان، ایران.
۲. استادیار گروه گیاهپزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه جیرفت.
۳. استادیاربخش تحقیقات گیاهپزشکی، مرکز تحقیقاتو آموزش کشاورزی و منابع طبیعی جنوب استان کرمان، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی.
۴. تحقیقات بیماریهای گیاهی، موسسه تحقیقات گیاهپزشکی، 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 - شناسانهٔ 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 قارچ‌های میکوریز آربوسکولار همراه با آلودگی فوزاریومی بر پارامترهای رویشی پیاز در شرایط گلخانه
نشریه پژوهش های کاربردی زراعی دوره ۳۶ - شماره ۴- پیاپند ۱۴۱ زمستان ۱۴۰۲ صفحه: ۱۱۵-۹۹

پوسیدگی فوزاریومی پیاز از مهمترین بیماری‌های پیاز بوده و ماهیت خاکزاد بیمارگر، توانایی تولید اندام‌های مقاوم و وسیع بودن دامنهی میزبانی آن، کنترل این بیماری را مشکل کرده است. اخیراً استفاده از میکروارگانیسم‌های مفید زیستی به عنوان جایگزین سموم و قارچکش‌های شیمیایی در کنترل این بیماری مورد توجه محققین قرار گرفته است. تحقیق حاضر با هدف بررسی تأثیر کاربرد قارچهای میکوریز آربوسکولار به دو شیوهی خاک کاربرد و بذرمال ، بر شاخص‌های رشدی و شدت بیماری پوسیدگی فوزاریومی پیاز در شرایط آزمایشگاهی و گلخانه‌ای انجام شد. پس از نمونه‌برداری از مزارع پیاز در نواحی مختلف شهرستان جیرفت جداسازی و خالص‌سازی جدایه‌ها انجام شد و طی دو مرحله آزمون بیماریزایی در دانهال و غده، جدایه با بالاترین درجه تهاجم تعیین و پس از بررسیهای 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 ریشه‌ها و درصد بالای کلنیزاسیون میکوریزی در آنها، حاکی از استقرار بسیار خوب این قارچ‌ها در ریشه گیاه پیاز بود بین روش‌های مختلف تلقیح نسبت به شاهد اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد وجود دارد ولی بین روش‌های بذرمال و خاک کاربرد هیچ اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد و هر دو روش در یک گروه آماری مشابه قرار گرفتند و بیشترین درصد کلنیزاسیون میکوریزی مربوط به روش تلقیح میکوریز به‌صورت بذرمال بود . نتایج حاصل از بررسی پارامترهای رویشی پیاز نشان داد که پارامترهای رویشی گیاه در حضور قارچ‌های 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 تیره‌ی Alliaceae می‌باشد و از نظر گیاه‌شناسی گیاهی تک‌لپه و دوساله با رشد بوته‌ای ضعیف، دارای ریشه‌ی 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 به‌عنوان یکی از سبزیجات و طعم‌دهنده‌های غذا مورد استفاده قرار می‌گیرد. این محصول در ایران بخصوص در استان‌های جنوبی مانند هرمزگان و کرمان سطح زیر کشت بالایی دارد.(Agricultural statistics, 2019) کشت پیاز همواره تحت تأثیر انواع تنش‌های زنده و غیر زنده بوده ازجمله عوامل زنده می‌توان به آفات و عوامل بیماریزا نظیر نماتد ها، باکتری‌ها و قارچ‌ها اشاره کرد قارچ‌های مختلفی به‌خصوص گونه‌های متعدد جنس *Fusarium* سبب ایجاد انواع پوسیدگی‌های طوقه، ریشه و قاعده و مرگ گیاهچه پیاز می‌شوند. گونه‌های *F. proliferatum*، *F. oxysporum* و *F.solani* از پراکندگی گسترده‌ای در جنوب استان کرمان برخوردار بوده و همه‌ساله خسارت فراوانی به انواع محصولات سبزی، صیفی و جالیزی وارد می‌نمایند ((Amirmijani & Azadvar, 2006 در ایران نیز پوسیدگی فوزاریومی ازجمله بیماری‌های 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, 1984). این قارچ علاوه بر خسارت در مزرعه در انبار نیز به محصول خسارت می‌زند. 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 اندام‌های مقاوم مانند کلامیدوسپور، مبارزه با بیماری‌های فوزاریومی همواره با مشکلات فراوانی همراه بوده است. خسارت ناشی از گونه‌های فوزاریوم نه‌تنها در مزرعه بلکه در انبار هم توسعه می‌یابد و گاهی تا ۸۶ درصد می‌رسد (Kintege *et al*., 2020). یکی از مهم‌ترین راهکارهای مدیریت بیماری‌های 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 جبران‌ناپذیر در محیط زیست و ظهور نژادهای مقاوم بیماری خواهد شد بنابراین کنترل بیولوژیک مانند تلقیح گیاه پیاز با قارچها و یا باکتری‌های آنتاگونیست به عنوان روشی جایگزین بجای استفاده از مواد شیمیایی در نظر گرفته شده است ازاین‌رو نیاز به مطالعه‌ی راه‌های 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 نام‌گذاری شد. قارچ‌های میکوریز همزیست ۸۰ درصد از گیاهان زراعی و باغی هستند. به دلیل توانایی استقرار در بافت ریشه گیاه، تولید

آربوسکول درون سلول‌های گیاه و ایجاد شبکه ظریف میسیلیومی خارج از ریشه گیاه نه‌تنها سبب افزایش جذب آب و مواد غذایی برای گیاه می‌شوند، بلکه در رقابت با بیمارگرها برای استقرار و مواد غذایی روی گیاه، کاهش تنش‌های محیطی و افزایش جمعیت باکتری‌های مفید خاک مؤثر هستند. افزایش جمعیت این قارچ‌ها در خاک یا مایه‌زنی مصنوعی گیاهان با آن‌ها می‌تواند ضمن مدیریت انواع بیماری‌ها، مصرف کودها و سموم شیمیایی را کاهش دهد و در گسترش کشاورزی پایدار نقش داشته باشد (Sadravi, 2012). با توجه به اینکه پیاز ریشه‌ای افشان، بدون انشعاب و سطحی دارد، عمق نفوذ ریشه‌ی این محصول کم بوده به‌نحوی که تقریباً ۹۰ درصد ریشه‌ها در عمق ۱۸ سانتیمتری خاک متمرکز هستند و لذا به‌آسانی توسط میکوریز کلونیزه می‌شوند. 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 بهره‌گیری از عوامل بیولوژیکی همچون قارچ‌های میکوریز آربوسکولار به‌منظور القاء مقاومت در گیاه با هدف تقویت تحمل تنش، ارائه گردیده است، همچنین این قارچ‌ها موجب تغییراتی در مورفولوژی و فیزیولوژی ریشه گیاه می‌شوند و گیاهان میکوریزی جذب بیشتری از آب و مواد غذایی و فعالیت آنزیمی بالاتری نسبت به گیاهان غیر میکوریزی دارند (Ahanger *et al.*, 2014). قارچ‌های میکوریز آربوسکولار به‌تنهایی یا در ترکیب با سایر میکروارگانیسم‌ها می‌توانند آسیب ناشی از بیمارگرها به‌ویژه بیمارگرهای خاکزی را کاهش دهند (Goicoechea, 2020; Varma *et al.*, 2018). تلقیح ریشه‌ها ی گیاهان با ترکیبی از *Glomus mosseae* و *G. fasciculatum* می‌تواند جایگزین ۵۰ تا ۱۰۰ درصد کود شیمیایی مورد نیاز گیاه شود و مقاومت در برابر عوامل بیماری‌زای خاکزاد ایجاد کند (Nepomuceno *et al.*, 2019). طی یک پژوهشی دیگر که کنترل بیماری پژمردگی فوزاریومی پیاز با استفاده ازPGPR و قارچ میکوریزا و تأثیر آن‌ها بر رشد و عملکرد مورد بررسی قرار گرفت، نتایج حاکی از آن بود که ترکیب قارچ میکوریز با PGPR منجر به تعویق دوره‌ی کمون بیماری (۱۹-۲۶روز پس از تلقیح) شد و گیاهان تیمار شده با میکوریز در مقایسه با گیاهان بدون میکوریز، افزایش قابل‌توجهی در رشد و عملکرد محصول داشتند (Salamiah *et al.*, 2019).

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

مواد و روش ها

نمونه برداری

نمونه‌برداری درطول دو فصل زمستان

جدول۱- مناطق نمونه برداری از مزارع آلوده پیاز

Table 1. Sampling areas of infected onion fields

محل جمع‌آوری Sampling areas	تعداد مزارع نمونه برداری شده Number of farms sampled	محل جمع‌آوری 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 گاوان 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	خاتون‌آباد Khaton Abad	1
عباس آباد Abbas Abad	1	هوکرد Hukerd	3

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 بالاترین درجه تهاجم

از آنجایی که رقم مینروا که رقمی هیبرید، 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 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 در گلدان‌های پنج کیلوگرمی پرشده 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*

al.2013) و Rout *et al*. (2016) استفاده شد و غلظت اسپور در سوسپانسیون با لام هموسایتومتر محاسبه و درنهایت سوسپانسیون با غلظت ۱۱۷ اسپور در هر میلی لیتر برای تلقیح دانهال ها 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 دانهال 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 10^6 اسپور در هر میلی‌لیتر تهیه، ریشه دانهال 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، دانهال‌ها در آب مقطردر آب مقطر استریل غوطه ور شدند (Holz & Knox-davies, 1986).

ونهایت برای تلقیح به روش اضافه کردن سوسپانسیون اسپور بیمارگر به خاک گلدان ابتدا سه دانهال در هریک از گلدان‌های پرشده با خاک و ماسه و پرلیت سترون کشت شد سپس برای هر تیمار به ازای هر دانهال ۵ میلی لیتر از سوسپانسیون جدایه های فوزاریوم با غلظت 10^6 اسپور در هر میلی‌لیتر اسپور در هر میلی‌لیتر 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 دانهال 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 هرکدام چهار سوراخ به عمق ۵ میلیمتر ایجاد شد و مجدد اجازه داده شد تا خشک شوند. مایه زنی غده ها با تزریق ۱۱ میکرولیتر

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 غده ها تزریق شد غده های تیمار شده روی دستمال کاغذی استریل در محفظه های مرطوب در دمای۱ ± ۲۵ 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

غده ها از محل تزریق به صورت طولی برش داده شدند و طول پوسیدگی در غده با کولیس اندازه گیری 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] × ۱۰۰

انتخاب و شناسایی جدایه با درجه تهاجم بالاتر

نتایج به دست آمده از دو آزمون بیماریزایی دانهال و غده در قالب طرح کاملا تصادفی به کمک نرم افزار SAS آنالیز و میانگین داده ها با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد مورد مقایسه قرار گرفتند و جدایه ی که درجه تهاجم بیشتریداشت را انتخاب و شناسایی شد و در آزمایشات گلخانه‌ای مورد استفاده قرار گرفت.

شناسایی مورفولوژیکی گونه با درجه تهاجم بالاتر

شناسایی موفولوژیکی 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 طول‌موج ۲۶۰ نانومتر به میزان جذب در طول‌موج 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 پلیمراز (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 ناحیه ی ITS توسط جفت آغازگر TS4/ITS1 (جدول۴) به شرکت توپازژن فرستاده شد و پس از ویرایش توالی به دست آمده با نرم افزارBio edit به کمک نرم افزار بلاست در پایگاه NCBI تعیین گونه صورت گرفت (White *et al.,* 1990).

تهیه دانهال برای بررسی اثر مایکوریز

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

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

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

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

مرحله Cycle	دما (^{0}C) Temperature	زمان(دقیقه) Time(minutes)
واسرشت مقدماتی Preliminary denaturetion	95	5
واسرشت Denaturetion	94	1
اتصال Annealing	45	1۱
گسترش Extension	72	10
گسترش نهایی Final extension	12	10

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

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 به‌صورت بذرمال: در این حالت ابتدا بذور به اینوکلوم میکوریزی آغشته شده، به‌گونه‌ای که یک لایه از اینوکلوم 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 ریسه میکوریز تلقیح شده قرار داده سپس در گلدان‌های موردنظر کشت شد(De camargo *et al.,* 2017).

تیمار میکوریزی به‌صورت خاک کاربرد: بدین منظور ابتدا گلدان‌ها با بستر کشت ذکر شده پر و سپس به میزان ۱۵۰ گرم از اینوکلوم میکوریزی به طوریکه هر گرم خاک حاوی ۷۰ اسپور شود روی سطح آن پاشیده و در نهایت بذور ضدعفونی شده در این بسترکشت شدند (De camargo *et al.,* 2017).

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

رنگ‌آمیزی و تعیین درصد کلنیزاسیون ریشه‌ها

به‌منظور اثبات رابطه همزیستی میکوریز آربوسکولار با ریشه گونه گیاهی منتخب،

رنگ‌آمیزی ریشه‌ها به روشPhillips و Hayman (1970)انجام شد. جهت تعیین درصد کلونیزاسیون ریشه، ۳۰ قطعه یک سانتی‌متری از ریشه‌های رنگ‌آمیزی شده هر نمونه، به‌صورت 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 بزگنمایی ۱۲۵ برابر انجام و در نهایت زیر میکروسکوپ نوری کالیبره و مجهز به میکرومتر مدرج انجام شد. و کلونیزاسیون آربوسکولی، وزیکلی، ریسه 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 میلی‌لیتر از سوسپانسیون اسپور عامل بیمارگر *F.oxysporum* با غلظت 10^7 اسپور در هر میلی‌لیتر اضافه شد و گلدان‌ها به‌طور 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 (۱-۱۰٪) ، ۲- آسیب متوسط(۱۱-۲۵٪)، ۳- آسیب نسبتا قوی (۲۶-۵۰٪)، ۴- آسیب قوی (۵۱-۷۵٪) و۵- 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.

$$DSI1=\Sigma (ni\times vi) /N\times v \times 100$$

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 به‌صورت بذرمال و بدون بیمارگر

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

۵- دانهال های کشت شده میکوریزی به‌صورت خاک کاربرد بدون بیمارگر

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

اندازه گیری پارامترهای رویشی

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

جدول۵- جدایه های *Fusarium* spp. به دست‌آمده و محل جمع آوری آنها

Table 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
A_1 و B_1	کریم آباد سفلی Karim Abad-e sofla	Bc_1 و Bc_2	بند سراجی Band-e Saraji
K_1 و K_2	کریم آباد علیا Karim Abad-e olya	B_2 و C_2	جیرفت Jiroft
Ds_1 و Ds_2	دوساری Dosari	K_1 و K_2	کلرود Kalerood
T_1 و Tk	تم گاوان Tom Gavan	Yb_1 و Yb_2	یاغی بیگی Yaghi beygi
Th_1 و Th_2	طوهان Tohan	M_1 و M_2	میثمیه Maysamie
D_1 و D_2	دولت آباد Dolat Abad	E_1 و E_2	ابراهیم آباد Ebrahim Abad
V_1 و V_2	وکیل آباد Vakil Abad	Kh_1 و Kh_2	خاتون آباد Khaton Abad
Ab_1 و Ab_2	عباس آباد Abbas Abad	H_1 و H_2	هوکرد Hukerd

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 شدو رسم نمودارها و جداول نیز توسط نرم افزارهای Excel و Word صورت گرفت.

نتایج

نمونه‌برداری و جداسازی و خالص‌سازی قارچ

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

آزمون بیماریزایی روی دانهال

دراین آزمون علائم به صورت زردی و پژمردگی و درنهایت مرگ دانهال های آلوده مشاهده شد. براساس نتایج تجزیه واریانس آزمون بیماریزایی روی دانهال نشان داد، بین جدایه های موردبررسی اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد وجود دارد (جدول۶) این در حالی است که بین روش‌های تلقیح و همچنین اثر متقابل جدایه و روش تلقیح جدایه‌ها اثر معنی‌داری بر مرگ ومیر بوته ها مشاهده نشد. بر اساس نتایج مقایسه میانگین جدایه ها، مشخص شد جدایه A_1 به همراه جدایه‌های D_1 و G_1 در یک گروه آماری قرار گرفت و بیشترین مرگ ومیر بوته ها به تنهایی در جدایه A_1 اتفاق افتاد(جدول۷) نتایج این بررسی نشان داد، علیرغم عدم وجود اختلاف معنی دار بین روشهای تلقیح جدایه‌ها 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

جدول ۶- تجزیه واریانس اثر جدایه های قارچ فوزاریوم به دست آمده از مناطق مختلف جیرفت 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
		تعداد بوته های مرده Number of dead plants
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

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

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

جدول۷- مقایسه اثر جدایه های قارچ فوزاریوم به دست آمده از مناطق مختلف جیرفت بر میزان مرگ و میر دانهال های پیاز

Table 7. Mean comparison of the e 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[a]
Tk	0/88[b]
M_1	1/00[b]
G_1	1/33[ab]
D_1	1/44[ab]
T_1	0/22[a]
شاهد Control	0[c]

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

این روش تلقیح در ادامه ی مراحل آزمون های گلخانه ای استفاده شد. بر اساس نتایج به دست آمده از این آزمون جدایه ی A_1 به عنوان جدایه با بالاترین درجه تهاجم انتخاب شد و به منظور تائید این نتایج، آزمون بیماری زایی روی غده نیز انجام شد.

آزمون بیماریزایی 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 فلسهای میانی مشاهده شد. نتایج تجزیه واریانس آزمون بیماریزایی روی غده نشان داد، بین جدایه های 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 A_1به همراه M_1 و B_1 در یک گروه آماری قرار گرفت و بیشترین خسارت در غده ها به تنهایی توسط جدایه A_1 وارد شده بود. به طوریکه جدایه ی A_1 وارد شده بود. به طوریکه جدایه ی A_1 با ۹۴/۸۸ درصد خسارت بیشترین میزان خسارت را به غده ها وارد کرده بود(جدول۹)

انتخاب و شناسایی جدایه با بالاترین درجه تهاجم

نتایج حاصل از هر دو آزمون نشان داد که

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
		درصد خسارت Damage percentage
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

**, * and ns 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

جدایه A_1 بیشترین شدت بیماری‌زایی 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 A_1 لذا این جدایه به عنوان جدایه ی جدایه با بالاترین درجه تهاجم انتخاب شد و در آزمایشات گلخانه‌ای 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 اندام‌های آن بر اساس کلیدهای شناسایی ذکر شده این گونه *F. oxysporum* تشخیص داده شد.

شناسایی مولکولی

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

نتایج آزمایشات گلخانه

تعیین درصد همزیستی

بررسی میکروسکوپی ریشه‌های رنگ‌آمیزی شده دانهال‌های میکوریزی به‌صورت بذرمال و خاک‌کاربرد و دانهال های شاهد (غیرمیکوریزی) که در خاک سترون‌شده کشت شده بودند، نشان داد که در هر دو تیمار بذرمال و خاک کاربرد کلنیزاسیون میکوریزی به‌خوبی صورت گرفته است و وجود اندام‌های

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 مایکوریزا 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

میکوریزی نظیر هیف‌ها و وزیکل‌های درون ریشه‌ای بیانگر برقراری رابطه‌ی همزیستی بود. در تیمار شاهد هیچ‌گونه کلنیزاسیون میکوریزی مشاهده نشد. نتایج تجزیه واریانس (جدول۱۰) اثر شیوه‌های مختلف تلقیح میکوریزا بر میزان کلنیزاسیون ریشه‌های پیاز نشان داد بین روش‌های مختلف تلقیح نسبت به شاهد اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد وجود دارد ولی بین روش‌های بذرمال و خاک کاربرد هیچ اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد و هر دو روش در یک گروه آماری مشابه قرار گرفتند. باوجود عدم اختلاف معنی‌دار بین روش‌های تلقیح، بوته‌های تلقیح شده با میکوریز به‌صورت بذرمال بیشترین درصد کلنیزاسیون میکوریزی (۸۸/۴۲ درصد) را داشتند، هرچند بوته‌های تلقیح شده با میکوریز به‌صورت خاک‌کاربرد نیز به‌خوبی توسط اندام‌های میکوریزی کلونیزه شده بودند (جدول۱۱).

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:

جدول۱۲ – 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**	0/004ns	0/50*	20/11*	0/02**	1/74**
بیمارگر Pathogen	1	6/77**	0/05**	1/81**	69/93**	0/01*	5/21**
میکوریز × بیمارگر Mycorrhiza x Pathogen	2	0/35ns	0/003ns	0/25ns	12/84ns	0/01*	0/10ns
خطا Error	18	0/19	0/003	0/13	5/55	0/002	0/21
ضریب تغییرات (٪) Coefficient of variation	-	27/54	10/33	7/84	12/34	8/80	14/931

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

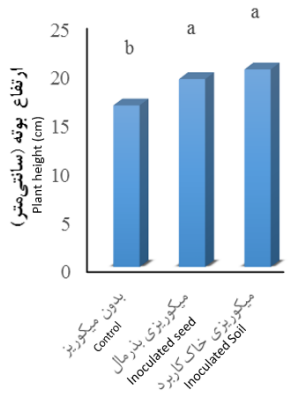
**,*and ns indicate significance at the probability level of 5%, 1% and non-significance, respectively

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 معنی‌داری بر ارتفاع بوته‌های پیاز دارد. همچنین این نتایج نشان داد، ارتفاع بوته‌ها در شرایط حضور بیمارگر نسبت به عدم حضور بیمارگر در سطح یک درصد معنی‌دار است. در صورتی که اثر متقابل این دو عامل بر ارتفاع بوته معنی‌دار نبود (جدول ۱۲). این نتایج نشان می‌دهد، تلقیح ریشه با قارچ‌های میکوریزی منجر به افزایش ارتفاع بوته‌ها شده است، بطوریکه ارتفاع بوته از ۱۶٫۶ سانتی‌متر در بوته‌های غیر میکوریزی به ۱۹٫۳ و ۲۰٫۳ سانتی‌متر در سطح میکوریزایی بذرمال و خاک‌کاربرد افزایش معنی‌داری 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 بوته‌های سالم گردیده است (شکل ۲)

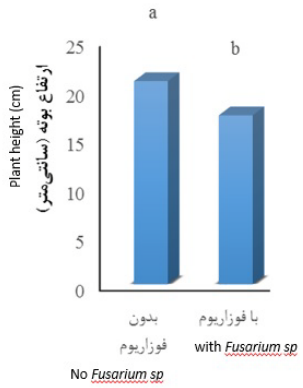
قطر غده

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 معنی‌داری بر قطر



شکل ۱- اثر میکوریز بر ارتفاع بوته

Figure 1.Mycorrhizal effect on plant height



شکل ۲- اثر بیمارگر بر ارتفاع بوته

Figure 2. Effect of pathogen 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

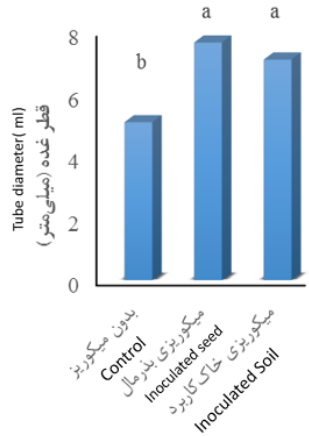
غده در بوته‌های پیاز دارد. همچنین این نتایج نشان داد، قطر غده‌ها در شرایط حضور بیمارگر نسبت به عدم حضور بیمارگر در سطح ۱ درصد معنی‌دار است. در صورتی که اثر متقابل این دو عامل بر قطر غده معنی‌دار نبود (جدول۱۲). این نتایج نشان می‌دهد، تلقیح ریشه با قارچ‌های میکوریز منجر به افزایش قطر غده شده است، بطوریکه قطر غده از ۵/۰۷ میلی‌متر در بوته‌های غیر میکوریزی به ۷/۶۳ و ۷/۸۰ میلی‌متر در سطح میکوریزایی بذرمال و خاک‌کاربرد افزایش معنی‌داری یافته است (شکل۳). همچنین وجود قارچ بیمارگر منجر به کاهش قطر غده نسبت به بوته‌های سالم شده است (شکل۴).

طول ریشه

نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارهای مختلف بر طول ریشه بوته‌های پیاز نشان داد که کاربرد میکوریز در سطح احتمال یک درصد نسبت به عدم کاربرد میکوریز اختلاف معنی‌داری بر طول ریشه دارد. همچنین این نتایج نشان داد، طول ریشه‌ها در شرایط حضور بیمارگر نسبت به عدم حضور بیمارگر در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱۲). این نتایج نشان می‌دهد که تلقیح میکوریز سبب افزایش طول ریشه در بوته‌های پیاز شده است بطوریکه طول ریشه از ۳/۱۹ سانتی‌متر در بوته‌های غیر میکوریزی به ۵/۲۲ سانتی‌متر در سطح میکوریزایی بذرمال افزایش معنی‌داری داشته است (شکل ۵). همچنین وجود قارچ بیمارگر منجر به کاهش ۴۰/۳۹ درصدی طول ریشه نسبت به بوته‌های سالم شده است (شکل ۶).

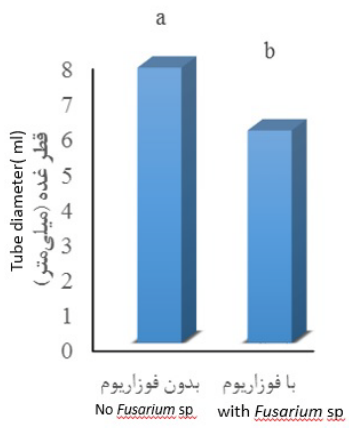
حجم ریشه

نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارهای مختلف



شکل ۳- اثر میکوریز بر قطر غده

Figure 3. Mycorrhizal effect on tuber diameter

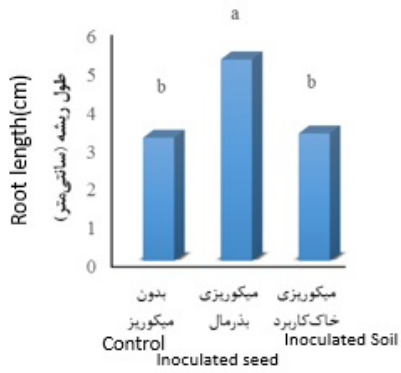


شکل۴-اثر بیمارگر بر قطر غده

Figure 4. Pathogenic effect on tuber diameter

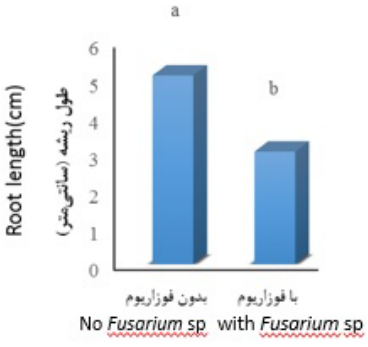
میانگین های دارای حروف مشابه، تفاوت معنی داری از نظر آماری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند

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



شکل ۵- اثر میکوریز بر طول ریشه

Figure 5. Mycorrhizal effect on root length



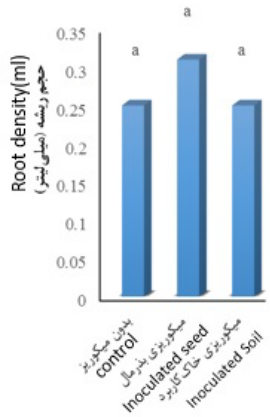
شکل۶- اثر بیمارگر بر طول ریشه

Figure 6. Pathogenic effect on root length

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

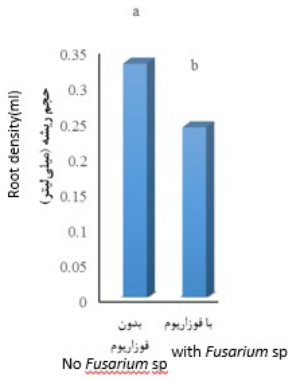
The means with the same letters are not statistically significantly different at the 5% probability level

بر حجم ریشه بوته‌های پیاز نشان داد که کاربرد میکوریز از نظر آماری تأثیر معنی‌داری نسبت به عدم کاربرد میکوریز بر حجم ریشه بوته‌های پیاز نداشت. همچنین این نتایج نشان داد، حجم ریشه در شرایط حضور بیمارگر نسبت به عدم حضور بیمارگر در سطح یک درصد معنی‌دار است. در صورتی که اثر متقابل این دو عامل بر حجم ریشه معنی‌دار نبود (جدول۱۲). این نتایج نشان داد که علی‌رغم عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای مختلف در میزان حجم ریشه بوته‌های پیاز، در حالتی که میکوریز به‌صورت بذرمال به بوته‌ها تلقیح شده بود حجم



شکل۷- اثر میکوریز بر حجم ریشه

Figure 7. The effect of mycorrhizae on root density



شکل۸- اثر بیمارگر بر حجم ریشه

Figure 8. Pathogenic effect 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

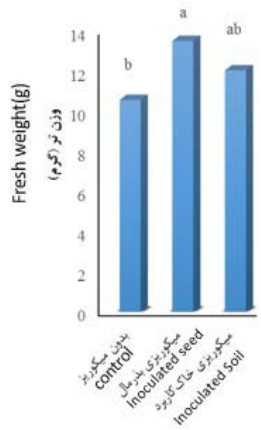
ریشه افزایش ۲۴ درصدی نسبت به بوته‌های غیرمیکوریزی داشت (شکل ۷). همچنین وجود قارچ بیمارگر سبب کاهش ۲۷/۲۷ درصدی حجم ریشه بوته‌ها نسبت به بوته‌های سالم شده است (شکل۸).

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 معنی‌داری بر وزن تر بوته‌های پیاز دارد. همچنین این نتایج نشان داد، وزن تر بوته‌ها در شرایط حضور بیمارگر نسبت به عدم حضور بیمارگر در سطح یک درصد معنی‌دار است. در صورتی که اثر متقابل این دو عامل بر وزن تر بوته معنی‌دار نبود (جدول۱۲). این نتایج نشان می‌دهد، تلقیح ریشه با قارچ‌های میکوریزی منجر به افزایش وزن تر بوته‌ها شده است، بطوریکه وزن تر بوته از ۱۰/۵۷ گرم در بوته‌های غیرمیکوریزی به ۱۲/۰۴ و ۱۳/۵۱ گرم در سطح میکوریزایی خاک‌کاربرد و بذرمال افزایش معنی‌داری می یابد (شکل ۹). همچنین وجود قارچ بیمارگر منجر به کاهش۲۱/۷۶ درصدی وزن تر بوته نسبت به بوته‌های سالم شده است (شکل ۱۰).

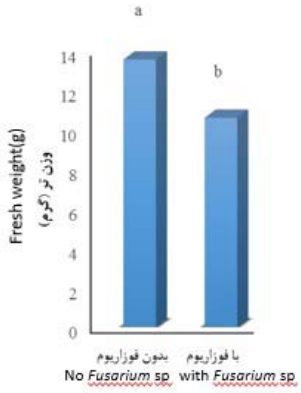
وزن خشک بوته

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 معنی‌داری بر وزن خشک بوته‌های پیاز دارد. همچنین این نتایج نشان داد، وزن خشک بوته‌ها در شرایط حضور بیمارگر نسبت به عدم حضور بیمارگر در سطح ۵ درصد معنی‌دار است. همچنین اثر متقابل قارچ میکوریز و فوزاریوم از نظر



شکل۹- اثر میکوریز بر وزن تر بوته

Figure 9. The effect of mycorrhizae on plant fresh weight

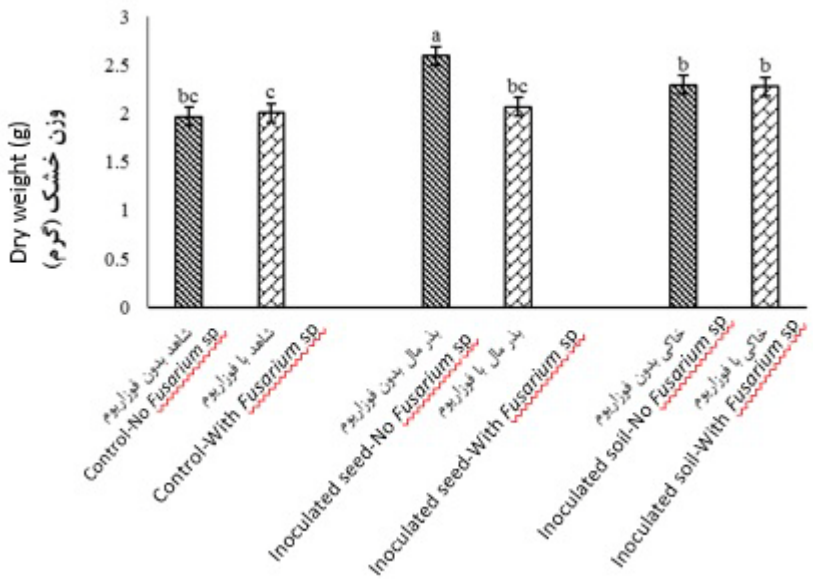


شکل ۱۰- اثر بیمارگر بر وزن تر بوته

Figure 10. Disease effect 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 میکوریز 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

آماری بر وزن خشک بوته در سطح پنج درصد معنی‌دار بود (جدول۱۲). نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل نشان داد بیشترین وزن خشک بوته مربوط به بوته‌های میکوریزی به‌صورت بذرمال بدون اعمال فوزاریوم بودند و به‌تنهایی در یک گروه آماری قرار گرفت. کمترین وزن خشک

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). ازاین‌رو می‌توان گفت که کاربرد میکوریز و کلونیزه شدن ریشه‌ها، منجر به بهبود یافتن تغذیه‌ی گیاه و درنهایت 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 درنهایت کاهش وزن بوته‌ها گردیده است.

بحث

یکی از بیماری‌های مهم در پیاز پوسیدگی فوزاریومی پایه ناشی از *F.oxysporum* 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 *F.oxysporum* از شایع‌ترین گونه‌های جنس فوزاریوم است که سبب بروز بیماری پوسیدگی فوزاریومی روی گیاه پیاز می گردد. 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 قارچ های 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 قارچ های میکوریزآربوسکولار 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 ریشه‌های پیاز در تحقیق حاضر نیز نشان داد که گونه‌های میکوریز تلقیح شده به بوته‌ها توانسته‌اند به‌خوبی ریشه‌ها را کلونیزه کنند و رابطه‌ی همزیستی با گیاه برقرار کنند و نتایج حاصل از بررسی کلنیزاسیون میکوریزی ریشه‌های 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 بیماری‌زا و همچنین مقاومت و تحمل بیشتر گیاهان در برابر عوامل تنش‌زای محیطی، که به سرما، خشکی و یا شوری بالا می‌توان اشاره کرد (Schönbeck & Dehne, 1989; Pakarinen *et al*. 2021). همچنین از مکانیسم‌های میکوریزی در کنترل بیماری می‌توان به مواردی نظیر، رقابت برای محل‌های استقرار روی ریشه‌ی میزبان، بهبود تغذیه میزبان، جبران خسارت آسیب‌های ریشه، تغییر در مورفولوژی ریشه‌ی میزبان، تغییر در جامعه میکروبی ناحیه‌ی میکروریزوسفر، آنتی‌بیوز و فعال‌سازی مکانیسم‌های دفاعی گیاه اشاره کرد (Singh *et al.*, 2000). تحقیقات اخیر نشان داده است که استفاده از میکروارگانیسم‌های محرک رشد گیاه در برابر قارچ‌های بیماری زای خاکزی مانند فوزاریوم می تواند به صورت سازگار با محیط زیست باعث مهار بیمارگر شده و رشد میسیلیومی فوزاریوم‌ها را کنترل کرده در نتیجه مانع پوسیدگی‌های فوزاریومی شود(Sharkawy & Abdelrazik, 2022) و همچنین قارچ‌های میکوریز آربوسکولار می‌توانند 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 زمانیکه 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 قارچ‌های میکوریزآربوسکولار ممکن است با تقویت صفات مورفولوژیکی ،یا ایجاد تغییرات فیزیولوژیکی و تغییر در ترکیب شیمیایی بافت های گیاه و یا تغییر درجمعیت 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 مستقیم پژمردگی داخل بافت آوندی را کاهش دهد و از سوی دیگر قارچ‌های میکوریز آربوسکولار سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های متابولیزه کننده فسفات شده و در نهایت موجب کاهش پژمردگی فوزاریومی می گردد (Hashem *et al.*, 2021).

نتایج به‌دست‌آمده از تحقیق حاضر نشان داد که بیماری پوسیدگی فوزاریومی سبب کاهش معنی‌دار 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) گوجه فرنگی ، فلفل، بادمجان و کدوحلوایی (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 دانهال های گوجه‌فرنگی که با قارچ *G.mosseae* تلقیح شده بودند در خاک با فسفر پایین رشد بهتری نسبت به دانهال های فاقد میکوریز داشتند و گوجه‌فرنگی‌های میکوریزی وزن خشک بالاتری داشتند۲۰۰۵ (Graham & Miller) 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 (Olowe *et al*., 2018) کدو (Sharkawy & Abdelrazik 2022 EL–) یونجه (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 شاخص های رشدی گیاه پیازدر شرایط آلودگی به قارچ فوزاریوم بود. از نتایج حاصل از بررسی شدت بیماری در تیمارها چنین به نظر می رسد که گونه های میکوریزی قادرند به طور معنی داری کنترل مؤثری بر قارچ عامل این بیماری *F. oxyspurum* داشته باشند. همچنین ارزیابی صفات رویشی در حضور قارچ هایمیکوریز نشان داد که این قارچ ها اثرات مطلوبی بر پارامترهای رویشی داشته اند و به طورکلی این همزیستی با بهبود تغذیه وتغییر در ترکیبات بیوشیمایی گیاه می توانند سبب افزایش مقاومت در برابر تنش های محیطی گردد همچنین برای کاربرد قارچ های میکوریز روش‌های مختلفی وجود دارد که ارزیابی شیوه تلقیح میکوریز در خزانه ی دانهال به صورت خاک کاربرد و یا بذرمال کردن نشان داد هر دو شیوه ی کاربرد در میزان کلنیزاسیون ریشه ها و تأثیر بر صفات موردنظر مؤثر بوده و بسته به شرایط کار و میزان اینوکلوم میکوریزی در

دسترس، شکل و نوع بذر قابل استفاده هستند. ضمن اینکه شیوه ی بذرمال 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-arbusular mycorhiza 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 Forstwirtsch. *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 Ganjipur[1], Amir Reza Amirmijani[2], Mehdi Azadvar[3], Mousa Najafiniya[4], Narges Hatami[5], 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 EducationCenter, AREEO, Jiroft, Iran
4. Plant Protection Research Department, South Kerman Agricultural and Natural Resources Research and Education Center,
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 mychorrizal 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 mychorrhizal-treated plants comparedthe 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 mychorrhizal species can significantly reduce the severity of the disease caused by F. oxyspurum.

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 Zanjan, 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.