Karafan
Quarterly Scientific Journal of National University of Skill
Winter 2025, Vol. 21, No. 4, p. 429-446
Journal Homepage: https://karafan.nus.ac.ir/?lang=en
doi:10.48301/KSSA.2024.418526.2720

# The Effect of Arbuscular Mycorrhizal Fungi on Crown and Root Rot Disease of Bean Caused by *Rhizoctonia solani*

Moslem Moosavian[1*], Sedighe Ghanaei[2], Mohsen Shadmand[3]

[1,3]Master of Science, Plant protection, Lorestan University (LU), Khoram Abad, Iran.
[2]Department of Agricultural Science, Technical and Vocational University (TVU), Tehran, Iran.

**ARTICLE INFO**

**Article Type:**
Original Research

**Received:** 10.13.2023
**Revised:** 02.12.2024
**Accepted:** 04.15.2024

**Keyword:**
Biological Control
Root Symbiosis
*Glomus* Sp.
Damping off
Organic Farming

***Corresponding Author:**
Moslem Moosavian
**Email:** *moosavian.mo@fa.lu.ac.ir*

**ABSTRACT**

In this study, the effects of mycorrhizal fungi *Glomus intraradices*, *Glomus mosseae* and *Glomus rubi*, which are important members of the rhizosphere microflora and have biological control against plant diseases, were examined against *R. solani*. For this purpose, the mycorrhizal fungi were extended to corn roots. Then, the effect of these biological factors on plant indicators and the severity of *R. solani* fungus damage on bean plants in greenhouse conditions was evaluated in a completely randomized design with nine treatments and four replications. The results suggested that arbuscular mycorrhizal compounds significantly reduce root rot disease in beans. Therefore, the best treatment for increasing plant indices were all treatments containing *G. mosseae* and the combination of all biological agents treatment. The combination of all biological agent treatments, with 39.50% incidence, 36.25% severity and 53% disease control, had the greatest biocontrol effects on the disease. The study findings indicated that effective combinations of these biocontrol agents can facilitate plant growth and health.

©2025 the authors. Published by National University of Skill, Tehran, Iran. This article is an open-access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-Noncommercial 4.0 International (CC BY-NC License) (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)

**E-ISSN:** 2538-4430
**ISSN:** 2382-9796

## EXTENDED ABSTRACT

### Introduction

With the prevalent use of chemical fungicides, fungi, nematodes, bacteria, and other pathogens on farmland are becoming increasingly resistant to fungicides. In contrast, their natural enemies have been killed in large numbers, increasing in disease prevalence. These fungicides can remain in plants and animals, enter the human body through the food chain, and pose a threat to human health. Accordingly, the search for environmentally friendly technologies to control plant diseases has become one of the research hotspots for plant pathologists and environmental scientists. Biological control has been the focus of much attention. Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) are the most common, abundant, and significant beneficial fungal group in mycorrhizae. They have a unique antagonistic effect on soil-borne pathogens such as fungi, bacteria, and nematodes. Studies have demonstrated that AMF can adjust the formation of secondary metabolites in host plants by modifying the morphology or anatomical structure of plant roots. This results in improved chemical and physical properties of the rhizosphere, which helps in competing with pathogens for infection space and photosynthetic products. Additionally, AMF can activate disease resistance and defence mechanisms in plants. *Glomus asciculatum*, *G. etunicatum*, *G. macrocarpum*, *G. margarita*, G. heterogama, and *G. calospora* can decrease the diseases caused by pathogenic fungi of the genera *Rhizoctonia*, *Pythium*, *Fusarium*, *Cylindrocarpum*, *Phytophthora*, *Macrophomina*, *Phoma*, *Ophiobolus*, *Pyrenochaeta*, *Sclerotium*, *Ophiobolus*, and *Thielaviopsis* in kidney bean, soybean, cotton, barley, peanut, banana, tobacco, peach, citrus, onion, strawberries, poplar and ginseng. Studying the mechanism of Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF) in the biological control of plant diseases holds both theoretical and practical significance. Therefore, this article aims to review the influence of AMF on the biological control of bean crowns and root rot caused by R. solani, which is considered one of the most critical plant pathogens.

### Methodology

Three AMF inocula, in cloding *Glomus mosseae* ،*G. rubi* and *G. intraradices*, were used in this experiment. These AMF fungi were isolated by the method of Gerdemann and Nicolson and Jenkins. The pathogenic fungus *R. solani* isolated from the root and crown of beans, prepared from the botanical collection of Lorestan University was also used.

AMF inocula, for preparing inoculum, were propagated on grass and Sorghum. After four months, the soil in the pots was dried at room temperature and stored. To ensure the colonization of the roots with mycorrhizal fungi, Gaur et al instructions were used.

To prepare *R. solani* inoculum, this fungus was inoculated at 27-30°C in a sterile wheat culture medium in Erlenmeyer. After seven days, the wheat medium was entirely colonized by the fungus. This mixture is first dried at room temperature and then ground. This inoculum was used for biological tests in interaction with mycorrhizal fungi. According to the table below, *R. solani* and mycorrhizal fungi were inoculated on the bean plant in a completely randomized design in 9 treatments and four replications.

**Table 1. The characteristics of experimental treatments in the interaction of AMFs and *R. solani* on bean plant.**

| Treatments Description | Treatment Code | Treatments Description | Treatment Code | Treatments Description | Treatment Code |
|---|---|---|---|---|---|
| Interaction Gm+Gr with pathogenic fungus | Gm+Gr | Interaction *G. irregularis* with pathogenic fungus | Gi | Without arbuscular and pathogenic fungus | Non–infection control |
| Interaction Gi+Gr with pathogenic fungus | Gr+Gi | Interaction *G. rubi* with pathogenic fungus | Gr | Inoculated with pathogenic fungus | infection control |
| Interaction Gi+Gm+Gr with pathogenic fungus | Gi+Gm+Gr | Interaction Gm+Gi with pathogenic fungus | Gm+Gi | Interaction *G. mosseae* with pathogenic fungus on plant | Gm |

The effect of mycorrhizal fungi on the reduction of bean seedling death and disease was measured by measuring plant indices, including plant height, root length, fresh and dry weight of root and stem, vigor index (seed germination), disease prevalence and severity, disease control, root rot severity index.

## Results and discussion

A comparison of the average effect of AMF fungi factors on the plant indices of beans infected with *R. solani* showed that treatment with *G. mosseae+G. rubi* significantly impacts plant parameters such as fresh weight, dry weight, and root and stem height. Moreover, the treatment of *G. mosseae+G. intraradices+G. rubi* has the most effect on this index, with an increase of 81.54% in bean seed germination. It showed a substantial difference from other treatments at 1%. Previous studies have also identified that AMFs are considered ideal biocontrol agents due to their ability to form mutualistic symbiosis relationships with the roots of most vascular plant species. Moreover, plant mycorrhiza correlation benefits plants against soilborne pathogens and increases plant stability to various abiotic stresses and nutrient attraction.

The effect of mycorrhizal factors on reducing the prevalence of bean seedling death disease showed that the lowest rate of disease prevalence was in *G. mosseae+G. intraradices+G. rubi* and *G. mosseae+ G. rubi* treatments were 39.5 and 42.75%, respectively. These treatments also controlled the disease in 53 and 49.02, respectively. The lowest severity of root rot was G. *mosseae+G. intraradices+G. rubi*, *G. mosseae+ G. rubi* and *G. mosseae+G. intraradices* treatments with 26.50, 32.75 and 35.50, respectively (Table 2). It was determined in the research of Sudhasha et al. that *G. intraradices* prevented the growth of *F. oxysporum* and suggested that mycorrhizae chemical balance prevented pathogenic fungi reproduction and development. Steinkellner et al. reported in their studies that plant fungal disease severity could be decreased using a combination of phosphorus application and AMF pre-treatment. When AMF is used for plant disease control, its control result is affected by factors such as the species of plant disease and the relationship. The results of Aljawasim et al. research showed that Mycorrhiza inoculated plants with AMF significantly reduced the severity of *R. solani* disease. Also, plants inoculated with *G. mosseae* and *G. clarum* showed a significant increase in both root dry weight and shoot dry weight compared with noninoculated plants.

**Table 2. Effect of mycorhizal agents on root rot severity indexes, disease indexes, disease incidence and disease control caused by *R. solani* in bean plants.**

| Treatment | Disease control (%) | Disease incidence (%) | Disease severity index | Root rot severity index |
|---|---|---|---|---|
| Infected | - | 84.25 | 74.00 | 59.00 |
| *G. mosseae* | 44.59 | 46.50 | 31.25 | 32.00 |
| *G. intraradices* | 28.18 | 60.25 | 47.00 | 45.25 |
| *G. rubi* | 40.25 | 50.00 | 37.75 | 35.50 |
| *G. mosseae+G.intraradices* | 43.02 | 48.00 | 36.00 | 32.75 |
| *G. mosseae+G.rubi* | 49.02 | 42.75 | 27.75 | 30.75 |
| *G.intraradices+G.rubi* | 33.17 | 56.00 | 35.75 | 37.00 |
| *G. mosseae+G.intraradices+G. rubi* | 53.00 | 39.50 | 26.25 | 26.50 |

## Conclusion

Finally, mycorrhizal fungi play an essential part in plant defence against pathogens and form a mutual relationship with plants. In summary, all mycorrhizal species could be valuable tools to rein in *R. solani*, increase tolerance to abiotic stresses and increase.

فصلنامه علمی دانشگاه ملی مهارت
زمستان ۱۴۰۳، دوره ۲۱، شماره ٤، ٤٤٦-٤٢٩
آدرس نشریه: https://karafan.nus.ac.ir/
doi:10.48301/KSSA.2024.418526.2720

# تأثیر قارچ‌های میکوریز آربوسکولار بر بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه لوبیا ناشی از قارچ *Rhizoctonia solani*

مسلم موسویان[1*]، صدیقه غنائی[2]، محسن شادمند[3]

۱و۳- کارشناسی ارشد، گیاه‌پزشکی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران.
۲- گروه مهندسی کشاورزی، دانشگاه فنی و حرفه‌ای، تهران، ایران.

**اطلاعات مقاله**

**نوع مقاله:** مقاله پژوهشی

**دریافت مقاله:** ۱۴۰۲/۰۷/۲۱
**بازنگری مقاله:** ۱۴۰۲/۱۱/۲۳
**پذیرش مقاله:** ۱۴۰۳/۰۱/۲۷

**کلید واژگان:**
کنترل بیولوژیک
همزیست ریشه
گلوموس
مرگ گیاهچه
کشاورزی ارگانیک

***نویسنده مسئول:** مسلم موسویان
**پست الکترونیکی:**
*moosavian.mo@fa.lu.ac.ir*

**چکیده**

در پژوهش حاضر اثر قارچ‌های میکوریزی *Glomus intraradices*، *Glomus mosseae* و *Glomus rubi* که از اجزای مهم میکروفلور ریزوسفر و عوامل بیولوژیک در بیماری‌های گیاهی هستند، علیه قارچ *Rhizoctonia solani* مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور ابتدا قارچ‌های میکوریزی روی ریشه ذرت گسترش داده شدند. سپس در شرایط گلخانه‌ای تأثیر این عوامل بیولوژیک روی شاخص‌های گیاهی و شدت خسارت قارچ *R. solani* روی لوبیا، با ۹ تیمار ۴ تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی، مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج پژوهش حاکی از تأثیر معنی‌دار ترکیبات میکوریز در کاهش میزان بیماری پوسیدگی ریشه لوبیا بود، به طوری که بهترین تیمارها بر افزایش شاخص‌های گیاهی شامل تیمارهای مخلوط با قارچ *G. mosseae* و تیمار ترکیبی همه عوامل بیولوژیک باهم بود. تیمار ترکیب همه عوامل بیولوژیک با ۳۹/۵۰ درصد شیوع، ۲۶/۲۵ درصد شدت و ۵۳ درصد کنترل بیماری بهترین تیمار در بیوکنترل این بیماری بود. نتایج نشان می‌دهد ترکیب مناسب این عوامل کنترل زیستی می‌تواند رشد و سلامت گیاه را بهبود ببخشد.

**شاپای الکترونیکی:** ۲۵۳۸-۴۴۳۰
**شاپای چاپی:** ۲۳۸۲-۹۷۹۶

©2025 the authors. Published by National University of Skill, Tehran, Iran. This article is an open-access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-Noncommercial 4.0 International (CC BY-NC License) (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)

## مقدمه

قارچ خاکزی *Rhizoctonia solani* یکی از مهم‌ترین عوامل پوسیدگی ریشه و طوقه و مرگ گیاهچه در گیاهان از جمله گیاه لوبیا است. گیاهان میزبان این بیمارگر هر ساله خسارت زیادی را از این قارچ متحمل می‌شوند [۱]. خاکزاد بودن عوامل مرگ گیاهچه باعث شده است که استفاده از روش‌های شیمیایی مثل پوشش دادن بذر با سموم شیمیایی و یا سم پاشی مزارع نتیجه رضایت بخشی نداشته باشد [۲]. سموم شیمیایی اگر چه در مبارزه با بیماری‌ها در کوتاه مدت نتایج مؤثری به همراه دارند، اما به تدریج اثرات سوء آن‌ها بر انسان، موجودات زنده و محیط‌زیست آشکار شده است [۳]. به همین جهت در سال‌های اخیر توجه زیادی به روش‌های جایگزین به خصوص استفاده از مبارزه بیولوژیک شده است [۲; ۳]. با توجه به اینکه قارچ بیماری‌زای *R. solani* در خاک ساکن است، که استفاده از عوامل بیولوژیک خاکزی می‌تواند در کنترل اینگونه بیماری‌ها نقش مهمی داشته باشد [۴]. به‌کارگیری کنترل بیولوژیکی با استفاده از قارچها اهمیت ویژه‌ای به عنوان یک راهبُرد سازگار با محیط‌زیست و مقرون به صرفه برای مدیریت بیماری‌های گیاهی است؛ علاوه بر این، این قارچهای بیولوژیک اثرات مثبت بر رشد و تغذیه گیاهان دارند [۵].

قارچهای مایکوریزایی یکی از مهم‌ترین همزیست‌های میکروبی ریشه بسیاری از گیاهان می‌باشند این قارچها بزرگترین گروه قارچها هستند که با افزایش جذب عناصری نظیر فسفر، مس و روی و تقویت روابط آبی گیاه باعث افزایش رشد گیاه می‌شوند [۶]. قارچهای میکوریز سبب افزایش جذب آب، افزایش تحمل گیاه به خشکی، دمای زیاد و افـزایش اسیدیته خاک می‌شوند [۷]. طبق تحقیقات پژوهشگران قارچهای مایکوریز همچنین می‌توانند به عنوان یک بیومحافظ در مقابل پاتوژن‌ها و تنش‌های مختلف عمل کنند و می‌توانند کاندیدای نویدبخش برای کنترل بیولوژیک باشند. برای مثال تعدادی از گونه‌های قارچ میکوریز آربوسکولار یافت شده‌اند که قادرند پاتوژن‌های خاکزاد از قبیل پوسیدگی ریشه ناشی از *Fusariem oxysporum* و نکروز ریشه ناشی از *R. solani* در لوبیا چشم بلبلی را کنترل کنند [۸; ۹].

قارچهای بیولوژیک با استفاده از سازوکارهای فیزیکی و بیوشیمیایی مختلفی باعث تقویت مقاومت گیاه لوبیا در برابر مرگ گیاهچه می‌شوند. از جمله این عوامل می‌توان به بهبود تغذیه گیاه، تقویت شاخص‌های رشدی گیاه، افزایش ضخامت دیواره سلولی با کالوز و تجمع برخی از مواد ضد میکروبی (ترکیبات فنلی و دفاع آنزیم مربوط) اشاره کرد. نقش این قارچها در کنترل سایر بیمارگرهای گیاهی از جمله *Cylindrocladium sp*، *Fusarium sp*، *Macrophomina sp*، *Phytophthora sp*، *Pythium sp*، *Sclerotinium sp* و *Verticillium sp*. در پژوهش‌های گذشته ثابت شده است [۵]. مقاومت ناشی از موضعی شامل تشکیل توده‌های دیواره سلولی تقویت شده توسط کالوز مجاور به هیف‌های بین سلولی است.

در پژوهش حاضر برهمکنش سه قارچ میکوریزایی *Glomus mosseae*، *G. rubi* و *G. intraradices* با قارچ بیمارگر گیاهی *R. solani* روی فعالیت این بیمارگر بر گیاه لوبیا بررسی شده است.

## روش شناسی

### تهیه قارچهای میکوریز آربوسکولار

در این پژوهش قارچهای میکوریز آربوسکولار *Glomus mosseae*، *G. rubi* و *G. intraradices* از کلکسیون قارچی گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه یاسوج تهیه شد. این قارچها به روش گردمان و نیکولسون[1] [۱۰] و جنکینز[2] [۱۱] الک

[1] Gerdemann & Nicolson
[2] Jenkins

تر و سانتریفیوژ در محلول شکر جداسازی شده بودند. همچنین از قارچ بیماری‌زای *R. solani* جدا شده از ریشه و طوقه لوبیا در سال زراعی ۹۶-۹۵، از کلکسیون گیاه‌پزشکی دانشگاه لرستان استفاده شد.

## تکثیر و تهیه مایه تلقیح قارچ‌های میکوریز آربوسکولار

جهت تکثیر قارچ‌های میکوریز تهیه شده، از رشد روی ریشه گیاه ذرت به روش روسروارن[1] و همکاران استفاده شد [۱۲]. برای این کار ابتدا بذور ذرت با هیپوکلریت سدیم ۵ درصد به مدت ۳ دقیقه ضدعفونی شدند و پس از سه بار شست‌وشو با آب مقطر سترون هر بار به مدت ۳ دقیقه، جهت جوانه‌زنی مورد استفاده قرار گرفتند. برای کشت از گلدان‌های پلاستیکی استفاده شد به‌طوریکه ابتدا خاک رس و ماسه به نسبت ۲ به ۱ با استفاده از دستگاه ضدعفونی خاک به مدت ۲ ساعت ضدعفونی شد و سپس۱۰ عدد بذر ذرت در هر گلدان کشت گردید. گلدان‌های کشت شده در گلخانه، در دمای ۲۰ تا ۳۰ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۶۰ درصد قرار گرفتند و پس از گذشت ۱۶ روز، هر کدام از تک گیاهچه‌ها از گلدان خارج و در گلدان‌های مجزا قرار داده شده و سپس زادمایه قارچ‌های میکوریز روی ریشه هر تک گیاهچه جهت تکثیر قرار گرفته شد، آبیاری گلدان‌های کشت شده بسته به نیاز آبی گیاه هر سه روز یک‌بار انجام گرفت و بعد از مدتی برای ایجاد وابستگی گیاه به قارچ میکوریز و تکثیر این قارچ‌ها هفته‌ای یک مرتبه آبیاری شدند، برای اطمینان از کلنیزه‌شدن ریشه‌ها با قارچ‌های میکوریز با استفاده از دستورالعمل گور و آدولیا[2] [۱۳] چند گلدان بصورت تصادف انتخاب و سپس با رنگ‌آمیزی ریشه گیاهان، کلونیزه شدن آن‌ها توسط عوامل میکوریزی بررسی شد. پس از اطمینان از کلنیزه شدن ریشه‌ها، آبیاری گلدان‌ها پس از ۴ ماه قطع شد و پس از دو هفته اندام‌های هوایی به طور کامل جداسازی گردید ، محتوای خاک گلدان‌ها پس از مخلوط شدن در دمای اتاق خشک و نگهداری شدند. برای تهیهٔ مایهٔ قارچ‌های میکوریزی، ریشه‌های ذرت کاملاً خرد و به‌طور یکنواخت با خاک گلدان‌ها مخلوط شدند.

## تعیین فراوانی جمعیت هاگ در خاک

ابتدا نمونه خاک در یک بشر ۵۰۰ میلی‌لیتری ریخته شد و ۲۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر به آن اضافه و مخلوط فوق به صورت سوسپانسیون در آورده شد. سپس به ترتیب از الک‌هایی با قطر منافذ ۵۰۰ میکرومتر و سپس ۴۵ میکرومتری عبورداده شدند. محتویات سطح الک ۴۵ میکرومتری دوباره در یک لیتر آب مقطر سوسپانسیون و از سطح الک ۴۵ میکرومتری عبورداده شد و سرانجام محتویات سطح الک در ۵۰ میلی‌لیتر آب جمع‌آوری شد. سوسپانسیون اسپوری به طور مساوی در دو لوله سانتریفوژ در داخل محلول ساکارز ۶۰ درصد شناور و در ۷۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفوژ شدند. مایع رویی که حاوی اسپورها بود روی یک کاغذ صافی جمع‌آوری شدند و روی یک کاغذ شطرنجی در زیربینوکولر شمارش گردیدند و در نهایت میانگین تعداد اسپورهای قارچ (حدود ۱۰۰۰پروپاگول در هر گرم خاک) برای آزمون بیولوژیکی در برهمکنش با قارچ *R. solani* تعیین شد [۱۴].

## تهیه مایه تلقیح قارچ *R. solani*

بدین منظور ابتدا ۱۰۰ گرم بذر گندم و ۹۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل به ارلن مایر ۵۰۰ میلی‌لیتری اضافه شد و دو بار به فاصله ۲۴ ساعت از هم هر بار به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس و فشار ۱/۵ اتمسفر استریل شدند. پس از سرد شدن محتویات ارلن‌ها، در زیر هود و در شرایط استریل به هر ارلن ۴ قطعه ۵ میلی‌متری از کشت جوان قارچ *R. solani* رشد یافته روی محیط PDA اضافه و درب ارلن با پنبه و فویل آلومینیومی به طور کامل بسته

[1] Rosewarne
[2] Gaur & Adholeya

شد. سپس ارلن‌ها به انکوباتور منتقل و در دمای ۲۷ الی ۳۰ درجه سلسیوس به مدت ده روز تا دو هفته نگهداری شدند تا به طور کامل قارچ محیط را کلونیزه کند. پس از کلونیزه شدن محیط به وسیله قارچ، محتویات ارلن به داخل پاکت‌های کاغذی سترون منتقل و در دمای اتاق نگهداری شدند. بعد از خشک شدن کامل آن‌ها، محتویات ارلن‌ها آسیاب شدند و از این مایه تلقیح جهت آزمون بیولوژیکی در برهمکنش با قارچ‌های میکوریز استفاده شد [۱۵].

### بررسی تأثیر مایه‌زنی قارچ‌های میکوریز آربوسکولار بر بیماری پوسیدگی ریشه و طوقه لوبیا

به منظور بررسی تأثیر قارچ‌های میکوریز آربوسکولار بر بیماری پوسیدگی ریشه و طوقه لوبیا، آزمایشی با ۹ تیمار در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام شد. تیمارهای مورد استفاده به شرح جدول ۱ بودند:

**جدول ۱. مشخصات تیمارهای آزمایشی در برهمکنش قارچ‌های میکوریز با قارچ *R. solani* روی لوبیا، در پژوهش حاضر.**

| کد تیمار | شرح تیمار | کد تیمار | شرح تیمار | کد تیمار | شرح تیمار |
|---|---|---|---|---|---|
| شاهد غیر آلوده (A-) | بدون قارچ‌های میکوریز و بیمارگر | Gi | برهمکنش قارچ *G. intraradices* با قارچ بیمارگر | Gm+Gr | برهمکنش قارچ Gm+Gr با قارچ بیمارگر |
| شاهد آلوده (A+) | مایه‌زنی با قارچ بیمارگر | Gr | برهمکنش قارچ *G. rubi* با قارچ بیمارگر | Gi+Gr | برهمکنش قارچ Gi+Gr با قارچ بیمارگر |
| Gm | برهمکنش قارچ *G. mosseae* با قارچ بیمارگر | Gm+Gi | برهمکنش قارچ‌های *Gm+Gi* با قارچ بیمارگر | Gi+Gm+Gr | برهمکنش قارچ Gi+Gm+Gr با قارچ بیمارگر |

### کاشت بذور لوبیا و مایه‌زنی با قارچ‌های میکوریز و عامل بیمارگر

بدین منظور بذور لوبیا رقم پاک را به مدت ۵ دقیقه در هیپوکلریت سدیم ۲ درصد ضدعفونی سطحی شدند و سپس سه مرتبه با آب مقطر سترون شسته شدند. بذور به مدت ۲۴ ساعت در آب مقطر استریل خیسانده و برای جوانه زنی بین دو لایه کاغذ صافی استریل قرار داده شدند. سپس برای کاشت بذرها در گلدان، از گلدان‌های پلاستیکی دو کیلوگرمی استفاده شد. ابتدا، در کف هر گلدان صد گرم از مایه قارچ‌های میکوریز (حدود ۱۰۰۰ پروپاگول در هر گرم خاک) ریخته شد و روی آن یک لایه ۱۰ سانتی‌متری از مخلوط خاک بکر سترون شده و ماسه شسته سترون (به نسبت ۱:۲) ریخته شد. سپس در هر گلدان چهار عدد بذر لوبیا کاشته شد و روی آن‌ها با ۲ سانتی‌متر ماسه شسته سترون پوشانده شد. گلدان‌ها در شرایط گلخانه به مدت دو هفته نگه‌داری شد. سپس مایه‌زنی گیاهان لوبیا با قارچ بیمارگر انجام شد. یک روز قبل از مایه‌زنی، گلدان‌ها آبیاری شدند تا عمل مایه‌زنی راحت‌تر انجام شود. برای مایه‌زنی مقداری از خاک اطراف هر بوته کنار زده شد و در کنار طوقه هر گیاه ۰/۵ درصد وزنی از مایه تلقیح قارچ *R. solani* به هر گلدان اضافه شد و سپس روی آن با لایه نازکی از خاک سطحی همان گلدان‌ها پوشیده شد. گلدان‌ها تا زمان بروز نشانه‌های بیماری در دمای ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شدند. به منظور بررسی اثر قارچ‌های میکوریز بر کاهش بیماری مرگ گیاهچه لوبیا در اثر قارچ *R. solani* شاخص‌های گیاهی از جمله ارتفاع بوته، طول ریشه، وزن تر و خشک ریشه، اندام هوایی، شاخص ویگور (فرمول شماره ۱) و همچنین شیوع و شدت بیماری (فرمول شماره ۲)، درصد کنترل بیماری (فرمول شماره ۳) و شاخص شدت پوسیدگی ریشه اندازه‌گیری شد. جهت اندازه‌گیری بنیه بذر، شیوع بیماری، شدت بیماری و شاخص شدت پوسیدگی ریشه از فرمول‌های زیر استفاده شد:

(۱) شاخص ویگور [۱۶]

$$Vi=\frac{\text{گیاهچه طول میانگین} \times \text{زنی جوانه درصد}}{۱۰۰}\times 100$$

(۲) شیوع بیماری [۱۷]

$$DI\% = \frac{\text{تعداد گیاه بیمار}}{\text{تعداد کل گیاهان}} \times ۱۰۰$$

(۳) درصد کنترل بیماری [۱۷]

$$DC\% = \frac{\text{درصد شیوع بیماری} - ۱۰۰}{\text{شیوع بیماری در کنترل}} \times ۱۰۰$$

**بررسی شاخص شدت پوسیدگی و بیماری در برهمکنش با عوامل میکوریز**

شاخص شدت بیماری بر اساس مقیاس آلودگی صفر تا پنج سماوات و همکاران [۱۸] و طبق فرمول شماره ۴ محاسبه گردید [۱۹]:

$$DSI\% = \frac{\text{مجموع کدهای تعریف شده برای گیاه}}{\text{بزرگترین کد} \times \text{تعداد کل گیاهان مورد آزمایش}} \times ۱۰۰ \quad (۴)$$

در این مقیاس، برای گیاهان سالم بدون هیچ‌گونه علائم آلودگی کد صفر، گیاهان با علائم با کمتر از ۱۰ درصد آلودگی ریشه و با یک زخم قهوه ای آفتاب سوخته به طول کمتر از یک سانتی متر روی طوقه کد یک، گیاهان با دو تا سه زخم قهوه‌ای آفتاب سوخته به طول کمتر از یک سانتیمتر روی طوقه یا آلودگی از ۱۱ تا ۲۰ درصد سطح ریشه کد دو، گیاهانی با آلودگی ۲۰ تا ۳۰ درصد سطح ریشه یا سه زخم قهوه‌ای آفتاب سوخته به طول ۲ تا ۳ سانتیمتر روی طوقه کد سه، گیاهانی با آلودگی بیش از ۳۰ درصد ریشه یا با سه زخم قهوه ای آفتاب سوخته به طول بیش از ۳ سانتیمتر روی طوقه کد چهار، مرگ گیاهچه پس از بیرون آمدن از خاک در حالیکه طول گیاهچه کمتر از ۵ سانتی متر باشد کد پنج و برای پوسیدگی بذر و مرگ گیاهچه قبل از بیرون آمدن از خاک کد شش تعلق می‌گیرد.

شاخص شدت پوسیدگی ریشه بر اساس مقیاس آلودگی صفر تا پنج پونگ[1] و همکاران طبق فرمول شماره ۵ محاسبه شد [۲۰]:

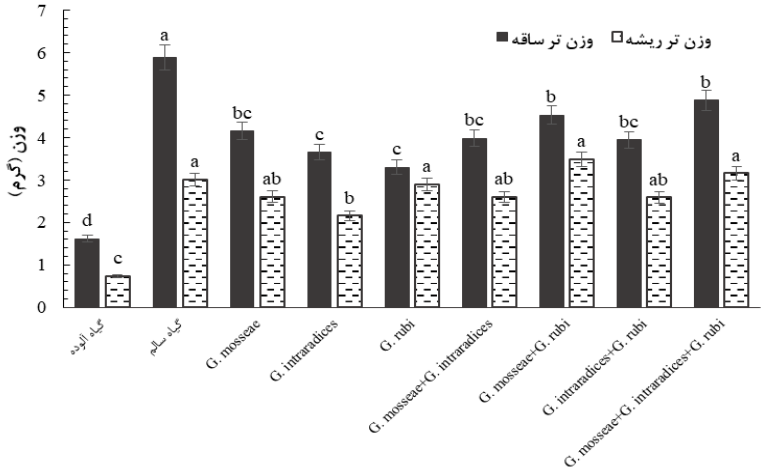
$$RRSI = \frac{[(\text{تعداد گیاه در کد ۱})+\ldots+(\text{تعداد گیاه در کد ۵}\times ۵)]}{\text{تعداد گیاهان زنده}} \quad (۵)$$

در این مقیاس کد صفر برای گیاهی بدون تغییر رنگ هیپولپه و بدون پوسیدگی ریشه، کد یک برای پوسیدگی سطحی هیپولپه، پوسیدگی کم ریشه و با انشعاب خوب ریشه، کد دو برای پوسیدگی سطحی هیپولپه و متوسط ریشه، کد سه برای گیاهی با پوسیدگی شدید هیپوکوتیل و متوسط ریشه، کد چهار برای گیاهی با پوسیدگی شدید هیپوکوتیل و ریشه و کد پنج برای گیاهی با کاهش شدید رشد یا مرگ گیاه با ریشه‌های بسیار کوچک تعریف می‌شود.

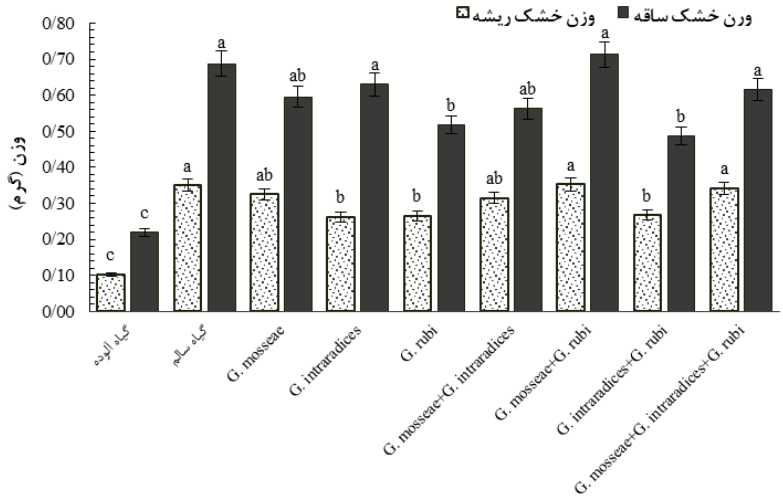
[1] Pung

## نتایج و بحث

مقایسه میانگین تأثیر عوامل میکوریز آربسکولار روی وزن تر ساقه گیاه لوبیا تحت تأثیر قارچ بیماری‌زای *R. solani* نشان داد، همه تیمارهای بکار گرفته‌شده در سطح یک درصد با تیمار شاهد آلوده تفاوت معنی‌داری دارند. تیمار ترکیبی همه عوامل بیولوژیک و تیمار *G. mosseae+G. rubi* به ترتیب با دارا بودن ۴/۸۸ و ۴/۵۰ گرم وزن تر ساقه گیاه لوبیا بیش‌ترین تأثیر را بر افزایش این شاخص گیاهی نسبت به تیمار شاهد آلوده نشان دادند. این تغییرات رشدی بعد از خشک کردن گیاه و برآورد وزن خشک اندام هوایی نیز تقریبا ثابت ماند و همه عوامل بیولوژیک میکوریزایی نسبت به تیمار شاهد آلوده تفاوت معنی‌داری را ایجاد کردند (شکل ۱). تأثیر این عوامل بیولوژیک قارچی در تغییرات وزن تر ریشه گیاه لوبیا آلوده‌شده به قارچ بیماری‌زای *R. solani* نیز نشان داد، همه تیمارهای بکار گرفته‌شده در سطح یک درصد با تیمار شاهد آلوده تفاوت معنی‌داری دارند. در بین این تیمارها بجز تیمار *G. intraradices* که تفاوت معنی‌داری با تیمار غیر آلوده نشان نداد دیگر تیمارهای میکوریزایی تفاوت معنی‌داری را در سطح یک درصد آماری ایجاد کردند. تیمار *G. mosseae+G. rubi* و تیمار *G. mosseae+G. intraradices+G. rubi* به ترتیب با میانگین ۳/۴۹ و ۳/۱۶ گرم وزن تر ریشه، بهترین تیمارهای بکار گرفته‌شده روی این شاخص گیاهی شناخته شدند. تجزیه واریانس این عوامل بیولوژیک در وزن خشک ریشه تفاوت معنی‌داری نشان نداد؛ ولی مقایسه میانگین داده‌های حاصل از این بخش از پژوهش نشان داد در بین تیمارهای بکار گرفته‌شده، تیمار *G. mosseae+G. rubi* با میانگین وزن خشک ریشه ۰/۳۵ گرم با شاهد آلوده تفاوت معنی‌داری دارد. دیگر تیمارها در سطح یک درصد و پنج درصد روی وزن خشک ریشه تفاوت معنی‌داری نشان ندادند (شکل ۲).



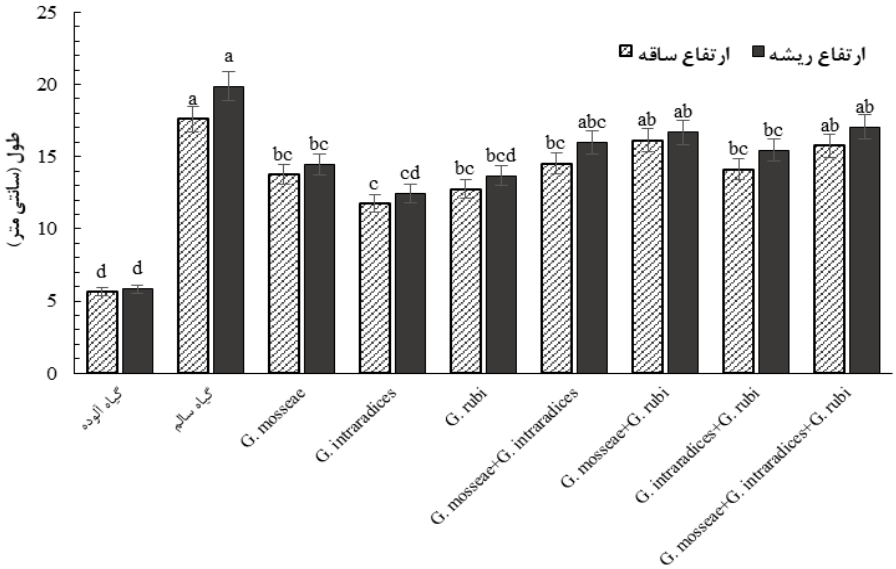

**شکل ۱. تأثیر عوامل قارچی میکوریزا بر وزن تر گیاه لوبیای آلوده به قارچ *R. solani*.**




**شکل ۲. تأثیر عوامل قارچی میکوریزا بر وزن خشک گیاه لوبیای آلوده به قارچ *R. solani***

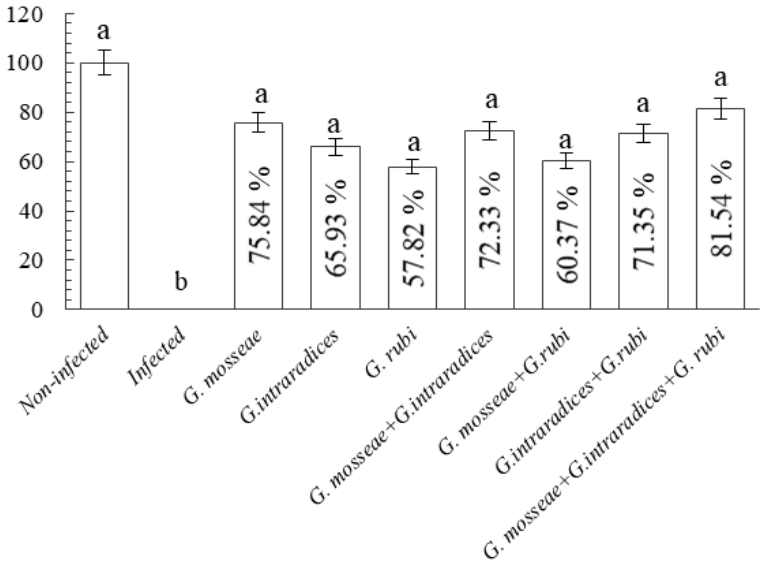
تأثیر عوامل میکوریزایی روی ارتفاع گیاه لوبیای آلوده‌شده به قارچ *R. solani* نشان داد که این عوامل قارچی باعث افزایش رشدی معنی‌داری در گیاه آلوده‌شده دارد و این تغییرات در سطح یک درصد معنی‌دار بوده‌اند. تیمارهای ترکیبی *G. mosseae+G. intraradices+G. rubi*، *G. mosseae+G. rubi* و *G. mosseae+G. intraradices* به ترتیب با ۱۷/۱۰، ۱۶/۶۹ و ۱۵/۴۳ سانتی‌متر میانگین ارتفاع ساقه و تیمارهای ترکیبی *G. mosseae+G. rubi* و *G. mosseae+G. intraradices+G. rubi* به ترتیب با ۱۶/۱۳ و ۱۵/۷۵ سانتی‌متر میانگین ارتفاع ریشه بیش‌ترین تأثیر را روی این دو شاخص گیاهی نشان دادند (شکل ۳). طبق پژوهش‌های *جفریز*[1] *و همکاران* مشخص‌شده قارچ‌های میکوریز با افزایش جذب عناصری نظیر فسفر، مس و روی و بهبود روابط آبی گیاه باعث افزایش رشد گیاه می‌شوند [۶]. طبق تحقیقات اسمیت و این قارچ‌ها برای برقراری رابطه همزیستی با گیاهان، اندام‌های متنوعی در داخل ریشه تولید می‌کنند که یکی از این‌ها آربوسکول است که انشعابات درختچه‌ای شکل قارچ نامیده می‌شوند. در ادامه *اسمیت و رد*[2] بیان داشته‌اند این اندام‌ها در فضای بین دیواره سلولی و غشای سیتوپلاسمی سلول گیاه میزبان تشکیل می‌شوند و مکانی برای تبادل مواد بین ضسیتوپلاسم سلول گیاه میزبان و قارچ هستند. که این قارچ‌ها با کمک این اندام‌ها موجب تقویت گیاهان می‌شود [۲۱]. در مطالعاتی در همین حیطه ثابت شده است این تغییرات در افزایش باروری و رشد گیاهان را در نتیجه عناصر غذایی کم تحرک محلول خاک نظیر فسفر، روی و مس دانسته‌اند [۲۲]. تسریع در جذب و انتقال آب و مواد غذایی توسط عوامل میکوریز به گیاهان نیز می‌تواند رشد و باروری گیاه را تا حدود زیادی افزایش دهد [۲۱].

[1] Jeffries
[2] Smith & Read




**شکل ۳. تأثیر عوامل قارچی میکوریزا بر ارتفاع گیاه لوبیای آلوده به قارچ *R. solani***

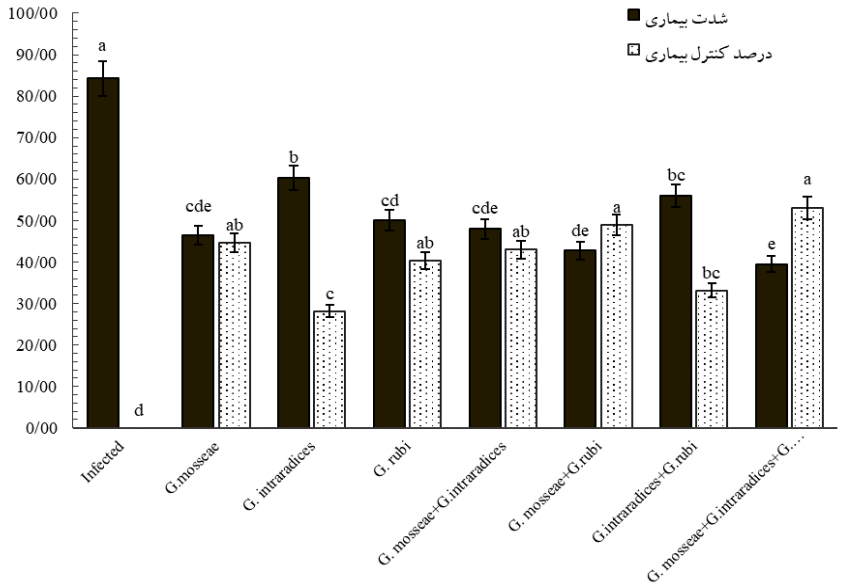
تأثیر عوامل میکوریزایی روی افزایش بنیه بذری گیاه لوبیا آلوده به قارچ *R. solani* تأثیر معنی‌دار بالایی نشان داد به نحوی‌که به‌طور میانگین بنیه بذر آلوده‌شده به این قارچ را از ۵۲/۸۲ درصد در تیمار با قارچ *G. intraradices* تا ۸۱/۵۴ درصد در تیمار *G. mosseae+G. intraradices+G. rubi* افزایش داد. این تغییرات بنیه بذری در تمام تیمارها در سطح یک درصد آماری تفاوت معنی‌داری نشان داد (شکل ۴).



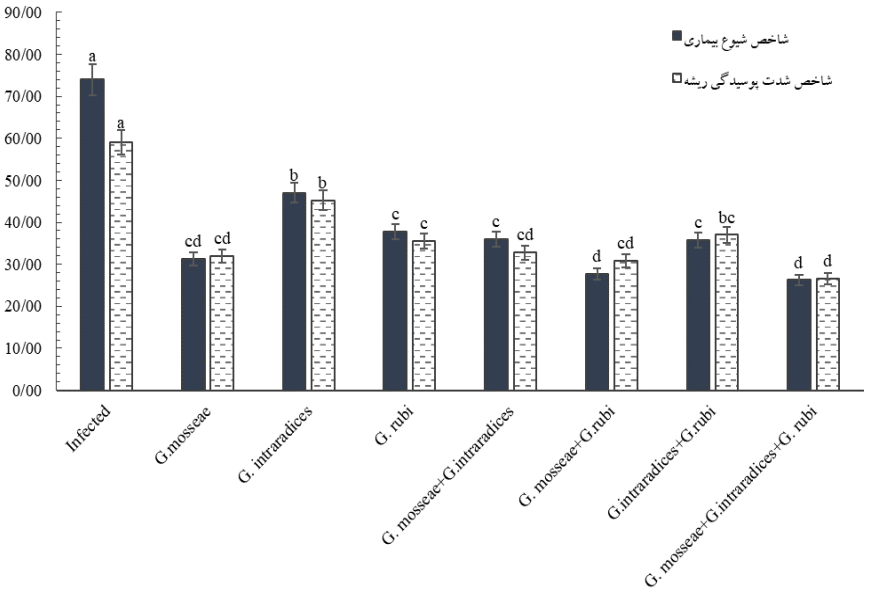

**شکل ۴. درصد تغییرات بنیه بذر لوبیا در برهمکنش عوامل میکوریز با قارچ *R. solani***

حضور قارچ‌های میکوریز آربوسکولار در سیستم ریشه نتایج شگرفی برای تحریک تقسیم ریشه و ساقه داشته است. کلنیزاسیون قارچ‌های میکوریز آربوسکولار مواد نشت شده در فرا ریشه را از لحاظ کیفی و کمی تغییر می‌دهد و تغییرات در الگوی نشت مواد در فرا ریشه ممکن است جذب بیمارگرها به طرف مواد شیمیایی را به سمت ریشه تغییر دهد. همچنین این دو محقق در ادامه بیان داشتند افزایش اسید گلوتامیک و اسید آسپارتیک، در ترشحات ریشه‌های میکوریزی اثر معنی‌داری روی اسیدیته فرا ریشه دارد [۲۳].

تأثیر عوامل میکوریزایی روی شیوع بیماری مرگ گیاهچه در بین گیاهچه‌های لوبیا نشان داد، تیمار ترکیبی *G. mosseae+G. intraradices+G. rubi* و تیمار *G. mosseae+ G. rubi* به ترتیب با نشان دادن ۳۹/۵۰ و ۴۲/۷۵ درصد شیوع به طور متوسط ۵۳ و ۴۹/۰۲ درصد باعث کنترل بیماری شده است و از این لحاظ بهترین تیمار آزمایشی بر کاهش بیماری بود. تیمارهایی که قارچ *G. mosseae* جزئی از ترکیب آن‌ها بودند همگی جز بهترین تیمارهای آزمایشی بودند. سایر تیمارها نیز در سطح یک درصد با تیمار شاهد آلوده تفاوت معنی‌داری در کنترل این بیماری ایجاد کردند (شکل ۵ و ۷). تأثیر این تیمارها نیز نشان داد تیمار ترکیبی *G. mosseae+G. intraradices+G. rubi*، تیمار *G. mosseae+ G. rubi* و *G. mosseae+G. intraradices* به‌ترتیب با ۲۶/۵۰، ۳۲/۷۵ و ۳۵/۵۰ درصد شدت پوسیدگی ریشه و تیمارهای *G. mosseae+G. intraradices+G. rubi* و تیمار *G. mosseae+ G. rubi* با ۲۶/۲۵ و ۲۷/۷۵ درصد شدت بیماری کمترین میزان شدت پوسیدگی ریشه و شدت بیماری را داشتند. که از این نظر با تیمار شاهد آلوده و سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری در سطح یک درصد ایجاد کردند (شکل ۶ و ۷ و جدول ۲).



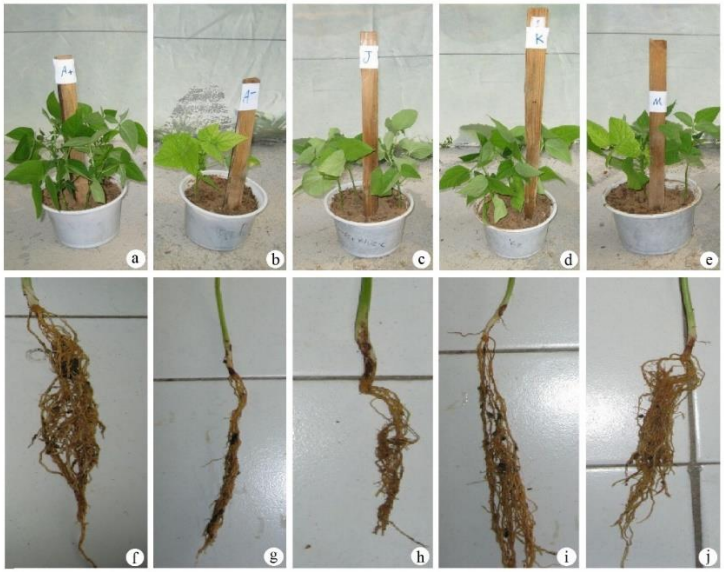

**شکل ۵. تأثیر عوامل قارچی میکوریزا روی شیوع و کنترل بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه گیاه لوبیا در اثر قارچ *R. solani*.**




**شکل ۶- تأثیر عوامل قارچی میکوریزا روی شدت بیماری و شدت پوسیدگی ریشه در بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه لوبیا در اثر قارچ *R. solani***

**جدول ۲- تأثیر عوامل میکوریزایی روی شاخص شدت پوسیدگی ریشه، شدت بیماری، شیوع و کنترل بیماری در بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه لوبیا ناشی از *R. solani***

| تیمار | کنترل بیماری | شیوع بیماری | شاخص شدت بیماری | شاخص شدت پوسیدگی ریشه |
|---|---|---|---|---|
| Infected | - | ۸۴/۲۵ | ۷۴ | ۵۹ |
| *G. mosseae* | ۴۴/۵۹ | ۴۶/۵۰ | ۳۱/۲۵ | ۳۲ |
| *G. intraradices* | ۲۸/۱۸ | ۶۰/۲۵ | ۴۷ | ۴۵/۲۵ |
| *G. rubi* | ۴۰/۲۵ | ۵۰ | ۳۷/۷۵ | ۳۵/۵۰ |
| *G. mosseae+G.intraradices* | ۴۳/۰۲ | ۴۸ | ۳۶ | ۳۲/۷۵ |
| *G. mosseae+G.rubi* | ۴۹/۰۲ | ۴۲/۷۵ | ۲۷/۷۵ | ۳۰/۷۵ |
| *G.intraradices+G.rubi* | ۳۳/۱۷ | ۵۶ | ۳۵/۷۵ | ۳۷ |
| *G. mosseae+G.intraradices+G. rubi* | ۵۳ | ۳۹/۵۰ | ۲۶/۲۵ | ۲۶/۵۰ |



**شکل ۷. مقایسه تغییرات شدت علائم گیاهان لوبیای آلوده‌شده با قارچ *R. solani* در همکنش با عوامل میکوریز: *a* و *f*) گیاه شاهد سالم *b* و *g*) علائم بیماری در گیاه شاهد آلوده به قارچ *R. solani* *c* و *h*) علائم بیماری در گیاه لوبیا در برهمکنش *G. intraradices* با *R. solani* *d* و *i*) علائم بیماری در گیاه لوبیا در برهمکنش *G. mosseaes* با *R. solani* *e* و *j*) علائم بیماری در گیاه لوبیا در برهمکنش *G.rubi* با *R. solani*.**

کنترل زیستی قارچ *R.solani* با استفاده از قارچ‌های میکوریز توسط بسیاری از محققان مورد مطالعه قرار گرفته است. در پژوهش مشابهی تلقیح خیار به گونه قارچی *G. mosseae* در ۱۰ روز قبل از آلوده سازی به بیماری مرگ گیاهچه ناشی از *R. solani* باعث محافظت ۴۸ درصدی این گیاه در مقابل عامل بیماری‌زا شده است [۲۴]. در پژوهش دیگری نیز مشخص‌شده است رشد قارچ *R. solani* روی ریشه گیاه خیار در صورت وجود قارچ میکوریزایی *G. intraradices* به صورت معنی‌داری کاهش یافته است [۲۵]. که نتایج این دو پژوهش با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد.

تعامل بین گونه‌های مختلف قارچ میکوریزا و پاتوژن قارچی *R. solani* باعث کنترل مطلوب این بیمارگر گیاهی شده و با بررسی تولید آنزیم‌های کیتیناز، گلوکاناز و گلیکوزید مشخص شد در دیواره سلولی قارچ *R. solani* تولید این آنزیم‌ها القا می‌شود [۲۶]. در پژوهش دیگری توسط *نراج* کاربرد تیمارهای مایه‌زنی مخلوط ۲ قارچ میکوریز آربوسکولار، باکتری *Pseudomonas fluorescens* به تنهایی و یا ترکیب مایه قارچ‌ها و باکتری به ریشه لوبیای فرانسوی (*Phaseolus vulgaris* L.) برای کنترل بیماری پوسیدگی ریشه، ناشی از قارچ*R. solani* نشان داده که تیمار ترکیب مایه قارچ‌ها و باکتری باعث کاهش معنی‌دار پوسیدگی ریشه و افزایش رشد و محصول می‌گردد [۲۷].

در مطالعات گویلون[1] و همکاران در تعامل قارچ میکوریز آربوسکولار *G. intraradices* با قارچ بیماری‌زای *R. solani* روی لوبیا مشاهده شد در بیان ژن‌های مرتبط با سیستم دفاعی گیاه در طول این تعامل تغییرات سیستمیکی زیادی رخ داده است [۲۸]. بنابراین می‌توان بیان داشت یکی از عوامل کاهش شدت آلودگی در حضور قارچ‌های میکوریز، تحریک سیستم دفاعی گیاهان است. چندین ژن و ترکیبات پروتئینی مرتبط با سیستم دفاعی گیاه شامل فیتوالکسین‌ها،

[1] Guillon

رسوب کالوز، گلیسوپروتئین‌های غنی از هیدروکسی پرولین، فنولیک‌ها، پراکسیدازها، کیتینازها و بتا ۱ و۳ گلوکانازها در همزیستی قارچ‌های میکوریز آربوسکولار با گیاهان در مقابل عوامل بیماری‌زا به طور گسترده‌تری بیان می‌شوند [۵; ۲۹].

کلنیزاسیون سیستم ریشه گیاهان توسط قارچ‌های میکوریز آربوسکولار می‌تواند شکل ظاهری سیستم ریشه را از لحاظ ساختاری، فضایی، کمی و زمانی تغییر دهد [۳۰]. افزایش لیگنینی شدن در سلول‌های ریشه‌های میکوریزی خیار و گوجه‌فرنگی مشاهده کردند؛ که این مکانیزم می‌تواند از عوامل اصلی مقاوم شدن گیاه لوبیا در برابر قارچ *R. solani* باشد [۳۰]. استقرار زودتر قارچ‌های میکوریز آربوسکولار مانع از استقرار سایر میکروارگانیسم‌ها می‌شوند لذا با محدود کردن فضا می‌توانند از رشد عوامل بیماری‌زا روی گیاه میزبان ممانعت به عمل آورد [۳۱]. همچنین مشخص‌شده است قارچ‌های میکوریز از مکانیزم‌های فیزیکی و بیوشیمیایی مختلفی باعث افزایش مقاومت گیاه لوبیا در برابر مرگ گیاهچه می‌شود. از جمله این عوامل می‌توان به بهبود تغذیه گیاه، بهبود رشد گیاه، افزایش ضخامت دیواره سلولی، دانه‌های ریز سیتوپلاسمی و تجمع برخی از مواد ضد میکروبی (ترکیبات فنلی و دفاع آنزیم مربوط) اشاره کرد این مکانیزم‌های بکار گرفته‌شده توسط قارچ‌های میکوریز آربوسکولار ممکن است فرآیندهای ترمیمی را دوباره احیاء کند [۵; ۳۲].

## نتیجه‌گیری

با توجه به اثر مثبت قارچ‌های میکوریزایی بکار گرفته‌شده در این پژوهش، می‌توان گفت که وجود این میکروارگانیسم‌ها در خاک می‌تواند تا حدود زیادی از رشد عوامل بیماری‌زای خاکزی همانند *R. solani* بکاهد و محصول رشد کرده از نظر کمی و کیفی تغییر مثبت قابل‌توجهی در آن مشاهده شود. با توجه به اینکه این موجودات هیچ ضرری برای محیط‌زیست و انسان و سایر موجودات ندارد، می‌توان نویدبخش یکی از عوامل بیولوژیک مفید در جایگزینی سموم شیمیایی باشند، البته این امر نیازمند تحقیقات بیشتر در جهت کاربردی کردن این عوامل بیولوژیک است. این عوامل بیولوژیک به سختی تکثیر و رشد داده می‌شوند که می‌تواند از عوامل محدودکننده در به‌کارگیری آن‌ها باشد، لذا پیشنهاد می‌شود در آینده در زمینه کشت گسترده و سریع این عوامل بیولوژیک در جهت تهیه فرمولاسیون‌های کودی و زیستی پژوهش انجام شود که بتوانند استفاده کاربردی و اصولی پیدا کنند.

## References


[1] Schurt, D. A., Cruz, M. F., Nascimento, K. J., Filippi, M. C., & Rodrigues, F. A. (2014). Silicon potentiates the activities of defense enzymes in the leaf sheaths of rice plants infected by Rhizoctonia solani. *Tropical Plant Pathology*, *39*(6), 457-463. https://doi.org/10.1590/S1982-56762014000600007

[2] Azad Disfani, F., Rohani, H., Falahati Rastegar, M., & Mahdikhani Moghaddam, E. (2014). Defense responses of cotton seedling to Trichoderma elicitors. *Iranian Journal of Cotton Researches*, *2*(1), 1-17. https://doi.org/10.22092/ijcr.2014.100641

[3] Foroughi, M., Mohammadi, S., & Ghasemi, A. (2013). Antifungal activity of five medical herbs on the plant pathogenic fungus Rhizoctonia solani. *Journal of Microbial World*, *5*(3 & 4), 115-121. https://www.sid.ir/paper/189185/en

[4] Kazemzadeh, M., Roustaii, A., Padasht Dehkaei, F., & Khodakaramian, K. (2012). Study of Biological Control of Rice Sheath Blight Caused by Rhizoctonia solani with Some Antagonistic Bacteria in the Guilan Province. *Journal of Iranian Plant Protection Research*, *26*(1), 44-54. https://doi.org/10.22067/jpp.v26i1.12685

[5] Harrier, L. A., & Watson, C. A. (2004). The potential role of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi in the bioprotection of plants against soil-borne pathogens in organic and/or other sustainable farming systems. *Pest Management Science: formerly Pesticide Science*, *60*(2), 149-157. https://doi.org/10.1002/ps.820

[6] Jeffries, P., Gianinazzi, S., Perotto, S., Turnau, K., & Barea, J-M. (2003). The contribution of arbuscular mycorrhizal fungi in sustainable maintenance of plant health and soil fertility. *Biology and Fertility of Soils*, *37*(1), 1-16. https://doi.org/10.1007/s00374-002-0546-5

[7] Chen, J.-H. (2006). The combined use of chemical and organic fertilizers and/or biofertilizer for crop growth and soil fertility. *International Workshop on Sustained Management of the Soil-Rhizosphere System for Efficient Crop Production and Fertilizer use*, *16*(20), 1-11. https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/20083100590

[8] Abdel-Fattah, G., & Shabana, Y. (2002). Efficacy of the arbuscular mycorrhizal fungus Glomus clarum in protection of cowpea plants against root rot pathogen Rhizoctonia solani. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz/Journal of Plant Diseases and Protection*, *10*(2), 207-215. https://www.jstor.org/stable/43216197

[9] Matsubara, Y., Ohba, N., & Fukui, H. (2001). Effect of arbuscular mycorrhizal fungus infection on the incidence of Fusarium root rot in asparagus seedlings. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, *70*(2), 202-206. https://doi.org/10.2503/jjshs.70.202

[10] Gerdemann, J., & Nicolson, T. H. (1963). Spores of mycorrhizal Endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Transactions of the British Mycological society*, *46*(2), 235-244. https://doi.org/10.1016/S0007-1536(63)80079-0

[11] Jenkins, W. (1964). A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. *Plant Disease Reporter*, *48*(9), 692. https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/19650801105

[12] Rosewarne, G., Barker, S., & Smith, S. (1997). Production of near-synchronous fungal colonization in tomato for developmental and molecular analyses of mycorrhiza. *Mycological Research*, *101*(8), 966-970. https://doi.org/10.1017/S0953756297003626

[13] Gaur, A., & Adholeya, A. (2002). Arbuscular-mycorrhizal inoculation of five tropical fodder crops and inoculum production in marginal soil amended with organic matter. *Biology and Fertility of Soils*, *35*(3), 214-218. https://doi.org/10.1007/s00374-002-0457-5

[14] Sohrabi, M., Mohammadi, H., & Mohammadi, A. H. (2014). Effects of two arbuscular mycorrhizal fungi, Glomus mussae and Glomus intraradices on pea root rot disease caused by Fusarium solani f. sp. pisi under greenhouse conditions. *Biological Control of Pests and Plant Diseases*, *2*(2), 129-137. https://doi.org/10.22059/jbioc.2014.51685

[15] Pal, K., Tilak, K., Saxcna, A., Dey, R., & Singh, C. (2001). Suppression of maize root diseases caused by Macrophomina phaseolina, Fusarium moniliforme and Fusarium graminearum by plant growth promoting rhizobacteria. *Microbiological Research*, *156*(3), 209-223. https://doi.org/10.1078/0944-5013-00103

[16] Parimala, D., & Marimuthu, P. (2011). Effect of botanical formulation of Polygonum minus (P-40) on control of Alternaria solani. *Journal of Plant Pathology & Microbiology*, *2*, 1-5. https://doi.org/10.4172/2157-7471.1000104

[17] Choudhary, S. R., & Sindhu, S. S. (2015). Suppression of Rhizoctonia solani root rot disease of clusterbean (Cyamopsis tetragonoloba) and plant growth promotion by rhizosphere bacteria. *Plant Pathology Journal (Faisalabad)*, *14*(2), 48-57. https://doi.org/10.3923/ppj.2015.48.57

[18] Samavat, S., Ahmadzadeh, M., & Behboudi, K. (2011). Rhizobium spp. Isolates as Biocontrol Agents of Bean Damping-off, Caused by Rhizoctonia solani. *Iranian Journal of Plant Protection Science*, *42*(2), 295-301. https://doi.org/10.22059/ijpps.2012.24337

[19] Abdel-Monaim, M., El-Morsi, M., & Hassan, M. (2014). Control of root rot and wilt disease complex of some evergreen fruit transplants by using plant growth promoting

rhizobacteria in the New Valley Governorate, Egypt. *Journal of Phytopathol. Pest Manag*, *1*(3), 23-33. https://www.aun.edu.eg/agriculture/control-root-rot-and-wilt-disease-complex-some-evergreen-fruit-transplants-using-plant-growth

[20] Pung, H., Cross, S., Keller, K. O., & Mckay, A. (2007). *Investigations on Rhizoctonia solani in cropping soils and vegetable crops*. Project HVG05090. https://www.ausvegvic.com.au/pdf/r%26d_VG05090_Rhizoctonia_article_2007.pdf

[21] Smith, S. E., & Read, D. J. (2010). *Mycorrhizal Symbiosis* (3 ed.). Academic Press. https://books.google.com/books?id=qLciOJaG0C4C

[22] Al-Karaki, G. N., & Hammad, R. (2001). Mycorrhizal influence on fruit yield and mineral content of tomato grown under salt stress. *Journal of plant nutrition*, *24*(8), 1311-1323. https://doi.org/10.1081/PLN-100106983

[23] Norman, J., & Hooker, J. E. (2000). Sporulation of Phytophthora fragariae shows greater stimulation by exudates of non-mycorrhizal than by mycorrhizal strawberry roots. *Mycological Research*, *104*(9), 1069-1073. https://doi.org/10.1017/S0953756299002191

[24] Chandanie, W., Kubota, M., & Hyakumachi, M. (2005). Interaction between arbuscular mycorrhizal fungus Glomus mosseae and plant growth promoting fungus Phoma sp. on their root colonization and growth promotion of cucumber (Cucumis sativus L.). *Mycoscience*, *46*(3), 201-204. https://doi.org/10.1007/S10267-005-0230-3

[25] Guenoune, D., Galili, S., Phillips, D. A ,.Volpin, H., Chet, I., Okon, Y., & Kapulnik, Y. (2001). The defense response elicited by the pathogen Rhizoctonia solani is suppressed by colonization of the AM-fungus Glomus intraradices. *Plant Science*, *160*(5), 925-932. https://doi.org/10.1016/S0168-9452(01)00329-6

[26] Tang, M., Zhang, R.-Q., Chen, H., Zhang, H.-H., & Tian, Z.-Q. (2008). Induced hydrolytic enzymes of ectomycorrhizal fungi against pathogen Rhizoctonia solani. *Biotechnology Letters*, *30*(10), 1777-1782. https://doi.org/10.1007/s10529-008-9760-z

[27] Singh, K. (2011). Organic amendments to soil inoculated arbuscular mycorrhizal fungi and Pseudomonas fluorescens treatments reduce the development of root-rot disease and enhance the yield of Phaseolus vulgaris L. *European Journal of Soil Biology*, *47*(5), 288-295. https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2011.07.002

[28] Guillon, C., St-Arnaud, M., Hamel, C., & Jabaji-Hare, S. (2002). Differential and systemic alteration of defence-related gene transcript levels in mycorrhizal bean plants infected with Rhizoctonia solani. *Canadian Journal of Botany*, *80*(3), 305-315. https://doi.org/10.1139/b02-015

[29] Pozo, M. J., Cordier, C., Dumas-Gaudot, E., Gianinazzi, S., Barea, J. M., & Azcón-Aguilar, C. (2002). Localized versus systemic effect of arbuscular mycorrhizal fungi on defence responses to Phytophthora infection in tomato plants. *Journal of experimental botany*, *53*(368), 525-534. https://doi.org/10.1093/jexbot/53.368.525

[30] Linderman, R. G. (2000). Effects of Mycorrhizas on Plant Tolerance to Diseases. In Y. Kapulnik & D. D. Douds (Eds.), *Arbuscular Mycorrhizas: Physiology and Function* (pp. 345-365). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-017-0776-3_15

[31] Hol, W. G., & Cook, R. (2005). An overview of arbuscular mycorrhizal fungi–nematode interactions. *Basic and Applied Ecology*, *6*(6), 489-503. https://doi.org/10.1016/j.baae.2005.04.001

[32] Abdel-Fattah, G., El-Haddad, S., Hafez, E., & Rashad, Y. (2011). Induction of defense responses in common bean plants by arbuscular mycorrhizal fungi. *Microbiological research*, *166*(4), 268-281. https://doi.org/10.1016/j.micres.2010.04.004