The University of Tehran Press

Biological Control of Pests and Plant Diseases

Online ISNN: 2322-2883

Homepage: https://jbiocontrol.ut.ac.ir/

Effect of tomato seed coating with spores of the endophytic fungus *Acrophialophora jodhpurensis* on plant growth and control of crown and root rot caused by *Rhizoctonia solani*

Zoha Daroodi[1], Parissa Taheri[2]✉, Saeed Tarighi[3]

1. Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran. E-mail: daroodi2009@gmail.com
2. Corresponding Author, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad Iran. E-mail: p-taheri@um.ac.ir
3. Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran. E-mail: starighi@um.ac.ir

Article Info

Article type:

Research Article

Article history:

Received: 16 January 2024

Revised: 3 February 2024

Accepted: 12 February 2024

Published online: 22 December 2022

Keywords:

Disease index,

Infection structures,

Lycopersicon esculentum,

Plant growth parameters,

stickers.

ABSTRACT

Seed coating using antagonistic fungi protects seeds and plants against pathogens. In this research, the effect of tomato seed coating was studied using the endophytic fungus *Acrophialophora jodhpurensis* against *Rhizoctonia solani in vivo*. Seed coating was done using the spores of *A. jodhpurensis* supplemented with 1% edible sucrose, 0.5 % carboxymethyl cellulose (CMC), or 0.5 % molasses as stickers. The greenhouse studies showed that the plant roots were colonized by this endophytic fungus very well at 30 days post-cultivation. The colonization of the roots in sucrose and carboxymethyl cellulose treatments was 80.55%, and in molasses treatment was 69.44%. This beneficial fungus significantly reduced the disease index of *R. solani* on detached leaf discs and tomato seedlings compared to the control. Also, the formation of pathogen infection structures, such as lobate appressoria and infection cushions, reduced on the treated plants compared to the control. Plant growth parameters such as dry and wet weight, shoot and root length significantly increased when the tomato seeds were coated with *A. jodhpurensis* compared to the non-treated control. Among the different coating materials used as sticker, sucrose was found to be the most effective for reducing the disease severity of *R. solani* and increasing plant growth parameters, which in sucrose, *A. jodhpurensis* and *R. solani* treatment the disease index significantly reduced compared to the plants only inoculated with *R. solani*. Therefore, seed coating using the endophytic fungus *A. jodhpurensis* supplemented with stickers, particularly edible sucrose, can be applied to protect tomato plants against this destructive pathogen.

.

Cite this article: Daroodi, Z., Taheri, P., & Tarighi, S. (2022). Effect of tomato seed coating with spores of the endophytic fungus *Acrophialophora jodhpurensis* on plant growth and control of crown and root rot caused by *Rhizoctonia solani*. *Biological Control of Pests and Plant Diseases*, 11 (2), 95-113. DOI: https://doi.org/10.22059/jbioc.2024.371151.329

© The Author(s).

Publisher: The University of Tehran Press.

DOI: https://doi.org/10.22059/jbioc.2024.371151.329

Extended Abstract

Introduction

Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) is one of the most popular vegetables worldwide. Various fungal pathogens, including *Rhizoctonia solani*, cause destructive diseases in tomato with high levels of yield loss. Generally, this pathogen is controlled using chemical fungicides. The application of chemical fungicides may cause many problems, including environmental pollution, toxicity on non-target organisms, and development of resistance in the pathogen populations. Therefore, biological control can be considered as an effective and

safe method to control this destructive phytopathogen. Also, application of biocontrol agents using seed coating can increase germination rates, and protect the seedlings and seeds against phytopathogens.

Materials and Methods

In this research, the effect of tomato seed coating was investigated using the endophytic fungus *Acrophialophora jodhpurensis* against *Rhizoctonia solani* AG4-HG II *in vivo*. Tomato seed coating was studied using ascospores of *A. jodhpurensis* supplemented with 1% edible sucrose, 0.5 % carboxymethyl cellulose (CMC), or 0.5 % molasses as sticker. After seed treatment, the tomato seeds were placed in pots containing sterilized soil, perlite, and sand (2:1:1) under greenhouse conditions (30 ± 4 ◦C with 16/8 h light/dark photoperiod). After 4 weeks, detection of *A. jodhpurensis* in tomato roots was done and the root colonization percentage was estimated. Then, inoculation of tomato seedlings was done with *R. solani* AG4-HG II using the toothpicks which were colonized by the pathogen's hyphae. Plant growth parameters and the disease progress were evaluated at 7 days after inoculating the pathogen. Also, production of infection structures of the pathogen were determined on tomato leaf discs.

Results and Discussion

The *in vivo* studies showed that the plant roots were colonized by this endophytic fungus very well at 30 days post-inoculation. The colonization of tomato roots in sucrose and carboxymethyl cellulose treatments was 80.55%, but in molasses treatment was 69.44%. This beneficial fungus significantly reduced the disease index and infection process of *R. solani* on tomato plants. Production of the lobate appressoria and infection cushions was more and faster on the leaf discs without the endophyte treatment compared to the leaves of tomato plants with *A. jodhpurensis* treatment. The disease index of *R. solani* in sucrose and *A. jodhpurensis* treatment was reduced by 40% compared to *R. solani* treatment. Also, plant growth parameters, such as wet and dry weight, shoot, and root length were significantly increased when the tomato seeds were treated using spore suspension of *A. jodhpurensis* and stickers compared to the non-inoculated control. Among the various coating materials investigated as stickers, sucrose was the most effective for reducing the disease index of *R. solani* and increasing plant growth parameters.

In this research, coating of tomato seeds using ascospore of *A. jodhpurensis* against *R. solani* was studied for the first time. The results showed that the endophytic fungus can colonize tomato roots when applied as seed treatment. Therefore, seed coating using the endophytic fungus *A. jodhpurensis* supplemented with stickers, particularly edible sucrose, can be used to protect plants against this destructive phytopathogen.

Conclusion

This study demonstrated that tomato seed coating with *A. jodhpurensis* spores reduces the disease index of *R. solani* on tomato seedlings *in vivo*. Also, the growth parameters of tomato plants increased using *A. jodhpurensis* spores. Therefore, tomato seed coating using *A. jodhpurensis* spores and stickers, such as sucrose, could be used for protection against this necrotrophic fungal pathogens and plant growth promotion.

نشریه کنترل بیولوژیک آفات و بیماری‌های گیاهی، دوره ۱۱، شماره ۲

انتشارات دانشگاه تهران

شاپا الکترونیکی: ۲۴۲۳-۸۰۹۰

Homepage: https://jbiocontrol.ut.ac.ir/

اثر پوشش‌دهی بذر گوجه‌فرنگی با اسپور قارچ اندوفیت *Acrophialophora jodhpurensis* روی رشد گیاه و کنترل پوسیدگی طوقه و ریشه ناشی از *Rhizoctonia solani*

ضحا درودی[۱] | پریسا طاهری[۲]✉ | سعید طریقی[۳]

۱. گروه گیاه پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران. رایانامه: daroodi2009@gmail.com

۲. نویسنده مسئول، گروه گیاه پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران. رایانامه: p-taheri@um.ac.ir

۳. گروه گیاه پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران. رایانامه: starighi@um.ac.ir

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:

مقالهٔ پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۰/۲۶

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۱۱/۱۴

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۱/۲۳

تاریخ انتشار: ۱۴۰۱/۱۰/۰۱

کلیدواژه‌ها:

ساختارهای آلوده‌کننده، شاخص بیماری، فاکتورهای رشدی گیاه، مواد چسباننده ، Solanum lycopersicum .

چکیده

پوشش‌دهی بذر با عوامل آنتاگونیست سبب حفاظت بذور و گیاهان در برابر بیمارگرها می‌شود. در این مطالعه، اثر پوشش‌دهی بذر گوجه‌فرنگی با قارچ اندوفیت *Acrophialophora jodhpurensis* علیه بیمارگر *Rhizoctonia solani* در شرایط گلخانه مورد مطالعه قرار گرفت. پوشش‌دهی بذور با اسپورهای *A. jodhpurensis* همراه با یک درصد ساکارز خوراکی، نیم درصد کربوکسی‌متیل‌سلولز و نیم درصد ملاس به عنوان چسباننده انجام شد. بررسی گلخانه‌ای نشان داد که در ۳۰ روز پس از کشت، ریشه گیاهان توسط قارچ به خوبی کلونیزه می‌شود. میزان کلونیزاسیون ریشه‌ها برای تیمارهای ساکارز خوراکی و کربوکسی‌متیل‌سلولز، ۸۰٪/۵۵ و برای تیمار ملاس ۶۹/۴۴٪ بود. این قارچ مفید منجر به کاهش معنی‌داری در شاخص بیماری *R. solani* روی قرص‌های برگی و نهال‌های گوجه‌فرنگی در مقایسه با شاهد شد. همچنین تولید ساختارهای آلوده‌کننده بیمارگر از قبیل آپرسوریوم‌های لوب‌دار و بالشتک‌آلوده‌کننده در گیاهان تیمار شده در مقایسه با شاهد کاهش یافت. فاکتورهای رشدی گیاه از قبیل وزن تر، خشک و طول اندام هوایی و ریشه گیاهان تیمار شده با این قارچ اندوفیت در مقایسه با گیاهان شاهد فاقد تیمار به طور معنی‌داری افزایش یافت. در میان مواد مختلف استفاده شده به عنوان چسباننده، ساکارز بیشترین تاثیر را در کاهش شاخص بیماری و افزایش فاکتورهای رشدی گیاه داشت. به‌طوری‌که در گیاهان تیمار شده با ساکارز، *A. jodhpurensis* و *R. solani* شاخص بیماری به طور معنی‌داری در مقایسه با گیاهانی که فقط با R. solani مایه زنی شده بودند کاهش یافت. بنابراین، پوشش‌دهی بذور با قارچ اندوفیت *A. jodhpurensis* و چسباننده‌ها، مخصوصاً ساکارز خوراکی، می‌تواند برای حفاظت گیاه گوجه‌فرنگی علیه این بیمارگر مخرب مورد استفاده قرار گیرد.

استناد: درودی، ضحا؛ طاهری، پریسا؛ و طریقی، سعید (۱۴۰۱). اثر پوشش‌دهی بذر گوجه‌فرنگی با اسپور قارچ اندوفیت *Acrophialophora jodhpurensis* روی رشد گیاه و کنترل پوسیدگی طوقه و ریشه ناشی از *Rhizoctonia solani*. *نشریه کنترل بیولوژیک آفات و بیماری‌های گیاهی* ، ۱۱ (۲)، ۱۱۳-۹۵. DOI: https://doi.org/10.22059/jbioc.2024.371151.329

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

© نویسندگان.

DOI: https://doi.org/10.22059/jbioc.2024.371151.329

مقدمه

گوجه‌فرنگی با نام علمی *Solanum lycopersicum* L. از خانواده بادنجانیان[1] (Taylor, 1986)، یکی از مهم‌ترین صیفی‌جات در جهان می‌باشد. *Rhizoctonia solani* Kühn، یک قارچ نکروتروف خاکزی و همه جازی است که مهم‌ترین بیمارگر بسیاری از محصولات زراعی و سبزیجات محسوب شده و سبب کاهش شدید محصول گوجه‌فرنگی می‌شود (Pourmahdi & Taheri, 2014). ایجاد پوسیدگی ریشه و طوقه توسط *R. solani* یکی از بیماری‌های مهم گوجه‌فرنگی در ایران و جهان می‌باشد (Solanki *et al.*, 2012; Taheri & Tarighi, 2012). همچنین این قارچ سبب مرگ گیاهچه در شرایط گلخانه و مزرعه روی گوجه‌فرنگی می‌شود (De Curtis *et al.*, 2010). این بیمارگر نکروتروف به عنوان یک گونه‌ی مرکب شناخته می‌شود و شامل ۱۴ گروه آناستوموزی[2] است که شامل AGs1 تا AGs13 و AG-B1 هستند (Ajayi-Oyetunde & Bradley, 2018). گروه‌های آناستوموزی از نظر مشخصات ریخت‌شناسی، بیماری‌زایی و توالی دی ان ای[3] با هم متفاوت هستند (Carling *et al.*, 2002). گروه‌های آناستوموزی ۱، ۲، ۳ و ۴ روی گوجه‌فرنگی بیماری‌زا گزارش شده‌اند (Misawa & Kuninaga, 2010; Pourmahdi & Taheri, 2014).

این بیمارگر دارای تنوع ژنتیکی زیاد، دامنه‌ی میزبانی گسترده و بقای طولانی مدت در خاک توسط سختینه‌ها است. مقاومت کامل نسبت به این بیمارگر در هیچ رقمی از گونه‌های گیاهی مشاهده نشده است و فقط مقاومت نسبی در برخی ارقام گزارش شده است. بنابراین، مدیریت بیماری‌های ایجاد شده توسط *R. solani* مشکل است و نیازمند روش‌های مدیریتی نوین و مؤثر است (Taheri et al., 2007).

این بیمارگر قارچی عمدتاً با استفاده از قارچ‌کش‌های شیمیایی کنترل می‌شود و استفاده از سموم شیمیایی سبب مشکلات متعددی از قبیل آلودگی‌های زیست محیطی، ایجاد سمیت روی موجودات غیرهدف و ایجاد مقاومت نسبت به سموم شیمیایی در جمعیت‌های بیمارگر می‌گردد. بنابراین کنترل بیولوژیک می‌تواند به عنوان یک روش ایمن و مؤثر برای کنترل این بیمارگر مخرب مورد استفاده قرار گیرد.

قارچ‌های مفید زیادی به حفاظت گونه‌های گیاهی علیه بیمارگرها و همچنین حفظ حاصلخیزی خاک کمک می‌کنند. قارچ‌های اندوفیت حداقل یک مرحله از سیکل زندگی خود را درون بافت‌های گیاهی می‌گذرانند، بدون این‌که سبب ایجاد علائم بیماری شوند. قارچ‌های اندوفیت از طرق کاهش تنش‌های ناشی از عوامل غیرزنده، افزایش دفاع میزبان در برابر تنش‌های زنده و پشیبانی گیاه از لحاظ تغذیه‌ای مانند افزایش نیتروژن، فسفر، آهن و ویتامین‌ها بر گیاه اثر می‌گذارند (Bacon & White, 2016). قارچ‌های اندوفیت با استفاده از ویژگی‌هایی نظیر مایکوپارازیتیسم، رقابت و آنتی‌بیوز به‌طور مستقیم بر بیمارگرهای گیاهی اثر دارند. به نظر می‌رسد آنتی‌بیوز در کنترل بیمارگرهای گیاهی توسط قارچ‌های اندوفیت از اهمیت بیشتری برخوردار است. به توقف رشد یا مرگ بیمارگر گیاهی در اثر ترکیباتی که مستقیماً توسط عوامل بیوکنترل تولید می‌شوند، آنتی‌بیوز می‌گویند (Dipietro, 1995). قارچ‌های اندوفیت منبعی غنی از متابولیت‌های ثانویه با فعالیت‌های ضدمیکروبی هستند که ممکن است میکروارگانیسم‌های بیمارگر را مهار کنند (Thines *et al.*, 2004). تعداد زیادی از محصولات طبیعی دارای فعالیت ضدمیکروبی از جمله آلکالوئیدها، فلاونوئیدها، پپتیدها، فنل‌ها، کینون‌ها، استروئیدها، ترپنوئیدها، پلی‌کتیدها و ترکیبات‌آلی فرار از اندوفیت‌ها جدا شده‌اند (Yu *et al.*, 2010; Mousa & Raizada, 2013; Lugtenberg *et al.*, 2016).

کاربرد این قارچ‌ها می‌تواند به عنوان یک راهکار مدیریتی برای افزایش کمیت و کیفیت محصولات کشاورزی مورد استفاده قرار گیرد (Sujatha *et al.*, 2021). این میکروارگانیسم‌ها سبب تولید متابولیت‌های ثانویه از قبیل ایندول استیک اسید[4]، سیدروفور و آنزیم‌های خارج سلولی مختلف می‌گردند و همچنین قادر به حلالیت فسفات هستند که سبب افزایش رشد گیاه و

1 Solanaceae
2 AGs: anastomosis groups
3 Deoxyribonucleic acid (DNA)
4 Indole acetic acid (IAA)

القای مقاومت علیه بیمارگرهای گیاهی می‌گردند (Hossain *et al*., 2017; Zhang *et al*., 2018). به‌طور کلی در برهمکنش قارچ اندوفیت و گیاه میزبان، از طریق تنظیم مستقیم هورمون‌های گیاهی اغلب زیست‌توده گیاه افزایش می‌یابد و در نهایت سبب افزایش محصول می‌شود (Waller *et al*., 2005; Achatz *et al*., 2010).

جنس *Acrophialophora* یک قارچ اندوفیت است که در مناطق گرمسیری پراکنش دارد. این قارچ در شاخه‌ی Ascomycota طبقه‌بندی می‌شود و متعلق به خانواده *Chaetomiaceae* است و تا قبل از ۲۰۱۹ در جنس *Chaetomium* طبقه‌بندی می‌شد. گونه‌ی تیپ این جنس *A. nainiana* است، که از خاک جدا شده است و اولین بار توسط ادوارد توصیف شده است (Edward, 1959).

پوشش‌دهی بذور به عنوان یک روش با مزایای زیادی از قبیل صرفه اقتصادی، دقت و پایداری بیشتر شناخته می‌شود (Rocha *et al*., 2019). در روش پوشش‌دهی، بذور قبل از کاشت با استفاده از عوامل زیستی (شامل باکتری‌ها و قارچ‌ها)، فیزیکی (شامل خشک کردن، حرارت دادن، استفاده از آب گرم و اشعه) و شیمیایی تیمار می‌شوند. هدف از پوشش‌دهی بذور، افزایش نرخ جوانه‌زنی و عملکرد بذور، همچنین حفاظت از حمله بیمارگرها است. این روش اولین بار در سال ۱۹۳۰ برای پوشش‌دهی بذور غلات علیه بیمارگرهای خاکزی استفاده شد. در بیشتر مطالعات، پوشش‌دهی بذور توسط عوامل آنتاگونیست با غوطه‌ور مستقیم بذور در سوسپانسیون اسپور انجام شده است (Mahmood *et al*., 2016). در اغلب موارد پوشش‌دهی بذور با عوامل بیولوژیک همراه با یک حامل انجام می‌گیرد، که به طور کلی حامل‌ها بر اساس عملکرد آن‌ها به عنوان مواد مغذی (مانند فسفر، پتاسیم، مس، منگنز و روی) یا همراه (مانند سلولز، کیتوزان، تالک، آهک و ورمی‌کولیت و ....) دسته‌بندی می‌شوند (Ruiz-de-La-Cruz *et al*., 2017; Padhi & Pattanayak, 2018). حامل‌هایی از قبیل سیلیکون دی‌اکسید، نشاسته، متیل‌سلولز، کربوکسی‌متیل سلولز، سدیم آلژینات، سدیم کربوکسی‌متیل و صمغ عربی از عمده ترکیبات استفاده شده برای پوشش‌دهی بذور هستند (Minaxi *et al*., 2012; Zhou *et al*., 2017; Ma *et al*., 2019)، که کربوکسی متیل سلولز به عنوان یک حامل چسباننده مورد استفاده قرار می‌گیرد (de Camargo *et al*., 2017).

پوشش‌دهی بذور مختلف با استفاده از قارچ‌های اندوفیت سبب حفاظت گیاهان و کاهش شدت بیمارگرهای گیاهی شده است برای مثال پوشش‌دهی بذور با قارچ *Chaetomium globosum* سبب کاهش آلودگی به *Fusarium roseum* f. sp. *cerealis* در ذرت(Chang, 1968; Kommedahl & Mew, 1975) و *Fusarium solani* f. sp. *pisi* در کدو، لوبیا و نخود (Hubbard *et al*., 1982) شده است. پوشش‌دهی بذور توسط *C. globosum* و *Chaetomium funicola* سبب کاهش آلودگی *Erysiphe graminis* f. sp. *hordei* در جو شد (Vilich *et al*., 1998). همچنین، پوشش‌دهی بذور با *Chaetomium trilaterale*، *C. globosum* و *Chaetomium cochiodes* در حفاظت گیاه برنج علیه *Pyricularia oryzae* مؤثر بوده است (Soytong, 1992). پوشش‌دهی بذور گوجه‌فرنگی با قارچ *Beauveria bassiana* سبب کاهش شدت بیماری *R. solani* (Azadi *et al*., 2016)، و پوشش‌دهی بذور گندم با قارچ‌های *B. bassiana* و *Metarhizium brunneum* سبب کاهش شدت بیماری پوسیدگی ریشه و طوقه ایجاد شده توسط بیمارگر *Fusarium culmorum* شد (Jaber, 2018). استفاده از میکروسختینه‌های قارچ *Metarhizium* spp. برای پوشش‌دهی بذور ذرت سبب کاهش شدت بیماری *Fusarium graminearum* شد (Rivas-Franco *et al*., 2020).

تیمار بذور گوجه‌فرنگی با قارچ‌های اندوفیت سبب فعال شدن پاسخ‌های دفاعی گیاه و القای مقاومت علیه بیمارگرهای گیاهی از قبیل استفاده از *Pestalotiopsis microspore* علیه *Alternaria solani* (Sujatha *et al*., 2021) و *A. jodhpurensis* علیه *Alternaria alternata* شده است (Daroodi *et al*., 2022).

افزایش پارامترهای رشدی گیاهان با استفاده از پوشش‌دهی بذور با عوامل قارچی مختلف گزارش شده است به‌طوری‌که گزارش‌ها حکایت دارند که پوشش‌دهی بذور گوجه‌فرنگی با *Serendipita indica* (*Piriformospora indica*) (Fakhro *et al*., 2010)، *Trichoderma atroviride* و *Trichoderma hamatum* (Tucci *et al*., 2011)، *Penicillium*

simplicissimum (Khan *et al*., 2015)، توسط گونه‌های مختلف *Trichoderma* (Petrisor *et al*., 2019) و *Fusarium* spp. (Nefzi *et al*., 2019) سبب افزایش پارامترهای رشدی گیاه شده است.

همچنین، پوشش‌دهی بذور گندم توسط *Glomus intraradices*، *G. mossae* و *Trichoderma atroviride* سبب افزایش بیومس گیاهان، افزایش محصول و کیفیت دانه‌ها (محتوای پروتئینی و ترکیبات معدنی) شد (Colla *et al*., 2015). تیمار بذور *Cynara cardunculus* subsp. *scolymus* L. با قارچ‌های اندوفیت *Trichoderma koningii* و مایکوریز آربسکولار (Cardarelli *et al*., 2020)، بذور ذرت با *Metarhizium* spp. (Rivas-Franco *et al*., 2020)، بذور گندم با *Beauveria bassiana* و *Metarhizium brunneum* (González-Guzmán *et al*., 2021)، بذور کتان با قارچ *Beauveria bassiana* (Mantzoukas *et al*., 2023) سبب افزایش عملکرد و کیفیت محصول شد.

مطالعات پیشین نگارندگان نشان دهنده کاهش رشد قارچ بیمارگر *R. solani* در آزمایشگاه و کاهش شاخص بیماری‌زایی این قارچ در گیاهان گوجه‌فرنگی تیمار شده با سوسپانسیون اسپور قارچ اندوفیت *Acrophialophora* (Lodha) *jodhpurensis* در گلخانه است (Daroodi *et al*., 2021). همچنین پوشش‌دهی بذور گوجه‌فرنگی با اسپور قارچ *A. jodhpurensis* همراه با مواد چسباننده شکر، کربوکسی‌متیل سلولز و ملاس سبب القای مقاومت و کاهش معنی‌داری شاخص بیماری *Alternaria alternate* در قسمت‌های هوایی گیاهان گوجه‌فرنگی شد (Daroodi *et al*., 2022). بنابراین، اهداف این پژوهش بررسی اثر قارچ آنتاگونیست *A. jodhpurensis* با استفاده از پوشش‌دهی بذور گوجه‌فرنگی با مواد چسباننده ساکارز خوراکی، کربوکسی‌متیل سلولز و ملاس علیه بیمارگر خاکزی *R. solani* و بررسی تولید ساختارهای آلوده کننده قارچ بیمارگر در شرایط گلخانه و همچنین بررسی اثر آن بر فاکتورهای رشدی گیاهان گوجه‌فرنگی بود. همچنین معرفی بهترین عامل چسباننده همراه با اسپور قارچ اندوفیت *A. jodhpurensis* برای پوشش‌دهی بذور علیه بیمارگرهای خاک‌زی بود.

روش‌شناسی پژوهش

جدایه‌های قارچی

جدایه‌های قارچی *R. solani* AG4-HG II و *A. jodhpurensis* از کلکسیون قارچ‌شناسی دانشگاه فردوسی مشهد تهیه گردیدند، که به ترتیب از گیاهان آلوده (Pourmahdi & Taheri, 2014) و سالم (Daroodi *et al*., 2022) گوجه‌فرنگی جداسازی شده‌اند. در این پژوهش، در تمام مراحل انجام کار به‌منظور نگهداری و تجدید کشت این جدایه‌ها، از محیط کشت PDA استفاده گردید.

تهیه مایه تلقیح *A. jodhpurensis*

قارچ اندوفیت *A. jodhpurensis* روی محیط کشت ۱/۱۰ سیب‌زمینی آگار[1] (۱۰ گرم سیب‌زمینی به مدت ۲۰ دقیقه جوشانده شد و از پارچه‌ی ململ عبور داده شد و سپس به همراه ۱۵ گرم آگار به حجم یک لیتر رسانده شد) در دمای ۲۸ درجه‌ی سلسیوس به مدت ۱۰ روز رشد کرد. این محیط کشت برای القای اسپورزایی استفاده شد (Su et al., 2012). اسپورهای جنسی قارچ (آسکوسپورها) با استفاده از آب مقطر سترون از سطح محیط کشت شسته شدند و سوسپانسیون اسپور با غلظت 10^7 اسپور در میلی‌لیتر تهیه شد (Daroodi *et al*., 2021).

1 1/10 potato agar (PA)

تهیه مایه تلقیح *R. solani*

تلقیح قارچ بیمارگر *R. solani* AG4 HG-II به‌وسیله خلال دندان کلونیزه شده به طول دو سانتی‌متر انجام شد. در این روش، روی سطح محیط کشت سیب‌زمینی دکستروز آگار[1] ۱۵ قطعه خلال دندان قرار داده شد و سپس یک قطعه میسلیومی از قارچ *R. solani* AG4 HG-II در مرکز ظرف پتری قرار داده شد، و ظروف پتری در دمای ۲۸ درجه‌ی سلسیوس به مدت یک هفته نگهداری شدند (Taheri *et al*., 2007). خلال دندان‌ها روی ساقه گیاهان در فاصله دو سانتی‌متر از سطح خاک قرار گرفتند.

پوشش‌دهی بذور گوجه‌فرنگی با سوسپانسیون اسپور

سوسپانسیون اسپور عامل آنتاگونیست با غلظت 10^7 اسپور در میلی‌لیتر شامل یک درصد ساکارز خوراکی، نیم درصد کربوکسی‌متیل‌سلولز[2] یا نیم درصد ملاس به عنوان چسباننده تهیه شد. برای این منظور، ۴۰ عدد بذر گوجه‌فرنگی رقم موبیل در هر ظرف پتری سترون حاوی دو میلی‌لیتر سوسپانسیون اسپور و ماده چسباننده قرار داده شد و سپس زیر هود میکروبی کاملاً خشک شدند. برای کنترل، بذور گوجه‌فرنگی با آب مقطر سترون و مواد چسباننده پوشش‌دهی شدند (Daroodi *et al*., 2022).

سنجش پوشش‌دهی بذور گوجه‌فرنگی توسط قارچ اندوفیت

پس از خشک شدن بذور در زیر هود میکروبی، برای بررسی پوشش‌دهی بذور، ده عدد بذر تیمار شده با سوسپانسیون اسپور در یک لوله‌ی آزمایش حاوی نه میلی‌لیتر آب‌مقطر سترون قرار داده شد. لوله‌ها به مدت دو ساعت روی شیکر قرار داده شدند و سپس غلظت اسپور با استفاده از لام هموسایتومتر شمارش شد (Dawar et al., 2008).

کشت بذور گوجه‌فرنگی

بذور تیمار شده در گلدان‌های حاوی خاک‌برگ، خاک‌مزرعه و ماسه (۱: ۲: ۱) سترون کاشته شدند. یک عدد بذر در هر گلدان کاشته شد، سپس گلدان‌ها در گلخانه با رطوبت نسبی ۹۰ درصد و دمای ۳۰ درجه‌ی سلسیوس نگهداری شدند. آزمایشات در قالب طرح کاملاً تصافی با سه تکرار برای هر تیمار در هر آزمایش انجام شدند.

ردیابی قارچ آنتاگونیست در ریشه‌های گوجه‌فرنگی

برای ردیابی کلونیزاسیون، ریشه‌های گوجه‌فرنگی به وسیله‌ی قارچ آنتاگونیست، رنگ‌آمیزی ریشه‌ها با استفاده از کاتن‌بلو انجام شد. گیاهان ۳۰ روز بعد از کاشت برداشت شدند (Daroodi et al., 2022) و با جریان ملایم آب شستشو انجام شد. سپس ریشه‌ها از قسمت هوایی جدا شده و قطعات ریشه رنگ آمیزی شدند و با میکروسگوپ نوری (BH2, Tokyo, Japan) بررسی شدند (Vierheilig *et al*., 1998).

سنجش درصد کلونیزاسیون ریشه

نتایج مطالعات پیشین ما نشان دهنده کلونیزاسیون موفق ریشه گیاهان گوجه‌فرنگی ۳۰ روز بعد از کشت بذور پوشش داده شده بود (Daroodi *et al*., 2022). در این مطالعه نیز برای اطمینان از کلونیزاسیون موفق ریشه گیاهان، درصد کلونیزاسیون ریشه گوجه‌فرنگی با قارچ اندوفیت ۳۰ روز پس از کاشت در تیمارهای مختلف مورد بررسی قرار گرفت. برای تعیین درصد

1Potato dextrose agar (PDA)
2Carboxymethyl cellulose (CMC)

کلونیزاسیون، ریشه‌ها با جریان ملایم آب شسته شدند و با استفاده از هیپوکلریت سدیم دو درصد و اتانول هفتاد درصد هر کدام برای دو دقیقه ضدعفونی شدند، سپس سه بار با آب مقطر سترون شسته شدند. ریشه‌ها به قطعات یک سانتی‌متری تقسیم شدند. این قطعات روی کاغذ صافی سترون خشک شدند و چهار قطعه در هر ظرف پتری ده سانتی‌متری حاوی محیط کشت PDA با آنتی‌بیوتیک استرپتومایسین نیم درصد کشت شدند و برای ۱۰ روز در دمای ۲۵ درجه‌ی سلسیوس نگهداری شدند. درصد کلونیزاسیون ریشه با شمارش پرگنه‌های قارچ بررسی شد (Dingle & Mcgee, 2003).

بررسی شاخص بیماری روی قرص‌های برگی

در سنجش شاخص بیماری با استفاده از قرص‌های برگی، قرص‌های برگی دایره‌ای شکل به قطر ۲ سانتی‌متر از اولین برگ‌های گیاهان گوجه‌فرنگی ۳۰ روز بعد پس از کاشت بذور پوشش‌داده شده در تیمارهای مختلف تهیه شد. قرص‌های برگی روی یک لام شیشه‌ای داخل تشتک پتری حاوی کاغذ صافی مرطوب قرار گرفتند. سپس با استفاده از یک قرص میسلیومی ۹ میلی‌متری *R. solani* AG4 HG-II تلقیح شدند. تشتک‌های پتری در شرایط آزمایشگاه (۲۵ درجه سلسیوس؛ ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) نگهداری شدند و علایم ۵ روز بعد از تلقیح بررسی شدند و بر اساس میزان پوسیدگی و تغییر رنگ برگ‌ها درجه‌بندی شدند (Nikraftar *et al.*, 2013). سپس شاخص بیماری طبق فرمول زیر محاسبه شد (Taheri & Tarighi, 2010).

فرمول ۱)

$$DI = (\frac{1n_1 + 2n_2 + 3n_3 + 4n_4 + 5n_5}{5N}) \times 100$$

n1 تعداد بوته با درجه یک آلودگی؛ n2 تعداد بوته با درجه دو آلودگی؛ n3 تعداد بوته با درجه سه آلودگی؛ n4 تعداد بوته با درجه چهار آلودگی؛ n5 تعداد بوته با درجه پنج آلودگی ؛ N تعداد کل بوته ها.

بررسی تشکیل ساختارهای آلوده کننده توسط قارچ *R. solani*

برای بررسی فرایند آلوده‌سازی بیمارگر، قرص‌های برگی مطابق روش بالا تهیه شدند و ساختارهای تولید شده توسط بیمارگر ۵ روز بعد از تلقیح بررسی شدند. برای این منظور، رنگ‌آمیزی ریسه‌ها با آنیلین‌بلو به روش Nikraftar e*t al.* (2013) انجام شد. ابتدا قرص‌های برگی به مدت یک شب در محلول آاف‌ای (شامل ۵٪ استیک اسید، ۲٪ فرمالدهید، ۶۳٪ اتانول) قرار گرفتند و سپس برای رنگ‌بری بیشتر و نرم شدن بافت جهت تسهیل عکس‌برداری قرص‌ها به مدت ۲۴ ساعت در محلول لاکتوفنل در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و در نهایت ساختارهای آلوده‌کننده قارچ بیمارگر با آنیلین بلو ۱٪ در لاکتوفنل رنگ‌آمیزی شدند و با میکروسکوپ نوری ساختارها بررسی و عکس‌برداری انجام شد (Nikraftar *et al.*, 2013).

اثر قارچ آنتاگونیست روی شاخص بیماری ایجاد شده توسط بیمارگر در نهال‌های گوجه‌فرنگی

تلقیح قارچ بیمارگر ۳۰ روز بعد از کشت بذور گوجه‌فرنگی انجام شد. در این زمان ریشه‌ی گیاهان به خوبی با قارچ آنتاگونیست کلونیزه شده بودند (Daroodi *et al.*, 2022). تعیین شاخص بیماری *R. solani* AG4 HG-II روی نهال‌های گوجه‌فرنگی هفت روز بعد از تلقیح بیمارگر با استفاده از درجه‌بندی زیر انجام شد (Wen *et al.*, 2005).

۱. طول نکروز ریشه بیش از دو و نیم میلی‌متر
۲. نکروز بین دو و نیم تا پنج میلی‌متر
۳. نکروز بیش از پنج میلی‌متر
۴. پوشاندن زخم دور تا دور طوقه و ریشه
۵. مرگ گیاهچه

سپس شاخص بیماری طبق فرمول ۱ محاسبه شد. همچنین مجدداً عامل بیماری از گیاهچه‌های آلوده جداسازی شد.

بررسی فاکتورهای رشدی نهال‌های گوجه‌فرنگی در گلخانه

پارامترهای رشدی گیاهان از قبیل وزن تر، خشک و طول اندام هوایی و ریشه، یک هفته پس از تلقیح بیمارگر بررسی شدند. برای بررسی وزن خشک، اندام هوایی از ریشه جدا شده و درون پاکت کاغذی قرار گرفت، سپس پاکت‌ها درون آون با دمای ۷۰ درجه سلسیوس قرار گرفتند. پس از ۴۸ ساعت، وزن خشک نمونه‌ها اندازه‌گیری شد.

آنالیز داده‌ها

آزمایشات در قالب طرح کاملاً تصافی با سه تکرار برای هر تیمار در هر آزمایش انجام شدند و هر آزمایش سه بار تکرار شد. داده‌های هر آزمایش با استفاده از نرم‌افزار MiniTAB 17 نرمال‌سازی شدند و سپس آنالیز آماری میانگین داده‌های هر آزمایش با استفاده از نرم‌افزار MiniTAB 17 و بر اساس ANOVA[1] و آزمون مقایسه‌ای فیشر در سطح $P\leq 0.05$ انجام شد. تمامی نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel2013 رسم شدند.

یافته‌های پژوهش

سنجش پوشش‌دهی بذور گوجه‌فرنگی توسط قارچ آنتاگونیست

برای سنجش پوشش‌دهی بذور، دو ساعت پس از اینکه لوله‌های حاوی بذور تیمار شده و آب‌مقطر سترون روی شیکر قرار داده شدند غلظت اسپور با استفاده از لام هموسایتومتر شمارش شد. در دو تیمار ساکارز خوراکی و کربوکسی‌متیل‌سلولز غلظت اسپور ۵×۱۰^{۵} در میلی‌لیتر بود و در تیمار ملاس غلظت $۴/۹ \times ۱۰^{۵}$ اسپور در میلی‌لیتر بود (جدول ۱).

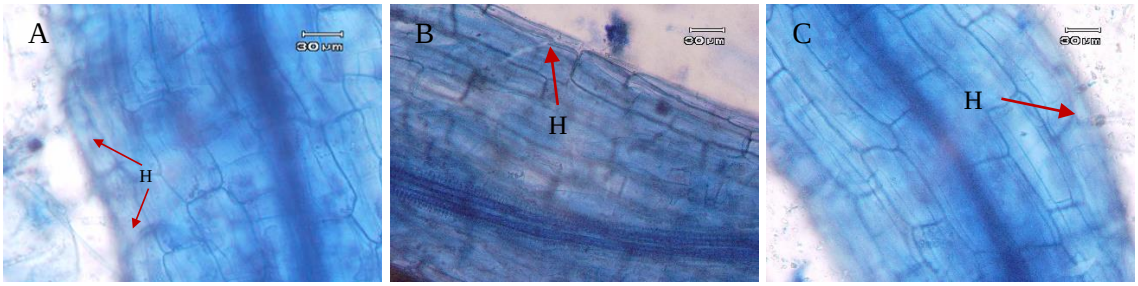
جدول ۱. سنجش پوشش‌دهی بذور گوجه‌فرنگی با سوسپانسیون اسپور *Acrophialophora jodhpurensis* در تیمارهای ساکارز خوراکی، کربوکسی‌متیل سلولز و ملاس به عنوان چسباننده.

تیمار	غلظت سوسپانسیون اسپور *A. jodhpurensis*
۱٪ ساکارز خوراکی	۵×۱۰^۵ ±۷۶۹a اسپور در میلی‌لیتر
۰/۵٪ کربوکسی‌متیل سلولز	۵×۱۰^۵ ± ۱۳۳۲ a اسپور در میلی‌لیتر
۰/۵٪ ملاس	۴/۹×۱۰^۴ ± ۱۳۳۲ a اسپور در میلی‌لیتر

ردیابی قارچ اندوفیت در ریشه گوجه‌فرنگی

ردیابی میکروسکوپی *A. jodhpurensis* در ریشه‌های گوجه‌فرنگی ۳۰ روز پس از کشت انجام شد. هیف‌های بین‌سلولی این قارچ اندوفیت پس از رنگ آمیزی با کاتن بلو در بافت ریشه قابل مشاهده بود (شکل۱).

1 Analysis of variance



شکل ۱. ردیابی ریسه‌های قارچ *Acrophialophora jodhpurensis* در ریشه‌های گوجه‌فرنگی، ۳۰ روز پس از کاشت بذور گوجه‌فرنگی پوشش‌دهی شده با اسپور قارچ *A. jodhpurensis* و یک درصد ساکارز خوراکی (A)، نیم درصد کربوکسی‌متیل سلولز (B) و نیم درصد ملاس (C) به عنوان چسباننده. H: هیف قارچ *A. jodhpurensis*.

سنجش درصد کلونیزاسیون ریشه با قارچ اندوفیت

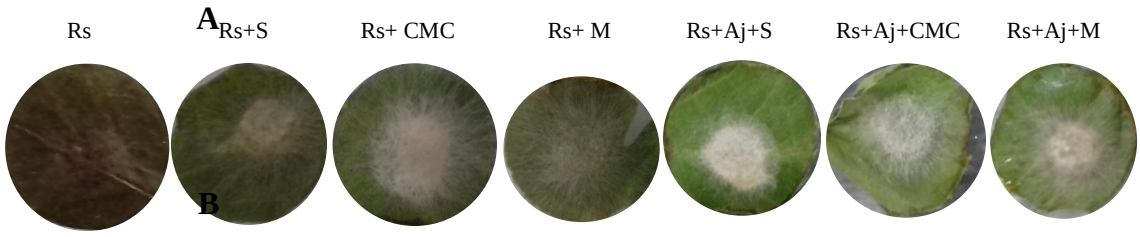
درصد کلونیزاسیون ریشه گوجه‌فرنگی با قارچ اندوفیت ۳۰ روز پس از کاشت در تیمارهای مختلف مورد بررسی قرار گرفت. درصد کلونیزاسیون در تیمارهای ساکارز خوراکی و کربوکسی‌متیل سلولز به عنوان چسباننده بیشتر از تیمار ملاس بود، به‌طوری‌که در تیمار ساکارز و کربوکسی‌متیل سلولز ۸۰/۵۵ درصد و در تیمار ملاس ۶۹/۴۴ درصد بود (جدول ۲).

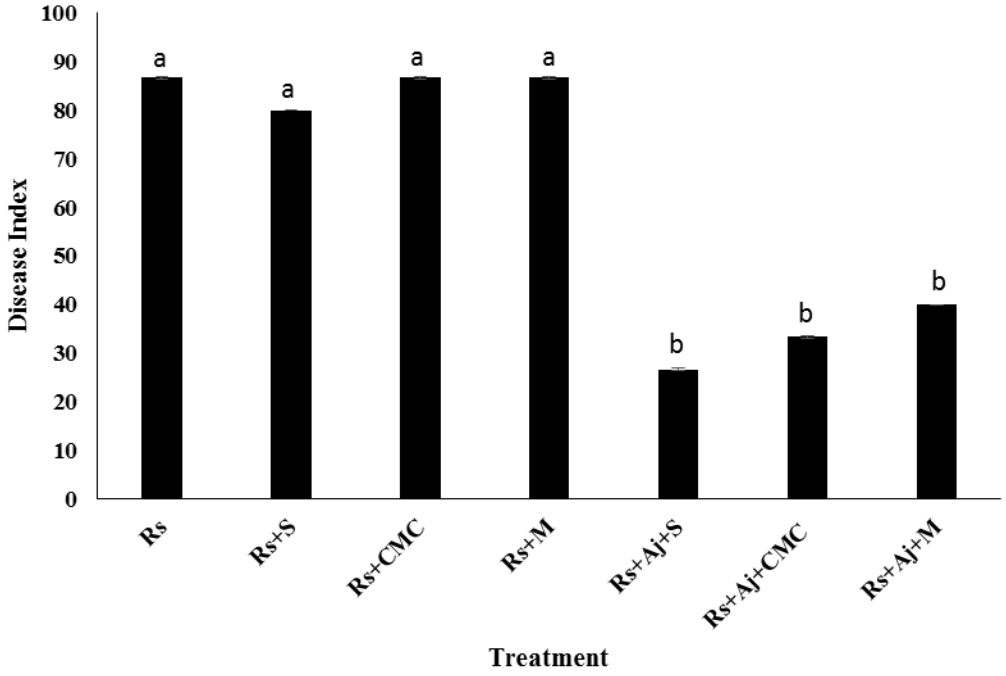
جدول ۲. درصد کلونیزاسیون ریشه‌های گوجه‌فرنگی با قارچ اندوفیت *Acrophialophora jodhpurensis* در تیمارهای یک درصد ساکارز خوراکی، نیم درصد کربوکسی متیل سلولز و نیم درصد ملاس به عنوان چسباننده در ۳۰ روز پس از کاشت بذور.

تیمار	درصد کلونیزاسیون ریشه
۱٪ ساکارز خوراکی و *A. jodhpurensis*	۸۰/۵۵ ±۲/۸۳ a
۰/۵٪ کربوکسی‌متیل سلولز و *A. jodhpurensis*	۸۰/۵۵ ±۲/۸۳ a
۰/۵٪ ملاس و *A. jodhpurensis*	۶۹/۴۴ ±۲/۸۳ b

نتایج آزمون بیماری‌زایی روی قرص‌های برگی

قرص‌های برگی از گیاهان گوجه‌فرنگی رشد کرده از بذور پوشش داده شده با سوسپانسیون اسپور *A. jodhpurensis* و مواد چسباننده (یک درصد ساکارز خوراکی، نیم درصد کربوکسی متیل سلولز و نیم درصد ملاس)، ۳۰ روز پس از کاشت تهیه شدند. علائم بیماری *R. solani* AG4 HG-II در قرص‌های برگی تیمار شده با این قارچ مفید و مواد چسباننده به طور قابل توجهی در مقایسه با گیاهان فاقد تیمار *A. jodhpurensis* کاهش یافت (شکل ۲A). بیش‌ترین کاهش شاخص بیماری، در قرص‌های برگی تیمار شده با اسپور *A. jodhpurensis* و ساکارز به عنوان چسباننده مشاهده شد (شکل ۲B).



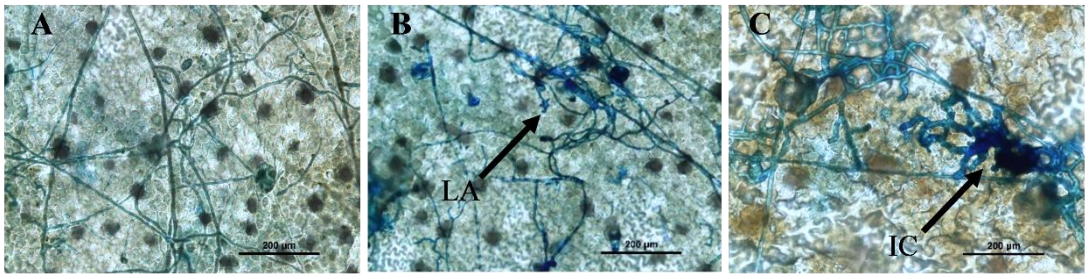


شکل ۲. اثر پوشش‌دهی بذور با مواد چسباننده (یک درصد ساکارز خوراکی، نیم درصد کربوکسی متیل سلولز و نیم درصد ملاس) و سوسپانسیون اسپور *Acrophialophora jodhpurensis* روی توسعه علائم (A) و شاخص بیماری(B) *Rhizoctonia solani* AG4-HG II در قرص‌های برگی گوجه‌فرنگی. *A. jodhpurensis* (Aj)، *R. solani* AG4 HG-II (Rs)، ساکارز خوراکی (S) ، کربوکسی‌متیل سلولز (CMC) و ملاس (M).

بررسی انواع ساختارهای آلوده‌کننده تشکیل شده توسط قارچ *R. solani* AG4 HG-II

آنالیزهای میکروسکوپی به‌منظور بررسی ساختارهای آلوده‌کننده تشکیل شده توسط *R. solani* AG4 HG-II انجام گرفت. تشکیل ریسه، آپرسوریوم‌های لوب‌دار[1] و بالشتک‌آلوده‌کننده[2] در قرص‌های برگی که فقط با *R. solani* AG4 HG-II تلقیح شدند نسبت به قرص‌های برگی که با *A. jodhpurensis*، مواد چسباننده (یک درصد ساکارز خوراکی، نیم درصد کربوکسی متیل سلولز و نیم درصد ملاس) و بیمارگر تلقیح شدند سریع‌تر بود. ریسه‌های *R. solani* AG4 HG-II در سطح اپیدرم برگ گسترش یافته و از طریق روزنه و یا مستقیماً از طریق کوتیکول وارد بافت برگ می‌شوند. در قرص‌های برگی که با *A. jodhpurensis*، مواد چسباننده (یک درصد ساکارز خوراکی، نیم درصد کربوکسی متیل سلولز و نیم درصد ملاس) و *R. solani* AG4 HG-II تلقیح شدند در ۳ روز بعد از تلقیح بیمارگر، فقط ریسه‌های بیمارگر قابل مشاهده بود، درصورتی‌که در قرص‌های برگی که فقط با بیمارگر تلقیح شدند آپرسوریوم‌های لوب‌دار و بالشتک‌های آلوده‌کننده قابل مشاهده بود (شکل ۳). همچنین، ۵ روز بعد از تلقیح بیمارگر، تعداد آپرسوریوم‌های لوب‌دار و بالشتک‌آلوده‌کننده در قرص‌های برگی با تیمارهای مختلف مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که ۵ روز پس از تلقیح بیمارگر، در قرص‌های برگی که از گیاهان گوجه‌فرنگی به روش پوشش‌دهی بذور با *A. jodhpurensis* و ساکارز خوراکی به عنوان چسباننده تهیه شده بودند تولید آپرسوریوم‌های لوب‌دار و بالشتک‌آلوده‌کننده نسبت به سایر تیمارها کمتر بود (جدول ۳).

1. Lopat appressorium
2. Infection cushion



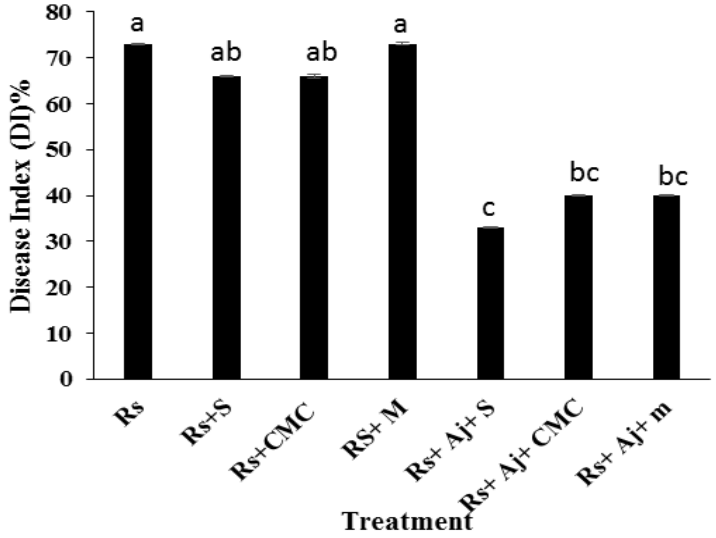
شکل ۳. تصاویر میکروسکوپی از ریسه (A)، آپرسوریم لوب‌دار (B) و بالشتک آلوده کننده (C) *Rhizoctonia solani* AG4 HG-II روی قرص‌های برگی گوجه‌فرنگی تهیه شده از گیاهان ایجاد شده از بذور پوشش‌دهی شده با سوسپانسیون اسپور *Acrophialophora jodhpurensis* و مواد چسباننده (یک درصد ساکارز خوراکی، نیم درصد کربوکسی متیل سلولز و نیم درصد ملاس) در ۳ روز پس از تلقیح. آپرسوریوم لوب‌دار و بالشتک آلوده کننده با فلش در شکل‌ها نشان داده شده‌اند. IC: بالشتک آلوده کننده، LA: آپرسوریم لوب‌دار.

جدول ۳. نتایج بررسی اثر پوشش‌دهی بذور گوجه‌فرنگی با سوسپانسیون اسپور *Acrophialophora jodhpurensis* و مواد چسباننده (یک درصد ساکارز خوراکی، نیم درصد کربوکسی متیل سلولز و نیم درصد ملاس) بر تولید آپروسوریوم لوب‌دار و بالشتک آلوده کننده توسط بیمارگر *Rhizoctonia solani* AG4 HG-II در قرص‌های برگی در ۵ روز پس از تلقیح.

تیمار	آپرسوریم لوب‌دار	بالشتک آلوده کننده
۱٪ ساکارز خوراکی و *A. jodhpurensis* و *R. solani* AG4 HG-II	۳/۶۶ ± ۰/۳۳e	۲/۳۳ ± ۰/۳۳e
۵٪ کربوکسی‌متیل سلولز و *A. jodhpurensis* و *R. solani* AG4 HG-II	۵/۶۶ ± ۰/۳۳d	۴/۶۶ ± ۰/۳۳d
۰/۵٪ ملاس و *A. jodhpurensis* و *R. solani* AG4 HG-II	۶/۳۳ ± ۰/۳۳d	۵/۶۶ ± ۰/۳۳d
۱٪ ساکارز خوراکی و *R. solani* AG4 HG-II	۱۷/۳۳ ± ۰/۳۳c	۱۵/۳۳ ± ۰/۳۳c
۵٪ کربوکسی‌متیل سلولز و *R. solani* AG4 HG-II	۱۹/۳۳ ± ۰/۶۷b	۱۷/۳۳ ± ۰/۶۷b
۵٪ ملاس و *R. solani* AG4 HG-II	۲۰ ± ۰/۳۳ab	۱۷/۶۶ ۰±/۶۷b
R. solani AG4 HG-II	۲۱ ± ۰/۵۸ a	۱۹/۳۳ ± ۰/۶۷a

بررسی شاخص بیماری *R. solani* AG4 HG-II روی گوجه‌فرنگی

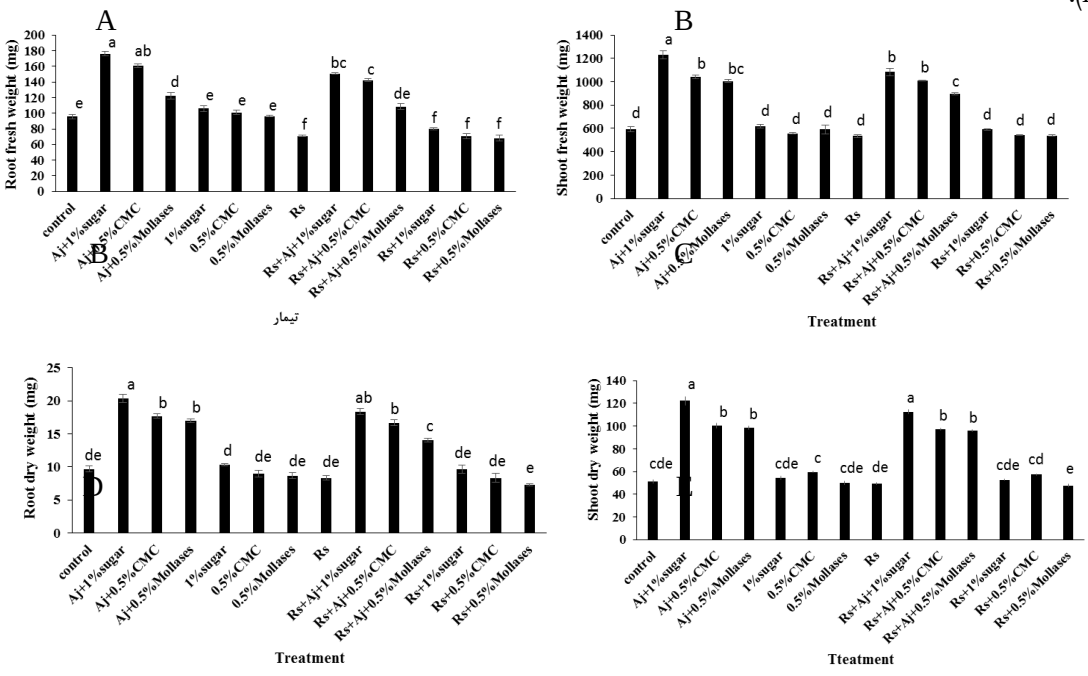
پوشش‌دهی بذور گوجه‌فرنگی با قارچ *A. jodhpurensis* و مواد چسباننده (ساکارز خوراکی، کربوکسی‌متیل‌سلولز و ملاس) انجام شد. این قارچ مفید به طور قابل توجهی سبب کاهش علائم بیماری ناشی از *R. solani* AG4 HG-II در مقایسه با گیاهان فاقد تیمار *A. jodhpurensis* شد (شکل ۴A). در میان مواد استفاده شده به عنوان چسباننده، ساکارز خوراکی همراه با *A. jodhpurensis* بیش‌ترین تاثیر را در کاهش شاخص بیماری داشت (شکل ۴B).

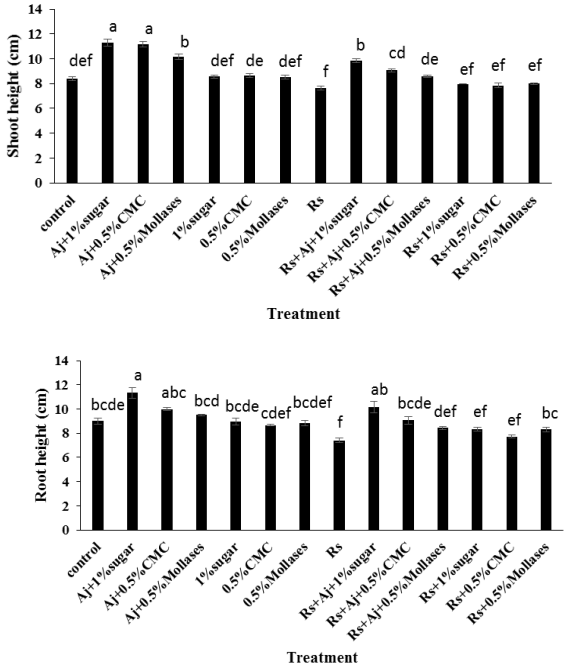


شکل ۴. اثر پوشش‌دهی بذور با سوسپانسیون اسپور (Aj) *Acrophialophora jodhpurensis*روی توسعه علائم و شاخص بیماری-*Rhizoctonia solani* AG4 HG II در نهال‌های گوجه‌فرنگی. (A) از چپ به راست: شاهد (تیمار بذور با آب مقطر)، تیمار با *A. jodhpurensis* همراه با یک درصد ساکارز خوراکی و *R. solani* AG4 HG-II، تیمار با *A. jodhpurensis* همراه با نیم درصد کربوکسی‌متیل سلولز و *R. solani* AG4 HG-II، تیمار با *A. jodhpurensis* همراه با نیم درصد ملاس و *R. solani* AG4 HG-II و تیمار با *R. solani* AG4 HG-II، (B) شاخص بیماری *Rhizoctonia solani* AG4 HG- (Rs) II در نهال‌های گوجه‌فرنگی تیمار شده با استفاده از پوشش‌دهی بذور با سوسپانسیون اسپور و مواد چسباننده (یک درصد ساکارز خوراکی، نیم درصد کربوکسی متیل سلولز و نیم درصد ملاس). CMC: کربوکسی‌متیل‌سلولز.

اثر قارچ اندوفیت بر فاکتورهای رشدی گیاه گوجه‌فرنگی

تیمار ریشه‌های گوجه‌فرنگی با قارچ اندوفیت *A. jodhpurensis* سبب افزایش پارامترهای رشدی گیاهان در گلخانه شد. به‌طور قابل توجهی وزن تر (شکل۴: A و B) و وزن خشک (شکل۴: C و D) گیاهان تیمار شده با این قارچ مفید در مقایسه با گیاهان شاهد افزایش یافت. همچنین ارتفاع اندام هوایی و ریشه در گیاهان تیمار شده در مقایسه با شاهد افزایش یافت (شکل۴: E و F).





شکل ۵. اثر پوشش‌دهی بذور گوجه‌فرنگی با قارچ *Acrophialophora jodhpurensis* و مواد چسباننده (یک درصد ساکارز خوراکی، نیم درصد کربوکسی متیل سلولز (CMC) و نیم درصد ملاس) بر وزن تر (A و B)، وزن خشک (C و D) و طول (E و F) اندام‌های هوایی و ریشه در گیاهان تیمار شده با *Rhizoctonia solani* AG4 HG-II و فاقد تیمار در شرایط گلخانه. آنالیز آماری با استفاده از نرم‌افزار مینی‌تب ۱۷ و بر اساس آنالیز ANOVA وآزمون مقایسه‌ای فیشر در سطح $P \leq 0.05$ انجام شد. Rs: تلقیح با *R. solani* AG4 HG-II، Aj+Rs: تلقیح *A. jodhpurensis* و پس از ۳۰ روز تلقیح با *R. solani* AG4 HG-II، Aj: تلقیح با *A. jodhpurensis*، Control: شاهد فاقد تلقیح.

بحث

در این مطالعه، اثر قارچ اندوفیت *A. jodhpurensis* به روش پوشش‌دهی بذور گوجه‌فرنگی با اسپور این قارچ مفید بر شاخص بیماری‌زایی و تولید ساختارهای آلوده‌کننده *R. solani* AG4-HG II بررسی شد. این بیمارگر یک قارچ نکروتروف خاک‌زی است که سبب مرگ گیاهچه، پوسیدگی بذر، پوسیدگی غدد، پوسیدگی ریشه، بلایت طوقه و پوسیدگی قاعده ساقه می‌شود (Gajera *et al.*, 2016)، بنابراین پوشش‌دهی بذور با عوامل آنتاگونیست می‌تواند به عنوان یک روش ایمن و مؤثر سبب کنترل بیماری گردد.

تیمار بذور با قارچ‌های آنتاگونیست سبب حفاظت گیاهان علیه آلودگی بیمارگرها می‌شود (Chang, 1968). مشابه با یافته‌های پژوهش حاضر، پوشش‌دهی بذور گوجه‌فرنگی با قارچ‌های مختلف سبب کاهش شدت بیماری‌ها در این گیاه شده است. برای مثال پوشش‌دهی با اسپورهای قارچ *B. bassiana* سبب القای مقاومت و کاهش شدت بیماری *R. solani* شد. در گیاهان تیمار شده با این قارچ مفید سطوح آنزیم‌های پراکسیداز (POX) و فنیل‌آلانین‌آمینولیاز (PAL) و محتوای ترکیبات فنولی افزایش پیدا کرد (Azadi *et al.*, 2016). پوشش‌دهی بذور با قارچ اندوفیت *Pestalotiopsis microspore* سبب فعال شدن پاسخ‌های دفاعی گیاه و القای مقاومت علیه *Alternaria solani* شد (Sujatha *et al.*, 2021). همچنین پوشش‌دهی بذور با قارچ *A. jodhpurensis* سبب کاهش شاخص بیماری لکه‌موجی گوجه‌فرنگی ناشی از قارچ *Alternaria alternata* شد (Daroodi *et al.*, 2022).

در این مطالعه، پوشش‌دهی بذور گوجه‌فرنگی با اسپورهای *A. jodhpurensis*، سبب کاهش تولید ساختارهای آلوده‌کننده از قبیل آپروسویوم لوب‌دار و بالشتک آلوده کننده توسط بیمارگر *R. solani* در برگ‌های گوجه‌فرنگی شد. با توجه به پژوهش پیشین نگارندگان، این قارچ اندوفیت سبب القای مقاومت و فعال شدن پاسخ‌های دفاعی گوجه‌فرنگی برای مثال افزایش فعالیت

آنزیم‌های اکسیدان (نظیر گایاکول‌پراکسیداز، کاتالاز، سوپراکسیددیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز)، افزایش محتوی فنول کل، تجمع لیگنین، اثر بر محتوی نسبی آب، پایداری غشا سلول، تجمع هیدروژن پراکسید، سوپراکسید و یون‌های آهن علیه *R. solani* (Daroodi *et al*., 2021a) و *A. alternata* (Daroodi *et al*., 2022) شده است. بنابراین کاهش در تولید ساختارهای آلوده‌کننده در قرص‌های برگی گوجه‌فرنگی به علت القای مقاومت و فعال شدن پاسخ‌های دفاعی گیاه توسط قارچ اندوفیت *A. jodhpurensis* است. مشابه با یافته‌های پژوهش حاضر، قارچ اندوفیت *Piriformospora indica* (با نام جدید *Serendipita indica*) سبب القای مقاومت و فعال شدن پاسخ‌های دفاعی و همچنین کاهش تولید ساختارهای آلوده کننده *R. solani* در برنج شد. همچنین در گیاهانی که قارچ اندوفیت تیمار نشده بودند آلودگی گیاهان سریع‌تر اتفاق افتاد به طوریکه بالشتک آلوده کننده ۴۸ ساعت پس از آلودگی تولید شد (Nassimi and Taheri, 2017).

با توجه به مطالعات پیشین نگارندگان قارچ اندوفیت *A. jodhpurensis* قادر به تولید ایندول استیک‌اسید (اکسین)، سیدروفور، اوره‌آز و حلالیت فسفات است، بنابراین می‌تواند سبب افزایش رشد گیاهان شود (Daroodi *et al*., 2022). پوشش‌دهی بذور گوجه‌فرنگی با اسپورهای *A. jodhpurensis* همراه با مواد چسباننده، سبب افزایش قابل توجهی در پارامترهای رشدی نهال‌های گوجه‌فرنگی از قبیل وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه، همچنین ارتفاع اندام هوایی و ریشه در گلخانه شد. اما بیش‌ترین افزایش در بیومس و ارتفاع، در گیاهان تیمار شده با *A. jodhpurensis* و یک درصد ساکارز خوراکی در مقایسه با گیاهان فاقد تیمار مشاهده شد. مشابه با یافته‌های پژوهش حاضر، افزایش پارامترهای رشدی گیاهان با استفاده از پوشش‌دهی بذور با عوامل قارچی مختلف گزارش شده است از قبیل پوشش‌دهی بذور گوجه‌فرنگی با *Serendipita indica* (*Piriformospora indica*) (Fakhro *et al*., 2010)، *Trichoderma atroviride* و *Trichoderma hamatum* (Tucci *et al*., 2011)، *Penicillium simplicissimum* (Khan *et al*., 2015)، توسط گونه‌های مختلف *Trichoderma* (Petrisor *et al*., 2019) و *Fusarium* spp. (Nefzi *et al*., 2019). پوشش‌دهی بذور گندم توسط *Glomus intraradices*، *G. mossae* و *Trichoderma atroviride* سبب افزایش بیومس گیاهان، افزایش محصول و کیفیت دانه‌ها (محتوای پروتئینی و ترکیبات معدنی) شد (Colla *et al*., 2015). تیمار بذور *Cynara cardunculus* subsp. *scolymus* L. با قارچ‌های اندوفیت *Trichoderma koningii* و (mycorrhizal Arbuscular) AM سبب افزایش عملکرد و کیفیت محصول شد (Cardarelli *et al*., 2020).

مطالعات پیشین نگارندگان نشان داده است که قارچ اندوفیت *A. jodhpurensis* دارای اثر آنتاگونیستی مستقیم و غیرمستقیم (القای مقاومت) علیه بیمارگر *R. solani* در آزمایشگاه و گلخانه است (Daroodi *et al*., 2021b). در این مطالعه، پوشش‌دهی بذور با اسپور قارچ آنتاگونیست همراه با مواد چسباننده از قبیل ساکارز خوراکی، کربوکسی‌متیل سلولز و ملاس انجام شد. کلونیزاسیون ریشه توسط قارچ آنتاگونیست در دو تیمار ساکارز و کربوکسی‌متیل سلولز یکسان بود در حالی‌که تیمار ساکارز در کاهش شاخص بیماری و افزایش پارامترهای رشدی گیاه بهتر بود. مطالعات قبلی گزارش کرده‌اند که در اکثر پاتوسیستم‌های گیاه–بیمارگر، سطوح بالای شکر در بافت‌های گیاهی باعث افزایش مقاومت در گیاهان می‌شود. این نتایج می‌تواند به این دلیل باشد که قندها ماده‌ی اولیه‌ی تأمین انرژی و مواد ساختاری برای پاسخ‌های دفاعی در گیاهان هستند. همچنین ممکن است مرتبط با نقش سیگنالی شکر در پاسخ‌های دفاعی گیاه علیه بیمارگرها باشد. قندها سبب افزایش انفجار اکسیداتیو در مراحل اولیه آلودگی شده که پس از آن تجمع لیگنین در دیواره‌ی سلول، سنتز فلاونوئیدها و تولید PR پروتئین‌ها افزایش می‌یابد (Morkunas & Ratajczak, 2014). همچنین نتایج مطالعات پیشین نگارندگان نیز نشان می‌دهد که استفاده از اسپور قارچ *A. jodhpurensis* همراه با چسباننده ساکارز خوراکی در کنترل بیماری هوازاد لکه‌موجی‌گوجی‌فرنگی ناشی از قارچ *A. alternata* مؤثرتر از چسباننده‌های کربوکسی‌متیل سلولز و ملاس بوده است (Daroodi *et al*., 2022). مشابه با یافته‌های پژوهش حاضر، پوشش‌دهی بذور سویا با قارچ کش (ویتاواکس–کربوکسین+ تیرام) همراه با کربوکسی‌متیل سلولز نسبت به تیمار قارچ‌کش به تنهایی پوشش بهتری را برای بذور ایجاد کرد و درصد جوانه‌زنی بذور افزایش یافت (de Camargo *et al*., 2017).

نتیجه‌گیری و پیشنهادها

این مطالعه نشان داد که پوشش‌دهی بذور گوجه‌فرنگی با استفاده از اسپور قارچ اندوفیت *A. jodhpurensis* سبب کاهش معنی‌داری در شاخص بیماری *R. solani* AG4-HG II در شرایط گلخانه می‌شود. همچنین این قارچ مفید سبب افزایش پارامترهای رشدی گیاه گوجه‌فرنگی از قبیل وزن تر، وزن خشک و ارتفاع اندام هوایی و ریشه شد. بنابراین، با توجه به نتایج این مطالعه و پژوهش پیشین نگارندگان در کنترل بیماری لکه‌موجی گوجه‌فرنگی (Daroodi *et al.*, 2022)، پوشش‌دهی بذور گوجه‌فرنگی و سایر گیاهان با قارچ اندوفیت *A. jodhpurensis* و مواد چسباننده به خصوص ساکارز خوراکی می‌تواند به‌عنوان یک روش مدیریتی مؤثر برای حفاظت گیاهان علیه بیمارگرهای خاکزی و هوازی و افزایش رشد گیاهان استفاده شود.

سپاس‌گزاری

از دانشگاه فردوسی مشهد برای حمایت مالی این پژوهش در قالب طرح پژوهشی با شماره ۳/۴۷۸۲۳ (تاریخ تصویب ۱۳۹۷/۶/۳۱) قدردانی می‌گردد.

REFERENCES

Achatz, B., von Rüden, S., Andrade, D., Neumann, E., Pons-Kühnemann, J., Kogel, K. H., Franken, P., & Waller, F. (2010). Root colonization by *Piriformospora indica* enhances grain yield in barley under diverse nutrient regimes by accelerating plant development. *Plant and Soil*, *333*(1), 59-70. https://doi.org/10.1007/s11104-010-0319-0.

Ajayi-Oyetunde, O. O., & Bradley, C. A. (2018). *Rhizoctonia solani*: taxonomy, population biology and management of rhizoctonia seedling disease of soybean. *Plant Pathology*, *67*(1), 3-17. https://doi.org/10.1111/ppa.12733.

Azadi, N., Shirzad, A., & Mohammadi, H. (2016). A study of some biocontrol mechanisms of *Beauveria bassiana* against *Rhizoctonia* disease on tomato. *Acta Biologica Szegediensis*, *60*(2), 119-127.

Bacon, C. W., & White, J. F. (2016). Functions, mechanisms and regulation of endophytic and epiphytic microbial communities of plants. *Symbiosis*, *68*(1), 87-98. https://doi.org/10.1007/s13199-015-0350-2.

Cardarelli, M., Rouphael, Y., De Pascale, S., Bonini, P., & Colla, G. (2019). Seed treatment with endophytic fungi enhances yield and nutritional quality of seed-propagated artichokes. Acta Horticulturae 1284: *X International Symposium on Artichoke, Cardoon and Their Wild Relatives*, *1284*, 57-64. https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2020.1284.7.

Carling, D. E., Kuninaga, S., & Brainard, K. A. (2002). Hyphal anastomosis reactions, rDNA-internal transcribed spacer sequences, and virulence levels among subsets of *Rhizoctonia solani* anastomosis group-2 (AG-2) and AG-BI. *Phytopathology*, *92*(1), 43-50. https://doi.org/10.1094/PHYTO.2002.92.1.43.

Chang, I. P. (1968). Biological control of seedling blight of corn by coating kernels with antagonistic microorganisms. *Phytopathology*, *58*, 1395-1401.

Colla, G., Rouphael, Y., Di Mattia, E., El-Nakhel, C., & Cardarelli, M. (2015). Co-inoculation of *Glomus intraradices* and *Trichoderma atroviride* acts as a biostimulant to promote growth, yield and nutrient uptake of vegetable crops. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *95*(8), 1706-1715. https://doi.org/10.1002/jsfa.6875.

Daroodi, Z., Taheri, P., & Tarighi, S. (2021). Direct antagonistic activity and tomato resistance induction of the endophytic fungus *Acrophialophora jodhpurensis* against *Rhizoctonia solani*. *Biological Control*, *160*, 104696. https://doi.org/10.1016/j. biocontrol.2021.104696.

Daroodi, Z., Taheri, P., & Tarighi, S. (2022). *Acrophialophora jodhpurensis*: an endophytic plant growth promoting fungus with biocontrol effect against *Alternaria alternata*. *Frontiers in Plant Science*, *13*. https://doi.org/10.3389/fpls.2022.984583.

Dawar, S., Hayat, S., Anis, M., & Zaki, M. J. (2008). Effect of seed coating material in the efficacy

of microbial antagonists for the control of root rot fungi on okra and sunflower. *Pakistan Journal of Botany*, *40*(3), 1269-1278.

de Camargo, F. R. T., Silva, I. L., Barros, P. J. R., Ascheri, D. P. R., Rodovalho, R. S., Bellizzi, N. C., Ascheri, J. L. R., Teixeira, I. R., Devilla, I. A., & de Campos, A. J. (2017). Physiological quality of soybean seeds treated with carboxymethyl cellulose and fungicide. *American Journal of Plant Sciences*, *8*(11), 2748. https://doi.org/10.4236/ajps.2017.811185.

De Curtis, F., Lima, G., Vitullo, D., & De Cicco, V. (2010). Biocontrol of *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfsii* on tomato by delivering antagonistic bacteria through a drip irrigation system. *Crop Protection*, *29*(7), 663-670. https://doi.org/10.1016/j.cropro.2010.01.012.

Dingle, J., & Mcgee, P. A. (2003). Some endophytic fungi reduce the density of pustules of *Puccinia recondita* f. sp. *tritici* in wheat. *Mycological Research*, *107*(3), 310-316. https://doi.org/10.1017/S0953756203007512.

Dipietro, A. (1995). Allelopathy: Fungal antibiosis in biocontrol of plant disease. American Chemical Society.

Edward, J. C. (1959). A new genus of the Moniliaceae. *Mycologia*, 51(6), 781–786. https://doi.org/10.1080/00275514.1959.12024860.

Fakhro, A., Andrade-Linares, D. R., von Bargen, S., Bandte, M., Büttner, C., Grosch, R., & Franken, P. (2010). Impact of *Piriformospora indica* on tomato growth and on interaction with fungal and viral pathogens. *Mycorrhiza*, *20*, 191–200. https://doi.org/10.1007/s00572-009-0279-5.

Gajera, H. P., Hirpara, D. G., Katakpara, Z. A., Patel, S. V., & Golakiya, B. A. (2016). Molecular evolution and phylogenetic analysis of biocontrol genes acquired from SCoT polymorphism of mycoparasitic *Trichoderma koningii* inhibiting phytopathogen *Rhizoctonia solani* Kuhn. Infection, *Genetics and Evolution*, *45*, 383-392. https://doi.org/10.1016/j.meegid.2016.09.026.

González-Guzmán, A., Sánchez-Rodríguez, A. R., Quesada-Moraga, E., del Campillo, M. C., & Yousef-Yousef, M. (2021). Optimizing wheat seed treatment with entomopathogenic fungi for improving plant growth at early development stages. *Spanish Journal of Agricultural Research*, *19*(4), e1004-e1004. https://doi.org/10.5424/sjar/2021194-17120.

Hossain, M. M., Sultana, F., & Hyakumachi, M. (2017). Role of ethylenesignalling in growth and systemic resistance induction by the plant growthpromoting fungus *Penicillium viridicatum* in Arabidopsis. *Journal of Phytopathology*, *165l*, 432–441. https://doi.org/10.1111/jph.12577.

Hubbard, J. P., Harman, G. E., & Eckenrode, C. J. (1982). Interaction of a biological control agent, *Chaetomium globosum*, with seed coat microflora. *Canadian Journal of Microbiology*, *28*(4), 431-437. https://doi.org/10.1139/m82-065.

Jaber, L. R. (2018). Seed inoculation with endophytic fungal entomopathogens promotes plant growth and reduces crown and root rot (CRR) caused by *Fusarium culmorum* in wheat. *Planta*, *248*, 1525-1535. https://doi.org/10.1007/s00425-018-2991-x.

Khan, A. L., Waqas, M., Hussain, J., Al-Harrasi, A., Hamayun, M., & Lee, I. J. (2015). Phytohormones enabled endophytic fungal symbiosis improve aluminum phytoextraction in tolerant *Solanum lycopersicum*: An examples of *Penicillium janthinellum* LK5 and comparison with exogenous GA3. *Journal of Hazardous Materials*, *295*, 70–78. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2015. 04.008.

Kommedahl, T., & Mew, I. C. (1975). Biocontrol of corn root infection in the field by seed treatment with antagonists. *Phytopathology*, *65*, 296–300.

Lugtenberg, B. J. J., Caradus, J. R., & Johnson, L. J. (2016). Fungal endophytes for sustainable crop production. *FEMS Microbiology Ecology*, *92* (12). https://doi.org/10.1093/femsec/fiw194.

Ma, Y., Látr, A., Rocha, I., Freitas, H., Vosátka, M., & Oliveira, R. S. (2019). Delivery of inoculum of *Rhizophagus irregularis* via seed coating in combination with *Pseudomonas libanensis* for cowpea production. *Agronomy*, 9 (1), 33. https://doi.org/10.3390/agronomy9010033.

Mahmood, A., Turgay, O. C., Farooq, M., & Hayat, R. (2016). Seed biopriming with plant growth promoting rhizobacteria: a review. *FEMS Microbiology Ecology*, 92, fiw112. https://doi.org/10.1093/femsec/fiw112.

Mantzoukas, S., Papantzikos, V., Katsogiannou, S., Papanikou, A., Koukidis, C., Servis, D., Eliopoulos, P., & Patakioutas, G. (2023). Biostimulant and bioinsecticidal effect of coating cotton seeds with endophytic *Beauveria bassiana* in semi-field conditions. *Microorganisms*, *11*(8), 2050. https://doi.org/10.3390/microorganisms11082050.

Minaxi, L. N., Yadav, R. C., & Saxena, J. (2012). Characterisation of multifaceted Bacillus sp. RM-2 for its use as plant growth promoting bioinoculant for crops grown in semi arid deserts. *Applied Soil Ecology*, 59, 124–135. https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2011.08.001.

Misawa, T., & Kuninaga, S. (2010). The first report of tomato foot rot caused by *Rhizoctonia solani* AG-3 PT and AG-2-Nt and its host range and molecular characterization. *Journal of General Plant Pathology*, 76 (5), 310–319. https://doi.org/10.1007/s10327-010-0261-2.

Morkunas, I., & Ratajczak, L. (2014). The role of sugar signaling in plant defense responses against fungal pathogens. *Acta Physiologiae Plantarum*, 36, 1607–1619. https://doi.org/10.1007/s11738-014-1559-z.

Mousa, W. K., & Raizada, M. N. (2013). The diversity of anti-microbial secondary metabolites produced by fungal endophytes: an interdisciplinary perspective. *Frontiers in Microbiology*, 4, 65. https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.0006.

Nefzi, A., Abdallah, R. A. B., Jabnoun-Khiareddine, H., Ammar, N., & Daami-Remadi, M. (2019). Ability of endophytic fungi associated with *Withania somnifera* L. to control *Fusarium* Crown and root rot and to promote growth in tomato. *Brazilian Journal of Microbiology*, 50, 481–494. https://doi.org/10.1007/s42770-019-00062-w.

Nikraftar, F., Taheri, P., Rastegar, M. F., & Tarighi, S. (2013). Tomato partial resistance to *Rhizoctonia solani* involves antioxidative defense mechanisms. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, *81*, 74-83. https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2012.11.004.

Padhi, P. P., Pattanayak, S. K. (2018). Effect of lime coating and molybdenum seed treatment on productivity and nutrient uptake of different pulses grown in Alfisols. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, *7*, 1417–1426.

Petrisor, C., Paica, A., & Burnichi, F. (2019). Physiological and growth response of tomato plants after *Trichoderma* spp. seed treatments. *Studia Universitatis Babes-Bolyai, Chemia*, *64*(2, Tom II), 567-577. https://doi.org/10.24193/subbchem.2019.2.49.

Pourmahdi, A., & Taheri, P. (2014). Genetic diversity of *Thanatephorus cucumeris* infecting tomato in Iran. *Journal of Phytopathology*, 163(1), 19-32. https://doi.org/10.1111/jph.12276.

Rivas-Franco, F., Hampton, J. G., Altier, N. A., Swaminathan, J., Rostás, M., Wessman, P., Saville, D. J., Jackson, T. A., Jackson, M. A., & Glare, T. R. (2020). Production of microsclerotia from entomopathogenic fungi and use in maize seed coating as delivery for biocontrol against *Fusarium graminearum*. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, *4*, 606828. https://doi.org/10.3389/fsufs.2020.606828.

Rocha, I., Ma, Y., Souza-Alonso, P., Vosátka, M., Freitas, H., & Oliveira, R. S. (2019). Seed coating: a tool for delivering beneficial microbes to agricultural crops. *Frontiers in plant science*, *10*, 1357. https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01357.

Ruiz-de-La-Cruz, G., Aguirre-Mancilla, C. L., Godínez-Garrido, N. A., Osornio-Flores, N. M., & Torres-Castillo, J. A. (2017). Chitosan mixed with beneficial fungal conidia or fungicide for bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seed coating. *Interciencia*, *42*, 307–312.

Solanki, M. K., Robert, A. S., Singh, R. K., Kumar, S., Pandey, A. K., Srivastava, A. K., & Arora, D. K. (2012). Characterization of mycolytic enzymes of *Bacillus* strains and their bio-protection role against *Rhizoctonia solani* in tomato. *Current Microbiology*, 65 (3), 330–336. https://doi.org/10.1007/s00284-012-0160-1.

Soytong, K. (1992). Antagonism of *Chaetomium cupreum* to *Pyricularia oryzae*. *Journal of Plant protection in the tropics*, *9*(1), 17-23.

Su, Y. Y., Qi, Y. L., & Cai, L. (2012). Induction of sporulation in plant pathogenic fungi. *Mycology*, 3(3), 195-200. https://doi.org/10.1080/21501203.2012.719042.

Sujatha, H. S., Murali, M., & Amruthesh, K. N. (2021). Fungal Endophytes as Growth Promoters and Inducers of Resistance in Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) against *Alternaria*

Solani. *International Journal of Life science and Pharma Research*, 11(2), L227-235. https://doi.org/10.22376/ijpbs/lpr.2021.11.2.L227-235.

Taheri, P., & Tarighi, S. (2010). Riboflavin induces resistance in rice against *Rhizoctonia solani* via jasmonate-mediated priming of phenylpropanoid pathway. *Journal of plant physiology*, 167(3), 201-208. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2009.08.003.

Taheri, P., & Tarighi, S. (2012). The role of pathogenesis-related proteins in the tomato-*Rhizoctonia solani* interaction. *Journal of Botany*. https://doi.org/10.1155/2012/137037.

Taheri, P., Gnanamanickam, S., & Höfte, M. (2007). Characterization, genetic structure, and pathogenicity of *Rhizoctonia* spp. associated with rice sheath diseases in India. *Phytopathology*, 97(3), 373-383. https://doi.org/10.1094/PHYTO-97-3-0373.

Taylor, I. B. (1986). The tomato crop: Biosystematics of the tomato. Springer. Netherlands.

Thines, E., Anke, H., & Weber, R. W. S. S. (2004). Fungal secondary metabolites as inhibitors of infection-related morphogenesis in phytopathogenic fungi. *Mycological research*, 108, 14–25. https://doi.org/10.1017/S0953756203008943.

Tucci, M., Ruocco, M., De Masi, L., De Palma, M., & Lorito, M. (2011). The beneficial effect of *Trichoderma* spp. on tomato is modulated by the plant genotype. *Molecular Plant Pathology*, 12, 341 354. https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2010.00674.

Vierheilig, H., Coughlan, A. P., Wyss, U., & Piche, Y. (1998). Ink and Vinegar, a simple staining technique for arbuscular-mycorrhizal fungi. *Applied and environmental microbiology*, 64(12), 5004-5007. https://doi.org/10.1128/AEM.64.12.5004-5007.1998.

Vilich, V., Dolfen, M., & Sikora, R. A. (1998). *Chaetomium* spp. colonization of barley following seed treatment and its effect on plant growth and *Erysiphe graminis* f. sp. *hordei* disease severity. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 105(2), 130-139.

Waller, F., Achatz, B., Baltruschat, H., Fodor, J., Becker, K., Fischer, M., & Kogel, K. H. (2005). The endophytic fungus *Piriformospora indica* reprograms barley to salt-stress tolerance, disease resistance, and higher yield. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102, 13386–13391. https://doi.org/10.1073/pnas.0504423102.

Wen, K., Seguin, P., Arnaud, M. S., & Jabaji-Hare, S. (2005). Real-Time quantitative RT-PCR of defense associated gene transcripts of *Rhizoctonia solani* infected bean seedlings in response to inoculation with a nonpathogenic binucleate *Rhizoctonia* isolate. *Phytopathology*, 95(4), 345-353. https://doi.org/10.1094/PHYTO-95-0345.

Yu, H., Zhang, L., Li, L., Zheng, C., Guo, L., Li, W., Sun, P., & Qin, L. (2010). Recent developments and future prospects of antimicrobial metabolites produced by endophytes. *Microbiological Research*, 165(6), 437-449. https://doi.org/10.1016/j.micres.2009.11.009.

Zhang, Y., Chen, F. S., Wu, X. Q., Luan, F. G., Zhang, L. P., Fang, X. M., & Ye, J. R. (2018). Isolation and characterization of two phosphate-solubilizingfungi from rhizosphere soil of moso bamboo and their functional capacities when exposed to different phosphorus sources and pH environments. *PLoS One*, 13, e0199625. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0199625.

Zhou, J., Deng, B., Zhang, Y., Cobb, A. B., & Zhang, Z. (2017). Molybdate in rhizobial seedcoat formulations improves the production and nodulation of alfalfa. *PLoS One*, 12 (1), e0170179. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0170179.