

مهار زیستی بیماری برقزدگی و بهبود ویژگی‌های رویشی نخود با میکوریزهای دارسانه‌ای و ریزوباکتری‌های پیش‌برنده رشد گیاه

Biological control of Ascochyta blight and improvement of chickpea growth parameters by the application of arbuscular mycorrhiza and plant growth promoting rhizobacteria

ناهید معرف‌زاده*، هادی خاتری
Nahid Moarrefzadeh*, Hadi Khateri

استادیار بیماری‌شناسی گیاهی، گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران
Assistant Professor of Plant Pathology, Department of Plant Protection, College of Agriculture, Razi University, Kermanshah, Iran

*Corresponding Author, Email : n.moarrefzadeh@razi.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۶/۳۰ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۸/۲۳

چکیده

بیماری برقزدگی نخود در اثر قارچ *Ascochyta rabiei* از عوامل مهم کاهش محصول این گیاه در سراسر جهان است. در این پژوهش، اثر کاربرد جداگانه و دوگانه دو قارچ میکوریزی دارسانه‌ای (arbuscular mycorrhizal fungi, AMF) شامل *Glomus fasciculatum* و چهار ریزوباکتری پیش‌برنده رشد گیاه (PGPR) شامل *Bacillus subtilis* BS، *Bacillus pumilus* INR7، *Bacillus velezensis* JPS19 و *Alcaligenes faecalis* 1624 برای مهار بیماری برقزدگی نخود در شرایط گلخانه بررسی شد. قارچکش کلروتالونیل که برای همسنجی به کار رفته بود، بیشترین اثر را در کاهش بیماری داشت. همه تیمارهای زیستی شدت بیماری را در همسنجی با شاهد بیمار کاهش دادند و بیشتر آن‌ها در حضور بیمارگر، مگر ارتفاع ریشه، سایر ویژگی‌های رشدی بررسی‌شده (وزن تر و خشک ریشه، وزن تر و خشک و ارتفاع اندام هوایی) را افزایش دادند. در همسنجی با کاربرد جداگانه AMF، برخی تیمارهای دوگانه AMF+PGPR اثر هم‌افزایی بر مهار بیماری، افزایش رشد یا میزان کلنیزاسیون با قارچ میکوریزی ریشه داشتند ولی این اثر در همه تیمارهای دوگانه یافته نشد. میان میزان کلنیزاسیون با قارچ میکوریزی و کاهش برقزدگی همبستگی مستقیمی دیده نشد. روی هم رفته، کاربرد جداگانه و دوگانه AMF و PGPR در کاهش بیماری برقزدگی و افزایش رشد نخود کارآمد بود، در کل، تیمارهای دوگانه همواره هم‌افزا نبودند و هم‌افزایی آن‌ها به جدایه‌های باکتریایی و قارچ‌های میکوریزی به کار گرفته بستگی داشت.

واژه‌های کلیدی

Alcaligenes

Bacillus

Glomus

Rhizophagus

هم‌افزایی

Genetic Engineering and Biosafety Journal
Volume 11, Number 2, 2023

Abstract

Ascochyta blight disease of chickpea plants caused by *Ascochyta rabiei* is one of the important agents that reduce the yield of this crop around the world. In this study, the effect of separate and combined application of two arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) including *Glomus versiform* and *Glomus fasciculatum*, and four plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) including *Bacillus subtilis* BS, *Bacillus velezensis* JPS19, *Bacillus pumilus* INR7 and *Alcaligenes faecalis* 1624 for controlling the Ascochyta blight of chickpeas was investigated under greenhouse conditions. The fungicide chlorothalonil, which was used for comparison, was the most effective in reducing the disease. All biological treatments reduced the severity of the disease compared to the diseased control, and most of them enhanced the growth parameters (wet and dry weight of roots, wet and dry weight, and the length of foliage) in the presence of the pathogen, except for root length. Compared to the separate application of AMF, some PGPR+AMF combined treatments had a synergistic effect on disease inhibition, enhanced growth, or root mycorrhizal colonization rate, but this effect was not present in all combinations. There was no direct relationship between the amount of mycorrhizal colonization and the reduction of Ascochyta blight; In general, the use of AMF and PGPR, separately and in combination, was effective in reducing the Ascochyta blight disease and enhancing the growth of chickpeas, but the efficiency of the combined inoculation was not always synergistic and depended on the bacterial and mycorrhizal strains used.

Keywords: *Alcaligenes*, *Bacillus*, *Glomus*, *Rhizophagus*, Synergism

مقدمه

(al., 2021) و در برخی شرایط، در ارقام حساس تا ۱۰۰ درصد زیان بزند (Benzohra et al., 2020).

مدیریت تلفیقی بهترین راهبرد شناخته شده برای کاهش زیان بیماری برق‌زدگی نخود است (Manjunatha et al., 2018) و شامل بهره‌گیری از ارقام مقاوم، گردش زراعی (Manjunatha et al., 2018)، تنظیم تاریخ کاشت (Ben Mohamed et al., 2010)، انهدام منابع زادمایه بیمارگر، کاربرد دانه‌های عاری از بیماری (Davidson and Kimber, 2007) و تیمار دانه یا محلول‌پاشی اندام‌های هوایی با ترکیبات شیمیایی است (Ennouri et al., 2020). در میان روش‌های گفته شده، کاربرد قارچکش‌ها رایج‌ترین و کارآمدترین روش مهار این بیماری است (Sherazi et al., 2016)، اما کاربرد پیوسته و پیاپی این مواد، افزون بر افزایش هزینه‌های تولید، می‌تواند به پیدایش جدایه‌های قارچی مقاوم بیانجامد (Liu et al., 2016) و دشواری‌هایی برای تندرستی انسان و زیست‌بوم پدید بیاورد (Mustafa et al., 2017). از این رو، بایسته است که راهبردهایی

گیاه نخود (*Cicer arietinum* L.) یکی از مهم‌ترین حبوبات دانه‌ای کشت شده در سراسر جهان است (Parmasi et al., 2019) که اراضی وسیعی به کشت آن اختصاص داده می‌شود. در بسیاری از کشورها میزان تولید و کارکرد این محصول، در اثر تنش‌های زیستی و نازیستی کاهش می‌یابد (Newman et al., 2021). بیماری برق‌زدگی نخود (*Ascochyta* blight) یکی از تنش‌های زیستی بسیار مهم است که کارکرد این گیاه را در سراسر جهان (Akamatsu et al., 2012) و ایران (Vafaei et al., 2016) کاهش می‌دهد. عامل این بیماری، یک قارچ مرده‌پرور (نکروتروف) به نام *Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr (تلئومورف: *Didymella rabiei* (Kov.) v. Arx) است (Baite and Dubey, 2018). لکه‌های قهوه‌ای تیره تا سیاه با اندازه‌های نابرابر روی نیام، دانه، شاخساره، برگچه و ساقه گیاه بیمار پدیدار می‌شوند (Javaid et al., 2020). در آب‌وهوای خنک و مرطوب (Pande et al., 2005) این بیمارگر می‌تواند سراسر بخش‌های هوایی گیاه را آلوده کند (Newman et

جدید و پایدار برای مهار این بیماری و کاهش کاربری مواد شیمیایی جستجو شوند (Imperiali et al., 2017).

ریزجانداران سودمند خاک و ریزوسفر، کاروری ارزنده‌ای در افزایش رشد گیاه و کاهش اثر تنش‌های زیستی (آفات و بیماری‌های گیاهی) و نازیستی ناشی از شرایط محیطی سخت دارند (Chausali and Saxena, 2022) و جایگزین یا مکملی امیدبخش برای پاسداری از تندرستی و بهره‌وری محصول هستند (Imperiali et al., 2017). قارچ‌های میکوریزی دارسانه‌ای (Arbuscular mycorrhizal fungi, AMF) و ریزوباکتری‌های پیش‌برنده رشد گیاه (Plant growth-promoting rhizobacteria, PGPR) دو مورد از اجزای اصلی ریزوسفر هستند که با ارایه سازوکارهای گوناگون، از گیاهان در برابر آفات و بیماری‌های گوناگون پاسداری می‌کنند (Minchev et al., 2021). این ریزجانداران در برهمکنش‌های متعددی که در محیط‌های ریزوسفری دارند، می‌توانند اثرات افزایشی یا هم‌افزایی بر رشد و تندرستی گیاه داشته باشند (Santoyo et al., 2021).

قارچ‌های میکوریزی دارسانه‌ای، قارچ‌های زیوپارور اجباری از شاخه Glomeromycota هستند که می‌توانند با ریشه بیش از ۸۰ درصد گونه‌های گیاهان خشکی‌زی پیوند همزیستی برقرار نمایند. پایه این برهمکنش متقابل، دادوستد مواد غذایی میان گیاه و قارچ است (Emmanuel and Babalola, 2020; Krzyzaniak et al., 2021). بدینسان که قارچ‌های میکوریزی دارسانه‌ای برای تکمیل چرخه زندگی خود به فرآورده‌های فتوسنتزی و چربی گیاه نیاز دارند (Pozo de la Hoz et al., 2021) و در عوض، مواد مغذی معدنی و بویژه فسفر و نیتروژن را از خاک جذب نموده و به گیاه جابجا می‌کنند (Emmanuel and Babalola, 2020). افزون بر کاروری محوری قارچ‌های میکوریزی دارسانه‌ای در بهبود تغذیه گیاه، این قارچ‌ها به تقویت ساختار خاک، انگیزش رشد گیاه میزبان (Igiehon and Babalola, 2018) و افزایش تحمل آن در برابر تنش‌های زیستی و نازیستی کمک می‌کنند (Comby et al., 2017). از این روی، قارچ‌های میکوریزی دارسانه‌ای می‌توانند بسان یک کود طبیعی کارآمد (Parihar et al., 2020) و نیز یک ابزار مهار زیستی بالقوه در مدیریت بیماری‌های گیاهی مطرح باشند

(Mustafa et al., 2017). برای نمونه، کلنیزه شدن ریشه‌های گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum*) با *Funneliformis Glomus fasciculatum* یا *Rhizophagus irregularis mosseae* به افزایش مقاومت این گیاه در برابر بیمارگرهای *Botrytis cinerea* و *Alternaria solani* انجامیده است (Fritz et al., 2006; Fiorilli et al., 2011). در پژوهش دیگری، تأثیر مثبت *R. irregularis* (با نام قبلی *R. intraradices*) در افزایش رشد نخود حتی در حضور بیمارگر *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* به اثبات رسیده است (Moarrefzadeh et al., 2021b).

ریزوباکتری‌های پیش‌برنده رشد گیاه از مهم‌ترین باکتری‌های خاک هستند که ریزوسفر و ریزوپلان گیاهان را کلنیزه می‌کنند (Kilam et al., 2017) و می‌توانند با سازوکارهای گوناگون مستقیم و غیرمستقیم به افزایش رشد گیاه و کاهش اثرات بازدارنده بیمارگرهای گیاهی بیانجامد (Krzyzaniak et al., 2021; Chausali and Saxena, 2022). برای نمونه، باکتری‌های گوناگون سرده *Bacillus* به کاهش شدت بیماری برق‌زدگی در نخود می‌انجامد و تأثیر معنی‌داری در بهبود شاخص‌های رشد گیاه نیز داشته‌اند (Rhaiem, 2020).

با وجود اثبات توانایی ریزجانداران برای مهار زیستی آفات و بیماری‌ها، یکی از چالش‌های اصلی برای کاربرد گسترده آن‌ها در کشاورزی، ناهمگونی نتایج به‌دست‌آمده در شرایط کشتزار است (Mitter et al., 2019). بسیاری از پژوهش‌های مهار زیستی بر کاربرد یگانه ریزجانداران متمرکز بوده‌اند (Sarma et al., 2015; Trivedi et al., 2020). از سوی دیگر، ماندگاری و کارکرد زامایه عوامل زیستی، سخت تحت تأثیر برهمکنش‌های پیچیده آن‌ها در میان جوامع میکروبی خاک و محیط است (Barea et al., 2005; Trivedi et al., 2020; Pozo et al., 2021). از این روی، مایه‌زنی یگانه و تک‌جداای مهارگرهای زیستی می‌تواند به دلیل توانایی محدود آن‌ها برای هم‌اوردی با میکروب‌های بومی و شرایط محیطی گوناگون، به دگرگونی کارآمدی یا ناکارآمدی آن‌ها بیانجامد (Trivedi et al., 2020). یکی از راه‌های پیشنهادی برای چیرگی بر این دشواری و بهبود پایداری شیوه‌های مهار زیستی، کاربرد ترکیب سویه‌های گوناگون عوامل زیستی است، زیرا انتظار می‌رود

همیاری‌های (کنسرسیون‌های) میکروبی اعطاف‌پذیرتر بوده و بهتر از مایه‌های تنها، با گوناگونی بالای چالش‌های زیست‌بومی مقابله کنند که در عمل با آن روبرو هستند (Sarma et al., 2015; Arif et al., 2020; Pozo et al., 2021). افزون بر این، سازوکارهای اثر گوناگون در همیاری ترکیب می‌شوند و شاید به شکل فرآورده‌ای چندمنظوره کار کنند یا در همسنجی با ریزجانداران تنها، آفات یا بیماری‌ها را بهتر مهار کنند (Sarma et al., 2015; Minchev et al., 2021). شواهد متعددی وجود دارد که نشان می‌دهند مایه‌زنی دوگانه PGPR و AMF توانسته است به بهبود وضعیت رشد گیاه و یا پاسداری از گیاه در برابر بیماری بیانجامد. مایه‌زنی دوگانه گونه‌های *Glomus* با هرکدام از باکتری‌های *Bacillus circulans*، *Serratia marcescens* و *Pseudomonas sp.* به افزایش همه ویژگی‌های رشدی بررسی شده در سورگوم انجامیده است (Hameeda et al., 2006). کاربرد دوگانه *Pseudomonas putida* و *Chrysanthemum F. mosseae* نیز تحمل بوته‌های داوودی *carinatum* را به زردی فیتوپلاسمایی داوودی افزایش داده است (D'Amelio et al., 2011).

با این که بسیاری از بررسی‌ها مایه‌زنی هم‌زمان و ترکیبی AMF و PGPR را بسان ابزاری امیدبخش و شایسته برای بهبود رشد گیاه، مهار بیمارگرهای گیاهی و پایداری تولید محصول شناسایی کرده‌اند، با این همه، شاید برخی از برهمکنش‌های میان این میکروارگانیسم‌ها بسیار ویژه باشند (Artursson et al., 2006) و باکتری‌های گوناگون، برهمکنش‌هایی خنثی، مثبت یا منفی را در برابر AMF برانگیزند (Bonfante and Anca, 2009). از این روی، پیش از کاربرد ترکیبی این عوامل، برای بهبود کارایی آن‌ها بسان عوامل مهار زیستی یا کودهای زیستی و حصول اطمینان از اثرات سودمند آ‌زادسازی این عوامل لازم است سازگاری و اثرات هم‌افزا یا آنتاگونیستی آن‌ها با هم و در حضور میزبان موردنظر بررسی شود (Martínez-Medina et al., 2009; Saldajeno and Hyakumachi, 2011). پژوهش‌های گلخانه‌ای درباره اثربخشی برخی ریزوباکتری‌های گوناگون پیش‌برنده رشد گیاه در مهار برق‌زدگی نخود اندک هستند (Wang et al., 2003; Liu et al., 2016; Parmasi et al., 2019; Moarrefzadeh et al., 2022) و گزارشی درباره اثربخشی ترکیب AMF و PGPR بر این بیمارگر

مواد و روش‌ها

کشت و تکثیر جدایه قارچ بیمارگر: یک جدایه بیماری‌زای قارچ *Ascochyta rabiei* از کلکسیون قارچ‌های گروه گیاهپزشکی در دانشکده کشاورزی دانشگاه رازی تهیه شد. این جدایه پیشتر بر پایه ویژگی‌های ریخت‌شناختی شناسایی شده و بیماری‌زایی آن در رقم حساس نخود بیوتیج (Bivani) در شرایط گلخانه بررسی شده است (Moarrefzadeh et al., 2021a). جدایه *A. rabiei* در تشتک‌های پتری حاوی محیط کشت آرد دانه نخود دکستروز آگار (CDA) کشت شد. برای آماده کردن این محیط، ۴۰ گرم آرد دانه نخود در ۲۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر جوشانیده و از پارچه ململ گذرانده شد. به عصاره حاصل، ۲۰ گرم دکستروز و ۱۸ گرم آگار افزوده شد و با آب مقطر به حجم یک لیتر رسانیده و سپس اتوکلاو شد. تشتک‌های پتری حاوی کشت قارچی در دمای 20 ± 2 درجه سلسیوس نگهداری شدند (Farahani et al., 2019).

برای آماده‌سازی زادمایه بیمارگر، یک دیسک پنج میلی‌متری از کشت جوان قارچ بیمارگر *A. rabiei* در تشتک‌های پتری حاوی محیط CDA کشت شد. تشتک‌ها برای یک ماه یعنی تا هنگام پیدایش پیکنیدیوم‌ها در آن‌ها، در دمای 20 ± 2 درجه سلسیوس نگهداری شدند. پس از سپری شدن این مدت‌زمان، مقداری آب مقطر سترون شده با اتوکلاو (۱۲۱ درجه سلسیوس به مدت ۲۰ دقیقه) به سطح محیط‌های کشت افزوده شد و پس از گذشت یک ساعت، برای جدا نمودن پیکنیدیوسپورهای (کنیدیوم‌های) درون پیکنیدیوم‌ها، سطح پیکنیدیوم‌ها به آرامی با یک اسکالپل (سترون شده با شعله) خراشیده شد. برای تنظیم تراکم کنیدیوم‌ها در سوسپانسیون به میزان $10^4 \times 2$ اسپور در میلی‌لیتر از لام گلبول‌شمار

(Hemocytometer) بهره گرفته شد (Moarrefzadeh et al., 2021a).

دستیابی به باکتری‌های پروبیوتیک و آماده‌سازی زادمایه: برای انجام این پژوهش، از چهار جدایه پروبیوتیک باکتریایی بهره گرفته شد. *Bacillus subtilis* BS (B.s) از کلکسیون باکتری‌های آنتاگونیست گروه گیاهپزشکی در دانشکده کشاورزی دانشگاه رازی، *Bacillus velezensis* JPS19 (B.vl) از خانم دکتر سونیا سیفی (استادیار بیماری‌شناسی گیاهی، دانشگاه پیام نور، کرمانشاه)، باکتری *Bacillus pumilus* INR7 (B.p) از پروفسور کلوپر (استاد بازنشسته بیماری‌شناسی گیاهی، دانشگاه آوبورن، ایالات متحده آمریکا) و باکتری *Alcaligenes faecalis* 1624 (Alc) از مرکز میکروارگانیسم‌های صنعتی ایران دریافت شد.

باکتری‌های پروبیوتیک روی محیط آگار غذایی کشت شدند و از کشت ۴۸ ساعته آن‌ها، یک لوپ به ارلن‌های حاوی محیط مایع مغذی (nutrient broth, NB) مایه‌زنی شد. ارلن‌ها به مدت ۴۸ ساعت روی دستگاه شیکر با سرعت ۱۲۰ دور در دقیقه و در دمای اتاق نگهداری شدند. غلظت یاخته‌های باکتریایی با کمک دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۰۰ نانومتر روی کدورت نوری یک تنظیم شد (Moarrefzadeh et al., 2021c).

فراهم نمودن قارچ‌های میکوریزی دارسانه‌ای: قارچ‌های میکوریزی دارسانه‌ای از گونه‌های *Glomus versiform* (G.v) و *Glomus fasciculatum* (G.f) به صورت فرمولاسیون تجاری از شرکت زیست فناوری توران (شاهرود، نشانی اینترنتی <http://turanbiotech.ir>) خریده شدند. هر گرم از این فرآورده‌ها دارای ۱۰۰ هاگ (spore) قارچ میکوریزی بود.

ارزیابی اثر کاربرد جداگانه و دوگانه AMF و PGPR بر بیماری برق‌زدگی و ویژگی‌های رویشی نخود: برای همسنجی اثر کاربرد جداگانه و دوگانه قارچ‌های میکوریزی دارسانه‌ای و باکتری‌های پروبیوتیک در مهار *A. rabiei* و تأثیر آن‌ها بر ویژگی‌های رشدی نخود در حضور این بیمارگر، آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با پنج تکرار و ۱۷ تیمار در گلخانه انجام شد. نام تیمارهای انجام شده در این پژوهش در جدول ۱ آورده شده است. از دانه نخود رقم بیونیک بهره گرفته شد که از ارقام رایج زیر کشت در

استان کرمانشاه و حساس به بیماری برق‌زدگی است. سترون کردن رویه دانه‌های نخود نخست با اتانول ۷۰ درصد و سپس هیپوکلریت سدیم نیم درصد (هرکدام برای یک دقیقه) انجام شد. پس از چند بار شستشو با آب مقطر (سترون شده با اتوکلاو)، دانه‌ها درون ظروف پلاستیکی (به طول ۳۲ سانتیمتر، عرض ۱۷ سانتیمتر و ارتفاع ۱۲ سانتیمتر، به همراه یک صفحه مشبک به اندازه ۳۰ سانتیمتر در ۱۶ سانتیمتر در کف آن و درپوش شفاف در بالا) قرار گرفتند. در کف ظرف حدود ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر سترون ریخته شد تا رطوبت مورد نیاز فراهم شود. دانه‌ها دو روز در دمای اتاق نگهداری شدند تا جوانه بزنند. برای آماده کردن بستر کشت پایه برای رشد گیاهان، از مخلوط پرلیت و پیت‌ماس سترون شده با اتوکلاو (۱۲۱ درجه سلسیوس به مدت ۲۰ دقیقه، دو بار با فاصله ۲۴ ساعت) به نسبت حجمی ۳ به ۱ بهره گرفته شد. این مخلوط درون گلدان‌های پلاستیکی با حجم ۴۵۰ میلی‌لیتر (قطر دهانه هشت و بلندی ۱۳ سانتی‌متر) ریخته شد. در تیمارهای شاهد و قارچکش، تنها از بستر کشت پایه بهره گرفته شد و پس از پر کردن گلدان‌ها به اندازه نزدیک به بیش از سه‌چهارم گنجایش، در هر گلدان چهار دانه نخود قرار داده شد و سپس روی دانه‌ها با لایه‌ای دو سانتی‌متری از پیت‌ماس و پرلیت سترون پوشانیده شد. در تیمارهای با گونه‌های میکوریزی، برای هر گلدان، ۳۶ گرم از زادمایه گونه‌های میکوریزی با بستر کشت پایه به‌خوبی مخلوط شد و سپس درون گلدان‌ها ریخته شد. در تیمارهای با باکتری‌های پروبیوتیک، باکتری‌ها در هنگام کاشت دانه‌ها از راه تیمار دانه و تیمار با ریختن سوسپانسیون باکتریایی به خاک گلدان‌ها افزوده شدند، بدینسان که دانه‌های نخود پیش از کاشت، برای یک ساعت در سوسپانسیون حاوی 1×10^8 سلول باکتری در میلی‌لیتر جای داده شدند و پس از کاشت دانه‌ها نیز سوسپانسیون باکتری‌ها به جای نخستین آبیاری به میزان ۱۰۰ میلی‌لیتر به هر گلدان افزوده شد. در تیمارهای دوگانه با قارچ‌های میکوریز و باکتری‌های پروبیوتیک نیز مانند تیمار شاهد، دانه‌ها با لایه‌ای دو سانتی‌متری از پیت‌ماس و پرلیت سترون پوشانیده شدند. پس از اطمینان از سبز شدن دانه‌ها، سه گیاهچه در هر گلدان نگه داشته شدند و گیاهچه‌های بیشتر حذف شدند. در تیمار با قارچکش کلروتالونیل، ۴۸ ساعت پیش از مایه‌زنی با بیمارگر، محلولی با غلظت یک در هزار از فرمولاسیون تجاری (پودر و تابل

۷۵ درصد، محصول شرکت آریا شیمی، تهران، نشانی اینترنتی: www.ariashimi.ir آماده شد و روی برگ‌های نخود محلول‌پاشی شد (Bretag et al., 2008).

سه هفته پس از کشت دانه‌های نخود، سوسپانسیون کنیدیوم‌های قارچ بیمارگر (با غلظت $10^4 \times 2$ چه چیزی در میلی‌لیتر آب) با افشانه دستی به‌طور یکنواخت روی گیاهچه‌های نخود پاشیده شد. پاشش سوسپانسیون کنیدیوم‌ها تا هنگام ریزش نخستین قطره از رویه برگ‌های هر گل‌دان ادامه یافت.

در تیمار شاهد سالم، تنها آب مقطر سترون پاشیده شد. نخودهای مایه‌زنی شده سه روز با پلاستیک شفاف پوشانیده شدند تا نم نگهداری شود (Liu et al., 2016). گیاهان مایه‌زنی شده، در شرایط گلخانه در دمای 20 ± 2 درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. آبیاری گیاهان روزانه با جریان ملایم آب حاوی ۱۰۰ پی‌پی‌ام کود کامل (Fermolife, NPK+TE, 18-18-18)، تهیه شده از شرکت بهاران، اصفهان، نشانی اینترنتی: <https://baharan.co> انجام شد.

ارزیابی بیماری برق‌زدگی و صفات رشدی بوته‌های نخود: سه هفته پس از مایه‌زنی با بیمارگر، درجه‌بندی شدت بیماری برق‌زدگی در تیمارهای گوناگون، پیرو روش (Chen et al., 2004) با مقیاس درجه‌بندی ۱-۹ به شرح زیر انجام شد: (۱) گیاه سالم است و بیمار نیست؛ (۲) لکه‌های بیماری هستند، با این همه کوچک و غیرقابل مشاهده‌اند؛ (۳) لکه‌ها به آسانی دیده می‌شوند، با این همه گیاه بیشتر سبز است؛ (۴) لکه‌های شدید به‌روشنی قابل دیدن هستند؛ (۵) لکه‌ها ساقه‌ها را دربرگرفته‌اند و روی بیشتر برگ‌ها دیده می‌شوند؛ (۶) گیاه رو به زوال است و سرساقه‌های گیاه دچار خشکیدگی هستند؛ (۷) گیاه در حال مرگ است، با این همه دستکم دارای سه برگ سبز می‌باشد؛ (۸) گیاه کمابیش مرده و هیچ برگ سبزی بازنمانده، اما هنوز ساقه سبز دارد؛ و (۹) گیاه مرده است و کمابیش هیچ بخش سبزی روی گیاه دیده نمی‌شود.

پس از ارزیابی شاخص بیماری در تیمارهای گوناگون، بوته‌های نخود به‌آرامی از گل‌دان بیرون آورده شدند و پس از شستشوی ریشه، ویژگی‌های رویشی ریشه (درازا، وزن ریشه تر و خشک) و بخش‌های هوایی گیاه (درازا، وزن شاخساره تر و خشک) اندازه‌گیری شد. داده‌ها با نرم‌افزار SAS (نسخه 9.4) و در

چارچوب طرح کاملاً تصادفی واکاوی شدند. همسنجی میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد و احتمال خطای آماری در همه محاسبات پنج درصد در نظر گرفته شد.

بررسی میزان کلنیزاسیون ریشه نخود با قارچ‌های میکوریزی دارسانه‌ای: تعیین میزان کلنیزاسیون ریشه‌های نخود با AMF و تأثیر PGPR بر میزان کلنیزاسیون با قارچ‌های میکوریز، پیرو روش (Phillips and Hayman, 1970) با اندکی تغییر انجام شد. به این صورت که از ریشه‌های جوان سه تکرار هر تیمار میکوریزی، یک‌دهم گرم از ریشه‌های فرعی نازک جدا شد و پس از شستشوی کامل با آب مقطر، به تکه‌های نیم تا یک سانتیمتری برش داده شد و تکه‌های هر یک از تکرارها به یک لوله ۵ میلی‌لیتری حاوی ۳ میلی‌لیتر محلول ۱۰ درصدی هیدروکسید پتاسیم منتقل شدند. ریشه‌ها برای رنگبری بافت، یک ساعت در حمام آب گرم ۹۰ درجه سلسیوس نگهداری شدند و پس از چند بار شستشوی کامل با آب مقطر، برای ۵ دقیقه درون محلول یک درصدی اسید کلریدریک جای داده شدند. سپس بی آن که شسته شوند، برای یک ساعت در محلول اسید فوشین در لاکتوگلیسرول (با غلظت ۰/۰۱ گرم درصد میلی‌لیتر)، برای یک ساعت در حمام آب گرم ۹۰ درجه سلسیوس و سپس ۳۰ دقیقه در محلول لاکتوگلیسرول نگه داشته شدند. هستی اندام‌های میکوریزی در ۱۰۰ تکه از ریشه‌های رنگ‌آمیزی شده هر تکرار، با بزرگنمایی ۴۰ و ۱۰۰ میکروسکوپ نوری (مدل Lx 400 ساخت شرکت Labomed آمریکا) بررسی شد. پس از شمارش ریشه‌های آلوده و آلوده نشده با قارچ میکوریز، درصد کلنیزاسیون ریشه‌ها پیرو روش (Sohrabi et al., 2015) تعیین شد.

نتایج

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تیمارهای مورد بررسی از نظر همه شاخص‌های ارزیابی شده با درصد اطمینان بالای ۹۵ درصد با هم اختلاف معنی‌داری داشتند (جدول ۱).

اثر تیمارها بر بیماری برق‌زدگی نخود: ارزیابی اثر تیمار قارچ‌کش کلروتالونیل و کاربرد تنها و دوگانه AMF و PGPR علیه بیمارگر

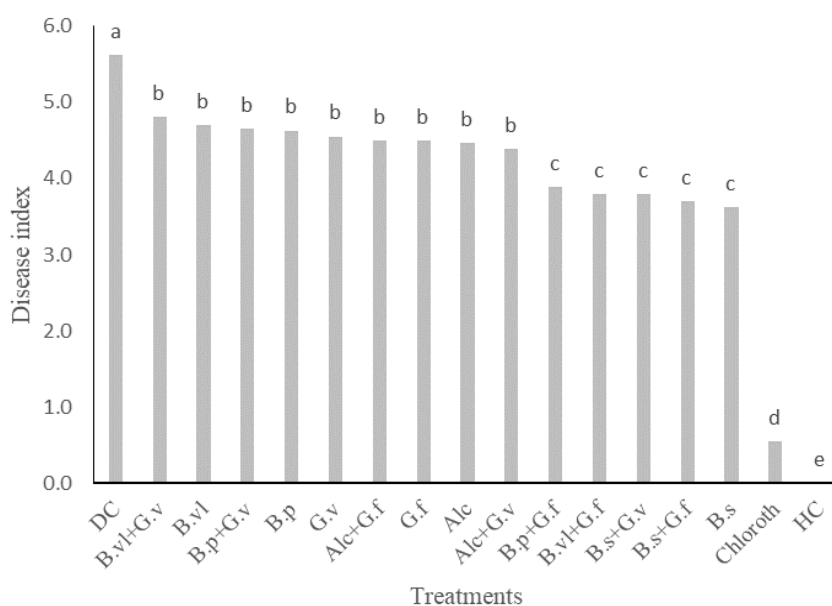
داشت. میزان کاهش شدت بیماری در تیمارهای زیستی انجام شده نیز از ۱۴/۴۱ (تیمار B.vl+G.v) تا ۳۵/۵۸ درصد (تیمار B.s) متغیر بود و ناهمگونی‌های معنی‌داری در میزان اثر تیمارهای گوناگون در مهار بیماری یافته شدند (شکل ۱).

A. rabiei در شرایط گلخانه نشان داد که همه تیمارهای این آزمایش، به کاهش معنی‌دار شاخص بیماری در همسنگی با شاهد آلوده انجامیدند. روی هم رفته، قارچ‌کش کلروتالونیل با ۹۰/۳۹ درصد کاهش شاخص بیماری، بهترین اثر را در مهار بیماری

جدول ۱- تجزیه واریانس داده‌های آزمایش اثر کاربرد تنها و دوگانه قارچ‌های میکوریزی دارسانه‌ای و باکتری‌های پروبیوتیک بر ویژگی‌های رویشی گیاه نخود و شاخص بیماری ناشی از قارچ بیمارگر *Ascochyta rabiei* در گلخانه

Table 1. Analysis of variance of data obtained from the assessment of separate and combined application of arbuscular mycorrhizal fungi and probiotic bacteria on growth traits of chickpea plants and disease severity caused by the fungal pathogen *Ascochyta rabiei* in greenhouse

Sources of variation	DF	Mean squares						
		Disease index	Root length	Shoot height	Shoot wet weight	Root wet weight	Root dry weight	Shoot dry weight
Treatment	16	10.585	39.617	95.978	7.467	2.042	0.008	0.036
Error	68	0.149	2.073	6.545	0.170	0.119	0.001	0.004
C.v.		9.916	9.544	6.384	8.610	12.324	14.156	10.319
F value		71.08*	19.11*	14.67*	43.86*	17.22*	13.71*	9.66*



شکل ۱- اثر کاربرد تنها و دوگانه قارچ‌های میکوریزی دارسانه‌ای و باکتری‌های پروبیوتیک بر شاخص بیماری ناشی از قارچ بیمارگر *Ascochyta rabiei* در گلخانه. همسنگی میانگین‌ها با بهره‌گیری از آزمون دانکن با احتمال خطای پنج درصد انجام شد. میانگین‌های دارای حروف مشترک، از دیدگاه آماری با هم ناهمگونی معنی‌داری ندارند (نام‌های کامل تیمارها در ادامه زیرنویس انگلیسی همین شکل آورده شده‌اند).

Fig 1. The effect of separate and combined application of arbuscular mycorrhizal fungi and probiotic bacteria on the index of chickpea *Ascochyta* blight disease caused by the fungal pathogen *Ascochyta rabiei* in greenhouse. The means were compared using Duncan's test ($\alpha = 5\%$). The means with common letters are not of statistically significant difference.

The abbreviations of treatment names are as follow: Alc: *Alcaligenes faecalis* 1624, B.p: *Bacillus pumilus* INR7, B.s: *Bacillus subtilis* BS, B.vl: *Bacillus velezensis* JPS19, Chloroth: Chlorothalonil, DC: Diseased control, G.f: *Glomus fasciculatum*, G.v: *Glomus versiform* and HC: Healthy control.

جدول ۲- اثر کاربرد جداگانه و دوگانه قارچ‌های میکوریزی دارسانه‌ای و باکتری‌های پروبیوتیک بر صفات رشدی نخود در حضور قارچ بیمارگر *A. rabiei* در گلخانه

Table 1. The effect of separate and combined application of arbuscular mycorrhizal fungi and probiotic bacteria on growth traits of chickpea plants in the presence of *A. rabiei* in greenhouse

Treatment	Shoot height	Shoot wet weight	Shoot dry weight	Root length	Root wet weight	Root dry weight
Alc	33.52 h	4.21 ef	0.51 fg	17.04 bc	3.19 bc	0.22 b
Alc+G.f	48 a	3.75 fg	0.6 cdef	14.3 defg	2.57 def	0.13 fgh
Alc+G.v	38.9 defg	4.7 de	0.61 cde	15.1 cde	2.83 cd	0.15 def
B.p	37.08 fgh	4.77 de	0.58 def	19.3 a	3.21 bc	0.18 cd
B.p+G.f	36.4 gh	4.68 de	0.7 b	13.6 efg	1.74 g	0.11 gh
B.p+G.v	38.4 efg	4.47 de	0.59 cdef	16.1 cd	3.52 ab	0.18 cd
B.s	38.88 defg	5.99 c	0.64 bcd	9.17 h	2.51 def	0.15 def
B.s+G.f	45.8 ab	4.61 de	0.52 efg	12.4 g	2.4 def	0.14 efg
B.s+G.v	42.23 cd	4.24 ef	0.58 def	12.58 fg	2.8 cde	0.27 a
B.vl	41.1 cde	4.85 d	0.61 cde	14.47 def	3.2 bc	0.17 cde
B.vl+G.f	44.15 bc	3.68 fg	0.52 efg	12.31 g	2.32 ef	0.15 def
B.vl+G.v	34.1 h	3.68 fg	0.51 fg	12.85 fg	3.55 ab	0.2 bc
G.f	40.9 cde	4.57 de	0.54 efg	15.65 cd	2.78 cdef	0.18 cd
G.v	41.62 cde	4.62 de	0.59 cdef	16.55 c	3.86 a	0.18 cd
Chloroth	40.3 def	7.17 b	0.67 bc	18.64 ab	3.24 bc	0.17 cde
HC	46.23 ab	8.04 a	0.82 a	19.81 a	2.29 f	0.18 cd
DC	33.64 h	3.42 g	0.47 g	16.58 c	1.49 g	0.1 h

اعداد جدول میانگین داده‌های پنج تکرار می‌باشند. مقایسه میانگین‌ها با بهره‌گیری از آزمون دانکن (آلفا = ۵ درصد) انجام شد. میانگین‌های دارای حروف مشترک، با هم اختلاف آماری معنی‌داری ندارند. (نام‌های کامل تیمارها در ادامه زیرنویس انگلیسی همین جدول آورده شده‌اند).

Data are means of the data from five replicates. The means were compared using Duncan's test ($\alpha = 5$). The means with common letters are not of statistically significant difference. The abbreviations of treatment names are as follow: Alc: *Alcaligenes faecalis* 1624, B.p: *Bacillus pumilus* INR7, B.s: *Bacillus subtilis* BS, B.vl: *Bacillus velezensis* JPS19, Chloroth: Chlorothalonil, DC: Diseased control, G.f: *Glomus fasciculatum*, G.v: *Glomus versiform* and HC: Healthy control.

با شاهد بیمار در همه تیمارهای انجام شده، مگر در تیمارهای Alc، B.vl+G.v، B.s+G.f، B.vl+G.f و G.f دیده شد که در دامنه ای از ۲۰/۶۸ (در تیمار B.p) تا ۴۸/۹۳ (در تیمار B.p+G.f) درصد بود.

اثر عوامل زیستی بر ویژگی‌های رویشی ریشه گیاه: در میان تیمارهای زیستی انجام شده، تنها در تیمار B.p افزایش معنی‌دار درازای ریشه گیاه (۱۶/۴۰ درصد) نسبت به شاهد بیمار دیده شد و دیگر تیمارها یا ناهمگونی معنی‌داری با شاهد بیمار نداشتند و یا به کاهش این شاخص انجامیدند (جدول ۲). وزن تر ریشه در همه تیمارها مگر در B.p+G.f به‌طور معنی‌داری از شاهد بیمار بیشتر بود و این افزایش در تیمارهای گوناگون از ۵۵/۷ (تیمار B.vl+G.f) تا ۱۵۹/۰۶ درصد (در تیمار G.v) بود. همچنین، مگر در تیمارهای B.vl+G.f، B.s+G.f، B.s، Alc+G.f و G.f، این شاخص افزایش

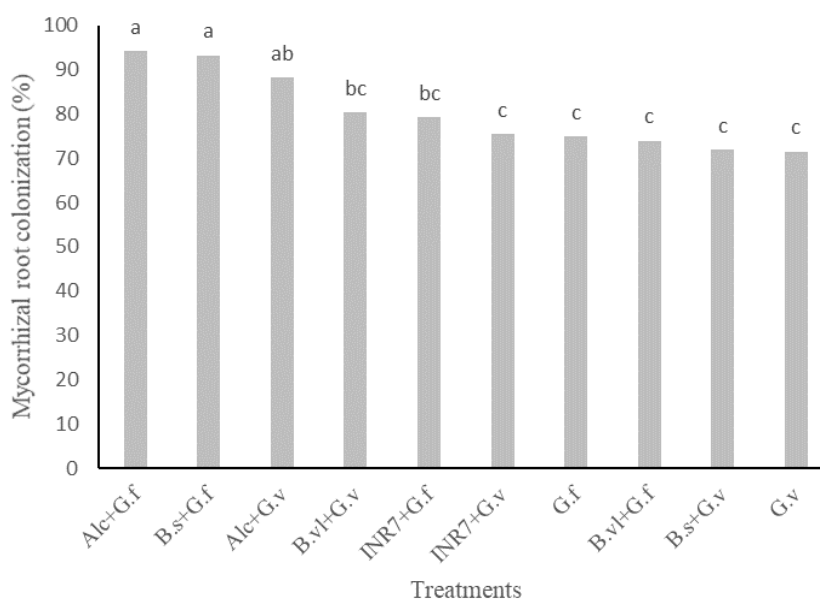
اثر کاربرد تنها و دوگانه قارچ‌های میکوریزی دارسانه‌ای و باکتری‌های پروبیوتیک بر ویژگی‌های رویشی نخود در حضور بیمارگر *A. rabiei* در شرایط گلخانه

اثر تیمارهای زیستی بر ویژگی‌های رویشی شاخساره گیاه: با بررسی ویژگی‌های رویشی نخود در حضور بیمارگر روشن شد که بلندی شاخساره گیاه در همسنجی با شاهد بیمار در همه تیمارهای انجام شده مگر در تیمارهای Alc، B.vl+G.v، B.p+G.f و B.p بیشتر بود و دامنه این افزایش، از ۱۴/۱۴ (تیمار B.p+G.v) تا ۴۲/۶۸ درصد (تیمار Alc+G.f) بود. وزن تر شاخساره نیز در همه تیمارها مگر در تیمارهای B.vl+G.f، B.vl+G.v و Alc+G.f، افزایش معنی‌داری را در همسنجی با شاهد بیمار نشان داد و این افزایش در دامنه ۲۳/۰۹ (تیمار Alc) تا ۷۵/۱۴ درصد (تیمار B.s) بود. همچنین افزایش معنی‌دار وزن خشک شاخساره در همسنجی

ریشه های نخود در همه تیمارهای میکوریزدار بالای ۷۲ درصد بود و ناهمگونی معنی داری از دید تاثیر برخی تیمارها بر میزان کلنیزاسیون ریشه وجود دارد. کمترین میزان کلنیزاسیون ریشه در تیمارهای *B.s+G.v* و *G.v* به میزان ۷۲ درصد و بیشترین آن در تیمارهای دوگانه *Alc+G.f* و *B.s+G.f* و *Alc+G.v* به ترتیب به میزان ۹۴ و ۹۳ و ۸۸ درصد ثبت شد. از دید میزان کلنیزاسیون ریشه، سه تیمار اخیر اختلاف معنی داری با تیمارهای با قارچ های میکوریزی تنها (*G.f* و *G.v*) نشان دادند (شکل ۲).

معنی داری را در تیمارهای دیگر در همسنجی با شاهد سالم نیز نشان داد. در همه تیمارها مگر در *B.p+G.f* و *Alc+G.f* وزن خشک ریشه نیز به طور معنی داری از شاهد بیمار بیشتر بود و میزان این افزایش در تیمارهای گوناگون از ۴۰ (در تیمار *B.s+G.f*) تا ۱۷۰ درصد (در تیمار *B.s+G.v*) بود. دو تیمار *B.s+G.v* و *Alc* نیز توانستند این شاخص را در همسنجی با شاهد سالم به اندازه ۲۹/۴۱ تا ۵۸/۸۲ درصد افزایش دهند (جدول ۲).

میزان کلنیزاسیون ریشه: بررسی میکروسکوپی ریشه های میکوریزی رنگ آمیزی شده نشان داد که میزان کلنیزاسیون



شکل ۲- میزان کلنیزاسیون ریشه های نخود (درصد) توسط قارچ های میکوریزی دارسانه ای. مقایسه میانگین ها با بهره گیری از آزمون دانکن (آلفا = ۵ درصد) انجام شد. میانگین های دارای حروف مشترک، با هم اختلاف آماری معنی داری ندارند (نام های کامل تیمارها در ادامه زیرنویس انگلیسی همین شکل آورده شده اند).

Fig 2. Chickpea roots colonization rate (percentage) by arbuscular mycorrhizal fungi. The means were compared using Duncan's test ($\alpha = 5$).

The means with common letters are not of statistically significant difference.

The abbreviations of treatment names are as follow: Alc: *Alcaligenes faecalis* 1624, B.s: *Bacillus subtilis* BS, B.vl: *Bacillus velezensis* JPS19, G.f: *Glomus fasciculatum*, G.v: *Glomus versiform* and B.p: *Bacillus pumilus* INR7.

بنیادین در پاسداری از بارخیزی و سلامت خاک، کاهش کاربری نهاده های شیمیایی، بهبود رشد و تندرستی گیاه و تولید غذای با کیفیت و ایمن دارند. کاربرد همگام این عوامل شاید بتواند بویژه به افزایش کارکرد و کیفیت محصولات زراعی و مهار بیمارگرهای گیاهی بیانجامد (Emmanuel and Babalola, 2020; Giovannini *et al.*, 2020). گزارش های بسیار اندکی در زمینه اثر مایه زنی دوگانه AMF و PGPR در پاسداری از گیاهان در برابر بیمارگرهای

بحث

از چالش های اصلی کشاورزی، دستیابی به یک الگوی پایدار است که بتواند مواد غذایی کافی در مقیاس جهانی تولید کند و هم زمان، به پاسداری زیستبوم و کاهش کاربری کودها و سموم شیمیایی نیز بیانجامد (Food and Agriculture Organization, 2011). یکی از روش های رسیدن به این آرمان، کاربرد ریزجانداران سودمند خاک و ریزوسفر، مانند AMF و PGPR است که در زمان دراز، نقش های

بخش‌های هوایی در دسترس هستند و در مورد اثر تیمارهای دوگانه آن‌ها در مهار برق‌زدگی نخود، هیچ گزارشی یافت نشد. از این روی، در این پژوهش گلخانه‌ای، افزون بر کاربرد جداگانه، اثر تیمار دوگانه دو گونه AMF و چهار گونه PGPR برای نخستین بار در مهار زیستی این بیماری و برخی ویژگی‌های رشدی نخود در حضور بیمارگر ارزیابی شد.

در میان تیمارهای انجام شده در این پژوهش، قارچکش کلروتالونیل که برای همسنجی به کار رفته بود با ۹۰ درصد کاهش شدت بیماری در همسنجی با شاهد بیمار، بیشترین اثر را در مهار بیماری برق‌زدگی نشان داد. توانمندی بالای این قارچکش در مهار بیمارگر نام برده در پژوهش‌های دیگر نیز روشن شده است (Benzohra et al., 2020; Moarrefzadeh et al., 2021a). کلروتالونیل از کارآمدترین قارچکش‌های حفاظتی در مهار این بیماری است (Davidson and Kimber, 2007) که با گروه‌های تیول در سامانه‌های آنزیمی بیمارگر واکنش می‌دهد (Chang et al., 2007).

در این پژوهش، همه تیمارهای تنها و دوگانه عوامل زیستی، شدت بیماری را در همسنجی با شاهد آلوده کاهش دادند و بسیاری از آن‌ها، ویژگی‌های رشدی بررسی شده در نخود را نسبت به شاهد بیمار و برخی از آن‌ها وزن تر و وزن خشک ریشه را در همسنجی با شاهد سالم نیز بهبود بخشیدند. این یافته‌ها با گزارش‌های پیشین در زمینه کارایی این عوامل در مهار برخی بیمارگرهای قارچی شاخساره گیاهان و افزایش رشد آن‌ها همخوانی دارند که به چند مورد از آن‌ها اشاره می‌شود. در مورد AMF، از پیش مایه‌زنی کردن بوته‌های گوجه‌فرنگی با *Funneliformis mosseae*، به افزایش مقاومت برگ‌های این گیاه در برابر بیماری سوختگی زودهنگام ناشی از *Alternaria solani* و کاهش پیدایش و گسترش نشانگان بیماری انجامید (Song et al., 2015). همچنین، مایه‌زنی *F. mosseae* یا *R. irregularis* به نشاهای بیشتر ارقام برنج، به پاسداری از گیاه در برابر آلودگی با بیماری بلاست (*Magnaporthe oryzae*) و بهبود رشد بوته‌های برنج میکوریزی انجامید (Campo et al., 2020). روی هم رفته، به گمان می‌رسد که پاسداری زیستی ایجاد شده در گیاهان میکوریزی در برابر بیمارگرهای شاخساره،

برآیند آمیزه‌ای از چند راهکار باشد (Pozo et al., 2010; Comby et al., 2017) که یکی از موارد اصلی، کاروری میکوریزها بسان البیسیتورهای پیش‌انگیزی (Priming) پدافند گیاه است (Song et al., 2021; Santoyo et al., 2015; al., 2015). در برگ‌های گیاهان میکوریزی، افزایش بیان پروتئین‌های در پیوند با بیماری‌زایی (-Pathogenesis related proteins)، رونویسی ژن‌های در پیوند با پدافند و کنشگری آنزیم‌های پدافندی دیده شده است (Pozo et al., 1999; Campos-Soriano et al., 2012; Song et al., 2015). افزون بر این، به گمان می‌رسد هنگام کلنیزاسیون گیاه با AMF، ایجاد تغییر در مقدار آفژولان‌های (Hormones) پدافندی، در پیش‌انگیزی گیاهان برای افزایش پاسخ‌های پدافندی در برابر بیمارگر کارور باشد (Nair et al., 2015). فرایندهای گفته شده در گیاه، به مقاومت انگیزته میکوریزی (Mycorrhizal Induced Resistance, MIR) به ویژه در برابر بیمارگرهای مرده‌پرور می‌انجامد (Pozo and Azcón-Aguilar, 2007) و سرانجام، بر مقاومت یا تحمل گیاه در برابر بیمارگرهای شاخساره می‌افزاید (Pozo et al., 2009). بهبود جذب مواد غذایی در گیاهان میکوریزی شده راهکار مهم دیگری است که می‌تواند بسان یک رویکرد تنظیم‌کننده برای جبران زیان بیمارگرها کار کند (Parihar et al., 2020) و با کاهش اثر آن‌ها به گیاهانی با رشد و نمو بهتر (Campo et al., 2020; Anand et al., 2022) و پرانرژی‌تر بیانجامد که می‌توانند در برابر بیمارگرهای برگ، مقاومت بیشتری از خود نشان دهند (Li et al., 2013; Nadeem et al., 2014). همچنین، AMF شاید با ایجاد دگرگونی‌هایی در معماری سامانه ریشه یا تراوش‌های ریشه گیاه، یا با برهمکنش با دیگر جمعیت‌های میکروبی ریزوسفر (مانند باکتری‌ها)، در پاسداری از گیاه کارور باشند (Pozo et al., 2010; Parihar et al., 2020).

افزون بر AMF، PGPR به کار گرفته شده در این پژوهش نیز شدت بیماری برق‌زدگی نخود را کاستند و ویژگی‌های رویشی آن را بهبود بخشیدند. در پژوهش دیگری نیز کاربرد سوسپانسیون جدایه‌ای از باکتری *B. subtilis* در هنگام کاشت دانه‌های گوجه‌فرنگی، ویژگی‌های رشدی و مقاومت سیستمیک گیاهچه‌ها در برابر سوختگی زودهنگام و سوختگی دیرهنگام (به‌ترتیب ناشی از *A. solani* و *Phytophthora infestans*) را افزایش داد (Chowdappa et al., 2013). کاربرد جدایه‌ای از باکتری

Streptomyces lydicus به‌صورت سوسپانسیون خیس‌کننده ریشه نیز به‌طور کارآمد رشد خیار را افزایش داد و قارچ بیمارگر *Alternaria alternata* را در این گیاه مهار کرد (Wang et al., 2020). روی هم رفته، PGPR می‌تواند مستقیم و غیرمستقیم با راهکارهای گوناگون مانند بهبود تغذیه گیاه (با افزایش حلالیت و جذب مواد غذایی گوناگون مانند فسفات، تثبیت نیتروژن، تولید سیدروفور برای جذب آهن)، تولید ترکیبات آلی فرار و افژولان‌های گیاهی مانند اکسین، سیتوکینین و ... تنظیم تولید اتیلن در ریشه، افزایش همزیستی‌های سودبخش مانند AMF و انگیزش رشد و تقویت کارکرد آن‌ها، افزایش تحمل گیاهان در برابر تنش‌های نازیستی، و کاهش اثرات زیانبار بیمارگرهای گیاهی با انگیزش مقاومت سیستمیک انگیخته (Induced Systemic Resistance, ISR) و مهار زیستی بیمارگرها، به افزایش رشد و تولید گیاه کشاورزی بینجامد (Hayat et al., 2012; Wang et al., 2020; Krzyzaniak et al., 2021). در برخی از جدایه‌های به کار گرفته شده در این پژوهش نیز، برخی ویژگی‌های مؤثر در انگیزش رشد گیاه شناسایی شده‌اند؛ جدایه‌های *B. faecalis* 1624 و *B. pumilus* INR7 دارای توانمندی تولید ترکیبات اکسینی و توانایی حل نمودن فسفات هستند و *A. faecalis* 1624 و *B. velezensis* JPS19 توانایی تولید سیدروفور را نیز داشته‌اند (Seifi, 2019; Seifi et al., 2020). همچنین، با نگرش به این واقعیت که در این پژوهش کاربرد AMF به روش تیمار خاک و کاربرد پروبیوتیک‌های باکتریایی به روش تیمار دانه و خاک و بدون برهمکنش مستقیم با بیمارگر، شدت برق‌زدگی را در نخود کاهش داد، از این روی می‌توان گفت این عوامل زیستی به‌احتمال بسیار به روش‌های غیرمستقیم به کاهش رشد این بیمارگر انجامیده‌اند. از مهم‌ترین روش‌های غیرمستقیم، القای مقاومت سیستمیک انگیخته (ISR توسط باکتری و MIR توسط میکوریز) در گیاه است.

چنان که پیشتر گفته شد، در این پژوهش تیمارهای تنها و دوگانه عوامل زیستی در بسیاری از موارد، به بهبود ویژگی‌های رشدی بررسی شده گیاه نخود در همسنجی با شاهد بیمار انجامیدند. تنها ویژگی رشدی که برخی از آن‌ها تأثیری در افزایش آن نداشتند، و برخی نیز به کاهش آن در همسنجی با شاهد بیمار انجامیدند،

درازای ریشه بود. مایه‌زنی ریشه‌های آرابیدوپسیس با *Pseudomonas* PS01 با این که به رشد گیاه نیرو بخشید، به کاهش معنی‌دار درازای ریشه نخستین انجامید. از دیدگاه پژوهشگران، این جدایه با جلوگیری از دراز شدن ریشه نخستین و افزایش پیدایش ریشه‌های جانبی و تارهای کشنده ریشه، معماری سامانه ریشه را دگرگون کرده و به افزایش رشد گیاه انجامیده بود (Chu et al., 2020). ترکیبات فرار میکروبی می‌توانند با تنظیم افژولان‌های گیاهی، معماری سامانه ریشه را بهبود بخشند؛ زیست‌ساخت اکسین، جابجایی رو به پایین آن از شاخه به ریشه، پخش دوباره و شیب غلظت آن در منطقه تقسیم در ریشه، نه‌تنها رشد ریشه نخستین را کاهش می‌دهد و تنظیم می‌کند، که پیدایش ریشه‌های جانبی، تارهای کشنده و حجم ریشه را افزایش می‌دهد. این کار به بهبود معماری سامانه ریشه و افزایش سطح ریشه و به دنبال آن، به افزایش جذب آب و مواد مغذی و سرانجام به افزایش رشد گیاه می‌انجامد (Delaplace et al., 2015; Tyagi et al., 2019; Chu et al., 2020; García-Gómez et al., 2020; Li et al., 2021; Sharifi et al., 2022).

در این پژوهش، برخی تیمارهای دوگانه AMF و PGPR (*G.v+B.s* و *B.s+G.f*, *B.p+G.f*, *B.vl+G.f*) در همسنجی با کاربرد جداگانه میکوریزهای *G.f* و *G.v* اثر معنی‌دار بهتری در مهار بیماری برق‌زدگی داشتند. همچنین، برخی ویژگی‌های رویشی، با تیمارهای دوگانه بهتر از مایه‌زنی تنها با میکوریزها افزایش یافتند: دو تیمار *B.s+G.f* و *Alc+G.f* بهتر از کاربرد جداگانه *G.f* درازای شاخساره را افزایش دادند. اثر تیمار دوگانه *B.s+G.v* بر افزایش وزن خشک ریشه از کاربرد تنهای *G.v* بهتر بود و تأثیر تیمار دوگانه *B.p+G.f* بر افزایش وزن خشک شاخساره نیز از کاربرد تنهای *G.f* بهتر بود. گزارش‌های دیگری نیز درباره سودمندی تیمارهای دوگانه AMF و PGPR در مهار بیمارگرهای گیاهی یا بهبود رشد گیاه هستند؛ تیمار دوگانه *Pseudomonas putida* و *F. mosseae* تحمل گیاهان داوودی (*Chrysanthemum carinatum*) در برابر بیماری فیتوپلاسمایی زردی داوودی را افزایش داد که می‌توانست با درنگ در پیدایش نشانگان بیماری و بهبود رشد شاخساره گیاهان آلوده سنجیده شود (D'Amelio et al., 2011). مایه‌زنی هم‌زمان *Glomus mosseae* و باکتری *Sinorhizobium*

meliloti در یونجه نیز رشد و کارکرد گیاه را بیش از مایه‌زنی جداگانه هر ریزجاندار افزایش داد (Zhu et al., 2016). یافته‌های پژوهش کنونی و گزارش‌های گفته شده، نشان‌دهنده برهمکنش‌های مثبت و سودبخشی است که در ریزوسفر میان ریزجانداران AMF و PGPR به کار گرفته شده در این پژوهش‌ها رخ می‌دهند (Sandepogu and Mamatha, 2022) و به اثرات هم‌افزای آن‌ها بر مهار بیماری یا بهبود ویژگی‌های رشدی گیاه می‌انجامد (Nadeem et al., 2014). در برهمکنش‌های هم‌افزا، آمیزه‌ای از برخی راهکارها مانند بهبود جذب مواد غذایی (Miransari, 2011) و مهار بیمارگرهای گیاهی (Miransari, 2011) با همزیست‌های باکتریایی و قارچی روی می‌دهند و به دگرگونی‌های مثبتی در ویژگی‌های ریخت‌شناختی، تنک‌ارشناختی، بیوشیمیایی و مولکولی گیاه می‌انجامد و سرانجام رشد و کیفیت گیاه را افزایش می‌دهند (Yasmeen et al., 2019). شاید AMF و PGPR هر دو به دلیل تأثیر مکمل بر انحلال و جذب مواد غذایی خاک، می‌توانند به‌صورت افزایشی رشد گیاه را بهبود ببخشند. همچنین، شاید کلنیزاسیون هم‌زمان ریشه‌های گیاه با این ریزجانداران، اثرات هم‌افزای نیرومندی بر پیش‌انگیزی ایمنی میزبان داشته و پاسخ‌های پدافندی نیرومندتری (ISR حاصل از باکتری و MIR ناشی از میکوریز) در میزبان ایجاد کنند (Krzyzaniak et al., 2021). همچنین، تیمارهای دوگانه AMF و PGPR با فراهم کردن راهکارهای چندگانه می‌توانند میزان و پایداری مهار حاصل را افزایش دهند و در زمان‌ها یا در شرایط گوناگون، از گیاه پاسداری نمایند (Gupta et al., 2022).

در همسنجی با یافته‌های بالا، در این پژوهش در برخی تیمارهای دوگانه AMF و PGPR در همسنجی با کاربرد جداگانه این عوامل، اثر هم‌افزایی در کاهش شدت بیماری دیده نشد. برای نمونه، میان اثر G.f به تنهایی و تیمار دوگانه آن در همراهی با Alc (یعنی Alc+G.f) و نیز میان اثر G.v به تنهایی و برخی تیمارهای دوگانه آن (Alc+G.v, B.p+G.v, B.vl+G.v) بر شدت بیماری ناهمگونی معنی‌داری نبود. گاهی نیز مایه‌زنی دوگانه AMF و PGPR از دیدگاه اثر بر مهار بیماری یا بهبود رشد بر مایه‌زنی تنهای آن‌ها برتری نداشته است. برای نمونه، جدایه‌ای از باکتری *B. subtilis* و نیز آمیزه‌ای از سه گونه میکوریز (*Glomus caledonium*, *G.*

fasciculatum و *G. mosseae*) به تنهایی شدت بیماری سفیدک پودری توت‌فرنگی ناشی از یک گونه *Sphaerotheca* را به ترتیب ۵۶ و ۱۳ درصد کاهش دادند، با این همه مایه‌زنی هم‌زمان این عوامل، میزان حفاظت در برابر بیمارگر را افزایش نداد و اثری مانند کاربرد تنهای AMF داشت (Lowe et al., 2012; Krzyzaniak et al., 2021). در تیمار کرت‌های گندم در هنگام کاشت با AMF، PGPR و نماتودهای بیماری‌زای حشرات، تیمار دوگانه با آن‌ها در همسنجی با کاربرد جداگانه، هیچ برتری افزایشی یا اثر هم‌افزایی معنی‌داری در بهبود سلامت و بهره‌وری گیاه نداشت (Imperiali et al., 2017). پیرو یافته‌های پژوهش‌های گوناگون، عوامل گوناگونی مانند جدایه‌های باکتریایی و AMF برهمکنشگر، گونه‌های گیاهی و ریزوسفر مورد بررسی، شرایط محیطی و عوامل زیستی گوناگون بر برهمکنش‌های میان AMF و PGPR و کارکرد مایه‌زنی دوگانه آن‌ها در خاک تأثیر می‌گذارند (Sanon et al., 2009; Miransari, 2011; Cruz et al., 2014; Yasmeen et al., 2019; Aalipour et al., 2020; Santoyo et al., 2021). از این روی، آمیزه عوامل زیستی گوناگون، تنها در برخی شرایط می‌تواند به یک اثر سودمند بیانجامد (Imperiali et al., 2017). این موضوع نشان می‌دهد پیش از کاربرد آمیزه AMF و PGPR، برای دستیابی به دستاوردهای خرسند کننده در زمینه نیرو بخشیدن به رشد گیاه و مهار بیماری، بررسی دقیق و یافتن شایسته‌ترین آمیزه، اهمیت بسزایی دارد (Jaderlund et al., 2008).

در این پژوهش، در همه تیمارهای دارای میکوریز، میزان کلنیزاسیون ریشه‌های نخود بالای ۷۲ درصد ثبت شد که نشان می‌دهد که نخود میزبان بسیار مناسبی برای این جدایه‌های میکوریزی بوده و سازگاری خوبی با آن‌ها دارد. همچنین، افزایش معنی‌داری در میزان کلنیزاسیون ریشه در برخی تیمارهای دوگانه (Alc+G.f و B.s+G.f و Alc+G.v) در همسنجی با کاربرد قارچ میکوریزی تنها (G.f و G.v) دیده شد. در برخی پژوهش‌های دیگر با گیاهان گوناگون نیز، مایه‌زنی هم‌زمان با PGPR و AMF به افزایش کلنیزاسیون ریشه با AMF انجامیده است (Hashem et al., 2016; Khalid et al., 2017; Aalipour et al., 2020). همچنین، PGPR را به پاس توانمندی‌شان در بهبود جایگیری قارچ همزی میکوریزی و کلنیزاسیون ریشه با قارچ‌های میکوریزی، باکتری‌های

پاسداری بیشتر در برابر قارچ بیمارگر بیماری سفیدک سطحی (*Blumeria graminis f. sp. tritici*) نمی انجامد (Mustafa et al., 2016). به باور برخی پژوهشگران، تأثیر همزیستی AMF بر تندرستی گیاه، بیشتر از میزان کلنیزاسیون با AMF، به ژنوتیپ گیاه میزبان و بیمارگر بستگی دارد (Dugassa et al., 1996).

نتیجه گیری کلی

در پژوهش کنونی، کارایی بهره گیری جداگانه و دوگانه از AMF و PGPR در کاهش شدت بیماری برق زدگی و بهبود ویژگی های رویشی نخود رقم بیونچ به اثبات رسید. مایه زنی هم زمان AMF و برخی جدایه های PGPR توانست اثرات هم افزایی بر مهار بیماری، نیروبخشی رشد و میزان کلنیزاسیون با قارچ میکوریزی ریشه نخود داشته باشد که نمایانگر برهمکنش های مثبت و مفیدی است که در ریزوسفر میان این ریزجانداران رخ داده است. از این روی، این روش می تواند بسان یک راهکار کارآمد و سازگار با زیستبوم، در برنامه مدیریت تلفیقی بیماری برق زدگی و بهبود رشد نخود در نظر گرفته شود تا با کاهش کاربری کودها و سموم شیمیایی، کاهش هزینه های تولید و پاسداری از زیستبوم، دستیابی به کشاورزی پایدار آسانیده شود. البته باید در نظر داشت که در این پژوهش، تیمارهای دوگانه عوامل زیستی گوناگون، همیشه اثر هم افزایی در مهار بیماری و بهبود رشد نخود نداشتند و به گمان می رسد که جدایه های باکتریایی و قارچ های میکوریزی به کار گرفته در تیمار دوگانه بر کارایی آن ها تأثیر دارند. از این روی، سپارش می شود که در پژوهش های آینده، بررسی های بیشتری برای کاربرد موفقیت آمیز این راهبرد و بهره گیری از اثرات هم افزای این عوامل در افزایش رشد و کارکرد گیاه و مهار بیماری انجام شوند و بهترین و شایسته ترین آمیزه های جدایه ها در شرایط کشتزار و در مناطق جغرافیایی گوناگون برگزیده شوند. همچنین اثر تیمارها بر تولید کمی و کیفی دانه نخود، تثبیت ریزوبیومی ازت، شمار گره های فعال و غیرفعال، محتوای پروتئین دانه و شمار نیام های تولید شده می تواند در پژوهش های آینده در شرایط کشت دیم و فاریاب مدنظر قرار گیرد.

یاریگر میکوریز (*Mycorrhiza Helper Bacteria, MHB*) می نامند (Rigamonte et al., 2010; Xing et al., 2018) راهکارهایی که PGPR با آن ها کلنیزاسیون با AMF را می انگیزند، هنوز به درستی شناخته نشده اند. با این همه، به گمان می رسد تولید برخی محصولات باکتریایی مانند آفژولان ها و سوختسازهای کارور باشد که رخنه پذیری یاخته های ریشه گیاه را می افزایند (Nadeem et al., 2014; Santoyo et al., 2021). همچنین، این محصولات مقدار ترشحات ریشه را افزایش می دهند، بر تندش هاگ قارچ های میکوریزی دارسانه ای و کنشگر شدن و افزایش درازای ریشه (Hypha) تأثیر می گذارند و به افزایش میزان کلنیزاسیون ریشه می انجامند (Azcón, 1987; Barea et al., 2005). افزون بر این، MHB می تواند با کاستن اثرات ناخواسته شاخص های محیطی بر رشد ریشه و انگیزش رشد تارهای کشنده ریشه گیاه بر کارکرد AMF تأثیر کنند (Miransari, 2011) و با بهبود بخشیدن خواص شیمیایی خاک، استقرار همزیستی میکوریزی را افزایش دهند (Krzyzaniak et al., 2021). در همسنجی با دستاوردهای گفته شده، در پژوهش کنونی مگر در تیمارهای (Alc+G.f و B.s+G.f و Alc+G.v) در دیگر تیمارهای دوگانه، وجود PGPR تأثیری در افزایش معنی دار کلنیزاسیون ریشه با قارچ های میکوریزی دارسانه ای نداشت. در یک پژوهش دیگر نیز در گندم، AMF گوناگون (*G. intraradices* و *G. mosseae*) در آمیزه و مایه زنی هم زمان با یک باکتری، واکنش های ناهمگونی را نشان دادند که به باور پژوهشگران میزان کلنیزاسیون AMF در ریشه گندم، به آمیزه جدایه های قارچ های میکوریزی و PGPR بستگی داشته است (Jaderlund et al., 2008).

در پژوهش کنونی، پیوند مستقیمی بین میزان کلنیزاسیون و پاسداری از گیاه در برابر بیماری دیده نشد. با این که در سه تیمار Alc+G.f و B.s+G.f و Alc+G.v بیشترین کلنیزاسیون ریشه ثبت شد، تنها یکی از آن ها (B.s+G.f) از بهترین تیمارها در مهار بیماری بود و دو تیمار دیگر از دیدگاه مهار بیماری در گروه پسین جای داشتند. در برابر، تیمارهای دوگانه B.s+G.v و B.vl+G.f که کمترین میزان کلنیزاسیون میکوریزی ریشه را داشتند، از بهترین تیمارها در مهار بیماری بودند. در پژوهش دیگری نیز روشن شده است که افزایش کلنیزاسیون ریشه های گندم با AMF، لزوماً به

سپاسگزاری

نویسندگان از آقای دکتر سعید عباسی (دانشگاه رازی، کرمانشاه) و خانم دکتر سونیا سیفی (دانشگاه پیام نور، کرمانشاه) برای پیشکش

نمودن جدایه قارچ بیمارگر و برخی جدایه‌های باکتریایی به کار گرفته شده در این پژوهش بسیار سپاسگزاری می‌نماید.

منابع

- Aalipour H, Nikbakht A, Etemadi N, Rejali F, Soleimani M. 2020. Biochemical response and interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth promoting rhizobacteria during establishment and stimulating growth of Arizona cypress (*Cupressus arizonica* G.) under drought stress. *Scientia Horticulturae* 261: 108923.
- Akamatsu HO, Chilvers MI, Kaiser WJ, Peever TL. 2012. Karyotype polymorphism and chromosomal rearrangement in populations of the phytopathogenic fungus, *Ascochyta rabiei*. *Fungal Biology* 116: 1119-1133.
- Anand K, Pandey GK, Kaur T, Pericak O, Olson C, Mohan R, Akansha K, Yadav A, Devi R, Kour D. 2022. Arbuscular mycorrhizal fungi as a potential biofertilizers for agricultural sustainability. *Journal of Applied Biology & Biotechnology* 10: 90-107.
- Arif I, Batool M, Schenk PM. 2020. Plant Microbiome Engineering: Expected Benefits for Improved Crop Growth and Resilience. *Trends in Biotechnology* 38: 1385-1396.
- Artursson V, Finlay RD, Jansson JK. 2006. Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and bacteria and their potential for stimulating plant growth. *Environmental Microbiology* 8: 1-10.
- Azcón R. 1987. Germination and hyphal growth of *Glomus mosseae* in vitro: Effects of rhizosphere bacteria and cell-free culture media. *Soil Biology and Biochemistry* 19: 417-419.
- Baite MS, Dubey SC. 2018. Pathogenic variability of *Ascochyta rabiei* causing blight of chickpea in India. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 102: 122-127.
- Barea J-M, Pozo MJ, Azcón R, Azcón-Aguilar C. 2005. Microbial co-operation in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany* 56: 1761-1778.
- Ben Mohamed L, Cherif M, Harrabi M, Galbraith RF, Strange RN. 2010. Effects of sowing date on severity of blight caused by *Ascochyta rabiei* and yield components of five chickpea cultivars grown under two climatic conditions in Tunisia. *European Journal of Plant Pathology* 126: 293-303.
- Benzohra IE, Bendahmane BS, Benkada MY, Mégateli M, Belaidi H. 2020. Use of three synthetic fungicides to reduce the incidence of ascochyta blight (*Ascochyta rabiei*) in chickpea (*Cicer arietinum* L.): A susceptible cultivars case. *Indian Journal of Agricultural Research* 54: 459-464.
- Bonfante P, Anca IA. 2009. Plants, mycorrhizal fungi, and bacteria: a network of interactions. *Annual Review of Microbiology* 63: 363-383.
- Bretag TW, MacLeod WJ, Kimber RBE, Moore KJ, Knights EJC, Davidson JA. 2008. Management of ascochyta blight in chickpeas in Australia. *Australasian Plant Pathology* 37: 486-497.
- Campo S, Martín-Cardoso H, Olivé M, Pla E, Catala-Forner M, Martínez-Eixarch M, San Segundo B. 2020. Effect of root colonization by arbuscular mycorrhizal fungi on growth, productivity and blast resistance in rice. *Rice* 13: 42.
- Campos-Soriano L, García-Martínez J, Segundo BS. 2012. The arbuscular mycorrhizal symbiosis promotes the systemic induction of regulatory defence-related genes in rice leaves and confers resistance to pathogen infection. *Molecular Plant Pathology* 13: 579-592.
- Chang KF, Ahmed HU, Hwang SF, Gossen BD, Strelkov SE, Blade SF, Turnbull GD. 2007. Sensitivity of field populations of *Ascochyta rabiei* to chlorothalonil, mancozeb and pyraclostrobin fungicides and effect of strobilurin fungicides on the progress of ascochyta blight of chickpea. *Canadian Journal of Plant Science* 87: 937-944.
- Chausali N, Saxena J. 2022. Role of *Bacillus* species in alleviating biotic stress in crops. In: Islam MT, Rahman MM, Pandey P, Boehme MH and Haesaert G (Eds.) *Bacilli in Agrobiotechnology*. Springer, 365-391.
- Chen W, Coyne CJ, Peever TL, J. Muehlbauer F. 2004. Characterization of chickpea differentials for pathogenicity assay of ascochyta blight and identification of chickpea accessions resistant to *Didymella rabiei*. *Plant Pathology* 53: 759-769.
- Chowdappa P, Kumar SM, Lakshmi MJ, Upreti K. 2013. Growth stimulation and induction of systemic resistance in tomato against early and late blight by *Bacillus subtilis* OTPB1 or *Trichoderma harzianum* OTPB3. *Biological Control* 65: 109-117.
- Chu TN, Bui LV, Hoang MTT. 2020. *Pseudomonas* PS01 Isolated from maize rhizosphere alters root system architecture and promotes plant growth. *Microorganisms* 8: 1-22.
- Comby M, Mustafa G, Magnin-Robert M, Randoux B, Fontaine J, Reignault P, Lounès-Hadj Sahraoui A. 2017. Arbuscular mycorrhizal fungi as potential bioprotectants against aerial phytopathogens and pests. In: Wu Q-S (Ed.) *Arbuscular Mycorrhizas and Stress Tolerance of Plants*. Springer Singapore, Singapore, 195-223.
- Cruz A, Soares W, Blum L. 2014. Impact of the arbuscular mycorrhizal fungi and bacteria on biocontrol of white root rot in fruit seedlings. *Journal of Plant Physiology &*

- Pathology 1: 1-6.
- D'Amelio R, Berta G, Gamalero E, Massa N, Avidano L, Cantamessa S, D'Agostino G, Bosco D, Marzachi C. 2011.** Increased plant tolerance against chrysanthemum yellows phytoplasma ('*candidatus* Phytoplasma asteris') following double inoculation with *Glomus mosseae* BEG12 and *Pseudomonas putida* S1Pf1Rif. Plant Pathology 60: 1014-1022.
- Davidson JA, Kimber RBE. 2007.** Integrated disease management of ascochyta blight in pulse crops. European Journal of Plant Pathology 119: 99-110.
- Delaplace P, Delory BM, Baudson C, Mendaluk-Saunier de Cazenave M, Spaepen S, Varin S, Brostaux Y, du Jardin P. 2015.** Influence of rhizobacterial volatiles on the root system architecture and the production and allocation of biomass in the model grass *Brachypodium distachyon* (L.) P. Beauv. BMC Plant Biology 15: 195.
- Dugassa GD, von Alten H, Schönbeck F. 1996.** Effects of arbuscular mycorrhiza (AM) on health of *Linum usitatissimum* L. infected by fungal pathogens. Plant and Soil 185: 173-182.
- Emmanuel OC, Babalola OO. 2020.** Productivity and quality of horticultural crops through co-inoculation of arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth promoting bacteria. Microbiological Research 239: 126-569.
- Ennouri A, Lamiri A, Essahli M, Bencheqroun SK. 2020.** Chemical composition of essential oils and their antifungal activity in controlling *Ascochyta rabiei*. Journal of Agricultural Science and Technology 22: 1371-1381.
- Farahani S, Talebi R, Maleki M, Mehrabi R, Kanouni H. 2019.** Pathogenic diversity of *Ascochyta rabiei* isolates and identification of resistance sources in core collection of chickpea germplasm. The Plant Pathology Journal 35: 321-329.
- Fiorilli V, Catoni M, Francia D, Cardinale F, Lanfranco L. 2011.** The arbuscular mycorrhizal symbiosis reduces disease severity in tomato plants infected by *Botrytis cinerea*. Journal of Plant Pathology 93: 237-242.
- Food and Agriculture Organization. 2011.** Save and Grow; A Policymaker's Guide to the Sustainable Intensification of Smallholder Crop Production. FAO, Rome, Italy, pp. 116.
- Fritz M, Jakobsen I, Lyngkjær MF, Thordal-Christensen H, Pons-Kühnemann J. 2006.** Arbuscular mycorrhiza reduces susceptibility of tomato to *Alternaria solani*. Mycorrhiza 16: 413-419.
- García-Gómez P, Bahaji A, Gámez-Arcas S, Muñoz FJ, Sánchez-López Á M, Almagro G, Baroja-Fernández E, Amezttoy K, De Diego N, Ugena L, Spíchal L, Doležal K, Hajirezaei MR. 2020.** Volatiles from the fungal phytopathogen *Penicillium aurantiogriseum* modulate root metabolism and architecture through proteome resetting. Plant, Cell & Environment 43: 2551-2570.
- Giovannini L, Palla M, Agnolucci M, Avio L, Sbrana C, Turrini A, Giovannetti M. 2020.** Arbuscular mycorrhizal fungi and associated microbiota as plant biostimulants: Research strategies for the selection of the best performing inocula. Agronomy 10: 106.
- Gupta S, Didwania N, Singh D, Chowluru SN. 2022.** Microbial consortium: an eco-friendly approach against *Alternaria brassicae* in Indian mustard. Indian Phytopathology 75: 979-987.
- Hameeda B, Srijana M, Rupela OP, Reddy G. 2006.** Effect of bacteria isolated from composts and macrofauna on sorghum growth and mycorrhizal colonization. World Journal of Microbiology and Biotechnology 23: 883-887.
- Hashem A, Abd Allah EF, Alqarawi AA, Al-Huqail AA, Wirth S, Egamberdieva D. 2016.** The Interaction between arbuscular mycorrhizal fungi and endophytic bacteria enhances plant growth of *Acacia gerrardii* under salt stress. Front Microbiol 7: 1089.
- Hayat R, Ahmed I, Sheirdil RA. 2012.** An overview of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) for sustainable agriculture. In: Ashraf M, Öztürk M, Ahmad MSA and Aksoy A (Eds.) Crop Production for Agricultural Improvement. Springer, New York, 557-579.
- Igiehon NO, Babalola OO. 2018.** Below-ground-above-ground plant-microbial interactions: Focusing on soybean, rhizobacteria and mycorrhizal fungi. The open microbiology journal 12: 261-279.
- Imperiali N, Chiriboga X, Schlaeppi K, Fesselet M, Villacrés D, Jaffuel G, Bender SE, Dennert F, Blanco-Pérez R, Van Der Heijden MG. 2017.** Combined field inoculations of *Pseudomonas* bacteria, arbuscular mycorrhizal fungi, and entomopathogenic nematodes and their effects on wheat performance. Frontiers in Plant Science 8: 1809.
- Jaderlund L, Arthurson V, Granhall U, Jansson JK. 2008.** Specific interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth-promoting bacteria: as revealed by different combinations. FEMS Microbiology Letters 287: 174-180.
- Javaid A, Munir R, Khan IH, Shoaib A. 2020.** Control of the chickpea blight, *Ascochyta rabiei*, with the weed plant, *Withania somnifera*. Egyptian Journal of Biological Pest Control 30: 1-8.
- Khalid M, Hassani D, Bilal M, Asad F, Huang D. 2017.** Influence of bio-fertilizer containing beneficial fungi and rhizospheric bacteria on health promoting compounds and antioxidant activity of *Spinacia oleracea* L. Botanical Studies 58: 35.
- Kilam D, Sharma P, Agnihotri A, Kharkwal A, Varma A. 2017.** Microbial symbiosis and bioactive ingredients of medicinal plants. In: Varma A, Prasad R and Tuteja N (Eds.) Mycorrhiza - Eco-Physiology, Secondary Metabolites, Nanomaterials, 4th edn. Springer International Publishing, Cham, Switzerland, 283-302.
- Krzyzaniak Y, Magnin-Robert M, Randoux B, Fontaine J, Lounès-Hadj Sahraoui A. 2021.** Combined Use of beneficial bacteria and arbuscular mycorrhizal fungi for the biocontrol of plant cryptogamic diseases: Evidence, methodology, and limits. In: Shrivastava N, Mahajan S and Varma A (Eds.) Symbiotic Soil Microorganisms: Biology and Applications. Springer International Publishing, Cham, 429-468.
- Li Y, Liu Z, Hou H, Lei H, Zhu X, Li X, He X, Tian C. 2013.** Arbuscular mycorrhizal fungi-enhanced resistance against *Phytophthora sojae* infection on soybean leaves is mediated by a network involving hydrogen peroxide, jasmonic acid, and the metabolism of carbon and nitrogen. Acta Physiologiae Plantarum 35: 3465-3475.

- Li Y, Shao J, Xie Y, Jia L, Fu Y, Xu Z, Zhang N, Feng H, Xun W, Liu Y. 2021. Volatile compounds from beneficial rhizobacteria *Bacillus* spp. promote periodic lateral root development in *Arabidopsis*. Plant, Cell & Environment 44: 1663-1678.
- Liu N, Xu S, Yao X, Zhang G, Mao W, Hu Q, Feng Z, Gong Y. 2016. Studies on the control of ascochyta blight in field peas (*Pisum sativum* L.) caused by *Ascochyta pinodes* in Zhejiang Province, China. Frontiers in Microbiology 7: 481.
- Lowe A, Rafferty-McArdle S, Cassells A. 2012. Effects of AMF and PGPR-root inoculation and a foliar chitosan spray in single and combined treatments on powdery mildew disease in strawberry. Agricultural Food Science 21: 28-38.
- Manjunatha L, Saabale PR, Srivastava AK, Dixit GP, Yadav LB, Kumar K. 2018. Present status on variability and management of *Ascochyta rabiei* infecting chickpea. Indian Phytopathology 71: 9-24.
- Martínez-Medina A, Pascual JA, Lloret E, Roldán A. 2009. Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and *Trichoderma harzianum* and their effects on Fusarium wilt in melon plants grown in seedling nurseries. Journal of the Science of Food and Agriculture 89: 1843-1850.
- Minchev Z, Kostenko O, Soler R, Pozo MJ. 2021. Microbial consortia for effective biocontrol of root and foliar diseases in tomato. Frontiers in Plant Science 12: 756368.
- Miransari M. 2011. Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and soil bacteria. Applied Microbiology and Biotechnology 89: 917-930.
- Mitter B, Brader G, Pfaffenbichler N, Sessitsch A. 2019. Next generation microbiome applications for crop production-limitations and the need of knowledge-based solutions. Current Opinion in Microbiology 49: 59-65.
- Moarrefzadeh N, Khateri H, Sharifi R. 2021a. The effect of some defence inducing volatile compounds against chickpea Ascochyta blight. Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture) 44: 43-58 (In Farsi with English abstract).
- Moarrefzadeh N, Khateri H, Sharifi R. 2022. The effect of some probiotic bacteria and different methods of their application in biological control of chickpea ascochyta blight disease. Journal of Applied Research in Plant Protection 11: 97-108 (In Farsi with English abstract).
- Moarrefzadeh N, Sharifi R, Khateri H, Abbasi S. 2021b. Biological control of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*, the causal agent of the fusarial yellowing and wilting of chickpea by mixtures of some microbial agents. Biological Control of Pests and Plant Diseases 9: 61-73 (In Farsi with English abstract).
- Moarrefzadeh N, Sharifi R, Khateri H, Abbasi S. 2021c. The effect of some plant probiotics in the biocontrol of the causal agents of chickpea Fusarium yellowing and wilting. Biological Control of Pests and Plant Diseases 9: 143-159 (In Farsi with English abstract).
- Mustafa G, Khong NG, Tisserant B, Randoux B, Fontaine J, Magnin-Robert M, Reignault P, Sahraoui AL. 2017. Defence mechanisms associated with mycorrhiza-induced resistance in wheat against powdery mildew. Functional Plant Biology 44: 443-454.
- Mustafa G, Randoux B, Tisserant B, Fontaine J, Magnin-Robert M, Lounès-Hadj Sahraoui A, Reignault P. 2016. Phosphorus supply, arbuscular mycorrhizal fungal species, and plant genotype impact on the protective efficacy of mycorrhizal inoculation against wheat powdery mildew. Mycorrhiza 26: 685-697.
- Nadeem SM, Ahmad M, Zahir ZA, Javaid A, Ashraf M. 2014. The role of mycorrhizae and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) in improving crop productivity under stressful environments. Biotechnology Advances 32: 429-448.
- Nair A, Kolet SP, Thulasiram HV, Bhargava S. 2015. Role of methyl jasmonate in the expression of mycorrhizal induced resistance against *Fusarium oxysporum* in tomato plants. Physiological and Molecular Plant Pathology 92: 139-145.
- Newman TE, Jacques S, Grime C, Kamphuis FL, Lee RC, Berger J, Kamphuis LG. 2021. Identification of novel sources of resistance to ascochyta blight in a collection of wild *Cicer* accessions. Phytopathology 111: 369-379.
- Pande S, Siddique KHM, Kishore GK, Bayaa B, Gaur PM, Gowda CLL, Bretag TW, Crouch JH. 2005. Ascochyta blight of chickpea (*Cicer arietinum* L.): a review of biology, pathogenicity, and disease management. Australian Journal of Agricultural Research 56: 317-332.
- Parihar M, Chitara M, Khatri P, Kumari A, Mishra PK, Rakshit A, Rana K, Meena VS, Singh AK, Choudhary M, Bisht JK, Ram H, Pattanayak A, Tiwari G, Jatav SS. 2020. Arbuscular mycorrhizal fungi: Abundance, interaction with plants and potential biological applications. In: Yadav AN, Rastegari AA, Yadav N and Kour D (Eds.) Advances in Plant Microbiome and Sustainable Agriculture: Diversity and Biotechnological Applications. Springer Singapore, Singapore, 105-143.
- Parmasi Z, Tahmasebi Z, Zare MJ, Nourollahi K, Kanouni H. 2019. Biocontrol of Ascochyta blight by *Azospirillum* sp. depending on the degree of resistance of chickpea genotypes. Journal of Phytopathology 167: 601-607.
- Phillips JM, Hayman DS. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Transactions of the British Mycological Society 55: 158-161.
- Pozo de la Hoz J, Rivero J, Azcón-Aguilar C, Urrestarazu M, Pozo MJ. 2021. Mycorrhiza-induced resistance against foliar pathogens is uncoupled of nutritional effects under different light intensities. Journal of Fungi 7: 402.
- Pozo MaJ, Azcón-Aguilar C, Dumas-Gaudot E, Barea JM. 1999. β -1,3-Glucanase activities in tomato roots inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi and/or *Phytophthora parasitica* and their possible involvement in bioprotection. Plant Science 141: 149-157.
- Pozo MJ, Azcón-Aguilar C. 2007. Unraveling mycorrhiza-induced resistance. Current Opinion in Plant Biology 10: 393-398.
- Pozo MJ, Jung SC, López-Ráez JA, Azcón-Aguilar C. 2010. Impact of arbuscular mycorrhizal symbiosis on plant response to biotic stress: The role of plant defence mechanisms. Arbuscular Mycorrhizas: Physiology and Function. Springer, Dordrecht, 193-207.
- Pozo MJ, Verhage A, García-Andrade J, García JM, Azcón-Aguilar C. 2009. Priming plant defence against pathogens

- by arbuscular mycorrhizal fungi. In: Azcón-Aguilar C, Barea JM, Gianinazzi S and Gianinazzi-Pearson V (Eds.) Mycorrhizas - Functional Processes and Ecological Impact. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 123-135.
- Pozo MJ, Zabalgoeazcoa I, Vazquez de Aldana BR, Martinez-Medina A. 2021.** Untapping the potential of plant mycobiomes for applications in agriculture. *Current Opinion in Plant Biology* 60: 102034.
- Rhaïem A. 2020.** Selection of bacteria with antagonistic activity against ascochyta blight of chickpea. *Journal of New Sciences* 76: 4461-4472.
- Rigamonte TA, Pylro VS, Duarte GF. 2010.** The role of mycorrhization helper bacteria in the establishment and action of ectomycorrhizae associations. *Brazilian Journal of Microbiology* 41: 832-840.
- Saldajeno MGB, Hyakumachi M. 2011.** The plant growth-promoting fungus *Fusarium equiseti* and the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* stimulate plant growth and reduce severity of anthracnose and damping-off diseases in cucumber (*Cucumis sativus*) seedlings. *Annals of Applied Biology* 159: 28-40.
- Sandepogu P, Mamatha M. 2022.** Effect of vasicular-arbuscular mycorrhiza (VAM) and PGPR on plant growth response of two cultivars of *Chenopodium quinoa* Willd (INIA-427, INIA-431) in both field and pot experiments. *Open Access Research Journal of Science and Technology* 4: 1-8.
- Sanon A, Andrianjaka ZN, Prin Y, Bally R, Thioulouse J, Comte G, Duponnois R. 2009.** Rhizosphere microbiota interferes with plant-plant interactions. *Plant and Soil* 321: 259-278.
- Santoyo G, Gamalero E, Glick BR. 2021.** Mycorrhizal-Bacterial amelioration of plant abiotic and biotic Stress. *Frontiers in Sustainable Food Systems* 5: 672881.
- Sarma BK, Yadav SK, Singh S, Singh HB. 2015.** Microbial consortium-mediated plant defense against phytopathogens: Readdressing for enhancing efficacy. *Soil Biology and Biochemistry* 87: 25-33.
- Seifi S. 2019.** Screening of nitrate removal bacteria and effect of these bacteria on biological control of *Fusarium* wilt disease in tomato. PhD Thesis, University of Tehran. Karaj, Iran.
- Seifi S, Behboudi K, Sharifi R, Shapleigh JP. 2020.** Introduction, mechanisms of action and genomic description in plant probiotic bacterium *Bacillus velezensis*. *Iranian Journal of Plant Protection Science* 50: 159-175 (In Farsi with English abstract).
- Sharifi R, Jeon JS, Ryu CM. 2022.** Belowground plant-microbe communications via volatile compounds. *Journal of Experimental Botany* 73: 463-486.
- Sherazi A, Jabeen K, Iqbal S, Yousaf Z. 2016.** Management of *Ascochyta rabiei* by *Chenopodium album* extracts. *Planta Daninha* 34: 675-680.
- Sohrabi M, Mohammadi H, Mohammadi A. 2015.** Influence of AM Fungi, *Glomus mosseae* and *Glomus intraradices* on chickpea growth and root-rot disease caused by *Fusarium solani* f. sp. *pisi* under greenhouse conditions. *Journal of Agricultural Science and Technology* 17: 1919-1929.
- Song Y, Chen D, Lu K, Sun Z, Zeng R. 2015.** Enhanced tomato disease resistance primed by arbuscular mycorrhizal fungus. *Frontiers in Plant Science* 6: 786.
- Trivedi P, Leach JE, Tringe SG, Sa T, Singh BK. 2020.** Plant-microbiome interactions: from community assembly to plant health. *Nature Reviews: Microbiology* 18: 607-621.
- Tyagi S, Kim K, Cho M, Lee KJ. 2019.** Volatile dimethyl disulfide affects root system architecture of *Arabidopsis* via modulation of canonical auxin signaling pathways. *Environmental Sustainability* 2: 211-216.
- Vafaei SH, Rezaee S, Moghadam AA, Zamanizadeh HR. 2016.** Virulence diversity of *Ascochyta rabiei* the causal agent of Ascochyta blight of chickpea in the western provinces of Iran. *Archives of Phytopathology and Plant Protection* 48: 921-930.
- Wang H, Hwang SF, Chang KF, Turnbull GD, Howard RJ. 2003.** Suppression of important pea diseases by bacterial antagonists. *BioControl* 48: 447-460.
- Wang M, Xue J, Ma J, Feng X, Ying H, Xu H. 2020.** *Streptomyces lydicus* M01 regulates soil microbial community and alleviates foliar disease caused by *Alternaria alternata* on cucumbers. *Frontiers in Microbiology* 11: 942.
- Xing R, Yan HY, Gao QB, Zhang FQ, Wang JL, Chen SL. 2018.** Microbial communities inhabiting the fairy ring of *Floccularia luteovirens* and isolation of potential mycorrhiza helper bacteria. *Journal of Basic Microbiology* 58: 554-563.
- Yasmeen T, Tariq M, Iqbal S, Arif MS, Riaz M, Shahzad SM, Ali S, Noman M, Li T. 2019.** Ameliorative capability of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) and arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) against salt stress in plant. In: MirzaHasanuzzaman, KhalidRehmanHakeem, KamrunNahar and Alharby HF (Eds.) *Plant Abiotic Stress Tolerance*. Springer Nature Switzerland AG Cham, Switzerland, 409-448.
- Zhu RF, Tang FL, Liu JL, Liu FQ, Deng XY, Chen JS. 2016.** Co-inoculation of arbusculr mycorrhizae and nitrogen fixing bacteria enhance alfalfa yield under saline conditions. *Pakistan Journal of Botany* 48: 763-769.